



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

«Αξιολόγηση της επίδρασης αιθέριων ελαίων από γαρύφαλλο, δάφνη,
ευκάλυπτο και ρίγανη σε απομονώσεις του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*
(Lib.) de Bary»

ΔΗΜΗΤΡΑ ΖΟΥΝΤΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΒΕΛΛΙΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ

ΒΟΛΟΣ 2022

«Αξιολόγηση της επίδρασης αιθέριων ελαίων από γαρύφαλλο, δάφνη, ευκάλυπτο και ρίγανη σε απομονώσεις του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary»

«Antifungal activity of clove, laurel, eucalyptus, and oregano essential oils on *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary isolates»

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Επιβλέπων: Ευάγγελος Βέλλιος, Επίκουρος Καθηγητής, Φυτοπαθολογία-Σύγχρονες Μέθοδοι Διαγνωστικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Μέλος: Αθανάσιος Σφουγγάρης, Καθηγητής

Μέλος: Dr. Φεβρωνία Λιολιοπούλου, μέλος ΕΔΙΠ, Φυτοπαθολογία, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Στην Ιωάννα...

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

Δήμητρα Ζούντα

Ευχαριστίες

Καθώς η στιγμή που η φοίτηση μου σε αυτό το πανεπιστήμιο πλησιάζει στο τέλος της, οι αναμνήσεις αυτών των πέντε χρόνων- με τις συνήθεις δυσκολίες που χαρακτηρίζουν ένα τέτοιο κατόρθωμα αλλά και αυτές που προστέθηκαν εξαιτίας των ιδιαίτερων συνθηκών της πανδημίας, τις χαρές, τις λύπες, τις απογοητεύσεις και τις μικρές νίκες- αναβλύζουν τόσο αβίαστα στη σκέψη μου. Η ολοκλήρωση αυτής της διατριβής φαντάζει σαν το κλείσιμο ενός κεφαλαίου, που παρά την έμφυτη μελαγχολία με την οποία είναι συνυφασμένη η λέξη «τέλος», δεν θα μπορούσα να αμελήσω την ελπίδα που παρέχει για το μέλλον, τα εφόδια για ένα νέο ξεκίνημα αλλά και τον φόβο για το επόμενο βήμα στον κόσμο. Έτσι λοιπόν δεν μπορώ να μην αναφέρω στον «επίλογο» μου αυτό, τα άτομα που επηρέασαν καθοριστικά την πορεία μου τόσο στο χώρο της επιστήμης αλλά και γενικότερα στη ζωή.

Αρχικά οφείλω να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της παρούσας πτυχιακής, κύριο Βέλλιο, για την όρεξη του, το ενδιαφέρον του και την αφοσίωση του στην επιστήμη της Φυτοπαθολογίας. Τόσο κατά την διάρκεια της συνεργασίας μας στα πλαίσια της πτυχιακής εργασίας, όσο και κατά την διδασκαλία των εξαμηνιαίων μαθημάτων του, έγινα αποδέκτης της προθυμίας του να μοιραστεί τις γνώσεις του με άτομα που ενδιαφέρονταν να ακούσουν και να μάθουν κάτι παραπάνω.

Ένα θερμότατο ευχαριστώ αξίζει στην κυρία Λιολιοπούλου, η οποία υπήρξε ο εγκέφαλος πίσω από την οργάνωση των πειραμάτων. Χάρη στις οργανωτικές της ικανότητες, τις καίριες παρατηρήσεις και σχολιασμούς της, την αμέριστη υποστήριξη και την ατελείωτη υπομονή της, κατάφερα να φέρω εις πέρας επιτυχώς τα πειράματα που σχεδιάσαμε και να ολοκληρώσω την διατριβή μου σε ένα ευχάριστο και φιλικό περιβάλλον. Πέρα όμως από εξαιρετική επιστήμονας, αποδείχθηκε καλός άνθρωπος και πρόθυμη ακροάτρια για τις ανησυχίες και τις σκέψεις μου, ενθαρρύνοντας τα διάφορα ταλέντα μου.

Παρά την λιγότερο στενή συνεργασία μας σε σχέση με τα άλλα δύο μέλη της επιτροπής, θα ήθελα σε αυτό το σημείο να εκφράσω την εγκάρδια ευγνωμοσύνη μου στον κύριο Σφουγγάρη, τόσο για την υλική υποστήριξη της πειραματικής μου προσπάθειας αλλά και για όλα τα πολύτιμα μαθήματα περί αναγκαιότητας διατήρησης της βιοποικιλότητας και γενικότερα της ισορροπίας στο φυσικό περιβάλλον, κάτι που θα έπρεπε να αποτελεί ένα από τα πρωταρχικά καθήκοντα του σωστού γεωπόνου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου · τους γονείς μου για την υλική τους υποστήριξη όλο αυτό το χρονικό διάστημα, την αδερφή μου που δίχως ιδιαίτερα παράπονα αλλά οπλισμένη με αρκετή κατανόηση ανέχθηκε τα τρελά ωράρια μου και τα ξεσπάσματα μου, την θεία μου για όλες τις συμβουλές και τις πολύωρες συζητήσεις και τον παππού μου και την γιαγιά μου για την στοργή και την φροντίδα τους. Βέβαια, το σημείωμα αυτό δεν θα μπορούσε να είναι ολοκληρωμένο αν δεν ανέφερα πόσο ευγνώμων είμαι σε όλες τις φίλες μου που μου συμπαραστάθηκαν και προσέφεραν απλόχερα τη βοήθεια τους χωρίς να περιμένουν κανένα αντάλλαγμα· ιδιαίτερα η Γωγώ και η Δανάη, χωρίς τις οποίες αυτά τα πέντε χρόνια θα ήταν άχρωμα, κενά και άκρως μοναχικά.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1. Σκληρωτινίαση.....	1
1.1.1. Γενικά	1
1.1.2. Συμπτωματολογία.....	1
1.1.3. Παθογόνο αίτιο	2
1.1.3.1. Ιστορική αναδρομή.....	2
1.1.3.2. Συστηματική κατάταξη.....	3
1.1.3.3. Βιολογία παθογόνου.....	3
1.1.3.4. Βιολογικός κύκλος.....	6
1.1.4. Μόλυνση και παράγοντες παθογένειας.....	7
1.1.5. Επιδημιολογία	8
1.1.6. Αντιμετώπιση της ασθένειας	8
1.2. Αιθέρια έλαια	10
1.2.1. Ορισμός	10
1.2.2. Χημικό προφίλ.....	11
1.2.3. Μηχανισμός δράσης	13
1.2.4. Προσαρμογή και ανθεκτικότητα.....	14
1.2.5. Παράγοντες που επηρεάζουν τη δράση των ΑΕ.....	15
1.2.6. Εφαρμογές	16
1.3. Σκοπός της εργασίας.....	18
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	19
2.1. Απομονώσεις του μύκητα <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	19
2.2. Παρασκευή θρεπτικού υλικού (PDA)	19
2.3. Απολύμανση σκληρωτίων	20
2.4. Παρασκευή τοξικού μέσου.....	21
2.5. Υπολογισμός Ελάχιστης Παρεμποδιστικής Συγκέντρωσης (MIC).....	22
2.6. Ανάλυση δεδομένων	23
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	24
3.1. Επίδραση αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου στις απομονώσεις του μύκητα <i>S. sclerotiorum</i>	24
3.1.1. Δράση ευκαλύπτου στις δύο ημέρες	24
3.1.2. Δράση ευκαλύπτου στις τρεις ημέρες	27
3.1.3. Δράση ευκαλύπτου στις επτά ημέρες	30

3.2. Επίδραση αιθέριου ελαίου γαρυφάλλου στις απομονώσεις του μύκητα <i>S. sclerotiorum</i>	34
3.2.1. Δράση γαρυφάλλου σε δύο ημέρες	34
3.2.2. Δράση γαρυφάλλου σε τρεις ημέρες	37
3.2.3. Δράση γαρυφάλλου σε επτά ημέρες	40
3.3. Επίδραση αιθέριου ελαίου ρίγανης στις απομονώσεις του μύκητα <i>S. sclerotiorum</i>	44
3.3.1. Δράση ρίγανης σε δύο ημέρες	44
3.3.2. Δράση ρίγανης σε τρεις ημέρες	47
3.3.3. Δράση ρίγανης σε επτά ημέρες	49
3.4. Επίδραση αιθέριου ελαίου δάφνης στις απομονώσεις του μύκητα <i>S. sclerotiorum</i>	54
3.4.1. Δράση δάφνης σε δύο ημέρες	54
3.4.2. Δράση δάφνης σε τρεις ημέρες	57
3.4.3. Δράση δάφνης σε επτά ημέρες	59
4. Ακριβέστερος προσδιορισμός της MIC	64
5. Επιφανειακή απολύμανση σκληρωτίων	65
6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ	66
7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	69
8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	70
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	78

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα πτυχιακή διατριβή πραγματοποιήθηκαν μια σειρά πειραμάτων με σκοπό τον προσδιορισμό της δράσης τεσσάρων αιθέριων ελαίων · ευκαλύπτου (*Eucalyptus globulus*), γαρυφάλλου (*Syzygium aromaticum*), ρίγανης (*Origanum vulgare*) και δάφνης (*Laurus nobilis*), σε απομονώσεις του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*. Οι απομονώσεις αυτές συλλέχθηκαν από διάφορα σημεία του ελληνικού χώρου και αξιολογήθηκαν με τη μέθοδο τοξικού μέσου (αραίωση αιθέριων ελαίων σε θρεπτικό υλικό PDA). Για την αρχική δοκιμή προσδιορισμού της ελάχιστης παρεμποδιστικής συγκέντρωσης (MIC) επιλέχθηκαν οι συγκεντρώσεις 0 ppm, 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm. Για τον ευκάλυπτο η MIC βρέθηκε στα 2500 ppm, ενώ για το γαρύφαλλο, την ρίγανη και τη δάφνη στα 1000 ppm. Μετρήσεις πάρθηκαν στις δύο, τρεις και επτά ημέρες αντίστοιχα, μετά από την διεξαγωγή του πειράματος και την επακόλουθη τοποθέτηση τους σε επωαστικό θάλαμο. Έπειτα από την ανάλυση των δεδομένων βρέθηκε πως το λιγότερο αποτελεσματικό αιθέριο έλαιο σε εργαστηριακές συνθήκες ήταν αυτό του ευκαλύπτου, αντίθετα αυτό της δάφνης παρουσίασε ενθαρρυντικά αποτελέσματα, ενώ αυτά της ρίγανης και του γαρυφάλλου είχαν καλή δράση αλλά ήταν λιγότερο αποτελεσματικά από τη δάφνη. Τέλος, υπογραμμίζεται η επιτακτική ανάγκη για διερεύνηση των αιθέριων ελαίων αυτών ως μυκοστατικοί και παρεμποδιστικοί παράγοντες για την ανάπτυξη του παθογόνου αυτού ενόψει μιας πιο φιλικής προς το περιβάλλον αντιμετώπισης των ασθενειών που προκαλεί.

Λέξεις κλειδιά: *Eucalyptus globulus*, *Syzygium aromaticum*, *Origanum vulgare*, *Laurus nobilis*, MIC, *Sclerotinia sclerotiorum*, essential oils

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. Σκληρωτινίαση

1.1.1. Γενικά

Η σκληρωτινίαση, γνωστή και ως βαμβακώδης σήψη, λευκή σήψη, υδατώδης μαλακή σήψη και σήψη στελέχους, αποτελεί μια από τις πιο σημαντικές μυκητολογικές ασθένειες των καλλιεργούμενων φυτών (Agrios 2018, Παναγόπουλος 2000). Πρόκειται για μια ασθένεια που προκαλεί εξαιρετικά σημαντικές οικονομικές ζημιές στην παραγωγή εξαιτίας τόσο του μεγάλου εύρους ξενιστών του παθογόνου -255 γένη και 64 οικογένειες-, του σταδίου ανάπτυξης του φυτού το οποίο προσβάλλει, καθώς η μόλυνση είναι εφικτή καθ' όλη τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου (νεαρά φυτάρια, ώριμα φυτά και συγκομισμένα προϊόντα στην αποθήκη), αλλά και εξαιτίας των δυσκολιών αντιμετώπισης του (Agrios 2018; Παναγόπουλος 2000). Προσβάλλει κυρίως φυτά με υψηλή περιεκτικότητα σε νερό, όπως πολλά λαχανικά είδη και αρκετά καλλωπιστικά (Agrios 2018). Στην Ελλάδα με μεγαλύτερη συχνότητα πλήττονται σολανώδη φυτά όπως τομάτα μελιτζάνα πιπεριά και πατάτα, ακολουθούν τα σταυρανθή-μπρόκολο, κουνουπίδι, λάχανο-, σέλινο, καρότο, κάποια φυλλώδη όπως το μαρούλι, τα κολοκυνθοειδή – κολοκύθι, αγγούρι, καρπούζι, πεπόνι - η αγκινάρα και το φασόλι (Παναγόπουλος 2000).

1.1.2. Συμπτωματολογία

Τα πρώτα συμπτώματα εντοπίζονται στο λαιμό των φυτών, όπου σχηματίζονται ανοιχτόχρωμοι ή σκουρόχρωμοι μεταχρωματισμοί στους ιστούς με υδατώδη υφή. Αυτή η αλλοίωση επεκτείνεται προς τα πάνω και με το πέρασμα του χρόνου καλύπτει το υπέργειο τμήμα του φυτού αλλά και τη ρίζα. Έτσι παρατηρείται ο σχηματισμός ελκών στο στέλεχος, τα οποία είναι μαλακά και έχουν χρώμα υπόλευκο. Η ανάπτυξη του μύκητα μέσα στο στέλεχος, προκαλεί χλωρώσεις και μαράνσεις των φύλλων που βρίσκονται σε σημεία πάνω από την περιοχή του έλκους, τα οποία τελικά ξηραίνονται (Agrios 2018, Παναγόπουλος 2000). Υπάρχει βέβαια και η περίπτωση η μόλυνση να ξεκινήσει από μια περιοχή του φύλλου και μέσω αυτού να προχωρήσει στο στέλεχος

και τελικά να νεκρώσει ολόκληρο το φυτό (Agrios 2018). Στους νεκρούς ιστούς σχηματίζεται το πλούσιο, λευκό και βαμβακώδες μυκήλιο του μύκητα καθώς και οι σκουρόχρωμες διαχειμάζουσες μορφές του, γνωστές ως σκληρώτια (Παναγόπουλος 2000). Πέρα όμως από το εξωτερικό του φυτικού σώματος, τα σκληρώτια εντοπίζονται και μέσα στα στελέχη ή και στην εντεριώνη, όπου αναπτύσσεται πλούσιο μυκήλιο όπως έχει αναφερθεί παραπάνω. Ειδικότερα στο μαρούλι, με την πρόοδο της ασθένειας, οι μίσχοι και τα φύλλα καταρρέουν και νεκρώνονται εξαιτίας της προσβολής και της εξάπλωσης του μύκητα στους ιστούς του στελέχους και των κατώτερων φύλλων. Το λευκό χαρακτηριστικό βαμβακώδες μυκήλιο και τα μαυριδερά σκληρώτια εμφανίζονται στην κάτω επιφάνεια των εξωτερικών φύλλων, ενώ με την παρουσία επαρκούς ποσότητας υγρασίας, ολόκληρο το φυτό καλύπτεται από αυτά (Agrios 2018).

1.1.3. Παθογόνο αίτιο

1.1.3.1. Ιστορική αναδρομή

Η πρώτη περιγραφή του μύκητα αυτού έγινε το 1837, από την Βελγίδα βοτανολόγο και μυκητολόγο, Marie-Anne Libert, μια από τις πρώτες γυναίκες στο τομέα της μελέτης και ταξινόμησης μυκήτων (Maroske and May 2018). Η Libert το 1837 (Libert 1837, όπως αναφέρεται από τους Sharma et al. 2015) ονόμασε τον μύκητα *Peziza sclerotiorum*, ονομασία που επικράτησε για περίπου τριάντα χρόνια ως το 1870, όταν ο Leopold Fuckel, Γερμανός βοτανολόγος, όντας δυσαρεστημένος με την ονομασία αλλά και για να αναδείξει τη συνεισφορά της Libert, άλλαξε το όνομα του μύκητα σε *Sclerotinia libertiana* (Fuckel 1870, όπως αναφέρεται από τους Sharma et al. 2015). Μερικά χρόνια αργότερα, το 1924, η Αγγλίδα μυκητολόγος και φυτοπαθολόγος Elsie Maud Wakefield απέδειξε πως η ονομασία αυτή ερχόταν σε αντίθεση με τους κανονισμούς του Διεθνούς Κώδικα Ονοματολογίας, προτείνοντας τη χρήση του ονόματος, *S.sclerotiorum*, το οποίο είχε συμπεριλάβει ο τότε προϊστάμενος της στον τομέα της μυκητολογίας του Βασιλικού Βοτανικού Κήπου του Κιου, G.E. Masee, στις διάφορες μελέτες του (Wakefield 1924, όπως αναφέρεται από τους Sharma et al. 2015). Τελικά όμως, εξαιτίας της χρήσης του ονόματος αυτού στις δημοσιεύσεις του Γερμανού χειρουργού, βοτανολόγου, μικροβιολόγου και μυκητολόγου Heinrich Anton

de Bary κατά τα μέσα της δεκαετίας του 1880 (Sharma et al. 2015) επικράτησε το όνομα *Sclerotinia sclerotiorum*, το οποίο χρησιμοποιείται ως σήμερα για την περιγραφή του συγκεκριμένου μύκητα.

1.1.3.2. Συστηματική κατάταξη

Η συστηματική κατάταξη του μύκητα αυτού παρουσιάζεται στον πίνακα 1.1 (Mycobank Database 2022):

Πίνακας 1.1: Συστηματική κατάταξη *Sclerotinia sclerotiorum*

Βασίλειο	Fungi
Φύλο	Ascomycota
Τάξη	Discomycetes
Κλάση	Helotiales
Οικογένεια	Sclerotiniaceae
Γένος	<i>Sclerotinia</i>
Είδος	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>

1.1.3.3. Βιολογία παθογόνου

Οι υφές του παθογόνου σε καλλιέργειες σε τρυβλίο φέρουν λευκό ως ανοιχτό καφέ χρώμα, σχηματίζοντας το πυκνό βαμβακώδες μυκήλιο, που είναι υαλώδες, πολυκύτταρο και φέρει septa. Στα σημεία που οι υφές αρχίζουν και πυκνώνουν, σχηματίζονται τα σκληρώτια που είναι στενά συνδεδεμένα με το μυκήλιο. Τα σκληρώτια αποτελούν τις κύριες δομές διαχείμασης του μύκητα, έχουν διαστάσεις 2-10 x 3-15 mm ενώ το σχήμα και το μέγεθος τους ποικίλει από σφαιρικό, ημισφαιρικό ακόμα και ακανόνιστο (Sharma et al. 2015). Εσωτερικά αποτελούνται από προσέγχυμα, που είναι πλούσιο σε β-γλυκάνες και πρωτεΐνες ενώ εξωτερικά καλύπτονται από έναν προστατευτικό φλοιό, το ψευδοπαρέγχυμα, ο οποίος είναι αρχικά λευκός και στην συνέχεια γίνεται σκουρόχρωμος εξαιτίας της εναπόθεσης μελανίνης (Agrios 2018, Sharma et al. 2015).

Ο σχηματισμός των σκληρωτίων χωρίζεται σε τρία διαφορετικά στάδια σύμφωνα με τους Townsend και Willetts (1954) : την έναρξη, την ανάπτυξη και την ωρίμανση. Στο πρώτο στάδιο, παρατηρείται η εμφάνιση μικρών διακριτών δομών, λευκού χρώματος που αποτελούνται από στενά συνδεδεμένες υφές. Στην συνέχεια, τα σκληρώτια αυξάνονται σε μέγεθος και καθώς εισέρχονται στο τελικό στάδιο της ανάπτυξης τους, ωριμάζουν. Η ωρίμανση περιλαμβάνει την οριοθέτηση της επιφάνειάς τους, την εσωτερική τους σταθεροποίηση και την εναπόθεση μελανίνης- όπως προαναφέρθηκε- η οποία συχνά συνδέεται με την έκκριση μιας σταγόνας (Townsend and Willetts 1954). Ολόκληρη η διαδικασία του σχηματισμού σκληρωτίων εξαρτάται από μια σειρά παραγόντων όπως η φωτοπερίοδος, η θερμοκρασία, η συγκέντρωση οξυγόνου, τα θρεπτικά στοιχεία αλλά και μηχανικούς παράγοντες (Chet and Henis 1975). Τα σκληρώτια αποτελούν εξαιρετικά ανθεκτικές δομές με τις οποίες διαχειμάζει ο μύκητας, που φέρουν την ικανότητα να επιβιώνουν σε ξηρές συνθήκες ως και 8 χρόνια ενώ αν υπάρχει υψηλή υγρασία στο έδαφος το χρονικό διάστημα αυτό μειώνεται ριζικά στο ένα έτος (Παναγόπουλος 2000). Η επιβίωση τους σε συνθήκες αγρού επηρεάζεται από το είδος του εδάφους, την προηγούμενη καλλιέργεια αλλά και από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η υγρασία. Οι υψηλές συγκεντρώσεις υγρασίας σε συνδυασμό με την υψηλή θερμοκρασία επιταχύνουν την αποδόμηση των σκληρωτίων, όμως οι διάφοροι μικροοργανισμοί του εδάφους είναι ο κυριότερος υπαίτιος για την αποικοδόμηση τους, καθώς τα χρησιμοποιούν για πηγή αζώτου (Sharma et al. 2015).

Από ώριμα σκληρώτια τουλάχιστον δύο εβδομάδων, σε συνθήκες αγρού με θερμοκρασία 10-15 °C στα πρώτα 2 cm του εδάφους ξεκινάει η παραγωγή μιας δομής γνωστής ως αποθήκιο (Abawi and Grogan 1979). Μεγάλη σημασία στον σχηματισμό των αποθηκίων φαίνεται να έχει η έκθεση τους σε χαμηλές θερμοκρασίες ή σε παγετό σε συνδυασμό με ένα ποσοστό υγρασίας μεγαλύτερο του 50% για μια περίοδο δέκα με δεκατεσσάρων ημερών. Κατά την βλάστηση των σκληρωτίων παρατηρούνται δύο τρόποι με τους οποίους αυτή συμβαίνει, με τον πιο συνήθη να είναι η καρπογενετική εκβλάστηση, η οποία προϋποθέτει την παραμονή των σκληρωτίων για δύο εβδομάδες σε υγρό έδαφος (Sharma et al. 2015). Κατά την καρπογενετική εκβλάστηση, πρωτογενή κύτταρα σχηματίζονται στην εντεριώνη ή στο φλοιό που με τον πολλαπλασιασμό τους προκαλούν την ρήξη του περιβλήματος των σκληρωτίων, συνεχίζοντας την ανάπτυξη τους σωληνοειδώς παράγοντας μια μορφή που ομοιάζει ένα κορδόνι μήκους 20-80 mm, τον λεγόμενο στύπο , ο οποίος επεκτείνεται παρουσία

υπεριώδους ακτινοβολίας μέχρι και 1 cm από την επιφάνεια του εδάφους (Kosasih and Willetts 1975; Sharma et al. 2015). Η κορυφή του στύπου διογκώνεται και διαστέλλεται φτιάχνοντας μια δομή που αποτελείται από το υμένιο και το υποθήκιο, που προστατεύονται από ένα μέρος του πρώην στύπου, το *excipulum*, το οποίο προσδίδει ένα ανοιχτό καφέ χρώμα. Το αποθήκιο έχει διάμετρο 2-11 mm, χρώμα κίτρινο ως ανοιχτό καφέ και σχήμα κυπέλλου (Sharma et al. 2015).

Μέσα στο αποθήκιο, στην περιοχή του υμενίου, εντοπίζονται άγονες μυκηλιακές υφές με στηρικτικό ρόλο, γνωστές ως παραφύσεις, και οι ασκοί. Οι ασκοί με την σειρά τους αποτελούν όργανα της εγγενούς αναπαραγωγής στο εσωτερικό των οποίων βρίσκονται τα ασκοσπόρια. Οι ασκοί είναι τοποθετημένοι στην περιφέρεια του αποθηκίου, στενοί, κυλινδρικοί με στρογγυλή κατάληξη στο άκρο τους ενώ περιέχουν οκτώ ασκοσπόρια, το ένα διατεταγμένο πάνω στο άλλο προς το άκρο τους. Στο κάτω μέρος του ασκού υπάρχει ένα κενोटόπιο, επιφορτισμένο με το ρόλο της αύξησης της υδροστατικής πίεσης. Καθώς αυτή αυξάνεται, ο ασκός μεγαλώνει σε μέγεθος προς την κορυφή του, όμως εξαιτίας της ύπαρξης των λοιπών γειτονικών ασκών και των παραφύσεων, η πλευρική του ανάπτυξη περιορίζεται εμφανώς. Τελικά, ο ασκός φτάνει ένα μέγεθος που ξεπερνάει τις παραφύσεις και σκάει, προκαλώντας την απελευθέρωση των ασκοσπορίων. Έχει βρεθεί πως το κάθε αποθήκιο φέρει την ικανότητα να παράγει από δύο ως και τριάντα εκατομμύρια ασκοσπόρια μέσα σε ένα διάστημα μερικών μονάχα ημερών (Sharma et al. 2015).

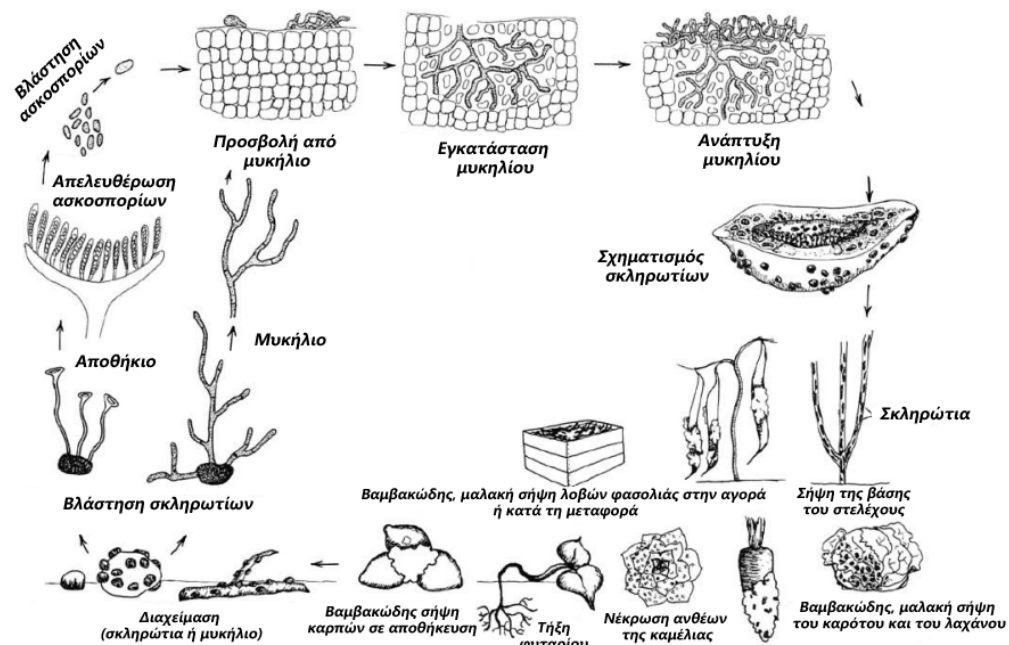
Τα ασκοσπόρια αποτελούν υαλώδη, μονοκύτταρα, ελλειψοειδή ή ωοειδή σπόρια, με λεία τοιχώματα, διαστάσεων 10,2-14 x 6,4-7,7 μm , με οκτώ χρωμοσώματα (Sharma et al. 2015; Παναγόπουλος 2000). Τα σπόρια αυτά αποτελούν καίριο κομμάτι τόσο του βιολογικού κύκλου του παθογόνου όσο και της ανάπτυξης της ασθένειας, μιας και προκαλούν τις νέες μολύνσεις. Καλυμμένα με ένα γλοιώδες στρώμα, τα ασκοσπόρια μεταφέρονται από τον άνεμο και προσγειώνονται στις φυτικές επιφάνειές, όπου και συγκρατούνται χάρη στην κολλώδη αυτή στρώση. Η προαναφερθείσα στρώση αποτελείται είτε από συστατικά του κυτταρικού τοιχώματος του μύκητα, ή από τα υγρά υπολείμματα των ασκών, εξαιτίας της οποίας τα σπόρια απαρτίζουν μάζες. Η απελευθέρωση των ασκοσπορίων αποτελεί ένα ιδιαίτερα εντυπωσιακό φαινόμενο που είναι ορατό με γυμνό οφθαλμό, καθώς ομοιάζει ένα πυκνό σύννεφο σκόνης. Αυτό το στάδιο του βιολογικού κύκλου του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* σε συνθήκες αγρού λαμβάνει χώρα από το μεσημέρι, διαρκεί μερικές ώρες ενώ προκαλείται από

απότομες και ξαφνικές μεταβολές στην πίεση ή στην υγρασία (Sharma et al. 2015). Όσο αναφορά την ικανότητα επιβίωσης τους δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα, όμως έχει παρατηρηθεί πως πιθανώς να εντοπίζεται μια αρνητική συσχέτιση ανάμεσα σε αυτή την υψηλή θερμοκρασία και την υγρασία (Caesar and Pearson 1983).

1.1.3.4. Βιολογικός κύκλος

Η διαχείμαση του μύκητα γίνεται κυρίως με τα σκληρώτια του στο έδαφος αλλά έχει παρατηρηθεί πως μπορεί να επιβιώσει και σε νεκρά υπολείμματα ή και σε προσβεβλημένα φυτά με τη μορφή μυκηλίου (Παναγόπουλος 2000). Τα σκληρώτια είναι ικανά να διατηρήσουν την μολυσματικότητα τους ως και επτά χρόνια στον αγρό εφόσον αυτός καλλιεργείται (Williams and Stelfox 1980). Βέβαια όπως είναι φυσικό το μέγεθος τους διαδραματίζει καίριο ρόλο στην επιβίωση τους, καθώς τα μεγαλύτερα έχουν περισσότερα αποθέματα τροφής και απαιτούν περισσότερο χρόνο για την αποικοδόμηση τους από τους μικροοργανισμούς του εδάφους (Sharma et al. 2015). Με τις διάφορες καλλιεργητικές εργασίες, όπως το όργωμα, τα σκληρώτια διανέμονται σε όλα τα επίπεδα του εδάφους, όπου και βλαστάνουν μόλις επικρατήσουν οι ιδανικές συνθήκες. Η βλάστηση αυτή μπορεί να είναι καρπογενετική, όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ή μπορεί να δώσει μυκήλιο (Sharma et al. 2015; Παναγόπουλος 2000). Η τελευταία περίπτωση κρίνεται περισσότερο ασυνήθης στον αγρό την στιγμή που προϋποθέτει την ύπαρξη ευπαθούς ξενιστή για την επιβίωση του παθογόνου, καθώς πρόκειται για έναν νεκροτροφικό οργανισμό. Κατά την καρπογενετική εκβλάστηση παράγονται τα αποθήκια, δομές πάνω στις οποίες σχηματίζονται οι ασκοί που περιέχουν τα σπόρια της εγγενούς αναπαραγωγής (Sharma et al. 2015). Μόλις αυτά απελευθερωθούν, μεταφέρονται με την βοήθεια του ανέμου, όντας ξηροσπόρια, σε ευπαθή φυτά, βλαστάνουν και σχηματίζουν απρεσσόρια (Sharma et al. 2015; Παναγόπουλος 2000). Πέρα όμως από τη συνεισφορά των ασκοσπορίων, ο μύκητας διασπείρεται και με υπολείμματα προσβεβλημένων φυτών, με μολυσμένο έδαφος και νερό ποτίσματος, με καλλιεργητικά εργαλεία και ζώα (Παναγόπουλος 2000). Η είσοδος του παθογόνου πραγματοποιείται είτε μέσω φυσικών ανοιγμάτων όπως τα στόματα και τα φακίδια, μέσω πληγών ή με απευθείας διάτρηση της επιδερμίδας. Στη συνέχεια, το παθογόνο νεκρώνει το φυτό ώστε να τραφεί, σχηματίζοντας τα σκληρώτια

του τόσο μέσα αλλά και έξω από τους ιστούς. Τα σκληρώτια αυτά με τη σειρά τους βλαστάνουν εκ νέου ξεκινώντας έναν νέο κύκλο μολύνσεων (Sharma et al. 2015).



Εικόνα 1.1 : Βιολογικός κύκλος *Sclerotinia sclerotiorum* (Προσαρμογή από Agrios, Φυτοπαθολογία, 2018)

1.1.4. Μόλυνση και παράγοντες παθογένειας

Ο μύκητας *Sclerotinia sclerotiorum* αποτελεί έναν οργανισμό που ανήκει στην κατηγορία των νεκροτροφικών μυκήτων, γεγονός που προϋποθέτει την νέκρωση των φυτικών ιστών πριν την εξάπλωση του για την εξασφάλιση τροφής (Sharma et al. 2015). Η καταστροφή των φυτικών κυττάρων επιτυγχάνεται μέσω διαφόρων παραγόντων παθογένειας, ο κυριότερος από τους οποίους είναι το οξαλικό οξύ (Cessna et al. 2000). Το οξαλικό οξύ σχηματίζει σύμπλοκα με το ασβέστιο των κυτταρικών μεμβρανών οδηγώντας στην απώλεια της ακεραιότητάς τους (Godoy et al. 1990), ενώ συγχρόνως εμποδίζει την άμυνα του φυτού καταπιέζοντας την οξειδωτική έκκριση (Sharma et al. 2015) και μειώνει το pH του περιβάλλοντος ενεργοποιώντας τα λυτικά ένζυμα (Marciano et al. 1983). Τα εξωκυτταρικά αυτά ένζυμα εμφανίζουν μια μεγάλη ποικιλία, περιλαμβάνοντας μεταξύ άλλων κυτταρινάσες, ημικυτταρινάσες, πηκτινάσες (Riou et al. 1991), την πρωτεΐνάση της ασπαρτάμης (Poussereau et al.

2001), ενδοπολυγαλακτουρονάσες (Cotton et al. 2002) και την οξική πρωτεάση (Girard et al. 2004).

Εκτός από την μόλυνση από ασκοσπόρια έχει βρεθεί πως είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθεί το εκβλασάνον μυκήλιο των σκληρωτίων ως πηγή πρωτογενούς μολύσματος, κάτι που αποτελεί αρκετά σπάνια περίπτωση εξαιτίας της χαμηλής ανταγωνιστικής του ικανότητας σε σύγκριση με τα λοιπά σαπρόφυτα (Newton and Sequeira 1972, όπως αναφέρεται από τους Sharma et al. 2015). Πριν την εισχώρηση, την επέκταση και την εγκατάσταση των υφών στο εσωτερικό του φυτικού σώματος, το παθογόνο εκκρίνει τα ένζυμα που αναφέρθηκαν παραπάνω ώστε να καταστρέψει τα κυτταρικά τοιχώματα και να διευκολύνει την εγκαθίδρυση του (Sharma et al. 2015).

1.1.5. Επιδημιολογία

Τα αποθήκια για τον σχηματισμό τους απαιτούν ένα συγκεκριμένο ποσό υγρασίας και τιμές θερμοκρασίας που να ευνοούν την ανάπτυξη τους. Όσο αναφορά την υγρασία, μέσα από πειράματα έχει βρεθεί πως απαραίτητη είναι η συνεχής παρουσία της στο κατάλληλο επίπεδο για ένα διάστημα δέκα ημερών (Sharma et al. 2015). Στην Ελλάδα αυτές οι κατάλληλες συνθήκες επικρατούν κυρίως το χρονικό διάστημα από τον Οκτώβριο ως και τον μήνα Απρίλιο. Για την επιτυχή μόλυνση των φυτών από τα ασκοσπόρια, ο μύκητας απαιτεί θερμοκρασίες μεταξύ 0-25 °C, με την άριστη τιμή να κυμαίνεται στους 15-20 °C, σε συνδυασμό με αρκετά υψηλή εδαφική υγρασία και την διαβροχή των φύλλων για ένα διάστημα 48-72 ωρών (Sharma et al. 2015; Παναγόπουλος 2000).

1.1.6. Αντιμετώπιση της ασθένειας

Η αντιμετώπιση της ασθένειας που προκαλεί το συγκεκριμένο παθογόνο αποτελεί ένα πολύπλοκο έργο που επιφορτίζει τόσο τους επιστήμονες, οι οποίοι μελετούν την ασθένεια όσο και τους παραγωγούς. Το πρόβλημα έγκειται στο γεγονός ότι ο μύκητας αυτός παρουσιάζει ένα εντυπωσιακό εύρος ξενιστών αλλά και στο ότι κατασκευάζει δομές (σκληρώτια) που εμφανίζουν αυξημένη ανθεκτικότητα στους περιβαλλοντικούς

παράγοντες και στα χημικά. Γίνεται έτσι αντιληπτό πως η αντιμετώπιση της ασθένειας που προκαλεί ο μύκητας *Sclerotinia sclerotiorum* είναι μια πολυεπίπεδη διαδικασία που απαιτεί τον ευφυή συνδυασμό των ήδη υπαρχόντων μέσων.

Σε πρώτο στάδιο, εξαιρετικής σημασίας κρίνεται η γνώση του ποσοστού σκληρωτίων του αγρού για αξιολόγηση της προσβολής και περεταίρω λήψη αποφάσεων σχετικά με τις στρατηγικές διαχείρισης. Η καλλιεργητική τεχνική της αμειψισποράς μπορεί να προσφέρει θετικά αποτελέσματα όμως προϋποθέτει την καλλιέργεια φυτών μη ξενιστών για ένα διάστημα τουλάχιστον πέντε ετών (Gulya et al. 1997). Η αποφυγή της άροσης του αγρού έχει δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα μειώνοντας των αριθμών των σκληρωτίων που αποτελούν το μόλυσμα και κατά επέκταση την εμφάνιση της ασθένειας (Duncan 2003). Επιπρόσθετα μέτρα που μπορούν να συμβάλουν στον περιορισμό του παθογόνου είναι η αραιή σπορά, η ισορροπημένη λίπανση, η επιλογή κατάλληλου είδους εδάφους, ο τρόπος και το είδος άρδευσης (Sharma et al. 2015). Η ηλιοαπολύμανση με διαφανή φύλλα πολυαιθυλενίου πάχους 0,1 mm για χρονική περίοδο δύο μηνών ήταν αρκετά αποτελεσματική στην καλλιέργεια του μαρουλιού, μειώνοντας σε σημαντικό βαθμό τον πληθυσμό του παθογόνου (Gepp et al. 2001, όπως αναφέρεται από τους Sharma et al. 2015). Επίσης, εμπλουτισμός του εδάφους τόσο με ανόργανα όσο και με οργανικά βελτιωτικά, προωθεί την μικροβιακή δραστηριότητα των οργανισμών που κατοικούν σε αυτό, οργανισμοί που αποσυνθέτουν τις διαχειμάζουσες μορφές του παθογόνου.

Τέλος μπορεί να γίνει η χρήση μιας σειράς βιολογικών παραγόντων διαχείρισης τόσο από το βασίλειο των μυκήτων (*Coniothyrium minitans*, *Trichoderma* spp.) όσο και από αυτό των βακτηρίων (*Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp., *Agrobacterium* spp.) (Sharma et al. 2015). Όσο αφορά τα χημικά μέσα, τη στιγμή συγγραφής της παρούσας εργασίας, υπάρχει μια σειρά από εγκεκριμένα σκεύασμα από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων για το συγκεκριμένο παθογόνο (δραστικές ουσίες: boscalid, difenoconazole, fluxapyroxad, pyraclostrobin, cyprodinil, fludioxonil) για την ευρεία γκάμα των καλλιεργειών που πλήττονται από την σκληρωτινίαση.

1.2. Αιθέρια έλαια

1.2.1. Ορισμός

Τα αιθέρια έλαια (ΑΕ) αποτελούν φυσικά παραγόμενες πτητικές ουσίες από διάφορα φυτικά είδη, που φέρουν χαρακτηριστική έντονη μυρωδιά (Bakkali et al. 2008, Burt 2004). Ο αγγλικός όρος για την περιγραφή τους (essential oils) προήλθε από την λατινική φράση *quinta essentia*, η οποία χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά κατά τον Μεσαίωνα από τον Θεόφραστο Παράκελσο, Ελβετό αλχημιστή, αστρολόγο και αποκρυφιστή (Edris 2007, Lee et al. 2004, Burt 2004). Από τα γνωστά ως σήμερα ΑΕ, τα οποία αγγίζουν τις 3000, περίπου τα 300 έχουν εμπορική σημασία και χρησιμοποιούνται ευρέως (Bakkali et al. 2008).

Τα ΑΕ είναι ουσίες αδιάλυτες στο νερό, όμως εμφανίζουν αυξημένη διαλυτότητα σε λιπίδια, αλκοόλες, οργανικούς διαλύτες και λοιπές υδρόφοβες ενώσεις, ενώ έχουν υγρή μορφή σε θερμοκρασία δωματίου και αποτελούν λιγότερο από το 1% του υγρού περιεχομένου του φυτού (Hammer and Carson 2010b). Εντοπίζονται σε ειδικά κύτταρα στο φυτικό σώμα όπως τα ελαιώδη κύτταρα και οι ελαιώδεις αγωγοί, οι ρητινοφόροι αγωγοί και σε ειδικούς αδένες ή αδενώδεις τρίχες (Başer and Demirci 2007). Τα κύτταρα αυτά βρίσκονται σε φύλλα, άνθη, βλαστούς, καρπούς και ρίζες, μέρη από τα οποία είναι δυνατή η εκχύλιση τους (Bakkali et al. 2008). Η παραλαβή τους μπορεί να πραγματοποιηθεί με μια σειρά μεθόδων ανάμεσα στις οποίες συγκαταλέγονται η εκχύλιση υπερκείμενου υγρού υπό πίεση, η αλκοολική ζύμωση ή απορρόφηση, η χρήση ατμού χαμηλής ή υψηλής πίεσης και η υδροαπόσταξη, με τις τελευταίες δύο να βρίσκουν εφαρμογή κυρίως σε εμπορική κλίμακα (Bakkali et al. 2008).

Τα ΑΕ είναι δευτερογενείς μεταβολίτες των φυτών, κάτι που συνεπάγεται ότι δεν διαδραματίζουν κάποιο ζωτικό ρόλο για την ανάπτυξη και την επιβίωση του. Για πολλά χρόνια η χρησιμότητα τους δεν ήταν εμφανής και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι δεν φαίνεται να παράγονται από όλα τα φυτικά είδη, υπήρχε η αντίληψη πως έφεραν μικρή σημασία (Croteau 2000, όπως αναφέρεται από τους Hammer and Carson 2010b). Βέβαια έπειτα από μελέτες είναι πλέον κατανοητό πως κατέχουν σημαντικό ρόλο στην άμυνα του φυτού, δρουν ως σήμα στο φυτικό σώμα, συμμετέχουν ως ενδιάμεσες ενώσεις στον δευτερογενή μεταβολισμό και προστατεύουν από αβιοτικές

καταπονήσεις (Bassolé and Juliani 2012, Lang and Buchbauer 2011, Gershenzon and Dudareva 2007, Gang et al. 2002).

Αν και τα ΑΕ παράγονται φυσικά από μία πλειάδα φυτικών ειδών, υπάρχουν κάποιες κύριες οικογένειες εκπρόσωποι, όπως αυτές φαίνονται στον πίνακα 1.2 (Figueiredo et al. 2008, Başer and Demirci 2007).

Πίνακας 1.2: Κύριες οικογένειες που παράγουν ΑΕ

Apiaceae	Myrtaceae
Asteraceae	Pinaceae
Cupressaceae	Piperaceae
Hypericaceae	Rosaceae
Lamiaceae	Rutaceae
Lauraceae	Santalaceae
Fabaceae	Zingiberaceae
Liliaceae	Zygophyllaceae

1.2.2. Χημικό προφίλ

Τα ΑΕ μπορούν να περιέχουν ως και 100 συστατικά, όμως τυπικά ο αριθμός αυτός κυμαίνεται ανάμεσα στα 20 και 60 (Dung et al. 2008, Iscan et al. 2005). Πρόκειται για υδρογονάνθρακες, οξυγονωμένα παράγωγα τους και ενώσεις του θείου και του αζώτου με μικρό μοριακό βάρος που είναι αδιάλυτες στο νερό (Carson and Hammer 2010). Οι κυριότερες χημικές κατηγορίες αλλά και κάποιες ενδεικτικές ενώσεις παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Hammer and Carson 2010b, de Morais et al. 2007, Gog, et al. 2005, Clifford 2000, Siani et al. 1999, Martins et al. 1998).

Πίνακας 1.3: Κυριότερες χημικές ομάδες ΑΕ

Τερπένια	Λιμονένιο, α-τερπινένιο, β-τερπινένιο, γ-τερπινένιο, θυμόλη, καρβακρόλη, φαρνεζόλη, φυτόλη, καμφορένιο
Φαινυλοπροπανοειδή	Υδροξυκινναμωμικά οξέα, ανηθόλη, χαβικόλη, ευγενόλη, εστραγόλη, μεθυλευγενόλη, κινναμαλδεΰδη, μυριστικήνη, διλαπιόλιο

Ενώσεις N ή S	Αγλυκόνες, γλυκοζινολικές ενώσεις, ισοθειοκυανικές ενώσεις
----------------------	---

Στον πίνακα 1.4 παρουσιάζονται τα κυριότερα συστατικά των ΑΕ που έχουν αντιμικροβιακή δράση (Hammer and Carson 2010b).

Πίνακας 1.4: Κυριότερα αντιμικροβιακά συστατικά

Αλδεΐδες	Κινναμαλδεΐδη, βενζαλδεΐδη, κιννάρη
Αλκοόλες	Λιναλοόλη, γερανιομεθόλη, τερπινεν-4-όλη, α-τερπινόλη, νεροδιόλη, βισαβολόλη
Φαινόλες	Θυμόλη, καρβακρόλη, ευγενόλη
Κετόνες	Μενθόνη, καρβόνη, πουλεγόννη, πιπεριτόνη, κομπορά, φενχόνη, θουγιόνη, βερβενόνη
Εστέρες	Οξικό γερανύλιο, οξικός λιναλεστέρας, οξικό νερίλιο, σαλικυλικό μεθόλιο, οξικός βενζιλεστέρας
Οξείδια & Εποξείδια	1,8-κινεόλη, οξείδια της λιναλοόλης, οξείδια του λιμονενίου, οξείδια του καρυοφυλλενίου
Μεθυλαιθέρες	Μεθυλική χαβικόλη, σαφρόλη, ανηθόλη, ασαρόνη
Τερπενικοί υδρογονάνθρακες	Λιμονένιο, α-τερπινένιο, γ-τερπινένιο, φελλανδρένιο, τερπινολένιο, θουγένιο, ρ-κυμόλιο, καδινένιο, σαβινένιο

Τα κυριότερα συστατικά του αιθέριου ελαίου της ρίγανης είναι η καρβακρόλη σε ποσοστό 63,76 % (Parikh et al. 2021, Pozzatti et al. 2008, Gutierrez et al. 2008), της δάφνης η 1,8-κινεόλη, το σαβινένιο και το α-τερπινένιο (Dadalioğlu and Evrendilek 2004, Simic et al. 2004, Chang et al. 2001) , του ευκαλύπτου η 1,8-κινεόλη και του γαρυφάλλου η ευγενόλη (Mayaud et al. 2008).

1.2.3. Μηχανισμός δράσης

Σε γενικές γραμμές τα ΑΕ δρουν παρεμποδίζοντας τη λειτουργία και την ακεραιότητα των μεμβρανών του παθογόνου, κάτι που έχει ως συνέπεια την απώλεια της ομοιόστασης, τη διαρροή των ενδοκυτταρικών συστατικών και τέλος το θάνατο του κυττάρου (Trombetta et al. 2005, Fitzgerald et al. 2004, Carson et al. 2002, Lambert et al. 2001, Ultee et al. 1999). Το αποτέλεσμα της δράσης των ΑΕ είναι εμφανώς εξαρτώμενο από τη δόση και το χρονικό διάστημα εφαρμογής της (Hammer and Carson 2010b). Μικρότερη δόση οδηγεί σε παρεμπόδιση λειτουργιών και σε θανάτωση των κυττάρων με βραδύτερο ρυθμό, συγκριτικά με τις μεγαλύτερες δόσεις που προκαλούν την άμεση θανάτωση τους (Hammer and Carson 2010b). Μόλις τα ΑΕ έρθουν σε επαφή με τις μεμβράνες ξεκινάει μια διαδικασία παθητικής διάχυσης, όπου η λιπόφιλη ή υδρόφοβη φύση των συστατικών του προκαλεί τον διαχωρισμό των δομικών λίθων των μεμβρανών, τροποποιώντας έτσι δραστικά τις ιδιότητες τους (Hammer and Carson 2010b).

Συγκεκριμένα για τα τερπένια, που είναι η κυριότερη ομάδα συστατικών των ΑΕ, τα μόρια τους εισέρχονται ανάμεσα στις στρώσεις της λιπιδιακής διπλοστιβάδας, διαταράσσοντας τους δεσμούς Van der Waals (Ultee et al. 2000, Sikkema et al.1994). Η αυξημένη συγκέντρωση των τερπενίων οδηγεί σε πολλαπλασιασμό του όγκου της μεμβράνης, η οποία διογκώνεται και αυξάνεται σε πάχος (Sikkema et al. 1994). Οι αλλαγές αυτές στην δομή της μεμβράνης προκαλούν την απώλεια της ακεραιότητας και την αύξηση της ρευστότητας της, με ιόντα υδρογόνου, νατρίου και καλίου να ρέουν προς τον εξωκυτταρικό χώρο, μειώνοντας έτσι το pH του κυττάρου (Hammer and Carson 2010b). Τέλος στις μεγάλες δοσολογίες παρατηρείται τόσο καταστροφή των μεμβρανών αλλά και απώλεια του DNA και των πρωτεϊνών (Hammer and Carson 2010b).

1.2.4. Προσαρμογή και ανθεκτικότητα

Η έκθεση των μικροοργανισμών για παρατεταμένες χρονικές περιόδους στη δράση των ΑΕ έχει ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη αποκρίσεων σε βάθος χρόνου (Hammer and Carson 2010a). Εξαιτίας αυτής της αλληλεπίδρασης, οι μικροοργανισμοί έχουν αναπτύξει προσαρμοστικούς μηχανισμούς που αποσκοπούν στην προστασία τους, όπως ενισχυμένο κυτταρικό τοίχωμα ή ενισχυμένες μεμβράνες και μεγάλος αριθμός αντλιών εκροής που απαιτούν την δαπάνη ενέργειας για την λειτουργία τους (Hammer and Carson 2010a). Επιπρόσθετα, παρατηρείται αλλαγή στη ρευστότητα των μεμβρανών και συγκεκριμένα μείωση αυτής, αλλαγές στη σύνθεση των λιπιδίων- παραγωγή λιπαρών οξέων μικρότερου μεγέθους- και αύξηση των κορεσμένων λιπαρών οξέων που συμμετέχουν στις μεμβράνες (Paranikolaou et al. 2008, Di Pasqua et al. 2007, Ultee, et al.1999).

Όσο αναφορά την εμφάνιση ανθεκτικότητας τα βιβλιογραφικά δεδομένα είναι πενιχρά, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα πως αυτή αποτελεί είτε σπάνιο φαινόμενο ή δεν είναι δυνατό να συμβεί (Hammer and Carson 2010a). Παρόλα αυτά υπάρχει μια σειρά πιθανών μηχανισμών ανάπτυξης ανθεκτικότητας, όπως η αλλαγή του σημείου δράσης των ΑΕ, η απενεργοποίηση του αντιμικροβιακού παράγοντα, η μείωση της διαπερατότητας και της αυξορύθμισης της εκροής των μεμβρανών. Όλα τα παραπάνω αποτελούν αποτελέσματα είτε μεταλλάξεων που υφίσταται το παθογόνο ή της εισόδου εξωγενούς γενετικού υλικού (όπως πλασμίδια) στο σώμα του μικροοργανισμού (Hammer and Carson 2010a). Ουσιαστικά όμως, αυτές οι αλλαγές επηρεάζουν αρνητικά τόσο την προσαρμοστικότητα όσο και την ανάπτυξη του παθογόνου, κάτι που σε συνδυασμό με την ικανότητα ορισμένων συστατικών των ΑΕ να περιορίζουν την εμφάνιση της αυθόρμητης μεταλλαξιγένεσης, καθιστούν την ανάπτυξη ανθεκτικότητας πολύ σπάνιο φαινόμενο (Berić et al. 2008; Stanojevic et al. 2008, Vuković-Gačić et al. 2006).

Υπάρχουν όμως και περιπτώσεις μειωμένης ευπάθειας ή και αντοχής σε μερικά συστατικά των ΑΕ σε διάφορους μικροοργανισμούς, οι οποίοι απαιτούν μια αύξηση στην δόση της δραστικής ουσίας για να εμφανίσουν τα επιθυμητά αποτελέσματα (Hammer and Carson 2010a).

1.2.5. Παράγοντες που επηρεάζουν τη δράση των ΑΕ

Το περιβάλλον στο οποίο δρουν τα ΑΕ φαίνεται να σχετίζεται με την αποτελεσματικότητα της δράσης τους. Τα ΑΕ είναι περισσότερο δραστικά σε χαμηλότερες τιμές pH, καθώς αυξάνεται ο υδρόφοβος χαρακτήρας τους κι έτσι υπάρχει μεγαλύτερη ευκολία εισόδου τους από τις μεμβράνες (Gutierrez et al. 2008). Η αντίθετη συσχέτιση παρουσιάζεται όσο αναφορά τη θερμοκρασία, η μείωση της οποίας προκαλεί την μειωμένη αποδοτικότητα τους, εξαιτίας της χαμηλότερης διαλυτότητας τους ή λόγω των αλλαγών που υφίστανται τα λιπίδια των μεμβρανών ως απόκριση στην θερμοκρασιακή αυτή μεταβολή (Ultee et al. 1998).

Επιπρόσθετα, οι πρωτεΐνες και οι διάφορες οργανικές ενώσεις έχουν αρνητική επίδραση στον αντιμικροβιακό χαρακτήρα των ΑΕ, καθώς εμποδίζουν την αλληλεπίδραση τους με τις κυτταρικές επιφάνειες του παθογόνου, με την ίδια συμπεριφορά να παρατηρείται στα λοιπά έλαια αλλά και στα λιπίδια (Hammer and Carson 2010a, Gutierrez et al. 2008, Canillac and Mourey 2004, Smith-Palmer et al. 2001). Ειδικότερα τα λιπίδια δημιουργούν ένα προστατευτικό εξωτερικό στρώμα που καλύπτει το σώμα του παθογόνου ή σχηματίζουν σύμπλοκα με τα ΑΕ, μειώνοντας έτσι τη συγκέντρωσή τους στο διάλυμα (Gutierrez et al. 2008).

Διαλυτικά μέσα, όπως οι επιφανειοδραστικές ουσίες, δείχνουν να εμποδίζουν την αποτελεσματικότητα των ΑΕ. Σε *in vitro* πειράματα αυτές οι ουσίες έχουν την ικανότητα να εγκλωβίζουν τα ΑΕ μέσα σε δομές γνωστές ως μικκύλια (Hammer and Carson 2010a). Πιο συγκεκριμένα έχει βρεθεί πως το Tween-80 σε συγκέντρωση 0,05 % v/v μειώνει τα αποτελέσματα της δράσης του θυμελαίου, ενώ την ίδια επίδραση εμφανίζει και το Tween-20 σε συγκέντρωση 5 % v/v σε έλαιο τειόδεντρου (Hammer et al. 1999, Juven et al. 1994).

Σε αέρια φάση, τα συστατικά των ΑΕ καρβακρόλη, ευγενόλη και μεθανόλη διατηρούν τη δραστηριότητά τους, κάτι που ανοίγει τον δρόμο για τη χρήση τους ως καπνογόνα φυτοπροστατευτικά μέσα (Ben Arfa et al. 2006). Ακόμη, τα ΑΕ της κανέλας, του θυμαριού, της λεβάντας, του τειόδεντρου και του λεμονόχορτου παρουσιάζουν αυξημένη δραστηριότητα σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις σε σχέση με τα ίδια έλαια σε υγρή μορφή (Inouye et al. 2001).

Όσο αναφορά την ταυτόχρονη δράση τους με άλλες ουσίες, αυτή κυμαίνεται από συνεργιστική ως ανταγωνιστική. Οι παράγοντες που διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο και που διαμορφώνουν το τελικό αποτέλεσμα είναι: α) ο μηχανισμός δράσης του κάθε παράγοντα έναντι του οργανισμού στόχου, β) τα χαρακτηριστικά του μικροοργανισμού, γ) οι χημικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παραγόντων και δ) η αναλογία ανάμεσα στα ΑΕ και στην άλλη δραστική ουσία (Hammer and Carson 2010a).

Τέλος η δράση των ΑΕ επηρεάζεται σε μικρότερο βαθμό από παράγοντες παθογένειας, τοξίνες, ένζυμα, την τροποποιημένη ατμόσφαιρα, τις αναερόβιες συνθήκες και τα επιπρόσθετα κατιόντα (Hammer and Carson 2010a; Hammer et al. 1999; Juven et al. 1994).

1.2.6. Εφαρμογές

Τα ΑΕ χαρακτηρίζονται από αντιφλεγμονώδη, σπασμολυτική, αναλγητική, ανοσοτροποποιητική, ψυχοτρόπο, αντικαρκινογόνο, αποχρεμπτική, αντιοξειδωτική, ακαρεοκτόνο, εντομοκτόνο, αντιική, αντιβακτηριακή και αντιμυκητιακή δράση (Böhme et al. 2014). Τόσο η αντιοξειδωτική όσο και η αντιμικροβιακή τους δράση εμφανίζουν εξάρτηση από μια σειρά παραγόντων όπως ο αριθμός δειγμάτων, η μέθοδος εκχύλισης, το φυτικό είδος, η τεχνική αξιολόγησης της, οι γεωκλιματικές συνθήκες, το φυτικό μέρος από το οποίο παραλαμβάνεται το ΑΕ, η γενετική βάση και η εποχή συγκομιδής του φυτού που παράγει τα ΑΕ (Parikh et al. 2021, Radaelli et al. 2014).

Τα ΑΕ δρουν εναντίων των μυκήτων καταστρέφοντας το ήδη υπάρχον μυκήλιο, παρεμποδίζοντας την παραγωγή νέου αλλά και τον σχηματισμό σπορίων (Böhme et al. 2014). Όμως δεν υπάρχει κάποιο μεμονωμένο συστατικό τους που να είναι υπεύθυνο για αυτό το αποτέλεσμα. Αντιθέτως, υπάρχει μια σειρά ουσιών που φαίνεται να είναι πιο δραστικές όπως η κινναμαλδεΐδη, η ευγενόλη, η γερανιόλη, το λιμονένιο, και η κιτράλη (Regnier et al. 2014). Επίσης, τα ΑΕ εμφανίζουν υψηλή εκλεκτικότητα, κάτι που σημαίνει πως δεν επηρεάζουν τους οργανισμούς μη στόχους, καθιστώντας τα μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο διαχείρισης πολυάριθμων παθογόνων (Arshad et al. 2014).

Πιο συγκεκριμένα, τα ΑΕ χρησιμοποιούνται για μολύνσεις του δέρματος, των νυχιών και του τριχωτού της κεφαλής του ανθρώπου (Böhme et al. 2014). Κρίνονται αποτελεσματικά έναντι μιας ποικιλίας παθογόνων μικροοργανισμών τόσο του ανθρώπου όσο και των ζώων, τα πιο σημαντικά από τα οποία είναι: *Candida* spp., *Epidermophyton* spp., *Microsporum* spp. και *Trichophyton* spp. (Böhme et al. 2014). Η χρήση τους είναι ευρεία στον τομέα της φαρμακοβιομηχανίας καθώς αποτελούν συστατικά διαφόρων φαρμάκων που χορηγούνται δίχως ιατρική συνταγή για την μείωση των πιο ήπιων συμπτωμάτων (Hammer and Carson 2010a).

Στην βιομηχανία των τροφίμων, ΑΕ από τα φυτά της οικογένειας Lamiaceae φαίνονται να είναι τα πιο δραστικά έναντι φυτοπαθογόνων μυκήτων, με το έλαιο θυμαριού (*Thymus vulgaris*) και της βερβένας (*Verbena* sp.) να εμφανίζουν τα καλύτερα αποτελέσματα, ενώ τα πιο αποτελεσματικά συστατικά φαίνεται να είναι η καρβακρόλη, το α-πινένιο και το p-κυμόλιο (Böhme et al. 2014; Pellecuer et al. 1980). Μεγάλη εφαρμογή έχει η χρήση τους έναντι των μυκήτων *Aspergillus* spp., *Microsporum* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Eurotium* spp., *Debaryomyces* spp., *Pichia* spp., *Candida* spp. και *Zygosaccharomyces* spp. (Hammer and Carson 2010a). Αξίζει να σημειωθεί όμως, πως η εφαρμογή τους στα τρόφιμα προκαλεί την αλλαγή των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών τους (γεύση, οσμή, υφή, άρωμα και χρώμα), καθώς απαιτούνται υψηλές συγκεντρώσεις για την αποτελεσματική δράση τους (Gutierrez et al. 2009a; Gutierrez et al. 2009b, Solomakos et al. 2008, Holley and Patel 2005). Μια λύση που προτείνεται στο πρόβλημα αυτό είναι ο συνδυασμός των ΑΕ με άλλες στρατηγικές διαχείρισης με σκοπό την αύξηση της δράσης τους χωρίς αρνητικές επιδράσεις (Goñi et al. 2009, Gutierrez et al. 2008, Burt et al. 2005).

Επίσης πέρα από την αντιμικροβιακή τους δράση, τα ΑΕ εφαρμόζονται σαν αρωματικοί παράγοντες με στόχο την βελτίωση της γεύσης ορισμένων τροφίμων (Taylor 2016). Οι πιο δημοφιλείς επιλογές για τη χρήση αυτή είναι τα ΑΕ εσπεριδοειδών- πορτοκάλι, μανταρίνι, λεμόνι και γκρέιπφρουτ- ενώ ακολουθούν αυτά του δυόσμου, του ευκαλύπτου, της σιτρονέλας και της μέντας (Schwab et al. 2008, Serra et al. 2005).

1.3. Σκοπός της εργασίας

Σκοπός της παρούσας εργασίας είναι η αξιολόγηση της δράσης των αιθέριων ελαίων της ρίγανης, της δάφνης, του ευκαλύπτου και του γαρυφάλλου σε διάφορες συγκεντρώσεις σε απομονώσεις του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. Απομονώσεις του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*

Για την παρούσα εργασία συνολικά χρησιμοποιήθηκαν δέκα απομονώσεις του μύκητα που προήλθαν από τη συλλογή του Εργαστηρίου Φυτοπαθολογίας (Πίνακας 2.1). Από τις απομονώσεις Λ1, Λ2, Η1, Η5, Α2, Α8, Α16 χρησιμοποιήθηκαν σκληρώτια που είχαν διατηρηθεί στους 4°C. Αντίθετα τα σκληρώτια των απομονώσεων Κ1 και Κ6 ξηράθηκαν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Πίνακας 2.1: Απομονώσεις *Sclerotinia sclerotiorum*

Κωδικός Απομόνωσης	Περιοχή Συλλογής	Έτος απομόνωσης	Ξενιστής
A2	Αϊδίνι	2018	Κολοκυνθοειδή
A8	Αϊδίνι	2018	Κολοκυνθοειδή
A16	Αϊδίνι	2018	Κολοκυνθοειδή
MS1	Πυργετός	2018	Κολοκυνθοειδή
H1	Ημαθεία	2018	Λάχανο
H5	Ημαθεία	2018	Λάχανο
Λ1	Δομοκός	2020	Λάχανο
Λ2	Δομοκός	2020	Λάχανο
K1	Αλμυρός	2021	Μαρούλι
K6	Αλμυρός	2021	Μαρούλι

2.2. Παρασκευή θρεπτικού υλικού (PDA)

Πραγματοποιήθηκε παρασκευή του θρεπτικού υλικού Potato Dextrose Agar (PDA) σύμφωνα με τα συστατικά που φαίνονται στον πίνακα 2.2. Οι κωνικές φιάλες που χρησιμοποιήθηκαν, τοποθετήθηκαν σε αυτόκαυστο σε πίεση 1,1 atm και θερμοκρασία 121°C με σκοπό την αποστείρωση τους. Εν συνεχεία το υλικό μοιράστηκε σε αποστειρωμένα τρυβλία Petri που περιείχαν περίπου 15 mL το καθένα. Στην περίπτωση χρήσης σωλήνων για διατήρηση του μύκητα, το υλικό τοποθετήθηκε σε πλυμένους σωλήνες, οι οποίοι αποστειρώθηκαν μαζί με αυτό κάτω από τις συνθήκες που περιεγράφηκαν παραπάνω.

Πίνακας 2.2: Συστατικά θρεπτικού υλικού (PDA)

PDA (1L)
200 g πατάτα
15 g άγαρ
16,5 g D(+)-Glucose monohydrate
1 L αποστειρωμένο δις απεσταγμένο νερό

2.3. Απολύμανση σκληρωτίων

Για την απολύμανση των σκληρωτίων χρησιμοποιήθηκαν οι παρακάτω μέθοδοι μέχρι να βρεθεί το πρωτόκολλο με τα καλύτερα αποτελέσματα.

Κατά την πρώτη δοκιμή, στον πάγκο εργασίας κάτω από ασηπτικές συνθήκες με τη χρήση λύχνου Bunsen, τα σκληρώτια τοποθετήθηκαν μέσα σε ποτήρι ζέσεως-ένα σκληρώτιο τη φορά- ώστε να καθαριστούν οι ξένες ύλες (έδαφος, κτλ.) και αναδεύτηκαν καλά με λαβίδα. Στη συνέχεια αφέθηκαν σε ένα φύλλο διηθητικού χαρτί για να στεγνώσουν. Ακολούθησε εμφύσηση του κάθε σκληρωτίου ξεχωριστά σε τρυβλίο με διάλυμα χλωρίνης 3% (που προέκυψε από αραίωση οικιακής χλωρίνης συγκεντρώσεως 4,8%) για 90 δευτερόλεπτα. Με τη βοήθεια λαβίδας τοποθετήθηκαν ένα-ένα σε τρία διαδοχικά ποτήρια ζέσεως που περιείχαν αποστειρωμένο δις απεσταγμένο νερό για να ξεπλυθούν. Στη συνέχεια το κάθε σκληρώτιο μεταφέρθηκε σε ένα τρυβλίο που περιείχε διηθητικό χαρτί για να στεγνώσει με κλειστό καπάκι. Μόλις εξατμίζονταν η περισσότερη ποσότητα του νερού, τα σκληρώτια τοποθετήθηκαν στον κέντρο από αποστειρωμένα τρυβλία που περιείχαν θρεπτικό υλικό (PDA) πάχους περίπου 5 mm. Τα τρυβλία τοποθετήθηκαν στον επωαστικό θάλαμο τους 25 °C για τέσσερις ως πέντε ημέρες.

Κατά τη δεύτερη δοκιμή ακολουθήθηκε σχεδόν η ίδια διαδικασία με μικρές τροποποιήσεις στον τρόπο πλύσης αλλά και στον χρόνο παραμονής των σκληρωτίων στο διάλυμα χλωρίνης. Η μοναδική πλύση σε ποτήρι ζέσεως αντικαταστάθηκε από δύο πλύσεις σε φιαλίδια τύπου universal που περιείχαν περίπου 10 mL αποστειρωμένο και δις απεσταγμένο νερό. Κάθε σκληρώτιο τοποθετήθηκε μόνο του στο φιαλίδιο, το οποίο κλείστηκε με καπάκι και ακολούθησε καλή ανακίνηση. Στη συνέχεια το σκληρώτιο τοποθετήθηκε σε ένα φύλλο διηθητικού χαρτιού, όπου τρίφτηκε

με μια οδοντόβουρτσα για την απομάκρυνση επιφανειακών ξένων υλών. Έπειτα πραγματοποιήθηκε ακόμα μια πλύση όπως περιεγράφηκε προηγουμένως, στο τέλος της οποίας το κάθε σκληρώτιο αφήνονταν να στεγνώσει στο διηθητικό χαρτί και έπειτα τοποθετούνταν στο διάλυμα χλωρίνης. Τα σκληρώτια είχαν χωριστεί σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τον χρόνο παραμονής τους στη χλωρίνη και έτσι εφαρμόστηκαν οι παρακάτω μεταχειρίσεις: 90 δευτερόλεπτα σε διάλυμα χλωρίνης 3%, 3 λεπτά σε διάλυμα χλωρίνης 3% και 5 λεπτά σε διάλυμα χλωρίνης 3%. Στη συνέχεια εφαρμόστηκε το πρωτόκολλο όπως περιεγράφηκε αρχικά.

Στην τρίτη δοκιμή που επιτεύχθηκε, έγιναν μονάχα μερικές τροποποιήσεις στην αρχική πλύση όπου χρησιμοποιήθηκαν τρία φιαλίδια τύπου universal με περίπου 10 mL αποστειρωμένου δις απεσταγμένου νερού αντί για ένα, ενώ μετά από κάθε πλύση ακολούθησε εκ νέου τρίψιμο με την οδοντόβουρτσα.

2.4. Παρασκευή τοξικού μέσου

Τα σκευάσματα ΑΕ που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία ήταν : αιθέριο έλαιο ευκαλύπτου (APIVITA). αιθέριο έλαιο γαρυφάλλου (Gaia Products), αιθέριο έλαιο ρίγανης (ευγενική προσφορά του κυρίου Σφουγγάρη, διευθυντή του εργαστηρίου Διαχείρισης Οικοσυστημάτων και Βιοποικιλότητας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας) και αιθέριο έλαιο δάφνης (Gaia Products). Στις δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο που περιγράφεται από τους Palfi et al. (2019) με τροποποιήσεις.

Η κατάλληλη ποσότητα ΑΕ αναμίχθηκε με συγκεκριμένη ποσότητα θρεπτικού υλικού PDA (Πίνακας 2.2) αμέσως μετά την αποστείρωση του και αφού η θερμοκρασία του μειώθηκε στους 50 °C περίπου. Στη συνέχεια μοιράστηκε σε τρυβλία ώστε το πάχος του υλικού να ήταν κατά προσέγγιση 15 mL και τα τρυβλία αφέθηκαν να στεγνώσουν με κλειστό καπάκι για αποφυγή εξάτμισης του ΑΕ.

Οι τελικές συγκεντρώσεις των ΑΕ στο θρεπτικό υλικό ήταν 2.500 ppm, 1000 ppm, 100 ppm, 10 ppm και 0 ppm, όπου η τελευταία συγκέντρωση αποτελούσε τον μάρτυρα. Για την αραιώση, μέσα στον θάλαμο κάθετης νηματικής ροής, σε αποστειρωμένα φιαλίδια τύπου erpendorf τοποθετήθηκαν με τη σειρά δις απεσταγμένο και αποστειρωμένο νερό, Tween-20 10% και η κατάλληλη ποσότητα ΑΕ, σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 2.3).

Πίνακας 2.3: Υλικά παρασκευής συγκεντρώσεων ΑΕ

Συγκεντρώσεις	Υλικά
2500 ppm	135 μ L ΑΕ
	50 μ L Tween-20 (10%)
	612,5 μ L H ₂ O
1000 ppm	135 μ L ΑΕ
	25 μ L Tween-20 (10%)
	340 μ L H ₂ O
100 ppm	13,5 μ L ΑΕ
	25 μ L Tween-20 (10%)
	461,5 μ L H ₂ O

Το φιαλίδιο τύπου errendorf με το περιεχόμενο του ανακινήθηκε επαρκώς σε vortex μέχρι το υγρό να ομογενοποιηθεί απολύτως. Με μια πιπέτα ακριβείας ολόκληρο το περιεχόμενο μεταφέρθηκε στην κωνική με το θρεπτικό. Ο εμβολιασμός των τρυβλίων με το τοξικό μέσο έγινε με μυκηλιακούς δίσκους διαμέτρου 6 mm, που αφαιρέθηκαν με τη χρήση φελλοτρυπητήρα από την περιφέρεια αποικιών του μύκητα, που αναπτύχθηκαν σε τρυβλία, ηλικίας 3 ημερών. Τα τρυβλία με το τοξικό μέσο και το μυκηλιακό δίσκο τοποθετήθηκαν στους 25 ° C για επώαση και μετρήσεις πάρθηκαν στις 2, 3 και 7 μέρες.

2.5. Υπολογισμός Ελάχιστης Παρεμποδιστικής Συγκέντρωσης (MIC)

Ως ελάχιστη παρεμποδιστική συγκέντρωση ορίζεται η μικρότερη δυνατή συγκέντρωση μιας ουσίας που είναι ικανή να προκαλέσει την παρεμπόδιση της ανάπτυξης των μικροβιακών παραγόντων όταν γίνει εφαρμογή της υπό ελεγχόμενες συνθήκες in vitro για ένα συγκριμένο χρονικό διάστημα. Τυπικά μετριέται σε mg/L αλλά αριθμητικά είναι ίσο με το μ g/mL, μια μονάδα μέτρησης που δεν συστήνεται (EUCAST 2000), ενώ ακόμα μπορεί να μετρηθεί και σε ppm (parts per million) καθώς πρόκειται για ένα αδιάστατο μέγεθος που υποδηλώνει τη σχέση μεταξύ δύο όμοιων ποσοτήτων. Συγκεκριμένα στην εργασία αυτή έγινε ο υπολογισμός της έπειτα από δοκιμές σε διάφορες συγκεντρώσεις και αξιολόγησης των οπτικών αποτελεσμάτων σύμφωνα με την ανάπτυξη μυκηλίου του μύκητα ή όχι.

2.6. Ανάλυση δεδομένων

Η ανάλυση των δεδομένων από τα διάφορα πειράματα πραγματοποιήθηκε μέσω του προγράμματος Excel του Microsoft Office, με τη βοήθεια του οποίου κατασκευάστηκαν διαγράμματα και πίνακες. Οι τιμές του μέσου όρου και της τυπικής απόκλισης υπολογίστηκαν από τους παρακάτω τύπους:

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \text{Standard Deviation} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Ενώ αυτή του τυπικού σφάλματος όπου εκείνο έγινε απαραίτητο από τον τύπο :

$$SE = \frac{\sigma}{\sqrt{n}}$$

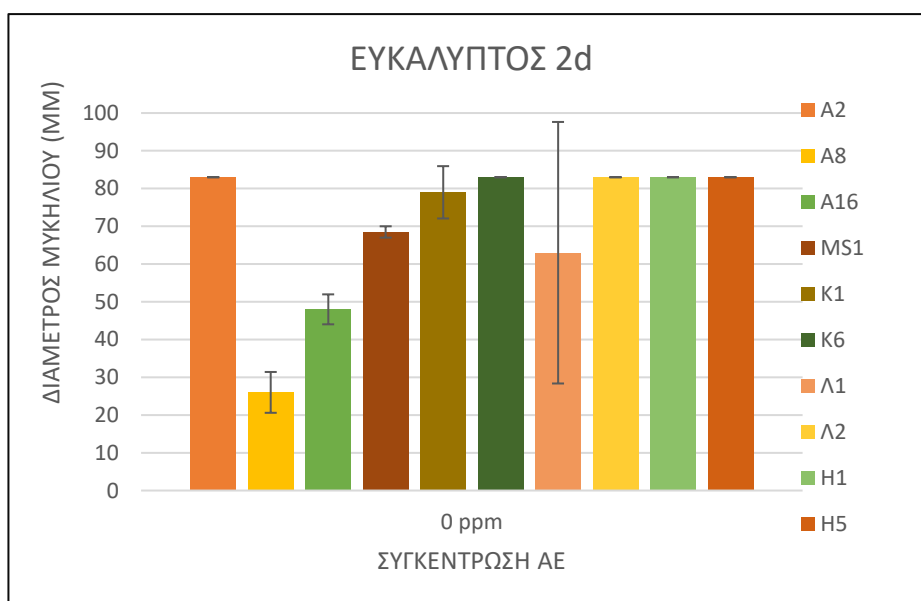
Ακόμα, με τη χρήση του ίδιου προγράμματος έγινε η στατιστική ανάλυση διακύμανσης κατά έναν παράγοντα (one-way ANOVA) με σκοπό να βρεθεί αν υπάρχουν διαφορές ανάμεσα στις τρεις συγκεντρώσεις του εκάστοτε ΑΕ στην ίδια απομόνωση. Η αρχική υπόθεση (H_0) ήταν πως δεν υπήρχαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, η οποία και έπαυε να ισχύει όταν πρόκυπτε $F > F_{\text{critical}}$. Σε αυτές τις περιπτώσεις ακολουθούσε η δοκιμή Tukey HSD (Honestly Significant Difference) ώστε να εντοπιστούν ποιες ήταν αυτές οι συγκεντρώσεις που διέφεραν, που είχαν δηλαδή $q > q_{\text{crit}}$ (βλ. Παράρτημα)

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

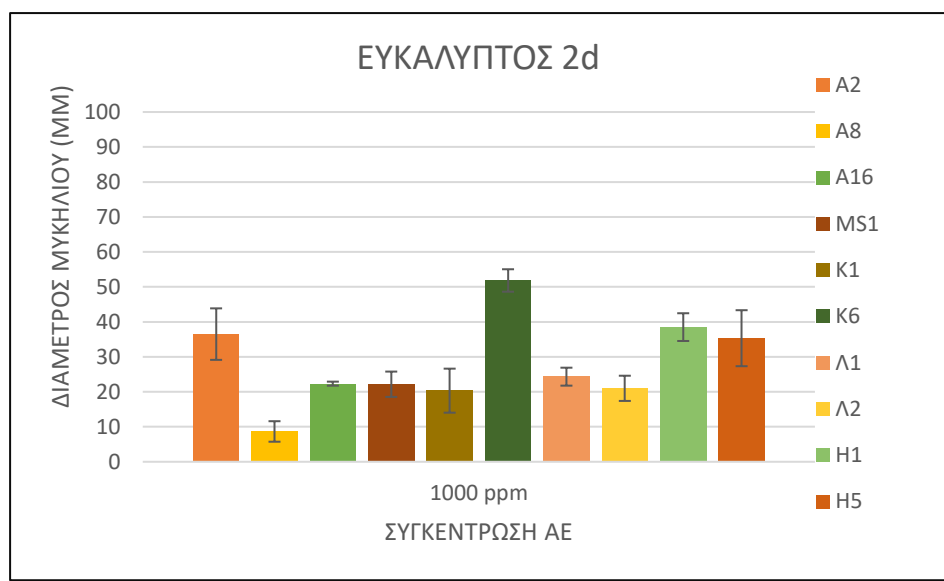
3.1. Επίδραση αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου στις απομονώσεις του μύκητα *S. sclerotiorum*

Σε προηγούμενες πτυχιακές μελέτες που διεξάχθηκαν στο εργαστήριο Φυτοπαθολογίας (Κομνηνάκη, 2020) είχε βρέθηκε πως η MIC για τον ευκαλύπτο ήταν τα 2500 ppm κι έτσι σε όλα τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν χρησιμοποιήθηκαν οι εξής συγκεντρώσεις: 0 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm. Στην πρώτη μέρα λήψεως των παρατηρήσεων (2^η μέρα έπειτα από την τοποθέτηση στον επωαστικό θάλαμο), βρέθηκαν τα παρακάτω αποτελέσματα που παρατίθενται στα παρακάτω διαγράμματα.

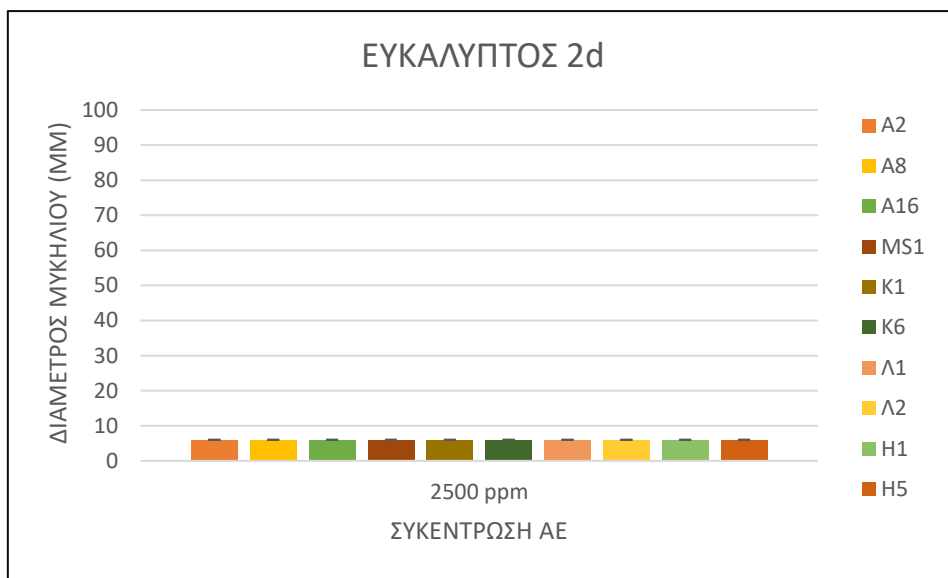
3.1.1. Δράση ευκαλύπτου στις δύο ημέρες



Διάγραμμα 3.1: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή 0 ppm στις 2 dpi.



Διάγραμμα 3.2: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 2 dpi.



Διάγραμμα 3.3: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **2500 ppm** στις 2 dpi..

Στις δύο ημέρες μετά τον εμβολιασμό (days post inoculation-dpi) οι μάρτυρες των απομονώσεων A2, K6, Λ2, H1 και H5 παρουσίασαν την μεγαλύτερη ανάπτυξη, η οποία συμπίπτει με την διάμετρο του τρυβλίου (83 mm), ενώ η απομόνωση A8 είχε την μικρότερη διάμετρο (Διάγραμμα 3.1). Στην αμέσως επόμενη συγκέντρωση (1000 ppm), η μεγαλύτερη ανάπτυξη παρατηρήθηκε στην απομόνωση K6 ενώ για μια ακόμα φορά η μικρότερη τιμή αποδίδεται στην απομόνωση A8 (Διάγραμμα 3.2). Τέλος στην υψηλότερη συγκέντρωση παρατηρήθηκε η ίδια εικόνα, αυτή της μηδενικής ανάπτυξης σε όλες τις απομονώσεις (Διάγραμμα 3.3).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5, A8 και Λ1, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A2, A16, MS1, K1, K6, και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 0 ppm ενός τρυβλίου της απομονώσεως Λ1, στο οποίο παρατηρήθηκε περιορισμένη ανάπτυξη του μυκηλίου (μικρότερη από το 1/3 των υπόλοιπων δύο τρυβλίων), με όμοια εικόνα να φέρουν και όλα τα τρυβλία της A8 (ανάπτυξη μυκηλίου ίση με περίπου το 1/3 του μεγέθους των αποικιών της H5). Επίσης, αξιοσημείωτες φαίνονται οι μετρήσεις στα 1000 ppm των απομονώσεων A8 και Λ1 όπου ο μέσος όρος των διαμέτρων των αποικιών της Λ1 είναι περίπου ίσος με τα 2/3 του μέσου όρου των διαμέτρων των αποικιών της H5 ενώ της A8 είναι ακόμη μικρότερος, περίπου ίσος με το 1/4 του μέσου όρου των διαμέτρων των αποικιών της H5.

Πίνακας 3.1: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομόνωσης απομονώσεως H5 στις 2 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

	H5 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	35	27,5	43,5	35,33	8,01
2500 ppm	6	6	6	6,00	0,00

Πίνακας 3.2: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως A8 στις 2 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

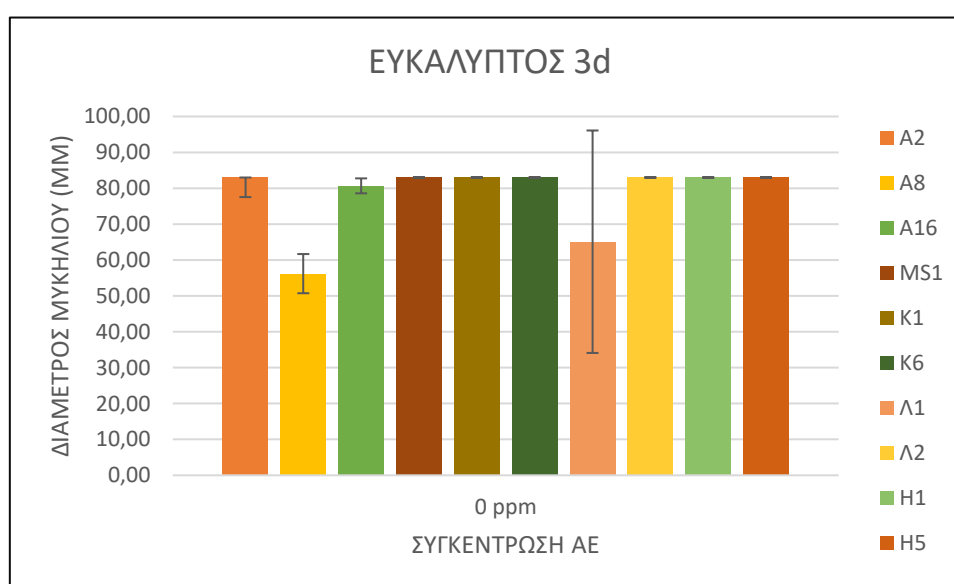
	A8 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	21,5	32	24,5	26	5,41
1000 ppm	12	7,5	6,5	8,67	2,93
2500 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.3: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως Λ1 στις 2 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

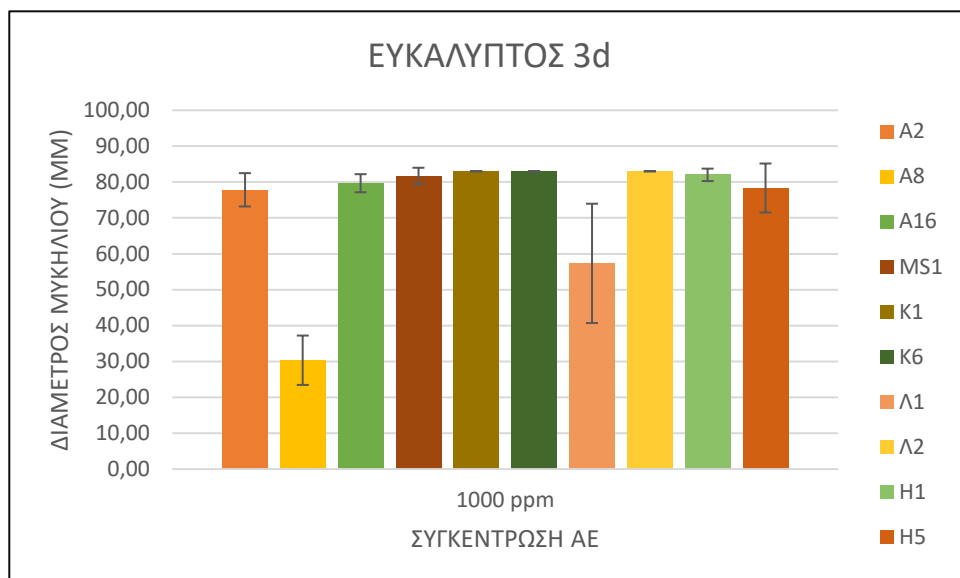
	Λ1 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	23	83	83	63	34,64
1000 ppm	26,5	25	21,5	24,33	2,57
2500 ppm	6	6	6	6,00	0,00

3.1.2. Δράση ευκαλύπτου στις τρεις ημέρες

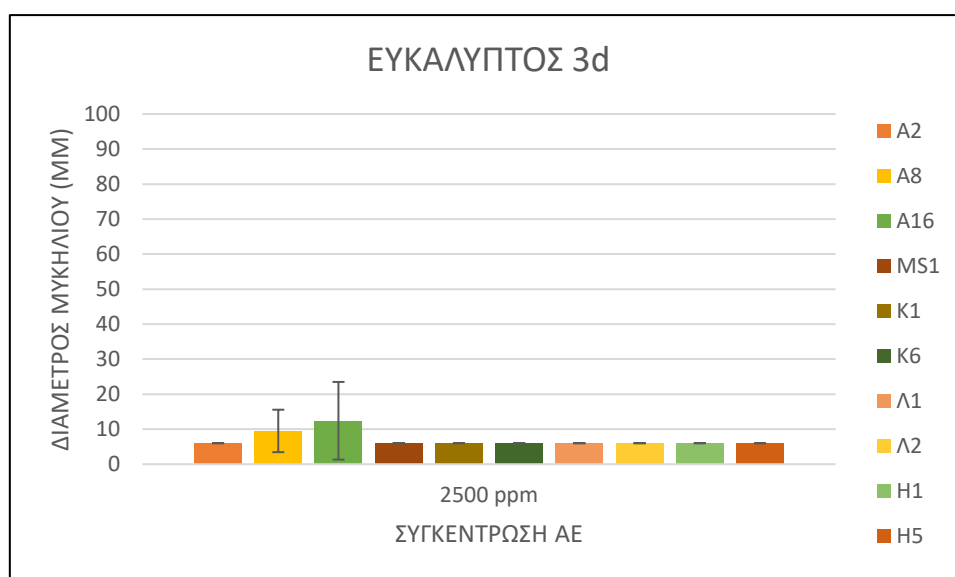
Συνεχίζοντας με την δεύτερη ομάδα των παρατηρήσεων, πάρθηκαν μετρήσεις από όλες τις απομονώσεις στις 3 dpi, οι οποίες παρατίθενται στα διαγράμματα 3.4-3.6.



Διάγραμμα 3.4: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή 0 ppm στις 3 dpi.



Διάγραμμα 3.5: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 3 dpi.



Διάγραμμα 3.6: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **2500 ppm** στις 3 dpi.

Τρεις ημέρες μετά τον εμβολιασμό (3 dpi) οι μάρτυρες όλων των απομονώσεων σε -πλην της A8 και της Λ1- παρουσίασαν μεγάλη ανάπτυξη που στις περισσότερες περιπτώσεις αγγίζει τα όρια του τρυβλίου. Οι απομόνωση A8 και Λ1 παρά το γεγονός πως φάνηκε να αναπτύσσονται απρόσκοπτα, δεν σημείωσαν τον ίδιο ρυθμό ανάπτυξης μυκηλίου με τις υπόλοιπες οκτώ (Διάγραμμα 3.4). Στα 1000 ppm, η πλειοψηφία των απομονώσεων είχε καλύψει ολόκληρο το τρυβλίο, με εξαίρεση και

πάλι τις απομονώσεις A8 και Λ1 (Διάγραμμα 3.5). Στην μεγαλύτερη συγκέντρωση, τα 2500 ppm, δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη πέρα από τον αρχικό δίσκο, εκτός σε μερικά τρυβλία των απομονώσεων A8 και A16 (Διάγραμμα 3.6).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5, A8, A16 και Λ1, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A2, MS1, K1, K6, και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 0 ppm των απομονώσεων A8 και Λ1, οι μέσοι όροι των διαμέτρων των οποίων ήταν $\frac{3}{4}$ και λίγο περισσότερό από $\frac{3}{4}$ αυτού της H5. Επίσης, αξιοσημείωτες φαίνονται οι μετρήσεις στα 1000 ppm των απομονώσεων A8 και Λ1 όπου ο μέσος όρος των διαμέτρων των αποικιών της Λ1 είναι περίπου ίσος με τα $\frac{2}{3}$ του μέσου όρου των διαμέτρων των αποικιών της H5 ενώ της A8 είναι ακόμη μικρότερος, περίπου ίσος με το $\frac{1}{3}$ του μέσου όρου των διαμέτρων των αποικιών της H5. Τέλος στα 2500 ppm, σε ένα τρυβλίο των απομονώσεων A16 και A8 παρατηρήθηκε ανάπτυξη μυκηλίου πέρα από τα 6 mm του δίσκου.

Πίνακας 3.4: Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομόνωσης απομονώσεως H5 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

	H5 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	3d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	81,5	70,5	83	78,33	6,83
2500 ppm	6	6	6	6,00	0,00

Πίνακας 3.5: Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως A8 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

	A8 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	3d (mm)			MO	TA
0 ppm	50	60,3	58,3	56,2	5,46
1000 ppm	38	24,7	28,3	30,33	6,88
2500 ppm	16,5	6	6	9,5	6,06

Πίνακας 3.6: Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως A16 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

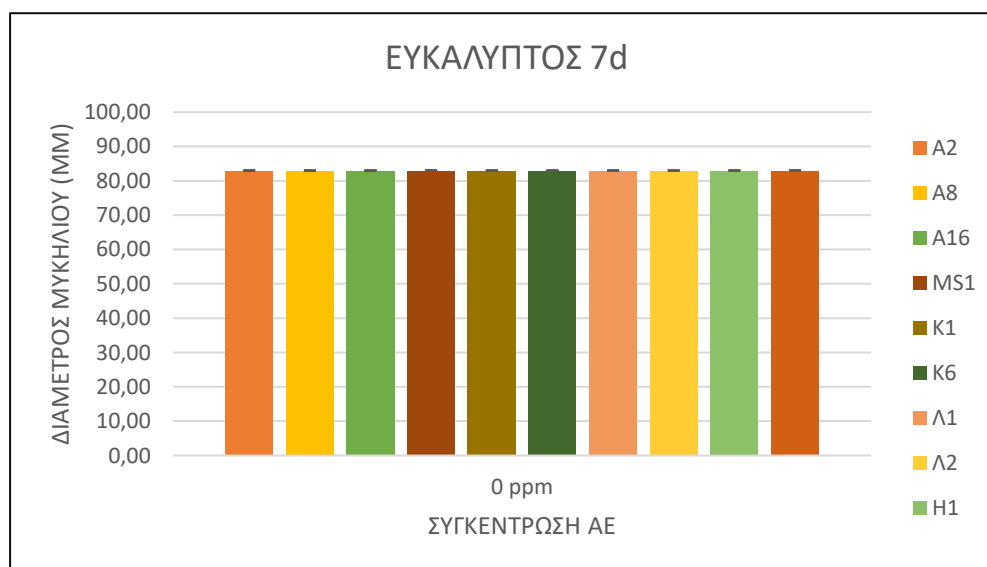
	A16 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	80	79	83	80,67	2,08
1000 ppm	77	80	82	79,67	2,52
2500 ppm	25,2	6	6	12,40	11,09

Πίνακας 3.7: Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως Λ1 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

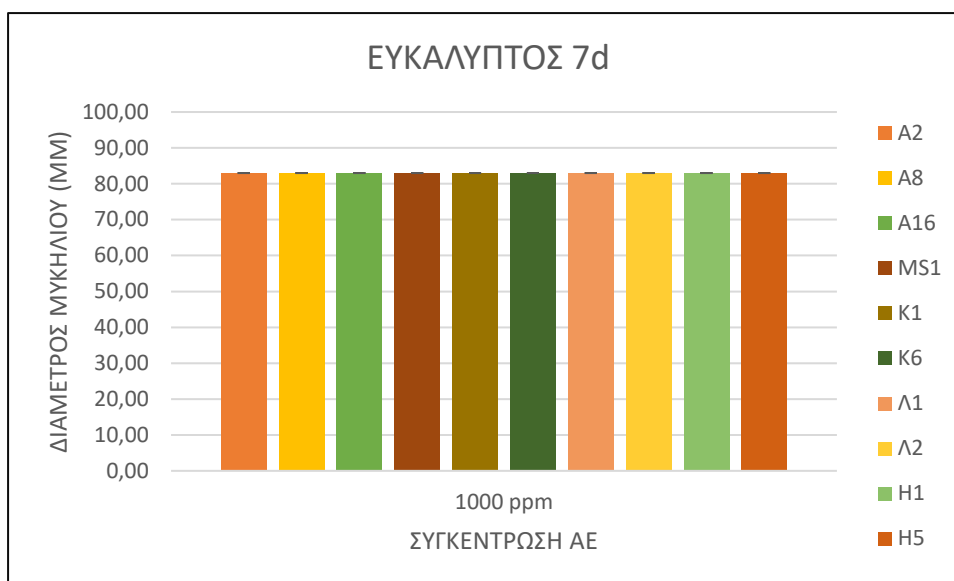
	Λ1 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	29,3	83	83	65,1	31,00
1000 ppm	70	63,5	38,5	57,33	16,63
2500 ppm	6	6	6	6,00	0,00

3.1.3. Δράση ευκαλύπτου στις επτά ημέρες

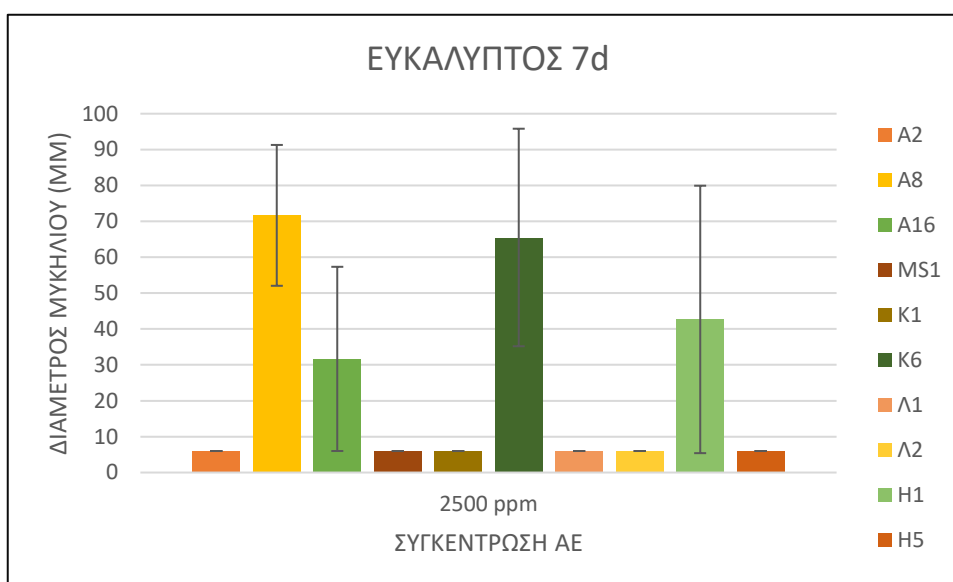
Τα δεδομένα της τελευταίας μέρας των μετρήσεων (μια εβδομάδα μετά την τοποθέτησή τους στον επωαστικό θάλαμο) παρουσιάζονται στα διαγράμματα 3.7-3.9.



Διάγραμμα 3.7: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή 0 ppm στις 7 dpi.



Διάγραμμα 3.8: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 7 dpi.



Διάγραμμα 3.9: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **2500 ppm** στις 7 dpi.

Στις 7 dpi παρατηρήθηκε πως στους μάρτυρες όλων των απομονώσεων το μυκήλιο είχε καλύψει σχεδόν όλη την επιφάνεια του θρεπτικού υλικού, ακόμα και σε εκείνες που παρουσίασαν αρχικά μειωμένη ανάπτυξη (Διάγραμμα 3.6). Στα 1000 ppm, η οπτική εικόνα των τρυβλίων και στις δέκα απομονώσεις ήταν σχεδόν ταυτόσημη με του μάρτυρα καθώς η διάμετρος του μυκηλίου άγγιξε τα 83 mm (Διάγραμμα 3.7). Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν όμως τα αποτελέσματα της μεγαλύτερης

συγκέντρωσης, όπου οι απομονώσεις A8, A16, K6 και H1 παρουσίασαν ανάπτυξη (Διάγραμμα 3.8).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5, A8, A16, K6 και Λ1, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A2, MS1, K1, και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 2500 ppm, όπου σε δύο τρυβλία των απομονώσεων A8 και K6 παρατηρήθηκε πλήρη ανάπτυξη μυκηλίου, σε όλα τα τρυβλία της απομονώσεως H1 σχεδόν πλήρης και σε ένα τρυβλίο της A16 πλήρης.

Πίνακας 3.9: Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως H5 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

	H5 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	7d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	83	83	83	83,00	0,00
2500 ppm	6	6	6	6,00	0,00

Πίνακας 3.10: Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως K6 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

	K6 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	7d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	83	83	83	83,00	0,00
2500 ppm	83	83	30,5	65,5	30,31

Πίνακας 3.11: Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως A16 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

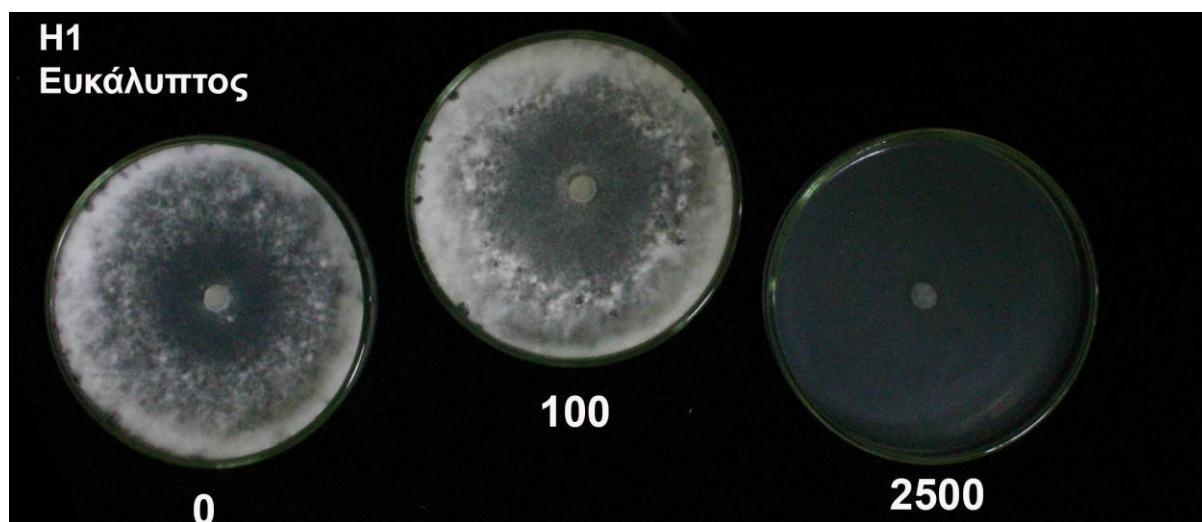
	A16 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	7d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	83	83	83	83,00	0,00
2500 ppm	83	6	6	31,67	25,67

Πίνακας 3.12: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως A8 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

	A8 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	7d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	83	83	83	83,00	0,00
2500 ppm	83	83	49	71,67	19,63

Πίνακας 3.13: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως H1 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή ευκαλύπτου.

	H1 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ				
	7d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	83	83	83	83,00	0,00
2500 ppm	80,5	41,5	6	42,67	37,26

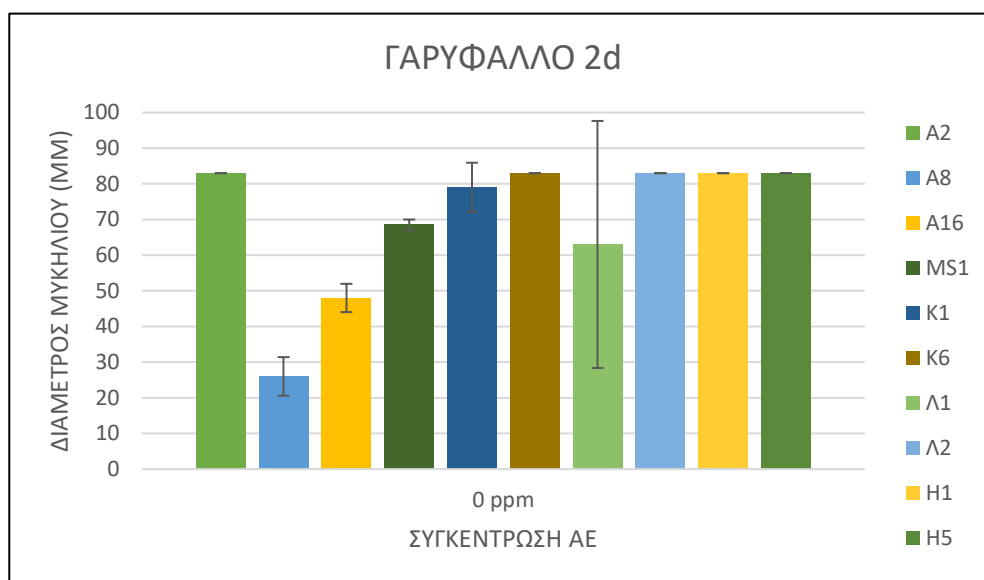


Εικόνα 3.1: Τρυβλία της απομονώσεως H1 την έβδομη ημέρα έπειτα από προσθήκη 0 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm αιθέριου ελαίου ευκαλύπτου.

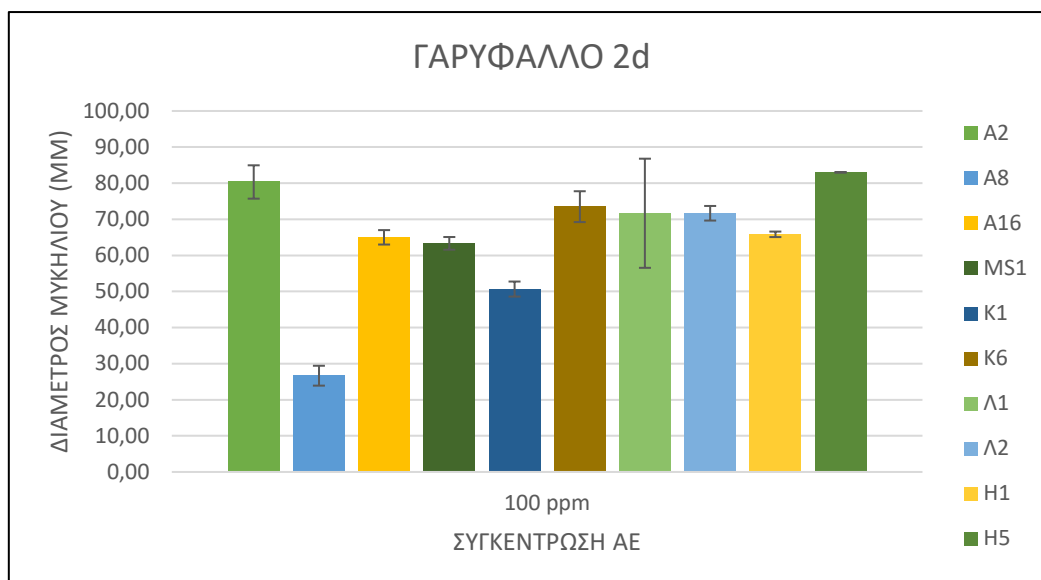
3.2. Επίδραση αιθέριου ελαίου γαρυφάλλου στις απομονώσεις του μύκητα *S. sclerotiorum*

Σε αρχικό στάδιο του πειράματος έγινε η δοκιμή σε μια απομόνωση με σκοπό τον προσδιορισμό της MIC. Έτσι, δοκιμάστηκαν οι παρακάτω συγκεντρώσεις: 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm, με την πρώτη και την τελευταία να απορρίπτονται καθώς η ανάπτυξη του μύκητα σταματούσε ήδη από τα 1000 ppm ενώ παρατηρούνταν ανεμπόδιστα στα 100 ppm. Συνεπώς όλα τα πειράματα με το αιθέριο έλαιο γαρυφάλλου έγιναν με τις συγκεντρώσεις 0 ppm, 100 ppm και 1000 ppm, ενώ μετρήσεις πάρθηκαν στις δύο, τρεις και επτά ημέρες αντίστοιχα, όπως φαίνεται και στα παρακάτω διαγράμματα.

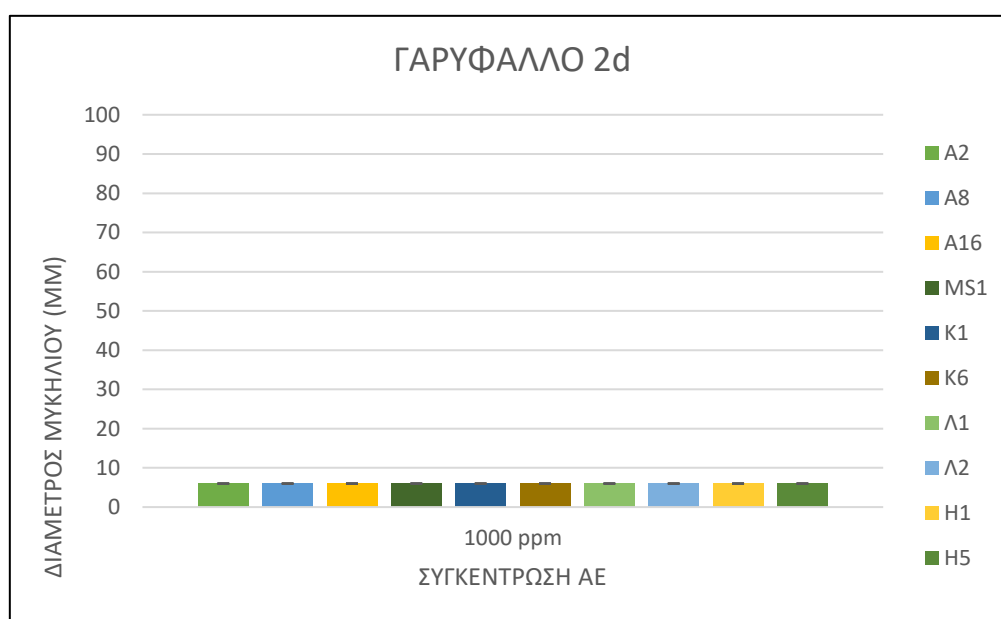
3.2.1. Δράση γαρυφάλλου σε δύο ημέρες



Διάγραμμα 3.10: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **0 ppm** στις 2 dpi.



Διάγραμμα 3.11: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 2 dpi.



Διάγραμμα 3.12: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 2 dpi.

Στις 2 dpi οι μάρτυρες των απομονώσεων A2, K6, Λ2, H1 και H5 παρουσίασαν την μεγαλύτερη ανάπτυξη, η οποία συμπίπτει με την διάμετρο του τρυβλίου (83 mm), ενώ η απομόνωση A8 είχε την μικρότερη διάμετρο (Διάγραμμα 3.10). Στην αμέσως επόμενη συγκέντρωση (100 ppm), η μεγαλύτερη ανάπτυξη παρατηρήθηκε στις

απομονώσεις Α2, Κ6 και Η5 ενώ για μια ακόμα φορά η μικρότερη τιμή αποδίδεται στην απομόνωση Α8 (Διάγραμμα 3.11). Τέλος στην υψηλότερη συγκέντρωση παρατηρήθηκε η ίδια εικόνα σε όλες τις απομονώσεις, αυτή της μηδενικής ανάπτυξης (Διάγραμμα 3.12).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων Η5, Α8 και Λ1, όπου η Η5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων Α2, Α16, ΜS1, Κ1, Κ6, και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 0 ppm ενός τρυβλίου της απομονώσεως Λ1, στο οποίο παρατηρήθηκε περιορισμένη ανάπτυξη του μυκηλίου (μικρότερη από το 1/3 των υπόλοιπων δύο τρυβλίων), με όμοια εικόνα να φέρουν και όλα τα τρυβλία της Α8 (ανάπτυξη μυκηλίου ίση με περίπου το 1/3 του μεγέθους των αποικιών της Η5). Στα 1000 ppm η απομόνωση Α8 παρουσιάζει αρκετά διαφορετική ανάπτυξη, περίπου ίση με το 1/4 αυτής της Η5.

Πίνακας 3.13: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως Η5 στις 2 ημέρες

	Η5 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83,00	0,00
100 ppm	83	83	83	83,00	0,00
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00

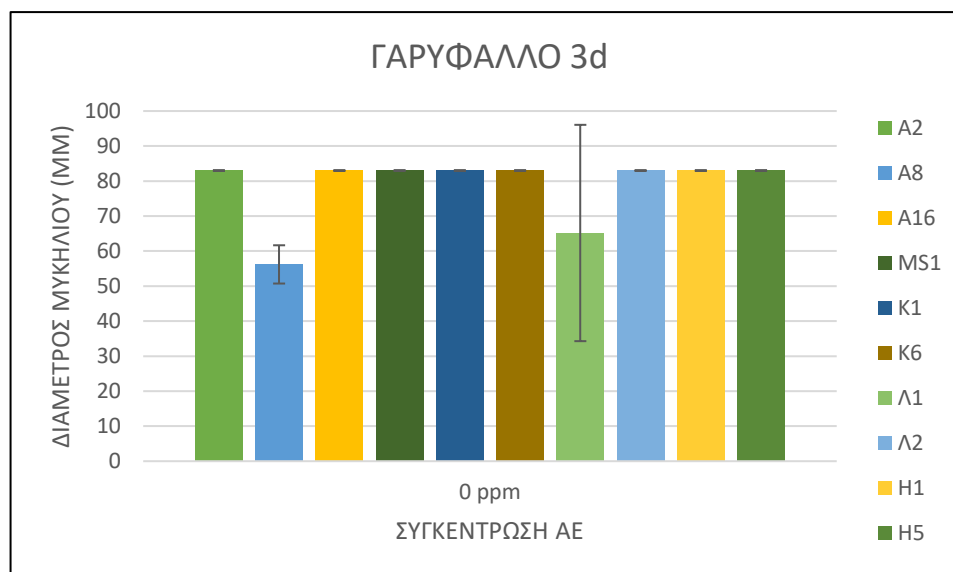
Πίνακας 3.14: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως Λ1 στις 2 ημέρες

	Λ1 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	23	83	83	63,00	34,64
100 ppm	54,5	83	77,5	71,67	15,12
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00

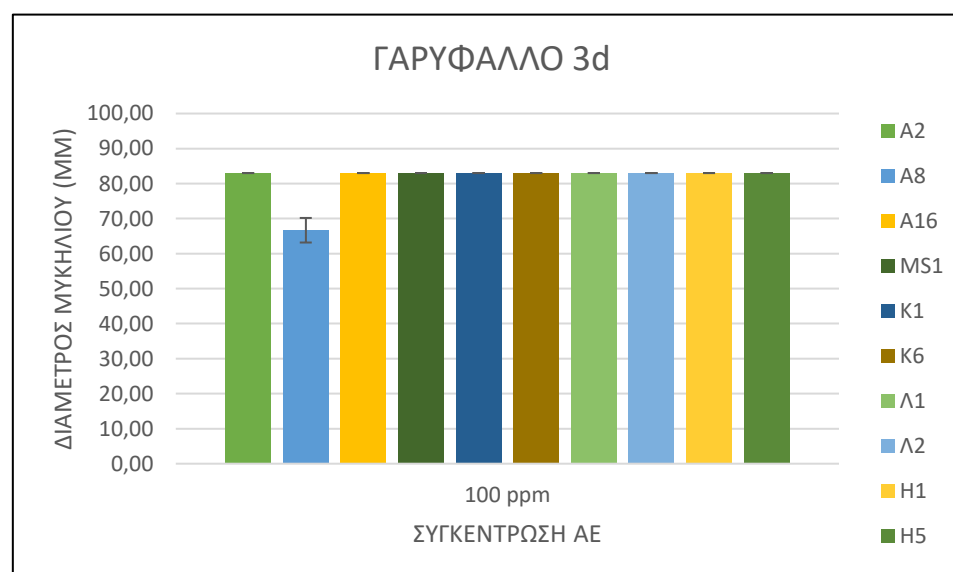
Πίνακας 3.15: Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως A8 στις 2 ημέρες

	A8 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	21,5	32	24,5	26,00	5,41
100 ppm	28	23,5	28,5	26,67	2,75
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00

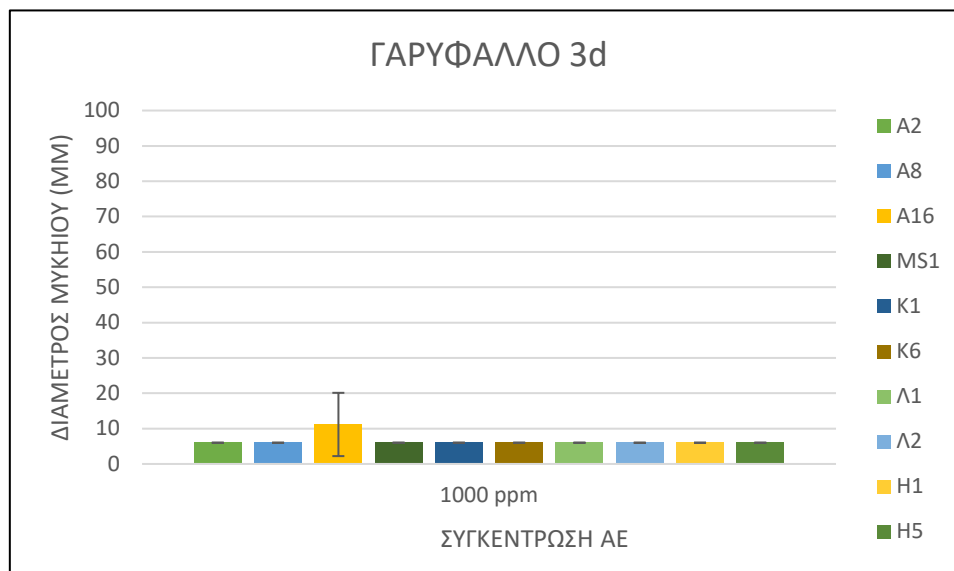
3.2.2. Δράση γαρυφαλλού σε τρεις ημέρες



Διάγραμμα 3.13: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **0 ppm** στις 3 ημέρες.



Διάγραμμα 3.14: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 3 ημέρες.



Διάγραμμα 3.15: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 3 dpi.

Στις 3 dpi, στους μάρτυρες όλων των απομονώσεων -πλην της A8 και της Λ1- παρατηρείται μεγάλη ανάπτυξη που στις περισσότερες περιπτώσεις αγγίζει τα όρια του τρυβλίου. Η απομόνωση A8 παρά το γεγονός πως φάνηκε να αναπτύσσεται απρόσκοπτα, δεν σημείωσε τον ίδιο ρυθμό ανάπτυξης με τις υπόλοιπες εννέα (Διάγραμμα 3.13). Στα 100 ppm, η πλειοψηφία των απομονώσεων είχε καλύψει ολόκληρο το τρυβλίο, με εξαίρεση και πάλι την απομόνωση A8 (Διάγραμμα 3.14). Στην μεγαλύτερη συγκέντρωση, τα 1000 ppm, δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη πέρα από τον αρχικό δίσκο, εκτός από ένα τρυβλίο της απομονώσεως A16 (Διάγραμμα 3.15).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5, A8, Λ1 και A16, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A2, MS1, K1, K6 και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 0 ppm της απομονώσεως A8, οι μέσοι όροι των διαμέτρων των οποίων ήταν περίπου στα 3/4 αυτού της H5. Επίσης, αξιοσημείωτες φαίνονται οι μετρήσεις στα 1000 ppm της ίδιας απομονώσεως όπου ο μέσος όρος των διαμέτρων των αποικιών της A8 είναι λίγο μεγαλύτερος από τα 3/4 του μέσου όρου των διαμέτρων των αποικιών της H5. Τέλος στα 1000 ppm, σε ένα τρυβλίο της A16 παρατηρήθηκε ανάπτυξη μυκηλίου πέρα από τα 6 mm του δίσκου

Πίνακας 3.16 : Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως H5 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ναρυφάλλου

	H5 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.17 : Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως A8 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ναρυφάλλου

	A8 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	50	60,3	58,3	56,2	5,46
100 ppm	70	63	67	66,67	3,51
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.18 : Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως A16 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ναρυφάλλου

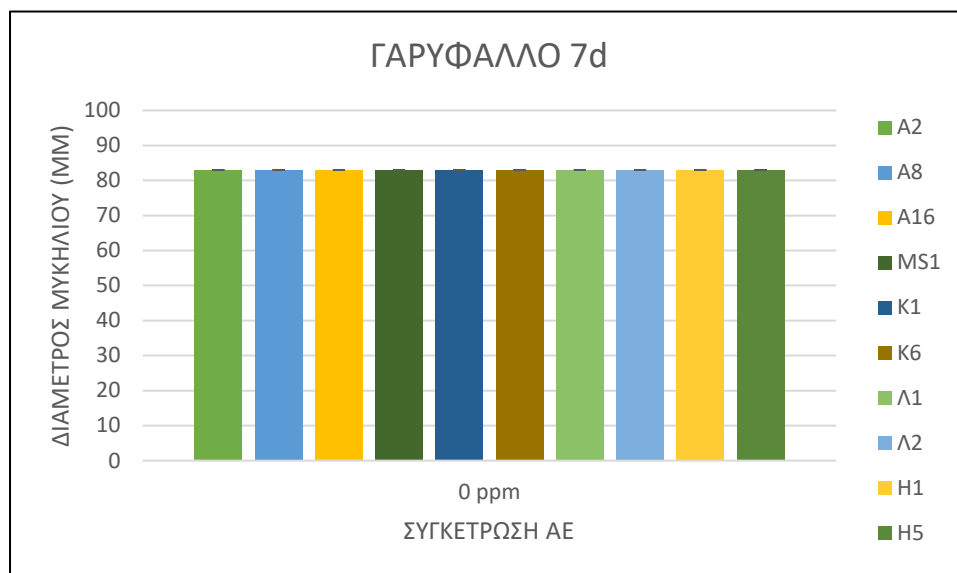
	A16 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	21,5	6	6	11,17	8,95

Πίνακας 3.19 : Μετρήσεις διαμέτρων αποικιών της απομονώσεως Λ1 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ναρυφάλλου

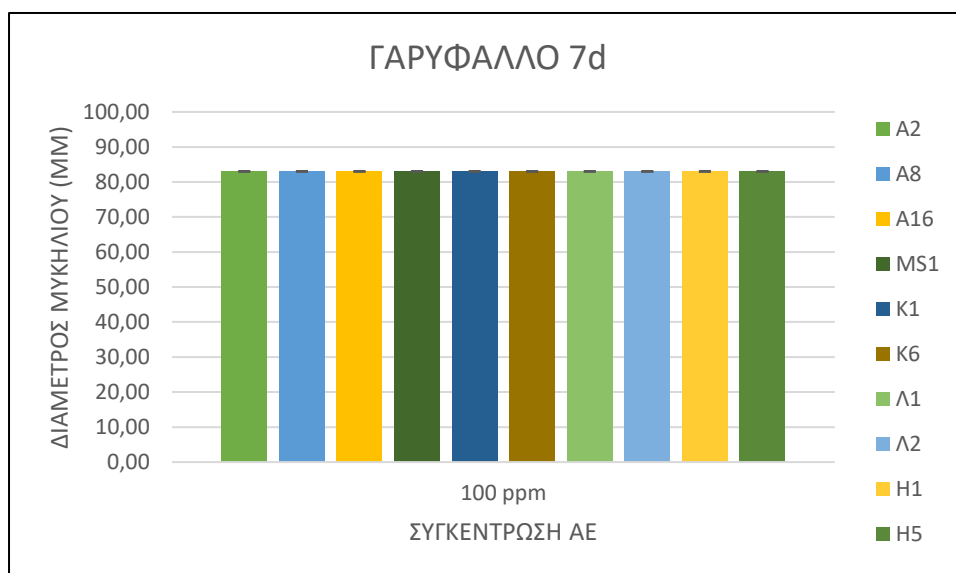
	Λ1 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	29,5	83	83	65,17	30,89
100 ppm	83	83	83	83,00	0,00
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00

3.2.3. Δράση γαρυφάλλου σε επτά ημέρες

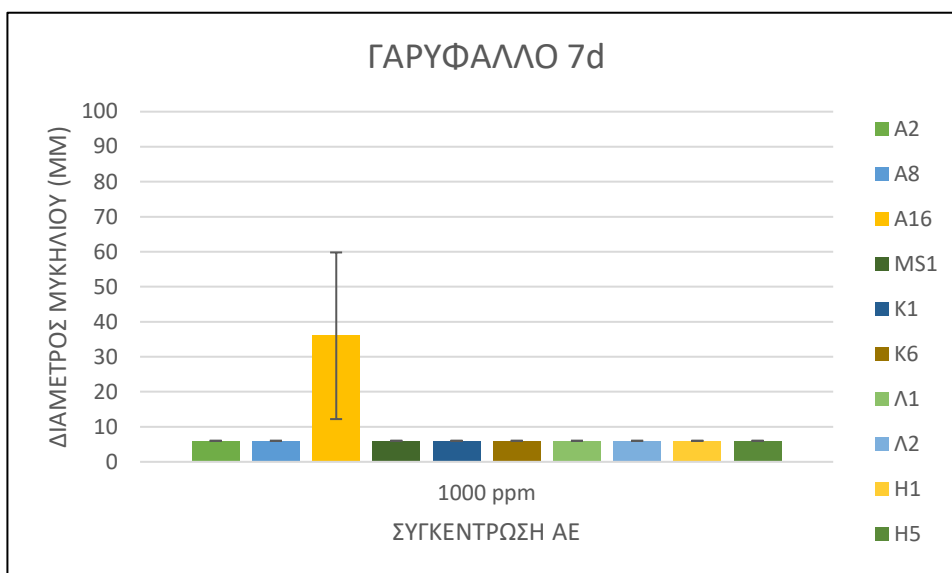
Τα δεδομένα της τελευταίας μέρας των μετρήσεων (μια εβδομάδα μετά την τοποθέτηση τους στον επωαστικό θάλαμο) παρουσιάζονται στα διαγράμματα 3.16-3.18.



Διάγραμμα 3.16: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **0 ppm** στις 7 dpi.



Διάγραμμα 3.17: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 7 dpi.



Διάγραμμα 3.18: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 7 dpi.

Στις 7 dpi στους μάρτυρες όλων των απομονώσεων παρατηρήθηκε πως το μυκήλιο είχε καλύψει όλη την επιφάνεια του θρεπτικού υλικού, ακόμα και σε εκείνες που παρουσίασαν αρχικά μειωμένη ανάπτυξη (Διάγραμμα 3.16). Στα 100 ppm, η οπτική εικόνα των τρυβλίων και στις δέκα απομονώσεις ήταν ίδια με του μάρτυρα καθώς η διάμετρος του μυκηλίου άγγιξε τα 83 mm (Διάγραμμα 3.17). Τέλος, στην μεγαλύτερη συγκέντρωση που δοκιμάστηκε δεν παρατηρήθηκε κάποια ανάπτυξη πέρα από τον αρχικό δίσκο, με την απομόνωση A16 να αποτελεί εξαίρεση (Διάγραμμα 3.18).

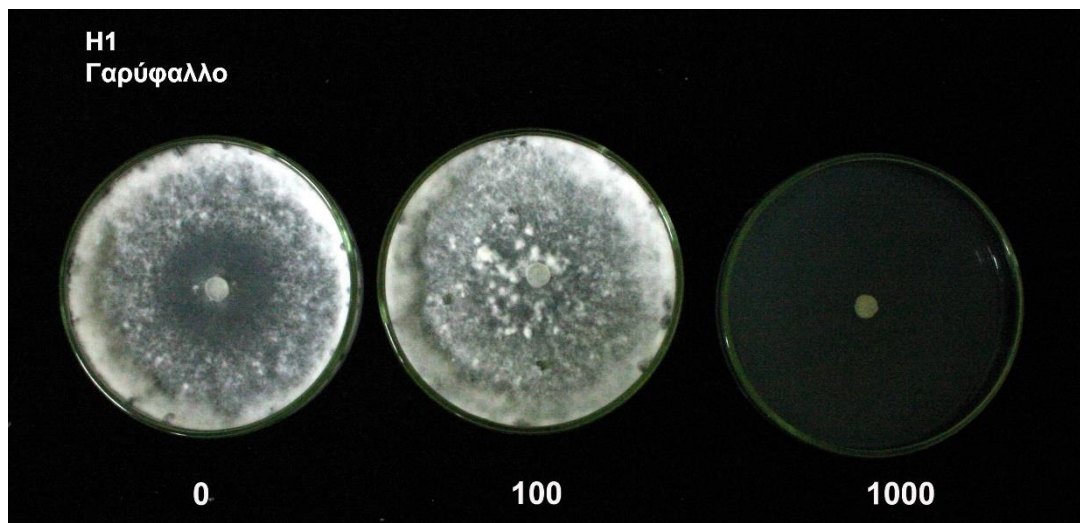
Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5, και A16, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A2, A8, MS1, K1, K6, Λ1 και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 1000 ppm, όπου σε δύο τρυβλία της απομονώσεως A16 παρατηρήθηκε πλήρης ανάπτυξη μυκηλίου ενώ σε ένα άλλο ανάπτυξη ίση με το 1/4 αυτής.

Πίνακας 3.20: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως H5 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή γαρυφάλλου.

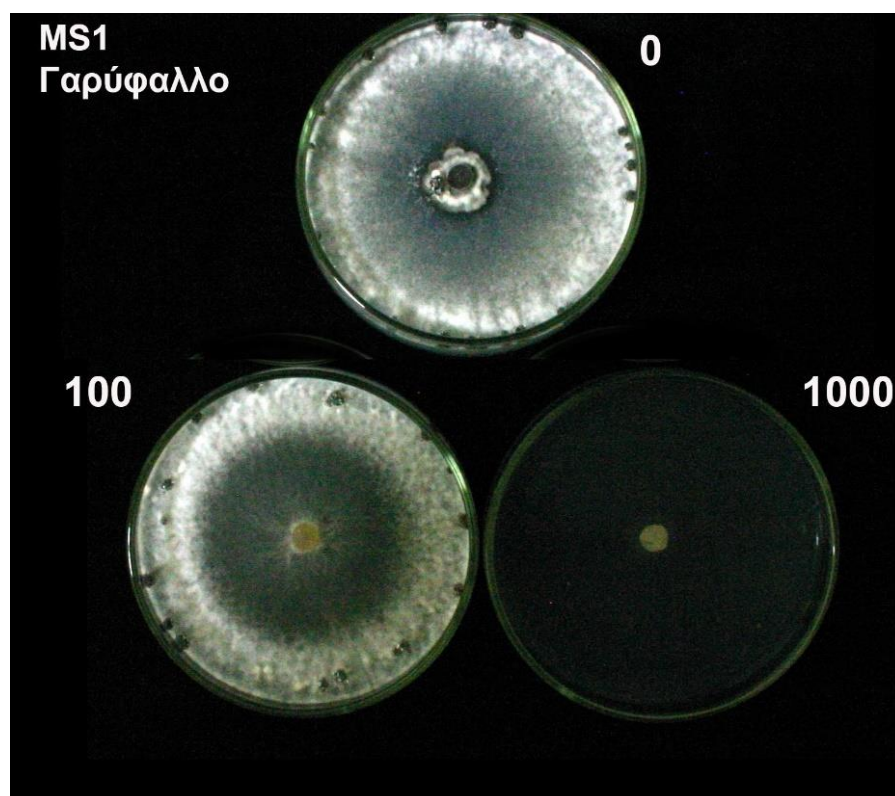
	H5 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	7d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.21: Μετρήσεις της απομονώσεως A16 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή γαρυφάλλου.

	A16 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	7d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	83	19	6	36	23,80



Εικόνα 3.2: Τρυβλία της απομονώσεως **H1** την έβδομη ημέρα έπειτα από προσθήκη **0 ppm**, **100 ppm** και **1000 ppm** αιθέριου ελαίου γαρυφάλλου.

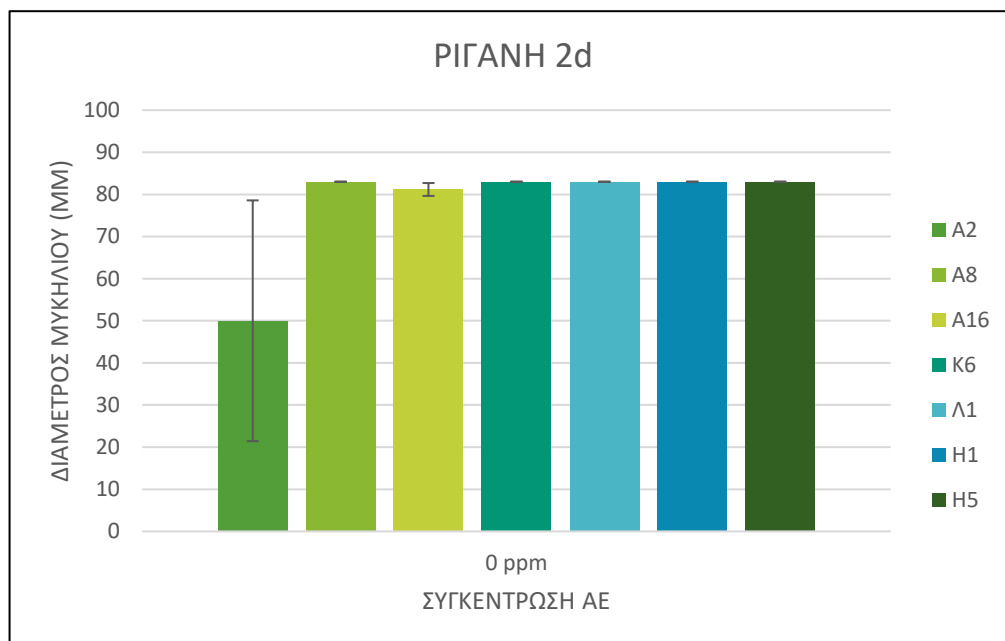


Εικόνα 3.3: Τρυβλία της απομονώσεως **MS1** την έβδομη ημέρα έπειτα από προσθήκη **0 ppm**, **100 ppm** και **1000 ppm** αιθέριου ελαίου γαρυφάλλου.

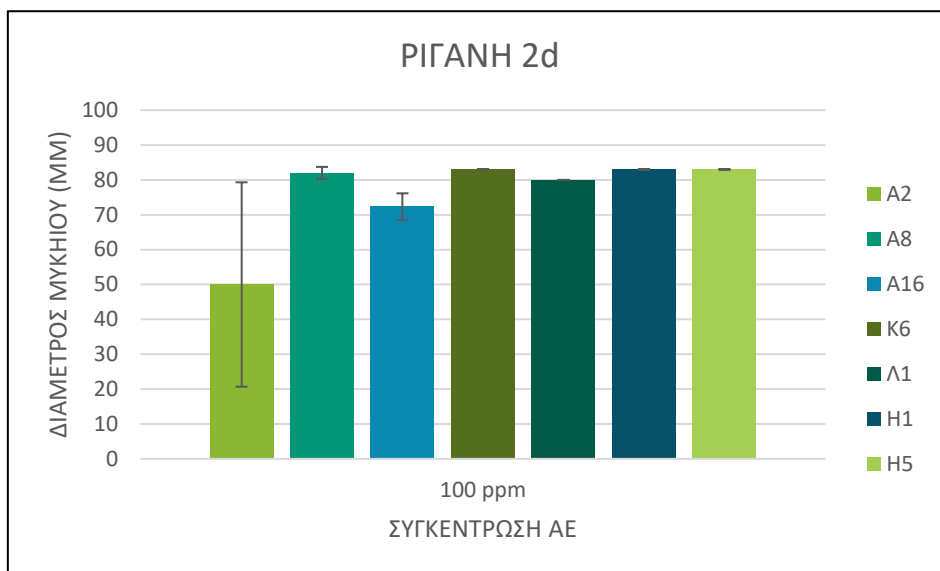
3.3. Επίδραση αιθέριου ελαίου ρίγανης στις απομονώσεις του μύκητα *S. sclerotiorum*

Σε αρχικό στάδιο του πειράματος έγινε η δοκιμή σε μια απομόνωση με σκοπό τον προσδιορισμό της MIC. Έτσι, δοκιμάστηκαν οι παρακάτω συγκεντρώσεις: 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm, με την πρώτη και την τελευταία να απορρίπτονται καθώς η ανάπτυξη του μύκητα σταματούσε ήδη από τα 1000 ppm ενώ παρατηρούνταν ανεμπόδια στα 100 ppm. Συνεπώς όλα τα πειράματα με το αιθέριο έλαιο ρίγανης έγιναν με τις συγκεντρώσεις 0 ppm, 100 ppm και 1000 ppm, ενώ μετρήσεις πάρθηκαν στις δύο, τρεις και επτά ημέρες αντίστοιχα, όπως φαίνονται στα παρακάτω διαγράμματα.

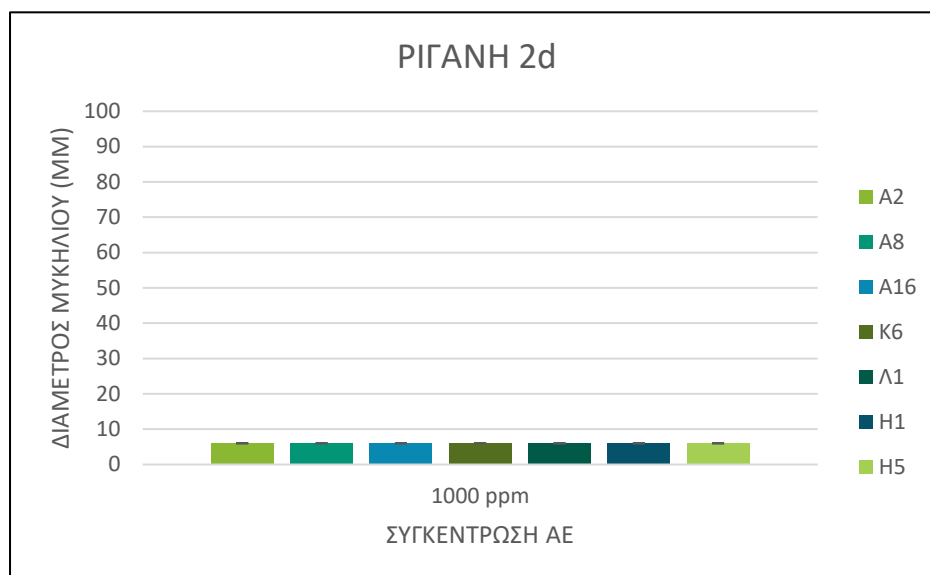
3.3.1. Δράση ρίγανης σε δύο ημέρες



Διάγραμμα 3.19: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **0 ppm** στις 2 dpi.



Διάγραμμα 3.20: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 2 dpi.



Διάγραμμα 3.21: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 2 dpi.

Στις 2 dpi, οι μάρτυρες των απομονώσεων A8, K6, Λ1, H1 και H5 παρουσίασαν την μεγαλύτερη ανάπτυξη, η οποία συμπίπτει με την διάμετρο του τρυβλίου (83 mm), ενώ η απομόνωση A2 είχε την μικρότερη διάμετρο (Διάγραμμα 3.19). Στην αμέσως επόμενη συγκέντρωση (100 ppm), η μεγαλύτερη ανάπτυξη μυκηλίου παρατηρήθηκε στις ίδιες απομονώσεις ενώ για μια ακόμα φορά η μικρότερη τιμή αποδίδεται στην απομόνωση A2 (Διάγραμμα 3.20). Τέλος στην υψηλότερη συγκέντρωση

παρατηρήθηκε η ίδια εικόνα σε όλες τις απομονώσεις , αυτή της μηδενικής ανάπτυξης πέρα από τον δίσκο (Διάγραμμα 3.21).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5 και A2, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A8, A16, MS1, K1, K6, Λ1 και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 0 ppm και στα 100 ppm της απομονώσεως A2, που ο μέσος όρος των διαμέτρων των αποικιών της έφτασε τα 3/5 αυτού της H5.

Πίνακας 3.22: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως H5 στις 2 ημέρες

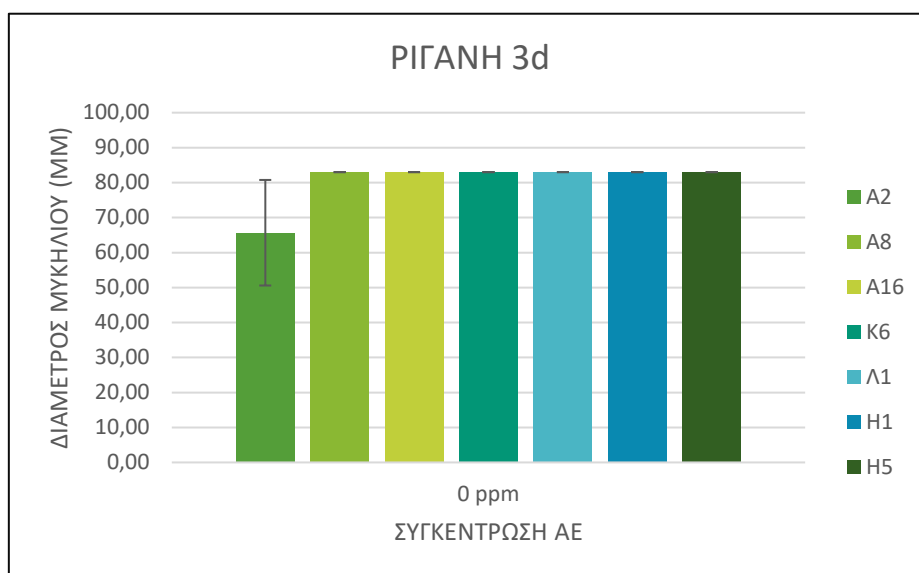
	H5 ΡΙΓΑΝΗ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.23: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως A2 στις 2 ημέρες

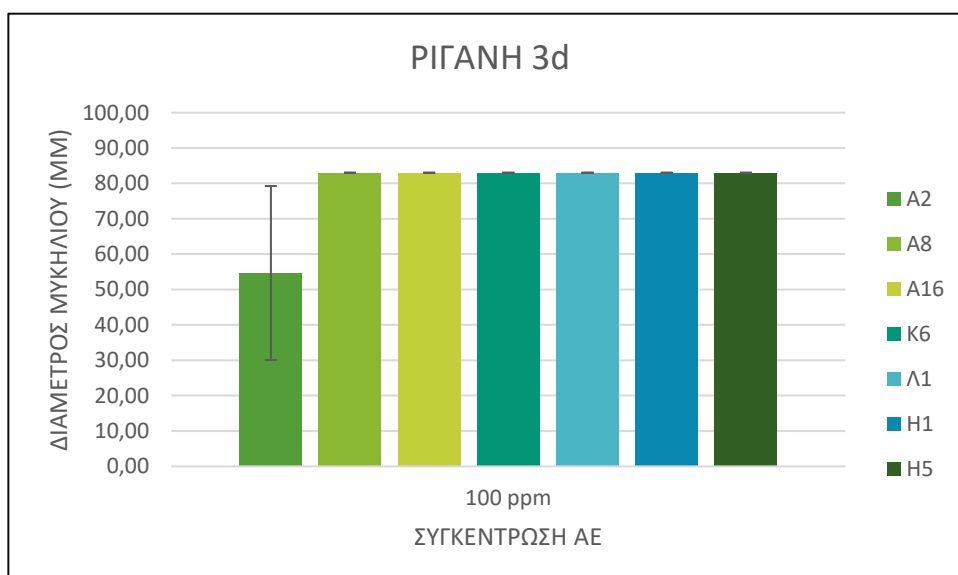
	A2 ΡΙΓΑΝΗ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	33,5	83	33,5	50	28,58
100 ppm	27	83	40	50	29,31
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

3.3.2. Δράση ρίγανης σε τρεις ημέρες

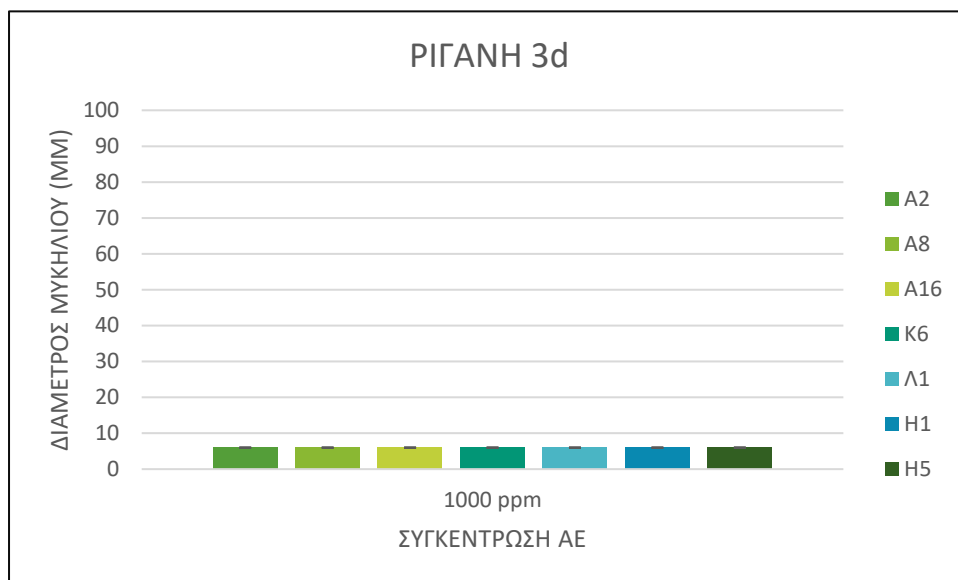
Συνεχίζοντας με την δεύτερη μέρα των παρατηρήσεων, πάρθηκαν μετρήσεις από όλες τις απομονώσεις, οι οποίες παρατίθενται στα διαγράμματα 3.22-3.24.



Διάγραμμα 3.22: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **0 ppm** στις 3 dpi.



Διάγραμμα 3.23: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 3 dpi.



Διάγραμμα 3.24: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 3 dpi.

Στις 3 dpi, οι μάρτυρες όλων των απομονώσεων -πλην της A2 – παρουσιάζουν μεγάλη ανάπτυξη που αγγίζει τα όρια του τρυβλίου. Η απομόνωση A2 παρά το γεγονός πως φάνηκε να αναπτύσσεται απρόσκοπτα, δεν σημείωσε τον ίδιο ρυθμό ανάπτυξης με τις υπόλοιπες έξι (Διάγραμμα 3.22). Στα 100 ppm, η πλειοψηφία των απομονώσεων είχε καλύψει ολόκληρο το τρυβλίο, με εξαίρεση και πάλι την απομόνωση A2 (Διάγραμμα 3.23). Στην μεγαλύτερη συγκέντρωση, τα 1000 ppm, δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη πέρα από τον αρχικό δίσκο. (Διάγραμμα 3.24).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5 και A2, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A8, A16, MS1, K1, K6, Λ1 και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 0 ppm της απομονώσεως A2, οι μέσοι όροι των διαμέτρων των οποίων ήταν περίπου στα 3/4 αυτού της H5. Στα 100 ppm, η ίδια απομόνωση παρουσιάζει μέσο όρο διαμέτρου αποικιών ίσο με τα 2/3 αυτού της H5.

Πίνακας 3.24 : Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως H5 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ρίγανης

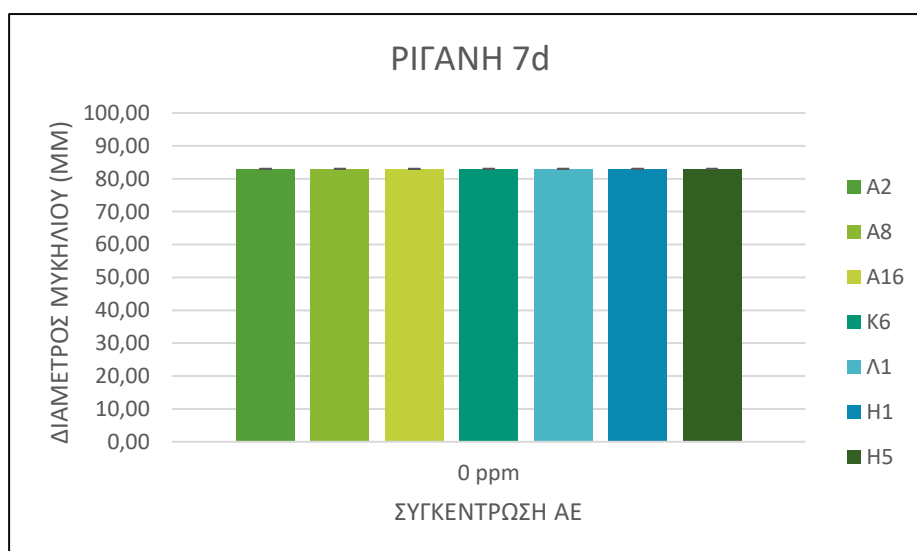
	H5 ΡΙΓΑΝΗ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.25 : Μετρήσεις διαμέτρου των αποικιών της απομονώσεως A2 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή ρίγανης

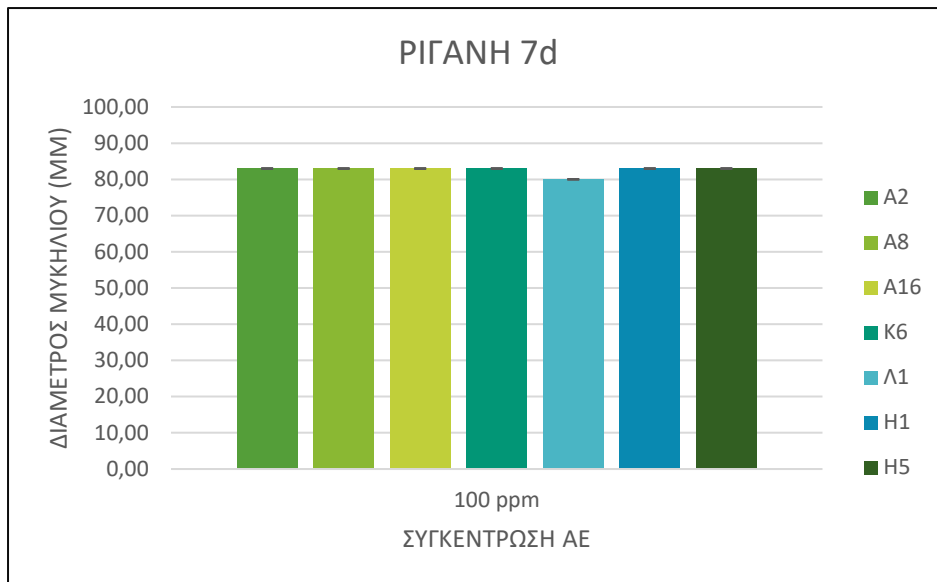
	A2 ΡΙΓΑΝΗ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	55,5	83	58,5	65,67	15,09
100 ppm	42	83	39	54,67	24,58
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00

3.3.3. Δράση ρίγανη σε επτά ημέρες

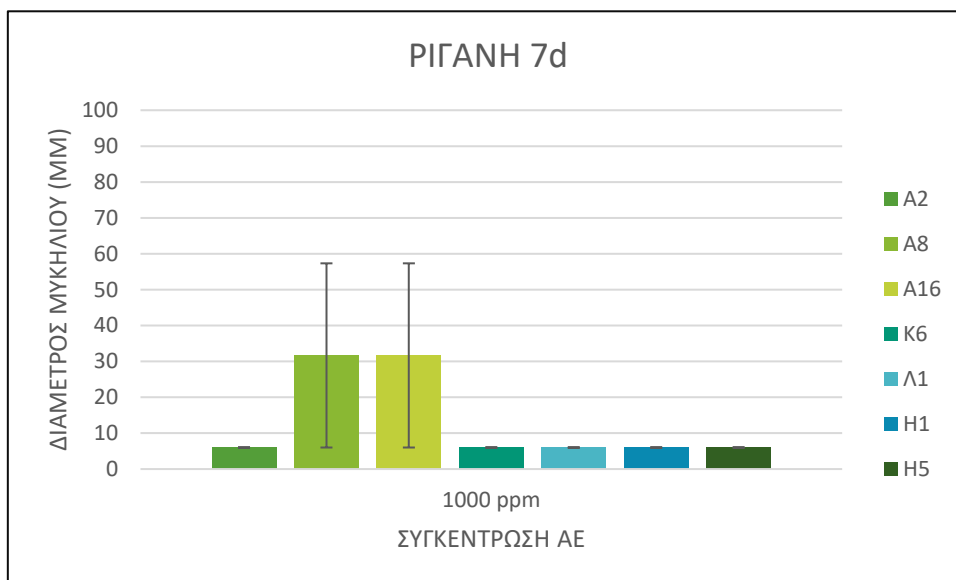
Τα δεδομένα της τελευταίας μέρας των μετρήσεων (μια εβδομάδα μετά την τοποθέτηση τους στον επωαστικό θάλαμο) παρουσιάζονται στα διαγράμματα 3.25-3.27.



Διάγραμμα 3.25: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **0 ppm** στις 7 dpi.



Διάγραμμα 3.26: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 7 dpi.



Διάγραμμα 3.27: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 7 dpi.

Στις 7 dpi, στους μάρτυρες όλων των απομονώσεων παρατηρήθηκε πως το μυκήλιο είχε καλύψει όλη την επιφάνεια του θρεπτικού υλικού, ακόμα και σε εκείνες που παρουσίασαν αρχικά μειωμένη ανάπτυξη (Διάγραμμα 3.25). Στα 100 ppm, η οπτική εικόνα των τρυβλίων και στις επτά απομονώσεις ήταν ίδια με αυτή του μάρτυρα καθώς η διάμετρος του μυκηλίου άγγιξε τα 83 mm (Διάγραμμα 3.26). Τέλος, στην μεγαλύτερη συγκέντρωση που δοκιμάστηκε δεν παρατηρήθηκε κάποια ανάπτυξη

πέρα από τον αρχικό δίσκο, με τις απομονώσεις A8 και A16 να αποτελούν εξαίρεση (Διάγραμμα 3.27).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5, A8 και A16, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A2, MS1, K1, K6, Λ1 και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 1000 ppm, όπου παρατηρήθηκε πλήρης ανάπτυξη σε ένα τρυβλίο των απομονώσεων A8 και A16.

Πίνακας 3.26: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως H5 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή ρίγανης.

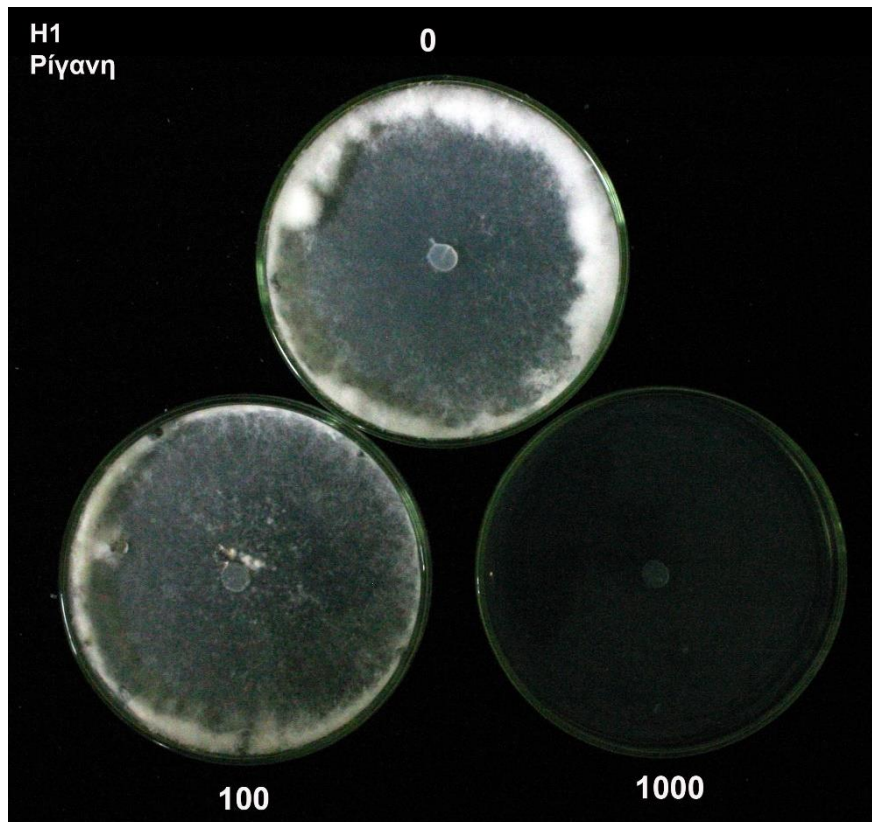
	H5 ΡΙΓΑΝΗ				
	7d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.27: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως A8 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή ρίγανης.

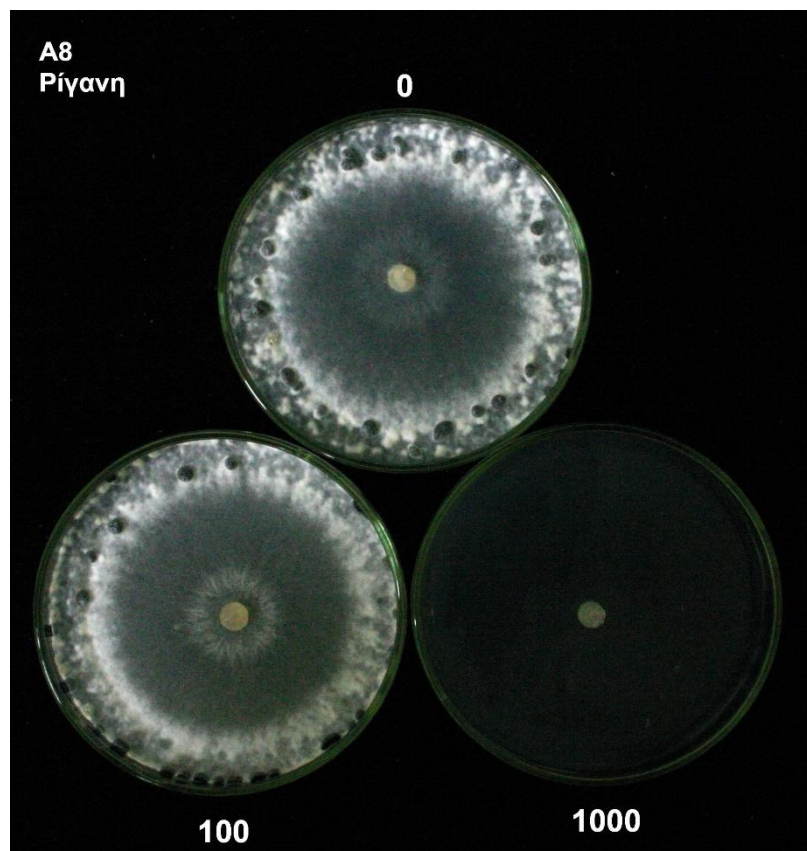
	A8 ΡΙΓΑΝΗ				
	7d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83,00	0,00
1000 ppm	83	6	6	31,67	25,67

Πίνακας 3.28: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως A16 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή ρίγανης.

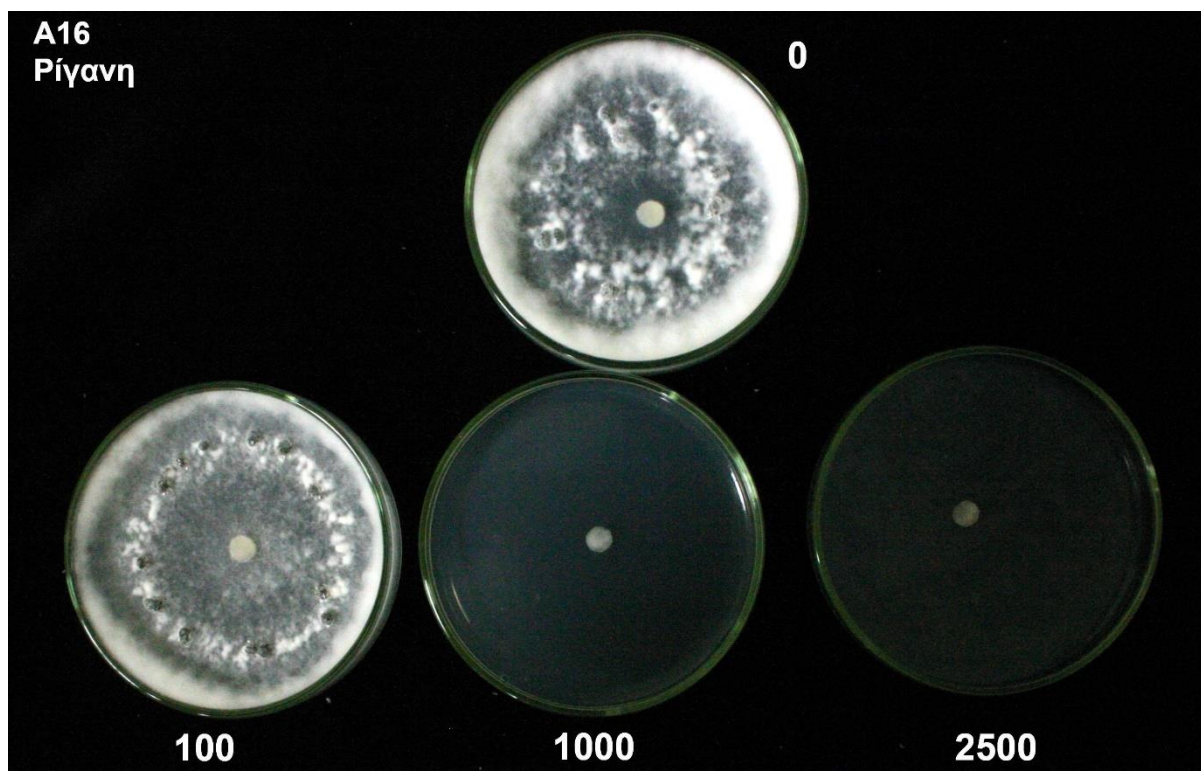
	A16 ΡΙΓΑΝΗ				
	7d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	83	6	31,67	25,67



Εικόνα 3.4: Τρυβλία της απομονώσεως **H1** την έβδομη ημέρα έπειτα από προσθήκη **0 ppm**, **100 ppm** και **1000 ppm** αιθέριου ελαίου ρίγανης.



Εικόνα 3.5: Τρυβλία της απομονώσεως **A8** την έβδομη ημέρα έπειτα από προσθήκη **0 ppm**, **100 ppm** και **1000 ppm** αιθέριου ελαίου ρίγανης.

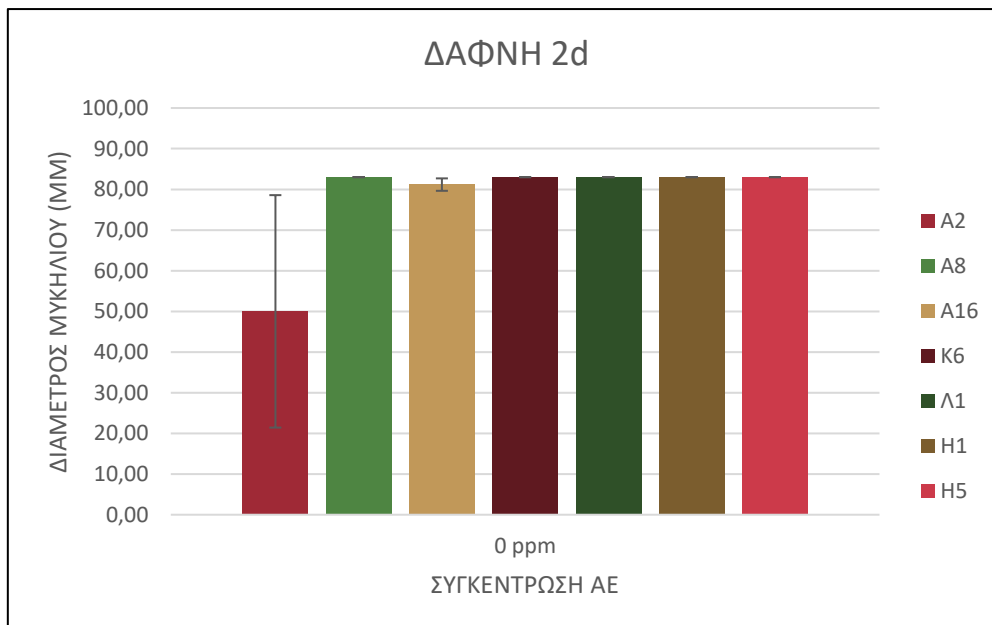


Εικόνα 3.6: Τρυβλία της απομονώσεως **A16** την έβδομη ημέρα έπεται από προσθήκη **0 ppm, 100 ppm, 1000μ ppm και 2500 ppm** αιθέριου ελαίου

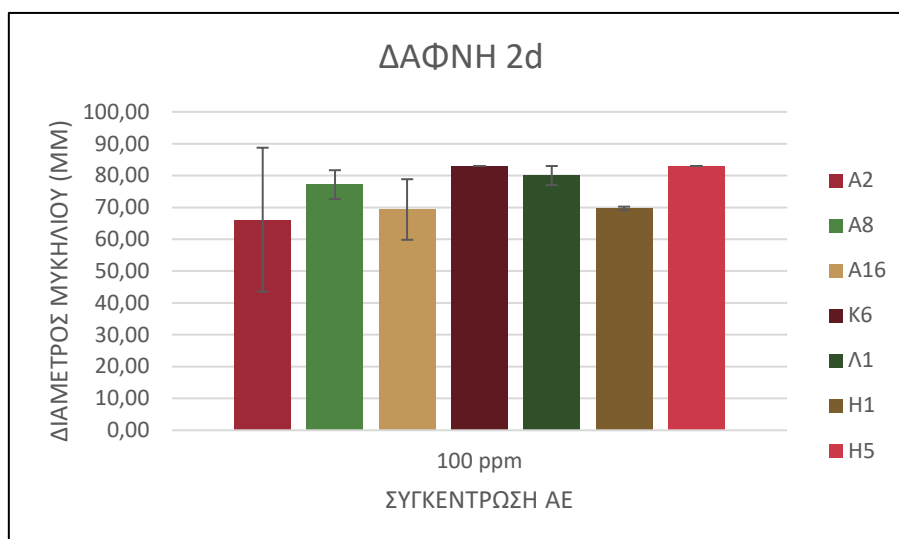
3.4. Επίδραση αιθέριου ελαίου δάφνης στις απομονώσεις του μύκητα *S. sclerotiorum*

Σε αρχικό στάδιο του πειράματος έγινε η δοκιμή σε μια απομόνωση με σκοπό τον προσδιορισμό της MIC. Έτσι, δοκιμάστηκαν οι παρακάτω συγκεντρώσεις: 10 ppm, 100 ppm, 1000 ppm και 2500 ppm, με την πρώτη και την τελευταία να απορρίπτονται καθώς η ανάπτυξη του μύκητα σταματούσε ήδη από τα 1000 ppm ενώ παρατηρούνταν ανεμπόδια στα 100 ppm. Συνεπώς όλα τα πειράματα με το αιθέριο έλαιο δάφνης έγιναν με τις συγκεντρώσεις 0 ppm, 100 ppm και 1000 ppm, ενώ μετρήσεις πάρθηκαν στις δύο, τρεις και επτά ημέρες αντίστοιχα, δεδομένα που φαίνονται στα παρακάτω διαγράμματα.

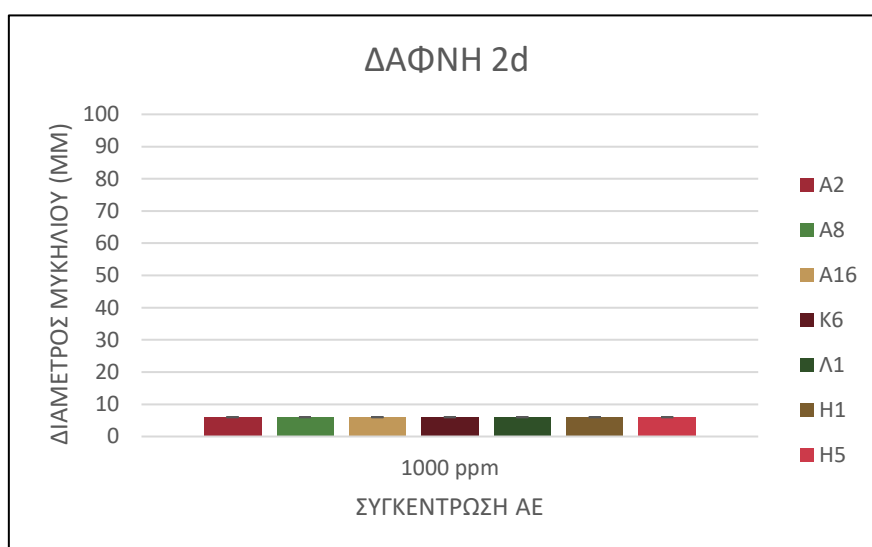
3.4.1. Δράση δάφνης σε δύο ημέρες



Διάγραμμα 3.28: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **0 ppm** στις 2 dpi.



Διάγραμμα 3.29: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 2 dpi.



Διάγραμμα 3.30: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 2 dpi.

Στις 2 dpi, οι μάρτυρες των απομονώσεων A8, K6, Λ1, H1 και H5 παρουσίασαν την μεγαλύτερη ανάπτυξη, η οποία συμπίπτει με την διάμετρο του τρυβλίου (83 mm), ενώ η απομόνωση A2 είχε την μικρότερη διάμετρο (Διάγραμμα 3.28). Στην αμέσως επόμενη συγκέντρωση (100 ppm), η μεγαλύτερη ανάπτυξη παρατηρήθηκε στις απομονώσεις K6 και H5 ενώ η μικρότερη τιμή αποδίδεται στις απομονώσεις A2, A16 και H1 (Διάγραμμα 3.29). Τέλος στην υψηλότερη συγκέντρωση παρατηρήθηκε η ίδια εικόνα, αυτή της μηδενικής ανάπτυξης σε όλες τις απομονώσεις (Διάγραμμα 3.30).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5, A16, H1 και A2, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A8, MS1, K1, K6, Λ1 και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 0 ppm της απομονώσεως A2, που ο μέσος όρος των διαμέτρων των αποικιών της έφτασε τα 2/3 αυτού της H5. Στα 100 ppm, οι μέσοι όροι των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων A2, A16 και H1 ήταν ίσοι με τα 4/5 του αντίστοιχου της H5.

Πίνακας 3.29: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως H5 στις 2 ημέρες

	H5 ΔΑΦΝΗ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.30: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως H1 στις 2 ημέρες

	H1 ΔΑΦΝΗ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	70	70	69	69,67	0,58
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.31: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως A2 στις 2 ημέρες

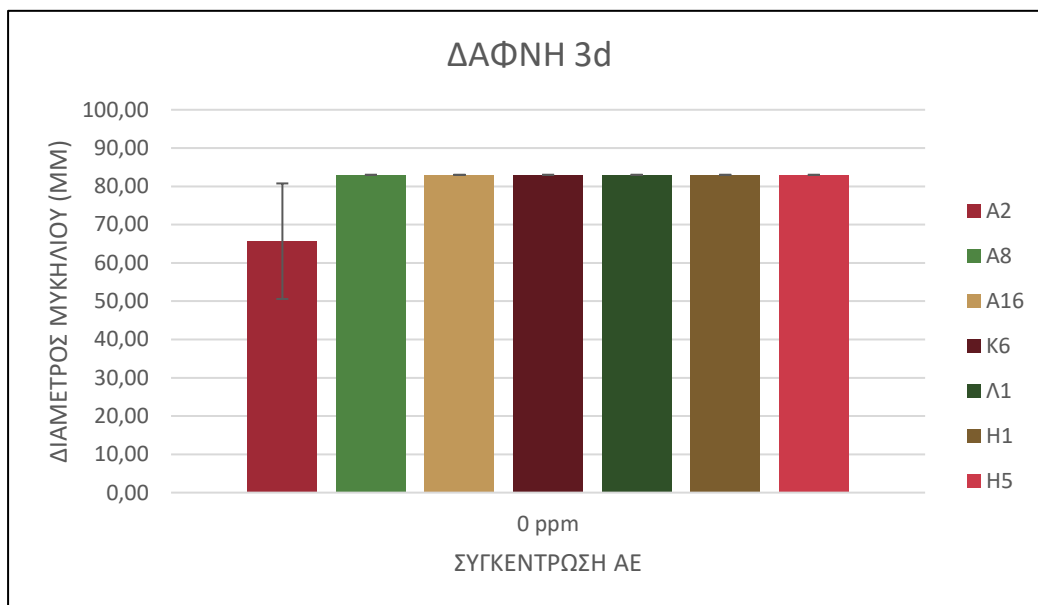
	A2 ΔΑΦΝΗ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	33,5	83	33,5	50	28,58
100 ppm	83	40,5	75	66,17	22,59
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.32: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως A16 στις 2 ημέρες

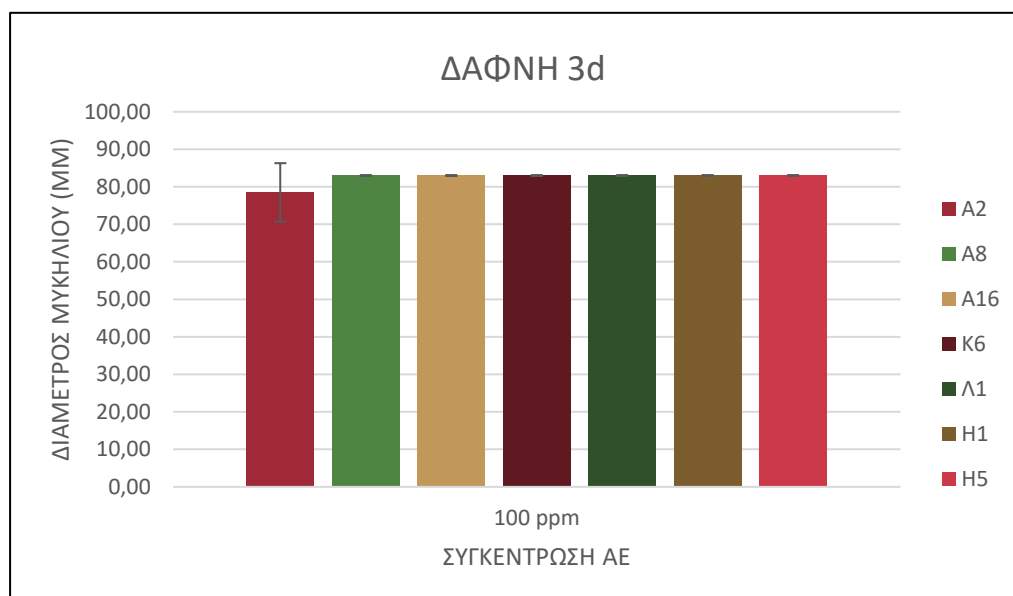
	A16 ΔΑΦΝΗ				
	2d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	82,5	81,5	79,5	81,17	1,53
100 ppm	78,5	59,5	70	69,33	9,52
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00

3.4.2. Δράση δάφνης σε τρεις ημέρες

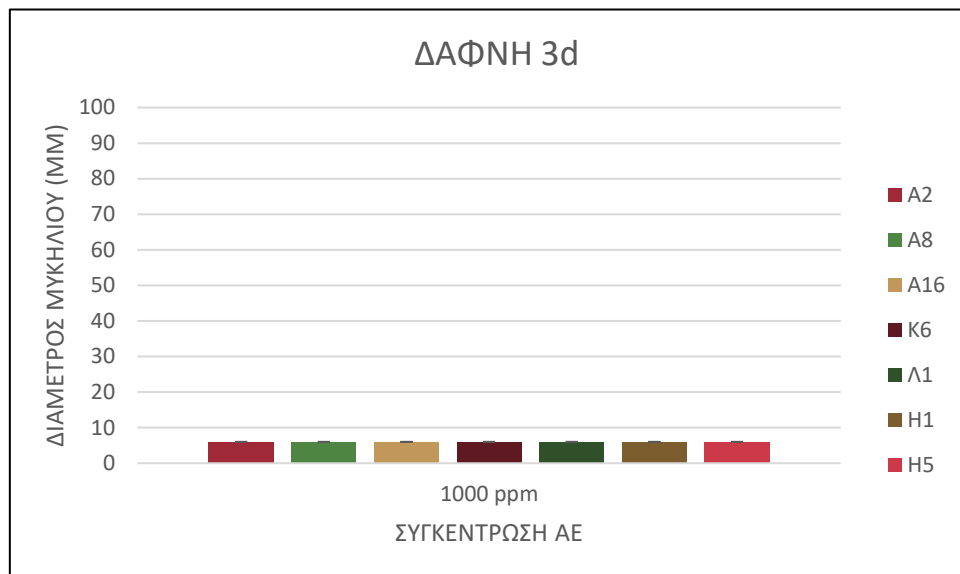
Συνεχίζοντας με την δεύτερη μέρα των παρατηρήσεων, πάρθηκαν μετρήσεις από όλες τις απομονώσεις, οι οποίες παρατίθενται στα διαγράμματα 3.31-3.33.



Διάγραμμα 3.31: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **0 ppm** στις 3 dpi.



Διάγραμμα 3.32: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 3 dpi.



Διάγραμμα 3.33: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 3 dpi.

Στις 3 dpi, στους μάρτυρες όλων των απομονώσεων -πλην της A2 - παρατηρείται αρκετά ικανοποιητική ανάπτυξη που αγγίζει τα όρια του τρυβλίου. Η απομόνωση A2 παρά το γεγονός πως φάνηκε να αναπτύσσεται απρόσκοπτα, δεν σημείωσε τον ίδιο ρυθμό ανάπτυξης μυκηλίου με τις υπόλοιπες έξι (Διάγραμμα 3.31). Στα 100 ppm, η πλειοψηφία των απομονώσεων είχε καλύψει ολόκληρο το τρυβλίο, με εξαίρεση και πάλι την απομόνωση A2 (Διάγραμμα 3.32). Στην μεγαλύτερη συγκέντρωση, τα 1000 ppm, δεν παρατηρήθηκε ανάπτυξη πέρα από τον αρχικό δίσκο (Διάγραμμα 3.33).

Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5 και A2, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A8, A16, MS1, K1, K6, Λ1 και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 0 ppm της απομονώσεως A2, οι μέσοι όροι των διαμέτρων των οποίων ήταν περίπου στα 3/4 αυτού της H5. Στα 100 ppm, η ίδια απομόνωση παρουσιάζει μέσο όρο διαμέτρου αποικιών ίσο με τα 9/10 αυτού της H5.

Πίνακας 3.33 : Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως H5 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή δάφνης.

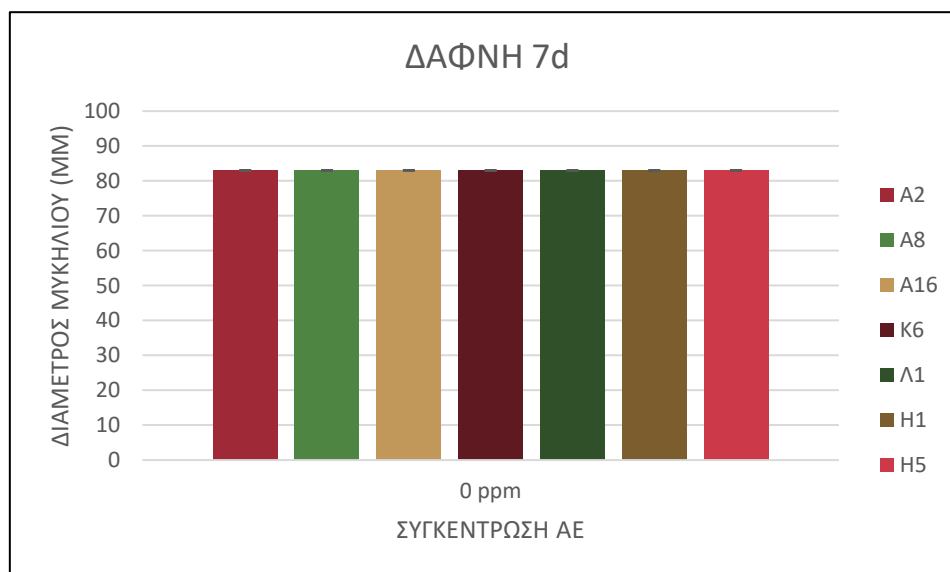
	H5 ΔΑΦΝΗ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.34 : Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως A2 στις 3 ημέρες μετά την εφαρμογή δάφνης.

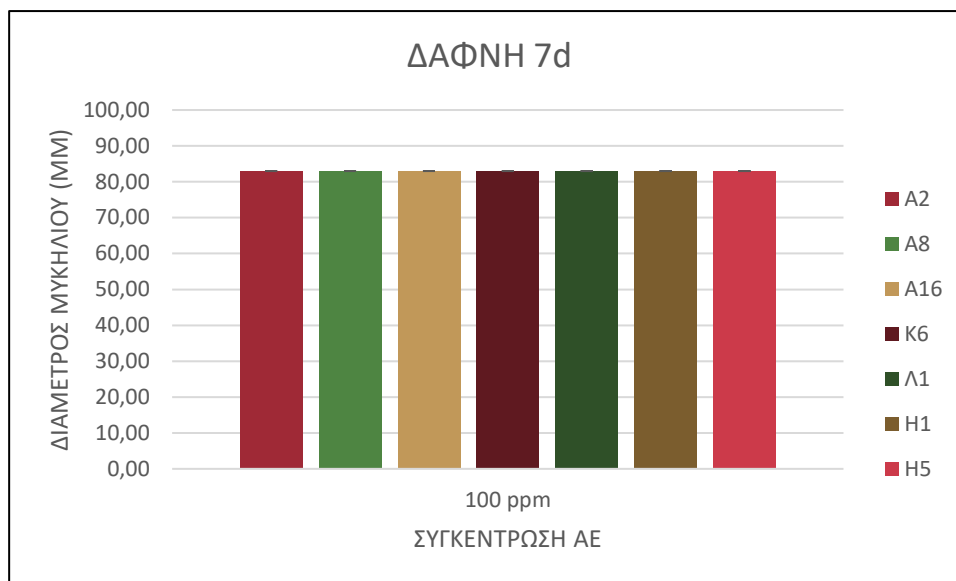
	A2 ΔΑΦΝΗ				
	3d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	55,5	83	58,5	65,67	15,09
100 ppm	83	69,5	83	78,50	7,79
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00

3.4.3. Δράση δάφνης σε επτά ημέρες

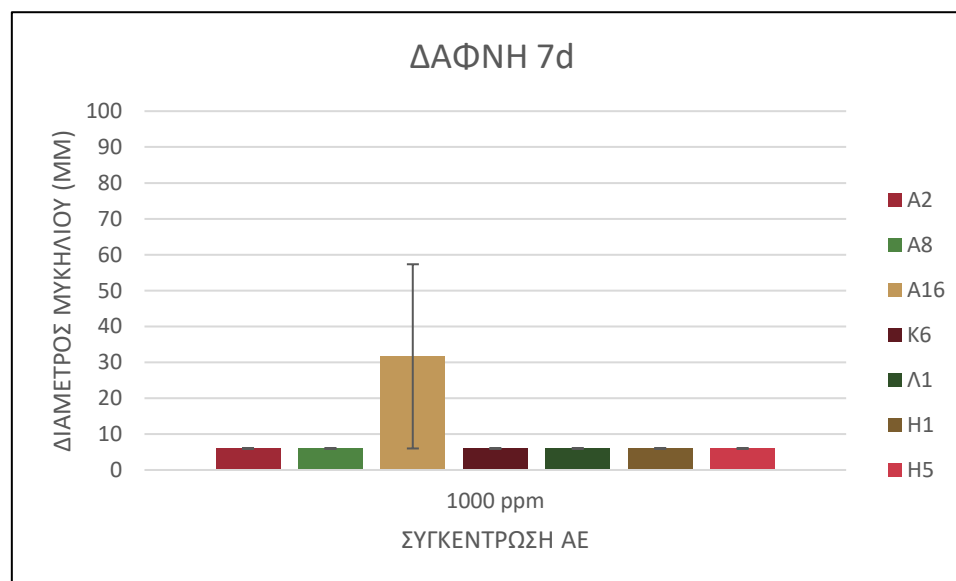
Τα δεδομένα της τελευταίας μέρας των μετρήσεων (μια εβδομάδα μετά την τοποθέτηση τους στον επωαστικό θάλαμο) παρουσιάζονται στα διαγράμματα 3.34-3.36.



Διάγραμμα 3.34: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **0 ppm** στις 7 dpi..



Διάγραμμα 3.35: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **100 ppm** στις 7 dpi.



Διάγραμμα 3.36: Μέσοι όροι και τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών απομονώσεων έπειτα από εφαρμογή **1000 ppm** στις 7 dpi.

Στις 7 dpi, σε όλους τους μάρτυρες των απομονώσεων παρατηρήθηκε πως το μυκήλιο είχε καλύψει όλη την επιφάνεια του θρεπτικού υλικού, ακόμα και σε εκείνες που παρουσίασαν αρχικά μειωμένη ανάπτυξη (Διάγραμμα 3.34). Προχωρώντας στα 100 ppm, η οπτική εικόνα των τρυβλίων και στις επτά απομονώσεις ήταν ίδια με του

μάρτυρα καθώς η διάμετρος του μυκηλίου άγγιξε τα 83 mm (Διάγραμμα 3.35). Τέλος, στην μεγαλύτερη συγκέντρωση που δοκιμάστηκε δεν παρατηρήθηκε κάποια ανάπτυξη πέρα από τον αρχικό δίσκο, με την απομόνωση A16 να αποτελεί εξαίρεση (Διάγραμμα 3.36).

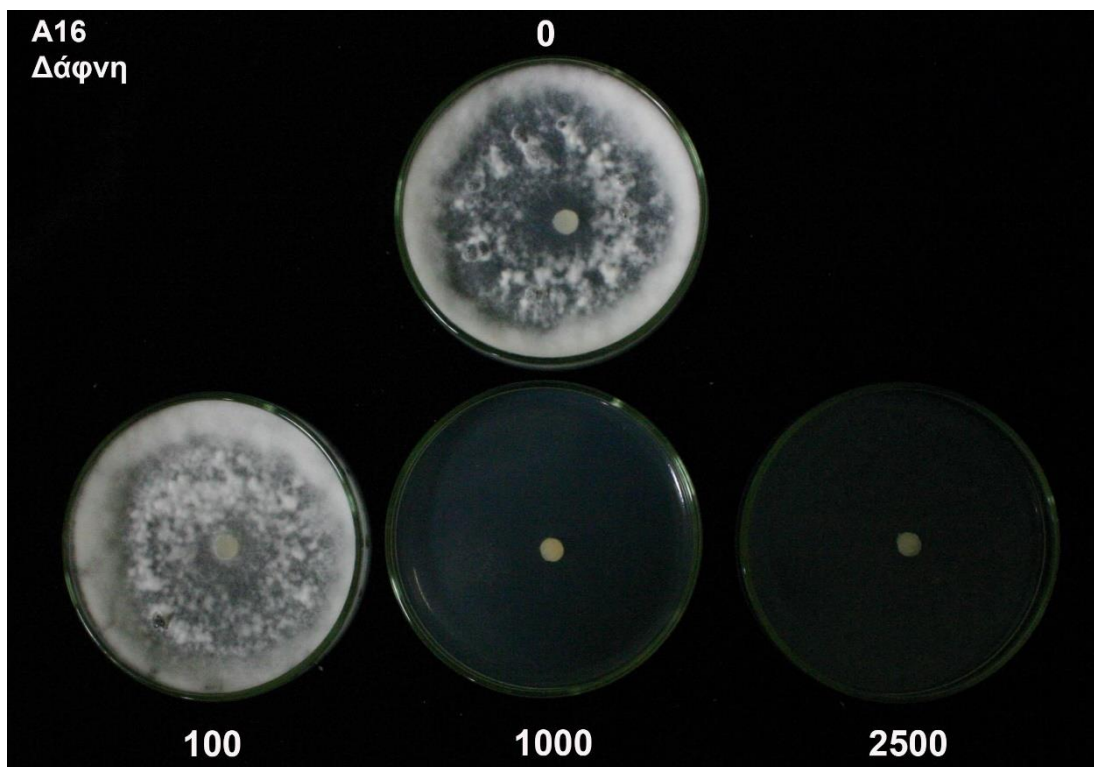
Επειδή ο μέσος όρος και η τυπική απόκλιση δεν αποτυπώνουν πλήρως τις παρατηρήσεις, παρακάτω παρατίθενται τρεις πίνακες με τις μετρήσεις, τους μέσους όρους και τις τυπικές αποκλίσεις των διαμέτρων των αποικιών των απομονώσεων H5 και A16, όπου η H5 είναι αντιπροσωπευτική των απομονώσεων A2, A8, MS1, K1, K6, Λ1 και Λ2 που έδωσαν παραπλήσια αποτελέσματα. Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν τα αποτελέσματα των μετρήσεων στα 1000 ppm, όπου παρατηρήθηκε πλήρης ανάπτυξη σε ένα τρυβλίο της απομονώσεως A16.

Πίνακας 3.35: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως H5 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή δάφνης..

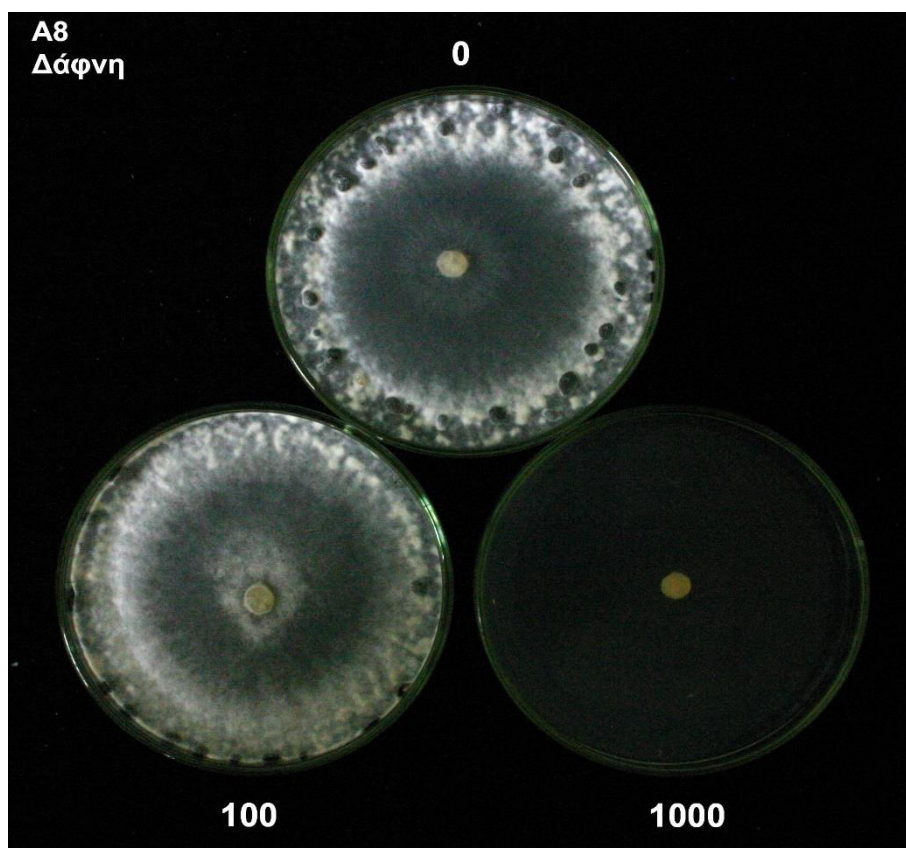
	H5 ΔΑΦΝΗ				
	7d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.35: Μετρήσεις διαμέτρων των αποικιών της απομονώσεως A16 στις 7 ημέρες μετά την εφαρμογή δάφνης..

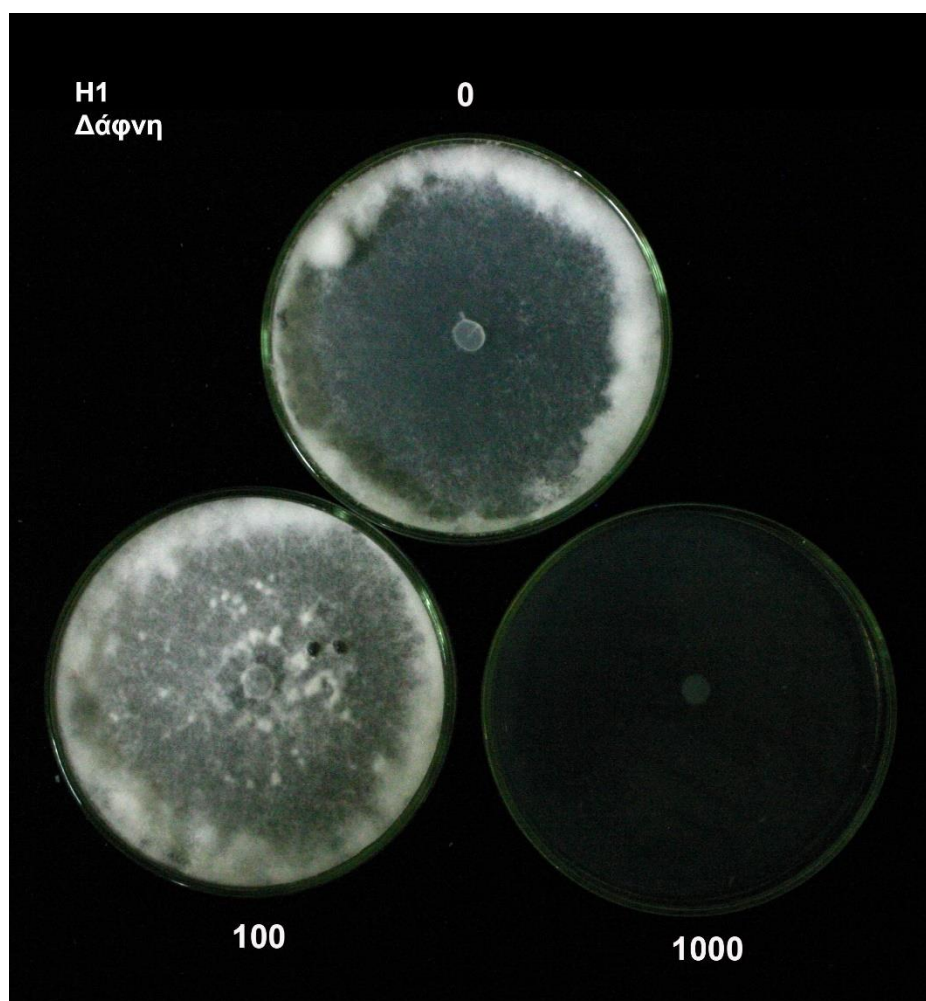
	A16 ΔΑΦΝΗ				
	7d (mm)			ΜΟ	ΤΑ
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83,00	0,00
1000 ppm	6	83	6	31,67	25,67



Εικόνα 3.7: Τρυβλία της απομονώσεως **A16** την έβδομη ημέρα έπειτα από προσθήκη **0 ppm**, **100 ppm**, **1000 ppm** και **2500 ppm** αιθέριου ελαίου δάφνης.



Εικόνα 3.8: Τρυβλία της απομονώσεως **A8** την έβδομη ημέρα έπειτα από προσθήκη **0 ppm**, **100 ppm** και **1000 ppm** αιθέριου ελαίου δάφνης.



Εικόνα 3.10: Τρυβλία της απομονώσεως **H1** την έβδομη ημέρα έπειτα από προσθήκη **0 ppm**, **100 ppm** και **1000 ppm** αιθέριου ελαίου δάφνης.

4. Ακριβέστερος προσδιορισμός της MIC

Σε ένα μεμονωμένο πείραμα που διεξάχθηκε παράλληλα με το κεντρικό, έγινε μια προσπάθεια ακριβέστερου προσδιορισμού της MIC του γαρυφάλλου με την χρήση μιας ενδιάμεσης συγκέντρωσης, όπως παρουσιάζεται στους πίνακες 3.36-3.38.

Πίνακας 3.36: Μετρήσεις της απομόνωσης A2 έπειτα από εφαρμογή γαρυφάλλου.

	A2 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	2d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83,00	0,00
100 ppm	75	83	83	80,33	4,62
333 ppm	50,00	25,67	15,00	30,22	17,94
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00
	3d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
333 ppm	83,00	54,00	15,00	50,67	34,12
1000 ppm	6	6	6	6	0,00
	7d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
333 ppm	83,00	83,00	28,33	64,78	31,56
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.37: Μετρήσεις της απομόνωσης Λ1 έπειτα από εφαρμογή γαρυφάλλου.

	Λ1 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ				
	2d (mm)			MO	TA
0 ppm	23	83	83	63,00	34,64
100 ppm	54,5	83	77,5	71,67	15,12
333 ppm	24	26	48	32,67	13,32
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00
	3d (mm)			MO	TA
0 ppm	29,5	83	83	65,17	30,89
100 ppm	83	83	83	83,00	0,00
333 ppm	58,5	61,5	83	67,67	13,36
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00
	7d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
333 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

Πίνακας 3.38: Μετρήσεις της απομόνωσης H5 έπειτα από εφαρμογή γαρυφάλλου.

H5 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ					
	2d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83,00	0,00
100 ppm	83	83	83	83,00	0,00
333 ppm	53	56,5	57,5	55,67	2,36
1000 ppm	6	6	6	6,00	0,00
	3d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
333 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00
	7d (mm)			MO	TA
0 ppm	83	83	83	83	0,00
100 ppm	83	83	83	83	0,00
333 ppm	83	83	83	83	0,00
1000 ppm	6	6	6	6	0,00

5. Επιφανειακή απολύμανση σκληρωτίων

Σύμφωνα με την πρώτη δοκιμή που περιεγράφηκε στο κεφάλαιο 2.3, έπειτα από την τοποθέτηση των σκληρωτίων σε θρεπτικό υλικό PDA και την παραμονή τους στον επωαστικό θάλαμο, παρατηρήθηκε η ανάπτυξη ζυμών. Έτσι, ακολούθησε η δεύτερη δοκιμή κατά την οποία βρέθηκε πως ο καλύτερος χρόνος παραμονής στο διάλυμα χλωρίνης ήταν τα τρία λεπτά, καθώς στα πέντε λεπτά δεν αναπτυσσόταν ο μύκητας, ενώ η διαδικασία βελτιώθηκε με τα βήματα που προστέθηκαν στην τρίτη δοκιμή για την αποτροπή ανάπτυξης ζυμών.

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Η μελέτη ενός τόσο διαδεδομένου παθογόνου μύκητα παρουσιάζει αμείωτο ενδιαφέρον από μόνη της, μα αν συνδυαστεί με το ανανεωμένο ενδιαφέρον για τα αιθέρια έλαια ως παράγοντες αντιμετώπισης , απόρροια της στροφής των φυτοπροστάτων, των κρατικών οργανισμών και των εταιριών προς έναν πιο οικολογικό τρόπο διαχείρισης των παθογόνων, αποκτά αμέσως νέες προοπτικές.

Στην παρούσα διατριβή διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα τεσσάρων αιθέριων ελαίων (ευκάλυπτος, γαρύφαλλο, ρίγανη και δάφνη) ως προς δέκα διαφορετικές απομονώσεις του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*, χρησιμοποιώντας την μέθοδο της αραίωσης σε θρεπτικό υλικό PDA.

Κατά την εκτέλεση του πειράματος, στο στάδιο της ανάμειξης του αιθέριου ελαίου με τον διαλύτη στην περίπτωση της δάφνης και της ρίγανης χρειαζόταν περισσότερη ανακίνηση για να ομογενοποιηθεί και να μην περισσεύει στον πάτο του errendorf σε σχέση με το γαρύφαλλο και τον ευκάλυπτο. Κάτι τέτοιο πιθανώς συνέβη εξαιτίας του διαλύτη, του Tween-20, του οποίου η φύση ή και η ποσότητα δεν είχαν την άριστη αλληλεπίδραση με τα δύο αυτά αιθέρια έλαια. Παρά όμως αυτή τη μικρή δυσκολία η ομογενοποίηση επιτεύχθηκε και το πείραμα εξελίχθηκε καλώς.

Κατά τις πρώτες δοκιμές παρατηρήθηκε ένας σκούρος καφέ ως μαύρος χρωματισμός του δίσκου εμβολιασμού ακόμα από τις δύο μέρες επώασης, ο οποίος φάνηκε να καθυστερεί εν μέρει την ανάπτυξη του μύκητα αλλά όχι να την αναστέλλει καθώς στις επτά ημέρες είχε φτάσει την άκρη του τρυβλίου, άρα το μυκήλιο ήταν ενεργό. Για να διερευνηθεί η επίδραση του στο πειράματα εκτελέστηκαν κάποιες επαναλήψεις από τις ίδιες απομονώσεις αλλά με ανάποδο δίσκο, σύμφωνα με τις οποίες εξήχθη το συμπέρασμα πως πιθανώς πρόκειται για χαρακτηριστικό της απομόνωσης και όχι αποτέλεσμα μερικής νέκρωσης του μυκηλίου μιας και το οπτικό αποτέλεσμα ήταν το ίδιο.

Ένας ακόμα λόγος για την περιορισμένη ανάπτυξη του μυκηλίου ορισμένων απομονώσεων πιθανώς μπορεί να είναι η μειωμένη ενεργότητα του μυκηλίου. Στην συγκεκριμένη πτυχιακή έγινε συνειδητή προσπάθεια ο δίσκος που χρησιμοποιούταν από κάθε τρυβλίο για την κάθε επανάληψη μιας συγκέντρωσης ενός ΑΕ να ήταν από αντίθετο ή τουλάχιστον αρκετά απομακρυσμένο σημείο του αρχικού τρυβλίου έτσι

ώστε να περιοριστεί η πιθανότητα του φαινομένου. Όπως είναι φυσικό όμως, σε ορισμένες περιπτώσεις πάρθηκε μυκήλιο από πιο κοντινές περιοχές κι έτσι ίσως να επηρεάστηκε το αποτέλεσμα του πειράματος. Προτείνεται λοιπόν στο μέλλον η χρήση κάποιου αναγνωριστικού σημαδιού.

Οι απομονώσεις που είχαν την τάση να συγκεντρώνουν χρωστική γύρω από το δίσκο έδειξαν ένα είδους προτίμησης να παράγουν σκληρώτια πάνω ή κοντά σε αυτόν, τα οποία τις πρώτες μέρες ήταν άχρωμα και στην συνέχεια έπαιρναν το χαρακτηριστικό μαυριδερό τους χρώμα. Επιπρόσθετα, το φαινόμενο αυτό παρατηρήθηκε να είναι πιο έντονο όταν το μυκήλιο που χρησιμοποιούταν για εμβολιασμό είχε αναπτυχθεί για τέσσερις ημέρες στον επωαστικό, μιας και όταν το πείραμα επαναλήφθηκε για τις ίδιες απομονώσεις αλλά με μυκήλιο τριών ημερών δεν παρατηρήθηκε το ανάλογο μαύρισμα του δίσκου. Πιθανολογείται, λοιπόν, πως η έκλυση χρωστικής που σημειώθηκε έχει κάποια σχέση με την παραγωγή σκληρωτίων, με το έναυσμα παραγωγής τους να παραμένει άγνωστο μιας και κάποιες απομονώσεις σχημάτισαν σκληρώτια από τις δύο κιόλας μέρες ενώ άλλες μονάχα έπειτα από μια εβδομάδα.

Στις απομονώσεις A2 και Λ1 παρατηρήθηκε η παραγωγή χρωστικής στις πρώτες ημέρες δίχως την εμφάνιση σκληρωτίων, συμβάν που παρουσίαζε αρκετό ενδιαφέρον καθώς και στα τρία τρυβλία του εκάστοτε πειράματος η καφετί χρωστική αυτή εντοπιζόνταν προς την ίδια κατεύθυνση, γεγονός που ίσως να οφείλεται στην ποσότητα φωτός που δέχθηκαν οι απομονώσεις, κάτι που χρήζει περαιτέρω έρευνας.

Ακόμα η απομόνωση Λ2 έπειτα από την επίδραση 100 rpm γαρυφάλλου στις δύο ημέρες εμφάνισε μεμονωμένες περιοχές ανοιχτής κίτρινης χρωστικής στην περιφέρεια του τρυβλίου, οι οποίες στο τέλος της εβδομάδας είχαν σκουράνει. Καθώς δεν παρατηρήθηκε ζώνη παρεμπόδισης ή κάποια αναπαραγωγική δομή κάποιου άλλου παθογόνου, θεωρήθηκε πως δεν αποτελούσε επιμόλυνση, όμως η πραγματική της φύση χρήζει διερεύνησης.

Γενικότερα στις τριάδες τρυβλίων των απομονώσεων A16 και στα τέσσερα αιθέρια έλαια, A8, K6 και H1 μόνο στον ευκάλυπτο στις επτά ημέρες παρατηρήθηκε ανάπτυξη πέρα από τον αρχικό δίσκο εμβολιασμού. Αυτό το γεγονός ίσως ευθύνεται στην ανεπαρκή ανάμειξη του ΑΕ με το θρεπτικό καθώς αυτά τα εννέα τρυβλία προήλθαν από την ίδια κωνική. Βέβαια στην περίπτωση της A16, το πείραμα της οποίας

πραγματοποιήθηκε μόνο του, ο λόγος πίσω από την πλήρη ανάπτυξη του ενός τρυβλίου αποτελεί πιθανό θέμα περαιτέρω διερεύνησης, καθώς παρόμοια συμπεριφορά εντοπίστηκε και στα λοιπά ΑΕ.

Πριν από κάθε πείραμα, έγινε ένα αντίστοιχο προκαταρτικό για τον προσδιορισμό της ελάχιστης παρεμποδιστικής συγκέντρωσης. Από προηγούμενες μελέτες του εργαστηρίου είχε βρεθεί πως για τον ευκάλυπτο αυτή είναι τα 2500 ppm, κάτι που επαληθεύτηκε από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας. Για τα λοιπά τρία ΑΕ βρέθηκε πως ήταν τα 1000 ppm, όμως ενδεικτικά για αυτό του γαρύφαλλο δοκιμάστηκε μια ενδιάμεση συγκέντρωση με σκοπό του ακριβούς προσδιορισμού της. Κάτι τέτοιο παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον καθώς η εύρεση της ελάχιστης συγκεντρώσεως στην οποία είναι αποτελεσματικό ένα ΑΕ μπορεί να αποτελέσει τον προάγγελο για την ευρεία χρήση του ως φυτοπροστατευτικό σκεύασμα. Βέβαια για την πραγματοποίηση αυτού του σκοπού απαιτούνται μια σειρά πειραμάτων σε μια πλειάδα συγκεντρώσεων και απομονώσεων του συγκεκριμένου μύκητα, μια διαδικασία της οποίας το κόστος μπορεί να αποβεί απαγορευτικό και εξαρτάται από πολυάριθμους παράγοντες, όπως την μέθοδο παραλαβής του ΑΕ και τον τρόπο αξιολόγησης της δράσης του.

Συγκριτικά με άλλες μελέτες που έχουν διεξαχθεί για την δράση του ευκαλύπτου στον μύκητα αυτό, η MIC έχει βρεθεί στα 500 ppm (Elgorban et al. 2014), στα 1500 ppm (Davari and Ezazi 2017) ενώ στην παρούσα πτυχιακή και σε μια προηγούμενη από το ίδιο εργαστήριο (Κομνηνάκη 2020) βρέθηκε στα 2500 ppm. Όσο αναφορά το γαρύφαλλο από την υπάρχουσα βιβλιογραφία φαίνεται ότι η MIC εντοπίζεται στα 2 ppm (Al-Taisan et al. 2014) αλλά και στα 500 ppm (Parikh et al. 2021) ενώ στο συγκεκριμένο πείραμα βρέθηκε στα 1000 ppm. Προχωρώντας στην ρίγανη, η τιμές της MIC από διάφορα πειράματα κυμαίνονται μεταξύ των 3,2 ppm (Soylu et al. 2007) και 1000 ppm (Parikh et al. 2021), με τα αποτελέσματα της πτυχιακής να συνάδουν με την τελευταία τιμή. Τέλος, για το παθογόνο μύκητα αυτό έχει διεξαχθεί ένα πείραμα που απέδειξε ότι τα 1000 ppm δάφνης δεν παρεμποδίζουν καθόλου την ανάπτυξη του (Mueller-Riebau et al. 1995), την στιγμή που στην παρούσα διατριβή η ίδια τιμή βρέθηκε ως MIC του συγκεκριμένου ΑΕ. Όλες αυτές οι διαφορές στα αποτελέσματα πιθανώς οφείλονται στην ποικιλοότητα των απομονώσεων *Sclerotinia sclerotiorum*, στο ίδιο το ΑΕ που χρησιμοποιήθηκε (τρόπος παραλαβής, ηλικία φυτού, γεωκλιματικές συνθήκες καλλιέργειας κ.α.) αλλά και στον διαλύτη που χρησιμοποιήθηκε.

7. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Έχοντας ολοκληρώσει την επεξεργασία των δεδομένων της παρούσας εργασίας εξάγονται τα παρακάτω συμπεράσματα:

- I. Όλα τα ΑΕ αυτά εμφανίζουν αντιμικροβιακή δράση στον μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum*.
- II. Ο ευκάλυπτος είναι το λιγότερο δραστικό καθώς απαιτεί μεγαλύτερη συγκέντρωση για την παρεμπόδιση της ανάπτυξης του μυκηλίου.
- III. Η δάφνη φαίνεται να είναι το πιο αποτελεσματικό ΑΕ, με την ρίγανη και το γαρύφαλλο να ακολουθούν.
- IV. Η MIC για το γαρύφαλλο, τη ρίγανη και τη δάφνη είναι τα 1000 ppm.
- V. Η χρονική διάρκεια παραμονής της απομόνωσης στον επωαστικό θάλαμο επηρεάζει τον φαινότυπο και την συμπεριφορά του μύκητα.
- VI. Περαιτέρω διερεύνηση για την επίδραση του διαλύτη και την σχέση του με τα ΑΕ κρίνεται απαραίτητη.
- VII. Αναγκαία είναι η επανάληψη του πειράματος αυτού in planta για την καλύτερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

8. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

1. Abawi G.S., Grogan R.G, 1979. "Epidemiology of Disease Caused by Sclerotinia Species." *Phytopathology* 69: 899–904.
2. Al-Taisan, W., Bahkali A.H., Elgorban A., and. El-Metwally M., 2014. "Effective Influence of Essential Oils and Microelements against Sclerotinia Sclerotiorum." *International Journal of Pharmacology* 10(5): 275–81.
3. Arshad Z., Hanif M., Qadri R., Khan M. 2014. "Role of Essential Oils in Plant Diseases Protection: A Review." *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences* 6: 11–17.
4. Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. , Idaomar M. 2008. "Biological Effects of Essential Oils,a Review." *Food and Chemical Toxicology* 46(2): 446–75.
5. Başer K.H.C., Demirci F. 2007. "Chemistry of Essential Oils." In *Flavours and Fragrances*, Berlin, Heidelberg: Springer, 43–86.
6. Bassolé I.H.N., Juliani H.R., 2012. "Essential Oils in Combination and Their Antimicrobial Properties." *Molecules* 17(4): 3989–4006.
7. Ben Arfa A. Combes S., Preziosi-Belloy L., Gontard N., Chalier P., 2006. "Antimicrobial Activity of Carvacrol Related to Its Chemical Structure." *Letters in Applied Microbiology* 43(2): 149–54.
8. Berić T., Biljana N., Stanojević J., Vuković-Gaćić B., Knezević-Vukcević J., 2008. "Protective Effect of Basil (*Ocimum Basilicum* L.) against Oxidative DNA Damage and Mutagenesis." *Food and Chemical Toxicology* 46(2): 724–32.
9. Böhme K., Barros-Velázquez J, Calo-Mata P., Aubourg S.P.. 2014. "Antibacterial, Antiviral and Antifungal Activity of Essential Oils: Mechanisms and Applications." In *Antimicrobial Compounds: Current Strategies and New Alternatives*, Berlin,Heidelberg: Springer, 51–81.
10. Burt S. 2004. "Essential Oils: Their Antibacterial Properties and Potential Applications in Foods,a Review." *International Journal of Food Microbiology* 94(3): 223–53.
11. Burt S. A., Vlieland R., Haagsman H.P., Veldhuizen E.J.A. 2005. "Increase in Activity of Essential Oil Components Carvacrol and Thymol against *Escherichia Coli* O157:H7 by Addition of Food Stabilizers." *Journal of Food Protection* 68(5): 919–26.
12. Caesar A.J., and Pearson R.C. 1983. "Environmental Factors Affecting Survival of Ascospores of Sclerotinia Sclerotiorum." *Phytopathology* 73: 1024–30.

13. Canillac N., Mourey A., 2004. "Effects of Several Environmental Factors on the Anti-*Listeria Monocytogenes* Activity of an Essential Oil of *Picea Excelsa*." *International Journal of Food Microbiology* 92(1): 95–103.
14. Carson C. F., Mee B.J., Riley T.V., 2002. "Mechanism of Action of *Melaleuca Alternifolia* (Tea Tree) Oil on *Staphylococcus Aureus* Determined by Time-Kill, Lysis, Leakage, and Salt Tolerance Assays and Electron Microscopy." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46(6): 1914–20.
15. Cessna S.G., Sears V.E., Dickman M.B., and Low, P.S., 2000. "Oxalic Acid, a Pathogenicity Factor for *Sclerotinia Sclerotiorum*, Suppresses the Oxidative Burst of the Host Plant." *The Plant Cell* 12(11): 2191–99.
16. Chang S.T., Chen P.F., Chang S.C., 2001. "Antibacterial Activity of Leaf Essential Oils and Their Constituents from *Cinnamomum Osmophloeum*." *Journal of Ethnopharmacology* 77(1): 123–27.
17. Chet I., Henis Y., 1975. "Sclerotial Morphogenesis in Fungi." *Annual Review of Phytopathology* 13: 169–92.
18. Clifford M.N., 2000. "Miscellaneous Phenols in Foods and Beverages – Nature, Occurrence and Dietary Burden." *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 1126–37.
19. Cotton, P., Rasclé C., Fevre M., 2002. "Characterization of PG2, an Early Endo PG Produced by *Sclerotinia Sclerotiorum*, Expressed in Yeast." *FEMS Microbiology Letters* 213(2): 239–44.
20. Dadalıoğlu I., Evrendilek G.A., 2004. "Chemical Compositions and Antibacterial Effects of Essential Oils of Turkish Oregano (*Origanum Minutiflorum*), Bay Laurel (*Laurus Nobilis*), Spanish Lavender (*Lavandula Stoechas* L.), and Fennel (*Foeniculum Vulgare*) on Common Foodborne Pathogens." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52(26): 8255–60.
21. Davari, M., 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 Médicale* 27(4): 463–68.
22. de Moraes S.M., Valdir Alves F. , Medeiros Bertini L., Solon Barreira Cavalcanti E., dos Anjos Júnior J.F., Aparecida Ferreira S., Sousa de Brito E., Alves de Souza Neto M., 2007. "Chemical Composition and Larvicidal Activity of Essential Oils from *Piper* Species." *Biochemical Systematics and Ecology* 35(10): 670–75.
23. Di Pasqua R., Betts G., Hoskins N., Edwards M., Ercolini D., Mauriello G., 2007. "Membrane Toxicity of Antimicrobial Compounds from Essential Oils." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55(12): 4863–70.
24. Duncan R.W. 2003. "Evaluation of Host Tolerance, Biological, Chemical, and Cultural Control of *Sclerotinia Sclerotiorum* in Sunflower (*Helianthus Annuus* L.)." University of Manitoba.

25. Dung N.T., Kim J.M., Kang S.C., 2008. "Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities of the Essential Oil and the Ethanol Extract of *Cleistocalyx Operculatus* (Roxb.) Merr and Perry Buds." *Food and Chemical Toxicology* 46(12): 3632–39.
26. Edris, A.E. 2007. "Pharmaceutical and Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A Review." *Phytotherapy Research* 21(4): 308–23.
27. Elgorban, A., Bahkali A.H., Metwally M.A., Elsheshtaw M., Wahab M.A.A., 2014. "In Vitro Antifungal Activity of Some Plant Essential Oils." *International Journal of Pharmacology* 11(1): 56–61.
28. EUCAST. 2000. "Terminology Relating to Methods for the Determination of Susceptibility of Bacteria to Antimicrobial Agents." *Clinical Microbiology and Infection* 6(9): 503–8.
29. Figueiredo A.C., Barroso J.G., Pedro L.G., Scheffer J.J.C., 2008. "Factors Affecting Secondary Metabolite Production in Plants: Volatile Components and Essential Oils." *Flavour and Fragrance Journal* 23: 213–26.
30. Fitzgerald D.J. , Stratford M., Gasson M.J., Ueckert J., Bos A., Narbad A., 2004. "Mode of Antimicrobial Action of Vanillin against *Escherichia Coli*, *Lactobacillus Plantarum* and *Listeria Innocua*." *Journal of Applied Microbiology* 97(1): 104–13.
31. Gang D.R, Lavid N., Zubieta C., Chen F., Beuerle T., Lewinsohn E., Noel J.P., Pichersky E., 2002. "Characterization of Phenylpropene O-Methyltransferases from Sweet Basil: Facile Change of Substrate Specificity and Convergent Evolution within a Plant O-Methyltransferase Family." *The Plant Cell* 14(2): 505–19.
32. Gershenzon J., Dudareva N., 2007. "The Function of Terpene Natural Products in the Natural World." *Nature Chemical Biology* 3(7): 408–14.
33. Girard V., Fevre M., and Bruel C., 2004. "Involvement of Cyclic AMP in the Production of the Acid Protease Acp1 by *Sclerotinia Sclerotiorum*." *FEMS Microbiology Letters* 237(2): 227–33.
34. Godoy G., Steadman J.R., Dickman M.B., Dam R., 1990. "Use of Mutants to Demonstrate the Role of Oxalic Acid in Pathogenicity of *Sclerotinia Sclerotiorum* on *Phaseolus Vulgaris*." *Physiological and Molecular Plant Pathology* 37(3): 179–91.
35. Gog L., Berenbaum M.R, DeLucia E.H, Zangerl A.R. , 2005. "Autotoxic Effects of Essential Oils on Photosynthesis in Parsley, Parsnip, and Rough Lemon." *CHEMOECOLOGY* 15: 115–19.
36. Goñi P., López P., Sánchez C., Gómez-Lus R., Becerril R., Nerín C., 2009. "Antimicrobial Activity in the Vapour Phase of a Combination of Cinnamon and Clove Essential Oils." *Food Chemistry* 116(4): 982–89.

37. Gulya T., Rashid K.Y., Masirevic S.M., 1997. "Sunflower Diseases." In *Sunflower Technology and Production*, Agronomy Monographs, American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, 263–379.
38. Gutierrez J., Barry-Ryan C., Bourke P., 2008. "The Antimicrobial Efficacy of Plant Essential Oil Combinations and Interactions with Food Ingredients." *International Journal of Food Microbiology* 124(1): 91–97.
39. Gutierrez J., Barry-Ryan C., Bourke P., 2009a. "Antimicrobial Activity of Plant Essential Oils Using Food Model Media: Efficacy, Synergistic Potential and Interactions with Food Components." *Food Microbiology* 26(2): 142–50.
40. Gutierrez J., Bourke P., Lonchamp J., Barry-Ryan C. 2009b. "Impact of Plant Essential Oils on Microbiological, Organoleptic and Quality Markers of Minimally Processed Vegetables." *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 10(2): 195–202.
41. Hammer K. A., Carson C. F., Riley T. V., 1999. "Influence of Organic Matter, Cations and Surfactants on the Antimicrobial Activity of Melaleuca Alternifolia (Tea Tree) Oil in Vitro." *Journal of Applied Microbiology* 86(3): 446–52.
42. Hammer K.A., Carson C.F., 2010a. "Antibacterial and Antifungal Activities of Essential Oils." In *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*, New Jersey, U.S.A.: John Wiley & Sons, 255–306.
43. Hammer K.A., Carson C.F., 2010b. "Chemistry and Bioactivity of Essential Oils." In *Lipids and Essential Oils as Antimicrobial Agents*, New Jersey, U.S.A.: John Wiley & Sons, 203–23.
44. Holley R.A., Patel D., 2005. "Improvement in Shelf-Life and Safety of Perishable Foods by Plant Essential Oils and Smoke Antimicrobials." *Food Microbiology* 22(4): 273–92.
45. Inouye S., Uchida K., Yamaguchi H., 2001. "In-Vitro and in-Vivo Anti-Trichophyton Activity of Essential Oils by Vapour Contact." *Mycoses* 44(3–4): 99–107.
46. Iscan G., Kırimer N.A., Kurkcuoglu M. , Başer K.H.C., 2005. "Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of Two Endemic Species from Turkey: Sideritis Cilicica and Sideritis Bilgerana." *Chemistry of Natural Compounds* 41(6): 679–82.
47. Juven B.J., Kanner J., Schved F., Weisslowicz H., 1994. "Factors That Interact with the Antibacterial Action of Thyme Essential Oil and Its Active Constituents." *Journal of Applied Bacteriology* 76(6): 626–31.
48. Kosasih B.D., Willetts H.J., 1975. "Ontogenetic and Histochemical Studies of the Apothecium of Sclerotinia Sclerotiorum." *Annals of Botany* 39(2): 185–91.

49. Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P.J., Nychas G.J., 2001. "A Study of the Minimum Inhibitory Concentration and Mode of Action of Oregano Essential Oil, Thymol and Carvacrol." *Journal of Applied Microbiology* 91(3): 453–62.
50. Lang G., Buchbauer G., 2011. "A Review on Recent Research Results (2008–2010) on Essential Oils as Antimicrobials and Antifungals. A Review." *Flavour and Fragrance Journal* 27(1): 13–39.
51. Lee K.W., Everts H., Beynen A., 2004. "Essential Oils in Broiler Nutrition." *International Journal of Poultry Science* 3(12): 738–52.
52. Marciano P., Di Lenna P., Magro P., 1983. "Oxalic Acid, Cell Wall-Degrading Enzymes and PH in Pathogenesis and Their Significance in the Virulence of Two *Sclerotinia Sclerotiorum* Isolates on Sunflower." *Physiological Plant Pathology* 22(3): 339–45.
53. Maroske S., May T.W., 2018. "Naming Names: The First Women Taxonomists in Mycology." *Studies in Mycology* 89: 63–84.
54. Martins A.P. , Salgueiro L., Vila R., Tomi F., Cañigueral S., Casanova J., Proença da Cunha A., Adzet T., 1998. "Essential Oils from Four Piper Species." *Phytochemistry* 49(7): 2019–23.
55. Mayaud L., Carricajo A., Zhiri A., Aubert G., 2008. "Comparison of Bacteriostatic and Bactericidal Activity of 13 Essential Oils against Strains with Varying Sensitivity to Antibiotics." *Letters in Applied Microbiology* 47(3): 167–73.
56. Mueller-Riebau F., Berger B, and. Yegen O., 1995. "Chemical Composition and Fungitoxic Properties to Phytopathogenic Fungi of Essential Oils of Selected Aromatic Plants Growing Wild in Turkey." *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 43(8): 2262–66.
57. Palfi, M., Konjevoda P, Vrandečić K., 2019. "Antifungal Activity of Essential Oils on Mycelial Growth of *Fusarium Oxysporum* and *Bortyis Cinerea*." *Emirates Journal of Food and Agriculture*: 544.
58. Papanikolaou S., Gortzi O., Margeli E., Chinou I., Galiotou-Panayotou M., and Lalas S., 2008. "Effect of *Citrus* Essential Oil Addition upon Growth and Cellular Lipids of *Yarrowia Lipolytica* Yeast." *European Journal of Lipid Science and Technology* 110(11): 997–1006.
59. Parikh L., Bright O. A., Burrows M. E., 2021. "Antifungal Activity of Plant-Derived Essential Oils on Pathogens of Pulse Crops." *Plant Disease* 105(6): 1692–1701.
60. Pellecuer J., Jacob M., de Buochberg S., Allegrini J., 1980. "THERAPEUTIC VALUE OF THE CULTIVATED MOUNTAIN SAVORY (*SATUREIA MONTANA* L. : LABIATAE)." *Acta Horticulturae* 96: 35–40.

61. Poussereau, N., Creton S., Billon-Grand G., Rascle C., Fevre M., 2001. "Regulation of Acp1, Encoding a Non-Aspartyl Acid Protease Expressed during Pathogenesis of *Sclerotinia Sclerotiorum*." *Microbiology* 147(3): 717–26.
62. Pozzatti P., Alves Scheid L., Borba Spader T., Linde Atayde M., Morais Santurio J., Hartz Alves S., 2008. "In Vitro Activity of Essential Oils Extracted from Plants Used as Spices against Fluconazole-Resistant and Fluconazole-Susceptible *Candida* Spp." *Canadian Journal of Microbiology* 54(11): 950–56.
63. Radaelli M., Parraga da Silva B., Weidlich L., Hoehne L., Flach A., Mendonça Alves da Costa L.M., Ethur E.M., 2014. "Antimicrobial Activities of Six Essential Oils Commonly Used as Condiments in Brazil against *Clostridium Perfringens*." *Brazilian Journal of Microbiology* 47(2): 424–30.
64. Regnier, T., Combrinck S., Veldman W., Du Plooy W., 2014. "Application of Essential Oils as Multi-Target Fungicides for the Control of *Geotrichum Citri-Aurantii* and Other Postharvest Pathogens of Citrus." *Industrial Crops and Products* 61: 151–59.
65. Riou, C., Freyssinet G., Fevre M., 1991. "Production of Cell Wall-Degrading Enzymes by the Phytopathogenic Fungus *Sclerotinia Sclerotiorum*." *Applied and Environmental Microbiology* 57(5): 1478–84.
66. Schwab W, Davidovich-Rikanati R., Lewinsohn E., 2008. "Biosynthesis of Plant-Derived Flavor Compounds." *The Plant Journal* 54(4): 712–32.
67. "Sclerotinia Sclerotiorum." *Mycobank Database*.
<https://www.mycobank.org/page/Name%20details%20page/24988>
 (Πρόσβαση στις 12 Σεπτεμβρίου 2022).
68. Serra S., Fuganti C., Brenna E., 2005. "Biocatalytic Preparation of Natural Flavours and Fragrances." *Trends in Biotechnology* 23(4): 193–98.
69. Sharma P., Meena P.D., Verma P.R., Saharan G.S., Mehta N., Singh D., Kumar A. , 2015. "Sclerotinia Sclerotiorum (Lib.) de Bary Causing Sclerotinia Rot in Oilseed Brassicas: A Review." *Journal of Oilseed Brassica* 6: 1–44.
70. Siani A.C., Ramos M.F., Menezes de Lima Jr O., Ribeiro dos Santos R., Fernandez Ferreira E., Soares R.O., Rosas E.C., Susunaga G.S., Guimarães A.C., Zoghbi M.G., Henriques M.G., 1999. "Evaluation of Anti-Inflammatory-Related Activity of Essential Oils from the Leaves and Resin of Species of
71. Sikkema J., de Bont J.A.M., Poolman B., 1994. "Interactions of Cyclic Hydrocarbons with Biological Membran." *The Journal of Biological Chemistry* 269(11): 8022–28.
72. Simic A., Soković M.D., Ristić M., Grujić-Jovanović S., Vukojević J., Marin P.D., 2004. "The Chemical Composition of Some Lauraceae Essential Oils and Their Antifungal Activities." *Phytotherapy Research* 18(9): 713–17.

73. Smith-Palmer A., Stewart J., Fyfe L., 2001. "The Potential Application of Plant Essential Oils as Natural Food Preservatives in Soft Cheese." *Food Microbiology* 18(4): 463–70.
74. Solomakos N., Govaris A., Koidis P., Botsoglou N., 2008. "The Antimicrobial Effect of Thyme Essential Oil, Nisin, and Their Combination against *Listeria Monocytogenes* in Minced Beef during Refrigerated Storage." *Food Microbiology* 25(1): 120–27.
75. Soyulu, S., Yigitbas H., Soyulu E.M, and. Kurt Ş., 2007. "Antifungal Effects of Essential Oils from Oregano and Fennel on *Sclerotinia Sclerotiorum*." *Journal of Applied Microbiology* 103(4): 1021–30.
76. Stanojevic J., Berić T., Opačić B., Vuković-Gačić B., Simić D., Knežević-Vukčević J., 2008. "The Effect of Essential Oil of Basil (*Ocimum Basilicum* L.) on UV-Induced Mutagenesis in *Escherichia Coli* and *Saccharomyces Cerevisiae*." *Archives of Biological Sciences* 60(1): 93–102.
77. Taylor, B. 2016. "Other Beverage Ingredients." In *Chemistry and Technology of Soft Drinks and Fruit Juices*, ed. Philip R. Ashurst. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd, 88–125.
78. Townsend B.B., Willetts H.J., 1954. "The Development of Sclerotia of Certain Fungi." *Transactions of the British Mycological Society* 37(3): 213–21.
79. Trombetta D., Castelli F., Grazia Sarpietro M., Venuti V., Cristani M., Daniele C., Saija A., Mazzanti G., Bisignano G., 2005. "Mechanisms of Antibacterial Action of Three Monoterpenes." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 49(6): 2474–78.
80. Ultee A., Gorris L.G, Smid E.J., 1998. "Bactericidal Activity of Carvacrol towards the Food-Borne Pathogen *Bacillus Cereus*." *Journal of Applied Microbiology* 85(2): 211–18.
81. Ultee A., Kets E. P. W, Smid E. J., 1999. "Mechanisms of Action of Carvacrol on the Food-Borne Pathogen *Bacillus Cereus*." *Applied and Environmental Microbiology* 65(10): 4606–10.
82. Ultee A., Kets E.P.W., Alberda M., Hoekstra F.A., Smid E.J., 2000. "Adaptation of the Food-Borne Pathogen *Bacillus Cereus* to Carvacrol." *Archives of Microbiology* 174(4): 233–38.
83. Vuković-Gačić B., Nikčević S., Berić-Bjedov T., Knezević-Vukcević J., Simić D., 2006. "Antimutagenic Effect of Essential Oil of Sage (*Salvia Officinalis* L.) and Its Monoterpenes against UV-Induced Mutations in *Escherichia Coli* and *Saccharomyces Cerevisiae*." *Food and Chemical Toxicology* 44(10): 1730–38.
84. Williams J.R., Stelfox D., 1980. "Influence of Farming Practices in Alberta on Germination and Apothecium Production of Sclerotia of *Sclerotinia Sclerotiorum*." *Canadian Journal of Plant Pathology* 2(3): 169–72.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

85. Κομνηνάκη, Κ. 2020. «Αξιολόγηση της επίδρασης αιθέριων ελαίων από κέδρο και ευκάλυπτο σε απομονώσεις του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, από κολοκυνθοειδή, που συλλέχθηκαν κατά το έτος 2018». Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
86. Παναγόπουλος, Χ.Γ. 2000. “Σκληρωτινίαση.” In *Ασθένειες Κηπευτικών Καλλιεργειών*, Αθήνα: Εκδόσεις Σταμούλης, 59–63.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Πίνακας 1: One-way ANOVA της απομονώσεως H1 για τη δάφνη στις 2dpi.

H1 ΔΑΦΝΗ 2d						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
0 ppm	3	248,9	82,96667	0,003333		
100 ppm	3	209	69,66667	0,333333		
1000 ppm	3	18,4	6,133333	0,023333		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	10116,74	2	5058,368	42153,06	3,6E-13	5,143253
Within Groups	0,72	6	0,12			
Total	10117,46	8				

Πίνακας 2: Tukey HSD της απομονώσεως H1 για τη δάφνη στις 2dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	100 ppm	13,30	3	3	0,20	66,500	4,339
100 ppm	1000 ppm	63,53	3	3	0,20	317,667	
1000 ppm	0 ppm	76,83	3	3	0,20	384,167	

Πίνακας 3: One-way ANOVA της απομονώσεως H1 για τη δάφνη στις 3dpi.

H1 ΔΑΦΝΗ 3d						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
0 ppm	3	248,9	82,96667	0,003333		
100 ppm	3	248,8	82,93333	0,013333		
1000 ppm	3	18,2	6,066667	0,013333		
ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	11822,1	2	5911,048	591104,8	1,31E-16	5,143253
Within Groups	0,06	6	0,01			
Total	11822,16	8				

Πίνακας 4: Tukey HSD της απομονώσεως H1 για τη δάφνη στις 3dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	100 ppm	0,03	3	3	0,06	0,57735	4,339
100 ppm	1000 ppm	76,87	3	3	0,06	1331,370	
1000 ppm	0 ppm	76,90	3	3	0,06	1331,947	

Πίνακας 5: One-way ANOVA της απομονώσεως H1 για τη δάφνη στις 7dpi.

H1 ΔΑΦΝΗ 7d				
SUMMARY				
Groups	Count	Sum	Average	Variance
0 ppm	3	248,7	82,9	0,03
100 ppm	3	248,8	82,93333	0,013333
1000 ppm	3	18,4	6,133333	0,023333

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	11791,36	2	5895,681	265305,7	1,45E-15	5,143253
Within Groups	0,133333	6	0,022222			
Total	11791,5	8				

Πίνακας 6: Tukey HSD της απομονώσεως H1 για τη δάφνη στις 7dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	100 ppm	0,03	3	3	0,09	0,387	4,339
100 ppm	1000 ppm	76,80	3	3	0,09	892,335	
1000 ppm	0 ppm	76,77	3	3	0,09	891,948	

Πίνακας 7: One-way ANOVA της απομονώσεως H1 για τη ρίγανη στις 2dpi.

H1 ΡΙΓΑΝΗ 2d						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
0 ppm	3	248,4	82,8	0,04		
100 ppm	3	248,5	82,83333	0,083333		
1000 ppm	3	18,4	6,133333	0,023333		

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	11760,67	2	5880,334	120279,6	1,55E-14	5,143253
Within Groups	0,293333	6	0,048889			
Total	11760,96	8				

Πίνακας 8: Tukey HSD της απομονώσεως H1 για τη ρίγανη στις 2dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	100 ppm	0,03	3	3	0,13	0,261	4,339
100 ppm	1000 ppm	76,70	3	3	0,13	600,829	
1000 ppm	0 ppm	76,67	3	3	0,13	600,568	

Πίνακας 9: One-way ANOVA της απομονώσεως H1 για τη ρίγανη στις 3dpi.

H1 ΡΙΓΑΝΗ 3d

SUMMARY					
Groups	Count	Sum	Average	Variance	
0 ppm	3	248,9	82,96667	0,003333	
100 ppm	3	248,6	82,86667	0,023333	
1000 ppm	3	18,4	6,133333	0,023333	

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	11791,38	2	5895,688	353741,3	6,1E-16	5,143253
Within Groups	0,1	6	0,016667			
Total	11791,48	8				

Πίνακας 10: Tukey HSD της απομονώσεως H1 για τη ρίγανη στις 3dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	100 ppm	0,10	3	3	0,07	1,342	4,339
100 ppm	1000 ppm	76,73	3	3	0,07	1029,486	
1000 ppm	0 ppm	76,83	3	3	0,07	1030,827	

Πίνακας 11: One-way ANOVA της απομονώσεως H1 για τη ρίγανη στις 7dpi.

H1 ΡΙΓΑΝΗ 7d					
SUMMARY					
Groups	Count	Sum	Average	Variance	
Row 1	3	248,8	82,93333	0,013333	
Row 2	3	248,7	82,9	0,03	
Row 3	3	18,4	6,133333	0,023333	

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	11791,36	2	5895,681	265305,7	1,45E-15	5,143253
Within Groups	0,133333	6	0,022222			
Total	11791,5	8				

Πίνακας 12: Tukey HSD της απομονώσεως H1 για τη ρίγανη στις 7dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	100 ppm	0,03	3	3	0,09	0,387	4,339
100 ppm	1000 ppm	76,77	3	3	0,09	891,948	
1000 ppm	0 ppm	76,80	3	3	0,09	892,335	

Πίνακας 13: One-way ANOVA της απομονώσεως H1 για το γαρύφαλλο στις 2dpi.

H1 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ 2d					
SUMMARY					
Groups	Count	Sum	Average	Variance	
Row 1	3	248,1	82,7	0,07	
Row 2	3	197,5	65,83333	0,583333	
Row 3	3	18,7	6,233333	0,023333	

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	9683,796	2	4841,898	21466,54	2,73E-12	5,143253
Within Groups	1,353333	6	0,225556			
Total	9685,149	8				

Πίνακας 14: Tukey HSD της απομονώσεως H1 για το γαρύφαλλο στις 2dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	100 ppm	16,87	3	3	0,27	61,512	4,339
100 ppm	1000 ppm	59,60	3	3	0,27	217,360	
1000 ppm	0 ppm	76,47	3	3	0,27	278,873	

Πίνακας 15: One-way ANOVA της απομονώσεως H1 για το γαρύφαλλο στις 3dri.

H1 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ 3d						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
0 ppm	3	248,5	82,83333	0,023333		
100 ppm	3	247,8	82,6	0,04		
1000 ppm	3	18,7	6,233333	0,023333		

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	11699,48	2	5849,741	202491	3,25E-15	5,143253
Within Groups	0,173333	6	0,028889			
Total	11699,66	8				

Πίνακας 16: Tukey HSD της απομονώσεως H1 για το γαρύφαλλο στις 3dri.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	100 ppm	0,23	3	3	0,10	2,378	4,339
100 ppm	1000 ppm	76,37	3	3	0,10	778,214	
1000 ppm	0 ppm	76,60	3	3	0,10	780,592	

Πίνακας 17: One-way ANOVA της απομονώσεως H1 για το γαρύφαλλο στις 7dpi.

H1 ΓΑΡΥΦΑΛΛΟ 7d						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
0 ppm	3	248,7	82,9	0,01		
100 ppm	3	248,4	82,8	0,04		
1000 ppm	3	18,7	6,233333	0,023333		

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	11740,24	2	5870,121	240141,3	1,95E-15	5,143253
Within Groups	0,146667	6	0,024444			
Total	11740,39	8				

Πίνακας 18: Tukey HSD της απομονώσεως H1 για το γαρύφαλλο στις 7dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	100 ppm	0,10	3	3	0,09	1,108	4,339
100 ppm	1000 ppm	76,57	3	3	0,09	848,223	
1000 ppm	0 ppm	76,67	3	3	0,09	849,331	

Πίνακας 19: One-way ANOVA της απομονώσεως H5 για τον ευκάλυπτο στις 2dpi.

H5 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ 2d						
SUMMARY						
Groups	Count	Sum	Average	Variance		
0 ppm	3	247,8	82,6	0,13		
1000 ppm	3	106	35,33333	64,08333		
2500 ppm	3	18,3	6,1	0,03		

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	8940,976	2	4470,488	208,7604	2,84E-06	5,143253
Within Groups	128,4867	6	21,41444			
Total	9069,462	8				

Πίνακας 20: Tukey HSD της απομονώσεως H5 για του ευκαλύπτου στις 2dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	1000 ppm	47,27	3	3	2,67	17,691	4,339
1000 ppm	2500 ppm	29,23	3	3	2,67	10,942	
2500 ppm	0 ppm	76,50	3	3	2,67	28,633	

Πίνακας 21: One-way ANOVA της απομονώσεως H5 για τον ευκάλυπτο στις 3dri.

H5 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ 3d					
SUMMARY					
Groups	Count	Sum	Average	Variance	
0 ppm	3	248,6	82,86667	0,053333	
1000 ppm	3	235	78,33333	46,58333	
2500 ppm	3	18,3	6,1	0,03	

ANOVA						
Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	11131,33	2	5565,663	357,7926	5,75E-07	5,143253
Within Groups	93,33333	6	15,55556			
Total	11224,66	8				

Πίνακας 22: Tukey HSD της απομονώσεως H5 για του ευκαλύπτου στις 3dri.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	1000 ppm	4,53	3	3	2,28	1,991	4,339
1000 ppm	2500 ppm	72,23	3	3	2,28	31,722	
2500 ppm	0 ppm	76,77	3	3	2,28	33,712	

Πίνακας 23 : One-way ANOVA της απομονώσεως H5 για τον ευκάλυπτο στις 7dpi.

H5 ΕΥΚΑΛΥΠΤΟΣ 7d

SUMMARY

Groups	Count	Sum	Average	Variance
0 ppm	3	248,9	82,96667	0,003333
1000 ppm	3	248,6	82,86667	0,053333
2500 ppm	3	18,3	6,1	0,03

ANOVA

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	11801,62	2	5900,808	204258,7	3,17E-15	5,143253
Within Groups	0,173333	6	0,028889			
Total	11801,79	8				

Πίνακας 24: Tukey HSD της απομονώσεως H5 για του ευκαλύπτου στις 7dpi.

		Difference	n (Group 1)	n (Group 2)	SE	q	q crit
0 ppm	1000 ppm	0,10	3	3	0,10	1,019	4,339
1000 ppm	2500 ppm	76,77	3	3	0,10	782,290	
2500 ppm	0 ppm	76,87	3	3	0,10	783,309	