



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας

Πτυχιακή Εργασία

Αξιολόγηση *in vitro* της αντιβακτηριακής δράσης αιθέριων ελαίων σε απομονώσεις των φυτοπαθογόνων βακτηρίων *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και *Erwinia amylovora* που συλλέχθηκαν από περιοχές της Κεντρικής Ελλάδας.

Γκέλλου Ειρήνη Μαρία

Επιβλέπων Καθηγητής: Ευάγγελος Βέλλιος, Επίκουρος Καθηγητής

Βόλος 2022

Αξιολόγηση *in vitro* της αντιβακτηριακής δράσης αιθέριων ελαίων σε απομονώσεις των φυτοπαθογόνων βακτηρίων *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και *Erwinia amylovora* που συλλέχθηκαν από περιοχές της Κεντρικής Ελλάδας.

***In vitro* antibacterial activity of essential oils against *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* and *Erwinia amylovora* isolates from Central Greece.**

Μέλη τριμελούς εξεταστικής επιτροπής:

1. Ευάγγελος Βέλλιος, Επίκουρος Καθηγητής (Επιβλέπων)
2. Αθανάσιος Σφουγγάρης, Καθηγητής
3. Dr Φεβρωνία Λιολιοπούλου, μέλος ΕΔΙΠ

Στην Οικογένεια μου...

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

Γκέλλου Ειρήνη Μαρία

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της Πτυχιακής μου εργασίας θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Ευάγγελο Βέλλιο για την πολύτιμη καθοδήγηση και τις γνώσεις που μου προσέφερε όλα τα χρόνια της φοιτητικής μου πορείας και ιδιαίτερα κατά την διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής μου διατριβής.

Επίσης θα ήθελα ιδιαίτερα να ευχαριστήσω την κα. Φεβρωνία Λιολιοπούλου για την στήριξη της όλα αυτά τα χρόνια της συνεργασίας μας. Η καθοδήγηση και οι γνώσεις που μου προσέφερε υπήρξαν πολύτιμη βοήθεια για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας αλλά και των σπουδών μου.

Θα ήταν παράληψη μου να μην αναφέρω τον αγώνα που έκαναν οι καθηγητές μου κ. Ευάγγελος Βέλλιος και κα. Φεβρωνία Λιολιοπούλου για την ολοκλήρωση της πτυχιακής μου εργασίας κατά την διάρκεια αυτής της δύσκολης περιόδου της Πανδημίας που ζούμε με την ασφάλεια μας να έρχεται πάντα πρώτη.

Θερμές ευχαριστίες οφείλω επίσης στον καθηγητή κ. Αθανάσιο Σφουγγάρη διότι σημαντική ήταν η προσφορά του στην συγκέντρωση των φυτικών υλικών του πειράματος.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου που ήταν στήριγμα σε κάθε μου βήμα όλα αυτά τα χρόνια. Με την υλική, ψυχική αλλά και ηθική τους στήριξη κατάφερα να εκπληρώσω τους στόχους μου.

Περιεχόμενα

Κατάλογος Πινάκων.....	viii
Κατάλογος Εικόνων.....	x
Περίληψη.....	xii
1. Εισαγωγή.....	1
1.1. Καρκίνωση της Ελιάς.....	1
1.1.1. Συμπτωματολογία.....	1
1.1.2. Παθογόνο αίτιο – Συνθήκες ανάπτυξης.....	1
1.1.3. Αντιμετώπιση.....	2
1.2. Βακτηριακό Κάψιμο των Μηλοειδών.....	3
1.2.1. Συμπτωματολογία.....	3
1.2.2. Παθογόνο αίτιο – Συνθήκες ανάπτυξης.....	6
1.2.3. Αντιμετώπιση.....	6
1.3. Αιθέρια Έλαια.....	8
1.3.1. Τρόποι Εξαγωγής.....	10
1.3.2. Έλεγχος της αποτελεσματικότητας in vitro.....	10
1.4. Αιθέριο έλαιο Κέδρου.....	12
1.5. Αιθέριο έλαιο Ευκαλύπτου.....	13
1.6. Αιθέριο έλαιο Αρκεύθου.....	14
1.7. Αιθέριο έλαιο Κυπαρισσιού.....	15
1.8. Αιθέριο έλαιο Δάφνης.....	16
1.9. Αιθέριο έλαιο Γαρυφάλλου.....	17
1.10. Αιθέριο έλαιο Ρίγανης.....	18
1.11. Σκοπός της Πτυχιακής.....	19
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	20
2.1. Μικροοργανισμοί.....	20
2.2. Θρεπτικά Υλικά.....	20
2.2.1. Παρασκευή θρεπτικού υλικού NSA και NS broth.....	20
2.2.2. Παρασκευή θρεπτικού υλικού King’s Medium B και King’s B broth.....	21
2.3. Έλεγχος της αποτελεσματικότητας των αιθέριων ελαίων in vitro.....	21

2.3.1.	Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού εμποτισμένων με αιθέρια έλαια.....	22
2.3.2.	Μέθοδος διάχυσης στο άγαρ με χρήση βοθρίων.....	23
2.4.	Στατιστική Ανάλυση.....	23
3.	Αποτελέσματα.....	25
3.1.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του βακτηρίου <i>E. amylovora</i> με την μέθοδο σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....	25
3.1.1.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση E16.....	25
3.1.2.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση E3.....	29
3.1.3.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση E10.....	34
3.2.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....	42
3.2.1.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση Pss3.....	42
3.2.2.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση Pss10.....	47
3.2.3.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση Pss1.....	51
3.3.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του βακτηρίου <i>E. amylovora</i> με την μέθοδο διάχυσης με χρήση βοθρίων.....	56
3.4.	Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> με την μέθοδο διάχυσης με χρήση βοθρίων.....	61
4.	Συζήτηση.....	66
5.	Συμπεράσματα.....	69
6.	Βιβλιογραφία.....	70
6.1.	Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία.....	70
6.2.	Ελληνική Βιβλιογραφία.....	80

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1: . Studentized Range q Table. Όπου k : ο αριθμός των μεταχειρίσεων και df : οι βαθμοί ελευθερίας εντός των ομάδων.....	24
Πίνακας 2: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης E16.....	28
Πίνακας 3: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης E16 και η διαφορά τους ανά δύο.....	28
Πίνακας 4: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση E16.....	29
Πίνακας 5: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης E3.....	32
Πίνακας 6: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης E3 και η διαφορά τους ανά δύο.....	33
Πίνακας 7: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση E3.....	34
Πίνακας 8: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης E10.....	37
Πίνακας 9: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης E10 και η διαφορά τους ανά δύο.....	37
Πίνακας 10: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση E10...38	
Πίνακας 11: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής των απομονώσεων E16, E3 και E10 για το αιθέριο έλαιο γαρυφάλλου.....	40
Πίνακας 12: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής των απομονώσεων E16, E3 και E10 για το αιθέριο έλαιο ρίγανης.....	40
Πίνακας 13: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής των απομονώσεων E16, E3, E10 και η διαφορά τους ανά δύο για το αιθέριο έλαιο γαρυφάλλου.....	41
Πίνακας 14: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής των απομονώσεων E16, E3, E10 και η διαφορά τους ανά δύο για το αιθέριο έλαιο ρίγανης.....	41
Πίνακας 15: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στις απομονώσεις E16, E3, E10 για το αιθέριο έλαιο γαρυφάλλου.....	41
Πίνακας 16: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στις απομονώσεις E16, E3, E10 για το αιθέριο έλαιο ρίγανης.....	42
Πίνακας 17: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης Pss3.....	45
Πίνακας 18: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης Pss3 και η διαφορά τους ανά δύο.....	46
Πίνακας 19: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση Pss3.....	46

Πίνακας 20: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης Pss10.....	49
Πίνακας 21: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης Pss10 και η διαφορά τους ανά δύο.....	50
Πίνακας 22: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση Pss10.....	50
Πίνακας 23: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης Pss1.....	53
Πίνακας 24: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης Pss1 και η διαφορά τους ανά δύο.....	53
Πίνακας 25: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση Pss1.....	54
Πίνακας 26: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής των απομονώσεων Pss1, Pss3 και Pss10 για το αιθέριο έλαιο I.....	55
Πίνακας 27: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής των απομονώσεων Pss1, Pss3, Pss10 και η διαφορά τους ανά δύο για το αιθέριο έλαιο κέδρου.....	56
Πίνακας 28: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στις απομονώσεις Pss1, Pss3, Pss10 για το αιθέριο έλαιο κέδρου.....	56
Πίνακας 29: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης E16.....	60
Πίνακας 30: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης E16 και η διαφορά τους ανά δύο.....	60
Πίνακας 31: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση E16...61	61
Πίνακας 32: Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης Pss3.....	64
Πίνακας 33: Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης Pss3 και η διαφορά τους ανά δύο.....	65
Πίνακας 34: Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση Pss3.....	65

Κατάλογος Εικόνων

- Εικόνα 1: Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....25
- Εικόνα 2: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....26
- Εικόνα 3: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο του γαρυφάλλου. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.26
- Εικόνα 4: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της δάφνης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....27
- Εικόνα 5: Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης E3 του βακτηρίου *E. amylovora* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.30
- Εικόνα 6: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E3 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.30
- Εικόνα 7: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E3 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο του γαρυφάλλου. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.31
- Εικόνα 8: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E3 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της δάφνης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.31
- Εικόνα 9: Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης E10 του βακτηρίου *E. amylovora* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....35
- Εικόνα 10: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E10 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.35
- Εικόνα 11: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E10 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της δάφνης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....36
- Εικόνα 12: Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.43
- Εικόνα 13: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στο αιθέριο έλαιο του κυπαρισσιού. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτί.....44

Εικόνα 14: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....	44
Εικόνα 15: Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης Pss10 του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....	47
Εικόνα 16: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss10 του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> στο αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.	48
Εικόνα 17: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss10 του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.	48
Εικόνα 18: Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης Pss1 του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.....	51
Εικόνα 19: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss1 του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.	52
Εικόνα 20: Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου <i>E. amylovora</i> στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.....	57
Εικόνα 21: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου <i>E. amylovora</i> στο αιθέριο έλαιο του κυπαρισσιού. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.....	58
Εικόνα 22: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου <i>E. amylovora</i> στο αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.....	58
Εικόνα 23: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου <i>E. amylovora</i> στο αιθέριο έλαιο του αρκεύθου. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.....	59
Εικόνα 24: Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.....	62
Εικόνα 25: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> στο αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.....	63
Εικόνα 26: Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου <i>Pseudomonas savastanoi</i> pv. <i>savastanoi</i> στο αιθέριο έλαιο του γαρυφάλλου. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.....	63

Περίληψη

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε η αξιολόγηση επτά αιθέριων ελαίων έναντι των παθογόνων βακτηρίων *Erwinia amylovora* και *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Για κάθε βακτήριο χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές απομονώσεις οι οποίες προέρχονταν από την Κεντρική Ελλάδα. Τα αιθέρια έλαια που δοκιμάστηκαν προέρχονταν από κέδρο (*Cedrus atlantica*), ευκάλυπτο (*Eucalyptus globulus*), άρκευθο (*Juniperus communis*), κυπαρίσσι (*Cupressus sempervirens*), δάφνη (*Laurus nobilis*), γαρύφαλλο (*Eugenia caryophyllus*) και ρίγανη (*Origanum* sp.). Για τον έλεγχο της δράσης των ελαίων χρησιμοποιήθηκαν δύο μέθοδοι διάχυσης του αιθέριου ελαίου στο άγαρ, η μέθοδος με την χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού και η μέθοδος με την χρήση βοθρίων. Στο βακτήριο *Erwinia amylovora* το αιθέριο έλαιο με την μεγαλύτερη ανασταλτική δράση ήταν η ρίγανη και έπειτα το γαρύφαλλο και η δάφνη, ενώ για το βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* ήταν ο ευκάλυπτος και η ρίγανη. Επίσης, στην μέθοδο με την χρήση βοθρίων οι ζώνες αναστολής ήταν μεγαλύτερες σε σχέση με την χρήση διηθητικών δισκίων. Συμπερασματικά, τα αιθέρια έλαια θα μπορούσαν να βοηθήσουν μελλοντικά στην αντιμετώπιση των δύο βακτηρίων, παρόλα αυτά χρειάζεται περαιτέρω μελέτη σε περισσότερες απομονώσεις των παθογόνων ώστε να υπάρχουν περισσότερα δεδομένα για την δράση των αιθέριων ελαίων έναντι των βακτηρίων αυτών.

Λέξεις κλειδιά: αιθέρια έλαια, ευαισθησία, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.

1. Εισαγωγή

1.1. Καρκίνωση της Ελιάς

1.1.1. Συμπτωματολογία

Το βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* έχει μεγάλη οικονομική σημασία διότι προκαλεί μία πολύ σημαντική ασθένεια στις καλλιεργούμενες ελιές (*Olea europaea*) γνωστή ως καρκίνωση (knot disease) (Παναγόπουλος 2007, Rahi et al. 2020, Ramos et al. 2012). Η παραπάνω ασθένεια προκαλεί υπερπλασίες ή υπερτροφίες στα σημεία προσβολής με την μορφή όγκων γνωστά και ως καρκινώματα. Τα σημεία προσβολής έχουν παρατηρηθεί ότι είναι κυρίως στα υπέργεια μέρη των φυτών και κυρίως στα ξυλώδη μέρη, όπως ο κορμός, τα κλαδιά, οι βλαστοί και πιο σπάνια στα φύλλα και τους καρπούς αλλά και στις ρίζες (Παναγόπουλος 2007, Ramos et al. 2012, Rahi et al. 2020). Στους καρπούς οι ασθένεια εμφανίζεται με την μορφή κυκλικών κηλίδων αλλά επίσης βρέθηκε ότι επηρεάζει τους καρπούς ως προς το μέγεθος αλλά και την ποιότητα, γεγονός που έχει αρνητικό αντίκτυπο και στα έσοδα των παραγωγών (Schroth et al. 1973, Παναγόπουλος 2007). Σύμφωνα με τον Ζάχο Γ. (1958), οι κηλίδες που δημιουργούνται στους καρπούς αρχικά είναι υπερυψωμένες, όμως καθώς περνάει ο καιρός βυθίζονται και δημιουργείται γύρω από αυτές χλωρωτική άλω. Επιπλέον, συνήθως με την παρουσία υγρού καιρού παρατηρείται σχίσιμο στο κέντρο των κηλίδων από το οποίο εξέρχεται υγρό που περιέχει το παθογόνο βακτήριο (Παναγόπουλος 2007). Οι όγκοι που δημιουργούνται αρχικά είναι μικροί σε διάμετρο (3-5mm) με σπογγώδη σύσταση και εσωτερικά παρατηρούνται υδατώδεις περιοχές οι οποίες περιέχουν το βακτήριο. Καθώς περνάει ο καιρός οι όγκοι αυτοί μεγαλώνουν σε διάμετρο (έως 25 mm) και αποκτούν σκούρο χρώμα με αυλακώσεις στην επιφάνεια (Hall et al. 2004, Παναγόπουλος 2007).

1.1.2. Παθογόνο αίτιο – Συνθήκες ανάπτυξης

Το φυτοπαθογόνο βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Pss) είναι ένας από έξι παθότυπους του *Pseudomonas savastanoi* (Gardan et al. 1992, Rahi et al. 2020). Το βακτήριο Pss είναι αερόβιο αρνητικό κατά Gram, ραβδοειδές, κινείται με μαστίγια και για την βέλτιστη ανάπτυξή του το εύρος θερμοκρασιών κυμαίνεται μεταξύ 25-30°C (Παναγόπουλος 2007, Ramos et al. 2012). Ο κύριος ξενιστής του βακτηρίου είναι η ελιά (*Olea europaea*), αλλά έχει εντοπιστεί στην άγρια ελιά και τον φράξινο (*Fraxinus excelsior*). Αναφορικά με την

συστηματική κατάταξη ανήκει στην Οικογένεια *Pseudomonadaceae* της Τάξης *Gammaproteobacteria* και της Κλάσης *Proteobacteria* (Ramos et al. 2012, Τζάμος 2017).

Σύμφωνα με τους Surico και Iacobellis (1992) όπως αναφέρεται από τον Iacobellis και τους συνεργάτες του (1994), η ανάπτυξη καρκινωμάτων στην ελιά συνδέεται με την βακτηριακή παραγωγή φυτοορμονών, οι οποίες οδηγούν στον πολλαπλασιασμό των κυττάρων του φυτού που βρίσκονται στους ιστούς που έχουν μολυνθεί. Οι μολύνσεις των ιστών από το παθογόνο μπορούν να γίνουν σε όλη την διάρκεια τους έτους με την προϋπόθεση ότι ο καιρός είναι υγρός (Παναγόπουλος 2007). Ο Wilson στην έρευνα που πραγματοποίησε το 1935 υποστήριξε ότι η ασθένεια που προκαλεί το Pss εξαπλώνεται σε μικρές αποστάσεις με την βροχή, τον αέρα και τα έντομα. Επιπλέον το παθογόνο εισέρχεται στους ιστούς μέσω πληγών που δημιουργούνται είτε από καλλιεργητικές τεχνικές όπως το κλάδεμα και η συγκομιδή, είτε από ακραία καιρικά φαινόμενα όπως το χαλάζι και ο παγετός. Τέλος, στην περίπτωση των κηλιδώσεων των καρπών της ελιάς έχει βρεθεί ότι το παθογόνο εισέρχεται από τα φακίδια που υπάρχουν στην επιφάνειά τους (Παναγόπουλος 2007). Το βακτήριο επιβιώνει μέσα στους όγκους που σχηματίζονται. Ταυτόχρονα επιβιώνει επιφυτικά στα φύλλα και σε άλλους πράσινους ιστούς των δέντρων και εξαπλώνονται μέσω των ιστών κατά μήκος των αγγείων του ξυλώματος (Παναγόπουλος 2007, Marchi et al. 2009).

1.1.3. Αντιμετώπιση

Μέχρι σήμερα με εξαίρεση ενώσεις του χαλκού, δεν υπάρχουν χημικά σκευάσματα για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της ασθένειας. Για αυτόν ακριβώς τον λόγο η πρόληψη με τα κατάλληλα καλλιεργητικά μέτρα είναι απαραίτητη προϋπόθεση για την αντιμετώπιση της καρκίνωσης της ελιάς (Παναγόπουλος, 2007).

Πιο συγκεκριμένα θα πρέπει κατά την φύτευση ενός νέου ελαιώνα να επιλέγονται δενδρύλλια τα οποία είναι υγιή, και οι περιοχές εγκατάστασης της καλλιέργειας να μην ευνοούν την ανάπτυξη του παθογόνου, όπως ο υγρός και βροχερός καιρός (Wilson 1935, Παναγόπουλος 2007). Επιπλέον σημαντικό είναι να αφαιρούνται τα μολυσμένα τμήματα των δέντρων, καθώς και οι όγκοι που έχουν δημιουργηθεί επαλείφοντας τις πληγές με βορδιγάλιο πολτό 1% (Wilson 1935, Παναγόπουλος 2007). Ένα ακόμη σημαντικό μέτρο το οποίο θα πρέπει οι παραγωγοί να το εκτελούν οπωσδήποτε είναι η απολύμανση των εργαλείων που χρησιμοποιούν για το κλάδεμα με διάλυμα φορμόλης ή κάποιο άλλο διάλυμα ειδικό για απολυμάνσεις (Παναγόπουλος 2007, Nguyen et al. 2017). Επίσης, σε περιπτώσεις που έχει

προηγηθεί χαλάζι ή παγετός θα πρέπει να πραγματοποιείται ψεκασμός της καλλιέργειας με βορδιγάλιο πολτό 1% ή άλλο χαλκούχο σκεύασμα (Παναγόπουλος 2007). Με βορδιγάλιο πολτό 1% ή άλλα χαλκούχα σκευάσματα ως μέτρο πρόληψης προτείνεται να γίνεται ψεκασμός κάθε φθινόπωρο, χειμώνα αλλά και νωρίς την άνοιξη (Teviotdale and Krueger 2004).

Σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων κάποια από τα σκευάσματα που έχουν έγκριση και χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα για την καρκίνωση της ελιάς είναι τα εξής: βορδιγάλειος πολτός, υδροξείδιο του χαλκού, οξυχλωριούχος χαλκός και τριβασικός θειικός χαλκός.

Παρόλο που ο χαλκός είναι η πιο αποτελεσματική πρακτική πρόληψης όσον αφορά τα σκευάσματα, η αλόγιστη χρήση του έχει βρεθεί στο παρελθόν ότι προκαλεί ανθεκτικότητα σε φυτοπαθογόνα βακτήρια του γένους *Pseudomonas* καθώς και σε άλλα γένη (Adaskaveg et al. 1985, Andersen et al. 1991, Cazorla et al. 2002). Το γεγονός αυτό είναι ένας από τους λόγους τους οποίους γίνεται προσπάθεια εξεύρεσης νέων τρόπων αντιμετώπισης. Ένας από αυτούς είναι η χρήση αιθέριων ελαίων που δρουν κατασταλτικά έναντι των παθογόνων βακτηρίων. Μερικά αιθέρια έλαια τα οποία έχουν ικανοποιητικά αποτελέσματα έναντι του *Pseudomonas savastanoi* είναι της ρίγανης (*Origanum vulgare*) (Gruloná et al. 2020), της φτέρης (*Pteridium aquilinum*) (Bouche Kouk et al. 2019), από φυτά του γένους *Boswellia* (Caparrotta et al. 2019), της Συριακής ρίγανης (*Origanum syriacum*, του αγριοθύμαρου (*Thymus serpyllum*) (Bozkurt et al. 2020) και του δυόσμου (*Mentha suaveolens*) (Benali et al. 2020).

1.2. Βακτηριακό Κάψιμο των Μηλοειδών

1.2.1. Συμπτωματολογία

Το βακτηριακό κάψιμο (fireblight) είναι μία ασθένεια που συναντάται στα μηλοειδή και κυρίως στην μηλιά και στην αγλαδιά (Baker 1971, Παναγόπουλος 2007). Συνήθως, οι μολύνσεις των φυτών γίνονται με την προσβολή των άνθων την άνοιξη, των βλαστών αλλά και από μολυσμένο πολλαπλασιαστικό υλικό (Norelli et al. 2003, Παναγόπουλος 2007, Santander et al. 2020).

Χαρακτηριστικό σύμπτωμα είναι η όψη καψίματος στα άνθη, τα φύλλα και τους βλαστούς. Αρχικά οι προσβεβλημένοι ιστοί αποκτούν υδαρή εμφάνιση και στην συνέχεια μαραίνονται και εν τέλει ξηραίνονται έχοντας σκούρο καστανό έως μαύρο χρώμα. Από τους ιστούς οι οποίοι έχουν μολυνθεί από το βακτήριο παρατηρείται κολλώδης εξίδρωση υπόλευκου

χρώματος (Παναγόπουλος 2007, Khan et al. 2012). Σε ορισμένες περιπτώσεις, το βακτήριο εισέρχεται στο φυτό μέσω φυσικών ανοιγμάτων (φακίδια, στόματα) ή μέσω πληγών και για κάποια χρονική περίοδο, συνήθως από 1 έως 6 μήνες αποικίζει σε διάφορα υγιή όργανα του φυτού χωρίς να προκαλέσει συμπτώματα, τα οποία εκδηλώνονται απότομα (Keil and Van Der Zwet 1972).

Πιο συγκεκριμένα, στα άνθη εμφανίζονται τα πρώτα συμπτώματα νωρίς την άνοιξη, τα οποία έχουν υδαρή όψη αρχικά και εν συνεχεία ακολουθεί η μάρανση, η συρρίκνωση και η μεταβολή του χρώματος τους σε σκούρο καφέ έως μαύρο. Η μόλυνση εξαπλώνεται στους μίσχους των άνθων οι οποίοι αποκτούν βαθύ πράσινο χρώμα, έχουν επίσης υδαρή όψη και τελικά γίνονται μαύροι. Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι σε περίπτωση ζεστού και υγρού καιρού παρατηρείται βακτηριακή εξίδρωση από τους μίσχους που έχουν προσβληθεί. Μέσω των μίσχων η μόλυνση επεκτείνεται στους νεαρούς καρπούς οι οποίοι παίρνουν μαύρο χρώμα, συρρικνώνονται, ξηραίνονται και παραμένουν προσκολλημένα στους βλαστούς αλλά και στα γειτονικά φύλλα (Van Der Zwet and Keil 1979, Van Der Zwet and Beer 1991). Επιπλέον, στους κλαδίσκους συχνά εμφανίζονται έλκη, ενώ τα φύλλα τους μαραίνονται και ολόκληρος ο βλαστός μεταχρωματίζεται σε καφέ στις μηλιές και σκούρο καφέ έως μαύρο στις αχλαδιές (Van Der Zwet and Keil 1979). Τα έλκη κατά την διάρκεια του καλοκαιριού επεκτείνονται με ταχύ ρυθμό, ενώ τους φθινοπωρινούς μήνες η ανάπτυξή τους αναστέλλεται (Παναγόπουλος 2007). Να τονιστεί ότι το παθογόνο βακτήριο διαχειμάζει στα παλιά έλκη των κλάδων όπου την άνοιξη κατά την διάρκεια υγρού καιρού παρατηρείται βακτηριακή εξίδρωση. Από αυτό το γλυκό και κολλώδης υγρό έλκονται έντομα όπως για παράδειγμα μέλισσες, μύγες και μεταφέρουν τα βακτήρια στα άνθη. Ταυτόχρονα τα βακτήρια θα μπορούσαν να μεταδοθούν εκτός από τα έντομα και με την βροχή (Agris 2005).

Οι μολύνσεις των δέντρων μπορούν να αρχίσουν εκτός από τα άνθη και από τους τρυφερούς βλαστούς (Παναγόπουλος 2007). Τα συμπτώματα που παρατηρούνται στους προσβεβλημένους βλαστούς είναι παρόμοια με αυτά των ανθέων με την διαφορά ότι σε αυτήν την περίπτωση η εξάπλωση της μόλυνσης πραγματοποιείται με ταχύτερο ρυθμό. Επίσης ένα χαρακτηριστικό σύμπτωμά τους είναι ότι οι κορυφές τους μαραίνονται και αποκτούν κλίση. Οι βλαστοί, ο φλοιός και τα φύλλα τα οποία έχουν προσβληθεί εμφανίζουν συνήθως σκούρο καφέ μεταχρωματισμό στις μηλιές και σκούρο καφέ έως μαύρο στις αχλαδιές. Να τονιστεί ότι συχνά όταν ο καιρός είναι υγρός παρατηρείται βακτηριακή εξίδρωση από τους μολυσμένους ιστούς όπως και στην περίπτωση των μίσχων των άνθων (Van Der Zwet and Keil 1979, Van Der Zwet and Beer 1991).

Όσον αφορά την μόλυνση των φύλλων, αυτή αρχίζει με την είσοδο των βακτηρίων μέσω των στομάτων, από πληγές που έχουν δημιουργηθεί από την πτώση χαλαζιού, νύγματα εντόμων κ.α. Σε περίπτωση μόλυνσης, στο έλασμα των φύλλων δημιουργείται μία νεκρωτική περιοχή, η οποία μπορεί να επεκταθεί σε ολόκληρο το φύλλο, μέχρι τον μίσχο ακόμα και στο στέλεχος στήριξης του φύλλου (Van Der Zwet and Keil 1979, Van Der Zwet and Beer 1991).

Στους καρπούς οι μολύνσεις συνήθως συναντώνται σε ανώριμους καρπούς στους οποίους τα βακτήρια εισέρχονται μέσω των φακιδίων που υπάρχουν στην επιδερμίδα τους ή και μέσω τραυμάτων. Συνήθως οι προσβολές των καρπών προκύπτουν έπειτα από καλοκαιρινές καταιγίδες. Στα προσβεβλημένα αχλάδια αρχικά εμφανίζεται σκούρος πράσινος μεταχρωματισμός στους μολυσμένους ιστούς οι οποίοι έχουν υδαρή όψη. Στα μήλα παρατηρείται κόκκινος μεταχρωματισμός γύρω από τις μολυσμένες περιοχές. Επιπλέον, παρατηρείται βακτηριακή εξίδρωση να βγαίνει από τα φακίδια της επιδερμίδας των καρπών στις περιοχές που έχουν μολυνθεί οι ιστοί. Πιο συγκεκριμένα το υγρό αυτό είναι κολλώδες, με τη μορφή σταγόνων, υπόλευκου ή κεχριμπαρένιου χρώματος. Τελικά οι προσβεβλημένοι καρποί των μήλων και των αχλαδιών γίνονται καφέ και μαύροι αντίστοιχα και όπως προαναφέρθηκε συρρικνώνονται, μумιοποιούνται και παραμένουν προσκολλημένοι στα δέντρα (Van Der Zwet and Keil 1979, Van Der Zwet and Beer 1991, Παναγόπουλος 2007).

Η εξάπλωση της μόλυνσης μπορεί να συνεχιστεί μέσω των βλαστών και των βραχιόνων προς τον κορμό και τις ρίζες. Τα συμπτώματα στον κορμό του δέντρου είναι παρόμοια με των υπόλοιπων οργάνων. Πιο συγκεκριμένα χαρακτηριστικό σύμπτωμα είναι τα έλκη που δημιουργούνται και η βακτηριακή εξίδρωση υπόλευκου χρώματος. Στην συνέχεια η προσβολή επεκτείνεται στον λαιμό και το ριζικό σύστημα του δέντρου. Όταν το βακτήριο φτάσει σε αυτές τις δύο περιοχές μπορεί να νεκρώσει ολόκληρο το δέντρο (Van Der Zwet and Keil 1979, Van Der Zwet and Beer 1991). Στον λαιμό του δέντρου αρχικά εμφανίζεται υδαρής όψη με έναν ιώδες μεταχρωματισμό και στην συνέχεια δημιουργούνται εξογκώματα και εν τέλει σχισμές. Σημαντικό είναι να αναφερθεί πως κατά την απομάκρυνση του φλοιού της μολυσμένης περιοχής παρατηρούνται στους εσωτερικούς ιστούς ραβδώσεις χρώματος πορφυρού. Τέλος, οι ρίζες έχουν παρόμοια συμπτώματα με αυτά που προαναφέρθηκαν και στον κορμό του δέντρου (Van Der Zwet and Beer 1991).

1.2.2. Παθογόνο αίτιο – Συνθήκες ανάπτυξης

Το βακτήριο *Erwinia amylovora* είναι αρνητικό κατά Gram, έχει ραβδοειδές σχήμα και κινείται με μαστίγια, είναι προαιρετικά αναερόβιο και παράγει ένα ένζυμο την καταλάση. Προσβάλλει πολλά φυτά όπως την μηλιά, την απιδιά, την μουσμουλιά, την κυδωνιά αλλά ακόμα και φυτά της υποοικογένειας *Maloideae* των *Rosaceae* (Παναγόπουλος 2007). Ανήκει στην Κλάση *Proteobacteria* η οποία είναι από τις μεγαλύτερες ταξινομικές ομάδες με μεγάλο εύρος γενών βακτηρίων. Ειδικότερα κατατάσσεται στην Οικογένεια *Enterobacteriaceae* της Τάξης *Enterobacteriales* (Garrity et al. 2005, Τζάμος 2017).

Το παθογόνο αυτό βακτήριο μπορεί να επιβιώσει και να πολλαπλασιαστεί σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών. Οι θερμοκρασίες ανάπτυξης κυμαίνονται από 3-5°C έως 37°C, με 25 – 27,5°C το εύρος θερμοκρασιών για άριστη ανάπτυξη (Billing et al. 1961). Σύμφωνα με τους Starr και Mandel (1950), πολλά είδη του γένους *Erwinia* αναπτύσσονται σε ένα θρεπτικό μέσο αποτελούμενο από NH₄Cl, γλυκόζη αλλά και άλατα (Starr and Mandel 1950). Επιπλέον να τονιστεί ότι για την *Erwinia amylovora* είναι υποχρεωτική η παρουσία νικοτινικού οξέως αυξητικού παράγοντα (Starr and Mandel 1950, Agrios 2005).

Για την μόλυνση των δέντρων αλλά και την εξάπλωση της ασθένειας απαιτούνται θερμοκρασίες 18-30°C με υγρό ή βροχερό καιρό και υψηλή σχετική υγρασία. Έχει παρατηρηθεί ότι σε θερμοκρασία 24°C η περίοδος επώασης του βακτηρίου στα άνθη είναι 4 έως 5 ημέρες (Παναγόπουλος 2007).

1.2.3. Αντιμετώπιση

Η αντιμετώπιση του βακτηριακού καψίματος των μηλοειδών βασίζεται σε τρεις βασικούς πυλώνες, την χρήση πολλαπλασιαστικού υλικού απαλλαγμένο από το παθογόνο, τα καλλιεργητικά μέτρα που παίρνει ο παραγωγός και την χρήση χημικών ή παραγόντων βιολογικής αντιμετώπισης για την αποφυγή της εξάπλωσης της ασθένειας (Παναγόπουλος 2007).

Όσον αφορά τα καλλιεργητικά μέτρα, οι παραγωγοί θα πρέπει να εκτελέσουν μία σειρά από τεχνικές ώστε να σταματήσει η εξάπλωση της μόλυνσης. Απαραίτητο είναι να γίνει αφαίρεση και καύση των προσβεβλημένων τμημάτων των δέντρων. Οι τομές στους μολυσμένους κλάδους ή βραχίονες θα πρέπει να γίνουν 10cm κάτω από το σημείο της ορατής μόλυνσης τους χειμερινούς μήνες και 30cm τους καλοκαιρινούς μήνες διότι εκείνη την εποχή το παθογόνο

βακτήριο εξαπλώνεται με ταχύτερους ρυθμούς (Agiros 2005). Παράλληλα τα εργαλεία που χρησιμοποιούνται για την αφαίρεση των προσβεβλημένων τμημάτων των δέντρων θα πρέπει να απολυμαίνονται με εμβάπτιση σε διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 10%, ή φορμόλης, ή οιοπνεύματος (Agiros 2005, Παναγόπουλος 2007). Επιπλέον οι παραγωγοί θα πρέπει όταν οι καιρικές συνθήκες είναι τέτοιες που ευνοούν την ανάπτυξη του βακτηρίου να αρχίζουν τους απαραίτητους ψεκασμούς. Ακόμα κατά την διάρκεια της ανθοφορίας θα πρέπει να λάβουν τα κατάλληλα μέτρα για τον έλεγχο εντόμων διότι όπως προαναφέρθηκε έχουν βασικό ρόλο στην διασπορά των βακτηρίων. Παρόλα αυτά για να είναι αποτελεσματική η εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων θα πρέπει να τηρηθούν όλα τα καλλιεργητικά μέτρα που αναφέρθηκαν παραπάνω (Agiros 2005).

Επιπλέον, ένα ακόμα αποτελεσματικό μέτρο είναι η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών στο βακτήριο *Erwinia amylovora*. Κάποιες από τις ποικιλίες μηλιάς που έχουν ικανοποιητικά αποτελέσματα αντοχής είναι οι: Delicious, Golden Delicious, Everest και άλλες πολλές, ενώ στην αιδιά είναι οι: Κρυστάλλι, Kieffer, Alexander Lucas κ.α.(Παναγόπουλος 2007).

Στην περίπτωση χρήσης χημικών σκευασμάτων για την αντιμετώπιση της ασθένειας έχει αποδειχθεί ότι τα αντιβιοτικά είναι αρκετά αποτελεσματικά. Η εφαρμογή αντιβιοτικών όπως στρεπτομυκίνη, οξυτετρακυκλίνη ή kasugamycin κατά το στάδιο της ανθοφορίας την άνοιξη έχει πολύ καλά αποτελέσματα στον περιορισμό της μόλυνσης (Zhao Yu-qiang et al. 2019). Παρόλα αυτά στις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης έχει απαγορευτεί η χρήση αντιβιοτικών στις καλλιέργειες διότι έχουν βρεθεί υπολείμματα αυτών σε τροφές (Dagher et al. 2020) και υπάρχουν ανησυχίες ότι η χρήση τους στην αγροτική παραγωγή οδηγεί σε ανθεκτικότητα των βακτηρίων σε αυτές τις ουσίες (Stockwell and Duffy 2012). Ο Brasse (2001) όπως αναφέρεται στον Bogdanov (2006) ανακάλυψε ότι υπήρχαν υπολείμματα στρεπτομυκίνης στο μέλι στη Γερμανία που το αντιβιοτικό χρησιμοποιούνταν για την αντιμετώπιση του βακτηριακού καψίματος. Σε αυτή την μελέτη από τα 183 δείγματα μελιού το 21% αυτών έδειξαν ότι περιείχαν ίχνη του αντιβιοτικού. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι το βακτήριο *Erwinia amylovora* σε πολλές περιοχές έχει γίνει ανθεκτικό έναντι της στρεπτομυκίνης (McManus and Jones 1994, Norelli et al. 2003). Πολλοί ερευνητές εκφράζουν επίσης τις ανησυχίες τους σχετικά με τις επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία που μπορεί να έχει στο έμμεσο μέλλον η χρήση των αντιβιοτικών ως φυτοφάρμακα (Abriouel et al. 2008, Marti et al. 2013).

Το γεγονός αυτό οδηγεί τους επιστήμονες στην αναζήτηση άλλων τρόπων αντιμετώπισης εκτός των αντιβιοτικών. Τα χαλκούχα σκευάσματα έχει βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικά

έναντι βακτηριολογικών ασθενειών (Ζιώγας και Μάρκογλου 2017). Μερικές δραστικές ουσίες που έχει αποδειχθεί ότι έχουν αποτέλεσμα στην αντιμετώπιση του βακτηριακού καψίματος, ο βορδιγάλειος πολτός, ο θεικός χαλκός (Agtios 2005), το θεικό αργίλιο, το LMA (θεικό άλας καλίου-αργιλίου) (Bantleon et al. 2021), το υδροξείδιο του χαλκού, το fosetyl Al (Van Der Zwet and Keil 1979, Tsiantos et al. 2003), το prohexadione calcium (Costa et al. 2001) και ο οξυχλωριούχος χαλκός (Chiriac and Ulea 2012). Επιπλέον έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικοί και μικροοργανισμοί όπως οι μύκητες του είδους *Aureobasidium pullulans* (Temple et al. 2020) και τα βακτήρια *Bacillus* spp., *Pseudomonas brassicacearum* (Tafifet et al. 2020). Σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων κάποια από τις δραστικές ουσίες και παράγοντες βιολογικής αντιμετώπισης που έχουν έγκριση και χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα για το βακτηριακό κάψιμο της αχλαδιάς και της μηλιάς είναι τα εξής: fosetyl-Al, prohexadione calcium, οξυχλωριούχος χαλκός, υδροξείδιο του χαλκού, *Aureobasidium pullulans* strain DSM 14940, *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *plantarum* D747.

Τέλος, ύστερα από μελέτες διαπιστώθηκε ότι αρκετά αιθέρια έλαια αναστέλλουν την ανάπτυξη του βακτηρίου. Μερικά έλαια, τα οποία είχαν ικανοποιητικά αποτελέσματα σε πειράματα *in vitro* και θα μπορούσαν μελλοντικά να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση της ασθένειας είναι της ρίγανης *Origanum vulgare* subsp. *viride* (Mehdizadeh et al. 2018), της τριανταφυλλιάς *Rosa damascene* (Basim and Basim 2004), της νεραντζιάς *Citrus aurantium* L. (Okla et al. 2019), του θυμαριού *Thymus vulgaris* (Habbadi et al. 2018), του άγριου δενδρολίβανου της Αφρικής *Eriocephalus africanus* L. (Behiry et al. 2020) και φυτά του γένους *Monarda* (*Monarda didyma* και *Monarda fistulosa*) (Mattarelli et al. 2017).

1.3. Αιθέρια Έλαια

Η αλόγιστη χρήση των χημικών φυτοπροστατευτικών φαρμάκων προκαλεί προβλήματα τόσο στο περιβάλλον όσο και στην υγεία των ανθρώπων και των ζώων. Για τον λόγο αυτό έχει δημιουργηθεί η ανάγκη για την εύρεση εναλλακτικών τρόπων προστασίας των φυτών από παθογόνους μικροοργανισμούς, έντομα και ζιζάνια. Τα τελευταία χρόνια πολλοί επιστήμονες έχουν στραφεί σε μελέτες που αφορούν τα αιθέρια έλαια και τις χημικές τους ιδιότητες.

Τα αιθέρια έλαια είναι φυσικές, πτητικές πολύπλοκες ενώσεις με έντονη οσμή οι οποίες προέρχονται από τα άνθη, τις ρίζες, τα φύλλα, τους καρπούς, τους φλοιούς αλλά και τους βλαστούς των φυτών (Bakkali et al. 2008). Τα κύρια συστατικά των αιθέριων ελαίων

χωρίζονται σε δύο ομάδες από τις οποίες η πρώτη αποτελείται από τερπένια και τερπενοειδή και θεωρείται η κύρια ομάδα και η δεύτερη που απαρτίζεται από αρωματικές και άλλες αλειφατικές ενώσεις (Bakkali et al. 2008). Οι ενώσεις αυτές είναι υδρόφοβες με ελάχιστη διαλυτότητα στο νερό, ενώ διαλύονται σε αλκοόλη, αιθέρα, πολλούς οργανικούς διαλύτες αλλά και άλλες υδρόφοβες ενώσεις (Carson and Hammer 2011).

Η απόδοση των αιθέριων ελαίων δηλαδή η ποσότητα των χημικών ενώσεων που περιέχει το έλαιο που εξάγεται από το φυτό δεν είναι πάντα στις ίδιες αναλογίες και εξαρτάται από διάφορους παράγοντες. Η σύνθεση τους είναι δυνατόν να επηρεαστεί από αρκετούς παράγοντες όπως γενετικούς, περιβαλλοντικούς, τεχνικές καλλιέργειας, τρόποι εξαγωγής, τρόποι αποθήκευσης και τεχνολογίες επεξεργασίας (Russo et al. 2013). Αρχικά είναι ο γενετικός παράγοντας όπως η ποικιλία του φυτού. Κάθε ποικιλία ενός είδους χαρακτηρίζεται από διαφορετική σύσταση ενώσεων που απαρτίζουν το αιθέριο έλαιο που παράγει, από άλλες ποικιλίες του ίδιου είδους. Επιπλέον το στάδιο ανάπτυξης του φυτού επηρεάζει την σύσταση του ελαίου όπως και η εποχή συγκομιδής. Ακόμη ένας παράγοντας είναι το γεωγραφικό πλάτος της περιοχής διότι οι κλιματολογικές και οι εδαφολογικές συνθήκες παίζουν σπουδαίο ρόλο στην σύσταση του ελαίου. Τέλος αν κατά την συγκομιδή έχει προηγηθεί άρδευση είναι ένας σημαντικός παράγοντας διότι κάποια είδη φυτών αυξάνουν την παραγωγή αιθέριου ελαίου ενώ κάποια άλλα την μειώνουν (Chyau et al. 2007, Ben Jemâa et al. 2012, Ασίμονιό et al. 2014, Asgharian et al. 2016, Queiroz et al. 2017, Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019).

Αυτό που καθιστά σημαντική την χρήση των αιθέριων ελαίων σε πολλούς τομείς όπως στο τομέα τροφίμων ως συντηρητικά και αρωματικά, στην ιατρική σε φαρμακευτικά προϊόντα αλλά και στην βιομηχανία καλλυντικών. Κάποιες από τις ιδιότητες αυτές είναι οι εξής: αντιοξειδωτική δράση, αντιφλεγμονώδεις, αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, αντισηπτικές, αντικαρκινικές και άλλες πολλές. Σύμφωνα με πολλές μελέτες οι παραπάνω ιδιότητες κατέχουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των φυτών από βακτήρια, μύκητες, ιούς ακόμα και έντομα.

Βέβαια η χρήση των αιθέριων ελαίων δεν είναι πάντοτε ασφαλής. Πολλά αιθέρια έλαια παρουσιάζουν υψηλή τοξικότητα όπως αυτά που παράγονται από τη σάλβια, το γλυκάνισο, το θυμάρι, τη λεμονιά, το μάραθο κ.α. Η λανθασμένη χρήση των αιθέριων ελαίων μπορεί να προκαλέσει ερεθισμούς στο δέρμα, αλλεργίες ακόμα και δηλητηριάσεις. Σε κάποιες ομάδες ανθρώπων όπως επιληπτικούς, έγκυες, βρέφη και παιδιά θα πρέπει να υπάρχει μεγάλη προσοχή ως προς την χρήση αυτών ακόμα και η αποφυγή τους σε κάποιες περιπτώσεις (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019).

Όπως προαναφέρθηκε τα αιθέρια έλαια είναι πτητικές ουσίες, δηλαδή εξατμίζονται εύκολα σε κανονικές συνθήκες, επομένως πρέπει να φυλάσσονται σε αεροστεγή δοχεία σε σκοτεινό μέρος, ώστε να αποφευχθούν οι αλλοιώσεις στην σύνθεση τους (Burt 2004).

1.3.1. Τρόποι Εξαγωγής

Υπάρχουν διάφοροι τρόποι με τους οποίους εξαγονται τα αιθέρια έλαια ωστόσο το ποιος από αυτούς θα χρησιμοποιηθεί εξαρτάται από τα φυτικά μέρη που χρησιμοποιούνται (Tongnuanchan and Benjakul 2014). Οι τρόποι εξαγωγής των ελαίων από τα φυτά είναι **α)** η απόσταξη και πιο συγκεκριμένα απόσταξη με ατμό, υδροαπόσταξη και απόσταξη με νερό και υδρατμούς, **β)** η εκχύλιση όπως η εκχύλιση με διαλύτη όπως υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα και υποκρίσιμο νερό **γ)** η μηχανική εκπίεση, **δ)** και τέλος η μέθοδος μικροκυμάτων χωρίς την χρήση διαλυτών (Tongnuanchan and Benjakul 2014, Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019).

Σύμφωνα με έρευνες που έχουν πραγματοποιηθεί για την σύγκριση των τρόπων εξαγωγής των αιθέριων ελαίων ως προς την ποιότητα αυτών αλλά και τον χρόνο που απαιτείται για την ολοκλήρωση της διαδικασίας, έχει αποδειχθεί ότι ο πιο οικονομικός και σύντομος τρόπος είναι η χρήση των μικροκυμάτων. Επιπλέον κάποια ακόμα πλεονεκτήματα που φέρει ο παραπάνω τρόπος είναι ότι έχει καλύτερα αποτελέσματα ως προς την ποιότητα των αιθέριων ελαίων και είναι πιο φιλικός ως προς το περιβάλλον διότι μειώνονται τα απόβλητα αλλά και οι εκπομπές CO₂ σε σημαντικά ποσοστά στην ατμόσφαιρα, επομένως οι επιπτώσεις που έχει αυτή η μέθοδος στο περιβάλλον είναι σαφώς μικρότερες (Memarzadeh et al. 2020, Reda et al. 2021). Παρόλα αυτά η πιο διαδεδομένη ευρέως τεχνική εξαγωγής αιθέριων ελαίων είναι η απόσταξη επειδή είναι πιο απλή και με πιο οικονομική εγκατάσταση. Όπως προαναφέρθηκε η διαδικασία της απόσταξης χωρίζεται σε τρεις κατηγορίες από τις οποίες αυτή με την καλύτερη απόδοση αλλά και ποιότητα σε αιθέριο έλαιο είναι η απόσταξη με ατμό. Όμως, για το ποια κατηγορία από τις τρεις θα πρέπει να επιλεγεί εξαρτάται από τον τύπο του φυτικού υλικού (άνθη, καρποί, ρίζες, φύλλα κτλ.) (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019).

1.3.2. Έλεγχος της αποτελεσματικότητας *in vitro*

Με σκοπό τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας των αιθέριων ελαίων ως προς τις ιδιότητές τους έναντι των παθογόνων πραγματοποιούνται πειράματα *in vitro*. Κάποιες από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται συχνά είναι η μέθοδος τοξικού μέσου (ανάμειξη του αιθέριου ελαίου

με το άγαρ), διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού, υποκαπνισμού, διάχυσης φρεατίων σε άγαρ, μικροτιτλοδότησης κ.α.

Στην μέθοδο τοξικού μέσου η διαδικασία που ακολουθείται είναι η εξής: αρχικά το αιθέριο έλαιο αραιώνεται σε αιθανόλη ή μεθανόλη και στην συνέχεια προστίθεται σε PDA το οποίο έχει αποστειρωθεί σε αυτόκαυστο, πριν στερεοποιηθεί όταν η θερμοκρασία του είναι περίπου 50°C (Abou-Jawdah et al. 2002).

Στην μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού αρχικά γίνεται εμποτισμός αποστειρωμένου δίσκου διηθητικού χαρτιού διαμέτρου 6 mm με 10 μL αιθέριου ελαίου. Το διηθητικό χαρτί τοποθετείται σε τρυβλίο με άγαρ το οποίο προηγουμένως έχει εμβολιαστεί με μικροβιακό εναιώρημα των 100 μL. Επιπλέον η μέτρηση των διαμέτρων των ζωνών αναστολής γίνεται σε χιλιοστά συμπεριλαμβανομένης και της διαμέτρου του δίσκου (Salamon et al. 2019).

Όσον αφορά την μέθοδο υποκαπνισμού, τα βήματα που ακολουθούνται είναι τα εξής: τρυβλία με θρεπτικό υλικό εμβολιάζονται με μικροοργανισμό, μετά από τοποθέτηση δίσκου που προέρχεται από καλλιέργεια 7 ημερών του μικροοργανισμού, στο κέντρο του θρεπτικού υλικού. Στην συνέχεια, στην εσωτερική επιφάνεια του καλύμματος τρυβλίων Petri διαμέτρου 90mm x 20mm προστίθενται διάφορες συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων πάνω σε αποστειρωμένους δίσκους διηθητικού χαρτιού διαμέτρου 10mm. Τέλος το τρυβλίο σφραγίζεται με parafilm ώστε να αποφευχθούν τυχόν απώλειες και επωάζεται στους 20°C (Soylu et al. 2006).

Ένας ακόμα τρόπος είναι η μέθοδος της διάχυσης σε πηγαδάκια μέσα σε άγαρ Mueller Hinton. Αρχικά προσδιορίζονται οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις των αιθέριων ελαίων με εμβολιασμό από παθογόνο ποσότητας περίπου 10⁵ cfu/τριβλίο. Στην συνέχεια δημιουργούνται τα πηγαδάκια διαμέτρου 6,2mm με αποστειρωμένο φελλοτρυπητήρα και προστίθενται 20 μL των αιθέριων ελαίων που είναι αραιωμένα με αιθανόλη σε διάφορες συγκεντρώσεις. Ως μάρτυρας χρησιμοποιούνται 20μL αιθανόλης. Τα τρυβλία επωάζονται για 24 ώρες και έπειτα γίνεται μέτρηση της ακτίνας της ζώνης αναστολής της ανάπτυξης γύρω από τα πηγαδάκια με ειδικό παχύμετρο (Bagamboula et al. 2004).

Σχετικά με την μέθοδο της μικροτιτλοδότησης χρησιμοποιούνται ειδικές πλάκες μικροτιτλοδότησης με 96 πηγαδάκια. Αρχικά στην πρώτη σειρά της πλάκας προστίθεται 200μL αιθέριου ελαίου σε ανάμιξη με απεσταγμένο νερό με την χρήση μιας πολυκάναλης

πιπέτας. Στην συνέχεια παρασκευάζεται μικροβιακό εναιώρημα σε πρότυπο αλατούχο διάλυμα 0,5McFarland στο οποίο η συγκέντρωση των κυττάρων είναι $1,5 \times 10^8$ CFU/mL. Από το μικροβιακό αυτό διάλυμα μεταφέρονται 10μL σε 9990μL δύο φορές συμπυκνωμένο θρεπτικό μέσο. Έπειτα 100μL από το παραπάνω εναιώρημα μεταφέρονται στα πηγαδάκια της πλάκας μικροτιτλοδότησης με την χρήση πολυκάναλης πιπέτας και η τελική συγκέντρωση κυττάρων θα πρέπει να είναι $1,5 \times 10^3$ CFU/mL. Τέλος όλες οι πλάκες επωάζονται στους 37°C για 24 ώρες και έπειτα γίνεται μέτρηση της απορρόφησης σε κάθε πηγαδάκι σε σχέση με τους μάρτυρες με την χρήση φασματοφωτόμετρου (Man et al. 2017, Man et al. 2019).

Η πορεία μιας μελέτης μπορεί να εξαρτηθεί από πολλούς παράγοντες, όπως το η φύση του υποστρώματος, το εναιώρημα που χρησιμοποιήθηκε, οι συνθήκες επώασης, τον μικροοργανισμό που ελέγχθηκε αλλά και το αιθέριο έλαιο. Όσον αφορά το αιθέριο έλαιο, πριν χρησιμοποιηθεί σε ένα συγκεκριμένο παθογόνο θα πρέπει να έχει ελεγχθεί η χημική του σύσταση διότι επηρεάζει την αντιμικροβιακή του δράση. Επιπλέον, μία συγκεκριμένη σύσταση ενός αιθέριου ελαίου έχει διαφορετικά αποτελέσματα σε κάθε μικροοργανισμό ακόμα και σε διαφορετικά στελέχη του ίδιου μικροοργανισμού. Όμως την σύσταση ενός ελαίου την επηρεάζουν διάφοροι παράγοντες. Επομένως, για την επιλογή και την χρήση ενός συγκεκριμένου αιθέριου ελαίου θα πρέπει να ληφθούν υπόψη όλα τα παραπάνω (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019).

1.4. Αιθέριο έλαιο Κέδρου

Ο κέδρος (*Cedrus atlantica*) είναι ένα αειθαλές κωνοφόρο δέντρο το οποίο ανήκει στην οικογένεια *Cupressaceae* της ομάδας των γυμνοσπέρμων (Fidah et al. 2016, Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019). Πιο συγκεκριμένα το είδος *Cedrus atlantica* προέρχεται από περιοχές της Βόρειας Αφρικής, την Αλγερία και το Μαρόκο (Cheddadi et al. 2009, Linares et al. 2011). Από τα διάφορα μέρη του δέντρου αυτού (ξύλο, βελόνες κτλ) εξάγεται αιθέριο έλαιο το οποίο παρουσιάζει πολλές σημαντικές ιδιότητες (Fidah et al. 2016).

Το έλαιο που εξάγεται από το συγκεκριμένο είδος έχει συστατικά τα οποία έχουν αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, αναλγητικές, εντομοαπωθητικές και άλλες πολλές ιδιότητες (Lamiri et al. 2001, Alves et al. 2018, Dakir et al. 2005, Martins et al. 2015, Shin 2003). Σύμφωνα με αναλύσεις του ελαίου που πραγματοποιήθηκε σε προηγούμενη έρευνα, η χημική

του σύστασης του βρέθηκε ότι αποτελείται από 21 ενώσεις (90,2%) συμπεριλαμβανομένων 12 σεσκιτερπενίων υδρογονανθράκων (83,6%) και 9 οξυγονωμένων σεσκιτερπινίων (6,6%). Συγκριτικά από τα αποτελέσματα των αναλύσεων έγινε γνωστό ότι οι σεσκιτερπένιοι υδρογονάνθρακες **α -himachalene** (16.6%), **γ -himachalene** (10.4%) και **β -himachalene** (46.4%) ήταν σε μεγαλύτερη ποσότητα από ότι τα οξυγονωμένα σεσκιτερπένια με το **β -himachalene** να καλύπτει σχεδόν την μισή ποσότητα των ενώσεων του ελαίου (Martins et al. 2015). Μία σειρά ερευνών έδειξε ότι η σύσταση του αιθέριου ελαίου του Κέδρου εξαρτάται από το φυτικό μέρος που χρησιμοποιείται αλλά και την μέθοδο εξαγωγής του ελαίου. Πιο συγκεκριμένα η εξαγωγή ελαίου από το ξύλο του δέντρου με την μέθοδο της υδροαπόσταξης έπειτα από ανάλυση έδειξε ότι περιέχει **E- γ -atlantone** (19,73%), **E- α -atlantone** (16,86%), **5-isocedranol** (11,68%), **9-iso-thujopsanone** (4,45%), **cedranone** (4,13%), **Z- α -atlantone** (4,02%), **cedroxyde** (2,38%) και **14-hydroxy- δ -cadinene** (1,94%). Εδώ είναι σημαντικό να τονισθεί ότι το ίδιο υλικό έπειτα από χρήση της μεθόδου απόσταξη με ατμό έδειξε ότι τα κύρια συστατικά ήταν **himachalenes** (53%) και όχι **α -atlantones** (14%) (Fidah et al. 2016). Σε ένα ακόμα πείραμα έπειτα από ανάλυση αιθέριου ελαίου από βελόνες βρέθηκε ότι τα κύρια συστατικά του ήταν **α -pinene** (14,85%), **γ -himachalene** (10,14%) και **β -himachalene** (9,89%) (Derwich et al. 2010). Τα κύρια συστατικά ελαίου που προέρχεται από μη φτερωτούς σπόρους και ελέγχθηκαν από μία ομάδα επιστημόνων ήταν **α -pinene** (46,16%), **manool** (25,47%), **bornyl acetate** (10,18%), **β -pinene** (5,95%) και **α -terpinene** (2,71%). Ενώ σε φτερωτούς σπόρους η ανάλυση έδειξε ότι ήταν **manool** (49.02%), **α -pinene** (40.82%), **6-comphenol** (2.52%), και **β -pinene** (2.13%) (Rhafouri et al. 2014).

1.5. Αιθέριο έλαιο Ευκαλύπτου

Το γένος *Eucalyptus* (οικογένεια Myrtaceae) περιλαμβάνει περισσότερα από 700 είδη φυτών (δένδρα και θάμνοι) ιθαγενή της Αυστραλίας, Τασμανίας και των γύρω νησιών (Goldbeck et al. 2014, Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019). Το είδος *E. globulus* ανήκει στα δικοτυλήδονα, φθάνει ύψος τα 60m και έχει φύλλα ωσειδή-λογχοειδή και άνθη μεγάλα τα οποία είναι είτε μονήρη είτε 2 έως 3 μαζί (Ishnava et al. 2013). Από το δέντρο αυτό εξάγεται αιθέριο έλαιο το οποίο ανήκει στα 18 με την μεγαλύτερη ζήτηση στην αγορά παγκοσμίως (Goldbeck et al. 2014).

Το αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου εξάγεται από τα φύλλα του δέντρου και έχει πολλές ιδιότητες. Μεταξύ των ιδιοτήτων του αιθέριου ελαίου συμπεριλαμβάνονται η αντιμικροβιακή,

ακαρεοκτόνος και αντιφλεγμονώδης δράση του (Darshan S. and Doreswamy R. 2004., de Siqueira Mota et al. 2015, Atmani-Merabet et al. 2018). Τα κύρια συστατικά που ανιχνεύονται στο αιθέριο έλαιο το οποίο εξάγεται από τα φύλλα του ευκαλύπτου είναι **1,8-cineole** (79,85%), **limonene** (6,72%), **p-cymene** (5,14%), **γ-terpinene** (3,93%) (Ait-Ouazzou et al. 2010). Σημαντικό θα ήταν να αναφερθεί ότι και σε άλλες έρευνες που έχει αναλυθεί το αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου από διαφορετικές περιοχές είχαν μικρές διαφορές στην χημική σύσταση, όμως η ουσία που κυριαρχούσε σε όλες τις περιπτώσεις ήταν η **1,8-Cineole** (Silvestre and Cavaleiro 1994, Damjanović-Vratnica et al. 2011, Goldbeck et al. 2014).

1.6. Αιθέριο έλαιο Αρκεύθου

Η άρκευθος (*Juniperus communis*) είναι ένας θάμνος της οικογένειας *Cupressaceae* και συναντάται σε όλη την Αρκτική και στην εύκρατη ζώνη του βόρειου ημισφαιρίου (Allen and Hatfield, 2004). Η άρκευθος μπορεί να φτάσει σε ύψος έως και 4m έχει πράσινα φύλλα και φέρει σπόρους σε μορφή κώνου οι οποίοι έχουν μαύρο-μπλε χρώμα (Al-Snafi 2018). Το αιθέριο έλαιο που εξάγεται από το φυτό της αρκεύθου σύμφωνα με έρευνες έχει σημαντικές ιδιότητες και για αυτόν τον λόγο χρησιμοποιείται σε πολλούς τομείς. Μερικές από τις ιδιότητες του είναι η αντιβακτηριακή, αντιπαρασιτική, αντιφλεγμονώδες και αντιοξειδωτική δράση (Al-Snafi 2018).

Το αιθέριο έλαιο του θάμνου αυτού έχει πολλές οργανικές ενώσεις οι οποίες είναι χρήσιμες στην βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών αλλά και στην φαρμακευτική (Raina et al. 2019). Σύμφωνα με τον Al-Snafi (2018) στο έλαιο έχουν ανιχνευθεί μονοτερπένια, σεσκιτεϊρπένια, φαινολικές ενώσεις και πολλά άλλα χημικά συστατικά. Με βάση μία έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ινδία σε τρεις διαφορετικές εποχές ενός χρόνου το αιθέριο έλαιο από τα φύλλα της αρκεύθου έπειτα από ανάλυση είχε ως κύρια συστατικά και στις τρεις εποχές τα εξής: **Sabinene** (30.1–37.1%), **limonene** (11.3–15.7%), **4-terpineol** (9.1–10.5%), **α-pinene** (3.6–7.9%), **δ-cadinene** (3.7–4.6%), **cis-sabinene hydrate** (3.6–4.2%), **myrcene** (2.5–3.1%), **α-terpinene** (2.3–2.8%) και **manool** (1.3–2.2%) (Koundal et al. 2015). Μία ακόμη έρευνα η οποία πραγματοποιήθηκε στο Ιράν σύγκρινε την χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων των φύλλων αλλά και των σπόρων (κώνοι) τα οποία συγκομίστηκαν την ίδια εποχή (Νοέμβριο). Τα αποτελέσματα της ανάλυσης έδειξαν ότι στο αιθέριο έλαιο των φύλλων τα κύρια συστατικά ήταν **sabinene** (40.7%), **α-pinene** (12.5%), **terpinene-4-ol** (12.3%), **myrcene** (3,7%) και **α-thujene** (3,1%). Ενώ, στο έλαιο των σπόρων τα κύρια συστατικά ήταν **sabinene** (36.8%), **α-**

pinene (20%), **limonene** (10.6%), **germacrene D** (8.1%), **myrcene** (4.8%) και **terpinen-4-ol** (3.4%). Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρείται ότι υπάρχουν διαφορές στην χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων των φύλλων και των σπόρων, όμως οι ουσίες που κυριαρχούν και στις δυο περιπτώσεις είναι οι **sabinene** και **α -pinene** σε παρόμοιες αναλογίες (Shahmir et al. 2003).

1.7. Αιθέριο έλαιο Κυπαρισσιού

Το κυπαρίσσι (*Cypressus sempervirens*) είναι ένα κωνοφόρο δέντρο της οικογένειας *Cypressaceae* με καταγωγή από την Μεσόγειο. Μπορεί να φτάσει ύψος 35m και το φύλλωμά του έχει σκούρο πράσινο χρώμα. Οι σπόροι του κυπαρισσιού έχουν μορφή σφαιρικού κώνου και όταν ωριμάζουν αποκτούν καφέ χρώμα (Alkurdi and Supuka 2015, Fayed 2015). Επιπλέον, από διάφορα φυτικά μέρη του δέντρου αυτού όπως ο κορμός, τα φύλλα και οι κώνοι εξάγεται αιθέριο έλαιο το οποίο έχει πολλές χρήσιμες ιδιότητες (El Hamrouni-Aschi et al. 2013).

Το αιθέριο έλαιο που παράγεται από τα φυτικά μέρη του κυπαρισσιού όπως προαναφέρθηκε έχει βρεθεί ότι έχει πολλές ιδιότητες μεταξύ των οποίων αντιμικροβιακή, αντιπαρασιτική, αντιοξειδωτική και αντιφλεγμονώδης δράση (Mascolo et al. 1987, Mazari et al.2010, Zhang et al. 2012, Rguez et al.2019). Τις ιδιότητες αυτές τις προσδίδουν στο αιθέριο έλαιο οι χημικές ενώσεις από τις οποίες απαρτίζεται. Με βάση μία έρευνα στην οποία πραγματοποιήθηκε η ανάλυση αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού σε τρία στάδια ανάπτυξης του φυτού αυτά του βλαστικού σταδίου, της ανθοφορίας και της καρποφορίας παρατηρήθηκε ότι παρόλο που υπήρχαν κάποιες διαφορές ως προς την σύσταση οι κύριες ουσίες και στα τρία στάδια ήταν οι ίδιες. Τα κύρια συστατικά στο βλαστικό στάδιο και στα στάδια της ανθοφορίας και της καρποφορίας αντίστοιχα ήταν **germacrene D** (18,38%, 20,66%, 24,82%) και **α -Pinene** (14,75%, 22,92%, 16,19%) (Rguez et al.2018). Σε μία άλλη έρευνα έγινε ανάλυση των αιθέριων ελαίων από τρία μέρη του φυτού (ξύλο, φύλλα, κώνοι) από τρεις διαφορετικές περιοχές. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης έδειξαν ότι τα κύρια συστατικά των φύλλων ήταν τα εξής: **α -pinene** (52,3-65,4%), **d-car-3-ene** (8-19%), **a-humulene** (2,4-4,7%). Ταυτόχρονα, τα κύρια συστατικά από το έλαιο του ξύλου ήταν: **α -pinene** (54,3-69,9%), **d-car-3-ene** (2,8-11,8%), **cedrol** (2,3-3,7%). Ενώ τα κύρια συστατικά από το αιθέριο έλαιο των κώνων ήταν: **α -pinene** (65,8-73,3%), **d-car-3-ene** (8,6-14,2%), **sabinene** (1,4-4,3%). Παρατηρείται ότι υπήρξαν διαφορές στην χημική σύσταση του ελαίου ανάλογα με το φυτικό μέρος από το οποίο εξάγεται αλλά και στην απόδοση των χημικών συστατικών αυτών ανάλογα την περιοχή.

Παρόλα αυτά σε όλες τις περιπτώσεις οι κύριες ουσίες ήταν ίδιες, η **a-pinene** και η **d-car-3-ene** (El Hamrouni-Aschi et al. 2013).

1.8. Αιθέριο έλαιο Δάφνης

Η δάφνη (*Laurus nobilis*) είναι ένα αειθαλές δέντρο της οικογένειας *Lauraceae* και εντοπίζεται στις θερμές περιοχές της μεσογείου (Kilic and Altuntas 2006, Caputo et al. 2017). Το ύψος του δέντρου μπορεί να φτάσει έως και 10m και τα φύλλα του είναι μεγάλα με σκούρο πράσινο χρώμα. Επιπλέον τα λουλούδια του δέντρου τα οποία ανθίζουν Απρίλιο με Μάιο έχουν χρώμα λευκό-κίτρινο και οι καρποί του είναι έχουν σχήμα οβάλ με σκούρο χρώμα. Τα φύλλα και το αιθέριο έλαιο που εξάγεται από αυτά έχουν έντονο άρωμα και χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία τροφίμων, καλλυντικών αλλά και στην φαρμακοβιομηχανία. Σε διάφορες χώρες στην παραδοσιακή ιατρική τα φύλλα της δάφνης χρησιμοποιούνται στην θεραπεία του διαβήτη αλλά και σε μολύνσεις από διάφορα βακτήρια και μύκητες (Kilic and Altuntas 2006, Caputo et al. 2017, Nasukhova et al. 2017, Petkova et al. 2019).

Μερικές από τις ιδιότητες που έχει το αιθέριο έλαιο της δάφνης είναι οι εξής: αντιμικροβιακές, αντισηπτικές, αντιοξειδωτικές, αντιφλεγμονώδεις και εντομοκτόνες (Özcan et al. 2010, Fukuyama et al. 2011, Ben Jemâa et al. 2012, Ramos et al. 2012, Rizwana et al. 2019). Σύμφωνα με μία έρευνα στην οποία αναλύθηκαν τα αιθέρια έλαια φυτών δάφνης από τρεις περιοχές, αυτές τις Αλγερίας, Μαρόκο και Τυνησίας αποδείχθηκε ότι η χημική σύσταση των ελαίων διέφερε αρκετά διότι υπήρχαν ενώσεις που δεν εμφανίστηκαν και στα τρία έλαια. Τα κύρια συστατικά του ελαίου με προέλευση την Τυνησία ήταν **1,8-cineole** (24,55%), **linalool** (17,67%), **eugenylmethylether** (12,40%), **isovaleraldehyde** (9,65%), **camphene** (7,21%), ενώ του ελαίου από την Αλγερία είχε ως κύρια συστατικά **1,8-cineole** (34,62%), **linalool** (12,57%), **camphene** (8,91%), **isovaleraldehyde** (8,82%), **b-phellandrene** (5,71%). Ταυτόχρονα, τα συστατικά που εντοπίστηκαν σε μεγαλύτερη ποσότητα στο αιθέριο έλαιο που εξήχθη από δέντρα της περιοχής του Μαρόκο ήταν **1,8-cineole** (38,86%), **isovaleraldehyde** (10,47%), **linalool** (9,45%), **a-terpineol** (5,83%), **2-carene** (5,62%). Στην παραπάνω έρευνα παρατηρήθηκε ότι ενώσεις όπως **camphene** και **b-phellandrene** που ήταν από τα κύρια συστατικά στα αιθέρια έλαια από φυτά της Τυνησίας και της Αλγερίας δεν εντοπίστηκαν στο έλαιο από φυτά του Μαρόκο. Αντίστοιχα, η χημική ένωση **2-carene** η οποία ήταν μία από τις κύριες ενώσεις στο αιθέριο έλαιο φυτών του Μαρόκο δεν ανιχνεύθηκε στο αιθέριο έλαιο από φυτά των άλλων δύο περιοχών (Ben Jemâa et al. 2012). Σε ένα άλλο πείραμα

πραγματοποιήθηκε ανάλυση αιθέριων ελαίων από διάφορα φυτικά όργανα δάφνης διάφορων περιοχών. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια περιείχαν **1,8-cineole** (βλαστοί: 13.5–24.4%, φύλλα: 37.3–27.9%, οφθαλμοί: 7.4–19.5%, άνθη: 11.2–26.3%), **methyl eugenol** (βλαστοί: 13.1–33.6%, φύλλα: 6.6–17.8%, οφθαλμοί: 1.0–16.8%, άνθη: 3.9–14.3%), **α -terpinyl acetate** (βλαστοί: 4.0–19.1%, φύλλα: 12.2–15.3%, οφθαλμοί: 4.9–17.0%, άνθη: 6.4–18.1%), **eugenol** (βλαστοί: ίχνη–6.9%, φύλλα: 0.6–4.1%, οφθαλμοί: ίχνη–2.1%, άνθη: ίχνη–2.1%) και **linalool** (βλαστοί: 1.6–7.6%, φύλλα: 0.8–6.2%, οφθαλμοί: ίχνη–2.5%, άνθη: ίχνη–3.5%) (Marzouki et al. 2009).

1.9. Αιθέριο έλαιο Γαρύφαλλου

Το γαρύφαλλο (*Eugenia caryophyllus*) είναι ένα πολυετές τροπικό φυτό το οποίο ανήκει στην οικογένεια *Myrtaceae*, αναπτύσσεται σε θερμές περιοχές και το ύψος του μπορεί να φτάσει τα 15m. Η εποχή ανθοφορίας είναι από τον Σεπτέμβριο έως τον Οκτώβριο και οι σπόροι που εμφανίζονται σε αυτό το διάστημα θα πρέπει να φυτευτούν μέσα σε μία εβδομάδα από τη συγκομιδή τους διότι χάνουν την ικανότητα ριζοβολίας. Τα άωρα άνθη του φυτού (μπουμπούκια) έχουν μήκος 10-17mm και σκούρο καφέ έως μαύρο χρώμα (Jirovetz et al. 2006, Banarase and Kaur 2021). Εδώ και πολλά χρόνια χρησιμοποιούνται ευρέως στην βιομηχανία τροφίμων τόσο για το άρωμα που χαρίζει όσο και για την γεύση του. Επιπλέον χρησιμοποιείται στα φαγητά ως συντηρητικό διότι διαθέτει αντιμικροβιακούς παράγοντες. Η χρήση του επεκτείνεται και στην βιομηχανία φαρμάκων και καλλυντικών (Jirovetz et al. 2006, Hemalatha et al. 2016).

Το αιθέριο έλαιο του γαρύφαλλου χρησιμοποιείται στις βιομηχανίες τροφίμων, καλλυντικών και φαρμάκων χάρη στις ιδιότητες που κατέχει. Μεταξύ άλλων το αιθέριο έλαιο του γαρύφαλλου έχει και αντιμικροβιακή, αντική και αντιοξειδωτική δράση (Tragoorua and Jatisatienr 2007, Hemalatha et al. 2016). Έπειτα από ανάλυση του αιθέριου ελαίου των φύλλων του γαρύφαλλου παρατηρήθηκε ότι οι χημικές ενώσεις που ήταν σε μεγαλύτερη ποσότητα ήταν **eugenol** (76,8%) και **β -caryophyllene** (17,4%). Στην συνέχεια ανιχνεύτηκαν οι **α -humulene** (2,1%), **eugenol acetate** (1,2%) και εντοπίστηκαν άλλες 19 χημικές ενώσεις οι οποίες όμως ήταν σε ποσοστό κάτω από 0,5% (Jirovetz et al. 2006). Σε μία άλλη έρευνα πραγματοποιήθηκε ανάλυση αιθέριου ελαίου από τους οφθαλμούς του γαρύφαλλου και εντοπίστηκαν 7 χημικές ενώσεις, **eugenol** (74,31%), **eugenol acetate** (13,91%), **E-caryophyllene** (5,85%), **caryophyllene oxide** (1,77%), **α -humulene** (0,86%), **α -copaene**

(0,58%), **humulene epoxide II** (0,19%) (Matos et al. 2020). Παρατηρείται ότι η χημική ένωση eugenol και στις δύο περιπτώσεις βρίσκεται στη μεγαλύτερη συγκέντρωση αιθέριου ελαίου και πιθανόν είναι αυτή που προσδίδει την υψηλή αντιμικροβιακή ιδιότητα που έχει (Hemalatha et al. 2016).

1.10. Αιθέριο έλαιο Ρίγανης

Η ρίγανη (*Origanum vulgare*) είναι ένα αρωματικό και φαρμακευτικό φυτό της οικογένειας *Lamiaceae* το οποίο φύεται κυρίως στις Μεσογειακές περιοχές, στην Βόρεια Αφρική και στις εύκρατες περιοχές της Ασίας (Kokkini 1996, Lombrea et al. 2020, Arabaci et al. 2021). Είναι ένα πολυετές φυτό με ξυλώδεις κορμό και ποώδεις βλαστούς που φτάνει τα 20-80cm. Τα φύλλα του είναι μικρά σε σχήμα ωοειδές και τα άνθη του έχουν την μορφή ταξιανθίας (Lombrea et al. 2020). Η ρίγανη του είδους *Origanum vulgare* χωρίζεται σε πολλά υποείδη όπως: **α)** *O. vulgare* subsp. *vulgare* το οποίο συναντάται στις περιοχές της Ευρώπης, του Ιράν, της Ινδίας και της Κίνας, **β)** *O. vulgare* subsp. *glandulosum* που φύεται στις περιοχές της Τυνησίας και της Αλγερίας, **γ)** *O. vulgare* subsp. *gracile* στις περιοχές του Αφγανιστάν, του Ιράν, της Τουρκίας και της Βόρειας Ασίας, **δ)** *O. vulgare* subsp. *hirtum* στις περιοχές της Ελλάδας, της Αλβανίας, της Τουρκίας και της Κροατίας, **ε)** *O. vulgare* subsp. *viridulum* στις περιοχές του Αφγανιστάν, της Κίνας, της Ιταλίας, της Γαλλίας κ.α., **ζ)** *O. vulgare* subsp. *virens* που συναντάται στις περιοχές της Πορτογαλίας, του Μαρόκο, της Ισπανίας κ.α. Τα είδη ρίγανης που βρίσκονται στις βόρειες περιοχές βρέθηκε ότι έχουν μικρότερη απόδοση σε αιθέριο έλαιο από ότι τα είδη των νοτιότερων περιοχών (Kokkini 1996).

Τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου της ρίγανης είναι οι φαινολικές ουσίες **carvacrol** και **thymol**. Η σύσταση αυτών, επομένως και το πόσο ποιοτικό είναι το έλαιο μπορεί να διαφέρει αρκετά ανάλογα από το γεωγραφικό πλάτος που καλλιεργείται το φυτό, από γενετικούς παράγοντες, καλλιεργητικές τεχνικές κ.α. Τα φυτά τα οποία έχουν αιθέριο έλαιο με χαμηλή περιεκτικότητα σε **carvacrol** και **thymol** θεωρούνται ακατάλληλα για απόσταξη λόγω της χαμηλής ποιότητας ελαίου (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019). Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης χρησιμοποιείται εδώ και πολλά χρόνια στην βιομηχανία τροφίμων και ποτών ως καρύκευμα, όμως έχει και άλλες ιδιότητες όπως αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, εντομοκτόνες, αντισηπτικές, αντιφλεγμονώδεις και αντιοξειδωτικές δράσεις που επεκτείνουν την χρήση του στην θεραπεία διάφορων παθήσεων αλλά και στην αντιμετώπιση παθογόνων (Paster et al. 1990, Pezzani et al. 2017, Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019, Skoufogianni et al. 2019, Kosakowska

et al. 2021). Έπειτα από αναλύσεις που πραγματοποιήθηκαν στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* από διάφορες περιοχές της Ελλάδας τα κύρια συστατικά ήταν η **carvacrol** με ποσοστό 79,45-92,90% και έπειτα ακολουθούσε η χημική ένωση **p-cymene** με ποσοστό 0,74-8,10% (Goliaris et al. 2002). Σε μία άλλη σχετική έρευνα η οποία σύγκρινε τις αναλύσεις αιθέριων ελαίων των δύο υποειδών ρίγανης *O. vulgare* subsp. *hirtum* και *O. vulgare* subsp. *vulgare* παρατηρήθηκε ότι τα κύρια συστατικά της ελληνικής ρίγανη ήταν **carvacrol** (37,21%), **γ-terpinene** (17,21%) και **p-cymene** (11,13%). Ενώ στην κοινή ρίγανη οι χημικές ενώσεις που κυριαρχούσαν ήταν **sabinene** (16,41%), **terpinen-4-ol** (13,81%), **p-cymene** (10,45%) και **β-caryophyllene** (6,87%) (Kosakowska et al. 2021). Σημαντικό είναι να αναφερθεί ότι οι ενώσεις **p-cymene** και **γ-terpinene** θεωρούνται οι πρόδρομες ενώσεις της **carvacrol** και της **thymol** αντίστοιχα (Κατσιώτης και Χατζοπούλου 2019).

1.11. Σκοπός της Πτυχιακής

Σκοπός της πτυχιακής εργασίας είναι η αξιολόγηση επτά αιθέριων ελαίων έναντι των δύο φυτοπαθογόνων βακτηρίων *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και *Erwinia amylovora*. Τα αιθέρια έλαια στα οποία έγινε έλεγχος της δράσης τους έναντι των παραπάνω βακτηρίων είναι ο κέδρος, ο ευκάλυπτος, ο άρκευθος, το κυπαρίσσι, η δάφνη, το γαρύφαλλο και η ρίγανη. Επιπλέον πραγματοποιήθηκε σύγκριση δύο μεθόδων διάχυσης των ελαίων στο άγαρ σε κάποια από τα παραπάνω έλαια.

2. Υλικά και Μέθοδοι

Τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν στην συγκεκριμένη μελέτη ήταν συνολικά επτά: **1)** Αιθέριο έλαιο Κέδρου (*Cedrus atlantica*) από την εταιρεία Arivita, **2)** Αιθέριο έλαιο Ευκαλύπτου (*Eucalyptus globulus*) από την εταιρεία Arivita, **3)** Αιθέριο έλαιο Αρκεύθου (*Juniperus communis*) από την εταιρεία Gaia products, **4)** Αιθέριο έλαιο Κυπαρισσιού (*Cupressus sempervirens*) από την εταιρεία Gaia products, **5)** Αιθέριο έλαιο Δάφνης (*Laurus nobilis*) από την εταιρεία Gaia products, **6)** Αιθέριο έλαιο Γαρύφαλλου (*Eugenia caryophyllus*) από την εταιρεία Gaia products, **7)** Αιθέριο έλαιο Ρίγανης (*Origanum* sp.) το οποίο ήταν ευγενή προσφορά του καθηγητή Αθανάσιου Σφουγγάρη Διευθυντή του εργαστηρίου Διαχείρισης Οικοσυστημάτων και Βιοποικιλότητας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

2.1. Μικροοργανισμοί

Χρησιμοποιήθηκαν απομονώσεις των φυτοπαθογόνων βακτηρίων *Erwinia amylovora* και *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* οι οποίες προέρχονταν από την Συλλογή του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 3 απομονώσεις από κάθε βακτήριο (Κωδικοί Απομονώσεων *Erwinia amylovora*: E3, E16, E10) (Κωδικοί Απομονώσεων *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: Pss1, Pss3, Pss10). Οι παραπάνω απομονώσεις διατηρούνταν σε θερμοκρασία -80°C.

2.2. Θρεπτικά Υλικά

Για την ανάπτυξη του βακτηρίου *Erwinia amylovora* παρασκευάστηκε στερεό θρεπτικό υλικό NSA (Nutrient Sucrose Agar) και υγρό NS broth για την δημιουργία μολύσματος. Αντίθετα, για το βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* παρασκευάστηκε στερεό θρεπτικό υλικό King's Medium B και King's B broth για το μόλυσμα του βακτηρίου.

2.2.1. Παρασκευή θρεπτικού υλικού NSA και NS broth

Για την παρασκευή στερεού θρεπτικού υλικού NSA σε 1000mL απιονισμένου νερού προστίθενται 28g Nutrient agar (Ambersham) το οποίο περιέχει 5g peptone, 3g beef extract, 8g sodium chloride, 12g agar No2 και 50g sucrose. Επιπλέον προστίθενται ακόμη 3g agar ώστε

η τελική συγκέντρωση να είναι 1,5%. Το διάλυμα αφήνεται σε ηρεμία για 10 λεπτά και στην συνέχεια πραγματοποιείται ανάδευση για 5 λεπτά. Έπειτα το υλικό αποστειρώνεται σε αυτόκαυστο (121 °C, 1,2atm πίεση, 15min) και μεταφέρεται σε τρυβλία petri διαμέτρου 90 mm (15 mL/τρυβλίο).

Για την παρασκευή όμως NS broth σε 900mL απιονισμένου νερού προστίθενται 5g peptone και 3g beef extract και θερμαίνονται μέχρι να έρθουν σε βρασμό. Στο σημείο αυτό τοποθετούνται στο διάλυμα 50g sucrose. Στην συνέχεια πραγματοποιείται ογκομέτρηση όπου συμπληρώνεται με απιονισμένο νερό μέχρι τα 1000mL. Το θρεπτικό υλικό χωρίζεται σε φιαλίδια τύπου McCartney συνολικού όγκου 20mL (10mL/φιαλίδιο) και κατόπιν ακολουθεί αποστείρωση (121 °C, 1,2atm πίεση, 15min).

2.2.2. Παρασκευή θρεπτικού υλικού King's Medium B και King's B broth

Για την παρασκευή στερεού θρεπτικού υλικού King's Medium B σε 1000mL απιονισμένο νερό προστίθενται 15g agar, 20g peptone, 1,96g K₂HPO₄·3H₂O, 1,5g MgSO₄·7H₂O και απιονισμένο νερό. Το υλικό αποστειρώνεται στους 121 °C με 1,2atm για 15 min σε αυτόκαυστο και μεταφέρεται σε τρυβλία petri διαμέτρου 90 mm (15 mL/τρυβλίο).

Για την παρασκευή υγρού θρεπτικού υλικού King's B broth χρησιμοποιούνται τα ίδια υλικά εκτός από agar. Σε 900mL απιονισμένο νερό προστίθεται 20g peptone τα οποία θερμαίνονται χωρίς να επέλθει βρασμός και στην συνέχεια στο διάλυμα τοποθετούνται τα υπόλοιπα υλικά (1,96g K₂HPO₄·3H₂O, 1,5g MgSO₄·7H₂O, 30mL glycerol 50%). Πραγματοποιείται ογκομέτρηση με την προσθήκη απιονισμένου νερού έως την συμπλήρωση των 1000mL. Το υλικό μεταφέρεται σε φιαλίδια (10 mL/φιαλίδιο) και αποστειρώνεται σε αυτόκαυστο (121 °C, 1,2atm πίεση, 15min).

2.3. Έλεγχος της αποτελεσματικότητας των αιθέριων ελαίων in vitro

Για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας των αιθέριων ελαίων χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές μέθοδοι διάχυσης στο άγαρ. Αρχικά χρησιμοποιήθηκε και για τα εφτά αιθέρια έλαια η μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με την χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού εμποτισμένων με τα αιθέρια έλαια. Στην συνέχεια επιλέχθηκαν δύο απομονώσεις, μία από κάθε βακτήριο (E16 και Pss3) και σύμφωνα με τα αποτελέσματα της προηγούμενης δοκιμής επιλέχθηκαν για

κάθε απομόνωση συγκεκριμένα αιθέρια έλαια ώστε να πραγματοποιηθεί η μέθοδος διάχυσης με την χρήση βοθρίων. Στην απομόνωση E16 δοκιμάστηκαν τα αιθέρια έλαια από κέδρο, ευκάλυπτο, άρκευθο και κυπαρίσσι. Ενώ στην απομόνωση Pss3 δοκιμάστηκαν τα αιθέρια έλαια από κέδρο, ευκάλυπτο, γαρύφαλλο και ρίγανη.

2.3.1. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού εμποτισμένων με αιθέρια έλαια

Στην μέθοδο διάχυσης των ελαίων στο άγαρ με την χρήση διηθητικού χαρτιού χρησιμοποιήθηκαν τα επτά αιθέρια έλαια έναντι τριών απομονώσεων από κάθε βακτήριο. Χρησιμοποιήθηκαν οι απομονώσεις με κωδικούς οι απομονώσεις E16, E3, E10 για το *E. amylovora* και Pss1, Pss3, Pss10 για το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Για τις απομονώσεις του βακτηρίου *E. amylovora* χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία τα οποία είχαν στερεό θρεπτικό υλικό NSA. Στα τρυβλία αυτά έγινε επίστρωση 200μL αιωρήματος βακτηριακών κυττάρων από υγρή καλλιέργεια NS broth αραιωμένη σε αναλογία 1:5. Η υγρή καλλιέργεια προήλθε από μεμονωμένη αποικία του βακτηρίου από την οποία λήφθηκε εμβόλιο με στελεό υπό ασηπτικές συνθήκες που προστέθηκε σε 10mL υγρού θρεπτικού υλικού NS broth. Οι καλλιέργειες τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους 25 °C ,με ταυτόχρονη ανάδευση 150 rpm, για 12 h στο σκότος. Στο κέντρο των τρυβλίων τοποθετήθηκε δίσκος από διηθητικό χαρτί διαμέτρου 6mm εμποτισμένος με 5μL αιθέριο έλαιο. Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους 25 °C για 24 h. Έπειτα από το πέρας των 24 ωρών μετρήθηκε με χάρακα η ζώνη αναστολής των βακτηρίων που προέκυψε, δηλαδή η διάμετρος του κύκλου που σχηματίστηκε γύρω από το διηθητικό χαρτί συμπεριλαμβανομένης της διαμέτρου του δίσκου από διηθητικό χαρτί. Αυτή η διαδικασία πραγματοποιήθηκε και στις τρεις απομονώσεις για τα επτά αιθέρια έλαια με τρεις επαναλήψεις. Ως μάρτυρας του πειράματος χρησιμοποιήθηκε διηθητικός δίσκος χωρίς την προσθήκη κάποιας ουσίας.

Για τις απομονώσεις του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* πραγματοποιήθηκε η ίδια διαδικασία με την διαφορά ότι χρησιμοποιήθηκε στερεό θρεπτικό υλικό King's Medium B και η υγρή καλλιέργεια του βακτηριακού μολύσματος ήταν σε θρεπτικό υλικό King's B broth χωρίς να έχει υποστεί κάποια αραιώση. Η υγρή καλλιέργεια King's B παρασκευάστηκε όπως και στην περίπτωση της υγρής καλλιέργειας του βακτηρίου *E. amylovora* όπως περιεγράφηκε παραπάνω. Τέλος τα τρυβλία σε αυτήν την περίπτωση επώαστηκαν για 48h στους 25 °C πριν την μέτρηση της ζώνης αναστολής των βακτηρίων.

2.3.2. Μέθοδος διάχυσης στο άγαρ με χρήση βοθρίων

Στην μέθοδο διάχυσης των αιθέριων ελαίων στο άγαρ με την χρήση βοθρίων επιλέχθηκαν 2 απομονώσεις η E16 για το βακτήριο *E. amylovora* και η Pss3 για το βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Στην απομόνωση E16 δοκιμάστηκαν τα αιθέρια έλαια του κέδρου, του ευκαλύπτου, της αρκεύθου και του κυπαρισσιού, ενώ στην απομόνωση Pss3 δοκιμάστηκαν του κέδρου, του ευκαλύπτου, του γαρυφάλλου και της ρίγανης. Όπως προαναφέρθηκε τα θρεπτικά υλικά για το βακτήριο *E. amylovora* ήταν NSA και υγρό NS broth για το βακτηριακό μόλυσμα. Αντίθετα για το βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* χρησιμοποιήθηκε στερεό θρεπτικό υλικό King's Medium B και King's B broth. Σε αυτή την μέθοδο έγινε διασπορά 200μL αιωρήματος βακτηριακών κυττάρων από την υγρή καλλιέργεια στα τρυβλία και αφού έγινε επίστρωση στο κέντρο του τριβλίου διανοίχτηκε βοθρίο 6mm με φελλοτρυπητήρα υπό ασηπτικές συνθήκες. Στην συνέχεια στο εσωτερικό του βοθρίου προστέθηκαν 50μL αιθέριου ελαίου και τα τρυβλία επώαστηκαν στους 25°C για 48h στην περίπτωση του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και 24h για το βακτήριο *E. amylovora*. Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία χωρίς προσθήκη κάποιας ουσίας στα κενά. Πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις για κάθε έλαιο. Τέλος, έπειτα από την επώαση των καλλιεργειών μετρήθηκε με χάρακα η ζώνη αναστολής των βακτηρίων γύρω από τα βοθρία όπως και στην περίπτωση της μεθόδου διάχυσης με την χρήση διηθητικών δίσκων.

2.4. Στατιστική Ανάλυση

Για την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων του πειράματος χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα Microsoft Office Excel 2016. Για να εντοπιστούν οι διαφορές μεταξύ των μέσων όρων των ζωνών αναστολής σε κάθε αιθέριο έλαιο των απομονώσεων πραγματοποιήθηκε Ανάλυση Διακύμανσης με ένα παράγοντα (One-way ANOVA). Στην συνέχεια για τον προσδιορισμό των στατιστικών διαφορών μεταξύ των μέσων όρων έγινε Tukey HSD test (Tukey's Honestly Significant Difference test) όπου συγκρίνεται το $q = \frac{\text{Διαφορά}}{\text{Τυπικό σφάλμα(SE)}}$ με το q_{critical} το οποίο προκύπτει από το Studentized Range q Table και με αυτόν τον τρόπο ομαδοποιήθηκαν τα αποτελέσματα των αιθέριων ελαίων σε κάθε απομόνωση. Το τυπικό σφάλμα υπολογίζεται από τον τύπο $SE = \sqrt{[0,5MSw(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j})]}$, όπου MSw σημαίνει Means square error και προκύπτει από τον πίνακα Anova One-way, ενώ οι τιμές n_i και n_j είναι ο αριθμός των τρυβλίων. Η Διαφορά είναι η απόλυτη τιμή της διαφοράς των μέσων όρων των ζωνών αναστολής κατά ομάδες. Όσες ομάδες έδωσαν $q > q_{\text{critical}}$ τότε αυτές διέφεραν

στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους. Το $q_{critical}$ δίνεται στην εικόνα 1. Το k είναι ο αριθμός των μεταχειρίσεων (αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε περίπτωση καθώς και ο μάρτυρας). Τέλος, το df είναι οι βαθμοί ελευθερίας όπως προκύπτουν από την ANOVA (εντός των ομάδων - within groups).

Πίνακας 1. Studentized Range q Table. Όπου k : ο αριθμός των μεταχειρίσεων και df : οι βαθμοί ελευθερίας εντός των ομάδων. (Πηγή: <https://www.real-statistics.com/statistics-tables/studentized-range-q-table/>)

df \ k -->	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	17.969	26.976	32.819	37.082	40.408	43.119	45.397	47.357	49.071	50.592	51.957	53.194	54.323	55.361	56.320	57.212	58.044	58.824	59.558
2	6.085	8.331	9.798	10.881	11.734	12.435	13.027	13.539	13.988	14.389	14.749	15.076	15.375	15.650	15.905	16.143	16.365	16.573	16.769
3	4.501	5.910	6.825	7.502	8.037	8.478	8.852	9.177	9.462	9.717	9.946	10.155	10.346	10.522	10.686	10.838	10.980	11.114	11.240
4	3.926	5.040	5.757	6.287	6.706	7.053	7.347	7.602	7.826	8.027	8.208	8.373	8.524	8.664	8.793	8.914	9.027	9.133	9.233
5	3.635	4.602	5.218	5.673	6.033	6.330	6.582	6.801	6.995	7.167	7.323	7.466	7.596	7.716	7.828	7.932	8.030	8.122	8.208
6	3.460	4.339	4.896	5.305	5.628	5.895	6.122	6.319	6.493	6.649	6.789	6.917	7.034	7.143	7.244	7.338	7.426	7.508	7.586
7	3.344	4.165	4.681	5.060	5.359	5.606	5.815	5.997	6.158	6.302	6.431	6.550	6.658	6.759	6.852	6.939	7.020	7.097	7.169
8	3.261	4.041	4.529	4.886	5.167	5.399	5.596	5.767	5.918	6.053	6.175	6.287	6.389	6.483	6.571	6.653	6.729	6.801	6.869
9	3.199	3.948	4.415	4.755	5.024	5.244	5.432	5.595	5.738	5.867	5.983	6.089	6.186	6.276	6.359	6.437	6.510	6.579	6.643
10	3.151	3.877	4.327	4.654	4.912	5.124	5.304	5.460	5.598	5.722	5.833	5.935	6.028	6.114	6.194	6.269	6.339	6.405	6.467
11	3.113	3.820	4.256	4.574	4.823	5.028	5.202	5.353	5.486	5.605	5.713	5.811	5.901	5.984	6.062	6.134	6.202	6.265	6.325
12	3.081	3.773	4.199	4.508	4.750	4.950	5.119	5.265	5.395	5.510	5.615	5.710	5.797	5.878	5.953	6.023	6.089	6.151	6.209
13	3.055	3.734	4.151	4.453	4.690	4.884	5.049	5.192	5.318	5.431	5.533	5.625	5.711	5.789	5.862	5.931	5.995	6.055	6.112
14	3.033	3.701	4.111	4.407	4.639	4.829	4.990	5.130	5.253	5.364	5.463	5.554	5.637	5.714	5.785	5.852	5.915	5.973	6.029
15	3.014	3.673	4.076	4.367	4.595	4.782	4.940	5.077	5.198	5.306	5.403	5.492	5.574	5.649	5.719	5.785	5.846	5.904	5.958
16	2.998	3.649	4.046	4.333	4.557	4.741	4.896	5.031	5.150	5.256	5.352	5.439	5.519	5.593	5.662	5.726	5.786	5.843	5.896
17	2.984	3.628	4.020	4.303	4.524	4.705	4.858	4.991	5.108	5.212	5.306	5.392	5.471	5.544	5.612	5.675	5.734	5.790	5.842
18	2.971	3.609	3.997	4.276	4.494	4.673	4.824	4.955	5.071	5.173	5.266	5.351	5.429	5.501	5.567	5.629	5.688	5.743	5.794
19	2.960	3.593	3.977	4.253	4.468	4.645	4.794	4.924	5.037	5.139	5.231	5.314	5.391	5.462	5.528	5.589	5.647	5.701	5.752
20	2.950	3.578	3.958	4.232	4.445	4.620	4.768	4.895	5.008	5.108	5.199	5.282	5.357	5.427	5.492	5.553	5.610	5.663	5.714
21	2.941	3.565	3.942	4.213	4.424	4.597	4.743	4.870	4.981	5.081	5.170	5.252	5.327	5.396	5.460	5.520	5.576	5.629	5.679
22	2.933	3.553	3.927	4.196	4.405	4.577	4.722	4.847	4.957	5.056	5.144	5.225	5.299	5.368	5.431	5.491	5.546	5.599	5.648
23	2.926	3.542	3.914	4.180	4.388	4.558	4.702	4.826	4.935	5.033	5.121	5.201	5.274	5.342	5.405	5.464	5.519	5.571	5.620
24	2.919	3.532	3.901	4.166	4.373	4.541	4.684	4.807	4.915	5.012	5.099	5.179	5.251	5.319	5.381	5.439	5.494	5.545	5.594
25	2.913	3.523	3.890	4.153	4.358	4.526	4.667	4.789	4.897	4.993	5.079	5.158	5.230	5.297	5.359	5.417	5.471	5.522	5.570

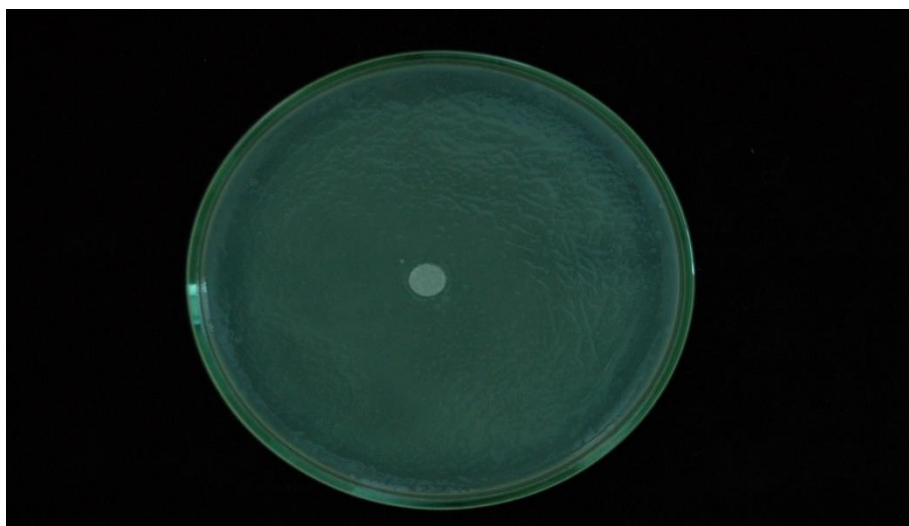
3. Αποτελέσματα

3.1. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του βακτηρίου *E. amylovora* με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού

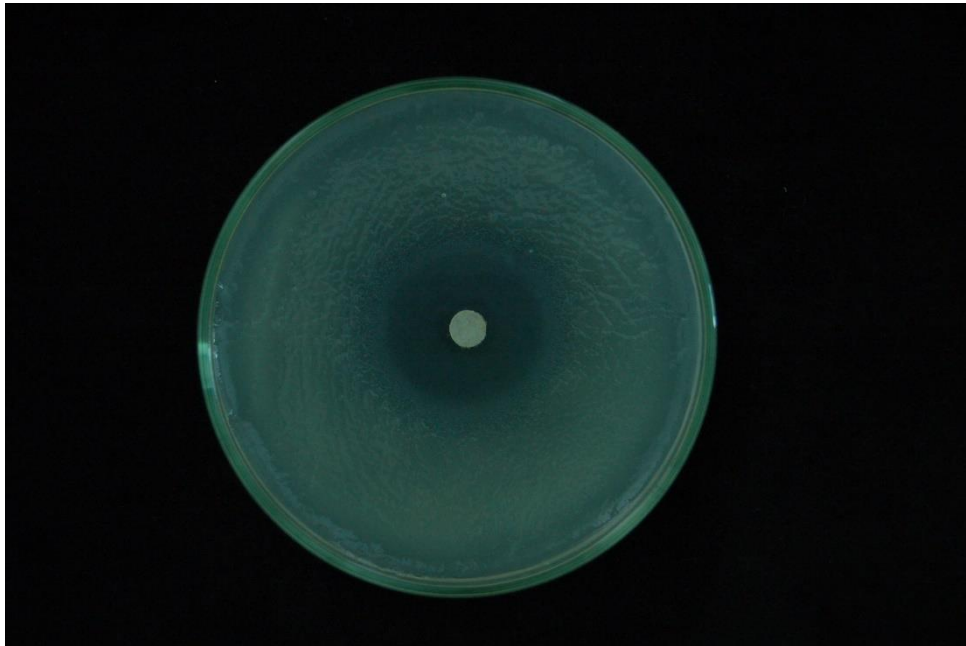
Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων στην μελέτη επίδρασης των αιθέριων ελαίων στο βακτήριο *E. amylovora* με την μέθοδο διάχυσης στο άγαρ με χρήση διηθητικών δισκίων, συγκρίνονται οι ζώνες αναστολής με την διάμετρο του διηθητικού δίσκου (6mm) που είναι ο μάρτυρας του πειράματος.

3.1.1. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση E16

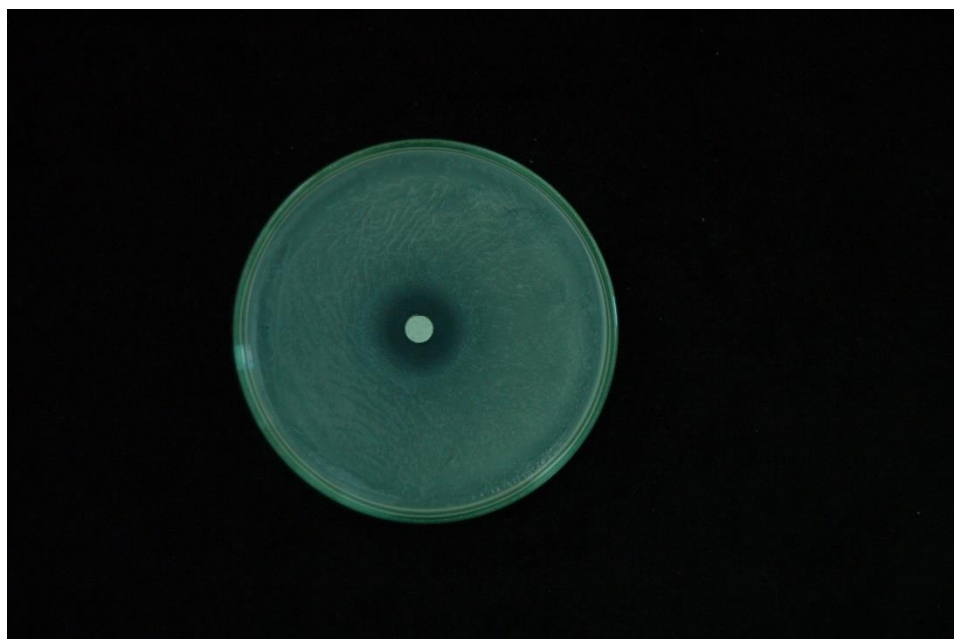
Στην απομόνωση E16 όπως φαίνεται και από το διάγραμμα 1 το αιθέριο έλαιο της ρίγανης (εικόνα 2) είχε την μεγαλύτερη αναστολή ανάπτυξης με μέσο όρο της ζώνης 30,3mm, και ακολουθεί το αιθέριο έλαιο του γαρυφάλλου (εικόνα 3) με μέσο όρο ζώνη αναστολής 20,3mm. Τα αιθέρια έλαια δάφνης (εικόνα 4) και ευκαλύπτου είχαν μέσο όρο ζώνης 18,7mm και 15,7mm αντίστοιχα.



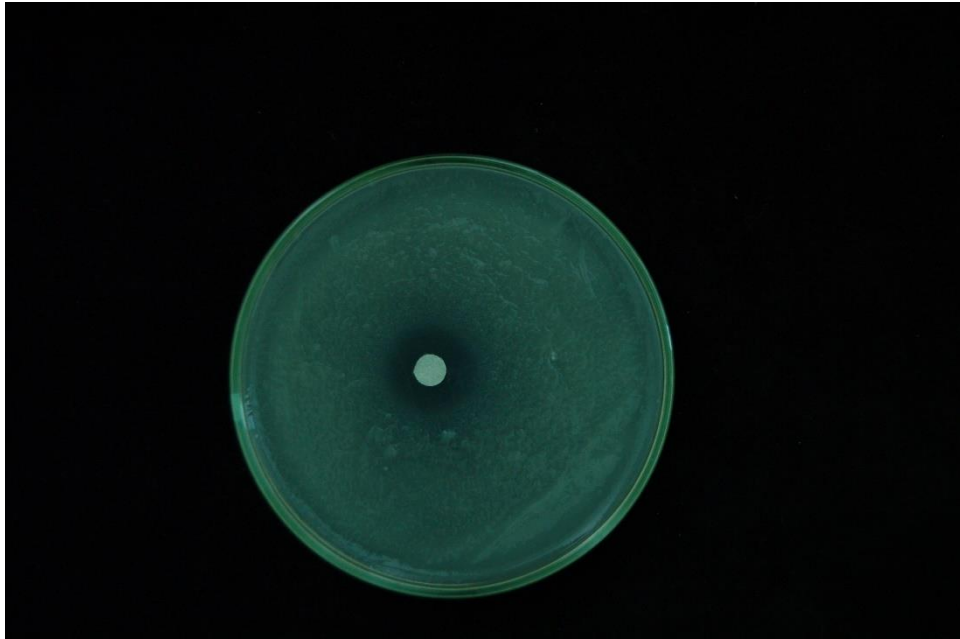
Εικόνα 1. Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



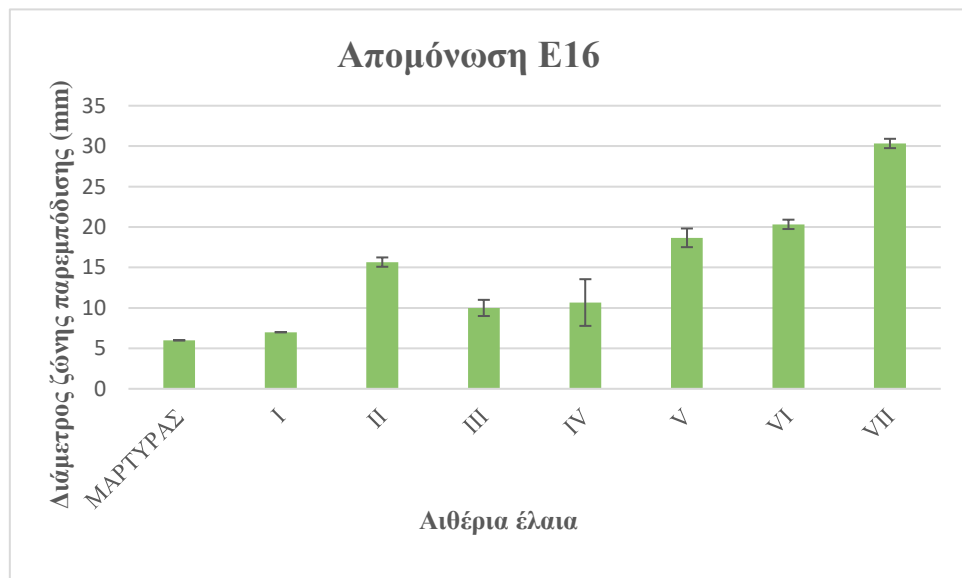
Εικόνα 2. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 3. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο του γαρυφάλλου. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 4. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της δάφνης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Διάγραμμα 1. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στην απομόνωση E16 των αιθέριων ελαίων I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

Από την ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα διαπιστώθηκε ότι οι μέσοι όροι των ζωνών αναστολής διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους, διότι $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$. (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης E16.

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	1398	7	199,714286	136,946939	4,51563E-13	2,6571966
Within Groups	23,3333333	16	1,45833333			
Total	1421,33333	23				

Από την πραγματοποίηση του Tukey HSD test ομαδοποιήθηκαν οι μέσοι όροι και προσδιορίστηκε ποιοι έχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους. Το $q_{critical}$ είναι 4,896 όπως προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=8$ (επτά αιθέρια έλαια και ο μάρτυρας) και το df (within groups) είναι 16. Όσες ομάδες δίνουν $q > q_{critical}$ διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους (Πίνακας 3 και 4).

Πίνακας 3. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης E16 και η διαφορά τους ανά δύο. Όπου control: μάρτυρας, I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

	Control	I	II	III	IV	V	VI	VII
Control	x							
I	1	x						
II	9,6666667	8,6666667	x					
III	4	3	5,6666667	x				
IV	4,6666667	3,6666667	5	0,6666667	x			
V	12,666667	11,666667	3	8,6666667	8	x		
VI	14,333333	13,333333	4,6666667	10,333333	9,6666667	1,6666667	x	
VII	24,333333	23,333333	14,666667	20,333333	19,666667	11,666667	10	x

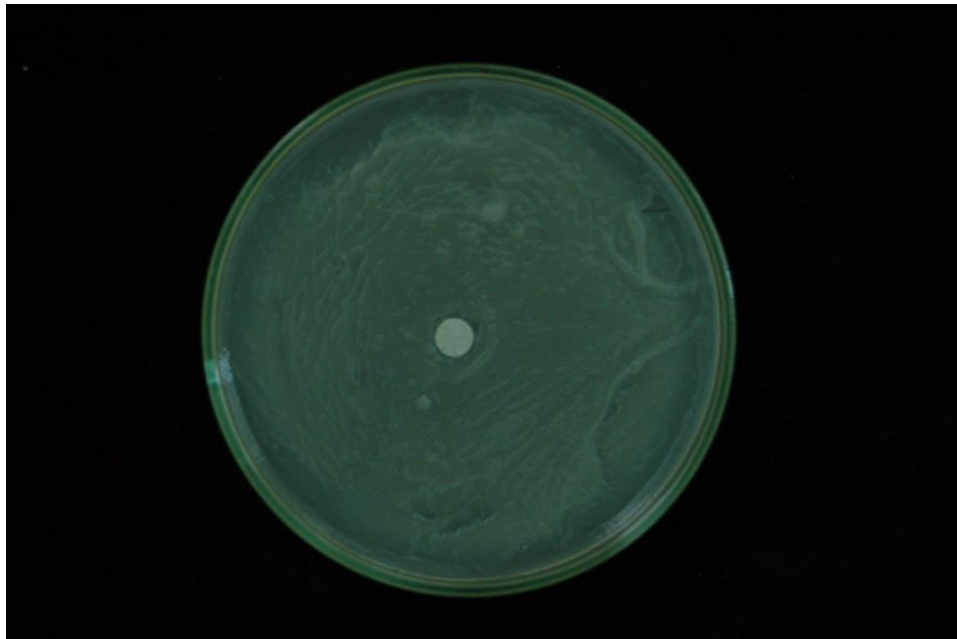
Πίνακας 4. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση E16.

Ομάδες	SE	q	Ομάδες	SE	q
C-I	0,69721669	1,4342743	III-IV	0,6972167	0,9561829
C-II	0,69721669	13,864652	III-V	0,6972167	12,430378
C-III	0,69721669	5,7370973	III-VI	0,6972167	14,820835
C-IV	0,69721669	6,6932802	III-VII	0,6972167	29,163578
C-V	0,69721669	18,167475			
C-VI	0,69721669	20,557932	IV-V	0,6972167	11,474195
C-VII	0,69721669	34,900675	IV-VI	0,6972167	13,864652
			IV-VII	0,6972167	28,207395
I-II	0,69721669	12,430378			
I-III	0,69721669	4,302823	V-VI	0,6972167	2,3904572
I-IV	0,69721669	5,2590059	V-VII	0,6972167	16,733201
I-V	0,69721669	16,733201			
I-VI	0,69721669	19,123658	VI-VII	0,6972167	14,342743
I-VII	0,69721669	33,466401			
II-III	0,69721669	8,1275545			
II-IV	0,69721669	7,1713717			
II-V	0,69721669	4,302823			
II-VI	0,69721669	6,6932802			
II-VII	0,69721669	21,036024			

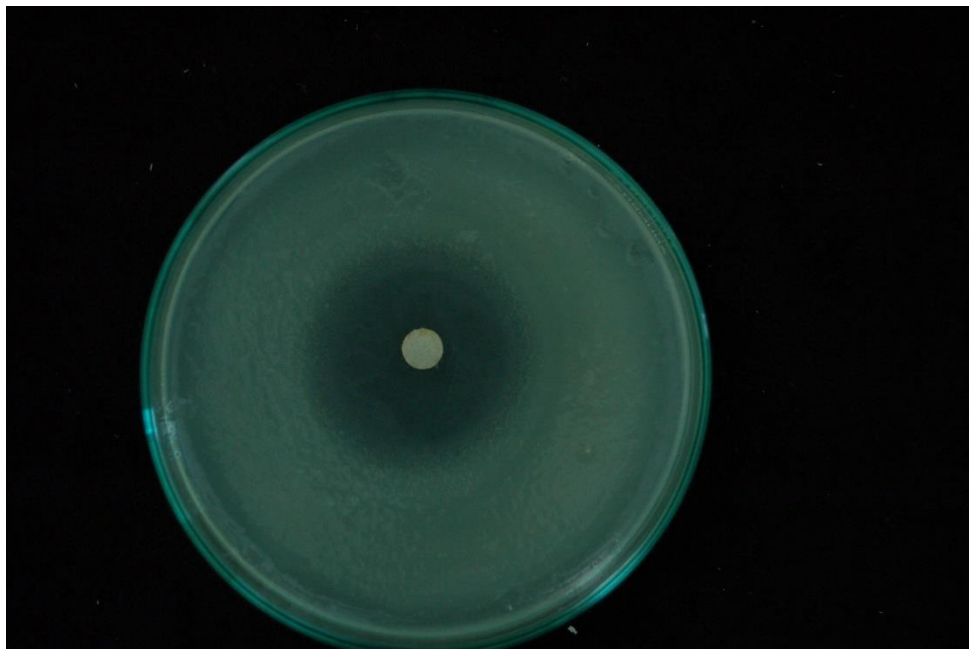
Οι ομάδες οι οποίες έχουν στατιστικές διαφορές μεταξύ τους φαίνονται στον πίνακα 4 με έντονο χρωματισμό κίτρινου χρώματος.

3.1.2. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση E3

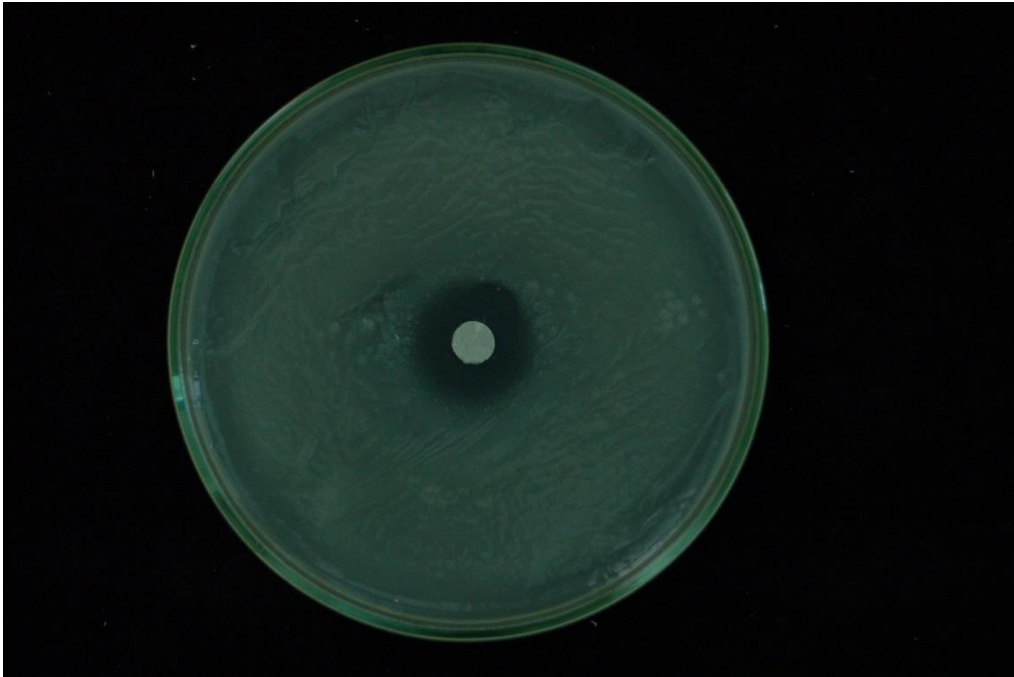
Στην απομόνωση E3 όπως φαίνεται στο διάγραμμα 2 το αιθέριο έλαιο ρίγανης (εικόνα 6) είχε την μεγαλύτερη αναστολή ανάπτυξης με μέσο όρο ζώνης 29,7mm. Το αμέσως επόμενο πιο αποτελεσματικό αιθέριο έλαιο ήταν αυτό του γαρυφάλλου (εικόνα 7) με διάμετρο ζώνης 20,3mm και στην συνέχεια το αιθέριο έλαιο δάφνης (εικόνα 8) με διάμετρο 18,3mm. Επίσης το αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου έδωσε ζώνη αναστολής με διάμετρο 13,3mm.



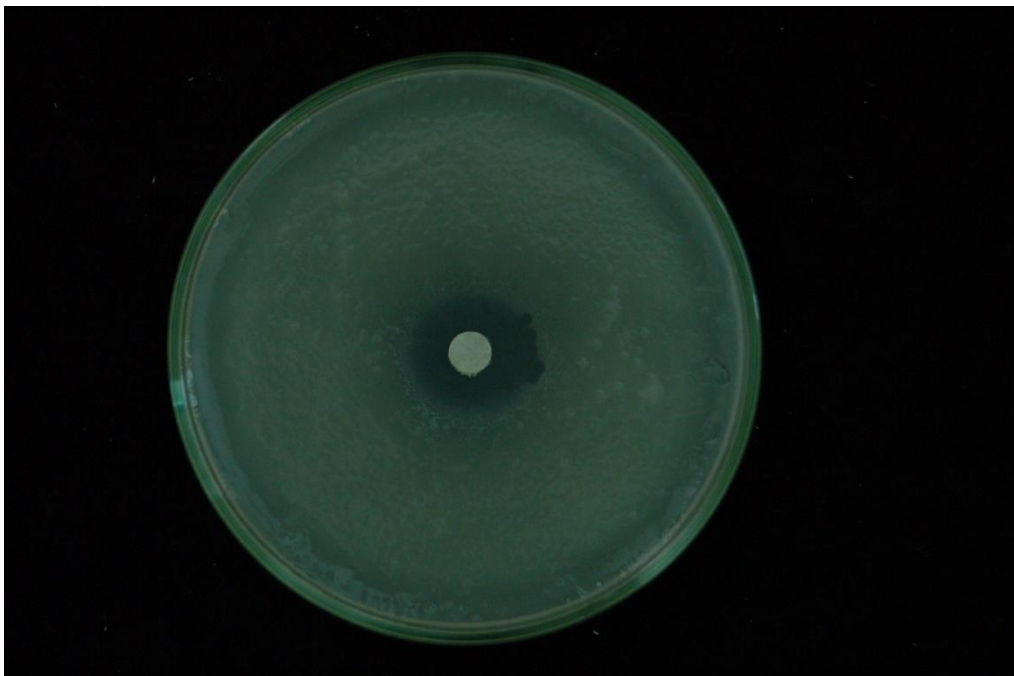
Εικόνα 5. Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης E3 του βακτηρίου *E. amylovora* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



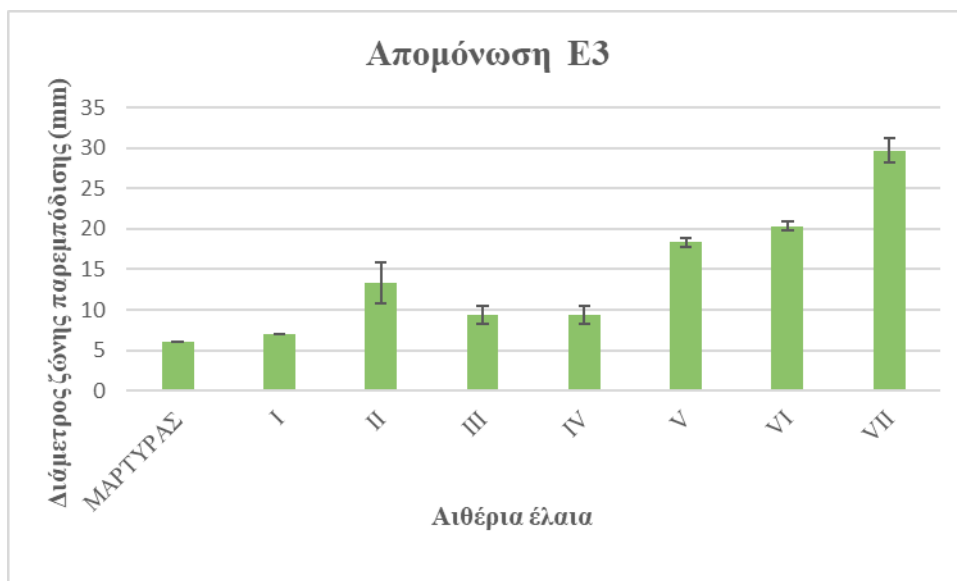
Εικόνα 6. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E3 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 7. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E3 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της δάφνης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 8. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E3 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο του γαρυφάλλου. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Διάγραμμα 2. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στην απομόνωση Ε3 των αιθέριων ελαίων I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

Από την ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα στα αποτελέσματα των μέσων όρων των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση Ε3 φάνηκε ότι διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους, διότι $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$ (Πίνακας 5).

Πίνακας 5. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης Ε3.

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1383,3333	7	197,61905	131,74603	6,11E-13	2,6571966
Within Groups	24	16	1,5			
Total	1407,3333	23				

Στην συνέχεια με την πραγματοποίηση του Tukey HSD test, ομαδοποιήθηκαν οι μέσοι όροι και προσδιορίστηκε ποιοι έχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους ($q > q_{critical}$) (Πίνακας 6 και 7). Το $q_{critical}$ είναι 4,896 όπως προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=8$ (επτά αιθέρια έλαια και ο μάρτυρας) και το df (within groups) είναι 16.

Πίνακας 6. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης E3 και η διαφορά τους ανά δύο. Όπου control: μάρτυρας, I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

	Control	I	II	III	IV	V	VI	VII
Control	x							
I	1	x						
II	7,3333333	6,3333333	x					
III	3,3333333	2,3333333	4	x				
IV	3,3333333	2,3333333	4	0	x			
V	12,3333333	11,3333333	5	9	9	x		
VI	14,3333333	13,3333333	7	11	11	2	x	
VII	23,6666667	22,6666667	16,3333333	20,3333333	20,3333333	11,3333333	9,3333333	x

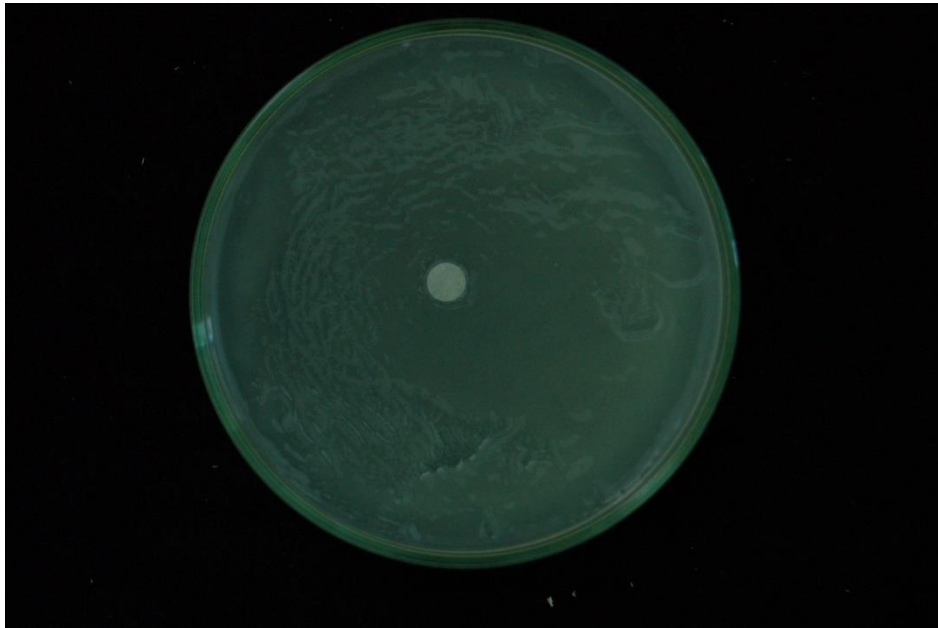
Πίνακας 7. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση E3.

Ομάδες	SE	q	Ομάδες	SE	q
C-I	0,7071068	1,4142136	III-IV	0,7071068	0
C-II	0,7071068	10,370899	III-V	0,7071068	12,727922
C-III	0,7071068	4,7140452	III-VI	0,7071068	15,556349
C-IV	0,7071068	4,7140452	III-VII	0,7071068	28,755676
C-V	0,7071068	17,441967			
C-VI	0,7071068	20,270394	IV-V	0,7071068	12,727922
C-VII	0,7071068	33,469721	IV-VI	0,7071068	15,556349
			IV-VII	0,7071068	28,755676
I-II	0,7071068	8,9566859			
I-III	0,7071068	3,2998316	V-VI	0,7071068	2,8284271
I-IV	0,7071068	3,2998316	V-VII	0,7071068	16,027754
I-V	0,7071068	16,027754			
I-VI	0,7071068	18,856181	VI-VII	0,7071068	13,199327
I-VII	0,7071068	32,055507			
II-III	0,7071068	5,6568542			
II-IV	0,7071068	5,6568542			
II-V	0,7071068	7,0710678			
II-VI	0,7071068	9,8994949			
II-VII	0,7071068	23,098822			

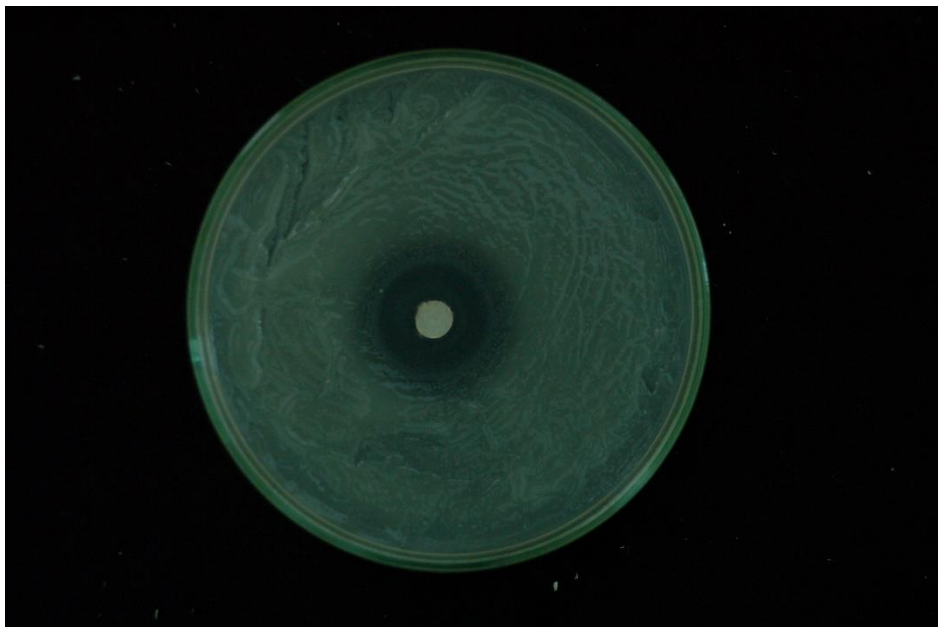
Όσες ομάδες διαφέρουν σημαντικά στατιστικώς μεταξύ τους παρουσιάζονται στον πίνακα 7 με έντονο χρωματισμό.

3.1.3. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση E10

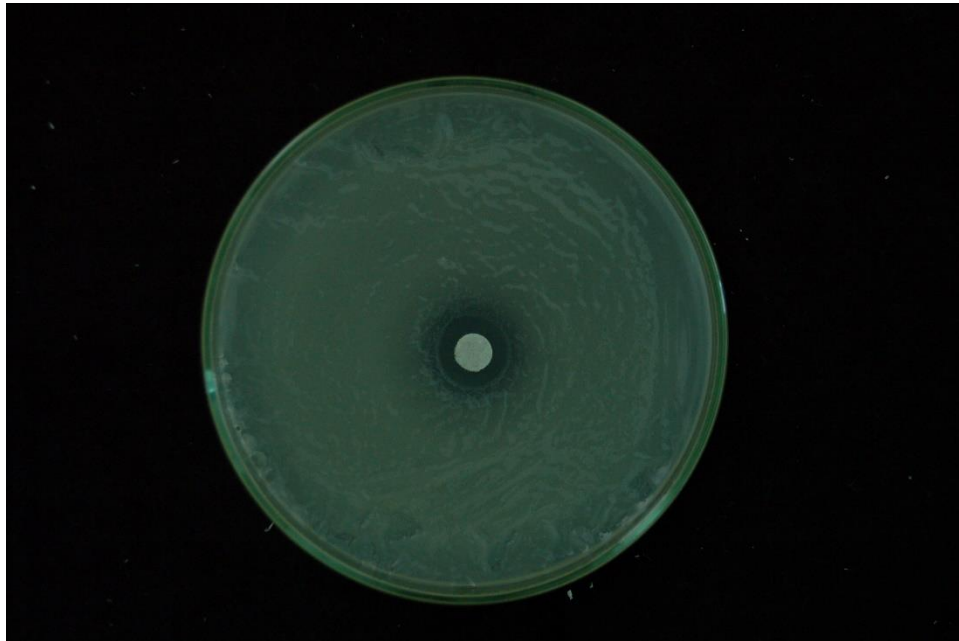
Στην απομόνωση E10 όπως παρουσιάζεται και στο διάγραμμα 3 την καλύτερη αποτελεσματικότητα στην αναστολή ανάπτυξης την έδωσε το αιθέριο έλαιο ρίγανης (εικόνα 10) με διάμετρο ζώνης 20,7mm. Στην συνέχεια ακολούθησαν τα αιθέρια έλαια γαρυφάλλου και δάφνης (εικόνα 11) με διάμετρο 14mm και του ευκαλύπτου με 13,7mm. Ο κέδρος ήταν το μοναδικό αιθέριο έλαιο που δεν έδωσε κανένα αποτέλεσμα σε αυτήν την απομόνωση.



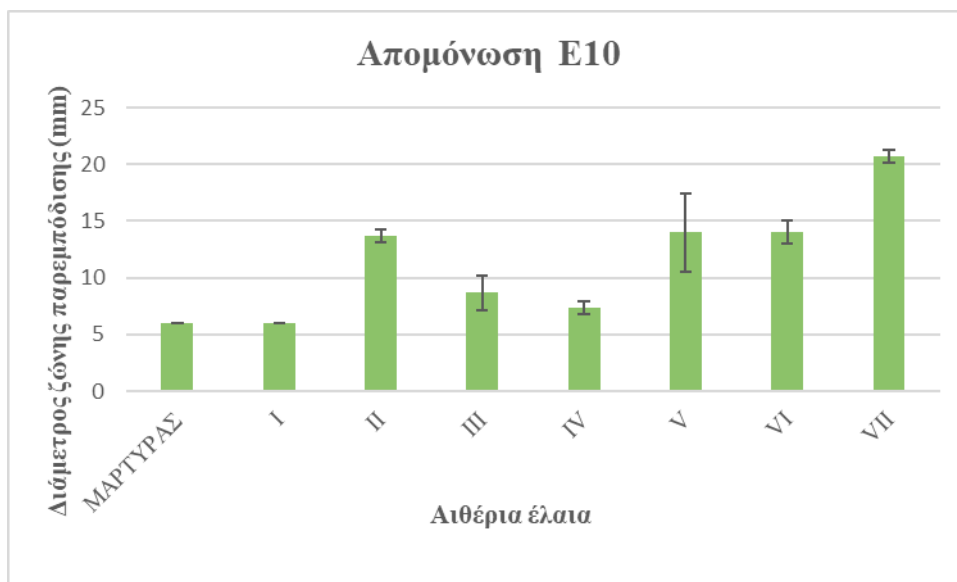
Εικόνα 9. Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης E10 του βακτηρίου *E. amylovora* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 10. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E10 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 11. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E10 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο της δάφνης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Διάγραμμα 3. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στην απομόνωση E10 των αιθέριων ελαίων I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

Όπως και στις δύο προηγούμενες περιπτώσεις των απομονώσεων E16 και E3 πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα και τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι μέσοι όροι των ζωνών αναστολής διέφεραν μεταξύ τους διότι $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$ (Πίνακας 8).

Πίνακας 8. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης E10.

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	560,29167	7	80,041667	39,204082	6,65E-09	2,6571966
Within Groups	32,666667	16	2,0416667			
Total	592,95833	23				

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε Tukey HSD test ώστε να ομαδοποιηθούν οι μέσοι όροι των ζωνών αναστολής και να προσδιοριστεί ποιες ομάδες διαφέρουν σημαντικά στατιστικώς μεταξύ τους ($q > q_{critical}$). Το $q_{critical}$ είναι 4,896 όπως προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=8$ (επτά αιθέρια έλαια και ο μάρτυρας) και το df (within groups) είναι 16. Οι ομάδες αυτές φαίνονται στον πίνακα 10 όπου παρουσιάζονται με έντονο χρωματισμό.

Πίνακας 9. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης E10 και η διαφορά τους ανά δύο. Όπου control: μάρτυρας, I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

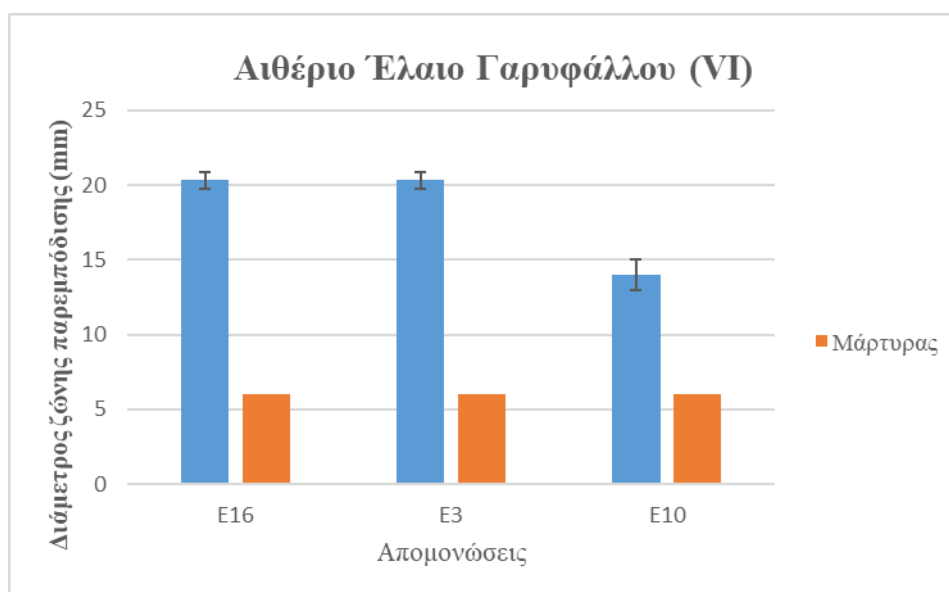
	Control	I	II	III	IV	V	VI	VII
Control	x							
I	0	x						
II	7,6666667	7,6666667	x					
III	2,6666667	2,6666667	5	x				
IV	1,3333333	1,3333333	6,3333333	1,3333333	x			
V	8	8	0,3333333	5,3333333	6,6666667	x		
VI	8	8	0,3333333	5,3333333	6,6666667	0	x	
VII	14,666667	14,666667	7	12	13,333333	6,6666667	6,6666667	x

Πίνακας 10. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση E10.

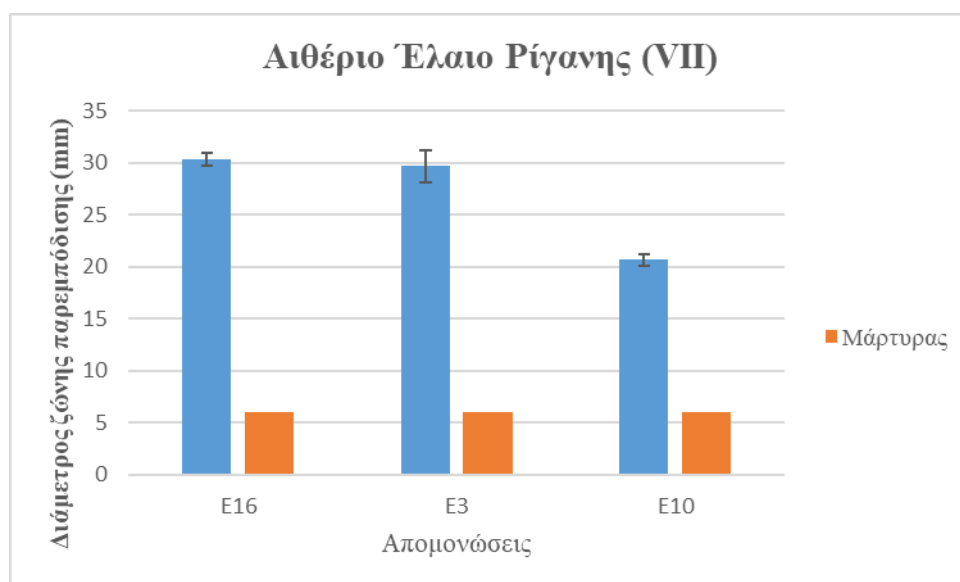
Ομάδες	SE	q	Ομάδες	SE	q
C-I	0,8249579	0	III-IV	0,8249579	1,6162441
C-II	0,8249579	9,2934034	III-V	0,8249579	6,4649763
C-III	0,8249579	3,2324881	III-VI	0,8249579	6,4649763
C-IV	0,8249579	1,6162441	III-VII	0,8249579	14,546197
C-V	0,8249579	9,6974644			
C-VI	0,8249579	9,6974644	IV-V	0,8249579	8,0812204
C-VII	0,8249579	17,778685	IV-VI	0,8249579	8,0812204
			IV-VII	0,8249579	16,162441
I-II	0,8249579	9,2934034			
I-III	0,8249579	3,2324881	V-VI	0,8249579	0
I-IV	0,8249579	1,6162441	V-VII	0,8249579	8,0812204
I-V	0,8249579	9,6974644			
I-VI	0,8249579	9,6974644	VI-VII	0,8249579	8,0812204
I-VII	0,8249579	17,778685			
II-III	0,8249579	6,0609153			
II-IV	0,8249579	7,6771593			
II-V	0,8249579	0,404061			
II-VI	0,8249579	0,404061			
II-VII	0,8249579	8,4852814			

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα σε καμία απομόνωση δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ζωνών αναστολής των ομάδων C-I, I-III, III-IV και V-VI. Επίσης μεταξύ των απομονώσεων E3 και E10 δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ζωνών αναστολής των C-III, C-IV και I-IV. Καθώς και μεταξύ των απομονώσεων E10 και E16 δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές των ζωνών αναστολής των II-V.

Συγκρίνοντας κάθε αιθέριο έλαιο ξεχωριστά με τις απομονώσεις παρατηρήθηκε ότι η απομόνωση E10 διαφέρει από τις απομονώσεις E3 και E16 στα αιθέρια έλαια VI και VII (Διάγραμμα 4 και 5).



Διάγραμμα 4. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στις απομονώσεις E16, E3, E10 του αιθέριου ελαίου VI: γαρύφαλλο.



Διάγραμμα 5. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στις απομονώσεις E16, E3, E10 του αιθέριου ελαίου VII: ρίγανη.

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα στα αποτελέσματα των μέσων όρων των απομονώσεων στα αιθέρια έλαια VI και VII ώστε να διαπιστωθεί αν η απομόνωση E10 διαφέρει στατιστικά με τις E16 και E3. Από την ανάλυση προκύπτει ότι διαφέρει η E10 από τις υπόλοιπες διότι $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$ (Πίνακες 11 και 12).

Πίνακας 11. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής των απομονώσεων E16, E3 και E10 για το αιθέριο έλαιο γαρυφάλλου.

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	80,222222	2	40,111111	72,2	6,34907E-05	5,1432528
Within Groups	3,333333	6	0,555556			
Total	83,555556	8				

Πίνακας 12. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής των απομονώσεων E16, E3 και E10 για το αιθέριο έλαιο ρίγανης.

ANOVA						
<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	174,888889	2	87,444444	87,444444	3,64937E-05	5,14325285
Within Groups	6	6	1			
Total	180,888889	8				

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε Tukey HSD test ώστε να ομαδοποιηθούν οι μέσοι όροι των ζωνών αναστολής και να προσδιοριστεί ποιες ομάδες διαφέρουν σημαντικά στατιστικώς μεταξύ τους ($q > q_{critical}$). Το $q_{critical}$ είναι 4,339 όπως προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=3$ (οι τρεις απομονώσεις) και το df (within groups) είναι 6. Οι ομάδες αυτές φαίνονται στους πίνακες 15 και 16 όπου παρουσιάζονται με έντονο χρωματισμό.

Πίνακας 13. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής των απομονώσεων E16, E3, E10 και η διαφορά τους ανά δύο για το αιθέριο έλαιο γαρυφάλλου.

	E16	E3	E10
E16	x		
E3	0	x	
E10	6,3333333	6,3333333	x

Πίνακας 14. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής των απομονώσεων E16, E3, E10 και η διαφορά τους ανά δύο για το αιθέριο έλαιο ρίγανης.

	E16	E3	E10
E16	x		
E3	0,6666667	x	
E10	9,6666667	9	x

Πίνακας 15. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στις απομονώσεις E16, E3, E10 για το αιθέριο έλαιο γαρυφάλλου.

Ομάδες	SE	q
E16-E3	0,4303315	0
E16-E10	0,4303315	14,717337
E3-E10	0,4303315	14,717337

Πίνακας 16. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στις απομονώσεις E16, E3, E10 για το αιθέριο έλαιο ρίγανης.

Ομάδες	SE	q
E16-E3	0,5773503	1,1547005
E16-10	0,5773503	16,743158
E3-E10	0,5773503	15,588457

3.2. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού

Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων στην περίπτωση της δόκιμης των αιθέριων ελαίων στο βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* με την μέθοδο διάχυσης στο άγαρ με την χρήση διηθητικού δίσκου, συγκρίνονται οι ζώνες αναστολής με την διάμετρο του διηθητικού δίσκου (6mm) που είναι ο μάρτυρας του πειράματος, όπως και στην περίπτωση της *E. amylovora*.

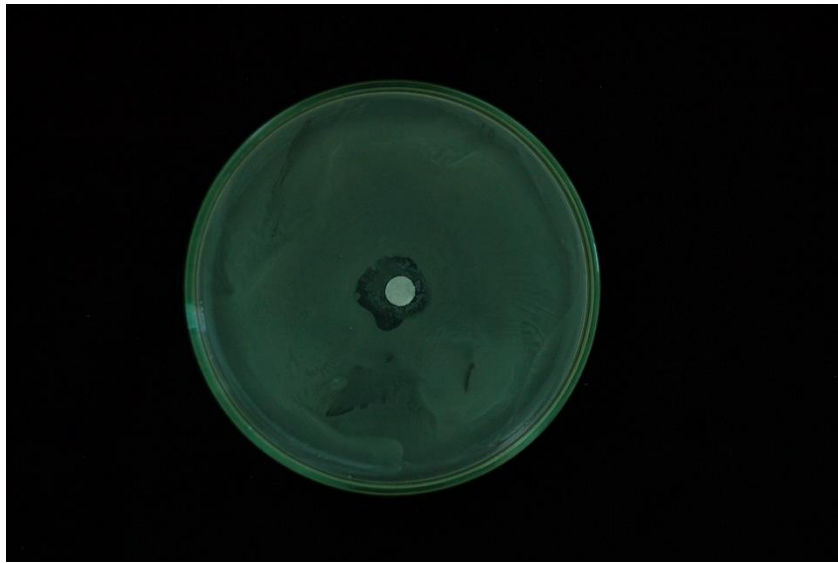
3.2.1. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση Pss3

Στην απομόνωση Pss3 όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 6 το αιθέριο έλαιο με την καλύτερη αποτελεσματικότητα ήταν το κυπαρίσσι (εικόνα 13) με μέσο όρο διαμέτρου ζώνη αναστολής 17mm. Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί πως στην δεύτερη επανάληψη η διάμετρος της ζώνης αναστολής δεν είχε καθαρά κυκλικό σχήμα. Το αμέσως επόμενο πιο αποτελεσματικό αιθέριο έλαιο ήταν της ρίγανης (εικόνα 14) με μέσο όρο διαμέτρου 11,5mm. Στην περίπτωση αυτή εκτός από την καθαρή ζώνη αναστολής σχημάτιζε και μία ζώνη περιορισμένης ανάπτυξης του βακτηρίου η οποία ήταν η συνέχεια της πρώτης. Ο μέσος όρος της συνολικής διαμέτρου και των δύο ζωνών ήταν 32,3mm, όμως η ζώνη που λήφθηκε υπόψη για την στατιστική ανάλυση ήταν αυτή της καθαρής ζώνης αναστολής. Εξίσου αποτελεσματικές μετρήσεις έδωσε και το αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου με μέσο όρο διαμέτρου 11,3mm. Τέλος, τα αιθέρια έλαια του γαρυφάλλου και της δάφνης έδωσαν λιγότερο αποτελεσματικά αλλά αξιόλογα αποτελέσματα με μέσο όρο διαμέτρων 9,7mm και 9,2mm. Τα δύο αυτά έλαια όπως και στην περίπτωση της ρίγανης εκτός από την καθαρή ζώνη αναστολής

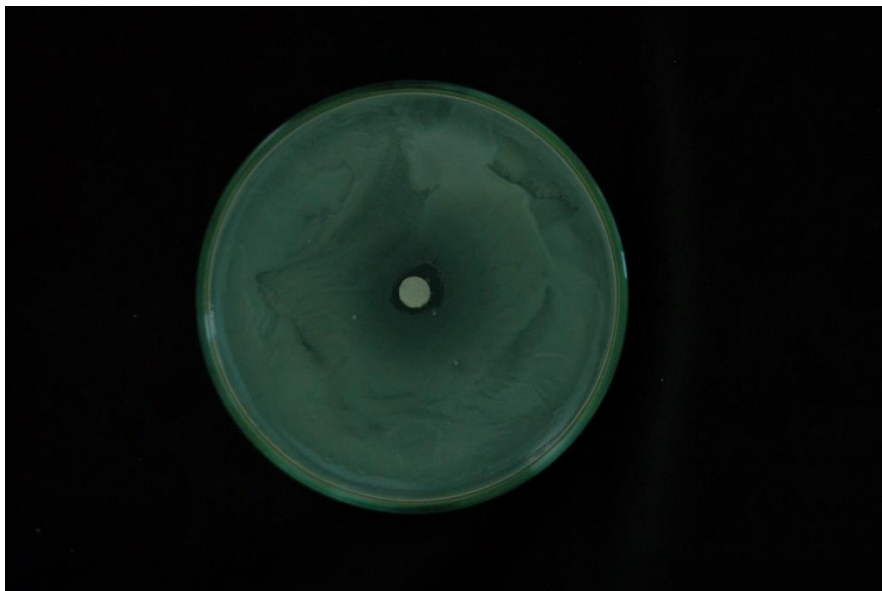
ανέπτυξαν και μία ζώνη περιορισμένης ανάπτυξης του βακτηρίου με μέση διάμετρο συνολικά 14,3mm και 15mm αντίστοιχα χωρίς όμως να ληφθούν υπόψη στην στατιστική ανάλυση.



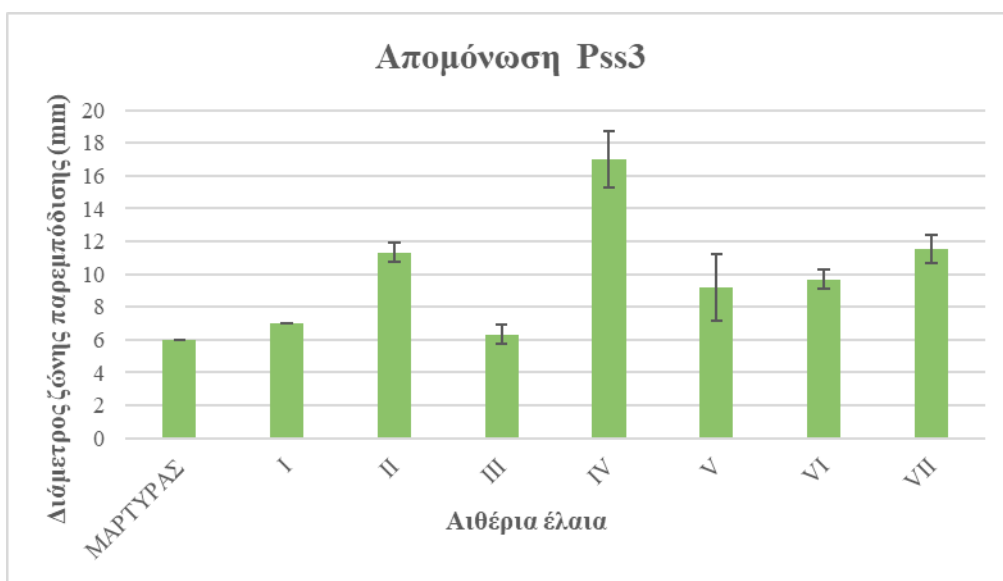
Εικόνα 12. Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 13. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στο αιθέριο έλαιο του κυπαρισσιού. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 14. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Διάγραμμα 6. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στην απομόνωση Pss3 των αιθέριων ελαίων I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

Από την ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα φάνηκε ότι υπάρχουν μέσοι όροι ζωνών αναστολής οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ τους διότι προκύπτει $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$ (Πίνακας 17).

Πίνακας 17. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης Pss3.

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	275,33333	7	39,333333	35,622642	1,35E-08	2,6571966
Within Groups	17,666667	16	1,1041667			
Total	293	23				

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε Tukey HSD test ώστε να διαπιστωθεί ποιες ομάδες διαφέρουν σημαντικά στατιστικώς μεταξύ τους ($q > q_{critical}$). Το $q_{critical}$ είναι 4,896 όπως

προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=8$ (επτά αιθέρια έλαια και ο μάρτυρας) και το df (within groups) είναι 16. Οι ομάδες που διέφεραν παρουσιάζονται στον πίνακα 19 με έντονο κίτρινο χρωματισμό.

Πίνακας 18. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης Pss3 και η διαφορά τους ανά δύο. Όπου control: μάρτυρας, I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

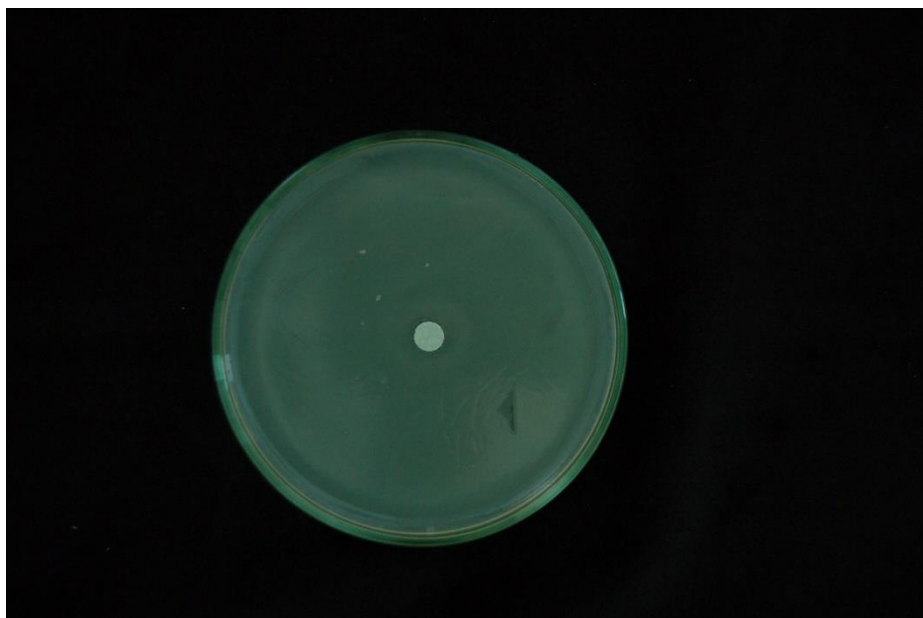
	Control	I	II	III	IV	V	VI	VII
Control	x							
I	1	x						
II	4,3333333	4,3333333	x					
III	0,3333333	0,6666667	5	x				
IV	11	10	5,6666667	10,666667	x			
V	3,1666667	2,1666667	2,1666667	2,8333333	7,8333333	x		
VI	3,6666667	2,6666667	1,6666667	3,3333333	7,3333333	0,5	x	
VII	5,5	4,5	0,1666667	5,1666667	5,5	2,3333333	1,8333333	x

Πίνακας 19. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση Pss3.

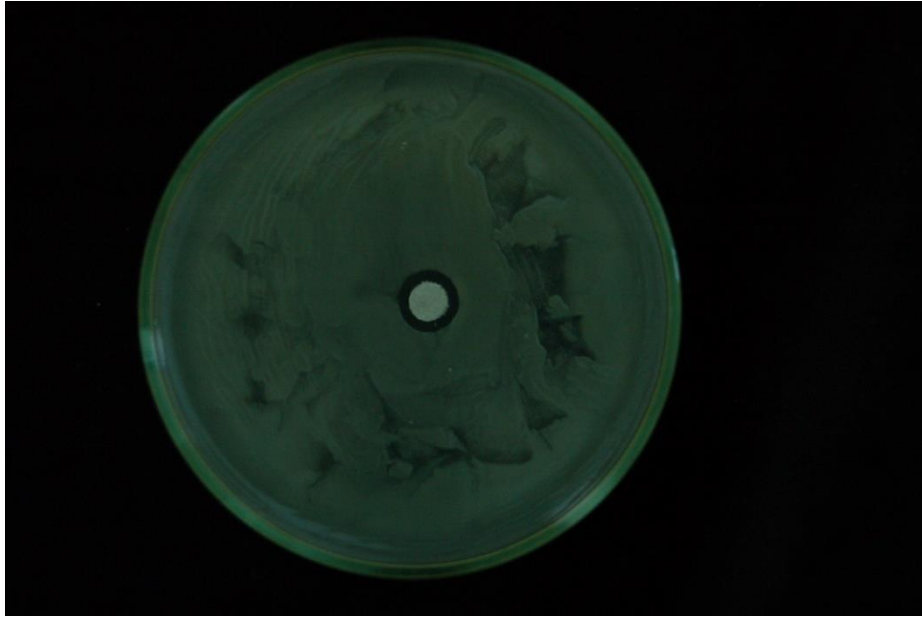
Ομάδες	SE	q	Ομάδες	SE	q
C-I	0,6066758	1,6483268	III-IV	0,6066758	17,582152
C-II	0,6066758	7,1427493	III-V	0,6066758	4,6702592
C-III	0,6066758	0,5494423	III-VI	0,6066758	5,4944226
C-IV	0,6066758	18,131594	III-VII	0,6066758	8,516355
C-V	0,6066758	5,2197014			
C-VI	0,6066758	6,0438648	IV-V	0,6066758	12,911893
C-VII	0,6066758	9,0657972	IV-VI	0,6066758	12,08773
			IV-VII	0,6066758	9,0657972
I-II	0,6066758	7,1427493			
I-III	0,6066758	1,0988845	V-VI	0,6066758	0,8241634
I-IV	0,6066758	16,483268	V-VII	0,6066758	3,8460958
I-V	0,6066758	3,5713747			
I-VI	0,6066758	4,395538	VI-VII	0,6066758	3,0219324
I-VII	0,6066758	7,4174705			
II-III	0,6066758	8,2416338			
II-IV	0,6066758	9,3405183			
II-V	0,6066758	3,5713747			
II-VI	0,6066758	2,7472113			
II-VII	0,6066758	0,2747211			

3.2.2. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση Pss10

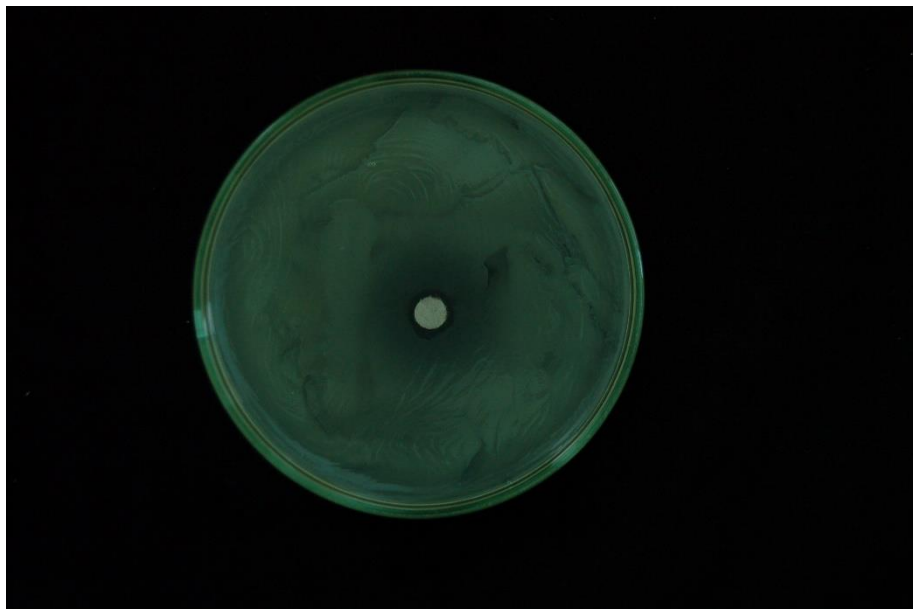
Στην απομόνωση Pss10 όπως φαίνεται στο διάγραμμα 7 το αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου (εικόνα 16) είναι αυτό που εμφάνισε μεγαλύτερο μέσο όρο διαμέτρου της ζώνης αναστολής του βακτηρίου ίσο με 11mm. Έπειτα ακολουθεί το αιθέριο έλαιο της ρίγανης (εικόνα 17) με μέση διάμετρο 10,7mm και εκτός από την καθαρή αυτή ζώνη είχε δημιουργηθεί και ζώνη περιορισμένης ανάπτυξης με συνολική μέση διάμετρο και των δύο ίση με 24,3mm. Λιγότερο ικανοποιητικά αποτελέσματα έδωσαν τα αιθέρια έλαια της δάφνης και του γαρυφάλλου με μέση διάμετρο ίση με 9mm. Αυτά τα έλαια επίσης ανέπτυξαν μία ζώνη περιορισμένης ανάπτυξης του βακτηρίου με μέση διάμετρο συνολικά 16,3mm και 14,3mm αντίστοιχα.



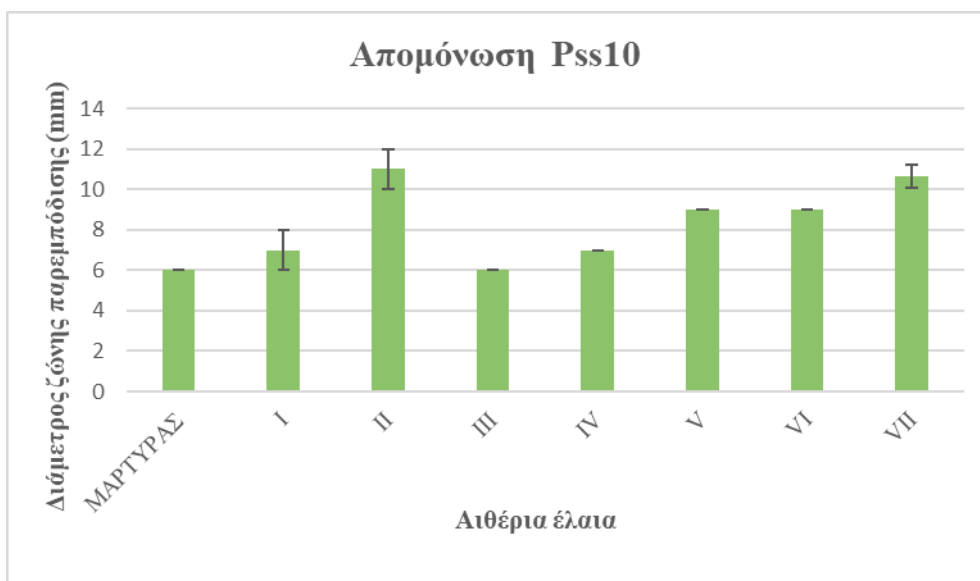
Εικόνα 15. Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης Pss10 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 16. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss10 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στο αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 17. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss10 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Διάγραμμα 7. Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στην απομόνωση Pss10 των αιθέριων ελαίων I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

Έπειτα πραγματοποιήθηκε ανάλυση της διακύμανσης στα αποτελέσματα της απομόνωσης Pss10 και διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν μέσοι όροι ζωνών αναστολής οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ τους διότι προκύπτει $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$ (Πίνακας 20).

Πίνακας 20. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης Pss10.

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	83,2916667	7	11,8988095	40,7959184	4,94E-09	2,6571966
Within Groups	4,6666667	16	0,29166667			
Total	87,9583333	23				

Από την πραγματοποίηση του Tukey HSD test ομαδοποιήθηκαν οι μέσοι όροι και προσδιορίστηκε ποιοι έχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους. Όσες ομάδες δίνουν $q > q_{critical}$ διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους. Το $q_{critical}$ είναι 4,896 όπως προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=8$ (επτά αιθέρια έλαια και ο μάρτυρας) και το df (within groups) είναι 16. Οι ομάδες αυτές παρουσιάζονται στον πίνακα 22 με έντονο κίτρινο μεταχρωματισμό.

Πίνακας 21. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης Pss10 και η διαφορά τους κατά ομάδες. Όπου control: μάρτυρας, I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

	Control	I	II	III	IV	V	VI	VII
Control	x							
I	1	x						
II	5	4	x					
III	0	1	5	x				
IV	1	0	4	1	x			
V	3	2	2	3	2	x		
VI	3	2	2	3	2	0	x	
VII	4,6666667	3,6666667	0,3333333	4,6666667	3,6666667	1,6666667	1,6666667	x

Πίνακας 22. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση Pss10.

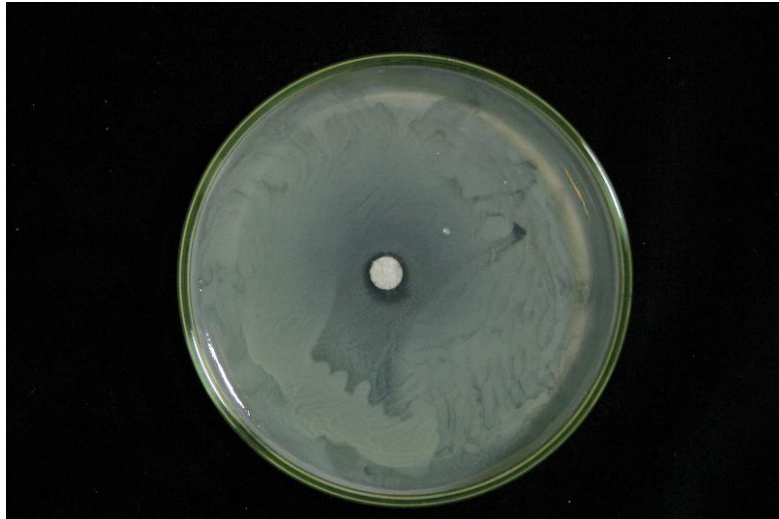
Ομάδες	SE	q	Ομάδες	SE	q
C-I	0,31180478	3,2071349	III-IV	0,31180478	3,2071349
C-II	0,31180478	16,0356745	III-V	0,31180478	9,62140471
C-III	0,31180478	0	III-VI	0,31180478	9,62140471
C-IV	0,31180478	3,2071349	III-VII	0,31180478	14,9666295
C-V	0,31180478	9,62140471			
C-VI	0,31180478	9,62140471	IV-V	0,31180478	6,41426981
C-VII	0,31180478	14,9666295	IV-VI	0,31180478	6,41426981
			IV-VII	0,31180478	11,7594946
I-II	0,31180478	12,8285396			
I-III	0,31180478	3,2071349	V-VI	0,31180478	0
I-IV	0,31180478	0	V-VII	0,31180478	5,34522484
I-V	0,31180478	6,41426981			
I-VI	0,31180478	6,41426981	VI-VII	0,31180478	5,34522484
I-VII	0,31180478	11,7594946			
II-III	0,31180478	16,0356745			
II-IV	0,31180478	12,8285396			
II-V	0,31180478	6,41426981			
II-VI	0,31180478	6,41426981			
II-VII	0,31180478	1,06904497			

3.2.3. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση Pss1

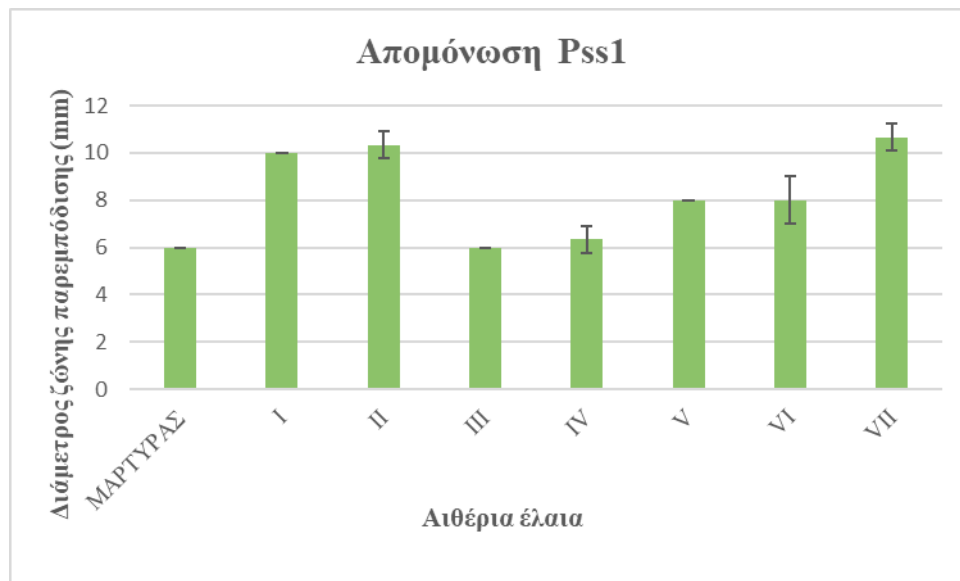
Στην μελέτη της επίδρασης των αιθέριων ελαίων στην απομόνωση Pss1 η ρίγανη (εικόνα 19) όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 8 εμφάνισε τα καλύτερα αποτελέσματα με μέσο όρο ζώνης αναστολής του βακτηρίου ίσο με 10,7mm. Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης εκτός από την καθαρή ζώνη αναστολής σχημάτισε και μία ζώνη περιορισμένης ανάπτυξης του βακτηρίου με συνολική διάμετρο και των δύο ίση με 30mm. Τα αιθέρια έλαια της δάφνης και του γαρυφάλλου έδωσαν επίσης ζώνη περιορισμένης ανάπτυξης. Η καθαρή ζώνη και των δύο είχε μέσο όρο διαμέτρου 8mm, ενώ συνολικά με την ζώνη περιορισμένης ανάπτυξης είχαν μέση διάμετρο 13,7mm και 14,7mm αντίστοιχα. Οι τιμές που λήφθηκαν υπόψη στην στατιστική ανάλυση είναι αυτές της καθαρής ζώνης αναστολής του βακτηρίου.



Εικόνα 18. Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης Pss1 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Εικόνα 19. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss1 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης. Μέθοδος διάχυσης σε άγαρ με χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού.



Διάγραμμα 8. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στην απομόνωση Pss1 των αιθέριων ελαίων I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

Έπειτα από την πραγματοποίηση ανάλυσης της διακύμανσης στα αποτελέσματα της απομόνωσης Pss1 διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν μέσοι όροι ζωνών αναστολής οι οποίοι διαφέρουν μεταξύ τους διότι προκύπτει $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$ (Πίνακας 23).

Πίνακας 23. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης Pss1.

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	81,33333333	7	11,6190476	46,4761905	1,86E-09	2,6571966
Within Groups	4	16	0,25			
Total	85,33333333	23				

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε Tukey HSD test και με αυτόν το τρόπο ομαδοποιήθηκαν οι μέσοι όροι των ζωνών αναστολής και προσδιορίστηκε ποιοι έχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους. Όσες ομάδες δίνουν $q > q_{critical}$ διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους. Το $q_{critical}$ είναι 4,896 όπως προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=8$ (επτά αιθέρια έλαια και ο μάρτυρας) και το df (within groups) είναι 16. Οι ομάδες αυτές παρουσιάζονται στον πίνακα 25 με έντονο κίτρινο χρωματισμό.

Πίνακας 24. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης Pss10 και η διαφορά τους κατά ομάδες. Όπου control: μάρτυρας, I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι, V: δάφνη, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

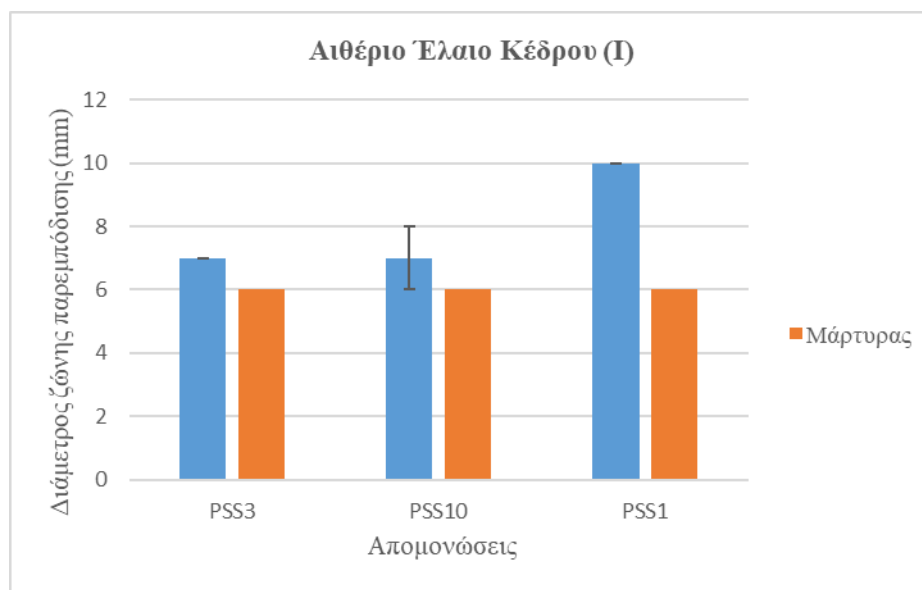
	Control	I	II	III	IV	V	VI	VII
Control	x							
I	4	x						
II	4,33333333	0,33333333	x					
III	0	4	4,33333333	x				
IV	0,33333333	3,66666667	4	0,33333333	x			
V	2	2	2,33333333	2	1,66666667	x		
VI	2	2	2,33333333	2	1,66666667	0	x	
VII	4,66666667	0,66666667	0,33333333	4,66666667	4,33333333	2,66666667	2,66666667	x

Πίνακας 25. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση Pss1.

Ομάδες	SE	q	Ομάδες	SE	q
C-I	0,28867513	13,8564065	III-IV	0,28867513	1,15470054
C-II	0,28867513	15,011107	III-V	0,28867513	6,92820323
C-III	0,28867513	0	III-VI	0,28867513	6,92820323
C-IV	0,28867513	1,15470054	III-VII	0,28867513	16,1658075
C-V	0,28867513	6,92820323			
C-VI	0,28867513	6,92820323	IV-V	0,28867513	5,77350269
C-VII	0,28867513	16,1658075	IV-VI	0,28867513	5,77350269
			IV-VII	0,28867513	15,011107
I-II	0,28867513	1,15470054			
I-III	0,28867513	13,8564065	V-VI	0,28867513	0
I-IV	0,28867513	12,7017059	V-VII	0,28867513	9,23760431
I-V	0,28867513	6,92820323			
I-VI	0,28867513	6,92820323	VI-VII	0,28867513	9,23760431
I-VII	0,28867513	2,30940108			
II-III	0,28867513	15,011107			
II-IV	0,28867513	13,8564065			
II-V	0,28867513	8,08290377			
II-VI	0,28867513	8,08290377			
II-VII	0,28867513	1,15470054			

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα σε καμία απομόνωση δεν βρέθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ζωνών αναστολής των ομάδων C-III, II-VII. Επίσης μεταξύ των απομονώσεων Pss1 και Pss10 δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ των ζωνών αναστολής των C-IV και III-IV. Καθώς και μεταξύ των απομονώσεων Pss3 και Pss10 δεν υπήρχαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές των ζωνών αναστολής των C-I, I-III και V-VI.

Συγκρίνοντας κάθε αιθέριο έλαιο ξεχωριστά με τις απομονώσεις παρατηρήθηκε ότι η απομόνωση Pss1 διαφέρει από τις απομονώσεις Pss3 και Pss10 στο αιθέριο έλαιο I. (Διάγραμμα 9).



Διάγραμμα 9. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στις απομονώσεις Pss3, Pss10, Pss1 του αιθέριου ελαίου I: κέδρου.

Πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα στα αποτελέσματα των μέσων όρων των απομονώσεων στο αιθέριο έλαιο I ώστε να διαπιστωθεί αν η απομόνωση Pss1 διαφέρει στατιστικά με τις Pss10 και Pss3. Από την ανάλυση προκύπτει ότι διαφέρει η Pss1 από τις υπόλοιπες διότι $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$ (Πίνακες 26).

Πίνακας 26. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής των απομονώσεων Pss1, Pss3 και Pss10 για το αιθέριο έλαιο I.

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P - value	F crit
Between Groups	18	2	9	27	0,001	5,1432528
Within Groups	2	6	0,333333333			
Total	20	8				

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε Tukey HSD test ώστε να ομαδοποιηθούν οι μέσοι όροι των ζωνών αναστολής και να προσδιοριστεί ποιες ομάδες διαφέρουν σημαντικά στατιστικώς μεταξύ τους ($q > q_{critical}$). Το $q_{critical}$ είναι 4,339 όπως προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=3$ (οι τρεις απομονώσεις) και το df (within groups) είναι 6. Οι ομάδες αυτές φαίνονται στον πίνακα 28 όπου παρουσιάζονται με έντονο χρωματισμό.

Πίνακας 27. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής των απομονώσεων Pss1, Pss3, Pss10 και η διαφορά τους ανά δύο για το αιθέριο έλαιο κέδρου.

	PSS3	PSS10	PSS1
PSS3	x		
PSS10	0	x	
PSS1	3	3	x

Πίνακας 28. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στις απομονώσεις Pss1, Pss3, Pss10 για το αιθέριο έλαιο κέδρου.

Ομάδες	SE	q
PSS3-PSS10	0,3333333	0
PSS3-PSS1	0,3333333	9
PSS10-PSS1	0,3333333	9

3.3. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του βακτηρίου *E. amylovora* με την μέθοδο διάχυσης με χρήση βοθρίων

Στην μελέτη επίδρασης των αιθέριων ελαίων στο βακτήριο *E. amylovora* με την μέθοδο διάχυσης με βοθρία επιλέχθηκε η απομόνωση E16 του βακτηρίου και τέσσερα έλαια σύμφωνα με τα αποτελέσματα της προηγούμενης μεθόδου με τους διηθητικούς δίσκους. Τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν είναι αυτά του κέδρου, του ευκαλύπτου, της αρκεύθου και του κυπαρισσιού. Επιλέχθηκαν τα τέσσερα συγκεκριμένα έλαια διότι στην προηγούμενη μέθοδο έδωσαν δεν έδωσαν μεγάλες ζώνες αναστολής σε σχέση με το αιθέριο έλαιο δάφνης, γαρύφαλλου και ρίγανης. Με αυτόν τον τρόπο ελέγχθηκε αν τα συγκεκριμένα αιθέρια έλαια με την μέθοδο διάχυσης με την χρήση βοθρίων στην οποία προστίθεται μεγαλύτερη ποσότητα ελαίου θα δώσουν καλύτερα αποτελέσματα.

Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 10 όλα τα αιθέρια έλαια έδωσαν ζώνη αναστολής του βακτηρίου. Τα πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα τα έδωσε το κυπαρίσσι (εικόνα 21) με μέσο

όρο ζώνης 26mm. Σε αυτό το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί πως η δεύτερη επανάληψη με το αιθέριο έλαιο κυπαρισσιού έδωσε ζώνη η οποία δεν είχε κυκλικό σχήμα. Το αμέσως πιο αποτελεσματικό έλαιο ήταν ο ευκάλυπτος (εικόνα 22) με μέσο όρο ζώνης ίση με 24,7mm. Έπειτα ακολουθούν η άρκευθος (εικόνα 23) και ο κέρδος με μέσο όρο ζωνών 18,7mm και 10,3mm αντίστοιχα. Σημαντικό είναι να αναφερθεί επίσης ότι δεν είχε γίνει 100% διάχυση των αιθέριων ελαίων στο θρεπτικό υλικό, αλλά είχε παραμείνει μία ποσότητα στο εσωτερικό των βοθρίων. Τέλος, τα αποτελέσματα των παραπάνω ζωνών αναστολής για την αξιολόγηση τους συγκρίθηκαν με την διάμετρο του μάρτυρα 6mm.



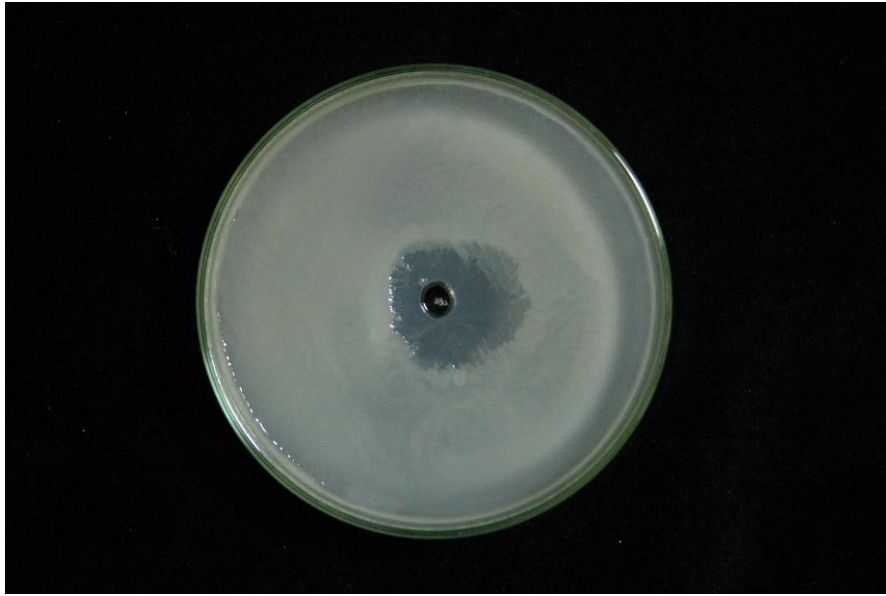
Εικόνα 20. Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.



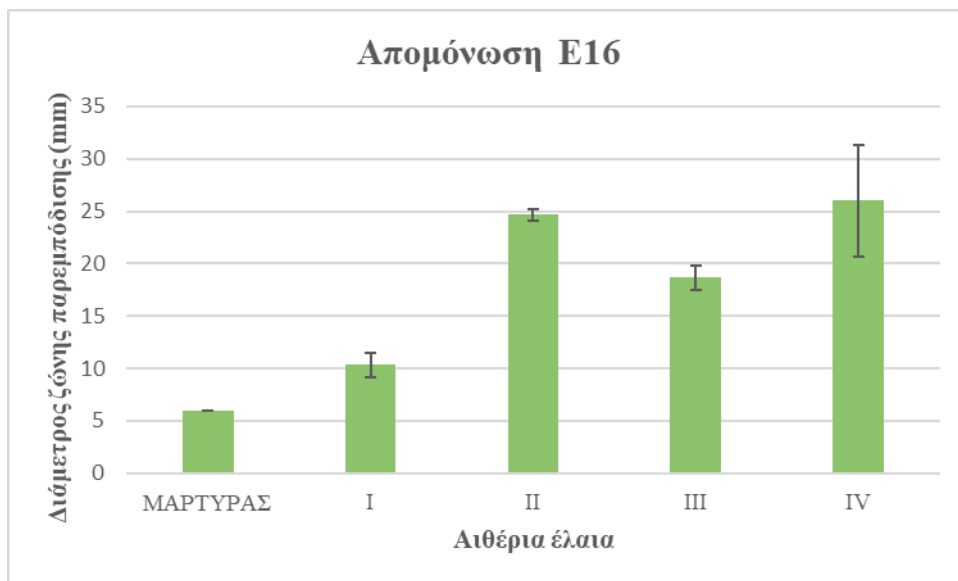
Εικόνα 21. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο του κυπαρισσιού. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.



Εικόνα 22. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.



Εικόνα 23. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης E16 του βακτηρίου *E. amylovora* στο αιθέριο έλαιο του αρκεύθου. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.



Διάγραμμα 10. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στην απομόνωση E16 των αιθέριων ελαίων I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι.

Από την ανάλυση διακύμανσης Anova One-way με βάση τα αποτελέσματα που προέκυψαν διαπιστώθηκε ότι υπάρχουν διαφορές μεταξύ των μέσων όρων της απομόνωσης E16 διότι προκύπτει $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$ (Πίνακας 29).

Πίνακας 29. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης E16.

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	923,733333	4	230,933333	37,2473118	5,60E-06	3,47804969
Within Groups	62	10	6,2			
Total	985,733333	14				

Στην συνέχεια πραγματοποιήθηκε Tukey HSD test και με αυτόν το τρόπο ομαδοποιήθηκαν οι μέσοι όροι των ζωνών αναστολής και προσδιορίστηκε ποιοι έχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους. Όσες ομάδες δίνουν $q > q_{critical}$ διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους. Το $q_{critical}$ είναι 4,654 όπως προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=5$ (τέσσερα αιθέρια έλαια και ο μάρτυρας) και το df (within groups) είναι 10. Οι ομάδες αυτές παρουσιάζονται στον πίνακα 31 με έντονο κίτρινο χρωματισμό.

Πίνακας 30. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης E16 και η διαφορά τους κατά ομάδες. Όπου control: μάρτυρας, I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, III: άρκευθος, IV: κυπαρίσσι.

	Control	I	II	III	IV
Control	x				
I	4,3333333	x			
II	18,666667	14,333333	x		
III	12,666667	8,3333333	6	x	
IV	20	15,666667	1,3333333	7,3333333	x

Πίνακας 31. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση E16.

Ομάδες	SE	q
C-I	1,43759058	3,01430282
C-II	1,43759058	12,9846891
C-III	1,43759058	8,81103902
C-IV	1,43759058	13,9121669
I-II	1,43759058	9,97038626
I-III	1,43759058	5,7967362
I-IV	1,43759058	10,8978641
II-III	1,43759058	4,17365006
II-IV	1,43759058	0,92747779
III-IV	1,43759058	5,10112785

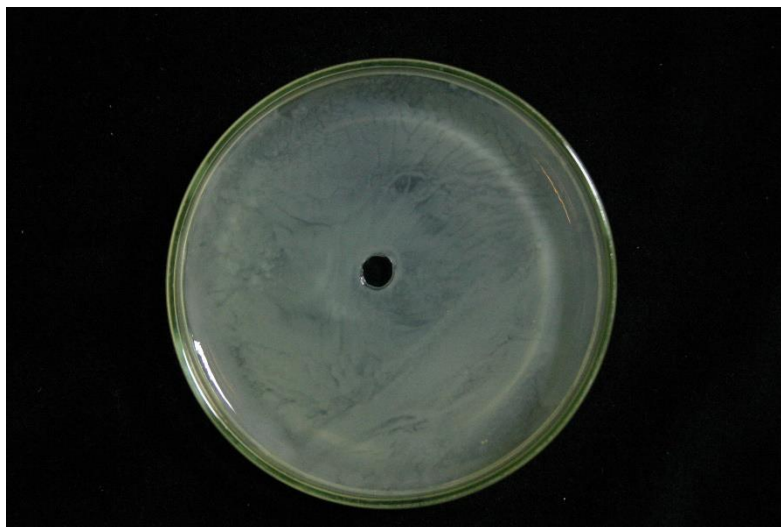
Οι ομάδες οι οποίες διέφεραν σημαντικά στατιστικώς μεταξύ τους όπως φαίνεται και από τους παραπάνω πίνακες είναι ο μάρτυρας με κάθε αιθέριο έλαιο που δοκιμάστηκε εκτός από τον κέδρο, ο κέδρος με όλα τα υπόλοιπα αιθέρια έλαια και τέλος η άρκευθος με το κυπαρίσσι.

3.4. Επίδραση των αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* με την μέθοδο διάχυσης με χρήση βοθρίων

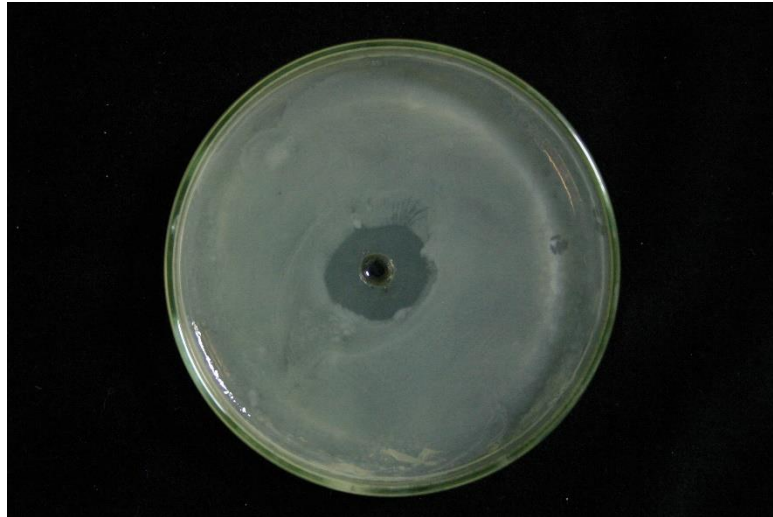
Στην μελέτη επίδρασης των αιθέριων ελαίων στο βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* με την μέθοδο διάχυσης με βοθρία επιλέχθηκε η απομόνωση Pss3 του βακτηρίου και τέσσερα έλαια σύμφωνα με τα αποτελέσματα της προηγούμενης μεθόδου με τους διηθητικούς δίσκους. Τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν είναι αυτά του κέδρου, του ευκαλύπτου, του γαρυφάλλου και της ρίγανης. Επιλέχθηκαν τα τέσσερα συγκεκριμένα έλαια διότι στην προηγούμενη μέθοδο ο κέδρος δεν έδωσε ζώνη αναστολής και ο ευκάλυπτος έδωσε μικρή ζώνη αναστολής. Ενώ το γαρύφαλλο και η ρίγανη εκτός από την καθαρή ζώνη αναστολής σχημάτισαν και μία ζώνη περιορισμένης ανάπτυξης του βακτηρίου. Με αυτόν τον τρόπο ελέγχθηκε αν τα συγκεκριμένα αιθέρια έλαια με την μέθοδο διάχυσης με την χρήση

βοθρίων στην οποία προστίθεται μεγαλύτερη ποσότητα ελαίου θα δώσουν καλύτερα αποτελέσματα.

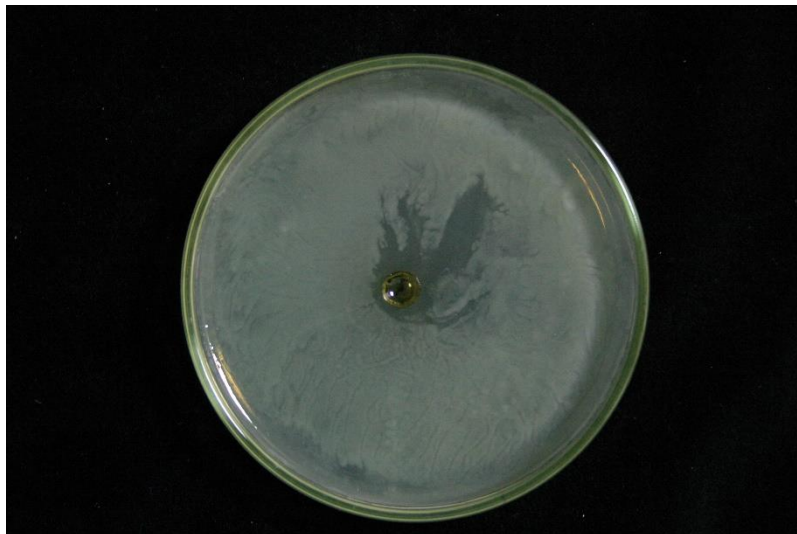
Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα 11 όλα τα αιθέρια έλαια έδωσαν ζώνη αναστολής του βακτηρίου. Τα πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα τα έδωσε ο ευκάλυπτος (εικόνα 25) με μέσο όρο ζώνης 22,8mm. Το αμέσως πιο αποτελεσματικό έλαιο ήταν το γαρύφαλλο (εικόνα 26) με μέσο όρο ζώνης ίση με 17,5mm. Σε αυτό εδώ το σημείο θα πρέπει να αναφερθεί πως η ζώνη αναστολής δεν είχε κυκλική μορφή αλλά από την μία πλευρά σχημάτιζε γραμμοειδές σχήμα. Έπειτα ακολουθούν η ρίγανη και ο κέρδος με μέσο όρο ζωνών 13mm και 11,2mm αντίστοιχα. Η ζώνη αναστολής που δημιουργήθηκε στην δοκιμή με το αιθέριο έλαιο κέδρου είχε και μερική επικάλυψη από το βακτήριο. Σημαντικό είναι να αναφερθεί επίσης ότι δεν είχε γίνει 100% διάχυση των αιθέριων ελαίων στο θρεπτικό υλικό, αλλά είχε παραμείνει μία ποσότητα στο εσωτερικό των βοθρίων. Τέλος, τα αποτελέσματα των παραπάνω ζωνών αναστολής για την αξιολόγηση τους συγκρίθηκαν με την διάμετρο του μάρτυρα 6mm.



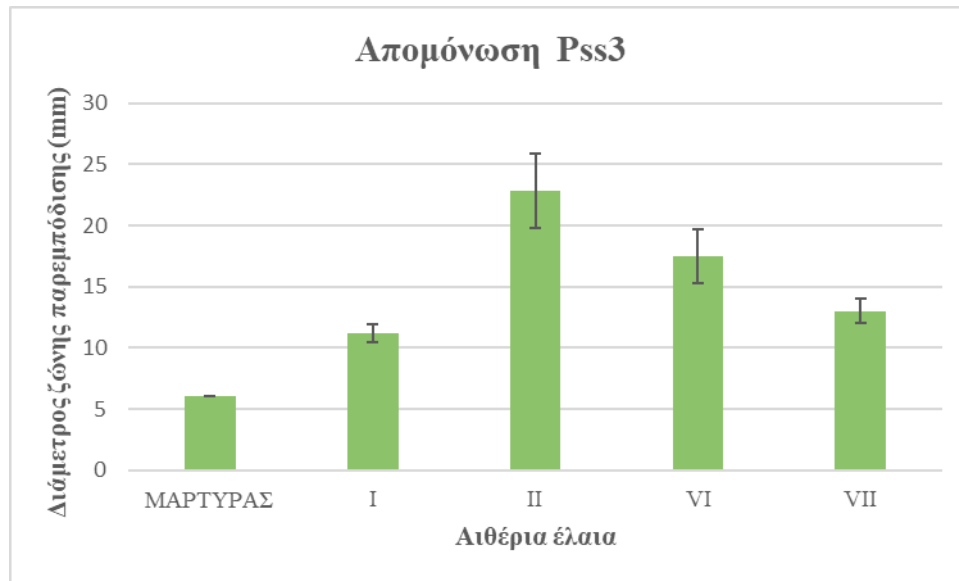
Εικόνα 24. Μάρτυρας κατά τον έλεγχο ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στα αιθέρια έλαια. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.



Εικόνα 25. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στο αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.



Εικόνα 26. Έλεγχος ευαισθησίας της απομόνωσης Pss3 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* στο αιθέριο έλαιο του γαρυφάλλου. Μέθοδος διάχυσης με χρήση βοθρίων.



Διάγραμμα 11. Μέσοι όροι και Τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των ζωνών αναστολής στην απομόνωση Pss3. Όπου I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

Από την πραγματοποίηση ανάλυσης διακύμανσης Anova One-way στην απομόνωση Pss3 βρέθηκε πως υπάρχουν ομάδες οι οποίες διαφέρουν μεταξύ τους διότι όπως φαίνεται και στον πίνακα 32 ισχύει $F > F_{critical}$ και $p < 0,05$.

Πίνακας 32. Ανάλυση διακύμανσης κατά ένα παράγοντα των μέσων όρων των ζωνών αναστολής της απομόνωσης Pss3.

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	490,449333	4	122,612333	39,501396	4,26E-06	3,47804969
Within Groups	31,04	10	3,104			
Total	521,489333	14				

Στην συνέχεια με σκοπό να προσδιοριστεί ποιες ομάδες είναι αυτές που διαφέρουν μεταξύ τους πραγματοποιήθηκε Tukey HSD test και με αυτόν το τρόπο ομαδοποιήθηκαν οι μέσοι όροι των ζωνών αναστολής και προσδιορίστηκε ποιοι έχουν σημαντικές στατιστικές διαφορές μεταξύ τους. Όσες ομάδες δίνουν $q > q_{critical}$ διαφέρουν στατιστικά μεταξύ τους. Το $q_{critical}$ είναι 4,654 όπως προκύπτει από τον πίνακα 1, δεδομένου ότι $k=5$ (τέσσερα αιθέρια έλαια και ο

μάρτυρας) και το df (within groups) είναι 10. Οι ομάδες αυτές παρουσιάζονται στον πίνακα 34 με έντονο κίτρινο χρωματισμό.

Πίνακας 33. Ομαδοποίηση των μέσων όρων αναστολής της απομόνωσης Pss3 και η διαφορά τους κατά ομάδες. Όπου control: μάρτυρας, I: κέδρος, II: ευκάλυπτος, VI: γαρύφαλλο, VII: ρίγανη.

	Control	I	II	VI	VII
Control	x				
I	5,1666667	x			
II	16,8333333	11,6666667	x		
VI	11,5333333	6,3666667	5,3	x	
VII	7	1,83333333	9,83333333	4,53333333	x

Πίνακας 34. Υπολογισμός τυπικού σφάλματος (SE) και της τιμής q στην απομόνωση Pss3.

Ομάδες	SE	q
C-I	1,01718566	5,07937427
C-II	1,01718566	16,5489291
C-VI	1,01718566	11,3384742
C-VII	1,01718566	6,88173288
I-II	1,01718566	11,4695548
I-VI	1,01718566	6,2590999
I-VII	1,01718566	1,80235861
II-VI	1,01718566	5,21045489
II-VII	1,01718566	9,66719619
VI-VII	1,01718566	4,45674129

4. Συζήτηση

Η καρκίνωση της ελιάς και το βακτηριακό κάψιμο των μηλοειδών είναι δύο ασθένειες που έχουν μεγάλη οικονομική σημασία στην χώρα μας, διότι η καταπολέμηση τους είναι δύσκολη. Τα αντιβιοτικά είναι αποτελεσματικά έναντι των βακτηρίων, παρόλα αυτά δεν επιτρέπεται η χρήση τους στην Ελλάδα όπως και σε όλες τις χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης (Dagher et al. 2020). Επομένως, η εύρεση άλλων τρόπων αντιμετώπισης είναι αναγκαία. Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει μελέτες που αφορούν τις χημικές ιδιότητες των αιθέριων ελαίων διαφόρων φυτών. Τα αποτελέσματα μερικών αιθέριων ελαίων έναντι βακτηρίων ήταν ικανοποιητικά (Luis et al. 2016, Habbadi et al. 2018, Grulová et al. 2020).

Στην παρούσα μελέτη έγιναν δοκιμές εφτά αιθέριων ελαίων έναντι των βακτηρίων *Erwinia amylovora* και *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*. Στην μελέτη επίδρασης των αιθέριων ελαίων στο βακτήριο *Erwinia amylovora* με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με την χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού, τα περισσότερα αιθέρια έλαια ανέπτυξαν ζώνη αναστολής της ανάπτυξης του βακτηρίου. Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης ήταν αυτό που έδωσε τα πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα με μέσο όρο ζώνη αναστολής 30,3mm, 29,7mm και 20,7mm στις απομονώσεις E16, E3, E10 αντίστοιχα. Οι Mehdizadeh et al. (2018) σε πείραμα τους χρησιμοποίησαν το αιθέριο έλαιο της ρίγανης (*Origanum vulgare* subsp. *viride*) έναντι βακτηρίων και τα αποτελέσματα για την *E. amylovora* ήταν ικανοποιητικά. Αμέσως μετά το αιθέριο έλαιο της ρίγανης ακολουθεί αυτό του γαρυφάλλου με μέσο όρο ζώνης αναστολής 20,3mm, 20,3mm και 14mm στις απομονώσεις E16, E3 και E10 αντίστοιχα. Αξιόλογα αποτελέσματα έδωσαν και τα αιθέρια έλαια δάφνης και ευκαλύπτου με μέσο όρο ζώνης αναστολής του αιθέριου ελαίου δάφνης 18,7mm, 18,3mm, 14mm και του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου 15,7mm, 13,3mm, 13,7mm στις απομονώσεις E16, E3 και E10 αντίστοιχα. Τέλος το αιθέριο έλαιο του κέδρου ήταν το μοναδικό που έδωσε καθόλου ή μικρές ζώνες αναστολής σε όλες τις απομονώσεις του βακτηρίου. Σε πειραματικές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στις ίδιες απομονώσεις E3 και E10 χρησιμοποιήθηκαν διάφορες συγκεντρώσεις πενικιλίνης και στρεπτομυκίνης. Η μεγαλύτερη συγκέντρωση της πενικιλίνης (250μg) έδωσε μέσο όρο ζώνη αναστολής του βακτηρίου 19mm και 14,5mm για τις απομονώσεις E3 και E10 αντίστοιχα, ενώ η μεγαλύτερη συγκέντρωση της στρεπτομυκίνης (50μg) έδωσε μέσο όρο ζώνη αναστολή για τις δύο συγκεντρώσεις 18mm και 15,3mm (Ρουμελιώτη 2021). Το γεγονός αυτό δείχνει ότι τα αιθέρια έλαια έχουν εξίσου

ικανοποιητικά αποτελέσματα με την πενικιλίνη και την στρεπτομυκίνη στις δύο αυτές απομονώσεις, με το αιθέριο έλαιο της ρίγανης να προκαλεί αρκετά μεγαλύτερη ζώνη αναστολής του βακτηρίου από τα αντιβιοτικά.

Στην μελέτη επίδρασης των αιθέριων ελαίων στο βακτήριο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* με χρήση διηθητικού δίσκου, τα αιθέρια έλαια που είχαν τα πιο ικανοποιητικά αποτελέσματα ήταν αυτά της ρίγανης και του ευκαλύπτου. Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης έδωσε μέσο όρο ζώνη αναστολής 11,5mm, 10,7mm, 10,7mm στις απομονώσεις Pss3, Pss10 και Pss1 αντίστοιχα. Σε αντίστοιχη μελέτη όπου χρησιμοποιήθηκε η ρίγανη (*Origanum vulgare*) σε διάφορα βακτήρια έδειξε ότι δημιουργείται ζώνη αναστολής στο βακτήριο Pss σε συγκέντρωση 10,000ppm (Grulova et al.2020). Στην παρούσα μελέτη το αιθέριο έλαιο του ευκαλύπτου ανέπτυξε ζώνη αναστολής με μέσο όρο 11,3mm, 11mm, 10,3mm για τις απομονώσεις Pss3, Pss10 και Pss1 αντίστοιχα. Ενώ το αιθέριο έλαιο της αρκεύθου ήταν το μοναδικό που έδωσε καθόλου η μικρή ζώνης αναστολής και στις 3 απομονώσεις. Σε σχετική μελέτη που πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες απομονώσεις με διάφορες συγκεντρώσεις πενικιλίνης και στρεπτομυκίνης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η μεγαλύτερη συγκέντρωση της πενικιλίνης (250μg) για τις απομονώσεις Pss3, Pss10, Pss1 έδωσε ζώνες αναστολής με μέσο όρο 23mm, 15,7mm και 19,3mm αντίστοιχα, ενώ η μέγιστη συγκέντρωση της στρεπτομυκίνης (50μg) 27,3mm, 26,5mm 27,7mm αντίστοιχα (Ρουμελιώτη 2021). Σε μία άλλη μελέτη όπου χρησιμοποιήθηκαν διάφορα αιθέρια έλαια σε γένος *Pseudomonas* διαπιστώθηκε ότι τα αιθέρια έλαια δεν είχαν την αναμενόμενη αναστολή ανάπτυξης (Chao et al. 2011). Το γεγονός ότι τα αιθέρια έλαια δεν ανέπτυξαν το ίδιο καλά αποτελέσματα όπως στο βακτήριο *E.amylovora*, πιθανόν οφείλεται στην ικανότητα των ειδών του γένους *Pseudomonas* να μεταβολίζουν ένα μεγάλο εύρος οργανικών ουσιών (Stanier et al. 1966). Επιπλέον σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα παρατηρήθηκε ότι και τα δύο παθογόνα δεν εμφάνισαν ευαισθησία σε αιθέρια έλαια με προέλευση από κωνοφόρα φυτά (άρκευθος, κέδρος).

Στην μελέτη επίδρασης αιθέριων ελαίων με την χρήση βοθρίων στην απομόνωση E16 του βακτηρίου *E. amylovora*, και τα τέσσερα αιθέρια έλαια έδωσαν καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με την μέθοδο διάχυσης σε άγαρ με την χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού. Σε αυτήν την περίπτωση το αιθέριο έλαιο κυπαρισσιού έδωσε μέσο όρο αναστολής 26mm, ενώ τα αιθέρια έλαια του ευκαλύπτου, της αρκεύθου και του κέδρου έδωσαν μέσο όρο

ζώνες αναστολής 24,7mm, 18,7mm, 10,3mm αντίστοιχα. Όπως και στην *E. amylovora* έτσι και στην απομόνωση PSS3 του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* τα αιθέρια έλαια σχημάτισαν μεγαλύτερες ζώνες αναστολής σε σχέση με την μέθοδο με την χρήση δισκίων διηθητικού χαρτιού. Συγκεκριμένα το αιθέριο έλαιο του ευκάλυπτου σχημάτισε ζώνη αναστολής 22,8mm ενώ τα αιθέρια έλαια του γαρυφάλλου της ρίγανης και του κέδρου έδωσαν ζώνη αναστολής με μέσο όρο 17,5mm 13mm και 11,2mm αντίστοιχα. Οι διαφορές στις ζώνες αναστολής μεταξύ των δύο μεθόδων πιθανόν οφείλεται στο γεγονός ότι στην μέθοδο με την χρήση βοθρίων προστέθηκε μεγαλύτερη ποσότητα αιθέριων ελαίων.

Από τα συνολικά αποτελέσματα των πειραματικών δοκιμών παρατηρείται πως εκτός από τις διαφορές στην ανάπτυξη ζωνών αναστολής των δύο βακτηρίων μεταξύ ίδιων ελαίων υπάρχουν διαφορές και μεταξύ των απομονώσεων του ίδιου βακτηρίου. Το φαινόμενο αυτό οδηγεί στην ανάγκη για την δοκιμή περισσότερων απομονώσεων του ίδιου παθογόνου ώστε να υπάρχει μία πιο ολοκληρωμένη εικόνα για το αν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ως προς την χρήση συγκεκριμένων αιθέριων ελαίων μεταξύ των διάφορων απομονώσεων.

5. Συμπεράσματα

Τα συμπεράσματα που προκύπτουν ύστερα από την ολοκλήρωση της συγκεκριμένης πτυχιακής διατριβής είναι τα εξής:

1. Συγκρίνοντας τα δύο βακτήρια και την δράση των αιθέριων ελαίων σε αυτά η *Erwinia amylovora* ήταν περισσότερο ευαίσθητη σε σχέση με το *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*.
2. Υπάρχουν στατιστικώς διαφορές μεταξύ των απομονώσεων του ίδιου βακτηρίου ως προς την δράση των αιθέριων ελαίων.
3. Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης ήταν αυτό με την αποτελεσματικότερη δράση στην *E. amylovora*, ενώ στο *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* το αιθέριο έλαιο του ευκάλυπτου είχε την καλύτερη δράση με μικρή διαφορά στις ζώνες αναστολής σε σύγκριση με το αιθέριο έλαιο της ρίγανης στο ίδιο παθογόνο.
4. Τα αιθέρια έλαια τα οποία προέρχονται από κωνοφόρα φυτά (κέδρος, άρκευθος) δεν ήταν αποτελεσματικά ως προς κανένα από τα δύο βακτήρια.
5. Συγκρίνοντας τις δύο διαφορετικές μεθόδους διάχυσης του αιθέριου ελαίου στο άγαρ, αυτή με την χρήση βοθρίων έδωσε καλύτερα αποτελέσματα σε σχέση με αυτή με την χρήση διηθητικών δίσκων. Σε αυτήν την περίπτωση χρειάζεται περαιτέρω διερεύνηση ώστε να διαπιστωθεί αν τα παραπάνω αποτελέσματα οφείλονται αποκλειστικά στην χρήση μεγαλύτερης ποσότητας αιθέριου ελαίου.
6. Τα αιθέρια έλαια της δάφνης, του γαρυφάλλου και της ρίγανης εκτός από την καθαρή ζώνη αναστολής ανέπτυξαν και μία ζώνη περιορισμένης ανάπτυξης σε όλες τις απομονώσεις του *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και στις δύο μεθόδους ως προς την διάχυση του αιθέριου ελαίου στο άγαρ. Το φαινόμενο αυτό θα μπορούσε να εξεταστεί μελλοντικά περαιτέρω για να διαλευκανθεί τι το προκαλεί.
7. Απαραίτητη κρίνεται η δοκιμή περισσότερων απομονώσεων των παθογόνων με συγκεκριμένα αιθέρια έλαια ώστε να διαπιστωθούν οι πραγματικές στατικές διαφορές μεταξύ αυτών.

6. Βιβλιογραφία

6.1. Ξενόγλωσση Βιβλιογραφία

Abou-Jawdah Y., Sobh H., Salameh A., 2002. Antimycotic Activities of Selected Plant Flora, Growing Wild in Lebanon, against Phytopathogenic Fungi. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 3208-3213.

Abriouel H., Omar N.B., Cobo Molinos A., López R.L., Grande M.J., Martínez-Viedma P., Ortega E., Martínez Cañamero M., Galvez A., 2008. Comparative analysis of genetic diversity and incidence of virulence factors and antibiotic resistance among enterococcal populations from raw fruit and vegetable foods, water and soil, and clinical samples. *International Journal of Food Microbiology*, 123:38–49.

Aćimović M.G., Oljača S.I., Tešević V.V., Todosijević M.M., Djisalov J.N., 2014. Evaluation of caraway essential oil from different production areas of Serbia. *Hort. Sci. (Prague)*, 41: 122–130.

Adaskaveg J. E., Hine R. B., 1985. Copper tolerance and zinc sensitivity of Mexican strains of *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, causal agent of bacterial spot of pepper. *Plant Disease*, 69:993-996.

Agrios G.N., 2005. Fire Blight of Pear and Apple. In: *Plant pathology 5th ed.* Dana Dreibelbis Publisher, USA, pp. 641-647.

Ait-Ouazzou A., Loran S., Bakkali M., Laglaoui A., Rota C., Antonio Herrera A., Pagana R., Pilar Conchello P., 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils of *Thymus algeriensis*, *Eucalyptus globulus* and *Rosmarinus officinalis* from Morocco. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 2643–2651.

Alkurdi M.I.S., Supuka J., 2015. Assessment of *Cupressus sempervirens* L. Hardiness through Carbohydrates and Pigments Content in the Leaves. *Acta Scientiarum Polonorum Formatio Circumiectus*, 14:3–16.

Allen, D., Hatfield, G., 2004. *Medicinal Plants in Folk Tradition, An Ethnobotany of Britain and Ireland.* Timber Press, Cambridge., pp. 65-66.

Al-Snafi A.E., 2018. Medical Importance of *Juniperus communis* - A Review. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 05:1779-1792.

Alves T.J.S., Murcia A., Wanumen A.C., Wanderley-Teixeira V., Teixeira A.A.C., Antonio Ortiz A., Medina P., 2018. Composition and Toxicity of a Mixture of Essential Oils Against Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 112:164–172.

Andersen G. L., Menkissoglou O., Lindow S. E., 1991. Occurrence and properties of copper-tolerant strains of *Pseudomonas syringae* isolated from fruit trees in California. *Phytopathology*, 81:648-656.

Arabaci T., Celenk S., Ozcan T., Martin E., Yazici T., Acar M., Uzel D., Dirmenci T., 2021. Homoploid hybrids of *Origanum* (Lamiaceae) in Turkey: morphological and molecular evidence for a new hybrid. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing With All Aspects Of Plant Biology.*, 155:470–482.

Asgharian P., Afshar F.H., Asnaashari S., Moghaddam S.B., Delazar A., 2016. The Seasonal Variations of the Chemical Composition of Essential Oil Obtained From *Scrophularia frigida*. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products.*, 11: e29742.

Atmani-Merabet G., Belkhir A., Dems M.A., Lalaouna A., Khalfaoui Z., Mosbah B., 2018. Chemical composition, toxicity, and acaricidal activity of *Eucalyptus globulus* essential oil from Algeria. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, 31:89-93.

Baker K.F., 1971. Fire Blight of Pome Fruits: the Genesis of the Concept that Bacteria can be Pathogenic to Plants. *A Journal of Agricultural Science*, 40:603-633.

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46:446–475.

Bagamboula C.F., Uyttendaele M., Debevere J., 2004. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards *Shigella sonnei* and *S. flexneri*. *Food Microbiology*, 21:33–42.

Banarase N.B., Kaur C.D., 2021. Economically viable isolation and characterization of oleanolic acid from *Eugenia caryophyllus* (Spreng.). *Kuwait Journal of Science.*, 48:78-86.

Bantleon G., Scheer C., Hartung K., & Ralf T. Voegelé R.T., 2021. Extensive efficacy tests of non-antibiotic fire blight control agents. *Journal of Plant Pathology*, 103:155–165.

Basim E., Basim H., 2004. NOTE: Evaluation of Antibacterial Activity of Essential Oil of *Rosa damascena* on *Erwinia amylovora*. *Phytoparasitica*, 32:409-412.

Behiry S.I., EL-Hefny M., Salem M.Z.S., 2020. Toxicity effects of *Eriocephalus africanus* L. leaf essential oil against some molecularly identified phytopathogenic bacterial strains. *Natural Product Research*, 34:3394-3398.

Benali T., Bouyahya A., Habbadi K., Zengin G., Khabbach A., Achbani E.H., Hammani K., Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil and extracts of *Cistus ladaniferus* subsp. *ladanifer* and *Mentha suaveolens* against phytopathogenic bacteria and their ecofriendly management of phytopathogenic bacteria. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* 28: 101696.

- Ben Jemâa J.M., Tersim N., Toudert K.T., Khouja M.L., 2012. Insecticidal activities of essential oils from leaves of *Laurus nobilis* L. from Tunisia, Algeria and Morocco, and comparative chemical composition. *Journal of Stored Products Research*, 48:97-104.
- Billing E., Baker L.A.E., Crosse J.E., Garrett C.M.E., 1961. Characteristics of English Isolates of *Erwinia amylovora* (Burrill) *Journal of Applied Bacteriology*. 24: 195-211.
- Bogdanov S., 2006. Contaminants of bee products. *Apidologie*, 37:1–18.
- Boucekouk C., Kara F.Z., Tail G., Saidi F., Benabdelkader T., 2019. Essential oil composition and antibacterial activity of *Pteridium aquilinum* (L.) Kuhn. *Biologia Futura*, 70: 56–61.
- Bozkurt İA, Soylu S, Kara M, Soylu EM 2020. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Essential Oils Isolated from Medicinal Plants against Gall Forming Plant Pathogenic Bacterial Disease Agents. *KSU J. Agric Nat* 23, 6: 1474-1482.
- Brasse D., 2001. Stellungnahme der BBA zum Streptomycin-Problem. Teil 2: Bewertung der Rückstandswerte im Honig, *Allgemeine Deutsche Imkerzeitung*, 35: 24–25.
- Burt S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223– 253.
- Caparrotta S., Comparini D., Marone E., Kimmenfield R., Luzziatti L., Taiti C., Mancuso S., 2019. Correlation between VOC fingerprinting and antimicrobial activity of several essential oils extracted by plant resins against *A. tumefaciens* and *P. savastanoi*. *Flavour and Fragrance Journal*, 34:377–387.
- Caputo L., Nazzaro F., Souza L.F., Aliberti L., De Martino L., Fratianni F., Coppola R., De Feo V., 2017. *Laurus nobilis*: Composition of Essential Oil and Its Biological Activities. *Molecules*, 22, 930.
- Carson F.C. and Hammer A.K., 2011. Chemistry and Bioactivity of Essential Oils. In: *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*, John Wiley and Sons (Ltd.) Publishers, United Kingdom, pp. 203-238.
- Cazorla F. M., Arrebola E., Sesma A., Pérez-García A., Codina J. C., Murillo J., de Vicente A. 2002. Copper resistance in *Pseudomonas syringae* strains isolated from mango is encoded mainly by plasmids. *Phytopathology*, 92:909-916.
- Chao S.C., Young D.G., Oberg C.J., 2011. Screening for Inhibitory Activity of Essential Oils on Selected Bacteria, Fungi and Viruses. *Journal of Essential Oil Research*, 12:639-649.
- Cheddadi R., Fady B., Francois L., Hajar L., Suc J.P., Huang K., Demarteau M., Vendramin G.G., Ortu E., 2009. Putative glacial refugia of *Cedrus atlantica* deduced from Quaternary pollen records and modern genetic diversity. *Journal of Biogeography*, 36:1361–1371.

- Chiriac I.P., Ulea E., 2012. Antibacterial Activity of Some Plant Extracts and Different Pesticides against *Erwinia amylovora* (Burrill.) Winslow et al. Strain Isolated from a Nursery Stock. *Research Journal of Agricultural Science*, 44: 19-23.
- Chyau C.C., Tsai S.Y., Yang J.H., Weng C.C., Han C.M., Shih C.C., Mau J.L., 2007. The essential oil of *Glossogyne tenuifolia*. *Food Chemistry*, 100:808–812.
- Costa G., Andreotti C., Bucchi F., Sabatini E., Bazzi C., Malaguti S., 2001. Prohexadione-Ca (Apogee®): Growth Regulation and Reduced Fire Blight Incidence in Pear. *Hortscience*, 36:931–933.
- Dagher F., Olishavska S., Phillion V., Zheng J., Deziel E., 2020. Development of a novel biological control agent targeting the phytopathogen *Erwinia amylovora*. *Heliyon*, 6: e05222.
- Dakir M., Hanbali F.EL., Mellouki F., Akssira M., Benharref A., Quilez Del Moral J.F., Barrero A.F., 2005. Antibacterial diterpenoids from *Cedrus atlantica*. *Natural Product Research*, 19:719–722.
- Damjanović-Vratnica B., Đakov T., Šuković D., Jovanka Damjanović J., 2011. Antimicrobial Effect of Essential Oil Isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. *Czech Journal of Food Sciences*, 3: 277–284.
- Darshan S., Doreswamy R., 2004. Patented Antiinflammatory Plant Drug Development from Traditional Medicine. *Phytotherapy Research*, 18, 343–357.
- Derwich E., Benziane Z., Boukir A., 2010. Chemical Composition and In Vitro Antibacterial Activity of the Essential Oil of *Cedrus atlantica*. *International Journal of Agriculture & Biology*, 12: 381-385.
- de Siqueira Mota V., Turrini R.N.T., de Brito Poveda V., 2015. Antimicrobial activity of *Eucalyptus globulus* oil, xylitol and papain: a pilot study. *Revista da Escola Enfermagem da USP* · 2015, 49:215-219.
- El Hamrouni-Aschi K., Khouja M.L., Boussaid M., Akrimi N., Toumi L., 2013. Essential-Oil Composition of the Tunisian Endemic Cypress (*Cupressus sempervirens* L. var. *numidica* Trab.). *Chemistry & Biodiversity* 10:989-1003.
- Fayed S.A., 2015. Chemical Composition, Antioxidant, Anticancer Properties and Toxicity Evaluation of Leaf Essential Oil of *Cupressus sempervirens*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 43:320-326.
- Fidah A., Salhi N., Rahouti M., Kabouchi B., Ziani M., Aberchane M. and Famiri A., 2016. Natural durability of *Cedrus Atlantica* wood related to the bioactivity of its essential oil against wood decaying fungi. *Ciencia y Tecnologia*, 18: 567–576.

Fukuyama N., Ino C., Suzuki Y., Kobayashi N., Hamamoto H., Sekimizu K., Orihara Y., 2011. Antimicrobial sesquiterpenoids from *Laurus nobilis* L. *Natural Product Research*, 25:1295–1303.

Gardan L., Bollet C., Abu Ghorrah M., Grimont F., Grimont P.A.D., 1992. DNA Relatedness among the Pathovar Strains of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* Janse (1982) and Proposal of *Pseudomonas savastanoi* sp. nov. *International Journal Of Systematic Bacteriology*, 42:606-612.

Garrity G.M., Bell J.A., Lilburn T., 2005. The Revised Road Map to the Manual. In: *Bergey's Manual of Systemic Bacteriology*. Vol. 2. Michigan State University, USA, pp. 159-220.

Goldbeck J.C., do Nascimento J.E., Jacob R.G., Fiorentini A.M., da Silva W.P., 2014. Bioactivity of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus urograndis* against planktonic cells and biofilms of *Streptococcus mutans*. *Industrial Crops and Products*, 60:304-309.

Goliaris A., Chatzopoulou P., Katsiotis S., 2002. Production of new Greek Oregano clones and analysis of their essential oils. *Journal of Herbs*, 10:29-35.

Grulová D., Caputo L., Elshafie H.S., Baranová B., De Martino L., Sedlák V., Gogalová Z., Poráčová J., Camele I., De Feo V., 2020. Thymol Chemotype *Origanum vulgare* L. Essential Oil as a Potential Selective Bio-Based Herbicide on Monocot Plant Species. *Molecules*, 25:595.

Habbadi K., Meyer T., Vial L., Vincent Gaillard V., Rachid Benkirane R., Benbouazza A., Kerzaon I., Achbani E., Lavire C., 2017. Essential oils of *Origanum compactum* and *Thymus vulgaris* exert a protective effect against the phytopathogen *Allorhizobium vitis*. *Environmental Science and Pollution Research*, 25:29943–29952.

Nasukhova N.M., Logvinenko L.A., Kharchenko A.L., Konovalov D.A., 2017. Biologically Active Substances of the *Laurus Nobilis* Leaves. *Pharmacy & Pharmacology*, 3:200-221.

Hall B.H, Cother E.J., Whattam M., Noble D., Luck J., Cartwright D., 2004. First report of olive knot caused by *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* on olives (*Olea europaea*) in Australia. *Australasian Plant Pathology*, 33: 433–436.

Hemalatha R., Nivetha P., Mohanapriya C., Sharmila G., Muthukumaran C., Gopinath M., 2016. Phytochemical composition, GC-MS analysis, in vitro antioxidant and antibacterial potential of clove flower bud (*Eugenia caryophyllus*) methanolic extract. *Association of Food Scientists & Technologists*, 53:1189–1198.

Iacobellis N.S., Sisto A., Surico G., Evidfnte A., Dimaio E., 1994. Pathogenicity of *Pseudomonas syringae* subsp. *savastanoi* Mutants Defective in Phytohormone Production. *Journal of Phytopathology*, 140:238-248.

Ishnava K.B., Chauhan J.B., Barad M.B., 2013. Anticariogenic and phytochemical evaluation of *Eucalyptus globules* Labill. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20:69-74.

Jirovetz L., Buchbauer G., Stoilova I., Stoyanova A., Krastanov A., Schmidt E., 2006. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Clove Leaf Essential Oil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 54:6303-6307.

Keil H.L., Van Der Zwet T., 1972. Recovery of *Erwinia amylovora* from Symptomless Stems and Shoots of Jonathan Apple and Bartlett Pear Trees. *Phytopathology*, 62: 39-42.

Khan A.M., Zhao Y, Korban S.S., 2012. Molecular mechanisms of pathogenesis and resistance to the bacterial pathogen *Erwinia amylovora*, causal agent of fire blight disease in Rosaceae. *Plant Molecular Biology Reporter* 30: 247-260.

Kilic A., Altuntas E., 2006. Wood and bark volatile compounds of *Laurus nobilis* L. *Holz als Roh- und Werkstoff*, 64: 317–320.

Kokkini S., 1996. Taxonomy, diversity and distribution of *Origanum*. In: Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research. Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute. pp. 8-12.

Kosakowska O., Weglarz Z., Pióro-Jabrucka E., Przyby J.L., Krasniewska K., Gniewosz M., Baczek K., 2021. Antioxidant and Antibacterial Activity of Essential Oils and Hydroethanolic Extracts of Greek Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *hirtum* (Link) Ietswaart) and Common Oregano (*O. vulgare* L. subsp. *vulgare*). *Molecules*, 26:988.

Koundal R., Kumar A., Thakur S., Agnihotri V.K., Chand G., Rakesh D., Singh R.D., 2015. Seasonal variation in phytochemicals of essential oil from *Juniperus communis* needles in western Himalaya. *Journal of Essential Oil Research*, 27:406–411.

Lamiri A., Lhaloui S., Benjihali B., Berrada M., 2001. Insecticidal effects of essential oils against Hessian fly, *Mayetiola destructor* (Say). *Fields Crops Research*, 1:9-15.

Linares C.J, Taïqui L, Camarero J.J., 2011. Increasing Drought Sensitivity and Decline of Atlas Cedar (*Cedrus atlantica*) in the Moroccan Middle Atlas Forests. *Forests*, 2:777-796.

Lombrea A., Antal D., Ardelean F., Avram S., Pavel I.Z., Vlaia L., Mut A.M., Diaconeasa Z., Dehelean C.A., Soica C., Danciu C., 2020. A Recent Insight Regarding the Phytochemistry and Bioactivity of *Origanum vulgare* L. Essential Oil. *International Journal of Molecular Science*, 21:9653.

Luís A., Duartea A., Gominho J., Domingues F., Duartea A.P., 2016. Chemical composition, antioxidant, antibacterial and anti-quorum sensing activities of *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus radiata* essential oils. *Industrial Crops and Products*, 79:274-282.

Man A., Gâz A.S., Mare A.D., Berța L., 2017. Effects of low-molecular weight alcohols on bacterial viability. *Revista Română de Medicină de Laborator*, 25: 335-343.

- Man A., Santacroce L., Jacob R., Mare A., Man L., 2019. Antimicrobial Activity of Six Essential Oils Against a Group of Human Pathogens: A Comparative Study. *Pathogens*, 1-11.
- Marchi G., Mori B., Pollacci P., Mencuccini M., Surico G., 2009. Systemic spread of *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* in olive explants. *Plant Pathology* 58: 152–158.
- Marti R., Scott A., Tien Y.C., Murray R., Sabourin L., Zhang Y., Toppa E., 2013. Impact of Manure Fertilization on the Abundance of Antibiotic Resistant Bacteria and Frequency of Detection of Antibiotic Resistance Genes in Soil and on Vegetables at Harvest. *Applied and Environmental Microbiology*, 79: 5701–5709.
- Martins F.D., Emer A.A., Batisti P.A., Donatello N., Carlesso G.M., Mazzardo-Martins L., Venzke D., Micke A.G., Pizzolatti G.M., Piovezan A.P., A.R.S.dosSantos, 2015. Inhalation of *Cedrus atlantica* essential oil alleviates pain behavior through activation of descending pain modulation pathways in a mouse model of postoperative pain. *Journal of Ethnopharmacology*, 175:30–38.
- Marzouki H., Piras A., Bel Haj Salah K., Medini H., Pivetta T., Bouzid S., Marongiu B., Falconieri D., 2009. Essential oil composition and variability of *Laurus nobilis* L. growing in Tunisia, comparison and chemometric investigation of different plant organs. *Natural Product Research*, 23:343–354.
- Mascolo N., Autore G., Capasso F., Menghini A., Fasulo M.P., 1987. Biological screening of Italian medicinal plants for anti-inflammatory activity. *Phytotherapy Research*, 1:28–31.
- Matos L.F., e Silva Barbosa D.R., da Cruz Lima E., de Andrade Dutra K., do Amaral Ferraz Navarro D.M., Alves J.L.R., Silva G.N., 2020. Chemical composition and insecticidal effect of essential oils from *Illicium verum* and *Eugenia caryophyllus* on *Callosobruchus maculatus* in cowpea. *Industrial Crops & Products*, 145:112088.
- Mattarelli P., Epifano F., Minardi P., Di Vito M., Modesto M., Barbanti L., Bellardi M.G., 2017. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oils from Aerial Parts of *Monarda didyma* and *Monarda fistulosa* Cultivated in Italy. *Journal of Essential Oil Bearing Plants. TEOP*, 20:76 – 86.
- Mazari K., Bendimerad N., Bekhechi C., Fernandez X., 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L. and *Cupressus sempervirens* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 4:959-964.
- McManus P.S., Jones A.L., 1994. Epidemiology and Genetic Analysis of Streptomycin-Resistant *Erwinia amylovora* from Michigan and Evaluation of Oxytetracycline for Control. *Ecology and Epidemiology*, 84:627-633.
- Mehdizadeh L., Najafgholi H.M., Biouki R.Y., Moghaddam M., 2018. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Origanum vulgare* subsp. *viride* Essential Oils Cultivated in Two Different Regions of Iran. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 21: 1062 – 1075.

Memarzadeha S.M., Gholamia A., Pirbaloutib A.G., Masouma S., 2020. Bakhtiari savory (*Satureja bachtiarica* Bunge.) essential oil and its chemical profile, antioxidant activities, and leaf micromorphology under green and conventional extraction techniques. *Industrial Crops & Products*, 154:112719.

Nguyen K.A., Förster H., Adaskaveg J.E., 2017. Quaternary Ammonium Compounds as New Sanitizers for Reducing the spread of the Olive Knot Pathogen on Orchard Equipment, *Plant Disease*, 101: 1188-1193.

Norelli J.L., Jones A.L., Aldwinckle H.S., 2003. Fire Blight Management in the Twenty-first Century Using New Technologies that Enhance Host Resistance in Apple. *Plant Disease*, 87:756-765.

Okla M.K., Alamri S.A., Salem M.Z.M., Ali H.M., Behiry S.I., Nasser R.A., Alaraidh I.A., Al-Ghtani S.M., Soufan W., 2019. Yield, Phytochemical Constituents, and Antibacterial Activity of Essential Oils from the Leaves/Twigs, Branches, BranchWood, and Branch Bark of Sour Orange (*Citrus aurantium* L.). *Processes*, 7: 363.

Özcan B., Esen M., Sangun M., Coleri A., Caliskan M., 2010. Effective antibacterial and antioxidant properties of methanolic extract of *Laurus nobilis* seed oil. *Journal of Environmental Biology*, 31:637-641.

Paster N., Juven B.J., Shaaya E., Menasherov M., Nitzan R., Weisslowicz H., U. Ravid U., 1990. Inhibitory effect of oregano and thyme essential oils on moulds and foodborne bacteria. *Letters in Applied Microbiology*, 11:33-37.

Petkova Z., Stefanova G., Girova T., Antova G., Stoyanova M., Damianova S., Gochev V., Stoyanova A., Zheljazkov V.D., 2019. Phytochemical Investigations of Laurel Fruits (*Laurus nobilis*). *Natural Product Communications*, pp.1–10.

Pezzani R., Vitalini S., Iriti M., 2017. Bioactivities of *Origanum vulgare* L.: an update. *Phytochem Rev.*, 16:1253–1268.

Queiroz T.B., de Jesus Pereira N.N., Silva J.C.R.L., da Fonseca F.S.A., Martins E.R., 2017. Influence of water regime on initial growth and essential oil of *Eucalyptus globulus*. *Ciência Rural*, Santa Maria, v.47: 03, e20150530.

Rahi Y.J., Turco S., Taratufolo M.C., Tati M., Cerboneschi M., Tegli S., Valentini F., D'Onghia A., Iacobellis N.S., Balestra G.M., Mazzaglia A., 2020. Genetic diversity and population structure of *Pseudomonas savastanoi*, an endemic pathogen of the Mediterranean area, revealed up to strain level by the MLVA assay. *Journal of Plant Pathology*, 102: 1051-1054.

Raina R., Verma P.K., Peshin R., Kour H., 2019. Potential of *Juniperus communis* L as a nutraceutical in human and veterinary medicine. *Heliyon* 5, e02376

Ramos C., Matas I.M., Bardaji L., Aragoni I.M., Murillo J., 2012. *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: some like it knot. *Molecular Plant Pathology*, 13:998–1009.

Ramos C., Teixeira B., Batista I., Matos O., Serrano C., Neng N.R., Nogueira J.M.F., Nunes M.L., Marques A., 2011. Antioxidant and antibacterial activity of essential oil and extracts of bay laurel *Laurus nobilis* Linnaeus (Lauraceae) from Portugal. *Natural Product Research*, 26:518–529.

Reda E.H., Abdel Shakour Z.T., El-Halawany A.M., El-Kashoury E.A, Shams K.A., Mohamed T.A., Saleh I., Elshamy A.I., Atia M.A., El-Beih A.A., Abdel-Azim N.S., El-Seedi H.R., Hegazy M.F., 2021. Comparative Study on the Essential Oils from Five Wild Egyptian *Centaurea* Species: Effective Extraction Techniques, Antimicrobial Activity and In-Silico Analyses. *Antibiotics*, 10:252.

Rguez S., Djébalı N., Slimene I.B., Abid G., Hammemi M., Chenenaoui S., Bachkouel S., Daami-Remadi M., Ksouri R., Hamrouni-Sellami I., 2018. *Cupressus sempervirens* essential oils and their major compounds successfully control postharvest grey mould disease of tomato. *Industrial Crops & Products*, 123:135-141.

Rguez S., Essid R., Adele P., Msaada K., Hammami M., Mkadmini K., Fares N., Tabbene O., Elkahoui S., Portelli D., Ksouri R., Sellami I.H., 2019. Towards the use of *Cupressus sempervirens* L. organic extracts as a source of antioxidant, antibacterial and antileishmanial biomolecules. *Industrial Crops & Products* 131:194-202.

Rhafouri R., Satrani B., Zair T., Ghanmi M., Aafi A., El Omari M., Bentayab A., 2014. Chemical composition. antibacterial and antifungal activities of the *Cedrus atlantica* (Endl.) Manetti seeds essential oils. *Mediterranean Journal of Chemistry*, 3: 1027-1036.

Rizwana H., Al Kubaisi N., Al-Meghailaith N.N., Moubayed N.M.S., Gadah Albasher G., 2019. Evaluation of Chemical Composition, Antibacterial, Antifungal, and Cytotoxic Activity of *Laurus nobilis* L Grown in Saudi Arabia. *J Pure Applied Microbiology*, 13:2073-2085.

Russo M., Suraci F., Postorino S., Serra D., Roccotelli A., Agosteo E.G., 2013. Essential oil chemical composition and antifungal effects on *Sclerotium cepivorum* of *Thymus capitatus* wild populations from Calabria, southern Italy. *Revista Brasileira de Farmacognosia Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 23: 239-248.

Salamon I., Kryvtsova M., Bucko D., Tarawneh A.H., 2019. Chemical Characterization and Antimicrobial Activity of Some Essentials Oils after their industrial Large – Scale Distillation. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science*, 8: 984-988.

Santander R.D., Catala-Senent J.F., Figas-Segura A., Biosca E.G., 2020. From the roots to the stem: unveiling pear root colonization and infection pathways by *Erwinia amylovora*. *FEMS Microbiology Ecology*, 96, fiae210.

Schroth M.N., Osgood J.W., Miller T.D., 1973. Quantitative Assessment of the Effect of the Olive Knot Disease on Olive Yield and Quality. *Phytopathology*, 63: 1064-1065.

Shahmir F., Ahmadi L., Mirza M., Korori S.A.A., 2003. Secretory elements of needles and berries of *Juniperus communis* L. ssp. *communis* and its volatile constituents. *Flavour and Fragrance Journal*, 18: 425–428.

Shin S., 2003. Anti-Aspergillus Activities of Plant Essential Oils and Their Combination Effects with Ketoconazole or Amphotericin B. *Archives of Pharmacal Research*, 26:389-393.

Silvestre A.J.D., Cavaleiro J.& A.S.,1994. The Essential Oil of *Eucalyptus globulus* Labill. from Portugal. *Flavour and Fragrance Journal* Vol., 9:51-53.

Skoufogianni E., Solomou A.D., Danalatos N.G., 2019. Ecology, Cultivation and Utilization of the Aromatic Greek Oregano (*Origanum vulgare* L.): A Review. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 2019, 47(3):545-552.

Soylu E.M., Soylu S., Kurt S., 2006. Antimicrobial activities of the essential oils of various plants against tomato late blight disease agent *Phytophthora infestans*. *Mycopathologia*, 161: 119–128.

Stanier I.Y., Palleroni N.J., Dolidoroft M., 1966. The aerobic pseudonionads: a taxonomic study. *Journal of General Microbiology*, 43: 159-178.

Starr M. P., Mandel M., 1950. The nutrition of phytopathogenic bacteria. IV. Minimal nutritive requirements of the genus *Erwinia*. *Journal of Bacteriology*, 60:669-672.

Stockwell V.O., Duffy B., 2012. Use of antibiotics in plant agriculture. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 31:199-210.

Surico G., Iacobellis N.S., 1992: Phytohormones and olive knot disease. In: VERMA, D. P, S. (Ed), *Molecular Signals in Plant-Microbe Communications*, CCR Press, Boca Raton. pp. 209-227.

Tafifet L., Raio A., Holeva M.C., Dikhai R., Kouskoussa C.O., Cesbron S., Krimi Z., 2020. Molecular characterization of Algerian *Erwinia amylovora* strains by VNTR analysis and biocontrol efficacy of *Bacillus* spp. and *Pseudomonas brassicacearum* antagonists. *European Journal of Plant Pathology*, 156:867–883.

Temple T.N., Thompson E.C., Uppala S., Granatstein D., Johnson K.B., 2020. Floral Colonization Dynamics and Specificity of *Aureobasidium pullulans* Strains Used to Suppress Fire Blight of Pome Fruit. *Plant Disease*, 104: 121-128.

Teviotdale B. L., Krueger W. H. 2004. Effects of timing of copper sprays, defoliation, rainfall, and inoculum concentration on incidence of olive knot disease. *Plant Disease*, 88:131-135.

Tongnuanchan P., Benjakul S., 2014. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*, 79:1231-1249.

Tragoolpua Y., Jatisatienr A., 2007. Anti-herpes Simplex Virus Activities of *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bullock & S. G. Harrison and Essential Oil, *Eugenol*. *Phytotherapy Research*, 21:1153–1158.

Tsiantos J., Psallidas P., Chatzaki A., 2003. Efficacy of alternatives to antibiotic chemicals for the control of fire blight of pears. *Association of Applied Biologists*, 143:319-323.

Van Der Zwet, T., Beer S.V., 1991. Fire blight: Its nature, prevention and control—a practical guide to integrated disease management. *Agriculture information bulletin no. 631*. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C.

Van Der Zwet, T., Keil H., 1979. Fire blight: a bacterial disease of rosaceous plants. U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C.

Wilson E.E., 1935. The olive knot disease: its inception, development and control. *Hilgardia* 9:233–64.

Zhang J., Rahman A.A., Jain S., Jacob M.R., Khan S.I., Tekwani B.L., Ilias M., 2012. Antimicrobial and antiparasitic abietane diterpenoids from *Cupressus sempervirens*. *Research and Reports in Medicinal Chemistry*, 2:1–6.

Zhao Y.Q., Tian Y.L., Wang L.M., Geng G.M., Zhao W.J., Hu B.S., Zhao Y.F., 2019. Fire blight disease, a fast-approaching threat to apple and pear production in China. *Journal of Integrative Agriculture*, 18: 815–820.

Real Statistics Using Excel. (Εικόνα από το διαδίκτυο) <https://www.real-statistics.com/statistics-tables/studentized-range-q-table/> (Πρόσβαση 20 Ιουλίου 2022).

6.2. Ελληνική Βιβλιογραφία

Ζάχος Δ.Γ., 1958. Μία κηλήδωσις των καρπών της ελαίας προκαλούμενη υπό του βακτηρίου *Pseudomonas savastanoi*. *Χρον. Μπενακείου Φυτοπαθ. Ινστ.*, (Ν.Σ.), 1:185-198.

Ζιώγας Β, Μάρκογλου Α, 2017. Γεωργική Φαρμακολογία. Εκδόσεις Greenbooks. Αθήνα, σελ. 115.

Κατσιώτης Σ., Χατζοπούλου Π., 2019. Αρωματικά Φαρμακευτικά Φυτά και Αιθέρια Έλαια. Εκδόσεις Κυριακίδη. Θεσσαλονίκη, σελ 31, 163-164,187-189, 192, 197, 277, 351-352, 361-362, 524-525.

Παναγόπουλος Γ.Χ., 2007. Ασθένειες καρποφόρων δένδρων και αμπέλου. Εκδόσεις Σταμούλη. Αθήνα, σελ. 122-136.

Ρουμελιώτη Α.Μ. 2021. Έλεγχος ευαισθησίας σε αντιβιοτικά απομονώσεων των φυτοπαθογόνων βακτηρίων *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* και *Erwinia amylovora* από περιοχές της Κεντρικής Ελλάδας. Πτυχιακή διατριβή. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.

Τζάμος Ε., 2017. Φυτοπαθολογία. Εκδόσεις Σταμούλη. Αθήνα, σελ. 266-267.

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. <http://www.minagric.gr/syspest/> (Πρόσβαση Νοέμβριος 2021).