

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (ΤΕΙ)
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ
ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ ΜΕ ΠΑΓΙΔΕΥΤΙΚΟΥΣ ΜΥΚΗΤΕΣ

Πτυχιακή εργασία
της σπουδάστριας **Παπαδέα Αθανασίας**

Καλαμάτα, Ιούνιος 2005

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (ΤΕΙ)
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΜΕΛΕΤΗ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ
ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ ΜΕ ΠΑΓΙΔΕΥΤΙΚΟΥΣ ΜΥΚΗΤΕΣ

Πτυχιακή εργασία
της σπουδάστριας **Παπαδέα Αθανασία**



Επιβλέπων Καθηγητής: **Βλαχόπουλος Ευάγγελος**

Καλαμάτα, Ιούνιος 2005

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά όσους βοήθησαν για την ολοκλήρωση αυτής της μελέτης με οποιοδήποτε τρόπο.

Ευχαριστώ ιδιαίτερα τον Καθηγητή του Τ.Ε.Ι Καλαμάτας κ. Βλαχόπουλο Ευάγγελο, για την εισήγηση του θέματος της παρούσας μελέτης και για την κρητική ανάγνωση και διόρθωσή της.

Ευχαριστώ θερμά την Ερευνήτρια Νηματολόγο του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου Δρα. Καραναστάση Ειρήνη, που με την πολύτιμη βοήθειά της, τις συνεχείς παρατηρήσεις και συμβουλές της, με οδήγησε στην επιτυχή ολοκλήρωση της μελέτης μου καθώς και στη σωστή παρουσίασή της. Επίσης την ευχαριστώ για την πρόθυμη διάθεση του εργαστηρίου της.

Ακόμη ευχαριστώ τον Ερευνητή Φυτοπαθολόγο του Εργαστηρίου Μυκητολογίας του Μ.Φ.Ι Δρα. Λάσκαρη Δημήτριο, ο οποίος με τις συνεχές συμβουλές του και την βοήθειά του, με οδήγησε στην επιτυχή ολοκλήρωση της μελέτης μου, καθώς και στην καλύτερη παρουσίασή της.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω όλο το προσωπικό, επιστημονικό και τεχνικό, των τμημάτων Εντομολογίας – Ζωολογίας και Φυτοπαθολογίας για την ευγενή και πρόθυμη συμπεριφορά τους και τέλος όλους τους ασκούμενους συμφοιτητές μου στο Μ.Φ.Ι για την πολύτιμη βοήθειά τους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	2
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	3
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1 ^ο (ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ).....	4
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	4
1.2 ΒΙΟΛΟΓΙΑ.....	7
1.3 ΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>MELOIDOGYNE</i>	11
1.3.1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ	11
1.3.2 ΒΙΟΛΟΓΙΑ.....	12
1.4 ΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ <i>TYLENCHULUS SEMIPENETRANS</i>	14
1.4.1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ	14
1.4.2 ΒΙΟΛΟΓΙΑ.....	15
1.5 ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.....	16
1.6 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.....	19
1.6.1 Πρόληψη	19
1.6.2 Καταπολέμηση.....	20
1.6.2.1 Καταπολέμηση με καλλιεργητικές μεθόδους	20
1.6.2.2 Καταπολέμηση με βιολογικές μεθόδους.....	23
1.6.2.3 Καταπολέμηση με χημικές μεθόδους.....	25
1.7 ΕΧΘΡΟΙ ΤΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ.....	26
1.8 ΜΥΚΗΤΕΣ ΓΕΝΙΚΑ.....	27
1.9 ΠΑΓΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ	29
1.10 ΕΔΑΦΟΣ.....	32
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2 ^ο (ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)	34
ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ : ΣΚΟΠΟΣ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	34
2.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	34
2.1.1 Θρεπτικά υλικά ανάπτυξης μυκήτων	34
2.1.2 Υπόστρωμα ανάπτυξης φυτών.....	36
2.1.3 Ανάπτυξη φυτών	36
2.1.4 Παραγωγή μολύσματος για ενσωμάτωση στο έδαφος	37
2.1.5. Απομόνωση του πληθυσμού των νηματωδών με τη μέθοδο Baermann (τροποποιημένη).....	38
2.1.6. Καταμέτρηση πληθυσμού νηματωδών	39
2.1.7. Μέτρηση συνολικού μήκους ρίζας	40
2.1.8. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων	40
2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ	41
2.2.1 Πείραμα 1 ^ο	41
2.2.2 Πείραμα 2 ^ο	45
2.2.3. Πείραμα 3 ^ο	48
2.2.4. Πείραμα 4 ^ο	50
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3 ^ο	53
ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	53
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	58

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η καταπολέμηση των νηματωδών μέχρι σήμερα στηρίζεται κατά κανόνα στα νηματοκτόνα φάρμακα. Τα σκευάσματα αυτά είναι πολύ αποτελεσματικά, αλλά παράλληλα, ιδιαίτερα τοξικά για τον άνθρωπο, το περιβάλλον και σε πολλές περιπτώσεις ακόμη και για τα ίδια τα φυτά στα οποία γίνεται η εφαρμογή. Τα τελευταία χρόνια, το ενδιαφέρον για την χρησιμοποίηση λιγότερων χημικών ουσιών και την εφαρμογή μεθόδων πιο φιλικών προς το περιβάλλον αυξάνεται συνεχώς και η έρευνα πάνω στο τομέα της βιολογικής καταπολέμησης παθογόνων γίνεται όλο και πιο εντατική. Σε μια πρώτη προσέγγιση του προβλήματος εφαρμόζονται διάφορες εναλλακτικές μέθοδοι, κυρίως καλλιεργητικές, των οποίων η αποτελεσματικότητα είναι περιορισμένη ιδιαίτερα όταν ο βαθμός προσβολής της καλλιέργειας είναι υψηλός.

Στην παρούσα μελέτη έγινε μια προσπάθεια να επιτευχθεί η βιολογική καταπολέμηση των νηματωδών με την χρησιμοποίηση νηματοβόρων μυκήτων, οι οποίοι προστέθηκαν στο υπόστρωμα ανάπτυξης φυτών τομάτας που περιείχε φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις.

Σύμφωνα με τα μέχρι σήμερα βιβλιογραφικά δεδομένα, έχουν γίνει πολλές προσπάθειες χρησιμοποίησης μυκήτων για τη βιολογική καταπολέμηση νηματωδών. Τα αποτελέσματα των μελετών αυτών ήταν εκ πρώτης όψεως θετικά, ωστόσο όχι αρκετά ενθαρρυντικά για να ενταθεί ο πειραματισμός πάνω στο αντικείμενο. Παρατηρώντας ότι τα προβλήματα που προκαλούνται από τους φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις στις καλλιέργειες αυξάνονται συνεχώς, ενώ τα φυτοφάρμακα των οποίων οι επιτρεπόμενες εφαρμογές μειώνονται αντιστρόφως ανάλογα, θεωρήσαμε ότι η ανάπτυξη νέων βιολογικών μεθόδων είναι απολύτως απαραίτητη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1^ο (ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)

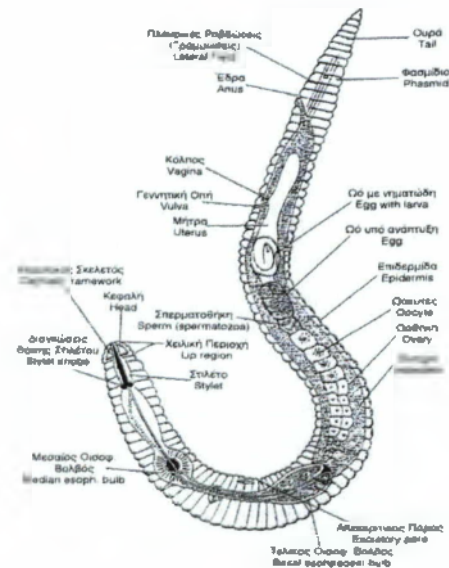
1.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η γνώση της ύπαρξης των νηματώδων είναι τόσο παλιά όσο και η ιστορία του ανθρώπου. Αναφορές για τους νηματώδεις σαν ζωικά παράσιτα έχουν βρεθεί στις πρώτες Αιγυπτιακές γραφές 4.000 χρόνια π.Χ. Το *Dracunculus medinensis* είναι ένα από τα ζωικά παράσιτα που περιλαμβανόταν στις πρώτες επιστημονικές ζωολογικές ανακοινώσεις. Ο νηματώδης αυτός προσβάλλει το ανθρώπινο σώμα και ιδιαίτερα τα πόδια και τους βραχίονες, προκαλώντας έντονους πόνους και φλεγμονές. Οι νηματώδεις των ζώων ήταν γνωστοί την εποχή του Αριστοτέλη (384 – 322 π.Χ.) (Storer and Usinger, 1965), αλλά αναφορές σ' αυτούς γίνονταν και στους μετέπειτα αιώνες από διάφορους συγγραφείς στην ιατρική και ζωολογία.

Αντίθετα, η ύπαρξη των φυτοπαρασιτικών νηματώδων ήταν άγνωστη μέχρι τον 17^ο αιώνα λόγω του μικροσκοπικού τους μεγέθους (0.3–10mm) και του τρόπου με τον οποίο ζουν είτε μέσα στους φυτικούς ιστούς, είτε μέσα στο έδαφος και τρεφόμενοι επί των ριζών. Η πρώτη αναγνώρισή τους έγινε 100 χρόνια μετά την ανακάλυψη του μικροσκοπίου από τον Needham (1743), ο οποίος βρήκε και περιέγραψε τον νηματώδη του σίτου, *Anguina tritici*. Το γεγονός αυτό αποτέλεσε την πρώτη αποδεδειγμένη καταγραφή ότι οι νηματώδεις μπορούν να προκαλέσουν ασθένειες στα φυτά (Κολιοπάνος, 1999).

Οι νηματώδεις σκώληκες, ή απλώς νηματώδεις, ανήκουν στο Ζωικό Βασίλειο, Υποβασίλειο Metazoa, Φύλο **Nemata** Cobb 1919 (Chitwood, Filipjevic *et al*, 1959). Είναι σκωληκόμορφοι οργανισμοί μικρού μεγέθους, με σώμα χωρίς δακτυλίους λεπτό σαν νήμα, που δε χωρίζεται σε τμήματα όπως για παράδειγμα συμβαίνει με τα έντομα. Είναι ίσως η πολυπληθέστερη ομάδα μετά τα αρθρόποδα και μια από τις πιο προσαρμοσμένες ομάδες ζώων στον πλανήτη. Απαντώνται στα καλλιεργούμενα

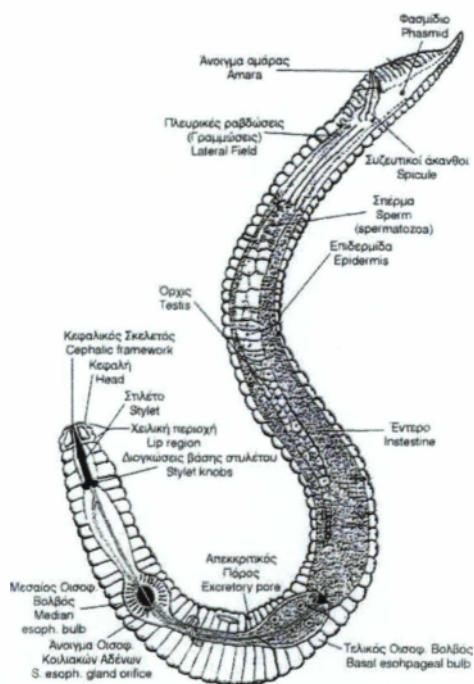
εδάφη, αλλά και στην έρημο, τα βάθη των λιμνών και των ποταμών, ακόμη και στις πολικές θάλασσες (Κολιοπάνος, 1999).



Εικόνα 1.1. Θηλυκό άτομο φυτοпараσιτικού νηματώδη

Σ' αυτό το σημείο και καθώς γίνεται μεγάλη συζήτηση γύρω από τις ονομασίες που σχετίζονται με τον επιστημονικό αυτό κλάδο, ιδιαίτερα στην Ελληνική γλώσσα, πρέπει να αναφέρουμε ότι η λέξη Νηματώδης, προέρχεται από την ελληνική λέξη *νήμα*, λόγω της μορφολογίας του σώματος των οργανισμών αυτών. Η λέξη εισήχθη στα Λατινικά ως είχε αρχικά (*nema*) και χρησιμοποιήθηκε σαν ρίζα για την ανάπτυξη μεγάλου αριθμού αγγλικών λέξεων. Τα παράγωγα που χρησιμοποιούνται μέχρι και σήμερα (*nematode* = νηματώδης, *nematology* = νηματολογία, *nematologist* = νηματολόγος, *nematization* = μόλυνση ή προσβολή από νηματώδεις, *nematicide* = νηματοκτόνο, *denematize* = απονηματώνω) έχουν καθιερωθεί διεθνώς και είναι σύμφωνα με το Διεθνή Κώδικα Ζωολογικής Ονοματολογίας. Η ονομασία του Φύλου «*Nemata*» προέρχεται από την ίδια ρίζα και καθιερώθηκε από τον Cobb το 1919. Ο όρος *Nematoda*, που χρησιμοποιήθηκε το 1957 από τον Chitwood, είναι λανθασμένο

συνώνυμο της λέξης Nematata, όπως λανθασμένα χρησιμοποιούνται και οι όροι νηματωδολογία, νηματωδολόγος, νηματωδοκτονία (Κουγέας, 1960).



Εικόνα 1.2. Άρσενικό άτομο φυτοпараσιτικού νηματώδη

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις ζουν στο έδαφος, κοντά στις ρίζες των φυτών ή και μέσα σ' αυτές. Σε μεγάλους πληθυσμούς αποτελούν σπουδαίο περιοριστικό παράγοντα της ανάπτυξης και παραγωγής των φυτών (Dao, *et.al*, 1970). Τα τελευταία χρόνια έχει αποδειχθεί η μεγάλη οικονομική σημασία αυτών των παρασίτων σε πολλές περιοχές της χώρας μας, εφ' όσον έχει δειχθεί ότι προσβάλλουν όλες γενικά τις καλλιέργειες προκαλώντας ζημιές που μακροσκοπικά συχνά αποδίδονται λανθασμένα σε άλλα παθογόνα ή άλλα αίτια. Οι πιο συχνές με οικονομικό ενδιαφέρον προσβολές οφείλονται στους νηματώδεις των ριζοκόμβων οι οποίοι ανήκουν στο γένος *Meloidogyne*. Τα είδη του γένους αυτού, τα οποία είναι γνωστά από τα εξογκώματα που προκαλούν στις ρίζες, όταν βρεθούν σε ευνοϊκές συνθήκες και δεν καταπολεμηθούν μπορούν όχι μόνο να μειώσουν την παραγωγή αλλά να

καταστρέψουν ολοκληρωτικά μια καλλιέργεια (Τριανταφύλλου, 1960). Επίσης, πολύ σοβαρές είναι οι συνέπειες από την προσβολή καλλιεργειών με ορισμένα είδη νηματώδων, τα οποία έχουν τη δυνατότητα να ενεργούν σαν φορείς φυτικών ιών. Με βάση όλα τα παραπάνω μπορούμε να εκτιμήσουμε καλύτερα το πόσο επιζήμια μπορούν να γίνουν αυτά τα παράσιτα (Πολυχρονόπουλος 1970; Pitcher, 1965; Rowell, 1971). Φυσικά όλοι οι νηματώδεις που ζουν στο έδαφος δεν είναι απαραίτητα ζημιογόνοι, αλλά υπάρχουν και πολλά ωφέλιμα είδη τα οποία μπορεί να αποσυνθέτουν κατεστραμμένες ρίζες αυξάνοντας έτσι τη γονιμότητα του εδάφους ή ακόμη τρέφονται με φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις ή ακόμα με ακάρεα, έντομα, μύκητες και βακτήρια τα οποία προκαλούν διάφορες ασθένειες στα φυτά.

Με την έρευνα και την γνώση που έχει αποκτηθεί στον τομέα της Νηματολογίας σήμερα, έχουν αναπτυχθεί ποικίλες μέθοδοι για να αντιμετωπίζονται με επιτυχία οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις. Η επιλογή των πιο κατάλληλων μεθόδων για την έγκαιρη και σωστή διάγνωση και αντιμετώπισή τους σ' ένα σύστημα ολοκληρωμένης καταπολέμησης είναι έργο ειδικώς εκπαιδευμένων νηματολόγων. Οι μέθοδοι αυτές πρέπει να είναι αποτελεσματικές, οικονομικές και με την μικρότερη κατά το δυνατό δυσμενή επίδραση στο περιβάλλον.

1.2 ΒΙΟΛΟΓΙΑ

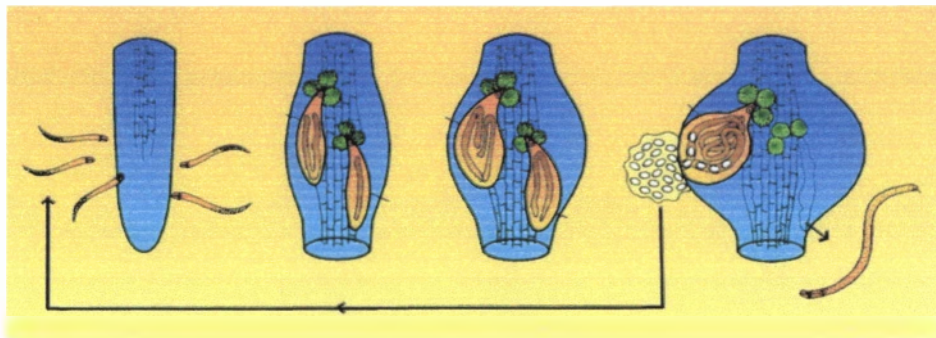
Η αναπαραγωγή των νηματώδων γίνεται με διάφορους τρόπους ανάλογα με το είδος και τις περιβαλλοντικές και καλλιεργητικές συνθήκες που επικρατούν. Έτσι μπορούν να αναπαράγονται αμφιμικτικά, δηλαδή με τη διασταύρωση θηλυκών και αρσενικών ατόμων, παρθενογενετικά, δηλαδή χωρίς τη διασταύρωση των δύο ατόμων, ή τέλος ερμαφροδιτικά, όπου τα ωάρια, όπως και τα σπερματοζωάρια παράγονται από τα θηλυκά άτομα (Κύρου, 2004).

Οι θηλυκοί νηματώδεις γεννούν τα ωά τους μέσα ή έξω από τις ρίζες των φυτών, ανάλογα με το είδος τους. Με το τέλος της καλλιεργητικής περιόδου και τη μάρανση των φυτών τα ωά παραμένουν μέσα στις νεκρές ρίζες ή στο έδαφος. Ο αριθμός των ωών εξαρτάται από το είδος του νηματώδη και κυμαίνεται από 100 ή λιγότερα μέχρι 2000 ή περισσότερα π.χ. κάθε θηλυκό άτομο *Meloidogyne* γεννά 300–

500 ωά (Κύρου, 2004). Όταν οι νηματώδεις αναπαράγονται ερμαφροδιτικά, τότε ο αριθμός των ωών είναι μικρότερος (Κύρου, 2004).

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 νέας καλλιέργειας επάγει την εκκόλαψη των ωών (Κύρου, 2004).

Από το ωό εξέρχεται το ατελές άτομο ή νύμφη 1^{ου} σταδίου (larva - J1). Μετά την πρώτη έκδυση που υφίσταται η νύμφη J1, εξέρχεται η νύμφη 2^{ου} 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 έτσι εξέρχεται η νύμφη 3^{ου} σταδίου (J3). Μετά την τρίτη έκδυση που κι αυτή συντελείται εντός ή εκτός του ξενιστή εξέρχεται η νύμφη 4^{ου} σταδίου (J4) και τέλος ακολουθεί η τέταρτη έκδυση από την οποία εξέρχεται το τέλειο θηλυκό ή αρσενικό άτομο. Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου εξαρτάται από τις περιβαλλοντικές συνθήκες και συνήθως κυμαίνεται από 15 – 50 ημέρες.



Εικόνα 1.3. Βιολογικός κύκλος φυτοπαρασιτικού νηματώδη (Nematode Interaction Unit, Rothamsted Research)

Τα νυμφικά στάδια ονομάζονται και ατελή καθώς έχουν όλα τα όργανα τους αναπτυγμένα εκτός του αναπαραγωγικού συστήματος, το οποίο υπάρχει μόνο υποτυπωδώς.

Σε μερικά είδη, ο καθορισμός του φύλου εξαρτάται από τις συνθήκες διατροφής κατά τα πρώτα στάδια της ανάπτυξής τους. Σε συνθήκες έλλειψης τροφής,

ή υψηλή θερμοκρασία περιβάλλοντος, ο αριθμός των θηλυκών υπερτερεί των αρσενικών. Αυτό διαπιστώθηκε και για μερικά είδη του γένους *Meloidogyne* (Tyler, 1933). Επίσης, σε μερικά είδη, δεν έχουν βρεθεί αρσενικά άτομα ή βρίσκονται μόνο ελάχιστα. Στις περιπτώσεις αυτές οι νηματώδεις αναπαράγονται παρθενογενετικά ή ερμαφροδιτικά. Τέλος, σε μερικά γένη τα θηλυκά διαφέρουν από τα αρσενικά στο σχήμα και στο μέγεθος. Έτσι παραδείγματος χάρη, στα γένη *Meloidogyne*, *Meloidodera*, *Tylenchulus*, *Rotylenchulus*, ενώ τα αρσενικά διατηρούν το σκωληκόμορφο σχήμα τους καθ' όλη τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου, τα θηλυκά διογκώνονται και παίρνουν σχήμα σφαιρικό, σακκοειδές, λεμονοειδές, ή απιοειδές ανάλογα με το είδος.

Τα ωά του γένους των ριζοκόμβων (*Meloidogyne* spp.) εκκολάπτονται αφού η νύμφη J1 υποστεί μέσα στο ωό την 1^η έκδυση (αποδερμάτωση). Στη συνέχεια οι νύμφες J2 που προκύπτουν πλησιάζουν τις ρίζες και διαπερνούν με το στίλετο τους τα λεπτά ριζίδια του ξενιστή φυτού τρεφόμενες για αρκετό καιρό σαν ενδοπαράσιτα, προσλαμβάνοντας φυτικούς χυμούς μέσα από γιγαντιαία κοινοκύτταρα που δημιουργούν οι ίδιες. Τα κοινοκύτταρα αυτά, δεν έχουν σχέση με τα προκαλούμενα εξογκώματα ή φυμάτια που παρατηρούνται μακροσκοπικά στην εξωτερική επιφάνεια των προσβεβλημένων ριζών. Οι νύμφες που θα εξελιχθούν σε θηλυκά αλλάζουν σωματική διάπλαση και από σκωληκόμορφες αποκτούν απιοειδή μορφή με λευκό μαργαριταρένιο χρώμα. Τα αρσενικά άτομα αναπτύσσονται ενδοπαρασιτικά, δηλαδή εντός του φυτού ξενιστή και εγκαταλείπουν τις ρίζες σαν τέλεια άτομα, με σκωληκόμορφη διάπλαση προς αναζήτηση των θηλυκών. Τα ανεπτυγμένα θηλυκά εναποθέτουν τα ωά τους σε μια ζελατινώδη μάζα (ωόσακκο) που βρίσκεται συνήθως στην εξωτερική επιφάνεια του ριζικού ιστού. Σε μερικές περιπτώσεις ξενιστών και σε περιπτώσεις πολλαπλών εξογκωμάτων είναι δυνατό να βρεθούν ωόσακκοι καθ' ολοκληρία μέσα στο ριζικό ιστό. Το ζελατινώδες υλικό που περιβάλλει τα ωά, είναι φυσιολογικά άχρωμο και με την πάροδο του χρόνου παίρνει σκοτεινό χρωματισμό ενώ το σώμα των λευκών θηλυκών αποσυντίθεται γρήγορα.

Απαραίτητοι παράγοντες για την επιβίωση των φυτοπαρασιτικών νηματωδών είναι το νερό και το οξυγόνο. Η διάρκεια ζωής των νηματωδών εξαρτάται και 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 ύπαρξη κατάλληλου ξενιστή (Κύρου, 2004).

Ειδικά για τους νηματώδεις των ριζοκόμβων, που είναι από τους πιο κοινούς, ο βιολογικός κύκλος διαρκεί από 21 ημέρες έως πολλούς μήνες, ανάλογα με τη θερμοκρασία και την ύπαρξη ή μη φυτών ξενιστών. Πάντως είναι απαραίτητο να γνωρίζουμε τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου των νηματωδών στο έδαφος, προκειμένου να εφαρμοστεί αποτελεσματικά η οποιαδήποτε μέθοδος καταπολέμησης επιλεγθεί (Κύρου, 2004).

Οι περισσότεροι νηματώδεις βρίσκονται στα ανώτερα στρώματα του εδάφους, σε βάθος 25-40 εκατοστά γύρω από τη ριζόσφαιρα, κι αυτό αποδεικνύεται από το γεγονός ότι καθώς αυξάνει το βάθος της δειγματοληψίας, μειώνεται ο πληθυσμός αυτών (Wang & Zhang, 1992). Σε μερικές περιπτώσεις είναι δυνατόν κάποιοι νηματώδεις να φθάσουν και σε μεγαλύτερα βάθη γύρω από τις βαθιές φυτικές ρίζες (Wallace, 1963), όπως ο νηματώδης *Xiphinema index* που παρασιτεί την άμπελο και μπορεί να φτάσει σε βάθος ακόμη και 3.5m.

Οι νηματώδεις που διαβιούν στο έδαφος ταξινομούνται στις ακόλουθες τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με το είδος και τον τρόπο διατροφής τους:

1. Σαπροφάγοι που τρέφονται με βακτήρια
2. Αρπακτικοί που τρέφονται από μεγαλύτερους οργανισμούς
3. Φυτοпараσιτικοί και
4. Ζωοπαρασιτικοί.

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις διακρίνονται εύκολα από τους νηματώδεις που ανήκουν στις υπόλοιπες κατηγορίες, καθώς το στόμα τους είναι οπλισμένο με το στιλέτο ή δόρυ, μια επιδερμική κατασκευή την οποία χρησιμοποιούν για την διατροφή τους. Με το στιλέτο διατρύπουν τα κυτταρικά τοιχώματα των φυτικών κυττάρων και με τη βοήθεια του μυώδη οισοφάγου απομυζούν τους χυμούς τους. Προκαλούν ζημιές κυρίως σε 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).

Ανάλογα με τον τρόπο παρασιτισμού που χαρακτηρίζει ένα φυτοπαρασιτικό νηματώδη, διακρίνουμε δύο κύριες ομάδες :

1. Αυτούς που ζουν μέσα στο έδαφος παρασιτώντας τα υπόγεια μέρη των φυτών, που είναι και η πολυπληθέστερη ομάδα.
2. Αυτούς που διαβιούν στην επιφάνεια του εδάφους, εισβάλλουν στα φυτά και μεταφέρονται με την ανάπτυξη των φυτών στα εναέρια μέρη τους.

Για τις περισσότερες μορφές νηματώδων, το νερό παίζει σπουδαίο ρόλο τόσο για την επιβίωσή τους και την αναπαραγωγή τους, αλλά και για τη μετακίνησή τους. Η τελευταία πραγματοποιείται κυματοειδώς-οφιοειδώς, με τη συμμετοχή βέβαια του μυϊκού συστήματος, αλλά για να επιτευχθεί απαιτείται μια λεπτή τουλάχιστον στιβάδα νερού μέσα στην οποία κινούνται. Μόνο με αυτόν τον τρόπο μπορούν οι νύμφες J2, μετά την εκκόλαψη των ωών, να βρουν στο έδαφος το φυτό ξενιστή ή να μετακινηθούν από ρίζα σε ρίζα όπου και τρέφονται. Η δυσκολία αυτή στη μετακίνησή τους εξηγεί και το για ποιο λόγο κινούνται μόνο μερικά εκατοστά έως λίγα μέτρα κάθε χρόνο. Μερικά είδη σταματούν την δραστηριότητά τους και αποθνήσκουν σε συνθήκες απουσίας νερού, ενώ ορισμένα άλλα δημιουργούν ανθεκτικές μορφές που σε μερικά στάδια μπορούν να αντέχουν μένοντας αδρανής για μεγάλη χρονική περίοδο (Fielding, 1951), όπως οι κυστογόνοι νηματώδεις *Heterodera* spp. και *Globodera* spp.

Η παρουσία ενός είδους νηματώδη σε μια γεωγραφική περιοχή ή τοποθεσία εξαρτάται από την αντίστοιχη παρουσία και διάδοση των φυτών-ξενιστών τους. Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις και τα φυτά ξενιστές τους συνδέονται τόσο στενά ώστε συχνά η γεωγραφική τους εξάπλωση συμπίπτει και η παρουσία του ενός είναι συχνά ενδεικτική της παρουσίας του άλλου. Π.χ. το είδος *Tylenchulus semipenetrans* συνδέεται στενά με τις περιοχές όπου καλλιεργούνται εσπεριδοειδή, ενώ οι *Meloidogyne* spp. κυρίως με τις περιοχές όπου καλλιεργούνται κηπευτικά.

1.3 ΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ MELOIDOGYNE

1.3.1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

Όπως προαναφέρθηκε, στο γένος *Meloidogyne* παρατηρείται έντονος γενετικός διμορφισμός. Οι νύμφες 2^{ου} σταδίου και τα τέλεια αρσενικά άτομα έχουν

νηματόμορφο σχήμα, ενώ τα ενδιάμεσα στάδια (3^ο και 4^ο) και των δύο φύλων, όπως και τα θηλυκά άτομα είναι διογκωμένα (Κολιοπάνος, 1999).

Πιο αναλυτικά, οι νύμφες 2^{ου} σταδίου έχουν σχήμα νηματόμορφο και μήκος 0.3– 0.5mm. Το στίλετό τους έχει μήκος περίπου 0.01mm και φέρει εξογκώματα στη βάση του, ο οισοφάγος φέρει μεσαίο βολβό και το βασικό του τμήμα υπερκαλύπτει το έντερο, η ουρά είναι κωνοειδής με οξύ άκρο.

Τα τέλεια αρσενικά άτομα είναι πάντοτε νηματόμορφα, με μήκος 1–1.5mm. Έχουν ισχυρό στίλετο με βασικά εξογκώματα, η ουρά τους είναι στρογγυλή και φέρουν συνήθως 1 ή σπανιότερα 2 όρχεις.

Τα τέλεια θηλυκά άτομα είναι απιόμορφα έως σχεδόν σφαιρικά και η διάμετρος του σώματός τους φτάνει τα 2mm. Ο οισοφάγος τους είναι πλήρως ανεπτυγμένος, με μεσαίο βολβό και βασικούς οισοφαγικούς αδένες. Το στίλετο είναι καλά ανεπτυγμένο και έχει τρία βασικά εξογκώματα. Έχουν δυο ωθήκες και εναποθέτουν τα ωά τους εντός ζελατινώδους μάζας, η οποία ονομάζεται ωόσακκος ή matrix. Η επιδερμίδα, στην περιοχή μεταξύ της έδρας και του γεννητικού ανοίγματος, σχηματίζει ειδικό περιεδρικό αποτύπωμα, στοιχείο πολύ χρήσιμο για την ταξινόμηση των *Meloidogyne*.



Εικόνα 1.4. Νηματώδης του γένους *Meloidogyne*

1.3.2 ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Η πρώτη έκδυση της νύμφης J1 πραγματοποιείται εντός του ωού και μετά την εκκόλαψη αυτού εξέρχεται η νύμφη 2^{ου} σταδίου (J2), η οποία είναι το κυρίως

παθολόγο στάδιο των *Meloidogyne*. Οι J2 καταφέρνουν να εισχωρήσουν εντός των φυτικών ιστών της ρίζας έπειτα από τη διάτρηση των κυτταρικών τοιχωμάτων των ριζικών κυττάρων που προκαλούν με το στίλετο τους. Μετά τη διάτρηση των επιδερμικών κυττάρων, οι νηματώδεις εκκρίνουν μία ουσία πλούσια σε υδρολυτικά ένζυμα, με τη βοήθεια της οποίας προκαλούν τη διάλυση του κυτταρικού τοιχώματος, με αποτέλεσμα τη δημιουργία κυττάρων που καλούνται κοινοκύτταρα (Κολιοπάνος, 1999).

Οι J2 μεταναστεύουν εντός του φυτού και τελικά εγκαθίστανται στην επιφάνεια του κεντρικού κυλίνδρου. Εκεί διογκώνονται και λαμβάνουν σχήμα σακκοειδές. Στη θέση αυτή πραγματοποιούνται η 2^η, 3^η και 4^η έκδυση και σύντομα προκύπτουν τα τέλεια θηλυκά και αρσενικά άτομα. Μετά την είσοδο των νυμφών εντός του ξενιστή, απαιτούνται περίπου 20-30 ημέρες μέχρι να αρχίσουν τα θηλυκά άτομα που προκύπτουν από αυτές να ωοτοκούν. Κάθε θηλυκό γεννάει περίπου 300 – 500 ωά.

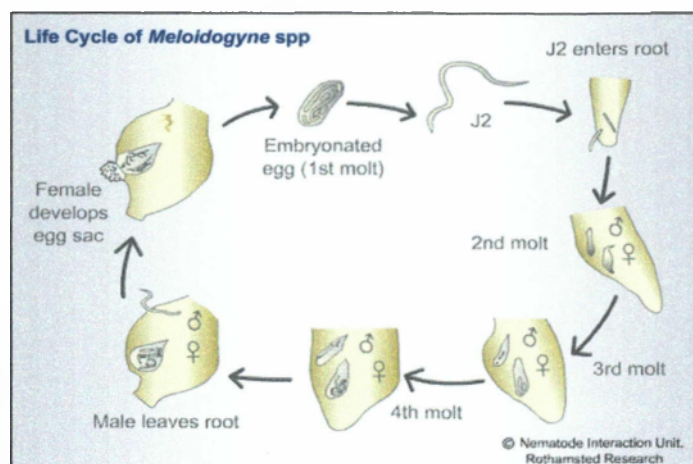
Το φύλο των ακμαίων ατόμων *Meloidogyne* εξαρτάται ιδιαίτερα από τη διαθεσιμότητα τροφής και το μέγεθος του πληθυσμού. Έτσι, όταν η διαθέσιμη τροφή είναι αρκετή και δε δημιουργείται ανταγωνισμός μεταξύ των ατόμων σχηματίζονται πολλά θηλυκά, ενώ στην αντίθετη περίπτωση σχηματίζονται αρσενικά άτομα. Αυτό συμβαίνει γιατί οι απαιτήσεις των θηλυκών σε τροφή είναι πολλαπλάσιες των αρσενικών, όπως φαίνεται και από τον τελικό τους όγκο κατά την παραγωγή των ωών (Κολιοπάνος, 1999).

Για την επιβίωση και την αναπαραγωγή τους, οι νηματώδεις *Meloidogyne* απαιτούν και αρκετά μεγάλες ποσότητες οξυγόνου. Σε περίπτωση μείωσης του διαθέσιμου οξυγόνου, όπως συμβαίνει όταν ο αγρός είναι υπό κατάκλιση με νερό, παρατηρείται σημαντική καθυστέρηση στην αναπαραγωγή τους.

Όσον αφορά την ποιότητα του εδάφους έχει παρατηρηθεί ότι αναπτύσσονται καλύτερα σε ελαφριά εδάφη, κοντά σε ακτές και ποταμούς και ελάχιστα σε ψηλές περιοχές (Κολιοπάνος, 1999).

Ένας ακόμη περιοριστικός παράγοντας της εξάπλωσής τους είναι η θερμοκρασία. Από μελέτες που έχουν γίνει στο παρελθόν έχει βρεθεί ότι οι άριστες θερμοκρασίες διαφέρουν ανάλογα με το στάδιο ανάπτυξης ή ανάλογα με το είδος. Έτσι αναφέρεται ότι άριστες θερμοκρασίες για (α) την εκκόλαψη των ωών είναι

περίπου 25°C, (β) για τη μετανάστευσή τους 20°C , (γ) για την είσοδο τους στο φυτό 15°- 20°C, και (δ) για την ανάπτυξή τους 20°- 25° C (Κολιοπάνος, 1999).



Εικόνα 1.5. Βιολογικός κύκλος νηματώδη του γένους *Meloidogyne* (Nematode Interaction Unit, Rothamsted Research)

1.4 ΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ TYLENCHULUS SEMIPENETRANS

1.4.1 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

Οι νηματώδεις του γένους αυτού είναι υποχρεωτικά παράσιτα των ριζών και καλούνται «νηματώδεις των εσπεριδοειδών» καθώς προσβάλλουν τα εσπεριδοειδή. Παρουσιάζουν μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον λόγω των σοβαρών ζημιών που προκαλούν σχεδόν σε όλες τις περιοχές της Ελλάδος. Έχουν μικρό μέγεθος και ντελικάτο σώμα που εύκολα συνθλίβεται και για το λόγο αυτό η διάγνωση της παρουσίας τους είναι πολύ δύσκολη. Οι νηματώδεις αυτοί είναι ημι-ενδοπαρασιτικοί και η διάγνωση της παρουσίας τους δυσχεραίνεται και από το γεγονός ότι πολύ συχνά το πρόσθιο τμήμα των ώριμων θηλυκών ατόμων αποκόπτεται και παραμένει μέσα στη ρίζα (Κολιοπάνος, 1999).

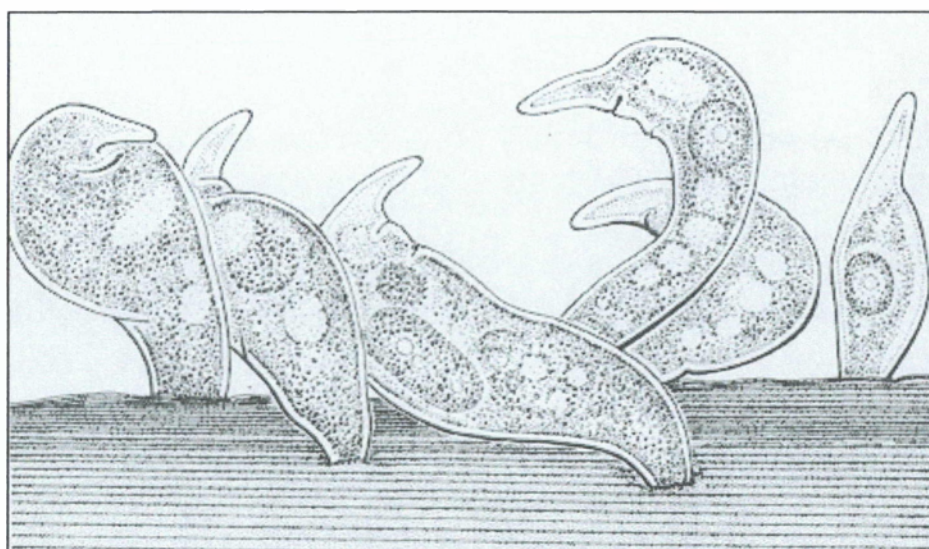
Παρουσιάζουν έντονο γενετικό διμορφισμό, διότι τα θηλυκά είναι σακκόμορφοι οργανισμοί ενώ τα αρσενικά και οι νύμφες νηματόμορφοι.

Τα θηλυκά άτομα γίνονται σακκοειδή στο τελικό στάδιο της ανάπτυξής τους και όλο το οπίσθιο τμήμα τους προεξέχει του φυτικού ιστού. Το μήκος τους

κυμαίνεται στα 0.35–0.40mm, ενώ του νεαρού ατόμου στα 0.29mm. Το πρόσθιο τμήμα του νηματώδη παραμένει εντός του φυτού και είναι παραμορφωμένο (Κολιοπάνος, 1999).

Τα αρσενικά άτομα φέρουν εκφυλισμένο στίλετο, έχουν μήκος 0.3–0.4mm, δεν τρέφονται επί του φυτού όπως τα θηλυκά, αλλά μετά τη 2^η έκδυση (όταν οι J2 αναπτύσσονται σε J3) ενηλικιώνονται εντός 7 ημερών και παραμένουν στο έδαφος.

Οι νύμφες έχουν σώμα ευθύ ή με ελαφριά κυρτότητα, μήκος περίπου 0,3mm, και κινούνται πολύ αργά εντός του εδάφους διανύοντας περίπου 1–1.5cm κάθε μήνα (Κολιοπάνος, 1999).



Εικόνα 1.6. Νηματώδης του γένους *Tylenchulus semipenetrans* (θηλυκά άτομα εντός Ρίζας)

1.4.2 ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Τα ανεπτυγμένα θηλυκά *T. semipenetrans* είναι όπως αναφέρθηκε ημι-ενδοπαράσιτα ακινητοποιημένα επί του ριζικού ιστού. Τα ωά τους προστατεύονται σε ζελατινώδη ουσία που παράγεται ανάμεσα στα απεκκριτικά κύτταρα. Πάνω σ' αυτήν την ουσία προσκολλώνται μόρια εδάφους που καθιστούν τα θηλυκά ακόμη πιο

δυσδιάκριτα. Οι νύμφες από τις οποίες θα προκύψουν τα θηλυκά άτομα τρέφονται εκτοπαρασιτικά από τα επιφανειακά κύτταρα των ριζιδίων και μόνο τα νεαρά θηλυκά διαπερνούν βαθύτερα τον φλοιό φτάνοντας μερικές φορές στο περικύκλιο.

Το είδος αυτό πολλαπλασιάζεται αμφιμικτικά και παρθενογενετικά. Μετακινείται αργά στο έδαφος, είναι πολύ ευαίσθητο στη ξηρασία και μπορεί να επιβιώσει για πολλά χρόνια σε εδάφη υπό αγρανάπαυση. Οι άριστες θερμοκρασίες που ευνοούν την ανάπτυξη, αναπαραγωγή, εξέλιξη καθώς και την ικανότητα προσβολής είναι 25-31°C. Ο βιολογικός τους κύκλος από ωό σε ωό συμπληρώνεται μέσα σε 6-8 εβδομάδες όταν η θερμοκρασία βρίσκεται περίπου στους 24°C. Η διάδοσή του γίνεται με την μεταφορά μολυσμένου εδάφους, με τα γεωργικά εργαλεία αλλά κυρίως με την φύτευση προσβεβλημένων δενδρυλλίων και το νερό άρδευσης (Κύρου, 2004).

1.5 ΓΕΩΡΓΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Σε καλλιεργούμενα εδάφη με μεγάλη γονιμότητα και πυκνή κάλυψη από φυτά, το περιβάλλον που δημιουργείται είναι ιδιαίτερα γόνιμο, με αποτέλεσμα να συνυπάρχουν πολλά γένη και είδη νηματώδων που απαρτίζουν μικτούς πληθυσμούς πολλών δισεκατομμυρίων ατόμων σε κάθε στρέμμα. Σε τέτοια εδάφη είναι πολύ συνηθισμένο να ανιχνεύονται 10 έως 30 διαφορετικά είδη από τα οποία άλλα είναι ενδοπαρασιτικά μεταναστευτικά ή μη, ενώ άλλα είναι εκτοπαρασιτικά ή ακόμη σαπροφυτικά (Κύρου, 2004).

Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις ζουν στο έδαφος στην περιοχή της ριζόσφαιρας των φυτών και μπορούν να αποτελέσουν ένα σπουδαίο περιοριστικό παράγοντα της ανάπτυξης και της παραγωγής. Προσβάλλουν όλες γενικά τις καλλιέργειες, ετήσιες, διετείς ή και πολυετείς, προκαλώντας ζημιές που μακροσκοπικά μπορούν εύκολα να αποδοθούν σε άλλα παθογόνα αίτια. Τα τελευταία χρόνια που ο κλάδος της Νηματολογίας αναπτύσσεται ταχύτατα, αποδεικνύεται συνεχώς η μεγάλη οικονομική σημασία αυτών των παρασίτων σε πολλές περιοχές της χώρας μας από τις ζημιές που προκαλούν στις διάφορες καλλιέργειες. Οι ζημιές αυτές σε πολλές περιπτώσεις είναι ακόμη περισσότερες, καθώς οι νηματώδεις μπορούν να

συνυπάρχουν με άλλους παθογόνους οργανισμούς (μύκητες, βακτήρια, ιούς), και συχνά παρατηρείται συνεργιστική δράση με αυτούς (Κολιοπάνος, 1999).

Σε πολλά σπορεία, σε κηπευτικές και ανθοκομικές καλλιέργειες, σε θερμοκήπια ή στον αγρό, σε φυτώρια ή οπωρώνες παρατηρούνται συχνά προσβολές από διάφορα είδη νηματωδών. Οι πιο συχνές και με ιδιαίτερο οικονομικό ενδιαφέρον προσβολές οφείλονται στους νηματώδεις του γένους *Meloidogyne* (Τριανταφύλλου, 1960).

Οι ζημιές από τους φυτοпараσιτικούς νηματώδεις οφείλονται είτε στην απευθείας δράσης τους, είτε στην προδιάθεση που έχουν ορισμένα είδη φυτών σε τροφопενίες και σε ζημιές από συνθήκες ψύχους και ξηρασίας. Οι ζημιές που προξενούν οι νηματώδεις μπορεί να είναι :

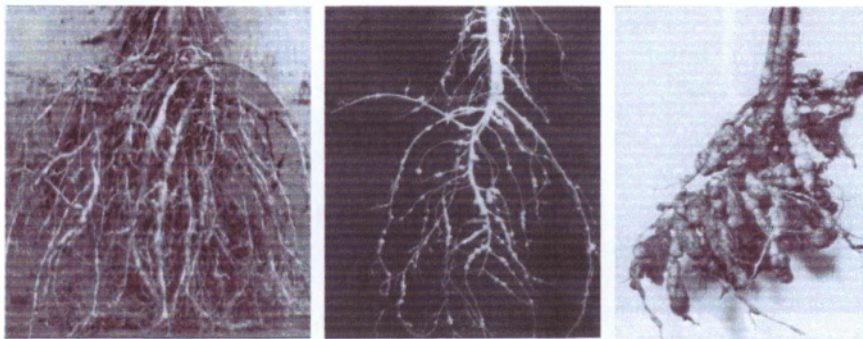
1. Μηχανικές, δηλαδή βλάβες που προκαλούνται εξ αιτίας του τραυματισμού των ριζών από το στίλετο των νηματωδών, ή καθώς οι νηματώδεις κινούνται ανάμεσα ή μέσα στα κύτταρα του φυτού.
2. Νεκρώσεις ιστών, δηλαδή επιδερμικές ή κυτταρικές νεκρώσεις που προκαλούνται κατά τον παρασιτισμό από δευτερογενή αίτια (ένζυμα, παθογόνα) ή κατά την είσοδο ορισμένων ειδών νηματωδών μέσα στους φυτικούς ιστούς.
3. Μολύνσεις, όπως για παράδειγμα διάφορες ιώσεις ή άλλες ασθένειες που μπορούν να μεταδοθούν στα φυτά κατά τον παρασιτισμό τους από διάφορα είδη νηματωδών, οι οποίες μπορεί να αποδειχθούν πιο καταστρεπτικές από τους νηματώδεις.
4. Παρακμή του φυτού εξ αιτίας της απορρόφησης των χυμών του φυτού για την διατροφή των νηματωδών ή των δευτερογενών παρασίτων (Christie, 1959).

Τα συμπτώματα που εμφανίζουν τα φυτά από τις προσβολές των νηματωδών διαφέρουν πολύ και εξαρτώνται από το είδος του νηματώδη, το είδος και την ηλικία του φυτού και από τις συνθήκες στις οποίες μεγαλώνει το φυτό. Γενικά πάντως τα συμπτώματα αυτά δεν έχουν κάποια ιδιαιτερότητα, αλλά τα προσβεβλημένα φυτά εμφανίζουν συμπτώματα καχεξίας, κακής διατροφής και μάρανσης, δηλαδή συμπτώματα που μοιάζουν με εκείνα που προκαλούνται όταν οι ρίζες του φυτού δεν λειτουργούν καλά ή όταν από το έδαφος λείπουν ορισμένα θρεπτικά συστατικά (τροφопενίες), ή νερό (Κύρου, 2004). Για το λόγο αυτό, η προσβολή από

φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις γίνεται συνήθως αισθητή όταν σε μία καλλιέργεια εμφανίζονται κηλίδες από ασθενικά φυτά με πτωχή ανάπτυξη συγκρινόμενα με γειτονικά υγιή φυτά ζωηρής ανάπτυξης (Κύρου, 2004).

Σε ιδιαίτερες μόνο περιπτώσεις, η προσβολή από φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις μπορεί να παρουσιάζει συγκεκριμένα συμπτώματα, όπως στην περίπτωση των *Meloidogyne* (κόμβοι και εξογκώματα στις ρίζες, δημιουργία πολυσχιδών ριζωμάτων ή θυσσανωτών ριζών) ή την περίπτωση του *Anguina tritici* (συστροφή φύλλων, μετατροπή σπόρων σε κηκίδες) (Κύρου, 2004).

Η μείωση των αποδόσεων των καλλιεργειών και η ποιοτική υποβάθμιση των προϊόντων, δύσκολα μπορούν να αποδοθούν εξ ολοκλήρου στους νηματώδεις, όμως τα καλά αποτελέσματα της χημικής καταπολέμησης μαρτυρούν τη μεγάλη συμμετοχή τους στα ποσοστά των ζημιών και των απωλειών (Wallace, 1963). Το γεγονός αυτό ισχύει και για τη Χώρα μας, καθώς η συμμετοχή των νηματωδών στη μείωση των αποδόσεων καλλιεργειών υψηλής προσόδου, υπολογίζεται περίπου στο 5–50% (Κύρου, 1979).



Εικόνα 1.7. Προσβολές ριζών από νηματώδεις του γένους *Meloidogyne*

1.6 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΩΝ ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Τα διάφορα είδη νηματωδών έχουν διαφορετικούς τρόπους διαβίωσης, διαφορετική διάρκεια και εξέλιξη στο βιολογικό τους κύκλο και φυσικά διαφορετικές ιδιότητες και συνήθειες. Η ορθή καταπολέμησή τους βασίζεται σε όλες αυτές τις διαφορετικές παραμέτρους και γι' αυτό το λόγο η μέθοδος καταπολέμησης που επιλέγεται κάθε φορά εξαρτάται κυρίως από το είδος του νηματώδη που έχει ανιχνευτεί σε μια καλλιέργεια. Κατ' επέκταση, το πρώτο και βασικότερο βήμα σε μια διαδικασία καταπολέμησης είναι η ταυτοποίηση του είδους του. Για το λόγο αυτό η μακροσκοπική εξέταση του αγρού πρέπει πάντα να συμπληρώνεται και με εργαστηριακή, η οποία πρέπει να γίνεται από εξειδικευμένο προσωπικό (Κύρου, 2004).

Οι υπόλοιποι παράγοντες που πρέπει να γνωρίζουμε, και πάνω στους οποίους βασίζεται η καταπολέμηση είναι:

1. Οι νηματώδεις έχουν μεγάλο εύρος ξενιστών κι έτσι μπορούν να προσβάλουν όλες τις καλλιέργειες μιας περιοχής (Κύρου, 2004).
2. Οι νηματώδεις έχουν μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση .
3. Ο ρυθμός αύξησης του πληθυσμού των νηματωδών είναι μεγάλος.

Πρακτικά οι δύο βασικές κατευθύνσεις αντιμετώπισης των νηματωδών είναι η πρόληψη και η καταπολέμηση (Brown, 1965; Taylor, 1953; Wallace, 1963 ;).

1.6.1 Πρόληψη

Όπως είναι γνωστό και οπωσδήποτε κατανοητό, όταν πρόκειται για ασθένειες, είτε αναφερόμαστε σε ασθένειες του ανθρώπου και των ζώων, είτε αναφερόμαστε σε ασθένειες των φυτών, η κατά μακράν καλύτερη τακτική σε σχέση με τη θεραπεία, είναι η πρόληψη. Το ίδιο φυσικά ισχύει και στην περίπτωση των φυτοпараσιτικών νηματωδών. Τα κύρια σημεία της πρόληψης μόλυνσης ενός αγρού από φυτοпараσιτικούς νηματώδεις είναι:

1. Η χρησιμοποίηση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού, απαλλαγμένου από νηματώδεις.

2. Η αποφυγή χρησιμοποίησης γεωργικών εργαλείων ή άλλων υλικών, όπως είδη ρουχισμού των εργατών, που έχουν προηγουμένως χρησιμοποιηθεί σε περιοχές ήδη μολυσμένες, ή που δεν γνωρίζουμε την προηγούμενη χρήση τους, εφ' όσον δεν έχουν προηγουμένως απολυμανθεί.
3. Ο αποκλεισμός εισόδου επικίνδυνων φυτοπαρασιτικών νηματωδών σε μια περιοχή ή Χώρα, με βάση ειδικά νομοθετικά μέτρα σχετικά με τη διενέργεια φυτοϋγειονομικού ελέγχου σε όλα τα διακινούμενα φυτικά υλικά και στα μέσα συσκευασίας γεωργικών προϊόντων.

1.6.2 Καταπολέμηση

Σε πολλές περιπτώσεις βέβαια, παρά τις αυξημένες προσπάθειες πρόληψης, ο αγρός τελικά μολύνεται, οπότε πρέπει να ληφθούν δραστικά μέτρα καταπολέμησης ώστε να προληφθεί η πρόκληση σοβαρών ζημιών. Η καταπολέμηση των νηματωδών μπορεί να επιτευχθεί με καλλιεργητικές, βιολογικές ή χημικές μεθόδους.

1.6.2.1 Καταπολέμηση με καλλιεργητικές μεθόδους

Εφ' όσον γνωρίζουμε καλά τη βιολογία των νηματωδών, τις επιδράσεις του περιβάλλοντος και τα φυτά πάνω στα οποία διατρέφονται και αναπαράγονται, δηλαδή τους ξενιστές τους, τότε μπορούμε να εφαρμόσουμε κάποια καλλιεργητικά μέτρα, τα οποία εκτός του ότι συνήθως είναι χαμηλής δαπάνης και μπορούν να παίξουν σπουδαίο ρόλο στη μείωση του πληθυσμού τους (Κύρου, 2004), είναι επίσης φιλικά προς το περιβάλλον και ακίνδυνα για τους υπόλοιπους ζωντανούς οργανισμούς συμπεριλαμβανομένων και των ανθρώπων.

Μεταξύ των μέτρων αυτών συγκαταλέγονται (Κύρου, 2004):

- Η καλλιέργεια (προετοιμασία) του αγρού, η οποία πρέπει να γίνεται αμέσως μετά τη συγκομιδή, ώστε η αναστροφή των ριζών να γίνεται αρκετά νωρίς και οι νηματώδεις να εκτίθενται για αρκετό χρονικό διάστημα στον αέρα και τον ήλιο.
- Η διατήρηση της γονιμότητας του αγρού. Τα φυτά θα πρέπει να εγκαθίστανται στον αγρό από την αρχή με καλό φύτευμα και καλά ανεπτυγμένο ριζικό σύστημα,

γιατί έτσι θα είναι καλύτερα προετοιμασμένα να αντισταθούν στην προσβολή από νηματώδεις.

— Η επιλογή πρώιμων καλλιεργειών και ποικιλιών. Με την πρώιμη καλλιέργεια η οποία σχετίζεται με τον χρόνο σποράς ή φύτευσης, επιτρέπεται στο φυτό να αναπτύξει περισσότερο το ριζικό του σύστημα και να ξεφύγει από τα πολύ ευάλωτα αρχικά στάδια της ανάπτυξής του, πριν αρχίσει να αυξάνεται η θερμοκρασία του εδάφους και η δραστηριοποίηση των νηματωδών.

— Η αμειψισπορά. Η εφαρμογή αμειψισποράς, με την καλλιέργεια φυτών που δεν είναι ξενιστές των νηματωδών που έχουν μολύνει το έδαφος, οι πληθυσμοί των νηματωδών ελαττώνονται σημαντικά. Ύστερα από την πάροδο κάποιου χρονικού διαστήματος κατά το οποίο οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις δε βρίσκουν κατάλληλους ξενιστές στο έδαφος, δεν τρέφονται σωστά άρα δεν πολλαπλασιάζονται και τελικά αποθνήσκουν. Έτσι ο πληθυσμός τους ελαττώνεται σε ποσοστά που επιτρέπουν να καλλιεργηθεί και πάλι η προηγούμενη ποικιλία με επιτυχία. Η διάρκεια της αμειψισποράς μπορεί να είναι ένα, δύο ή και περισσότερα χρόνια, ανάλογα με την καλλιέργεια και το είδος του νηματώδη που θέλουμε να καταπολεμήσουμε. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι η αμειψισπορά είναι μια καλλιεργητική τακτική που επιβάλλεται να εφαρμόζεται γενικότερα, καθώς βοηθά το χωράφι να «ξεκουράζεται».

— Η αγρανάπαυση. Είναι η καλλιεργητική τακτική κατά την 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 νηματώδεις των ριζοκόμβων (*Meloidogyne* spp.), τα μειονεκτήματά της όμως είναι ότι συχνά απαιτούνται μεγαλύτερα του ενός έτους χρονικά διαστήματα ώστε να μειωθούν σημαντικά οι πληθυσμοί των επιζήμιων νηματωδών, γεγονός το οποίο την καθιστά οικονομικά ασύμφορη.

— Η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών. Η ανθεκτικότητα σχετίζεται με την ικανότητα κάποιων ποικιλιών να μην επιτρέπουν την αύξηση, ή ακόμη να προκαλούν τη μείωση του πληθυσμού των νηματωδών στη ριζόσφαιρά τους. Ανθεκτικότητα στα φυτά μπορεί να αναπτυχθεί σε μεγαλύτερο ή μικρότερο βαθμό (οπότε μιλάμε και για ανεκτικότητα) με φυσική ή τεχνητή επιλογή, μετά από κατάλληλες διασταυρώσεις.

Πριν την εφαρμογή τους στον αγρό, οι ανθεκτικές ποικιλίες πρέπει να δοκιμάζονται στις επικρατούσες τοπικές συνθήκες καθώς η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται από το συγκεκριμένο περιβάλλον και από τους υπάρχοντες πληθυσμούς νηματωδών. Σήμερα έχουν δημιουργηθεί ανθεκτικές ποικιλίες διάφορων φυτικών ειδών (τομάτα, πατάτα, καπνός, βαμβάκι, εσπεριδοειδή) έναντι αρκετών ειδών νηματωδών, αλλά ο αριθμός των ποικιλιών που είναι εμπορεύσιμες είναι μικρός.

— Η κατάκλιση. Όπως προαναφέρθηκε, οι νηματώδεις δεν ευνοούνται όταν στο έδαφος οι συνθήκες υγρασίας είναι εξαιρετικά μεγάλες και σε παρατεταμένη κατάκλιση πεθαίνουν από έλλειψη οξυγόνου και τροφής. Τα αποτελέσματα της μεθόδου σε ένα έδαφος μολυσμένο διαφέρουν ανάλογα με το είδος των νηματωδών. Η μέθοδος είναι αποτελεσματική αν και η αποτελεσματικότητά της εξαρτάται από τη διάρκεια εφαρμογής που δεν πρέπει να είναι μικρότερη από δύο έτη. Πέραν τούτου, εμφανίζει αρκετά μειονεκτήματά μεταξύ των οποίων είναι:

- (1) Οι μεγάλες ποσότητες νερού που απαιτούνται
- (2) Η απώλεια παραγωγής που προκαλείται
- (3) Η πιθανότητα υποβάθμισης της ποιότητας του εδάφους
- (4) Ο κίνδυνος να διαδοθούν μερικά παράσιτα που δεν τα υποψιαζόμαστε (πχ μύκητες, βακτήρια κλπ).

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω η κατάκλιση θα μπορούσε να είναι ένα πρακτικό μέτρο καταπολέμησης των νηματωδών μόνο σε μέρη όπου συμβαίνουν φυσικές πλημμύρες, οπότε μειώνεται το κόστος.

— Η απολύμανση φυτικών μερών με θερμό νερό. Κατά τη μέθοδο αυτή γίνεται εμφύτευση του φυτού για μικρό χρονικό διάστημα σε ζεστό νερό, θερμοκρασίας περίπου 45-50°C, θερμοκρασία που θανατώνονται οι νηματώδεις χωρίς όμως να παθαίνουν ζημιά οι φυτικοί ιστοί. Εδώ βέβαια, πρέπει να δίνεται μεγάλη προσοχή καθώς τα περιθώρια μεταξύ θανάτωσης των νηματωδών και καταστροφής του φυτού είναι πολύ στενά και χρειάζεται μεγάλη ακρίβεια στη ρύθμιση τόσο της θερμοκρασίας, όσο και της διάρκειας της εμφύτευσης. Έτσι θα πρέπει να πούμε πως η μέθοδος αυτή αποδεικνύεται δύσκολη πρακτικά για τους γεωργούς.

— Η απολύμανση του εδάφους με υδρατμούς. Η απολύμανση και 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.

— Η μέθοδος της ηλιοαπολύμανσης. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιεί την ηλιακή ακτινοβολία ως εξής: ο αγρός καλύπτεται με λεπτό διαφανές πολυαιθυλένιο για ένα τουλάχιστον μήνα κατά τη θερμότερη περίοδο του έτους (καλοκαίρι). Μ' αυτήν την τεχνική αυξάνει η θερμοκρασία του εδάφους (40-55°C) σε επίπεδα θανατηφόρα για τα περισσότερα παθογόνα του εδάφους (νηματώδεις αλλά και μύκητες, βακτήρια, ακάρεα). Η χρήση της ηλιακής θερμότητας σε θερμοκήπια κηπευτικών, έχει αποδειχθεί πολύ αποτελεσματική στην καταπολέμηση των νηματωδών *Meloidogyne* (Katan, 1981).

1.6.2.2 Καταπολέμηση με βιολογικές μεθόδους

Σε αντίθεση με την περίπτωση των εντομολογικών εχθρών των φυτών, μοντέλο για την Βιολογική και Ολοκληρωμένη Καταπολέμηση των Νηματωδών στηριζόμενη σε έναν, δύο ή περισσότερους ωφέλιμους μικροοργανισμούς (αρπακτικά, παράσιτα, παθογόνα) δεν υπάρχει.

Η βιολογική καταπολέμηση στην περίπτωση των νηματωδών στοχεύει στην αύξηση των παρασίτων και αρπακτικών των νηματωδών στο έδαφος η οποία θα οδηγήσει στην αύξηση της θνησιμότητας των φυτοπαρασιτικών νηματωδών (Paracer *et al.*, 1966). Μερικοί νηματώδεις τρέφονται με φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις, ακάρεα και έντομα. Επίσης πολλοί μύκητες, βακτήρια, πρωτόζωα και ιοί προσβάλλουν τους φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις, π.χ. ο μύκητας *Nematoiphthora gypophila* καταστρέφει τα θηλυκά άτομα του κυστογόνου νηματώδη των σιτηρών *Heterodera avenae*, ελαττώνει τη γονιμότητα του και παρασιτεί τα ωά. Ο μύκητας αυτός καταστρέφει ολοκληρωτικά τα θηλυκά άτομα μέσα σε μια περίπου εβδομάδα και τα ωά που ελευθερώνονται στο έδαφος δεν αναλαμβάνουν (Κύρου, 2004). Προσβολές στα θηλυκά άτομα του παραπάνω νηματώδη διαπιστώθηκαν και από τον μύκητα *Verticillium chlamidosporium* με αποτέλεσμα τα προσβεβλημένα θηλυκά να γεννούν λιγότερα ωά από ότι τα υγιή, από τα οποία τα περισσότερα είναι ήδη μολυσμένα (Kerry *et al.*, 1980, 1982, 1985). Κάτι ανάλογο συμβαίνει και με τον

κυστογόνο νηματώδη των ζαχαρότευτλων και τον *M. javanica* (Nigh *et al.*, 1980; Qadri & Saleh, 1990; Roberts *et al.*, 1981). Ο ίδιος νηματοβόρος μύκητας *V. chlamidosporium* περιορίζει σε μεγάλο βαθμό τον πληθυσμό των *Globodera* spp., *Heterodera* spp. και *Meloidogyne* spp. στο έδαφος (Kerry *et al.*, 1992). Παθογόνοι μύκητες, κυρίως του είδους *Nectria radicicola* και δευτερευόντως του *Fusarium oxysporum*, που απομονώθηκαν από καλλιέργειες πίκου, αραβόσιτου, κριθαριού, αγρανάπαυσης σε ένα σύστημα διετούς αμειψισποράς καλλιέργειας ζαχαρότευτλων αποτελούν παράγοντες μείωσης του πληθυσμού του *Heterodera schachtii* (Banaszek *et al.*, 1990). Συνδυασμός του *Verticillium chlamidosporium* με το καρβαμιδικό νηματοκτόνο aldicarb (εμπορική ονομασία Temik) δίνει καλύτερα αποτελέσματα στη καταπολέμηση των *M. incognita* και *M. halpa* σε φυτά τομάτας απ' ό,τι το καθένα ξεχωριστά, χωρίς αρνητική επίδραση στη δράση του μύκητα (Leu *et al.*, 1993). Η καταπολέμηση του *M. incognita* σε τομάτα με τον μύκητα *V. chlamidosporium* είναι αποτελεσματικότερη σε επιφανειακά στρώματα εδάφους που αεριζονται καλύτερα, παρά σε βαθύτερα στρώματα με λίγο αερισμό. Το βακτήριο *Pasteuria penetrans* αποδεικνύεται αποτελεσματικό στην βιολογική καταπολέμηση νηματωδών του γένους *Meloidogyne* και υπό ορισμένες προϋποθέσεις θα μπορούσε να αποτελέσει θετικό παράγοντα σ' ένα σύστημα ολοκληρωμένης καταπολέμησης (Gowen & Tzortzakakis 1994, Tzortzakakis & Gowen, 1994, Zaki, 1990) .

Το πρόβλημα στη βιολογική καταπολέμηση δεν είναι μόνο το πώς θα βρεθούν αυτά τα παράσιτα, αλλά το πώς θα αυξηθεί ο πληθυσμός και η δραστηριότητά τους, κάτι που εξαρτάται από βιοτικούς και εδαφικούς παράγοντες στο περιβάλλον. Τίποτα δεν μπορεί να προδικάσει ότι οι αρπακτικοί νηματώδεις, που θα εφαρμοστούν σ' ένα έδαφος θα μπορέσουν να φτάσουν σε μεγάλους πληθυσμούς, που δημιουργούνται για παράδειγμα στο εργαστήριο, αν δεν αναλυθούν οι φυσιολογικές και βιολογικές ανάγκες στο έδαφος σε σχέση με τον αριθμό των νηματωδών (Κύρου, 2004).

Μία άλλη μέθοδος βιολογικής καταπολέμησης είναι η χρησιμοποίηση φυτών-παγίδων. Τα φυτά αυτά είναι φυτά αυξημένης ευαισθησίας στην προσβολή από νηματώδεις, τα οποία φυτεύουμε και όταν προσβληθούν από νηματώδεις τα ενσωματώνουμε στο έδαφος ή τα καταστρέφουμε με σκοπό να διακόψουμε τη φυσιολογική πορεία του βιολογικού τους κύκλου. 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 επιδιόκουμε να καταπολεμήσουμε. Για το λόγο αυτό εφαρμόζεται συνήθως σε κυστογόνα είδη των οποίων οι κύστες είναι ορατές πάνω στη ρίζα πριν φτάσουν στο τελικό στάδιο της ανάπτυξής τους και ωοτοκήσουν.

Ένας τελευταίος τρόπος, ο οποίος όμως είναι ακόμη υπό μελέτη, είναι η δυνατότητα χρησιμοποίησης, ουσιών που παράγονται από τα ίδια τα φυτά για την άμυνά τους, στα πλαίσια ενός συστήματος ολοκληρωμένης καταπολέμησης (Birch *et al.*, 1993). Για παράδειγμα θα μπορούσαμε να αναφέρουμε τον κατηφέ (*Tagetes patula*) ή το φυτό *Lawsanta inermis*, το οποίο περιορίζει σημαντικά τις προσβολές από *Meloidogyne incognita* σε φυτά τομάτας, όταν τα δύο φυτά αναπτύσσονται μαζί.

1.6.2.3 Καταπολέμηση με χημικές μεθόδους

Η χημική καταπολέμηση στοχεύει στη θανάτωση των νηματωδών με χημικά μέσα. Απαραίτητη προϋπόθεση για τις φυσιολογικές αντιδράσεις που θα προκαλέσουν το θάνατο του νηματώδη είναι η θανατηφόρα δόση της χρησιμοποιούμενης δραστικής ουσίας να διαπεράσει το νηματώδη. Οι διάφορες αυτές ουσίες εισέρχονται στο σώμα των νηματωδών, είτε από το στόμα, είτε από την έδρα, είτε από το γεννητικό πόρο, καθώς και μέσω της επιδερμίδας. Επίσης κατά τη διατροφή των νηματωδών πάνω σε φυτά που έχουν ψεκαστεί ή απορροφήσει τέτοιες χημικές ουσίες, η απορρόφησή τους γίνεται μέσω του πεπτικού συστήματος. Οι νύμφες φαίνεται να παρουσιάζουν μικρότερη αντοχή απ' ό τι τα ωά στα νηματοκτόνα (Thome, 1961).

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. Η μεγάλη πτητικότητα, η τοξικότητα, η δακρυγόνα 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. Αργότερα ανακαλύφθηκαν το E.D.B.

(Διβρωμιούχο αιθυλένιο), και τα D.B.C.P. (Διβρωμοχλωροπροπάνιο), Nemaagon και Fumazon, που έχουν πλέον αποσυρθεί από την κυκλοφορία σαν επικίνδυνα για την δημόσια υγεία. Την ίδια εποχή εμφανίζεται και το Βρωμιούχο μεθύλιο, ένα ισχυρό απολυμαντικό εδάφους, που σε συνδυασμό με τη χλωροπικρίνη καταπολεμά τους πιο δυσεξόντωτους μικροοργανισμούς που υπάρχουν στο έδαφος. Τα νηματοκτόνα που χρησιμοποιούνται ευρέως σήμερα είναι τα εξής: fenamiphos (Nemacur), oxamyl (Vydate), aldicarb (Temik), carbofuran (Furadan, Curater), ethoprophos (Mocap). Ο τρόπος εφαρμογής ενός νηματοκτόνου ποικίλλει ανάλογα με τον τύπο του, το χώρο για τον οποίο προορίζεται, τον τύπο του εδάφους, το είδος της καλλιέργειας και τις κλιματολογικές συνθήκες. Η εφαρμογή τους είναι καλύτερο να γίνεται από ειδικευμένους γεωπόνους και σε συνδυασμό με λιπάσματα ή άλλα παρασιτοκτόνα φάρμακα, στα πλαίσια της ολοκληρωμένης καταπολέμησης.

1.7 ΕΧΘΡΟΙ ΤΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Πρωτόζωα.

Πολλά πρωτόζωα, τα οποία βρίσκονται εντός του εντέρου των νηματωδών όπως π. χ Αμοιβάδες, *Ciliates*, *Flagellates*, τρέφονται απ' αυτούς.

Νηματώδεις.

Υπάρχουν πολλά είδη νηματωδών που τρέφονται από άλλους νηματώδεις είτε τρώγοντας όλο το νηματώδη, είτε τρυπώντας το νηματώδη και στη συνέχεια απορροφώντας το περιεχόμενό τους.

Ιοί, Βακτήρια κ.α.

Έχουν διαπιστωθεί προσβολές νηματωδών από ιούς, βακτήρια, ακάρεα και έντομα εδάφους, εχθρούς που ασφαλώς μειώνουν πολύ τον πληθυσμό των νηματωδών στο έδαφος.

Μύκητες.

Περισσότερα από 100 είδη μυκήτων που ανήκουν στους Φυκομύκητες ή στους *Moniliales* των *Fungi Imperfecti* έχουν διαπιστωθεί ότι τρέφονται από νηματώδεις. Άλλοι μύκητες π. χ *Arthrobotrys*, έχουν υφές σαν δίχτυ ή σαν δακτυλίδια όπου παγιδεύονται οι νηματώδεις.

Η χρήση κάποιων από τους παραπάνω εχθρούς για καταπολέμηση των νηματωδών δεν έχει βρει ακόμη πρακτική εφαρμογή, εκτός από τις περιπτώσεις ορισμένων βακτηρίων και μυκήτων που έχουν εφαρμοσθεί στο έδαφος αλλά τα αποτελέσματα είναι ακόμη στο ερευνητικό στάδιο.

1.8 ΜΥΚΗΤΕΣ ΓΕΝΙΚΑ

Οι μύκητες είναι ευκαρυωτικοί οργανισμοί, οι οποίοι στερούνται χλωροφύλλης. Τα κύτταρά τους περιβάλλονται από κυτταρικό τοίχωμα, το οποίο αποτελείται από χιτίνη ή κυτταρίνη ή και τα δύο και σχηματίζουν νηματοειδές διακλαδιζόμενο ή αμοιβαδοειδές σώμα που ονομάζεται θαλλός.

Αναπαράγονται κατά κανόνα με αγενή ή εγγενή σπόρια που ζουν σε ποικιλία υποστρωμάτων και συνθηκών ως παράσιτα ή σαπρόφυτα.

Οι μύκητες αποτελούν μια πολυπληθή ομάδα μικροοργανισμών στην οποία έχουν περιγραφεί 100.000 περίπου είδη, που κατατάσσονται σε 2.500 περίπου γένη. Τα περισσότερα από αυτά ζουν σαπροφυτικά στο έδαφος ή σε άλλα υποστρώματα, ενώ άλλα είναι παρασιτικά κυρίως των φυτών και μερικά του ανθρώπου και των ζώων.

Το σώμα των μυκήτων ονομάζεται θαλλός και αποτελείται από διακλαδιζόμενα νήματα τα οποία λέγονται υφές. Ο θαλλός που αποτελείται από υφές λέγεται νηματοειδής θαλλός ή μυκήλιο. Οι υφές των περισσότερων μυκήτων που σχηματίζουν μυκήλιο χωρίζονται με εγκάρσια διαφράγματα, που ονομάζονται σέπτα, σε κύτταρα. Τα σέπτα φέρουν στο μέσο τους μια οπή μέσω της οποίας επικοινωνούν τα πρωτοπλάσματα των γειτονικών κυττάρων. Οι κυριότερες μυκηλιακές κατασκευές που διακρίνουμε κατά την μακροσκοπική και μικροσκοπική παρατήρηση του μυκηλίου εκτός των οργάνων αναπαραγωγής είναι : α) οι μυζητήρες β) οι πλάκες συγκράτησης ή προσκόλλησης γ) τα στολόνια δ) τα ριζοειδή ε) οι αναστομώσεις στ) οι ψευδοϊστοί ζ) το στρώμα η) τα σκληρώτια και θ) τα ριζόμορφα.

Κριτήρια για την ταξινόμηση των μυκήτων αποτελούν τα μορφολογικά χαρακτηριστικά και η φυλογενετική εξέλιξη. Η ταξινόμηση των μυκήτων αποβλέπει σε δύο στόχους: πρώτον να ονομάσει έναν οργανισμό σύμφωνα προς ένα διεθνές ταξινομικό σύστημα και δεύτερον να φανερώσει τη συγγένεια μεταξύ των

οργανισμών. Έτσι το βασίλειο των μυκήτων έχει δύο διαιρέσεις: τους Μυξομύκητες και τους Ευμύκητες. Οι τελευταίοι χωρίζονται σε πέντε Υποδιαιρέσεις, τους Μαστιγομύκητες, τους Ζυγομύκητες, τους Ασκομύκητες, τους Βασιδιομύκητες και τους Δευτερομύκητες.

Οι μύκητες ως ετερότροφοι, μη φωτοσυνθέτοντες οργανισμοί χρησιμοποιούν ως υποστρώματα για την ανάπτυξή τους έτοιμες οργανικές ενώσεις πάνω στις οποίες αναπτύσσονται παρασιτικά ή σαπροφυτικά. Η χημική ανάλυση του θαλλού των μυκήτων δείχνει ότι όπως και οι άλλοι οργανισμοί αποτελούνται από νερό και ξηρά ουσία η οποία αποτελείται από οργανικές και ανόργανες ενώσεις. Τα απαραίτητα στοιχεία για την ανάπτυξη των μυκήτων είναι κυρίως ο άνθρακας, το υδρογόνο, το οξυγόνο, το άζωτο, ο φώσφορος, το κάλιο, το θείο, το μαγνήσιο και το ασβέστιο. Επίσης σημαντικά στοιχεία είναι ο σίδηρος, ο ψευδάργυρος, ο χαλκός και άλλα ιχνοστοιχεία σε μικρότερες όμως ποσότητες. Εκτός από τα στοιχεία αυτά οι μύκητες μπορεί να χρειάζονται και ορισμένες αυξητικές ουσίες, όπως η θειαμίνη, η βιοτίνη, η πυριδοξίνη, η ριζοφλαμίνη, το νικοτινικό οξύ κ.α.

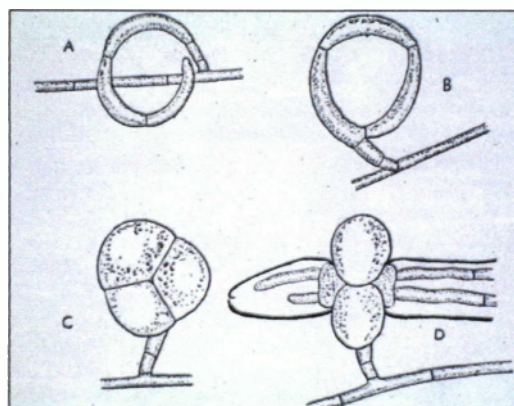
Μια από τις απαραίτητες λειτουργίες προκειμένου οι μύκητες να εξασφαλίσουν ενέργεια για την διατήρηση της ζωής και την αύξησή τους είναι η αναπνοή. Η αναπνευστική λειτουργία γίνεται με αερόβιο και αναερόβιο τρόπο.

Οι περιβαλλοντικές συνθήκες και ιδιαίτερα η θερμοκρασία, η υγρασία, το pH και το φως είναι καθοριστικοί παράγοντες για την βλάστηση των σπορίων των μυκήτων. Η υγρασία είναι τις περισσότερες φορές ο πλέον καθοριστικός παράγοντας για την ανάπτυξη των μυκήτων. Οι περισσότεροι ζουν σε περιβάλλον με σχετική υγρασία πάνω από το 85%, ενώ μερικοί μπορούν να ζήσουν και μέσα στο νερό. Ως προς τη θερμοκρασία υπάρχουν διάφορες διαβαθμίσεις απαιτήσεων ανάλογα με το είδος του μύκητα. Ως προς το pH οι μύκητες θεωρούνται οξύφιλοι οργανισμοί, αν και, και σ' αυτή την περίπτωση παρατηρούνται διαβαθμίσεις. Τέλος το φως στις περισσότερες των περιπτώσεων δεν παίζει σημαντικό ρόλο εκτός από ορισμένες μόνο εξαιρέσεις.

1.9 ΠΑΓΙΔΕΥΤΙΚΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ

Υπάρχουν ορισμένοι μύκητες οι οποίοι χρησιμοποιούνται στη γεωργία λόγω των ειδικών οργάνων-παγίδες με τα οποία αιχμαλωτίζουν νηματώδεις και τρέφονται από αυτούς. Οι περισσότεροι αρπακτικοί μύκητες νηματωδών ανήκουν στην οικογένεια *Moniliaceae*. Τα κυριότερα γένη θηρευτικών μυκήτων είναι τα: *Arthrobotrys*, *Dactylaria*, *Dactyllela*, *Monacrosporium*, *Nematoctonus*.

Το γένος *Arthrobotrys* αποτελεί την πιο γνωστή ομάδα νηματοβόρων μυκήτων στην οποία ανήκουν είδη που αντιδρούν μηχανικά κατά τη διέλευσή τους πλησίον του νηματώδη δημιουργώντας παγίδες που χαρακτηρίζονται σαν 'ενεργητικές' όπως για παράδειγμα ο μύκητας *Arthrobotrys dactyloides* που σχηματίζει δακτυλίους που συσφίγγονται, και μύκητες που δημιουργούν 'παθητικές' παγίδες, όπως στον *Arthrobotrys oligospora* που σχηματίζει δίχτυα.

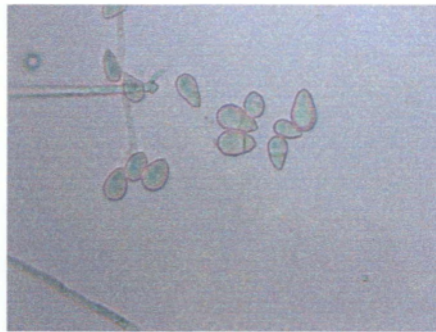


Εικόνα 1.8. Είδη παγιδευτικών μυκήτων

Arthrobotrys oligospora

Ο μύκητας *Arthrobotrys oligospora* (Drechsler, 1937) είναι το πιο συχνά απαντώμενο και πιο καλά μελετημένο είδος που παρασιτεί τους νηματώδεις. Σε *in-vitro* καλλιέργεια, το μυκήλιό του έχει ακτινωτή εξάπλωση και μακροσκοπικά είναι λευκό προς κίτρινο χρώμα. Στο μικροσκόπιο φαίνεται υαλώδες, έχει πλάτος 2-6μ και φέρει σέπτα.

Με την παρουσία νηματώδων στο περιβάλλον ανάπτυξης του μύκητα σχηματίζονται τριών διαστάσεων δίκτυα σε τυχαία κατανομή. Οι θηλιές φέρουν σέπτα και η διάμετρος τους είναι 20-59μ. Η κατασκευή αυτή αποτελείται αρχικά από μυκηλιακούς βρόγχους που είναι στην αρχή διακριτοί και αργότερα σχηματίζουν σύνθετα δίκτυα (Dreschsler, 1937). Αυτού του είδους η παγίδα, εκκρίνει κολλώδη ουσία, η οποία είναι πολύ σημαντική στην παγίδευση με εμπλοκή του θύματος. Όταν το θύμα παγιδευτεί και πεθάνει ή μείνει σε κατάσταση ακινησίας, παράγεται μια υφή η οποία διαπερνά το εξωτερικό περίβλημά του και στη συνέχεια σχηματίζει πολλές υφές σε όλο το σώμα του νηματώδη αφομοιώνοντας τα περιεχόμενα θρεπτικά συστατικά.

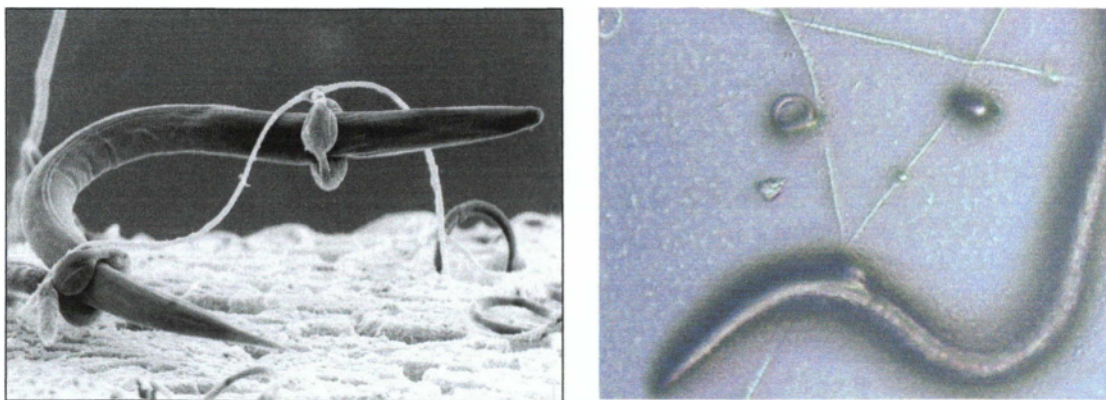


Εικόνα 1.9. Σπόρια του μύκητα *A. oligospora*

Arthrobotrys dactyloides

Ο *Arthrobotrys dactyloides* (Drechsler, 1937) έχει σημαντικά μικρότερη ταχύτητα ανάπτυξης σε σχέση με τα περισσότερα είδη που σχηματίζουν δίκτυα, όπως ο *A. oligospora* και ο *A. superba*. Σε *in-vitro* καλλιέργεια, το μυκήλιο του είναι μακροσκοπικά λευκού χρώματος και η εξάπλωσή του είναι ακτινωτή, με υφές υαλώδεις με σέπτα. Το πλάτος των υφών του είναι 2-5μ. Με την εμφάνιση των νηματώδων σχηματίζονται σχεδόν κυκλικά δαχτυλίδια, διαμέτρου 20-30μ, αποτελούμενα από τρία τοξοειδή κύτταρα. Κατά τη διάρκεια της παγίδευσης του νηματώδη (περίπου 0.1sec), το δαχτυλίδι συστέλλεται και τα κύτταρά του διογκώνονται συσφίγγοντας το θύμα μέχρι να πεθάνει ή να βρεθεί σε κατάσταση παράλυσης. Στη συνέχεια παράγεται μια υφή, η οποία διαπερνά το εξωτερικό περίβλημα του θύματος και τέλος σχηματίζονται εσωτερικά πολλές υφές, που

καταλαμβάνουν όλο το σώμα του θύματος και αφομοιώνουν τα συστατικά του. Μερικές φορές τα βλαστάνοντα σπόρια σχηματίζουν κατ' ευθείαν συσφικτικά δαχτυλίδια αντί των βλαστικών υφών. Η δράση του μύκητα συνεχίζεται βαθμιαία μέχρι την πλήρη ακινητοποίηση του νηματώδη και τον πλήρη παρασιτισμό του (Dreschsler, 1937).



Εικόνα 1.10. Παγιδευμένοι νηματώδεις σε δίχτυα του μύκητα *A. dactyloides*

1.10 ΕΔΑΦΟΣ

Το έδαφος με βάθος μερικών δεκάδων εκατοστών, αλλά αχανούς έκτασης, είναι ο φυσικός βιότοπος ενός πολύ μεγάλου και ποικίλου πλήθους οργανισμών, που η δράση τους συνθέτει όλες τις βιολογικές λειτουργίες, οι οποίες ολοκληρώνουν όλους τους απαραίτητους για τη ζωή στον πλανήτη μας γεωχημικούς κύκλους. Ο πιο απλός ορισμός του εδάφους που έχει δοθεί μέχρι σήμερα, είναι αυτός του Μπαλή (1980) ο οποίος αναφέρει ότι «έδαφος είναι το υλικό στο οποίο αναπτύσσονται τα φυτά».

Το έδαφος αποτελείται κυρίως από ανόργανα υλικά (άμμος, ιλύς και άργιλος), νερό, αέρα, νεκρά οργανικά υλικά (φυτικά υπολείμματα, ζωικά υπολείμματα και αποχωρήματα, εκκρίσεις του ριζικού συστήματος των φυτών, βιομάζα και προϊόντα μεταβολισμού των αυτότροφων μικροοργανισμών του εδάφους) καθώς και ζωντανούς οργανισμούς. Οι αναλογίες αυτών των συστατικών ποικίλουν σημαντικά από έδαφος σε έδαφος, αλλά ακόμη και σε περιορισμένη έκταση μπορούν να μεταβάλλονται ανάλογα με τους χειρισμούς που δέχεται.

Το κλάσμα της μικροχλωρίδας καθορίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό από τους φυσικούς παράγοντες του εδάφους, όπως την υγρασία και τον αερισμό, που μέσα σε μικρά χρονικά διαστήματα μπορούν και μεταβάλλονται, παρά από τους γενικότερους περιβαλλοντικούς παράγοντες που καθορίζονται από τη γεωγραφική θέση και το κλίμα. Το μέγεθος της διαμέτρου των πόρων του εδάφους όπως και οι φυσικές του ιδιότητες επίσης επηρεάζουν σημαντικά τη σύνθεση του μικροβιακού πληθυσμού. Οι μικροοργανισμοί του εδάφους αποτελούν πολύ σημαντικούς παράγοντες στη γεωργία καθώς είναι υπεύθυνοι για την αποδόμηση των οργανικών υλικών σε χούμο που βελτιώνει την υδατοϊκανότητα του εδάφους και τη μετατροπή θρεπτικών στοιχείων σε μορφές εύκολα αφομοιώσιμες από τα φυτά. Τα τελευταία χρόνια δίνεται μεγάλη σημασία και στις έρευνες που γίνονται για να αποδειχθεί ο αποφασιστικής σημασίας ρόλος της μικροβιακής χλωρίδας του εδάφους στη μετατροπή ή καταστροφή του μορίου ουσιών που ρυπαίνουν το περιβάλλον.

Η ταχύτητα αποδόμησης των οργανικών ουσιών στο έδαφος εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως, αερισμό, θερμοκρασία, υγρασία, pH, καθώς και από το λόγο των στοιχείων C:N στην αποδομούμενη οργανική ουσία.

Δύο από τα απαραίτητα στοιχεία για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών του εδάφους είναι το άζωτο και ο άνθρακας. Στη φύση αν και βρίσκουμε τεράστια αποθέματα ουσιών πλούσιων σε άνθρακα, είναι δύσκολο να βρεθούν ουσίες πλούσιες σε άζωτο. Ορισμένοι οργανισμοί έχουν την ικανότητα να αποσυνθέτουν μεγάλες ποσότητες ενώσεων άνθρακα και ν' αφομοιώνουν τη μικρή ποσότητα του ελεύθερου αζώτου το οποίο τους είναι απαραίτητο για τη σύνθεσή τους. Τέτοιοι οργανισμοί είναι τα βακτήρια, οι μύκητες και οι ακτινομύκητες.

Το Φαινόμενο Της Ριζόσφαιρας: Το διαθέσιμο θρεπτικό υπόστρωμα το οποίο κατέχει τον κύριο λόγο στην δραστηριότητα των μικροοργανισμών, εμπλουτίζεται συνεχώς από τις ρίζες των φυτών. Συγκεκριμένα έχει αποδειχθεί ότι οι ρίζες των φυτών ελευθερώνουν στο έδαφος σάκχαρα, αμινοξέα, οργανικά οξέα και άλλους αυξητικούς παράγοντες, ενώ υπόστρωμα για την ανάπτυξη των μικροοργανισμών, αποτελούν και τα ριζικά τριχίδια ή τα συνεχώς αποβαλλόμενα επιδερμικά κύτταρα των αυξανόμενων ριζών. Οι ρίζες εφ' όσον απορροφούν νερό από το έδαφος και εκκρίνουν CO_2 έχουν την ικανότητα να αλλάζουν και τις φυσικές συνθήκες του εδάφους σε μια στενή περιοχή γύρω τους. Σ' αυτή την περιοχή που καλείται «ριζόσφαιρα» παρατηρείται μια έντονη μικροβιακή δραστηριότητα που επηρεάζει τη θρέψη των φυτών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2^ο (ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ)

ΕΙΣΑΓΩΓΙΚΟ ΜΕΡΟΣ : ΣΚΟΠΟΣ ΑΥΤΗΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η μελέτη αυτή αποτελεί συνέχεια και μέρος μιας έρευνας που πραγματοποιούν από κοινού τα εργαστήρια Νηματολογίας και Μυκητολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Αφορά τη διερεύνηση των δυνατοτήτων χρησιμοποίησης παγιδευτικών μυκήτων στην αντιμετώπιση των φυτοпараσιτικών νηματωδών.

Η έρευνα αυτή περιλαμβάνει πολλές πτυχές καθώς πρόκειται για ένα ιδιαίτερα πολύπλοκο σύστημα και επιβάλλεται να διευκρινιστούν οι ρόλοι όλων των παραγόντων που εμπλέκονται γι' αυτό το σκοπό, δηλαδή οι μύκητες, οι νηματώδεις, τα φυτά, η ριζόσφαιρα κ.α.

Στην παρούσα μελέτη έγινε προσπάθεια να διερευνηθεί η δράση των νηματοβόρων μυκήτων *Arthrobotrys oligospora* και *Arthrobotrys dactyloides* εναντίον φυτοпараσιτικών νηματωδών του γένους *Meloidogyne* και *Tylenchulus semipenetrans* κάτω από την επίδραση διαφόρων παραγόντων.

2.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1.1 Θρεπτικά υλικά ανάπτυξης μυκήτων

1) Potato Dextrose Agar (P.D.A.)

- Potato Dextrose Agar (Biocar Diagnostics).....39g
- Απεσταγμένο νερό1lt

2) Plain Agar (P.A.)

- Άγαρ (Biocar Diagnostics).....15g
- Απεσταγμένο νερό.....1lt

3) Maize Agar (M.A.)

Καλαμπόκι.....	50g
• Άγαρ (Biocar Diagnostics).....	1lt
• Απεσταγμένο νερό.....	1lt

Πριν να αποστειρωθεί το υλικό προσθέτουμε το καλαμπόκι (θρυμματισμένο) σε 1lt νερό, βράζουμε για 50 min και έπειτα περνάμε από τουλάκι.

Σημείωση: Τα ανωτέρω αναφερθέντα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για την διεξαγωγή των πειραμάτων μας παραχωρήθηκαν έτοιμα από το εργαστήριο Μυκητολογίας του Μ.Φ.Ι. σε συνεργασία με το οποίο πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα που αναφέρονται στη συνέχεια, μέσα στα πλαίσια ενός ερευνητικού προγράμματος του Μ.Φ.Ι. σχετικά με τη Βιολογική Καταπολέμηση Νηματωδών με Νηματοβόρους Μύκητες.

4) Czapek - Dox

• Νιτρικό Νάτριο (NaNO_3).....	2g
• Φωσφορικό Κάλιο (KH_2PO_4).....	1g
• Θεικό Μαγνήσιο ($\text{MgSO}_4+7\text{H}_2\text{O}$).....	0,5g
• Χλωριούχο Κάλιο (KCl).....	0,5g
• Θεικός Σίδηρος ($\text{FeSO}_4+7\text{H}_2\text{O}$).....	0,01g
• Σακχαρόζη.....	20g
• Άγαρ	15g
• Απεσταγμένο Νερό.....	1lt

Τα παραπάνω θρεπτικά υλικά, μετά την παρασκευή τους, αποστειρώνονται στον υγρό κλίβανο στους 120°C για 20-30min και υπό πίεση 1atm. Στη συνέχεια στρώνονται (σε ποσότητα ίση με 15 ml περίπου υλικό/τριβλίο) υπό ασηπτικές συνθήκες σε πλαστικά τριβλία Petri διαμέτρου 9cm.

2.1.2 Υπόστρωμα ανάπτυξης φυτών

Για την ανάπτυξη φυτών τομάτας (*Solanum lycopersicum* ή *Lycopersicum esculentum*), χρησιμοποιήθηκε εδαφικό υπόστρωμα Klasmann (κομπόστα), γερμανικής προέλευσης, του οποίου η περιεκτικότητα στα βασικά θρεπτικά στοιχεία ήταν η εξής:

- Άζωτο: 120-260mg/l
- Φώσφορος: 180-260 mg/l εκφρασμένος σε πεντοξείδιο του Φωσφόρου (PO₅)
- Κάλιο: 230-350 mg/l εκφρασμένο σε οξείδιο του Καλίου (K₂O)
- Μαγνήσιο: 80-150 mg/l εκφρασμένο σε οξείδιο του Μαγνησίου (MgO)

2.1.3 Ανάπτυξη φυτών

Για τα πειράματα που θα αναφερθούν στη συνέχεια χρησιμοποιήθηκαν σπόροι τομάτας (*Solanum lycopersicum* ή *Lycopersicum esculentum*) ποικιλίας ACE / 55VF.

Η σπορά πραγματοποιήθηκε μέσα σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών, σε πλαστικές γλάστρες (σπορεία), διαστάσεων 33×21×12cm. Η θερμοκρασία στον θάλαμο κυμαινόταν στους 25 ± 2°C. Τα φυτά δέχονταν τεχνητό φωτισμό από λάμπες φθορισμού και ατμών νατρίου με φωτοπερίοδο 12h φως / 12h σκότος. Όταν τα φυτά βρίσκονταν σε ηλικία 18-25 ημερών, μεταφυτεύονταν σε πλαστικές γλάστρες διαμέτρου 9cm, για την διεξαγωγή των πειραμάτων.



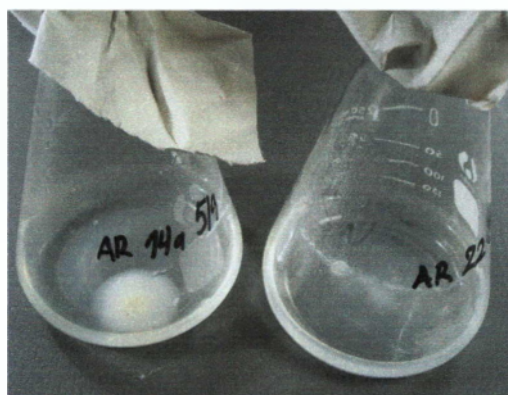
Εικόνα 2.1. Φυτά πειράματος

2.1.4 Παραγωγή μολύσματος για ενσωμάτωση στο έδαφος

Μία μονόσπορη απομόνωση του μύκητα *A. oligospora* και μια απομόνωση του *A. dactyloides*, που διατηρούνταν σε δοκιμαστικούς σωλήνες με θρεπτικό υλικό P.D.A. και M.A. αντίστοιχα, χρησιμοποιήθηκαν για την παραγωγή μολύσματος.

Το στερεό υλικό στο οποίο αναπτύχθηκε το μόλυσμα αποτελείτο από 250ml περλίτη τοποθετημένα σε κωνικές φιάλες των 500ml, διαβρεγμένα με περίπου 100ml Czapek-Dox (χωρίς το άγαρ). Το υπόστρωμα αποστειρώθηκε τους 121°C για 20-30min υπό πίεση 1atm και στη συνέχεια, μετά το κρύωμα των φιαλών, ακολούθησε ο εμβολιασμός τους με μόλυσμα των μυκήτων *A. oligospora* και *A. dactyloides*, που παραχωρήθηκε από το εργαστήριο Μυκητολογίας του Μ.Φ.Ι.

Οι φιάλες ανακινούνταν κάθε ημέρα, ώστε να αναπτυχθούν ομοιόμορφα και γρήγορα οι μύκητες και αφέθηκαν να επωαστούν για 7 ημέρες σε θερμοκρασία 21°C.



Εικόνα 2.2. Μόλυσμα των μυκήτων *A. oligospora* και *A. dactyloides* σε υγρό θρεπτικό (Λήψη φωτογραφίας Κουτσουμάρης Ιωάννης)

2.1.5. Απομόνωση του πληθυσμού των νηματωδών με τη μέθοδο Baermann (τροποποιημένη)



Εικόνες 2.3, 2.4, 2.5, 2.6. Μερικά από τα στάδια της μεθόδου Baermann (Λήψη φωτογραφιών Κουτσομάρης Ιωάννης)

Για κάθε πείραμα συγκεκριμένη ποσότητα χώματος τοποθετούνταν σε πλαστικό δοχείο, αναδεύονταν καλά με νερό υπό πίεση και αφήνονταν σε ηρεμία για 15 περίπου sec ώστε να κατακαθίσουν τα περιεχόμενα στερεά υλικά. Στη συνέχεια, το αιώρημα, μέσα στο οποίο βρίσκονταν και οι επιζώντες νηματώδεις ρίχονταν σε κόσκινο με διάμετρο πόρων 56 μ m. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβανόταν 2 φορές, για κάθε δείγμα και τέλος τα υλικά του αιωρήματος που παρέμεναν στο κόσκινο συλλέγονταν σε ποτήρια ζέσεως.

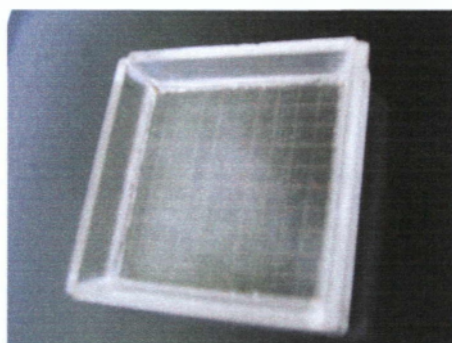
Ένα κομμάτι πορώδες χαρτί τοποθετούνταν πάνω σε δικτυωτό πλέγμα και το τελευταίο εντός γυάλινου χωνιού διαμέτρου 10-15cm στο σωληνωτό τμήμα του οποίου προσαρμόζονταν ελαστικός σωλήνας μήκους περίπου 10cm. Πάνω στο πορώδες αυτό χαρτί χύνονταν το αιώρημα που περιείχε το ποτήρι ζέσεως και αφού αποστράγγιζε όλο το νερό, ο πλαστικός σωλήνας κλείνονταν υδατοστεγώς με ειδικό

σφικτήρα. Τέλος το χωνί γεμίζονταν με νερό έτσι ώστε το περιεχόμενο στο πορώδες χαρτί ίζημα να διατηρείται κάτω από την ανώτερη επιφάνεια του νερού.

Η διάταξη αυτή αφήνονταν σε ηρεμία για 48 ώρες στη διάρκεια των οποίων όλοι οι περιεχόμενοι στο δείγμα νηματώδεις διαπερνούσαν ενεργητικά το χαρτί κινούμενοι προς το κάτω μέρος του ελαστικού σωλήνα υπό την επίρεια της βαρύτητας.

2.1.6. Καταμέτρηση πληθυσμού νηματωδών

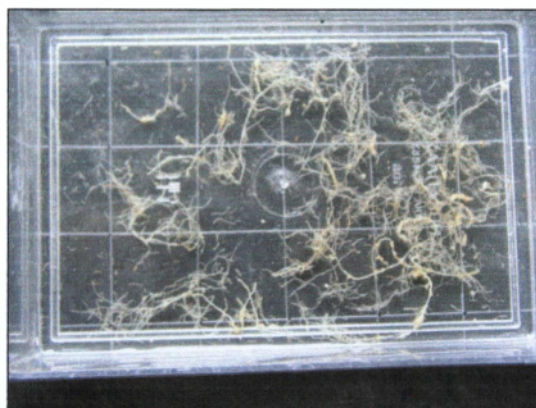
Μετά την πάροδο του απαιτούμενου χρόνου παραμονής των δειγμάτων στα χωνιά, τοποθετούνταν στο άκρο του ελαστικού σωλήνα μπουκαλάκια των 10ml και έβγαине ο σφικτήρας που ήταν προσαρμοσμένος στο σωλήνα, με αποτέλεσμα τα μπουκαλάκια αυτά να γεμίσουν νερό. Στη συνέχεια τα μπουκαλάκια αφήνονταν σε ηρεμία για 15-20min ώστε να κατακαθίσουν οι νηματώδεις που περιέχονταν σ' αυτά, μετά αφαιρούνταν η μισή ποσότητα νερού με τη βοήθεια πιπέτας και με τέτοιο τρόπο ώστε να μη δημιουργείται ανατάραξη των νηματωδών. Το εναπομείναν νερό ρίχνονταν σε ειδικό τριβλίο καταμέτρησης (counting dish) αφού ανακινούνταν καλά, και με τη χρήση στερεοσκοπίου γίνονταν η εκτίμηση του πληθυσμού των νηματωδών.



Εικόνα 2.7. Τριβλίο καταμέτρησης Νηματωδών

2.1.7. Μέτρηση συνολικού μήκους ρίζας

Οι ρίζες των φυτών κόβονταν και τοποθετούνταν εντός πλαστικού διάφανου δοχείου διαστάσεων 11×17cm που περιείχε περίπου 5ml νερό, στον πυθμένα του οποίου είχαν χαραχτεί κάθετες και οριζόντιες γραμμές ανά 5cm και το οποίο περιείχε περίπου 5ml νερό. Οι ρίζες απλώνονταν με τη βοήθεια εργαστηριακής λαβίδας και στη συνέχεια μετρούνταν το μήκος της ρίζας με βάση το πόσες φορές οι ρίζες τέμνονταν πάνω στις κάθετες και οριζόντιες γραμμές. Το μήκος της ρίζας υπολογιζόταν με τον τύπο:



Εικόνα 2.8. Τριβλίο καταμέτρησης μήκους ριζών

$$R = (\pi + A)n / 2H,$$

όπου R= μήκος ρίζας

$$\pi = 3,14$$

A= επιφάνεια του δοχείου μέτρησης

n= αριθμός σημείων που η ρίζα τέμνει μία από τις γραμμές του πλέγματος

H= συνολικό μήκος γραμμών πλέγματος

2.1.8. Στατιστική ανάλυση αποτελεσμάτων

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, όλων των πειραμάτων, πραγματοποιήθηκε μέσω ηλεκτρονικού υπολογιστή με το πρόγραμμα SPSS, εφαρμόζοντας ανάλυση παραλλακτικότητας (Analysis of Variance) και σύγκριση των μέσων όρων κατά Duncan.

2.2 ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

2.2.1 Πείραμα 1^ο

Μελέτη για την καταπολέμηση των νηματωδών του Γένους *Meloidogyne* με τους παγιδευτικούς μύκητες *A. dactyloides* και *A. oligospora*.

Σκοπός πειράματος

Σκοπός του πειράματος αυτού, το οποίο ήταν παραλλαγή του πειράματος που διεξήχθη από τον σπουδαστή Κουτσομάρη Ιωάννη, ήταν να περιγράψουμε και να κατανοήσουμε, την δράση των νηματοβόρων μυκήτων *A. oligospora* και *A. dactyloides* κατά των νηματωδών του γένους *Meloidogyne*, καθώς επίσης και να διαπιστώσουμε το βαθμό και την ταχύτητα αποτελεσματικότητάς καθενός εξ αυτών. Σημαντικός επίσης στόχος του πειράματος ήταν η εξεύρεση μιας απλής και σύντομης πειραματικής διάταξης – διαδικασίας για τη διεξαγωγή των πειραμάτων αποτελεσματικότητας βιολογικών παραγόντων αντιμετώπισης φυτοпараσιτικών νηματωδών.

Μεθοδολογία

Στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν 32 μικρές γλάστρες διαστάσεων 9×12cm και 8.5×12.5cm. Σε κάθε μία από αυτές τοποθετήθηκαν 330gr χώματος, στο οποίο έπειτα από δειγματοληψία, βρέθηκε ικανοποιητικός πληθυσμός νηματωδών *Meloidogyne* sp.

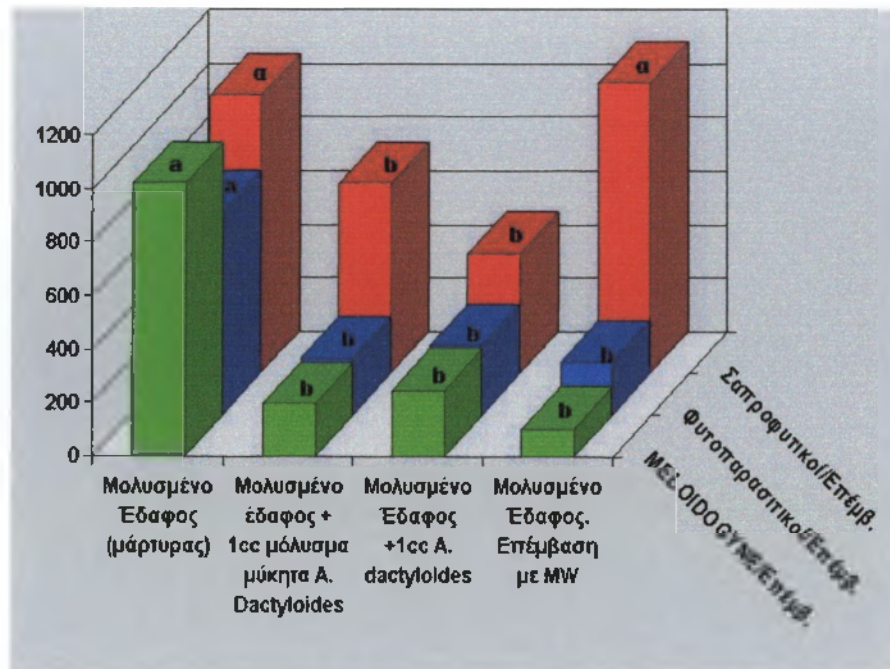
Οι γλάστρες χωρίστηκαν σε τέσσερις ομάδες (από 8 δοχεία η κάθε μια) και οι επεμβάσεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν οι εξής:

1. Γλάστρες στις οποίες προστέθηκε καθαρός περλίτης (control) (10ml).
2. Γλάστρες στις οποίες προστέθηκε μόλυσμα με τον μύκητα *A. oligospora* (10ml)
3. Γλάστρες μόλυσμα με τον μύκητα *A. dactyloides* (10ml)
4. Γλάστρες στις οποίες προστέθηκε χώμα και στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε φούρνο μικροκυμάτων, σε θερμοκρασία 90°C για 1min, με σκοπό να μειωθεί δραστικά ο πληθυσμός των νηματωδών.

Στη συνέχεια φυτεύτηκαν τα φυτά τομάτας τα οποία μέχρι το τέλος του πειράματος, δέχονταν τις απαραίτητες φροντίδες, όπως πότισμα, απομάκρυνση των ξερών και κτρινοσμένων φύλων και ζύγισμα, το οποίο αποσκοπούσε στη προσθήκη της σωστής ποσότητας νερού ώστε να διατηρηθεί το χώμα στο 60% της υδατοϊκανότητάς του.

Μετά την πάροδο χρονικού διαστήματος 45 ημερών από τη φύτευση, τα φυτά ξεριζώθηκαν και το χώμα εξετάστηκε ως προς την παρουσία και την καταμέτρηση του πληθυσμού των περιεχόμενων νηματωδών (*Meloidogyne* sp., και λοιπών φυτοπαρασιτικών και σαπροφυτικών ειδών), μετρήθηκε το μήκος των ριζών, καθώς και τα φυμάτια (όγκοι) που είχαν δημιουργηθεί από τους νηματώδεις πάνω σ' αυτές.

Αποτελέσματα



Διάγραμμα 2.1 Στο διάγραμμα αυτό φαίνεται η μεταβολή του πληθυσμών των νηματωδών (σαπροφυτικών, φυτοπαρασιτικών και γένους *Meloidogyne*), μετά από 45 ημέρες από την προσθήκη στο έδαφος των μυκήτων *A. oligospora* και *A. dactyloides*, παρουσία φυτών τομάτας.

* Στις στήλες ίδιου χρώματος που αναγράφονται τα ίδια γράμματα, οι αριθμοί δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, ($P=0,05$).

Πίνακας 2.1 Στον πίνακα 2.1 αναφέρονται οι μέσοι όροι του μήκους ριζών των φυτών τομάτας 45 ημέρες μετά τις επεμβάσεις με νηματοβόρους μύκητες και μικροκυμάτων.

Επεμβάσεις	Μήκος Ρίζας
Μολυσμένο έδαφος χωρίς καμία επέμβαση (μάρτυρας)	102 a
Μολυσμένο έδαφος + καλλιέργεια <i>A. oligospora</i>	217 b
Μολυσμένο έδαφος + καλλιέργεια <i>A. dactyloides</i>	181 b
Μολυσμένο έδαφος, επέμβαση με μικροκύματα	339 c

* Αριθμοί της ίδιας στήλης που συνοδεύονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, ($P=0,05$).



Εικόνα 2.9. Ρίζα φυτού μετά την επέμβαση με τον μύκητα *A. oligospora*



Εικόνα 2.10. Ρίζα φυτού μετά την επέμβαση με μικροκύματα



Εικόνα 2.11. Ρίζα φυτού που δεν υπέστη καμία επέμβαση



Εικόνα 2.12. Ρίζα φυτού μετά την επέμβαση με το μύκητα *A. dactyloides*

Σχολιασμός των αποτελεσμάτων

Στο διάγραμμα 2.1. φαίνεται ότι οι επεμβάσεις και με τους δύο μύκητες μείωσαν τους πληθυσμούς των νηματωδών όλων των κατηγοριών (σαπροφυτικών, φυτοпараσιτικών, *Meloidogyne*) και μάλιστα η μείωση αυτή ήταν μεγάλη και στατιστικά σημαντική σε σχέση με τον μάρτυρα.

Η επέμβαση με μικροκύματα δεν φάνηκε να είναι αρκετά αποτελεσματική, καθώς μείωσε μεν σημαντικά τον αριθμό των φυτοпараσιτικών νηματωδών και αυτών του γένους *Meloidogyne*, χωρίς όμως να τον εξαλείψει τελείως, με αποτέλεσμα 45 ημέρες μετά να υπάρχει ένας αριθμός νηματωδών όλων των κατηγοριών, σαφώς μικρότερος όμως από τις άλλες επεμβάσεις και τον μάρτυρα.

Επιπλέον, η μη αποτελεσματική θανάτωση με τα μικροκύματα επέτρεψε στους σαπροφυτικούς νηματώδεις να πολλαπλασιαστούν πολύ και να ξεπεράσουν ακόμη και τον μάρτυρα.

Από τους δύο μύκητες που δοκιμάστηκαν, ο *A. oligospora*, φαίνεται να έδρασε πιο αποτελεσματικά από τον *A. dactyloides* και αυτό γίνεται εμφανές στον πίνακα 2.1, όπου εμφανίζεται το συνολικό μήκος των ριζών. Ωστόσο η διαφορά αυτή είναι μικρή και δεν είναι στατιστικά σημαντική.

Χαρακτηριστική είναι η διαφορά σε μήκος ριζών των φυτών που φυτεύτηκαν σε εδάφη τα οποία δέχτηκαν την επέμβαση με μικροκύματα. Τα φυτά αυτά είχαν το μεγαλύτερο μήκος ριζών και αυτό είναι φυσικό αφού οι πληθυσμοί των φυτοпараσιτικών νηματωδών και αυτών του γένους *Meloidogyne* ήταν οι μικρότεροι από ότι σε άλλες.

2.2.2 Πείραμα 2^ο

Επίδραση της ποσότητας μολύσματος των μυκήτων *A. dactyloides* και *A. oligospora* και της χρονικής διάρκειας που είχαν ώστε να δράσουν κατά των νηματώδων. Στο πείραμα αυτό δοκιμάστηκε η δράση των παραπάνω αναφερθέντων μυκήτων κατά του νηματώδη *Tylenchulus semipenetrans*.

Σκοπός

Στο πείραμα αυτό διερευνήθηκε η αποτελεσματικότητα των μυκήτων *A. oligospora* και *A. dactyloides* σε ένα άλλο είδος φυτοпараσιτικού νηματώδη, τον *Tylenchulus semipenetrans*.

Στο πείραμα αυτό διερευνήθηκε επίσης και η επίδραση της ποσότητας μολύσματος του μύκητα και του χρόνου δειγματοληψίας.

Μεθοδολογία

Για το πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκε έδαφος από την περιοχή του Πόρου, μολυσμένο με νηματώδεις *Tylenchulus semipenetrans* οι οποίοι προσβάλλουν καλλιέργειες εσπεριδοειδών. Στο πείραμα δεν χρησιμοποιήθηκαν δενδρύλλια εσπεριδοειδών καθώς η ανάπτυξη αυτών είναι αργή, γεγονός το οποίο ήταν απαγορευτικό για τις παρούσες συνθήκες. Φυσικά δεν μπορούσε να χρησιμοποιηθεί άλλο είδος φυτού ταχύτερης ανάπτυξης καθώς οι *T. semipenetrans* παρασιτούν αποκλειστικά και μόνο τα εσπεριδοειδή. Έτσι χρησιμοποιήθηκε μόνο χώμα που ήταν γνωστό από πριν ότι περιείχε το συγκεκριμένο νηματώδη.

Το πείραμα περιελάμβανε δύο σκέλη. Το πρώτο αφορούσε την ποσότητα μολύσματος που εφαρμόστηκε, και το δεύτερο τον χρόνο δειγματοληψίας. Για τη διεξαγωγή αυτών των πειραμάτων ζυγίστηκαν σε κάθε μία από 48 πλαστικές γλάστρες διαστάσεων 9×12cm 100gr εδάφους που περιείχε μεγάλο πληθυσμό του νηματώδη *T. semipenetrans*.

Προκειμένου να διερευνηθεί η επίδραση της ποσότητας του μολύσματος των δύο μυκήτων, σε κάθε γλάστρα τοποθετούνταν διαφορετική ποσότητα μολύσματος:

1, 3 και 9ml καλλιέργειας σε περλίτη, ενώ ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε η επέμβαση με 3ml καθαρού περλίτη.

Στο δεύτερο σκέλος του πειράματος που οι επεμβάσεις αφορούσαν τον χρόνο δράσης των δύο μυκήτων, πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες μετά από 2, 5 και 9 ημέρες στα γλαστράκια με 10 ml μόλυσμα *A. dactyloides*, και μετά από 3, 5 και 10 ημέρες στα γλαστράκια με 10 ml μόλυσμα *A. oligospora*.

Κάθε επέμβαση είχε 6 επαναλήψεις.

Αποτελέσματα

1^ο σκέλος

Πίνακας 2.2 Επίδραση της προσθήκης διαφορετικών ποσοτήτων μολύσματος των μυκήτων *A. dactyloides* και *A. oligospora* στον πληθυσμό των *T. semipenetrans* στο έδαφος.

Επεμβά- σεις	Πλήθος <i>Tylenchulus</i> /γλάστρ.	Πλήθος Σαπροφυτικών/γλάστρα	Σύνολο Νηματωδών/γλάστρα
A.d 1cc	8017 αα, b	1872 a	9889 a
A.d 3cc	7195 a	1878 a	9072 a
A.d 9cc	7745 a, b	2400 a, b, c	10145 a
A.ol 1cc	5767 a	1872 a	7839 a
A.ol 3cc	5461 a	2039 a, b	7500 a
A.ol 9cc	7561 a, b	2761 b, c	10322 a
Περλίτης 3cc	11811 b	3078 c	14889 b

* Αριθμοί της ίδιας στήλης που συνοδεύονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

(P=0,05)

2^ο σκέλος

Πίνακας 2.3. Επίδραση του χρόνου δειγματοληψίας.

Επεμβάσεις	Πλήθος <i>Tylenchulus</i> /γλάστρα	Πλήθος Σαπροφυτικών/γλάστρα	Σύνολο Νηματοδών/γλάστρα
A.d 2 ημέρες	1705 a	661 a	2366 a
A.d 5 ημέρες	2733 a,b	1139 a	3672 a, b
A.d 9 ημέρες	4750 b,c	1461 a	6211 b, c
A.o1 3 ημέρες	5750 c	1422 a	7172 c
A.o15 ημέρες	8233 d	2683 b	10917 d
A.o1. 10 ημέρες	8150 d	2683 b	10834 d
Περλίτη 5 ημέρες	16044 c	3789 d	19833 c

* Αριθμοί της ίδιας στήλης που συνοδεύονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους, (P= 0,05).

Σχολιασμός των αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα που προέκυψαν σχετικά με την επίδραση του χρόνου δράσης αλλά και της ποσότητας μολύσματος είναι αντιφατικά. Οι μύκητες έδρασαν αλλά δε φάνηκε να υπάρχει σημαντική στατιστική διαφορά, ούτε στην διαφορετική ποσότητα μολύσματος, ούτε στον διαφορετικό χρόνο διαμονής του μολύσματος στο έδαφος.

2.2.3. Πείραμα 3^ο

Επίδραση της περιεκτικότητας του εδάφους σε νερό, στην καταπολέμηση των νηματωδών *T. semipenetrans* με τους παγιδευτικούς μύκητες *A. dactyloides* και *A. oligospora*.

Σκοπός

Σκοπός του πειράματος αυτού ήταν να γίνει μία πρώτη διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των δύο μυκήτων στην καταπολέμηση του *T. semipenetrans* σε έδαφος με διαφορετική περιεκτικότητα σε νερό.

Μεθοδολογία

Για το πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκε το ίδιο έδαφος από εσπεριδοειδή της περιοχής Πόρου, που περιείχε υψηλό πληθυσμό ατόμων του *T. semipenetrans* όπως και στο προηγούμενο πείραμα. Σε κάθε μία από τις γλάστρες (διαστάσεων 8,5×12,5cm) ζυγίστηκαν 115gr εδάφους.

Οι επεμβάσεις που πραγματοποιήθηκαν στο πείραμα αυτό ήταν 6. Για κάθε επέμβαση έγιναν 6 επαναλήψεις (γλάστρες).

Στην 1^η επέμβαση χρησιμοποιήθηκε μόλυσμα με τον μύκητα *A. Oligospora* (10ml).

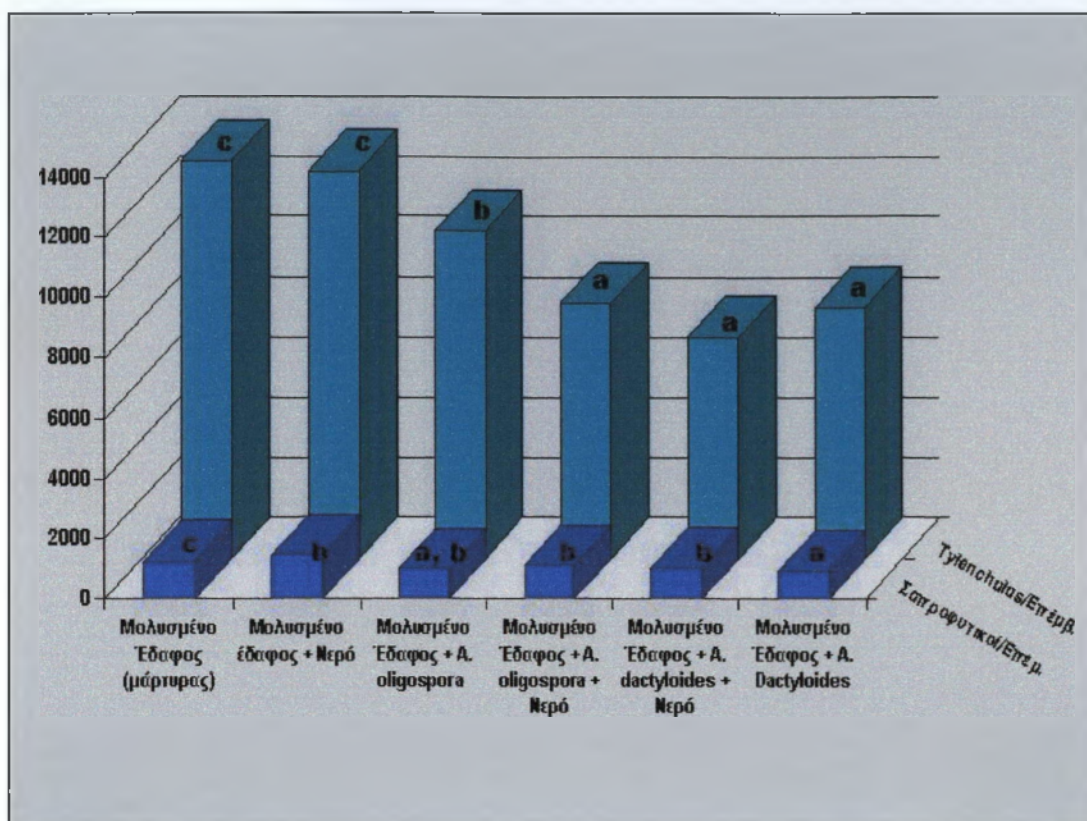
Στην 2^η επέμβαση χρησιμοποιήθηκε μόλυσμα με τον μύκητα *A. Dactyloides* (10ml).

Στην 3^η επέμβαση οι γλάστρες περιείχαν μόνο χώμα.

Η κάθε μία από τις παραπάνω επεμβάσεις επαναλήφθηκε 2 φορές, χρησιμοποιώντας έδαφος διαφορετικής περιεκτικότητας σε νερό: που ήταν στο 43% και στο 70% της υδατοϊκανότητας του.

Μετά από 7 ημέρες, κατά τις οποίες οι γλάστρες παρέμειναν εντός θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών, το έδαφος εξετάστηκε για την παρουσία και τον συνολικό πληθυσμό των περιεχόμενων νηματωδών.

Αποτελέσματα πειράματος



Διάγραμμα 2.2 Μεταβολή του πληθυσμού των νηματωδών (*Tylenchulus semipenetrans*, σαπροφυτικών), ανάλογα με την περιεκτικότητα του εδάφους σε νερό.

*Στις στήλες ίδιου χρώματος που αναγράφονται τα ίδια γράμματα, οι μέσοι όροι των επεμβάσεων δεν διαφέρουν σημαντικά, ($P=0,05$).

Σχολιασμός των αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα του πειράματος δείχνουν ότι η προσθήκη και των δύο μυκήτων στο έδαφος και στα δύο επίπεδα υγρασίας, μείωσε σημαντικά τον αριθμό των ατόμων *T. semipenetrans* και των σαπροφυτικών νηματωδών, πράγμα που επιβεβαιώνει και τα αποτελέσματα του προηγούμενου πειράματος. Οι διαφορές στα δύο επίπεδα υγρασίας ήταν μικρές και μη σημαντικές στατιστικά για τον μύκητα *A. dactyloides*, ενώ για τον *A. oligospora* φαίνεται να επιδρά καλύτερα το μεγαλύτερο ποσοστό υγρασίας (70% της υδατοϊκανότητας).

Ακόμη διαπιστώθηκε πως στο πείραμα αυτό ο μύκητας *A. dactyloides* έδρασε πιο αποτελεσματικά από τον *A. oligospora*, καθώς στις γλάστρες με τον πρώτο μύκητα ο πληθυσμός των νηματωδών μειώθηκε περισσότερο. Ωστόσο η διαφορά αυτή δεν είναι στατιστικά σημαντική.

2.2.4. Πείραμα 4^ο

Η σχέση C/N και η επίδρασή του στην παγιδευτική ικανότητα των μυκήτων *A. dactyloides* και *A. oligospora* κατά των νηματωδών του γένους *Meloidogyne*.

Σκοπός

Σκοπός του πειράματος αυτού ήταν να γίνει μια πρώτη διερεύνηση της επίδρασης της σχέσης C/N της οργανικής ουσίας του εδάφους, στην θηρευτική ικανότητα των μυκήτων *A. dactyloides* και *A. oligospora* κατά των νηματωδών.

Μεθοδολογία

Στο πείραμα αυτό διερευνήθηκε η επίδραση του κάθε μύκητα σε συνδυασμούς με προσθήκη γλυκόζης (πηγή άνθρακα) και νιτρικής αμμωνίας (πηγή αζώτου).

Χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας, φυτεμένα σε γλάστρες με 300gr εδάφους που περιείχε μεγάλο πληθυσμό νηματωδών του γένους *Meloidogyne*. Ως μόλυσμα χρησιμοποιήθηκαν καλλιέργειες των μυκήτων *A. dactyloides* και *A. oligospora*. Το πείραμα αποτελείτο από 12 επεμβάσεις, μαζί με τον μάρτυρα και κάθε μία από τις επεμβάσεις είχε 4 επαναλήψεις.

Κάθε επέμβαση με κάθε ένα από τους μύκητες συνδυάστηκε με τις παρακάτω επεμβάσεις σχέσεων C/N:

- 1) Προσθήκη μόνο πηγής άνθρακα (350mg γλυκόζης / γλάστρα)
- 2) Προσθήκη μόνο πηγής αζώτου (35mg NH₄ NO₃/ γλάστρα)
- 3) Προσθήκη άνθρακα και αζώτου μαζί (350mg γλυκόζη και 35mg NH₄ NO₃)

Μετά την πάροδο 45 ημερών, κατά την διάρκεια των οποίων τα φυτά δέχονταν όλες τις απαραίτητες φροντίδες, όπως ζύγισμα, προσθήκη συγκεκριμένης ποσότητας νερού καθώς και απομάκρυνση των κιτρινισμένων και ξερών φύλλων, τα φυτά ξεριζώθηκαν ώστε να εξεταστεί το έδαφος για την παρουσία και τον πληθυσμό των νηματωδών, να υπολογιστεί το μήκος των ριζών και ο αριθμός των σχηματισμένων πάνω σ' αυτές φυματίων.

Αποτελέσματα

Πίνακας 2.4 Επίδραση της σχέσης C/N, της οργανικής ουσίας του εδάφους στην θηρευτική ικανότητα των μυκήτων *A.d* και *A.o* κατά των νηματωδών (*Meloidogyne*, σαπροφυτικοί, φυτοпараσιτικοί και στο σύνολό τους).

ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ	ΜΕΛΟΙΔΟΓΥΝΕ	ΣΑΠΡΟΦΥ-ΤΙΚΟΙ	ΦΥΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΚΟΙ	ΣΥΝΟΛΟ	ΜΗΚΟΣ ΡΙΖΑΣ
M. E. + <i>A. dactyloides</i>	1583 b	456 a	355 b,c,d	2397 b	220 a,b
M.E. + <i>A. dactyloides</i> + Γλυκόζη	1127 a,b	474 a	297 a,b,c,d	1899 a,b	168 a,b
M.E. + <i>A. dactyloides</i> + Αζωτο	358 a	303 a	130 a	791 a	216 a,b
M.E.+ <i>A. dactyloides</i> + Αζωτο + Γλυκόζη	1061 a,b	710 a	397 d	2168 a,b	224 a,b
M.E. + <i>A. oligospora</i>	377 a	558 a	169 a,b,c	1105 a,b	246 a,b
M.E. + <i>A. oligospora</i> + Γλυκόζη	714 a	425 a	180 a,b,c	1319 a,b	186 a,b
M.E. + <i>A. oligospora</i> + Αζωτο	869 a,b	780 a	367 c,d	2016 a,b	260 b
M.E. + <i>A. oligospora</i> + Αζωτο + Γλυκόζη	789 a,b	383 a	136 a	1307 a,b	185 a,b
Μολυσμένο Έδαφος	661 a,b	455 a	194 a,b,c	1311 a,b	114 a
M.E. + Γλυκόζη	1469 b	558 a	278 a,b,c,d	2305 b	152 a,b
M.E. + Αζωτο	1250 a,b	666 a	355 b,c,d	2271 a,b	177 a,b
M.E. + Αζωτο + Γλυκόζη	975 a,b	447 a	157 a,b	1580 a,b	147 a,b

* Αριθμοί της ίδιας στήλης που συνοδεύονται με το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Σχολιασμός των αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα του πειράματος αυτού έδειξαν πως η δράση των μυκήτων δεν ήταν αρκετά ικανοποιητική, εφ' όσον στην επέμβαση με την προσθήκη αζώτου και γλυκόζης, αλλά και σε εκείνη που δεν είχε προστεθεί τίποτα, ο πληθυσμός των νηματωδών αυξήθηκε κατά πολύ. Μόνο στην περίπτωση των επεμβάσεων i) με την καλλιέργεια *A. oligospora* και ii) με την καλλιέργεια *A. dactyloides* συν την προσθήκη αζώτου παρατηρήθηκε μείωση του πληθυσμού των νηματωδών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3^ο

ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Με τη μελέτη αυτή, η οποία αποτελεί παραλλαγή και συνέχεια μελέτης που προηγήθηκε στο Μ.Φ.Ι. (Κουτσομάρης, 2004), έγινε προσπάθεια να βρεθεί μία αποτελεσματική μέθοδος βιολογικής καταπολέμησης των νηματωδών. Πέρα από την προσπάθεια για την προστασία του περιβάλλοντος που μας οδηγεί σ' αυτή τη μελέτη, σημαντικός παράγοντας ήταν και το γεγονός πως η χημική καταπολέμηση δεν είναι αποτελεσματική, ιδιαίτερα καθώς τα τελευταία χρόνια απομακρύνονται από την αγορά, το ένα μετά το άλλο, όλα τα πιο ισχυρά νηματοκτόνα σκευάσματα. Επίσης στην καταπολέμηση με χημικά μέσα, όπως το Βρωμιούχο Μεθύλιο, η δόση θα πρέπει να είναι ισχυρή, ώστε να καταπολεμηθούν αποτελεσματικά οι νηματώδεις και τα σκευάσματα που χρησιμοποιούνται σήμερα είναι πάρα πολύ τοξικά.

Για τους παραπάνω λόγους είναι απαραίτητο να βρεθούν νέες βιολογικές μέθοδοι καταπολέμησης των νηματωδών.

Η παρούσα μελέτη βασίστηκε στο γεγονός ότι πολλά είδη μυκήτων που ανήκουν στους Φυκομύκητες ή στους *Moniliales* των *Fungi Imperfecti*, έχουν διαπιστωθεί ότι διατρέφονται επί νηματωδών. Το γεγονός αυτό δίνει ελπίδες στο να αναπτυχθεί μια βιολογική μέθοδος καταπολέμησης των φυτοпараσιτικών νηματωδών, αφού όμως απαντηθούν πολλά ερωτήματα όπως:

- Εκτός από τα γένη των μυκήτων είναι γνωστό ότι υπάρχουν κι άλλοι βιολογικοί παράγοντες στο έδαφος που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην καταπολέμηση των φυτοпараσιτικών νηματωδών.
- Ποιοι από τους ήδη υπάρχοντες θηρευτικούς μύκητες είναι οι καταλληλότεροι για να χρησιμοποιηθούν στην πράξη, δηλαδή να μπορούν να δίνουν μεγάλες ποσότητες μολύσματος με μικρό κόστος, να έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής, αντοχή σε δυσμενείς

συνθήκες, να μπορούν να επιβιώνουν και να δραστηριοποιούνται στο έδαφος για μακρό χρονικό διάστημα και να μην έχουν τυχόν παρενέργειες στην καλλιέργεια και στην οικολογική ισορροπία.

— Πως και πόσο επηρεάζεται η δράση των μυκήτων αυτών από άλλους παράγοντες όπως η χημική και μηχανική σύσταση του εδάφους, η υγρασία, η παρουσία σαπροφυτικών νηματώδων, καθώς και το χρονικό διάστημα δράσης τους.

Τα τελευταία ερωτήματα ήταν αυτά με τα οποία ασχολήθηκε η συγκεκριμένη μελέτη, η οποία πραγματοποιήθηκε σε φυσικό έδαφος που έφερε σαπροφυτικούς και φυτοπαρασιτικούς νηματώδεις του γένους *Meloidogyne*. Οι φυτοπαρασιτικοί αυτοί νηματώδεις επιλέχθηκαν διότι είναι από τα πιο διαδεδομένα είδη, προξενούν τις πιο συχνές και με οικονομικό ενδιαφέρον ζημιές σε μεγάλο εύρος φυτών-ξενιστών (Τριανταφύλλου, 1960) και η παρουσία τους καθώς και τα αποτελέσματά του παρασιτισμού των ξενιστών γίνονται εύκολα αντιληπτά και είναι μετρήσιμα λόγω του σχηματισμού των φυματίων στις ρίζες. Οι νηματώδεις αυτοί δεν είναι οι μόνοι καταστρεπτικοί στη γεωργική πράξη και υπάρχουν και άλλα γένη νηματώδων που βλάπτουν τα φυτά άμεσα ή έμμεσα (φορείς ιών), η παρουσία όμως των υπολοίπων μορφών είναι λιγότερο εμφανής.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν και φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις του είδους *Tylenchulus semipenetrans*, οι οποίοι προσβάλλουν τα εσπεριδοειδή.

Από τους θηρευτικούς μύκητες χρησιμοποιήθηκαν απομονώσεις των *A. oligospora* και *A. dactyloides*, διότι είναι γνωστό ότι οι μύκητες αυτοί παγιδεύουν και σκοτώνουν τους νηματώδεις (Dreschler 1937, Βαπτον 1977). Ένας ακόμη λόγος που χρησιμοποιήθηκαν μύκητες του γένους αυτού ήταν ότι είναι μύκητες που προέρχονται και είναι κοινοί στα ελληνικά εδάφη και έτσι θεωρήθηκε ότι αυτά τα είδη είναι προσαρμοσμένα στις δικές μας εδαφοκλιματικές και οικολογικές συνθήκες. Αν και οι μύκητες αυτοί είναι από τους πιο συχνά απαντώμενους στο έδαφος, έχουν μελετηθεί ελάχιστα στη χώρα μας και ένα ακόμη πρόβλημα που αντιμετωπίζεται για την παραγωγή εμπορεύσιμου προϊόντος, είναι η δυσκολία της διατήρησης της παραγόμενης βιομάζας ώστε να μπορέσει να διατεθεί στο εμπόριο (Stirling *et al.* 1998).

Στο πρώτο πείραμα που πραγματοποιήθηκε τα αποτελέσματα των επεμβάσεων έδειξαν πως ο μύκητας που έδρασε πιο αποτελεσματικά κι έδωσε τα

καλύτερα αποτελέσματα στην μείωση του πληθυσμού των νηματωδών του γένους *Meloidogyne* και των υπολοίπων φυτοпараσιτικών νηματωδών ήταν ο *A. oligospora*. Τα αποτελέσματα αυτά δε συμφωνούν με τα αποτελέσματα της μελέτης του Κουτσουμάρη Ιωάννη, ούτε με τα αποτελέσματα των Konkum και Gopal (1985), οι οποίοι, όπως αναφέρει ο Τσαπκούνης (1996), μετά από μια παρόμοια μελέτη, κατέληξαν στο αντίθετο συμπέρασμα, δηλαδή ότι ο *A. dactyloides* έδωσε αποτελεσματικό έλεγχο σε νηματώδεις *Meloidogyne*. Το συμπέρασμα αυτό αποτελεί πρόβλημα στην ανάπτυξη ενός πρακτικού τρόπου καταπολέμησης των νηματωδών και θα πρέπει είτε να βρεθούν άλλα στελέχη ή είδη που ενδεχομένως είναι πιο αποτελεσματικά. Το βέβαιο πάντως είναι ότι τα πειράματα πρέπει να επαναληφθούν ώστε να επιβεβαιωθούν τα ληφθέντα αποτελέσματα.

Θέλοντας να κατανοήσουμε την επίδραση του χρόνου αλλά και της ποσότητας του μύκητα που χρειάζεται για να ελέγξει τον πληθυσμό των φυτοпараσιτικών νηματωδών, ακολούθησε το δεύτερο πείραμα, τα αποτελέσματα όμως δεν ήταν αρκετά σαφή. Έπειτα από τις παρατηρήσεις που έγιναν διαπιστώσαμε πως όσο αυξάνονταν η ποσότητα και ο χρόνος παραμονής του μύκητα μέσα στο μολυσμένο από νηματώδεις χώμα, ο πληθυσμός των νηματωδών μετά τη μεγάλη μείωση που υπέστη, αρχίζει γρήγορα να αυξάνεται. Στο πείραμα αυτό δεν μπορεί να εξηγηθεί η αύξηση των πληθυσμών των νηματωδών σε διάστημα 3 και 5 ημερών, χωρίς την παρουσία ριζών. Είναι πιθανόν να συνετέλεσε το γεγονός πως μέσα στο θρεπτικό υλικό ανάπτυξης των μυκήτων υπήρχαν συστατικά τα οποία προκάλεσαν την κινητικότητα των νηματωδών, ή την εκκόλαψη των ωών.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτού του πειράματος το πρόβλημα που προκύπτει και από άλλες πρακτικές δοκιμές που έγιναν για την εφαρμογή των ιδίων μυκήτων (Al Hazmi *et al* 1988, Cabanilas & Barker 1989, Stirling *et al* 1998), είναι ότι οι ποσότητες του μολύσματος που χρησιμοποιήθηκαν ήταν αρκετά μεγάλες. Τα αποτελέσματα συμφωνούν με τους πιο πάνω ερευνητές οι οποίοι χρησιμοποίησαν ίδιες ποσότητες και είχαν και αυτοί θετικά αποτελέσματα καταπολέμησης νηματωδών.

Με το τρίτο πείραμα όπου σκοπός του ήταν να φανεί η επίδραση της υγρασίας, διαπιστώσαμε πως αυτή ήταν αρκετά σημαντική εφόσον τα αποτελέσματα έδειξαν ικανοποιητική μείωση του πληθυσμού των νηματωδών στις επεμβάσεις όπου

είχε προστεθεί νερό σε σχέση με εκείνες που η υγρασία διατηρήθηκε στα κανονικά επίπεδα. Ένας παράγοντας που έπαιξε σημαντικό ρόλο στη λήψη αυτών των αποτελεσμάτων είναι το γεγονός ότι το νερό, εφόσον υπερέβη το άριστο της εδαφικής υγρασίας που ευνοεί τους νηματώδεις, προκάλεσε τον πνιγμό ατόμων τους, δηλαδή λειτούργησε η μέθοδος της κατάκλισης.

Οι θηρευτικοί μύκητες συνεξελίχθηκαν μαζί με το θήραμά τους και έτσι μπόρεσαν να επιβιώσουν και τα δύο μέρη στο πέρασμα των γεωλογικών αιώνων διατηρώντας μια ισορροπία. Μια τέτοια ισορροπία φαίνεται ότι υπάρχει και σήμερα στα φυσικά αδιατάραχτα εδάφη όπου τόσο οι μύκητες όσο και οι νηματώδεις έχουν ως κύριο έργο την αποδόμηση της οργανικής ουσίας συμβάλλοντας ουσιαστικά στον κύκλο του άνθρακα και των λοιπών στοιχείων.

Οι μύκητες του γένους *Arthrobotrys* είναι στην πλειοψηφία τους κυρίως σαπροφυτικοί και «ευκαιριακοί» σαρκοφάγοι, παράγοντας τις παγίδες τους μόνο όταν υπάρχουν νηματώδεις πλησίον. Παγιδεύουν κυρίως σαπροφυτικούς νηματώδεις χωρίς όμως να τους εξαλείφουν εντελώς αλλά φροντίζοντας να διατηρείται δυναμική ισορροπία στους δύο πληθυσμούς, πιθανόν ώστε να υπάρχει πάντα διαθέσιμη τροφή. Οι ερευνητές πιστεύουν πως σε εδάφη που είναι πλούσια σε οργανική ουσία, η τελευταία αυξάνει τους πληθυσμούς των σαπροφυτικών βακτηρίων και των νηματωδών που τρέφονται από αυτά με αποτέλεσμα να αυξάνει και ο πληθυσμός των μυκήτων που παγιδεύουν νηματώδεις (Jaffee *et al*, 1998). Αυτή η άποψη συμφωνεί με τα αποτελέσματα του τέταρτου πειράματος, όπου ο πληθυσμός των νηματωδών, δε μειώθηκε στις επεμβάσεις όπου είχε προστεθεί άνθρακας και γλυκόζη αλλά αντίθετα ο πληθυσμός των νηματωδών αυξήθηκε σημαντικά.

Με τα παραπάνω γίνεται εμφανές το πρόβλημα που υπάρχει στην προσπάθεια να χρησιμοποιηθούν θηρευτικοί μύκητες στην καταπολέμηση φυτοпараσιτικών νηματωδών, καθώς όπως φαίνεται οι μύκητες θα πρέπει να αναπτυχθούν σε τέτοιο περιβάλλον που να τους επιτρέπει την προσαρμογή τους στο έδαφος.

Ακόμη οι νηματώδεις μπορούν να προκαλέσουν στα φυτά μολύνσεις, μεταφέροντας διάφορες ιώσεις ή άλλες ασθένειες που μεταδίδονται κατά τον παρασιτισμό τους και οι οποίες μπορεί να αποδειχθούν πιο καταστρεπτικές από τους ίδιους τους νηματώδεις. Για τους νηματώδεις φορείς ιώσεων μία μέθοδος καταπολέμησης που βασίζεται στην θηρευτική ικανότητα των μυκήτων δεν μπορεί να

είναι αρκετά αποτελεσματική, διότι στην περίπτωση αυτή χρειάζεται εξάλειψη όλων των μολυσμένων ατόμων και όχι απλώς μείωση του πληθυσμού τους που επιτυγχάνεται με μια τέτοια μέθοδο γιατί πάντα θα απομένουν έστω και λίγα άτομα μολυσμένα με τον ιό. Στην περίπτωση νηματωδών φορέων ιών οι λύσεις που εξακολουθούν να είναι οι μόνες αποτελεσματικές είναι η αλλαγή της καλλιέργειας ή η χρήση ποικιλιών ανθεκτικών στους ιούς.

Η χρήση θηρευτικών μυκήτων είναι πιο πιθανόν να δώσει θετικά αποτελέσματα στην περίπτωση που επιδιώκουμε να μειώσουμε τους πληθυσμούς των φυτοпараσιτικών νηματωδών σε επίπεδα που πρακτικά δεν αποτελούν πρόβλημα για την παραγωγή.

Μία άλλη δυνατότητα χρησιμοποίησής τους αφορά τις καλλιέργειες σε τεχνητά υποστρώματα όπου οι συνθήκες κάτω από τις οποίες αναπτύσσονται οι ρίζες είναι τεχνητές και σε αρκετά μεγάλο βαθμό ελεγχόμενες. Η εκμετάλλευση των μυκήτων αυτών σε τέτοια γεωργικά συστήματα φαίνεται πιο ρεαλιστική, απ' ότι στην εφαρμογή στον αγρό.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- AL – HAZMI, A.S. (1981).** Population dynamic of *Meloidogyne incognita* on corn grown in soil infested with *Arthrobotrys conoides*. *Journal of Nematology* 14(1): 44-49.
- ANONYMOUS (2004).**
<http://www.rothamsted.bbc.ac.uk/ppi/pcn.../mellifecycleanim.ht>. Nematode Interaction Unit, Rothamsted Research.
- BANASZEK, H., WRONKOWSKA, H., CYRANOWICZ, H. and KOPA, M. (1990).** Fungi occurring in sugarbeet nematode cysts from sugarbeet cultivation with a two yearly rotation. 391: 15-23.
- BARRON, G.L. (1969).** Isolation and maintenance of endoparasitic nematophagous Hyphomycetes. *Canadian Journal of Botany* 47:1899-1901.
- BIRCH, A.N.E., ROBERTSON, W.E. and FELLOWS, L.E. (1993).** Plant products to control plant parasitic nematodes. *Pesticide sci.*39: 141-145.
- BROWN, E.B. (1965).** Cultural and biological control. In : Plant Nematology. (Ed) Southey, J. Techn. Bull. Min. Agr. Fish. Food . London. 2nd ed. 7, pp.219-237.
- CABANILLAS, E., BARKER, K.R., DAYKIN, M.E. (1988).** Histology of the interaction of *Paecilomyces lilacinus* with *Meloidogyne incognita* on tomato. *Journal of Nematology* 20 (3): 362-365.
- CHITWOOD, B.G. (1957).** The English word "Nema". Revised. *Systemic Zoology*, 6: 184-186.
- CHRISTIE, J.R. (1959).** Plant nematodes their bionomics and control. Florida Agric. Exp. Sth.: 256.
- COBB, N.A., (1919).** The orders and classes of nemas. No Viii: 213-216.
- CROFTON, N.D., (1971).** Form, function, and behavior. In plant parasitic nematodes. Vol. 1: 83-113.
- DAO, F., OOSTENBRINK, M. and VIETS, H.A. (1970).** A list of nematode surveys made for agricultural purposes. No 415: 84.
- DAVIS, J.R. (1991).** Soil solarization: pathogen and disease control and increase in crop yield and quality: short – and long term effects and integrated control. pp. 39-50.
- DRESHLER, C. (1937).** Some hyphomycetes that prey on free living terricolous nematodes. *Mycologia* 29: 464-487.
- FIELDING, M.J. (1951).** *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 18: 110-112.
- FILIPJEV, I.N., and SCHUURMAS STEKHOVEN, J.H. (1959).** A manual of Agricultural Helminthology. Leiden, E.J. Brill.: 878.
- GOWEN, S.R. and TZORTZAKAKIS, E.A. (1994).** Biological control of *Meloidogyne* spp. with *Pasteuria penetrans*. Bull 24: 495-500.
- ΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ, Α.Γ., (1999).** Φυτοπροστασία Ι, στοιχεία φυτοπαθολογίας. Σελ.23-44. Εκδόσεις ΤΕΙ Καλαμάτας 209σ.
- JAFFEE, B.A., FERRIS, H., SCOW, K.M. (1998).** Nematode-trapping fungi in organic and conventional cropping systems. *Phytopathology* 88: 344-350.

- KATAN, J. (1981).** Solar heating (solarization) of soil for control of soil borne pests. *Annual Review Phytopathology* 19: 211-236.
- KERRY, B.R., CRUMP, D.H., and MULLER, L.A. (1980).** Parasitic fungi, soil moisture and multiplication of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae*. *Nematologica* 26: 57-68.
- KERRY, B.R., CRUMP, D.H. and MULLER, L.A. (1982).** Natural control of the cereal cyst nematode *Heterodera avenae* Woll, by soil fungi at three sites. *Crop protection* 1: 99-109.
- KERRY, B.R., CRUMP, D.H., IRVING, E., and HORNEY, J.C. (1985).** Biological control of cyst nematodes. Part 1: 119-120.
- KERRY, B.R., LEU, F.A.A. MDE (1992).** Key factors in the development of gungal agents for the control of cyst and root-knot nematodes. London, UK; Plenum Publ. Co. Ltd. pp139-144.
- ΚΟΛΙΟΠΑΝΟΣ, Ν.Κ. (1999).** Φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις σκώληκες. Βιολογία-Φυσιολογία- Γενετική ταξινόμηση και παθογένεση επί φυτών – Τρόποι αντιμετώπισης. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, 136σ.
- ΚΟΥΓΕΑΣ, Β.Σ. (1960).** Νηματοκτόνοι μύκητες από ελληνικά εδάφη. *Γεωπονικά* 69. σελ. 138-140.
- ΚΟΥΤΣΟΥΜΑΡΗΣ, Ι. (2004).** Πτυχιακή Εργασία. Συμβολή στη μελέτη και αξιοποίηση της θηρευτικής ικανότητας μυκήτων του γένους *Arthrobotrys* για την καταπολέμηση φυτοπαθογόνων νηματωδών.
- ΚΥΡΟΥ, Ν.Χ., (1979).** Ζημιά επί της φυτικής παραγωγής από προσβολές φυτοπαρασιτικών νηματωδών. Γεωργική έρευνα Υπουργείο Γεωργίας. Τ.3:416-422.
- ΚΥΡΟΥ, Ν.Χ. (2004).** Φυτοπαρασιτικοί Νηματώδεις. Εκδόσεις Αγρότοπος. 417σ.
- LANGE, W., JUNG, CHR. and HEIJBROEK (1990).** Transferer of beet cyst nematode resistance from Beta species of the section patellares to cultivated beet. 53rd Winter congress. Intern. Inst. for sugar beet research. Bruxelles pp.89-102.
- LEU, F.A.A. M.DE., KERRY, B.R., and DANNEHY, J.A. (1993).** Verticillium chlamidosporium as a biological control agent for *Meloidogyne incognita* and *M. halpa* in pot and microplot tests. *Nematologica* 39: 115-126.
- MATTEONI, J., ELLIOT, D., CAHN, D., RAVENSBERG, W.J. and DISSEVELT, M. (1993).** Chemical effect on greenhouse biological control agents. *Grower Talks* 57: 81-85.
- ΜΠΑΛΗΣ, Κ. (1980).** Σημειώσεις στο μάθημα της μικροβιολογίας. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.
- NIGH, E.A., THOMASON, I.J. and VAN GUNDY, S.D. (1980).** Identification and distribution of fungal parasites of *Heterodera Schachtii* eggs in California. *Phytopathology* 70: 884-889.
- PARACER, S.M., BRZESKI, M.W. and ZUCKERMAN, B.M. (1966).** Nematophagous and predeceous nematodes associated with cranberry soil in Massachusetts. *Plant Disease Reporter*.50: 584-586.
- PITCHER, R.S. (1965).** Inerrelationships of nematodes and other pathogens of plant. *Helmnithological Abstracts* 34: 1-17.
- ΠΟΛΥΧΡΟΝΟΠΟΥΛΟΣ, Α.Γ. (1970).** Οι φυτοπαρασιτικοί νηματώδεις σκώληκες. Το πρόβλημα και η οικονομική σημασία αυτού. *Γεωπονικά* Τ. σελ. 93-96,188-189.

- POWELL, N.T. (1971).** Interaction of plant parasitic nematodes with other disease – causing agents. In: Plant Parasitic nematodes. Vol II pp119-135.
- QADRI, A.N. and SALEH, H.M. (1990).** Fungi associated with *Heterodera schachtii* (Nematoda) in Jordan II. Effect on *H. schachtii* and *Meloidogyne javanica*. *Nematologica* 36: 104-113.
- ROBERTS, P.A., THOMASON, I.J. and MCKINNEY, H.E. (1981).** Influence of non hostscrucifers and fungal parasites of field populations of *Heterodera schachtii*. *Journal of Nematology*. 13: 164-171.
- STIRLING, G.R., SMITH, I.J., LICASTRA, K.A. and EDEN.I.M. (1998).** Control of root- knot nematodes with formulation of the nematode trapping fungus. *Arthrobotrys dactyloides*. *Biological Control* 11: 224-230.
- STORER, T.I. and USINGER, R.L. (1965).** *General Zoology*. Mc Craw-Hill Book Co σελ.741.
- TAYLOR, A.L. (1953).** More about the control of nematodes. Year Book Separate No 2416: 129-134.
- THORNE, G. (1961).** Principles of Nematology. New York, Mc Graw- Hill Book Co pp 553.
- TRIANTAPHYLLOU, A.C. (1960).** Sex determination in *Meloidogyne incognita*. Chitwood, 1949 and intersexuality in *M. javanica* (Treub, 1885) Chitwood, 1949. *Annul Review Institute Phytopathology Benaki, N.S.*, 3: 12-31.
- ΤΣΑΠΙΚΟΥΝΗΣ, Φ.(1996).** Βιολογική και ολοκληρωμένη καταπολέμηση στο θερμοκήπιο. Εκδόσεις Σταμούλης.
- TYLER, J. (1933).** Reproduction without males in aseptic root cultures of the root-knot nematode. *Hilgardia*, 7: 373-388.
- WAGN, Z. and 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.
- WALLACE, H.R. (1963).** The biology of plant parasitic nematodes. Endward Arnold (Publ.) Ltd. pp.280.
- WHITEHEAD, A., NICHOLS, A. and JUSTIN SENIOR (RES) (1991).** Integrated pest management in plant parasitic nematodes. Long Ashton Brooms AFRC. IACR. Report 1991 pp.49-50.
- ZAKI, M.J., MAGBOOL, M.A. (1990).** Effect of *Pasteuria penetrans* and *Paecilomyces lilacinus* on the control of root- knot nematodes of brinjal and mung. *Pakistan Journal of Nematology* 2: 37-42