

**ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ Θ.Ε.Κ.Α.**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:**

**ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ ΝΗΜΑΤΩΔΗ ΤΩΝ ΕΣΠΕΡΙΔΟΕΙΔΩΝ *TYLENCHULUS SEMIPENETRANS* ΜΕ ΦΥΣΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΤΕΡΠΕΝΟΕΙΔΕΙΣ ΕΝΩΣΕΙΣ**



**ΧΡΥΣΟΥΛΑ ΠΑΠΑΝΙΚΟΥ**

**ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Δρ ΒΛΑΧΟΠΟΥΛΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ - 2008**

## *ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ*

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή του Τ.Ε.Ι Καλαμάτας Δρ Ευάγγελο Βλαχόπουλο για την ανάθεση της παρούσας μελέτης και τις πολύτιμες συμβουλές του κατά την εξέλιξη του πειράματος. Επίσης, τη Νηματολόγο του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, Εντεταλμένη Ερευνήτρια Γ', Δρα Καραναστάση Ειρήνη για την βοήθεια της σε όλα τα στάδια της μελέτης, για τις πολύτιμες γνώσεις που αποκόμισα κατά την συνεργασία μας σε θέματα που αφορούν τον κλάδο της Νηματολογίας, καθώς και τις συμβουλές της κατά τη συγγραφή της παρούσας εργασίας.

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	σελ.5
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ (ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)</b>	
1.1. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ.....	σελ.7
1.2. ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ.....	σελ.10
1.3. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ.....	σελ.11
1.4. ΑΝΑΤΟΜΙΑ.....	σελ.13
1.4.1. Επιδερμικό σρώμα.....	σελ.14
1.4.2. Νευρικό σύστημα.....	σελ.15
1.4.3. Πεπτικό σύστημα.....	σελ.17
1.4.4. Εκκριτικό – Απεκκριτικό σύστημα.....	σελ.18
1.4.5. Αναπαραγωγικό σύστημα.....	σελ.19
1.5. ΔΙΑΒΙΩΣΗ.....	σελ.20
1.6. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ.....	σελ.21
1.7. ΔΙΑΣΠΟΡΑ.....	σελ.23
1.8. ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΠΡΟΣΒΟΛΩΝ.....	σελ.24
1.9. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.....	σελ.26
1.9.1. Φυσική καταπολέμηση.....	σελ.28
1.9.2. Χημική καταπολέμηση.....	σελ.30
1.9.3. Βιολογική καταπολέμηση.....	σελ.33
1.10. ΤΟ ΕΙΔΟΣ <i>TYLENCHULUS SEMIPENETRANS</i> .....	σελ.36
1.10.1. Συστηματική κατάταξη.....	σελ.37

1.10.2. Μορφολογία.....	σελ.37
1.10.3. Βιολογία.....	σελ.38
1.10.4. Οικονομική σημασία.....	σελ.38
1.10.5. Αντιμετώπιση.....	σελ.40
1.10.5.1. Προφυτευτικά μέτρα.....	σελ.41
1.10.5.2. Μεταφυτευτικά μέτρα.....	σελ.43
1.11. ΦΥΣΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ.....	σελ.46

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ (ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)**

2.1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	σελ.50
2.2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....	σελ.50
2.2.1. Υλικά.....	σελ.50
2.2.2. Μεθοδολογία.....	σελ.51
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	σελ.56
3.1. Πείραμα i.....	σελ.56
3.2. Πείραμα ii.....	σελ.57
3.3. Πείραμα iii.....	σελ.58
3.4. Πείραμα iv.....	σελ.59
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	σελ.61
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....</b>	<b>σελ.64</b>

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις αποτελούν μια ομάδα πολύ σημαντικών παράσιτων των φυτών, που έχουν ως συνέπεια σοβαρές απώλειες στην παραγωγή, καθώς επίσης και επιπτώσεις στην ποιότητα των γεωργικών προϊόντων. Σήμερα, οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις ελέγχονται με την εφαρμογή προφυτευτικών ή μεταφυτευτικών μεθόδων, που περιλαμβάνουν τη χρήση χημικών νηματοκτόνων και φυσικών ή βιολογικών παραγόντων όπως οι ανθεκτικές ποικιλίες.

Τα χημικά νηματοκτόνα χρησιμοποιούνται ευρέως, όμως ευθύνονται για σοβαρά περιβαλλοντικά προβλήματα όπως και επιπτώσεις στον άνθρωπο και τα ζώα, γι' αυτό επιβάλλεται πλέον η μείωση των εφαρμογών τους. Για τους λόγους αυτούς, πολλά αποτελεσματικά νηματοκτόνα όπως το DBCP (διβρωμο-χλωροπροπάνιο) και το EDB (διβρωμυδικό αιθυλένιο) έχουν ήδη απομακρυνθεί από την αγορά εξαιτίας των ανθυγιεινών επιδράσεων τους στον άνθρωπο και το περιβάλλον. Ομοίως, το βρωμιούχο μεθύλιο, που είναι το πιο αποτελεσματικό και ευρέως χρησιμοποιούμενο απολυμαντικό για παράσιτα εδάφους, συμπεριλαμβανομένων των νηματωδών, έχει ήδη απαγορευτεί στις περισσότερες χώρες μέσω διεθνούς συμφωνίας. Επιπροσθέτως, η χρήση μη απολυμαντικών νηματοκτόνων που βασίζονται σε οργανοφωσφορικές και καρβαμιδικές ενώσεις και μειώνουν τη χρήση των προαναφερθέντων ουσιών είναι επίσης υψηλής τοξικότητας και έχουν ήδη εντοπιστεί στα νερά των εδαφών.

Για τους λόγους αυτούς, τα τελευταία χρόνια γίνεται πολύ εντατική έρευνα σχετικά με την ανάπτυξη εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισης τόσο των φυτοπαρασιτικών νηματωδών όσο και των άλλων παρασίτων. Για παράδειγμα, πολλά πτητικά συστατικά προερχόμενα από φυτά, όπως τα αιθέρια έλαια, τα αλκαλοειδή, οι φαινόλες τα πολυακετυλένια και τα τερπένια έχουν επανειλημμένα αποδειχτεί ότι έχουν αντιμικροβιακή και εντομοκτόνο δράση. Έτσι, ένας βασικός τρόπος ανάπτυξης εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισης είναι να προβάλλουμε τα φυσικά αυτά συστατικά των φυτών.

Μέχρι σήμερα όμως, λίγες από αυτές τις ουσίες έχουν συνδεθεί με νηματοκτόνο επίδραση. Έτσι, στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν βιολογικά σκευάσματα με

συστατικά αιθέριων ελαίων από διάφορα είδη μυρωδικών και αρωματικών φυτών, με μίγματα ευγενόλης, γερανιόλης τα οποία ελέγχθηκαν ως προς την επίδρασή τους στους φυτοпараσιτικούς αλλά και στους μη φυτοпараσιτικούς νηματώδεις.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ (ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)

### 1.1 ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ

Οι νηματώδεις σκώληκες, ή πιο απλά νηματώδεις, συνιστούν την δεύτερη πλέον πολυπληθή ομάδα των Μεταζώων μετά τα Αρθρόποδα. Είναι μικροσκοπικά, πολυκύτταρα ζώα, προσαρμοσμένα να ζουν στο νερό και διαβιούν σχεδόν σε κάθε τύπο περιβάλλοντος πάνω στη Γη, εκτός από τον αέρα. Η ύπαρξη τους είναι σύνηθες φαινόμενο για όλα τα εδάφη (Dorokin, 1980, Yepsen, 1984). Μάλιστα πιστεύεται ότι αν όλη η ύλη του κόσμου εκτός από τους νηματώδεις εξαφανίζονταν, ο κόσμος θα ήταν ακόμα αναγνωρίσιμος μέσω των διαφόρων ειδών των νηματωδών. Δηλαδή ανάλογα με τα μέρη στα οποία θα εντοπίζονταν αυτοί, θα ήταν δυνατό να διακρίνουμε τις περιοχές όπου κάποτε υπήρχε θάλασσα, βουνά, λόφοι κ.α., ή ακόμη να διαπιστώσουμε ποιες φυλές ανθρώπων και είδη ζώων ζούσαν εκεί (Sasser, 1990).

Η ύπαρξη των νηματωδών πάνω στη Γη υφίσταται τουλάχιστον από την πρώτη εμφάνιση του ανθρώπινου είδους, μάλιστα η διαπίστωσή τους ως ζωικών παρασίτων αναγράφεται στις πρώτες Αιγυπτιακές γραφές περί το 4000 π.Χ. Το είδος *Dracunculus medinensis* περιλαμβανόταν στις πρώτες επιστημονικές ζωολογικές ανακοινώσεις σα ζωικό παράσιτο που προσβάλλει το ανθρώπινο σώμα, ιδιαίτερα τα πόδια και τους βραχίονες προκαλώντας έντονους πόνους και φλεγμονές. Επίσης, οι νηματώδεις των ζώων ήταν ήδη γνωστοί από την εποχή του Αριστοτέλη (384-322 π.Χ.) (Storer & Usinger, 1965). Δεν είναι τυχαίο άλλωστε ότι η λέξη «νηματώδης» προήλθε από την ελληνική λέξη «νήμα» που εισήχθη αυτούσια στη Λατινική και χρησιμοποιήθηκε ως ρίζα, αποτελώντας το πρώτο συνθετικό για το σχηματισμό πολυάριθμων αγγλικών λέξεων.

Παρόλα αυτά, μόλις το 1743 ο Needham παρατήρησε σε σπόρους σίτου μικροσκοπικές μεμβράνες που ζωντάνευαν στο νερό και κατέληξε ότι ήταν σκώληκες τους οποίους ανέφερε ως *Vibrio tritici*. Το είδος αυτό είναι σήμερα γνωστό ως *Anguina tritici* και ήταν το πρώτο ντοκουμέντο φυτοπαρασιτικών νηματωδών, αν και τελικά χρειάστηκαν άλλα 100 χρόνια για να πάρει η Νηματολογία τη σημερινή επιστημονική της μορφή (Weischer & Brown, 2000).

Οι λόγοι που συνετέλεσαν στη δυσκολία ανεύρεσης και παρατήρησης των νηματωδών ήταν το μικροσκοπικό τους μέγεθος και η διαβίωσή τους εντός του εδάφους ή ενίοτε μέσα στους φυτικούς ιστούς, οπότε δεν είναι τυχαίο που η πρώτη παρατήρησή τους έγινε 100 χρόνια μετά την ανακάλυψη του μικροσκοπίου (Κολιοπάνος, 1999).

Από εκεί και πέρα οι επιστημονικές έρευνες έγιναν πιο εκτεταμένες και σήμερα συνολικά τα είδη των νηματωδών εκτιμούνται στο μισό εκατομμύριο, ενώ τα φυτοπαρασιτικά είδη αποτελούν μια μικρότερη ομάδα. Το συμπέρασμα ήταν ότι οι νηματώδεις ως παράσιτα μπορούν να προσβάλλουν κάθε ζωντανό οργανισμό, συμπεριλαμβανομένων και των φυτών, καλλιεργούμενων και μη, προξενώντας άκρως σοβαρές ζημιές μεγάλης οικονομικής σημασίας μειώνοντας τις αποδόσεις και υποβαθμίζοντας την ποιότητα του παραγόμενου προϊόντος. Για παράδειγμα, εξαιτίας των πολλών οικονομικών καταστροφών από καλλιέργειες ζαχαρότευτλων στη Γερμανία όπου πολλά εργοστάσια παραγωγής ζάχαρης έκλεισαν, ταυτοποιήθηκε το είδος *Heterodera schachtii*. Παρόλο όμως που και τότε διαπιστώθηκε ότι οι ζημιές οφείλονταν στα μικροσκοπικά σκουλήκια μόνο μετά τον 2<sup>ο</sup> Παγκόσμιο Πόλεμο η Νηματολογία έλαβε πλήρης αναγνώρισης (Weischer & Brown, 2000).

Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι σε όλα τα εδάφη απαντώνται διάφορα είδη νηματωδών. Όμως, η παρουσία τους και μόνο δε σημαίνει απαραίτητα ότι θα προκληθεί ζημιά στα φυτά. Τις περισσότερες φορές ακίνδυνα ή ακόμα και ωφέλιμα είδη ανεβρίσκονται στη ριζόσφαιρα των φυτών μαζί με τα φυτοπαρασιτικά. Τα ωφέλιμα είδη τρέφονται από τα παρασιτικά ή ακόμη απελευθερώνουν θρεπτικά στοιχεία στο έδαφος (Ingham, 1996; Horst, 1990). Ένας έμπειρος νηματολόγος είναι απαραίτητο να ταυτοποιήσει τα διάφορα είδη και να διαχωρίσει ποια μπορεί να ευθύνονται για την παρατηρούμενη ζημιά.

Οι Νηματώδεις σκώληκες μπορούν να διαχωριστούν σε τρεις ομάδες ανάλογα με τις διατροφικές τους συνήθειες: ζωοπαρασιτικοί που παρασιτούν τα ζώα (συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου), φυτοπαρασιτικοί που τρέφονται με φυτικά υλικά και νηματώδεις που ζουν ελεύθερα, τρεφόμενοι με ένα ευρύ φάσμα μικροοργανισμών και παίζουν σημαντικό ρόλο στην τροφική αλυσίδα (Smyth, 1995), ενώ αποτελούν ένα σημαντικό κομμάτι της εδαφικής πανίδας.



Τα διάφορα είδη ζουν στους πόρους του εδάφους και κινούνται μέσα σε μια μεμβράνη νερού που προσκολλάται στα μόρια του εδάφους. Έχουν συγκεκριμένες εδαφικές και κλιματικές απαιτήσεις, όπως για παράδειγμα ορισμένα βιώνουν καλύτερα σε αμμώδη εδάφη. Οι πληθυσμοί τους είναι γενικά πυκνότεροι από άλλων σκωλήκων ειδικά σε περιόδους που η αναπαραγωγική τους δραστηριότητα ευνοείται (Dropkin, 1980), όπως για παράδειγμα στις Νότιες Η.Π.Α. όπου περισσότερες από 10 γενεές παράγονται σε μία περίοδο (Yepsen, 1984). Γενικά ηλιόλουστα, αμμώδη εδάφη περιέχουν μεγαλύτερους πληθυσμούς φυτοπαρασιτικών νηματώδων από τα αργιλώδη. Αυτό αποδίδεται περισσότερο στην ικανότητα αερισμού των αμμωδών εδαφών και λιγότερο στον ανταγωνισμό, τη διαθέσιμη τροφή και την ευκολία με την οποία μπορούν να κινούνται οι νηματώδεις στην περιοχή των ριζών. Επίσης, τα φυτά κατά την ανάπτυξή τους σε εδάφη καλής αποστράγγισης είναι συχνό να υποφέρουν από έλλειψη νερού και έτσι να είναι πιο τρωτά στους φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις (Dropkin, 1980).

Φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις (η πλειοψηφία των οποίων ολοκληρώνουν τον κύκλο ζωής τους στο έδαφος και τρέφονται, συνήθως, εις βάρος των ριζών) βρέθηκαν να σχετίζονται με τα περισσότερα είδη φυτών. Κάποιοι είναι ενδοπαρασιτικοί, δηλαδή τρέφονται και ζουν μέσα στους ιστούς των ριζών, βολβών, σπόρων κ.τ.λ. (Sasser, 1990), άλλοι είναι εκτοπαρασιτικοί, δηλαδή ζουν έξω από τους φυτικούς ιστούς. Οι ενδοπαρασιτικοί νηματώδεις είναι πιο επιζήμια παράσιτα από του εκτοπαρασιτικούς. Συγκεκριμένα ένας μόνο ενδοπαρασιτικός νηματώδης μπορεί να σκοτώσει ένα φυτό ή να επιβραδύνει την παραγωγή του, ενώ μερικές εκατοντάδες άτομα εκτοπαρασιτικού νηματώδη μπορεί να τρέφονται πάνω σε ένα φυτό χωρίς καμιά σοβαρή επίδραση στην παραγωγή του (Ingham, 1996).

Μεταξύ των νηματώδων που είναι ενδοπαρασιτικά των ριζών, περιλαμβάνονται και οικονομικά σημαντικοί καταστροφείς, όπως οι κομβονηματώδεις (*Meloidogyne* species), οι κυστογόνοι νηματώδεις (*Heterodera* και *Globodera* species) και άλλοι π.χ. τα είδη *Pratylenchus* spp. (Sasser, 1990). Η απ' ευθείας διατροφή των νηματώδων σε ένα φυτό μπορεί να μειώσει δραστικά τα θρεπτικά στοιχεία και το νερό που αυτό προσλαμβάνει από το έδαφος, γεγονός που έχει ως συνέπεια τη μειωμένη ανάπτυξή του φυτού, ακόμη και την καταστροφή του. Οι νηματώδεις έχουν μεγάλη επίδραση στη παραγωγή ιδιαίτερα, όταν επιτίθενται στις ρίζες των φυταρίων αμέσως μετά την περίοδο

σποράς (Ploeg, 2001). Επίσης, η διατροφή των νηματωδών επί των φυτών δημιουργεί ανοιχτές πληγές που παρέχουν είσοδο σε ένα ευρύ φάσμα φυτοπαθογόνων μυκήτων και βακτηρίων που θα προκαλέσουν στη συνέχεια δευτερογενείς μολύνσεις στα φυτά.

Ο έλεγχος των νηματωδών είναι αναγκαία τακτική διότι από τη στιγμή που ένα φυτό παρασιτιστεί είναι δύσκολο να σκοτωθούν οι νηματώδεις χωρίς να επηρεαστεί και αυτό. Η πιο ορθή προσέγγιση έλεγχου των νηματωδών συνενώνει διάφορα εργαλεία και στρατηγικές, όπως η αμειψισπορά, η αγρανάπαυση, η ηλιοαπολύμανση, η χρησιμοποίηση λιγότερο τοξικών ουσιών και ανθεκτικών ή ανεκτικών ποικιλιών των φυτών. Αυτές οι μέθοδοι λειτουργούν ακόμη καλύτερα σε συνδυασμό με εδαφικό περιβάλλον με επαρκές οργανικό υλικό, γιατί ένα ισορροπημένο εδαφικό οικοσύστημα μπορεί να υποστηρίξει και ένα ευρύ φάσμα οργανισμών που παρασιτεί τους νηματώδεις. Επίσης, όταν υπάρχει αυτή η ισορροπία ο έλεγχος των νηματωδών μπορεί πιθανόν να πραγματοποιηθεί μόνο με βιολογικές μεθόδους χωρίς την χρήση τοξικών ουσιών ([www.attra.ncat.org](http://www.attra.ncat.org)).

## 1.2 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Οι νηματώδεις χωρίζονται σε δύο Κλάσεις:

SECERNENTEAE και ADENOPHOREA.

Η κατάταξη των κυριότερων φυτοπαρασιτικών νηματωδών είναι η εξής:

Βασίλειο: Animalia

Υποβασίλειο: Metazoa

Φύλο: Nemata

A. Κλάση: Secernentea (φέρουν φασιμίδια) (von Linstow, 1905) (Dougherty, 1958)

Τάξεις: *Tylenchida* (Thorne, 1949)

*Rhabditida* (Chitwood, 1933)

*Aphelenchida* (Siddiqi, 1980)

B. Κλάση: Adenophorea (δεν φέρουν φασιμίδια) (von Linstow, 1905-Chitwood, 1958)

Τάξεις: *Dorylaimida* (Pearse, 1942)

### *Triplonchida* (Cobb, 1920)

Η πλειοψηφία των σημαντικών ειδών φυτοпараσιτικών νηματωδών ανήκει στην Τάξη *Tylenchida*, με κυριότερες τις εξής οικογένειες: *Anguinidae* (π.χ. *Ditylenchus*, *Anguina*), *Belonolaimidae* (π.χ. *Belonolaimus*, *Tylencorhynchus*), *Hoplolaimidae* (π.χ. *Hoplolaimus*, *Helicotylenchus*, *Rotylenchus*, *Scutellonema*), *Pratylenchidae* (π.χ. *Pratylenchus*, *Radopholus*), *Heteroderidae* (π.χ. *Heterodera*, *Meloidogyne*, *Globodera*), *Criconematidae* (π.χ. *Criconema*, *Criconemoides*, *Hemicycliophora*), *Tylenchidae* (π.χ. *Tylenchus*).

Επίσης σημαντικά είδη συγκαταλέγονται στην Τάξη *Aphelenchida*, οικογένειες *Aphlenchidae* (*Aphelenchus*), *Aphlenchoididae* (*Aphlenchoides*), την Τάξη *Dorylaimida*: *Longidoridae* (*Longidorus*, *Longidoroides*, *Paralongidorus*, *Xiphinema*, *Xiphidorus*, *Paraxiphidorus*), και την Τάξη *Triplonchida* (*Trichodorus*, *Paratrichodorus*).

Η συστηματική κατάταξη των νηματωδών στηρίζεται ως επί το πλείστο στα μορφολογικά χαρακτηριστικά των θηλυκών ατόμων θεωρώντας δευτερευούσης σημασίας αυτά των αρσενικών, των ωών και των προνυμφών. Πρωτεύοντα και σημαντικά χαρακτηριστικά αποτελούν το σχήμα του νηματώδη, το μήκος σώματος, το εύρος σώματος, το σχήμα της κεφαλής, το σχήμα και το μήκος του στιλέτου, το σχήμα και το μήκος της ουράς, ο τύπος του οισοφάγου, ο μεσαίος βολβός, η ύπαρξη ή μη φασμιδίων, η θέση του γεννητικού πόρου, ο αριθμός των ωοθηκών, οι διάφορες πτυχώσεις της επιδερμίδας, οι ουραίες πτέρυγες των αρσενικών κ.α. (Κολιοπάνος, 1999).

### 1.3 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

Τα περισσότερα είδη νηματωδών δεν είναι ορατά χωρίς τη βοήθεια ειδικών οργάνων (π.χ. στερεοσκόπιο). Το μέγεθος τους κυμαίνεται από μόλις 80μm με διάμετρο σώματος 0,1μm μέχρι 8m με διάμετρο σώματος 2,5 εκατοστά (πρόκειται για ένα είδος που ζει στον πλακούντα των φαλαινών). Όσον αφορά όμως στους φυτοпараσιτικούς νηματώδεις, οι περισσότεροι είναι κατά κύριο λόγο, πολύ μικροί (εξαιρουμένων των ακμαίων θηλυκών ατόμων *Meloidogyne*, *Globodera* και *Heterodera*) (Weischer & Brown). Το μήκος του σώματός τους κυμαίνεται από 0,2mm (*Paratylenchus* spp.) έως

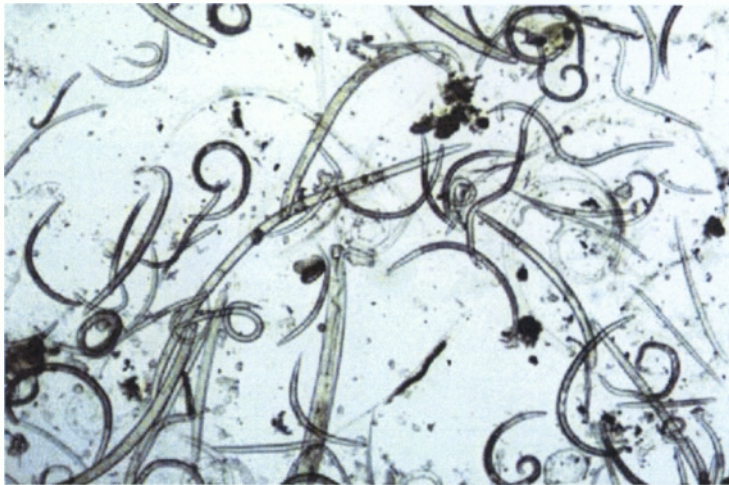
12mm (*Longidorus* spp.) με μέσο όρο το 1mm, ενώ στους περισσότερους δεν ξεπερνά τα 3,0mm. Το πλάτος τους κυμαίνεται από 50-250μm (Κύρου, 2004).

Όλοι οι νηματώδεις έχουν κατά βάση σώμα επίμηκες, σκωληκόμορφο κυλινδρικό, οι άκρες του οποίου συχνά παίρνουν σχήμα κώνου. Αρκετές φορές όμως, απαντώνται και νηματώδεις με σχήμα σώματος σφαιροειδές, απόμορφο, νεφροειδές κ.α.

Το σώμα τους χωρίζεται σε επιμέρους τμήματα όπως π.χ. στα έντομα, αλλά αποτελείται από δύο σωλήνες έναν εξωτερικό που αποτελεί την επιδερμίδα τους και έναν εσωτερικό που είναι ο πεπτικός σωλήνας. Στο χώρο μεταξύ των δύο σωλήνων βρίσκονται τα όργανα του αναπαραγωγικού συστήματος μαζί με διάφορα αδενικά κύτταρα (Ηλιόπουλος, 1997). Για τη διευκόλυνση της μελέτης των νηματωδών τους χωρίζουμε σε τρία νοητά τμήματα: την κεφαλή, το κυρίως σώμα και την ουρά. Ως κεφαλή αναφέρεται το μπροστινό άκρο που φέρει το στροματικό άνοιγμα και το στυλέτο, ως ουρά αναφέρεται η περιοχή από την έδρα των θηλυκών ή την αμάρα των αρσενικών μέχρι το οπίσθιο άκρο του σώματος και τέλος το κυρίως σώμα περιλαμβάνει το τμήμα που παρεμβάλλεται μεταξύ κεφαλής και ουράς είναι η περιοχή από την έδρα μέχρι το πρόσθιο άκρο του σώματός τους (Κύρου, 2004).

Το εξωτερικό περίβλημα των νηματωδών αποτελείται από μια λιγότερο ή περισσότερο διαφανή, ανθεκτική και αδιαπέραστη επιδερμίδα που μπορεί να είναι λεία, ή να φέρει ραβδώσεις εγκάρσια ή κατά μήκος. Κάτω από την επιδερμίδα υπάρχει μία στρώση που περιέχει νουκλειικά οξέα τα οποία δεν περιβάλλονται από κυτταρικά όρια και κάτω από αυτή υπάρχει η μυϊκή στρώση που συντίθεται από ατρακοειδή κύτταρα διευθετημένα κατά μήκος. Κάθε κύτταρο έχει δύο μέρη: ένα εσωτερικό τμήμα που περιέχει πρωτόπλασμα και πυρήνα και μια εξωτερική μαρμαροειδή στρώση. Τα κύτταρα αυτά βρίσκονται στο ραχιαίο και κοιλιακό πεδίο του σώματος αλλά όχι στα πλευρικά (Gooday, 1933).

Όσον αφορά το χρώμα τους, γενικά οι νηματώδεις είναι διαφανείς οργανισμοί, συχνά όμως, το σώμα τους χρωματίζεται γκρι-μαύρο (Εικόνα 1.1.) από τις τροφές που περιέχονται στο έντερό τους. Σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να αποκτά υπόλευκη ή υποκίτρινη απόχρωση. Τέλος, η επιδερμίδα των *Globodera* και *Heterodera* μετά το θάνατό τους μπορεί να γίνει μαύρη ή καφέ λόγω της οξειδωσης διαφόρων περιεχομένων σε αυτή ουσιών.



**Εικόνα 1.1.** Άποψη νηματώδων από Στερεοσκόπιο.

Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις διαφέρουν από τους μη φυτοпараσιτικούς σε μερικά βασικά και ευδιάκριτα σημεία: οι φυτοпараσιτικοί έχουν στιλέτο (που είναι το κύριο όργανο παρασιτισμού τους και βρίσκεται εντός της στοματικής κοιλότητας), κινούνται συνήθως αργά, έχουν κεφαλή άνευ χειλικών προεκτάσεων, κοντή ουρά και τις πιο πολλές φορές φέρουν Φασμίδια. Αντίθετα οι μη φυτοпараσιτικοί δεν έχουν στιλέτο, κινούνται ως επί των πλείστων γρήγορα, φέρουν χειλικές προεκτάσεις επί της κεφαλής, έχουν μακριά ουρά και τις περισσότερες φορές δε φέρουν φασμίδια (Κολιοπάνος, 1999).

#### *1.4 ANATOMIA*

Οι νηματώδεις διαθέτουν νευρικό, πεπτικό, εκκριτικό-απεκκριτικό και αναπαραγωγικό σύστημα αλλά στερούνται αναπνευστικού και κυκλοφορικού, καθώς και κινητικών οργάνων. Επίσης δεν έχουν αισθητήρια όργανα ακοής και όρασης. Το ρόλο των αισθητήριων οργάνων παίζουν νευρικές απολήξεις, οι οποίες υπάρχουν κυρίως με τη μορφή αισθητήριων θηλών που βρίσκονται συνήθως στο πρόσθιο και οπίσθιο μέρος του σώματος (Κύρου, 2004).



**Εικόνα 1.2.** Εσωτερική μορφολογία νηματώδη.

Πιο αναλυτικά, παρατηρούμε τα παρακάτω επί μέρους συστήματα και όργανα:

#### 1.4.1 ΕΠΙΔΕΡΜΙΚΟ ΣΤΡΩΜΑ

Το επιδερμικό στρώμα είναι συνήθως λείο, αλλά μερικές φορές διατρέχεται από επιμήκεις επιδερμικές γραμμές που συνθέτουν τις λεγόμενες πλάγιες επιδερμικές περιοχές, των οποίων η παρουσία, το πλήθος, και η διάταξη, χρησιμοποιούνται για στη συστηματική ταξινόμηση. Στα γένη *Heterodera*, *Globodera* και *Meloidogyne*, παρατηρούνται κάποιοι ιδιαίτεροι μορφολογικοί σχηματισμοί με τη μορφή γραμμών, , κύκλων ή ανάγλυφων γραμμώσεων. Οι σχηματισμοί αυτοί συνθέτουν τα λεγόμενα περιεδρικά αποτυπώματα που αποτελούν σημαντικό ταξινομικό χαρακτηριστικό για τα είδη αυτά (Κύρου, 2004).

Το επιδερμικό στρώμα χημικά απαρτίζεται κυρίως από κερατινοειδείς και κολλαγονοειδείς πρωτεΐνες, όχι όμως χιτίνη όπως συναντάμε στα έντομα. Επίσης περιέχει υδατάνθρακες, λιπίδια και πολυφαινόλες. Αποτελείται από την επιδερμίδα και την υποδερμίδα. Η επιδερμίδα αποτελεί την προστατευτική ασπίδα του νηματώδη ενώ συνιστά τον εξωτερικό σκελετό του. Καλύπτει τη στοματική κοιλότητα και επεκτείνεται προς το εσωτερικό, καλύπτοντας τον οισοφάγο, τον απεκκριτικό πόρο, το γεννητικό άνοιγμα, τον κόλπο, την έδρα, την αμάρα, το ορθό και τα αισθητήρια όργανα (Κύρου, 2004). Επί της επιδερμίδας παρατηρούνται και κάποιοι πόροι, οι οποίοι συνδέονται με υποδερμικούς αδένες που με τη σειρά τους σχετίζονται με τα αισθητήρια όργανα (Crofton, 1966, Hirschmann, 1971). Στην επιδερμίδα συνήθως διακρίνονται τέσσερις επιδερμικές στρώσεις, το πάχος και η δομή των οποίων εξαρτάται από το είδος, τον τρόπο ζωής και το στάδιο ανάπτυξης των νηματωδών, συνεπώς η λειτουργικότητα της επιδερμίδας αντανακλάται από την ποικιλία του περιβάλλοντος όπου ζει.

Η υποδερμίδα αποτελείται από ένα λεπτό κυτταρικό ιστό. Εσωτερικά παρουσιάζει τέσσερις επιμήκεις παχύνσεις, οι οποίες χωρίζονται σε δυο πλευρικές, μια κοιλιακή και μια νωτιαία που διατρέχουν κατά μήκος όλο το σώμα του νηματώδη και καλούνται αξονικές χορδές.

Κάτω από την υποδερμίδα υπάρχει το μυϊκό στρώμα το οποίο περιέχει τα μυϊκά κύτταρα. Ένα μοναδικό χαρακτηριστικό των νηματωδών, που δεν παρουσιάζεται σε

καμιά άλλη ομάδα του ζωικού βασιλείου, είναι ότι τα μυϊκά κύτταρα έχουν προεκτάσεις που συνδέονται με τις κοιλιακές νευρικές χορδές, ενώ σε όλα τα άλλα πολυκύτταρα ζώα, οι ίνες εκτείνονται αντίθετα, από το νευρικό σύστημα προς του μύες. Δεδομένου ότι όλοι οι σωματικοί κυτταρικοί μύες είναι παράλληλοι στον άξονα του σώματος του νηματώδη, μπορούν να συστέλλονται προς μία μόνο κατεύθυνση. Έτσι, η οφιοειδής κίνηση τους προέρχεται από κύματα μονόπλευρων τοπικών συστολών και συνεπώς, το μυϊκό στρώμα με τους εξειδικευμένους μύες που καλύπτουν όλο το μήκος του σώματος, είναι υπεύθυνο για την κάμψη και κίνησή των νηματωδών (Weischer & Brown, 2000).

Μεταξύ του μυϊκού στρώματος και των διάφορων εσωτερικών οργάνων υπάρχει το ψευδοκοίλωμα που παίζει ρόλο αναπνευστικού και κυκλοφορικού συστήματος (Κύρου, 2004).

#### 1.4.2 ΝΕΥΡΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Οι νηματώδεις αντιδρούν σε ποικίλα ερεθίσματα (μηχανικά, θερμικά, χημικά) μέσω του νευρικού συστήματος (Weischer & Brown, 2000).

Οι κύριες δραστηριότητες του νευρικού συστήματος είναι: i) να διακρίνει εξωτερικά και εσωτερικά ερεθίσματα, ii) να επικοινωνεί με το νευρικό κέντρο για συντονισμό και iii) να μεταδίδει κατάλληλα ερεθίσματα στα εκτελεστικά όργανα όπως είναι οι μύες και οι αδένες. Διαθέτει δυο κύρια κέντρα, ένα στην περιοχή του οισοφάγου και ένα στην περιοχή του απευθυσμένου, η ένωση μεταξύ των οποίων γίνεται με νευρικές ίνες. Το βασικό τμήμα του είναι ο νευρικός δακτύλιος που αποτελεί το κέντρο σύνδεσης των νεύρων και των γαγγλίων (Ηλιόπουλος, 1997).

Στο νευρικό σύστημα εντάσσονται και ορισμένα αισθητήρια όργανα όπως τα φασμίδια, οι χειλικές θηλές, οι αυχενικές αισθητήριες σμήριγγες, τα *sensilla*, οι γεννητικές θηλές, οι αυχενικές αισθητήριες θηλές, τα αμφίδια και το ημιζόνιο, που σχετίζονται με την επικοινωνία του νηματώδη προς το περιβάλλον, την εύρεση τροφής, την αναζήτηση συντρόφου για σύζευξη κλπ. (Κύρου, 2004). Πιο συγκεκριμένα:

Τα *φασμίδια* βρίσκονται στο οπίσθιο μέρος του σώματος πριν από την ουρά. Είναι ένα ζεύγος επιδερμικών θυλάκων που αποτελούνται από ένα κοντό αγωγό που καταλήγει στην επιφάνεια της επιδερμίδας σαν επιφανειακός πόρος ή θηλή και συνδέεται

εσωτερικά με ένα πλάγιο ουραίο νεύρο. Ο διαχωρισμός μεταξύ των Κλάσεων Phasmidia και Aphasmidia στηρίζεται στην ύπαρξη ή μη των φασμιδίων (Chitwood, 1933).

Οι *χειλικές θηλές* (labial papillae) είναι επιδερμικές δομές που βρίσκονται γύρω από το στοματικό άνοιγμα και συνδέονται με νεύρα ξεκινούν από τον νευρικό δακτύλιο. Στην Κλάση Secernentea, οι θηλές εντοπίζονται στα πλάγια χείλη όπως και οι σμήριγγες (Κύρου, 2004).

Οι *αυχενικές αισθητήριες σμήριγγες* (seta) απαντώνται στα Adenophorea και μοιάζουν με τρίχες που μπορεί να είναι κοντές και δυσδιάκριτες ή μακριές και καλά αναπτυγμένες). Ανιχνεύονται σχεδόν σε όλες τις περιοχές του σώματος και έχουν δυνατότητα κίνησης, ιδιαίτερα αυτές που βρίσκονται στην κεφαλή. Διακρίνονται σε σωματικές και ουραίες και συνδέονται με μη εξειδικευμένα νεύρα (Κύρου, 2004).

Τα *sensilla* βρίσκονται μέσα στον αμφιδιακό αγωγό, στο σημείο που αυτός σχηματίζει μία διόγκωση και ενώνεται με το αμφιδιακό άνοιγμα. Θεωρούνται απλά όργανα αίσθησης (Caveness, 1964).

Οι *γεννητικές θηλές* βρίσκονται πριν ή μετά την έδρα στα θηλυκά και στην περιοχή της κοιλιάς στα αρσενικά. Έχουν διάφορα σχήματα και στα αρσενικά μπορεί είτε να καλύπτονται από τις ουραίες πτέρυγες είτε να απαρτίζουν ανορθώσεις από λεπτό επιδερμικό στρώμα (Κύρου, 2004).

Οι *αυχενικές αισθητήριες θηλές* (deirids) είναι δύο θηλές που βρίσκονται στο επίπεδο του νευρικού δακτυλίου και φαίνονται σαν προεξοχές της επιδερμίδας. Λόγω του ασταθούς της παρουσίας τους και της μη εύκολης παρατήρησής τους, δε χρησιμοποιούνται σαν γνώρισμα για την ταξινόμηση (Κύρου, 2004).

Τα *αμφίδια* (amphids) αποτελούνται από νευρικές απολήξεις και έναν αδένα. Βρίσκονται κάτω από τις αυχενικές θηλές πλαγιοκεφαλικά. Στα Adenophorea εντοπίζονται πίσω ή κάτω από την κεφαλή ενώ στα Secernentea στην περιοχή των χειλέων. Μπορεί να έχουν τη μορφή μικρών στρογγυλεμένων πόρων μέχρι και επίμηκων σχισμών (Thome, 1961, Crofton, 1966).

Το *ημιζόνιο* (hemizonid) θεωρείται ότι σχετίζεται άμεσα με το νευρικό σύστημα χωρίς όμως αυτό να έχει βεβαιωθεί. Βρίσκεται στην κοιλιακή πλευρά του νηματώδη κοντά στον απεκκριτικό πόρο και σχηματίζει ένα ημικόκλιο (Hirschmann, 1971).



### 1.4.3 ΠΕΠΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Οι κύριες λειτουργίες του πεπτικού συστήματος είναι η απορρόφηση τροφής και των θρεπτικών ουσιών και η αποβολή των άχρηστων υπολειμμάτων. Τα σημαντικότερα μέρη του συστήματος είναι: i) το στοματικό άνοιγμα και η κοιλότητά του, ii) ο οισοφάγος και ο φάρυγγας, iii) ο εντερικός σωλήνας και iv) η έδρα των θηλυκών ή η αμάρα των αρσενικών (Weischer & Brown, 2000).

Το στόμα διαιρείται σε τρία μέρη: το εμπρόσθιο, το μεσαίο και το οπίσθιο που αποτελεί τη στοματική κοιλότητα. Το σχήμα του μπορεί να είναι τριγωνικό, ημισφαιρικό, επίμηκες, κυλινδρικό, λίγο ή πολύ ενσωματωμένο στο μυϊκό σύστημα του οισοφάγου ή τελείως ελεύθερο (Κύρου, 2004).

Το στοματικό άνοιγμα περιβάλλεται από έξι χείλη, άλλοτε συγχωνευμένα και άλλοτε όχι, ανάλογα με το είδος του νηματώδη. Τα χείλη μπορεί να είναι ευδιάκριτα ή κλεισμένα σε ένα στερεό δερματοποιημένο «πώμα». Κατά κανόνα το στοματικό άνοιγμα οδηγεί στη στοματική κοιλότητα που έχει μια τεράστια ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα δομής και σχήματος, ανάλογα με το είδος του νηματώδη (Gooday, 1933).

Ακολουθεί η στοματική κοιλότητα, που το μέγεθος και σχήμα της ποικίλει και σχετίζεται άμεσα με τον τρόπο παρασιτισμού και διατροφής των νηματωδών. Οι αρπакτικοί νηματώδεις έχουν πλατύ στόμα που περιβάλλεται από δόντια, ενώ οι φυτοπαρασιτικοί έχουν προεκβαλλόμενα στιλέτα που χρησιμοποιούν για να διαπερνούν τα κυτταρικά τοιχώματα (Weischer & Brown, 2000). Το στιλέτο των φυτοπαρασιτικών νηματωδών είναι μια επιδερμική κατασκευή που μοιάζει με μικρό σωληνίσκο. Η διάτρηση των κυτταρικών τοιχωμάτων και η απορρόφηση των συστατικών των κυττάρων επιτυγχάνεται με την ταχεία και παλινδρομική κίνηση του στιλέτου, η οποία πραγματοποιείται με τη βοήθεια εξειδικευμένων μυών. Το σχήμα, το μέγεθος και το μήκος του διαφοροποιείται ανάλογα με το είδος και αποτελεί μορφολογικό χαρακτηριστικό ταξινόμησης. Γενικότερα διακρίνονται δύο κατηγορίες i) Το στοματοστιλέτο που προέρχεται από κύτταρα αποσκληρυμένων τοιχωμάτων της στοματικής κοιλότητας. Εσωτερικά φέρει έναν πολύ λεπτό αγωγό εντός του οποίου η τροφή φτάνει στον οισοφάγο και δια μέσω αυτού στο έντερο, αφού περάσει πρώτα από

τον στοματικό αγωγό, τον οισοφάγο, την καρδιά και τέλος το έντερο. Αποτελεί μορφολογικό γνώρισμα της κλάσης Secernentea. ii) Το οδοντοστιλέτο που προέρχεται από κύτταρα του μυϊκού τοιχώματος του οισοφάγου. Αυτό στην πραγματικότητα απαρτίζεται από ένα εμπρόσθιο τμήμα, το οδοντοστιλέτο και ένα οπίσθιο, τον οδοντοφόρο (Κύρου, 2004).

Ο οισοφάγος συνδέεται με το οπίσθιο άκρο του στόματος και αποτελείται από μυϊκές ίνες και αδένες. Το σχήμα του αποτελεί ταξινομικό χαρακτηριστικό (Vigliarcho, 1991). Συνήθως αποτελείται από τρεις οισοφαγικούς αδένες, από τους οποίους οι δύο είναι πλαγιοκοιλιακοί και ο ένας νωτιαίος. Κάθε αδένας αποτελείται και από έναν αγωγό. Η λειτουργία των αδένων και η ρύθμιση των μυϊκών οισοφαγικών ινών γίνονται υπό την εποπτεία του νευρικού συστήματος (Chitwood & Chitwood, 1950, Hirschmann, 1971).

Η ένωση του οισοφάγου με το έντερο πραγματοποιείται μέσω της οισοφαγικής-εντερικής βαλβίδας (καρδία) που βρίσκεται στη βάση του οισοφάγου. Η βαλβίδα προεκτείνεται ελαφρώς μέσα στον εντερικό σωλήνα, παρεμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο την επιστροφή της τροφής στον οισοφάγο.

Ο εντερικός σωλήνας είναι ένας μακρύς, ευθύς σωλήνας που φέρει μια στρώση επιθηλιακών κυττάρων και δε διατρέχεται από μυϊκές ίνες. Χωρίζεται σε τρία μέρη, το πρόσθιο, το μεσαίο και το οπίσθιο. Η αποβολή των τροφών πραγματοποιείται μέσω του ορθού το οποίο βρίσκεται στο οπίσθιο τμήμα του σώματος του νηματώδη και πρόκειται για την έδρα στα θηλυκά και την αμάρα στα αρσενικά (Κύρου, 2004).

#### *1.4.4 ΕΚΚΡΙΤΙΚΟ – ΑΠΕΚΚΡΙΤΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ*

Ο ρόλος του εκκριτικού-απεκκριτικού συστήματος είναι να αποτοξινώνει τον οργανισμό του νηματώδη, συλλέγοντας και απορρίπτοντας τα μεταβολικά προϊόντα με τη μορφή αμμωνίας που είναι το τελικό προϊόν μεταβολισμού. Απαντάται κυρίως στους νηματώδεις εδάφους ενώ δεν έχει εντοπισθεί σε είδη που διαβιούν σε γλυκά νερά και στη θάλασσα (Crofton, 1966, Hirschmann, 1971). Επίσης, απουσιάζει από ορισμένα είδη νηματωδών, όπως για παράδειγμα πολλά μέλη της Κλάσης Adenophorea. Παλαιότερα αναφερόταν απλώς ως απεκκριτικό εξ αιτίας μιας λανθασμένη ερμηνείας που προήλθε

από τις διάφορες μορφολογικές ομοιότητες με τα πραγματικά απεκκριτικά συστήματα των άλλων ζώων.

Αποτελείται από αδενικά κύτταρα και βρίσκεται στην κοιλιακή χώρα. Οι κύριες λειτουργίες του είναι εκκρίσεις, οσμωτικές και ιονικές ρυθμίσεις ή ακόμη σε κάποιες περιπτώσεις, η παραγωγή ενζύμων που χρησιμοποιούνται στις διαδικασίες έκδυσης (Weischer & Brown, 2000).

#### 1.4.5 ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟ ΣΥΣΤΗΜΑ

Η αναπαραγωγή στους νηματώδεις γίνεται είτε αμφισεξουαλικά με τη σύζευξη αρσενικών και θηλυκών, είτε ερμαφροδιτικά από την αυτογονιμοποίηση θηλυκών που παράγουν σπερματοζωάρια και ωάρια, είτε παρθενογενετικά (Triantafyllou, 1971). Αντίθετα, η μονογονική αναπαραγωγή με πολλαπλασιασμό από σωματικά κύτταρα και απουσία γαμετών δεν υφίσταται. Επίσης υπάρχουν κάποιες περιπτώσεις ερμαφροδιτισμού, όπου υφίσταται παρουσία αρσενικών ατόμων που μπορεί να λάβουν ενεργό ή μη ενεργό ρόλο. Όταν είναι ενεργητικά η αναπαραγωγή γίνεται αμφιμικτικά ενώ στην αντίθετη περίπτωση με αυτογονιμοποίηση (Triantaphyllou, 1971).

Καθώς πρόκειται για ζώα γονοχωριστικά, η αναπαραγωγή γίνεται κυρίως αμφιμικτικά, δηλαδή με τη διασταύρωση αρσενικών και θηλυκών ατόμων. Σε ορισμένα είδη, τα θηλυκά είναι περισσότερα από τα αρσενικά, τα οποία μπορεί και να απουσιάζουν τελείως, οπότε η αναπαραγωγή γίνεται είτε παρθενογενετικά, δηλαδή χωρίς την γονιμοποίηση των ωών, είτε ερμαφροδιτικά οπότε η παραγωγή ωαρίων και σπερματοζωαρίων πραγματοποιείται από τα θηλυκά (Κολιοπάνος, 1999). Η αναλογία αρσενικών προς τα θηλυκά είναι κατά βάση 1:1 αλλά εξαρτάται κατά πολύ από τις συνθήκες του περιβάλλοντος και διαφέρει από είδος σε είδος. Για παράδειγμα, σε περιπτώσεις υψηλών θερμοκρασιών, σοβαρής προσβολής ή απουσίας τροφής τα αρσενικά άτομα είναι περισσότερα από τα θηλυκά, όπως έχει παρατηρηθεί για ορισμένα είδη *Meloidogyne* (Tyler, 1933).

Το βασικό αναπαραγωγικό σύστημα των θηλυκών είναι μια σωληνοειδής δομή επικαλυμμένη με μία μονή στρώση επιθηλίου (Weischer & Brown, 2000). Τα κυρίως μέρη του είναι ένας ή δύο γεννητικοί βραχίονες. Όταν ο βραχίονας είναι ένας

(μονόδελφος) τότε μπορεί να κατευθύνεται είτε προς τα μπρος (μονόδελφος-πρόδελφος) είτε προς τα πίσω (μονόδελφος-οπισθόδελφος), ενώ όταν υπάρχουν δύο βραχίονες εκτείνονται εκατέρωθεν του κόλπου με αναδιπλούμενες ή μη ωοθήκες. Κάθε βραχίονας περιλαμβάνει μία ωοθήκη, τη σπερματοθήκη και τον ωαγωγό. Οι δύο βραχίονες συναντιούνται συνήθως στο μέσο του σώματος, στη μήτρα και ακολουθεί ο κόλπος που εκβάλλει προς τα έξω μέσω του γεννητικού πόρου. Όλη η περιοχή του αναπαραγωγικού συστήματος των θηλυκών είναι εξοπλισμένη με ισχυρούς μύες, γεγονός που βοηθά την μεγιστοποίηση της παραγωγής ωών (Crofton, 1966, Hirschmann, 1971, Allen, 1960).

Το αναπαραγωγικό σύστημα των αρσενικών εντοπίζεται στο οπίσθιο μέρος του σώματος κοντά στην άμαρα. Αποτελείται από δύο βραχίονες που είτε κατευθύνονται και οι δύο προς την ίδια πλευρά είτε σε αντίθετη κατεύθυνση, ή από ένα βραχίονα που κατευθύνεται προς τα εμπρός. Κάθε γεννητικός βραχίονας περιλαμβάνει έναν όρχι και τον σπερματικό αγωγό που συνδεόμενος με τη σπερματική κύστη σχηματίζει τον εκσπερματικό αγωγό, ο οποίος εκβάλλει στην άμαρα. Τα όργανα συνουσίας είναι δύο ή μία συζευκτικές άκανθοι (spicules) πρωτεϊνικής σύστασης με σκληρή υφή. Σε μερικά είδη απαντάται και ένα επιπλέον όργανο, το πηδάλιο (gubernaculum), που βρίσκεται κοντά στις συζευκτικές ακάνθους και θεωρείται χρήσιμο στην οχεία. Τα αρσενικά ορισμένων ειδών φέρουν κάποιους επιδερμικούς σχηματισμούς στην περιοχή της αμάρας, οι οποίοι ονομάζονται ουραίες πτέρυγες (bursae) και λειτουργούν σαν όργανα περίπτυξης κατά τη συνουσία (Thorne, 1961, Filipjev et al., 1959).

Οι νηματώδεις είναι ωοτόκοι οργανισμοί και τα ωά τους είναι ωοειδή με τυπική μορφή.

### 1.5 ΔΙΑΒΙΩΣΗ

Οι νηματώδεις για να ζήσουν απαιτούν μια κατοικία (=υπόστρωμα), τροφή, νερό και κατάλληλη θερμοκρασία για την επιβίωση, αναπαραγωγή και ανάπτυξή τους. Επίσης, εκτός από λίγες εξαιρέσεις ζουν σε μία κοινωνία που συνδυάζει εξωτερικές και εσωτερικές αλληλεπιδράσεις ανάμεσα στους νηματώδεις και στους άλλους βιολογικούς οργανισμούς που μοιράζονται τον ίδιο χώρο (Fergaz, 2000).

Οι νηματώδεις ταξινομούνται με βάση την οικολογική τους προσαρμογή στις ακόλουθες ομάδες:

1. Ζωικά παράσιτα: Ασπόνδυλων, Σπονδυλωτών
2. Μη ζωοπαρασιτικοί: Υδροβιοί, Υφάλμυρων νερών και Γλυκών νερών
3. Αμφίβιοι
4. Εδάφους: Σαπροφάγοι, Σαρκοφάγοι, Μυκητοφάγοι και Φυτοπαρασιτικοί.

Η παρουσία ενός είδους νηματώδη σε μία γεωγραφική περιοχή ή τοποθεσία εξαρτάται από την αντίστοιχη παρουσία και διάδοση των ξενιστών του. Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις και τα φυτά ξενιστές τους συνδέονται τόσο στενά ώστε συχνά η γεωγραφική τους εξάπλωση συμπίπτει και η παρουσία του ενός είναι ενδεικτική της παρουσίας του άλλου, όπως για παράδειγμα το είδος *Tylenchulus semipenetrans* συνδέεται στενά με τις περιοχές όπου καλλιεργούνται εσπεριδοειδή.

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις τρέφονται κυρίως με ρίζες, βολβούς, ριζώματα ή κονδύλους, αλλά κάποια είδη μπορούν να παρασιτούν και άλλα μέρη του φυτού, όπως τα στελέχη, τα φύλλα ή τα άνθη (Crofton, 1971) γι' αυτό διακρίνονται σε 2 κατηγορίες:

- Στους παρασιτικούς υπέργειων φυτικών τμημάτων που ζουν στην επιφάνεια του εδάφους απ' όπου μεταφέρονται στα υπέργεια μέρη των φυτών (φύλλα, βλαστούς, άνθη) και τρέφονται ενδοπαρασιτικά ή εκτοπαρασιτικά (Μπούρμος & Σκουντριάδης, 1990).
- Στους παρασιτικούς υπόγειων φυτικών τμημάτων που προσβάλλουν τα υπόγεια μέρη των φυτών (ρίζες, κονδύλους, βολβούς, ριζώματα) και διακρίνονται σε εκτοπαρασιτικούς, ενδοπαρασιτικούς και ημιενδοπαρασιτικούς (Κύρου, 2004).

Οι περισσότεροι νηματώδεις διαβιούν γύρω από τη ριζόσφαιρα των ξενιστών τους στα ανώτερα στρώματα του εδάφους, μέχρι βάθους 40 εκατοστών για αυτόν το λόγο όσο αυξάνει το βάθος της δειγματοληψίας τόσο μειώνεται και ο πληθυσμός των νηματωδών (Wang & Zhang, 1992).

## 1.6 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου των νηματωδών κυμαίνεται συνήθως από 15-50 ημέρες και εξαρτάται από το είδος τους και τις συνθήκες περιβάλλοντος (Κύρου,

2004). Συνολικά ο βιολογικός τους κύκλος περιλαμβάνει το ωό, 4 προνυμφικά στάδια και το ακμαίο (θηλυκό ή αρσενικό).

Τα ωά εναποτίθενται από τα θηλυκά μετά τη γονιμοποίηση αυτών, μέσα ή έξω από τις ρίζες των ξενιστών τους, ανάλογα με το είδος. Μετά το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου και τη μάρανση των φυτών μπορεί να παραμένουν μέσα στις νεκρές ρίζες ή στο έδαφος. Η διάρκεια παραμονής του στο έδαφος εξαρτάται από το είδος τους, μπορεί να είναι από κάποιους μήνες μέχρι και μερικά χρόνια και η προστασία τους από τυχόν δυσμενείς συνθήκες επιτυγχάνεται μέσω του ανθεκτικού κελύφους που τα περιβάλλει (Κύρου, 2004). Ο αριθμός των ωών που εναποθέτει κάθε θηλυκό εξαρτάται από το είδος του. Για παράδειγμα οι κυστογόνοι νηματώδεις της πατάτας γεννούν 500-600 ωά (Κύρου, 2004), ενώ οι κομβονηματώδεις (*Meloidogyne*) 100-1000 (Karssen, 1999). Η εκκόλαψη των ωών εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Ένας από τους πιο βασικούς είναι το νερό, το οποίο είτε μόνο του είτε σε συνεργασία με τις ουσίες που μεταφέρει από τις ρίζες των φυτών της καλλιέργειας επάγει ή ακόμη αναστέλλει την εκκόλαψη των ωών.

Από το ωό εξέρχεται το ατελές άτομο ή προνύμφη 1<sup>ου</sup> σταδίου (J1). Το πέρασμα από τα ένα προνυμφικό στάδιο στο επόμενο γίνεται μέσω μιας έκδυσης, δηλαδή αποδερμάτωσης και σχηματισμού νέας επιδερμίδας που συμβαίνει λόγω της αύξησης του μεγέθους του σώματος (Ηλιόπουλος, 1997). Μετά την πρώτη έκδυση που υφίσταται η προνύμφη J1, προκύπτει η προνύμφη 2<sup>ου</sup> σταδίου (J2), η οποία τις περισσότερες φορές είναι το κατ' εξοχήν παθογόνο στάδιο των φυτοπαρασιτικών νηματωδών. Ακολούθως λαμβάνει χώρα η δεύτερη έκδυση εντός ή εκτός του ξενιστή και προκύπτει η προνύμφη 3<sup>ου</sup> σταδίου (J3). Μετά την τρίτη έκδυση προκύπτει η νύμφη 4<sup>ου</sup> σταδίου (J4) και τέλος ακολουθεί η τέταρτη έκδυση από την οποία προκύπτει το τέλειο θηλυκό ή αρσενικό άτομο (Κύρου, 2004). Τα προνυμφικά στάδια ονομάζονται και ατελή καθώς έχουν όλα τα όργανά τους ανεπτυγμένα εκτός του αναπαραγωγικού συστήματος (Κολιοπάνος, 1999). Τα νεαρά άτομα είναι συνήθως μικροσκοπικές αντιγραφές των ενήλικων και το σώμα τους αυξάνει σε μέγεθος όσο αναπτύσσονται. Όταν φτάσουν στο J3 επέρχεται η σεξουαλική διαφοροποίηση.

Η διάρκεια ζωής των νηματωδών εξαρτάται από τις συνθήκες που επικρατούν στο περιβάλλον που ζουν, όπως η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία του εδάφους, ο αερισμός, ο εδαφικός τύπος, καθώς και η παρουσία κατάλληλου ξενιστή (Κύρου, 2004).

Τα αρσενικά άτομα έχουν συνήθως μικρότερη διάρκεια ζωής, ενώ τα θηλυκά ζουν περισσότερο και συνεχίζουν να τρέφονται εις βάρος του ξενιστή μέχρι να φτάσουν στη σεξουαλική ωριμότητα και καθ' όλη την ωοτόκο περίοδο (Ferraz, 2000).

Απαραίτητοι παράγοντες για την επιβίωσή τους είναι η παρουσία επαρκούς νερού και οξυγόνου και η ύπαρξη κατάλληλου ξενιστή. Ιδανικότερες συνθήκες είναι: θερμοκρασία 10-30°C, εδαφική υγρασία 50-70%, εδαφική οξύτητα pH 5-8 και έδαφος μέσης σύστασης. Σε δυσμενείς συνθήκες, όπως θερμοκρασίες κάτω των 10°C ή άνω των 30°C, βαριά αργιλώδη ή πολύ ελαφρά αμμώδη εδάφη, με πολύ χαμηλή ή υπερβολική υγρασία αλλά και απουσία κατάλληλου ξενιστή παρατηρείται περιορισμός της δραστηριότητάς τους ή ακόμη και πλήρης αδρανοποίησή. Οι νηματώδεις μπορεί να αναβιώνουν από αυτό το είδος νάρκης και να επαναδραστηριοποιούνται όταν δημιουργηθούν ευνοϊκές συνθήκες. Ωστόσο, σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο Long Island την Νέας Υόρκης, διαπιστώθηκε ότι οι χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα δεν περιορίσαν την ανάπτυξη και τη δραστηριότητα των κομβονηματοδών (Cunningham, 1936, Daulton & Nusbaum, 1961). Επίσης ενώ κάποια είδη σταματούν την δραστηριότητά τους και αποθνήσκουν σε συνθήκες απουσίας νερού, ορισμένα άλλα δημιουργούν ανθεκτικές, αδρανείς μορφές, που μπορούν να αντέχουν μένοντας αδρανή για μεγάλα χρονικά διαστήματα, όπως οι κυστογόνοι νηματώδεις *Heterodera* spp. και *Globodera* spp. (Fielding, 1951). Υπό άριστες συνθήκες, η πυκνότητα του πληθυσμού των νηματωδών έχει υπολογιστεί ότι ανέρχεται στα 30 εκατομμύρια άτομα/m<sup>2</sup> σε ένα αγροοικοσύστημα (Ferraz, 2000).

### 1.7 ΔΙΑΣΠΟΡΑ

Η κίνηση των νηματωδών είναι οφιοειδής και έτσι οι αποστάσεις που διανύουν είναι περιορισμένες, μέχρι περίπου ένα μέτρο ανά έτος, λόγω του μικρού μήκους του σώματός τους. Σε αντίθεση με τα έντομα που μπορούν να πετάξουν, ή κάποιους μύκητες που εκτίθενται στον αέρα με κάποιους ειδικούς μηχανισμούς που έχουν, η πλειοψηφία των νηματωδών που επιτίθενται στις ρίζες των φυτών δεν έχουν ενσωματωμένη δομή ή στρατηγικές για να μπορούν να διαδοθούν ταχύτερα (Ferraz, 2000). Έτσι, για να εξαπλωθούν από περιοχή σε περιοχή και από χώρα σε χώρα, έχουν στη διάθεσή τους

ποικίλους άλλους τρόπους, οι πιο πολλοί προέρχονται από την παρέμβαση του ανθρώπου. Αυτό επιτυγχάνεται με τα γεωργικά εργαλεία και μηχανήματα, καθώς επίσης και με τα ρούχα και τα παπούτσια των εργατών, στα οποία προσκολλάται το χώμα και συνεπώς οι περιεχόμενοι σε αυτό νηματώδεις. Επίσης μπορεί να μεταφερθούν μέσω του τριχώματος ζώων (π.χ. τρωκτικών και κατοικίδιων) αλλά και μέσω του νερού της βροχής και της άρδευσης και μέσω του αέρα. Για παράδειγμα, νηματώδεις και ωά με προέλευση τη Βόρειο Αφρική διαδόθηκαν στη νότια Ευρώπη από μολυσμένο χώμα που παρασύρθηκε από ρεύματα αέρα κατά μήκος της Μεσόγειου Θάλασσας (Evans, 1987). Στις μακρινές αποστάσεις, η διασπορά των νηματωδών γίνεται κυρίως με τη διεθνή ανταλλαγή χωμάτων, φυτών ή φυτικών τμημάτων που είναι μολυσμένα με νηματώδεις και με τη χρησιμοποίηση μολυσμένων δενδρυλλίων, φυταρίων, κονδύλων, βολβών και σπόρων που είναι μολυσμένα. Πολλά επιβλαβή είδη όπως τα *Bursaphelenchus xylophilus*, *Ditylenchus dipsaci*, *Globodera rostochiensis* και *G. pallida*, *Radopholus similis*, *Tylenchulus semipenetrans* και *Xiphinema index* έχουν εδραιωθεί παγκοσμίως μέσω της διεθνούς ανταλλαγής.

### 1.8 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΠΡΟΣΒΟΛΩΝ

Η αντίδραση των φυτών μετά από προσβολή νηματωδών, ποικίλει ανάλογα με το είδος των νηματωδών αλλά και των φυτών. Τα συμπτώματα προσβολής από νηματώδεις δεν είναι πάντα ακριβή, ούτε μία μακροσκοπική εξέταση κάνει τη διάγνωσή τους αναμφισβήτητη. Η αναγνώριση πάντως των συμπτωμάτων είναι σημαντική, γιατί παρέχει την προειδοποίηση ότι νηματώδεις μπορεί να ευθύνονται για την ζημιά των φυτών, αλλά μόνο μετά από περαιτέρω εξέταση θα διευκρινισθεί κατά πόσο αυτό είναι γεγονός (Wallace, 1963).

Τα συμπτώματα προσβολών από φυτοпараσιτικούς νηματώδεις διακρίνονται σε συμπτώματα του υπέργειου τμήματος των φυτών και συμπτώματα του υπόγειου τμήματος. Στην 1<sup>η</sup> κατηγορία αναφέρονται:

Μειωμένη ανάπτυξη, δηλαδή βραδύς ρυθμός ή πλήρης ανασχεση της ανάπτυξης που παρατηρείται συχνά με την εμφάνιση κηλίδων στο χωράφι (σα μπαλώματα).  
Αποχρωματισμός του φυλλώματος. Σε πολλές καλλιέργειες (ροδακινιάς, εσπεριδοειδών,



μπανανών κ.α.) κάποιες φορές παρατηρείται αποχρωματισμός μαζί με χλώρωση του φυλλώματος που είναι ενδεικτικά της έλλειψης θρεπτικών ουσιών λόγω της προσβολής από νηματώδεις στο ριζικό σύστημα.

Παραμόρφωση και μη φυσιολογική ανάπτυξη. Παραμόρφωση στα εναέρια μέρη των φυτών, κυρίως στο στέλεχος και τα φύλλα παρατηρείται από προσβολή από νηματώδεις που επιτίθενται στο υπέργειο τμήμα (*Ditylenchus* spp., *Aphelenchoides* spp., *Anguina* spp.) (Wallace, 1963).



**Εικόνα 1.3.** Στα δεξιά προσβεβλημένα φυτά τομάτας από νηματώδεις.

Άλλα συμπτώματα που μπορεί να παρατηρηθούν είναι: καχεξία, μάρανση μικρής ή μεγάλης έκτασης και σε ορισμένες περιπτώσεις νέκρωση, καθυστέρηση της βλάστησης, νανισμός, μικροφυλλία και φυλλόπτωση, μικροκαρπία και νεκρώσεις βραχιόνων.

Στην 2<sup>η</sup> κατηγορία αναφέρονται:

Μείωση της ανάπτυξης του ριζικού συστήματος. Η εξάντληση, το σάπισμα και οι νεκρώσεις των ριζών είναι σύνηθες φαινόμενο. Κάποιοι νηματώδεις όπως ο *Tylenchorhynchus claytoni* και οι *Trichodorus* spp. μπορεί να προσβάλουν το ριζικό σύστημα και το μόνο εμφανές τους σύμπτωμα να είναι η μειωμένη ανάπτυξή του (Wallace, 1963).

Διακοπή της ανάπτυξης της κεντρικής ρίζας και παραγωγή πλάγιων οφθαλμών με υπερβολική διακλάδωση των ριζών. Κάποια είδη νηματωδών δεν προκαλούν γενική παρακμή του ριζικού συστήματος αλλά το φυτό μπορεί να ανταποκρίνεται αυξάνοντας τον όγκο των ριζών με την έκπτυξη μεγάλου αριθμού πλάγιων ριζιδίων, όπως το γένος *Heterodera* (Thorne, 1961).

Κόμβοι και εξογκώματα πάνω στις ρίζες, το μέγεθος, το σχήμα και ο αριθμός των οπίων ποικίλει. Αποτελούν συνήθως διάγνωση προσβολής από *Meloidogyne* spp. (Wallace, 1963).

Συστροφή ριζών.

Σήψη κονδύλων και βολβών (*Ditylenchus*).

Αν δε γίνει έγκαιρη διάγνωση των συμπτωμάτων και αντιμετώπισή τους, οι ζημιές που μπορεί να προκληθούν δεν θα είναι πλέον αναστρέψιμες. Για παράδειγμα, μηχανικές βλάβες οδηγούν σε κυτταρικές και επιδερμικές νεκρώσεις, οι οποίες επάγουν και την ανάπτυξη δευτερογενών προσβολών από παθογόνα βακτήρια ή μύκητες, με συνέπεια την δυσλειτουργία και την καταστροφή των φυτικών ιστών. Επίσης, συχνό φαινόμενο αποτελούν και οι μολύνσεις από νηματώδεις φορείς φυτοπαθογόνων ιών ή άλλων ασθενειών με συνέπεια τη διαταραχή της βιοχημείας και παρακμή του φυτού, ως αποτέλεσμα της απομύζησης των κυτταρικών χυμών (Christie, 1959).

### 1.9 ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις είναι τα πιο δύσκολα φυτικά παράσιτα όσον αφορά στην καταπολέμησή τους. Η διαχείριση των προβλημάτων από την προσβολή τους γίνεται με χρήση ανθεκτικών φυτών, αμειψισπορά και άλλες προφυτευτικές εφαρμογές ή με χημικά νηματοκτόνα (Chitwood, 2002) που όμως και αυτά με τη σειρά τους έχουν τις δικές τους βλαβερές συνέπειες προς το περιβάλλον και το οικοσύστημα. Δύο ομάδες νηματοκτόνων χρησιμοποιούνται σήμερα: αυτά που είναι με χαμηλό μοριακό βάρος εδαφικής απολύμανσης και αυτά που δρουν εξ' επαφής και περιέχουν ενώσεις καρβαμιδικών ή οργανοφωσφορικών.

Για την ανάπτυξη νέων νηματοκτόνων πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψη ότι το επιδερμικό στρώμα των νηματωδών, τους προστατεύει από την εισχώρηση πολλών οργανικών μορίων επομένως ένα νηματοκτόνο πρέπει να φτιάχνεται με ικανότητα να τους διαπερνά, ώστε να μη γίνουν τοξικά ή πτητικά, προκαλώντας βλάβες στον άνθρωπο και το περιβάλλον όπως είναι η μόλυνση των υπόγειων υδάτων και η μείωση

του ατμοσφαιρικού όζοντος, χωρίς να έχουν εισχωρήσει στους νηματώδεις (Chitwood, 2002).

Το οικονομικό κόστος των ερευνών και καταχωρήσεων νέων χημικών είναι ένα μεγάλο εμπόδιο για τη δημιουργία νέων νηματοκτόνων. Οι αγροχημικές εταιρείες διοχετεύουν περισσότερο τις έρευνές σε προϊόντα που είναι περισσότερο εκμεταλλεύσιμα στην αγορά, όπως τα ζιζανιοκτόνα και τα εντομοκτόνα. Επίσης συνθετικά χημικά δε θεωρούνται ότι είναι το καλύτερο για τη μελλοντική αντιμετώπιση των νηματωδών. Κατά συνέπεια, πολλές ομάδες ερευνητών τείνουν να αναπτύσσουν στρατηγικές που έχουν σαν κύρια στοιχεία ουσίες που προέρχονται από τα φυτά.

Γενικότερα πάντως, βάση της αντιμετώπισης των νηματωδών είναι η λήψη μέτρων που θα μειώσει τις πιθανότητες προσβολής από νηματώδεις. Έτσι, πολύ σημαντική είναι η πρόληψη της εισόδου των νηματωδών σε περιοχές που δεν έχουν ακόμη προσβληθεί. Για το σκοπό αυτό επιβάλλονται τα ακόλουθα μέτρα:

- Να χρησιμοποιούνται πιστοποιημένα υλικά φύτευσης
- Να χρησιμοποιούνται μέσα ανάπτυξης χωρίς έδαφος σε καλλιέργειες θερμοκηπίου (π.χ. σε αναερόβιες συνθήκες, υδροπονία).
- Να καθαρίζεται ο εξοπλισμός από το χώμα πριν να μετακινηθεί σε άλλο αγρό.
- Να κρατείται το πλεονάζων αρδευτικό νερό ώστε οι νηματώδεις που τυχόν υπάρχουν να κατακρατούνται εκεί και να σχεδιάζεται η άρδευση έτσι ώστε να ελαχιστοποιείται η περίσσεια νερού.
- Να προλαμβάνεται ή να ελαττώνεται η μετακίνηση ζώων από προσβλημένες περιοχές σε περιοχές που δεν έχουν προσβληθεί.
- Στην κομπόστα κόπρου να σκοτώνονται οποιοδήποτε νηματώδεις μπορεί να είναι παρόντες, προτού εφαρμοστεί στον αγρό (Kodira & Westerdahl, 1995).
- Να απομακρύνονται πληθυσμοί ζιζανίων που μπορεί να βοηθούν στην επιβίωση των νηματωδών (Yerssen, 1984).

Από τη στιγμή που μια καλλιέργεια θα προσβληθεί από νηματώδεις η καταπολέμηση μπορεί να γίνει με την επιστράτευση των φυσικών, των βιολογικών και των χημικών μεθόδων.

Όσον αφορά στην εξέταση των δειγμάτων και διάγνωση του προβλήματος, πριν την εφαρμογή νηματοκτονίας σ' έναν αγρό, ακόμη και στην περίπτωση των

προφυτευτικών εφαρμογών, πρέπει πάντα να προσδιορίζονται τα απαντώμενα είδη και να καταμετρείται το μέγεθος του πληθυσμού, ώστε στη συνέχεια να ακολουθείται η σωστή πρακτική. Αυτό συμβαίνει γιατί οι φυτοпараσιτικοί νηματώδεις δεν είναι στο σύνολό τους εχθροί όλων των καλλιεργειών αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις υπάρχουν εξειδικευμένες αλληλεπιδράσεις. Επίσης, η παρουσία ενός φυτοпараσιτικού νηματώδη δε σημαίνει πάντα ότι αυτός είναι ο περιοριστικός για την καλλιέργεια παράγοντας. Επίσης, σε πολλές περιπτώσεις ενώ εφαρμόζουμε σωστή νηματοκτονία δεν παρατηρείται η αναμενόμενη βελτίωση στην παραγωγή, άρα πρέπει να αναζητηθεί κάποιος διαφορετικής φύσης περιοριστικός παράγοντας, όπως μύκητες, ιοί, προβλήματα αλατότητας ή κακής παροχή νερού. Για το λόγο αυτό, τόσο η απομόνωση των νηματωδών από τα δείγματα εδάφους και ριζών, όσο και η ταυτοποίηση αυτών πρέπει να πραγματοποιείται από ειδικά εξοπλισμένα εργαστήρια και από εξειδικευμένο προσωπικό (Verdejo-Lucas & McKenry, 2004). Εφ' όσον στα δείγματα ανιχνευτεί τελικά παρουσία φυτοпараσιτικών νηματωδών επιβλαβών για την καλλιέργεια που μας ενδιαφέρει, τότε θα ακολουθήσει η εξυγίανση τους εδάφους.

### *1.9.1. ΦΥΣΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ*

Η φυσική καταπολέμηση βασίζεται στο ότι κάθε ζωντανός οργανισμός έχει συγκεκριμένα όρια ζωής και εμπεριέχει διάφορες μεθόδους:

1. Κατάλληλη προετοιμασία το αγρού που διατηρεί τη γονιμότητά του, γεγονός που συντελεί στην ευρωστία των φυτών, την ανάπτυξη καλής υγείας και την ανθεκτικότητά τους σε προσβολές από διάφορους οργανισμούς (Κύρου, 2004).
2. Καλή κατεργασία, η οποία στοχεύει στην αναμόχλευση του εδάφους, που έχει ως αποτέλεσμα την έκθεση των νηματωδών στην ηλιακή ακτινοβολία και τον αέρα (Jones et al., 1969).
3. Επιλογή πρώιμων καλλιεργειών και ποικιλιών που επιτρέπει στο φυτό να αναπτύξει περισσότερο το ριζικό σύστημα και να ξεφύγει από τα ευάλωτα αρχικά στάδια της ανάπτυξής του, πριν αρχίσει να αυξάνεται η θερμοκρασία του εδάφους και η δραστηριοποίηση των νηματωδών (Κύρου, 2004).

4. Η αμειψισπορά με είδη ή ποικιλίες που δεν αποτελούν ξενιστές του νηματώδη που μας ενδιαφέρει, με απαραίτητη προϋπόθεση τη γνώση του είδους του νηματώδη και των ξενιστών του (Barker, 1991). Η διάρκεια της μπορεί να είναι ένα, δύο ή και περισσότερα χρόνια, ανάλογα με την καλλιέργεια και το είδος του νηματώδη. Κατά την εφαρμογή αμειψισποράς δεν πρέπει να υπάρχουν στον αγρό άλλα φυτά, ιδιαίτερα ζιζάνια (Hooper & Stone, 1980).
5. Η αγρανάπαυση που είναι η καλλιεργητική τακτική κατά τη οποία ο αγρός παραμένει χωρίς καλλιέργεια για χρονικό διάστημα τουλάχιστον ίσο με τη διάρκεια του καλοκαιριού, ενώ ταυτόχρονα οργώνεται μια – δύο φορές ώστε οι προσβεβλημένες ρίζες να εκτεθούν στον ήλιο και στον αέρα. Είναι μία αρκετά αποτελεσματική μέθοδος ειδικά για ορισμένα είδη που δεν αντέχουν στην ξηρασία όπως οι κομβονηματώδεις (*Meloidogyne* spp.). Απαραίτητη προϋπόθεση είναι να γνωρίζουμε το ακριβές είδος του νηματώδη και τους ξενιστές του (Barker, 1991).
6. Κατάκλιση του αγρού με νερό ώστε οι νηματώδεις να θανατωθούν από έλλειψη οξυγόνου και τροφής. Τα αποτελέσματα της μεθόδου διαφέρουν ανάλογα με το είδος των νηματωδών αλλά γενικά δεν εφαρμόζεται ως αντιοικονομική λόγω της δυσκολίας ανεύρεση τόσων μεγάλων ποσοτήτων νερού. Καλύτερα αποτελέσματα επιτυγχάνονται με την εναλλαγή μιας υγρής περιόδου με μια ξηρή (Overmann, 1964).
7. Απολύμανση φυτικών μερών με θερμό νερό. Η εμβάπτιση του φυτού γίνεται σε νερό θερμοκρασίας 45-50°C για μικρό χρονικό διάστημα, όπου οι νηματώδεις θανατώνονται αλλά οι φυτικοί ιστοί παραμένουν ανέπαφοι. Η μέθοδος ενδείκνυται για πολλά βολβώδη είδη όπως για τον *Ditylenchus dipsasi* στο κύμινο, και τον κρόκο, για τους *Meloidogyne* spp. στον υάκινθο κ.α. (Bryden et al., 1967).
8. Η μέθοδος της ηλιοαπολύμανσης όπου ο αγρός καλύπτεται με λεπτό διαφανές πολυαιθυλένιο για ένα τουλάχιστον μήνα κατά τη θερινή περίοδο και έχει ως αποτέλεσμα την άνοδο της θερμοκρασίας του εδάφους στους 40-50°C, επίπεδο θανατηφόρο για τα περισσότερα παθογόνα, μύκητες, βακτήρια, ακάρεα και τους νηματώδεις (Gaur & Perry, 1991). Η χρήση της ηλιακής θερμότητας σε θερμοκήπια κηπευτικών έχει αποδειχθεί πολύ αποτελεσματική στην καταπολέμηση των νηματωδών *Meloidogyne* (Katan, 1981).

9. Η αύξηση της συγκέντρωσης της οργανικής ουσίας του εδάφους ευνοεί την ανάπτυξη και δραστηριότητα σαπροφυτικών οργανισμών οι οποίοι δρουν ανταγωνιστικά προς τους νηματώδεις μειώνοντας τους πληθυσμούς τους (Κολιοπάνος, 1999).
10. Η απολύμανση του εδάφους με υδρατμούς. Η απονημάτωση του εδάφους με θερμό ατμό είναι πολύ αποτελεσματική αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιορισμένη έκταση, επειδή είναι δαπανηρή και δύσκολη διαδικασία και απαιτεί ειδικό εξοπλισμό. Οι θερμοκρασίες άνω των 52-60°C έχει διαπιστωθεί ότι είναι θανατηφόρες για τους νηματώδεις (Κύρου, 2004).

### *1.9.2. ΧΗΜΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ*

Τα χημικά μέσα αποτελούν την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη μέθοδο αντιμετώπισης των νηματωδών. Για την επιτυχία της, η δραστική ουσία πρέπει να είναι στην κατάλληλη συγκέντρωση και να έρθει σε άμεση επαφή με το σώμα του νηματώδη ώστε να εισχωρήσει σε αυτό είτε μέσω της επιδερμίδας του, είτε μέσω των φυσικών ανοιγμάτων που διαθέτει (έδρα, γεννητικός πόρος, στόμα) είτε τέλος μέσω των φυτών που έχουν απορροφήσει (Κολιοπάνος, 1999).

Σχετικά με τον ακριβή τρόπο δράσης των νηματοκτόνων ουσιών δε γνωρίζουμε πολλά, ωστόσο είναι γνωστό ότι αδρανοποιούν συγκεκριμένα ζωτικά ένζυμα ή πρωτεΐνες των νηματωδών, προκαλώντας εξασθένηση διάφορων νευρικών και μυικών λειτουργιών με αποτέλεσμα να καταστέλλουν τις διαδικασίες ανάπτυξης, αναπαραγωγής και προσανατολισμού προς τους ξενιστές τους.

Το πρώτο τέτοιο σκεύασμα που ανακαλύφθηκε και χρησιμοποιήθηκε μετά τον πρώτο παγκόσμιο πόλεμο ήταν η χλωροπικρίνη, ένα σκεύασμα πολύ αποτελεσματικό εναντίον όλων των μικροοργανισμών του εδάφους με μικρό βιολογικό κύκλο. Ωστόσο η μεγάλη πτητικότητα, η τοξικότητα, η δακρυγόνας δράση και το υψηλό της κόστος περιόρισαν τη χρήση της μόνο σε φυτά μεγάλης προσόδου και για σοβαρές ασθένειες, για τις οποίες δεν υπήρχε άλλος τρόπος καταπολέμησης. Οι νηματοκτόνες ιδιότητες του D-D και Telone (καπνογόνα εδάφους με δραστική ουσία το 1,3 διχλωροπροπένιο) διαπιστώθηκαν το 1940.

Οι πρώτες μορφές νηματοκτόνων σκευασμάτων που κυκλοφόρησαν στο εμπόριο γύρω στο 1960 ήταν κοκκώδεις και η εφαρμογή τους γινόταν με διασπορά στο έδαφος και ενσωμάτωσή τους σε βάθος περίπου 10 εκ. Σήμερα διατίθενται συμπυκνωμένα γαλακτώματα τα οποία δύναται να εφαρμοστούν μέσω υδρόλυσης και οξειδωσης, για το λόγο αυτό πρέπει να λαμβάνονται σοβαρά υπ' όψη οι ιδιότητές του σχετικά με τη μετακίνησή τους μέσα στο έδαφος και την υπολειμματικότητά τους (Καραναστάση, 2006).

Σημαντικό στοιχείο είναι και η διαλυτότητά τους στο νερό, καθώς όσο υψηλότερη είναι αυτή τόσο πιο μεγάλη είναι και η πιθανότητα να φτάσει η δραστική ουσία στον επιθυμητό στόχο. Έτσι, το oxamyl παρουσιάζει υψηλή διαλυτότητα (280.000 ppm στους 25°C), μετά ακολουθεί το aldicarb (6000 ppm στους 25°C), το ethoprophos (750 ppm), το fenamiphos (700 ppm στους 20°C), το carbofuran (700 ppm στους 25°C), και τέλος το cadusafos (248 ppm) (Hafue & Gowen, 1987).

Επίσης, η περιεχόμενη στο έδαφος υγρασία είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει τη διάχυση του σκευάσματος στο έδαφος. Οι ουσίες χαμηλής διαλυτότητας προσκολλώνται εύκολα στα ξηρά εδαφικά σωματίδια με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται η περαιτέρω διάχυσή τους σε βαθύτερα στρώματα.

Βασικό ρόλο παίζει επίσης το αρδευτικό σύστημα, το οποίο επηρεάζει και την ανάπτυξη του ριζικού συστήματος των φυτών αλλά και τη διασπορά των νηματωδών και βέβαια διαφέρει από περιοχή σε περιοχή. Όσον αφορά στη στάγδην άρδευση, οι ρίζες αναπτύσσονται συνήθως γύρω από την περιοχή του σταλακτήρα και κατά συνέπεια η καταπολέμηση των νηματωδών περιορίζεται στη ζώνη αυτή (Mc Kenry et al., 1997). Για το λόγο αυτό συνιστάται πολύ καλό πότισμα πριν από την εφαρμογή οποιουδήποτε σκευάσματος.

Ένας άλλος παράγοντας που επηρεάζει τη διάχυση των σκευασμάτων είναι ο εδαφικός τύπος. Ο χειρισμός των εδαφών με μικρό μέγεθος κόκκων που έχουν χαμηλό πορώδες και μεγαλύτερη ικανότητα ανταλλαγής κατιόντων, είναι πιο δύσκολος απ' ό τι συμβαίνει στα αμμώδη εδάφη. Τα νηματοκτόνα πρέπει να παραμείνουν για κάποιο χρονικό διάστημα στο έδαφος ώστε να δράσουν (η δραστική δόση εξαρτάται από το γινόμενο της συγκέντρωσης της δραστικής ουσίας επί το χρόνο δράσης), αν και μακρά διαμονή της ουσίας στο έδαφος δεν είναι επιθυμητή γιατί εγκυμονεί τον κίνδυνο

μόλυνσης των υπόγειων νερών και της παρουσίας τοξικών υπολειμμάτων στους καρπούς. Η οργανική ουσία του εδάφους επηρεάζει επίσης τη δραστηριότητα των νηματοκτόνων γιατί τα περισσότερα από αυτά απορροφούνται από τα οργανικά υλικά του εδάφους με αποτέλεσμα να παρεμποδίζεται σε μεγάλο βαθμό η διάχυσή τους (Bromilow, 1980).

Τα νηματοκτόνα που χρησιμοποιούνται σήμερα διακρίνονται σε πτητικά (καπνογόνα, υψηλής φυτοτοξικότητας) και μη πτητικά (μη καπνογόνα, χαμηλής φυτοτοξικότητας).

Τα πτητικά νηματοκτόνα εφαρμόζονται αυστηρά πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας και συνήθως απαιτείται η πάροδος τουλάχιστον δύο μηνών πριν τη σπορά, τη φύτευση ή μεταφύτευση (Κολιοπάνος, 1999, Κύρου, 2004). Αυτά που έχουν έγκριση για εφαρμογή για μία ή περισσότερες καλλιέργειες είναι τα: dazomet, 1,3-dichloropropene και metham sodium.

Τα μη πτητικά νηματοκτόνα περιλαμβάνουν ουσίες με διασυστηματική ή μη δράση (δηλαδή έχουν την ικανότητα κυκλοφορίας από το ριζικό σύστημα του φυτού μέχρι το υπέργειο τμήμα του και αντίστροφα ή όχι). Μπορούν να εφαρμοστούν πριν, κατά και μετά την εγκατάσταση της καλλιέργειας, αλλά πρέπει να δίνεται προσοχή γιατί υπάρχουν εξαιρέσεις ως προς τη φυτοτοξικότητά τους για ορισμένα φυτά και την εποχή εφαρμογής τους ανάλογα με την καλλιέργεια (Κύρου, 2004). Αυτά που έχουν έγκριση για εφαρμογή σε μία ή περισσότερες καλλιέργειες είναι τα: aldicarb, cadusafos, carbofuran, ethoprop, fenamiphos και oxamyl.

Για τη χημική αντιμετώπιση πρέπει να υπάρχει γνώση του συγκεκριμένου είδους του νηματώδη που μας ενδιαφέρει και της βιολογία του (Κύρου, 2004). Γενικά οι προνύμφες φαίνεται να παρουσιάζουν μικρότερη αντοχή απ' ότι τα ώα στα νηματοκτόνα (Thorpe, 1961). Επίσης οι εκτοπαρασιτικοί νηματώδεις αντιμετωπίζονται πιο εύκολα, καθώς η ουσία έρχεται σε άμεση επαφή με το σώμα τους, σε αντίθεση με τους ενδοπαρασιτικούς, όπου η δραστηρική ουσία πρέπει πρώτα να απορροφηθεί από το φυτό και στη συνέχεια να δράσει πάνω στο νηματώδη.

Η εφαρμογή των νηματοκτόνων είναι τόσο συχνή όσο και βλαβερή, και για άλλους οργανισμούς όπως και για το περιβάλλον έτσι η αναζήτηση πιο ήπιων, δραστηκών και κυρίως βιολογικών φαρμάκων θεωρείται όλο και πιο σημαντική.



### 1.9.3. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ

Η βιολογική καταπολέμηση αφορά στη θανάτωση νηματωδών με την χρησιμοποίηση βιολογικών παραγόντων και αποσκοπεί στην αύξηση της συγκέντρωσης των παρασίτων και των φυσικών εχθρών των νηματωδών που βρίσκονται εντός του εδάφους, η οποία οδηγεί σε αυξημένα ποσοστά νεκρών νηματωδών (Paracer et al., 1966).

Τα αποτελέσματα των μεθόδων αυτών δείχνουν να είναι καλά, όμως βρίσκονται ακόμη κυρίως σε ερευνητικό επίπεδο γιατί υπάρχουν πολλές δυσκολίες που σχετίζονται με τον τρόπο αύξησης των βιολογικών παραγόντων σε επίπεδα ικανά να μειώσουν τους πληθυσμούς των νηματωδών. Γι' αυτό και λόγω της αλληλεπίδρασης με περιβαλλοντικούς, βιοτικούς, εδαφολογικούς και άλλους παράγοντες, δε μπορούν να εφαρμοστούν σε ευρεία κλίμακα παρά μόνο σε θερμοκήπια ή σε αγροτεμάχια μικρής έκτασης (Kerry, 1987).

Κατά την εφαρμογή τους η επίδρασή τους αργεί να φανεί, γιατί η ταχύτητα δράσης εξαρτάται από την χορηγούμενη ποσότητα του παράγοντα και η διάρκεια της δραστηριότητάς τους από τη συχνότητα των εφαρμογών η οποία τελικά ελαττώνεται όταν ο παράγοντας εγκατασταθεί στο έδαφος και αρχίσει να αναπαράγεται ( DuImage, 1971).

Η εφαρμογή βιολογικής καταπολέμησης γίνεται είτε τεχνητά, δηλαδή, με την προσθήκη του βιολογικού παράγοντα στο έδαφος από τον ίδιο τον άνθρωπο, είτε φυσικά, δηλαδή, με την εφαρμογή τεχνικών που σκοπό έχουν την αύξηση και ενεργοποίηση της δραστηριότητας οργανισμών που ήδη υπάρχουν στο έδαφος και που η ανάπτυξή τους ήταν τυχαία.

Ως βιολογικοί παράγοντες αντιμετώπισης των νηματωδών θεωρούνται:

α) τα ανταγωνιστικά φυτά που παράγουν τοξικές ουσίες και προκαλούν μείωση των πληθυσμών των νηματωδών (Birch et al., 1993), όπως είναι το *Lawsanta inermis* που σε ταυτόχρονη καλλιέργεια τομάτας περιόρισε τη έκταση της προσβολής από τον *Meloidogyne incognita*, το *Tagetes patula* (κατηφές) που έχει αποδειχθεί ότι ελαττώνει τους πληθυσμούς των *Pratylenchus* και *Meloidogyne*, ή το *Asparagus officinalis*

(σπαράγγι) που παράγει μια τοξική γλυκοσιδάση και το *Crotalaria spectabilis* (Κύρου, 2004).

β) τα φυτά παγίδες τα οποία είναι φυτά αυξημένης ευαισθησίας στην προσβολή από νηματώδεις, φυτεύονται σε προσβεβλημένο έδαφος και όταν προσβληθούν από νηματώδεις, εκκριζώνονται ή τα καταστρέφονται με σκοπό να διακοπεί η φυσιολογική πορεία του βιολογικού κύκλου των νηματωδών, ώστε να παρεμποδιστεί η αναπαραγωγή τους. Η μέθοδος αυτή αν και είναι αποτελεσματική, απαιτεί πολύ καλή γνώση της βιολογίας του φυτού αλλά και των νηματωδών και μάλιστα του συγκεκριμένου είδους που επιδιώκουμε να καταπολεμήσουμε. Επίσης είναι δύσκολο να απομακρυνθεί το σύνολο των μολυσμένων ριζών και οι καιρικές συνθήκες μπορεί να επιταχύνουν ή να επιβραδύνουν το βιολογικό κύκλο του νηματώδη με τελικό αποτέλεσμα την αύξηση αντί της μείωσης του πληθυσμού των νηματωδών (Κύρου, 2004). Για τους λόγους αυτούς, η μέθοδος εφαρμόζεται κυρίως σε κυστογόνα είδη των οποίων οι κύστες είναι ορατές πάνω στη ρίζα πριν φτάσουν στο τελικό στάδιο της ανάπτυξης τους ωοτοκήσουν.

γ) οι φυσικοί εχθροί των νηματωδών, δηλαδή νηματοβόροι ή νηματοπαθογόνοι οργανισμοί. Οι περισσότερες έρευνες που έχουν γίνει στηρίζονται στη χρήση του βακτηρίου *Pasteria penetrans* και νηματοβόρων ή αρπακτικών μυκήτων όπως *Pochonia chlamydosporia*. Νηματοβόροι οργανισμοί είναι και κάποια πρωτόζωα όπως οι Αμοιβάδες (Κολιοπάνος, 1999), ή ορισμένοι νηματώδεις που τρέφονται από άλλους νηματώδεις είτε τρυπώντας το σώμα τους με τη βοήθεια στίλετου και στη συνέχεια απομυζώντας τα συστατικά τους (*Seinura* spp.), είτε τρώγοντας ολόκληρο τη νηματώδη (*Tripula* spp.), είτε διασπώντας το σώμα του και στη συνέχεια τρώγοντας το περιεχόμενό του (*Mononchus* spp.) (Κολιοπάνος, 1999). Τέλος έχει παρατηρηθεί ότι κάποιοι νηματώδεις μπορεί να προσβάλλονται από ιούς και επίσης αρκετά είδη ακάρεων και εντόμων εδάφους θεωρείται ότι τρέφονται με νηματώδεις συνεισφέροντας στην ελάττωση του πληθυσμού τους.

δ) οι ανθεκτικές ποικιλίες, φυσικής ή τεχνητής επιλογής, οι οποίες είτε παραμένουν απρόσβλητες, είτε είναι ανεκτικές ως προς την προσβολή και μπορούν να συνεχίζουν την ανάπτυξή τους. Οι ποικιλίες αυτές, αν φυτευτούν πριν την ευπαθή ποικιλία σημειώνουν μεγάλη επιτυχία στη μείωση του πληθυσμού νηματωδών (Hanna et al., 1994; Omat et al., 1997), όμως η ανθεκτικότητά τους επηρεάζεται από το γεωγραφικό πλάτος των περιοχών

που εφαρμόζονται και τις επικρατούσες συνθήκες. Ακόμα η καλλιέργεια ορισμένων φυτών όπως ψυχανθών και σιτηρών μειώνει την συγκέντρωση των περισσότερων ειδών νηματωδών και αποκαθιστά μεγάλο μέρος της οργανικής ουσίας του εδάφους (Rodriguez-Kabana, 1992).

Κατά τη βιολογική καταπολέμηση πρέπει να λαμβάνουμε υπ' όψη ότι κάθε παράγοντας έχει ανάγκη επικράτησης συγκεκριμένων συνθηκών υγρασίας, θερμοκρασίας και pH για να είναι αποτελεσματικός (Kerry, 1990). Γενικά θεωρείται ότι όταν η δράση κάποιου παράγοντα κατευθύνεται προς τα αναπτυσσόμενα ενήλικα άτομα ή τα ωά τους είναι περισσότερο αποτελεσματικός απ' ότι όταν κατευθύνεται προς τα ανήλικα (Kerry, 1980). Επίσης, σημαντικό στοιχείο είναι ότι η παρουσία ή χρησιμοποίηση περισσότερων του ενός φυσικών εχθρών, δε συνεπάγεται αύξηση του βαθμού καταστολής του, λόγω της ύπαρξης πιθανού ανταγωνισμού μεταξύ των φυσικών εχθρών (Kerry, 1989).

Η βιολογική καταπολέμηση βρίσκεται ακόμη σε πειραματικό επίπεδο και είναι απαραίτητο να πραγματοποιηθούν περαιτέρω πειράματα αγρού ώστε να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητά των διάφορων μεθόδων στην πράξη. Δυστυχώς μέχρι στιγμής τα αποτελέσματα δεν είναι ιδιαίτερα ενθαρρυντικά και για το λόγο αυτό δε φαίνεται να υπάρχει ενδιαφέρον από τις φαρμακευτικές εταιρείες. Οι δυσκολίες μαζικής παραγωγής των βιολογικών παραγόντων, η δημιουργία κατάλληλων σκευασμάτων και η έλλειψη σταθερότητας αυτών είναι μερικοί μόνο απ' τους παράγοντες που παρεμποδίζουν τη βιομηχανική παραγωγή τους (Καραναστάση, 2006).

Γενικά αναφέρεται ότι οι βιολογικοί παράγοντες δε δύνανται να αντικαταστήσουν τα χημικά μέσα (Backer & Cook, 1974), αν όμως αντί των συμβατικών και βλαβερών χημικών μέσων συνδυάσουμε φυτικές δραστικές ουσίες, ελεγμένες ως προς την ασφάλειά τους για τον άνθρωπο και το περιβάλλον, μπορούμε να έχουμε εξίσου ικανοποιητική αντιμετώπιση φυτοпараσιτικών νηματωδών χωρίς να προσβάλλουμε τους οικολογικούς παράγοντες.

## 1.10. ΤΟ ΕΙΔΟΣ *TYLENCHULUS SEMIPENETRANS*

Ο νηματώδης *Tylenchulus semipenetrans* (Κοινή ονομασία – νηματώδης των εσπεριδοειδών) αποτελεί ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα της εσπεριδοκαλλιέργειας και η παρουσία του έχει διαπιστωθεί στις περισσότερες περιοχές της χώρας μας (Κορινθία, Αχαΐα, Αργολίδα, Μεσσηνία, Άρτα, Αιτωλοακαρνανία κ.α.). Παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά από τον J.R. Hodges το 1912 και αργότερα συσχετίστηκαν με την χαμηλή ανάπτυξη σε δέντρα εσπεριδοειδών.

Γενικά έχουν μικρό φάσμα ξενιστών που περιλαμβάνει τα εσπεριδοειδή, την ελιά, το αμπέλι, την πασχαλιά, τον διόσπυρος κ.α. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί 4 βιοτύποι ανάλογα με την ικανότητά τους να παρασιτούν τις ρίζες των διαφορετικών ειδών των εσπεριδοειδών (Evans, 1993).

Πρόκειται για έναν ημιενδοπαρασιτικό νηματώδη, πολύ μικρού μεγέθους που δε φαίνεται με γυμνό μάτι. Έχει σώμα επίμηκες, κυλινδρικό, με κωνικά λεπτυσμένα τα δύο άκρα του. Οι προνύμφες 4ου σταδίου εισέρχονται στις ρίζες μόνο με το κεφάλι και στη συνέχεια τα θηλυκά άτομα εγκαθίστανται επάνω στις ρίζες κατά ομάδες από όπου και τρέφονται. Αντιθέτως, τα αρσενικά ζουν ελεύθερα μέσα στο έδαφος, χωρίς καμία παρασιτική δράση. Η προσβολή εντείνεται όταν η θερμοκρασία του εδάφους είναι 15-31°C. Ο βαθμός προσβολής εξαρτάται από το βαθμό ευπάθειας του υποκειμένου και την περιεκτικότητα του εδάφους σε ασβέστιο ([www.bayercropscience.gr](http://www.bayercropscience.gr)).



**Εικόνα 1.4.** Ρίζα εσπεριδοειδών που έχει μολυνθεί με νηματώδεις του είδους *Tylenchulus semipenetrans*.

### 1.10.1 ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Η συστηματική κατάταξη του είδους είναι:

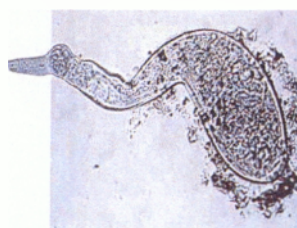
- **ΚΛΑΣΗ:** SECERNENTEA
- **ΥΠΟΚΛΑΣΗ:** DIPLOGASTERIA
- **ΤΑΞΗ:** TYLENCHIDA
- **ΥΠΟΤΑΞΗ:** TYLENCHINA
- **ΥΠΕΡΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ:** CRICONEMATOIDEA
- **ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ:** TYLENCHULIDAE
- **ΥΠΟΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ:** TYLENCHULINAE

### 1.10.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

Οι νηματώδεις του είδους *Tylenchulus semipenetrans* είναι υποχρεωτικά παράσιτα των ριζών. Έχουν μικρό μέγεθος και ντελικάτο σώμα που εύκολα συνθλίβεται και για το λόγο αυτό η διάγνωση της παρουσίας τους είναι πολύ δύσκολη, ενώ δυσχεραίνεται και από το γεγονός ότι πολύ συχνά το πρόσθιο τμήμα των ώριμων θηλυκών ατόμων αποκόπτεται και παραμένει μέσα στη ρίζα (Κολιοπάνος, 1999).

Παρουσιάζουν έντονο γενετικό διμορφισμό, καθώς τα θηλυκά είναι σακόμορφοι οργανισμοί στο τελικό στάδιο της ανάπτυξής τους ενώ τα αρσενικά και οι προνύμφες παραμένουν νηματόμορφα. Το μήκος τους των θηλυκών κυμαίνεται στα 0.35-0.40mm, ενώ του νεαρού ατόμου στα 0.29mm. Το οπίσθιο τμήμα του σώματος των θηλυκών παραμένει έξω από τη ρίζα ενώ το πρόσθιο εντός του φυτού και είναι παραμορφωμένο.

Τα αρσενικά άτομα φέρουν εκφυλισμένο στίλετο, έχουν μήκος 0.3-0.4mm, δεν τρέφονται επί του φυτού αλλά μετά τη 2<sup>η</sup> έκδυση ενηλικιώνονται εντός 7 ημερών και παραμένουν στο έδαφος. Οι προνύμφες έχουν σώμα ευθύ ή με ελαφριά κυρτότητα, μήκος και κινούνται πολύ αργά εντός του εδάφους διανύοντας περίπου 1-1.5cm κάθε μήνα (Κολιοπάνος, 1999).



**Εικόνα 1.5.** Ενήλικο θηλυκό του νηματώδη *Tylenchulus semipenetrans*

### 1.10.3 ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Η αναπαραγωγή του είδους γίνεται με παρθενογένεση ενώ τα αρσενικά είναι παρόντα αλλά όχι απαραίτητα. Τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά παράγονται από μη γονιμοποιημένα θηλυκά. Οι προνύμφες 2<sup>ου</sup> σταδίου προκύπτουν από τα ωά και στη συνέχεια τρέφονται από τα κύτταρα της επιδερμίδας των ριζών, όπως και αυτές του 3<sup>ου</sup> και 4<sup>ου</sup> σταδίου. Τα νεαρά ενήλικα θηλυκά που είναι σκωληκόμορφα διεισδύουν πιο βαθιά στο φλοιώδες παρέγχυμα, αφήνοντας το οπίσθιο τμήμα τους έξω από τη ρίζα. Τρέφονται από μια περιοχή της ρίζας που αποτελείται από 8-10 κύτταρα με λεπτά τοιχώματα και ένα μεγάλο πυρήνα. Στην περιοχή μπορεί να εισβάλλουν και άλλοι μικρο-οργανισμοί (<http://ucdnpema.ucdavis.edu>). Το εκτεθειμένο μέρος του σώματος γίνεται σακόμορφο και παράγονται περίπου 100 ωά τα οποία περιέχονται σε ένα ζελατινοειδές καλούπι.



**Εικόνα 1.6.** Θηλυκοί νηματώδεις που έχουν εισέλθει με το πρόσθιο τμήμα του σώματός τους στη ρίζα.

### 1.10.4 ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ

Η προσβολή εσπεριδοειδών από *T. semipenetrans* μπορεί να προκαλέσει μείωση της παραγωγής κατά 10 έως 30% (Verdefo – Lucas & McKenry, 2004). Σε γενικές γραμμές φαίνεται ότι τα ώριμα δένδρα μπορούν να ανεχθούν υψηλότερους ενώ τα νεαρά δενδρύλλια αδυνατούν ν' αναπτυχθούν σωστά ειδικά όταν φυτευτούν σε ήδη μολυσμένο έδαφος (Duncan & Cohn, 1990).

Τα συμπτώματα της προσβολής από τον *T. semipenetrans* εξαρτώνται και από τις γενικές συνθήκες που επικρατούν και συνήθως εμφανίζονται στον αγρό κατά κηλίδες. Περιλαμβάνουν αργή ανάπτυξη, νανισμό, χλωρώσεις των φύλλων, μικροφυλλία, μικροκαρπία και μείωση των αποδόσεων, δηλαδή μία γενικότερη καταπόνηση των φυτών που θα μπορούσε να που προέρχεται από διάφορους παράγοντες που προκαλούνται από την καταστροφή των ριζών και οδηγούν σε έλλειψη νερού και κακή διατροφή. Για να εξακριβωθεί αν το αίτιο είναι πράγματι ο νηματώδης, πρέπει να γίνει

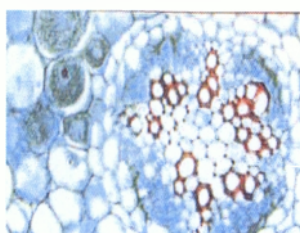
δειγματοληψία εδάφους και ριζιδίων και στη συνέχεια απομόνωση και καταμέτρηση του πληθυσμού των νηματωδών εφ' όσον υπάρχουν (Καραναστάση, 2006).

Όταν το φυτό επιβαρύνεται από άλλους παράγοντες όπως μυκητολογικές προσβολές, έλλειψη νερού ή κακό φύτεμα των σπόρων στα πρώτα στάδια ανάπτυξης, τα συμπτώματα γίνονται σοβαρότερα. Σε υψηλό βαθμό προσβολής οι πλαγιές ρίζες διογκώνονται ελαφρά και καθώς τα σωματίδια του εδάφους προσκολλώνται στη ζελατινώδη ουσία που εκκρίνεται από τα θηλυκά άτομα κατά την εναπόθεση των ωών τους, αυτά φαίνονται σαν βρωμιές πάνω στο φυτό (Verdefo – Lucas & McKenry, 2004).



**Εικόνα 1.7.** Συμπτώματα καχεξίας σε φυτεία προσβεβλημένη από νηματώδεις.

Το κατώτατο όριο πληθυσμού, το οποίο παρεμποδίζει την ανάπτυξη και καλή παραγωγή των δένδρων, δεν μπορεί να καθορισθεί εύκολα γιατί εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως η μολυσματικότητα του πληθυσμού, τα χαρακτηριστικά του εδάφους, η ευαισθησία της ποικιλίας, η παρουσία άλλων παθογόνων και οι καλλιεργητικές τακτικές που χρησιμοποιεί ο παραγωγός (Duncan & Cohn, 1990) και τα όρια παραλλάσσουν ανάλογα με την περιοχή, το pH του εδάφους, τις περιβαλλοντικές συνθήκες κ.α. (Καραναστάση, 2006). Για παράδειγμα στο Ισραήλ, χημική νηματοκτονία εφαρμόζεται σε πληθυσμούς  $\geq 4000$  προνύμφες / γραμμάριο ρίζας, ενώ στην Κύπρο σε  $\geq 5000$  προνύμφες /  $250\text{cm}^3$  εδάφους. Γενικά σε αλκαλικά εδάφη απαντώνται υψηλότεροι πληθυσμοί απ' ότι σε όξινα (Van Gundy & Martin, 1961).



**Εικόνα 1.8.** Ρίζα λεμονιάς (κύτταρα σε εγκάρσια τομή) προσβεβλημένης από νηματώδη.

### 1.10.5 ANΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Η καλύτερη μέθοδος αντιμετώπισης του *T. semipenetrans* είναι η πρόληψη. Στη χώρα μας παρατηρείται εκτεταμένη προσβολή των εσπεριδοειδών, γι' αυτό και η αντιμετώπισή τους αποτελεί προϋπόθεση για επιτυχημένη καλλιέργεια. ([www.bayercropscience.gr](http://www.bayercropscience.gr)).

Η εξάπλωση του νηματώδη των εσπεριδοειδών οφείλεται κυρίως στη φύτευση μολυσμένων δενδρυλλίων και η πιο σίγουρη μέθοδος προστασίας ενός οπωρώνα είναι η χρησιμοποίηση πιστοποιημένου, υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού και υποστρωμάτων. Το φερτό χώμα πρέπει να εξετάζεται ως προς την παρουσία νηματωδών πριν τη χρησιμοποίησή του, ενώ όπου αυτό είναι εφικτό, συνιστάται να χρησιμοποιείται νερό από πηγάδια. Όσον αφορά στα φυτώρια, συνιστάται η εγκατάστασή τους σε περιοχές μακριά από εσπεριδοειδέωνες, ώστε να αποφεύγεται η μόλυνσή τους μέσω του αέρα, των υπόγειων υδάτων και του νερού ποτίσματος, των εργατών, των οχημάτων και εργαλείων, ή ακόμη και των ζώων που διαβιούν στην περιοχή (Verdejo-Lucas & Mc Kenry, 2004). Επιπλέον συστήνεται σωστή εκτέλεση των απαραίτητων καλλιεργητικών φροντίδων (κλάδευμα, λίπανση, άρδευση) ώστε τα δένδρα να αναπτύσσουν πλούσιο ριζικό σύστημα και να μπορούν να αντεπεξέλθουν σε τυχόν βλάβες που προκαλούνται από τους νηματώδεις. Επίσης, θα πρέπει να εμποδίζεται η μεταφορά χώματος ή μολυσμένων ριζών από ένα κτήμα σε άλλο.

Εάν ένας αγρός είναι μολυσμένος και πρέπει οπωσδήποτε να φυτευτεί με εσπεριδοειδή, συνιστάται να γίνει προσπάθεια μείωσης του πληθυσμού των νηματωδών με προφυτευτικά μέτρα πριν την εγκατάσταση του νέου οπωρώνα και η μέθοδος που θα χρησιμοποιηθεί να έχει μακράς διάρκειας δράση. Για το λόγο αυτό, η εφαρμογή μεθόδων υψηλού κόστους είναι δικαιολογημένη καθώς θα αντισταθμιστεί από την αύξηση της παραγωγής (πρβλ. 1.10.5.1)

Για να χρησιμοποιήσει κάποιος χημικά νηματοκτόνα πρέπει να είναι αποδεδειγμένο ότι έχουν αποτύχει όλα τα προληπτικά μέτρα και στη συνέχεια να λαμβάνει σοβαρά υπ' όψη του ότι η επιτυχία της καταπολέμησης εξαρτάται απόλυτα από την ορθή επιλογή και εφαρμογή των σκευασμάτων, και σε πολύ μεγάλο βαθμό από τη σωστή δειγματοληψία και επιστημονική εξέταση των δειγμάτων (Καρανασάση, 2006).



Ιδιαίτερα κατά τη δειγματοληψία, πρέπει να συλλέγονται υποδείγματα από διάφορα μέρη του αγρού καθώς η διασπορά των νηματωδών είναι ανομοιογενής. Τα υποδείγματα λαμβάνονται με ειδικό δειγματολήπτη εδάφους, από βάθος 30-45 εκ. και περιλαμβάνουν πλάγιες ρίζες (Καραναστάση, 2006).

Για την χημική καταπολέμηση των νηματωδών συστήνεται να εφαρμόζεται κατάλληλο νηματοκτόνο σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσεως. Αν η φυτεία είναι μεγάλης ηλικίας ή σε περίπτωση πυκνής φύτευσης, συνιστάται η εφαρμογή του νηματοκτόνου να γίνεται σε ολόκληρη την έκταση. Όταν εφαρμόζεται για πρώτη φορά, συνιστάται να γίνονται αρχικά δύο εφαρμογές το χρόνο, την άνοιξη και το φθινόπωρο, ενώ αργότερα μόνο μία, την άνοιξη. Οι επόμενες εφαρμογές συνιστάται να γίνονται κάθε 3-4 χρόνια, αφού προηγηθεί εξέταση εδάφους και ριζών και καταμέτρηση του πληθυσμού των νηματωδών ([www.bayercropscience.gr](http://www.bayercropscience.gr)).

#### 1.10.5.1 ΠΡΟΦΥΤΕΥΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ

1. Προετοιμασία του αγρού: Περιλαμβάνει την κατεργασία του εδάφους που βοηθά τη θανάτωση των νηματωδών, μέσω της έκθεσής τους στον αέρα και τον ήλιο. Με τη μέθοδο αυτή, οι πληθυσμοί που βρίσκονται στα επιφανειακά 15 εκ. του εδάφους μπορεί σταδιακά να μειωθούν, αλλά μέρος του πληθυσμού μπορεί να επιβιώνει με τη μετανάστευσή του σε βαθύτερα στρώματα εδάφους, όπου η υγρασία είναι μεγαλύτερη και οι θερμοκρασιακές διακυμάνσεις μικρότερες. Επίσης, οι ρίζες της προηγούμενης καλλιέργειας πρέπει να απομακρύνονται σχολαστικά από το έδαφος καθώς αποτελούν αποταμιευμένο μολυσματικό υλικό (Verdejo-Lucas & McKenry, 2004).

2. Ηλιοαπολύμανση: Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι ευρέως γνωστά, όμως για την καταπολέμηση των φυτοпараσιτικών νηματωδών, η δράση της δεν ξεπερνά τα 20 περίπου εκατοστά βάθος και η αποτελεσματικότητά της είναι ανάλογη της προηγούμενης μεθόδου. Σημαντικά μειονεκτήματά της αποτελούν και η μεγάλη διάρκεια εφαρμογής που απαιτείται (40-60 ημέρες) καθώς και κάποια οικολογικά θέματα που προκύπτουν από την παραγωγή και αποκομιδή των φύλλων πλαστικού (Καραναστάση, 2006). Σχετικά με την εφαρμογή σε εσπεριδοειδώνες, δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα, πιθανόν λόγω του ότι οι καλλιέργειες αυτές είναι πιο διαδεδομένες σε περιοχές με υποτροπικό κλίμα, όπου οι αυξημένες βροχοπτώσεις και η πολύ

μεγάλη εδαφική υγρασία δεν ευνοούν την εφαρμογή της (Verdejo-Lucas & McKenry, 2004).

3. Απολύμανση με θερμό ατμό: Η θέρμανση των υποστρωμάτων ανάπτυξης στο επίπεδο των 70°C με την παροχή θερμού ατμού είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική. Για την επιτυχία της μεθόδου απαιτείται καλή προετοιμασία του υποστρώματος. Η απολύμανση βερμικουλίτη ή τέφρας είναι συνήθως επιτυχής, ενώ στην περίπτωση της τύρφης, η αποδοτικότητα δυσχεραίνεται λόγω της υψηλής περιεκτικότητάς της σε νερό (Tjamos et al., 1999). Σε περιπτώσεις φυτωρίων ή υπό κάλυψη καλλιέργειών όπου υπάρχει ήδη εγκατεστημένο σύστημα για τη θέρμανση της καλλιέργειας κατά τη διάρκεια του χειμώνα, η μέθοδος δεν επιβαρύνει οικονομικά την καλλιέργεια. Επίσης, σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες θα μπορούσε να γίνει μόνιμη εγκατάσταση ενός τέτοιου συστήματος πολλαπλής χρήσης. Αντίθετα, η εγκατάσταση ενός τέτοιου συστήματος σε υπαίθριες καλλιέργειες απαιτεί υψηλό κόστος υποδομής και πολύ καλή κατεργασία του εδάφους ώστε να είναι δυνατή η διάχυση του θερμού ατμού προς τα βαθύτερα στρώματα, κάτι που απαιτεί βέβαια μεγάλο όγκο νερού και καυσίμων (Verdejo-Lucas & McKenry, 2004).

4. Εμβάπτιση σε θερμό νερό: Η εμβάπτιση γυμνόριζων δενδρυλλίων εσπεριδοειδών σε νερό θερμοκρασίας 45°C για 25 λεπτά (Baines et al., 1949) ή 50°C για 10-20 λεπτά (Silva et al., 1987a) φαίνεται να είναι αρκετά αποτελεσματική, αν και η προσπάθεια απομάκρυνση του προσκολλημένου στις ρίζες χώματος, μειώνει την πρακτικότητα της καθώς αυξάνει ιδιαίτερα το κόστος εργατικών (Verdejo-Lucas & McKenry, 2004). Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι η εμβάπτιση γυμνών ριζών σε διάφορα χημικά διαλύματα δε θεωρείται περισσότερο αποτελεσματική καθώς έχει αποδειχθεί ότι μειώνει μεν τους πληθυσμούς των νηματωδών χωρίς όμως να του εξαλείφει τελείως, ενώ ταυτόχρονα εγκυμονεί περισσότερους κινδύνους για τους εργάτες (O' Bannon & Taylor, 1967, Silva et al., 1987b).

5. Ανθεκτικά υποκείμενα: Η ανθεκτικότητα είναι ίσως η πιο χρήσιμη και φιλική προς το περιβάλλον μέθοδος που μπορεί να εφαρμοσθεί για την αντιμετώπιση των φυτοпараσιτικών νηματωδών. Ένα υποκείμενο χαρακτηρίζεται ως ανθεκτικό ή ανεκτικό όταν συγκρινόμενο με έναν ευαίσθητο μάρτυρα εμποδίζει ή περιορίζει το ρυθμό αναπαραγωγής του νηματώδη. Στην περίπτωση των εσπεριδοειδών, το μόνο

ανθεκτικό υποκείμενο είναι το *Poncirus trifoliata*, του οποίου η ανθεκτικότητα κυμαίνεται ανάλογα με τη ποικιλία (Verdejo-Lucas & Kaplan, 2002), ενώ υψηλό βαθμό ανεκτικότητας εμφανίζει και το υβρίδιο Swingle citrumelo (*Citrus paradisa* x *P. trifoliata*) (Kaplan & O'Bannon, 1981), δύο υποκείμενα που δεν ευδοκιμούν σε αλκαλικά εδάφη. Επίσης, το υβρίδιο *C. sinensis* x *P. trifoliata* εμφανίζει μέτρια ανθεκτικότητα σε ορισμένες περιοχές. Στην περίπτωση χρησιμοποίησης ανθεκτικών ή ανεκτικών υποκειμένων πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπ' όψη ότι η συνεχής καλλιέργεια τέτοιων υποκειμένων ενέχει τον κίνδυνο δημιουργίας νέων ανθεκτικών βιοτύπων του νηματώδη (Verdejo-Lucas et al., 1997, Baines et al., 1974). Για παράδειγμα, αναφέρονται περιπτώσεις όπου ο *T. semipenetrans* αναπτύχθηκε αρκετά καλά σε Swingle citrumelo αν και ο πληθυσμός του δεν έδειξε τάση εξάπλωσης (Duncan et al., 1994, Le Roux et al., 2000). Επιπλέον η παρουσία υψηλού πληθυσμού νηματωδών κατά τη μεταφύτευση ευαίσθητων ποικιλιών σε ανθεκτικά υποκείμενα, μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ανθεκτικότητας (Verdejo-Lucas et al., 2003), ενώ η αλατότητα του εδάφους αυξάνει την ωοπαραγωγική ικανότητα των θηλυκών, αν και δε φαίνεται να επηρεάζει την ανθεκτικότητα (Mashela et al., 1992).

6. Υποκαπνιστικά εδάφους: Πρόκειται για μια αποτελεσματική μέθοδο αντιμετώπισης όλων γενικά των παθογόνων εδάφους, ιδιαίτερα στην περίπτωση των πολύ ευαίσθητων νεαρών δενδρυλλίων εσπεριδοειδών (McKenry, 1987, 1999). Πολύ σημαντικοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στην αποτελεσματικότητα του υποκαπνισμού είναι το πορώδες του εδάφους, η εδαφική υγρασία και θερμοκρασία όπως και η εφαρμοζόμενη δόση (McKenry, 1987). Σοβαρά μειονεκτήματα της χρήσης υποκαπνιστικών είναι το κόστος των χημικών και της απαιτούμενης τεχνολογίας, η υπολειμματικότητα καθώς και η φυτοτοξικότητα και η τοξικότητα στον άνθρωπο, τα ζώα και το περιβάλλον.

#### 1.10.5.2 ΜΕΤΑΦΥΤΕΥΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ

Από τη στιγμή που ένας εγκατεστημένος εσπεριδοειδεώνας μολυνθεί με *T. semipenetrans* δεν μπορεί να υπάρξει απόλυτη εξυγίανση του εδάφους. Όταν επιλέγεται κάποια μέθοδος αντιμετώπισης πρέπει να λαμβάνεται πάντα υπ' όψη η πορεία του

βιολογικού κύκλου του νηματώδη, η οποία καθορίζεται και από τον ξενιστή σε συνδυασμό με τις εποχιακές αλλαγές στο περιβάλλον (Duncan & Cohn, 1990). Γενικά, ο πληθυσμός του *T. semipenetrans* μπορεί να εμφανίζει ένα, δύο, ή τρία μέγιστα κάθε χρόνο, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν στο συγκεκριμένο αγρό. Ωστόσο έχει διαπιστωθεί ότι η εφαρμογή οποιασδήποτε μεθόδου είναι πιο αποτελεσματική όταν γίνεται κατά την περίοδο που αναπτύσσεται το ριζικό σύστημα των δένδρων, καθώς οι συνθήκες που προάγουν την αύξησή του, ευνοούν ταυτόχρονα και τις εξάρσεις στους πληθυσμούς των νηματωδών (Duncan & Noling, 1987).

1. Νηματοκτόνα σκευάσματα. Για τη μείωση των πληθυσμών *T. semipenetrans* σε εσπεριδοειδή εφαρμόζονται διάφορα νηματοκτόνα, αν και για να επιτευχθεί ικανοποιητική αποτελεσματικότητα και αύξηση της παραγωγής, απαιτούνται επαναλαμβανόμενες εφαρμογές (Verdejo-Lucas & McKenry, 2004). Μετά την πρώτη εφαρμογή σπάνια παρατηρείται σημαντική βελτίωση στην παραγωγή ή την ποιότητα των καρπών, αλλά μετά το δεύτερο χρόνο, η δραστηριότητα του σκευάσματος είναι πλέον εμφανής.

Στο εμπόριο διατίθενται δύο ομάδες νηματοκτόνων για εφαρμογή σε εσπεριδοειδή, τα καρβαμιδικά (aldicarb, oxaml, carbofuran) και τα οργανοφωσφορικά (fenamipos, ethoprophos, cadusafos), από τα οποία τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα έχει δείξει το κοκκώδες cadusafos (Καραναστάση, 2006). Επίσης, το προϊόν Enzone εάν εφαρμοστεί σωστά μπορεί να μειώσει σε μεγάλο βαθμό τους πληθυσμούς *T. semipenetrans*. Όλες οι παραπάνω δραστικές ουσίες έχουν νηματοκτόνο δράση εξ επαφής και δρουν επίσης κατά κάποιων εντόμων. Επιδρούν στη συμπεριφορά των οργανισμών αυτών, για παράδειγμα μπορεί να επηρεάζουν την ικανότητα προσανατολισμού για την προσέγγιση των ριζών, την ικανότητα εξεύρεσης θηλυκών από τα αρσενικά ή την εκκόλαψη των ωών (Hough & Thomason, 1975).

2. Βιολογική καταπολέμηση. Σχετικά με τη χρησιμοποίηση εχθρών των νηματωδών (παγιδευτικών και παρασιτικών μυκήτων, βακτηρίων, αρπακτικών νηματωδών και ακάρεων), οι οποίοι ανευρίσκονται σε αφθονία σε καλλιέργειες εσπεριδοειδών, για την αντιμετώπιση του *T. semipenetrans*, λίγα πράγματα είναι γνωστά (Καραναστάση, 2006). Πειράματα που πραγματοποιήθηκαν με βακτήρια (ακτινομύκητες) του γένους *Pasteuria*, έδειξαν ότι τα βακτήρια επηρεάζουν την εποχιακή διακύμανση των

πληθυσμών των νηματωδών, αλλά μόνο σε έναν από τέσσερις πειραματικούς αγρούς (Sorribas et al., 2000). Ο ωοπαρασιτικός μύκητας *Paecilomyces lilacinus*, ο οποίος είναι πλέον διαθέσιμος και στο εμπόριο, (Αυστραλία, Κολομβία, Γερμανία, Ν. Αφρική) χρησιμοποιήθηκε σε εργαστηριακές δοκιμές και φάνηκε να μειώνει τους πληθυσμούς *T. semipenetrans*, ενώ βρέθηκε ότι η μείωση ήταν μεγαλύτερη όταν η εφαρμογή το μύκητα συνδυάζονταν με προσθήκη οργανικής ουσίας (Parvatha Reddy et al., 1991, Le Roux et al., 2000). Επίσης, ένα ακόμη προϊόν που διατίθεται με την ονομασία DiTera και το οποίο κυκλοφορεί προς το παρόν στις ΗΠΑ, τη Χιλή και τον Παναμά, είναι ένας μεταβολίτης που προέρχεται από το μύκητα *Myrothecium* που όταν έρχεται σε επαφή με τους νηματώδεις τους θανατώνει άμεσα (Καραναστάση, 2006).

3. Καλλιεργητικά μέτρα. Όταν ένας οπωρώνας έχει εγκατασταθεί από την αρχή σωστά, είναι δυνατόν να αποδώσει υψηλή παραγωγή ακόμη και παρουσία νηματωδών. Αν όμως επικρατήσουν συνθήκες που προκαλούν στρες στα δένδρα, η παραγωγή μπορεί σταδιακά να μειωθεί .

Η *αμειψισπορά* με ετήσιες καλλιέργειες για 1-3 χρόνια πριν την επαναφύτευση του εσπεριδοειδεώνα, μπορεί να μειώσει τους πληθυσμούς των νηματωδών, αλλά η χαμηλή εμπορική της αξία μειώνει την χρησιμότητά της.

Η *ζιζανιοκτονία* έχει θετικά αποτελέσματα όσον αφορά τον ανταγωνισμό για νερό και θρεπτικά στοιχεία, δεν έχει όμως καμία επίδραση στους πληθυσμούς των νηματωδών.

Η *εδαφοκάλυψη* είναι μια καλλιεργητική πρακτική που βοηθά στη μείωση των απωλειών του αγρού σε νερό, καθώς μειώνει την εξάτμιση, υποβαθμίζει τις μέγιστες ημερήσιες θερμοκρασίες και περιορίζει την ανάπτυξη ζιζανίων. Έτσι προάγεται η ζωηρότητα των δένδρων και αυξάνουν οι αποδόσεις τους. Ωστόσο με τη μέθοδο αυτή ενδέχεται να αυξηθούν οι πληθυσμοί των νηματωδών, καθώς ευνοείται η αύξηση της ρίζας και κατ' επέκταση ο ρυθμός αναπαραγωγής των νηματωδών. Η κάλυψη με μαύρα φύλλα πλαστικού θεωρείται η πιο κατάλληλη για περιοχές με χαμηλές βροχοπτώσεις, ενώ σε περιοχές με πολλές βροχοπτώσεις δεν ενδείκνυται καθώς κάτω από τα φύλλα πλαστικού αυξάνεται υπερβολικά η υγρασία (Καραναστάση, 2006).

### 1.11 ΦΥΣΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΔΡΑΣΤΙΚΕΣ ΟΥΣΙΕΣ

Η φύση ήταν και είναι πλούσια πηγή προϊόντων, τα οποία παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία βιολογικών δράσεων και χρησιμοποιούνται καθημερινά από τον άνθρωπο για τη βελτίωση της ποιότητας της ζωής του. Έτσι, διάφορα βότανα χρησιμοποιούνται με μεγάλη επιτυχία ως φάρμακα για πρόληψη ή θεραπεία διαφόρων ασθενειών, τα αιθέρια έλαια που απομονώνονται από κοινά φυτά ή φρούτα, αποτελούν τη βάση φυσικών αρωμάτων για καλλυντικά και τρόφιμα. Οι πυρεθρίνες και τα εκχυλίσματα ροτενόνης και αζαδιρακτίνης εφαρμόζονται ως εντομοκτόνα,. Διάφορα φαινολικά παράγωγα και καροτενοειδή χρησιμοποιούνται ως χρωστικές και τα αλκαλοειδή ως φάρμακα.

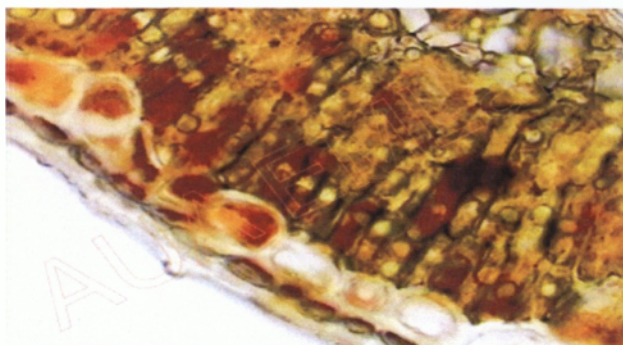
Η απομόνωση προϊόντων που παράγει η φύση είναι μια δραστηριότητα που ξεκίνησε από τους προϊστορικούς χρόνους. Μόλις όμως στις αρχές του 19ου αιώνα άρχισε να διαφαίνεται ένα σοβαρότερο ενδιαφέρον για την επέκταση της απομόνωσης των προϊόντων που παράγονται στη φύση αλλά και τη μελέτη της δομής τους. Η ανάπτυξη του κλάδου της Οργανικής Χημείας και αργότερα των τομέων της οργανικής σύνθεσης, στερεοχημείας, φασματοσκοπίας καθώς και των μηχανισμών των οργανικών αντιδράσεων, στηρίχθηκε σε μελέτες που έγιναν σε ουσίες που απομονώνονται από τη φύση. Ο συνδυασμός της Χημείας φυσικών προϊόντων με τη βιοσύνθεσή τους, τη φυσιολογική τους δράση και τη σημασία τους στην οικολογία αποτελούν ιδιαίτερους τομείς μελέτης των επιστημών της Βιοχημείας, της Φαρμακογνωσίας και του Περιβάλλοντος.

Σήμερα, ο όρος φυσικά προϊόντα αναφέρεται στις ενώσεις που παράγονται από φυτικούς ή ζωικούς ζωντανούς οργανισμούς και πρόκειται κυρίως για δευτερογενείς μεταβολίτες.

Τα σημαντικότερα είδη φυσικών προϊόντων, με βάση την ιδιαίτερη χημική και βιολογική τους συμπεριφορά, είναι τα εξής:

- Φαινολικές ενώσεις (φαινολικά οξέα, флаβονοειδή, ανθοκυάνες)
- Τερπενοειδή (αιθέρια έλαια, ρητινικά οξέα, καροτενοειδή)
- Στεροειδή (στερόλες, ορμόνες φύλου)
- Αλκαλοειδή (αζωτούχα παράγωγα με φυσιολογική δράση)
- Φυσικά εντομοκτόνα (π.χ. πυρεθρίνες, αζαντιρακτίνη, ροτενόνη)

- Σημειοχημικές ουσίες (φερομόνες, αλλομόνες, καιρομόνες).



**Εικόνα 1.9.** Οι καφέ κηλίδες είναι φαινολικές ενώσεις στα κύτταρα διαφόρων ιστών.

Από όλες τις παραπάνω ουσίες, τα τερπενοειδή, τα αλκαλοειδή και διάφορες φαινολικές ενώσεις απομονώνονται κυρίως από τα φυτά, ενώ τα στεροειδή και οι φερομόνες είναι συστατικά των ζωικών οργανισμών. Οι διαδικασίες που εφαρμόζονται για την απομόνωση και το διαχωρισμό των συστατικών ενός φυτικού οργανισμού είναι συνοπτικά οι εξής:

α) Απομόνωση. Η μέθοδος απομόνωσης εξαρτάται από το είδος του οργανισμού. Για την απομόνωση προϊόντων από φυτά γνωστής σύστασης, ο τρόπος απομόνωσης καλύπτεται βιβλιογραφικά. Προκειμένου όμως για την απομόνωση και διερεύνηση των συστατικών ενός νέου φυτικού ή ζωικού οργανισμού, τότε ακολουθούνται κάποιες συμβατικές τεχνικές ώστε τα αποτελέσματα να είναι αξιόπιστα και επαναλήψιμα. Έτσι, το είδος του οργανισμού που θα χρησιμοποιηθεί πρέπει να είναι επιστημονικά επιβεβαιωμένο και χαρακτηρισμένο ως προς τις συνθήκες ανάπτυξής του. Τα οργανικά συστατικά του απομονώνονται κυρίως με χρήση οργανικών διαλυτών (απλή επεξεργασία ή εκχύλιση), αλλά και με απόσταξη (απλή ή μέσω υδρατμών) ή με κρυστάλλωση του μίγματος των ουσιών του εκχυλίσματος. Όταν η απομόνωση αποβλέπει στη διερεύνηση της βιολογικής δράσης των συστατικών, γίνεται στη συνέχεια ένας αρχικός διαχωρισμός του μίγματος των προϊόντων ανά ομάδες, με οργανικούς διαλύτες διαφορετικής πολικότητας ή νερό και κάθε ομάδα συστατικών εξετάζεται με κατάλληλο αξιόπιστο πείραμα, για κάποια συγκεκριμένη δράση (ιατροφαρμακευτική, αντικαρκινική,

αντιοξειδωτική, αντιμυκητιακή κ.λ.π.). Έτσι απομονώνεται το κλάσμα με τις ιδιότητες που ενδιαφέρουν, το οποίο στη συνέχεια υποβάλλεται σε διαχωρισμό των επιμέρους συστατικών του, καθαρισμό και πιστοποίηση της δομής του (Wilson, 1963).

β) Διαχωρισμός-καθαρισμός. Για το διαχωρισμό του μίγματος των προϊόντων απομόνωσης εφαρμόζονται οι κλασικές μέθοδοι της εκχύλισης με κατάλληλους διαλύτες της κλασματικής κρυστάλλωσης, της κλασματικής απόσταξης και της χρωματογραφίας (στήλης, λεπτής στιβάδας, αέριας ή υγρής - HPLC). Ο καθαρισμός των ουσιών που διαχωρίστηκαν πραγματοποιείται με χρωματογραφικές μεθόδους μόνο ή και σε συνδυασμό με ανακρυστάλλωση ή απόσταξη, ανάλογα με τη φύση της ουσίας.

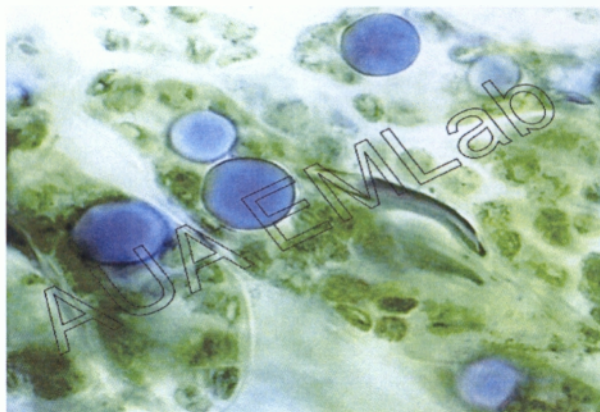
γ) Πιστοποίηση. Μετά το διαχωρισμό και καθαρισμό μιας ουσίας ακολουθεί η πιστοποίηση της καθαρότητάς της, προκειμένου στη συνέχεια να γίνει η ταυτοποίηση και ο προσδιορισμός της δομής και της στερεοχημείας της. Αυτό επιτυγχάνεται με τον έλεγχο των φυσικών της σταθερών (σημείο τήξης, σημείο ζέσεως, γωνία στροφής κ.λ.π.) και με διάφορες φασματοσκοπικές μεθόδους, με υπέρυθρη ή υπεριώδη ακτινοβολία, πυρηνικό μαγνητικό συντονισμό H.N.M.R., C.N.M.R., και N.M.R. δύο διαστάσεων, φασματομετρία μάζα, κυκλικό διχρωισμό κ.α. (Jennings, 1974, Wilson, 1963).

Η τελειοποίηση των μεθόδων απομόνωσης και μελέτης της δομής διαφόρων φυσικών προϊόντων οδήγησε στην ανακάλυψη ισχυρά βιοδραστικών ενώσεων σημαντικής φαρμακολογικής δράσης και στην εξεύρεση νέων φυσικών προϊόντων, με ιδιότητες που αναβαθμίζουν την καθημερινή ζωή του ανθρώπου.

Όπως αναφέρθηκε οι δευτερογενείς μεταβολίτες που προέρχονται από τα ανώτερα φυτά παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον, αφού πιστεύεται ότι κάποιοι από αυτούς έχουν αντιοξειδωτική, αντικαρκινική, μυκητοκτόνο, αντιφλεγμονώδη και αντιμικροβιακή δράση (Mentrick, 1977). Αυτό ισχύει και για τις τερπενοειδείς ουσίες. Για παράδειγμα στην περίπτωση τροποποιημένης τομάτας έχει διαπιστωθεί ότι παράγει πτητικά τερπενοειδή με αντιμικροβιακές, αντιπαρασιτικές και αντιμυκητιασικές ιδιότητες, ώστε χρειάζονται λιγότερα παρασιτοκτόνα κατά την καλλιέργειά της (health.in.gr). Επίσης συνδυασμός αιθέριων ελαίων, γερανιόλης και θυμόλης, καταστέλλει την πυκνότητα των πληθυσμών του *M. incognita* και πρόσφατα τα αιθέρια έλαια τεσσάρων φαρμακευτικών φυτών φάνηκαν να εμποδίζουν την κινητικότητα διαφόρων φυτοπαρασιτικών νηματωδών (Walker & Melin, 1996).



Το παρόν πείραμα αυτής της εργασίας βασίστηκε στη νηματοκτόνο δράση που έχει παρατηρηθεί στα τερπενοειδή, μετά από απομόνωση αυτών από αιθέρια έλαια φυτών.



**Εικόνα 1.10.** Κύτταρα από μεσόφυλλο αρωματικού φυτού που περιέχουν σταγονίδια τερπενοειδούς φύσης.

Τα φαινολικά τερπενοειδή αποτελούν την τρίτη κατηγορία φαινολικών ενώσεων και είναι συνήθως πολύπλοκες δομικά ενώσεις που βρίσκονται σε αφθονία στα φυσικά προϊόντα, με κοινό χαρακτηριστικό την μονάδα του ισοπρενίου (2-μεθυλο-1,3-βουταδιένιο) (Jewett, 1976). Με βάση τον αριθμό των μονομερών ισοπρενίου από τον οποίο αποτελούνται, χωρίζονται στα μονοτερπένια (δύο μονάδες ισοπρενίου, 10 άτομα άνθρακα), τα σεσκιτερπένια (τρεις μονάδες ισοπρενίου, 15 άτομα άνθρακα), τα διτερπένια (4 μονάδες ισοπρενίου, 20 άτομα άνθρακα), τα τριτερπένια (6 μονάδες ισοπρενίου, 30 άτομα άνθρακα), και τα τετρατερπένια (8 μονάδες ισοπρενίου, 40 άτομα άνθρακα) (Cigic et al, 1999). Ο εμπειρικός τύπος των τερπενοειδών είναι  $(C_5H_8)_x$ , όπου  $x = 2,3,4,6,8$  (κατά τα σήμερα γνωστά) (lyk-limnis.eyv.sch.gr). Τα μονοτερπένια και τα σεσκιτερπένια απαντώνται κυρίως στα αιθέρια έλαια των φυτών. Τα διτερπένια, λόγω μεγαλύτερου μοριακού βάρους, δεν συναντώνται συνήθως στα αιθέρια έλαια, αλλά αποτελούν μέρος των φυτικών ρητινών (Rossi, 1978). Τα τριτερπένια, αποτελούν μέρος των φυτικών ρητινών και φλοιών, ενώ τα περισσότερα τετρατερπένια είναι καροτενοειδή. Γενικά, τα τερπενοειδή μπορεί να είναι ενώσεις ανοικτής ή κλειστής αλυσίδας και με κατάλληλη υποκατάσταση μπορεί να περιλάβουν υδροξύλια, καρβοξύλια και καρβονύλια και να δώσουν τελικά φαινολικές ενώσεις.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ (ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)

### 2.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διερευνηθεί η δυνατότητα χρησιμοποίησης τεσσάρων μιγμάτων τερπενοειδών ουσιών φυσικής προέλευσης για την αντιμετώπιση φυτοпараσιτικών νηματωδών. Όλες οι ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν έχουν ελεγχθεί για την τοξικότητά τους στον άνθρωπο και το περιβάλλον και χρησιμοποιούνται ήδη στη φαρμακευτική.

### 2.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

#### 2.2.1 ΥΛΙΚΑ

• 4 μίγματα (3D, 2H, 2I, 3G). Κάθε ένα από τα μίγματα περιείχε τοθλάχιστον δύο από πέντε τερπενοειδείς ουσίες.

- Χώμα μολυσμένο με νηματώδεις
- Ζυγαριά ακριβείας
- Απιονισμένο νερό
- 27 πλαστικά ποτήρια ζέσεως
- Πλαστικά καπάκια
- Πιπέτες
- 8 κωνικές φιάλες
- Ογκομετρικός κύλινδρος
- Υδροβολέας
- Κουβάδες
- Σήτα των 57mm
- Σήτες στήριξης
- Υάλινα χωνιά απομόνωσης νηματωδών
- Φιαλίδια
- Στερεοσκόπιο

- Τριβλίο καταμέτρησης

### 2.2.2 ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Τα μίγματα των δραστικών ουσιών εφαρμόστηκαν σε έδαφος φυσικά μολυσμένο με νηματώδεις. Πραγματοποιήθηκαν τρεις σειρές πειραμάτων σε έδαφος το οποίο περιείχε:

- i) ανάμικτο πληθυσμό φυτοпараσιτικών νηματωδών
- ii) ανάμικτο πληθυσμό μη φυτοпараσιτικών νηματωδών
- iii) ανάμικτο πληθυσμό φυτοпараσιτικών και μη φυτοпараσιτικών νηματωδών
- iv) *Tylenchulus semipenetrans*

Πιο συγκεκριμένα, για το πείραμα (i) χρησιμοποιήθηκε δείγμα εδάφους από διάφορες δειγματοληπτικές περιοχές της Χώρας, στο οποίο είχε γίνει προηγουμένως απομόνωση νηματωδών δείγματός του και είχε βρεθεί μολυσμένο με φυσικούς πληθυσμούς φυτοпараσιτικών νηματωδών διαφόρων ειδών. Για το πείραμα (ii) χρησιμοποιήθηκε δείγμα εδάφους από διάφορες δειγματοληπτικές περιοχές της Χώρας, στο οποίο έγινε απομόνωση νηματωδών δείγματός του και βρέθηκε ότι είχε φυσικούς πληθυσμούς μη φυτοпараσιτικών νηματωδών διαφόρων ειδών. Για το πείραμα (iii) χρησιμοποιήθηκε μίγμα εδάφους από διάφορες δειγματοληπτικές περιοχές της Χώρας, στο οποίο έγινε απομόνωση νηματωδών δείγματός του και βρέθηκε ότι είχε φυσικούς πληθυσμούς φυτοпараσιτικών και μη φυτοпараσιτικών νηματωδών διαφόρων ειδών. Τέλος, για το πείραμα (iv) χρησιμοποιήθηκε έδαφος από καλλιέργεια εσπεριδοειδών στον Πόρο, στο οποίο έγινε απομόνωση νηματωδών και βρέθηκε μολυσμένο με φυσικό πληθυσμό *Tylenchulus semipenetrans* (προνόμφες δευτέρου σταδίου -J<sub>2</sub>- και αρσενικά άτομα).

Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η ίδια για όλα τα πειράματα:

1. Τα πειράματα αφορούσαν τη δραστικότητα τεσσάρων μιγμάτων διαφορετικών δραστικών ουσιών (2H, 2I, 3D, 3G), για τρεις διαφορετικούς χρόνους (24 ώρες, 48 ώρες και 7 ημέρες) και σε δύο δόσεις (125 και 500 ppm).

2. Κάθε επανάληψη αντιστοιχούσε σε μία εβδομάδα και το όλο πείραμα διήρκεσε 5 εβδομάδες.
3. Στην έναρξη κάθε επανάληψης ζυγίζονταν 250gr εδάφους και τοποθετούνταν σε 27 πλαστικά ποτήρια ζέσεως των 250ml.

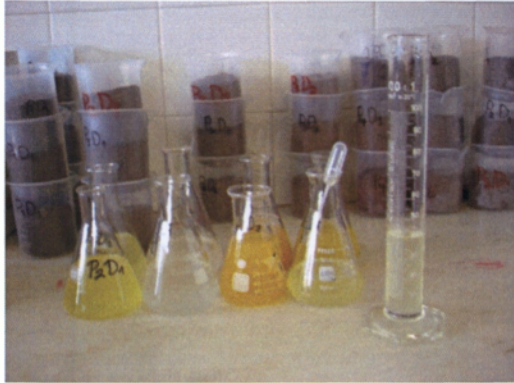


**Εικόνα 2.1.** Ζύγιση μολυσμένου χώματος σε ζυγαριά ακριβείας.

4. Σε κάθε ποτήρι προσθέτονταν η ανάλογη δραστική ουσία στην ανάλογη δόση, οπότε υπήρχαν:
  - 3 ποτήρια με το μίγμα 3D 125ppm
  - 3 ποτήρια με το μίγμα 3D 500ppm
  - 3 ποτήρια με το μίγμα 2H 125ppm
  - 3 ποτήρια με το μίγμα 2H 500ppm
  - 3 ποτήρια με το μίγμα 2I 125ppm
  - 3 ποτήρια με το μίγμα 2I 500ppm
  - 3 ποτήρια με το μίγμα 3G 125ppm
  - 3 ποτήρια με το μίγμα 3G 500ppm
  - 3 ποτήρια με νερό βρύσηςτα οποία αφήνονταν στο εργαστήριο για την αντίστοιχη διάρκεια κάθε μέτρησης



**Εικόνα 2.2.** Ο πάγκος προετοιμασίας των διαλυμάτων των δραστικών ουσιών.



**Εικόνα 2.3.** Κωνικές φιάλες με τα τελικά διαλύματα των υπό εξέταση μιγμάτων.



**Εικόνα 2.4.** Ποτήρια ζέσεως με το υπό εξέταση έδαφος μετά την προσθήκη του δραστικού μίγματος.

5. Μετά την πάροδο των 24 πρώτων ωρών, γινόταν απομόνωση νηματωδών από ένα ποτήρι ζέσεως από κάθε τριπλέτα (δηλαδή απομονώνονταν συνολικά 9 ποτήρια). Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν μια παραλλαγή της μεθόδου Baermann που χρησιμοποιεί το Εργαστήριο Νηματολογίας του ΜΦΙ (Εικ. 2.5-2.10).
6. Μετά την πάροδο 48 ωρών γινόταν απομόνωση των νηματωδών από άλλα 9 ποτήρια ζέσεως.
7. Τέλος μετά την πάροδο και της 7<sup>ης</sup> ημέρας από την εφαρμογή των φαρμάκων γινόταν απομόνωση των νηματωδών από τα υπόλοιπα 9 ποτήρια.
8. Η καταμέτρηση των νηματωδών γινόταν με στερεοσκόπιο στο ειδικό τριβλίο καταμέτρησης (Oestenbrink) (Εικ. 2.11).
9. Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων έγινε με “Ανάλυση Διασποράς (ANOVA)”. Για τις διαφορές των μέσων όρων μεταξύ των επεμβάσεων χρησιμοποιήθηκε ως κριτήριο η Ελάχιστη Σημαντική Διαφορά (LSD) σε επίπεδο

σημαντικότητας ( $P \leq 0.05$ ). Το στατιστικό πρόγραμμα που χρησιμοποιήθηκε σε όλες τις αναλύσεις ήταν το GENSTAT (Lawes Agricultural Trust).

10. Το πείραμα iv έγινε σε ανοικτά ποτήρια ζέσεως ενώ τα υπόλοιπα έγιναν σε ποτήρια ζέσεως τα οποία κλείνονταν από πάνω, με πλαστικά καπάκια, ώστε να αποφεύγεται η εξάτμιση του νερού αλλά και των δραστικών ουσιών, οι οποίες είναι ιδιαίτερα πτητικές.



**Εικόνα 2.5.** Πρώτο στάδιο στην απομόνωση νηματωδών ήταν η τοποθέτηση του υπό εξέταση εδάφους σε ένα κουβά.



**Εικόνα 2.6.** Δεύτερο στάδιο στην απομόνωση νηματωδών ήταν η αραίωση και ανάδευση του εδάφους με νερό υψηλής ροής.



**Εικόνα 2.7.** Τρίτο στάδιο στην απομόνωση νηματωδών ήταν το πέρασμα του εδαφικού αιωρήματος από σειρά κόσκινων.



**Εικόνα 2.8.** Κατά το τέταρτο στάδιο στην απομόνωση νηματωδών, τα υλικά που έχουν



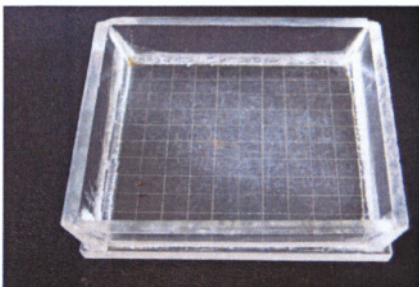
συλλεχθεί στο τελευταίο κόσκινο μεταφέρονται σε πλαστικό ποτήρι ζέσεως.

**Εικόνα 2.9.** Πέμπτο στάδιο στην απομόνωση νηματωδών ήταν η μεταφορά του δείγματος στα χωνιά

τύπου Baermann.



**Εικόνα 2.10.** Χωνί τύπου Baermann, περιέχον το υπό εξέταση δείγμα.



**Εικόνα 2.11.** Το τριβλίο καταμέτρησης νηματωδών (Oostenbrink).

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

#### 3.1 ΠΕΙΡΑΜΑ i

Μεταξύ των επεμβάσεων παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές και για τις τρεις μετρήσεις με λίγες μόνο εξαιρέσεις (Πίνακες 3.1a, 3.1b). Πιο συγκεκριμένα:

1. Μετά την πάροδο των 24 ωρών σε όλες τις επεμβάσεις παρατηρήθηκαν χαμηλότεροι πληθυσμοί νηματωδών εκτός από αυτές με τα μίγματα 3D 125 και 2I 125. Οι επεμβάσεις με τα μίγματα 2H 125 και 3G 500 ήταν πιο αποτελεσματικές από αυτές με τα μίγματα 2H 500 και 3G 125 ενώ δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους. Επίσης, η επέμβαση με το μίγμα 2H 125 ήταν πιο δραστική από αυτή με το 3D 500.
2. Η δραστικότητα των 3D 125 και 2I 125 έγινε αισθητή μετά την πάροδο των 48 ωρών και ήταν αντίστοιχη του YP3G 500 αλλά χαμηλότερη αυτή του 2H 125. Οι πληθυσμοί των νηματωδών ήταν επίσης πιο χαμηλοί όταν τα μίγματα 3D, 2H και 2I εφαρμόστηκαν στην υψηλότερη δόση (500ppm). Η επέμβαση με το μίγμα 3G 125 δεν μείωσε καθόλου τον πληθυσμό των νηματωδών.
3. Μετά την πάροδο των επτά ημερών, μόνο οι επεμβάσεις με τα μίγματα 3D 125, 2I 500, 3G 125 και 3G 500 εμφάνισαν στατιστικά σημαντικά διαφορές από το μάρτυρα.

**Πίνακας 3.1a** Αποτελέσματα μετρήσεων του πειράματος i

Επέμβαση	Χρόνος	24ώρες	48ώρες	7ημέρες
		Μέσος όρος συνολικού πληθυσμού νηματωδών		
H <sub>2</sub> O		544	421	245
YP3D 125		502	339	150
YP3D 500		336	275	263
YP2H 125		245	255	196
YP2H 500		379	313	184
YP2I 125		498	328	188
YP2I 500		313	292	128
YP3G 125		419	453	159
YP3G 500		307	345	164

**Πίνακας 3.1b** Αποτελέσματα Ανάλυσης Διασποράς του πειράματος i



Παράγοντες Παραλλακτικότητας	d.f.(m.v.)	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.	s.e.d.	LSD
Επέμβαση	8	350433.	43804.	4,37	<.001	36,5 7	72,52
Χρόνος	2	1029536.	514768.	51,32	<.001	21,1 1	41,87
Επέμβαση.Χρόνος	16	323325.	20208.	2,01	0.019	63,3 4	125,6 1
Residual	104	1043102.	10030.				
Total	134	2981664.					

### 3.2 ΠΕΙΡΑΜΑ ii.

Και σε αυτή την περίπτωση παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του μάρτυρα και των επεμβάσεων και για τις τρεις μετρήσεις ( $P < 0.05$ ) (Πίνακες 3.2a, 3.2b). Πιο συγκεκριμένα:

1. Μετά την πάροδο των 24 ωρών, εκτός από τα μίγματα 3D 125, 2I 125 και 3G 125, σε όλες τις άλλες επεμβάσεις παρατηρήθηκαν χαμηλότεροι πληθυσμοί νηματωδών χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ τους με εξαίρεση το μίγμα 2H 125 που ήταν ελαφρώς καλύτερο συγκριτικά με το 3D 500.
2. Η δραστικότητα των 3D 125 και 2I 125 έγινε αισθητή μετά την πάροδο των 48 ωρών και ήταν αντίστοιχη της 3G 500 αλλά χαμηλότερη της 2H 125. Οι πληθυσμοί των νηματωδών μειώθηκαν επίσης όταν τα μίγματα 3D, 2H και 2I εφ'αρμόσθησαν στην υψηλότερη δόση (500ppm). Η επέμβαση 3G 125 δεν ήταν αποτελεσματική. Μετά την πάροδο των 48 ωρών, τα μίγματα 2H 500 και 2I 500 ήταν δραστικά και τα 3D 125 και 2I 125 εμφάνισαν κάποια αποτελεσματικότητα ανάλογη αυτής των 3D 500, 2H 125 και 3G 500. Το μίγμα 3G 125 δε μείωσε καθόλου τον πληθυσμό των νηματωδών.
3. Μετά την πάροδο της έβδομης ημέρας μόνο τα 3D 125 και 2I 500 έδωσαν πολύ χαμηλότερους πληθυσμούς νηματωδών σε σχέση με το μάρτυρα.

2. Μετά την πάροδο των 48 ωρών, εκτός από το 3G 125, σε όλες τις επεμβάσεις παρατηρήθηκε χαμηλότερος πληθυσμός νηματωδών, με πιο δραστικά τα μίγματα 3D 500, 2H 125, 2H 500 και 2I 500.

3. Μετά την πάροδο των επτά ημερών μόνο τα μίγματα 3D 125, 2H 500, 2I 500 και 3G 500 έδωσαν χαμηλότερους πληθυσμούς από τον μάρτυρα.

**Πίνακας 3.3a** Αποτελέσματα μετρήσεων του πειράματος iii

Χρόνος	24ώρες	48ώρες	7ημέρες
Επέμβαση	Μέσος όρος συνολικού πληθυσμού νηματωδών		
H <sub>2</sub> O	186	189	79
YP3D 125	145	136	50
YP3D 500	103	88	122
YP2H 125	61	92	66
YP2H 500	102	89	40
YP2I 125	142	113	57
YP2I 500	79	67	31
YP3G 125	113	160	76
YP3G 500	101	128	44

**Πίνακας 3.3b** Αποτελέσματα Ανάλυσης Διασποράς του πειράματος iii

Παράγοντες Παραλλακτικότητας	d.f.(m.v.)	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.	s.e.d.	LSD
Επέμβαση	8	89380.	11173.	5,85	<.001	15,9 6	31,65
Χρόνος	2	81921.	40961.	21,43	<.001	9,22	18,28
Επέμβαση.Χρόνος	16	55691.	3481.	1,82	0,038	27,6 5	54,83
Residual	104	198743.	1911.				
Total	134	471700.					

### 3.4 ΠΕΙΡΑΜΑ iv

Από τα αποτελέσματα του πειράματος με το είδος *Tylnechulus semipenetrans* διαφορές παρατηρήθηκαν μόνο μετά την πάροδο των 48 ωρών, όπου όλες οι επεμβάσεις ήταν στατιστικά σημαντικά διαφορετικές από το μάρτυρα (Πίνακας 3.4a, 3.4b), αλλά δεν εμφάνισαν διαφορές μεταξύ τους. Στις 24 ώρες και τις 7 ημέρες δεν παρουσιάστηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές. Ωστόσο, στα αποτελέσματα της 7<sup>ης</sup> ημέρας

παρατηρήθηκε μεγάλη παραλλακτικότητα στους πληθυσμούς J2 και δε μπορούν να εξαχθούν σαφή συμπεράσματα σχετικά με την δραστηκότητα των επεμβάσεων.

**Πίνακας 3.4a** Αποτελέσματα μετρήσεων πειράματος iv.

Χρόνος	24ώρες	48ώρες	7ημέρες
Επέμβαση	Μέσος όρος συνολικού πληθυσμού νηματωδών		
H <sub>2</sub> O	195	330	162,6
YP3D 125	157	120	78
YP3D 500	189	149	80
YP2H 125	163	212	236
YP2H 500	228	123	100
YP2I 125	202	172	94
YP2I 500	82	133	113
YP3G 125	271	194	98
YP3G 500	109	130	236

**Πίνακας 3.4b** Αποτελέσματα Ανάλυσης Διασποράς πειράματος iv.

Παράγοντες Παραλλακτικότητας	d.f.(m.v.)	s.s.	m.s.	v.r.	F pr.	s.e.d.	LSD
Επέμβαση	8	135446.	16931.	1.40	.204	40.12	79.56
Χρόνος	2	127362.	63681.	5.28	<b>.007</b>	23.16	45.93
Επέμβαση.Χρόνος	16	342007.	21375.	1.77	<b>.045</b>	69.49	137.80
Residual	104	1255391.	12071.				
Total	134	2455401.					

#### 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

##### ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ i, ii, iii

- Τα τρία πειράματα έδειξαν ότι τα υπό μελέτη μίγματα ήταν πιο αποτελεσματικά κατά των φυτοпараσιτικών (ΦΠΝ) παρά κατά των μη φυτοпараσιτικών (ΜΠΝ) νηματωδών.
- Το μίγμα 2H στη δόση των 125ppm ήταν στις περισσότερες περιπτώσεις το πιο αποτελεσματικό, ή μεταξύ των πιο αποτελεσματικών, ιδιαίτερα όσον αφορά στις μετρήσεις των 24 και 48 ωρών. Δραστηκότητα δεν παρατηρήθηκε στις μετρήσεις των επτά ημερών. Αντίθετα, στη δόση των 500 παρατηρήθηκε δραστηκότητα εναντίον των ΦΠΝ σε όλες τις μετρήσεις, ενώ εναντίον των ΜΠΝ μόνο την πρώτη ημέρα.
- Το μίγμα 3D στη δόση των 125ppm ήταν αποτελεσματικό κατά των ΦΠΝ από την πρώτη μέτρηση, ενώ κατά των ΜΠΝ μόνο μετά την πάροδο των 48 ωρών. Παρόμοια καθυστέρηση παρατηρήθηκε και στον μικτό πληθυσμό ΦΠΝ + ΜΠΝ, γεγονός που μπορεί να σημαίνει ότι πιθανόν το μίγμα να μπορεί να εφαρμοστεί σε πιο χαμηλές δόσεις ώστε να μην επιδρά στους ωφέλιμους νηματώδεις του εδάφους. Σε αυτό συναινεί και το ότι στη δόση των 500ppm ήταν αποτελεσματικό σε όλα τα πειράματα από την πρώτη κιόλας ημέρα.
- Το μίγμα 2I 125 έδειξε σημαντική δραστηκότητα εναντίον των ΦΠΝ κατά τις δύο πρώτες μετρήσεις αλλά όχι μετά την πάροδο μιας εβδομάδας. Σε σχέση με τους ΜΠΝ, αποτελεσματικότητα ανιχνεύτηκε μόνο μετά την πάροδο 48 ωρών ενώ και πάλι δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές από τον μάρτυρα στις επτά ημέρες. Το ίδιο παρατηρήθηκε και στην περίπτωση του μικτού πληθυσμού ΦΠΝ + ΜΠΝ. Πάντως, η δραστηκότητα της επέμβασης ήταν αντίστοιχη αυτής του YP3D 125 και ενδέχεται και σε αυτήν την περίπτωση να απαιτούνται χαμηλότερες δόσεις ώστε να προστατευτούν οι ωφέλιμοι νηματώδεις. Αυτό επιβεβαιώνεται και σε αυτή την περίπτωση από την υψηλή δραστηκότητα της δόσης των 500ppm εναντίον όλων των κατηγοριών νηματωδών.
- Η επέμβαση 3G 500 ήταν αποτελεσματική σε όλες τις περιπτώσεις με εξαίρεση τη μέτρηση των επτά ημερών, όπου δεν παρουσιάζονται στατιστικά σημαντικά διαφορές μεταξύ μάρτυρα και ΜΠΝ. Όσον αφορά στην επέμβαση YP3G 125, τα αποτελέσματα

εμφανίζουν έλλειψη συνάφειας καθώς παρατηρείται δραστικότητα κατά την πρώτη μέρα, αλλά όχι τη δεύτερη και την έβδομη.

- Γενικότερα τα αποτελέσματα από τις μετρήσεις της έβδομης ημέρας δεν είναι ξεκάθαρα. Είναι εμφανές ότι η παρουσία αποτελεσματικότητας στις αρχικές μετρήσεις δεν είναι δυνατόν να συνοδεύεται από έλλειψη δραστικότητας με την πάροδο του χρόνου. Οι διαφορές που παρατηρούνται ενδεχομένως να οφείλονται στην επίδραση εξωγενών παραγόντων όπως ο μικρός όγκος των δοχείων που χρησιμοποιήθηκαν. Επίσης, η υψηλή θερμοκρασία που επικρατούσε στο εργαστήριο κατά τη διάρκεια εκτέλεσης του πειράματος μπορεί να μείωσε δραματικά τους πληθυσμούς των νηματωδών με αποτέλεσμα να μην είναι δυνατόν να παρατηρηθούν διαφορές μεταξύ μάρτυρα και επεμβάσεων. Είναι γνωστό ότι η επιβίωση ή θνησιμότητα των νηματωδών εξαρτάται σε πολύ μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία και αυξανόμενη αυτή σε επίπεδα άνω των 40°C επέρχεται θανάτωσή τους. Άλλος παράγοντας που μπορεί να προκαλέσει θανάτωση των νηματωδών είναι η αφυδάτωση του σώματός τους, η οποία μπορεί επίσης να προκληθεί από την άνοδο της θερμοκρασίας. Επιπλέον, η υψηλή θερμοκρασία περιβάλλοντος μπορεί να ενέτεινε την εξάτμιση των μιγμάτων και να επηρέασε τη δράση τους.

- Με βάση τα παραπάνω, τα μίγματα YP2H, YP2I και YP3D παρουσιάζουν σημαντική δραστικότητα και ενδεχομένως να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καταπολέμηση των φυτοпараσιτικών νηματωδών. Ωστόσο πρέπει να μελετηθούν εκτενέστερα και να δοκιμασθούν χαμηλότερες δόσεις από αυτές που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη, σε μεγαλύτερους όγκους εδάφους και με συχνότερες δειγματοληψίες, ώστε να προσδιορισθεί επακριβώς ο τρόπος δράσης τους.

#### ΠΕΙΡΑΜΑ iv (*Tylenchulus semipenetrans*)

Στο παρόν πείραμα παρατηρήθηκε δραστικότητα όλων των επεμβάσεων μετά την πάροδο των 48 ωρών από την εφαρμογή τους, όμως η δραστικότητα αυτή δεν εξακολούθησε να υφίσταται στις 7 ημέρες. Ωστόσο, οι τιμές των πληθυσμών μεταξύ των επαναλήψεων της ίδιας επέμβασης, την 7<sup>η</sup> ημέρα, παρουσίασαν μεγάλη παραλλακτικότητα που πιθανόν να οφείλεται α) στη δυσμενή επίδραση των υψηλών

θερμοκρασιών στο πληθυσμό των νηματωδών και β) στις φυσικοχημικές ιδιότητες των μιγμάτων. Τα μέχρι σήμερα αποτελέσματα δεν είναι επαρκή για την εξαγωγή σαφών συμπερασμάτων για τη δράση των μιγμάτων συναρτήσει του χρόνου.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### I. ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

- Allen, M.W. 1960.** The genera *Xiphinema*, *Longidorus* and *Trichodorus*. In: Sasser, J.N. and Jenkins, W.R. (Eds) *Nematology* University N. Carolina Press Chapel Hill. Pp 227-228.
- Baines, R. C., L.J. Klotz, O. F. Clarke, and T. A. DeWolfe. 1949.** Hot water treatment of orange trees for eradication of citrus nematode. *California Citrograph* 34: 482-484.
- Barker, K.R. 1991.** Rotation and cropping systems of nematode control: The North Carolina experience-Instruction. *Journal of Nematology* 23: 342-343.
- Birch, A.N.E., Robertson, W.E. & Fellows, L.E. 1993.** Plant products to control plant parasitic nematodes. *Pesticide Science* 39: 141-145.
- Bromillow, R. H. 1980.** Behavior of nematicides in soil and plants. In: Factors affecting the application and use of nematicides in Western Europe Workshop, Nematology Group, Association of Applied Biologists.
- Bryden, J.W.1967.** Hot water treatment of plant material. *Ministry of Agriculture, Fisheries and Foods. London. Bulletin* 201: 42.
- Chitwood, B.G. & Chitwood, M.B. 1950.** An introduction to nematology. Section I: Anatomy. Monumental Printing Co, Baltimore, 213pp.
- Chitwood, B.G. 1958.** The designation of official names for higher taxa of invertebrates. *Bulletin of Zoological Nomenclature* 15: 860-895.
- Chitwood, J. D. 2002.** Phytochemical Based Strategies for Nematode Control. *Annual Review of Phytopathology* 40: 221-249.
- Christie, J.R. 1959.** Plant nematodes their bionomics and control. Florida Agriculture. 256pp.
- Crofton, H.D. 1966.** *Nematodes*. H. M. Fox (Ed.) Hutchinson University Library. London. 160pp.
- Crofton, N.D. 1971.** Form, function and behavior. In: Plant Parasitic Nematodes. Parasitology Vol. 1, 83-113pp.

- Cronje, C., H. F. Le Roux, M. Truter, I. van Heerden, and H. Phillips. 2002.** Long-term effect of preplant soil solarization on growth of replant citrus trees in South Africa. *African Plant Protection* 8: 41-49.
- Cunningham, H.S. 1936.** The root-knot nematode *Heterodera marioni* in relation to the potato industry on Long Island. Bulletin 667: 1-24.
- Daulton, R.A. and Nusbaum C.J. 1961.** The effect of soil temperature on the survival of the root-knot nematodes *Meloidogyne javanica* and *Meloidogyne hapla*. *Nematologica* 6: 280-294.
- Dulmage, H.T. 1971.** Economics of microbial control. In: H.D. Burges and N.W. Hussey (Eds) Microbial Control of Insects and Mites. Academic Press, London and New York. Pp 581-590.
- Duncan, L. W., and J. W. Noling. 1987.** The relationship between development of the citrus root system and infestation by *Tylenchulus semipenetrans*. *Revue de Nematologie* 10: 61-66.
- Duncan, L. W., J. H. Graham, and L. W. Timmer. 1993.** Seasonal patterns associated with *Tylenchulus semipenetrans* and *Phytophthora nicotianae* in the citrus rhizosphere. *Phytopathology* 83: 573-581.
- Duncan, L. W., R. N. Inserra, J. H. O' Bannon, and M. M. El-Morshedy. 1994.** Reproduction of a Florida population of *Tylenchulus semipenetrans* on resistant citrus rootstocks. *Plant Disease* 78: 1067-1071.
- Duncan, L.W., and E. Cohn. 1990.** Nematode parasites of citrus. In: M. Luc, R.A. Sikora, and J. Bridge, (eds) *Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture*. Wallingford, UK CAB International. Pp 321-346.
- El-Borai, F., L. W. Duncan, and J. H. Graham. 2002a.** Infection of citrus roots by *Tylenchulus semipenetrans* reduces root infection by *Phytophthora nicotianae*. *Journal of Nematology* 34: 384-389.
- El-Borai, F., L. W. Duncan, and J. H. Graham. 2002b.** Eggs of *Tylenchulus semipenetrans* inhibit growth of *Phytophthora nicotianae* and *Fusarium solani* in vitro. *Journal of Nematology* 34: 267-272.



- Evans, A. A. F. (1987).** Diapause in Nematodes as a Survival Strategy. *In: Veech, J. A. and D.W. (Eds) Vistas on Nematology.* Hyattsville, USA, Society of Nematologists. Pp 180-187.
- Evans, K., D.L. (1993).** Extraction, Identification and Control of Plant Parasitic Nematodes. *In: Plant Parasitic Nematodes in Temperate Agriculture.* CAB International. Trudgill, and J.M. Webster.UK. 648pp.
- Ferraz, L.C.C.B. & Brown, D.J.F. 2000.** Plant nematodes in modern agriculture. *In: An Instruction to Nematodes, Plant Nematology.* Pensoft Publishers. Pp 127-173.
- Filipjev, I.N., & Schuurmanns Stekhoven, J.H. 1959.** *A Manual of Agricultural Helminthology.* Leiden, E.J. Brill. 879pp.
- Flegg, J.J.M. 1966.** The Z-organ in *Xiphinema diversicaudatum*. *Nematologica* 12: 174.
- Goodey, T. 1933.** General Structure of a Nematode. *In: Plant Parasitic Nematodes.* Methnen & CO. LTD (Eds) London. pp. 306
- Graham, J. H., and L. W. Duncan. 1997.** Suppression of *Phytophthora nicotianae* in citrus roots by the citrus nematode (*Tylenchulus semipenetrans*). *Phytopathology* 87: S35.
- Hague, N.G.M., and S. Gowen. 1987.** Chemical control of nematodes. *In: R. H. Brown and B. R. Kerry (Eds) Principles and practice of nematode control in crops.* Sydney Academic Press. 131-178pp.
- Hamid, F. A., S. D. Van Fundy, and C. J. Lovatt. 1988.** Phenologies of the citrus nematode and citrus roots treated with oxamyl. *In: R. Goren and K. Mendel (Eds) Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Citrus Congress.* Tel Aviv, Israel: Balaban Publishers 993-1004pp.
- Hanna, H.Y., Colyer, P.E., Kirkpatrick, T.L., Romainem, D.J., Gernon, P.R. 1994.** Feasibility of improving cucumber yield without chemical control in soils susceptible to nematode buildup. *Horticultural Science* 29: 1136-1138.
- Hannon C. I. 1964.** Longevity of the citrus-root nematode in Florida. *Proceedings of the Soil and Crop Science Society of Florida* 24: 158-161.
- Hirschmann, H. 1971.** Comparative morphology and anatomy. *In: Zuckerman, B.M. and Rohde, R.A. (Eds) Plant parasitic nematodes* Academic Press. New York and London Vol. I. Pp 11-63.

- Hooper, D.J. & Stone, A.R. 1980.** Role of wild plants and weeds in the ecology of plant-parasitic nematodes. *In: Thresh, J.M. (Ed.) Pests pathogens and vegetation.* Pp 199-215.
- Horst, Kenneth R. 1990.** Westcott's Plant Disease Handbook. 5<sup>th</sup> edition. Yan Nostrand Reinhold, New York, NY. Pp 306-307.
- Hough, A., and I. J. Thomason. 1975.** Effects of aldicarb on the behavior of *Heterodera schachtii* and *Meloidogyne javanica*. *Journal of Nematology* 7: 221-229.
- Ingham, E. 1996.** The soil Foodweb: Its Importance in Ecosystem Health. 13pp.
- Jones, F.G.W., Larbey, D.W. & Parrott, D.M. 1969.** The influence of soil structure and moisture on nematodes, especially *Xiphinema*, *Longidorus*, *Trichodorus* and *Heterodera* spp. *Soil Biology and Biochemistry I.* Pp 153-165.
- Kaplan, D. T., and J. H. O' Bannon. 1981.** Evaluation and nature of citrus nematode resistance in Swingle citrumelo. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society* 94: 33-36.
- Karssen, G. 1999.** The plant-parasitic nematode genus *Meloidogyne* Goldi, 1982 (Tylenchida) in Europe, University of Gent, Biology Department, Belgium. PhD Thesis.
- Katan, J., 1981.** Solar heating (solarization) of soil for control of soil borne pests. *Annual Review of Phytopathology* 19: 211-236.
- Kerry, B.R. 1980.** Biocontrol: Fungal parasites of female cyst nematodes. *Journal of Nematology.* 12: 253-259.
- Kerry, B.R. 1987.** Biological control. *In: R.H. Brown and B.R. Kerry (Eds) Principles and practice of nematode control in crops.* Sydney Academic Press. Pp 233-263.
- Kodira, U.C., and B.B. Westerdahl. 1995.** Potato Pest Management Guide. UC Statewide IPM. University of California, Davis, CA. 3p.
- Le Roux, H. F., M. C. Pretorius, and L. Huisman. 2000.** Citrus nematode IPM in Southern Africa. *Proceedings of the International Society of Citriculture* Vol. 2: 823-827pp.
- Luc, M. & Dalmasso, A. 1975.** Considerations on the genus *Xiphinema* Cobb, 1919 (Nematoda: Longidoridae) and a <<lattice>> for the identification of species. *Cah. ORSTOM. Ser. Biol.* 10(3): 303-327.

- Luc, M., 1961.** Structure de la gonade femelle chez quelques du genre *Xiphinema* Cobb, 1913. (Nemata-Dorylaimoidea) *Nematologica* 6: 144-154.
- Maggenti, A. 1981.** *General Nematology*. Springer – Verlag, New York, Heidelberg, Berlin. 372p.
- Mashela, P., L. Duncan, and R. McSorley. 1992.** Salinity reduces resistance to *Tylenchulus semipenetrans* in citrus rootstocks. *Nematropica* 22: 7-12.
- McKenry, M. V. 1987.** Control strategies in high-value crops. In: R. H. Brown and B. R. Kerry (Eds) *Principles and practice of nematode control in crops*. Sydney Academic Press. Pp 329-349.
- McKenry, M. V. 1999.** The replant problem and its management. Fresno, CA: Catalina Publishing Co.
- McKenry, M. V., T. Buzo, S. Kako, and D. Dougherty. 1997.** Field comparison of 20 potential methyl bromide alternatives for tree and vine nurseries. *Proceedings of the Annual International Conference on Methyl Bromide Alternatives and Emissions Reductions. 3-5 November 1997. San Diego, California.* 47pp.
- O' Bannon, J. H., and A. L. Taylor. 1967.** Control of nematodes on citrus seedlings by chemical bare-root. *Plant Disease Reporter* 51: 995-998.
- Oka, Y., Nacar, S., Putievsky, E., Ravid, U., Yaniv, Z., and Spiegel, Y. 2000.** Nematicidal activity of essential oils and their components against the root-knot nematode. *Phytopathology* 90: 710-715.
- Ornat, C., Verdejo-Lucas, S., Sorribas, F.J., 1997.** Effect of the previous crop on population densities of *Meloidogyne javanica* and yield of cucumber. *Nematropica* 27: 85-90.
- Overmann, A.J. 1964.** The effect of temperature and flooding on nematode survival in fallow sandy soil. *Proceedings of the Soil and Crop Science Society of Florida* 34: 197-200.
- Paracer, S.M., Brzeski, M.W. & Zuckermann, B.M. 1966.** Nematophagous and predacious nematodes associated with cranberry soil in Massachusetts. *Plant Disease Reporter* 50: 548-586.

- Parvatha Reddy, P., R. M. Khan, and M. S. Rao. 1991.** Integrated management of the citrus nematode *Tylenchulus semipenetrans* using oil-cakes and *Paecilomyces lilacinus*. *Afro-Asian Journal of Nematology* 1: 221-222.
- Ploeg, A. 2001.** When nematode attack is important. *California Grower*. October Issue: 12-13.
- Rodriguez-Kabana, R. 1992.** Cropping systems for the management of phytonematodes. In: F.J. Gommers, and P.W.Th. Maas (Eds) *Nematology from molecule to ecosystem*. Invergowrie, Dundee, Scotland: European Society of Nematologists. Pp 219-233.
- Sasser, J.N. 1990.** Plant-parasitic Nematodes: The Farmer's Hidden Enemy. North Carolina State University Press, Raleigh, NC. Pp 47-48.
- Siddiqi, M.R. 1974.** *Tylenchulus semipenetrans*. C.I.H. Descriptions of Plant-parasitic Nematodes. Set 3, No. 34. Commonwealth Institute of Parasitology. C.A.B. International.
- Silva, H. P., A. R. Montero, and L. C. C. B. Feraz. 1987a.** Tratamento hidrotérmico de mudas de cítricos para a erradicação de *Tylenchulus semipenetrans*. *Nematologia Brasileira* 11: 143-152.
- Silva, H. P., A. R. Montero, and L. C. C. B. Feraz. 1987b.** Controle químico de *Tylenchulus semipenetrans* em mudas de citros. *Nematologia Brasileira* 11: 176-183.
- Smyth, J.D. 1995.** Rate, new and emerging helminth zoonoses. *Advances in Parasitology* 36: 1-45.
- Sorribas, F. J., S. Verdejo-Lucas, J. B. Forner, A. Alcaide, J. Pons and C. Ornat. 2000.** Seasonality of *Tylenchulus semipenetrans* Cobb and *Pasteuria* sp. in citrus orchards in Spain. *Journal of Nematology* 32: 622-632.
- Stapleton, J. J., C. L. Elmore, and J. E. DeVay. 2000.** Solarization and biofumigation help disinfest soil. *California Agriculture* 54: 42-45.
- Storer, T.I. and Usinger, R.L. 1965.** General Zoology. Mc Craw-Hill Book Co. 741pp.
- Thorne, G. 1961.** Principles of Nematology. Mc Fraw-Hill, New York. 553pp.
- Tjamos, E. C. A. Grinstead, and A. Gamliel. 1999.** Disinfestation of soil and growth media. In: A. Albajes, M. L. Gullino, J.C. van Lenteren, and Y. Elad (Eds)

*Integrated pest and disease management in greenhouse crops*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic. Pp 87-130.

- Triantaphyllou, A.C. 1971.** Genetics and cytology. *In: Zuckerman, B.M., Mai, W.F. and Rohde, R.A. (Eds) Plant parasitic nematodes* Academic Press. New York and London, Vol. 2. Pp 1-34.
- Tyler, J. 1933.** Reproduction without males in aseptic root cultures of the root-knot nematode. *Hilgardia* 7: 373-388.
- Verdejo – Lucas, S., and M.V. McKenry. 2004.** Management of the citrus nematodes, *Tylenchulus semipenetrans*. *Journal of Nematology* 36(4): 424-432.
- Verdejo-Lucas, S., and D. T. Kaplan. 2002.** The citrus nematode: *Tylenchulus semipenetrans*. *In: J. L. Starr, R. Cook and J. Bridge (Eds) Plant resistance to parasitic nematodes*. Wallingford, UK CAB International. Pp 207-219.
- Verdejo-Lucas, S., F. J. Sorribas, J. Pons, J. B. Forner, and A. Alcaide. 1997.** The mediterranean biotypes of *Tylenchulus semipenetrans* in Spanish citrus orchards. *Fundamental and Applied Nematology* 20: 399-404.
- Verdejo-Lucas, S., M. Galeano, F. J. Sorribas, F. B. Forner, and A. Alcaide. 2003.** Effect on resistance to *Tylenchulus semipenetrans* of hybrid citrus rootstocks subjected to continuous exposure to high population densities of the nematode. *European Journal of Plant Pathology* 109: 427-433.
- Viglierchio, D.R. (1991).** Organ systems. *In: The World of Nematodes*. Davis, USA, Nematology Department, University of California. Pp 39-83.
- Walker J. T. and Melin J. B. 1996.** *Mentha x piperita*, *Mentha spicata* and Effects of Their Essential Oils on *Meloidoyne* in Soil. *Journal of Nematology Supplement*. 28(4S): 629-635.
- Wallace, H.R. 1963.** Populations. *In: Edward A. (Eds) The Biology of Plant Parasitic Nematodes*. London E.A. LTD. Pp 163-187.
- Wang, Z. & Zhang, Y. 1992.** Study towards the eco-geographic community of mountain soil nematodes in the middle of Human. *Department of Geography, Hunan Normal Univ. Hunan, Chins, Nematologica Abst.* 62: 1-4.

**Weischer, B. & Brown, D.J.F. 2000.** Structure and organisation of nematodes. *In: An Instruction to Nematodes, General Nematology.* Sofia – Moscow Pensoft Publishers. Pp 73-89.

**Yepsen, Roger B. Jr. 1984.** The Encyclopedia of Natural Insect & Disease Control. Revised edition. Rodale Tress, Emmaus, PA. Pp 267-271.

## II. ΕΛΛΗΝΙΚΗ

**Ηλιόπουλος, Α.Γ. 1999.** Φυτοπροστασία Ι, Στοιχεία φυτοπαθολογίας. Σελ. 23-44.

**Καραναστάση, Ε. 2006.** Ορθολογική αντιμετώπιση του νηματώδη των εσπεριδοειδών *Tylenchulus semipenetrans*. Γεωργία – Κτηνοτροφία 2006(3):28-37.

**Κολιοπάνος, Κ. 1999.** Φυτοпараσιτικοί Νηματώδεις Σκώληκες. Βιολογία - Φυσιολογία – Γενετική ταξινόμηση και παθογένεση επί φυτών – Τρόποι αντιμετώπισης. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

**Κύρου, Ν. 2004.** Φυτοпараσιτικοί Νηματώδεις. Αθήνα. Εκδόσεις Αγροτύπος

**Μπούρμος, Β.Α. και Σκουντριάδης, Μ.Θ. 1990.** Εχθροί και ασθένειες της τομάτας του θερμοκηπίου. Αγροτικές Εκδόσεις, Τόμος II.

## III. ΠΗΓΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

[www.atra.ncat.org](http://www.atra.ncat.org)

[www.bayercropscience.gr](http://www.bayercropscience.gr)

[www.health.in.gr](http://www.health.in.gr)

[www.mednutrition.gr](http://www.mednutrition.gr)

[www.lyk-limnis.eyv.sch.gr](http://www.lyk-limnis.eyv.sch.gr)

[www.ucdnema.ucdavis.edu](http://www.ucdnema.ucdavis.edu)