ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΟΥ
ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας φυσικής προέλευσης γεωργικών φαρμάκων με νηματωδοκτόνο δράση σε καλλιέργεια τομάτας

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Δωροθέα Π. ΚΟΝΤΕΑ
Γεωπόνος

Βόλος 2014

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ ΤΟΥ
ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Εκτίμηση της αποτελεσματικότητας φυσικής προέλευσης γεωργικών φαρμάκων με νηματωδοκτόνο δράση σε καλλιέργεια τομάτας

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Δωροθέα Π. ΚΟΝΤΕΑ
Γεωπόνος

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

Τσιρόπουλος Νικόλαος, Καθηγητής (Επιβλέπων)
Αθανασίου Χρήστος, Αναπληρωτής Καθηγητής (Μέλος)
Βέλλιος Ευάγγελος, Επίκουρος Καθηγητής (Μέλος)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης διαχείρισης της παραγωγής, μελετώνται σε παγκόσμιο επίπεδο οι φυσικές ουσίες φυτικής προέλευσης, θέτοντας νέες προοπτικές στη φυτοπροστασία. Ήδη από την αρχαιότητα, τα εκχυλίσματα των φυτών έχουν χρησιμοποιηθεί ως μορφές της εναλλακτικής ιατρικής, της φαρμακευτικής αλλά και της φυτοπροστασίας. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν για τις νηματωδοκτόνες ιδιότητές τους δύο είδη των βοτανικών οικογενειών Meliaceae (*Melia azedazach*) και Simaroubaceae (*Alianthus altissima*) .

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε στο πλαίσιο του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Σύγχρονα Συστήματα Αγροτικής Παραγωγής στο Μεσογειακό Χώρο με Έμφαση στην Αειφορική Παραγωγή και τη Χρησιμοποίηση Νέων Τεχνολογιών» κατά το έτος 2012–2013 στο Εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Ολοκληρώνοντας την προσπάθεια αυτή και πριν από την ανάπτυξή της θα ήθελα να σημειώσω ότι, είναι ιδιαίτερα δύσκολο και κοπιαστικό να ολοκληρώσεις το έργο που ξεκινάς κάποια στιγμή έχοντας ταυτόχρονα κι άλλες υποχρεώσεις που πρέπει να διεκπεραιώσεις. Πολλές φορές είναι μάταιο κι άλλες πάλι εφικτό.

Γι' αυτόν ακριβώς το λόγο θα πρέπει να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου κ. Νικόλαο Τσιρόπουλο που με στήριξε στην προσπάθειά μου, με καθοδήγησε και μου αφιέρωσε πολύτιμο χρόνο για να φτάσουμε ως εδώ.

Θα πρέπει παράλληλα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς επιτροπής, τον κ. Αθανασίου Χρήστο και τον κ. Βέλλιο Ευάγγελο για την πολύτιμη βοήθεια τους, τόσο με τις διαλέξεις τους στα μεταπτυχιακά μαθήματα όσο και για τις πολύτιμες συμβουλές τους σε οποιοδήποτε πρόβλημα παρουσιάστηκε κατά την διάρκεια του μεταπτυχιακού κύκλου σπουδών.

Επιπλέον, ένα μεγάλο ευχαριστώ στον συμφοιτητή μου Θανασενάρη Τάσο, Γεωπόνο και μεταπτυχιακό φοιτητή για τη βοήθειά του στη διεκπεραίωση του πειραματικού μέρους αλλά και στον κ. Ρούμπο Χρήστο, Γεωπόνο (PhD) και την κ.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Ντάλλη Νικολέτα, Γεωπόνο (PhD) για τις πολύτιμες συμβουλές και την καθοδήγησή τους στα πρώτα στάδια των πειραμάτων μου. Ευχαριστώ, επίσης, τα "Θερμοκήπια Φαλάνης" για την ευγενική χορήγηση των σπορόφυτων τομάτας αλλά και των φυτοχωμάτων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όλους τους φίλους μου που πίστεψαν σε μένα και με ενθάρρυναν σε κάθε στάδιο των σπουδών μου, καθώς και όσους συναδέλφους συμφοιτητές συνέβαλαν με τα σχόλια, την κριτική και τις γνώσεις τους στην αντιμετώπιση των δυσκολιών.

Τέλος, ιδιαίτερες ευχαριστίες θέλω να εκφράσω προς την οικογένειά μου για την διαχρονική συμπαράστασή τους και την υλική και ηθική στήριξη των επιλογών μου.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ 1

ABSTRACT 2

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 3

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ 3
1.2 ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΑΠΟ ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ 6
1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ 9
1.3.1 Πυκνότητα πληθυσμών – Ικανότητα αναπαραγωγής 13
1.3.2 Διασπορά πληθυσμών νηματωδών 14
1.4 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΤΗΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ 14

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 17

2.1 ΠΡΟΛΗΨΗ 17
2.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ 18
2.3 ΧΗΜΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ 23
2.3.1 Παρελθόν 23
2.3.2 Διαθέσιμα σκευάσματα σήμερα 24
2.4 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ 26
2.4.1 Καταπολέμηση με μύκητες και βακτήρια. 26
2.4.2 Βιοαπολύμανση 29
2.4.3 Φυσικές ουσίες φυτικής προέλευσης 29

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 33

3.1 *Melia azedarach* 33
3.2 *Alianthus altissima* 36

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4 40

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΣΚΟΠΟΣ 40
4.2 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ 41
4.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΔΑΤΙΚΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ 42
4.3.1 Υδατικό εκχύλισμα του *M. azedarach* που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα κινητικότητας 42
4.3.2 Υδατικό εκχύλισμα των καρπών του *M. azedarach* που χρησιμοποιήθηκε για τις βιοδοκιμές των προνυμφών J2 43
4.3.3 Υδατικό εκχύλισμα του ξύλου του *A. altissima* 43

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

4.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΠΑΡΑΛΥΣΗΣ 44
4.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ 45
4.5.1 Δοκιμή επίδρασης του *M. azedarach* υπό τη μορφή αλεσμένου καρπού, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* 45
4.5.2 Δοκιμή επίδρασης υδατικού εκχυλίσματος του *M. azedarach* στο βιολογικό κύκλο των προνυμφών *M. incognita* και *M. javanica* 47
4.5.3 Δοκιμή επίδρασης αλεσμένου ξύλου του *A. altissima*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* 48
4.5.4 Δοκιμές επίδρασης υδατικού εκχυλίσματος του ξύλου του *A. altissima* στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* 49
4.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ 50

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 52

5.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 52
5.1.1 Επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος των καρπών του *M. azedarach* στην κινητικότητα των προνυμφών δευτέρου σταδίου ανάπτυξης των *M. incognita* και *M. javanica* 52
5.1.2 Επίδραση αλεσμένου καρπού του *M. azedarach*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* 55
5.2.3 Επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος των καρπών του *M. azedarach*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* 56
5.1.4 Επίδραση αλεσμένου ξύλου του *A. altissima*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* 59
5.1.5 Επίδραση υδατικού εκχυλίσματος του ξύλου του *A. altissima*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* 64
5.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ 68

Βιβλιογραφία 73

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στο πλαίσιο της έρευνας φυσικών ουσιών φυτικής προέλευσης με νηματωδοκτόνες ιδιότητες μελετήθηκε το βοτανικό είδος *Melia azedarach* L. (Meliaceae) και το βοτανικό είδος *Alianthus altissima* (Simaroubaceae) εναντίον των κομβονηματωδών *M. incognita*. Αλεσμένοι καρποί του *M. azedarach* καθώς και σκόνη του ξύλου του *A. altissima* χρησιμοποιήθηκαν σε βιοδοκιμή για τη μελέτη της επίδρασης τους στο βιολογικό κύκλο των νηματωδών *M. incognita* (πειράματα σε φυτοδοχεία με φυτά τομάτας), όπως και τα αντίστοιχα υδατικά τους διαλύματα από τους καρπούς και το ξύλο. Επίσης, εφαρμόζοντας υδατική εκχύλιση του καρπού της μελίας δοκιμάστηκε προηγουμένως η πρόκληση παράλυσης σε προνύμφες J2 των *M. incognita* και *M. javanica*.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, αυξάνοντας την ενσωματωμένη ποσότητα αλεσμένου καρπού μελίας μειώθηκε η προσβολή από *M. incognita*. Συγκεκριμένα, ενσωμάτωση 0,1 % αλεσμένων καρπών μείωσε τον αριθμό των θηλυκών ατόμων κατά περίπου 21%, ενώ ενσωμάτωση 0,4% w/w παρουσίασε 50% μείωση των θηλυκών νηματωδών. Το υδατικό εκχύλισμα των καρπών του *M. azedarach*, παρουσίασε αξιόλογη νηματωδοκτόνο δράση από τη συγκέντρωση 0,125% w/v (1250 mg/L) στους ελέγχους κινητικότητας, ενώ η τιμή EC_{50} στα πειράματα στα φυτοδοχεία υπολογίστηκε στο 1,152% w/w. Αντίστοιχα, η τιμή EC_{50} που υπολογίστηκε για τη σκόνη του ξύλου του *A. altissima* ήταν 0,195% w/w, παρουσιάζοντας ισχυρότερη δράση σε σχέση με αυτή των καρπών της μελίας.

Αυτή είναι η πρώτη αναφορά επίδρασης του υδατικού εκχυλίσματος του *M. azedarach* σε κομβονηματώδεις *M. incognita* και *M. Javanica,* όπως και η πρώτη φορά που πραγματοποιούνται πειράματα βιοδοκιμών σε φυτοδοχεία με τη σκόνη του ξύλου και το υδατικό εκχύλισμα του *A. altissima* και θέτει ενδιαφέρουσες προοπτικές χρήσης τους, στο πλαίσιο μιας περιβαλλοντικά προσανατολισμένης καταπολέμησης των εχθρών (νηματωδών) των φυτών.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

«Evaluation of nematicidal activity of plant extracts and powder in tomato plants»

ABSTRACT

In this study, two botanical species were studied for their nematicidal activity against the root-knot nematodes *Meloidogyne incognita*. *Melia azedarach* (Meliaceae) fruit powder and *Alianthus altissima* (Simaroubaceae) wood powder as well as their corresponding aqueous solutions were used in bioassays to study their nematicidal activity on the biological cycle of *M. incognita* (experiments in pots with tomato plants). Previously, aqueous extract of *M. azedarach* fruit of was tested for its paralysis ability of J2 larvae *M. incognita* και *M. javanica*.

Increasing the incorporated amount of *M. azedarach* fruit powder decreased the *M. incognita* infestation of tomato roots. Specifically, incorporation of 0.1% w/w powder reduced by 21% the number of females while incorporation of 0.4% w/w resulted in 50% reduction of female nematodes. The aqueous extract of *M. azedarach* fruit powder showed significant nematicidal activity with 0.125% w/v (1250 mg/L) in mobility tests, while the EC_{50} value in the pot experiments was estimated at 1.152% w/w. The EC_{50} value calculated for *A. altissima* wood powder was 0.195% w/w, showing greater activity compared with that of the *M. azedarach* fruit powder (EC_{50} value 0,378% w/w).

This is the first report of the effect of aqueous extract of *M. azedarach* in root-knot nematodes *M. incognita* and *M. javanica*. Additionally, these are the first experiments using bioassays in pots with *A. altissima* wood powder and aqueous extract and raises possibly use in Integrated Pest Management protocols.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η γνώση της ύπαρξης των νηματωδών είναι τόσο παλιά όσο και η ιστορία του ανθρώπου. Οι νηματώδεις ως ζωικά παράσιτα αναφέρονται στις πρώτες Αιγυπτιακές γραφές 4.000 χρόνια π.Χ. Προσβάλλουν το ανθρώπινο σώμα και ιδιαίτερα τα πόδια και τους βραχίονες προκαλώντας φλεγμονές και έντονους πόνους. Οι νηματώδεις των ζώων ήταν γνωστοί από την εποχή του Αριστοτέλη (384-322 π.Χ.) (Storer and Usinger, 1965), ενώ στους μετέπειτα αιώνες αναφέρονται από διάφορους συγγραφείς στην ιατρική και ζωολογία.

Η ύπαρξη αντίθετα των φυτοπαρασιτικών νηματωδών ήταν άγνωστη μέχρι τον 17ο αιώνα. Και αυτό λόγω του μικροσκοπικού τους μεγέθους (0,3 -10mm) και του τρόπου διαβίωσης, μέσα στο έδαφος ή μέσα και έξω από τους φυτικούς ιστούς. Η πρώτη αναγνώρισή τους έγινε από τον Needham (1743), ο οποίος βρήκε και περιέγραψε τον νηματώδη του σιταριού, τον γνωστό σήμερα ως *Anguina tritici*. Το γεγονός αυτό αποτέλεσε την πρώτη αποδεδειγμένη καταγραφή ότι οι νηματώδεις μπορούν να προκαλέσουν ασθένεια στα φυτά.

Η λέξη Νηματώδης, (Nematoda ή Nematelminthes) προήλθε από την ελληνική λέξη **«νήμα»** (thread ή threatworms). Οι νηματώδεις ανήκουν στο Ζωικό Βασίλειο, Υποβασίλειο Metazoa, Φύλο Nematoda (Chitwood et al., 1959) και αποτελούν την πολυπληθέστερη και πιο ευμετάβολη ομάδα από τα Μετάζωα, μετά τα Αρθρόποδα.

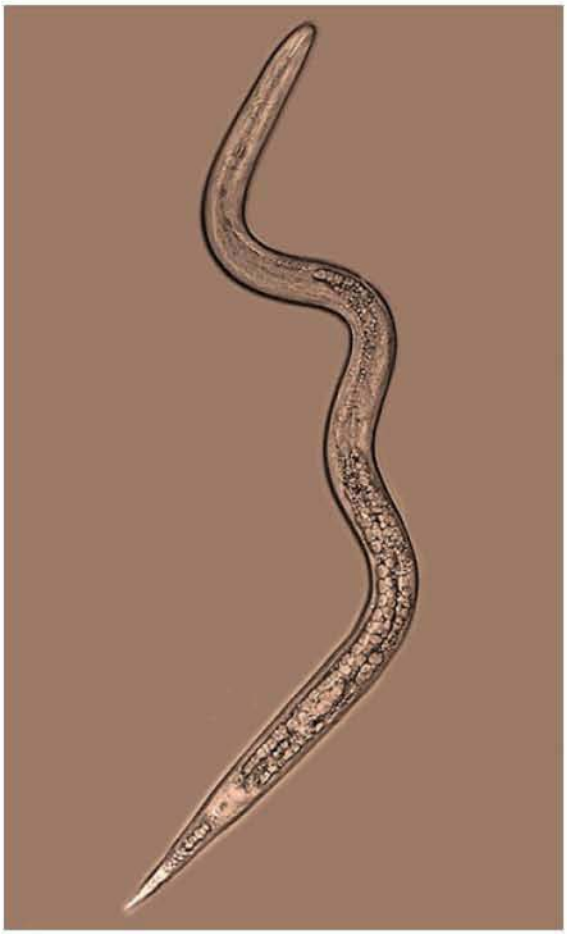
Η διάδοσή τους στη γη είναι ευρεία από τη δυνατότητα που έχουν να προσαρμόζονται και να ζουν λόγω της εσωτερικής και εξωτερικής μορφολογίας τους, όπου μπορεί να υπάρξει ζωή (Hirschmann, 1960). Μερικοί είναι μεταναστευτικά εκτοπαράσιτα και ζουν έξω από τη ρίζα των ξενιστών τους, άλλοι είναι μεταναστευτικά ενδοπαράσιτα και ζουν στο εσωτερικό της ρίζας του ξενιστή τους, και άλλοι είναι μη μεταναστευτικοί και ζουν εντός της ρίζας σε συγκεκριμένο σημείο όπου τρέφονται και αναπαράγονται (Raaijmakers et al., 2009).

Ιστορικά, η ταξινόμηση του γένους νηματωδών *Meloidogyne* (Εικόνα 1) μπορεί να χωριστεί σε τρείς βασικές περιόδους. Κατά τη διάρκεια της πρώτης (1855-1878) είχε απλά παρατηρηθεί μια συσχέτιση μεταξύ των κόμβων και των νηματωδών. Στη μακρά περίοδο που ακολούθησε (1879-1948) επικράτησε μια γενικότερη

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

σύγχυση αφού οι κομβονηματώδεις είχαν καταταχθεί στο γένος των κυστωδών νηματωδών (*Heterodera*; Schmidt, 1871). Κατά την τρίτη περίοδο, εντάχθηκαν για πρώτη φορά σε ξεχωριστό γένος (*Meloidogyne*; Chitwood, 1949) του οποίου πολλά είδη περιγράφηκαν και ταξινομήθηκαν (Karssen, 2002).

Για την κατάταξη των ειδών, αρχικά χρησιμοποιήθηκε αποκλειστικά το απλό μικροσκόπιο. Το 1977 χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά η ηλεκτρονική μικροσκοπία για σκοπούς ταυτοποίησης του κομβονηματώδη *M. propora* από τον Spaull (Karssen, 2002). Σήμερα η ταυτοποίηση γίνεται βάση ευρωπαϊκής νομοθεσίας που αφορά τα υλικά και τις μεθόδους (Franklin 2008), ενώ παράλληλα με την ταυτοποίηση βάση των μορφολογικών χαρακτηριστικών χρησιμοποιούνται και μέθοδοι υψηλής ευαισθησίας και ακρίβειας, όπως η ανάλυση DNA (Adam et al., 2006; Tesarova et al., 2003; Adam et al., 2005) και τα ισοένζυμα (Xu et al., 2004).



Εικόνα 1. Νηματώδης του γένους *Meloidogyne* spp.
(http://www.rsyst.inra.fr/en/content/nematodes)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

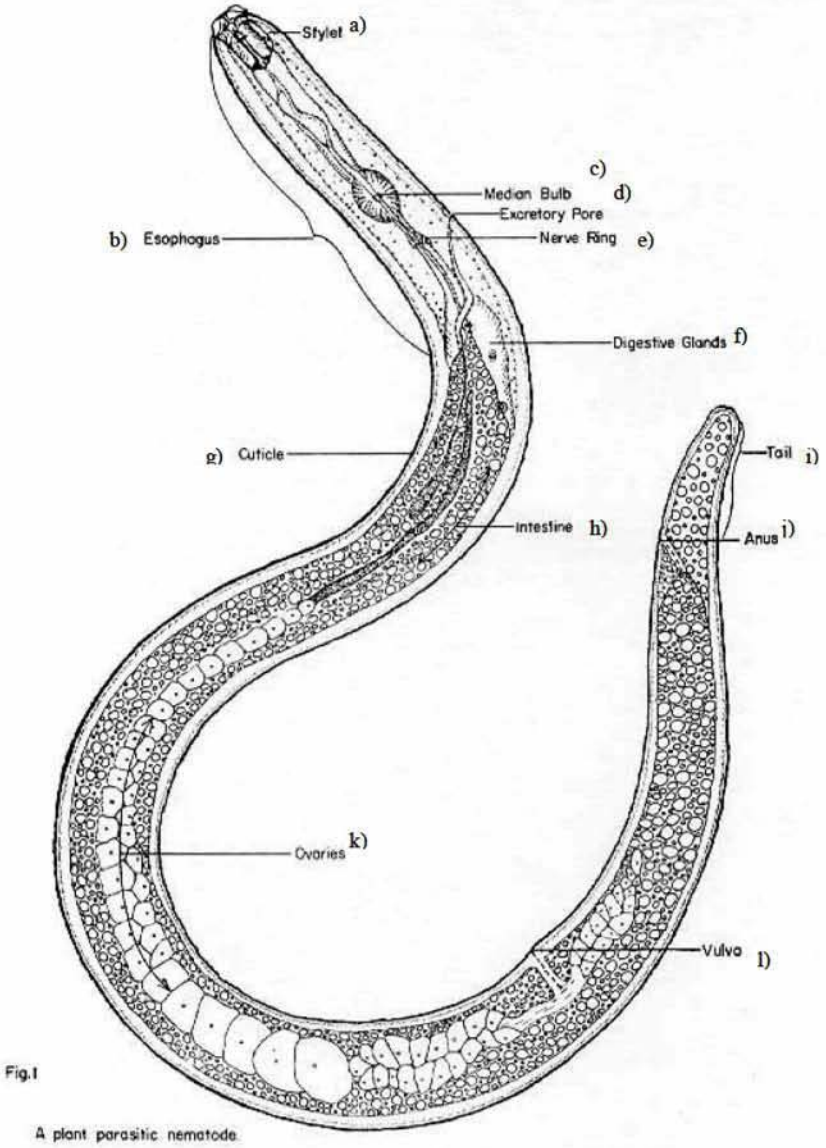
Από τα περισσότερα των 40 ειδών του γένους *Meloidogyne* που έχουν περιγραφεί, 4 έχουν θεωρηθεί ως τα πιο σημαντικά και βρέθηκαν στα ακόλουθα ποσοστά: *M. incognita* 47%, *M. javanica* 40%, *M. arenaria* 7% και *M. hapla* 6% (σύμφωνα με την αναγνώριση 662 πληθυσμών από 76 χώρες με βάση το International Meloidogyne Project) (Sasser, 1980). Η συστηματική ταξινόμηση της συγκεκριμένης οικογένειας φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1).

Πίνακας 1. Ταξινόμηση των κομβονηματωδών M. *incognita* και M. *javanica*.

Βασίλειο	**Animalia**
Φύλο	**Nematoda**
Κλάση	**Secernentea**
Τάξη	**Tylenchida**
Οικογένεια	**Heteroderideae**
Γένος	***Meloidogyne***
Είδος	***M. incognita, M. javanica***

Το εύρος ξενιστών των κομβονηματωδών ανέρχεται στα 5500 φυτικά είδη, μονοκοτυλήδονα και δικοτυλήδονα, αντιπροσωπεύοντας το οικονομικά πιο καταστρεπτικό γένος φυτοπαρασιτικών νηματωδών, όσον αφορά στην αγροτική παραγωγή σε παγκόσμια κλίμακα (Trudgil and Blok, 2001).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167



Εικόνα 2 . Μορφολογία νηματώδη. a) Στιλέτο, b) Οισοφάγος, c) Μεσαίος οισοφαγικός βολβός, d) Πόρος απέκκρισης, e) Νευρικός δακτύλιος, f) Πεπτικοί αδένες, g) Επιδερμίδα, h) Έντερο, i) Έδρα, j) Ουρά, k) Ωοθήκες, l) Κολεός
(http://entnemdept.ufl.edu/creatures/nematode/soil_nematode.htm)

1.2 ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΗΣ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΑΠΟ ΚΟΜΒΟΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις αποτελούν αναμφίβολα έναν από τους πιο σημαντικούς εχθρούς της παγκόσμιας αγροτικής παραγωγής. Συχνά γίνονται αιτία εγκατάλειψης της καλλιεργούμενης γης κυρίως στις τροπικές περιοχές όπου "κουρασμένα" εδάφη καλλιεργούνται για μεγάλα χρονικά διαστήματα με φυτά

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

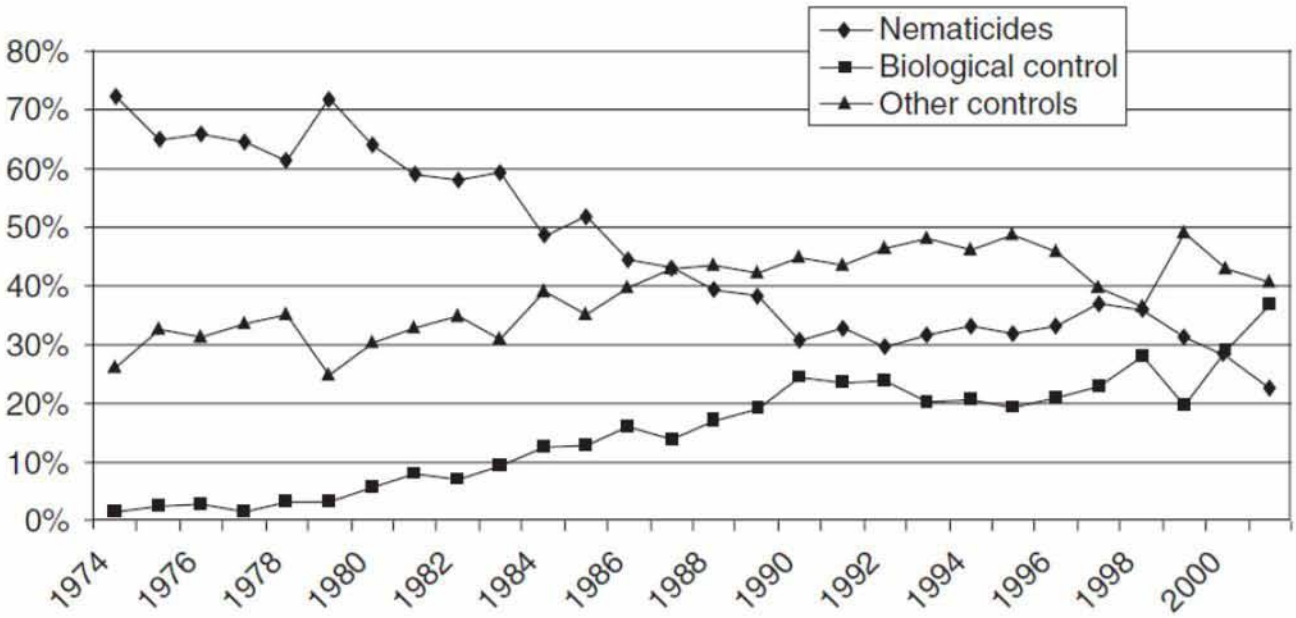
ευαίσθητα στους νηματώδεις. Από εκτιμήσεις 371 νηματωδολόγων που αντιπροσώπευαν 75 χώρες υπολογίστηκαν οι απώλειες στις καλλιέργειες σε 14,6% στις αναπτυσσόμενες χώρες και 8,8% στις αναπτυγμένες χώρες. Οι οικονομικές απώλειες υπερβαίνουν τα 100 δισεκατομμύρια δολάρια ανά έτος και περισσότερα από 225 εκατομμύρια δολάρια ξοδεύονται ετησίως για την αντιμετώπιση των νηματωδών σε καλλιέργειες υψηλού κέρδους (στοιχεία του 1984) (Webster, 1980; Brady, 1985).

Σε παγκόσμια βάση, το γένος *Meloidogyne* είναι το σημαντικότερο θεωρώντας τις ζημιές που προκαλεί στην αγροτική παραγωγή. Περισσότερα από 2.000 διαφορετικά είδη φυτών συμπεριλαμβανομένων μονοκότυλων, δικότυλων, φυλλωδών και ξυλωδών φυτών παρασιτίζονται από είδη του γένους *Meloidogyne*. Στο γένος αυτό ανήκουν 60 περίπου διαφορετικά είδη (Eisenback and Triantaphyllou, 1991). Τα είδη *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria* και *M. halpa* είναι τα πλέον διαδεδομένα σε παγκόσμια κλίμακα, και έχουν μεγάλο εύρος ξενιστών, που περιλαμβάνει πολλές καλλιέργειες λαχανικών. Στις Μεσογειακές χώρες αντιπροσωπεύουν το κύριο παθογόνο εδάφους των θερμοκηπιακών καλλιεργειών.

Οι αγρότες στις αναπτυσσόμενες χώρες αντιμετωπίζουν σημαντικές απώλειες και οι όγκοι που σχηματίζονται από τον νηματώδη στις ρίζες των προσβεβλημένων φυτών θεωρούνται συχνά λανθασμένα ως "φυσιολογικοί" (Sasser, 1989).

Γενικά οι νηματώδεις όταν βρεθούν σε ευνοϊκές συνθήκες, όπως είναι αυτές που επικρατούν για πολύ χρόνο στα θερμοκήπια, και δεν καταπολεμηθούν, μπορούν όχι μόνο να μειώσουν την παραγωγή αλλά να καταστρέψουν την καλλιέργεια. Πολλές ζημιές παρουσιάζονται συχνά σε αγρούς, που καλλιεργούνται για πολλά χρόνια με τις ίδιες ευπαθείς καλλιέργειες. Από τους νηματώδεις των ριζόκομβων, καθώς και από άλλα είδη έχουμε συχνά προβλήματα στα φυτώρια των οπωροφόρων δένδρων, στους οπωρώνες, και σε άλλες καλλιέργειες αφού μόνον οι νηματώδεις *Meloidogyne* προσβάλλουν γύρω στα 2.000 καλλιεργούμενα και μη φυτά.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167



Εικόνα 3. Σύγκριση του αριθμού των δημοσιεύσεων σχετικά με νηματωδοκτόνα, βιολογική καταπολέμηση και άλλες μεθόδους καταπολέμησης φυτοπαρασιτικών νηματωδών για την περίοδο 1974-2001 (Sikora et al., 2005).

Η μείωση των αποδόσεων και η ποιοτική υποβάθμιση δύσκολα μπορούν να εκτιμηθούν και να αποδοθούν επακριβώς στους νηματώδεις. Στη χώρα μας τα αποτελέσματα από τη χρήση σκευασμάτων μικρού και μεγάλου φάσματος αποδεικνύουν πολλές φορές την σοβαρή συμμετοχή των νηματωδών στη μείωση των αποδόσεων καλλιεργειών υψηλής προσόδου σε ποσοστά 5-50% (Κύρου, 1979).

Τα σύμπλοκα των κομβονηματωδών με μύκητες του εδάφους, όπως *Fusarium oxysporum* και *Rhizoctonia solani*, αυξάνουν τη σοβαρότητα της προσβολής και τις απώλειες της παραγωγής, μειώνοντας την ανθεκτικότητα του φυτού ξενιστή (Back et al., 2002). Για παράδειγμα, 4750 προνύμφες *M. javanica* ανά 250 cm3 εδάφους, προκάλεσε μείωση της παραγωγής σε επίπεδο 36 και 61% σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια μαρουλιού και τομάτας αντίστοιχα, και β) 1100 προνύμφες *M. javanica* ανά 250 cm^3 εδάφους, προκάλεσε απώλεια παραγωγής σε καλλιέργεια αγγουριού 60% (Ornat and Sorribas, 2008). Η οικονομική σημασία της προσβολής από *Meloidogyne* spp. για μια δεδομένη γεωγραφική περιοχή εξαρτάται από τη συχνότητα προσβολής και τα σχετικά επίπεδα του πληθυσμού σε σχέση με τα όρια αντοχής της καλλιέργειας, (επίπεδο της προσβολής που δεν προκαλεί οικονομική ζημιά), όπου αυτά έχουν προσδιοριστεί. Για παράδειγμα, σε πειράματα σε φυτοδοχεία τα όρια

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

αντοχής στο είδος *M. incognita* για την καλλιέργεια της μελιτζάνας, της τομάτας, της αγκινάρας, της πιπεριάς και του λάχανου είναι αντίστοιχα 0,054, 0,55, 1,1, 0,3 και 0,5 αυγά και προνύμφες ανά cm^3 εδάφους (Ornat and Sorribas, 2008).

1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Η αναπαραγωγή του γένους *Meloidogyne* γίνεται με μιτωτική παρθενογένεση. Σε συνθήκες που δεν ευνοούν μεγάλο πληθυσμό των νηματωδών, οι προνύμφες μετατρέπονται σε ενήλικα αρσενικά τα οποία δεν τρέφονται από το φυτό, για την αποφυγή του ενδοειδικού ανταγωνισμού (Davide and Triantaphyllou, 1967).

Οι νύμφες του γένους των ριζοκόμβων *(Meloidogyne* spp.) αφού υποστούν μέσα στο αυγό μια αποδερμάτωση (έκδυση), εκκολάπτονται και διαπερνούν με το στιλέτο τους τα λεπτά ριζίδια του φυτού - ξενιστή τρεφόμενες για αρκετό καιρό σαν ενδοπαράσιτα σε γιγαντιαία κοινά κύτταρα. Οι νύμφες που θα εξελιχθούν σε θηλυκά αλλάζουν διάπλαση και από σκωληκόμορφες, μετατρέπονται σε κύστες με λευκό μαργαριταρένιο χρώμα (Εικόνα 4). Τα ανεπτυγμένα θηλυκά εναποθέτουν τα αυγά τους σε μια ζελατινώδη μάζα (ωοσάκκο) συνήθως έξω από τον ριζικό ιστό (Εικόνα 5).

Εικόνα 4. Ενήλικος θηλυκός κομβονηματώδης. (www.wikipedia.com)

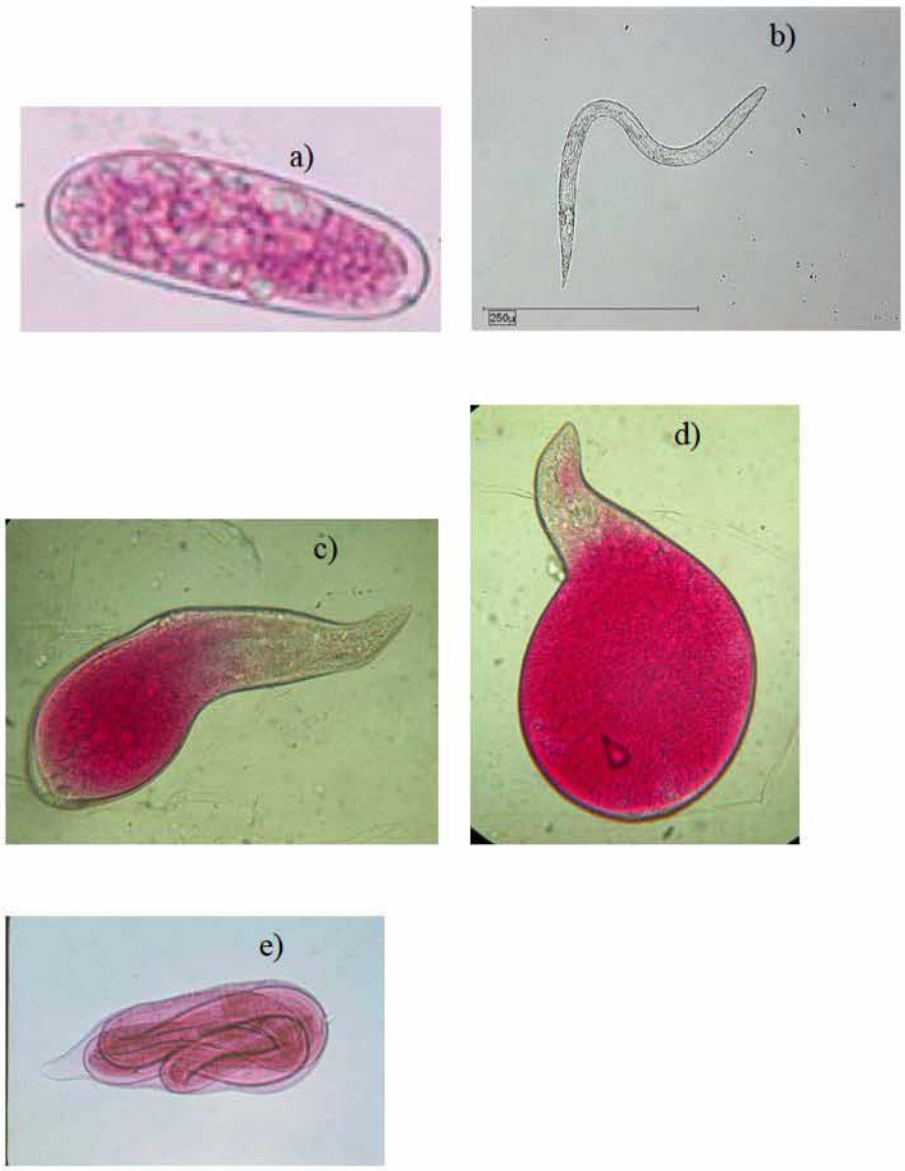
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Εικόνα 5. Ωόσακκος του νηματώδη *M. incognita* (http://keys.lucidcentral.org)

Το ζελατινώδες υλικό φυσιολογικά είναι άχρωμο και με την πάροδο του χρόνου παίρνει σκοτεινό χρωματισμό ενώ το σώμα των λευκών θηλυκών αποσυντίθεται γρήγορα. Οι κύστες αυτές παίρνοντας την τελική τους ανάπτυξη θραύουν τον ριζικό ιστό και εξέρχονται στην επιφάνεια των ριζιδίων. Εκεί το μητρικό σώμα μετατρέπεται σε ανθεκτική δερματοποιημένη κύστη και γεμάτη αυγά αποσπάται και πέφτει στο έδαφος. Τα αυγά έχουν σχετικά ανθεκτικό κέλυφος που προστατεύει τον μικρό νηματώδη (νύμφη) από τις δυσμενείς συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον. Για ορισμένα είδη τα αυγά μπορεί να μείνουν στον αγρό για πολλούς μήνες ή και για χρόνια ακόμη, όπως στους κυστογόνους νηματώδεις της πατάτας και των ζαχαρότευτλων.

Οι μικροί νηματώδεις τρέφονται, μεγαλώνουν και αφού υποστούν συνολικά 4 εκδύσεις (Juvenile 1, J2, J3 και J4) (Εικόνα 6), διαμέσου των οποίων εξελίσσεται το αναπαραγωγικό τους σύστημα, παίρνουν την τελική τους ανάπτυξη και πολλαπλασιάζονται. Η πρώτη έκδυση γίνεται συνήθως μέσα στο αυγό, πριν την εκκόλαψη.

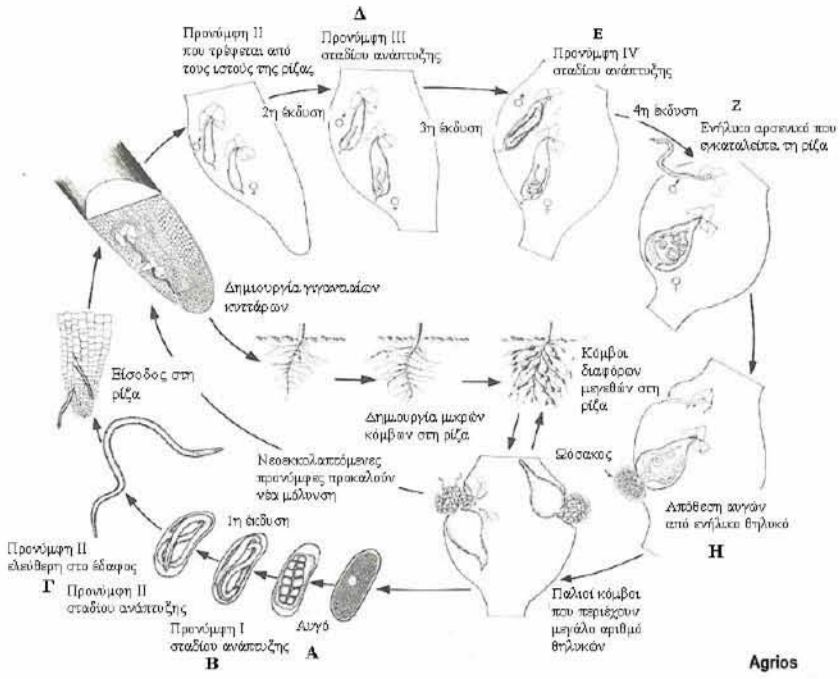
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167



Εικόνα 6. Τα τέσσερα στάδια του νηματώδη. a) Αυγό (Προνύμφη 1ου σταδίου), b) Προνύμφη 2ου σταδίου (Στάδιο προσβολής των ριζών), c) Προνύμφη 3ου σταδίου , d) Προνύμφη 4ου σταδίου (θηλυκό), e) Προνύμφη 4ου σταδίου (αρσενικό).
(http://www.cals.ncsu.edu/pgg/dan_webpage/Nematodes/Endos/Meloidogyne.html)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Ο βιολογικός κύκλος φαίνεται συνοπτικά στην παρακάτω εικόνα (Εικόνα 7).



Εικόνα 7. Βιολογικός κύκλος των κομβονηματωδών *Meloidogyne* spp. Α. Διαφοροποιήμενο αυγό (πέντε κυττάρων), Β. Αυγό που εμπεριέχει προνύμφη πρώτου σταδίου ανάπτυξης, Γ. Προνύμφη δεύτερου σταδίου ανάπτυξης (μολυσματικό στάδιο), Δ. Προνύμφη τρίτου σταδίου ανάπτυξης, Ε. Προνύμφες τέταρτου σταδίου ανάπτυξης πλήρως διαφοροποιημένες φυλετικά, Ζ. Ενήλικο θηλυκό και αρσενικό, Η. Ενήλικο θηλυκό που έχει ωοτοκήσει σε ωόσακκο και ενήλικο αρσενικό. (http://www.cals.ncsu.edu/pgg/dan_webpage/Nematodes/Endos/Meloidogyne.html)

Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου εξαρτάται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος. Η θερμοκρασία είναι ο κύριος παράγοντας για την ανάπτυξη των εμβρύων, την εκκόλαψη, την είσοδο στα φυτά, την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή. Εκτός από την θερμοκρασία αρκετοί άλλοι παράγοντες όπως η υγρασία, το φως, η ποιότητα του φυτού ξενιστή, η σύσταση του εδάφους, η ύπαρξη κατάλληλου ξενιστή και η ωσμωτική πίεση επηρεάζουν επίσης την βιολογία του νηματώδη και την σοβαρότητα της ασθένειας των φυτών που προσβάλλονται (Hussey, 1985; Van Gundy, 1985).

Απαραίτητα στοιχεία για την επιβίωση των φυτοπαρασιτικών νηματωδών είναι το νερό και το οξυγόνο. Έτσι, σε πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, κάτω των 10°C ή πάνω από 30°C σε χαμηλή ή υπερβολική υγρασία, σε βαρύ αργιλώδες ή σε ελαφρό

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

αμμώδες έδαφος, καθώς και σε έλλειψη κατάλληλων φυτών ξενιστών, οι νηματώδεις περιορίζουν την δραστηριότητά τους ή αδρανοποιούνται τελείως.

Ειδικά για τους νηματώδεις των ριζόκομβων, που είναι από τους πιο κοινούς, ο βιολογικός τους κύκλος διαρκεί από 21 ημέρες έως πολλούς μήνες, ανάλογα με τη θερμοκρασία και την ύπαρξη ή μη φυτών ξενιστών. Σε θερμοκρασία κοντά στους 26,5°C η ωρίμανση και η εκκόλαψη γίνεται σε διάστημα 25 ημερών, ενώ σε 16,5 °C σε 87 ημέρες. Οι νηματώδεις των ριζόκομβων ευνοούνται στις θερινές θερμές περιόδους, ενώ αντίθετα περιορίζουν ή παύουν κάθε δραστηριότητα κατά τις χειμερινές περιόδους, σε εδαφικές θερμοκρασίες κάτω των 13°C (2-10°C).

1.3.1 Πυκνότητα πληθυσμών – Ικανότητα αναπαραγωγής

Η ικανότητα αναπαραγωγής των φυτοπαρασιτικών νηματωδών είναι πολλές φορές αξιοσημείωτη. Ένα μόνο θηλυκό άτομο του γένους *Meloidogyne*, των ριζόκομβων μπορεί να παράγει περισσότερα από 2.000 αυγά (Williams, 1968).

Μετρήσεις πληθυσμών νηματωδών, που έγιναν σε καλλιεργούμενα εδάφη μεγάλης γονιμότητας έδωσαν πληθυσμούς μέχρι και 20 χιλιάδες εκατομμύρια στο στρέμμα. Οι περισσότεροι νηματώδεις βρίσκονται στα πάνω στρώματα του εδάφους, σε βάθος 25 έως 40 εκατοστά (cm) γύρω από την ριζόσφαιρα. Πολλοί όμως μπορούν να φθάσουν, και σε μεγαλύτερα βάθη γύρω από τις βαθιές φυτικές ρίζες (2,5 έως 3,5m) (Wallace, 1963). Ο αριθμός των νηματωδών, που προσβάλλουν τις ρίζες των φυτών μπορεί να είναι τεράστιος.

Η θερμοκρασία του εδάφους είναι ο πλέον σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει το βιολογικό κύκλο των *Meloidogyne.* Συγκεκριμένα η διάρκειά του βιολογικού κύκλου μπορεί να εκφραστεί ως η συσσωρευμένη θερμοκρασία πάνω από ένα ελάχιστο όριο, ονομάζεται “thermal time” και έχει μελετηθεί ιδιαίτερα. Τα είδη του γένους *Meloidogyne* χρειάζονται περίπου 11500 με 13300 μονάδες θερμότητας (ημεροβαθμούς) για να συμπληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο.

Μερικά είδη μόλις χαθεί το νερό σταματούν την δραστηριότητά τους και πεθαίνουν, ενώ άλλα σε ορισμένα στάδια μπορούν να αντέξουν τόσο στην ξηρασία όσο και στις πολύ χαμηλές θερμοκρασίες μένοντας αδρανή για μεγάλο χρονικό διάστημα. Έτσι π.χ. ο νηματώδης του στελέχους (*Ditylenchus dipsaci)* μπορεί να επιζήσει σε ξηρό περιβάλλον περισσότερο από 20 χρόνια (Fielding, 1951) ενώ

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

επιβιώνει για 20 λεπτά σε θερμοκρασία 80°C κάτω από το μηδέν (Bosher and Mckeen, 1954).

Πληθυσμοί των *Meloidogyne spp*. έχουν βρεθεί σε βάθη μέχρι 85cm. Στην Β. Καρολίνα είδη αυτού του γένους βρίσκονται κυρίως σε βάθος άνω των 30cm. Σε μερικές όμως περιοχές μπορούν να βρεθούν σε βάθος 150-400cm.

1.3.2 Διασπορά πληθυσμών νηματωδών

Οι νηματώδεις συνήθως μόνοι τους δεν μπορούν να κινηθούν περισσότερο από λίγα εκατοστά του μέτρου, μέσα σε ελάχιστη ποσότητα νερού. Η διάδοση τους από μια περιοχή σε άλλη γίνεται με τους εξής τρόπους:

- Με την μεταφορά μολυσμένου χώματος, φυτών και φυτικών προϊόντων.

Κάθε μέσο μεταφοράς (αεροπλάνα, πλοία, τραίνα, αυτοκίνητα) μπορεί να βοηθήσει την εξάπλωσή τους. Επίσης τα υποδήματα των εργατών, τα εργαλεία, οι σάκοι, τα ζώα, τα τρακτέρ, οι θεριζοαλωνιστικές μηχανές κλπ.

- Με τη φύτευση μολυσμένων σπόρων, κονδύλων, βολβών, φυταρίων, δενδρυλλίων κλπ.
- Με το νερό της βροχής και των αρδεύσεων, με τις πλημμύρες.
- Με τις ανεμοθύελλες, που μπορούν να διασπείρουν τόσο τα αυγά όσο και τις κύστες των νηματωδών.
- Με τα έντομα.

1.4 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΤΗΣ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ ΚΑΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΤΗΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ

Οι κόμβοι που σχηματίζονται στη ρίζα των προσβεβλημένων από κομβονηματώδεις φυτών είναι το πιο χαρακτηριστικό σύμπτωμα. Το μέγεθος του κόμβου εξαρτάται από το επίπεδο του μολύσματος και την αντίδραση του ξενιστή (Εικόνα 8).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Εικόνα 8. Προσβολή φυτού τομάτας από κομβονηματώδεις. (http://www.kyttaro.net)

Οι ζημιές που προκαλούνται από τους νηματώδεις στα φυτά μπορεί να είναι:

1. Μηχανικές. Δηλαδή βλάβες που προκαλούνται από τον τρόπο που προσβάλλουν οι νηματώδεις με το στιλέτο τους τον ιστό του φυτού ή από την κίνησή τους ανάμεσα ή μέσα στα κύτταρα του φυτού.
2. Νεκρώσεις. Επιδερμικές ή κυτταρικές που προκαλούνται κατά τον παρασιτισμό από δευτερογενή αίτια (ένζυμα, παθογόνα) ή κατά την είσοδο ορισμένων ειδών νηματωδών μέσα στους φυτικούς ιστούς.
3. Μολύνσεις. Διάφορες ιώσεις ή άλλες ασθένειες μπορούν να μεταδοθούν στα φυτά κατά τον παρασιτισμό τους, από διάφορα είδη νηματωδών. Οι ασθένειες αυτές μπορεί να είναι πιο καταστρεπτικές από τους νηματώδεις.
4. Παρακμή του φυτού. Από την απορρόφηση των χυμών του φυτού για την διατροφή των παράσιτων.

Η μόλυνση των φυτών από κομβονηματώδεις σε νεαρό στάδιο ανάπτυξης μπορεί να προκαλέσει θάνατο, ενώ μόλυνση σε μεταγενέστερα στάδια μειώνει απλά την παραγωγή της καλλιέργειας (Ornat and Sarribas, 2008).

Την προσβολή των νηματωδών στα φυτά μπορούμε να υποψιαστούμε, όταν μέσα στην καλλιέργεια εμφανίζονται κηλίδες με φυτά πτωχής ανάπτυξης και ασθενικά, σε σύγκριση με άλλα σποραδικά υγιή φυτά, με μεγάλη και ζωηρή ανάπτυξη. Στις

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

περιπτώσεις, που οι νηματώδεις προσβάλλουν το υπόγειο μέρος των φυτών, τα συμπτώματα στο υπέργειο μέρος του φυτού μοιάζουν με εκείνα που προκαλούνται, όταν οι ρίζες του φυτού δεν λειτουργούν καλά ή όταν λείπουν ορισμένα θρεπτικά συστατικά (τροφοπενίες).

Οι σχηματιζόμενοι κόμβοι στο ριζικό σύστημα δεν επιτρέπουν την καλή πρόσληψη και κυκλοφορία του νερού, των θρεπτικών συστατικών και των προϊόντων της φωτοσύνθεσης που είναι απαραίτητα για την ανάπτυξη του φυτού. Το γεγονός αυτό έχει ως αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξης, τα συμπτώματα ανεπαρκούς θρέψης και μάρανσης στα φύλλα, το κιτρίνισμα και τη νέκρωση, τη μείωση της άνθισης, της καρποφορίας και του μεγέθους των καρπών. Τα συμπτώματα του υπέργειου τμήματος, στον αγρό εμφανίζονται κατά κηλίδες (Εικόνα 7).

Εικόνα 7. Η προσβολή παρουσιάζεται κατά κηλίδες. (http://www.gkbioculture.gr)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

Στο παρόν κεφάλαιο περιγράφονται οι κυριότερες μέθοδοι και μέτρα καταπολέμησης των κομβονηματωδών. Σήμερα με την έρευνα και εκπαίδευση αντιμετωπίζονται με επιτυχία ορισμένοι νηματώδεις. Η επιλογή των πιο κατάλληλων μεθόδων για την έγκαιρη και σωστή διάγνωση και αντιμετώπισή τους σ' ένα σύστημα ολοκληρωμένης καταπολέμησης είναι έργο ειδικά εκπαιδευμένων νηματωδολόγων. Οι μέθοδοι αυτές πρέπει να είναι αποτελεσματικές, οικονομικές και με την μικρότερη κατά το δυνατό δυσμενή επίδραση στο περιβάλλον.

Όταν αντιμετωπίζονται προβλήματα από νηματώδεις είναι απαραίτητο να προσδιοριστεί το είδος του νηματώδη. Αυτό συμβαίνει γιατί τα διάφορα είδη νηματωδών έχουν διαφορετικό τρόπο ζωής, διαφορετικές ιδιότητες και συνήθειες, πάνω στις οποίες βασίζεται και η καταπολέμησή τους. Γι' αυτό το λόγο η μακροσκοπική εξέταση πρέπει να συμπληρώνεται και με εργαστηριακή.

Καλό είναι αρχικά να καθορίζεται το μέγεθος του πληθυσμού των νηματωδών, που προκαλεί οικονομικές ζημιές και πόσο αυτό το σημείο (threshold) επηρεάζεται από τις τοπικές συνθήκες (εδαφικός τύπος, εδαφική υγρασία, καλλιεργούμενα είδη) (Hooper and Evans, 1993; Barker and Noe, 1987).

Πρακτικά, δύο είναι οι βασικές κατευθύνσεις αντιμετώπισης των νηματωδών: Πρόληψη και Καταπολέμηση – Αντιμετώπιση.

2.1 ΠΡΟΛΗΨΗ

Για να προληφθεί ή να αποκλεισθεί η μόλυνση του αγρού από τους νηματώδεις θα πρέπει να τηρούνται τα παρακάτω:

1. Το πολλαπλασιαστικό υλικό, που θα χρησιμοποιηθεί, δηλαδή σπόροι, βολβοί, μοσχεύματα, κόνδυλοι, φυτάρια για μεταφύτευση, δενδρύλλια φυτωρίων να είναι απαλλαγμένα από νηματώδεις.
2. Να αποφεύγεται η χρησιμοποίηση γεωργικών εργαλείων ή χρήση άλλων υλικών, από περιοχές με μόλυνση, αφού προηγουμένως δεν απολυμάνθηκαν με θερμό νερό ή ατμό ή με ένα χημικό παρασκεύασμα.
3. Για την πρόληψη ή αποκλεισμό εισόδου επικίνδυνων νηματωδών σε μια αμόλυντη περιοχή θεσπίζονται νομοθετικά μέτρα για την διενέργεια

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

φυτουγειονομικού ελέγχου στα διακινούμενα φυτικά υλικά και μέσα συσκευασίας γεωργικών προϊόντων.

Όταν όμως, παρά τα μέτρα που παίρνονται, ο αγρός μολυνθεί, τότε θα πρέπει να παρθούν δραστικότερα μέτρα, για την αποφυγή ζημιών ή τον περιορισμό τους στο ελάχιστο.

2.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ

Όταν είναι γνωστά η βιολογία των νηματωδών, οι επιδράσεις του περιβάλλοντος και τα φυτά πάνω στα οποία μπορούν να διατραφούν και να αναπαραχθούν, τα παρακάτω μέτρα, που συνήθως είναι αδάπανα, μπορούν να παίξουν ένα σπουδαίο ρόλο στη μείωση του πληθυσμού τους.

a) Ανθεκτικές ποικιλίες

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις είναι υποχρεωτικά παράσιτα, με την έννοια ότι δε μπορούν να συμπληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο εάν δεν υπάρχουν ζωντανοί ξενιστές. Για να αναπτυχθεί μια παρασιτική σχέση μεταξύ νηματώδη και φυτού πρέπει ο νηματώδης με ένα τρόπο να εισβάλει στο φυτό-ξενιστή. Ο νηματώδης με το στιλέτο του ή ολόκληρος διαπερνά τα ζωντανά κύτταρα του ξενιστή για να τραφεί, να μεγαλώσει και να αναπαραχθεί. Όταν όλα αυτά εξελίσσονται χωρίς καμία δυσκολία το φυτό θεωρείται «ευπαθές». Εάν οποιοδήποτε χαρακτηριστικό του φυτού ή οποιαδήποτε αντίδραση, μεταξύ του ξενιστή και του παράσιτου επιβραδύνει ένα από τα παραπάνω περιστατικά (στάδια βιολογικής εξέλιξης), το φυτό θεωρείται «ανθεκτικό». Μια παρασιτική σχέση μεταξύ φυτού και παράσιτου όπως είναι φυσικό, προκαλεί στον ξενιστή κάποια ζημιά. Εάν δεν διαπιστώνεται ζημιά ή αυτή είναι ασήμαντη, το παράσιτο όμως συνεχίζει την ανάπτυξή του, το φυτό χαρακτηρίζεται «ανεκτικό». Εάν το φυτό δεν προσβάλλεται, ακόμη και σε μεγάλους αριθμούς νηματωδών, τότε θεωρείται «απρόσβλητο».

Η έκφραση της ανθεκτικότητας αφορά κατά κύριο λόγο στους φραγμούς εισόδου των νηματωδών στη ρίζα του ανθεκτικού φυτού ή σε άμυνες που σχετίζονται με τη θρέψη ή στην έκφραση αντίδρασης υπερευαισθησίας (Kaplan and Keen, 1980).

Στην περίπτωση της τομάτας η ανθεκτικότητα βασίζεται στο κυρίαρχο γονίδιο Mi, το οποίο έχει απομονωθεί από το άγριο είδος τομάτας *Lycopersicum peruvianum* και προσδίδει ανθεκτικότητα στο φυτό έναντι των ειδών *M. incognita*, *M. javanica*

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

και *M. arenaria*, ενώ έχει γίνει ενσωμάτωση του γονιδίου αυτού σε πολλές ποικιλίες (Miligan et al, 1998; Γιαννακού και Προφήτου – Αθανασιάδου, 2001). Όμως αυτή η έκφραση της ανθεκτικότητας έχει βρεθεί πως ανατρέπεται σε υψηλές τιμές εδαφικής θερμοκρασίας (>28°C), γεγονός που καθιστά ορθολογική τη χρήση τέτοιων ποικιλιών στη Μεσογειακή λεκάνη μόνο κατά την περίοδο της άνοιξης (Dropkin, 1969), όταν οι θερμοκρασίες είναι σχετικά πιο χαμηλές από εκείνες του καλοκαιριού.

Σήμερα έχουν δημιουργηθεί ανθεκτικές ποικιλίες σε διάφορα είδη φυτών σε ένα ή περισσότερα είδη νηματωδών. Στα πυρηνόκαρπα π.χ. (ροδακινιά, βερικοκιά, κερασιά, δαμασκηνιά), παρήχθησαν υποκείμενα ανθεκτικά ή απρόσβλητα σε ένα ή περισσότερα είδη νηματωδών του γένους *Meloidogyne (M. incognita, M.javanica).* Μερικά υποκείμενα πυρηνοκάρπων με διάφορο βαθμό ανθεκτικότητας στα παραπάνω είδη νηματωδών είναι τα: Nemaguard, Rancho Resistant S-37, Okinawa Royal (Blenheim) Myrobalan, Myrobalan 29C, Marianna 2624 Mahalep, Sour Cherry-Stockton Morello.

Ορισμένες ανθεκτικές ποικιλίες έχουν αναπτυχθεί και στην τομάτα όπως η Hawaii 5229, που είναι ανθεκτική σε 3 είδη από τους νηματώδεις των ριζόκομβων *M. incognita, M.javanica και M. arenaria.*

b) <u>Αμειψισπορά</u>

Όταν οι φυτοπαράσιτοι νηματώδεις δεν βρίσκουν τους ξενιστές τους, με την πάροδο του χρόνου, ο αριθμός τους στο έδαφος ελαττώνεται, ανάλογα με το είδος τους γιατί δεν τρέφονται, δεν πολλαπλασιάζονται και τελικά πεθαίνουν. Η διάρκεια της αμειψισποράς μπορεί να είναι ένα, δύο ή και περισσότερα χρόνια (4-6). Για παράδειγμα στην Κρήτη η παραγωγή των καλλιεργειών σολανωδών ευπαθών σε κομβονηματώδεις αυξάνεται κατά 60%, όταν έπονται ανθεκτικών ποικιλιών έναντι ευαίσθητων (Tzorzakakis et al., 2000). Αμειψισπορά με καλλιέργειες που φιλοξενούν νηματωδοβόρους μύκητες και βακτήρια αυξάνουν ακόμα περισσότερο την αποτελεσματικότητα της μεθόδου (Hildalgo-Diaz and Kerry, 2008).

Τέλος για την αμειψισπορά μπορούν να χρησιμοποιούνται καλλιέργειες που δρουν ανταγωνιστικά ως προς τους νηματώδεις μετά από ενσωμάτωση της φυτικής μάζας τους στο έδαφος, όπως τα είδη *Tagetes* και *Brassicae*, συνδυάζοντας και τη βιοαπολύμανση σαν μέτρο καταπολέμησης (Hildalgo-Diaz and Kerry, 2008).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

c) **Αγρανάπαυση**

Το να μείνει ο αγρός χωρίς καλλιέργεια κατά το θέρος και να οργωθεί μια-δύο φορές ώστε οι προσβεβλημένες ρίζες να εκτεθούν, όπως προαναφέρθηκε, στον ήλιο και στον αέρα είναι ένας αποτελεσματικός τρόπος για να ελαττωθεί ο πληθυσμός των νηματωδών. και μάλιστα για ορισμένα είδη που δεν αντέχουν στην ξηρασία, όπως οι νηματώδεις των ριζόκομβων *(Meloidogyne* spp.).

d) **Απολύμανση του εδάφους**

Κατάκλιση. Οι νηματώδεις δεν ευνοούνται, όταν στο έδαφος οι συνθήκες υγρασίας είναι εξαιρετικά μεγάλες. Σε παρατεταμένη κατάκλιση πεθαίνουν από έλλειψη οξυγόνου και τροφής (Εικόνα 8). Η κατάκλιση είναι μια μέθοδος που χρησιμοποιείται σε μερικές χώρες για τον περιορισμό του πληθυσμού των νηματωδών. Κατάκλιση του εδάφους για 4 μήνες μπορεί να σκοτώσει όλες τις νύμφες των νηματωδών των ριζόκομβων, τα αυγά επιβιώνουν για περισσότερο χρόνο, αλλά ο πληθυσμός των νηματωδών ελαττώνεται πάρα πολύ, μετά από 12 μήνες.

Εικόνα 8. Πλημμύρισμα χωραφιών ζαχαρότευτλων για μείωση των πληθυσμών νηματωδών και άλλων εχθρών

Ατμός. Περιλαμβάνει την εισαγωγή ατμού στο εσωτερικό του εδάφους, κάλυψη με μαύρο χοντρό πλαστικό, μέσα στο οποίο η απελευθέρωση της θερμότητας γίνεται κατά την συμπύκνωση των ατμών σε νερό. Η μεταχείριση συνήθως

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

περιλαμβάνει διατήρηση της θερμοκρασίας του εδάφους στους 70°C για τουλάχιστον μισή ώρα (Runia, 2000), ενώ θάνατος του *M. incognita* έχει παρατηρηθεί σε θερμοκρασίες ανώτερες των 48°C για λίγα μόνο λεπτά.

Ηλιοαπολύμανση. Σε αντίθεση με την απολύμανση του εδάφους με ατμό, που γίνεται σε περιορισμένη κλίμακα σε θερμοκήπια και με υψηλό κόστος, χρησιμοποιείται και η ηλιακή ακτινοβολία (ηλιοαπολύμανση - solarization) σε επίπεδο αγρού (Katan, 1981). Σε χώρες με έντονη ηλιοφάνεια για μεγάλα διαστήματα του έτους, είναι δυνατή η εφαρμογή της ηλιοαπολύμανσης, ιδίως σε μικρής έκτασης επιφάνειες και μέσα σε θερμοκήπια (Tjamos et al, 2000). Με τη μέθοδο αυτή καλύπτεται ο αγρός με λεπτό διαφανές πολυαιθυλένιο για ένα περίπου μήνα κατά τη θερμότερη περίοδο του χρόνου (Εικόνα 9). Τα μειονεκτήματα της ηλιοαπολύμανσης είναι η δέσμευση της έκτασης για τουλάχιστον ένα μήνα κατά τη διάρκεια της θερμής περιόδου, ενώ απαιτούνται κατάλληλες κλιματολογικές συνθήκες, και ταυτόχρονη άρδευση της έκτασης (Hagan and Gazaway, 2000).

Εικόνα 9. Κάλυψη αγρού με διαφανές πλαστικό (www.agronews.gr)

e) <u>Φυτά παγίδες</u>

Αφορά στην εγκατάσταση φυτών στον αγρό τα οποία είναι καλοί ξενιστές του νηματώδη, για τόσο χρονικό διάστημα όσο απαιτείται για την είσοδο του στο ριζικό τους σύστημα. Πριν την εγκατάσταση της επόμενης καλλιέργειας, πραγματοποιείται ξερίζωμα και καταστροφή των φυτών αυτών με σκοπό την καταστροφή των νηματωδών και τη μείωση του αρχικού μολύσματος. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

κυρίως στις περιπτώσεις καλλιεργειών λαχανικών με μικρό βιολογικό κύκλο, όπως το μαρούλι (Ornat et al., 2001).

Βέβαια υπάρχουν περιορισμοί στη χρήση αυτής της μεθόδου. Αρχικά, δεν είναι δυνατό να απομακρυνθούν όλες οι ρίζες από το έδαφος. Επιπλέον, ο χρόνος που θα γίνει η απομάκρυνση των ριζών πρέπει να είναι «ακριβής», πράγμα που προϋποθέτει την ακριβή γνώση του βιολογικού κύκλου του παράσιτου. Η καλή γνώση της βιολογίας των νηματωδών και των φυτών – ξενιστών τους είναι αναγκαία για τη μεγιστοποίηση της αποτελεσματικότητας αυτής της μεθόδου (Chitwood, 2003). Εκτός αυτού, μπορεί από απρόβλεπτες δυσμενείς καιρικές συνθήκες να διαφύγει ο κατάλληλος χρόνος για την εκρίζωση, οπότε ο πληθυσμός αντί να ελαττωθεί να αυξηθεί. Τέλος, το κόστος της καλλιέργειας της ευαίσθητης ποικιλίας πρέπει να καλύπτεται από το αποτέλεσμα της καταπολέμησης.

f) <u>Διατήρηση της γονιμότητας και καλή προετοιμασία του αγρού.</u>

Φυτά που από την αρχή εγκαθίστανται στον αγρό με καλό φύτρωμα είναι καλύτερα προετοιμασμένα να αντισταθούν σε προσβολές νηματωδών, εντόμων και ασθενειών που μπορεί να εμφανιστούν αργότερα.

g) <u>Πρώιμη καλλιέργεια</u>

Με την πρώιμη καλλιέργεια που σχετίζεται με τον χρόνο σποράς ή φύτευσης δίνεται στο φυτό χρόνος να αναπτύξει περισσότερο το ριζικό του σύστημα και να ξεφύγει από τα πολύ ευάλωτα στάδια, πριν δραστηριοποιηθούν οι νηματώδεις, με την άνοδο της εδαφικής θερμοκρασίας.

h) <u>Συγκαλλιέργεια φυτών</u>

Μία άλλη καλλιεργητική μέθοδος είναι η σύγχρονη καλλιέργεια του καλλιεργούμενου φυτού με άλλα είδη φυτών των οποίων η παρουσία έχει ανασταλτική δράση κατά των νηματωδών. Η αποτελεσματικότητα αυτής της μεθόδου αποδίδεται στην έκκριση ουσιών από τις ρίζες των φυτών αυτών που αποτρέπουν την προσβολή της κύριας καλλιέργειας. Έχει αναφερθεί ότι η συγκαλλιέργεια τομάτας και δύο ειδών ψυχανθών (*Pueraria phaseolina* και *Arachis pintoi*) μείωσε σημαντικά το επίπεδο προσβολής από το είδος *M. incognita* (Marban-Mendoza et al, 1992).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

2.3 ΧΗΜΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ

2.3.1 Παρελθόν

Γενικότερα στο παρελθόν η καταπολέμηση των νηματωδών βασιζόταν κυρίως στην χρήση εμπορικών συνθετικών νηματωδοκτόνων, η μακροχρόνια χρήση των οποίων έχει προκαλέσει δυσμενείς επιπτώσεις στον άνθρωπο και το περιβάλλον, και οδήγησε ως εκ τούτου στη μη καταχώρηση πολλών δραστικών ουσιών στο Παράρτημα Ι της Κοινοτικής Οδηγίας 91/414/EEC.

Χημική καταπολέμηση με καπνογόνα εδάφους (soil fumigans) έγινε για πρώτη φορά το 1884, με διθειούχο άνθρακα (CS2), για την καταπολέμηση της φυλλοξήρας στις ρίζες των αμπελιών, στη Γαλλία. Μετά τον πρώτο παγκόσμιο πόλεμο ανακαλύπτεται η χλωροπικρίνη, ένα σκεύασμα πολύ αποτελεσματικό για όλους τους μικροοργανισμούς του εδάφους με μικρό βιολογικό κύκλο, όπως έντομα εδάφους, μύκητες, βακτήρια, νηματώδεις και σπόρους ζιζανίων. Η μεγάλη πτητικότητα, τοξικότητα, η δακρυγόνα δράση και το υψηλό κόστος περιόρισαν τη χρήση της, σε φυτά μεγάλης προσόδου και για σοβαρές μόνο ασθένειες, για τις οποίες δεν υπήρχε άλλος τρόπος καταπολέμησης. Η χλωροπικρίνη χρησιμοποιήθηκε στην Καλιφόρνια της Αμερικής σε καλλιέργειες φράουλας για την καταπολέμηση του Βερτιτσίλλιου. Επίσης χρησιμοποιήθηκε σε μεγάλη κλίμακα, σε θερμοκήπια, παρά τη φυτοτοξικότητα των ατμών της, πράγμα που κάνει δύσκολη τη χρησιμοποίησή της σε περίοδο που αναπτύσσονται άλλα φυτά, στο ίδιο θερμοκήπιο.

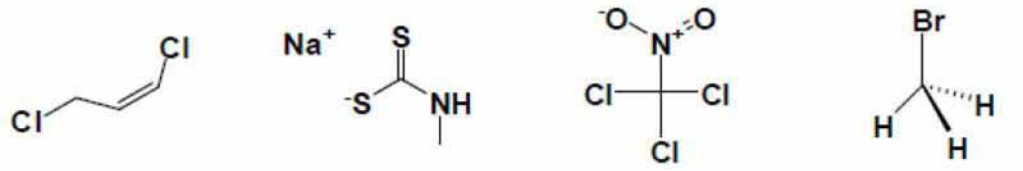
Οι νηματοκτόνες ιδιότητες του D-D και Telone (καπνογόνα εδάφους) διαπιστώθηκαν το 1940. Αργότερα ανακαλύφθηκαν το E.D.B. (Διβρωμιούχο αιθυλένιο) και τα D.B.C.P. (Διβρωμοχλωροπροπάνιο), Nemagon, Fumazon, που έχουν αποσυρθεί από την κυκλοφορία ως επικίνδυνα για τη δημόσια υγεία. Την ίδια εποχή εμφανίζεται το B.M. (Βρωμιούχο μεθύλιο), ένα ισχυρό απολυμαντικό εδάφους, που σε συνδυασμό με τη χλωροπικρίνη καταπολεμεί τους πιο δυσεξόντωτους μικροοργανισμούς, που φέρονται διαμέσου του εδάφους.

Χαρακτηριστικό παράδειγμα απόσυρσης νηματωδοκτόνου σκευάσματος σε παγκόσμια κλίμακα λόγω των δυσμενών επιπτώσεων του στο περιβάλλον και το χρήστη είναι το βρωμιούχο μεθύλιο, που ήταν το πλέον αποτελεσματικό καπνιστικό-απολυμαντικό εδάφους.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Το 1950 και 1960 μια νέα ομάδα, νηματωδοκτόνων-εντομοκτόνων παράγεται, χωρίς πτητικές ιδιότητες και με διασυστηματική δράση, τα καρβαμιδικά και οργανοφωσφορικά με κοκκώδη ή γαλακτοματοποιήσιμη μορφή.

Γενικά τα καπνιστικά νηματωδοκτόνα (Εικόνα 10) είναι πιο αποτελεσματικά από τα μη καπνιστικά, γιατί τα δεύτερα βιοαποδομούνται εύκολα στο έδαφος όταν εφαρμόζονται επαναλαμβανόμενα (Ornat and Sorribas, 2008) με συνέπεια να μειώνεται η αποτελεσματικότητα της καταπολέμησης.



1.3-dichloropropene metam-sodium chloropicrin methyl bromide

Εικόνα 10. Καπνιστικά νηματοδωκτόνα.

2.3.2 Διαθέσιμα σκευάσματα σήμερα

Η χημική καταπολέμηση αποτελεί ακόμη και σήμερα τη βασικότερη μέθοδο αντιμετώπισης των ριζόκομβων νηματωδών σε καλλιέργειες τομάτας (Prophetou – Athasiadou et al, 1999; Giannakou and Anastasiadis, 2005). Το ποσοστό των νηματωδοκτόνων επί του συνόλου των εν κυκλοφορία φυτοπροστατευτικών προϊόντων ήταν ανέκαθεν μικρό. Όσον αφορά στην καταπολέμηση των νηματωδών, λόγω απόσυρσης των νηματωδοκτόνων όπως περιγράφτηκε παραπάνω, το ποσοστό τους δε ξεπερνούσε το 2% του συνόλου των εν κυκλοφορία φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων.

Αυτή τη στιγμή, τα διαθέσιμα σκευάσματα που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των νηματωδών παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Πίνακας 2. Διαθέσιμα νηματωδοκτόνα

Εμπορικό Ονομα	Εγγυημένη Σύνθεση	Ποσοστό %	Λήξη Εγκρισης	Κατηγορία	Παρασκευαστής	Χώρα	Κάτοχος Εγκρισης
NEMACUR 400 EC	fenamiphos	40% β/ο	31/7/2011	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	IRVITA PLANT PROTECTION N.V.	ΟΛΛΑΝΔΙΚΕΣ ΑΝΤΙΛΛΕΣ	ΑΛΦΑ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΕΦΟΔΙΑ ΑΕΒΕ
VYDATE 10 GR	oxamyl	10% β/β	31/12/2010	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	E.I Du Pont de Nemours & Co Inc	ΗΠΑ	ΝΤΥ ΠΟΝΤ ΕΛΛΑΣ Α.Ε.
BASAMID 98 GR	dazomet	98% β/β	31/5/2015	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	Kanesho Soil Treatment SPRL/BVBA	ΒΕΛΓΙΟΥ	Kanesho Soil Treatment SPRL/BVBA
MOCAP 10 GR	ethoprophos	10.53% β/β	30/9/2011	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	Bayer S.A.S., Bayer CropScience	ΓΑΛΛΙΑΣ	AMVAC Chemical UK Limited
CONDOR* Fumigant	1,3-dichloropropene	91% β/β	12/10/2013	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	DOW AGROSCIENCES LLC	ΗΠΑ	Dow Agrosciences Export SAS
NEMATHORIN 10 G	fosthiazate	10% β/β	31/10/2016	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	ISK Biosciences Europe S.A.	ΒΕΛΓΙΟΥ	ISK Biosciences Europe S.A.
NEMACUR 240 CS	fenamiphos	24% β/ο	31/7/2011	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	IRVITA PLANT PROTECTION N.V.	ΟΛΛΑΝΔΙΚΕΣ ΑΝΤΙΛΛΕΣ	ΑΛΦΑ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΕΦΟΔΙΑ ΑΕΒΕ
VYDATE 10 SL	oxamyl	10% β/ο	31/12/2011	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	E.I Du Pont de Nemours & Co Inc	ΗΠΑ	ΝΤΥ ΠΟΝΤ ΕΛΛΑΣ Α.Ε.
D-D Top 90 EC	1,3-dichloropropene	90% β/β	12/10/2013	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	Kanesho Soil Treatment SPRL/BVBA	ΒΕΛΓΙΟΥ	BASF Ελλάς Α.Β.Ε.Ε.
VYDATE 5 GR	oxamyl	5% β/β	31/12/2011	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	E.I Du Pont de Nemours & Co Inc	ΗΠΑ	ΝΤΥ ΠΟΝΤ ΕΛΛΑΣ Α.Ε.
NEMATHORIN 150 EC	fosthiazate	15% β/ο	31/10/2016	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	ISK Biosciences Europe S.A.	ΒΕΛΓΙΟΥ	ISK Biosciences Europe S.A.
DEVGUARD 500 SC	iprodione	50% β/ο	31/10/2016	ΝΗΜΑΤΩΔΟΚΤΟΝΑ	Devgen NV	ΒΕΛΓΙΟΥ	Devgen NV

(minagric.gr)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Από τη μακροχρόνια χρήση φυτοπροστατευτικών ουσιών στο έδαφος έχει παρατηρηθεί ότι σε ορισμένες περιπτώσεις οι φυτοπαθογόνοι νηματώδεις έχουν αποκτήσει μερική ή πλήρη ανθεκτικότητα στις ουσίες αυτές είτε σε ουσίες που παρουσιάζουν τον ίδιο μηχανισμό δράσης (Singh et al, 2005). Ο μικρός αριθμός των συνθετικών νηματωδοκτόνων σε συνδυασμό με την ανεπαρκή αποτελεσματικότητα τους, κυρίως λόγω της βιοαποδόμησής τους στο έδαφος (Giannakou et al., 2005; Karpouzas et al., 2001), δημιουργεί μεγάλη ανάγκη για εύρεση εναλλακτικών μεθόδων καταπολέμησης των νηματωδών.

2.4 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ

Οι προσπάθειες βιολογικού ελέγχου των νηματωδών συζητιούνται για περισσότερο από έναν αιώνα, αλλά μέχρι τώρα οι δυνατότητες που υπάρχουν για μια περαιτέρω πρακτική εφαρμογή στον αγρό είναι περιορισμένες.

Στον τομέα της βιολογικής αντιμετώπισης των νηματωδών οι εξελίξεις ήταν σχετικά αργές λόγω της καθυστέρησης στην αναγνώριση της σπουδαιότητάς τους, της έλλειψης πληροφοριών σχετικών με την ταξινόμηση, φυσιολογία, βιολογία και οικολογία τους, την πολυπλοκότητα του εδάφους και την διαθεσιμότητα αποτελεσματικών νηματωδοκτόνων. Επίσης οι περιορισμένες πειραματικές εφαρμογές στον αγρό καθώς και οι ανεπαρκείς χρηματοδοτήσεις για έρευνα από τις κυβερνήσεις και τις βιομηχανίες υπήρξαν περιοριστικοί παράγοντες.

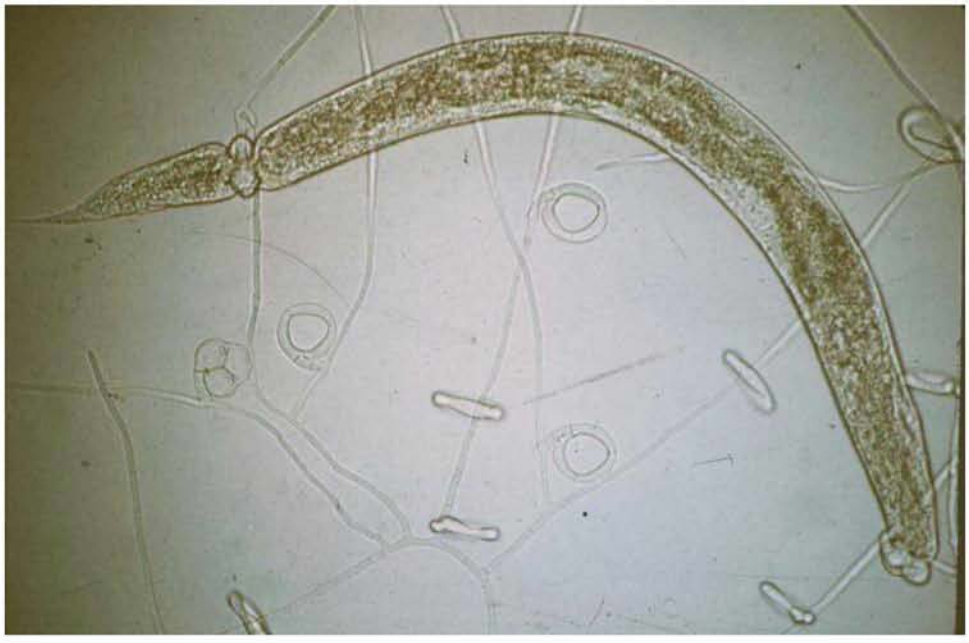
Η βιολογική καταπολέμηση μπορεί να χωριστεί σε τρεις υπο-ομάδες: καταπολέμηση με μύκητες και βακτήρια, καταπολέμηση με τη χρήση πτητικών ουσιών στο έδαφος (βιοαπολύμανση) καθώς και με τη χρήση φυτικών ουσιών φυτικής προέλευσης.

2.4.1 Καταπολέμηση με μύκητες και βακτήρια.

Η βιολογική καταπολέμηση στοχεύει στην αύξηση των παρασίτων και αρπακτικών των νηματωδών στο έδαφος για να αυξηθεί η θνησιμότητα των φυτοπαρασιτικών νηματωδών (Paracer et al., 1966). Μερικοί νηματώδεις τρέφονται από φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις, ακάρεα και έντομα. Επίσης πολλοί μύκητες,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

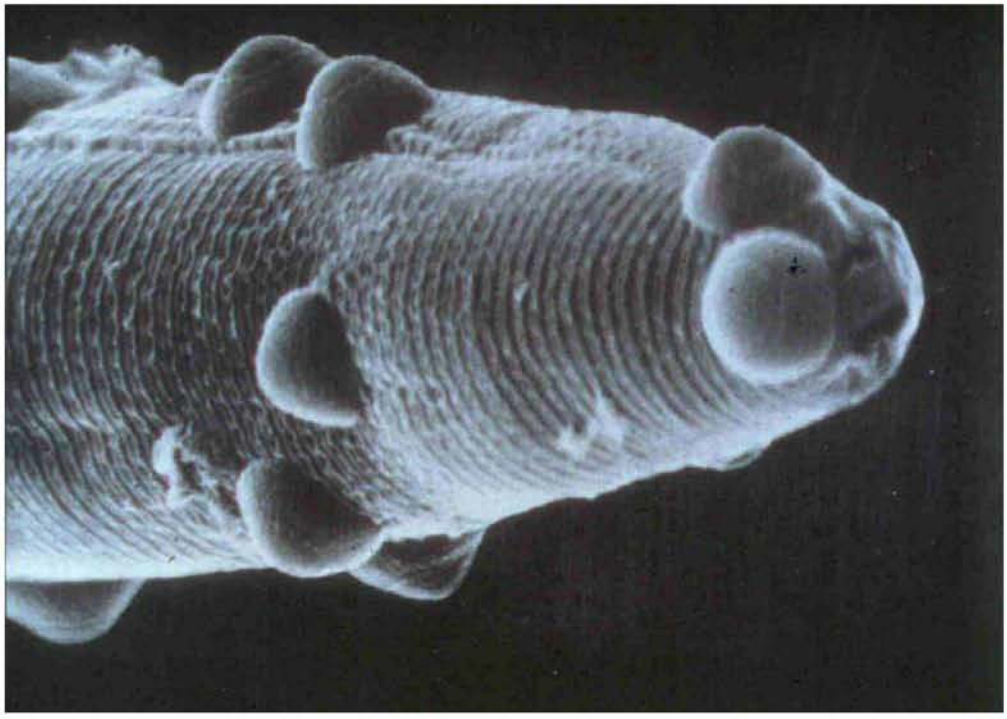
βακτήρια, πρωτόζωα και ιοί προσβάλλουν αυτούς τους νηματώδεις. Ο μήκυτας *Vertcillium chlamidosporium* (παλιά ονομασία: *Pochonia chlamydosporia*), που έχει ταυτοποιηθεί ως ανταγωνιστικός μήκυτας των κομβονηματωδών, έχει χρησιμοποιηθεί σε Ελλάδα, Ισπανία και Ιταλία. (Verdejo-Lucas et al., 2002; Mazurkiewicz- Zapałowicz, et al., 2009). Ο μύκητας *Nematophthora gynophila* καταστρέφει τα θηλυκά άτομα του κυστογόνου νηματώδη των σιτηρών *H. avenae,* ελαττώνει τη γονιμότητα του και παρασιτεί τα αυγά. Ο μύκητας αυτός καταστρέφει ολοκληρωτικά τα θηλυκά, μέσα σε μία περίπου εβδομάδα. Προσβολές στα θηλυκά άτομα του παραπάνω νηματώδη διαπιστώθηκαν και από τον μύκητα *Vertcillium chlamidosporium* με αποτέλεσμα τα προσβεβλημένα θηλυκά να γεννούν λιγότερα αυγά, από ότι τα υγιή, πολλά από τα οποία ήταν μολυσμένα (Kerry et al., 1980,1982, 1982α, 1985). Κάτι ανάλογο συμβαίνει και με τον κυστογονο νηματώδη των ζαχαρότευτλων και τον *M. javanica* (Nigh et al., 1980; Roberts et al., 1981; Qadri and Saleh, 1990) πλην όμως ο βαθμός παρασιτισμού στη φύση δεν παρέχει ικανοποιητική καταπολέμηση, χωρίς τη λήψη άλλων μέτρων, όταν η καλλιέργεια των τεύτλων είναι συνεχής. Παράλληλες ιδιότητες, όπως η ικανότητά των ανταγωνιστικών μυκήτων να αποικούν ενδοφυτικά τη ρίζα των φυτών, καθιστά εύκολη την εγκατάστασή τους στην καλλιέργεια άρα και τη χρήση τους στα πλαίσια της βιολογικής καταπολέμησης (Lopez-Llorca, 2008).



Εικόνα 11. *Arthrobotrys spp.*: σύλληψη των νηματωδών με δακτυλιοειδείς κατασκευές. (http://www.ctahr.hawaii.edu)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Το βακτήριο *Pasteuria penetrans* αποδεικνύεται αποτελεσματικό στην βιολογική καταπολέμηση νηματωδών του *γένους Meloidogyne και* υπό ορισμένες προϋποθέσεις θα μπορούσε να αποτελέσει θετικό παράγοντα σ' ένα σύστημα ολοκληρωμένης καταπολέμησης (Gowen and Tzortzakakis, 1994; Tzortzakakis and Gowen, 1994; Zaki, 1990, Chen et al, 1998) (Εικόνα 12). Σχετικά με το γένος βακτηρίων *Pasteuria*, και στα πλαίσια της μελέτης της βελτίωσης της χρήσης του σαν μέτρο καταπολέμησης των νηματωδών (Gowen et al., 2008), έχουν αναπτυχθεί μαθηματικά μοντέλα. Αν και τα μοντέλα, δε μπορούν να «προβλέψουν» την εξέλιξη του φυσικού συστήματος στο χρόνο, δίνουν σημαντικές πληροφορίες σχετικές με την επίδραση της πυκνότητας πληθυσμού του νηματώδη και της συγκέντρωσης του βακτηρίου στην καταπολέμηση (Ciancio, 2008).



Εικόνα 12. Προσκόλληση σπορίων *Pasteuria penetrans* πάνω σε νηματώδη (http://nematology.ucdavis.edu)

Ο νηματοφάγος μύκητας *V. chlamidosporium* που αναφέρθηκε και πιο πάνω περιορίζει σε μεγάλο βαθμό τον πληθυσμό των *Globodera* spp, *Heterodera* spp, και *Meloidogyne* spp (Kerry et al., 1992). Μύκητες που ανήκουν στα γένη *Verticillium*, *Paecilomyces*, *Hirsutella*, *Nematophthora*, *Arthrobotrys*, *Drechmeria*, *Fusarium*,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Monacrosporium και *Dactylella* έχουν αναγνωριστεί ως παράσιτα ορισμένων υποειδών ριζόκομβων και κυστωδών νηματωδών (Siddiqui and Mahmood, 1996).

Το πρόβλημα στη βιολογική καταπολέμηση με μύκητες και βακτήρια δεν είναι μόνο το πως θα βρεθούν αυτά τα παράσιτα, αλλά το πως θα αυξηθεί ο πληθυσμός και η δραστηριότητα τους, κάτι που εξαρτάται από βιοτικούς και εδαφικούς παράγοντες στο περιβάλλον. Τίποτα δεν μπορεί να προδικάσει, ότι οι αρπακτικοί νηματώδεις, που τυχόν θα εφαρμοστούν σε ένα έδαφος θα μπορέσουν να φτάσουν σε μεγάλους πληθυσμούς, που συνήθως συναντιούνται κάπου αλλού, αν δεν αναλυθούν οι φυσιολογικές και βιολογικές ανάγκες στο έδαφος σε σχέση με τον αριθμό των νηματωδών.

2.4.2 Βιοαπολύμανση

Με τον όρο αυτό αναφέρεται γενικά η απελευθέρωση τοξικών πτητικών ουσιών, κατά τη διαδικασία αποσύνθεσης οργανικών υλικών, φυτικών υπολειμμάτων και ιστών, που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των ασθενειών, των νηματωδών και των ζιζανίων (Kirkegaard and Sarwar, 1998). Τα είδη που έχουν μελετηθεί περισσότερο όσον αφορά στην καταπολέμηση των κομβονηματωδών με τη μέθοδο της βιοαπολύμανσης είναι τα είδη του γένους *Brassicae*. Κι αυτό γιατί περιέχουν γλυκοσινολικές ουσίες, οι οποίες μετά τη μηχανική ρήξη των κυττάρων που τις περιέχουν μετατρέπονται σε ισοθειοκυανιούχες, ενώσεις τοξικές για τους νηματώδεις. Η χρήση τους έχει αποδειχθεί από οικονομικές μελέτες πως μειώνει το κόστος της καταπολέμησης των κομβονηματωδών στο 50%, αυξάνοντας παράλληλα τη γονιμότητα του εδάφους (Ploeg, 2008; Buena et al., 2006).

2.4.3 Φυσικές ουσίες φυτικής προέλευσης

Στις μέρες μας παρατηρείται έντονη εκδήλωση ενδιαφέροντος για τη χρησιμοποίηση φυσικών ουσιών φυτικής προέλευσης, προϊόντων του δευτερογενούς μεταβολισμού των φυτών, ως μέτρο καταπολέμησης των νηματωδών (Chitwood, 2002; Isman, 2000; Akhtar and Mahmood, 1994). Λόγω της ταχύτατης αποδόμησής τους, οι ουσίες αυτές είναι πιο ασφαλείς για τον άνθρωπο και το περιβάλλον απ' ότι τα συμβατικά νηματωδοκτόνα. Επί τους παρόντος κυκλοφορούν στο εμπόριο τέτοια σκευάσματα (Isman 2000; Ntalli et al., 2009), ενώ η ανάπτυξή τους στο μέλλον

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

αναμένεται πολλά υποσχόμενη στα πλαίσια εξεύρεσης εναλλακτικών των κλασικών συνθετικών νηματωδοκτόνων.

Η αζαδιραχτίνη προέρχεται από το είδος *Azadirachta indica* και αποτελεί το πλέον χαρακτηριστικό παράδειγμα μελετημένης ουσίας φυτικής προέλευσης με χρήση στη φυτοπροστασία και το πλέον χαρακτηριστικό παράδειγμα ανάπτυξης σκευασμάτων με δραστική ουσία φυτικής προέλευσης (Morgan, 2009; Isman, 2006) (Εικόνα 13, 14).

Εικόνα 13. Καρποί του δέντρου *Azadirachta indica* (http://www.prota4u.org)

Εικόνα 14. Άνθη του δέντρου *Azadirachta indica* (http://en.wikipedia.org)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Η βιολογική δράση που εμφανίζουν οι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών τους προσδίδει ευεργετικές ιδιότητες και έτσι, τους καθιστά πρότυπα σύνθεσης μορίων για χρήση στη φαρμακοποιία (Ebada et al., 2008; Wink, 2004), ενώ η δραστικότητά τους έναντι παθογόνων και εχθρών στηρίζει τη χρήση τους και στη φυτοπροστασία. Επιπλέον, μελέτες αποδεικνύουν ότι οι ενώσεις αυτές είναι τοξικολογικά και περιβαλλοντικά φιλικές και έχουν αποδειχθεί εκλεκτικές ως προς το στόχο ενώ παρουσιάζουν μικρή υπολειμματική διάρκεια και γρήγορη αποδόμηση στο έδαφος (Chitwood, 2002). Υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία των δευτερογενών μεταβολιτών σε ανώτερα φυτά με μια ποικιλία βιο-δραστικοτήτων. Μεταβολίτες που εμπλέκονται σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτών – νηματωδών και περιλαμβάνουν απωθητικά, προσελκυστικά, διεγερτικά ή ανασταλτικά, είτε επάγουν την απόκριση του φυτού στην παρουσία των νηματωδών.

Οι δευτερογενείς μεταβολίτες κατατάσσονται σε τρείς μεγάλες ομάδες: την ομάδα των φαινολικών ουσιών, που χαρακτηρίζεται από την ύπαρξη ενός τουλάχιστον αρωματικού δακτυλίου στο μόριο τους. Τα τερπενοειδή, που παράγονται μέσω της βιοσυνθετικής οδού του μεβαλονικού οξέος ή του πυροσταφυλικού οξέος και της φωσφογλυκεριναλδεΰδης. Και τέλος την ομάδα των αζωτούχων ουσιών που περιλαμβάνει ενώσεις οι οποίες προέρχονται κυρίως από αμινοξέα (Crozier et al, 2006). Οι μεταβολίτες αυτοί υπάρχουν κυρίως στις παρακάτω οικογένειες φυτών: Apocynaceae, Cruciferae, Compositae, Graminae, Leguminosae, Liliaceae, Magnoliaceae, Meliaceae, Myrtaceae, Simaroubaceae, Urticaceae, Papaveraceae, Pinaceae, Podostemaceae, Solanaceae, and Umbelliferae. Κάποια παραδείγματα μορφολογικών χαρακτήρων των φυτών με τους περιεχόμενους τους δευτερογενείς μεταβολίτες είναι τα εξής: α) οι αδενώδεις τρίχες της βοτανικής οικογένειας Lamiaceae, με τις πτητικές τους ενώσεις (τερπένια - αιθέρια έλαια), οι οποίες είναι τοξικές για παθογόνα και φυτοφάγα, β) οι νύσσουσες τρίχες της τσουκνίδας (οικ. Urticaceae) με περιεχόμενη την ισταμίνη, σεροτονίνη και ακετυλοχολίνη, γ) τα επιδερμικά εξαρτήματα των φύλλων της τομάτας με περιεχόμενη τη ρουτίνη και το χλωρογενικό οξύ (φαινολικές ενώσεις).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα στη δημιουργία εμπορικών σκευασμάτων φυτικής προέλευσης.

Τα πλεονεκτήματα των σκευασμάτων φυτικής προέλευσης είναι η μικρότερη τοξικότητα (αν και αυτό δεν ισχύει πάντα και θα πρέπει να εξετάζεται ανά περίπτωση), η εκλεκτικότητα, η γρήγορη αποδόμηση και ο χαμηλός κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικότητας στην περίπτωση των εκχυλισμάτων μιγμάτων ουσιών (Morgan, 2009; Isman, 2006).

Αντίθετα, ως μειονέκτημα μπορεί να θεωρηθεί η μειωμένη αποτελεσματικότητα, συγκριτικά με αυτή των συμβατικών φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων καθώς επίσης και η παραλλακτικότητα της αποτελεσματικότητας μεταξύ διαφορετικών παρτίδων του σκευάσματος. Επιπλέον, τα σκευάσματα αυτά έχουν αργή δράση ενώ είναι εύκολη και γρήγορη η αποδόμησή τους κατά την αποθήκευση (μικρό «shelf life»). Έχουν μικρή υπολειμματική διάρκεια δράσης στο έδαφος και γρήγορη αποικοδόμηση. Τέλος, είναι δύσκολη η παρασκευή τους σε εμπορική κλίμακα λόγω α) περιορισμένης διαθεσιμότητας της πρώτης ύλης και β) αδυναμίας σταθεροποίησης και ελέγχου της διαδικασίας παραγωγής των παρτίδων (Schmutterer, 1990; Isman et al., 1990; 2006).

Στο πλαίσιο της έρευνας φυσικών ουσιών φυτικής προέλευσης με νηματωδοκτόνες ιδιότητες μελετήθηκε στην παρούσα εργασία το βοτανικό είδος *Melia azedarach* L. (Meliaceae) και το βοτανικό είδος *Alianthus altissima* (Simaroubaceae) εναντίον των κομβονηματωδών *M. incognita* και *M. javanica*.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

Στο παρόν κεφάλαιο και στα πλαίσια της διερεύνησης φυσικών ουσιών ή εκχυλισμάτων, φυτικής προέλευσης, με νηματωδοκτόνο δράση μελετήθηκαν δύο φυτικά είδη, το είδος *Melia azedarach* L. (Meliaceae) και το είδος *Alianthus altissima* (Simaroubaceae) εναντίον των κομβονηματωδών *Meloidogyne spp*.

3.1 *Melia azedarach*

Το είδος *Melia azedarach* L., (κοινώς "paraiso", "chinaberry tree", "indian lilac" και "white cedar") ανήκει στην οικογένεια Meliaceae και είναι ιθαγενές στην Αργεντινή, την Ινδία, την Κίνα και την Αυστραλία, πέραν των οποίων μπορεί επίσης να εντοπιστεί και στην Ευρώπη. Η βοτανική του κατάταξη φαίνεται παρακάτω:

Πίνακας 3. Βοτανική ταξινόμηση του είδους *M. azedarach*.

Βασίλειο:	Plantae
Διαίρεση:	Magnoliophyta
Κλάση:	Magnoliopsida
Τάξη:	Sapindales
Οικογένεια:	Meliaceae
Γένος:	*Melia*
Είδος:	*M. azedarach*

Εικόνα 15. Το φυλλοβόλο δέντρο *M. azedarach*, τα άνθη και οι καρποί του.
(http://en.wikipedia.org)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Μέχρι στιγμής έχουν απομονωθεί πολλά βιολογικά δραστικά λιμονοειδή, από όλα τα μέρη του βοτανικού είδους *M. azedarach*, (Vishnukanta, 2008). Παραδείγματα τέτοιων ουσιών είναι η μελιαντριόλη, η μελιανόνη, η μελιανόλη (Lavie and Jain, 1967), η μελιασίνη (1-κινναμοϋλ-μελιανόνη), η μελιακαρπινίνη (Lee et al., 1991) και η μελιαρτενίνη (Carpinella et al., 2002). Είναι ουσίες ιδιαίτερου ενδιαφέροντος λόγω των βιολογικών ιδιοτήτων τους, όπως η εντομοκτόνος (αντιτροφική δράση και αναστολή της ανάπτυξής των εντόμων), η αντιβακτηριακή, η μυκητοκτόνος, η αντικαρκινική, η αντιική και διάφορες φαρμακευτικές (Harish Kuma et al., 2009; Hua Zhang et al., 2008). Τα λιμονοειδή της οικογένειας Meliaceae είναι γνωστά και ως μελιασίνες. Από τα περίπου 300 λιμονοειδή που είναι γνωστά σήμερα, περίπου το ένα τρίτο συναντάται στα είδη «Νιμ» (*Azadirachta indica*) και Chinaberry (*Melia azedarach*) (Champagne et al., 1992).

Ιδιότητες

Τα εκχυλίσματα και συστατικά από μέρη του φυτού *M. azedarach* έχει βρεθεί ότι εμφανίζουν εντομοκτόνες ιδιότητες εναντίον εντόμων-εχθρών των φυτών. Εκχύλισμα από τον κορμό του *M. azedarach* δοκιμάστηκε, εναντίον των λεπιδοπτέρων *Trichoplusia ni* και *Pseudaletia unipuncta*, και βρέθηκε να προκαλεί αντιτροφική δράση, αναστολή της ανάπτυξης και τοξικότητα δια της επαφής (Akhtar et al., 2008).

Το μεθανολικό εκχύλισμα του *M. azedarach* βρέθηκε δραστικό έναντι του νηματώδη των πεύκων *Bursaphelenchus xylophilus* (Elbadri et al., 2008), των νηματωδών του στομάχου των κτηνοτροφικών ζώων όπως το *Haemonchus contortus* (Maciel et al., 2006) καθώς και της ταινίας (Cestoda, tapeworm) που προσβάλει τον άνθρωπο (Szewczuk et al., 2006). Υδατικό και μεθανολικό εκχύλισμα καρπών και φύλλων του *M. azedarach* ψεκαζόμενα σε φυτά τομάτας μείωσαν σε παρόμοιο βαθμό την απόθεση των αυγών του *Bemisia tabaci* (Aleyrodidae) και ανέστειλαν την εκκόλαψη των ενηλίκων (Abou-Fakhr Hammad et al., 2001).

Επίσης, έχουν βρεθεί μυκητοκτόνες και βακτηριοκτόνες ιδιότητες καθώς και ουσίες από το δέντρο με αντικαρκινική και αντιική δράση. Η σκοπολετίνη, η βανιλίνη και η 4-υδροξυ-3-μεθοξυκινναμαλδεΰδη εφαρμοζόμενες από κοινού, παρουσίασαν σημαντική μυκητοκτόνο δράση στον ασκομύκητα *Fusarium verticillioides* που

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

αποδόθηκε σε συνεργισμό μεταξύ τους. Αντίθετα όταν η εφαρμογή έγινε με την κάθε ουσία στην καθαρή της μορφή, η δράση ήταν μέτρια (Carpinella et al., 2005).

Σύμφωνα λοιπόν με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση το είδος *M. azedarach* διαθέτει συστατικές ουσίες ισχυρής και μεγάλου εύρους βιολογικής δράσης που χρήζουν περαιτέρω έρευνας όσον αφορά στη χρήση τους έναντι στόχων, για τον έλεγχο των οποίων δεν έχουν ακόμα μελετηθεί.

Πρόσφατα εξετάστηκε το μεθανολικό εκχύλισμα της μελίας και η επίδραση αυτού στους νηματώδεις δεύτερου σταδίου (Ntalli et al., 2010). Συγκεκριμένα, σε πειράματα παράλυσης, προέκυψε ότι η συγκέντρωση του εκχυλίσματος μελίας που μείωσε τον αριθμό των προνυμφών *M. incognita* στο μισό (50%) υπολογίστηκε στο 0,006% w/v (ή 60mg/L) ενώ η συγκέντρωση που προκάλεσε 100% παράλυση στις J2 ήταν 0,16% w/v. Για διάστημα 48h ωρών, το EC_{50} υπολογίστηκε σε 0,0426% w/v μετά από μαθηματική επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 4) φαίνονται κάποια από τα αποτελέσματα του πειράματος.

Πίνακας 4 . Επίδραση διαφορετικών συγκεντρώσεων (0,00125 με 0.32% w/v) του εκχυλίσματος της μεθανόλης του *M. azedarach* (MEM), και διαφορετικών διαστημάτων εμβάπτισης (12 με 192 h) στην κινητικότητα των προνυμφών J2 του *M. incognita*. (Ntalli et al., 2010).

MEM(% w/v)	Ποσοστό ακίνητων J2s διορθωμένο ως προς το μάρτυρα				
	12h	24h	48h	96h	192h
0,00125	14 ± 0,9	12 ± 1,2	7 ± 0,8	4 ± 1,3	1 ± 0,3
0,0025	21 ± 2,0	33 ± 2,3	16 ± 1,7	3 ± 1,4	2 ± 0,3
0,005	39 ± 5,2	45 ± 0,7	15 ± 1,0	8 ± 0,8	6 ± 1,8
0,01	44 ± 3,1	53 ± 2,2	18 ± 0,8	12 ± 1,2	11 ± 0,9
0,02	47 ± 2,8	82 ± 3,1	23 ± 1,1	15 ± 0,6	32 ± 2,7
0,04	57 ± 1,9	98 ± 1,2	30 ± 1,7	41 ± 4,1	60 ± 3,2
0,08	86 ± 2,7	99 ± 0,8	90 ± 2,6	84 ± 2,0	89 ± 1,3
0,16	98 ± 1,5	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0
0,32	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0	100 ± 0,0

Στην ίδια εργασία εξετάστηκε και η επίδραση του μεθανολικού εκχυλίσματος μελίας σε πειράματα βιοδοκιμών σε φυτά τομάτας. Η επίδραση αξιολογήθηκε ως προς τον αριθμό των ενήλικων θηλυκών *M. incognita* στις ρίζες των φυτών και προέκυψε τιμή EC_{50} ίση με 0,916% w/w. Συγκεκριμένα, στις δύο υψηλότερες συγκεντρώσεις ενσωμάτωσης του μεθανολικού εκχυλίσματος στο έδαφος (2,5 και 3% w/w) δεν παρουσιάστηκε προσβολή στις ρίζες τομάτας, ενώ στη χαμηλότερη

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

συγκέντρωση (0,5% w/w) που δοκιμάστηκε υπολογίστηκε μείωση των θηλυκών J2 στη ρίζα περίπου ίση με 25% σε σχέση με το μάρτυρα.

Η υπόθεση πως το είδος *M. azedarach* θα μπορούσε να ενταχθεί στα φυσικά βιολογικά μέσα, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να δώσουν εναλλακτικές των χημικά συντιθέμενων νηματωδοκτόνων λύσεις για τον έλεγχο των νηματωδών και να οδηγήσουν σε πιθανή αντικατάστασή τους ή συνδυασμένη χρήση τους, αξιολογήθηκε η μελέτη της νηματωδοκτόνου δράσης των υδατικών εκχυλισμάτων των καρπών του *M. azedarach* έναντι των *M. incognita* και *M. javanica*, η οποία και πραγματοποιήθηκε με την παρούσα διατριβή.

3.2 *Alianthus altissima*

Ο Αείλανθος ο υψηλότατος (*Alianthus altissima*), γνωστός και ως βρωμοκαρυδιά, βρωμόδεντρο ή βρωμούσα, είναι φυλλοβόλο δέντρο της οικογένειας των Σιμαρουβοειδών (Simaroubaceae). Είναι ιθαγενές της βόρειας και κεντρικής Κίνας, της Ταϊβάν και της Βόρειας Κορέας. Στην Ευρώπη θεωρείται ως «επιθετικό» είδος (invasive species) (Kowarik, 2007). Αντίθετα από άλλα μέλη του γένους Αείλανθος (*Alianthus*), απαντάται σε εύκρατα κλίματα αντί σε τροπικά. Μεγαλώνει γρήγορα και μπορεί να φθάσει το ύψος των 15 μέτρων σε 25 χρόνια. Ωστόσο, έχει μικρή διάρκεια ζωής και σπάνια ζει πάνω από 50 χρόνια. Η βοτανική του κατάταξη παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα:

Πίνακας 5. Βοτανική ταξινόμηση του είδους *A. altissima*.

Βασίλειο:	**Plantae**
Διαίρεση:	**Angiosperms**
Κλάση:	**Eudicots**
Τάξη:	**Sapindales**
Οικογένεια:	**Simaroubaceae**
Γένος:	***Alianthus***
Είδος:	***A. altissima***

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Εικόνα 16. Φωτογραφίες του δίοικου φυλλοβόλου δέντρου *A. altissima*. (http://en.wikipedia.org)

Έχει εγκλιματιστεί σε πολλά μέρη της Ευρώπης, συμπεριλαμβανομένων της Γερμανίας, της Αυστρίας και της Ελβετίας, στη Νοτιοανατολική Ευρώπη (από την Ιταλία και την Ουγγαρία νότια προς τη Βοσνία και Ερζεγοβίνη) και στις περισσότερες χώρες της λεκάνης της Μεσογείου.

Ο αείλανθος είναι καιροσκοπικό φυτό που ευδοκιμεί σε πλήρη ήλιο και διαταραγμένες περιοχές. Απλώνεται επιθετικά, τόσο από τους σπόρους του, που η ελαφριά κατασκευή που διαθέτουν, τους επιτρέπει να μεταφέρονται με τον άνεμο σε μεγάλες αποστάσεις, όσο και με μοσχεύματα. Αναπτύσσεται με ταχείς ρυθμούς σε σύντομο χρονικό διάστημα ακόμη και σε συνθήκες χαμηλού φωτισμού, ανταγωνιζόμενος επιτυχώς τα αυτόχθονα δέντρα. Είναι ανθεκτικό σε αντίξοες συνθήκες περιβάλλοντος και έχει βρεθεί ότι παρουσιάζει αλληλοπάθεια (Heisey, 1997). Είναι πολύ ανθεκτικό στην ατμοσφαιρική, χημική και σωματιδιακή ρύπανση, συμπεριλαμβανομένου του διοξειδίου του θείου, το οποίο απορροφά στα φύλλα του.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Μπορεί να αντέξει τη σκόνη τσιμέντου, τις αναθυμιάσεις λιθανθρακόπισσας, καθώς και την έκθεση στο όζον. Επιπλέον, υψηλές συγκεντρώσεις υδραργύρου έχουν βρεθεί στους ιστούς του (Heisey, 1997).

Διαφορετικές φυτοχημικές μελέτες ανέφεραν την παρουσία στο φυτό χημικών ενώσεων, όπως κασσινοειδών, αλκαλοειδών, λιπιδίων και λιπαρών οξέων, πτητικών και φαινολικών ενώσεων, φλαβονοειδών, και κουμαρινών (De Martino et al., 2008). Οι Kraus et al. (1994), ανέφεραν ότι η αλιανθόνη όταν εκχυλίζεται με μεθανόλη από σπόρους του *A. altissima* αποδείχθηκε ότι έχει ισχυρή αντιτροφική δράση και είναι ρυθμιστής της ανάπτυξης των εντόμων.

Ιδιότητες

Το βρωμόδεντρο είναι πολύ δημοφιλές στις ανατολικές χώρες και χρησιμοποιείται ως φυτικό φάρμακο. Ο φλοιός είναι το μέρος του φυτού που χρησιμοποιείται πιο συχνά, ωστόσο περιέχει ένα γλυκοσίδιο, το οποίο δεν έχει διερευνηθεί πλήρως και θα πρέπει να χρησιμοποιείται με προσοχή. Ο φλοιός της ρίζας και το στέλεχος έχουν αντισπασμωδικές, καταθλιπτικές, διουρητικές, εμετικές και αντιπυρετικές ιδιότητες (De Martino et al, 2008). Το φυτό χρησιμοποιείται για τη θεραπεία της ελονοσίας, καθώς επίσης επιβραδύνει τον καρδιακό ρυθμό και τους σπασμούς. Στην Κίνα, ο φλοιός του αείλανθου αποτελεί δημοφιλή θεραπεία για τη δυσεντερία και άλλες ενοχλήσεις. Σε κλινική δοκιμή που πραγματοποιήθηκε, 81 στους 82 ασθενείς θεραπεύτηκαν από δυσεντερία όταν τους δόθηκε το συγκεκριμένο βότανο. Οι ρίζες του φυτού έχουν χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τη θεραπεία της επιληψίας και του άσθματος. Επίσης, με τα φύλλα του δέντρου και τον φλοιό μπορούν να αντιμετωπιστούν διάφορα εξανθήματα, έλκη και φαγούρα. Εκχυλίσματα από το φυτό έχουν βακτηριοκτόνο δράση.

Παράλληλα, πρόσφατα δημοσιεύτηκε ότι ο αείλανθος παρουσιάζει και νηματωδοκτόνες ιδιότητες. Μέχρι στιγμής, έχουν μελετηθεί τα μεθανολικά εκχυλίσματα διαφόρων τμημάτων του φυτού (Caboni et al, 2012) και η επίδραση αυτών στους νηματώδεις *M. javanica* σε πειράματα παράλυσης. Στο συγκεκριμένο πείραμα μελετήθηκαν τα μεθανολικά εκχυλίσματα από διάφορα τμήματα του φυτού, όπως ο φλοιός του δέντρου, τα φύλλα, η ρίζα καθώς και εκχυλίσματα του ξύλου του αείλανθου. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, το εκχύλισμα του ξύλου ήταν αυτό που έδειξε τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα εναντίον των *M. javanica* με EC_{50} =58,9 mg/L, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της έρευνας (Πίνακας 6).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Πίνακας 6. EC_{50} των μεθανολικών εκχυλισμάτων του αείλανθου εναντίον των *M. javanica* μετά από 3 μέρες επώασης σε πειράματα παράλυσης και συγκέντρωση του κάθε εκχυλίσματος που προκάλεσε 100% παράλυση. AWE: εκχύλισμα του ξύλου, ABE: εκχύλισμα του φλοιού, ALE: εκχύλισμα των φύλλων, ARE: εκχύλισμα των ριζών (Caboni et al, 2012).

Εκχύλισμα	3 ημέρες		4 ημέρες	
	EC_{50} (mg/L)	R^2	100% mortality (mg/L)	100% mortality (mg/L)
AWE	58,9	0,91	500	31,2
ABE	>250		625	312
ALE	>250		>2500	>2500
ARE	>250		>2500	>2500

Η τιμή αυτή, σε σύγκριση με τιμές EC_{50} άλλων μελετών για νηματωδοκτόνο δράση μεθανολικών εκχυλισμάτων διαφόρων φυτικών ειδών, είναι χαμηλότερη. Για παράδειγμα, σε πειράματα νηματωδοκτόνου δράσης μεθανολικού εκχυλίσματος του *Ruta chalepensis* σε προνύμφες J2, η τιμή EC_{50} που υπολογίστηκε ήταν ίση με 1001mg/L μετά από 1 ημέρα εμβάπτισης σε πειράματα παράλυσης (Ntalli et al., 2011). Σε παρόμοια έρευνα, το EC_{50} του φυτού *Plantago lanceolata* βρέθηκε στο 43,7% μετά από 2 ημέρες εμβάπτισης των προνυμφών J2 (Meyer et al., 2006). Όπως αναφέρθηκε και πιο πάνω (σελ. 39), το EC_{50} του μεθανολικού εκχυλίσματος της μελίας εναντίον των *M. javanica* μετά από 48h εμβάπτισης βρέθηκε γύρω στα 42,6 mg/L.

Οι ουσίες στις οποίες αποδόθηκε κυρίως η νηματοδωκτόνος δράση του αείλανθου είναι οι ακόρεστες α, β, γ και δ C10 αλδεΰδες με κύριους εκπροσώπους στο μεθανολικό εκχύλισμα του ξύλου του αείλανθου την δεκενάλη και την δεκαδιενάλη, οι οποίες ανιχνεύτηκαν στα μεθανολικά εκχυλίσματα του ξύλου αλλά όχι στα εκχυλίσματα των φύλλων, των ριζών και του φλοιού (Caboni et al, 2012).

Με βάση, λοιπόν, την διαπιστωθείσα νηματοδωκτόνο δράση των μεθανολικών εκχυλισμάτων του ξύλου του αείλανθου προέκυψε η ανάγκη δοκιμής, αφ' ενός της δράσης του υδατικού εκχυλίσματος του ξύλου και αφετέρου της σκόνης του ξύλου σε πειράματα βιοδοκιμών με φυτά τομάτας σε φυτοδοχεία, τα οποία και είναι μέρος της διατριβής αυτής.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ - ΣΚΟΠΟΣ

Τα δύο φυτικά είδη που αναφέρθηκαν παραπάνω ήταν και το αντικείμενο της πειραματικής αξιολόγησης και γι'αυτό εξετάστηκαν με στόχο τη διερεύνηση και μελέτη της νηματωδοκτόνου δράσης τους εναντίον των προνυμφών των *M. incognita* και *M. javanica*. Εξετάστηκαν ως προς την δυνατότητα πρόκλησης παράλυσης των προνυμφών δευτέρου σταδίου ανάπτυξης καθώς και ως προς την επίδρασή τους στο βιολογικό του κύκλο.

Τα βοτανικά είδη αυτά επιλέχθηκαν με βασικό κριτήριο τις βιβλιογραφικές αναφορές σχετικές με τις βιολογικές τους δράσεις.

Στο πειραματικό στάδιο πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές ενσωμάτωσης φυτικών μερών και υδατικών εκχυλισμάτων σε φυτοδοχεία, όπου σε έδαφος τεχνητά μολυσμένο με νηματώδεις αναπτύχθηκαν φυτά τομάτας. Παράλληλα πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές εφαρμογής εκχυλισμάτων, σε υδατικά διαλύματα για απευθείας έλεγχο της επίδρασης τους στους νηματώδεις. Τα πειράματα σε φυτοδοχεία δεν περιελάμβαναν δοκιμές με καθαρές ουσίες αντιπροσώπευαν όμως περισσότερο την εφαρμογή στη πράξη (βιολογικό σύστημα: φυτό, έδαφος, νηματώδης, ελεγχόμενη-ες ουσία-ες).

Το υδατικό εκχύλισμα του *Melia azedarach* καθώς και του *Alianthus altissima* μελετώνται για πρώτη φορά εναντίον των προνυμφών *M. incognita* και *M. javanica*. Αρχικά στο εργαστήριο αναπτύχθηκε μέθοδος εκχύλισης για την παραλαβή του υδατικού εκχυλίσματος του *Melia azedarach* που δοκιμάστηκε ως προς την ικανότητα παράλυσης των προνυμφών του *M. incognita* και *M. javanica* καθώς και για την επίδρασή τους στο βιολογικό κύκλο των προνυμφών αυτών. Στη συνέχεια, τα δύο φυτικά είδη ελέχθησαν υπό τη μορφή ενσωματωμένου καρπού και ξύλου, αντίστοιχα, σε φυτοδοχεία για τον έλεγχο της επίδρασης στον βιολογικό κύκλο του νηματώδη.

Αρχικά, οργανώθηκαν προκαταρκτικά πειράματα για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων που επιφέρουν ποσοστά παράλυσης 0 – 100% και στα δύο είδη και αποφασίστηκαν έτσι, οι τελικές συγκεντρώσεις με τις οποίες πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα που αναλύονται παρακάτω.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

4.2 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Τα φυτά της τομάτας που χρησιμοποιήθηκαν για την ανάπτυξη του πληθυσμού των κομβονηματωδών, που ήταν αναγκαίος για τα πειράματα παράλυσης και για τα πειράματα βιοδοκιμών αναπτύχθηκαν σε πλαστικά φυτοδοχεία που περιείχαν τύρφη. Όταν τα φυτά βρίσκονταν στο στάδιο του πέμπτου αναπτυγμένου φύλλου, μολύνθηκαν με προνύμφες J2. Σε αυτό το στάδιο ανάπτυξης των φυτών το ριζικό σύστημα ήταν επαρκώς ανεπτυγμένο για να φιλοξενήσει τους νηματώδεις και να ευνοήσει την ανάπτυξη και την αναπαραγωγή τους. Στη συνέχεια, τα φυτά τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενης θερμοκρασίας στους 27°C και 50% σχετική υγρασία και ποτίζονταν κάθε τρείς περίπου ημέρες.

Τριάντα έως πενήντα ημέρες αργότερα, και μετά από την ολοκλήρωση ενός βιολογικού κύκλου, οι ρίζες των φυτών αποκόπηκαν, πλύθηκαν για να απομακρυνθούν τα υπολείμματα του εδάφους και επεξεργάστηκαν κατάλληλα για την παραλαβή των αυγών και ακολούθως την εκκόλαψη των προνυμφών J2. Συγκεκριμένα, η διαδικασία που ακολουθήθηκε περιλάμβανε την κοπή των ριζών σε μικρά τεμάχια των 2cm, την τοποθέτησή τους σε διάλυμα 1% NaOCl (υποχλωριώδες νάτριο) και ανακίνηση του αιωρήματος για πέντε λεπτά. Ακολούθησε πλύση σε τρεχούμενο νερό με ήπια ροή μέσα από κόσκινα διατομής 250 και 38 μm (Hussey and Barkey, 1973), παραλαβή των αυγών των νηματωδών στα κόσκινα και μεταφορά και επώασή τους σε τροποποιημένα δοχεία Baermann (Εικόνα 17) στους 28°C.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Εικόνα 17. Τροποποιημένο δοχείο Baermann.

Μετά από 48h παραλήφθηκαν οι νέο- εκκολαφθείσες προνύμφες J2. Οι J2 που εκκολάπτονταν κατά τη διάρκεια των δύο πρώτων ημερών απορρίπτονταν, λόγω της διαφοράς μεταξύ τους ως προς την ηλικία, ενώ εκείνες που συλλέγονταν ανά 48h από την τρίτη μέρα χρησιμοποιούνταν για τις βιολογικές δοκιμές. Σε όλο το κείμενο αναφορά J2 σημαίνει προνύμφες δευτέρου σταδίου ανάπτυξης και ηλικίας δυο ημερών (48 h).

4.3 ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΥΔΑΤΙΚΟΥ ΕΚΧΥΛΙΣΜΑΤΟΣ

4.3.1 Υδατικό εκχύλισμα του *M. azedarach* που χρησιμοποιήθηκε για τα πειράματα κινητικότητας

Η διαδικασία εκχύλισης του αλεσμένου καρπού μελίας που προέκυψε από δοκιμαστικά πειράματα υδατικών εκχυλίσεων είναι η εξής: 120g αλεσμένου καρπού Μελίας και 240ml νερού τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως και στη συνέχεια αφέθηκαν για 30min σε υδατόλουτρο υπερήχων (Transonic 460, Elma) σε 35°C. Μετά το υδατόλουτρο, το μίγμα μεταφέρθηκε σε σωλήνες φυγοκέντρου και

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

φυγοκεντρήθηκε για 15 min στις 4500 rpm. Τέλος, το υπερκείμενο υγρό διηθήθηκε σε ειδικό διηθητικό χαρτί και έγινε παραλαβή του διηθήματος, το οποίο και χρησιμοποιήθηκε ως υδατικό εκχύλισμα μελίας. Για τον προσδιορισμό της ξηράς ουσίας του τελικού εκχυλίσματος παρελήφθησαν 0,5ml εκχυλίσματος και τοποθετήθηκαν σε ρεύμα αζώτου όπου συμπυκνώθηκαν μέχρι ξηρού σταθερού βάρους (τρεις επαναλήψεις για κάθε υδατικό εκχύλισμα, από τις οποίες προέκυψε η έκφραση της συγκέντρωσης του υδατικού εκχυλίσματος σε mg ξηρής ουσίας ανά ml υδατικού εκχυλίσματος ή % w/v).

4.3.2 Υδατικό εκχύλισμα των καρπών του *M. azedarach* που χρησιμοποιήθηκε για τις βιοδοκιμές των προνυμφών J2

Η διαδικασία εκχύλισης των καρπών της μελίας που πραγματοποιήθηκε ήταν η εξής: 120g αλεσμένου καρπού τοποθετήθηκαν σε ποτήρι ζέσεως και στη συνέχεια προστέθηκαν 240ml νερού. Το ποτήρι ζέσεως τοποθετήθηκε σε λουτρό υπερήχων για 30min στους 35°C. Ακολούθως, το περιεχόμενο μεταφέρθηκε για φυγοκέντριση στις 4500rpm για 15min. Το υπερκείμενο διηθήθηκε και στη συνέχεια προσδιορίστηκε η ξηρά ουσία, έτσι ώστε να είναι δυνατή η έκφραση σε mg ξηρής ουσίας ανά ml υδατικού εκχυλίσματος.

4.3.3 Υδατικό εκχύλισμα του ξύλου του *A. altissima*

Για την παρασκευή του υδατικού εκχυλίσματος, το πρωτόκολλο που εφαρμόστηκε ήταν το παρακάτω: 35g αλεσμένου ξύλου αείλανθου προστέθηκαν μαζί με 170ml νερό και 2ml EtOH σε ποτήρι ζέσεως. Στη συνέχεια, ομοιογενοποιήθηκαν στο Ultra Turrax για 1 min και τοποθετήθηκαν σε υδατόλουτρο υπερήχων για 30min στους 40-45°C. Ακολουθησε εκ νέου ανάδευση στο Ultra Turrax για 2min και τοποθέτηση σε λουτρό υπερήχων για 15min στους 45°C. Τέλος, πραγματοποιήθηκε διήθηση και παραλαβή του εκχυλίσματος.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

4.4 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΠΑΡΑΛΥΣΗΣ

Από το αρχικό υδατικό διάλυμα και ακολουθώντας το νόμο της αραίωσης παρασκευάστηκαν τα παρακάτω διαλύματα στις αντίστοιχες δόσεις ελέγχου.

1^{ο} δοκιμαστικό πείραμα παράλυσης σε *M. incognita* και *M. javanica*: 0,312, 0,25, 0,218, 0,187, 0,156 και 0,125% w/v.

2^{ο} πείραμα παράλυσης σε *M. incognita* και *M. javanica* : 0,218, 0,187, 0,156, 0,125, 0,109 και 0,098% w/v.

Τα διαλύματα αρχικά παρασκευάστηκαν σε συγκεντρώσεις διπλάσιες των συγκεντρώσεων ελέγχου και στη συνέχεια αναμίχθηκαν μέσα στα πηγάδια των πλακών με το αιώρημα των νηματωδών σε αναλογία 1:1 (v/v). Ο συνολικός αριθμός των προνυμφών J2 που προστέθηκαν σε κάθε πηγάδι της πλάκας πολυστυρενίου των 96 πηγαδίων, και χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της παράλυσης, ήταν δεκαπέντε (15). Οι πλάκες καλύφθηκαν με καπάκι ώστε να αποφευχθεί αφενός η εξάτμιση των διαλυμάτων και αφετέρου οι επιμολύνσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων. Επιπλέον, για τον έλεγχο της επιμόλυνσης μεταξύ των μεταχειρίσεων, τα περιφερειακά της κάθε μεταχείρισης πηγάδια χρησιμοποιήθηκαν για την εμβάπτιση των προνυμφών J2 σε νερό βρύσης καθώς απουσία παράλυσης σε αυτές τις προνύμφες θα σήμαινε απουσία επιμόλυνσης μεταξύ μεταχειρίσεων.

Στη συνέχεια οι πλάκες τοποθετήθηκαν σε θάλαμο στους 28°C για επώαση και η κινητικότητα των προνυμφών αξιολογήθηκε με τη βοήθεια ανάστροφου μικροσκοπίου (Euromex, Holland) σε μεγέθυνση 40x, στις 24 και 48h από την εγκατάσταση του πειράματος.

Οι κατηγορίες κινητικότητας στις οποίες ταξινομήθηκαν οι προνύμφες J2 ήταν κινητές και ακίνητες. Οι μεταχειρίσεις επαναλήφθηκαν στο χρόνο δύο φορές.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

4.5 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΣΕ ΦΥΤΟΔΟΧΕΙΑ

4.5.1 Δοκιμή επίδρασης του *M. azedarach* υπό τη μορφή αλεσμένου καρπού, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita*

Το έδαφος που χρησιμοποιήθηκε ήταν άργιλο-πηλώδες με οργανική ουσία σε ποσοστό 1,3% και pH 7,8 από το αγρόκτημα της Γεωπονικής Σχολής του Αριστοτέλειου Πανεπιστήμιου Θεσσαλονίκης. Το έδαφος πέρασε από κόσκινο διατομής 3mm και στη συνέχεια ξηράθηκε μερικώς για μια νύχτα. Στη συνέχεια το έδαφος αναμείχθηκε με άμμο σε αναλογία 2:1 και το μίγμα εδάφους-άμμου που παρασκευάστηκε χρησιμοποιήθηκε για τις βιοδοκιμές βιολογικής δράσης των εκχυλισμάτων ή καρπών σε πλαστικά φυτοδοχεία και το οποίο στο εξής θα νοείται ως έδαφος. Το έδαφος χωρίστηκε σε μέρη (1Kg/μέρος), κάθε ένα από τα οποία αποτελούσε μία μεταχείριση.

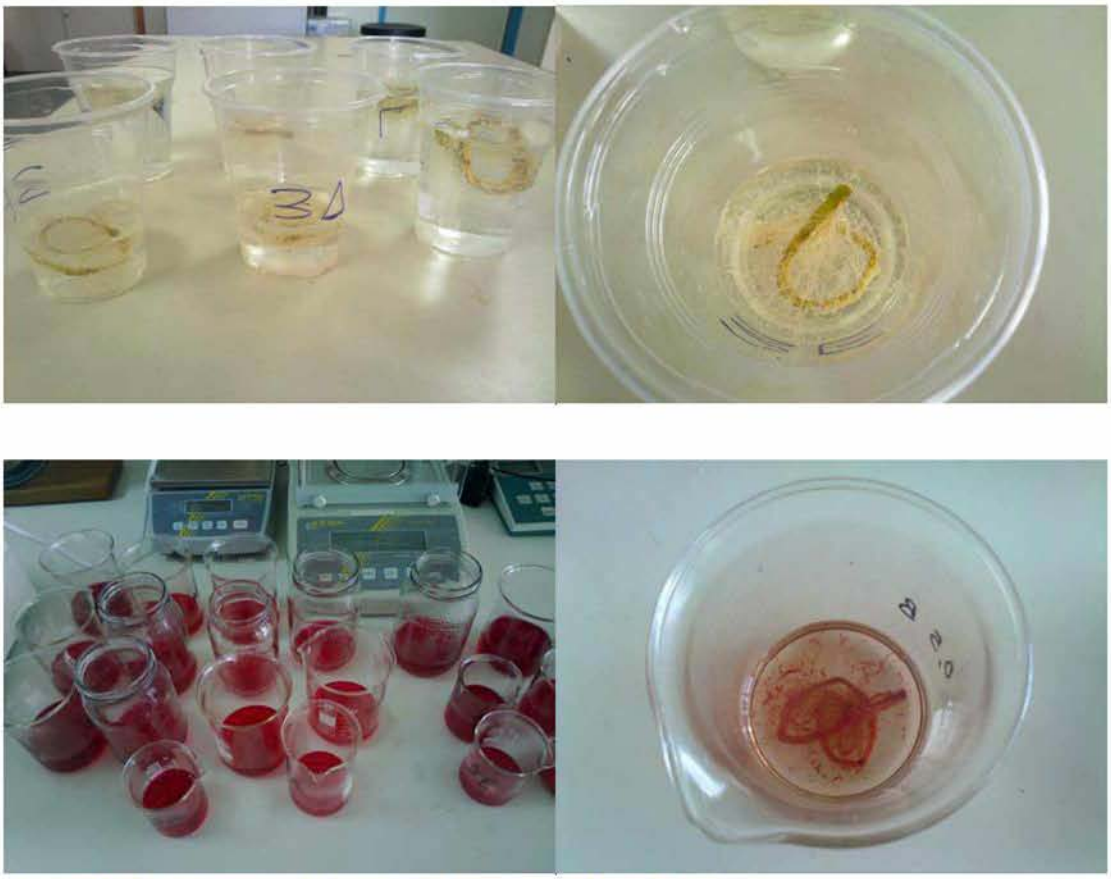
Τα εδάφη φορτίστηκαν με αιώρημα 12.500 J2/Kg εδάφους, και ακολούθησε ανάδευση, για την καλύτερη κατανομή των νηματωδών, κοσκίνισμα και παραμονή στο σκοτάδι για 24h. Στη συνέχεια, κοσκινίστηκαν εκ νέου σε κόσκινο διαμέτρου 3mm. Ακολούθησε η εφαρμογή του υλικού (αλεσμένος καρπός) σε κάθε μεταχείριση ώστε να προκύψουν οι παρακάτω συγκεντρώσεις αλεσμένου καρπού μελίας στο έδαφος (συγκεντρώσεις ελέγχου): 0,05, 0,1, 02, 0,4, 0,8, 1,6, 3,2 και 6,4% w/w.

Τέλος, ένα μέρος εδάφους δέχθηκε μεταχείριση με νερό και αιώρημα νηματωδών και χρησιμοποιήθηκε ως αρνητικός μάρτυρας. Μετά από 24 h το έδαφος κοσκινίστηκε για τελευταία φορά και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η μεταφύτευση φυταρίων τομάτας, ποικιλίας Belladonna, στα πλαστικά φυτοδοχεία (200g το καθένα). Συνολικά πραγματοποιήθηκαν πέντε (5) επαναλήψεις ανά μεταχείριση. Τα φυτά, μετά την εγκατάστασή τους ποτίστηκαν με 40 ml νερό ανά φυτό. Το πείραμα τοποθετήθηκε σε θάλαμο ελεγχόμενης θερμοκρασίας στους 27°C. Τα φυτά ποτίζονταν με 40 ml νερό κάθε τρείς μέρες.

Πενήντα μέρες μετά την εγκατάσταση του πειράματος, κόπηκε το υπέργειο μέρος των φυτών στο ύψος του λαιμού και ζυγίστηκε. Οι ρίζες των φυτών πλύθηκαν προσεκτικά σε τρεχούμενο νερό για την απομάκρυνση του εδάφους και αφού στέγνωσαν, ζυγίστηκαν. Ακολούθησε χρώση των ριζών με εμβάπτιση σε όξινο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

διάλυμα φουξίνης σύμφωνα με το πρωτόκολλο των Byrd et al. (1983) ώστε να χρωματιστούν τα ενήλικα θηλυκά στους κόμβους των ριζών. Συνολικά πραγματοποιήθηκαν οι εξής μετρήσεις: χλωρό βάρος ρίζας, χλωρό βάρος υπέργειου τμήματος και αριθμός θηλυκών *M. incognita* ανά γραμμάριο ρίζας (Εικόνες 18, 19).



Εικόνα 18. Ρίζες φυτών τομάτας πριν και μετά τη χρώση με φουξίνη.

Εικόνα 19. Παρατήρηση σε στερεοσκόπιο ενήλικων θηλυκών μέσα και έξω από τη ρίζα.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

4.5.2 Δοκιμή επίδρασης υδατικού εκχυλίσματος του *M. azedarach* στο βιολογικό κύκλο των προνυμφών *M. incognita* και *M. javanica*

Για την κάθε μία βιοδοκιμή (πραγματοποιήθηκαν δύο βιοδοκιμές, μια για το βιολογικό κύκλο των προνυμφών *M. incognita* και μια για αυτόν των *M. javanica*) τα εδάφη (έδαφος της ίδιας παρτίδας με εκείνο που χρησιμοποιήθηκε για τις βιοδοκιμές της παραγράφου 4.5.1) φορτίστηκαν με αιώρημα 12.500 J2/Kg εδάφους. Ακολούθησε ανάδευση, για την καλύτερη κατανομή των νηματωδών, κοσκίνισμα και παραμονή στο σκοτάδι για 24h. Στη συνέχεια, τα φορτισμένα εδάφη κοσκινίστηκαν εκ νέου σε κόσκινο διαμέτρου 3mm και ακολούθησε η εφαρμογή ορισμένης ποσότητας του υδατικού εκχυλίσματος των καρπών της μελίας (Melia Water Extract MWE) σε κάθε μεταχείριση, ώστε να προκύψουν οι παρακάτω συγκεντρώσεις ξηράς ουσίας μελίας στο έδαφος (συγκεντρώσεις ελέγχου): 0,625, 1,25, 1,875, 2,5, 3 και 3,5% w/w. Η μεταχείριση του μάρτυρα δέχθηκε εφαρμογή με νερό αντίστοιχου όγκου με αυτό που δέχθηκαν όλες οι άλλες μεταχειρίσεις. Επιπλέον, εφαρμόστηκε και μια μεταχείριση με το νηματωδοκτόνο σκεύασμα Vydate 20% (δ.ο. oxamyl) χρησιμοποιώντας 133μl σκευάσματος σε 1 Kg εδάφους.

Μετά από 24 h το έδαφος κάθε μεταχείρισης (1 Kg) κοσκινίστηκε εκ νέου δύο φορές και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η μεταφύτευση φυταρίων τομάτας, ποικιλίας Belladonna, στα πλαστικά φυτοδοχεία (200g το καθένα). Συνολικά πραγματοποιήθηκαν πέντε (5) επαναλήψεις ανά μεταχείριση. Τα φυτά, μετά την εγκατάστασή τους ποτίστηκαν με 35 ml νερό ανά φυτό. Το πείραμα τοποθετήθηκε σε θάλαμο ελεγχόμενης θερμοκρασίας στους 27°C. Τα φυτά ποτίζονταν με 40-50 ml νερό κάθε τρείς μέρες.

Περίπου πενήντα μέρες μετά την εγκατάσταση του πειράματος, πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις χλωρού βάρους ρίζας, χλωρού βάρος υπέργειου τμήματος των φυτών τομάτας και αριθμός θηλυκών *M. incognita και M. javanica* (ανάλογα με τη μεταχείριση) ανά γραμμάριο ρίζας μετά από χρώση των ριζών με εμβάπτιση σε όξινο διάλυμα φουξίνης.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

4.5.3 Δοκιμή επίδρασης αλεσμένου ξύλου του *A. altissima*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita*

Το έδαφος που χρησιμοποιήθηκε χωρίστηκε σε 10 μέρη (1Kg/μέρος), κάθε ένα από τα οποία αντιπροσώπευε και μία μεταχείριση. Τα εδάφη φορτίστηκαν με αιώρημα 10.000 J2/Kg εδάφους, και ακολούθησε ανάδευση, κοσκίνισμα και παραμονή στο σκοτάδι για 24h. Στη συνέχεια, κοσκινίστηκαν εκ νέου σε κόσκινο διαμέτρου 3mm και ακολούθησε η εφαρμογή της σκόνης. Οι ποσότητες αλεσμένου ξύλου αείλανθου που εφαρμόστηκαν στην κάθε μεταχείριση (1 Kg εδάφους) ήταν 0,5, 1, 2, 4, 8, 16, 32 και 64g, ώστε να προκύψουν οι παρακάτω συγκεντρώσεις ελέγχου 0,05, 0,1, 02, 0,4, 0,8, 1,6, 3,2 και 6,4% w/w. Επιπλέον, υπήρξε η μεταχείριση του μάρτυρα (χωρίς την εφαρμογή αλεσμένου καρπού) και μια μεταχείριση με το νηματωδοκτόνο σκεύασμα Vydate 20% (δ.ο. oxamyl).

Μετά από 24 h το έδαφος κάθε μεταχείρισης (1 Kg) κοσκινίστηκε εκ νέου δύο φορές και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η μεταφύτευση φυταρίων τομάτας, ποικιλίας Belladonna, στα πλαστικά φυτοδοχεία (200g το καθένα). Συνολικά πραγματοποιήθηκαν πέντε (5) επαναλήψεις ανά μεταχείριση. Τα φυτά, μετά την εγκατάστασή τους ποτίστηκαν με 60 ml νερό ανά φυτό και τοποθετήθηκαν σε θάλαμο ελεγχόμενης θερμοκρασίας στους 27-28°C. Περίπου πενήντα μέρες μετά την εγκατάσταση του πειράματος, πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις χλωρού βάρους ρίζας, χλωρού βάρος υπέργειου τμήματος των φυτών τομάτας και αριθμός θηλυκών *M. incognita* ανά γραμμάριο ρίζας μετά από χρώση των ριζών με εμβάπτιση σε όξινο διάλυμα φουξίνης.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Εικόνα 20. Φυτά μάρτυρα (control).

4.5.4 Δοκιμές επίδρασης υδατικού εκχυλίσματος του ξύλου του *A. altissima* στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita*

Τα εδάφη (έδαφος της ίδιας παρτίδας με εκείνο που χρησιμοποιήθηκε για τις βιοδοκιμές της παραγράφου 4.5.1) φορτίστηκαν με αιώρημα 11.000 J2/Kg εδάφους. Ακολούθησε ανάδευση, για την καλύτερη κατανομή των νηματωδών, κοσκίνισμα και παραμονή στο σκοτάδι για 24h. Στη συνέχεια, αφού τα φορτισμένα εδάφη κοσκινίστηκαν εκ νέου ακολούθησε η εφαρμογή ορισμένου όγκου του υδατικού εκχυλίσματος του αλεσμένου ξύλου του αείλανθου (*Alianthus* Water Extract AWE) σε κάθε μία μεταχείριση. Συγκεκριμένα οι δόσεις ελέγχου, στην περίπτωση αυτή, αντιστοιχίζονται με τη μάζα ξύλου, στην οποία αντιστοιχεί ο ορισμένος όγκος του εκχυλίσματος που εφαρμόστηκε σε κάθε μεταχείριση. Οι δόσεις ελέγχου αντιστοιχούν λοιπόν σε 1, 2, 4, 8, 16 και 32g. Η μεταχείριση του μάρτυρα δέχθηκε εφαρμογή με νερό αντίστοιχου όγκου με αυτό που δέχθηκαν όλες οι άλλες μεταχειρίσεις. Επιπλέον, εφαρμόστηκε και μια μεταχείριση με το νηματωδοκτόνο σκεύασμα Vydate 20%.

Μετά από 24 h το έδαφος κάθε μεταχείρισης (1 Kg) κοσκινίστηκε εκ νέου δύο φορές και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε η μεταφύτευση φυταρίων τομάτας, ποικιλίας Belladonna, στα πλαστικά φυτοδοχεία (200g το καθένα). Συνολικά

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

πραγματοποιήθηκαν πέντε (5) επαναλήψεις ανά μεταχείριση. Τα φυτά, μετά την εγκατάστασή τους ποτίστηκαν με 35 ml νερό ανά φυτό. Το πείραμα τοποθετήθηκε σε θάλαμο ελεγχόμενης θερμοκρασίας στους 27-28°C. Τα φυτά ποτίζονταν κάθε τρείς μέρες.

Περίπου πενήντα μέρες μετά την εγκατάσταση του πειράματος, πραγματοποιήθηκαν οι μετρήσεις χλωρού βάρους ρίζας, χλωρού βάρος υπέργειου τμήματος των φυτών τομάτας και αριθμός θηλυκών *M. incognita* ανά γραμμάριο ρίζας μετά από χρώση των ριζών με εμβάπτιση σε όξινο διάλυμα φουξίνης.

4.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Οι δοκιμές δόσης απόκρισης για τη μελέτη της επίδρασης παράλυσης του υδατικού εκχυλίσματος μελίας καθώς και του αείλανθου στις προνύμφες J2 είχαν πέντε επαναλήψεις ανά μεταχείριση σε πειραματικό σχέδιο πλήρους τυχαιοποίησης. Τα δεδομένα της παράλυσης εκφράστηκαν ως εκατοστιαία ποσοστά των τιμών παράλυσης που αντιστοιχούσαν στο μάρτυρα σύμφωνα με την εξίσωση των Schneider Orelli's (Puntener, 1981).

Στα πειράματα παράλυσης καθώς και στα πειράματα των βιοδοκιμών, η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση της στατιστικής ανάλυσης Probit ($p<0.05$). Με αυτόν τον τρόπο, υπολογίστηκαν και οι τιμές EC_{50}. Στα πειράματα των βιοδοκιμών τα πρωτογενή αποτελέσματα (αριθμός θηλυκών /g ρίζας) επεξεργάστηκαν λαμβάνοντας υπόψη την προσβολή του μάρτυρα και αποδόθηκαν ως αποτελεσματικότητα χρησιμοποιώντας την εξίσωση του Abbott (Abbott, 1925).

Η ανάλυση Probit (ποσοστιαία στατιστική ανάλυση) είναι μια μαθηματική τεχνική που χρησιμοποιείται για την ανάλυση της δυωνυμικής απόκρισης μεταβλητών (π.χ. θάνατος/ επιβίωση). Χρησιμοποιείται στην τοξικολογία για τον προσδιορισμό της τοξικότητας χημικών ουσιών σε βιολογικούς οργανισμούς. Αυτό επιτυγχάνεται με την καταγραφή της απόκρισης των οργανισμών σε διαφορετικές συγκεντρώσεις έκθεσης σε κάποια χημική ουσία και στη συνέχεια με συσχέτιση των συγκεντρώσεων αυτών με τις αποκρίσεις. Μέσω αυτής της ανάλυσης είναι δυνατή η μετατροπή της σιγμοειδούς καμπύλης δόσης-απόκρισης σε ευθεία γραμμή

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

μέσω επεξεργασίας των δεδομένων είτε με τη μέθοδο των ελαχίστων τετραγώνων, είτε με τη μέθοδο της μεγίστης πιθανότητας.

Η ανάλυση Probit στο συγκεκριμένο πείραμα πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPPS.

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η ανάλυση Probit χρησιμοποιείται για να μετατρέψει τη σχέση της απόκρισης μιας εξαρτημένης μεταβλητής (Y) από μια ανεξάρτητη μεταβλητή (X) σε γραμμική. Ο τύπος είναι ο ακόλουθος:

$$\mathbf{Y = a + bX + e}$$

Όπου a: σταθερά, b: η κλίση της ευθείας, e: σφάλμα

Με την ανάλυση Probit μετατρέπεται η σιγμοειδής καμπύλη σε ευθεία και στη συνέχεια μπορεί να υπολογιστεί η συγκέντρωση εκείνη της χημικής ουσίας που επιφέρει για το θάνατο σε 50% του πληθυσμού των βιολογικών οργανισμών (EC_{50}).

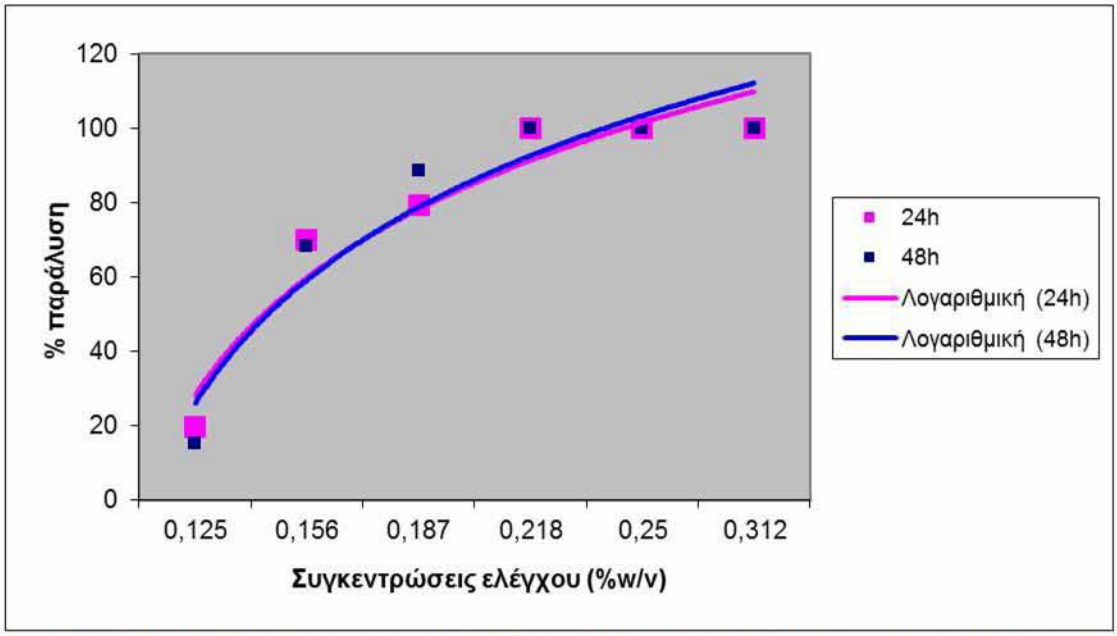
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5.1 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1.1 Επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος των καρπών του *M. azedarach* στην κινητικότητα των προνυμφών δευτέρου σταδίου ανάπτυξης των *M. incognita* και *M. javanica*

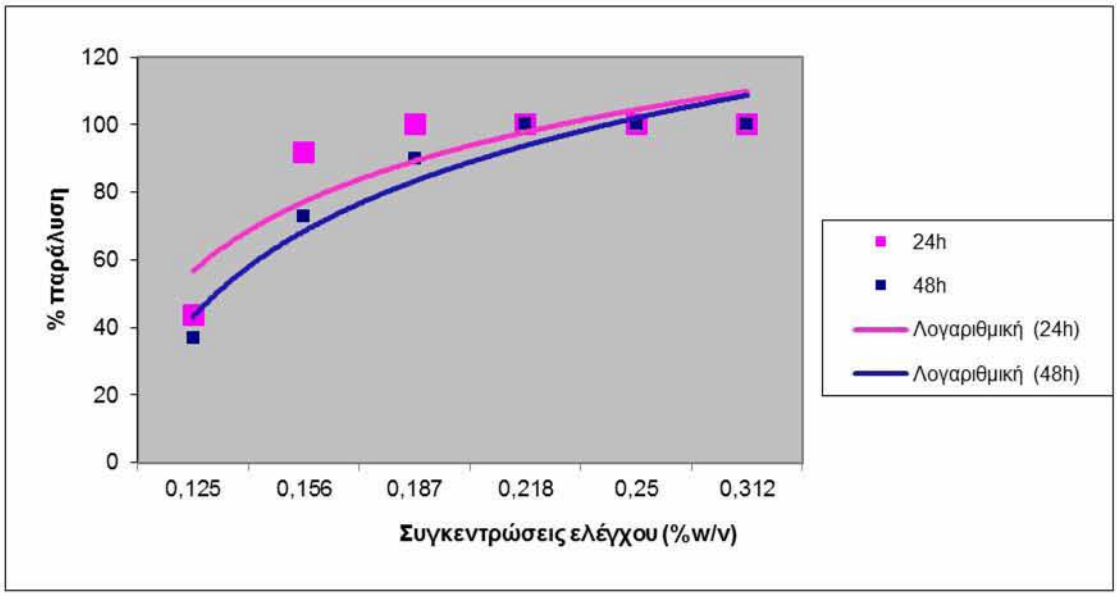
Τα πειράματα της επίδρασης της κινητικότητας των J2 πραγματοποιήθηκαν στο χρόνο δύο φορές. Στα παρακάτω Διαγράμματα (1, 2) παρουσιάζεται η επίδραση στην κινητικότητα των J2, μετά από την εμβάπτισή τους σε διαλύματα υδατικού εκχυλίσματος μελίας για χρονικά διαστήματα εμβάπτισης 24 και 48 h. Στο πείραμα οι συγκεντρώσεις ελέγχου και για τα δύο είδη ήταν οι ίδιες: από 0,125 έως 0,312% w/v. Με βάση την ανάλυση παραλλακτικότητας υπήρξε αλληλεπίδραση της συγκέντρωσης εφαρμογής με τον χρόνο εμβάπτισης ($P<0,05$), όσον αφορά στην προκαλούμενη παράλυση των J2, και για το λόγο αυτό στα αποτελέσματα παρουσιάζονται οι μέσοι όροι της αλληλεπίδρασης.



Διάγραμμα 1. Εξέλιξη του ποσοστού παράλυσης των προνυμφών *M. javanica*, σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων υδατικού εκχυλίσματος του *M. azedarach*. Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο των έξι επαναλήψεων του πειράματος. Η ροζ ($R^2 = 96,94$) και η μπλε ($R^2 = 98,05$)

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

γραμμή αντιπροσωπεύουν, αντίστοιχα, την εξέλιξη σε 24 και 48 ώρες εμβάπτισης των νηματωδών.



Διάγραμμα 2. Εξέλιξη του ποσοστού παράλυσης των προνυμφών *M. incognita*, σε διαφορετικά επίπεδα συγκεντρώσεων υδατικού εκχυλίσματος του *M. azedarach*. Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο των έξι επαναλήψεων του πειράματος. Η ροζ (R^2 = 0,9452) και η μπλε (R^2 = 0,9975) γραμμή αντιπροσωπεύουν, αντίστοιχα, την εξέλιξη σε 24 και 48 ώρες εμβάπτισης των νηματωδών.

Η μείωση της κινητικότητας των J2 μετά από εμβάπτιση σε διαλύματα υδατικού εκχυλίσματος μελίας και στα δύο πειράματα που πραγματοποιήθηκαν είχε πολύπλοκη πορεία στο χρόνο. Αρχικά παρατηρήθηκε παράλυση στις J2 προνύμφες αλλά αργότερα ανέκαμπταν και ανακτούσαν την κινητικότητά τους.

Οι συγκεντρώσεις του υδατικού εκχυλίσματος μελίας από 0,125% έως 0,218% w/v παρουσίασαν ποσοστά παράλυσης από 20% έως 100% για τα *M. javanica*, ενώ για τα *M. incognita* στις ίδιες συγκεντρώσεις, τα ποσοστά παράλυσης αυξήθηκαν σε 40% έως 100%, αντίστοιχα. Οι συγκεντρώσεις του υδατικού εκχυλίσματος μελίας που ήταν μεγαλύτερες της 0,218% w/v προκάλεσαν παράλυση, ήδη από τις 24 ώρες μετά την έναρξη της εμβάπτισης στα διαλύματα ελέγχου, η οποία δεν ανετράπη ποτέ και για τα δύο είδη. Δηλαδή, οι παράλυτες J2 της αξιολόγησης των 24 h, δεν ήταν νεκρές στο σύνολό τους και κάποιες από αυτές ανέκτησαν την κινητικότητά τους μεταγενέστερα. Αυτό αποδίδεται στο σοκ που υπέστησαν οι προνύμφες J2 μετά την εμβάπτισή τους στο υδατικό εκχύλισμα της μελίας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Οι τιμές EC_{50} προέκυψαν από τη μαθηματική επεξεργασία (Probit Analysis) των αποτελεσμάτων και παρουσιάζονται στους Πίνακες 7 και 8. Συγκεκριμένα, για τα *M. javanica*, το EC_{50} υπολογίστηκε στο 0,147 %w/v και στους δύο χρόνους εμβάπτισης, ενώ το EC_{90} υπολογίστηκε στο 0,190 και 0,182% w/v στις 24 και 48h, αντίστοιχα.. Για τα *M. incognita,* η τιμή του EC_{50} αυξήθηκε με το χρόνο εμβάπτισης και από 0,128% w/v για 24h αυξήθηκε σε 0,136% w/v για 48h εμβάπτισης. Όσον αφορά στην τιμή EC_{99} αυτή αυξήθηκε αυξήθηκε από 0,176% w/v για 24h σε 0,226% w/v για 48h εμβάπτισης.

Πίνακας 7. Τιμές EC_{50} της συγκέντρωσης εφαρμογής του Υδατικού Εκχυλίσματος *M. azedarach* στην κινητικότητα των προνυμφών *M. javanica*.

Ώρες έκθεσης στο υδατικό εκχύλισμα μελίας	EC_{50} (%w/v)	CI (95%)	EC_{90} (%w/v)	EC_{99} (%w/v)
24h	0,147	0,131-0,159	0,190	0,234
48h	0,147	0,143-0,151	0,182	0,217

Πίνακας 8. Τιμές EC_{50} της συγκέντρωσης εφαρμογής του Υδατικού Εκχυλίσματος *M. azedarach* στην κινητικότητα των προνυμφών *M. incognita*.

Ώρες έκθεσης στο υδατικό εκχύλισμα μελίας	EC_{50} (%w/v)	CI (95%)	EC_{90} (%w/v)	EC_{99} (%w/v)
24h	0,128	0,124-0,132	0,153	0,176
48h	0,136	0,130-0,141	0,180	0,226

Σύμφωνα με τον Πίνακα 7, παρατηρούμε παρόμοια δραστικότητα της μελίας για τις προνύμφες *M. javanica* όσον αφορά στους δύο χρόνους εμβάπτισης.

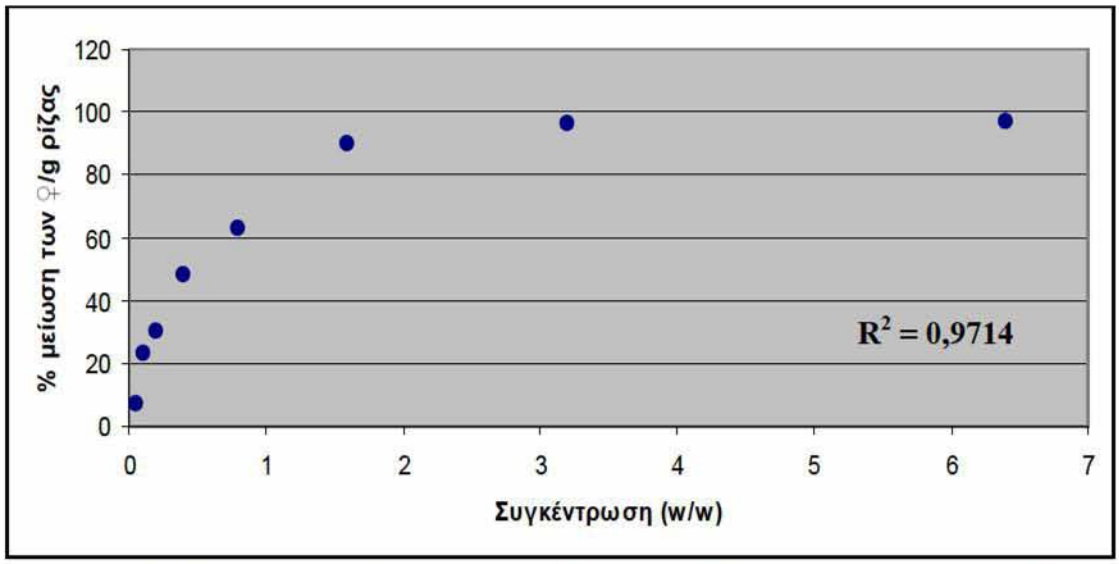
Σε αντίστοιχο πείραμα παράλυσης όχι όμως με το υδατικό εκχύλισμα της μελίας, αλλά με μεθανολικό εκχύλισμά της προέκυψε ότι η συγκέντρωση του μεθανολικού εκχυλίσματος μελίας που μείωσε τον αριθμό των προνυμφών *M. incognita* στο μισό (50%) μετά από εμβάπτιση 24h ήταν 0,006% w/v (ή 60 mg/L), ενώ η συγκέντρωση που προκάλεσε 100% παράλυση στις J2 ήταν 0,16% w/v. Για

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

διάστημα 48h ωρών, το EC_{50} υπολογίστηκε σε 0,0426% w/v ή 426 mg/L (Ντάλλη, 2010).

5.1.2 Επίδραση αλεσμένου καρπού του *M. azedarach*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita*

Ο αριθμός των ενήλικων θηλυκών ατόμων *M. incognita* που μετρήθηκαν στις ρίζες των φυτών τομάτας σε φυτοδοχεία που είχαν δεχθεί μεταχείριση με αλεσμένους καρπούς μελίας, παρουσίασε μείωση, αυξανόμενης της δόσης εφαρμογής (Διάγραμμα 3). Ενσωμάτωση 0,1% αλεσμένων καρπών μείωσε τον αριθμό των θηλυκών ατόμων κατά περίπου 21% ενώ ενσωμάτωση 0,4% w/w παρουσίασε 50% μείωση των θηλυκών νηματωδών. Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές όσον αφορά στα χλωρά βάρη των ριζών και του υπέργειου μέρους των φυτών.



Διάγραμμα 3. Καμπύλη συμμεταβολής του αριθμού των θηλυκών ατόμων *M. incognita* ανά γραμμάριο ρίζας, και της συγκέντρωσης ελέγχου των αλεσμένων καρπών του *M. azedarach*, που εφαρμόστηκε για την μελέτη της επίδρασης στο βιολογικό κύκλο του νηματώδη. Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο των πέντε επαναλήψεων του πειράματος.

Οι τιμές EC_{50} προέκυψαν από τη μαθηματική επεξεργασία (Probit Analysis) των αποτελεσμάτων και παρουσιάζονται στον Πίνακα 9. Η τιμή EC_{50} υπολογίστηκε στο 0,378% w/w με όριο εμπιστοσύνης 0,324 -0,439% w/w. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι τιμές EC_{90} και EC_{99} είναι ίσες με 2,283 και 9,891% w/w, αντίστοιχα. Φυτοτοξικότητα παρατηρήθηκε μόνο στη μεταχείριση με την υψηλότερη συγκέντρωση εφαρμογής αλεσμένων καρπών, 6,4% w/w.

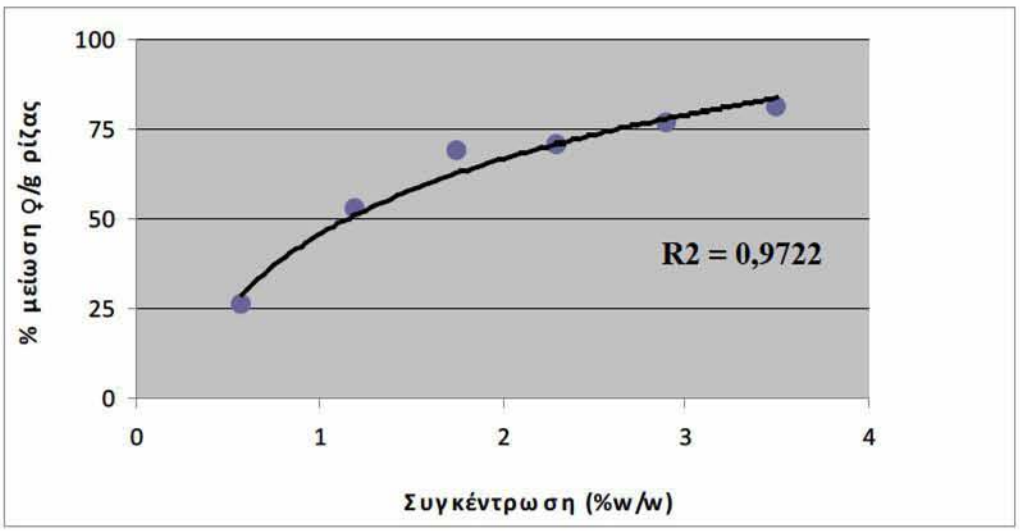
Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Πίνακας 9. Τιμές EC_{50} της συγκέντρωσης εφαρμογής της σκόνης των καρπών του *M. azedarach* πειράματα βιοδοκιμών των *M. incognita*.

	EC_{50} (%w/w)	CI (95%)	EC_{90} (%w/w)	EC_{99} (%w/w)
M. incognita	0,378	0,324-0,439	2,283	9,891

5.2.3 Επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος των καρπών του *M. azedarach*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita*

Η επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος μελίας στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* βρέθηκε πως μείωσε σημαντικά τον αριθμό των θηλυκών ατόμων *M. incognita* σε όλες τις συγκεντρώσεις ελέγχου, ακόμη και στη χαμηλότερη συγκέντρωση των 0,625% (η μείωση που παρουσιάστηκε ήταν περίπου 25%). Η καμπύλη συμμεταβολής των συγκεντρώσεων ελέγχου με τον αριθμό των θηλυκών *M. incognita* ανά g ρίζας των φυτών της τομάτας παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 4. Καμία συγκέντρωση εφαρμογής από τις εφαρμοσθείσες δεν προκάλεσε 100% έλεγχο των νηματωδών καθώς ακόμη και στη μεγαλύτερη συγκέντρωση (3,2% w/w) βρέθηκε προσβολή στη ρίζα, έστω και χαμηλή.



Διάγραμμα 4. Καμπύλη συμμεταβολής του αριθμού των θηλυκών ατόμων *M. incognita* ανά γραμμάριο ρίζας, και της συγκέντρωση ελέγχου του υδατικού εκχυλίσματος στο έδαφος %w/w

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

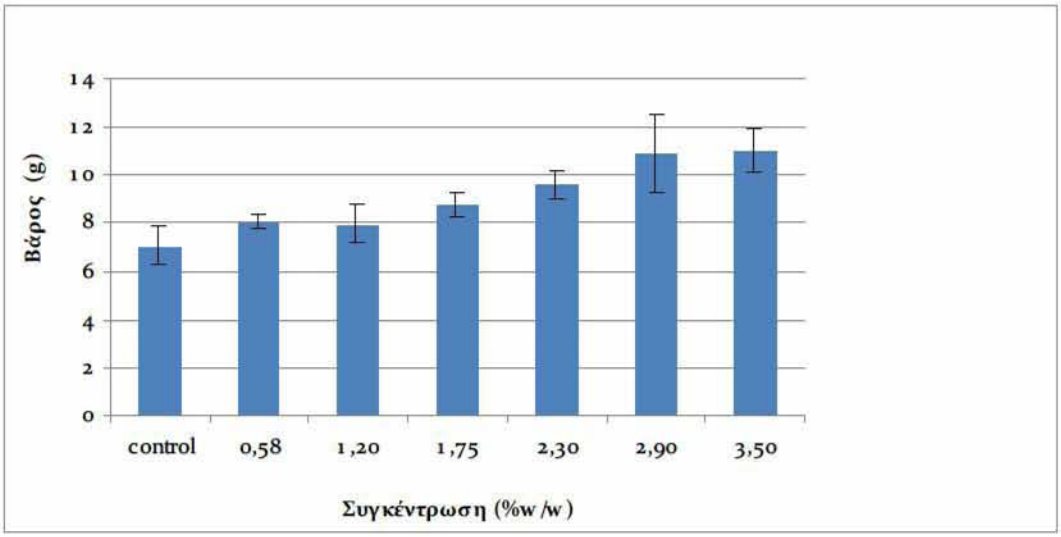
του *M. azedarach*, που εφαρμόστηκε για την μελέτη της επίδρασης στο βιολογικό κύκλο του νηματώδη. Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο των πέντε επαναλήψεων του πειράματος.

Οι τιμές EC_{50} προέκυψαν από τη μαθηματική επεξεργασία (Probit Analysis) των αποτελεσμάτων παρουσιάζονται στον Πίνακα 10. Η τιμή EC_{50} υπολογίστηκε ίση με 1,152% w/w με όριο εμπιστοσύνης από 0,924-1,358.

Πίνακας 10. Τιμές EC_{50} της συγκέντρωσης εφαρμογής του Υδατικού Εκχυλίσματος *M. azedarach* που εφαρμόστηκε για την μελέτη της επίδρασης στο βιολογικό κύκλο του νηματώδη *M. incognita*.

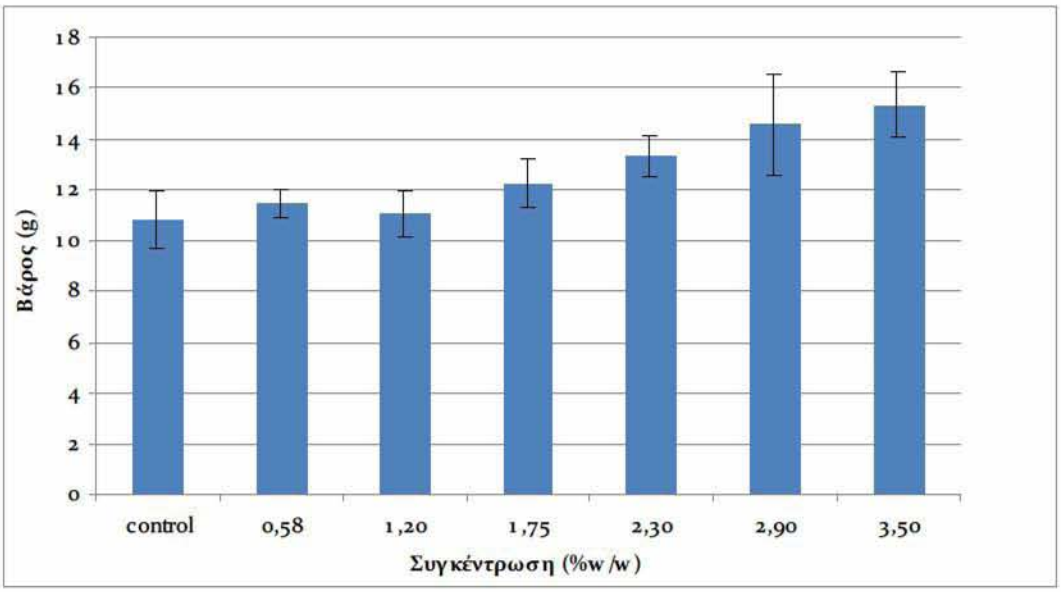
	EC_{50} (%w/w)	CI(95%)	EC_{90} (%w/w)	EC_{99} (%w/w)
M. incognita	1,152	0,924-1,358	5,379	18,889

Επιπλέον, η εφαρμογή διαλυμάτων υδατικού εκχυλίσματος μελίας αύξησε το χλωρό βάρος του υπέργειου τμήματος των φυτών (Διάγραμμα 5). Αντίθετα, τα χλωρά βάρη των ριζών των φυτών δεν παρουσίασαν σημαντικές διαφορές ($P>0.05$) και τα δεδομένα δεν παρουσιάζονται. Το σύνολο του βάρους υπέργειων και υπόγειων τμημάτων των φυτών τομάτας παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 6.



Διάγραμμα 5. Επίδραση της συγκέντρωσης εφαρμογής του Υδατικού Εκχυλίσματος *M. azedarach*, στο χλωρό βάρος των υπέργειων τμημάτων των φυτών τομάτας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167



Διάγραμμα 6. Επίδραση της συγκέντρωσης εφαρμογής του υδατικού Εκχυλίσματος *M. azedarach*, στο σύνολο του βάρους των υπέργειων και των υπόγειων τμημάτων των φυτών τομάτας.

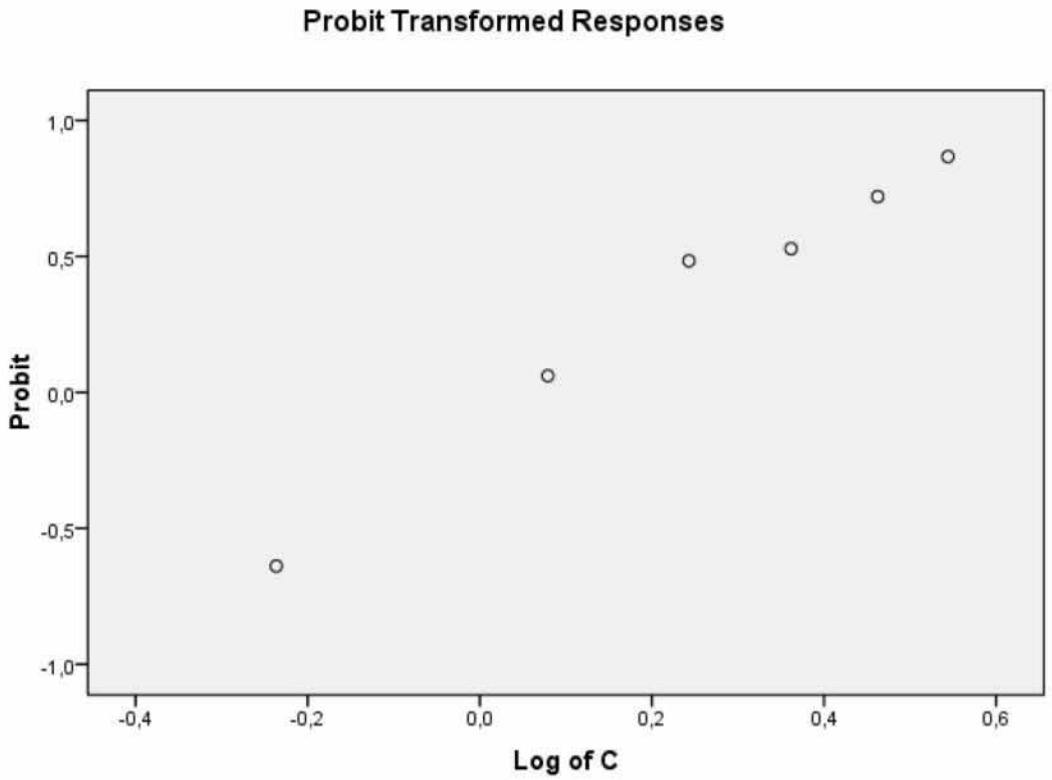
Παρατηρούμε ότι το EC_{50} του αλεσμένου καρπού της μελίας είναι κατά πολύ μικρότερο από την αντίστοιχη τιμή του υδατικού εκχυλίσματος της μελίας. (EC_{50} αλεσμένων καρπών = 0,378% w/w έναντι 1,152% w/w), πράγμα που σημαίνει ότι ο καρπός, όταν αυτός ενσωματώνεται κατ' ευθείαν στη ρίζα, δίνει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στην αντιμετώπιση των νηματωδών *M. incognita* από αυτή του υδατικού εκχυλίσματος.

Σε εργασία στην οποία εξετάστηκε η επίδραση του μεθανολικού εκχυλίσματος μελίας σε πειράματα βιοδοκιμών σε φυτά τομάτας η τιμή EC_{50} που προέκυψε ήταν ίση με 0,916% w/w (Ntalli et al., 2010). Παρατηρούμε ότι οι τιμές EC_{50} που προέκυψαν από τα πειράματα με μεθανολικό και με υδατικό εκχύλισμα μελίας είναι παρόμοιες, γεγονός που οδηγεί στην πρόταση ότι το υδατικό και το μεθανολικό εκχύλισμα της μελίας δεν διαφέρουν σημαντικά ως προς την αποτελεσματικότητα στα πειράματα βιοδοκιμών σε νηματώδεις *M. incognita*.

Μετά από τη μαθηματική επεξεργασία (Probit Analysis) επεξεργασία των αποτελεσμάτων από τα πειράματα βιοδοκιμών προέκυψε το παρακάτω Διάγραμμα (7), στο οποίο φαίνεται γραμμικά η εξέλιξη της διορθωμένης αποτελεσματικότητας

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

(εκφρασμένη σε τιμές probit) του υδατικού εκχυλίσματος των καρπών της μελίας ως προς τους νηματώδεις *M. incognita*.



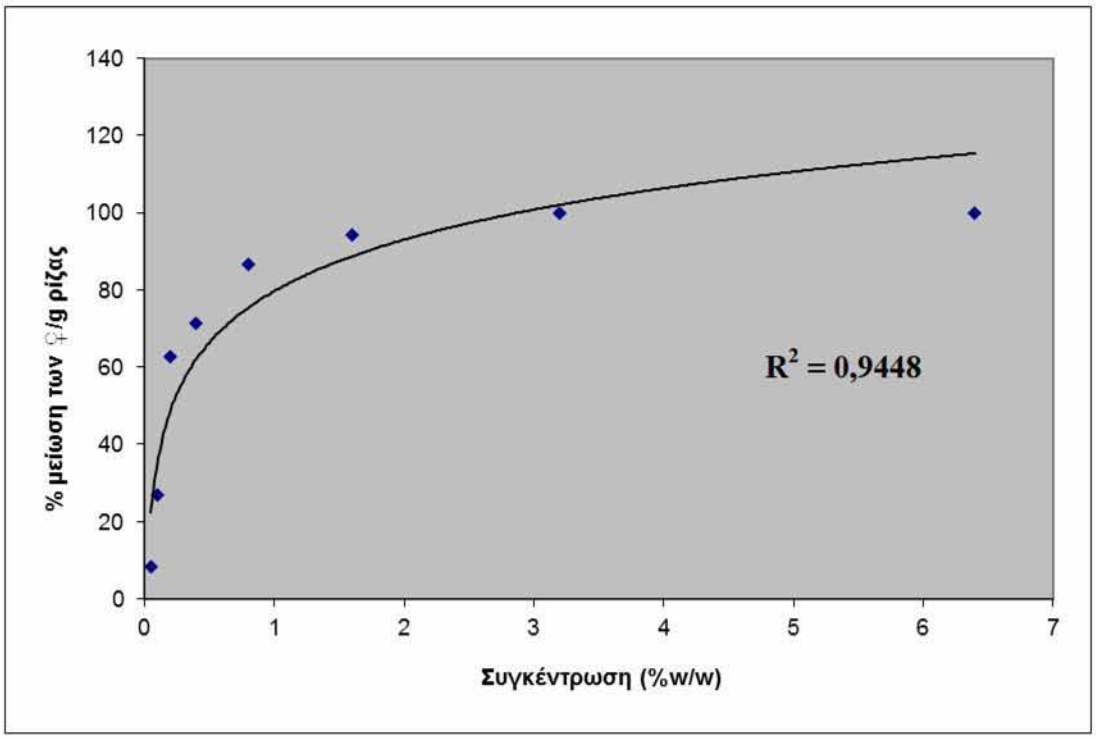
Διάγραμμα 7. Εξέλιξη της διορθωμένης αποτελεσματικότητας των νηματωδών *M. incognita* εκφρασμένη σε τιμές probit μετά από στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (εφαρμογή του υδατικού Εκχυλίσματος *M. Azedarac*).

5.1.4 Επίδραση αλεσμένου ξύλου του *A. altissima*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita*

Ο αριθμός των ενήλικων θηλυκών ατόμων *M. incognita* που μετρήθηκαν στις ρίζες των φυτών τομάτας που είχαν δεχθεί μεταχείριση με σκόνη από τον κορμό του αείλανθου, παρουσίασε μείωση, αυξανόμενης της δόσης εφαρμογής. Η καμπύλη συμμεταβολής των συγκεντρώσεων ελέγχου με τον αριθμό των θηλυκών *M. incognita* ανά g ρίζας των φυτών της τομάτας παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 8. Ενσωμάτωση 0,1% w/w σκόνης κορμού μείωσε τον αριθμό των θηλυκών ατόμων κατά περίπου 23% ενώ ενσωμάτωση 0,4% w/w παρουσίασε 60% μείωση των θηλυκών

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

νηματωδών ανά γραμμάριο ρίζας. Παρατηρήθηκαν διαφορές όσον αφορά στα χλωρά βάρη των ριζών και του υπέργειου μέρους των φυτών και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στα Διαγράμματα 9 και 10.



Διάγραμμα 8. Καμπύλη συμμεταβολής του ποσοστού αποτελεσματικότητας των *M. incognita*, και της συγκέντρωση ελέγχου της σκόνης του κορμού του *A. altissima*, που εφαρμόστηκε για τη μελέτη της επίδρασης στο βιολογικό κύκλο του νηματώδη. Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο πέντε επαναλήψεων του πειράματος.

Η τιμή EC_{50} καθώς και οι τιμές EC_{90} και EC_{99} υπολογίστηκαν με στατιστική επεξεργασία χρησιμοποιώντας το Probit Analysis. Οι τιμές παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της σκόνης της μελίας που παρουσιάστηκαν παραπάνω, ο αείλανθος φαίνεται να είναι πιο αποτελεσματικός όσον αφορά στη νηματωδοκτόνο δράση του. Συγκεκριμένα, για τη σκόνη των καρπών του *M. azedarach* η τιμή που βρέθηκε ότι μειώνει το 50% του πληθυσμού των θηλυκών νηματωδών ήταν 0,378% w/w σε αντίθεση με τον αείλανθο που η αντίστοιχη τιμή βρέθηκε στο 0,195% w/w.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

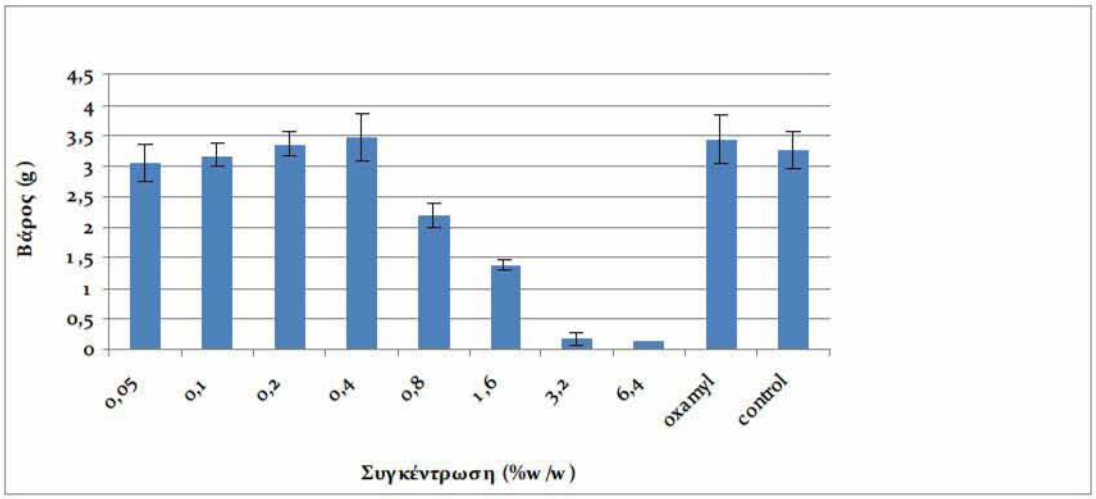
Πίνακας 11. Τιμές EC_{50} της συγκέντρωσης εφαρμογής του αλεσμένου ξύλου του *A. altissima* που εφαρμόστηκε για την μελέτη της επίδρασης στο βιολογικό κύκλο του νηματώδη *M. incognita*.

	EC_{50} (%w/w)	CI(95%)	EC_{90} (%w/w)	EC_{99} (%w/w)
M. incognita	0,195	0,148-0,250	0,860	2,886

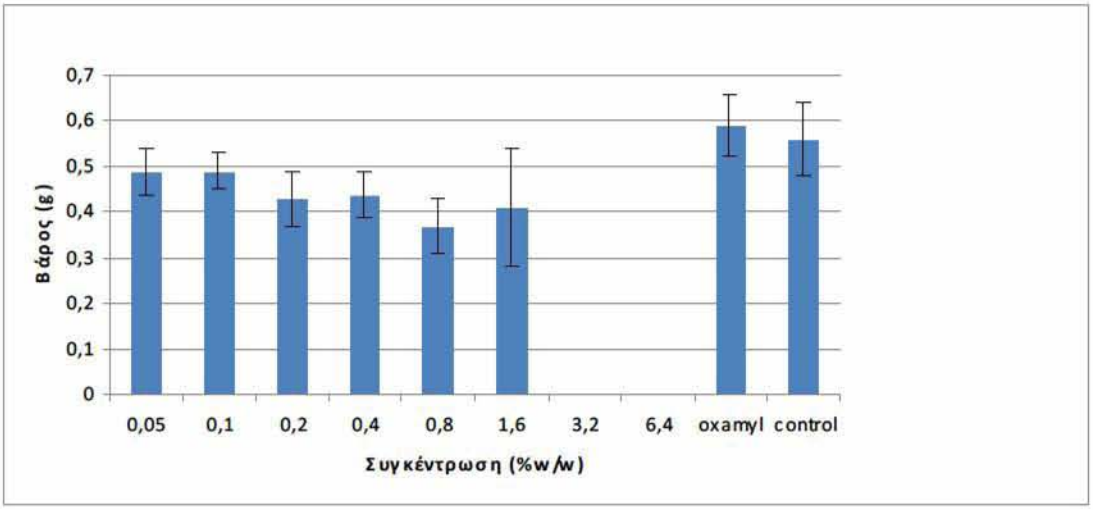
Φυτοτοξικότητα παρατηρήθηκε στις δύο τελευταίες μεταχειρίσεις με τις υψηλότερες συγκεντρώσεις εφαρμογής της σκόνης του κορμού, 3,2 και 6,4% w/v, ενώ άρχισε να εμφανίζεται από τη δόση των 0,8% w/w (Εικόνα 21). Η φυτοτοξικότητα στις δύο αυτές συγκεντρώσεις άρχισε να διαφαίνεται ήδη από την πρώτη εβδομάδα του πειράματος, όπου τα φυτά άρχισαν σιγά σιγά να ξεραίνονται. Επιπρόσθετα, αυτό φαίνεται και από τα βάρη των υπέργειων και των υπόγειων τμημάτων των φυτών τομάτας (Διαγράμματα 9, 10).

Εικόνα 21. Βιοδοκιμή επίδρασης αλεσμένου κορμού *A. altissima* στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita*. Τα φυτά αντιστοιχούν στη μεταχείριση της συγκέντρωσης 6,4% w/w.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

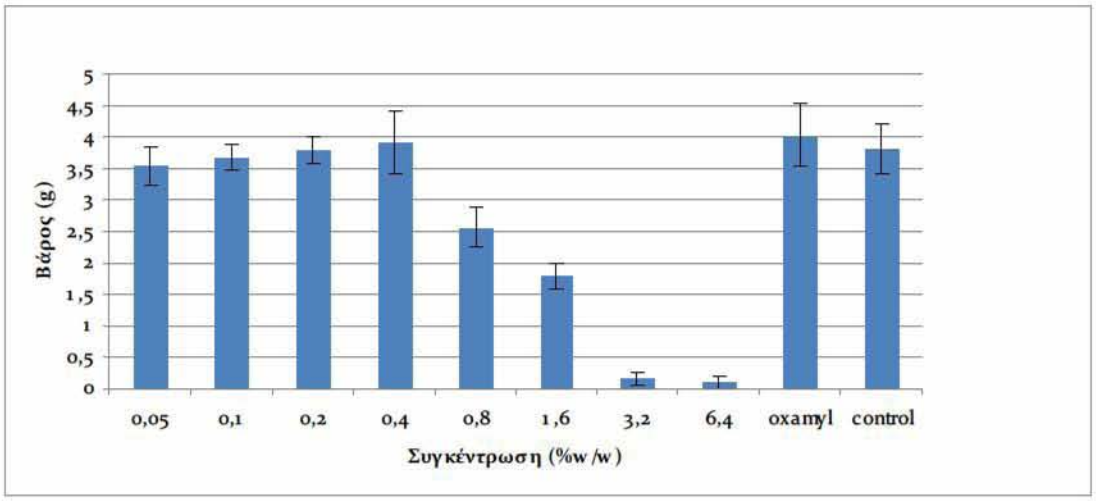


Διάγραμμα 9. Επίδραση της συγκέντρωσης εφαρμογής του αλεσμένου ξύλου του *A. altissima*, στο χλωρό βάρος των υπέργειων τμημάτων των φυτών τομάτας.



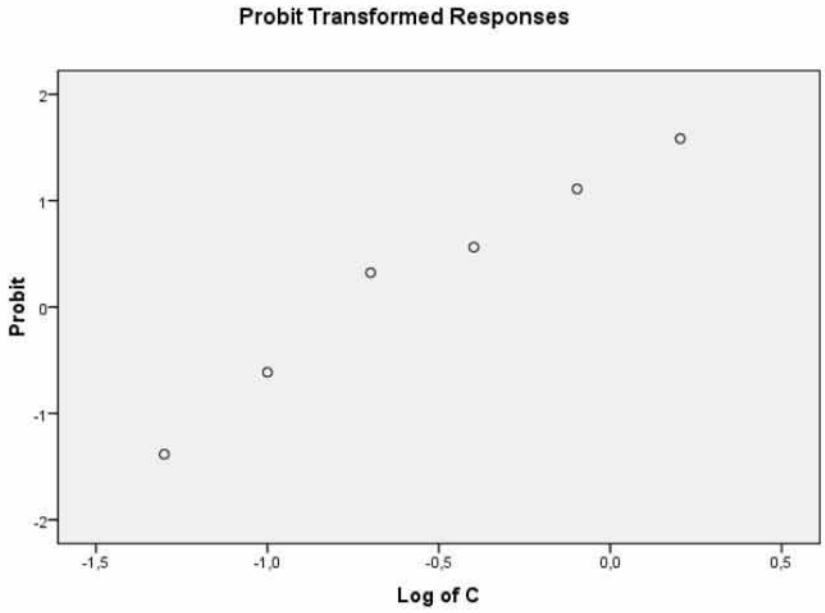
Διάγραμμα 10. Επίδραση της συγκέντρωσης εφαρμογής του αλεσμένου ξύλου του *A. altissima*, στο χλωρό βάρος των ριζών των φυτών τομάτας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167



Διάγραμμα 11. Επίδραση της συγκέντρωσης εφαρμογής του αλεσμένου ξύλου του *A. altissima*, στο σύνολο του βάρους των υπέργειων και των υπόγειων τμημάτων των φυτών τομάτας.

Μετά από τη μαθηματική επεξεργασία (Probit Analysis) επεξεργασία των αποτελεσμάτων προέκυψε το παρακάτω διάγραμμα (12), στο οποίο φαίνεται γραμμικά η εξέλιξη της αποτελεσματικότητας των θηλυκών *M. incognita* εκφρασμένη σε τιμές probit.



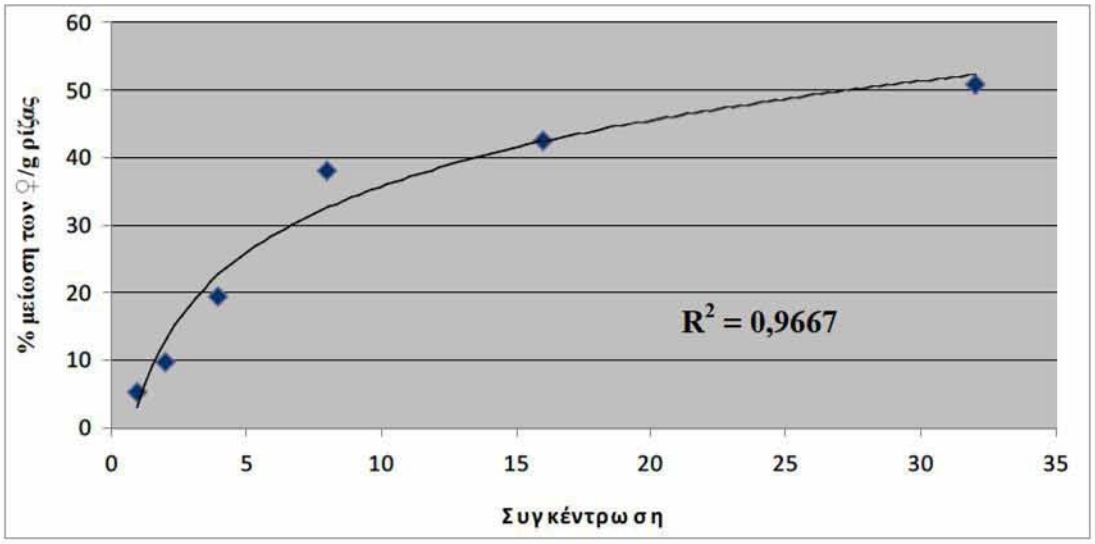
Διάγραμμα 12. Εξέλιξη της διορθωμένης αποτελεσματικότητας των νηματωδών *M. incognita* εκφρασμένη σε τιμές probit μετά από στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

5.1.5 Επίδραση υδατικού εκχυλίσματος του ξύλου του *A. altissima*, στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita*

Η επίδραση του υδατικού εκχυλίσματος του αείλανθου στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* βρέθηκε πως μείωσε τον αριθμό των θηλυκών ατόμων *M. incognita*. Η καμπύλη συμμεταβολής των συγκεντρώσεων ελέγχου με τον αριθμό των θηλυκών *M. incognita* ανά g ρίζας των φυτών της τομάτας παρουσιάζεται στο Διάγραμμα 13.

Καμία συγκέντρωση εφαρμογής από τις εφαρμοσθείσες δεν προκάλεσε 100% έλεγχο των νηματωδών καθώς ακόμη και στη μεγαλύτερη συγκέντρωση, που εφαρμόστηκε και που αντιστοιχεί σε υδατικό εκχύλισμα που παρασκευάστηκε από 32g αλεσμένου ξύλου, βρέθηκε προσβολή στη ρίζα περίπου ίση με 50%.



Διάγραμμα 13. Καμπύλη συμμεταβολής του ποσοστού αποτελεσματικότητας των *M. incognita*, και της συγκέντρωσης ελέγχου του υδατικού εκχυλίσματος του κορμού του *A. altissima*, που εφαρμόστηκε για τη μελέτη της επίδρασης στο βιολογικό κύκλο του νηματώδη. Κάθε σημείο αντιπροσωπεύει το μέσο όρο πέντε επαναλήψεων του πειράματος.

Η τιμή EC_{50} καθώς και οι τιμές EC_{90} και EC_{99} υπολογίστηκαν με στατιστική επεξεργασία χρησιμοποιώντας το Probit Analysis. Συγκεκριμένα, η τιμή που βρέθηκε ότι μειώνει το 50% του πληθυσμού των θηλυκών νηματωδών ήταν 23,97g με όριο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

εμπιστοσύνης 13,30 έως 85,81. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, οι τιμές EC_{90} και EC_{99} είναι ίσες με 347g και 3,065g.

Όπως παρατηρήθηκε στην προετοιμασία του υδατικού εκχυλίσματος, δεν εμφανίστηκε σταθερό βάρος κατά τον υπολογισμό της ξηράς ουσίας του εκχυλίσματος του ξύλου του αλίανθου, αλλά μια υγρή φάση με συνεχή απώλεια βάρους και για το λόγο αυτό τα αποτελέσματα δίνονται ως μάζα ξύλου από την οποία προήλθε το υδατικό εκχύλισμα. Για λόγους σύγκρισης και μόνο και βασιζόμενοι στις παρατηρήσεις τριών επαναλήψεων μπορούμε να μετατρέψουμε την έκφραση της συγκέντρωσης του υδατικού εκχυλίσματος στο έδαφος σε μάζα σκόνης ξύλου ανά Kg εδάφους δεχόμενοι τη μάζα εκχυλίσματος μετά από ξήρανση σε ατμόσφαιρα αζώτου για 6 ώρες σε θερμοκρασία δωματίου.

Οι τιμές EC_{50} , EC_{90} και EC_{99} προσαρμοσμένες με την παραπάνω θεώρηση παρουσιάζονται στον Πίνακα 12.

Πίνακας 12. Τιμές EC_{50} της συγκέντρωσης εφαρμογής του υδατικού εκχυλίσματος αλεσμένου ξύλου του *A. altissima* που εφαρμόστηκε για την μελέτη της επίδρασης στο βιολογικό κύκλο του νηματώδη *M. incognita*.

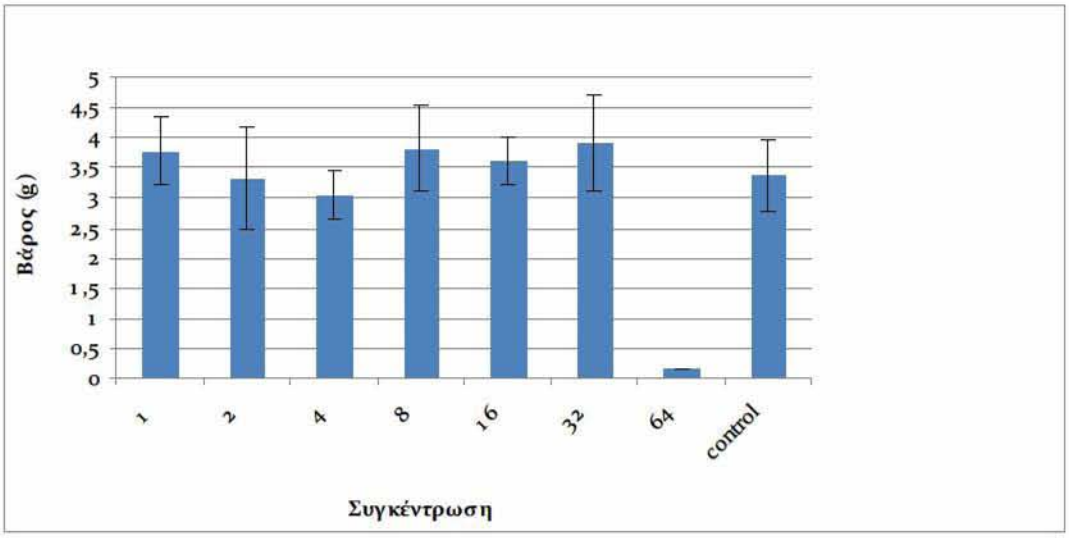
	EC_{50} (%w/w)	CI(95%)	EC_{90} (%w/w)	EC_{99} (%w/w)
M. incognita	0,28	0,16-1,03	4,16	36,8

Η τιμή EC50 που προκύπτει (0,28% w/w) είναι μικρότερη της αντίστοιχης τιμής που βρέθηκε (1,152% w/w) για το υδατικό εκχύλισμα μελίας στα πειράματα βιοδοκιμών στο βιολογικό κύκλο των νηματωδών *(M. incognita)*.

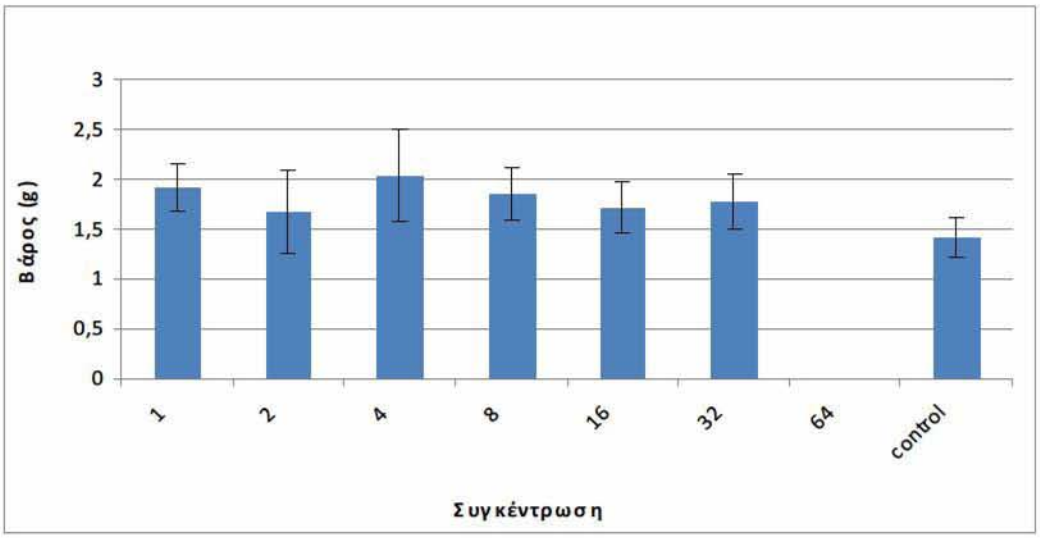
Η τιμή EC_{50} που προκύπτει (0,28% w/w) για το υδατικό εκχύλισμα του ξύλου του αείλανθου είναι στην ίδια τάξη μεγέθους με την τιμή EC_{50} που βρέθηκε (0,195% w/w) για τη σκόνη του ξύλου του αλίανθου στα πειράματα βιοδοκιμών στο βιολογικό κύκλο των νηματωδών *M .incognita*.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Φυτοτοξικότητα παρατηρήθηκε μόνο στην τελευταία μεταχείριση με την υψηλότερη συγκέντρωση εφαρμογής του υδατικού εκχυλίσματος του ξύλου, που αντιστοιχεί σε υδατικό εκχύλισμα που παρασκευάστηκε από 64g αλεσμένου ξύλου. Η φυτοτοξικότητα άρχισε να διαφαίνεται μετά από δύο εβδομάδες από την έναρξη του πειράματος, όταν τα φυτά άρχισαν σιγά σιγά να ξεραίνονται. Επιπρόσθετα, αυτό φαίνεται και από τα βάρη των υπέργειων και των υπόγειων τμημάτων των φυτών τομάτας (Διαγράμματα 14, 15, 16).

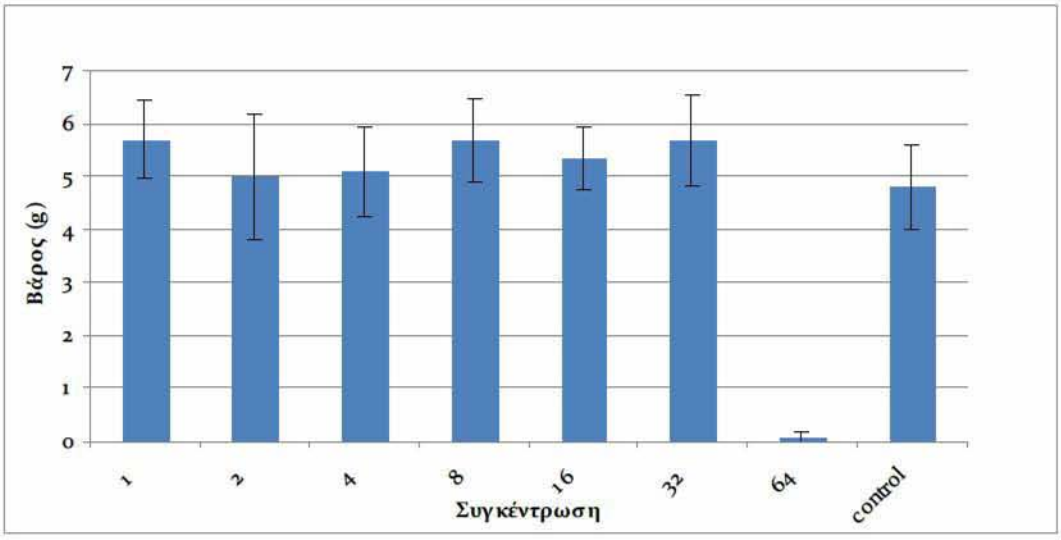


Διάγραμμα 14. Επίδραση της συγκέντρωσης εφαρμογής του υδατικού εκχυλίσματος του αλεσμένου κορμού του *A. altissima*, στο χλωρό βάρος των υπέργειων τμημάτων των φυτών τομάτας.



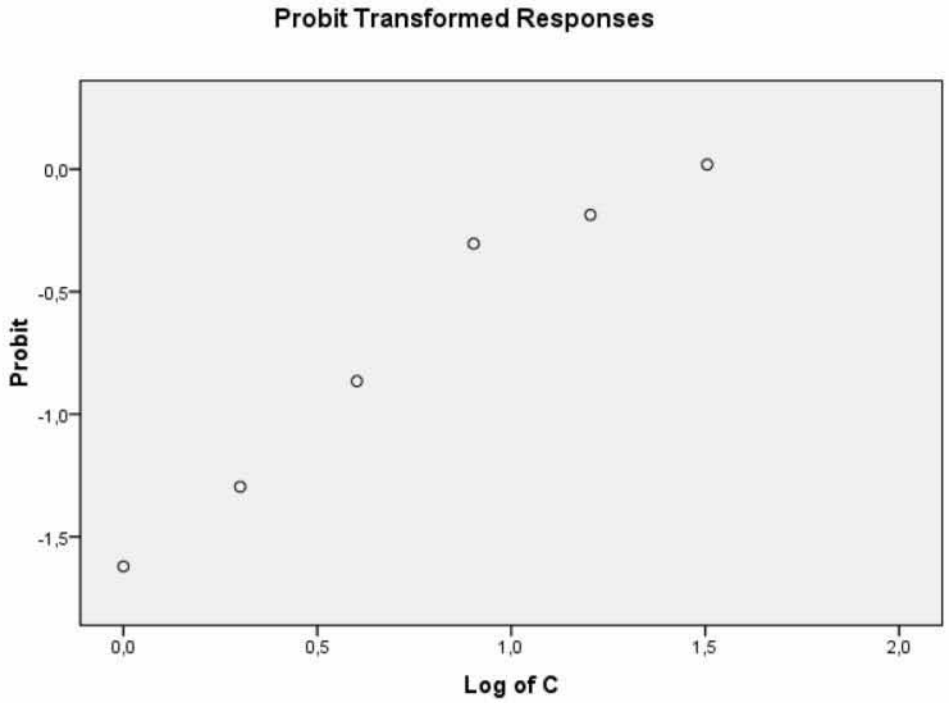
Διάγραμμα 15. Επίδραση της συγκέντρωσης εφαρμογής του υδατικού εκχυλίσματος του αλεσμένου κορμού του *A. altissima*, στο χλωρό βάρος των ριζών των φυτών τομάτας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167



Διάγραμμα 16. Επίδραση της συγκέντρωσης εφαρμογής του υδατικού εκχυλίσματος του ξύλου του *A. altissima*, στο σύνολο του βάρους των υπέργειων και των υπόγειων τμημάτων των φυτών τομάτας.

Στο παρακάτω διάγραμμα (17), φαίνεται γραμμικά η εξέλιξη της αποτελεσματικότητας των θηλυκών *M. incognita* εκφρασμένη σε τιμές probit.



Διάγραμμα 17. Εξέλιξη της διορθωμένης αποτελεσματικότητας των νηματωδών *M. incognita* εκφρασμένη σε τιμές probit μετά από στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων (εφαρμογή του υδατικού εκχυλίσματος του ξύλου του *A. Altissima*).

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

5.2 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα μελέτη, αξιολογήθηκε αρχικά το υδατικό εκχύλισμα των καρπών του *M. azedarach*, το οποίο παρουσίασε αξιόλογη νηματωδοκτόνο δράση από τη συγκέντρωση 0,125% w/v (1250 mg/L) στους ελέγχους κινητικότητας προνυμφών J2 σε πλάκες Elisa. Συγκεκριμένα, στις εμβαπτίσεις σε διαλύματα υδατικού εκχυλίσματος συγκέντρωσης 0,187% w/v (1870 mg/L) και πάνω, παρατηρήθηκε 100% παράλυση των προνυμφών J2 των *M. incognita*. Οι τιμές EC_{50}, που πρόεκυψαν από τα πειράματα κινητικότητας μετά από 24h εμβάπτισης, ήταν 0,147% w/v (1470 mg/L) για τα *M. janavica* και 0,128% w/v (1280 mg/L) για τα *M. incognita*, ενώ οι τιμές EC_{50} μετά από 48h εμβάπτισης ήταν 0,147% w/v (1470 mg/L) και 0,136% w/v (1360 mg/L), αντίστοιχα για τα για τα *M. janavica* και τα *M. incognita*.

Τα δεδομένα κινητικότητας που προέκυψαν από τα πειράματα της εργασίας σε γενικές γραμμές είναι αντίστοιχα με αυτά άλλων ερευνητών που υποστηρίζουν, ομοίως, νηματωδοκτόνο δράση του αιθανολικού κλάσματος καρπών της *M. azedarach* έναντι του *Haemonchus contortus*, με τιμή EC_{50} 1300 mg/L (Maciel et al., 2006). Σε πειράματα μεθανολικού εκχυλίσματος του *R. chalepensis* εναντίον των προνυμφών J2, η τιμή EC_{50} που υπολογίστηκε ήταν ίση με 1001 mg/L μετά από 1 ημέρα εμβάπτισης σε πειράματα παράλυσης (Ntalli et al., 2011). Σε παρόμοια έρευνα, το EC_{50} του φυτού *Plantago lanceolata* βρέθηκε στο 43,7% μετά από 2 ημέρες εμβάπτισης των προνυμφών J2 (Meyer et al., 2006). Εμβάπτιση των J2 για τέσσερις ημέρες σε διαλύματα ελέγχου συγκέντρωσης 51,2 μg/ml σε αζαδιραχτίνη (ή 0,04% w/v σε τεχνικά καθαρό προϊόν της αζαδιραχτίνης) προκάλεσε παράλυση που δεν ξεπέρασε το 25% (Ntalli et al., 2009).

Όσον αφορά τη σύγκριση της νηματωδοκτόνου δράσης -σε πειράματα κινητικότητας- του υδατικού (παρούσα εργασία) με το μεθανολικό εκχύλισμα (Ntalli et al., 2010) των καρπών της μελίας προκύπτει ότι το μεθανολικό εκχύλισμα είναι δραστικότερο. Συγκεκριμένα, η τιμή $EC_{50/48h}$ που προέκυψε για το μεθανολικό εκχύλισμα και για τα *M. incognita* ήταν 426 mg/L, ενώ η αντίστοιχη τιμή $EC_{50/48h}$ για το υδατικό εκχύλισμα και για τα *M. incognita*, όπως προέκυψε από την εργασία αυτή βρέθηκε 1,136 mg/L. Βέβαια, η διαφορά στη δραστικότητα των δύο

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

εκχυλισμάτων, όπως εμφανίζεται από τη σύγκριση των τιμών $EC_{50/48h}$, αμβλύνεται όταν συγκριθούν οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις στις οποίες το ποσοστό παράλυσης έφτασε το 100% και οι οποίες είναι 1600 mg/L για το μεθανολικό εκχύλισμα και 2180 mg/L για το υδατικό εκχύλισμα.

Στη συνέχεια, αξιολογήθηκε με πειράματα βιοδοκιμών στο βιολογικό κύκλο των νηματωδών *(M. incognita)* η νηματωδοκτόνος δράση τόσο της σκόνης όσο και του υδατικού εκχυλίσματός των αλεσμένων καρπών μελίας μετά από εφαρμογή τους με ενσωμάτωση στο έδαφος. Συγκεκριμένα, ενσωμάτωση 0,4% w/w αλεσμένων καρπών, μείωσε τον αριθμό των θηλυκών ατόμων/g ρίζας κατά 50% επί του μάρτυρα, ενώ αντίστοιχη μείωση επιτεύχθηκε σε συγκέντρωση 1,152% w/w υδατικού εκχυλίσματος μελίας. Οι τιμές EC_{50} που προέκυψαν για τα *M. incognita* από τα πειράματα βιοδοκιμών σε φυτά τομάτας είναι 0,378% w/w και 1,152% w/w για τη σκόνη του καρπού και για το υδατικό εκχύλισμα, αντίστοιχα.

Η συγκέντρωση 0,4% w/w στην οποία αναφερθήκαμε για την ενσωμάτωση της σκόνης του καρπού της μελίας, βρίσκεται μέσα στο εύρος των συγκεντρώσεων που έχουν χρησιμοποιήσει άλλοι ερευνητές για την καταπολέμηση νηματωδών με την ίδια τεχνική (ενσωμάτωση φυτικών μερών), αλλά χρησιμοποιώντας διαφορετικά φυτικά είδη, τα οποία έκτοτε θεωρούνται νηματωδοκτόνα και έτσι μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως βοτανικά είδη αναφοράς νηματωδοκτόνου δράσης. Συγκεκριμένα, είδη Asteraceae ενσωματωμένα στο έδαφος σε συγκέντρωση 1% w/w μείωσαν σημαντικά την αναπαραγωγική ικανότητα του νηματώδη *M. artiellia* (Perez et al., 2003). Φλοιός της ρίζας του φυτού *Ochradenus baccatus* (θάμνος) σε συγκέντρωση 2% w/w ανακατεμένος με άμμο έδωσε θεαματικά αποτελέσματα νηματοδωκτόνου δράσης σε νηματώδεις *M. javanica* (Oka et al., 2014). Πάστα του *A. indica* ενσωματωμένη στο έδαφος σε συγκέντρωση 1% w/w προκάλεσε 90% μείωση στον αριθμό των κομβονηματωδών (*Meloidogyne halpa*) σε ρίζες τομάτας (Abbasi et al., 2005), ενώ σκόνη των φύλλων του είδους *Inula viscosa* αναμεμειγμένη με άμμο σε συγκέντρωση 0,1% w/w μείωσε σημαντικά τον αριθμό των ζωντανών J2 του *Meloidogyne javanica* (Oka et al, 2001). Τέλος, διάφορα είδη Brassicaceae, ίσως το τυπικότερο παράδειγμα εφαρμογής οργανικού πρόσθετου για τον έλεγχο των κομβονηματωδών,

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

χρησιμοποιούνται υπό τη μορφή ενσωματωμένης ύλης στο έδαφος σε συγκέντρωση 0,5 έως 9,3% w/w (Matthiessen and Kirkegaard, 2006).

Η συγκέντρωση υδατικού εκχυλίσματος που μείωσε τον αριθμό των ενήλικων θηλυκών *M. incognita* /g ρίζας στο μισό (50%) στις βιοδοκιμές στα φυτοδοχεία υπολογίστηκε στο 1,152% w/w, τιμή πολλαπλάσια αυτής που προκάλεσε 100% παράλυση στις J2 στη δοκιμή κινητικότητας (0,14% w/v) και στους δύο χρόνους εμβάπτισης. Το γεγονός αυτό υποδηλώνει ίσως την πιθανή αποδόμηση των περιεχόμενων δραστικών συστατικών ουσιών μετά την εφαρμογή του υδατικού εκχυλίσματος στο έδαφος ή και την επίδραση άλλων παραγόντων στον τρόπο δράσης του.

Όσον αφορά τη σύγκριση της νηματωδοκτόνου δράσης από πειράματα βιοδοκιμών στο βιολογικό κύκλο των νηματωδών *M. incognita* του υδατικού (παρούσα εργασία) με το μεθανολικό εκχύλισμα (Ntalli et al., 2010) των καρπών της μελίας προκύπτει ότι εμφανίζουν παρόμοια δραστικότητα. Συγκεκριμένα, η τιμή EC_{50} που προέκυψε για το μεθανολικό εκχύλισμα ήταν 0,916% w/w, ενώ η αντίστοιχη τιμή EC_{50} για το υδατικό εκχύλισμα, όπως προέκυψε από την εργασία αυτή βρέθηκε 1,152% w/w.

Στο δεύτερο μέρος του πειράματος, αξιολογήθηκε με πειράματα βιοδοκιμών στο βιολογικό κύκλο των νηματωδών *(M. incognita)* η νηματοδωκτόνος δράση της σκόνης και του εκχυλίσματος του ξύλου του *A. altissima*. Η τιμή EC_{50} που υπολογίστηκε για τη σκόνη του ξύλου ήταν 0,195% w/w, η οποία σε σύγκριση με τιμές EC_{50} άλλων μελετών για νηματωδοκτόνο δράση διαφόρων φυτικών ειδών, είναι χαμηλότερη, δηλώνοντας την αυξημένη νηματωδοκτόνο δράση της σκόνης του ξύλου του αείλανθου. Όσον αφορά τη δραστικότητα της σκόνης των καρπών του *M. azedarach* η τιμή που βρέθηκε ότι μειώνει το 50% του πληθυσμού των θηλυκών νηματωδών ήταν 0,378% w/w, τιμή μεγαλύτερη από εκείνη του αείλανθου. Συγκρίνοντας λοιπόν τα δύο φυτικά είδη, τα οποία χρησιμοποιήσαμε σε πειράματα βιοδοκιμών στο βιολογικό κύκλο των νηματωδών *(M. incognita)* σε φυτά τομάτας, προκύπτει, σύμφωνα με τα πειραματικά αποτελέσματα της εργασίας, ότι η σκόνη του ξύλου του αείλανθου είναι δραστικότερη (περίπου δύο φορές) ως προς τη νηματωδοκτόνο δράση της από τη σκόνη του καρπού της μελίας.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Επιπλέον, η τιμή EC_{50} για την εφαρμογή υδατικού εκχύλισματος αείλανθου στο βιολογικό κύκλο των νηματωδών *(M. incognita)* υπολογίστηκε και εκφράστηκε ως το υδατικό εκχύλισμα που προέκυψε από την εκχύλιση 23,97g αλεσμένου ξύλου και που αντιστοιχούν σε υδατικό εκχύλισμα 90ml υδατικού εκχυλίσματος του ξύλου.

Γενικά, είναι η πρώτη φορά που επιχειρείται να εξεταστεί η νηματωδοκτόνος δράση του αλεσμένου ξύλου καθώς και των υδατικών εκχυλισμάτων του αείλανθου στους νηματώδεις *M. incognita* και τα αποτελέσματα που πραγματοποιήθηκαν στα φυτοδοχεία δείχνουν ότι το συγκεκριμένο φυτικό είδος παρουσιάζει αξιόλογη νηματωδοκτόνο δράση, η οποία πρέπει να μελετηθεί περαιτέρω. Οι ουσίες στις οποίες αποδίδεται κυρίως η νηματοδωκτόνος δράση του αείλανθου είναι οι ακόρεστες α, β, γ και δ C10 αλδεΰδες με κύριους εκπροσώπους στο μεθανολικό εκχύλισμα του ξύλου του αείλανθου την δεκενάλη και την δεκαδιενάλη, οι οποίες ανιχνεύτηκαν στα μεθανολικά εκχυλίσματα του ξύλου (Caboni et al, 2012).

Χρειάζεται βέβαια να αναφερθεί επί των σχολίων και συμπερασμάτων που αναφέρθηκαν παραπάνω ότι, γενικά, είναι επισφαλής η σύγκριση της δραστικότητας των βοτανικών εκχυλισμάτων, λόγω διαφορών στην προέλευση της πρώτης ύλης και στη μεθοδολογία της εκχύλισης (Li, 1999). Παρόλα αυτά, η σύγκριση με αυτά τα στοιχεία της βιβλιογραφίας είναι αναπόφευκτη, λόγω του φυσικού περιορισμού στη διαθεσιμότητα των βοτανικών ειδών που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως μάρτυρες στις βιοδοκιμές, καθώς και για την κατανόηση της δυναμικής της βιοποικιλότητας του κάθε οικοσυστήματος, στη φυτοπροστασία και τη φαρμακευτική.

Συμπερασματικά, η παρούσα μελέτη αποδεικνύει την πρόκληση παράλυσης, καθώς και την επίδραση στο βιολογικό κύκλο του *M. incognita* των προϊόντων (σκόνης ξύλου ή καρπού, υδατικά εκχυλίσματά τους) των φυτικών ειδών *M. azedarach* καθώς και του *A. altissima*. Οι συγκεντρώσεις που εφαρμόστηκαν ήταν σχετικά χαμηλότερες ή στα επίπεδα άλλων φυτικών προϊόντων με νηματωδοκτόνες ιδιότητες. Συνεπώς, τα δύο είδη θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως μέσα βιολογικής καταπολέμησης των κομβονηματωδών μόνα

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

τους ή σε συνδυασμό με άλλα, όπως καλλιεργητικές τεχνικές και χημικά μέσα καταπολέμησης.

Σε κάθε περίπτωση είναι απαραίτητο να διερευνηθεί περαιτέρω η χημική σύσταση και των δύο ειδών και ιδιαίτερα των υδατικών εκχυλισμάτων τους, τα οποία αξιολογήθηκαν στην εργασία αυτή, και να γίνει ταυτοποίηση τουλάχιστον των βασικών συστατικών-δραστικών ουσιών τους. Επιπλέον, θα πρέπει να εξεταστούν ξεχωριστά οι δραστικές ουσίες-συστατικά των δύο αυτών ειδών και να πραγματοποιηθούν πειράματα παράλυσης και βιοδοκιμών με κάθε συστατικό ξεχωριστά, έτσι ώστε να ανιχνευτούν οι ουσίες ή ο συνδυασμός ουσιών, στις οποίες οφείλεται η νηματωδοκτόνος δράση του *M. azedarach* και του *A. altissima*.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

Βιβλιογραφία

1. http://www.agrotypos.gr
2. http://www.ctahr.hawaii.edu
3. http://www. dx.doi.org
4. http://edis.ifas.ufl.edu/ng032
5. http://www.gkbioculture.gr
6. http://www.kyttaro.net
7. http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/r783200111.html
8. http://www.minagric.gr
9. http://www.nematology.ucdavis.edu
10. http://www.nps.gov
11. http://www.pesticideinfo.org
12. http://www.pfaf.org
13. http://www. plpnemweb.ucdavis.edu
14. http://www.prota4u.org
15. http://www. pubs.ext.vt.edu
16. http://www.wikipedia.org
17. http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/Uppermnus/Mangmnt.htm
18. Abbasi, P.A., Riga, E., Conn, K.L., Lazarovits, G. 2005. Effect of neem cake soil amendment on reduction of damping-off severity and population densities of plant-parasitic nematodes and soilborne plant pathogens. Can. J. Plant Pathol. 27, 38–45.
19. Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticides. J. of Econ. Entom., 18: 265-267.
20. Abou – Fakhr, Hammad, E.M., Zournajian, H., Talhouk, S. 2001. Efficacy of extracts of Melia azedarach L. callus, leaves and fruits against adults of the sweetpotato whitefly Bemisia tabaci (Hom., Aleyrodidae). J. Appl. Entomol, 125, 48-488.
21. Adam, M.A.M., Phillips, M.S., Blok, V.C. 2006. Molecular diagnostic key for identification of single juveniles of seven common and economically

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

important species of root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.). Plant Pathol. 56, 190-197.

22. Adam, M.A.M., Philips, M.S., Blok, V.C. 2005. Identification of *Meloidogyne* spp. from North East Libya and comparison of their inter- and intra- specific genetic variation using RAPDs. Nematology. 7, 599-609.
23. Akhtar, M. 2000. Nematicidal potential of the neem tree Azadirachta indica (A. Juss). Int. Pest Mgmt Rev. 5, 57-66.
24. Akhtar, M., Mahmood, I. 1994. Potentiality of phytochemicals in nematode control: a review. Bioresource Technol. 48, 189-201.
25. Back, M.A., Haydock, P.P.J., Jenkinson, P. 2002. Disease complexes involving plant parasitic nematodes and soilborne pathogens. Plant Patholog. 51, 683- 697.
26. Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M. 2006. The Role of Root Exudates in Rhizosphere Interactions with Plants and Other Organisms. Annu. Rev. Plant. Biol. 57, 233-266.
27. Barker K.R. 1997. Opportunities for integrated management of plant-parasitic nematodes in the Near East. FAO.
28. Barile F., 2008. Principle of Toxicology Testing. CRC Press, Francis &Taylor, Boca Raton, 252-257.
29. Buena, A.P., Garcia-Alvarez, A., Diez-Rojo, M.A., Bello, A. 2006. Use of crop residues for the control of *Meloidogyne incognita* under laboratory conditions. Pest Manag. Sci. 62, 919-926.
30. Caboni P., Ntalli N.G., Aissani N., Cavoski I., Angioni A. 2012. Nematicidal Activity of (E,E)-2,4-Decadienal and (E)-2-Decenal from Ailanthus altissima against Meloidogyne javanica. J. Agric.Food Chem. 60, 1146−1151.
31. Carpinella, M.C., Ferrayoli, C.G., Palacios, S.M. 2005. Antifungal synergistic effect of scopoletin, a hydroxycoumarin isolated from Melia azedarach L. fruits. J. Agric. Food. Chem 53, 2922-2927.
32. Carpinella, C.M., Ferravoli, C., Valladares, G., Defago, M., Palacios, S. 2002. Potent limonoid insect antifeedant from Melia azedarach. Biosci. Biotechnol. Biochem. 60, 1731–1736.
33. Cavoski I., Chami Z.Al, Bouzebboudja F., Sasanelli N., Simeone V., Mondelli D., Miano T., Sarais G., Ntalli N. G., Caboni P, 2012. Melia azedarach

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

controls Meloidogyne incognita and triggers plant defense mechanisms on cucumber. Crop Protection 35, 85-90.

34. Champagne, D.E., Koul, O., Isman, M.B., Scudder, G.G.E., Towers, G.H.N. 1992. Biological activity of limonoids from the Rutales. Phytochemistry. 31, 377-394.
35. Chen Z. X. and Dickson D. W . 1998.Review of Pasteuria penetrans: Biology, Ecology, and Biological Control Potential. J Nematol. September; 30(3): 313–340.
36. Chitwood, D.J. 2002. Phytochemical based strategies for nematode control. Annu.Rev.Phytopathol. 40, 221-249.
37. Ciancio, A. Modeling nematodes regulation by bacterial endoparasites. 2008. In A. Ciancio & K.G. Mukerji (eds.), Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes, 321-337.
38. Crozier, A., Jaganath, I.B., Clifford, N. 2006. Phenols, polyphenols and tannins. An overview. P.1 In. Plant secondary metabolites: occurrence, structure and role in the human diet. Blackwell Publishing. United Kingdom.
39. Dayan F.E., Cantrell C.L., Duke S.O. 2009. Natural products in crop protection. Bioorganic & Medicinal Chemistry 17, 4022–4034
40. De Martino, L.; De Feo, V. 2008. Chemistry and biological activities of Ailanthus altissima swingle: A review. Pharmacogn. Rev., 2, 339− 350.
41. Dropkin, V. 1969. The necrotic reaction of tomatoes and other hosts resistance to Meloidogyne: Reversal by temperature. Phytopathology. 59, 1632-1637.
42. Ebada, S. S., Edrada, R.A., Lin W., Proksch, P. 2008. Methods for isolation, purification and structural elucidation of bioactive secondary metabolites from marine invertebrates. Nature Protocols **3**, - 1820 - 1831
43. Eisenback, J.D., Triantaphyllou, H.H. 1991. Root-knot Nematodes: *Meloidogyne* species and races. Man. of Agric. Nemat. pp 191-195
44. Elbadri, G.A.A., Lee, D.W., Park, J.C., Yu, H.B., Choo, H.Y., Lee, S.M., Lim, T.H. 2008. Nematocidal screening of essential oils and herbal extracts against *Bursaphelenchus xylophilus*. Plant Pathol. J. 24, 178–182.
45. Finney, DJ. 1952. Probit Analysis. Ed. Cambridge, England, Cambridge University Press.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

46. Finney DJ, Stevens WL. 1948. A table for the calculation of working probits and weights in probit analysis. Biometrika, 35(1-2): 191-201.
47. Franklin, M. 2008. The Present Position in the Systematics of Meloidogyne. EPPO Bulletin. 2, 5-15. Pest Man. Sci. 61(10), 961–972
48. Giannakou I. O., Anastasiadis I. 2004. Evaluation of chemical strategies as alternatives to methyl bromide for the control of root-knot nematodes in greenhouse cultivated crops. Crop Protection 24, 499–506.
49. Goodell, P. B., Ferris, H. 1989. Influence of environmental factors on the hatch and survival of *Meloidogyne incognita*. J Nematol. 21(3), 328–334.
50. Gowen, S., Davies, K.G., Pembroke, B. 2008. Potential use of *Pasteria* spp. in the management of plant parasitic nematodes. In A. Ciancio & K.G. Mukerji (eds.), Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes, 205-219.
51. Hagan A.K. and Gazaway W.S., 2000. Soil solarization for the control of nematodes and soilborne diseases. Alabama cooperative extension system. Alabama A&M University and Auburne University. Web site at: www.aces.edu.
52. Harish Kumar, G.H., Chandra, Mohan, K.V.P., Jagannadha Rao A., Nagini, S. 2009. Nimbolide a limonoid from *Azadirachta indica* inhibits proliferation and induces apoptosis of human choriocarcinoma (BeWo) cells. Investigational new drugs. 27, 246-252.
53. Heisey, R. M. 1997. Allelopathy and the secret life of Ailanthus altissima. Allelopathy , 28−36.
54. Hildalgo-Diaz, L., Kerry, B.R. 2008. Integration of biological control with other methods on nematode management. Int. Man. of Plant Pests and Dis. Vol. 2, 29-49
55. Hua. Zhang., Oluwatoyin, A., Odeku, Xiao-Ning, Wang., Jian-Min, Yue. 2008. Limonoids from the stem bark of Khaya grandifoliola. Phytoch. 69, 271-275.
56. Isman, M.I. 2000. Plant essential oils for pest and disease management. Crop Prot. 19(8-`10), 603-608.
57. Isman, 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. Annu. Rev. Entomol. 51, 45-66.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

58. Isman, M.B., Koul, O., Luczynski, A., Kaminski, J., 1990. Insecticidal and antifeedant bioactivities of neem oils and their relationship to azadirachtin content. J.Agric.Food. Chem. 38, 1406-1411.
59. Kaplan, D.T., Keen, N.T. 1980. Mechanisms conferring plant incompatibility to nematode. J Nematol. 3(1), 123-134.
60. Καραμπουρνιώτης, Γ. Α., 2003. Φυσιολογία Καταπονήσεων των φυτών. Εκδόσεις Έμβρυο. Αθήνα.
61. Kirkegaard, J., Sarwar, M. 1998. Biofumigation potential of Brassicas-I. Variation in glucosinolate profiles of diverse field-grown Brassicas. Plant and Soil. 201, 71-89.
62. Kowarik I., Säumel I. 2007. Biological flora of Central Europe: *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle. Perspectives in Plant Ecology 8, 207-237.
63. Kraus, W.; Koll-Weber, M.; Maile, R.; Wunder, T.; Vogler, B. Biologically active constituents of tropical and subtropical plants. Pure Appl. Chem. 1994, 66, 2347−2352.
64. Lavie, D., Jain, M.k. 1967. Tetranortriterpenoids from Melia azadirachta L. Chemical Communication (London). 278-280.
65. Lee, S.M., Klocke, J.A., Barnby, M.A., Yamasaki, R.B., Balandrin, M.F. 1991. Insecticidal constituents of *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* (Meliaceae). Pp 293–304 in Hedin PA (ed) Naturally occurring pest bioregulators,vol. 449. American Chemical Society Symposium Ser Washington DC, USA.
66. Lopez-Llorca, L.V., Macia-Vicente, J.G., Jansson, H.B. 2008. Mode of action and interactions of nematophagous fungi. Int. Man. of Plant Pests and Dis. 2, 51-76.
67. Maciel, M.V., Morais, S.M., Bevilaqua, C.M.L., Camurca-Vasconcelos, A.L.F., Costa, C.T.C. Castro, C.M.S. 2006. Ovicidal and larvicidal activity of Melia azedarach extracts on Haemonchus contortus. Vet. Parasitol. 140, 98- 104.
68. Madulu, J., Trudgill, D.L. 1994. Influence of temperature on Meloidogyne javanica. Nematologica. 40, 230-243.
69. Matthiessen, J.N., Kirkegard, J.A. 2006. Biofumigation and enhanced biodegradation: Opportunity and challenge in soilborne pest and disease Management Crit. Rev. Plant Sci. 25, 235–265.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

70. Mazurkiewicz-Zapałowicz, K., Kołodziejczyk, L., 2009. Antagonistic interactions between saprotrophic fungi and geohelminths. 1. Saprotrophic fungi in the biological control of phytopathogenic geohelminths. Wiadomościparazytologiczne. 55, 1-8.
71. Milligan S.B., Bodeau J., Yaghoobi J., Kaloshian I., Zabel P., and Williamson V. M., 1998. The root knot nematode resistance gene Mi from tomato is a member of the leucine zipper, nucleotide binding, leucine-rich repeat family of plant genes. Plant Cell. 10, 1307-1320.
72. Miskus, R.P., Andrews, T.L. 1972. Stabilization of thin films of pyrethrins and allethrin. J. Agric. Food Chem. 20 (2), 313–315
73. Morgan, E.D. 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. Bioorg Med Chem. 17, 4096-4105.
74. Ntalli, N.G., Menkisoglou-Spiroudi, U., Giannakou, I.O., Prophetou Athanasiadou, D.A. 2009. Efficacy evaluation of a neem (Azadirachta indica A. Juss) formulation against root-knot nematodes Meloidogyne incognita. Crop Prot. 28(6), 489-494.
75. Ntalli N. G., Menkissoglu-Spiroudi U., Giannakou I. 2010. Nematicidal activity of powder and extracts of *Melia azedarach* fruits against *Meloidogyne incognita*. An. of Ap. Biol. 156(2), 309-317.
76. Ntalli N. G., Caboni Pierluigi. 2012. Botanical nematicides in the mediterranean basin. Phytochem. Rev. 11, 351–359
77. Ntalli N. G., Caboni Pierluigi. 2012. Botanical Nematicides: A Review. J. Agric. Food Chem., 60, 9929−9940
78. Nusbaum, C. J., Ferris, H. 1973. The role of cropping systems in nematode population management. Ann. Rev. of Phytopath. 11, 423-440.
79. Oka Y., Shuker S., Tkachi N., Trabelcy B. and Gerchman Y., 2014. Nematicidal activity of *Ochradenus baccatus* against the root-knot nematode *Meloidogyne javanica*. Plant Pathology (2014) 63, 221–231.
80. Oka, Y., Ben-Daniel, B-H. and Cohen, Y. 2001. Nematicidal activity of powder and extracts of *Inula viscosa*. Nematology. 3, 735-742.
81. Ornat, C., Sorribas, F. J. 2008. Integrated management of root-knot nematodes in Mediterranean horticultural crops. In: Integrated management and biological control of vegetable and grain crops nematodes. Int. Man. of Plant Pests and Dis. 2, 295-319.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

82. Pérez, M.P., Navas-Cortés, J.A., Pascual-Villalobos, M.J., Castillo, P. 2003. Nematicidal activity of essential oils and organic amendments from Asteraceae against root-knot nematodes. Plant Pathol. 52, 395–401.
83. Pieper, G.R., Rappaport, N.L. 1982. Photostabilization of bioethanomethrin, resmethrin and natural pyrethrins by mixed diarylp-phenylendiamines.
84. Ploeg, A. Biofumigation to manage plant-parasitic nematodes. 2008. In A. Ciancio & K.G. Mukerji (eds.), Integrated Management and Biocontrol of Vegetable and Grain Crops Nematodes. 239-248.
85. Raaijmakers, J.M., Paulitz, T.C., Steiberg, C., Alabouvette, C., Moenne-Loccoz, Y. 2009. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilbourne pathogens and beneficial microorganisms. Plant Soil. 321, 341-361.
86. Roberts, P. A., Thomason, I.J. 1989. A review of variability in four *Meloidogyne* spp. measured by reproduction on several hosts including *Lycopersicon*.
87. Runia, W. T. 2000. Steaming methods for soils and substrates. Acta Hortic. 532, 115-123. Morgan, E.D. 2009. Azadirachtin, a scientific gold mine. Bioorg Med Chem. 17, 4096-4105.
88. Sano, Z. 1990. Winter survival of *Meloidogyne incognita* juveniles and eggs in Kyushu. Japan. Jpn J Nematol. 20, 8-17.
89. Schmutterer, H. 1990. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, Azadirachta indica. Annu. Rev. Entomol. 35, 271-97.
90. Schneider S.M., Rosskopf E.N., Leesch J.G., Chellemi D.O., Bull C.T., Mazzola M. 2003. United States Department of Agriculture—Agricultural Research Service research on alternatives to methyl bromide: pre-plant and post-harvest. Pest Manag Sci 59, 814–826.
91. Siddiqui L. A. and Mahmood I., 1996. Biological control of plant parasitic nematodes by fungi: A review, Bioresourse Technology. 58, 229-239.
92. Singh B. K., Walker A., and Wright D. J., 2005. Cross-enhancement of accelerated biodegradation of organophosphorus compounds in soils: Dependence on structural similarity of compounds. Soil Biology and Biochemistry, 37, 1675-1682.
93. Szewczuk, V.D., Mongelli, E.R., Pomilio A.B. 2006. In vitro anthelmintic activity of *Melia azedarach* naturalized in Argentina Phytother Res. 20, 993-6.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167

94. Tesarova, B., Zouhar, M., Rysanek, P. 2003. Development of PCR for specific determination of root-knot nematode *Meloidogyne incognita*. Pl Prot Sci. 39, 23-28.

95. Tjamos E. C., Antoniou P. P., Tjamos S. E. 2000. Implementation of soil solarization in Greece: conclusions and suggestions. Crop Protection 19, 843-846.

96. Trudgill D.L., Blok V.C. 2001. Apomictic polyphagous root-knot nematodes: exceptionally successful and damaging biotrophic root pathogens. Ann. Rev. Phytopath. 39, 53–77.

97. Verdejo-Lucas, S., Ornat, C., Sorribas, F.J., Stchiegel, A. 2002. Species of root knot nematodes and fungal egg parasites recovered from vegetables in Almeria and Barcelona, Spain. J Nematol. 34, 405-408.

98. Vishnukanta, AC. R. 2008. *Melia azedarach*: A phytopharmacological review. Phcog Rev. 3, 173-179.

99. Wink, M. 2004. Evolution of toxins and antinutritional factors in plants with special emphasis on Leguminosae.

100. Xu, J., Liu, P., Meng, Q., and Long, H., 2004. Characterisation of *Meloidogyne* species from China using isoezyme phenotypes and amplified mitochonfrial DNA restriction fragment length polymorphism. Eur. J.Plant Pathol. 110, 309- 35.

101. Γιαννακού Ι. και Προφήτου – Αθανασιάδου Δ., 2001. Νηματωδολογία, Τμήμα εκδόσεων Πανεπιστημιακό Τυπογραφείο.

102. Ντάλλη Ν., 2010. Αντιμετώπιση των ριζόκομβων νηματωδών (Meloidogyne incognita) σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες με φυσικά προϊόντα και μελέτη της χημικής σύστασης αυτών. Διδακτορική Διατριβή. Α.Π.Θ.

Institutional Repository - Library & Information Centre - University of Thessaly
17/04/2024 21:28:30 EEST - 3.144.202.167