



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Σχολή Γεωπονικών Επιστημών

Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού Περιβάλλοντος

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ

ΦΥΤΙΑΤΡΙΚΗ & ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

Δοκιμές *in vitro* ανάπτυξης μυκηλίου και βλάστησης σπορίων
φυτοπαθογόνων μυκήτων παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης (*Origanum
vulgare*)

Μαρμαρά Μητροπούλου Χριστίνα Ειρήνη

Βόλος 2022

Δοκιμές in vitro ανάπτυξης μυκηλίου και βλάστησης σπορίων φυτοπαθογόνων
μυκήτων παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης (*Origanum vulgare*)

Μαρμαρά Μητροπούλου Χριστίνα Ειρήνη

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Βέλλιος Ευάγγελος

Επίκουρος Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας
(Επιβλέπων)

Σφουγγάρης Αθανάσιος

Καθηγητής Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Εργαστήριο Διαχείρισης Οικοσυστημάτων
και Βιοποικιλότητας

Γκορτζή Όλγα

Καθηγήτρια Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, Εργαστήριο Τεχνολογίας και Ελέγχου
Ποιότητας και Ασφάλειας Τροφίμων

Copyright © *ΧΡΙΣΤΙΝΑ Ε. ΜΑΡΜΑΡΜΑ Μ.* , 2022.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

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

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

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Βέλλιο Ευάγγελο για την πολύτιμη βοήθεια και καθοδήγηση κατά την διάρκεια της εκπόνησης της μεταπτυχιακής διατριβής μου, και για την δυνατότητα που μου προσέφερε να δουλέψω και να γνωρίσω τον χώρο του εργαστηρίου και τις δυνατότητες που προσφέρει. Επίσης, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στη κ. Λιολιοπούλου Φεβρωνία, για την σημαντική βοήθεια της και τη συνεχή καθοδήγηση, καθ' όλη την διάρκεια εκτέλεσης του πειράματος. Ακόμα, θερμές ευχαριστίες απευθύνω στον καθηγητή κ. Σφουγγάρη Αθανάσιο για την αρχική συμβολή του στην απόφαση μου να ασχοληθώ με τα αιθέρια έλαια, που αποτέλεσε ιδιαίτερο αντικείμενο ενδιαφέροντος, αλλά και την προσφορά ελαίων που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών «Φυτιατρική και Περιβάλλον» για τις γνώσεις που μου προσέφεραν το διάστημα των σπουδών μου.

Περίληψη

Τα τελευταία χρόνια αναζητούνται εναλλακτικές, ασφαλείς και αποτελεσματικές λύσεις ολοκληρωμένης αντιμετώπισης των φυτοπαθογόνων μυκήτων, έναντι των συμβατικών μυκητοκτόνων, όπως ενώσεις φυτικής προέλευσης, χαμηλής τοξικότητας και χαμηλών υπολειμμάτων. Στην εξυπηρέτηση αυτού του σκοπού, πολλά υποσχόμενες δείχνουν να είναι οι πιθανές εφαρμογές αιθέριων ελαίων. Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή, είχε ως αντικείμενο την αξιολόγηση της ικανότητας των ελαίων *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Juniperus communis*, *Eucalyptus globulus*, *Syzygium aromaticum*, *Laurus nobilis*, *Citrus sinensis*, *Origanum* sp. και *Rosmarinus officinalis*, να αναστείλουν την βλάστηση σπορίων και ανάπτυξη των μυκήτων *Rhizopus stolonifer*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus niger* και *Alternaria* sp. Οι δοκιμές πραγματοποιήθηκαν *in vitro* στο εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, εφαρμόζοντας την μέθοδο τοξικού μέσου σε θρεπτικό υλικό PGA, με τελικές συγκεντρώσεις 0, 100, 1000 και 2500 ppm ελαίων, ενώ ο εμβολιασμός του θρεπτικού μέσου πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο σταγόνας υδατικού αιωρήματος σπορίων. Μακροσκοπικά αλλά και με την χρήση μικροσκοπίου γίναν παρατηρήσεις 24h, 48h και 7 ημέρες μετά την εναπόθεση σπορίων στο θρεπτικό υπόστρωμα. Υψηλή αποτελεσματικότητα έδειξαν τα αιθέρια έλαια *Syzygium aromaticum*, *Laurus nobilis*, και *Origanum* sp. στις υψηλότερες συγκεντρώσεις, αποτρέποντας την βλάστηση των σπορίων όλων των δοκιμασμένων μυκήτων. Τα αιθέρια έλαια από τα φυτά *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Juniperus communis*, *Eucalyptus globulus*, *Citrus sinensis*, και *Rosmarinus officinalis* έδειξαν χαμηλή ή καθόλου ανασταλτική δράση.

Summary

In recent years, safe and effective solutions have been sought, for integrated control of diseases caused by phytopathogenic fungi, such as the use of plant secondary metabolites, which is characterized by low toxicity to humans and low level of residues in comparison to chemical control. In this aspect, the use of essential oils seems very promising. The aim of this is the evaluation of the efficacy of essential oil of *Origanum* sp. as well as *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Juniperus communis*, *Eucalyptus globulus*, *Syzygium aromaticum*, *Laurus nobilis*, *Citrus sinensis* and *Rosmarinus officinalis*, to inhibit the germination of spores and the mycelium growth *in vitro* of the fungi *Rhizopus stolonifer*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus niger* and *Alternaria* sp. This purpose, the application of poisoned food method with PGA as medium was used, with final concentrations 0, 100, 1000 and 2500 ppm of essential oils, while the inoculation of the medium was accomplished with the application of spore suspension as droplets on the surface of the medium. Macroscopically and microscopically, observations were held 24h, 48h and 7 days after the spores were applied on the medium. The essential oils from the plants *Syzygium aromaticum*, *Laurus nobilis*, και *Origanum* sp. were able to prevent the spore germination or the mycelium growth of the tested fungi. The essential oils from the plants *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Juniperus communis*, *Eucalyptus globulus*, *Citrus sinensis*, and *Rosmarinus officinalis* showed none or low inhibitory action.

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

Ως επιβλέπων της έρευνας που περιγράφεται σε αυτή τη διατριβή, δηλώνω ότι όλοι οι όροι του Εσωτερικού Κανονισμού του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος έχουν τηρηθεί από την κα. Χριστίνα Ειρήνη Μαρμαρά Μητροπούλου.

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή	18
1.1 Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες και τα προβλήματα που προκαλούν	18
1.2 Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των ασθενειών των φυτών.....	18
1.3 Χαρακτηριστικά φυτοπαθογόνων μυκήτων	19
1.3.1 Κλάση Ζυγομύκητες (Zygomycetes), Τάξη Mucorales.....	20
1.3.1.1 <i>Rhizopus</i> spp.....	20
1.3.2 Κλάση Αδηλομύκητες (Hyphomycetes), Τάξη Moniliales.....	20
1.3.2.1 <i>Penicillium</i> spp.....	21
1.3.2.2 <i>Aspergillus niger</i>	22
1.3.2.3 <i>Alternaria</i> spp.....	23
1.3.2.4 <i>Cladosporium</i> spp.....	24
1.4 Αιθήρια έλαια	25
1.4.1 Τι είναι τα αιθήρια έλαια.....	25
1.4.2 Σύσταση αιθέριων ελαίων	26
1.4.3 Ο ρόλος των αιθέριων ελαίων στο φυτό	26
1.4.4 Πως επηρεάζεται η σύσταση των αιθέριων ελαίων	27
1.4.5 Εφαρμογές των αιθέριων ελαίων	27
1.4.6 Πλεονεκτήματα χρήσης αιθέριων ελαίων, έναντι συμβατικών μυκητοκτόνων	28
1.4.7 Τρόπος δράσης αιθέριων ελαίων	29
1.4.8 Αιθήρια ελαία που χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα εργασία.....	30
1.5 Σκοπός της παρούσας εργασίας	34
2. Υλικά και Μέθοδοι	35
2.2 Μέθοδος απομόνωσης μυκήτων από φυτικό υλικό	35
2.3 Απομονώσεις Μυκήτων του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας	35
2.4 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων ή ανάπτυξη μυκηλίου των υπό εξέταση μυκήτων	35
2.3 Μέθοδος σταγόνας υδατικού αιωρήματος σπορίων.....	36
2.4 Εκτίμηση αριθμού σπορίων σε καλλιέργειες μυκήτων	37
2.5 Παρατηρήσεις βλάστησης και ανάπτυξης των μυκήτων	37
3. Αποτελέσματα	38

3.1 Μύκητες που απομονώθηκαν.....	38
3.1.2 Απομόνωση του μύκητα <i>Penicillium</i> sp	38
3.1.2 Απομόνωση του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp	38
3.1.3 Απομόνωση του μύκητα <i>Alternaria</i> sp.....	38
3.2 Εκτίμηση αριθμού σπορίων σε καλλιέργειες μυκήτων	38
3.3 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	39
3.3.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	39
3.3.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum</i> sp. στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	40
3.3.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	42
3.3.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	43
3.3.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	47
3.3.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	49
3.3.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	51
3.3.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	52
3.3.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i>	54
3.4 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp.....	55
3.4.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp.....	56
3.4.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum</i> sp. στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp	57

3.4.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp	58
3.4.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp.....	59
3.4.5 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp	59
3.4.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp	60
3.4.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp.....	61
3.4.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp	63
3.4.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Cladosporium</i> sp	63
3.5 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp	65
3.5.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp.	66
3.5.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum</i> sp. στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp.....	67
3.5.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp.....	69
3.5.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp.	70
3.5.5 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp.	71
3.5.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp	71
3.5.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp.	71

3.5.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp	72
3.5.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Penicillium</i> sp.	72
3.6 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus niger</i>	73
3.6.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	74
3.6.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum</i> sp. στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus niger</i>	77
3.6.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus niger</i>	79
3.6.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	81
3.6.5 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	83
3.6.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus niger</i>	85
3.6.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	86
3.6.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus niger</i>	89
3.6.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus</i> <i>niger</i>	89
3.7 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp	91
3.7.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp.	93
3.7.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum</i> sp. στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp	94
3.7.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp	95

3.7.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp	96
3.7.5 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp	97
3.7.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp	98
3.7.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp	100
3.7.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp.....	101
3.7.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp.	103
4. Συζήτηση	105
5. Βιβλιογραφία	118

Πίνακας Εικόνων

Εικ. 3.1: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> σε θρεπτικό υλικό PGA.	39
Εικ. 3.2 : Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 0, 1000 και 2500 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> .	40
Εικ. 3.3: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> και του <i>Cladosporium sp.</i> , παρουσία αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> .	40
Εικ. 3.4: Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 100 και 1000 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Origanum sp.</i>	41
Εικ. 3.5: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> και του <i>Cladosporium sp.</i> , παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum sp.</i>	41
Εικ. 3.6: Μη βλαστημένα σποριαγγειοσπόρια του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i> σε PGA, με 1000 ppm και σε 2500 ppm ελαίου ρίγανης <i>Origanum sp.</i>	42
Εικ. 3.7: Υφές του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i> σε PGA, με 100 ppm και με 1000 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> . Επώαση για 24hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.	42
Εικ. 3.8: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> .	43
Εικ. 3.9: Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i> σε PGA, με 1000 ppm (x400) και σε 2500 ppm (x100) αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> .	43
Εικ. 3.10: Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i> σε PGA, με 0 ppm και 100 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Juniperus communis</i> .	44
Εικ. 3.11: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	45
Εικ. 3.12: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	46
Εικ. 3.13: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	46
Εικ. 3.14 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> .	47
Εικ. 3.15 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> .	48
Εικ. 3.16 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> . Το πρώτο , δεύτερο και τρίτο τρυβλίο αποτελούν τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA.	48
Εικ. 3.17: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> .	49
Εικ. 3.18: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> στην πρώτη οριζόντια σειρά και αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> στην δεύτερη.	50
Εικ. 3.19 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> .	50
Εικ. 3.20: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> .	51
Εικ. 3.21: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> .	52
Εικ. 3.22 : Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα <i>Rhizopus stolonifer</i> σε PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i>	52
Εικ. 3.23: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> .	53

Εικ. 3.24 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> .	53
Εικ. 3.25 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> .	54
Εικ. 3.26 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i>	55
Εικ. 3.27 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> σε θρεπτικό υλικό PGA.	55
Εικ. 3.28: Σπόρια του μύκητα <i>Cladosporium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 0 και 1000 αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i>	56
Εικ. 3.29: Κονίδια του μύκητα <i>Cladosporium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 0, 1000 και 2500 αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i>	57
Εικ. 3.30: Σπόρια του μύκητα <i>Cladosporium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 100 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum sp.</i>	58
Εικ. 3.31: Σπόρια του μύκητα <i>Cladosporium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 0, 100 και 1000 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Laurus nobilis</i> .	58
Εικ. 3.32: Σπόρια του μύκητα <i>Cladosporium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 2500 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	59
Εικ. 3.33: Σπόρια του μύκητα <i>Cladosporium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 1000 (x40) και 2500 ppm (x100) αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> .	60
Εικ. 3.34: Σπόρια του μύκητα <i>Cladosporium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 100 και 1000 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> .	61
Εικ. 3.35: Σπόρια του μύκητα <i>Cladosporium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 1000 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> .	62
Εικ. 3.36 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> .	62
Εικ. 3.37: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> .	63
Εικ. 3.38 : Βλαστημένα σπόρια του μύκητα <i>Cladosporium sp</i> σε PGA, με 1000 ppm (x100) και σε 2500 ppm (x100) αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> .	64
Εικ. 3.39 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> .	65
Εικ. 3.40: Σπόρια του μύκητα <i>Penicillium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 0, 1000 και 2500 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> .	66
Εικ. 3.41 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , του <i>Cladosporium sp.</i> και <i>Penicillium sp.</i> , <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> , παρουσία αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> .	67
Εικ. 3.42: Σπόρια του μύκητα <i>Penicillium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 100 και 1000 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Origanum sp.</i>	67
Εικ. 3.43 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Penicillium sp.</i> , <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> , παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum sp.</i>	68
Εικ. 3.44 : Οι τρεις επαναλήψεις του πειράματος, των μυκήτων <i>Penicillium sp.</i> , <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum sp.</i>	68
Εικ. 3.35: Σπόρια του μύκητα <i>Penicillium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 2500 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum sp.</i>	69
Εικ. 3.45: Σπόρια του μύκητα <i>Penicillium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 100, 1000 και 2500 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Laurus nobilis</i> .	69
Εικ. 3.46: Σπόρια του μύκητα <i>Penicillium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 100 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	70
Εικ. 3.47: Βλάστηση σπορίων του μύκητα <i>Penicillium sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA με 2500 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	70
Εικ. 3.49: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Aspergillus niger</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA	73

Εικ. 3.50: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA.	74
Εικ. 3.51: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> .	75
Εικ. 3.52: Βλάστηση σπορίων και σπόρια του μύκητα <i>Aspergillus niger</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> (x400).	75
Εικ. 3.53: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> .	76
Εικ. 3.54: Βλάστηση σπορίων και σπόρια του μύκητα <i>Aspergillus niger</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum sp.</i>	77
Εικ. 3.55: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum sp.</i>	78
Εικ. 3.56: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum sp.</i>	78
Εικ. 3.57: Βλάστηση σπορίων και σπόρια του μύκητα <i>Aspergillus niger</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm και 2500 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i>	79
Εικ. 3.58: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> .	80
Εικ. 3.59: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i> .	80
Εικ. 3.60: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	81
Εικ. 3.61: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	82
Εικ. 3.62: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	82
Εικ. 3.63: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> .	83
Εικ. 3.64: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> .	84
Εικ. 3.65: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i> .	84
Εικ. 3.66: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> .	85
Εικ. 3.67: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> .	86
Εικ. 3.68: Σπόρια του μύκητα <i>Aspergillus niger</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> .	86
Εικ. 3.69: Σπόρια του μύκητα <i>Aspergillus niger</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> .	87
Εικ. 3.70: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> .	88
Εικ. 3.71: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i> .	88
Εικ. 3.72: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> . Το πρώτο τρυβλίο αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο , τρίτο και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA	89
Εικ. 3.73: Βλάστηση σπορίων του μύκητα <i>Aspergillus niger</i> , σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i>	90
Εικ. 3.74: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria sp.</i> παρουσία αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i>	90

Εικ. 3.75: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., από βλάστηση υφών, σε θρεπτικό υλικό PGA.	91
Εικ. 3.76: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., από αιώρημα σπορίων, σε θρεπτικό υλικό PGA.	92
Εικ. 3.77: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA και για τις δυο επαναλήψεις του πειράματος.	92
Εικ. 3.78: Ανάπτυξη μυκηλίου και βλάστηση σπορίων του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> .	93
Εικ. 3.79: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου <i>Eucalyptus globulus</i> .	93
Εικ. 3.80: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης <i>Origanum</i> sp.	94
Εικ. 3.81: Βλάστηση σπορίων του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i>	95
Εικ. 3.82: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης <i>Laurus nobilis</i>	96
Εικ. 3.83: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	97
Εικ. 3.84: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου <i>Juniperus communis</i> .	97
Εικ. 3.85: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού <i>Cupressus sempervirens</i>	98
Εικ. 3.86: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> .	99
Εικ. 3.87: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, παρουσία 1000 ppm αιθέριου ελαίου κέδρου <i>Cedrus atlantica</i> , και για τις δυο επαναλήψεις του πειράματος	99
Εικ. 3.88: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i>	100
Εικ. 3.89: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i>	100
Εικ. 3.90: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm (x) 40 και 2500 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου <i>Syzygium aromaticum</i>	101
Εικ. 3.91: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm (δ) αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> .	102
Εικ. 3.92: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού <i>Citrus sinensis</i> .	102
Εικ. 3.93: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i>	103
Εικ. 3.94: Βλάστηση σπορίων του μύκητα <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> .	103
Εικ. 3.95: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων <i>Botrytis cinerea</i> , του <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria</i> sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, παρουσία 2500 ppm αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου <i>Rosmarinus officinalis</i> , και για τις δυο επαναλήψεις του πειράματος.	104
Πίν. 1: Αιθέρια έλαια στις συγκεντρώσεις στις οποίες δράσανε αποτελεσματικά, αποτρέποντας την βλάστηση σπορίων των μυκήτων <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Cladosporium</i> sp., <i>Aspergillus niger</i> και την ανάπτυξη μυκηλίου <i>Alternaria</i> sp., μετά από επώαση 7 ημερών στους 25 °C, στο σκοτάδι	106
Πίν. 2: Αιθέρια έλαια, στις συγκεντρώσεις στις οποίες περιόρισαν την ανάπτυξη μυκήτων, μετά από επώαση 7 ημερών στους 25 °C, στο σκοτάδι.	107
Πίνακας 3: Ανάπτυξη των μύκητων <i>Rhizopus stolonifer</i> , <i>Cladosporium</i> sp., <i>Penicillium</i> sp., <i>Aspergillus niger</i> και <i>Alternaria</i> sp, παρουσία αιθέριων ελαίων στις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500ppm, μετά από 7 ημέρες επώαση στους 25 °C, στο σκοτάδι.	126

1. Εισαγωγή

1.1 Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες και τα προβλήματα που προκαλούν

Τις τελευταίες δεκαετίες, λόγω της ταχύτατης ανόδου του παγκόσμιου πληθυσμού, οι επιστήμονες χρειάστηκε να επικεντρωθούν στην αύξηση της παραγωγής τροφίμων. Από την άλλη μεριά, οι καταστροφές που προκαλούν οι ασθένειες των φυτών που οφείλονται σε μύκητες, βακτήρια και ιούς, αποτελούν έναν από τους πιο σημαντικούς παράγοντες που περιορίζουν σημαντικά αυτήν την αύξηση (Fletcher et al, 2006). Μεταξύ αυτών των παθογόνων, οι μύκητες είναι αυτοί που έχουν τον μεγαλύτερο ρόλο στις απώλειες της φυτικής παραγωγής, προκαλώντας εκτεταμένη οικονομική ζημιά παγκοσμίως (Davari et al, 2017).

Πρόκειται για μικροοργανισμούς, που είναι πανταχού παρόντες και κυρίως μέσω της μεταφοράς των σπορίων τους με τον αέρα, έχουν την δυνατότητα να εγκαθίστανται, να αναπτύσσονται και να προσβάλουν ένα γεωργικό προϊόν, από το χωράφι έως και την αποθήκευση, η οποία αποτελεί χρόνιο πρόβλημα κυρίως σε θερμά και υγρά κλίματα. Ο αντίκτυπος της μόλυνσης σε κάθε στάδιο, μπορεί να οδηγήσει σε οικονομικές απώλειες τόσο σε επίπεδο παραγωγού όσο και σε επίπεδο καταναλωτή (Da Cruz Cabral et al, 2013; Leyva Salas et al, 2017).

Σύμφωνα με τον Διεθνή Οργανισμό Τροφίμων και Γεωργίας (FAO), από τους μύκητες και τους τοξικούς δευτερογενείς μεταβολίτες τους, μπορούν να προκληθούν ποσοτικές απώλειες και ποιοτική υποβάθμιση, της τάξεως του 25%, των συνολικών γεωργικών προϊόντων διατροφής παγκοσμίως (Bhunia, 2018). Η ποιότητα των τροφίμων, υποβαθμίζεται, λόγω των οργανοληπτικών αλλαγών που προκαλούν οι μολύνσεις, όπως για παράδειγμα, η αλλοίωση του χρώματος, της γεύσης και της υφής, καθώς και η μείωση των θρεπτικών συστατικών των προϊόντων διατροφής (Dhingra et al, 2001; Leyva Salas et al, 2017). Επιπλέον, οι μύκητες και οι τοξίνες που μπορούν να παράξουν, πέρα από την μείωση της διάρκειας ζωής των τροφίμων και της αγοραίας αξίας που προκαλούν, μπορούν επίσης να αποτελούν κίνδυνο για την υγεία των ανθρώπων και των ζώων (Vitoratos et al, 2013).

1.2 Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των ασθενειών των φυτών

Για τον έλεγχο των φυτικών ασθενειών που προκαλούνται από παθογόνους μύκητες, χρησιμοποιούνται ευρέως συμβατικά μυκητοκτόνα. Η εκτεταμένη χρήση τους όμως έχει αποδειχθεί ότι προκαλεί πολλά προβλήματα, λόγω της μακράς περιόδου αποδόμησής τους, της τοξικότητας και των πιθανών επιπτώσεων στην ανθρώπινη υγεία (Da Cruz Cabral et al, 2013). Η αργή βιοαποδόμηση τους, έχει ως αποτέλεσμα την ρύπανση του περιβάλλοντος αλλά και την παραμονή τοξικών υπολειμμάτων στα προϊόντα, πράγμα που προκαλεί μεγάλη ανησυχία στους καταναλωτές (Kordali et al,

2008). Κάποιες από τις επιπτώσεις στην υγεία, που μπορεί να προκαλέσει η συνεχής έκθεση σε αυτά, είναι η καρκινογένεση, η τερατογένεση, η υψηλή και οξεία υπολειμματική τοξικότητα και η ορμονική ανισορροπία (Da Cruz Cabral et al, 2013).

Αν και η χρήση χημικών, θεωρείται φθηνότερος και αποτελεσματικότερος τρόπος για την πρόληψη και την θεραπεία των ασθενειών, η συνεχής εφαρμογή τους, έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη στελεχών μυκήτων, ανθεκτικών στα μυκητοκτόνα, πράγμα το οποίο περιπλέκει ακόμα περισσότερο την αντιμετώπιση των ασθενειών (Da Cruz Cabral et al, 2013). Οι ακόμα υψηλότερες συγκεντρώσεις συνθετικών ουσιών, που απαιτείται για τον έλεγχο αυτών των ανθεκτικών στελεχών, αυξάνει ακόμα περισσότερο τον κίνδυνο υψηλών επιπέδων τοξικών υπολειμμάτων (Daferera et al, 2000), καθώς και το κόστος παραγωγής (Kordali et al, 2008).

Τα τελευταία χρόνια, χάρη στο σχεδιασμό ευρωπαϊκών κανονισμών, ορισμένα από τα πιο αποτελεσματικά σκευάσματα ανακαλέστηκαν και απαγορεύθηκε μεγάλος αριθμός δραστικών ουσιών, ενθαρρύνοντας με αυτό το τρόπο τη μείωση της χρήσης χημικών φυτοφαρμάκων και αγροχημικών γενικότερα (Díanez et al, 2018).

Από την μεριά των καταναλωτών, υπάρχει μεγαλύτερη ευαισθητοποίηση σχετικά με την ασφάλεια των τροφίμων και την διασφάλιση βιώσιμων συστημάτων, που δεν επηρεάζουν αρνητικά το περιβάλλον και τη βιοποικιλότητα του. Οι παραγωγοί, έρχονται αντιμέτωποι με σημαντικές προκλήσεις, στοχεύοντας στη μείωση των κινδύνων και των αρνητικών επιπτώσεων των χημικών, στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία, χωρίς παράλληλα να επηρεάζεται η παραγωγικότητα και το κέρδος (Díanez et al, 2018). Αυτό, μπορεί να επιτευχθεί με την εφαρμογή νέων στρατηγικών, σε ολοκληρωμένα συστήματα παραγωγής, καθώς και με την αναζήτηση νέων εναλλακτικών ασφαλών λύσεων, έναντι των συνθετικών χημικών που να είναι εξίσου αποτελεσματικές, αλλά και οικονομικά εφικτές (Da Cruz Cabral et al, 2013; Díanez et al, 2018). Τα τελευταία χρόνια, έχουν προταθεί αρκετά υποσχόμενες βιολογικές προσεγγίσεις, ως πιθανές εναλλακτικές λύσεις, μη ρυπογόνες, χαμηλής τοξικότητας και χαμηλών υπολειμμάτων, μεταξύ των οποίων είναι οι ενώσεις φυτικής προέλευσης, με ιδιαίτερη βαρύτητα να έχει δοθεί στις πιθανές εφαρμογές των αιθέριων ελαίων, καθώς αποτελούν πλούσια πηγή βιοδραστικών ουσιών (Boubaker et al, 2016; Zhao et al, 2021).

1.3 Χαρακτηριστικά φυτοπαθογόνων μυκήτων

Παρακάτω θα γίνει αναφορά στη μορφολογία των μυκήτων που αποτέλεσαν το αντικείμενο της παρούσας εργασίας, τα συμπτώματα των φυτών που προκαλούν, καθώς και στις συνθήκες ανάπτυξής τους.

1.3.1 Κλάση Ζυγομύκητες (Zygomycetes), Τάξη *Mucorales*

1.3.1.1 *Rhizopus* spp.

Μορφολογία

Οι μύκητες του γένους *Rhizopus* ανήκουν στους Zygomycetes, στην τάξη *Mucorales* και πρόκειται για κατώτερους, εξελικτικά πρωτόγονους μύκητες. Είναι γενικά σαπρόφυτα και μπορούν να επιβιώσουν για αρκετά χρόνια σε διάφορες μορφές (σποριαγγειοσπόρια, γλαμυδοσπόρια, ζυγοσπόρια, μυκήλιο) σε νεκρά ή αποσυντεθημένα οργανικά υλικά, όπως στο έδαφος και στα φύλλα. Είναι μύκητες, που ο θαλλός τους αποτελείται από μυκήλιο με υφές, χωρίς μεγάλα καρποφόρα όργανα. Το μυκήλιο είναι λευκού χρώματος και συνήθως οι υφές στερούνται διαφραγμάτων (Lennartsson et al, 2014; Blancard, 2012). Διαθέτει επιμήκεις και εύκαμπτες σποραγγειοφόρους και στη βάση τους σχηματίζονται ριζοειδή και στολόνια. Η σποραγγειοφόρος στο πάνω μέρος, καταλήγει στην κολουμέλα γύρω από την οποία σχηματίζεται το σποριάγγειο, διαμέτρου 100-350μm, όπου παράγονται τα σποριαγγειοσπόρια διαμέτρου 6-17μm, αρχικά λευκού και κατόπιν μαύρου χρώματος (Bullerman, 2003; Τζάμος, 2007).

Συμπτώματα και συνθήκες ανάπτυξης

Ο μύκητας *Rhizopus stolonifer*, είναι σημαντικό αίτιο αλλοίωσης των τροφίμων, κυρίως μαλακών φρούτων και υδαρών λαχανικών, και προκαλεί τεράστιες οικονομικές απώλειες κατά τη μεταφορά και την αποθήκευση αγροτικών προϊόντων. Η είσοδος στους καρπούς γίνεται μέσω διαφόρων πληγών, αλλά και από τις ουλές των μίσχων. Μόλις εισέλθει στους ιστούς, προκαλεί μαλακή, υδαρή σήψη που συνήθως ξεκινά από την κορυφή των ώριμων καρπών και καταλήγει στη μερική ή πλήρη αποσύνθεση τους, ενώ εύκολα η προσβολή επεκτείνεται εξ επαφής, σε υγιή ώριμα φρούτα. Ενώ οι ιστοί καταρρέουν και η επιδερμίδα διασπάται, το μυκήλιο αναπτύσσεται σχηματίζοντας υπόλευκη εξάνθηση και σχηματίζει καρποφορίες (σποριαγγειοφόρους με σποράγγεια που περιέχουν σποριαγγειοσπόρια), που ομοιάζουν με μαύρες κεφαλές καρφίτσας.

Ευδοκίμει σε συνθήκες με υψηλή υγρασία και υψηλές θερμοκρασίες, με ιδανικές τιμές μεταξύ 23–27°C. Εμφανίζεται επίσης σε χαμηλές θερμοκρασίες κατά την αποθήκευση των φρούτων, όμως μπορεί να περιοριστεί η ανάπτυξη του σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 4 °C. Τα σποριαγγειοσπόρια μεταφέρονται σε μεγάλες αποστάσεις με τον άνεμο, ή με το νερό, τον άνθρωπο και τα έντομα, όπως τη *Drosophila melanogaster* (Zoffoli and Latorre, 2011; Blancard, 2012).

1.3.2 Κλάση Αδηλομύκητες (Hyphomycetes), Τάξη *Moniliales*

1.3.2.1 *Penicillium* spp.

Μετασυλλεκτικά, οι σήψεις από πενικίλλια, είναι οι πιο συχνές και καταστροφικές σήψεις των εσπεριδοειδών, αλλά και πολλών άλλων φρούτων και λαχανικών, με απώλειες που μπορεί να φτάσουν στο 100% (Παναγόπουλος, 2007).

Μορφολογία

Οι μύκητες του γένους *Penicillium* σχηματίζουν χαρακτηριστικές κονιδιοφόρους, οι οποίες διακλαδίζονται κοντά στην κορυφή και καταλήγουν σε φιαλίδια, πάνω στα οποία σχηματίζονται αλυσίδες μονοκύτταρων, σφαιρικών, υαλωδών, ωοειδών κονιδίων, διαστάσεων 4-5 x 5-3,5μm. Στους προσβεβλημένους καρπούς, οι μεγάλες ποσότητες παραγόμενων κονιδιοφόρων και σπορίων, προσδίδουν το χαρακτηριστικό πράσινο ή κυανό χρώμα της σήψης. Πρόκειται για ξηροσπόρια, τα οποία έχουν την δυνατότητα να ελευθερώνονται και να μεταφέρονται εύκολα με τον αέρα (Visagie, 2014).

Σημεία και συνθήκες ανάπτυξης

Είδη του γένους *Penicillium* spp. Προσβάλουν τους καρπούς μέσω των πληγών του φλοιού, οι οποίες προκαλούνται κατά κύριο λόγο, κατά τη συγκομιδή και τον μετέπειτα χειρισμό των καρπών στο συσκευαστήριο ή κατά την εμπορευματοποίηση. Σε ορισμένες περιπτώσεις τα φρούτα μπορεί να μολυνθούν μέσω τραυματισμών ή πληγών που προκαλούν τα έντομα πριν τη συγκομιδή, γι' αυτό σπανίως παρατηρούνται σήψεις και μέσα στον οπωρώνα (Eckert and Eaks, 1989).

Ως νεκροτροφικά παθογόνα, οι μύκητες του γένους *Penicillium*, παράγουν υδρολυτικά ένζυμα, στα οποία οφείλεται η διαβροχή του ιστού κατά την ανάπτυξη της νόσου. Στο σημείο μόλυνσης, εμφανίζεται μια υδατώδη, μαλακή και αποχρωματισμένη κηλίδα, όπου ο ιστός μπορεί εύκολα να υποχωρήσει με ελαφριά πίεση του δαχτύλου (Eckert and Eaks 1989; Barkai-Golan and Karadavid, 1991; Hocking, 2014).

Καθώς ο μύκητας αναπτύσσεται, στο σημείο αυτό σχηματίζεται αρχικά λευκό μυκήλιο που επεκτείνεται ακτινικά. Σε θερμοκρασίες δωματίου, η σποριοποίηση ξεκινά μετά από 3-5 ημέρες και επεκτείνεται σχηματίζοντας χαρακτηριστική έγχρωμη εξάνθηση. Οι βέλτιστες θερμοκρασίες ανάπτυξης του μύκητα είναι μεταξύ 20 –25 °C, ενώ αναπτύσσονται πολύ αργά κάτω από τους 5 °C και πάνω από τους 30 °C. Στη περίπτωση του *Penicillium italicum*, η εξάνθηση έχει κυανό χρώμα και περιβάλλεται από μια στενή λωρίδα λευκού μυκηλίου που το χαρακτηρίζει και το διαχωρίζει από το είδος *Penicillium digitatum*, του οποίου η εξάνθηση έχει χρώμα πράσινο ελαιώδες και περιβάλλεται από μια ευρεία ζώνη πυκνού, λευκού μυκηλίου. Με τον καιρό, ολόκληρη η επιφάνεια του καρπού καλύπτεται πλήρως από τις εξανθήσεις του παθογόνου. Ο καρπός σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας, αρχίζει να αφυδατώνεται, συρρικνώνεται και μουμιοποιείται, ενώ σε συνθήκες υψηλής υγρασίας μετατρέπεται σε μαλακή μάζα και αποσυντίθεται εντελώς (Palou, 2014).

Οι προσβεβλημένοι καρποί στο χωράφι, στους χώρους επεξεργασίας, αποθήκευσης και μεταφοράς, αποτελούν εστία μόλυνσης, καθώς τα σπόρια μεταφέρονται πολύ εύκολα με ρεύματα αέρα, μολύνοντας τους παρακείμενους καρπούς (Palou, 2014). Ο μύκητας εξαπλώνεται μέσα στο κουτί συσκευασίας, παράγει ένζυμα που αποδομούν τους ιστούς του παρακείμενου καρπού, επιτρέποντας την είσοδό του σε αυτούς (Ladaniya, 2008). Επίσης, στα φρούτα που βρίσκονται στον ίδιο χώρο, πέρα από μόλυνση μπορούν να προκαλέσουν επιτάχυνση της ωρίμανσης, λόγω της παραγωγής αιθυλενίου, μειώνοντας την διάρκεια ζωής τους (Eckert et al, 1992).

1.3.2.2 *Aspergillus niger*

Το γένος *Aspergillus* περιλαμβάνει περισσότερα από 100 αναγνωρισμένα είδη και είναι σημαντικά τόσο για την αλλοίωση των τροφίμων που προκαλούν, όσο και για τις μυκοτοξίνες που μπορούν να παραχθούν από πολλά από τα είδη του γένους (Hocking, 2006).

Μορφολογία

Οι καρποφορίες που σχηματίζει είναι χαρακτηριστικές του μύκητα. Διαθέτει ανορθωμένους κονιδιοφόρους, μήκους 1-2mm που καταλήγουν σε διογκωμένες κεφαλές, διαμέτρου 80μm, οι οποίες είναι κατά προσέγγιση σφαιρικές. Από την κεφαλή σχηματίζονται τα φιαλίδια, δομές σε σχήμα φιάλης, μέσα στα οποία σχηματίζονται τα κονίδια, τα οποία εξερχόμενα σχηματίζουν αλυσίδες παραμένοντας χαλαρά συνδεδεμένα το ένα με το άλλο. Τα κονίδια είναι μονοκύτταρα, σφαιρικά και λεία, διαμέτρου 2,5-4,5 μm. Το χρώμα των κονιδίων των ασπεργίλλων είναι χαρακτηριστικά για κάθε είδος εξυπηρετώντας την αναγνώριση τους. Τα κονίδια του είδους *A. niger*, είναι μαύρα έως καστανόμαυρα (Bullerman, 2003; Hocking, 2006).

Σημεία και συνθήκες ανάπτυξης

Ο μύκητας *Aspergillus niger*, στον οποίο οφείλεται η αποσύνθεση φρέσκων φρούτων μετασυλλεκτικά, διεισδύει στο εσωτερικό των φρούτων μέσω πληγών, σχηματίζοντας εύκολα αναγνωρίσιμες σκούρες καφέ ή μαύρες αποικίες, ενώ επίσης μπορεί να παράξει ωχρατοξίνη Α. Προκαλεί σήψη καλύπτοντας τον καρπό με μαύρη εξάνθηση και τα σπόρια μεταφέρονται και προσβάλλουν τους παρακείμενους καρπούς. Τέτοια σήψη παρατηρείται σε φρούτα όπως τα σταφύλια, τα μήλα και τα αχλάδια, τα εσπεριδοειδή, τα ροδάκινα, τα σύκα, τις φράουλες, τα πεπόνια και τα κρεμμύδια. Ο μύκητας *Aspergillus niger*, μπορεί να απομονωθεί από ξηρούς καρπούς (φιστίκια, πεκάν, καρύδια, φουντούκια κ.λ.π), από δημητριακά και άλλους ελαιούχους σπόρους, όπως ο αραβόσιτος (Hocking, 2006; Ladaniya, 2008).

Το είδος *Aspergillus niger* είναι πιο διαδεδομένο σε θερμότερα κλίματα, προσβάλλοντας καρπούς τόσο προσυλλεκτικά στον αγρό, όσο και κατά την διάρκεια της αποθήκευσης τους (Hocking, 2006). Η ανάπτυξη του μύκητα ευνοείται από την

υψηλή σχετική υγρασία και τις υψηλές θερμοκρασίες, που φτάνουν έως τους 45-47 °C, με το ευνοϊκότερο εύρος θερμοκρασιών να είναι μεταξύ 25 και 40 °C. Παρατηρείται ταχεία αποσύνθεση και γρήγορη εξάπλωση στους 30–35 °C, σε αντίθεση με τον μύκητα *Penicillium* του οποίου η ανάπτυξη επιβραδύνεται σε αυτές τις θερμοκρασίες. Κάτω από τους 15 °C και σε συνθήκες ψύξης, ο μύκητας δεν μπορεί να αναπτυχθεί (Ladaniya, 2008).

1.3.2.3 *Alternaria* spp.

Μορφολογία

Το γένος *Alternaria*, ανήκει στην οικογένεια Dematiaceae, της κλάσης Hyphomycetes και έχουν χαρακτηριστεί περίπου 73 είδη (Kwaśna and Kosiak, 200; Lopez and Cabral, 1999). Τα είδη του γένους *Alternaria* spp. σχηματίζουν πάνω σε βραχείες κανidioφόρους, μεγάλα χαρακτηριστικά καστανά κονίδια, με εγκάρσια και διαμήκη διαφράγματα, και το άκρο της κορυφής καταλήγει σε κωνική στένωση. Αυτές οι δομές μπορεί να είναι μεμονωμένες ή να φέρουν ένα σύμπλεγμα αλυσίδων διακλαδισμένων ή μη διακλαδισμένων, συνήθως 5-15 κονιδίων διαστάσεων 45-50 x 36 μm (Patriarca and Fernández Pinto, 2018). Η διακλάδωση των αλυσίδων προκύπτει είτε από την επιμήκυνση βραχέων δευτερογενών κονidioφόρων, μετά τον σχηματισμό κορυφαίου κονιδίου, είτε από δευτερογενής πλευρικές κονidioφόρους. Δευτερογενής, τριτογενής ακόμη και τεταρτογενής διακλαδώσεις μπορούν να σχηματίσουν αρκετά σύνθετες δομές σποριοποίησης. Τα είδη του γένους *Alternaria*, ταξινομούνται με βάση την μορφολογία, αλλά και σύμφωνα με την εξειδίκευση του ξενιστή (Patriarca and Fernández Pinto, 2018).

Συμπτώματα και συνθήκες ανάπτυξης

Είδη του γένους *Alternaria* είναι ευρέως διαδεδομένα στο περιβάλλον και προσβάλλουν εναέρια μέρη των φυτών, αλλά κυρίως τα δημητριακά, τα φρούτα και τα λαχανικά. Μερικά φυτοπαθογόνα είδη του γένους *Alternaria*, προσβάλλουν τα φυτά στο χωράφι, ενώ άλλα αναπτύσσονται στα τρόφιμα ως ευκαιριακά σαπρόφυτα, προκαλώντας αλλοίωση μετασυλλεκτικά και κατά την αποθήκευση (Patriarca and Fernández Pinto, 2018).

Η ασθένεια της καστανής κηλίδωσης των καρπών (μήλα, αχλάδια, εσπεριδοειδή), εμφανίζεται λίγο μετά την πτώση των πετάλων. Τα συμπτώματα είναι καστανές έως μαύρες, βυθισμένες κηλίδες, ενώ σε μεγαλύτερους καρπούς οι κηλίδες περιβάλλονται από ένα κίτρινο μεταχρωματισμό. Οι προσβεβλημένοι καρποί πέφτουν, μειώνοντας εκτός από την ποιότητα και την απόδοση τους (Batuman et al, 2020).

Τα αρχικά συμπτώματα της προσβολής στα φύλλα είναι μικρές, σκούρες, κυκλικές κηλίδες που εμφανίζονται στην επιφάνεια των παλαιότερων φύλλων. Οι κηλίδες αυτές μεγαλώνουν σε μέγεθος και μπορεί να σχηματιστούν ομόκεντροι δακτύλιοι,

ενώ συχνά περιβάλλονται από ένα κίτρινο μεταχρωματισμό. Η επιδείνωση της ασθένειας οδηγεί σε φυλλόπτωση. Σε υγρές συνθήκες, τα σημεία προσβολών καλύπτονται με καφέ μούχλα (Muimba-Kankolongo, 2018).

Στην ασθένεια, γνωστή ως μαύρη σήψη, εμφανίζονται συμπτώματα εσωτερικά του καρπού κατά μήκος του άξονα του ποδίσκου. Εξωτερικά τα συμπτώματα συχνά δεν είναι εμφανή και, εάν υπάρχουν, εμφανίζονται στον φλοιό, ως μια καφέ κηλίδα στο κορυφαίο άκρο του καρπού. Το χρώμα των προσβεβλημένων φρούτων είναι πιο έντονο, λόγω της απόκρισης τους στη μόλυνση με την παραγωγή αιθυλενίου (Batuman et al, 2020).

Το βέλτιστο εύρος θερμοκρασίας για την ανάπτυξη του μύκητα είναι 22–28 °C, με ελάχιστη τιμή ανάπτυξης τους 3 °C, ενώ η υψηλή υγρασία ευνοεί την εξάπλωση της ασθένειας. Δεδομένου ότι αυτοί οι μύκητες έχουν την ικανότητα να αναπτύσσονται καλά ακόμα και σε χαμηλές θερμοκρασίες, μπορούν να προκαλέσουν αλλοίωση των φρούτων και των λαχανικών κατά την συντήρησή τους στο ψυγείο. Επίσης, ο ρυθμούς ανάπτυξης είναι ανάλογος με τη συγκέντρωση οξυγόνου, μπορεί όμως να αναπτυχθεί ακόμα σε συγκεντρώσεις έως και 0,25%.

Κάποια χαρακτηριστικά του μύκητα που βοηθάνε στην διάδοση και αντοχή του, είναι ο σύντομος κύκλος ζωής, η επιβίωση σε μολυσμένους ιστούς, τα σπόρια που εύκολα αποσπώνται και διασκορπίζονται με τον άνεμο, και η παρουσία μελανίνης στα μυκηλιακά τοιχώματα και στα σπόρια, η οποία τα προστατεύει από τις επιπτώσεις της ακτινοβολίας και τις δυσμενείς περιβαλλοντικές συνθήκες.

Επιπλέον πολλά είδη *Alternaria* είναι ικανά να παράγουν δευτερογενείς τοξικούς μεταβολίτες, οι περισσότεροι από τους οποίους είναι φυτοτοξίνες με σημαντικό ρόλο στην παθογένεση των φυτών, ενώ άλλοι είναι επιβλαβείς για την υγεία των ανθρώπων και των ζώων που καταναλώνουν τρόφιμα που τους περιέχουν. Οι κύριες μυκοτοξίνες που παράγουν μύκητες αυτού του γένους στα τρόφιμα, είναι το τενουαζονικό οξύ, η αλτερναριόλη, ο μονομεθυλαιθέρας αλτερναριόλης και οι αλτερτοξίνες (Patriarca and Fernández Pinto, 2018).

1.3.2.4 *Cladosporium* spp.

Μορφολογία

Το γένος *Cladosporium* περιλαμβάνει περισσότερα από 700 είδη μυκήτων. Χαρακτηριστικό των μυκήτων αυτών, είναι ο σχηματισμός κονιδίων, μεμονωμένων ή σε κοντές, απλές ή διακλαδωμένες αλυσίδες, πάνω σε πολυκύτταρες, βραχύς, όρθιες, κυλινδρικές ή νηματοειδείς κονιδιοφόρους. Τα κονίδια είναι συνήθως δικύτταρα, ελαιώδη, διαστάσεων 4,2-5 x 14,5-17 μm, ενώ το σχήμα τους είναι πολύ μεταβλητό και μεταξύ των ειδών διαφοροποιείται ελάχιστα. Κυμαίνεται από υποσφαιρικό,

ελλειψοειδείς, ωοειδείς, ατρακτόμορφο, έως κυλινδρικό ή υποκυλινδρικό (Παναγόπουλος, 2007, Bensch, 2012).

Συμπτώματα και συνθήκες ανάπτυξης

Είδη *Cladosporium* έχουν απομονωθεί από φύλλα, φρούτα, δημητριακά και ξηρούς καρπούς. Η συνέπεια της προσβολής στα τρόφιμα είναι η αλλοίωση και ο μεταχρωματισμός τους, με αποτέλεσμα να μην είναι πλέον εμπορεύσιμα (Bullerman, 2003). Ο μύκητας εισέρχεται στους υποεπιδερμικούς ιστούς, χωρίς να προχωράει στο μεσοκάρπιο, και στην επιφάνεια των καρπών αναπτύσσονται καστανές, έως καστανόμαυρες, ή γκριζοπράσινες κηλίδες, με βελούδινη εμφάνιση λόγω της ανάπτυξης καρποφοριών που εξελίσσονται σε νεκρωτικές (Bullerman, 2003; Zoffoli and Latorre, 2011).

Είδη του γένους *Cladosporium*, μπορεί να αναπτυχθεί ακόμα υπό συνθήκες αποθήκευσης στο ψυγείο, ενώ στους 0 °C η ανάπτυξη του μυκηλίου περιορίζεται σημαντικά, αλλά όχι πλήρως. Οι μύκητες που ανήκουν στο γένος *Cladosporium*, είναι ανεκτικοί τόσο σε ψυχρές όσο και σε ξηρές συνθήκες, με βέλτιστη θερμοκρασία ανάπτυξης μεταξύ 20 °C και 25 °C (Bullerman, 2003; Zoffoli and Latorre, 2011)

Επίσης είδη του γένους *Cladosporium* sp. συχνά μπορεί να προσβάλλουν τα φυτά ως δευτερογενή παράσιτα, ενώ ορισμένα είδη είναι κοινά ενδόφυτα, χωρίς να προκαλούν βλάβη, και άλλα είναι γνωστά υπερπαράσιτα άλλων μυκήτων (Heuchert et al, 2005)

1.4 Αιθέρια έλαια

1.4.1 Τι είναι τα αιθέρια έλαια

Τα αιθέρια έλαια (ΑΕ), είναι φυτικοί δευτερογενείς μεταβολίτες (Kordali et al, 2008). Πρόκειται για φυσικές, πτητικές, συμπυκνωμένες, σύνθετες ενώσεις με έντονη, συχνά ευχάριστη οσμή και είναι γνωστές για τις αντιβακτηριακές, αντιμυκητιακές, αντικές, αντιοξειδωτικές και φαρμακευτικές ιδιότητές τους (Boubaker et al, 2016).

Αποτελούν πολύπλοκο μείγμα υδρογονανθράκων, σε υγρή μορφή ελαίου, διαυγή και έγχρωμα σε κάποιες περιπτώσεις. Η πυκνότητα τους γενικά, είναι χαμηλότερη από αυτή του νερού, είναι υδρόφοβα και διαλυτά σε οργανικούς διαλύτες. Τα ΑΕ συντίθενται σε πολλά φυτικά όργανα, συμπεριλαμβανομένων των λουλουδιών, των μπουμπουκιών, των φύλλων, των ριζών, των σπόρων, των καρπών, των μίσχων, των κλαδιών, του ξύλου ή του φλοιού και αποθηκεύονται από το φυτό σε επιδερμικά κύτταρα, κοιλότητες, κανάλια ή αδενικά τριχίδια (Bakkali et al, 2008).

Η εξαγωγή των αιθέριων ελαίων, γίνεται ως επί το πλείστον, από διάφορα φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά, που ευδοκιμούν σε εύκρατες έως θερμές περιοχές, όπως στις τροπικές χώρες και τη Μεσόγειο, και αποτελούσαν σημαντικό μέρος της παραδοσιακής φαρμακοποιίας (Bakkali et al, 2008). Τα φυτά αυτά,

συναντώνται ευρέως στις οικογένειες *Lamiaceae*, *Umbelliferae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Rutaceae* και *Asteraceae* (Jinyin et al, 2019). Τα αιθέρια έλαια εξάγονται συνήθως από τα φυτά, με τεχνικές, όπως αυτή της απόσταξης (με νερό ή ατμό), της ψυχρής έκθλιψης ή της εκχύλισης (Calo et al, 2015).

1.4.2 Σύσταση αιθέριων ελαίων

Η χημική δομή, οι συγκεντρώσεις και οι αλληλεπιδράσεις των συστατικών των αιθέριων ελαίων, συνήθως σχετίζεται με την εγγενή αντιμικροβιακή τους δράση, επηρεάζοντας τις βιοδραστικές τους ιδιότητες (Da Cruz Cabral et al, 2013).

Οι αρωματικές αυτές ουσίες, είναι μείγμα περίπου 20-60 συστατικών, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, από τα οποία, μόνο δύο ή τρία είναι τα κύρια συστατικά που τα χαρακτηρίζουν, καθώς βρίσκονται σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις (20 - 70%). Τα κύρια συστατικά είναι αυτά που καθορίζουν, κατά κύριο λόγο, τις βιολογικές ιδιότητες των αιθέριων ελαίων, αλλά αυτό δεν είναι καθοριστικό, καθώς τα αποτελέσματα αυτά, μπορεί να είναι απόρροια της συνεργίας όλων των συστατικών (Bakkali et al, 2008).

Τα συστατικά αυτά διακρίνονται με βάση την βιοσυνθετική προέλευση τους σε δύο ομάδες. Τα τερπένια και τερπενοειδή, που αποτελούν την πρώτη, κύρια ομάδα, και οι αρωματικές ενώσεις οι οποίες περιέχουν φαινυλοπροπάνιο, αποτελούν την δεύτερη, λιγότερα συχνά εμφανιζόμενη ομάδα. Τα τερπένια, με βάση την δομή τους, μπορεί να διαχωρίζονται κυρίως σε μονοτερπένια ή σεσκιτερπένια, που είναι ενώσεις με 10 και 15 άτομα άνθρακα αντίστοιχα. Οι ομάδες αυτές, μπορούν να διακριθούν περαιτέρω σε αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες, αιθέρες, κετόνες, αμίνες, φαινόλες και οξέα (Bakkali et al, 2008; Daferera et al, 2000; Da Cruz Cabral et al, 2013; Pandey et al, 2017).

Για τον προσδιορισμό της σύστασης κάθε αιθέριου ελαίου, χρησιμοποιούνται διάφορες προηγμένες τεχνικές, όπως η υγρή χρωματογραφία, η χρωματογραφία στήλης, η αέρια χρωματογραφία-φασματομετρία μάζας (GC-MS) η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης φασματομετρίας μάζας (HPLC-MS), και η φασματοσκοπία πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού (^1H - NMR, ^{13}C -NMR). Οι μελέτες στις οποίες εφαρμόστηκαν τέτοιες τεχνικές, έδειξαν την παρουσία κουμαρινών, φλαβονοειδών, φαινολικών οξέων, τριτερπενοειδών και φυσικών αντιβιοτικών (Jinyin et al, 2019).

1.4.3 Ο ρόλος των αιθέριων ελαίων στο φυτό

Η λειτουργία των αιθέριων ελαίων, στον πρωταρχικό μεταβολισμό ενός φυτού, δεν είναι πλήρως γνωστή, αλλά συχνά ο ρόλος τους είναι οικολογικός. Θεωρείται ότι αυξάνουν την ελκυστικότητα των φυτών στους επικονιαστές, αντιπροσωπεύουν χημικές προσαρμογές στις πιέσεις του περιβάλλοντος ή αποτελούν τη χημική άμυνα

του φυτού, ενάντια σε παθογόνους μικροοργανισμούς, έντομα, ανώτερους θηρευτές, ακόμη και άλλα φυτά, δρώντας ως αλληλοχημικά (Soylu et al, 2010).

1.4.4 Πως επηρεάζεται η σύσταση των αιθέριων ελαίων

Η χημική σύνθεση των φυτικών αιθέριων ελαίων, γενικώς μεταβάλλεται, καθώς διάφοροι παράγοντες μπορούν να την επηρεάζουν. Οι συνθήκες ανάπτυξης των φυτών, μπορεί να επηρεάσουν το περιεχόμενο σε συστατικά και την απόδοση των ΑΕ, καθώς, όπως επίσης αναφέρθηκε, οι ενώσεις αυτές θεωρείται ότι παράγονται, ως απόκριση του φυτού σε στρεσογόνους παράγοντες (Theis and Lerdau, 2003).

Γενικότερα, έχει παρατηρηθεί, ότι, οι παράμετροι που μπορούν να επηρεάζουν την σύσταση τους, είναι, οι περιβαλλοντικές συνθήκες, η σύνθεση του εδάφους, η ηλικία και το στάδιο ανάπτυξης του φυτού, η εποχή συγκομιδής, το είδος και το τμήμα του φυτού από όπου απομονώθηκε το έλαιο. Επιπλέον, η διαδικασία ξήρανσης, οι συνθήκες αποθήκευσης των συλλεχθέντων φυτών, η μέθοδος που εφαρμόστηκε για την απομόνωση του αιθέριου ελαίου και οι συνθήκες που υπήρχαν κατά την διαδικασία αυτή (διαλύτης, θερμοκρασία κ.λ.π.), είναι επίσης σημαντικοί παράγοντες που επηρεάζουν την τελική ποιότητα, ποσότητα και κατ' επέκταση την αποτελεσματικότητά δράσης ενός αιθέριου ελαίου (Bakkali et al, 2008; Daferera2000; Jinyin 2019; Jahani 2020).

1.4.5 Εφαρμογές των αιθέριων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια, είναι πολύ διαδεδομένα για τις χρήσεις τους λόγω της ευχάριστης οσμής τους. Ακόμα, χρησιμοποιούνται ευρέως, για τις βιολογικές ιδιότητές τους, οι οποίες παρατηρούνται και στη φύση, όπως η αντιβακτηριακή, η αντιμυκητιακή και εντομοκτόνος δράση τους, που οφείλεται στα βιοδραστικά πτητικά συστατικά τους. Έτσι, αποτελούν ουσίες για την αντιμετώπιση ασθενειών από παθογόνους μικροοργανισμούς και ιούς, καθώς μπορούν να επηρεάζουν την ανάπτυξη, επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό τους (Daferera et al, 2000; Bakkali et al, 2008; Mutlu-Ingok et al, 2020).

Οι τομείς όπου εφαρμόζονται τα αιθέρια έλαια, είναι πολλοί, και ορισμένοι από αυτούς είναι, η κοσμετολογία, η φαρμακολογία, η φαρμακευτική βοτανική, η φυτοπαθολογία, η ιατρική, η κλινική μικροβιολογία και η βιομηχανία τροφίμων (Daferera et al, 2000, Pandey et al, 2017).

Έχει πραγματοποιηθεί λεπτομερής εξέταση της αντιμικροβιακής δράσης των αιθέριων ελαίων, έναντι σημαντικών ανθρώπινων παθογόνων μικροοργανισμών, όμως έχει αυξηθεί σε μεγάλο βαθμό και το ενδιαφέρον για την εφαρμογή αιθέριων ελαίων στον έλεγχο των παθογόνων των φυτών (Daferera et al, 2000).

Ακόμα, έχει εξεταστεί η αποτελεσματικότητά των συστατικών ή και ολόκληρου του ελαίου, για την ασφάλεια και τις εφαρμογές συντήρησης των τροφίμων (συντηρητικά). Χάρη στην ικανότητα τους να αναστέλλουν τους μικροοργανισμούς, που προκαλούν αλλοίωση των τροφίμων, μπορούν να εξασφαλίσουν την ποιότητά τους και να παρατείνουν τον χρόνο αποθήκευσης τους. Τα φυτικά εκχυλίσματα και τα αιθέρια έλαια, είναι βιοενεργά στην ατμώδη φάση τους, χαρακτηριστικό, που τα καθιστά πιθανά υποκαπνιστικά για την προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων. Επιπλέον, σε αρκετές περιπτώσεις μπορούν να προστεθούν σε τρόφιμα ως ενισχυτικά γεύσης (Daferera et al, 2000; Calo et al, 2015; Boubaker et al, 2016).

Επίσης έχει αξιοποιηθεί και η χρήση τους ως υποκατάστατα χημικών συνθετικών πρόσθετων (Boubaker et al, 2016). Η αντιοξειδωτική δράση τους, και δεδομένου ότι πρόκειται για φυσικά προϊόντα, έχει εστιάσει την προσοχή μελετητών, στην πιθανή χρήση τους αντί των συνθετικών αντιοξειδωτικών (Mutlu-Ingok et al, 2020). Έχει βρεθεί πως τα ΑΕ, περιέχουν πλήθος αντιοξειδωτικών ενώσεων, όπως φλαβονοειδή, πολυφαινόλες, φαινόλες, τανίνες κ.α, οι οποίες θεωρείται ότι αποτελούν τη βάση των αντιμικροβιακών τους ιδιοτήτων (Da Cruz Cabral et al, 2013).

1.4.6 Πλεονεκτήματα χρήσης αιθέριων ελαίων, έναντι συμβατικών μυκητοκτόνων

Τα αιθέρια έλαια, θεωρούνται ουσίες για ολοκληρωμένη αντιμετώπιση ασθενειών, καθώς αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει την ανασταλτική τους δράση στην ανάπτυξη των παθογόνων, δρώντας ως φυσικά μυκητοκτόνα (Chao and Young, 2000). Είναι γνωστό, ότι διαθέτουν πολλές ενώσεις με αντιμικροβιακή δράση, ενισχύοντας την άμυνα του φυτού, συμπεριλαμβανομένων φλαβονοειδών, ισοφλαβονοειδών, αλκαλοειδών, τερπενίων, τανινών, φαινυλοπροπαννίων, κουμαρινών, γλυκοσιδών και οργανικών οξέων. Πρόκειται για οργανικές ουσίες, φυτικής προέλευσης, υποδηλώνοντας τόσο τη φιλικότητα τους προς το περιβάλλον, εφόσον είναι μη τοξικές και αποσυντίθενται εύκολα (Yahyazadeh et al, 2007). Επίσης, λόγω της αποτελεσματικής δράσης τους σε χαμηλές συγκεντρώσεις, φαίνεται πως μπορούν να εφαρμοστούν χωρίς να προκαλέσουν φυτοτοξικότητα (Calo et al, 2015).

Ουσίες που αναγνωρίζονται ως φυσικά αντιμικροβιακά, είναι αυτές που απαντώνται στη φύση και χρησιμοποιούνται χωρίς τροποποίηση ή αλλοίωση σε εργαστηριακό περιβάλλον (Li et al, 2011). Η πλειονότητα των αιθέριων ελαίων και των συστατικών τους (π.χ. καρβακρόλη, θυμόλη, λιναλοόλη, ευγενόλη, λιμονένιο, μενθόλη κ.α), αναγνωρίζεται ως ασφαλή, και ταξινομούνται από τον Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων των Ηνωμένων Πολιτειών (FDA, Food and Drug Administration) ως GRAS (Generally Recognized as Safe), εγκρίνοντας την χρήση τους στα τρόφιμα, ικανοποιώντας τις απαιτήσεις των καταναλωτών για ασφαλή προϊόντα, χωρίς τοξικά υπολείμματα (González-Aguilar et al, 2008).

Ένα ακόμα βασικό πλεονεκτήματα των ΑΕ, αφορά το γεγονός ότι πρόκειται για μείγμα μεγάλης ποικιλίας ενώσεων, προσδίδοντας την ικανότητα να δρουν με διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης, ανάλογα με την ένωση που εμπλέκεται, γεγονός που του επιτρέπει να αναστέλλει διαφορετικά γένη μυκήτων και να μειώνει τον κίνδυνο ανάπτυξης αντοχής του παθογόνου (Da Cruz Cabral et al, 2013). Επίσης, χάρη στο συνδυασμό πολλών συστατικών μπορεί να υπάρχουν συνεργιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους (Boubaker et al, 2016).

Έχει επίσης προταθεί, ως αποτελεσματική στρατηγική για την αναστολή της επιβλαβούς δράσης των μυκήτων, ο συνδυασμός αιθέριων ελαίων, καθώς μπορεί να αυξήσει την αντιμικροβιακή δραστηριότητά τους. Γενικά έχουν παρατηρηθεί συνεργιστικές, πρόσθετες, μη αλληλεπιδραστικές αλλά και ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους (Mutlu-Ingok et al, 2020).

1.4.7 Τρόπος δράσης αιθέριων ελαίων

Με την πάροδο των ετών, οι αντιμικροβιακές επιδράσεις των αιθέριων ελαίων, έναντι ευρέος φάσματος μικροοργανισμών, εξετάστηκαν σε αρκετά μεγάλο βαθμό και έχουν γίνει αρκετές προτάσεις, ώστε να εξηγηθούν οι μηχανισμοί δράσης τους (Calo et al, 2015). Η αντιμικροβιακή τους δράση δεν μπορεί να επιβεβαιωθεί με βάση μόνο τη δράση μιας ένωσης (Bajrai et al, 2012) και καθώς τα αιθέρια έλαια περιέχουν μεγάλο αριθμό συστατικών, φαίνεται πως οι κυτταρικοί στόχοι δεν είναι συγκεκριμένοι (Bakkali et al, 2008).

Η αντιμυκητιακή δράση των αιθέριων ελαίων, οφείλεται στη λιπόφιλη φύση τους, όπου χάρη σε αυτή μπορούν να διαπερνούν το κυτταρικό τοίχωμα και την κυτταροπλασματική μεμβράνη, διαταράσσοντας τη δομή των διαφορετικών στρωμάτων των λιπαρών οξέων, των πολυσακχαριτών και φωσφολιπιδίων (Bakkali et al, 2008). Οι αλληλεπιδράσεις με τις κυτταρικές ενώσεις, επηρεάζουν τόσο τα μεμβρανικά όσο και τα ενδοκυτταρικά ένζυμα, αναστέλλοντας τις λειτουργικές ιδιότητες του κυττάρου (Da Cruz Cabral et al, 2013).

Φαίνεται πως παρουσία φυτικών εκχυλισμάτων, μεταβάλλονται τα μορφολογικά χαρακτηριστικά των μυκήτων, καθώς έχουν την ικανότητα να επηρεάζουν τα ένζυμα που εμπλέκονται στη σύνθεση του κυτταρικού τοιχώματος, αλλοιώνοντας την σφριγηλότητα και την ακεραιότητα του (Cox et al, 2000).

Έχει προταθεί, πως κάποιες ενώσεις που υπάρχουν στα αιθέρια έλαια, μπορούν να μειώσουν την λειτουργικότητα των μεμβρανών, με την μεταβολή της διαπερατότητας τους και επομένως, της διαδικασίας μεταφοράς ιόντων, όπως το H^+ , K^+ , Ca^{2+} και Na^+ , προκαλώντας έτσι αλλαγή στη ροή των πρωτονίων, και κατ' επέκταση του pH των κυττάρων, επηρεάζοντας τη χημική σύνθεση και τη δραστηριότητά των κυττάρων (Dorman and Deans, 2000; Da Cruz Cabral et al, 2013). Κάποια συστατικά των αιθέριων ελαίων φαίνεται πως μπορεί να διακόψουν τη λειτουργία των μιτοχονδρίων

(Hu et al, 2017) . Επίσης, η αλληλεπίδραση με τις κυτταρικές μεμβράνες μπορεί να προκαλέσει, μεταξύ άλλων κυτταρικών συστατικών, διαρροή του ATP, του σημαντικότερου μορίου αποθήκευσης ενέργειας. Η αλλαγή στην διαπερατότητα, μπορεί ακόμα να οδηγήσει σε κυτταρικό θάνατο, λόγω της ανισορροπίας της ενδοκυτταρικής ωσμωτικής πίεσης, που προκαλεί τη διάσπαση των ενδοκυτταρικών οργανιδίων και τη διαρροή του περιεχομένου του κυτταροπλάσματος (Da Cruz Cabral et al, 2013).

Όσον αφορά τον τρόπο δράση των ελαίων κατά των μυκοτοξινών, έχουν γίνει προσπάθειες ώστε αυτός να προσεγγιστεί, όπως για παράδειγμα, μελέτες έδειξαν άμεσο συσχετισμό της επίδρασης των ελαίων, στην οδό βιοσύνθεσης της αφλατοξίνης (Bluma et al, 2008; Hu et al, 2017).

1.4.8 Αιθέρια ελαία που χρησιμοποιήθηκαν στη παρούσα εργασία

Παρακάτω θα γίνει αναφορά στην ταξινόμηση, τη χημική σύσταση και στις δράσεις των αιθέριων ελαίων που αποτέλεσαν ενδιαφέρον του πειράματος.

1.4.8.1 Συνομοταξία *Gymnosperms*

1.4.8.1.1 Οικογένεια *Pinaceae*

***Cedrus atlantica* - Κέδρος:**

Το είδος *Cedrus atlantica*, ανήκει στην οικογένεια *Pinaceae* και είναι ευρέως γνωστό, για την υψηλή ποιότητα του ξύλου και για το αιθέριο έλαιό του. Μελέτες έχουν διερευνήσει τις βιολογικές δραστηριότητες του ελαίου από ξύλο κέδρου υποδεικνύοντας πολλά υποσχόμενες αντιοξειδωτικές, αντιμικροβιακές, αντιμυκητιακές, αντικές, αντιφλεγμονώδεις, αναλγητικές, αντικαρκινικές και άλλες ιδιότητες (Belkacem et al, 2021). Τα συστατικά του ελαίου που φαίνεται να καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο ποσοστό είναι τα εξής: α -pinene, himachalol, β -pinene, β -himachalene, γ -himachalene, and α -himachalene (Paoli et al. 2011)

1.4.8.1.2 Οικογένεια *Cupressaceae*

α) *Cupressus sempervirens* – Κυπαρίσσι:

Το είδος *Cupressus sempervirens*, ως κωνοφόρο ανήκει στην οικογένεια *Cupressaceae*, είναι γηγενές στη λεκάνη της Μεσογείου, ενώ έχει επεκταθεί στη

Βόρεια Αφρική, την Ασία και τη Βόρεια Αμερική. Το αιθέριο έλαιο λαμβάνεται από τα φύλλα, και μπορεί να περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό συστατικών, με τα κυριότερα να είναι τα: α-pinene, δ-3-carene, limonene, 2-carene, cymene, 4-terpineol, sabinene, β-pinene, myrcene, camphene, α-thujene και β-cadinene. Χρησιμοποιείται ευρέως για τις φαρμακευτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες του. Φαίνεται πως δρα αποτελεσματικά κατά του κοκκύτη, του κρυολογήματος, του πονόλαιμου, έχει διουρητικές ιδιότητες, περιορίζει τους κισσούς και τις αιμορροΐδες, ενώ επίσης μπορεί να προκαλέσει αίσθημα χαλάρωσης και να βοηθήσει στη καταπολέμηση των επιπτώσεων του στρες, της κατάθλιψης και άλλα πολλά (Pierre-Leandri et al, 2003; Bhagyasgree et al, 2021).

β) *Juniperus communis* – Άρκευθος

Το είδος *Juniperus communis*, είναι αειθαλές κωνοφόρο δέντρο και ανήκει στην οικογένεια των *Cupressaceae*. Η εκχύλιση του αιθέριου ελαίου μπορεί να γίνει από τις βελόνες, τους καρπούς ή το ξύλο της άρκευθου. Οι καρποί της άρκευθου χρησιμοποιούνται ευρέως σε αρώματα και για αρωματισμό αλκοολούχων ποτών, ενώ στην παραδοσιακή ιατρική χρησιμοποιούνται λόγω των πολλών ευεργετικών ιδιοτήτων τους, όπως των διουρητικών, αντισηπτικών και κατά των στομαχικών διαταραχών. Το αιθέριο έλαιο αποτελείται περίπου από 30 συστατικά, από τα οποία τα κυριότερα είναι: sabinene, terpinen-4-ol, α-pinene, limonene, myrcene, γ-terpinene, b-phellandrene, α-thujene, p-cymene και terpinolene (Cabral et al, 2012).

1.4.8.2 Συνομοταξία Angiosperms

1.4.8.2.1 Οικογένεια *Myrtaceae*

α) *Eucalyptus globulus* - Ευκάλυπτος:

Το είδος *Eucalyptus globulus*, ανήκει στην οικογένεια *Myrtaceae* και η αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου του, που χαρακτηρίζεται συνήθως από την περιεκτικότητά του σε ευκαλυπτόλη (περιεκτικότητα περίπου 70%), είναι καλά τεκμηριωμένη έναντι πολλών μυκήτων. Κύρια πηγή του ελαίου ευκαλύπτου είναι τα φύλλα του δέντρου (1,0-2,4%). Το έλαιο ευκαλύπτου είναι ένα σύνθετο μείγμα από μια ποικιλία ενώσεων, από τις οποίες οι κυριότερες είναι : eucalyptol (1, 8-cineole), cymene, γ-terpinene, α- και β-pinene, myrcene, α-terpineol, α-phellandrene, limonene και globulol (Díáñez et al, 2018; Bogavac, 2019; Almas et al, 2021). Το έλαιο ευκαλύπτου χρησιμοποιείται για ανακούφιση μυϊκών πόνων και καταπονήσεων, ενώ έχει προταθεί η χρήση του για τη θεραπεία των λοιμώξεων του ανώτερου αναπνευστικού συστήματος και άλλων ιογενών λοιμώξεων. Επιπλέον, η ύπαρξη

μικρών ποσοτήτων υδροκυανικό οξύος, προσδίδει στο έλαιο τοξικό χαρακτήρα (Corkeron, 2008).

β) *Syzygium aromaticum* – Γαρύφαλλο

Το είδος *Syzygium aromaticum* (συν. *Eugenia caryophyllus*) είναι ένα αειθαλές δέντρο της οικογένειας *Myrtaceae*, γηγενές στην Ινδονησία. Σχηματίζει ομαδοποιημένα αρωματικά μπουμπούκια τα οποία συνήθως χρησιμοποιούνται ως μπαχαρικό. Έχουν αναγνωρισθεί αρκετές θεραπευτικές χρήσεις του και δρα ενάντια σε πολλές ασθένειες. Το έλαιο γαριφάλου χρησιμοποιείται κατά της ναυτίας, του βήχα, της διάρροιας, της δυσπεψίας, του μετεωρισμού και άλλα, ενώ ανακουφίζει από τον πόνο. Φαίνεται πως δρα ως διουρητικό, τονωτικό, και βοηθά σε οδοντικά και στομαχικά προβλήματα. Το αιθέριο έλαιο του γαριφάλου πέρα από την χρήση του για το άρωμα και τη γεύση, μπορεί να χρησιμοποιείται λόγω των αντισηπτικών, αντικαρκινικών, αντιφλεγμονωδών, αντιοξειδωτικών, αντιελκωτικών, αντιθρομβωτικών, αντιδιαβητικών, αντιμυκητιακών, αντιβακτηριακών, αντιιικών και αντιπαρασιτικών δράσεων του. Υπεύθυνη για το άρωμα του γαρύφαλλου είναι η ευγενόλη (eugenol), που απαντάται σε πολύ μεγάλο ποσοστό (72-90%) του πτητικού ελαίου. Άλλα συστατικά που απαντώνται στο αιθέριο έλαιο είναι τα: eugenyl acetate, β-caryophyllene, methyl salicylate, pinene, vanillin και α-humulene και άλλα (Mbaveng and Kuete, 2017).

1.4.8.2.2 Οικογένεια *Lauraceae*

***Laurus nobilis* – Δάφνη**

Η δάφνη της οικογένειας *Lauraceae*, είναι γηγενές φυτό της νότιας Μεσογείου, όπου καλλιεργείται για την χρήση του ως μπαχαρικό υψηλής αξίας και σε όλη την Ευρώπη και την Αμερική ως καλλωπιστικό φυτό. Το αιθέριο έλαιο της δάφνης, έχει αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές και φαρμακολογικές ιδιότητες. Στη βοτανοθεραπεία, τα εκχυλίσματα φύλλων και καρπών δάφνης, έχουν χρησιμοποιηθεί ως στυπτικός παράγοντας και για τη θεραπεία αρκετών δερματολογικών, νευρολογικών και ουρολογικών διαταραχών, ενώ το αιθέριο έλαιο δάφνης χρησιμοποιείται για τη θεραπεία διαφόρων προβλημάτων υγείας, όπως η δερματίτιδα και οι ρευματισμοί. Το έλαιο μπορεί να ληφθεί από τους καρπούς και από τα φύλλα (απόδοση 0,5 έως 4,3%). Οι κύριες ενώσεις που ανιχνεύονται στο έλαιο δάφνης είναι το 1,8-cineole (eucalyptol) και το α-terpinyl acetate, και σε μικρότερες συγκεντρώσεις τα: sabinene, α-phellandrene, eugenol, methyl eugenol, α-pinene, β-linalool, β-pinene, α-terpineol, terpinene-4-ol κ.α. (Fidan et al, 2019).

1.4.8.2.3 Οικογένεια *Rutaceae*

α) *Citrus sinensis* – Πορτοκάλι

Τα εσπεριδοειδή χρησιμοποιούνται στη βιομηχανία τροφίμων, καθώς και καλλυντικών και φαρμάκων. Στην πρώτη περίπτωση, χρησιμοποιούνται κυρίως για την παραγωγή χυμών, οι οποίοι αποτελούν σημαντική πηγή βιοδραστικών ενώσεων σημαντικά για την ανθρώπινη διατροφή, όπως τα φλαβονοειδή, οι φαινολικές ενώσεις και το ασκορβικό οξύ που δρουν ως αντιοξειδωτικά, καθώς και βιταμίνη C και καροτενοειδή. Το αιθέριο έλαιο του πορτοκαλιού, λόγω των αρωματικών ενώσεων έχει αποκτήσει σημαντική οικονομική αξία. Αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει τις αντιοξειδωτικές και αντιμικροβιακές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου των εσπεριδοειδών, ενώ ερευνητές έχουν υποδείξει τη δυνατότητα εκμετάλλευσης του ελαίου πορτοκαλιού στην αναστολή μυκήτων βιοαποικοδόμησης και μόλυνσης ορισμένων φυτικών προϊόντων κατά την αποθήκευση.

Στο πορτοκάλι έχουν περιγράψει πάνω από 200 ενώσεις ως συστατικά της γεύσης του, με τις κύριες αρωματικές ενώσεις του χυμού του να είναι υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, αλδεΐδες, εστέρες και κετόνες. Το αιθέριο έλαιο λαμβάνεται κυρίως από την φλούδα του πορτοκαλιού η οποία περιέχει μια πληθώρα αρωματικών ουσιών και το χαρακτηριστικό άρωμα οφείλεται στη παρουσία τερπενίων, που είναι τα κύρια πτητικά συστατικά του και βρίσκονται σε μεγαλύτερο ποσοστό από ότι στο χυμό του πορτοκαλιού, με ίχνη οξυγονωμένων συστατικών. Γενικά, τα συστατικά του ελαίου ομαδοποιούνται στις εξής πέντε κατηγορίες: μονοτερπένια, οξυγονωμένα μονοτερπένια, σεσκιτερπένια, οξυγονωμένα σεσκιτερπένια και άλλες οξυγονωμένες ενώσεις. Η κύρια ένωση που υπάρχει στο φλοιό, με ποσοστό κατά μέσο όρο 71–95%, είναι το λιμονένιο. Οι υπόλοιπες ενώσεις βρίσκονται σε πολύ χαμηλά επίπεδα κάτω από το 1%, με εξαίρεση τα μονοτερπένια β-πινένιο, καμφορά και οξικό βορνυλεστέρα, οι οποίες φτάνουν στα 1,80, 4,81 και 4,21%, αντίστοιχα. Στο χυμό πορτοκαλιού το κύριο συστατικό είναι το λιμουζένιο, ακολουθούμενο από τη λιναλοόλη, την τερπινεν-4-όλη, το β-μυρσένιο, την α-τερπινεόλη, την οκτανάλη και τη γ-τερπινένιο (Franco-Vega & Avelina, 2016).

1.4.8.2.4 Οικογένεια *Lamiaceae*

α) *Origanum spp.* – Ρίγανη

Η ελληνική ρίγανη (*Origanum vulgare*), ανήκει στην οικογένεια *Lamiaceae*, προέρχεται από τη Μεσόγειο και έχει μακρά ιστορία χρήσης στην τροφή ως άρτυμα αλλά και σαν φυσικό φάρμακο. Από τα παλαιά χρόνια οι Έλληνες χρησιμοποιούσαν τη ρίγανη για τη θεραπεία δερματικών ερεθισμών και λοιμώξεων αλλά και ως αντίδοτο δηλητηρίου. Είναι ένα εξαιρετικό φάρμακο για το κρυολόγημα και τη γρίπη, ενώ έχει χρησιμοποιηθεί στη θεραπεία της δυσπεψίας, του μετεωρισμού, των

καρδιακών παθήσεων, του καρκίνου, της μυϊκής δυστροφίας και πολλά άλλα. Το αιθέριο έλαιο προσφέρει αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριδιακές, αντιπαρασιτικές, αντιμικροβιακές και αντιμυκητιακές ιδιότητες, όπως για παράδειγμα η καλά τεκμηριωμένη δράση του ελαίου έναντι ειδών *Aspergillus* μέσω της αναστολής της ανάπτυξης, και της παραγωγής αφλατοξίνης. Το οριγανέλαιο λαμβάνεται από τα φύλλα και τα άνθη, συνήθως σε εξαιρετικά υψηλή απόδοση (έως και 8% ξηρού βάρους) με κύρια συστατικά τα: carvacrol, thymol, p-cymene, c-terpinene, limonene, terpinene, ocimene, caryophyllene, b-bisabolene, linalool, and 4-terpineol. Η καρβακρόλη είναι το συστατικό που χαρακτηρίζει το έλαιο, καθώς η περιεκτικότητά σε αυτή μπορεί να φτάσει το 95% (Kokkini et al, 2003; Kumar et al, 2016).

β) *Rosmarinus officinalis* – Δενδρολίβανο

Το είδος *Rosmarinus officinalis*, είναι μεσογειακός θάμνος που ανήκει επίσης στην οικογένεια *Lamiaceae* και χρησιμοποιήθηκε ως καρύκευμα τροφίμων και φαρμακευτικό φυτό για πάνω από ένα εκατομμύριο χρόνια. Προερχόμενο από τον λατινικό όρο, η ονομασία «*Rosmarinus*» μεταφράζεται σε «δρόσο της θάλασσας». Αρχαίοι θεραπευτές όπως ο Διοσκουρίδης, αναγνώρισαν τις ευεργετικές ιδιότητες του δεντρολίβανου στην αντιμετώπιση προβλημάτων της καρδιάς, του εγκεφάλου, του ήπατος και των ματιών. Ακόμα έχει αναγνωριστεί η αντικαρκινική δράση κατά των διάφορων μορφών καρκίνου (προστάτη, δέρματος, μαστού, λευχαιμίας, πνεύμονα, ουροδόχου κύστης και παχέος εντέρου). Το αιθέριο έλαιο έχει εξαιρετική αντιοξειδωτική και αντιμικροβιακή δράση και χρησιμοποιείται ως φυσικό συντηρητικό (Kumar et al, 2016). Αποτελείται κυρίως από eucalyptol, camphor, α-pinene, camphene, D-limonene, β-caryophyllene, cymene, myrcene, verbenone, α-terpineol, α-humulene, bornyl acetate, 4-terpineol, β-pinene, γ-terpinene, α-terpinene, α-phellandrene, caryophyllene oxide και α-thujene (Diáñez et al, 2018).

1.5 Σκοπός της παρούσας εργασίας

Σκοπό της εργασίας αποτελεί η *in vitro* αξιολόγηση της επίδρασης των αιθέριων ελαίων *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Juniperus communis*, *Eucalyptus globulus*, *Syzygium aromaticum*, *Laurus nobilis*, *Citrus sinensis*, *Origanum* sp. και *Rosmarinus officinalis*, στην ανάπτυξη του μυκηλίου και την βλάστηση σπορίων των μυκήτων *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Alternaria* sp, *Cladosporium* sp. *Rhizopus stolonifer*.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Φυτικό υλικό

Το φυτικό υλικό που χρησιμοποιήθηκε για τις απομονώσεις των μυκήτων ήταν καρπός λεμονιού, καρπός μουσμουλιάς και φύλλα κυδωνιάς. Ο καρπός λεμονιού εμφάνιζε συμπτώματα μαλακής σήψης και σημείο εξάνθησης κυανού χρώματος εσωτερικά και λευκού στο περιθώριο, συμπτώματα χαρακτηριστικής προσβολής από *Penicillium* sp.. Η δειγματοληψία του καρπού της μουσμουλιάς έγινε την άνοιξη του 2021, στην Κορόπη Πηλίου. Στην επιφάνεια του καρπού εμφανίζονταν σκουρόχρωμες, νεκρωτικές κηλίδες σφαιρικού ή ακανόνιστου σχήματος συμπτώματα χαρακτηριστική προσβολής από *Venturia inaequalis*. Η δειγματοληψία των φύλλων κυδωνιάς, έγινε την άνοιξη του 2021, στα Πλατανίδια Μαγνησίας, τα οποία παρουσίαζαν σκούρες νεκρωτικές κηλίδες, διαφορετικών μεγεθών, συμπτώματα χαρακτηριστική προσβολής από *Entomosporium mespili*.

2.2 Μέθοδος απομόνωσης μυκήτων από φυτικό υλικό

Για την απομόνωση των μυκήτων εφαρμόστηκε η μέθοδος γραμμικής διασποράς σπορίων, κατά την οποία, υπό ασηπτικές συνθήκες, γίνεται μεταφορά σπορίων του μύκητα από εξάνθηση σε προσβεβλημένο φυτικό ιστό με τη βοήθεια βακτηριολογικού κρίκου υπό ασηπτικές συνθήκες, σε γυάλινο τρυβλίο διαμέτρου 9cm, με θρεπτικό υλικό Potato Glucose Agar (PGA) (200 g πατάτα, 15 g agar, 16.5 g D-(+)-Glucose monohydrate σε 1 L απιονισμένο νερό, αποστείρωση στους 121 °C για 15 min, 1.2 atm), ακολουθώντας μια συνεχόμενη σιγμοειδή διαδρομή, καταλήγοντας σε κλιμακωτή μείωση του μολύσματος. Οι απομονώσεις αναπτύχθηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους 25 °C στο σκοτάδι.

2.3 Απομονώσεις Μυκήτων του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας

Από τη συλλογή του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας του ΠΘ, χρησιμοποιήθηκαν απομονώσεις των μυκήτων *Aspergillus niger* και *Rhizopus stolonifer*. Η διατήρηση των απομονώσεων γινόταν σε σωλήνες με PGA, σε επωαστικό θάλαμο στους 25 °C, στο σκοτάδι.

2.4 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων ή ανάπτυξη μυκηλίου των υπό εξέταση μυκήτων

Για τις δοκιμές, χρησιμοποιήθηκαν επτά εμπορικά σκευάσματα αιθέριων ελαίων από τα φυτά *Cedrus atlantica* A pivita, *Cupressus sempervirens* Gaia Products, *Juniperus*

communis Gaia Products, *Eucalyptus globulus* Apivita, *Syzygium aromaticum* Gaia Products, *Laurus nobilis* Gaia Products, *Rosmarinus officinalis* Gaia Products, καθώς και αιθέρια έλαια από τα φυτά *Citrus sinensis* και *Origanum* sp., από ευγενή προσφορά του καθηγητή Αθανάσιου Σφουγγάρη, Διευθυντή του εργαστηρίου Διαχείρισης Οικοσυστημάτων και Βιοποικιλότητας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Για την αξιολόγηση αυτή, εφαρμόστηκε η μέθοδος τοξικού μέσου σε θρεπτικό υλικό PGA, με τελικές συγκεντρώσεις 0,100,1000 και 2500 ppm. Οι δοκιμές που έγιναν με παρουσία μόνο θρεπτικού υλικού (0 ppm ελαίου) αποτελούσαν τον μάρτυρα. Οι αραιώσεις των αιθέριων ελαίων, έγιναν υπό ασηπτικές συνθήκες, με προσθήκη κατάλληλης ποσότητας νερού διπλής απόσταξης, σε συνδυασμό με γαλακτωματοποιητή Tween-20, τελικής συγκέντρωσης 0.5%, τα οποία ομογενοποιούνταν με την χρήση ανακινηστήρα τύπου Vortex. Για να ληφθούν οι επιθυμητές συγκεντρώσεις, κατάλληλες ποσότητες αιθέριου ελαίου προστέθηκαν ασηπτικά σε κωνικές φιάλες με θρεπτικό υλικό PGA αμέσως μετά την αποστείρωση του σε αυτόκαυστο (120°C, 1,1 atm, 15min), αφού επιτεύχθηκε ταπείνωση της θερμοκρασίας στους 45-50 °C, (ώστε να διατηρείται η ρευστότητά του, αλλά χωρίς να επηρεάσει την δράση του ελαίου λόγω πολύ υψηλής θερμοκρασίας), και έπειτα από καλή ανάδευση, το ομογενοποιημένο υλικό διανεμήθηκε σε γυάλινα τρυβλία Petri, διαμέτρου 9 cm (15 mL ανά τρυβλίο) και αφέθηκαν έως ότου ολοκληρωθεί η σταθεροποίηση του.

2.3 Μέθοδος σταγόνας υδατικού αιωρήματος σπορίων

Για την εφαρμογή της μεθόδου σταγόνας υδατικού αιωρήματος σπορίων σε τρυβλίο PGA, έχει προηγηθεί η ανάπτυξη αποικίας του μύκητα ενδιαφέροντος σε δοκιμαστικό σωλήνα. Η ηλικία της αποικίας ήταν 6-10 ημερών. Με πιπέτα, υπό ασηπτικές συνθήκες, μεταφέρθηκαν 5 ml απιονισμένου και αποστειρωμένου νερού, πάνω στην αποικία του μύκητα και με την βοήθεια του βακτηριολογικού κρίκου ελευθερώθηκαν τα σπόρια και τεμαχίστηκε το μυκήλιο εντός του όγκου του νερού, με σκοπό να δημιουργηθεί ένα μυκηλιακό υδατικό αιώρημα, στο οποίο περιλάμβανε τα σπόρια του μύκητα. Το αιώρημα αυτό, από τον σωλήνα, μεταφέρθηκε σε αποστειρωμένο μπουκαλάκι, τύπου Mc Cartney, μέσω διπλής μουσελίνας, με την χρήση χωνιού. Με αυτό τον τρόπο παραλήφθηκε υδατικό αιώρημα σπορίων, με όσο το δυνατόν ελάχιστα τεμαχίδια υφών, καθώς από τη μουσελίνα συγκρατήθηκαν οι κονιδιοφόροι και τα περισσότερα τεμαχίδια μυκηλίου του μύκητα.

Μετά από ανάδευση για την αποτροπή καθίζησης των σπορίων, με πιπέτα λήφθηκε μικρή ποσότητα αιωρήματος και στα τρυβλία με θρεπτικό υλικό PGA, με τις προαναφερθείσες συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων, αφέθηκε από μία σταγόνα (~10 µl) σε κάθε ένα από τα τρυβλία PGA, με τη συγκεκριμένη συγκέντρωση αιθέριου ελαίου. Η διαδικασία επαναλήφθηκε ομοίως για τους υπόλοιπους μύκητες, ώστε τελικά σε κάθε τρυβλίο να έχουν τοποθετηθεί 3 σταγόνες με αιώρημα σπορίων

διαφορετικών μυκήτων. Το τρυβλίο τοποθετήθηκε σε κεκλιμένο επίπεδο, προκειμένου οι σταγόνες να κυλήσουν στην επιφάνεια του υλικού και να στεγνώσουν ασηπτικά, ώστε πρακτικά κατά την διαδρομή της σταγόνας να μειώνεται σταδιακά η συγκέντρωση των σπορίων. Για κάθε συγκέντρωση ελαίου πραγματοποιήθηκαν δύο επαναλήψεις.

Συνολικά εξετάστηκαν πέντε είδη μυκήτων *Rhizopus stolonifer*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus niger*, *Alternaria* sp., σε συνδυασμό με εννιά αιθέρια έλαια *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Juniperus communis*, *Eucalyptus globulus*, *Syzygium aromaticum*, *Laurus nobilis*, *Citrus sinensis*, *Origanum* sp., *Rosmarinus officinalis*.

2.4 Εκτίμηση αριθμού σπορίων σε καλλιέργειες μυκήτων

Για να καθοριστεί η ποσότητα νερού που προστέθηκε στους δοκιμαστικούς σωλήνες, σε επιλεγμένες απομονώσεις, έγινε μέτρηση σπορίων που παραλήφθηκαν από αποικία του μύκητα *Penicillium* sp. ηλικίας 40 και 7 ημερών, καθώς και του μύκητα *Cladosporium* sp. ηλικίας 7 ημερών, με χρήση αιματοκυτταρόμετρου και μηχανικού χειροκίνητου μετρητή. Με πιπέτα τοποθετήθηκε πάνω στο βαθμονομημένο πλέγμα του αιματοκυτταρόμετρου σταγόνα του αιωρήματος σπορίων του μύκητα. Μετά την τοποθέτηση καλυπτρίδας και την με τη βοήθεια μικροσκοπίου σε μεγέθυνση x400, μετρήθηκε ο αριθμός των σπορίων σε γνωστό όγκο, μετατρέποντας στην συνέχεια την τιμή αυτή σε αριθμό σπορίων ανά mL.

2.5 Παρατηρήσεις βλάστησης και ανάπτυξης των μυκήτων

Με την χρήση μικροσκοπίου γίναν παρατηρήσεις 24h, 48h και 7 ημέρες μετά την εναπόθεση σπορίων στο θρεπτικό υπόστρωμα (hpi- hours post inoculation). Χρησιμοποιήθηκαν τα μικροσκόπια OLYMPUS CH2, με φωτογραφική μηχανή smartphone Xiaomi Redmi Note 8, 48 Mpixel και Nikon Labophot 2, με κάμερα Motic 10 Mpixel. Επίσης γίναν παρατηρήσεις μακροσκοπικές ή μικροσκοπικές, μια βδομάδα μετά από την εναπόθεση σπορίων πάνω στο θρεπτικό υπόστρωμα. Το χρώμα των αποικιών χαρακτηρίστηκε με βάση τον οδηγό χρωμάτων Ridgway (1912). Σε κάποιες περιπτώσεις υπολογίστηκε κατά προσέγγιση το ποσοστό βλάστησης σπορίων, με την καταμέτρηση σπορίων που είχαν σχηματίσει βλαστικό σωλήνα μήκους ίσο ή μεγαλύτερο από το τριπλάσιο της διαμέτρου του. Υπολογίστηκε ο μέσος όρος, από έξι διαφορετικά σημεία παρατήρησης.

3. Αποτελέσματα

3.1 Μύκητες που απομονώθηκαν

3.1.2 Απομόνωση του μύκητα *Penicillium* sp.

Η απομόνωση του μύκητα *Penicillium* sp. έγινε με τη μέθοδο που περιγράφεται στην παράγραφο 2.2, από καρπό λεμονιού, με επώαση 4 ημερών σε επωαστικό θάλαμο θερμοκρασίας 25 °C, στο σκοτάδι.

3.1.2 Απομόνωση του μύκητα *Cladosporium* sp.

Η απομόνωση του *Cladosporium* sp. ομοίως έγινε με την μέθοδο που περιγράφεται στην παράγραφο 2.2, από επιφάνεια καρπού μουσμουλιάς, με χαρακτηριστικά συμπτώματα προσβολής από *Venturia inaequalis* και αναπτύχθηκε σε τρυβλίο στους 25 °C, για 7 ημέρες, στο σκοτάδι. Ο μύκητας *Cladosporium* sp. φαίνεται πως επιβίωσε ως σαπρόφυτο στην επιφάνεια του καρπού.

3.1.3 Απομόνωση του μύκητα *Alternaria* sp.

Μύκητας του γένους *Alternaria* sp., απομονώθηκε από επιφάνεια φύλλων κυδωνιάς, με χαρακτηριστικά συμπτώματα προσβολής από *Entomosporium mespili*, με την μέθοδο που περιγράφεται στην παράγραφο 2.2 και παρέμεινε σε επωαστικό θάλαμο 25 °C, για έξι μέρες στο σκοτάδι. Ο μύκητας *Alternaria* sp. φαίνεται πως επιβίωσε ως σαπρόφυτο στην επιφάνεια του φύλλου ή τις νεκρωτικές κηλίδες.

Όλοι οι μύκητες, μετά την ανάπτυξή τους, μεταφέρθηκαν σε δοκιμαστικούς σωλήνες ύψους 16cm και διαμέτρου 1,4cm, που περιείχαν περίπου 6 ml θρεπτικού υλικού PGA, και επώαστηκαν σε επωαστικό θάλαμο 25 °C, στο σκότος.

Σε προκαταρκτικά πειράματα, είχε διαπιστωθεί πως ο χρόνος βλάστησης των σπορίων για τον μύκητα *Penicillium* sp. και *Cladosporium* sp. είναι οι 8hpi, ενώ για τα σπόρια του μύκητα *Alternaria* sp. φάνηκε πως βλαστάνουν σε περισσότερες από 7 hpi. Τα σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp. παρατηρήθηκε πως βλαστάνουν σε διάστημα μεταξύ 7 και 10hpi.

3.2 Εκτίμηση αριθμού σπορίων σε καλλιέργειες μυκήτων

Με χρήση αιματοκυτταρόμετρου, παρατηρήθηκε πως στην αποικία του μύκητα *Penicillium* sp. ηλικίας 40 ημερών, ο αριθμός των σπορίων έφτανε τα 1×10^7 σπόρια/ml. Η δοκιμή επαναλήφθηκε με αποικία μύκητα *Penicillium* sp. ηλικίας 7 ημερών, όπου παρατηρήθηκε η παρουσία 3×10^5 σπόρια/ml και με αποικία του μύκητα *Cladosporium* sp. ίδιας ηλικίας στα 1×10^5 σπόρια/ml.

3.3 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

Η ανάπτυξη του μύκητα *Rhizopus stolonifer* χαρακτηρίζεται ως έντονη, καθώς το μυκήλιο υπόλευκου χρώματος «Sulphur Yellow» που έχει σχηματίσει, έχει επεκταθεί έξω από τα όρια της σταγόνας, ενώ σημαντική είναι και η ανάπτυξη των υφών καθ' ύψος, φτάνοντας μέχρι και το καπάκι του τρυβλίου (Εικ. 3.1.α).



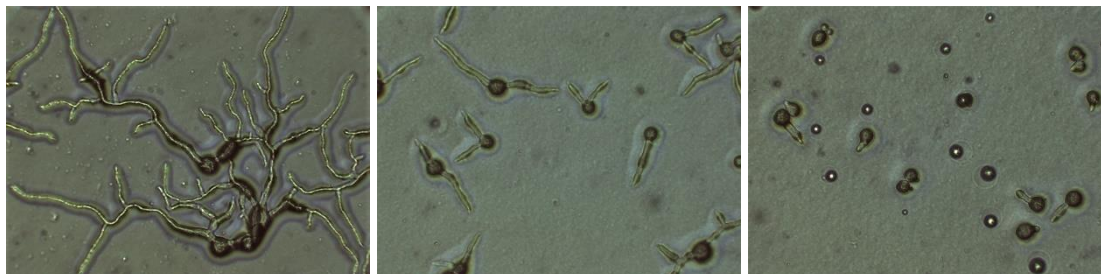
Εικ. 3.1: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi (α), 48 hpi (β) και 7 ημέρες (γ) στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στις 48 hpi, η αποικία έχει αποκτήσει πιο έντονο χρώμα «Pale Greenish Yellow», και οι υφές του μύκητα έχουν επεκταθεί σε όλο το τρυβλίο σχηματίζοντας σποριαγγειοφόρους που φέρουν σποριαγγειοσπόρια μαύρου χρώματος (Εικ. 3.1.β). Μέσα σε μια βδομάδα ο ακόμα μεγαλύτερος αριθμός που έχουν σχηματιστεί, κατά κύριο λόγο εντός και γύρω από τα όρια της σταγόνας του αιωρήματος, προσδίδουν στην εικόνα του μύκητα πιο σκούρο γκρι, «Dusky Neutral Gray» χρώμα (Εικ. 3.1.γ).

3.3.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

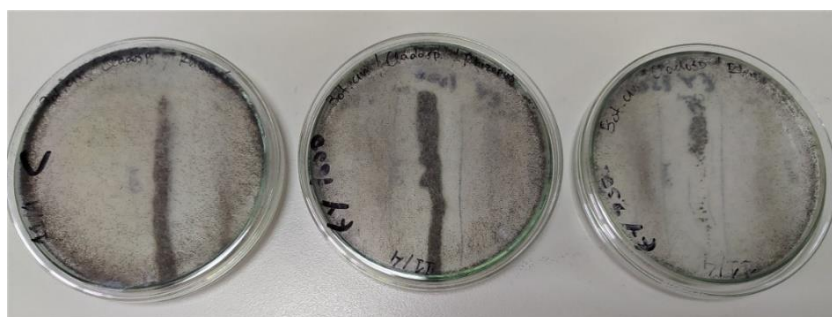
Στην περίπτωση της δοκιμής της αποτελεσματικότητας του ελαίου ευκαλύπτου, για την αναστολή βλάστησης των σποριαγγειοσπορίων και της ανάπτυξης μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer* εφαρμόστηκαν οι δύο υψηλότερες συγκεντρώσεις των 1000 και 2500 ppm. Όπως φαίνεται στις φωτογραφίες (Εικ. 3.2), στις 8 hpi ο μύκητας *Rhizopus stolonifer* αναπτύχθηκε με δοσοεξαρτώμενο τρόπο. Στο τρυβλίο του μάρτυρα η ανάπτυξη των υφών είναι αρκετά προχωρημένη. Στα 1000 ppm η ανάπτυξη είναι εμφανώς κατεσταλμένη, καθώς τα σποριαγγειοσπόρια αν και έχουν βλαστήσει δεν έχουν σχηματίσει υφές, παρά μόνο βλαστικούς σωλήνες, ενώ στα 2500

ppm μόλις ξεκίνησε να διακρίνεται η βλάστηση ενός μικρού ποσοστού σποριαγγειοσπορίων.



Εικ. 3.2 Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα *Rhizopus stolonifer*, σε θρεπτικό υλικό PGA με (α) 0, (β) 1000 και (γ) 2500 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus* (x200). Επώαση για 8 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

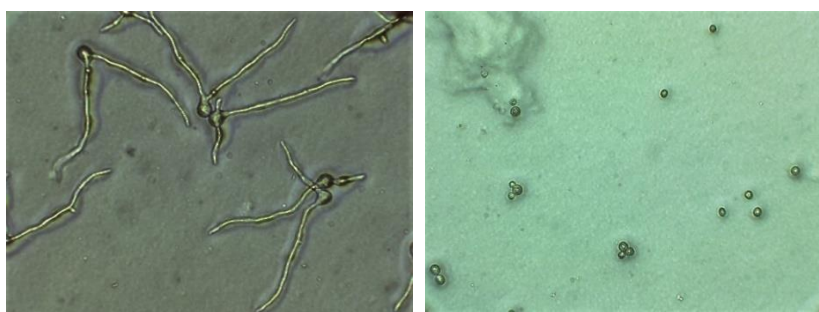
Στις 24 hpi, η ανάπτυξη ήταν πλέον εμφανής μακροσκοπικά σε όλες τις μεταχειρίσεις. Μετά από μια εβδομάδα ανάπτυξης, το μυκήλιο και οι καρποφορίες του μύκητα είχαν επεκταθεί σε όλη την έκταση του τρυβλίου, σε όλες τις περιπτώσεις.



Εικ. 3.3: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (δεξιά και αριστερά του τρυβλίου) και του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου), παρουσία αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β) και τρίτο (γ) τις συγκεντρώσεις 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

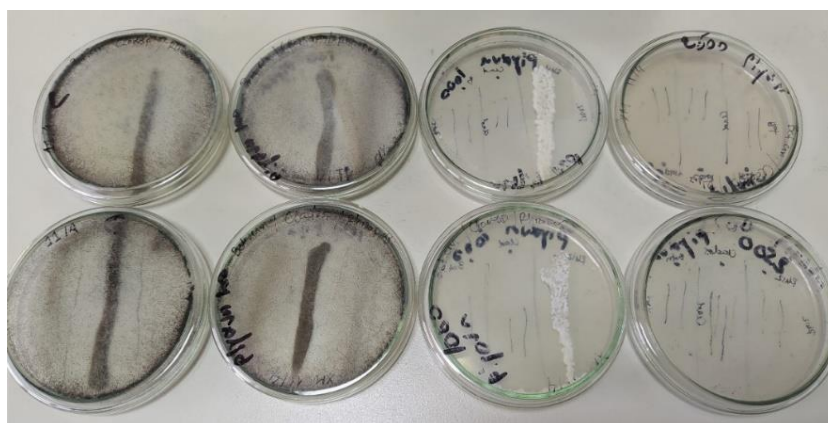
3.3.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

Μετά από 8 hpi, στα 100 ppm ελαίου η ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer* ήταν ευδιάκριτη μακροσκοπικά. Η ανάπτυξη των υφών ήταν μικρότερης έκτασης από αυτή του μάρτυρα, αλλά σημαντική, ενώ στα 1000 και 2500 ppm τα σποριαγγειοσπόρια του μύκητα δεν είχαν σχηματίσει βλαστικό σωλήνα (Εικ. 3.4).

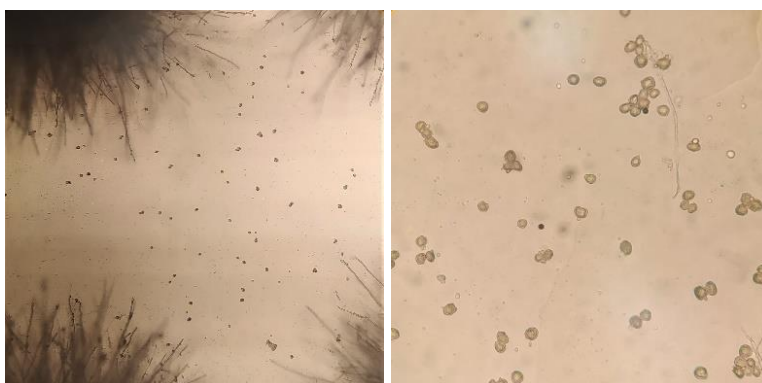


Εικ. 3.4: Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα *Rhizopus stolonifer*, σε θρεπτικό υλικό PGA με (α) 100 και (β) 1000 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp.(x200). Επώαση για 8 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Μια εβδομάδα μετά από την πρώτη παρατήρηση, φαίνεται πως η ανάπτυξη του μύκητα στα 100 ppm ελαίου ρίγανης, δεν διαφέρει από αυτή στο μάρτυρα, καθώς και στις δύο περιπτώσεις έχουν σχηματιστεί καρποφορίες οι οποίες έχουν επεκταθεί σε όλο το τρυβλίο. Στα 1000 ppm, στο σημείο όπου τοποθετήθηκε η σταγόνα του μύκητα *Rhizopus stolonifer* διακρίνονται υφές από σαπρόφυτο που αναπτύχθηκε ως επιμόλυνση, καθώς η μορφολογία των λευκών σφαιρικών αποικιών δεν παραπέμπει σε αυτή του συγκεκριμένου μύκητα, αλλά όπως φαίνεται και στην εικόνα από το μικροσκόπιο, μεταξύ των αποικιών, εμφανίζεται σημαντικός αριθμός σποριαγγειοσπορίων του μύκητα *Rhizopus stolonifer* που δεν έχει βλαστήσει (Εικ 3.6.α). Αυτό επιβεβαιώνεται και από το ότι και στην αριστερή μεριά του τρυβλίου, όπου επίσης ήταν ο μύκητας *Rhizopus stolonifer* δεν παρουσίασε ανάπτυξη. Στα 2500 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης, η βλάστηση των σποριαγγειοσπορίων του μύκητα είχε κατασταλεί ολοκληρωτικά (Εικ 3.6.β).



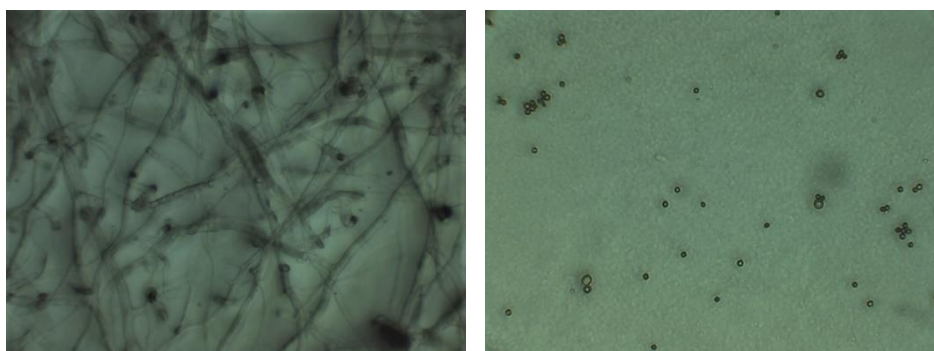
Εικ. 3.5: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (δεξιά και αριστερά του τρυβλίου) και του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου), παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp.. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, και για τις δύο επαναλήψεις του πειράματος, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.6: (α) Μη βλαστημένα σποριαγγειοσπόρια του μύκητα *Rhizopus stolonifer* σε PGA, με 1000 ppm (x100) και (β) σε 2500 ppm (x400) ελαίου ρίγανης *Origanum* sp.. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

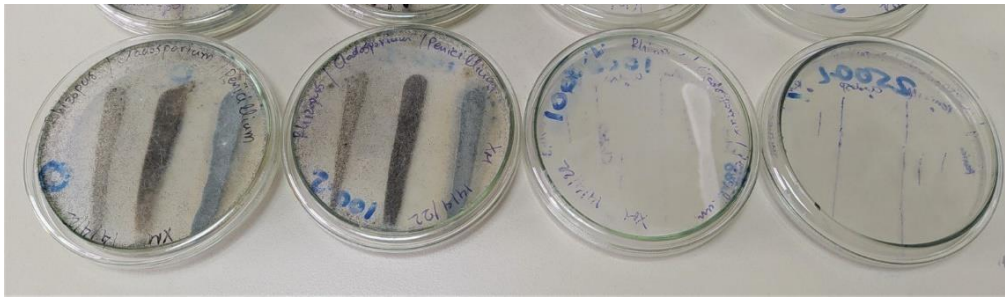
3.3.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

Στις 24 hpi, φαίνεται πως στον μάρτυρα, όπως και στα 100 ppm ελαίου δάφνης, υπήρξε σημαντική ανάπτυξη μυκηλίου, σε αντίθεση με τις μεταχειρίσεις των 1000 και 2500 ppm, όπου τα σποριαγγειοσπόρια του μύκητα δεν είχαν βλαστήσει (Εικ. 3.7).

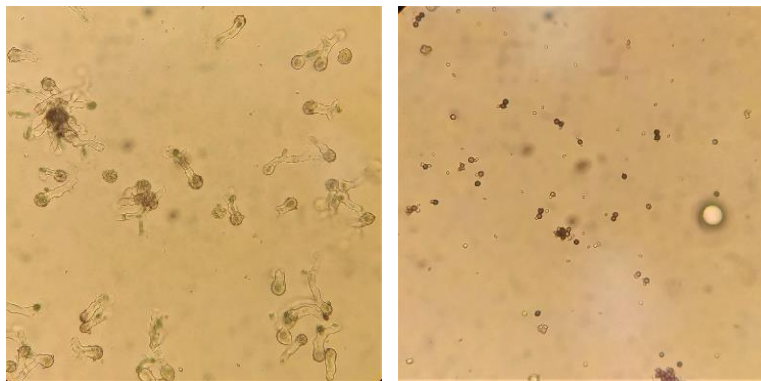


Εικ. 3.7: (α) Υφές του μύκητα *Rhizopus stolonifer* σε PGA, με 100 ppm και (β) με 1000 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis* (x200). Επώαση για 24hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Η δεύτερη παρατήρηση έγινε στις τέσσερις ημέρες, όπου φάνηκε πως στα 100 ppm ελαίου δάφνης η ανάπτυξη του μύκητα ήταν όμοια με του μάρτυρα. Στα 1000 ppm ελαίου, μακροσκοπικά δεν υπάρχει εμφανή ανάπτυξη (Εικ 3.8), αλλά με την χρήση μικροσκοπίου παρατηρείται η δημιουργία βλαστικού σωλήνα σε σημαντικό αριθμό σποριαγγειοσπορίων, χωρίς να προχωρήσει στην ανάπτυξη υφών (Εικ 3.9.α).



Εικ. 3.8: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 4 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.



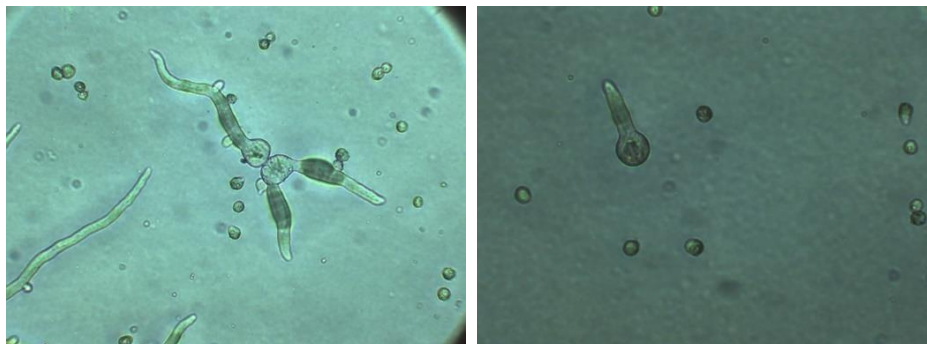
Εικ. 3.9: (α) Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα *Rhizopus stolonifer* σε PGA, με 1000 ppm (x400) και (β) σε 2500 ppm (x100) αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis*. Επώαση για 4 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στα 2500 ppm ελαίου, η βλάστηση των σποριαγγειοσπορίων παρέμεινε μηδενική, ακόμα και μετά από μεγάλο χρονικό διάστημα μετά την εναπόθεση τους στο υλικό που περιείχε το αιθέριο έλαιο δάφνης, αποδεικνύοντας την αποτελεσματική δράση του κατά της βλάστησης σποριαγγειοσπορίων του μύκητα *Rhizopus stolonifer* (Εικ 3.9.β).

3.3.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

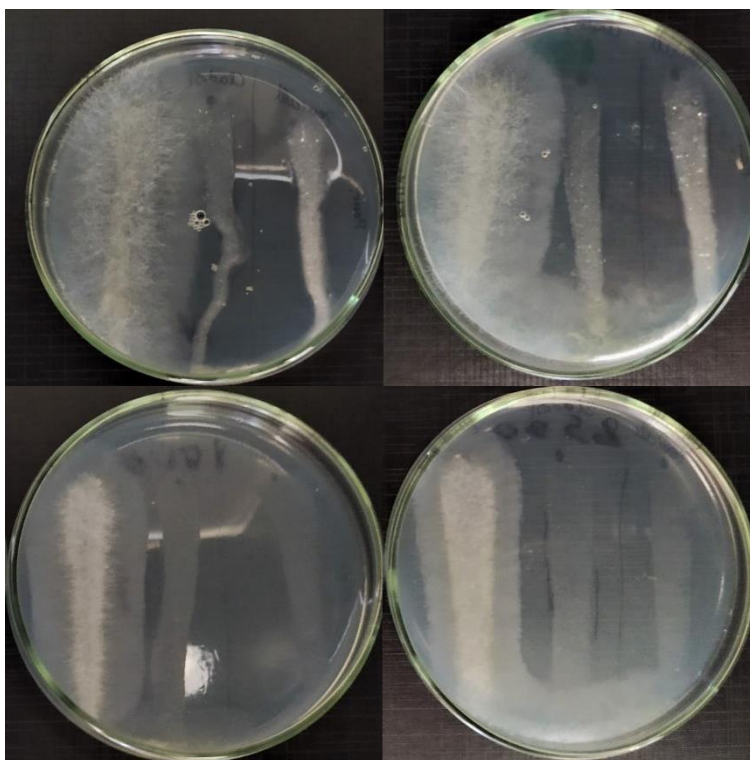
Κατά την διαδικασία εξέτασης της αποτελεσματικότητας του αιθέριου ελαίου αρκεύθου στην καταστολή ανάπτυξης του μύκητα *Rhizopus stolonifer*, η πρώτη παρατήρηση ελήφθη στις 7 hpi, όπου στα 100 ppm ελαίου ένα μικρό ποσοστό σποριαγγειοσπορίων ξεκίνησε να σχηματίζει βλαστικό σωλήνα, όπως συνέβη και

στον μάρτυρα. Στις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις τα σποριαγγειοσπόρια δεν είχαν βλαστήσει.



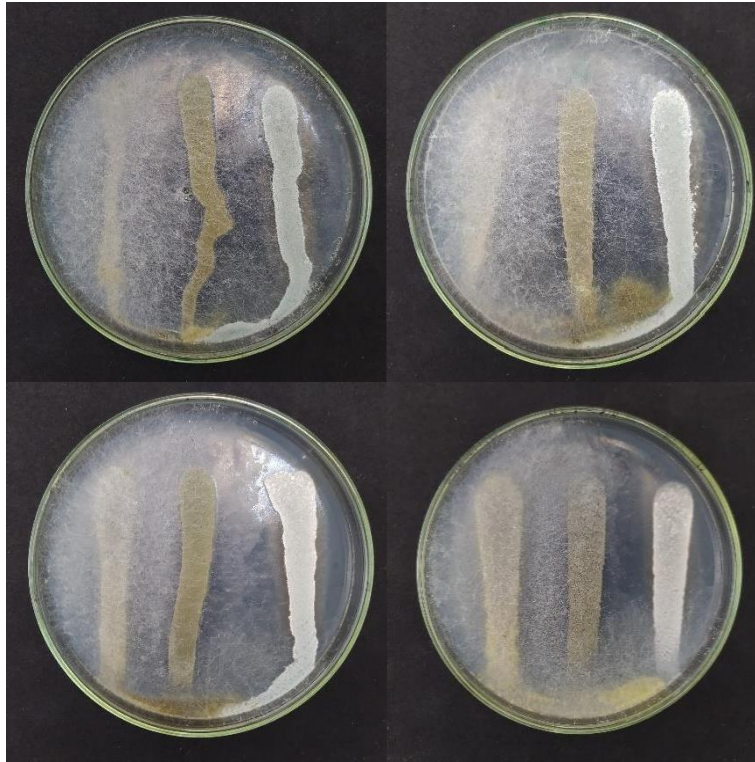
Εικ. 3.10: (α) Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα *Rhizopus stolonifer* σε PGA, με 0 ppm (x300) και (β) 100 ppm (x400) αιθέριου ελαίου δάφνης *Juniperus communis*. Επώαση για 7 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Όπως φαίνεται στην φωτογραφία (Εικ 3.11), από τις πρώτες 24 hpi, η ανάπτυξη του μύκητα, σε όλες τις περιπτώσεις των συγκεντρώσεων ήταν έντονη, σχηματίζοντας εξάνθηση υπόλευκου χρώματος «Sulphur Yellow», σε όλη την έκταση της σταγόνας του αιωρήματος σπορίων, αλλά και περιφερειακά αυτής παρουσιάζονται μυκήλια που εκτείνονται ακτινωτά σε όλες τις κατευθύνσεις. Μάλιστα παρατηρείται μια κλιμακωτή μείωση κυρίως της καθ' ύψους, αλλά και σε έναν βαθμό κατά πλάτος, ανάπτυξης των αποικιών, μεταξύ των μεταχειρίσεων, καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση του ελαίου.

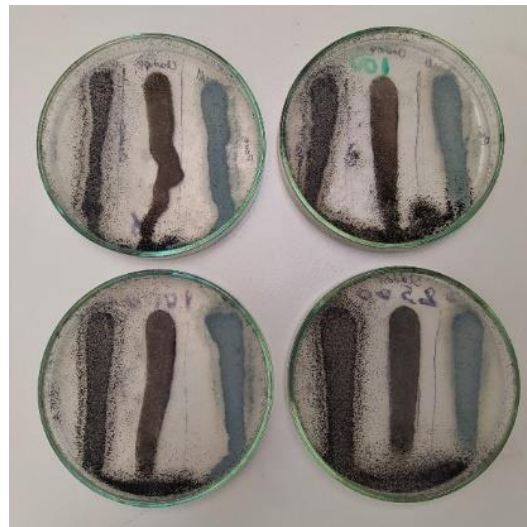


Εικ. 3.11: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στις 48 hpi, ομοίως και μία βδομάδα μετά, δεν παρατηρείται καμία διαφορά μεταξύ των μεταχειρίσεων, καθώς η ανάπτυξη του μύκητα *Rhizopus stolonifer*, σε όλες της περιπτώσεις ομοιάζει με αυτή του μάρτυρα. Επομένως, μακροπρόθεσμα το έλαιο της αρκεύθου δεν αποτέλεσε παράγοντα καταστολής της ανάπτυξης του (Εικ 3.12, Εικ 3.13).



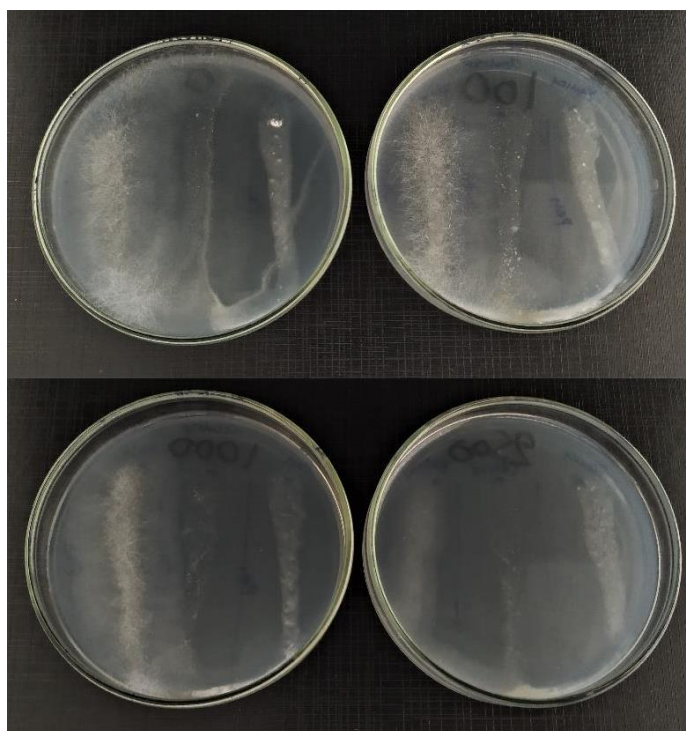
Εικ. 3.12: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.13: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.5.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

Η εικόνα που παρουσιάζει ο μύκητας *Rhizopus stolonifer*, παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού, στην πρώτη παρατήρηση των 24 hpi, είναι όμοια με αυτή που περιεγράφηκε στην περίπτωση όπου αναπτύχθηκε παρουσία ελαίου αρκεύθου, όπου παρατηρήθηκε μείωση της ανάπτυξης του μυκηλίου με δόσοεξαρτώμενο τρόπο και μάλιστα σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι στο αιθέριο έλαιο αρκεύθου. Πιο συγκεκριμένα στα 2500 ppm, αν και αναπτύχθηκε λευκή αποικία η ανάπτυξη της είναι εμφανώς πιο περιορισμένη και καθ' ύψος και κατά πλάτος (Εικ 3.14).



Εικ. 3.14 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στις 48 hpi, φαίνεται πως ο μύκητας στα 100 και 1000 ppm ελαίου έχει επεκταθεί σε όλο το τρυβλίο, ενώ στα 2500 ppm έχει καλύψει το μισό τρυβλίο και εμφανίζει μεγάλο αριθμό καρποφοριών σε όλες τις συγκεντρώσεις (Εικ 3.15).



Εικ. 3.15 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens*. Το πρώτο (α), δεύτερο (β) και τρίτο (γ) τρυβλίο αποτελούν τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

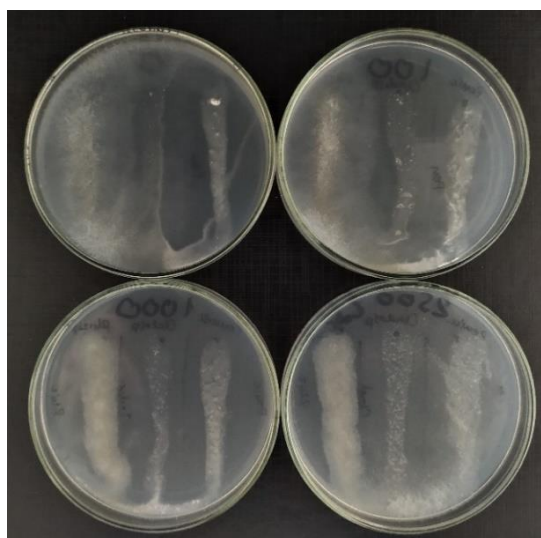
Μετά από μια βδομάδα ανάπτυξης, ο μύκητας *Rhizopus stolonifer* έχει σχηματίσει μεγάλο αριθμό σποριαγγειοσπορίων σε όλες τις περιπτώσεις, προσδίδοντάς του σκούρο χρώμα στην αποικία, ενώ το αιθέριο έλαιο αποδεικνύεται πως δεν έδρασε αποτελεσματικά, καθώς η ανάπτυξη του μύκητα σε όλες τις συγκεντρώσεις είναι εξίσου σημαντική (Εικ 3.12).



Εικ. 3.16 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens*. Το πρώτο (α), δεύτερο (β) και τρίτο (γ) τρυβλίο αποτελούν τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

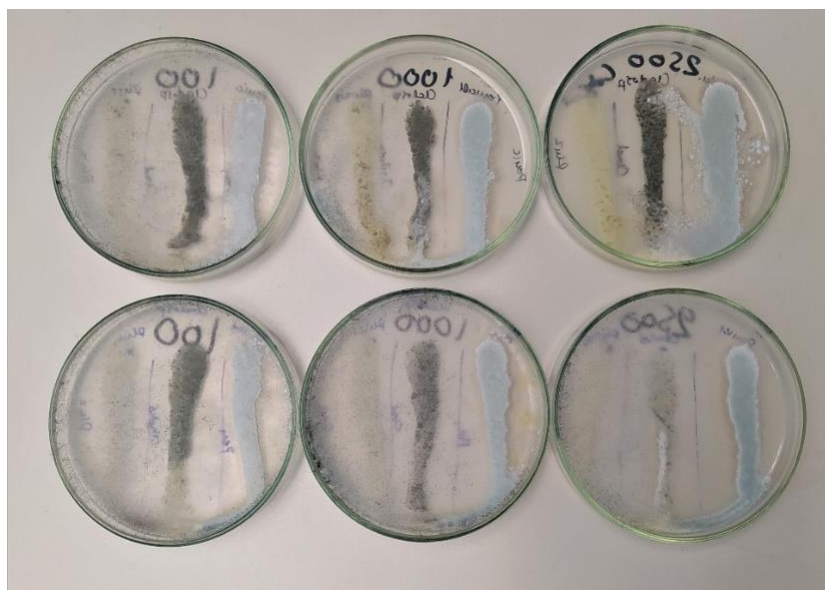
3.3.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

Μέσα σε 24 hpi, η ανάπτυξη του μύκητα *Rhizopus stolonifer* ήταν πολύ έντονη σε όλες τις συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου κέδρου, με μυκήλιο πιο έντονης υποκίτρινης απόχρωσης «Picric Yellow» στις μεταχειρήσεις με συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων, με αυτή των 100 ppm να ομοιάζει πιο πολύ με τον μάρτυρα, όπου η αποικία είχε αναπτυχθεί σχηματίζοντας ανορθωμένο μυκήλιο, ενώ η μεταχείριση της συγκέντρωσης των 1000 ppm, ομοιάζε σε αυτή των 2500 ppm αιθέριου ελαίου κέδρου, καθώς η εξάπλωση των μυκήτων περιφερειακά της σταγόνας ήταν πιο περιορισμένη και δεν παρατηρείται ανορθωμένο μυκήλιο (Εικ 3.17).



Εικ. 3.17: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στις 48 hpi, ο μύκητας αναπτύχθηκε ακόμα περισσότερο, ο οποίος στην συγκέντρωση των 100 ppm ελαίου κέδρου είχε εξαπλωθεί σε όλο το τρυβλίο, σχηματίζοντας καρποφορίες. Στη συγκέντρωση των 1000 ppm αιθέριου ελαίου, είχε εξαπλωθεί μόνο μέχρι την μέση του τρυβλίου σχηματίζοντας επίσης καρποφορίες, ενώ στα 2500 ppm δεν είχε επεκταθεί περεταίρω, ούτε υπήρχε ευδιάκριτη ανάπτυξη καρποφοριών. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι στις μεγάλες συγκεντρώσεις ελαίου, το χρώμα του την αποικίας ήταν πιο έντονο, απόχρωσης «Pyrite Yellow» και «Light Greenish Yellow», στα 1000 και 2500 ppm αιθέριου ελαίου αντίστοιχα, ενώ σε σύγκριση με το έλαιο κυπαρισσιού, το χρώμα ήταν εμφανώς πιο έντονο (Εικ. 3.18).



Εικ. 3.18: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica* στην πρώτη οριζόντια σειρά και αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens* στην δεύτερη. Το πρώτο (α), δεύτερο (β) και τρίτο (γ) τρυβλίο αποτελούν τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Ο μύκητας *Rhizopus stolonifer*, μέσα σε μια βδομάδα μετά την εναπόθεση των σποριοαγγειοσπορίων στο θρεπτικό υπόστρωμα, έχει σχηματίσει μεγάλο αριθμό σποριοαγγειοσπορίων, αποκτώντας έτσι έντονο μαύρο χρώμα, και μάλιστα όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του ελαίου τόσο μεγαλύτερος αριθμός σποριοαγγειοσπορίων φαίνεται να έχει σχηματιστεί. Έτσι, φαίνεται πως το αιθέριο έλαιο κέδρου, δεν αποτέλεσε παράγοντα παρεμπόδισης βλάστησης σπορίων του συγκεκριμένου μύκητα (Εικ. 3.15).

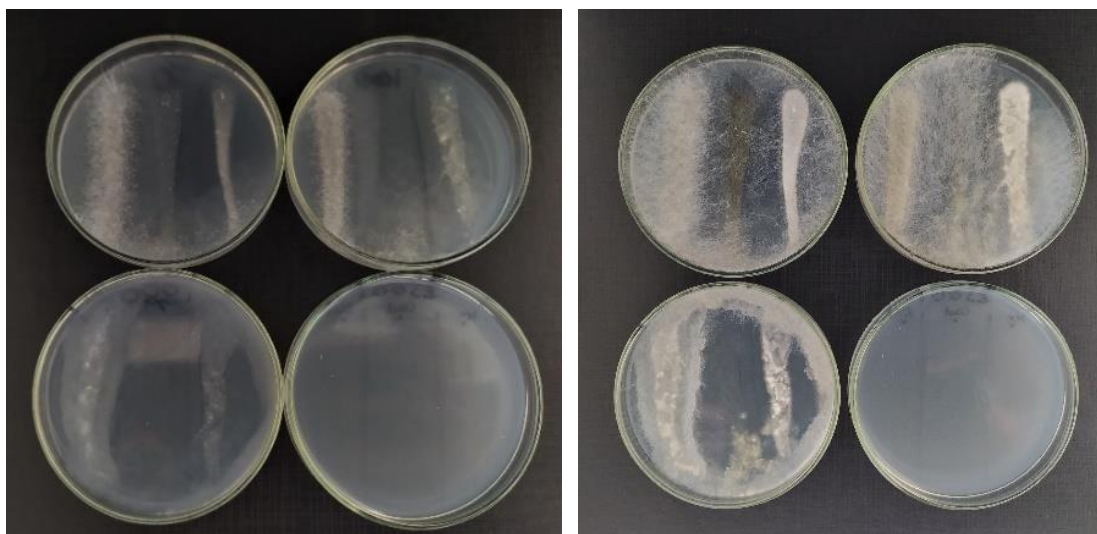


Εικ. 3.19 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica*. Το πρώτο (α), δεύτερο (β) και τρίτο (γ) τρυβλίο αποτελούν τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.3.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

Στα 100 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου, ο μύκητας *Rhizopus stolonifer* έχει παρόμοια ανάπτυξη με αυτή του μύκητα που αναπτύχθηκε μέσα σε 24 hpi πάνω σε θρεπτικό υλικό χωρίς παρουσία λαδιού. Ενώ στα 1000 ppm ελαίου, η εικόνα είναι αρκετά διαφορετική, καθώς το μυκήλιο αν και έχει επεκταθεί αρκετά πέρα από τα όρια της σταγόνας, η πυκνότητά του είναι πιο αραιή, καθώς και το ύψος την αποικίας παραμένει κοντά στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού (Εικ. 3.20.A).

Στα 100 ppm μετά από 48 hpi, ο μύκητας *Rhizopus stolonifer* έχει επεκταθεί σε όλο το τρυβλίο με πυκνό σχηματισμό μυκηλίου και το χρώμα του μύκητα εντός των πλαισίων της σταγόνας είναι πιο έντονο, σε σχέση με αυτό του μάρτυρα, όπως και ο αριθμός των σποριαγγειοσπορίων φαίνεται να είναι πιο μεγάλος. Στα 1000 ppm η ανάπτυξη παραμένει αργή, δεν έχει σημαντικά μέσα στο τρυβλίο, το μυκήλιο πιο ανοιχτόχρωμο από ότι στα 1000 ppm και ο αριθμός των σποριαγγειοσπορίων είναι σημαντικά πιο μικρός (Εικ. 3.20.B).



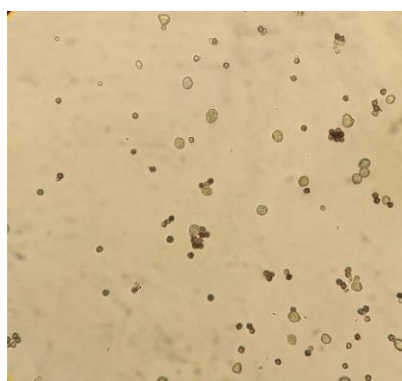
Εικ. 3.20: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. (Α) Επώαση για 24 hpi και (Β) επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Μια βδομάδα μετά την εναπόθεση σποριαγγειοσπορίων στο θρεπτικό υπόστρωμα, το σκούρο χρώμα της αποικίας του μύκητα που οφείλεται στο σχηματισμό σποριαγγειοσπορίων, φαίνεται να είναι πιο έντονο καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση

του ελαίου γαριφάλου, με αυτή των 1000 ppm να έχει τελικά τον μεγαλύτερο αριθμό σποριαγγειοσπορίων. Στα 2500 ppm, από την πρώτη μέρα έως την έβδομη ανάπτυξης, τα σποριαγγειοσπόρια του μύκητα δεν βλάστησαν. Έτσι, σε αυτή την συγκέντρωση ελαίου γαριφάλου τα σπόρια του μύκητα *Rhizopus stolonifer* αδυνατούν να βλαστήσουν (Εικ. 3.17, Εικ. 3.18).



Εικ. 3.21: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, και για τις δύο επαναλήψεις του πειράματος, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

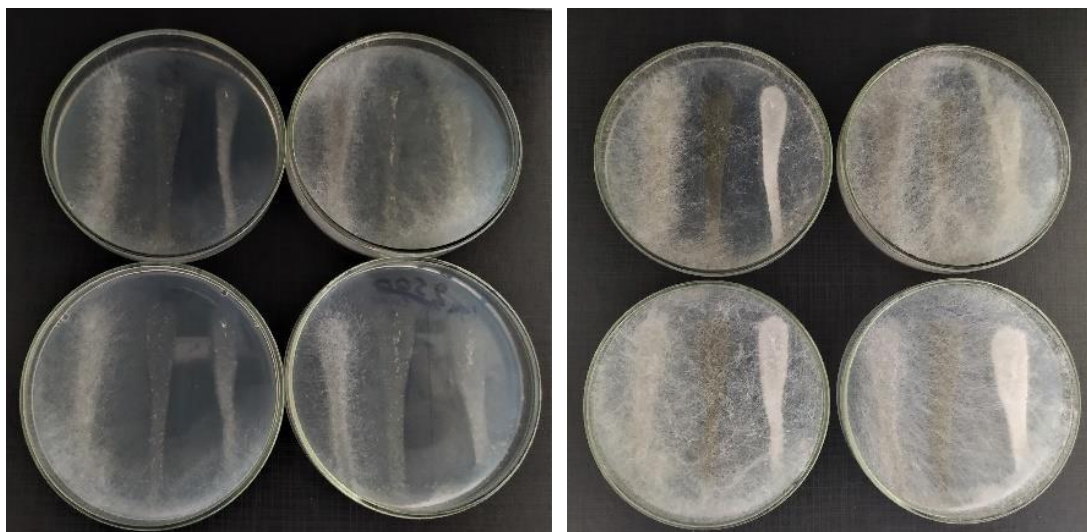


Εικ. 3.22 : Σποριαγγειοσπόρια του μύκητα *Rhizopus stolonifer* σε PGA, με 2500 ppm (x400) αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.3.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

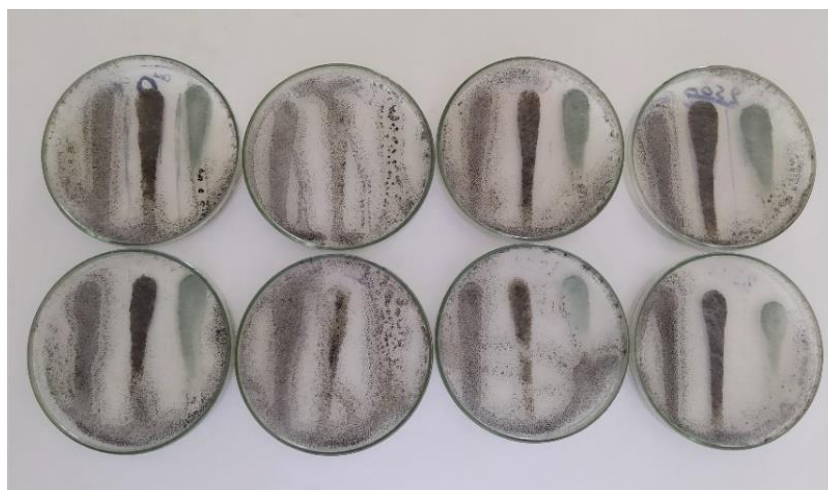
Το αιθέριο έλαιο πορτοκαλιού, φαίνεται πως δεν είχε καμία κατασταλτική δράση ενάντια στον *Rhizopus stolonifer*, καθώς από την πρώτη κιόλας μέρα η εικόνα όλων των μεταχειρίσεων ήταν πολύ κοντά σε αυτή του μάρτυρα. Ομοίως και στις 48 hpi,

σε όλα τα τρυβλία ο μύκητας κάλυπτε όλη την έκτασή τους, μάλλον και με μεγαλύτερη πυκνότητα μυκηλίου από ότι είχε σχηματιστεί στον μάρτυρα (Εικ. 3.23).



Εικ. 3.23: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. (Α) Επώαση για 24 hpi και (Β) επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

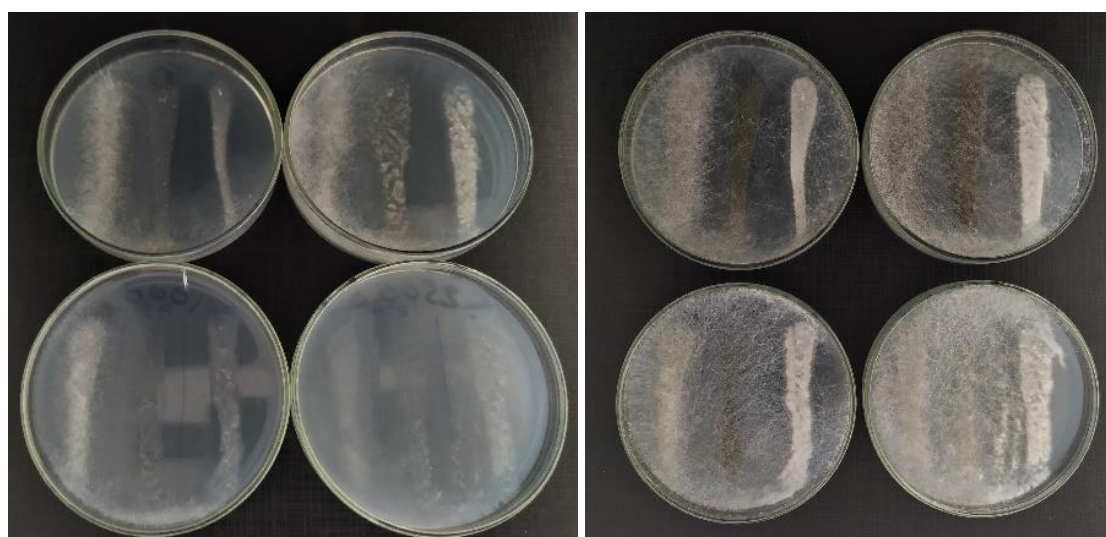
Αντιστοίχως και μία βδομάδα μετά, η ανάπτυξη είναι η ίδια σε όλες τις περιπτώσεις, όπως και ο χρωματισμός και η ένταση σποριοποίησης (Εικ. 3.24).



Εικ. 3.24 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, και για τις δύο επαναλήψεις του πειράματος, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

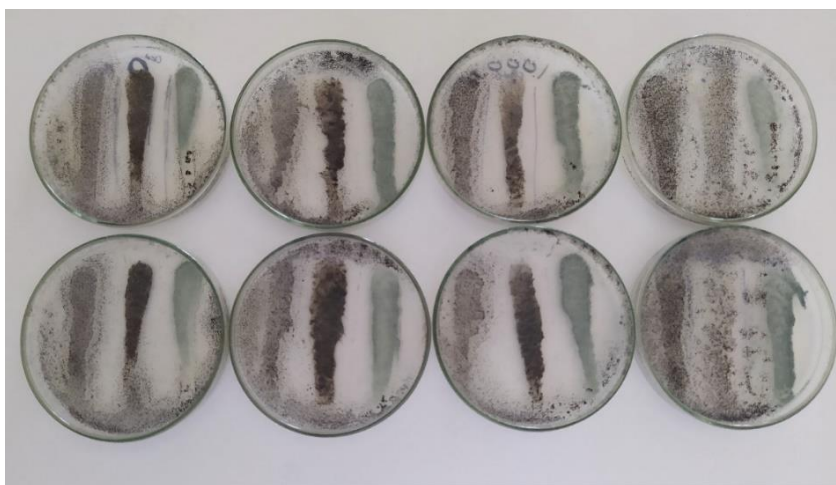
3.3.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Rhizopus stolonifer*

Ομοίως το αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, δεν δείχνει να περιορίζει την ανάπτυξη του μύκητα *Rhizopus stolonifer*, καθώς από την πρώτη μέρα η ανάπτυξη σε όλες τις συγκεντρώσεις ελαίου φαίνεται να ναι παρόμοια, με εξαίρεση το τρυβλίο με τα 2500 ppm αιθέριου ελαίου, όπου η πυκνότητα του μυκηλίου φαίνεται πιο αραιή, και το ύψος της αποικίας σημαντικά πιο χαμηλό (Εικ. 3.25.A).



Εικ. 3.25 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. (Α) Επώαση για 24 hpi και (Β) επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στις 48 hpi και την έβδομη μέρα μετά την εναπόθεση των σποριαγγειοσπορίων στο θρεπτικό υπόστρωμα, σε όλες τις περιπτώσεις, η ανάπτυξη του μύκητα *Rhizopus stolonifer* είναι μεγάλη, αλλά και η πυκνότητα του μυκηλίου στην επιφάνεια του τρυβλίου όπου επεκτάθηκε, φαίνεται να είναι ακόμα πιο πυκνή όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του ελαίου. Ο σχηματισμός σποριαγγειοσπορίων είναι υψηλός σε όλες τις περιπτώσεις (Εικ. 3.21.B, Εικ. 3.22).



Εικ. 3.26 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, και για τις δύο επαναλήψεις του πειράματος, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.4 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

Ο μύκητας *Cladosporium* sp., σχημάτισε την πρώτη μέρα ανάπτυξης του, αραιό, λευκό μυκήλιο σε όλη την έκταση της σταγόνας του αιωρήματος σπορίων. Κατά σημεία πάνω στην σταγόνα, σχηματίζονται λευκές σφαιρικές αποικίες, μικρού μεγέθους και πολλών σε αριθμό (Εικ. 3.1.α). Μετά από 48 hpi, το λευκό χρώμα του μυκηλίου, αλλάζει σε σκούρο χρώμα απόχρωσης «Olive Green», ενώ η ανάπτυξη του δεν ξεφεύγει πέρα από τα όρια της σταγόνας (Εικ. 3.1.β, Εικ. 3.27).

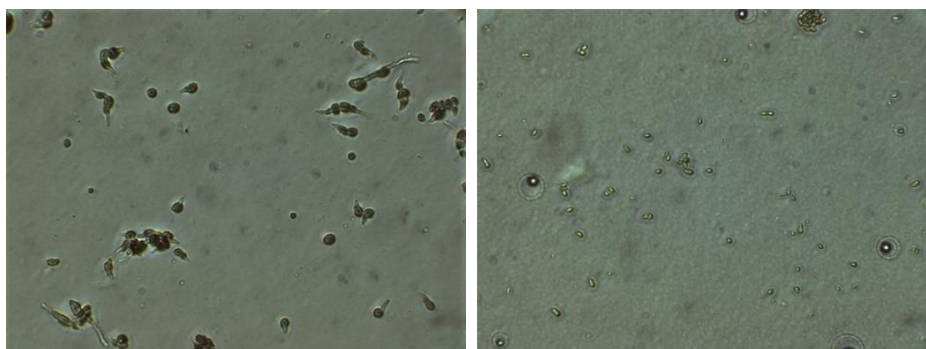


Εικ. 3.27 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Μετά από επτά ημέρες ανάπτυξης, η πυκνότητα της αποικίας του μύκητα έχει αυξηθεί, ενώ παραμένει ομοιόμορφα σε χαμηλό επίπεδο, και αποκτά ομοιόμορφο ακόμα πιο έντονο καφέ σκούρο χρώμα απόχρωσης «Raw Umber» (Εικ. 3.1.γ).

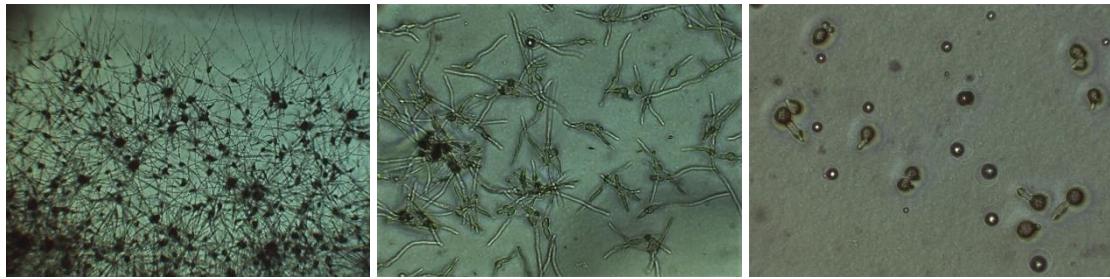
3.4.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

Στις 8 hpi τα σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε θρεπτικό υλικό χωρίς έλαιο ευκαλύπτου, μόλις είχαν ξεκινήσει να σχηματίζουν βλαστικό σωλήνα, ενώ στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις κανένα σπόριο δεν φαινόταν να έχει ξεκινήσει την διαδικασία της βλάστησης (Εικ. 3.28).



Εικ. 3.28: Σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με (α) 0 (x200) και (β) 1000 ppm (x48) αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus*. Επώαση για 8 hpi τις 25 °C, στο σκοτάδι.

Μέσα στις επόμενες 24 hpi, στα 1000 ppm ελαίου, μακροσκοπικά διακρίνονταν ανάπτυξη μυκηλίου, καθώς όπως φαίνεται στην εικόνα (Εικ. 3.29.β) η βλάστηση των σπορίων του μύκητα *Cladosporium* sp. είχε προχωρήσει σε σημαντικό βαθμό, όμως σε σύγκριση με τον μάρτυρα η καθυστέρηση της ανάπτυξης είναι εμφανής. Στα 2500 ppm τα σπόρια δεν είχαν βλαστήσει, ή μόλις είχαν ξεκινήσει να εμφανίζουν βλαστικό σωλήνα, στο στάδιο ανάπτυξης δηλαδή που ήταν ο μάρτυρας στις 8 hpi.



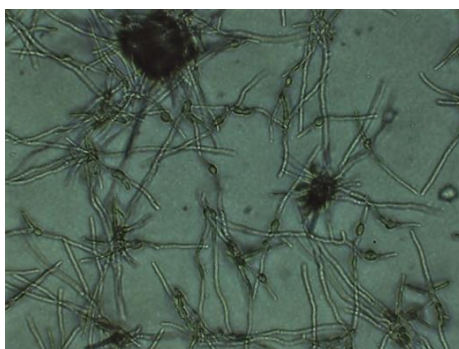
Εικ. 3.29: Σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με (α) 0, (β) 1000 και (γ) 2500 αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus* (x200). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Μετά από μια εβδομάδα, στο τρυβλίο των 1000 ppm ελαίου, η ανάπτυξη του μύκητα ήταν όμοια με αυτή του μάρτυρα, όπου είχε σχηματιστεί έντονο σκούρο καφέ μυκήλιο κατά μήκος της σταγόνας αιωρήματος σπορίων. Στα 2500 ppm, το μυκήλιο δεν είχε ομοιόμορφη ανάπτυξη, κατά μήκος της σταγόνας όπως στις άλλες μεταχειρίσεις, αλλά σχημάτισε κατά σημεία μικρές αποικίες σκούρου καφέ χρώματος, οι περισσότερες από τις οποίες δεν είχαν συνενωθεί. Επομένως, το αιθέριο έλαιο ευκαλύπτου σε αυτή τη συγκέντρωση, κατέστειλε μέχρι σε ένα σημείο την ανάπτυξη του μύκητα *Cladosporium* sp. (Εικ. 3.3).

3.4.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

Στην δοκιμή εφαρμογής αιθέριου ελαίου ρίγανης, μετά 8 hpi και 24 hpi, τα σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε συγκεντρώσεις 1000 και 2500 ppm δεν σχημάτισαν βλαστικό σωλήνα. Στις 24 hpi, η ανάπτυξη του μύκητα στα 100 ppm είχε προχωρήσει, το οποίο διακρίνονταν και μακροσκοπικά, με την εμφάνιση αραιού λευκού μυκηλίου.

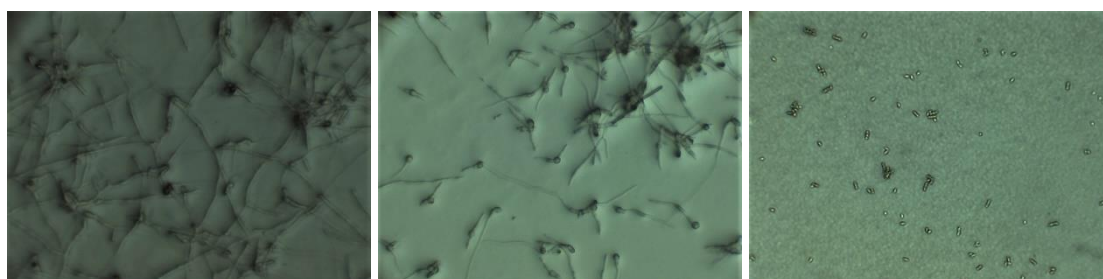
Μετά από μία εβδομάδα, στην συγκέντρωση των 100 ppm ελαίου, η ανάπτυξη του μύκητα βρισκόταν στο ίδιο στάδιο ανάπτυξης με τον μάρτυρα, ενώ στα 1000 και 2500 ppm ελαίου τα σπόρια παρέμεναν αδρανή. Έτσι, φαίνεται πως σε αυτές τις υψηλές συγκεντρώσεις ελαίου ρίγανης, τα σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp. αδυνατούν να βλαστήσουν (Εικ. 3.5, Εικ. 3.24).



Εικ. 3.30: Σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με 100 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. (x200). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.4.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

Στις πρώτες 24 hpi, στον μάρτυρα έχει αναπτυχθεί αραιό μυκήλιο, ενώ μόλις στα 100 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης η ανάπτυξη του μύκητα *Cladosporium* sp. έχει κατασταλεί μερικώς, καθώς αν και όλα τα σπόρια φαίνεται να έχουν βλαστήσει, η ανάπτυξη είναι πιο περιορισμένη από αυτή του μάρτυρα. Σημαντική αναστολή ανάπτυξης παρουσιάζει ο μύκητας στις μεταχειρίσεις των 1000 και 2500 ppm ελαίου δάφνης, το οποίο φαίνεται να μην επέτρεψε την βλάστηση των σπορίων του (Εικ. 31).

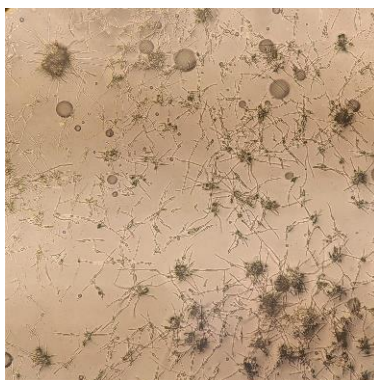


Εικ. 3.31: Σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με (α) 0, (β) 100 και (γ) 1000 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Laurus nobilis* (x200). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Όπως φαίνεται στην εικόνα 3.8 , μέσα σε τέσσερις ημέρες , ο μύκητας *Cladosporium* sp. στο τρυβλίο των 100 ppm, έχει σχηματίσει μυκήλιο σκούρου καφέ χρώματος «Raw Umber», που ομοιάζει με αυτό του μάρτυρα. Από την άλλη μεριά όταν δεκαπλασιάζεται η συγκέντρωση του ελαίου δάφνης, η βλάστηση των σπορίων καταστέλλεται. Έτσι, η εικόνα που μας δίνει το μικροσκόπιο στις συγκεντρώσεις των 1000 και 2500 ppm ελαίου, ομοιάζει με την εικόνα 3.28.β , όπου κανένα σπόριο δεν έχει σχηματίσει βλαστικό σωλήνα.

3.4.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

Στην πρώτη παρατήρηση που έγινε στις 7 hpi, δεν παρατηρήθηκε βλάστηση σπορίων στον μάρτυρα. Στις 24 hpi, φαίνεται πως σε όλες τις συγκεντρώσεις, τα σπόρια από τη σταγόνα του αιωρήματος σπορίων του μύκητα *Cladosporium* sp. σε θρεπτικό υλικό παρουσίας αιθέριου ελαίου αρκεύθου βλάστησαν, σχηματίζοντας λευκό μυκήλιο του οποίου η πυκνότητα φαίνεται να αραιώνει μεταξύ των μεταχειρίσεων, καθώς η συγκέντρωση ελαίου αυξάνεται. Έτσι εμφανίζεται στα 1000 και ακόμα πιο διακριτικό στα 2500 ppm αιθέριου ελαίου, αραιό μυκήλιο το οποίο κάνει διακριτά τα όρια της σταγόνας και απλώνεται ομοιόμορφα εντός των ορίων αυτής (Εικ. 3.11).



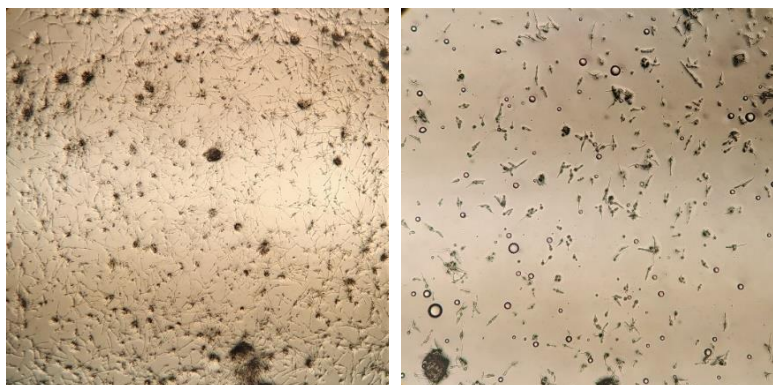
Εικ. 3.32: Σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με 2500 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι. (x100)

Έπειτα από 48 hpi, το χρώμα του μυκηλίου έχει γίνει από λευκό, σκούρο ελαιώδες «Olive Green», με αυτό στην συγκέντρωση των 2500 ppm ελαίου να έχει μια καφετί απόχρωση «Dark Citrin» και να παραμένει πιο αραιό σε σχέση με τις υπόλοιπες μεταχειρίσεις (Εικ. 3.12), ενώ μέσα σε επτά ημέρες, το χρώμα που αποκτά ο μύκητας σε όλες τις περιπτώσεις είναι έντονο σκούρο καφέ «Raw Umber» και δεν διακρίνεται διαφορά στην ένταση ανάπτυξης (Εικ. 3.13).

3.4.5 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

Τα σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., μέσα σε 24 hpi βλάστησαν ανεξαρτήτου συγκεντρώσεως αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού, με την διαφορά πως η πυκνότητα του μυκηλίου μειώνονταν με την αύξηση της συγκέντρωσης του ελαίου. Έτσι, στα 100 ppm η ανάπτυξη του μύκητα είναι πολύ κοντά σε αυτή του μάρτυρα, με διακριτική ανάπτυξη μυκηλίου σε όλη την έκταση της σταγόνας και με πιο έντονες, μικρές, λευκές αποικίες κατά σημεία πάνω σε αυτή. Στα 1000 ppm, η πυκνότητα μυκηλίου της αποικίας πάνω στην σταγόνα είναι πιο αραιή (3.33.α), ενώ στα 2500 ppm η

ανάπτυξη είναι σχετικά δυσδιάκριτη και δεν καλύπτει όλη την έκταση της σταγόνας του αιωρήματος σπορίων και με ποσοστό βλάστησης σπορίων 67,8 % (Εικ. 3.14, Εικ. 3.33.β).



Εικ. 3.33: Σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με (α)1000 (x40) και (β) 2500 ppm (x100) αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Την δεύτερη μέρα ανάπτυξης, η πυκνότητα του μυκηλίου έχει αυξηθεί και το χρώμα του από λευκό έχει πάρει την χαρακτηριστική σκούρα απόχρωση «Olive Green». Ακόμα παρατηρείται πως στα 1000 ppm ελαίου, το μυκήλιο είναι πιο αραιό από τα 100 ppm, και στα 2500 ppm η ανάπτυξη παραμένει πολύ μικρή, με τον σχηματισμό σκούρων, πολλών και μικρών σε μέγεθος κεφαλής καρφίτσας, αποικιών σε όλη την έκταση της σταγόνας (Εικ. 3.15).

Μια εβδομάδα μετά από την τοποθέτηση των σπορίων στο θρεπτικό υλικό, στις συγκεντρώσεις των 100 και 1000 ppm έχει σχηματιστεί πυκνό, σκούρο καφέ μυκήλιο «Raw Umber», ενώ στα 2500 ppm η σταγόνα του αιωρήματος σπορίων του μύκητα *Cladosporium* sp. έχει καλυφθεί από σποριαγγειοσπόρια του μύκητα *Rhizopus stolonifer*, χωρίς να διακρίνεται από κάτω η χαρακτηριστική εμφάνιση του μυκηλίου του *Cladosporium* sp., πράγμα που φανερώνει πως η υψηλή συγκέντρωση ελαίου κυπαρισσιού περιόρισε την ανάπτυξη του, δίνοντας χώρο στον διπλανό μύκητα, του οποίου η ανάπτυξη δεν περιορίστηκε, να επεκταθεί (Εικ. 3.16).

3.4.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

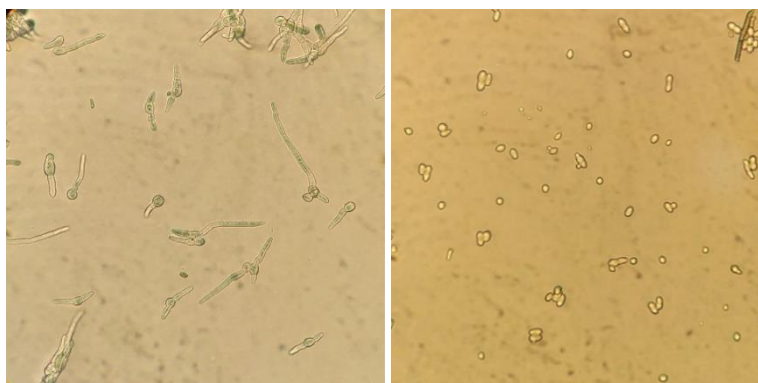
Όπως φαίνεται από την εικόνα 3.17, η ανάπτυξη του μύκητα *Cladosporium* sp. είναι ιδιαίτερα έντονη από τις πρώτες κιόλας 24 hpi, και μάλιστα στην μεγαλύτερη συγκέντρωση των 2500 ppm αιθέριου ελαίου κέδρου, ο αριθμός των μικρών λευκών αποικιών που διακρίνονται κατά μήκος της σταγόνας, φαίνεται να είναι ιδιαίτερα αυξημένος.

Ομοίως, στις 48 hpi και στις 7 ημέρες επώασης, δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές στην ανάπτυξη του μύκητα μεταξύ των μεταχειρίσεων. Σε όλα τα τρυβλία, στην τελευταία παρατήρηση, έχει αναπτυχθεί πυκνό μυκήλιο σκούρου καφέ χρώματος «Raw Umber» ₂ με αυτό των 2500 ppm να έχει ακόμα πιο έντονη σκούρα απόχρωση «Brussets Brown» (Εικ. 3.18, Εικ. 3.19).

3.4.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

Τις πρώτες 24hpi, η παρουσία του μύκητα *Cladosporium* sp. είναι πολύ περιορισμένη, καθώς κανονική ανάπτυξη παρατηρείται μόνο στο τρυβλίο του μάρτυρα, όπου δεν υπάρχει παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου. Στα 100 ppm ελαίου, στο σημείο που είχε τοποθετηθεί η σταγόνα του αιωρήματος των σπορίων του μύκητα, μόλις που διακρίνεται κάποια ανάπτυξη που ομοιάζει με σκόνη μακροσκοπικά, ενώ στα 1000 και 2500 ppm δεν διακρίνεται ανάπτυξη (Εικ. 3.20.A).

Στα 100 ppm με την χρήση μικροσκοπίου, παρατηρείται η δημιουργία βλαστικού σωλήνα από σημαντικό αριθμό σπορίων, με ποσοστό βλάστησης 85,1 % (Εικ. 3.34.α). Στα 1000 ppm ελαίου, παρατηρείται μια διστακτική ανάπτυξη βλαστικού σωλήνα, από έναν μικρό αριθμό σπορίων (Εικ. 3.34.β). Στα 2500 ppm κανένα από τα σπόρια δεν βλάστησε.

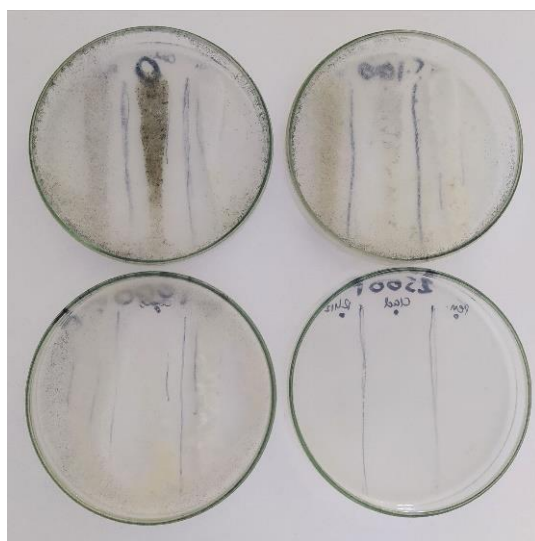


Εικ. 3.34: Σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με 100 (α) και 1000 ppm (β) αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C (x400).

Στις 48 hpi, ο μύκητας στα 100 ppm, αν και καλύφθηκε από τις υφές του μύκητα *Rhizopus stolonifer*, σε λευκό φόντο (Εικ. 3.36), φαίνεται πως η ανάπτυξη του ήταν πολύ περιορισμένη, όμως απέκτησε σκούρο καφέ- κίτρινο χρώμα. Ουσιαστικά αποτελείται καιρίως από λίγες και πολύ μικρές αποικίες, σε μέγεθος κεφαλής καρφίτσας (Εικ. 3.20.B). Στα 1000 ppm φαίνεται πως βλάστησαν περισσότερα σπόρια σε σύγκριση με τις 24 hpi, με μεγαλύτερου μεγέθους βλαστικό σωλήνα, αλλά το ποσοστό βλάστησης παραμένει χαμηλό (Εικ. 3.35).



Εικ. 3.35: Σπόρια του μύκητα *Cladosporium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με 1000 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. Επώαση για 48 hpi στους 25 °C (x400).

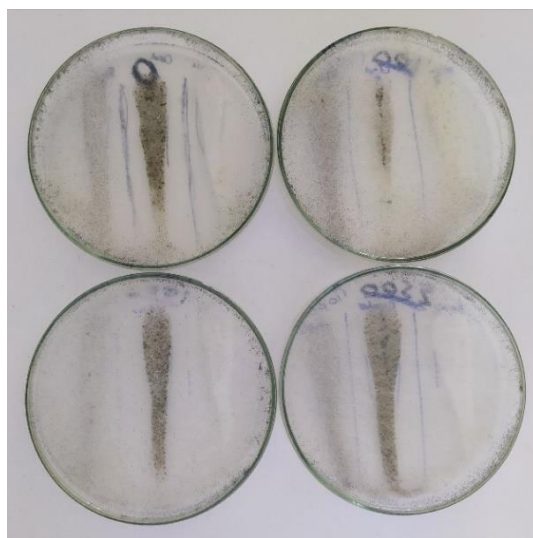


Εικ. 3.36 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Μετά από επτά μέρες ανάπτυξης, στα 100 ppm ελαίου, το μυκήλιο αν και έχει πάρει σκούρο καφέ χρώμα διαφέρει πολύ στην πυκνότητα σε σχέση με τον μάρτυρα, καθώς είναι κατά πολύ πιο αραιό. Έτσι διαπιστώνεται πως η δράση του ελαίου είναι πολύ αποτελεσματική κατά του μύκητα *Cladosporium* sp., ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις, το οποίο σύμφωνα με τα αποτελέσματα των υπόλοιπων ελαίων κατά την ανάπτυξη των μυκήτων, σε αυτή τη συγκέντρωση δεν έχει παρατηρηθεί. Η αποτελεσματικότητα του επιβεβαιώνεται, καθώς στην υψηλότερη συγκέντρωση ελαίου γαριφάλου (2500 ppm), ακόμα και μετά από μια εβδομάδα το ποσοστό βλάστησης παραμένει στο 0% (Εικ. 3.26).

3.4.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

Από την πρώτη μέρα ανάπτυξης, έως και την έβδομη η ανάπτυξη του μύκητα *Cladosporium* sp. ήταν αρκετά έντονη και στο ίδιο στάδιο σε όλες τις συγκεντρώσεις ελαίου πορτοκαλιού. Εξαίρεση αποτελεί η μεταχείριση των 100 ppm, όπου η ανάπτυξη του μύκητα είναι αρκετά μικρότερη, το οποίο πιθανών οφείλεται σε άλλους παράγοντες, όπως ίσως η επιμόλυνση από τον *Rhizopus stolonifer*, λόγω της έντονης επέκτασης των υφών του. Όπως φαίνεται από τις εικόνες 3.23, 3.24 και 3.37, και στις τρεις παρατηρήσεις η ανάπτυξη των 1000 και 2500 ppm ελαίου πορτοκαλιού, η εικόνα του μύκητα είναι όμοια με αυτή του μάρτυρα. Επομένως, το συγκεκριμένο αιθέριο έλαιο δεν είχε αποτελεσματική δράση ενάντια στο μύκητα *Cladosporium* sp. .

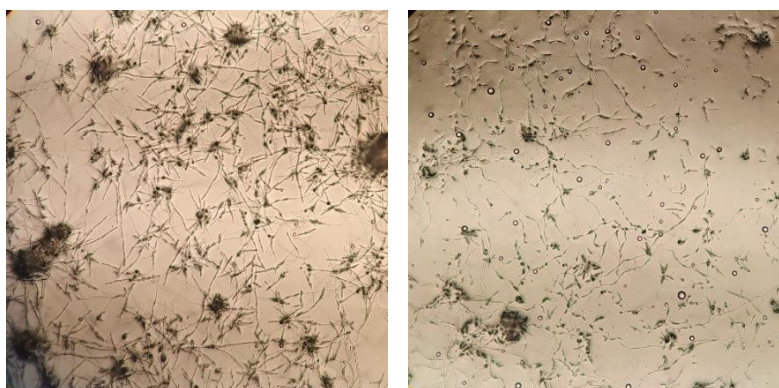


Εικ. 3.37: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.4.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Cladosporium* sp.

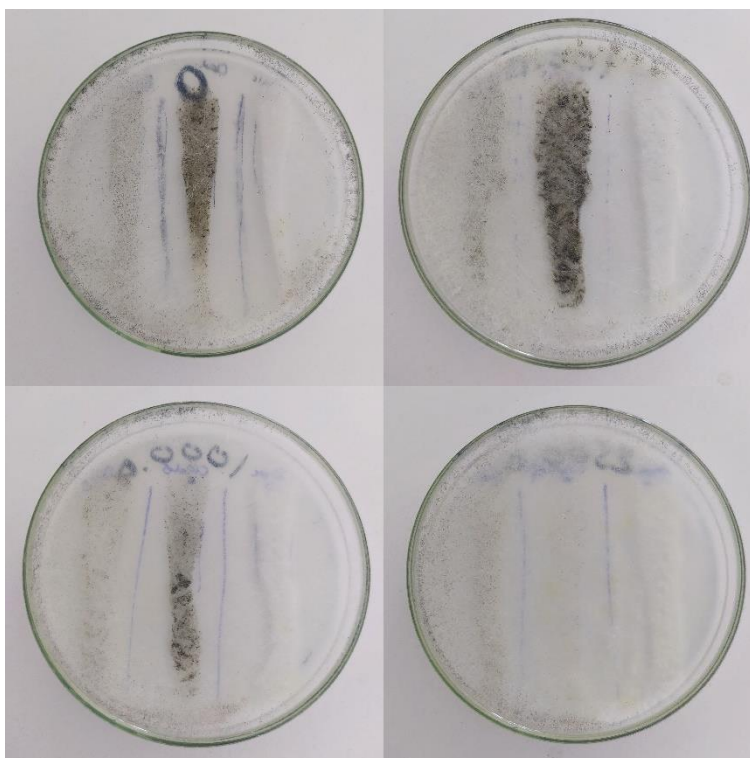
Στην πρώτη παρατήρηση στις 24 hpi, ο μύκητας *Cladosporium* sp. αναπτύχθηκε σε όλες τις συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, με αυτή των 100 ppm ελαίου να έχει αναπτύξει πιο έντονο μυκήλιο σε σχέση με τον μάρτυρα, ανομοιόμορφης πυκνότητας στην επιφάνειάς της σταγόνας. Στα 1000 και 2500 ppm ελαίου εμφανίζουν μειωμένη και ελάχιστη ανάπτυξη αντίστοιχα σε σχέση με αυτή του μάρτυρα (Εικ. 3.25.A).

Μέσω μικροσκοπίου (Εικ. 3.38.α) αν και στα 1000 ppm φαίνεται πως όλα τα σπόρια έχουν βλαστήσει, το μήκος των υφών είναι σχετικά μικρό και έτσι δεν σχηματίζεται πυκνό μυκήλιο. Αντίστοιχη εικόνα παρατηρείται στα 2500 ppm αιθέριου ελαίου, όπου όμως η ανάπτυξη του μύκητα είναι ακόμα μικρότερη. (Εικ. 3.38.β).



Εικ. 3.38 : (α) Βλαστημένα σπόρια του μύκητα *Cladosporium sp* σε PGA, με 1000 ppm (x100) και (β) σε 2500 ppm (x100) αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στις 48 hpi, στα 100 ppm η ανάπτυξη του μύκητα είναι πιο έντονη από ότι αυτή του μάρτυρα, σχηματίζοντας πιο έντονο σκούρο λαδί μυκήλιο «Dark Ivy Green». Στα 1000 ppm η ανάπτυξη είναι πιο μικρή από αυτή του μάρτυρα, και στα 2500 ppm σε ακόμα μεγαλύτερο βαθμό, ενώ το χρώμα του μυκηλίου παραμένει λευκό, με ελαφριά κίτρινη απόχρωση «Sulphur Yellow» (Εικ. 3.25.B, Εικ. 3.39).



Εικ. 3.39 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* (αριστερά του τρυβλίου), του *Cladosporium* sp. (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Την έβδομη ημέρα ανάπτυξης, στις μεταχειρίσεις με συγκέντρωση ελαίου 100, 1000 ppm ο μύκητας *Cladosporium* sp. έχει σχηματίσει πυκνό καφέ σκούρο μυκήλιο «Raw Umber» , όμοιο με του μάρτυρα, ενώ στα 2500 ppm δεν διακρίνεται η χαρακτηριστική σκούρα εξάνθηση του μύκητα, ο οποίος έχει καλυφθεί πλέον από τον *Rhizopus stolonifer* (Εικ. 3.26).

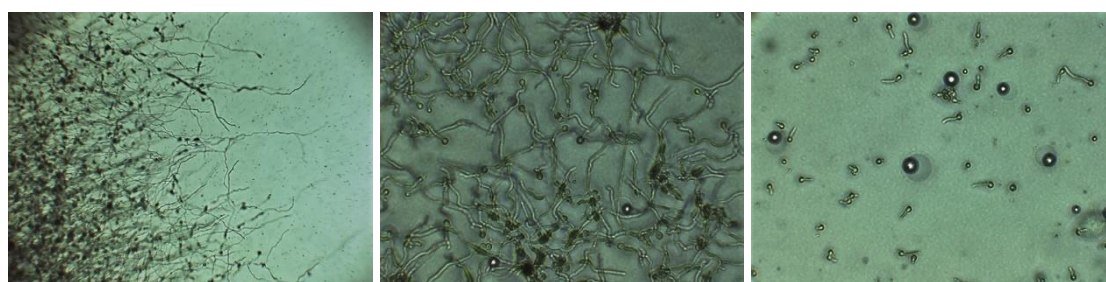
3.5 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Penicillium* sp.

Ο μύκητας του γένους *Penicillium* sp., στο σημείο όπου τοποθετήθηκε η σταγόνα αιωρήματος των σπορίων του μετά από 24 hpi, έχει σχηματίζει λευκό μυκήλιο, σχετικά ομοιόμορφης πυκνότητας σε όλη την έκταση της. Την επόμενη μέρα, η ανάπτυξη έχει προχωρήσει σχηματίζοντας ακόμα πιο πυκνό μυκήλιο, το οποίο κατά κύριο λόγο περιορίζεται μέσα στα όρια της σταγόνας και το χρώμα του έχει πάρει μια ελαφρώς γαλάζια απόχρωση «Pale Turquoise Green». Μετά από 7 ημέρες επώασης, η

ανάπτυξη του δεν διαφέρει πολύ με αυτή των πρώτων ημερών, ενώ το χρώμα του παίρνει μια χαρακτηριστική κυανή απόχρωση «Dark Gobelin Blue» (Εικ. 3.1).

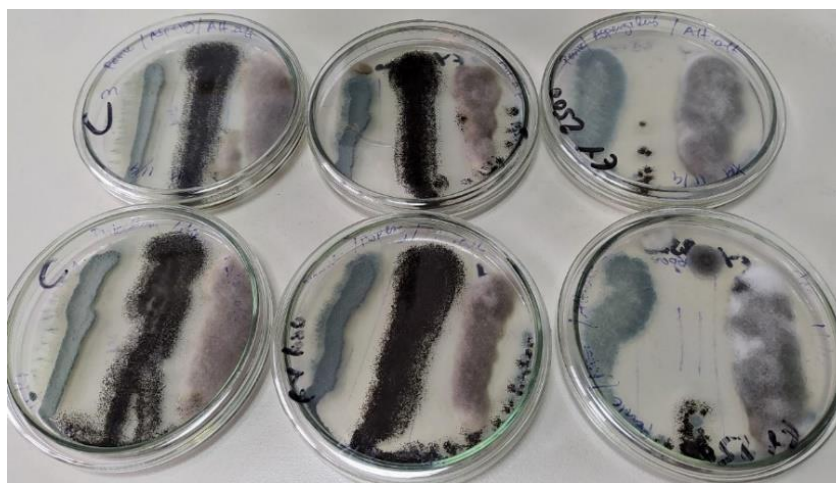
3.5.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Penicillium* sp.

Στις 8 hpi, τα σπόρια του μύκητα *Penicillium* sp. δεν πρόλαβαν να βλαστήσουν, αλλά στις 24 hpi η ανάπτυξη του μάρτυρα είχε προχωρήσει πολύ σχηματίζοντας πυκνό μυκήλιο και στα 1000 ppm ελαίου ευκαλύπτου επίσης η ανάπτυξη ήταν προχωρημένη, όμως η πυκνότητα του μυκηλίου ήταν εμφανώς πιο αραιή. Στα 2500 ppm κάποια σπόρια είχαν μόλις ξεκινήσει να αναπτύσσουν βλαστικό σωλήνα.



Εικ. 3.40: Σπόρια του μύκητα *Penicillium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με (α) 0 (x 48), (β) 1000 και (γ) 2500 ppm (x200) αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus*. Επώαση για 24 hpi τις 25 °C, στο σκοτάδι.

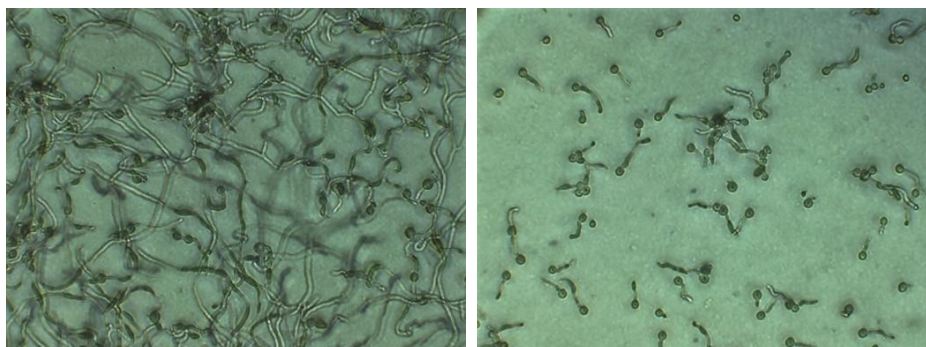
Έπειτα από επτά ημέρες στον επωαστικό θάλαμο, ο μύκητας *Penicillium* sp., παρουσίασε σημαντική ανάπτυξη και στις δύο συγκεντρώσεις ελαίου ευκαλύπτου, με αυτή των 1000 ppm να παρουσιάζει πιο έντονη μπλε απόχρωση σε σχέση με τον μάρτυρα «Dusky Green Blue», χωρίς να υπάρχει διαφορά στην ένταση της ανάπτυξης, ενώ στα 2500 ppm φαίνεται πως ο μύκητας καλύπτει μεγαλύτερη επιφάνεια στο τρυβλίο σε σχέση με τις άλλες δυο μεταχειρίσεις, παρουσιάζοντας μια έξαρση ανάπτυξης (Εικ. 3.41).



Εικ. 3.41 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Penicillium* sp. (δεξιά του τρυβλίου), *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (αριστερά του τρυβλίου), παρουσία αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β) και τρίτο (γ) τις συγκεντρώσεις 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.5.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Penicillium* sp.

Αντίστοιχα, στις 8 hpi τα σπόρια του μύκητα *Penicillium* sp. δεν πρόλαβαν να βλαστήσουν. Στις 24 hpi, στα 100 ppm αιθέριου ελαίου η ανάπτυξη του μύκητα είναι αντίστοιχη του μάρτυρα, ενώ το αιθέριο έλαιο στα 1000 ppm περιορίζει την ανάπτυξη του, καθώς τα σπόρια έχουν σχηματίσει μικρό βλαστικό σωλήνα.

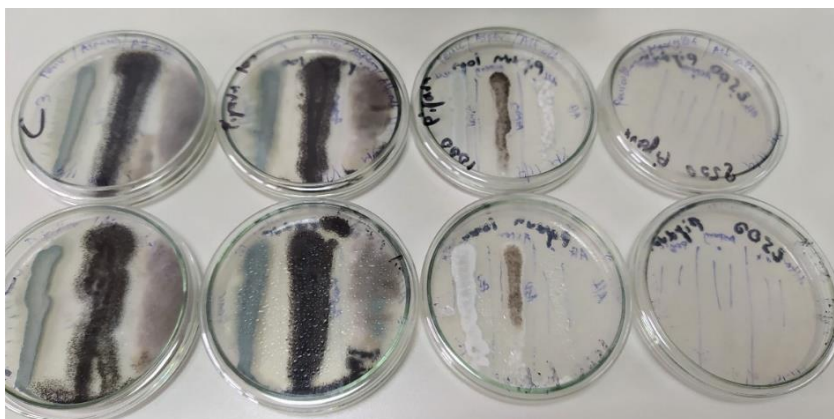


Εικ. 3.42: Σπόρια του μύκητα *Penicillium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με (α) 100 και (β) 1000 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Origanum* sp. (x200). Επώαση για 24 hpi τις 25 °C, στο σκοτάδι.

Έπειτα από επτά μέρες ανάπτυξης, ο μύκητας *Penicillium* sp. στα 100 ppm ελαίου έχει όμοια ανάπτυξη με αυτή του μάρτυρα, με ελαφρώς πιο έντονο χρώμα μυκηλίου «Dusky Green Blue». Στα 1000 ppm, η παρουσία ελαίου φαίνεται να επηρέασε σε

έναν βαθμό την ανάπτυξη του μύκητα, καθώς κατά κύριο λόγο το χρώμα του μυκηλίου είναι ακόμα λευκό (Εικ. 3.43).

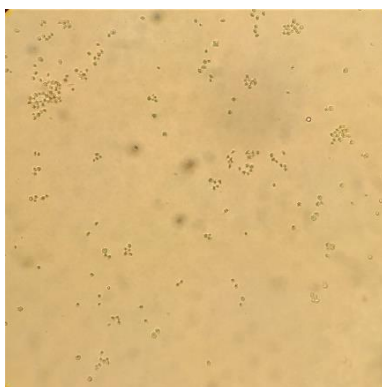
Βέβαια, προκαλεί σύγχυση το γεγονός ότι μεταξύ των τριών επαναλήψεων του πειράματος, στα 1000 ppm υπάρχει αξιοσημείωτη ανομοιογένεια, με την κάθε επανάληψη να παρουσιάζει διαφορετικό στάδιο ανάπτυξης (Εικ. 3.44). Σε κάθε περίπτωση, φαίνεται πως η ανάπτυξη είναι μικρότερη στα 1000 ppm από ότι στα 100 ppm, ενώ στα 2500 ppm ελαίου ρίγανης, τα σπόρια του μύκητα δεν έχουν βλαστήσει, αποδεικνύοντας την αποτελεσματική δράση του σε αυτές τις συγκεντρώσεις (Εικ.3.35).



Εικ. 3.43 : Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Penicillium* sp. (αριστερά του τρυβλίου), *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου), παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp.. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β) και τρίτο (γ) τις συγκεντρώσεις 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.



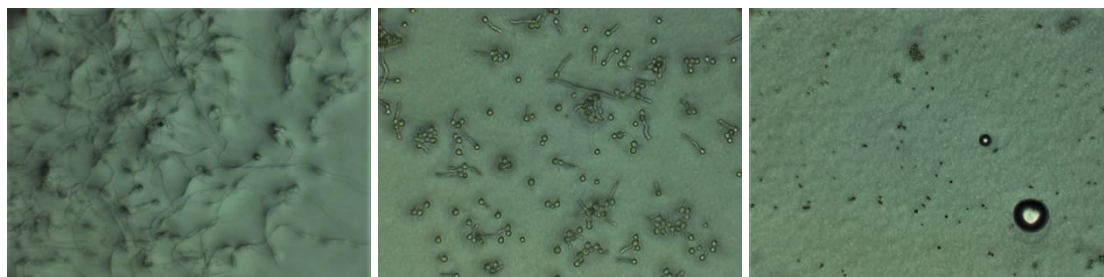
Εικ. 3.44 : Οι τρεις επαναλήψεις του πειράματος, των μυκήτων *Penicillium* sp. (αριστερά του τρυβλίου), *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου), σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp.. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.35: Σπόρια του μύκητα *Penicillium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με 2500 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp.. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C (x400).

3.5.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Penicillium* sp.

Όπως φαίνεται στις φωτογραφίες (Εικ. 3.45), στις πρώτες 24 hpi ο μύκητας στα 100 ppm ελαίου δάφνης αναπτύχθηκε σημαντικά σχηματίζοντας αραιό πλέγμα υφών, αντίστοιχης εικόνας με του μάρτυρα, ενώ στα 1000 ppm η ανάπτυξη φαίνεται πως είχε κατασταλεί, καθώς πολλά σπόρια δεν είχαν βλαστήσει, ενώ άλλα είχαν σχηματίσει ανεπτυγμένο βλαστικό σωλήνα. Στα 2500 ppm κανένα σπόριο του μύκητα δεν βλάστησε.



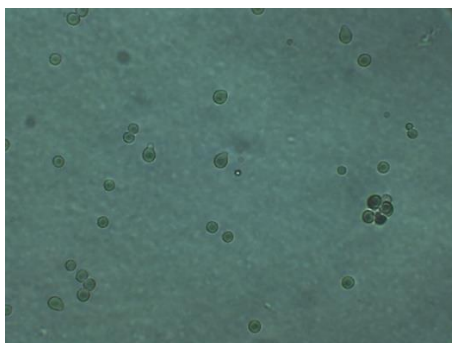
Εικ. 3.45: Σπόρια του μύκητα *Penicillium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με (α) 100, (β) 1000 και (γ) 2500 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Laurus nobilis* (x200). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Η δράση του ελαίου δάφνης στα 100 ppm φαίνεται πως δεν επηρεάζει την ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium* sp., καθώς μετά από τέσσερις μέρες επώασης η ανάπτυξη του δεν διαφέρει από αυτή του μάρτυρα. Στα 1000 ppm αιθέριου ελαίου όμως, η ανάπτυξη έχει καθυστερήσει, καθώς αν και έχει σχηματιστεί ομοιόμορφο μυκήλιο σε όλη την έκταση της σταγόνας, δεν έχει αποκτήσει ακόμα το χαρακτηριστικό κυανό χρώμα, και παραμένει λευκό. Στα 2500 ppm, η καταστολή είναι ακόμα μεγαλύτερη,

καθώς τα σπόρια του μύκητα δεν μπόρεσαν να βλαστήσουν σε αυτή τη συγκέντρωση ελαίου δάφνης (Εικ. 3.8).

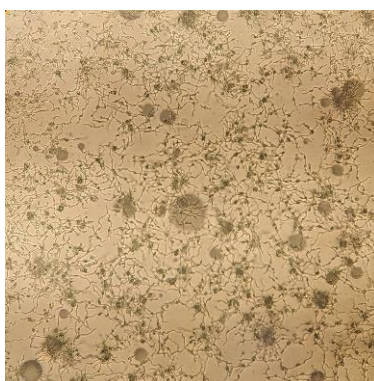
3.5.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Penicillium* sp.

Στις 7 ηρί, η εικόνα των σπορίων σε έλαιο αρκεύθου 100 ppm, ήταν αντίστοιχη με του μάρτυρα, όπου σε ελάχιστο αριθμό σπορίων διακρίνονταν πως μόλις άρχιζε να εμφανίζεται ο βλαστικός σωλήνας, όπως φαίνεται στην εικόνα 3.46.



Εικ. 3.46: Σπόρια του μύκητα *Penicillium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με 100 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis* (x200). Επώαση για 24 ηρί στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Τις πρώτες 24 ηρί, τα σπόρια του μύκητα *Penicillium* sp. είχαν βλαστήσει σε όλες τις μεταχειρίσεις, ανεξαρτήτου αριθμού συγκέντρωσης αιθέριου ελαίου αρκεύθου, ενώ παρατηρείται μια μείωση στην πυκνότητα του λευκού μυκηλίου που σχηματίστηκε, καθώς αυξάνεται η συγκέντρωση, με αυτή των 2500 ppm να παρουσιάζει διακριτικό αραιό μυκήλιο σε όλη την επιφάνεια της σταγόνας (Εικ. 3.11, Εικ. 3.47).



Εικ. 3.47: Βλάστηση σπορίων του μύκητα *Penicillium* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA με 2500 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Επώαση για 24 ηρί στους 25 °C, στο σκοτάδι. (x100)

Αντίστοιχη εικόνα παρατηρείτε στις 48 hpi, καθώς ο μάρτυρας έχει πλέον έντονο κυανό χρώμα «Pale Turquoise Green», ενώ στα 2500 ppm είναι ακόμα πιο ανοιχτόχρωμο προς το λευκό (Εικ. 3.12).

Μια βδομάδα μετά, όλες οι μεταχειρίσεις αποκτούν έντονο κυανό χρώμα και δεν διακρίνεται σημαντική διαφορά στην ανάπτυξη «Dark Gobelin Blue» (Εικ. 3.13).

3.5.5 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκήλιου του μύκητα *Penicillium* sp.

Ο μύκητας *Penicillium* sp. , δεν φαίνεται να επηρεάζεται από την παρουσία του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού, καθώς από την πρώτη έως της έβδομη ημέρα των παρατηρήσεων, δεν παρουσιάζει κάποια αξιοσημείωτη διαφορά στην ανάπτυξη του, όπως φαίνεται και από τις φωτογραφίες των παρατηρήσεων (Εικ. 3.14, Εικ. 3.15, Εικ. 3.16).

3.5.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκήλιου του μύκητα *Penicillium* sp.

Ομοίως, η ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium* sp. , σε όλες τις συγκεντρώσεις ελαίου κέδρου ήταν έντονη και αντίστοιχης έντασης με αυτή του μάρτυρα. Στις εικόνες (Εικ. 3.17, Εικ. 3.18, Εικ. 3.19) παρατηρείται πως από την πρώτη έως την έβδομη ημέρα παρατήρησης, το χρώμα και η έκταση ανάπτυξης είναι σε όλες τις περιπτώσεις όμοιες, συμπεραίνοντας πως το αιθέριο έλαιο κέδρου, δεν δρα αποτελεσματικά κατά του συγκεκριμένου μύκητα.

3.5.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκήλιου του μύκητα *Penicillium* sp.

Στην πρώτη παρατήρηση στις 24 hpi, ο μύκητας *Penicillium* sp. αναπτύχθηκε σε υπόστρωμα με 100 ppm ελαίου γαριφάλου, σχηματίζοντας αρκετά πυκνό λευκό μυκήλιο, ομοιάζοντας με αυτό του μάρτυρα. Στα 1000 ppm αιθέριου ελαίου, φαίνεται πως η ανάπτυξη έχει καθυστερήσει καθώς το μυκήλιο είναι πιο αραιό, ενώ στα 2500 ppm, στα σπόρια του μύκητα δεν έχουν βλαστήσει (Εικ. 3.20.A).

Στην παρατήρηση των 48 hpi , οι μόνες αλλαγές που συνέβησαν ήταν πως στα 100 ppm το μυκήλιο έγινε πιο πυκνό, με ανοιχτό κυανό χρώμα όπως στον μάρτυρα και στα 1000 ppm το μυκήλιο έγινε πιο πυκνό, παρέμεινε λευκό και ανομοιογενές πάνω στην επιφάνεια όπου τοποθετήθηκε η σταγόνα του αιωρήματος κονιδίων (Εικ. 3.20.B).

Μια βδομάδα μετά, στις τρεις μεταχειρίσεις του μάρτυρα, των 100 και των 1000 ppm ελαίου, δεν παρατηρούνται σημαντικές διαφορές μεταξύ τους στο χρώμα και την πυκνότητα του μυκηλίου, ενώ στα 2500 ppm η βλάστηση των σπορίων παραμένει μηδενική, αξιολογώντας το έλαιο γαριφάλου ως αποτελεσματικό σε αυτές τις συγκεντρώσεις, κατά της βλάστησης των σπορίων του μύκητα *Penicillium* sp. (Εικ. 3.21).

3.5.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Penicillium* sp.

Ομοίως με τον μύκητα *Cladosporium* sp., ο μύκητας *Penicillium* sp., παρουσία αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού, αντέδρασε με τον ίδιο τρόπο. Ενώ και στις τρεις παρατηρήσεις που γίναν 24, 48 hpi και 7 μέρες μετά, η ανάπτυξη του μύκητα *Penicillium* sp. στις συγκεντρώσεις 1000 και 2500 ppm ελαίου πορτοκαλιού, είναι όμοια με αυτή του μάρτυρα σε όλες τις περιπτώσεις, η μεταχείριση της συγκέντρωσης 100 ppm ελαίου αποτελεί εξαίρεση. Η ανάπτυξη του μύκητα σε αυτή την περίπτωση, είναι κατά πολύ μειωμένη και αυτό θα οφείλεται σε άλλους παράγοντες, όπως πιθανών η επιμόλυνση από τον *Rhizopus stolonifer*. Έτσι, λόγω της αρκετά έντονης ανάπτυξης του μύκητα *Penicillium* sp. στην μέγιστη συγκέντρωση αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού, συμπεραίνουμε ότι δεν αποτελεί παράγοντα καταστολής του (Εικ. 3.23, Εικ. 3.24).

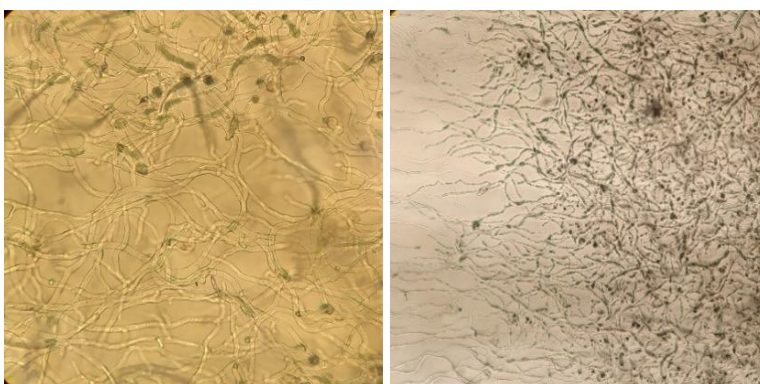
3.5.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Penicillium* sp.

Ο μύκητας *Penicillium* sp. παρουσίασε από την πρώτη μέρα, αρκετά έντονη ανάπτυξη λευκού μυκηλίου, με αυτή των 100 ppm ελαίου να είναι η πιο έντονη μεταξύ των τεσσάρων μεταχειρίσεων. Στα 1000 και 2500 ppm ελαίου ο μύκητας φαίνεται να βρίσκεται στο ίδιο αναπτυξιακό στάδιο, που διαφέρει μόνο σε μικρό βαθμό από αυτό του μάρτυρα (Εικ. 3.25.A).

Στην δεύτερη και τρίτη παρατήρηση, της δεύτερης και έβδομης μέρας αντίστοιχα, δεν διακρίνεται καμία σημαντική διαφορά στην μορφολογία του μύκητα, οδηγώντας στο συμπέρασμα της μη αποτελεσματικής δράσης του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου στην καταστολή της ανάπτυξης του μύκητα *Penicillium* sp. (Εικ. 3.25B, Εικ. 3.26).

3.6 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*.

Η βλάστηση των σπορίων του μύκητα *Aspergillus niger*, χωρίς την παρουσία κάποιου πιθανού κατασταλτικού παράγοντα, μέσα στο πρώτο 24ώρο είχε ολοκληρωθεί και οι υφές είχαν επεκταθεί σημαντικά, ώστε να αλληλεπικαλύπτονται (Εικ. 3.48), σχηματίζοντας πυκνό λευκό μυκήλιο, κάνοντας διακριτά τα όρια της σταγόνας πάνω στο θρεπτικό υλικό του τρυβλίου (Εικ. 3.49).



Εικ. 3.48: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*, σε θρεπτικό υλικό PGA, (α) x400 (β) x100. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.49: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.50: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) , σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 48 hpi (α) και 7 ημέρες (β) στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στις 48 hpi, εντός των ορίων της σταγόνας, έχει σχηματιστεί εξάνθηση καφέ κίτρινης απόχρωσης «Deep Olive-Buff» και πάνω σε όλη την έκταση της έχουν σχηματιστεί σπόρια του μύκητα μαύρου χρώματος, ενώ περιφερειακά της σταγόνας απλώνονται ακτινωτά μυκήλια λευκού χρώματος.

Έπειτα από 7 ημέρες ανάπτυξης, έχει πλέον καλυφθεί όλο το σημείο ανάπτυξης του από τα σπόρια του μύκητα προσδίδοντάς του μαύρο χρώμα «Black», κυρίως πάνω από το σημείο που βρίσκονταν η σταγόνα και στα σημεία όπου καταλήγουν τα περιφερειακά μυκήλια που αναφέρθηκαν (Εικ. 3.50).

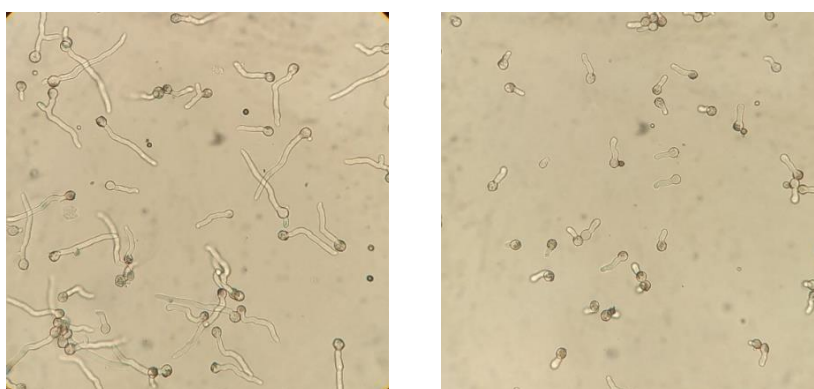
3.6.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*.

Στις δύο μεταχειρήσεις με τις μικρότερες συγκεντρώσεις ελαίου ευκαλύπτου, η ανάπτυξη του μύκητα *Aspergillus niger* είναι ορατή από τις πρώτες 24 hpi, όπου σχηματίστηκε λευκό μυκήλιο σε όλη την έκταση της σταγόνας, με αυτήν των 100 ppm να παρουσιάζει λίγο πιο έντονη ανάπτυξη από αυτή του μάρτυρα και αυτή των 1000 ppm να εμφανίζει αρκετά πιο αραιό μυκήλιο σε σχέση με τον μάρτυρα και τα 100 ppm, ενώ κατά σημεία είναι λιγότερο ή περισσότερο πυκνό (Εικ. 3.51).



Εικ. 3.51: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στην συγκέντρωση των 2500 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου, η ανάπτυξη του μύκητα έχει κατασταλεί σημαντικά, κάνοντας δυσδιάκριτη την παρουσία του μακροσκοπικά, λόγω του ιδιαίτερα μικρού μεγέθους των βλαστικών σωλήνων των σπορίων. Το ποσοστό βλάστησης των σπορίων, φτάνει το 63,4 % (Εικ. 3.52).

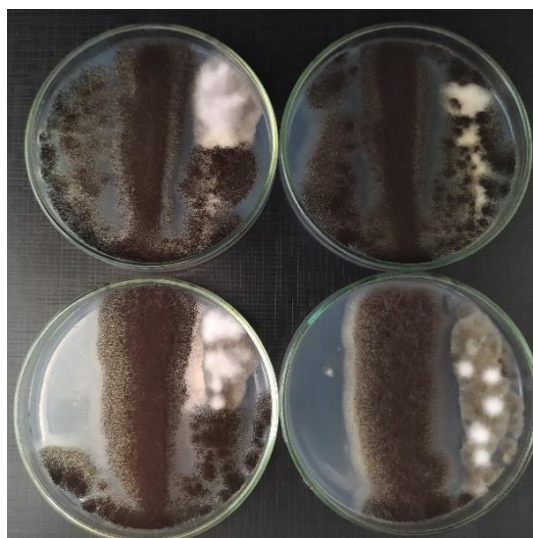


Εικ. 3.52: Βλάστηση σπορίων και σπόρια του μύκητα *Aspergillus niger*, σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus* (x400). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Έπειτα από 7 ημέρες επώασης, όπου η ανάπτυξη έχει προχωρήσει σημαντικά, είναι αξιοσημείωτες οι μορφολογικές διαφορές του μύκητα μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ενώ ο μάρτυρας παρουσιάζει την τυπική εικόνα του μύκητα με την λευκή ζώνη

περιφερειακά της σταγόνας, ο μύκητας στα 100 ppm ελαίου ευκαλύπτου έχει εμφανώς πιο έντονο σκούρο χρώμα, χωρίς να διακρίνεται αυτή η λευκή περιγεωιακή ζώνη. Στα 1000 ppm αιθέριου ελαίου, με εξίσου έντονο σκούρο χρώμα, ο μύκητας έχει επεκταθεί λίγο περισσότερο μέσα στο τρυβλίο, ενώ η αποικία κατά μήκος της σταγόνας είναι ιδιαίτερα πυκνή (Εικ. 3.53).

Μορφολογική ιδιαιτερότητα παρουσιάζει ο μύκητας στα τρυβλία με 2500 ppm ελαίου ευκαλύπτου, όπου έχει δημιουργήσει μία έντονη, κατά κύριο λόγο μαύρη εξάνθηση, που έχει επεκταθεί ομοιόμορφα σε μεγάλο τμήμα του τρυβλίου αλλά και καθ' ύψος, πολύ περισσότερο από τις άλλες μεταχειρίσεις και κυρίως σε σύγκριση με αυτή του μάρτυρα, ενώ η ανάπτυξη του είναι μέσα σε σαφή όρια. Έτσι, παρά την αρχικά έντονη καταστολή που προκάλεσε η υψηλή συγκέντρωση ελαίου ευκαλύπτου, φάνηκε πως στην συνέχεια προκαλείται μια ταχεία αύξηση της ανάπτυξης του μύκητα, αναιρώντας το ενδεχόμενο της αποτελεσματικότητας του. Στην εικόνα 3.41, όπου είχε δοκιμαστεί ξανά ο συνδυασμός αυτός ελαίου και μύκητα, δεν παρουσιάζει την ίδια εικόνα, αλλά το πιο πιθανό είναι πως οφείλεται άλλος παράγοντας καθώς στο κάτω μέρος του τρυβλίου παρατηρούνται ανεπτυγμένες αποικίες του μύκητα, καθώς επίσης λαμβάνοντας υπόψιν πως πράγματι, σε όλες τις άλλες περιπτώσεις οι μύκητες που δοκιμάστηκαν σε αυτή τη συγκέντρωση ελαίου φαίνεται να παρουσίασαν έξαρση ανάπτυξης την 7^η ημέρα.

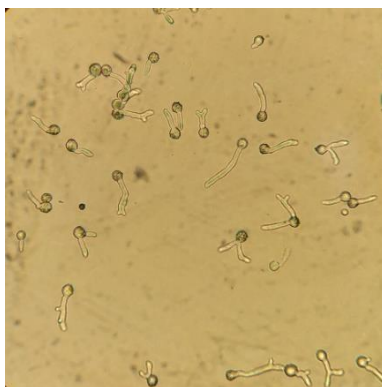


Εικ. 3.53: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.6.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκήλιου του μύκητα *Aspergillus niger*

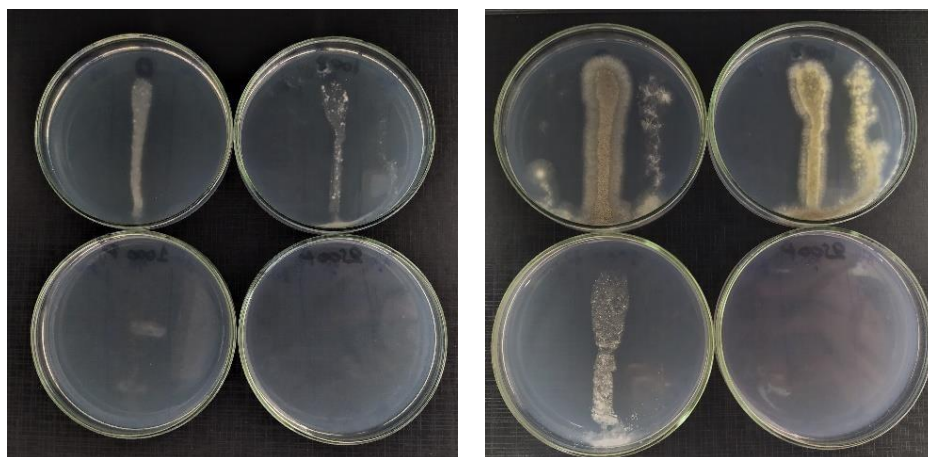
Στα 100 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης, τα σπόρια του μύκητα *Aspergillus niger* έχουν βλαστήσει μέσα στο πρώτο 24ωρο, αλλά η ανάπτυξη του μύκητα είναι εμφανώς μικρότερη από αυτή του μάρτυρα, όπου παρουσιάζει ομοιόμορφο λευκό μυκήλιο, ενώ στη περίπτωση των 100 ppm το μυκήλιο είναι πιο διακριτικό και κατά σημεία εμφανίζει λευκές αποικίες (Εικ. 3.55.A) Μετά από 48 hpi, το μυκήλιο έχει αναπτυχθεί πολύ περισσότερο αποκτώντας έντονο κίτρινο χρώμα «Dark Olive-Buffer», ενώ περιφερειακά από τα όρια της σταγόνας έχουν επεκταθεί ακτινωτά μυκήλια που είναι μικρότερα σε μήκος από αυτά τα μάρτυρα.

Στην συγκέντρωση των 1000 ppm τις πρώτες 24 hpi, δεν διακρίνεται κάποια ανάπτυξη μακροσκοπικά, αλλά μέσω του μικροσκοπίου διαπιστώνεται πως τα σπόρια έχουν ξεκινήσει την διαδικασία της βλάστησης, με το ποσοστό βλάστησης 42,62%. Ενώ στη συγκέντρωση των 2500 ppm κανένα σπόριο δεν βλάστησε.



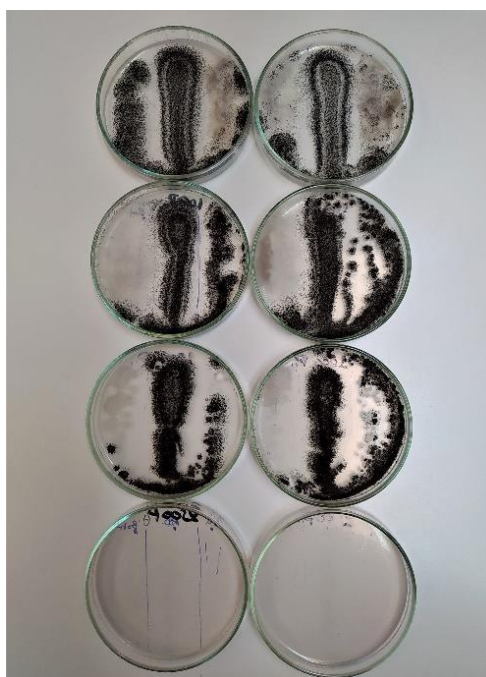
Εικ. 3.54: Βλάστηση σπορίων και σπόρια του μύκητα *Aspergillus niger*, σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. (x400). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Μετά από 48 hpi, η ανάπτυξη του μύκητα *Aspergillus niger* στα 1000 ppm, είναι πλέον ορατή χωρίς την χρήση μικροσκοπίου, καθώς έχει σχηματίσει ανομοιόμορφο λευκό μυκήλιο, το οποίο είναι είτε αραιό είτε πιο πυκνό κατά σημεία μέσα στα όρια της σταγόνας (Εικ. 3.55.B).



Εικ. 3.55: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. . Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 (Α) και 48 hpi (Β) στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Μια εβδομάδα μετά, όλες οι μεταχειρίσεις 0, 100 και 1000 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης, εμφάνισαν εξάνθηση μαύρου χρώματος λόγω των σπορίων που σχηματίστηκαν, ενώ τα σπόρια που τοποθετήθηκαν σε υπόστρωμα με 2500 ppm ελαίου ρίγανης παρέμειναν αδρανή, χωρίς να αναπτύξουν βλαστικό σωλήνα (Εικ. 3.56).

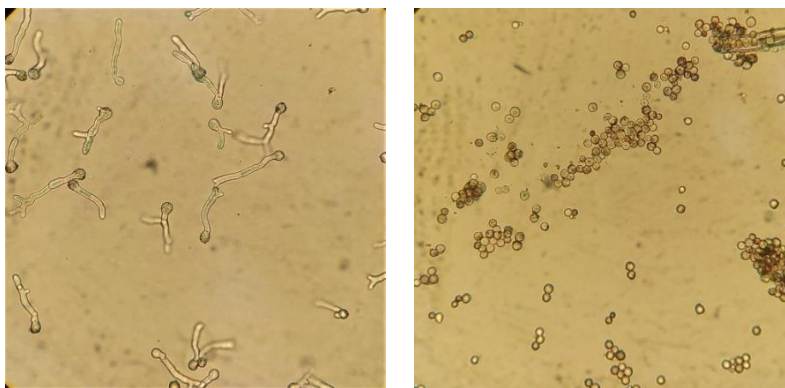


Εικ. 3.56: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τρυβλίο καθέτως, τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ελαίου αντίστοιχα και για τις δύο επαναλήψεις του πειράματος, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.6.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*

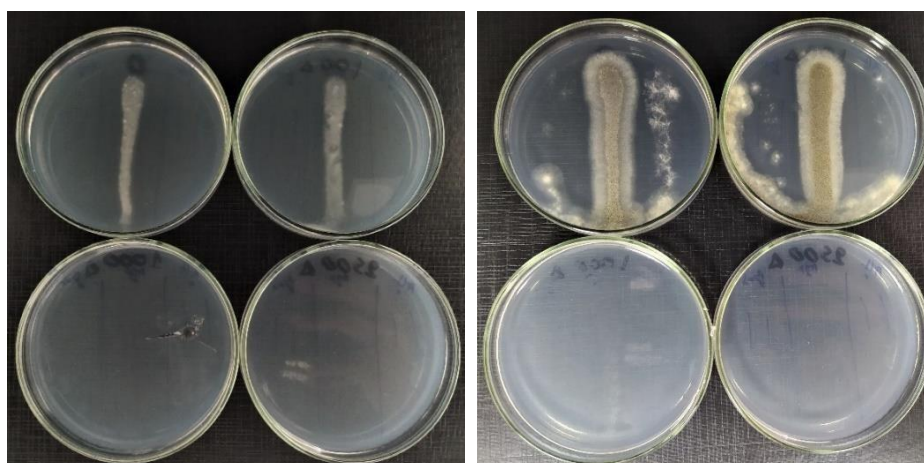
Στις 24 hpi, στα τρυβλία με 100 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης, η εικόνα ανάπτυξης του μύκητα ήταν ίδια με αυτή του μάρτυρα, όπου παρουσίαζε σχετικά ομοιόμορφο λευκό μυκήλιο, σε όλη την έκταση της σταγόνας. Στα τρυβλία με συγκέντρωση 1000 και 2500 ppm αιθέριου ελαίου, τα σπόρια δεν βλάστησαν εντός αυτών των ωρών (Εικ. 3.58.A).

Στις 48 hpi η μορφολογία του μύκητα στα 100 ppm ομοιάζει και πάλι με αυτή του μάρτυρα σε αυτό το στάδιο ανάπτυξης, ενώ παρουσιάζει πιο έντονη κίτρινη απόχρωση «Dark Olive-Buff» και ίσως ακόμα πιο πυκνό μυκήλιο σε σύγκριση με αυτόν. Τα σπόρια του μύκητα *Aspergillus niger* στα 1000 ppm, πλέον έχουν βλαστήσει, με ποσοστό βλάστησης τα 88,28 %, τα οποία διαθέτουν κατά κύριο λόγο βλαστικό σωλήνα μικρού μεγέθους. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα, μακροσκοπικά, στο σημείο όπου είχε τοποθετηθεί η σταγόνα του αιωρήματος, να εμφανίζεται σχετικά δυσδιάκριτος λευκός χρωματισμός (Εικ. 3.58.B, Εικ. 3.57).

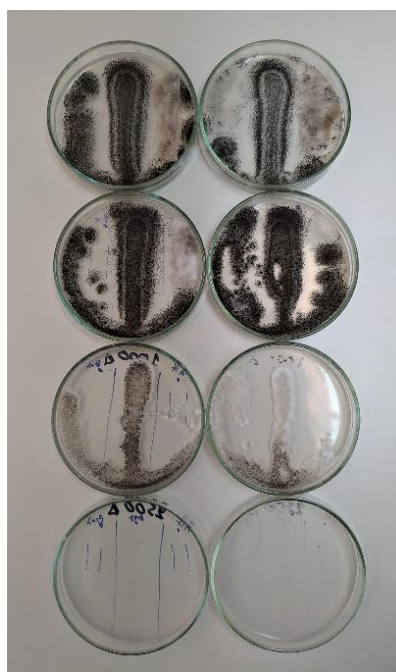


Εικ. 3.57: Βλάστηση σπορίων και σπόρια του μύκητα *Aspergillus niger*, σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm (α) και 2500 ppm (β) αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis* (x400). Επώαση για 48 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Με την ολοκλήρωση 7 ημερών ανάπτυξης, στα 100 ppm ο μύκητας συνεχίζει να έχει πιο έντονο χρωματισμό από αυτόν του μάρτυρα, όπου σε αυτό το στάδιο είναι το μαύρο χρώμα που οφείλεται στα σπόρια. Στα 1000 ppm δάφνης, η ανάπτυξη του μύκητα παραμένει κατεσταλμένη σε σχέση με αυτή της προηγούμενης μεταχείρισης, αλλά έχει προχωρήσει σε σημαντικό βαθμό ο σχηματισμός σπορίων, κυρίως στην μία από τις δύο επαναλήψεις, όπως φαίνεται και στην εικόνα (Εικ. 3.59). Τα σπόρια του μύκητα στα 2500 ppm αιθέριου δάφνης δεν έχουν βλαστήσει, ακόμα και μετά τις 7 ημέρες επώασης.



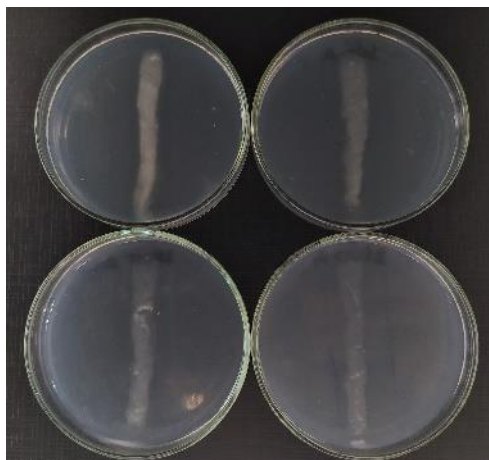
Εικ. 3.58: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24(A) και 48 hpi (B) hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.59: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τρυβλίο καθέτως, τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα και για τις δύο επαναλήψεις του πειράματος, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.6.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*

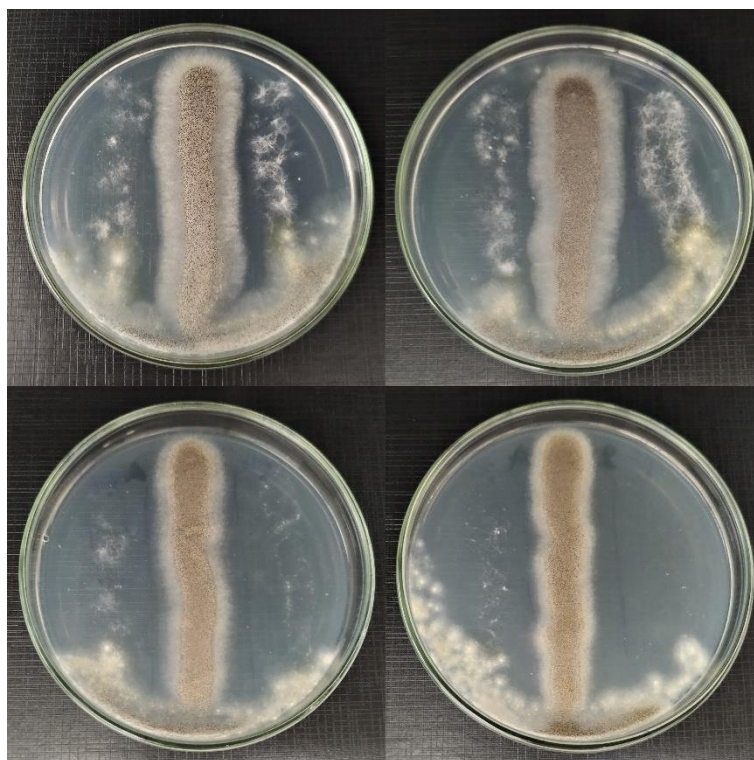
Και στις 3 συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αρκεύθου, από το πρώτο 24ωρο, φάνηκε πως τα σπόρια του μύκητα *Aspergillus niger* είχαν βλαστήσει, σχηματίζοντας λευκό μυκήλιο το οποίο παρουσίασε κλιμακωτά μειωμένη πυκνότητα, καθώς αυξάνονταν η συγκέντρωση του ελαίου (Εικ. 3.60).



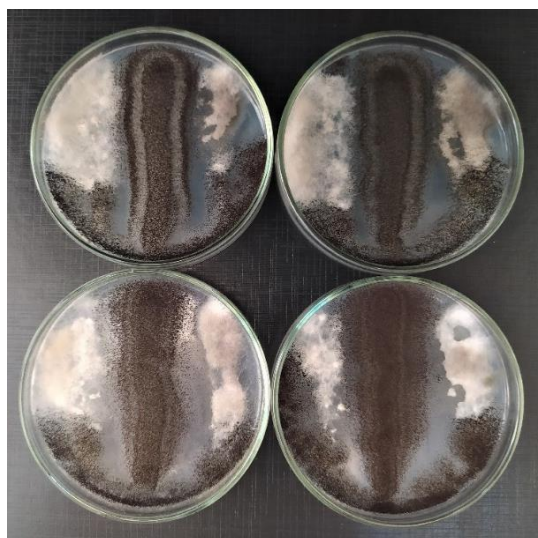
Εικ. 3.60: Ανάπτυξη μυκηλίου των *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Μετά από 48 hpi, στις δύο μεταχειρίσεις των 1000 και 2500ppm αιθέριου ελαίου, φαίνεται πως περιφερειακά της σταγόνας, ο μύκητας δεν έχει επεκταθεί στο ίδιο βαθμό με αυτές των 0 και 100 ppm, ενώ σε όλες τις περιπτώσεις έχει σχηματιστεί μεγάλος αριθμός σπορίων και έχει αποκτήσει σκούρο χρώμα καφέ-κίτρινης απόχρωσης «Citrine» (Εικ. 3.61).

Έπειτα από 7 ημέρες ανάπτυξης, όλες οι αποικίες έχουν αποκτήσει μαύρο χρώμα, με τον μύκητα στα 2500 ppm αιθέριου ελαίου, να έχει περισσότερο ομοιόμορφο χρώμα σε όλη την έκταση ανάπτυξής του σε σχέση με αυτό του μάρτυρα, όπως συμβαίνει στις περισσότερες περιπτώσεις (Εικ. 3.62).



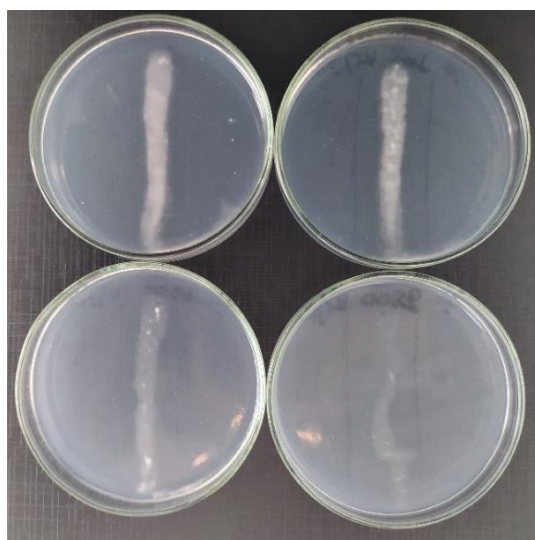
Εικ. 3.61: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 (Α) και 48 hpi (Β) στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.62: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.6.5 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*

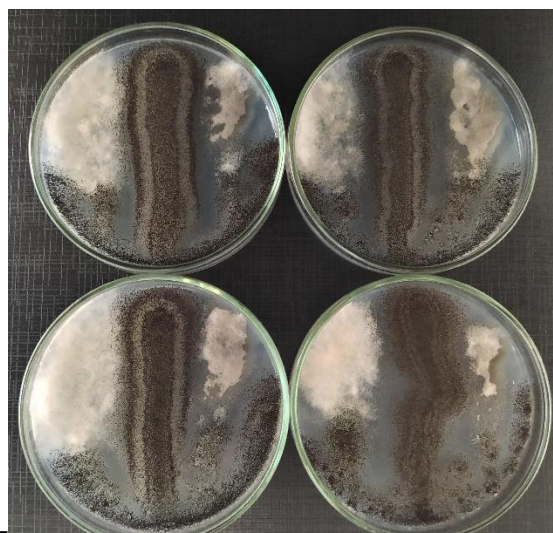
Όπως στην περίπτωση της ανάπτυξης του μύκητα *Aspergillus niger*, πάνω σε υπόστρωμα με παρουσία αιθέριου ελαίου αρκεύθου, έτσι και στην περίπτωση της εφαρμογής ελαίου κυπαρισσιού, ελήφθησαν αντίστοιχες παρατηρήσεις όπως αποδεικνύεται και στις εικόνες (Εικ. 3.63, Εικ. 3.64, Εικ. 3.65) . Κατ' αυτό τον τρόπο διαπιστώνεται η αναποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου ελαίου έναντι του μύκητα *Aspergillus niger*.



Εικ. 3.63: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.64: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 48 hρί στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.65: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

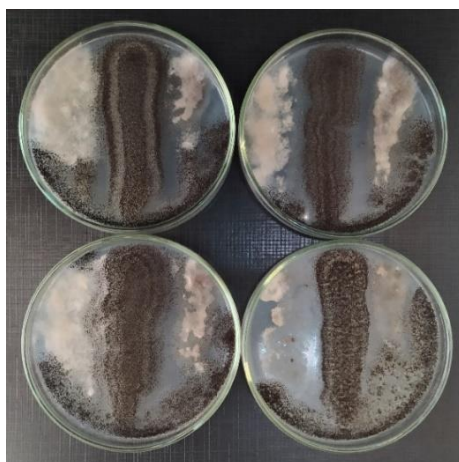
3.6.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*

Στις 24 hpi, η ανάπτυξη του μύκητα *Aspergillus niger* δεν δείχνει να περιορίστηκε σε καμία από τις τρεις συγκεντρώσεις του αιθέριου ελαίου κέδρου, καθώς σε όλες τις περιπτώσεις αναπτύχθηκε λευκό μυκήλιο κάνοντας σαφή τα όρια της σταγόνας πάνω στο θρεπτικό υλικό. Κατά κύριο λόγο ο λευκός χρωματισμός είναι ομοιόμορφος σε όλο το μήκος της σταγόνας, αλλά στην περίπτωση των 2500 ppm φαίνεται πως υπάρχουν σημεία με πυκνότερο ή πιο αραιό μυκήλιο, τα οποία φαίνονται μακροσκοπικά σαν ραβδώσεις (Εικ. 3.66.A).

Στις 48 hpi, σε όλες τις μεταχειρίσεις έχει προχωρήσει η ανάπτυξη του μύκητα και σε αυτή με τα 2500 ppm ελαίου ο χρωματισμός της αποικίας έχει πιο απαλό κίτρινο «Martius Yellow», σε σύγκριση με των υπολοίπων που είναι πιο σκούρα απόχρωση, καθώς δεν έχουν σχηματιστεί τόσα σπόρια όπως στις συγκεντρώσεις των 100 και 1000 ppm αιθέριου ελαίου (Εικ. 3.66.B). Ενώ μία εβδομάδα μετά, οι διαφορές μεταξύ τους δεν είναι μεγάλες καθώς υπάρχει σημαντικός αριθμός σπορίων, προσδίδοντας το χαρακτηριστικό μαύρο χρώμα, το οποίο είναι πιο ομοιόμορφο στην περίπτωση των 2500 ppm αιθέριου ελαίου και με πιο πυκνό μυκήλιο, σε σχέση με αυτό του μάρτυρα, ο οποίος έχει μια λευκή ζώνη μυκηλίου περιμετρικά της σταγόνας (Εικ. 3.67).



Εικ. 3.66: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24(A) και 48 (B) hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

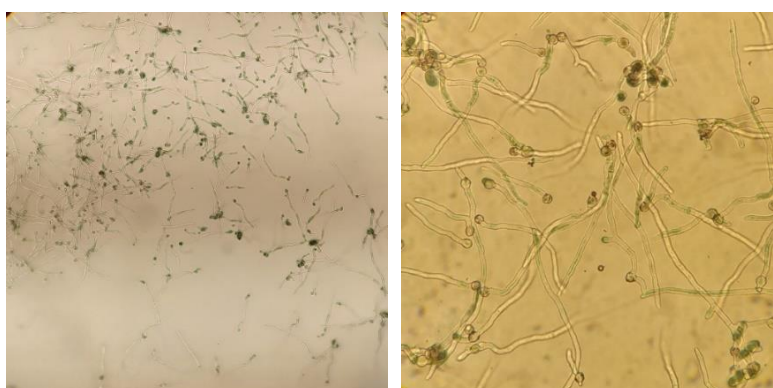


Εικ. 3.67: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria sp.* (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.6.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*

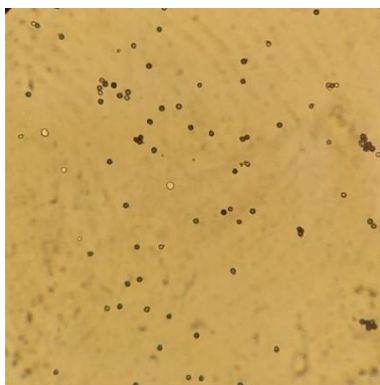
Η ανάπτυξη του μύκητα, σε θρεπτικό υπόστρωμα με 100 ppm ελαίου γαριφάλου δεν επηρεάστηκε, καθώς η εικόνα ανάπτυξης του ομοιάζει με αυτή στην περίπτωση του μάρτυρα με 0 ppm, μικροσκοπικά και μακροσκοπικά (Εικ. 3.70.Α).

Στην περίπτωση όμως της δοκιμής με 1000 ppm αιθέριου ελαίου, μετά από τις 24 hpi, φαίνεται πως τα σπόρια καθυστέρησαν να βλαστήσουν καθώς ο βλαστικός τους σωλήνας είναι κατά πολύ μικρότερος σε σύγκριση με τις άλλες δυο μεταχειρίσεις (Εικ. 3.68). Αυτό είναι ορατό και από το χρώμα του μυκηλίου στο σημείο εναπόθεσης της σταγόνας αιωρήματος που είναι διακριτικό και όχι πυκνό και λευκό.



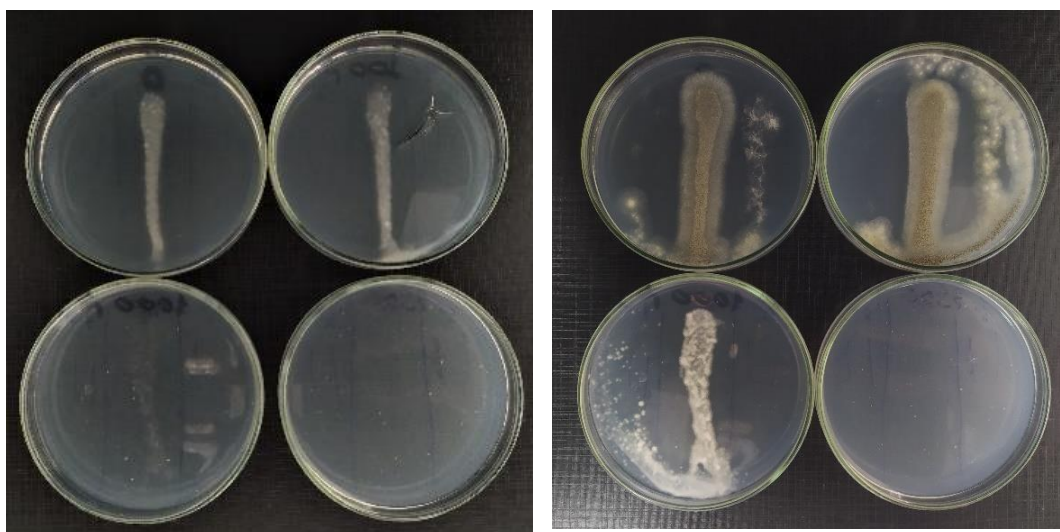
Εικ. 3.68: Σπόρια του μύκητα *Aspergillus niger*, σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum* (α) x100 (β) x400 . Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Την ίδια στιγμή, στο τρυβλίο με την μεγαλύτερη συγκέντρωση ελαίου (2500 ppm), δεν διακρίνεται καμία μυκηλιακή ανάπτυξη μακροσκοπικά, ενώ μέσω μικροσκοπίου διαπιστώθηκε πως τα σπόρια του μύκητα *Aspergillus niger* δεν βλάστησαν (Εικ. 3.69).



Εικ. 3.69: Σπόρια του μύκητα *Aspergillus niger*, σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. (x400). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Έπειτα από 48 hpi, στο μάρτυρα και στα 100 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου, στο σημείο όπου βρισκόταν η σταγόνα του αιωρήματος σπορίων, έχει σχηματιστεί πυκνή εξάνθηση σκούρας κίτρινης απόχρωσης «Dark Olive-Buff», ενώ σε όλη την επιφάνεια της έχουν σχηματιστεί σπόρια μαύρου χρώματος. Περιφερειακά της σταγόνας, απλώνεται λευκό μυκήλιο, το οποίο φαίνεται να αναπτύσσεται ακτινωτά (Εικ. 3.70.B). Έπειτα από μια βδομάδα ανάπτυξης, ο μύκητας έχει αποκτήσει μαύρο χρώμα, λόγω του αυξημένου αριθμού σπορίων που έχει σχηματίσει κυρίως πάνω από το σημείο που βρίσκονταν η σταγόνα και στα σημεία όπου καταλήγουν τα περιφερειακά λευκά μυκήλια (Εικ. 3.71).



Εικ. 3.70: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 (Α) και 48 hpi (Β) στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στην συγκέντρωση 1000 ppm, η ανάπτυξη του μύκητα στις 48 hpi παρέμεινε αργή, καθώς το χρώμα του μυκηλίου ήταν πλέον λευκό, όπως ήταν οι δυο προηγούμενες μεταχειρίσεις το πρώτο 24ωρο. Μία εβδομάδα μετά, απέκτησε ομοιόμορφο μαύρο χρωματισμό λόγω του σχηματισμού των σπορίων, ενώ δεν σχημάτισε διακριτά περιφερειακά μυκήλια, όπως στις μεταχειρίσεις με 100 και 0 ppm, το οποίο συμβαίνει συνήθως στις υψηλές συγκεντρώσεις ελαίων.

Η βλάστηση των σπορίων στα τρυβλία με 2500 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου καταστάλθηκε, καθώς ακόμα και μετά από 7 ημέρες επώασης δεν σχημάτισαν βλαστικό σωλήνα.

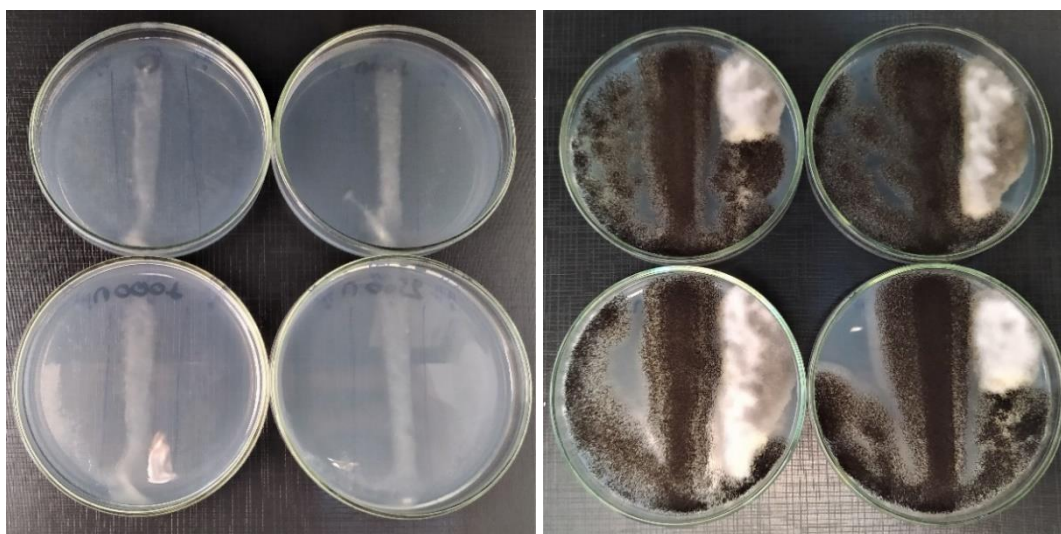


Εικ. 3.71: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τρυβλίο καθεώς, τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα και για τις δύο επαναλήψεις του πειράματος, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.6.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*

Η εφαρμογή ελαίου πορτοκαλιού στο θρεπτικό υπόστρωμα ανάπτυξης του μύκητα *Aspergillus niger*, φαίνεται πως δεν έχει καμία επίδραση στη βλάστηση των σπορίων, καθώς από την πρώτη κιόλας μέρα, η εικόνα ανάπτυξης του μύκητα και στις τρεις συγκεντρώσεις ελαίου, ομοιάζει σε μεγάλο βαθμό με αυτή του μάρτυρα, όπου δεν υπήρχε παρουσία του ελαίου (Εικ. 3.72.A).

Αντιστοίχως, μία εβδομάδα μετά, όπου ο μύκητας έχει καλυφθεί από μεγάλο αριθμό σπορίων, όλες οι μεταχειρίσεις παρουσιάζουν την ίδια εικόνα, με αυτή των 2500 ppm αιθέριου ελαίου να έχει πιο βαθύ μαύρο χρώμα (Εικ. 3.72.B).

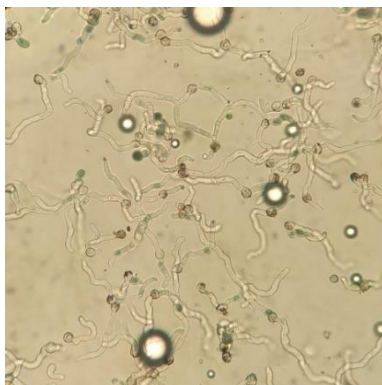


Εικ. 3.72: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 (Α) και 48 hpi (Β) στους 25 °C, στο σκοτάδι.

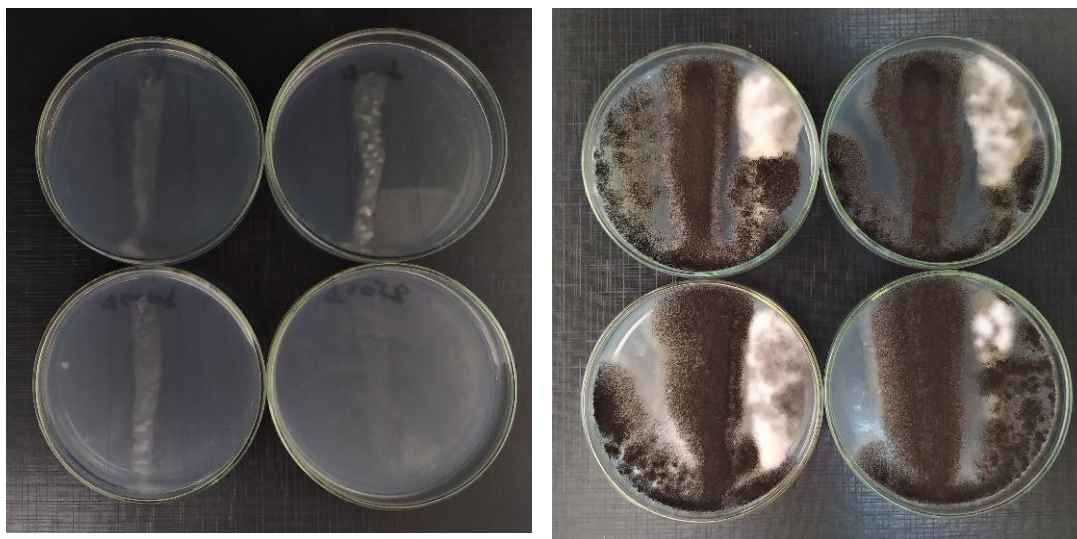
3.6.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Aspergillus niger*

Μετά από το πρώτο 24ωρο, ο μύκητας *Aspergillus niger* φαίνεται να έχει ελαφρώς πιο πυκνή ανάπτυξη στο υπόστρωμα με 100 ppm αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου, σε σχέση με τον μάρτυρα, ενώ το ίδιο ισχύει σε μικρότερο βαθμό και με την μεταχείριση των 1000 ppm, στα οποία επίσης η πυκνότητα του μυκηλίου είναι κατά σημεία ανομοιομόρφη σε αντίθεση με αυτή του μάρτυρα (Εικ. 3.74.A). Στα 2500 ppm ελαίου δενδρολίβανου, αν και διακρίνεται πως έχει ξεκινήσει να αναπτύσσεται ο μύκητας, σε σύγκριση με τις άλλες συγκεντρώσεις φαίνεται πως υπάρχει κάποια κατασταλτική

επίδραση του ελαίου έναντι του μύκητα, καθώς η ανάπτυξη του είναι μικρότερη. Όπως φαίνεται και στην εικόνα Εικ. 3.73, η πλειοψηφία των σπορίων έχουν βλαστήσει, φτάνοντας το ποσοστό 96,6 %, ξεκινώντας σταδιακά να σχηματίζουν πλέγμα υφών.



Εικ. 3.73: Βλάστηση σπορίων του μύκητα *Aspergillus niger*, σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis* (x400) . Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.



Εικ. 3.74: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου) παρουσία αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis*. Το πρώτο τρυβλίο (α) αποτελεί τον μάρτυρα, το δεύτερο (β), τρίτο (γ) και τέταρτο (δ) τις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500 ppm ελαίου αντίστοιχα, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi (A) και 7 ημέρες (B) στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Μια βδομάδα μετά, οι μύκητες έχουν σχηματίσει μαύρη εξάνθηση, με αυτούς που αναπτύχθηκαν σε υπόστρωμα με αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου, να έχουν επεκταθεί σε μεγαλύτερο βαθμό, και πιο συγκεκριμένα όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του ελαίου,

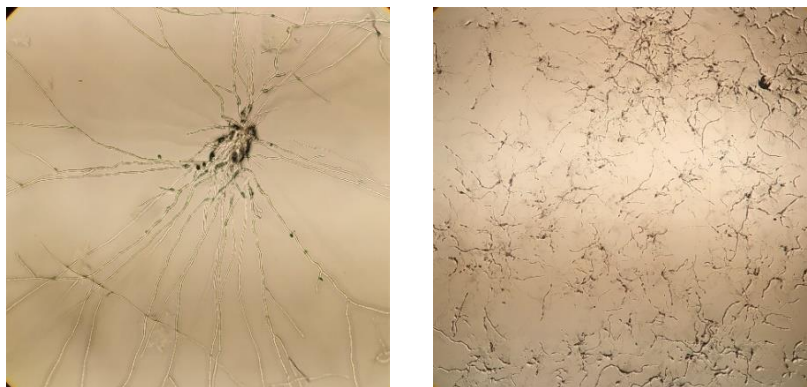
τόσο πιο έντονη και διευρυμένη είναι και η μαύρη εξάνθηση (Εικ. 3.74.B). Επομένως η επίδραση του ελαίου πιθανών να επιφέρει τα αντίθετα από τα επιθυμητά αποτελέσματα.

3.7 Επίδραση αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

Στον μύκητα *Alternaria* sp., διαπιστώθηκε ότι δεν υπήρχε παρουσία σπορίων, ώστε να εξεταστεί η ικανότητα βλάστησης τους σε υπόστρωμα με διάφορα αιθέρια έλαια. Έτσι, η παρατήρηση του μύκητα πραγματοποιήθηκε με βάση την ανάπτυξη του μυκηλίου στα τρυβλία δοκιμών, λόγω παρουσίας μικρών τμημάτων υφών, που πέρασαν στο αιώρημα.

Εξαίρεση αποτελούσε η πειραματική διαδικασία που αφορούσε τα έλαια ευκαλύπτου, πορτοκαλιού και δενδρολίβανου, όπου η παρουσία σπορίων ήταν εκτενής, επιτρέποντας την λήψη των επιθυμητών παρατηρήσεων.

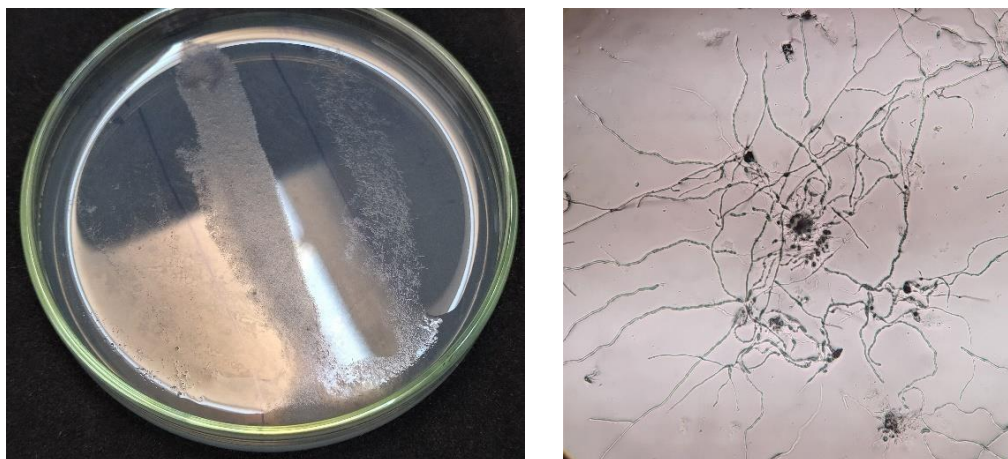
Στον μάρτυρα, μετά από 24hpi, η ανάπτυξη του μυκηλίου από την βλάστηση των θραυσμάτων των υφών ήταν αρκετά έντονη, με σημαντική επέκταση των υφών, χωρίς όμως να είναι ιδιαίτερα ορατή μακροσκοπικά (Εικ. 3.75).



Εικ. 3.75: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., από βλάστηση υφών, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι. (x100 και x40).

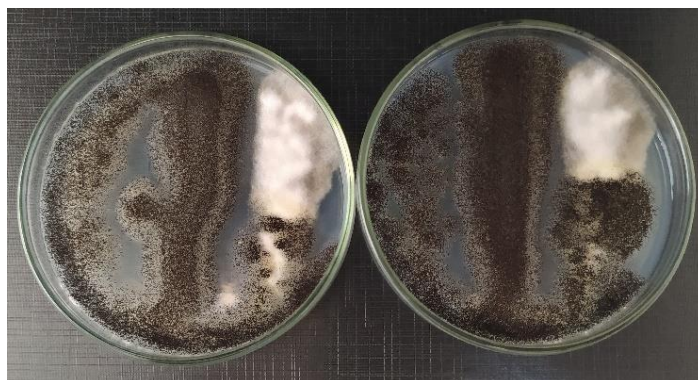
Την επόμενη μέρα, όπως φαίνεται στην εικόνα (Εικ. 3.50.α), έχουν αναπτυχθεί λευκές ακτινοειδής αποικίες κατά μήκος της σταγόνας, περίπου 20 σε αριθμό. Στην εικόνα (Εικ. 3.77), φαίνεται η έντονη ανάπτυξη εξάνθησης γκρι χρώματος απόχρωσης «Pale Violet-Gray», με σημεία λευκού χρώματος, που σχηματίστηκε εντός 7 ημερών σε όλη την έκταση του τμήματος του τρυβλίου όπου τοποθετήθηκε η σταγόνα του αιωρήματος σπορίων.

Στην περίπτωση όπου η ανάπτυξη του μάρτυρα οφείλονταν στην βλάστηση σπορίων η ανάπτυξη ήταν εξίσου σημαντική, σχηματίζοντας το πρώτο 24ωρο μακροσκοπικά, ένα λευκό πλέγμα υφών, σχετικά διακριτικό αλλά περισσότερο έντονο σε σχέση με τον μάρτυρα που δεν αναπτύχθηκε από σπόρια, στο ίδιο στάδιο ανάπτυξης (Εικ. 3.76).



Εικ. 3.76: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., από αιώρημα σπορίων, σε θρεπτικό υλικό PGA. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι (δεύτερη εικόνα x100).

Μία βδομάδα μετά, η εικόνα της εξάνθησης που αναπτύχθηκε σε αυτήν την περίπτωση, είναι πιο πυκνή από του μάρτυρα που δεν είχε σπόρια, και είναι κατά κύριο λόγο λευκού χρώματος και σε λιγότερα σημεία γκρι «Pale Violet-Gray» (Εικ. 3.77).



Εικ. 3.77: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου), σε θρεπτικό υλικό PGA και για τις δυο επαναλήψεις του πειράματος. Επώαση για 7 ημέρες στους 25 °C, στο σκοτάδι.

3.7.1 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

Όπως αναφέρθηκε, στην περίπτωση του ελαίου ευκαλύπτου, ο μύκητας σχημάτισε σπόρια με αποτέλεσμα να ληφθούν οι επιθυμητές παρατηρήσεις, έπειτα από 24 hpi και μία βδομάδα μετά.

Η κατασταλτική ικανότητα του αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου, κατά την βλάστηση και ανάπτυξη του μύκητα είναι εμφανή από την πρώτη παρατήρηση των 24 hpi. Στα 100 ppm αιθέριου ελαίου, η ανάπτυξη φαίνεται να ναι κανονική, και είναι ορατή και σε μακροσκοπικό επίπεδο (Εικ. 3. 51, Εικ. 3. 78.α). Στα 1000 ppm η βλαστική ικανότητα μειώνεται στα 80 %, ενώ στα 2500 ppm αιθέριου ελαίου έχει περιοριστεί μόλις στα 26,68 % (Εικ. 3. 78.β, Εικ. 3. 78.γ).



Εικ. 3.78: Ανάπτυξη μυκηλίου και βλάστηση σπορίων του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm (α), 1000 ppm(β) και 2500 ppm (γ) αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι. (x100).



Εικ. 3.79: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου *Eucalyptus globulus*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Βέβαια, στην παρατήρηση που έγινε μετά απο 7 ημέρες επώασης, η ανάπτυξη του μύκητα ακόμα και στα 2500 ppm είναι κανονική, και πιθανών λόγω το ότι δεν

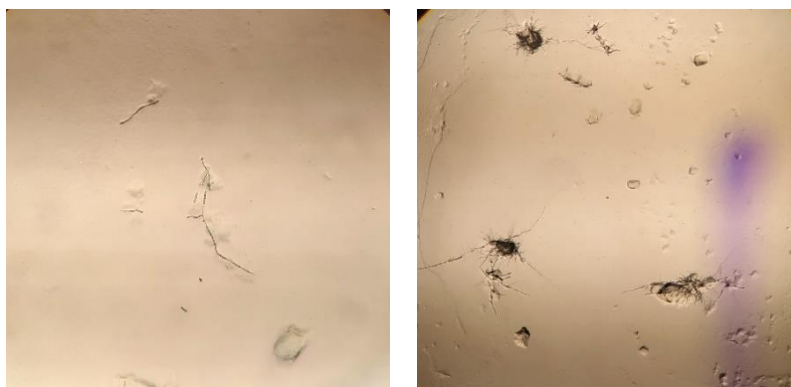
υπάρχει επιμόλυνση από τον γειτονικό μύκητα, δίνει την εντύπωση της μεγαλύτερης ανάπτυξης σε σχέση με αυτή των υπολοίπων μεταχειρίσεων (Εικ. 3. 53), όπως επιβεβαιώνεται και από την εικόνα Εικ. 3. 41, όπου είχε ξαναδοκιμαστεί αυτός ο συνδυασμός αιθέριου ελαίου και μύκητα. Από την άλλη μεριά, δεδομένου το ότι ο μύκητας *Aspergillus niger*, έδειξε ξαφνική έντονη ανάπτυξη, είναι πιθανό αυτό να συμβαίνει στην ανάπτυξη και των υπολοίπων μυκήτων όταν αυτοί αναπτύσσονται σε υπόστρωμα παρουσία αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου, έπειτα από την αρχική καταστολή της.

3.7.2 Επίδραση του αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

Στα 100 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης αφού αφέθηκαν οι μύκητες να αναπτυχθούν για 24 hpi, εμφανίστηκαν κατά μήκος της σταγόνας λευκές αποικίες, πολλές σε αριθμό και μικρές σε μέγεθος, οι οποίες όπως και επιβεβαιώθηκε στις 48 hpi αλλά και μια βδομάδα μετά ήταν αποικίες του μύκητα *Aspergillus niger* (Εικ. 3. 55, Εικ. 3. 56).

Τέτοιου είδους περιπτώσεις επιμόλυνσης πιθανών να οφείλονται στην μετακίνηση του υγρού αιωρήματος από την μία σταγόνα στην άλλη, λόγω της μετακίνησης των τρυβλίων, πρωτού ολοκληρωθεί η σταθεροποίηση του αιωρήματος πάνω στο θρεπτικό υλικό.

Στα 1000 ppm αιθέριου ελαίου, παρατηρήθηκε μέσω μικροσκοπίου διακριτική ανάπτυξη υφών αρχικά (Εικ. 3.80), και αργότερα, με το πέρασ 7 ημερών, μακροσκοπικά πλέον, στα τρυβία εμφανίζονταν λευκές σφαιρικές αποικίες, κάνοντας εμφανή την παρουσία του μύκητα *Alternaria* sp., παρά τις επιμολύνσεις, με ανάπτυξη εμφανώς πιο καχεκτική από αυτή του μάρτυρα (Εικ. 3. 56).

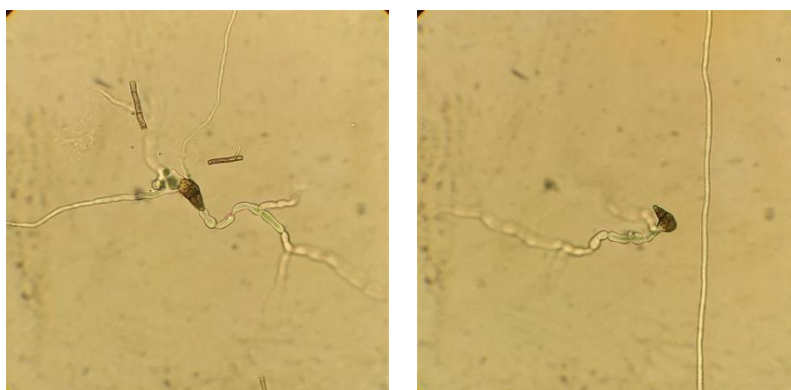


Εικ. 3.80: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου ρίγανης *Origanum* sp. (x40). Επώση για 24 (α) και 48 hpi (β) στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Στα 2500 ppm σε όλες τις παρατηρήσεις που ελήφθησαν διαπιστώθηκε παρουσία θραυσμάτων μυκηλίων, τα οποία δεν είχαν δώσει καμία ανάπτυξη υφής. Όπως φαίνεται και μία βδομάδα μετά, η ρίγανη σε αυτές τις συγκεντρώσεις καταστέλλει την ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

3.7.3 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis* στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

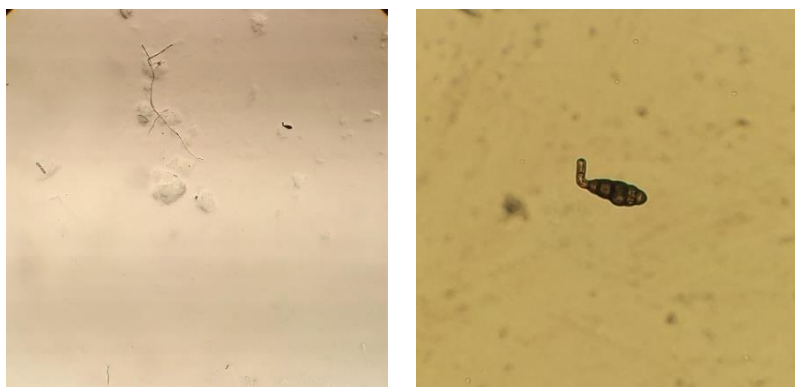
Στην περίπτωση όπου εφαρμόστηκε έλαιο δάφνης, στις 24hpi, διαπιστώθηκε η παρουσία σπορίων λίγων σε αριθμό, τα οποία στην μεταχείριση των 100 ppm είχαν βλαστήσει και αναπτύξει εκτεταμένες υφές (Εικ. 3.81).



Εικ. 3.81: Βλάστηση σπορίων του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis* (x400). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C .

Στις 48 hpi, έχει γίνει ορατή πλέον η ανάπτυξη μυκηλίου πάνω στο τρυβλίο στο σημείο όπου τοποθετήθηκε η σταγόνα, όπου φαίνεται αραιό λευκό μυκήλιο που ομοιάζει με ίνες βαμβακιού. Συγκριτικά με το μάρτυρα, η ανάπτυξη είναι κατά πολύ πιο κατεσταλμένη (Εικ. 3. 58.B).

Στα 1000 ppm βρέθηκε μεταξύ αδρανών τμημάτων μυκηλίου αλλά και ελάχιστων σε αριθμό ανεπτυγμένων υφών, σπόριο το οποίο δεν έχει βλαστήσει μέσα στο πρώτο 24ωρο (Εικ. 3.82).



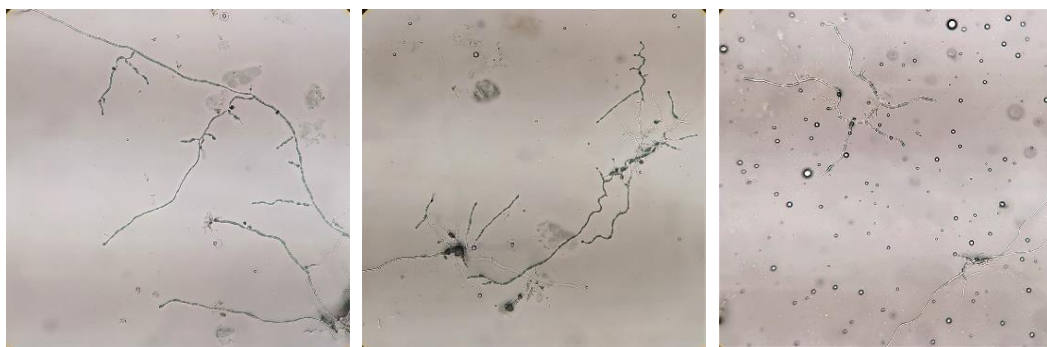
Εικ. 3.82: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου δάφνης *Laurus nobilis* (10 και 40 x). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C .

Στα 2500 ppm ελαίου δάφνης βρέθηκαν θραύσματα μυκηλίου, όπως παρουσιάζονται στην εικόνα Εικ. 3. 89, τα οποία ήταν αδρανή λόγω πιθανής κατασταλτικής δράσης του ελαίου σε υψηλή συγκέντρωση.

Η εικόνα των δύο μεταχειρίσεων με τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου (1000 και 2500 ppm), δεν άλλαξε μέχρι τις 48 hpi, ενώ μετά από 7 ημέρες ανάπτυξης διαπιστώθηκε πως ανάπτυξη μυκηλίου εμφανίστηκε μόνο στα τρυβλία με 100 ppm, η εικόνα του οποίου ομοιάζει με αυτή του μάρτυρα, αλλά σε μικρότερη ένταση και έκταση (με μετέπειτα επιμόλυνση από τον *Aspergillus niger*) (Εικ. 3.58). Επομένως το αιθέριο έλαιο δάφνης κατέστειλε την ανάπτυξη μυκηλίου στις υψηλότερες συγκεντρώσεις.

3.7.4 Επίδραση του αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis* στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

Στο πείραμα όπου εξετάζονταν η επίδραση του ελαίου αρκεύθου στην ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., ενώ τις πρώτες 24 hpi δεν εμφάνισαν μακροσκοπικά στοιχεία ανάπτυξης, μικροσκοπικά διαπιστώθηκε πως σε όλες τις συγκεντρώσεις ελαίου οι υφές παρουσίαζαν σημαντική διακλάδωση και επιμήκυνση, με αυτή των 2500 ppm να είναι λίγο πιο περιορισμένη (Εικ. 3. 60, Εικ. 3.83).



Εικ. 3.83: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm (α), 1000 ppm(β) και 2500 ppm (γ) αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C (x100).

Στην παρατήρηση των 48 hpi, φαίνεται πλέον μακροσκοπικά ότι σε όλες τις μεταχειρίσεις, έχει αναπτυχθεί λευκό μυκήλιο κατά σημεία, το οποίο δεν καλύπτει όλη την έκταση της σταγόνας, όπου η ένταση της ανάπτυξης του μειώνεται κλιμακωτά, όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του ελαίου, με το τρυβλίο των 2500 ppm να παρουσιάζει πολύ αραιή ανάπτυξη, σχετικά δυσδιάκριτη, όπως φαίνεται στις εικόνες (Εικ. 3. 61, Εικ. 3. 84).

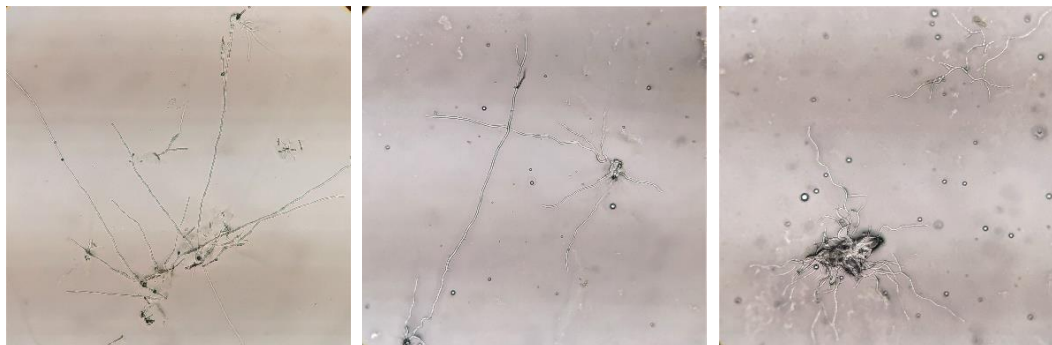


Εικ. 3.84: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου), σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου αρκεύθου *Juniperus communis*. Επώαση για 48 hpi στους 25 °C (x100).

Μετά την ανάπτυξη του μύκητα, διάρκειας 7 ημερών, έχει σχηματιστεί πλέον έντονη εξάνθηση λευκού, καφέ και γκριζού χρώματος, σε όλες τις συγκεντρώσεις, αντίστοιχης εικόνας με αυτή του μάρτυρα (Εικ. 3.62).

3.7.5 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens* στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

Όπως φαίνεται και από τις εικόνες, και στις τρεις συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού ο μύκητας *Alternaria* sp. από το πρώτο κιόλας 24ωρο δεν φαίνεται να επηρεάστηκε αρνητικά σε σημαντικό βαθμό (Εικ. 3. 85).



Εικ. 3.85: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm (α), 1000 ppm (β) και 2500 ppm (γ) αιθέριου ελαίου κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C (x100).

Μέσα στις 48 hpi αναπτύχθηκαν, σχηματίζοντας διάσπαρτες λευκές αποικίες μέσα στα όρια της σταγόνας, μεγαλύτερες σε μέγεθος στην συγκέντρωση των 100 ppm και πιο μικρές σε αυτή των 1000 ppm ελαίου, ενώ στα 2500 ppm η ανάπτυξη είναι ακόμα μικρότερη, σχηματίζοντας μικρές αποικίες στο μέγεθος κεφαλής καρφίτσας (Εικ. 3. 64).

Με την ολοκλήρωση της μιας εβδομάδας ανάπτυξης, ο μύκητας έχει σχηματίζει πυκνή εξάνθηση λευκού και γκρίζου χρώματος «Pale Violet-Gray», που σε όλες τις περιπτώσεις ομοιάζει με την εικόνα της εξάνθησης του μάρτυρα (Εικ. 3. 65). Όπως φαίνεται και στην εικόνα Εικ. 3. 65, ακόμα και στα 2500 ppm ελαίου κυπαρισσιού, στην δεύτερη επανάληψη του πειράματος, η έκταση ανάπτυξης δεν περιορίστηκε, απλά ίσως η έκταση της εξάνθησης εξαρτάται και από το βαθμό επιμόλυνσης από τον διπλανό μύκητα.

3.7.6 Επίδραση του αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica* στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

Την πρώτη μέρα, στα τρυβλία δεν ήταν ορατή η ανάπτυξη μυκηλίου, ενώ με την χρήση μικροσκοπίου φαίνεται πως στα 100 ppm αιθέριου ελαίου κέδρου, ο μύκητας *Alternaria* sp. σχημάτισε υφές, οι οποίες είχαν επιμηκυνθεί σημαντικά. Αντίστοιχη εικόνα παρουσίασε και στα τρυβλία με 1000 ppm, αλλά ακόμα και στα 2500 ppm αιθέριου ελαίου κέδρου (Εικ. 3.86).



Εικ. 3.86: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm (α), 1000 ppm(β) και 2500 ppm (γ) αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C (x100).

Μετά τις 48 hpi, είναι εμφανές πως σε όλες τις μεταχειρίσεις έχουν αναπτυχθεί λευκές αποικίες κατά μήκος της σταγόνας, με τον μάρτυρα να παρουσιάζει μια ελαφρώς πιο έντονη ανάπτυξη, ενώ μεταξύ των επιχειρήσεων οι διαφορές είναι πολύ μικρές. Ίσως, στο τρυβλίο των 1000 ppm να παρατηρείται μικρότερη ανάπτυξη αλλά πιθανών αυτό οφείλεται σε άλλους παράγοντες, καθώς στην δεύτερη επανάληψη η εμφάνιση λευκού μυκηλίου είναι αντίστοιχη με αυτή σε όλα τα υπόλοιπα τρυβλία (Εικ. 3. 66, Εικ. 3. 87).

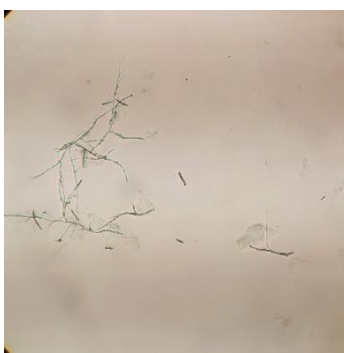


Εικ. 3.87: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου), σε θρεπτικό υλικό PGA, παρουσία 1000 ppm αιθέριου ελαίου κέδρου *Cedrus atlantica*, και για τις δυο επαναλήψεις του πειράματος. Επώαση για 28 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Έπειτα από 7 ημέρες ανάπτυξης, αν και οι επιμολύνσεις από τον *Aspergillus niger*, δυσχεραίνουν την λήψη ξεκάθαρων παρατηρήσεων, φαίνεται πως σε όλα τα τρυβλία έχει αναπτυχθεί πυκνή εξάνθηση γκρίζου και λευκού χρώματος, ενώ συγκεκριμένα στα 2500 ppm αιθέριου ελαίου, η εξάνθηση έχει εμφανώς μικρότερη πυκνότητα και επικρατεί κυρίως το γκρίζο «Pale Violet-Gray», χρώμα (Εικ. 3. 67).

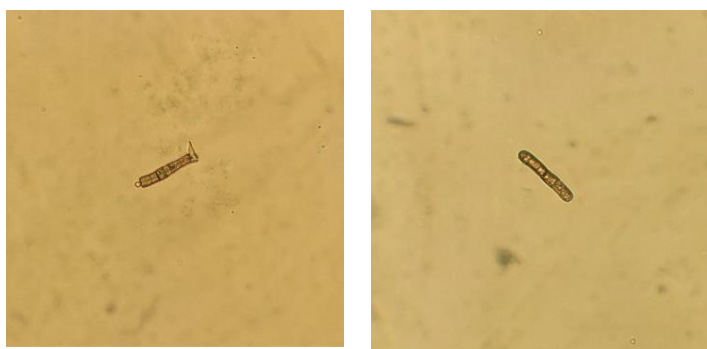
3.7.7 Επίδραση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum* στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

Την πρώτη μέρα παρατηρήσεων της ανάπτυξης του μύκητα *Alternaria* sp., σε υπόστρωμα με έλαιο γαριφάλου συγκεντρώσεως 100 ppm, δεν ανιχνεύθηκε παρουσία μυκηλίων, ενώ στα 1000 ppm βρέθηκαν σημεία όπου υπήρχαν ανεπτυγμένες υφές ή τμήματα υφών που δεν είχαν βλαστήσει (Εικ. 3. 70.A, Εικ. 3. 88).



Εικ. 3.88: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 1000 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum* (x100). Επώαση για 24 hpi στους 25 °C .

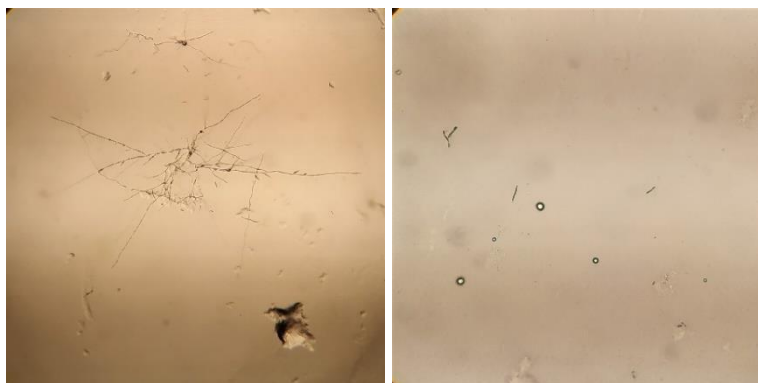
Στα 2500 ppm, ανιχνεύθηκαν μόνο θραύσματα μυκηλίου του μύκητα τα οποία είχαν παραμείνει αδρανή(Εικ. 3. 89).



Εικ. 3.89: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C (x400).

Ενώ στις 24 hpi μακροσκοπικά, σε καμία από τις τρεις μεταχειρήσεις δεν φάνηκε να υπάρχει ανάπτυξη, μετά από 48 hpi, παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη μόνο στις μεταχειρήσεις των 100 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου, όπου διαπιστώνεται πως

πρόκειται για επιμόλυνση από τον μύκητα *Aspergillus niger* (Εικ. 3. 70.B). Στα 1000 και 2500 ppm αιθέριου ελαίου οι παρατηρήσεις παραμένουν οι ίδιες με το πρώτο 24ωρο, όπου στα 1000 ppm συνέχιζαν να επεκτείνονται οι υφές, χωρίς αυτό να είναι ορατό μακροσκοπικά και στα 2500 ppm δεν υπάρχει καμία δραστηριότητα, μόνο αδρανή τμήματα υφών (Εικ. 3. 90).

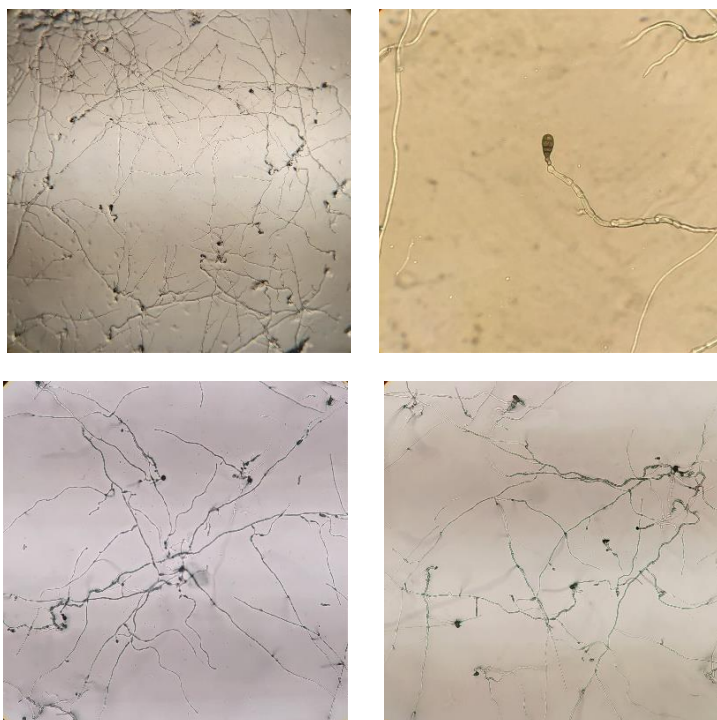


Εικ. 3.90: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με (α) 1000 ppm (x) 40 και 2500 ppm (β) αιθέριου ελαίου γαριφάλου *Syzygium aromaticum* (x100). Επώαση για 48hpi στους 25 °C .

Μια εβδομάδα μετά, σύμφωνα με την εικόνα Εικ. 3.71, ανάπτυξη του μύκητα πέρα από τον μάρτυρα, υπάρχει μόνο στην μεταχείριση με συγκέντρωση 1000 ppm αιθέριου ελαίου γαριφάλου, όπου έχει σχηματίσει στις δυο επαναλήψεις κυρίως λευκή βαμβακώδη εξάνθηση στο κορυφαίο μέρος όπου είχε τοποθετηθεί η σταγόνα.

3.7.8 Επίδραση του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

Όπως αναφέρθηκε, στην τελευταία πειραματική διαδικασία, ο μύκητας σχημάτισε σπόρια τα οποία κατάφεραν να περάσουν στο αιώρημα με αποτέλεσμα να ληφθούν οι επιθυμητές παρατηρήσεις, οι οποίες ελήφθησαν έπειτα από 24 hpi και 7 ημερών ανάπτυξης. Από την πρώτη μέρα λοιπόν, τα σπόρια βλάστησαν δίνοντας υφές μεγάλου μεγέθους, με εικόνα αντίστοιχης του μάρτυρα, σε όλες τις συγκεντρώσεις ελαίου πορτοκαλιού (Εικ. 3. 91). Στα τρυβλία οι υφές ήταν ορατές μακροσκοπικά, οι οποίες ομοιάζαν με λευκές ίνες επάνω στο θρεπτικό υλικό, όπως φαίνεται στην εικόνα (Εικ. 3. 92).



Εικ. 3.91: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm (α)(β), 1000 ppm (γ) και 2500 ppm (δ) αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C (α,γ,δ: x100), (β: x400).



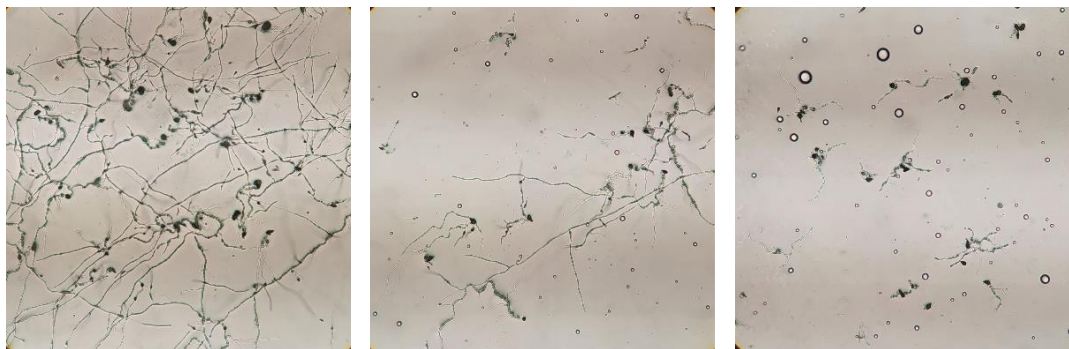
Εικ. 3.92: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού *Citrus sinensis*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Ομοίως, μία βδομάδα μετά, η έντονη εξάνθηση που σχηματίστηκε, κυρίως λευκού και γκριζού χρώματος, ήταν ίδιας έκτασης και πυκνότητας σε όλες τις μεταχειρίσεις, χωρίς να λάβουμε υπόψιν τις επιμολύνσεις του γειτονικού μύκητα (Εικ. 3. 72.B).

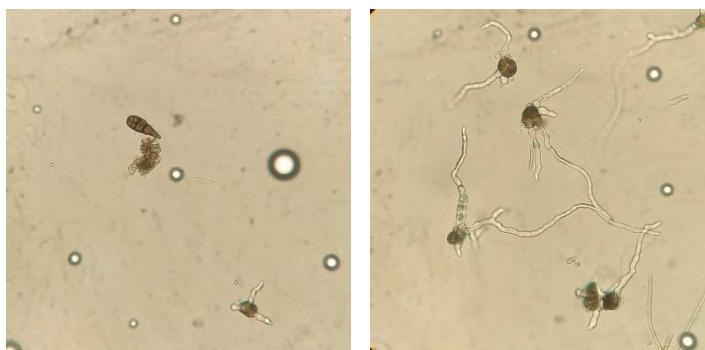
3.7.9 Επίδραση του αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis* στην βλάστηση σπορίων και στην ανάπτυξη του μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp.

Στις 24 hpi, το αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου φαίνεται πως κατέστειλε την ανάπτυξη του μύκητα *Alternaria* sp. στην πιο υψηλή συγκέντρωση των 2500 ppm, όπου παρουσιάστηκαν είτε σπόρια που είχαν βλαστήσει, αλλά με υφές μικρότερου μεγέθους από αυτές των 100 και 1000 ppm, είτε σπόρια που δεν είχαν βλαστήσει ακόμα (Εικ. 3. 93, Εικ. 3. 94). Το ποσοστό βλάστησης υπολογίστηκε στα 81,47 %.

Το ποσοστό βλάστησης των σπορίων στα 1000 ppm ήταν στα 100%, όμως η πυκνότητα των μυκηλιακών υφών ήταν εμφανώς ελαττωμένη, σε σχέση με αυτή των 100 ppm ελαίου δενδρολίβανου (Εικ. 3. 93).



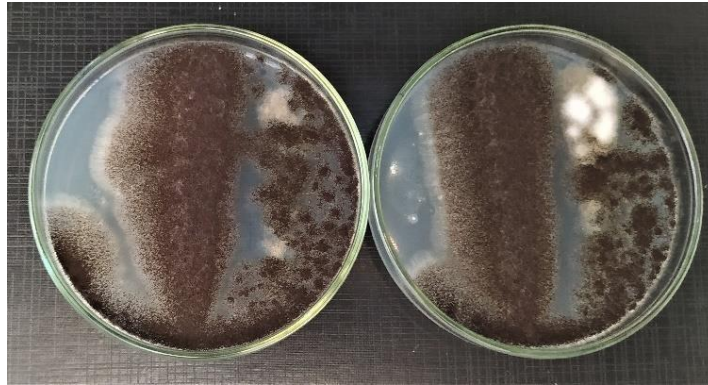
Εικ. 3.93: Ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 100 ppm (α), 1000 ppm(β) και 2500 ppm (γ) αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C (x100).



Εικ. 3.94: Βλάστηση σπορίων του μύκητα *Alternaria* sp., σε θρεπτικό υλικό PGA, με 2500 ppm αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis*. Επώαση για 24 hpi στους 25 °C (x400).

Με την ολοκλήρωση των 7 ημέρων ανάπτυξης του μύκητα στους 25°C, το μυκήλιο που σχηματίστηκε δεν διέφερε σημαντικά από μεταχείριση σε μεταχείριση, με εξαίρεση αυτή των 2500 ppm ελαίου, όπου η έκταση της εξάνθησης ήταν αρκετά πιο περιορισμένη, αν και σε αυτή την περίπτωση, μέρος της έχει καλυφθεί λόγω επιμόλυνσης από τον *Aspergillus niger*. Επομένως, η δράση του αιθέριου ελαίου του

δενδρολίβανου περιόρισε την ανάπτυξη του μύκητα χωρίς να την καταστείλει εντελώς (Εικ. 3. 74.B, Εικ. 3. 95).



Εικ. 3.95: Ανάπτυξη μυκηλίου των μυκήτων *Aspergillus niger* (στο κέντρο του τρυβλίου) και *Alternaria* sp. (δεξιά του τρυβλίου), σε θρεπτικό υλικό PGA, παρουσία 2500 ppm αιθέριου ελαίου δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis*, και για τις δυο επαναλήψεις του πειράματος. Επώαση για 28 hpi στους 25 °C, στο σκοτάδι.

4. Συζήτηση

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος, τα πιο δραστικά έλαια φαίνεται να είναι τα έλαια *Origanum vulgare*, *Laurus nobilis* και *Syzygium aromaticum*, καθώς ανέστειλαν πλήρως την βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη, στην μέγιστη συγκέντρωση των 2500 ppm και για στους μύκητες που εξετάστηκαν, ακόμα και μετά από 7 ημέρες επώασης στους 25 °C, στο σκοτάδι (Πίνακας 1). Τα αιθέρια έλαια *Cedrus atlantica*, *Cupressus sempervirens*, *Juniperus communis*, *Eucalyptus globulus*, *Citrus sinensis* και *Rosmarinus officinalis*, δεν ήταν ικανά να αναστείλουν αποτελεσματικά την βλάστηση των σπορίων των υπό δοκιμή μυκήτων. Στον Πίνακα 2, αναφέρονται οι περιπτώσεις όπου στην τελευταία παρατήρηση, μετά από 7 ημέρες επώασης, η ανάπτυξη των μυκήτων δείχνει περιορισμένη, σε σύγκριση με αυτή του αντίστοιχου μάρτυρα.

Πίν. 1: Αιθέρια έλαια στις συγκεντρώσεις στις οποίες δρāsανε αποτελεσματικά, αποτρέποντας την βλάστηση σπορίων των μυκήτων *Rhizopus stolonifer*, *Cladosporium* sp., *Aspergillus niger* και την ανάπτυξη μυκηλίου *Alternaria* sp., μετά από επώαση 7 ημερών στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Αιθέριο Έλαιο	Συγκέντρωση σε ppm	Μύκητας
<i>Origanum vulgare</i>	1000	<i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Cladosporium</i> sp.
	2500	<i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium italicum</i>
		<i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria</i> sp.
<i>Laurus nobilis</i>	1000	<i>Cladosporium</i> sp. <i>Alternaria</i> sp.
	2500	<i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium italicum</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria</i> sp.
<i>Syzygium aromaticum</i>	2500	<i>Rhizopus stolonifer</i> <i>Cladosporium</i> sp. <i>Penicillium italicum</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Alternaria</i> sp.

Πίν. 2: Αιθέρια έλαια, στις συγκεντρώσεις στις οποίες περιόρισαν την ανάπτυξη μυκήτων, μετά από επώαση 7 ημερών στους 25 °C, στο σκοτάδι.

Αιθέριο Έλαιο	Συγκέντρωση σε ppm	Μύκητας
<i>Eucalyptus globulus</i>	2500	<i>Cladosporium</i> sp.
<i>Origanum vulgare</i>	1000	<i>Penicillium italicum</i>
	100,1000	<i>Alternaria</i> sp.
<i>Laurus nobilis</i>	1000	<i>Rhizopus stolonifer</i>
		<i>Penicillium italicum</i>
		<i>Aspergillus niger</i>
<i>Cupressus sempervirens</i>	2500	<i>Cladosporium</i> sp.
<i>Rosmarinus officinalis</i>	2500	<i>Cladosporium</i> sp.
<i>Cedrus</i> sp.	2500	<i>Alternaria</i> sp.
<i>Syzygium aromaticum</i>	100,1000	<i>Alternaria</i> sp.
	1000	<i>Cladosporium</i> sp.

Μέχρι και σήμερα φαίνεται πως δεν υπήρξε σημαντικός αριθμός μελετών που να χρησιμοποιήσαν τον συγκεκριμένο συνδυασμό μεθόδων, δηλαδή της μεθόδου τοξικού μέσου και της σταγόνας υδατικού αιωρήματος σπορίων, σε τρυβλίο με θρεπτικό υλικό PGA. Έχουν εφαρμοστεί διάφοροι τύποι μεθόδων, όπως κατά κύριο λόγο η μέθοδος τοξικού μέσου (Poisoned food method), η μέθοδος δισκίων διηθητικού χαρτιού (Disk diffusion method) και η μέθοδος βοθρίων σε άγαρ (Agar well diffusion method). Στη πρώτη περίπτωση, στην πλειοψηφία των μελετών, το θρεπτικό υλικό σε συνδυασμό με το εξεταζόμενο έλαιο εμβολιάζεται με μυκηλιακό δίσκο από αναπτυσσόμενη καλλιέργεια του ελεγχόμενου μύκητα, σε αντίθεση με την παρούσα εργασία, όπου το εμβόλιο αποτελούσε το εναιώρημα σπορίων. Στην περίπτωση του μύκητα *Alternaria* sp., όπου οι παρατηρήσεις λήφθηκαν κατά κύριο λόγο με βάση την ανάπτυξη μυκηλίου, και όχι βλάστηση σπορίων, τα δεδομένα είναι πιο κοντά σε αυτά των μελετών που χρησιμοποίησαν ως εμβόλιο μυκηλιακό δίσκο. Άλλες μέθοδοι, που εφαρμόστηκαν σε μεγάλο αριθμό μελετών, είναι αυτές της μικροαραίωσης και μακροαραίωσης σε υγρό θρεπτικό μέσο (Broth microdilution και macrodilution method), στις οποίες το εμβόλιο αποτελεί το εναιώρημα σπορίων.

Το αιθέριο έλαιο ρίγανης στη μέγιστη συγκέντρωση των 2500 ppm, όπως φαίνεται από τα αποτελέσματα είναι πολύ δραστικό κατά την βλάστηση σπορίων και ανάπτυξη όλων των μυκήτων που δοκιμάστηκαν στη συγκεκριμένη πειραματική διαδικασία, αναστέλλοντας τους πλήρως, ενώ ακόμα και στα 1000 ppm αιθέριου ελαίου, κατέστειλε την βλάστηση σπορίων των μυκήτων *Rhizopus stolonifer* και *Cladosporium* sp.

Στη μελέτη των Daferera et al. (2000), παρατηρήθηκε πως η βλάστηση των σπορίων, η ανάπτυξη των μυκηλίων και η παραγωγή σπορίων του είδους *Penicillium digitatum* αναστέλλονταν πλήρως από 250 ppm (μg/ml) ελαίου ρίγανης όταν προστέθηκε στο μέσο PDA (Potato Dextrose Agar). Στο πείραμα των Barreto et al. (2016), υπολογίστηκε η αναστολή της ακτινωτής μυκηλιακής ανάπτυξης δισκίων καλλιέργειας του μύκητα *Aspergillus niger* και *Rhizopus stolonifer*, σε τρυβλίο Petri, με υλικό SDA (Sabouraud Dextrose Agar) και έλαιο ρίγανης 1250 ppm (1,25 mL/mL). Έπειτα από 7 ημέρες η μυκηλιακή ανάπτυξη ανεστάλη σε ποσοστό περίπου 50%, τόσο του *Rhizopus stolonifer* όσο και του μύκητα *Aspergillus niger*. Ακόμα αξιολόγησαν την επίδραση στη βλάστηση των σπορίων, όπου το εναιώρημα σπορίων με διάλυμα ελαίου ρίγανης ίδιας συγκέντρωσης, επώαστηκε σε υγρό θάλαμο, πάνω σε γυάλινη αντικειμενοφόρο πλάκα για 24 ώρες (28°C). Το ποσοστό βλάστησης των σπορίων των μυκήτων ήταν χαμηλότερο από 30%. Τα αποτελέσματα αυτά διαφέρουν μερικώς καθώς στην παρούσα μελέτη ο μύκητας *R. stolonifer* ανεστάλη πλήρως στα 1000 ppm, ενώ ο μύκητας *A. niger* πράγματι ανεστάλη πλήρως σε μεγαλύτερη συγκέντρωση από τα 1250 ppm, δηλαδή στα 2500 ppm.

Στη περίπτωση του μύκητα *A. niger* στις 7 ημέρες επώασης, στις συγκεντρώσεις 100 και 1000 ppm ελαίου ρίγανης, φαίνεται να υπάρχει μια έξαρση σχηματισμού σπορίων, λόγω του έντονου μαύρου χρώματος. Αντίστοιχα, στη μελέτη των Plaza et al. (2004), παρατηρήθηκε αύξηση της ανάπτυξης του μύκητα *Penicillium* sp. στα 10 και 100 ppm των ελαίων ρίγανης και γαρύφαλλου, το οποίο συμφωνεί σε αρκετές περιπτώσεις με την παρούσα μελέτη, όπου μύκητες σε χαμηλές συγκεντρώσεις ελαίων αναπτύσσονται περισσότερο από ότι ο μάρτυρας, όπως φαίνεται αντίστοιχα να συμβαίνει στην περίπτωση του μύκητα *Penicillium* sp. παρουσία 100 ppm ελαίου ρίγανης, λόγω κυρίως του πιο έντονου κυανού χρώματος σε σχέση με αυτό του μάρτυρα.

Οι Santos Carmo et al. (2008), εξέτασαν την αναστολή της μυκηλιακής ανάπτυξης διάφορων ειδών *Aspergillus* spp. χρησιμοποιώντας την μέθοδο τοξικού μέσου με SDA, ενώ στη δοκιμασία βλάστησης σπορίων διάλυμα αιθέριο έλαιο *O. vulgare* σε διαφορετική συγκέντρωση αναμίχθηκε με εναιώρημα σπορίων και τοποθετήθηκε σε γυάλινες πλάκες οι οποίες επώαστηκαν σε υγρό θάλαμο (25 °C, 24 hpi). Το έλαιο *O. vulgare* ανέστειλε πλήρως την ανάπτυξη μυκηλίου και βλάστηση των σπορίων των μυκήτων *A. flavus*, *A. fumigatus* και *A. niger* στα 40.000 ppm (40 μl/mL). Τα αποτελέσματα αυτά, σύμφωνα με τα δεδομένα της παρούσας εργασίας, ήταν αναμενόμενα καθώς οι συγκεντρώσεις ελαίου που χρησιμοποιήθηκαν ήταν κατά πολύ μεγαλύτερες.

Στη μελέτη των Chrapačienė, et al. (2021), όπου αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου *Origanum vulgare* στην αναστολή της ακτινωτής ανάπτυξης μυκηλιακού δίσκου του μύκητα *Alternaria* spp. αναφέρεται ότι, έπειτα από 7 ημέρες, η πιο αποτελεσματική συγκέντρωση ήταν η υψηλότερη που

δοκιμάστηκε 600 ppm χωρίς να καταστείλει πλήρως την ανάπτυξη του μυκηλίου απλά η διάμετρος ήταν αρκετά μικρότερη από αυτή του μάρτυρα, ενώ όσο περνούσαν οι μέρες οι διαφορές μεταξύ των διάφορων συγκεντρώσεων και του μάρτυρα ήταν πιο μικρές.

Το έλαιο γαριφάλου, όπως και το έλαιο ρίγανης έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα καθώς, εκτός από το ότι ανάστειλε πλήρως την βλάστηση σπορίων και την ανάπτυξη όλων των δοκιμασμένων μυκήτων στην μέγιστη συγκέντρωση των 2500 ppm, ανέστειλε μερικώς την ανάπτυξη του μύκητα *Cladosporium* sp. στη συγκέντρωση των 1000 ppm, όπως και του μύκητα *Alternaria* sp.

Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα εργασία, εφαρμόστηκε από τους Deng et al. (2013), όπου επιβεβαιώθηκε πως η βλάστηση σπορίων του μύκητα *Penicillium italicum* αναστάλθηκε πλήρως στα 2500 ppm. Ακόμα διαπίστωσαν με τη μέθοδο διάχυσης δισκίων διηθητικού χαρτιού (1ml ελαίου/δίσκο) πως ο μύκητας σχηματίζει εκτεταμένη ζώνης αναστολής (42.8 mm). Οι Moussa et al. (2020), αξιολόγησαν την αντιμυκητιακή δράση των *Origanum compactum* και *Syzygium aromaticum in vitro*, με διασπορά εναιωρήματος σπορίων του μύκητα *Penicillium italicum* και *P. digitatum* σε τρυβλία Petri με PDA και ελαίου σε διάφορες συγκεντρώσεις. Έπειτα από 7 ημέρες, και για τα δύο έλαια σε συγκέντρωση 500 ppm (0,5mg/ml), η αναστολή της ανάπτυξης έφτασε στο 100% και για τα δυο είδη μυκήτων.

Οι Sameza et al. (2015), εξέτασαν την αναστολή της ανάπτυξης μυκηλίου του *Rhizopus stolonifer* παρουσία ελαίου *Syzygium aromaticum* με την μέθοδο τοξικού μέσου, και τη βλάστηση σπορίων με την μέθοδο αραίωσης σε υγρό θρεπτικό μέσο (Potato dextrose broth). Η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση στην ανάπτυξη μυκηλίου ήταν στα 200 ppm, ενώ στα 31.25 ppm δεν παρατηρήθηκε βλάστηση σπορίων μετά από επώαση 24 hpi στους 25 °C. Τα αποτελέσματα έρχονται σε αντίθεση με αυτά της παρούσας εργασίας, καθώς τις πρώτες 24 ώρες, η ανάπτυξη του μύκητα στα 100 ppm ήταν αντίστοιχη του μάρτυρα και η πλήρη αναστολή βλάστησης των σπορίων επιτεύχθηκε με 2500 ppm ελαίου γαριφάλου. Μια πιθανή εξήγηση αποτελεί ο διαφορετικός βαθμός ανθεκτικότητας του συγκεκριμένο στελέχους του πειράματος του ίδιου μύκητα

Στην μελέτη των Hu et al. (2019), έπειτα από ανάμιξη του θρεπτικού μέσου PDA με αιθέριο έλαιο γαριφάλου, βρέθηκε πως τα 250 ppm (0,25 mg/ mL) ήταν η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση καθώς δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη από το αιώρημα σπορίων τριών ειδών του μύκητα *Aspergillus niger*, *A. oryzae* και *A. ochraceus*, έπειτα από 5 μέρες επώασης στους 28 °C. Επίσης, εξετάστηκε η επίδραση του αιθέριου ελαίου στην ανάπτυξη των μυκηλιακών δίσκων σε PDA, μετά από 5 ημέρες επώασης, και την βλάστηση σπορίων σε διάλυμα εναιωρήματος σπορίων με αιθέριο έλαιο σε κοίλη αντικειμενοφόρο πλάκα μετά από 20 hpi (28 °C). Στη συγκέντρωση των 10240 ppm (10,24 mg/mL) ελαίου, η αναστολή της ανάπτυξης των μυκηλίων των μυκήτων *A. niger*, *A. oryzae* και *A. ochraceus* έφθασαν στο 90,33%, 97,31% και

100%, αντίστοιχα, ενώ στην ίδια συγκέντρωση ανεστάλη πλήρως η βλάστηση των σπορίων του *A. ochraceus* και το ποσοστό αναστολής των *A. oryzae* και του *A. niger* ήταν 97,31%, 90,33 % αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, δείχνουν να είναι πολύ κοντά με αυτά της μελέτης των Tullio et al. (2007), οι οποίοι προσδιόρισαν την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου γαριφάλου κατά της ανάπτυξης των μυκήτων *Aspergillus niger*, *Rhizopus* sp. και *Cladosporium cladosporioides* με τη μέθοδο μικροαραιώσης σε υγρό θρεπτικό μέσο. Για τον μύκητα *Rhizopus* sp. υπολογίστηκε η τιμή να είναι πάνω από 1000 ppm (1% (v/v)), για τον μύκητα *Aspergillus niger* τα 2500 ppm και τον μύκητα *Cladosporium cladosporioides* τα 1250 ppm αιθέριου ελαίου, μετά από 7 ημέρες επώασης (30 °C). Αντίστοιχα, ο μύκητας *Cladosporium* sp. στην παρούσα εργασία έδειξε τη μεγαλύτερη ευαισθησία, καθώς ήδη στις συγκεντρώσεις 100 και 1000 ppm έδειξε μειωμένη ανάπτυξη.

Το αιθέριο έλαιο δάφνης *Laurus nobilis*, ήταν επίσης ένα από τα τρία πιο δραστικά έλαια του πειράματος (μαζί με το έλαιο ρίγανης και γαριφάλου), ίσως και το πιο αποτελεσματικό καθώς πέρα από ότι απέτρεψε πλήρως την βλάστηση σπορίων και ανάπτυξη όλων των μυκήτων στην μέγιστη συγκέντρωση των 2500 ppm, ανέστειλε την ανάπτυξη των μυκήτων *Cladosporium* sp. και *Alternaria* sp. ακόμα και στα 1000 ppm, ενώ σε αυτή τη συγκέντρωση η ανάπτυξη των υπολοίπων μυκήτων *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium italicum* και *Aspergillus niger* αναστάλθηκε μερικώς.

Οι Simić et al. (2004), προσδιόρισαν την MIC του ελαίου δάφνης χρησιμοποιώντας δοκιμές μακροαραιώσης και μικροαραιώσης. Στη μέθοδο μακροαραιώσης διαφορετικές συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων αραιώθηκαν με θρεπτικό υλικό ΜΑ (Malt Agar) σε τρυβλία Petri. Για την μέθοδο της μικροαραιώσης χρησιμοποιήθηκαν πλάκες μικροτιτλοδότησης 96 φρεατίων, με υγρό θρεπτικό μέσο ΜΑ, διάφορες συγκεντρώσεις ελαίου και αιώρημα σπορίων, με επώαση για 72 ώρες. Οι συγκεντρώσεις όπου δεν υπήρχε ορατή ανάπτυξη (MIC) ήταν 10.000 και 40.000 ppm (10 και 40 μl/ml) για τους *Alternaria alternata* και *Aspergillus niger* αντίστοιχα και για τις δύο μεθόδους. Για τον μύκητα *Cladosporium cladosporioides* ήταν 15.000 και 20.000 ppm (15 και 20 μl/ml) στην μέθοδο μακροαραιώσης και μικροαραιώσης αντίστοιχα, συγκεντρώσεις πολύ υψηλές για τα δεδομένα της παρούσας εργασίας.

Οι Xu et al. (2013), υπολόγισαν πως η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) του ελαίου δάφνης σε PDA κατά του μύκητα *A. alternata* είναι τα 800 ppm (μg/mL), προκαλώντας πλήρη αναστολή της ακτινικής ανάπτυξης του μυκηλιακού δίσκου. Επίσης, στην ίδια συγκέντρωση αναστάλθηκε η βλάστηση σπορίων σε ποσοστό 90%, σε υγρό θρεπτικό υλικό PDB (Potato Dextrose Broth), έπειτα από 20 ώρες επώασης στους 28 °C. Η βλάστηση σπορίων αναστάλθηκε πλήρως στα 1000 ppm (μg/mL), ενώ επίσης παρατηρήθηκαν μεγάλες μορφολογικές αλλοιώσεις του μύκητα.

Το έλαιο ευκαλύπτου, δεν έδωσε θετικά αποτελέσματα, καθώς όλοι οι μύκητες σε όλες τις συγκεντρώσεις παρουσίασαν κανονική ανάπτυξη, με εξαίρεση τον μύκητα

Cladosporium sp., όπου παρατηρήθηκε μειωμένη ανάπτυξη στην μέγιστη συγκέντρωση ελαίου (Εικ. 3.1), ενώ επίσης στα 2500 ppm, μετά από 7 ημέρες επώασης, παρατηρείται αυξημένη ανάπτυξη μυκήτων, σε μεγαλύτερο βαθμό από ότι στις χαμηλότερες συγκεντρώσεις (Εικ. 3.32 και 3.69), οδηγώντας στο συμπέρασμα πως παρά την αρχική καθυστέρηση της βλάστησης των σπορίων, με το πέρας των ημερών προκαλείται ξαφνική έξαρση της ανάπτυξης του μυκηλίου.

Οι Jhalegar et al. (2014), εφάρμοσαν την μέθοδο τοξικού μέσου για την εκτίμηση της αντιμυκητιακής δράσης του ευκαλύπτου και του γαριφάλου ενάντια στους μύκητες *Penicillium italicum* και *P. digitatum*. Διαπιστώθηκε πως η ανάπτυξη του μυκηλιακού δίσκου σε PDA με 2000 ppm (2.0 %) ΑΕ ευκαλύπτου αναστάλθηκε κατά 40%, και με το έλαιο γαριφάλου κατά 72,3% για τον μύκητα *Penicillium italicum*, ενώ και οι τιμές για τον μύκητα *P. digitatum* ήταν αντίστοιχες. Πράγματι, αν και στην παρούσα εργασία στη μέγιστη συγκέντρωση ευκαλύπτου δεν παρατηρήθηκε εμφανή αναστολή του *Penicillium italicum*, καθώς επρόκειτο για βλάστηση σπορίων και όχι ανάπτυξη μυκηλίου, η δράση του ελαίου γαριφάλου ήταν κατά πολύ πιο αποτελεσματική προκαλώντας πλήρη αναστολή σε λίγο μεγαλύτερη συγκέντρωση (2500 ppm) από αυτή που χρησιμοποίησαν στην δική τους μελέτη.

Οι Hossain et al. (2016), δοκίμασαν τα έλαια ευκαλύπτου και ρίγανης ενάντια στην ανάπτυξη μυκηλίου του *Aspergillus niger*. Η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση υπολογίστηκε με την μέθοδο μικροαραίωσης σε πλάκα 96 φρεατίων, με PDB, ΑΕ διάφορων συγκεντρώσεων και εναιώρημα σπορίων. Έπειτα από 36 ώρες επώασης (28 °C), το MIC για τον ευκάλυπτο υπολογίστηκε στα 10.000 ppm, αποδεικνύοντας την μειωμένη αποτελεσματικότητα του συγκεκριμένου ελαίου, ενώ για την ρίγανη η τιμή MIC υπολογίστηκε στα 625 ppm.

Για τα έλαια των φυτών *Eucalyptus globulus*, *Citrus sinensis* και *Rosmarinus officinalis*, παρατηρήθηκε πως σπόρια του μύκητα *Alternaria* sp., ήταν ορατά, μετά από εξέταση στο μικροσκόπιο, στην επιφάνεια του θρεπτικού υλικού και αυτό πιθανών θα οφείλεται στο ότι το αιώρημα σπορίων διηθήθηκε με μουσελίνα, της οποίας οι οπές πλέγματος ήταν λίγο μεγαλύτερου μεγέθους από αυτή που χρησιμοποιήθηκε στις προηγούμενες πειραματικές διαδικασίες, από όπου πιθανών δεν καταφέρναν να περάσουν τα σπόρια. Αυτή η δοκιμή, έγινε δεδομένου το ότι σε προηγούμενο πείραμα, βρέθηκε ένας ελάχιστος αριθμός σπορίων κατά την διάρκεια των παρατηρήσεων του ελαίου δάφνης, οδηγώντας στο συμπέρασμα πως έχουν σχηματιστεί σπόρια στην καλλιέργεια του μύκητα, αλλά μάλλον δεν μπόρεσαν να περάσουν στο τελικό αιώρημα, λαμβάνοντας υπόψιν και του σχετικά μεγάλου μεγέθους σπορίων. Σε σύγκριση με το μέγεθος των σπορίων των υπολοίπων υπό εξέταση μυκήτων, το οποίο κυμαίνεται για τον μύκητα *Aspergillus niger* στα 2-4 μm, για τον μύκητα *Penicillium* sp. στα 3,5 x 5 μm, για τον μύκητα *Cladosporium* sp. στα 4,2x 14,5 μm, και για τον μύκητα *Rhizopus stolonifer* στα 6-17μm, τα σπόρια του μύκητα *Alternaria* sp. είναι διαστάσεων περίπου 45-50 x 36 μm.

Οι Martins et al. (2013) για τον προσδιορισμό των ελάχιστων παρεμποδιστικών συγκεντρώσεων (MICs) του ελαίου ευκαλύπτου κατά των μυκήτων *Alternaria alternata* και *Penicillium* sp. χρησιμοποίησαν την μέθοδο μακροαραίωσης σε υγρό θρεπτικό μέσο. Με σειριακές αραιώσεις του ελαίου σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO), ελήφθησαν οι επιθυμητές συγκεντρώσεις δοκιμής. Οι μετρήσεις ελήφθησαν μετά την επώαση των δοκιμαστικών σωλήνων για 48 ώρες (35 °C). Τα αποτελέσματα δώσαν ως MICs τα 2500 ppm ελαίου για το μύκητα *Alternaria alternata* και 5000 ppm (5 μ L/mL) για τον μύκητα *Penicillium* sp.. Όπως φαίνεται, σε αυτή την περίπτωση η ανάπτυξη του μύκητα *Alternaria alternata* κατεστάλη πλήρως στις 48hpi, ενώ στην παρούσα εργασία σε αυτή τη συγκέντρωση, στην παρατήρηση των 24hpi, τα σπόρια του μύκητα μόλις είχαν ξεκινήσει να βλαστάνουν. Αντιστοίχως τα σπόρια του *Penicillium* sp., στις 24 hpi μόλις ξεκίνησαν να δίνουν σημάδια βλάστησης.

Το αιθέριο έλαιο κυπαρισσιού *Cupressus sempervirens*, δεν φάνηκε να έχει ανασταλτικές ιδιότητες στις συγκεντρώσεις και στα είδη μυκήτων που δοκιμάστηκαν, ενώ παρατηρήθηκε πως στην μέγιστη συγκέντρωση, περιόρισε σε έναν βαθμό την ανάπτυξη του μύκητα *Cladosporium* sp.

Στην μελέτη του Alfazairy (2004), δοκιμάστηκαν τα αιθέρια έλαια *Cupressus sempervirens* και *Eucalyptus citriodora* σε συγκεντρώσεις 15000-50000 ppm (15- 50 μ L/ml) σε θρεπτικό μέσο Czapek-Dox, κατά των *Aspergillus* sp. και *Penicillium* sp, των οποίων αιώρημα σπορίων τοποθετήθηκε πάνω στο υλικό στα τρυβλία Petri, τα οποία χωρίστηκαν στην μέση ώστε να τοποθετηθεί μυκήλιο και από τους δύο μύκητες και παρατηρήθηκε η ανάπτυξη τους έπειτα από 2 ημέρες επώασης (28 °C). Το έλαιο του ευκαλύπτου ανέστειλε πλήρως την ανάπτυξη των μυκήτων στα 30000 ppm, ενώ το έλαιο κυπαρισσιού ακόμα και σε αυτή τη συγκέντρωση, έδειξε πολύ μικρή ανασταλτική δράση και στους δύο μύκητες. Αν και εφαρμόστηκε η ίδια μέθοδος φαίνεται πως χρησιμοποιήθηκαν πολύ υψηλότερες συγκεντρώσεις, όπου ακόμα και σε αυτή την περίπτωση το έλαιο κυπαρισσιού δεν φάνηκε να δίνει θετικά αποτελέσματα, αντίστοιχα και το έλαιο ευκαλύπτου, αν και χρησιμοποιήθηκε διαφορετικό είδος η δραστηρότητά του παραμένει μειωμένη, ενώ από ότι φαίνεται απαιτούνται πολύ υψηλές συγκεντρώσεις για να δώσει ένα ικανοποιητικό αποτέλεσμα.

Το αιθέριο έλαιο αρκεύθου *Juniperus atlantica*, αντίστοιχα με αυτό του κυπαρισσιού δεν έδειξε καμία ανασταλτική δράση στην βλάστηση σπορίων και ανάπτυξη των πέντε μυκήτων. Οι Mazari et al. (2010), εξέτασαν την αντιμυκητιακή δράση των αιθέριων ελαίων που απομονώθηκαν από τα φύλλα του *Juniperus phoenicea* και του *Cupressus sempervirens* με τη μέθοδο εναπόθεσης μυκηλιακού δίσκου σε τοξικό μέσο (PDA) με τελική συγκέντρωση ελαίου τα 25000 ppm (25 μ L/ml). Τα έλαια ανέστειλαν πλήρως την ανάπτυξη του *Rhizopus stolonifer* και το *J.phoenicea* ανέστειλε το 40.6 % του *Aspergillus flavus* και το έλαιο *C. sempervirens* το 39%. Αυτό φανερώνει πως απαιτούνται πολύ μεγάλες συγκεντρώσεις των συγκεκριμένων ελαίων ώστε να είναι εμφανή η δράση τους.

Οι Elshafie et al. (2020), αξιολογήσαν της ανασταλτική δράση των αιθέριων ελαίων τριών ειδών αρκεύθου *Juniperus communis*, *J. scopulorum* και *J. horizontalis*, έναντι των μυκήτων *Aspergillus niger*, *Penicillium expansum* και *Botrytis cinerea*, σε δύο συγκεντρώσεις (1000 και 500 ppm) εντός του θρεπτικού υλικού PDA σε τρυβλίο Petri. Οι δίσκοι μυκηλίου επώαστηκαν για 4 ημέρες (22 °C), με την μεγαλύτερη αναστολή για τον μύκητα *A. niger* να παρατηρείτε στα 1000 ppm ΑΕ του *J. communis*, περίπου στο 50% της ανάπτυξης του μάρτυρα, ενώ ακόμα μεγαλύτερη αναστολή προκάλεσε το ΑΕ του *J. scopulorum*, στον μύκητα *P. expansum*. Σε καμία περίπτωση δεν παρατηρήθηκε πλήρης αναστολή, επιβεβαιώνοντας την χαμηλή δραστηριότητα του ελαίου αρκεύθου.

Σε ακόμα μια μελέτη βρέθηκε πως το αιθέριο έλαιο αρκεύθου, από καρπό του είδους *Juniperus excelsa*, μπορεί να δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα μόνο σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις,. Η αντιμυκητιακή δράση του, αξιολογήθηκε από τους Sokonić et al. (2004), έναντι μίας σειράς μυκήτων, συμπεριλαμβανομένων των *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Cladosporium cladosporioides* και δύο είδη *Penicillium ochrocloron* και *P. funiculosum*, εφαρμόζοντας την τεχνική μικροαραίωσης χρησιμοποιώντας πλάκες μικροτιτλοδότησης 96 φρεατίων, όπου στις επιθυμητές συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου προστέθηκε ποσότητα αιωρήματος σπορίων. Οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις χωρίς ορατή ανάπτυξη (MICs) παρατηρήθηκαν μετά από 72 hpi (28°C). Αναστολή των μυκήτων *Alternaria alternata* και *Cladosporium cladosporioides* παρατηρήθηκε στα 10000 ppm και *Aspergillus niger* και *A. flavus* στα 15000 και 20000 ppm αντίστοιχα. Στα δύο είδη *Penicillium* sp. η τιμή έφτασε τα 40000 ppm. Από την άλλη μεριά, η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση του αιθέριου ελαίου από βελόνες του είδους *Juniperus communis* υπολογίστηκε από τους Cabral et al. (2012), με τη μέθοδο μακροαραίωσης σε υγρό θρεπτικό μέσο, με αραίωση του αιθέριου ελαίου σε διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) και επώαση στους 35 °C για 48 ώρες, στα 2500 ppm (2,5 μL/mL) και 5000 ppm για τον μύκητα *Aspergillus niger* και *A. flavus*, αντίστοιχα.

Το αιθέριο έλαιο κέδρου *Cedrus atlantica*, δεν έδειξε καμία ορατή αποτελεσματικότητα έπειτα από 7 ημέρες επώασης. Οι Rabadia et al. (2011), εφαρμόζοντας την τεχνική τοξικού μέσου, με εμβολιασμό εναιωρήματος κονιδιοσπορίων του μύκητα *A. niger*, στο κέντρο τρυβλίου Petri με PDA, παρουσία αιθέριου ελαίου *Eucalyptus globulus*, *Cedrus deodara* ή *Syzygium aromaticum* σε συγκέντρωση 5-50 ppm. Έπειτα από 96 hpi (28 °C), το έλαιο *S. aromaticum* εμφάνισε υψηλότερη αντιμυκητιασική δράση με MIC τα 5 ppm. Το έλαιο του *E. globulus* παρουσίασε μέτρια αντιμυκητιασική δράση με MIC τα 30 ppm, ενώ το αιθέριο έλαιο του *C. deodara* εμφάνισε τη μικρότερη ανασταλτική δράση, το οποίο ακόμα και στην μεγαλύτερη συγκέντρωση επέτρεψε την ανάπτυξη του μύκητα σε ποσοστό μικρότερο του 50% του μάρτυρα. Αν και εφαρμόστηκε η ίδια μέθοδος με την παρούσα εργασία, οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήταν κατά πολύ μικρότερες. Παρότι οδηγήθηκαν σε διαφορετικό αποτέλεσμα, ότι δηλαδή πολύ μικρές συγκεντρώσεις είναι ικανές να προκαλέσουν ορατή αναστολή ανάπτυξης, επιβεβαιώνεται πως το

έλαιο γαριφάλου είναι το πιο αποτελεσματικό κατά του μύκητα *A. niger*, ενώ το έλαιο του ευκαλύπτου και κυρίως του κέδρου φαίνεται να μην έχουν μεγάλη δραστηριότητα.

Με την μέθοδο διάχυσης δισκίων διηθητικού χαρτιού, οι Καčάνιονά et al. (2022), αξιολόγησαν τη δράση του ελαίου *Cedrus atlantica* (10 μ L/δίσκο) σε άγαρ Mueller Hinton, κατά του *P. italicum* (24hpi), διαπιστώνοντας πως η αντιμικροβιακή του δράση είναι ασθενής, καθώς η ζώνη αναστολής ήταν εντός των ορίων των 5–10 mm, κατατάσσοντας την σε αυτή την κατηγορία. Ακόμα με τη μέθοδο μικροαραίωσης σε υγρό θρεπτικό μέσο δεξτρόζης Sabouraud (Sabouraud Dextrose Broth, SDB) , προσδιορίστηκε η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση MIC 90 στα 31.850 ppm, επιβεβαιώνοντας την χαμηλή δραστηριότητά του.

Το αιθέριο έλαιο πορτοκαλιού *Citrus sinensis*, και δενδρολίβανου *Rosmarinus officinalis*, επίσης δεν δείξαν ότι μπορούν να αναστείλουν αποτελεσματικά σε διάστημα 7 ημερών την βλάστηση σπορίων των 5 μυκήτων, συμπεριλαμβανομένου του μύκητα *Alternaria* sp. . Μόνο για τον μύκητα *Cladosporium* sp. παρατηρήθηκε μειωμένη ανάπτυξη παρουσία 2500 ppm AE *Rosmarinus officinalis*, ενώ στην περίπτωση του μύκητα *Aspergillus niger*, μετά από 7 ημέρες επώασης, στα 2500 ppm ελαίου γαριφάλου η ανάπτυξη του μύκητα ήταν εμφανώς μεγαλύτερη από αυτή του μάρτυρα.

Οι Shi et al. (2018), εφάρμοσαν τη μέθοδο διάχυσης από βοθρία, με προσθήκη 50 μ L αραιωμένου αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού (40%, o/o), όπου οι μύκητες *Aspergillus niger* και *Rhizopus oryzae* σχημάτισαν ζώνη αναστολής περίπου 12 mm. Αφού διαπιστώθηκε η αντιμυκητιακή δράση, υπολογίστηκε το ποσοστό αναστολής λόγω των πτητικών ουσιών. Το αιώρημα σπορίων επώαστηκε στην επιφάνεια του PDA για 5 ημέρες (28 °C), με αποτέλεσμα την αναστολή του μύκητα *Aspergillus niger* σε ποσοστό μικρότερο από 70%, στη συγκέντρωση 1180 ppm (1,18 μ L/ mL_{air}) αιθέριου ελαίου και λίγο μεγαλύτερο από 70 % για τον *Rhizopus oryzae*, στη συγκέντρωση 2350 ppm (2,35 μ L/ mL_{air}). Η ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση υπολογίστηκε με την ίδια μέθοδο στα 9400 ppm (9,40 μ L/mL_{air}) και για τους δυο μύκητες, αποδεικνύοντας πως απαιτούνται πολύ υψηλές συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού για να προκαλέσει αποτελεσματική αναστολή.

Όσον αφορά το αιθέριο έλαιο του δενδρολίβανου, στην μελέτη των Plotto et al. (2003), αποδείχθηκε η μειωμένη αποτελεσματικότητα του στην βλάστηση των σπορίων σε δύο δοκιμασμένου μύκητες, σε σχέση με το δραστικό έλαιο ρίγανης. Στην μελέτη αυτή εφαρμόστηκε η μέθοδος ατμών σε τρυβλία Petri με PDA, τα οποία εμβολιάστηκαν με εναιώρημα σπορίων των μυκήτων *Alternaria arborescens* και *Rhizopus stolonifer*, ενώ χάρτινος δίσκος Whatman εμποτίστηκε με 10 mg αιθέριου ελαίου ρίγανης και δενδρολίβανου και τοποθετήθηκε στο καπάκι του τρυβλίου. Η ανασταλτική επίδραση των ατμών του αιθέριου ελαίου ρίγανης στη βλάστηση και ανάπτυξη των μυκήτων *A. arborescens* και *R. stolonifer* μετά από 4 ημέρες επώασης (25 °C), ήταν 100% και 64 % αντίστοιχα, ενώ του ελαίου δενδρολίβανου 6% και 0%.

Σε μελέτη, ο Shin (2003), προσδιόρισε μεταξύ άλλων, την ελάχιστης ανασταλτικής συγκέντρωσης (MIC) των αιθέριων ελαίων των *Cedrus atlantica*, *Juniperus communis* και *Rosmarinus officinalis* κατά των μυκήτων *Aspergillus niger* και *A. flavus* σε πλάκες μικροτιτλοδότησης 96 φρεατίων, όπου τα έλαια αραιώθηκαν με διμεθυλοσουλφοξείδιο (DMSO) με τελικές συγκεντρώσεις έως τα 50000 ppm (50 mg/mL). Μετά την προσθήκη εμβολίου επώαστηκαν για 72 ώρες (26 °C), λαμβάνοντας τις τιμές MIC για τα αιθέρια έλαια των *Cedrus atlantica* και *Juniperus communis* τα 25000 ppm (25 mg/ml) και για το αιθέριο έλαιο του *Rosmarinus officinalis* τα 12500 ppm (12,5 mg/ml). Ακόμα εφάρμοσε την μέθοδο διάχυσης δισκίων διηθητικού χαρτιού σε θρεπτικό μέσο SDA, όπου στις συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν (12.5 και 25 mg/disk) τα έλαια των *Cedrus atlantica* και *Juniperus communis* δεν εμφάνισαν ζώνη αναστολής, ενώ του *Rosmarinus officinalis* στην μεγαλύτερη συγκέντρωση εμφάνισε ζώνη αναστολής 4mm και 1 mm για τους μύκητες *Aspergillus flavus* και *A. niger* αντίστοιχα.

Οι Khosravi et al. (2020), αξιολόγησαν την αντιμυκητιακή δράση προσδιορίζοντας την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) του ελαίου δενδρολίβανου και ρίγανης, μέσω της μεθόδου μικροαραιώσης σε υγρό θρεπτικό μέσο στους μύκητες *Aspergillus flavus* και *Cladosporium* sp.. Έπειτα από 3 ημέρες επώασης (30 °C) του εναιωρήματος κονιδίων, σε μέσο Roswell Park Memorial Institute (RPMI)-1640 με αιθέρια έλαια σε διάφορες συγκεντρώσεις, ορίστηκαν οι τιμές MICs για τον μύκητα *A. flavus* τα 60 και 180 ppm (μg/mL) για το ΑΕ ρίγανης και δενδρολίβανου αντίστοιχα, ενώ και για τον μύκητα *Cladosporium* sp. τα 20 και 340 ppm (μg/mL), υποδεικνύοντας την μικρότερη ανασταλτική δράση του *Rosmarinus officinalis* σε σχέση με την *Origanum vulgare* αλλά και την υψηλή αντίσταση που παρουσιάζει ο μύκητας *Cladosporium* sp. στο έλαιο αυτό. Την ίδια μέθοδο και θρεπτικό μέσο χρησιμοποίησαν οι Nikkhah et al. (2017), προσδιορίζοντας την αντιμυκητιακή δράση του *Rosmarinus officinalis* κατά του *P. expansum*. Σε πλάκα 96 φρεατίων πραγματοποιήθηκαν σειριακές αραιώσεις, προστέθηκε κονιδιακό εναιωρήμα και επώαστηκε για 7 ημέρες (28 °C), όπου παρατηρήθηκε πως η MIC ήταν τα 5000 ppm (μg/mL).

Αρκετές ήταν οι μελέτες στις οποίες δοκιμάστηκαν μια σειρά αιθέριων ελαίων, συγκρίνοντας κατά αυτό τον τρόπο την αποτελεσματικότητα τους στην αναστολή συγκεκριμένων μυκήτων. Μια τέτοια μελέτη είναι αυτή των Pawar και Thaker (2006), οι οποίοι έλεγξαν την αντιμυκητιακή δράση μιας σειράς αιθέριων ελαίων έναντι του *Aspergillus niger*, χρησιμοποιώντας την μέθοδο διάχυσης δισκίων διηθητικού χαρτιού και οι διάμετροι της ζώνης αναστολής των μυκήτων υπολογίστηκαν έπειτα από 48 ώρες επώασης (28 °C). Το έλαιο του *Juniperus communis* έδωσε ζώνη αναστολής 5 mm, του *Rosmarinus officinalis* 7mm, του *Laurus nobilis* 25mm και του *Syzygium aromaticum* 28mm, ενώ στο αιθέριο έλαιο *Cupressus sempervirens* δεν παρατηρήθηκε ζώνη αναστολής. Όπως επιβεβαιώνεται από αυτά τα αποτελέσματα, το ΑΕ του κυπαρισσιού ήταν αναποτελεσματικό κατά του *Aspergillus niger*, όπως και το ότι το ΑΕ της αρκεύθου ήταν το αμέσως επόμενο

που έδειξε την μικρότερη αναστολή. Το ΑΕ του δενδρολίβανου, είχε επίσης σχετικά μικρή ανασταλτική δράση, ενώ αυτό της δάφνης και του γαριφάλου προκάλεσαν εκτεταμένη ζώνη αναστολής, επιβεβαιώνοντας την αποτελεσματικότητά τους κατά του συγκεκριμένου μύκητα.

Οι Zabka et al. (2014), υπολόγισαν το ποσοστό αναστολής των μυκήτων *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* και *Aspergillus niger*, με τη μέθοδο αραίωσης σε άγαρ με συγκέντρωση 1000 ppm αιθέριων ελαίων *Juniperus communis*, *Rosmarinus officinalis* και *Origanum vulgare* σε PDA. Δίσκοι μυκηλίου επωάστηκαν για 7 ημέρες, όπου διαπιστώθηκε η αναστολή των μυκήτων *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* και *Aspergillus niger* παρουσία αιθέριου ελαίου του *Juniperus communis* σε ποσοστό 11.84% , 31.03 % και 1.80%, του *Rosmarinus officinalis* 14.47%, 27.59 % και 0.45% αντίστοιχα και του *Origanum vulgare* 100% σε όλες τις περιπτώσεις. Τα αποτελέσματα αυτά αποδεικνύουν την υψηλή αποτελεσματικότητα του ελαίου ρίγανης σε σύγκριση με την χαμηλή αποτελεσματικότητα των υπολοίπων.

Όσο αφορά τον μύκητα *Alternaria spp.*, οι Sawatdikarn, et al (2016), δοκίμασαν την αντιμυκητιακή δράση των αιθανολικών ακατέργαστων εκχυλισμάτων του *Syzygium aromaticum*, *Origanum vulgare* και *Rosmarinus officinalis*, αξιολογώντας την αναστολή της ανάπτυξης των μυκηλίων, μετά από 7 ημέρες και τη βλάστηση των σπορίων, όπου το εναιώρημα σπορίων του μύκητα, σε συνδυασμό με φυτικά εκχυλίσματα, επωάστηκαν σε κοίλες αντικειμενοφόρους και ο ρυθμός βλάστησης των σπορίων παρατηρήθηκε μετά το πέρας 12 ωρών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα ακατέργαστα εκχυλίσματα των *S. aromaticum* και *O. vulgare* στα 1000 ppm, και του *R. officinalis* στα 5000 ppm παρουσίασαν πλήρη αναστολή της ανάπτυξης μυκηλίου, όπως και η πλήρη αναστολή της βλάστησης των σπορίων επιτεύχθηκε με 1000 ppm *O. vulgare* και 2500 ppm *R. officinalis*. Σε αντίθεση με την παρούσα μελέτη τα έλαια έλαια ρίγανης και γαριφάλου δεν ανέστειλαν πλήρως, αλλά μερικώς την ανάπτυξη του μύκητα στα 1000 ppm, ενώ ανεστάλη πλήρως στις συγκεντρώσεις των 2500 ppm. Τα αποτελέσματα φαίνεται πως δεν παρουσιάζουν μεγάλη διαφορά μεταξύ των δύο εργασιών ακόμα και αν πρόκειται για αιθανολικά εκχυλίσματα και όχι αιθέρια έλαια.

Σε σύγκριση με το έλαιο δενδρολίβανου η αποτελεσματικότητα του ελαίου ρίγανης κατά του *Rhizopus* sp. ήταν πολύ πιο αποτελεσματική, όπως αποδεικνύεται και στην μελέτη των Tancinová et al. (2018), οι οποίοι με τη μέθοδο της μικροατμόσφαιρας (0.625 $\mu\text{L}/\text{cm}^3$), διαπίστωσαν πως το αιθέριο έλαιο ρίγανης ανέστειλε πλήρως την ανάπτυξη των απομονώσεων του μύκητα *Rhizopus* sp. σε θρεπτικό μέσο PDA από την δεύτερη κιόλας μέρα, ενώ το έλαιο δενδρολίβανου την 7 μέρα ανέστειλε μόλις το 90% (25 °C). Ομοίως, οι Andrade et al. (2017) προσδιόρισαν την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) των αιθέριων ελαίων των *Origanum vulgare* και *Rosmarinus officinalis*, χρησιμοποιώντας την μέθοδο μακροαραίωσης σε υγρό θρεπτικό μέσο (SDB), με εναιώρημα σπορίων του μύκητα *R. stolonifer*, και προσθήκη γαλακτώματος των ελαίων. Μετά από επώαση για 7 ημέρες (25 °C), η χαμηλότερη συγκέντρωση που προκάλεσε ορατή αναστολή της ανάπτυξης του

μύκητα, του ΑΕ του *Origanum vulgare* ήταν τα 250 ppm (0,25 μl/ml) και τα 1000 ppm (1 μl/ml) του ΑΕ του *Rosmarinus officinalis*. Οι συγκεντρώσεις που δώσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα αν και είναι κατά πολύ χαμηλότερες από αυτές της παρούσας μελέτης, επιβεβαιώνουν την μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα του ελαίου ρίγανης σε σχέση με το έλαιο του δενδρολίβανου.

Οι Stupar et al. (2014), έκαναν δοκιμές για να εξετάσουν την αντιμυκητιακή δράση του ελαίου ρίγανης και δενδρολίβανου κατά του *Aspergillus niger* με τις μεθόδους μικροατμόσφαιρας και μικροαραίωσης. Στην πρώτη περίπτωση σε τρυβλία Petri, θρεπτικό υλικό malt extract agar (MEA), εμβολιάστηκε με τον μύκητα και δίσκος διηθητικού χαρτιού εμποτισμένο με διάφορες συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων τοποθετήθηκε στο καπάκι. Σε διάστημα 3 εβδομάδων μέσω των παρατηρήσεων προσδιορίστηκαν οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις, οι οποίες ήταν για το έλαιο ρίγανης τα 1.250 ppm και για το έλαιο δενδρολίβανου τα 30.000 ppm. Με την μέθοδο μικροαραίωσης, προσδιορίστηκε η MIC σε πλακίδια μικροτιτλοδότησης 96 φρεατίων. Συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων, διαλύθηκαν σε υγρό θρεπτικό μέσο Malt extract broth (MEB) και προστέθηκε αιώρημα σπορίων του μύκητα. Έπειτα από επώαση 72 ωρών (28°C), ελήφθησαν οι τιμές MIC, για την ρίγανη 250 ppm και για το δενδρολίβανο 100.000 ppm. Η ίδια τιμή για την ρίγανη βρέθηκε στην μελέτη των De Sousa et al. (2013), οι οποίοι προσδιόρισαν την ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση (MIC) του ελαίου ρίγανης και δενδρολίβανου, κατά του *Aspergillus niger* με τη μέθοδο μακροαραίωσης σε υγρό θρεπτικό μέσο (SDB), έπειτα από 7 ημέρες επώασης (28 °C), ενώ για το δενδρολίβανο η τιμή MIC ήταν τα 1000 ppm (1μl/ml), η οποία διαφέρει σημαντικά από αυτή της προηγούμενης μελέτης. Επίσης, σε αυτές τις τιμές εξετάστηκε η επίδραση στη βλάστηση των σπορίων των μυκήτων έπειτα από επώαση διαλύματος αιθέριων ελαίων και εναιωρήματος σπορίων για 24 ώρες (28 °C), σε γυάλινη πλάκα. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως το έλαιο ρίγανης ανέστειλε πλήρως τη βλάστηση των σπορίων και το έλαιο δενδρολίβανου προκάλεσε αναστολή της βλάστησης σε ποσοστό 78,7%.

Οι ελάχιστες ανασταλτικές συγκεντρώσεις (MICs) των αιθέριων ελαίων *Eucalyptus globulus*, *Syzygium aromaticum* και *Rosmarinus officinalis* ενάντια στην *A. alternata* υπολογίστηκαν από τους Castro et al. (2017), με τη μέθοδο μικροαραίωσης με εναιώρημα κονιδίων. Η MIC του *S. aromaticum* ήταν τα 500 ppm (μg/ ml), ενώ για τον *E. globulus* και *R. officinalis* τα 1000 ppm (μg/ml). Επίσης, αξιολόγησαν την αναστολής της ανάπτυξης υφών με την μέθοδο διάχυσης δισκίων διηθητικού χαρτιού, σε τρυβλία με PDA, αφού εμβολιάστηκαν κεντρικά με 10 μl εναιωρήματος κονιδίων. Στους χάρτινους δίσκους προστέθηκαν 10 μl αιθέριου ελαίου (συγκεντρώσεων 100, 50 και 25%), τοποθετήθηκαν γύρω από την αποικία και επώαστηκε στους 28 °C για 72 ώρες. Το ΑΕ του *S. aromaticum* ανέστειλε πλήρως την ανάπτυξη στη χαμηλότερη δοκιμασμένη συγκέντρωση (25%), ενώ τα αιθέρια έλαια των *E. globulus* και *R. officinalis* δεν ανέστειλαν αποτελεσματικά την ανάπτυξη των υφών στις συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν. Ακόμα, παρατήρησαν σε μικροσκόπιο την μορφολογία των υφών του μύκητα που υποβλήθηκαν σε θεραπεία με τα έλαια. Τα

αιθέρια έλαια των *E. globulus* και *R. officinalis* δεν προκάλεσαν αλλοιώσεις στις δομές των υφών, ενώ το αιθέριο έλαιο του *S. aromaticum* πέρα από την μείωση της ανάπτυξης τους, προκάλεσε δομικές αλλαγές, όπως σχίσσιμο και παραμόρφωση των υφών και διαρροή του κυτταρικού περιεχομένου. Αντίστοιχα και στην παρούσα εργασία φαίνεται πως μεταξύ των τριών ελαίων, μόνο το έλαιο γαριφάλου ήταν αποτελεσματικό στην αναστολή της ανάπτυξης μυκηλίου, ενώ τα αιθέρια έλαια των *E. globulus* και *R. officinalis* δεν κατάφεραν να αναστείλουν την βλάστηση των σπορίων.

Οι Diane et al. (2018) χρησιμοποιώντας τη μέθοδο διάχυσης σε δίσκο, για να εξετάσουν την αντιμυκητιακή δράση αιθέριων ελαίων *Syzygium aromaticum*, *Cupressus sempervirens*, *Citrus sinensis*, *Eucalyptus globulus* και *R. officinalis* κατά του μύκητα *Alternaria brassicae*. Δοκιμάστηκαν οι συγκεντρώσεις 5, 10, 15, 20, 30% (v/v), στους χάρτινους δίσκους Whatman, ο οποίοι τοποθετήθηκαν πάνω σε θρεπτικό PDA και γύρω από το μυκηλιακό δίσκο, και επωάστηκαν για 7 ημέρες (25°C). Στη μέγιστη συγκέντρωση 30%, στα αιθέρια έλαια των *Syzygium aromaticum*, *Citrus sinensis*, *Eucalyptus globulus*, *Cupressus sempervirens* και *R. officinalis* η αναστολή του μύκητα *A. brassicae* έφτασε στα 90,28 %, 25,07%, 21%, 18,49% και 15,36% αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν πως το γαρίφαλο είναι το πιο δραστικό έλαιο σε σύγκριση με τα έλαια πορτοκαλιού, ευκαλύπτου και κυπαρισσιού τα οποία έχουν χαμηλή αποτελεσματικότητα.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του πειράματος και των υπολοίπων μελετών, φαίνεται πως η πιθανή εφαρμογή των αιθέριων ελαίων, που στοχεύει στην αναστολή της ανάπτυξης των μυκήτων με ολοκληρωμένο τρόπο διαχείρισης, είναι πολλά υποσχόμενη, και η πληθώρα μελετών που έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα, φανερώνει το ενδιαφέρον που υπάρχει, ώστε αυτό να γίνει πράξη. Περαιτέρω μελέτες ανασταλτικής δράσης αιθέριων ελαίων, κατά της βλάστησης των σπορίων των μυκήτων σε συνδυασμό με την μέθοδο τοξικού μέσου χρειάζεται να πραγματοποιηθούν, καθώς δεν διαθέτουμε πολλά δεδομένα, αλλά και μελέτες που να εξετάζουν πολλές απομονώσεις των υπό μελέτη μυκήτων.

5. Βιβλιογραφία

- Alfazairy, A. A. M. (2004) 'Antimicrobial activity of certain essential oils against hindgut symbionts of the drywood termite *Kaloterms flavicollis* Fabr. and prevalent fungi on termite-infested wood', *Journal of Applied Entomology*, 128, 554– 560.
- Almas, I., Innocent, E., Machumi, F., and Kisinza, W. (2021). Chemical composition of essential oils from *Eucalyptus globulus* and *Eucalyptus maculata* grown in Tanzania. *Scientific African*, 12. doi: 10.1016/j.sciaf.2021.e00758
- Andrade, S. C. A. *et al.* (2017) 'Control of Rhizopus soft rot and quality responses in plums (*Prunus domestica* L.) coated with gum arabic, oregano and rosemary essential oils', *Journal of Food Processing and Preservation*, 41, 1–14.
- Bajpai, V. K., Baek, K.-H., and Kang, S. C. (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils: a review. *Food Research International*, 45, 722-734.
- Bakkali, F. and Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review, *Food and Chemical Toxicology*, 46, 446–475.
- Barkai-Golan, R., and Karadavid, R. (1991). Cellulolytic Activity of *Penicillium digitatum* and *P. italicum* Related to Fungal Growth and to Pathogenesis in Citrus Fruits. *Journal of Phytopathology*, 13, 65–72.
- Barreto, T. A., Andrade, S. C. A., Maciel, J. F., Arcanjo, N. M. O., Madruga, M. S., Meireles, B., Magnani, M. (2016). A Chitosan Coating Containing Essential Oil from *Origanum vulgare* L. to Control Postharvest Mold Infections and Keep the Quality of Cherry Tomato Fruit. *Frontiers in Microbiology*, 7, doi: 10.3389/fmicb.2016.01724
- Batista, M. T., and Salgueiro, L. (2012) 'Essential oil of *Juniperus communis* subsp. *alpina* (Suter) Čelak needles: Chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity', *Phytotherapy Research*, 26, 1352–1357.
- Batuman, O., Ritenour, M., Vicent, A., Li, H., Hyun, J.-W., Catara, V., Cano, L. M. (2020). Diseases caused by fungi and oomycetes. The Genus *Citrus*, 349–369. doi:10.1016/b978-0-12-812163-4.00017-6
- Belkacem, N., Khettal, B., Hudaib, M., Bustanji, Y., Abu-Irmaileh, B., and Amrine, C. S. M. (2021). Antioxidant, antibacterial, and cytotoxic activities of *Cedrus atlantica* organic extracts and essential oil. *European Journal of Integrative Medicine*, 42. doi: <https://doi.org/10.1016/j.eujim.2021.101292>
- Bensch, K., Braun, U., Groenewald, J. Z., and Crous, P. W. (2012). The genus *cladosporium*. *Studies in mycology*, 72, 1-401.
- Bhagyasgree Ganesh Patgar, Sathish S. and A. R. Shabaraya, (2021). Essential Oil of *Cupressus Sempervirens*: A Brief Review, *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10. doi: 10.1016/j.sciaf.2021.e00758

- Bhunia, A.K. (2018). Molds and mycotoxins. In *Foodborne Microbial Pathogens: Mechanisms and Pathogenesis*, Springer: New York, NY, USA, 167–174.
- Blancard Dominique, (2012). Diagnosis of Parasitic and Nonparasitic Diseases. *Tomato Diseases*, 35–411.
- Bluma, R.V., Etcheverry, M.G., (2008). Application of essential oils in maize grain: Impact on *Aspergillus section Flavi* growth parameters and aflatoxin accumulation. *Food Microbiology* 25, 324–334.
- Boddy, L. (2016). Pathogens of Autotrophs. *The Fungi*, 8, 245–292. doi:10.1016/b978-0-12-382034-1.00008-6
- Bogavac Mirjana, Kristina Tešanović, Jovana Marić, Mirjana Jovanović and Maja Karaman (2019). Antimicrobial activity and toxicity of *Eucalyptus globulus* Labill. essential oil against vaginal microorganisms, *Trends Phytochem. Res.* 3, 201-206
- Boubaker, H., Karim, H., El Hamdaoui, A., Msanda, F., Leach, D., Bombarda, I., Ait Ben Aoumar, A. (2016). Chemical characterization and antifungal activities of four *Thymus* species essential oils against postharvest fungal pathogens of citrus. *Industrial Crops and Products*, 86, 95–101.
- Bullerman, L. B. (2003). Spoilage | Fungi in Food – An Overview. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 5511–5522.
- Cabral C.; Francisco V.; Cavaleiro C.; Gonçalves M. J.; Cruz M. T.; Sales F.; Batista M. T.; Salgueiro L. (2012). ‘Essential oil of *juniperus communis* subsp. *alpina* (Suter) Čelak needles: Chemical composition, antifungal activity and cytotoxicity’, *Phytotherapy Research*, 26, 1352–1357.
- Calo, J. R., Crandall, P. G., O’Bryan, C. A., and Ricke, S. C. (2015). Essential oils as antimicrobials in food systems – A review. *Food Control*, 54, 111–119.
- Carisse, O. (2015). Epidemiology and Aerobiology of *Botrytis* spp. *Botrytis – the Fungus, the Pathogen and Its Management in Agricultural Systems*, 127–148.
- Carmo, E. S., Lima, E. D. O. and De Souza, E. L. (2008) ‘The potential of *origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil in inhibiting the growth of some food-related *aspergillus* species’, *Brazilian Journal of Microbiology*, 39, 362–367.
- Castro, J. C. Endo, E. H., Souzac, M. R., Zanqueta E. B., Polonioe, J., Pamphilee, J., Ueda-Nakamura T., Nakamura, C., Prado Dias Filh, B. (2017) ‘Bioactivity of essential oils in the control of *Alternaria alternata* in dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw.)’, *Industrial Crops and Products*. Elsevier B.V., 97, 101–109.

- Chao, S. C., and Young, D. G. (2000). Screening for inhibitory activity of essential oils on selected bacteria, fungi and viruses. *Journal of Essential Oil Research*, 12, 639-649.
- Chrapačienė, S., Rasiukevičiūtė, N. and Valiuškaitė, A. (2021) 'Biocontrol of carrot disease-causing pathogens using essential oils', *Plants*, 10. doi: 10.3390/plants10112231
- Cox, S.D., Mann, C.M., Markham, J.L., Bell, H.C., Gustafson, J.E., Warmington, J.R., Wyllie, S.G., (2000). The mode of antimicrobial action of essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil). *J. Appl. Microbiol.* 88, 170–175.
- Da Cruz Cabral, L., Fernández Pinto, V. and Patriarca, A. (2013). 'Application of plant derived compounds to control fungal spoilage and mycotoxin production in foods', *International Journal of Food Microbiology*. Elsevier B.V., 166, 1–14.
- Daferera, D. J., Ziogas, B. N. and Polissiou, M. G. (2000) 'GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*', *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2576–2581.
- Davari, M. and Ezazi, R. (2017). Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Zhumeria majdae*, *Heracleum persicum* and *Eucalyptus* sp. against some important phytopathogenic fungi, *Journal de Mycologie Medicale*. Elsevier Masson SAS, 27, 463–468.
- Deng, J. Wen Li, W., Xi lin Peng, X., Hao, X.H. (2013) 'Study on the potential of antifungal activity of essential oils against fungal pathogens of fruits and vegetables', *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 5, 443–446.
- Dhingra, O. D., Mizubuti, E. S. G., Napoleao, I. T., and Jham, G. (2001). Free fatty acid accumulation and quality loss of stored soybean seeds invaded by *Aspergillus ruber*. *Seed Sci. Technol.* 29, 193–203.
- Diáñez, F. Santos, M., Parra C., Navarro, M.J., Blanco, R., Gea F.J (2018) 'Screening of antifungal activity of 12 essential oils against eight pathogenic fungi of vegetables and mushroom', *Letters in Applied Microbiology*, 67, 400–410.
- Dorman, H. J. D., and Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants, antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*, 88, 308-316.
- Eckert, J.W., Ratnayake, M., and Wolfner, A.L. (1992). Effect of volatile compounds from citrus fruits and other plant materials upon fungus spore germination. *Proc. Int. Soc. Citric.*, Italy, 1049–1052.
- Elshafie, H. S. Caputo, L., Martino, L., De Grul'ova, D., Zheljazkov, V.Z., De Feo V., Camele. (2020) 'Biological investigations of essential oils extracted from three *Juniperus* species and evaluation of their antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities', *Journal*

of *Applied Microbiology*, 129, 1261–1271.

Fidan, H., Stefanova, G., Kostova, I., Stankov, S., Damyanova, S., Stoyanova, A., and Zheljaskov, V. D. (2019). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of *Laurus nobilis* L. Essential Oils from Bulgaria. *Molecules*, 24, 804.

Fletcher, J., Bender, C., Budawle, B., Cobb, W.T., Gold, S.E., Ishimaru, C.A., Luster, D., Melcher, U., Murch, R., Scherm, H., Seen, R.C., Sherwood, J.L., Sobral, B.W., Tolin, S.A., (2006). Plant pathogen forensics: capabilities needs, and recommendations. *Microbial Mol. Biol. Rev.* 70, 450–471

Franco-Vega, A., Reyes-Jurado, F., Cardoso-Ugarte, G. A., Sosa-Morales, M. E., Palou, E., & López-Malo, A. (2016). Sweet Orange (*Citrus sinensis*) Oils. *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, 783–790. doi:10.1016/b978-0-12-416641-7.00089-4

González-Aguilar, A. E., Palou, E., & López-Malo, A. (2015). Antifungal activity of essential oils of clove (*Syzygium aromaticum*) and/or mustard (*Brassica nigra*) in vapor phase against gray mold (*Botrytis cinerea*) in strawberries. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 32, 181–185. doi:10.1016/j.ifset.2015.09.003

Heuchert, B., Braun, U., and Schubert, K. (2005). Morphotaxonomic revision of fungicolous *Cladosporium* species (hyphomycetes). *Schlechtendalia*, 13, 1-78.

Hocking, A. D. (2006). *Aspergillus* and related teleomorphs. *Food Spoilage Microorganisms*, 451–487.

Hocking, A. D. (2014). Spoilage problems | Problems Caused by Fungi. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 471–481.

Hossain, F., Follett P., Dang Vu K., Harich, M., Salmieri, S., Lacroix, M. (2016) ‘Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food’, *Food Microbiology*. Elsevier Ltd, 53, 24–30.

Hu, F., Tua, X., Thakura, K., Hua, F., Lia, X., Zhanga Y., Zhanga J., Wei Z. (2019) ‘Comparison of antifungal activity of essential oils from different plants against three fungi’, *Food and Chemical Toxicology*. Elsevier, 134, 110821. doi:10.1016/j.fct.2019.110821

Hu, Yichen; Zhang, Jinming; Kong, Weijun; Zhao, Gang; Yang, Meihua (2017). Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. *Food Chemistry*, 220, 1–8.

Jahani, M., Beheshti, M., Aminifard, M. H., and Hosseini, A. (2020). Effects of Essential Oils to Control *Penicillium* Sp. In *In Vitro* and in *In Vivo* on Grapevine (*Vitis Vinifera* L.) Fruit. *International Journal of Fruit Science*, 20, 812–826.

Jhalegar, M. J., Sharma, R. R. and Singh, D. (2015) ‘In vitro and in vivo activity of essential oils against major postharvest pathogens of Kinnow (*Citrus nobilis* × *C. deliciosa*) mandarin’, *Journal of Food Science and Technology*, 52, 2229– 2237.

- Jinyin Chen, Yuting Shen, Chuying Chen, Chunpeng Wan (2019). Inhibition of Key Citrus Postharvest Fungal Strains by Plant Extracts In Vitro and In Vivo: A Review. *Plants*, 8, 26.
- Kačániová M, Galovičová L, Valková V, Ďuranová H, Štefániková J, Čmíková N, Vukic M, Vukovic NL, Kowalczewski PŁ. Chemical Composition, Antioxidant, (2022). In Vitro and In Situ Antimicrobial, Antibiofilm, and Anti-Insect Activity of Cedar atlantica Essential Oil. *Plants* (Basel). 28, 11-358.
- Khosravi, A. R., Shokri, H. and Saffarian, Z. (2020) ‘Anti-fungal activity of some native essential oils against emerging multi-drug resistant human non dermatophytic moulds’, *Journal of Herbal Medicine*, 23. doi:10.1016/j.hermed.2020.100370
- Kokkini, S., Karousou, R., and Hanlidou, E. (2003). HERBS | Herbs of the Labiatae. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*, 3082–3090.
- Kordali, S., Cakir, A., Ozer, H., Cakmakci, R., Kesdek, M., and Mete, E. (2008). Antifungal, phytotoxic and insecticidal properties of essential oil isolated from Turkish *Origanum acutidens* and its three components, carvacrol, thymol and p-cymene. *Bioresource Technology*, 99, 8788–8795.
- Kumar, V., Marković, T., Emerald, M., and Dey, A. (2016). Herbs: Composition and Dietary Importance. *Encyclopedia of Food and Health*, 332–337.
- Kwaśna H. and Kosiak B. (2003). *Lewia avenicola* sp. nov. and its *Alternaria* anamorph from oat grain, with a key to the species of *Lewia*. 107, 371–376.
- Ladaniya, M.S. (2008). Citrus Fruit: Biology, Technology and Evaluation. *Academic Press*, USA, 429-440
- Leyva Salas, M., Mounier, J., Valence, F., Coton, M., Thierry, A., and Coton, E. (2017). Antifungal Microbial Agents for Food Biopreservation—A Review. *Microorganisms*, 5, 37.
- Li, M., Muthaiyan, A., O’Bryan, C. A., Gustafson, J. E., Li, Y., Crandall, P. G., and Ricke, S. C. (2011). Use of natural antimicrobials from a food safety perspective for control of *Staphylococcus aureus*. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 12, 1240-1254.
- Lopez, S. E., and Cabral, D. (1999). ALTERNARIA. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 42–49.
- Martins, C., Natal-da-Luz, T., Sousa, J., Goncalves, M., Salgueiro, L., Canhoto, C. (2013) ‘Effects of Essential Oils from *Eucalyptus globulus* Leaves on Soil Organisms Involved in Leaf Degradation’, *PLOS ONE*, e61233. doi: 10.1371/journal.pone.0061233
- Corkeron, M. (2008). Book Review: Haddad and Winchester’s Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose. Fourth Edition. *Anaesthesia and Intensive Care*,

36, 130–131.

Mazari, K., Nassima Bendimerad, N., Chahrazed 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.

Mbaveng, A. T., and Kuete, V. (2017). *Syzygium aromaticum*. Medicinal Spices and Vegetables from Africa, 611–625.

Moussa, H. *et al.* (2021) 'Action of thymol, carvacrol and eugenol on *Penicillium* and *Geotrichum* isolates resistant to commercial fungicides and causing postharvest citrus decay', *Canadian Journal of Plant Pathology*. Taylor & Francis, 43, 26–34.

Muimba-Kankolongo, A. (2018). Vegetable Production. Food Crop Production by Smallholder Farmers in Southern Africa, 205–274.

Mutlu-Ingok, A., Devecioglu D., Dikmetas D. N., Karbancioglu-Guler F. and Capanoglu E. (2020). Antibacterial, antifungal, antimycotoxigenic, and antioxidant activities of essential oils: an updated review, *Molecules*, 25. 4711. doi:10.3390/molecules25204711

Nikkhah, M. Hashemi, M., Habibi Najafi, M., Farhoosh, R. (2017) 'Synergistic effects of some essential oils against fungal spoilage on pear fruit', *International Journal of Food Microbiology*. Elsevier B.V, 257, 285–294.

Palou, L. (2014). *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum* (Green Mold, Blue Mold). Postharvest Decay, 45–102.

Pandey, A. K. *et al.* (2017). Essential oils: Sources of antimicrobials and food preservatives, *Frontiers in Microbiology*, 1–14.

Paoli, M., Nam, A.-M., Castola, V., Casanova, J., and Bighelli, A. (2011). Chemical Variability of the Wood Essential Oil of *Cedrus atlantica* Manetti from Corsica. *Chemistry and Biodiversity*, 8, 344–351.

Patriarca, A., and Fernández Pinto, V. (2018). *Alternaria*. Reference Module in Food Science. Elsevier. Buenos Aires, Argentina, 1-8.

Pawar, V. C. and Thaker, V. S. (2006) 'In vitro efficacy of 75 essential oils against *Aspergillus niger*', *Mycoses*, 49, 316–323.

Pierre-Leandri, C., Fernandez, X., Lizzani-Cuvelier, L., Loiseau, A.-M., Fellous, R., Garnero, J. (2003). Chemical Composition of Cypress Essential Oils: Volatile Constituents of Leaf Oils from Seven Cultivated *Cupressus* Species. *Journal of Essential Oil Research*, 15, 242–247

Plotto, A., Roberts, D. D. and Roberts, R. G. (2003) 'Evaluation of plant essential oils as natural postharvest disease control of tomato (*lycopersicon esculentum*)', *Acta Horticulturae*, 628, 737–745.

Rabadia, A. G., Kamat, S. D. and Kamat, D. V. (2011) 'Antifungal activity of essential oils against Fluconazole resistant fungi', *International Journal of Phytomedicine*, 3, 506–510.

Ridgway, R., (1912). Color Standards and Color Nomenclature. Εκδόθηκε από Robert Ridgway, Washington, D.C.

Sameza, M. L. *et al.* (2016) 'Evaluation of Clove Essential Oil as a Mycobiocide Against *Rhizopus stolonifer* and *Fusarium solani*, Tuber Rot Causing Fungi in Yam (*Dioscorea rotundata* Poir.)', *Journal of Phytopathology*, 164, 433–440.

Sawatdikarn, S. (2016) 'Antifungal activity of selected medicinal plants against *Alternaria* species: The pathogen of dirty panicle disease in rice', *Journal of Medicinal Plants Research*, 10, 195–201.

Shi, Y., Sa Huang, S., He, Y., Wu, J., Yang, Y. (2018) 'Navel orange peel essential oil to control food spoilage molds in potato slices', *Journal of Food Protection*, 81, 1496–1502.

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.

Simić, A., Sokovic, D., Ristic, M., Gruji-Jovanovic, S., Vukojevic, J., Marin P. D.. (2004) 'The chemical composition of some Lauraceae essential oils and their antifungal activities', *Phytotherapy Research*, 18, 713–717.

Soković, M. D., Ristić, M. and Grubišić, D. (2004) 'Chemical composition and antifungal activity of the essential oil from *Juniperus excelsa* berries', *Pharmaceutical Biology*, 42, 328–331.

Soylu, E. M., Kurt, Ş. and Soyly, S. (2010). 'International Journal of Food Microbiology In vitro and in vivo antifungal activities of the essential oils of various plants against tomato grey mould disease agent *Botrytis cinerea*', 143, 183–189.

Stupar, M. Grbić, M., Džamić, A., Unković, N., Ristić, M., Jelikić, A., Vukojević, J., (2014) 'Antifungal activity of selected essential oils and biocide benzalkonium chloride against the fungi isolated from cultural heritage objects', *South African Journal of Botany*, 93, 118–124.

Tančinová, D., Mašková, Z., Foltinová, D., Štefániková, J., Árvay, J. (2018) 'Effect of essential oils of Lamiaceae plants on the *Rhizopus* spp. *Potravinárstvo Slovak Journal of Food Sciences Plant essential oils Fungal culture*, 12, 491–498.

Theis, N. and Lerchau, M. (2003). The evolution of function in plant secondary metabolites. *International Journal of Plant Science*, 164, 93-102.

Tullio, V., Nostro A., Mandras N., Dugo P., Banche G., Cannatelli M.A., Cuffini A.M., Alonzo, V., Carlone, N.A (2007) ‘Antifungal activity of essential oils against filamentous fungi determined by broth microdilution and vapour contact methods’, *Journal of Applied Microbiology*, 102, 1544–1550.

Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S.-B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in Mycology*, 78, 343–371.

Vitoratos, A., Bilalis, D., Karkanis, A., and Efthimiadou, A. (2013). Antifungal Activity of Plant Essential Oils Against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41, 86.

Williamson, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., and Van Kan, J. A. L. (2007). *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8, 561–580.

Xu, S., Yan, F., Zhendan, Ni., Chen, Q., Zhanga, H., Zheng, X. (2014) ‘In vitro and in vivo control of *Alternaria alternata* in cherry tomato by essential oil from *Laurus nobilis* of Chinese origin’, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 1403–1408.

Yahyazadeh Mahdi, Omidbaigi Reza, Zare Rasoul, Taheri Hossein (2008). Effect of some essential oils on mycelial growth of *Penicillium digitatum* Sacc., 24, 1445–1450.

Zabka, M., Pavela, R., Prokinova, E. (2014). Antifungal activity and chemical composition of twenty essential oils against significant indoor and outdoor toxigenic and aeroallergenic fungi. *Chemosphere*, 112, 443–448.

Zhao, Y., Yang, Y.-H., Ye, M., Wang, K.-B., Fan, L.-M., and Su, F.-W. (2021). Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Origanum vulgare* against *Botrytis cinerea*. *Food Chemistry*, 365, 130506. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.13050

Zoffoli, J. P., and Latorre, B. A. (2011). Table grape (*Vitis vinifera* L.). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*, 179–214.

Παναγόπουλος, X. (2007). Ασθένειες των Εσπεριδοειδών. Ασθένειες καρποφόρων δέντρων και αμπέλου. Αθήνα. Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε. 329-342

Τζάμος Ε.Κ., (2007). Βασικές γνώσεις φυτοπαθολογικής μυκητολογίας. Φυτοπαθολογία, Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε, Αθήνα. 200-245

Πίν. 3: Ανάπτυξη των μύκητων *Rhizopus stolonifer*, *Cladosporium* sp., *Penicillium* sp., *Aspergillus niger* και *Alternaria* sp, παρουσία αιθέριων ελαίων στις συγκεντρώσεις 100, 1000 και 2500ppm, μετά από 7 ημέρες επώαση στους 25 °C, στο σκοτάδι. Κ: Κανονική ανάπτυξη. ΜΑ: Μέτρια Ανάπτυξη. (-): Δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη. (*): Ανάπτυξη από βλάστηση σπορίων του μύκητα *Alternaria* sp.

Αιθέριο έλαιο	Συγκέντρω ση (ppm)	<i>Rhizopus stolonifer</i>	<i>Cladospori um sp.</i>	<i>Penicillium sp.</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Alternaria sp.</i>
<i>Origanum sp.</i>	100	K	K	K	K	MA
	1000	-	-	MA	K	MA
	2500	-	-	-	-	-
<i>Laurus nobilis</i>	100	K	K	K	K	K
	1000	MA	-	MA	MA	-
	2500	-	-	-	-	-
<i>Syzygium aromaticum</i>	100	K	MA	K	K	K
	1000	K	MA	K	K	MA
	2500	-	-	-	-	-
<i>Eucalyptus globulus</i>	100	K	K	K	K	K*
	1000	K	K	K	K	K*
	2500	K	MA	K	K	K*
<i>Cupressus sempervirens</i>	100	K	K	K	K	K
	1000	K	K	K	K	K
	2500	K	MA	K	K	K
<i>Juniperus sp.</i>	100	K	K	K	K	K
	1000	K	K	K	K	K
	2500	K	K	K	K	K
<i>Cedrus sp.</i>	100	K	K	K	K	K
	1000	K	K	K	K	K
	2500	K	K	K	K	MA
<i>Citrus sinensis</i>	100	K	K	K	K	K*
	1000	K	K	K	K	K*
	2500	K	K	K	K	K*
<i>Rosmarinus officinalis</i>	100	K	K	K	K	K*
	1000	K	K	K	K	K*
	2500	MA	MA 127	K	K (πιο έντονη)	K*