



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ

---

ΔΙΑΤΜΗΜΑΤΙΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ:

ΑΓΡΟΧΗΜΕΙΑ – ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΣΤΗ ΖΩΙΚΗ ΚΑΙ ΦΥΤΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ /  
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΑ ΦΥΤΑ

Σχολή: Θετικών Επιστημών

Τμήμα: Χημείας

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Θέμα:

« *In vitro* διερεύνηση αντιμυκωτικών δράσεων αιθέριων  
ελαίων αρωματικών φυτών »



Παπαντζίκος Βασίλειος



UNIVERSITY OF IOANNINA

POSTGRADUATE STUDY PROGRAMME:

AGROCHEMISTRY – APPLICATIONS IN PLANT AND ANIMAL  
PRODUCTION / PHARMACEUTICAL PLANTS

School of Sciences

Department of Chemistry

MASTER'S THESIS

Subject:

**« *In vitro* study of antifungal effects of essential oils from  
aromatic plants »**



Papantzikos Vasileios

Ioannina 2020

Επιβλέπων:

**Πατακιούτας Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων**

Θέμα:

« *In vitro* διερεύνηση αντιμυκητωτικών δράσεων αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών »

**ΟΡΙΣΜΟΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ :**

1. **Λέκκα Μαρία-Ελένη, Καθηγήτρια, Τμήμα Χημείας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων**
2. **Καριπίδης Χαράλαμπος, Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων**
3. **Πατακιούτας Γεώργιος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Τμήμα Γεωπονίας, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων**

Έγγκριση Μεταπτυχιακής Διπλωματικής Διατριβής με βαθμό «Άριστα» (10) στις 02/06/2020

Η Πρόεδρος του Τμήματος Χημείας  
Λουλούδη Μαρία, Καθηγήτρια

Η Γραμματέας του Τμήματος  
Τουτουνζόγλου Ξανθή



© Βασίλειος Παπαντζίκος, 2020

« Η έγκριση της μεταπτυχιακής αυτής διτριβής από το Τμήμα Χημείας της Σχολής Θετικών Επιστημών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα  
Νόμος 5343/32, άρθρο 202, παράγραφος 2 »

## Ευχαριστίες

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που μου στάθηκαν κατά τη διάρκεια των μεταπτυχιακών μου σπουδών στα Ιωάννινα μέσα από την ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας μου.

Οφείλω να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της μεταπτυχιακής μου διατριβής κύριο Γεώργιο Πατακιούτα Καθηγητή της σχολής ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ του ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ, για την αμέριστη συμπαράσταση του, αλλά και για τις πολύτιμες συμβουλές πάνω στα θέματα φυτοπροστασίας καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της διατριβής.

Οφείλω επίσης να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στα μέλη της τριμελούς επιτροπής, που με τη συμμετοχή τους με υποστήριξαν σε αυτή μου τη προσπάθεια.

Η παρασκευή των αιθέριων ελαίων πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της Διδακτορικής Διατριβής της Δρ. Παρασκευή Υφαντή, που εκπονήθηκε στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, υπό την επίβλεψη της Καθηγήτριας κ. Μ.Ε. Λέκκα.

Για τον λόγο αυτό θα ήθελα να απευθύνω τις ευχαριστίες μου στο Εργαστήριο Αρωματικών - Φαρμακευτικών φυτών και να ευχαριστήσω θερμά τη κυρία Παρασκευή Υφαντή Εργαστηριακό Διδακτικό Προσωπικό της σχολής ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ του ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ, για τη παραχώρηση των αιθέριων ελαίων που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές. Η συμβολή της ήταν εξαιρετικά σημαντική καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διατριβής και ο χρόνος που διέθεσε κατά την εκπαίδευση μου στις *in vitro* τεχνικές και η καθοδήγηση που μου προσέφερε, με βοήθησαν να φτάσω στην ολοκλήρωση αυτής μου της προσπάθειας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω το διαπιστευμένο Εργαστήριο Ταυτοποίησης Φυτοπαθολόγων Μυκήτων και Βακτηρίων και το Εργαστήριο Φυτοϋγείας του τμήματος ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ του ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟΥ ΙΩΑΝΝΙΝΩΝ, όπου υλοποιήθηκε το εργαστηριακό κομμάτι της διατριβής.

Επιπλέον θα ήθελα να εκφράσω την ιδιαίτερη εκτίμηση μου στον Δρ. Γεώργιο Κ. Παπαδόπουλο για τη σημαντική καθοδήγηση που μου προσέφερε κατά την ετυμολογική ερμηνεία ορισμένων χημικών όρων.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου που με υποστήριξαν ηθικά καθ' όλη τη διάρκεια των μεταπτυχιακών σπουδών μου.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στη παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή διερευνήθηκε *in vitro* η αντιμυκητική δράση των πτητικών συστατικών ορισμένων αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών της οικογένειας *Lamiaceae*: *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla*, *Coridothymus capitatus*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* και *Salvia triloba* στους φυτοπαθογόνους μύκητες: *Fusarium solani* και *Alternaria alternata* που προσβάλλουν τα εμπορικά σημαντικά προϊόντα της πατάτας και της τομάτας.

Αρχικά αναζητήθηκαν οι προσβολές από τους φυτοπαθογόνους μύκητες *F. solani* και *A. alternata* σε εμπορεύσιμα προϊόντα φυτών της οικογένειας *Solanaceae* (κόνδυλοι πατάτας, καρποί τομάτας). Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες απομονώθηκαν, ταυτοποιήθηκαν και καλλιέργειές τους χρησιμοποιήθηκαν σε *in vitro* δοκιμές για τον έλεγχο της επίδρασης των αιθέριων ελαίων στη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων (υποκαπνιστική δράση).

Σύμφωνα με προηγούμενα αποτελέσματα αεριοχρωματογραφικής ανάλυσης (GC-MS), το αιθέριο έλαιο του αρωματικού φυτού *S. triloba* ανήκει στον χημειότυπο της 1,8 κινεόλης, ενώ τα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών: *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, *C. capitatus* και *O. vulgare* subsp. *hirtum*, ανήκουν στο χημειότυπο της καρβακρόλης. Για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων των 3 αιθέριων ελαίων που ανήκουν στο χημειότυπο της καρβακρόλης χρησιμοποιήθηκε ως θετικός μάρτυρας η καρβακρόλη.

Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών έδειξαν μετά από 8 ημέρες ότι τα αιθέρια έλαια *C. capitatus*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* και *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, ανέστειλαν πλήρως τη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων μυκήτων *F. solani* και *A. alternata*, ενώ το αιθέριο έλαιο του *S. triloba*, ανέστειλε σημαντικά την μυκηλιακή ανάπτυξη των δύο φυτοπαθογόνων μυκήτων κατά δόσοεξαρτώμενο τρόπο. Η αντιμυκητική δράση των αιθέριων ελαίων χαρακτηρίστηκε ως μυκοστατική σε όλες τις συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν και για τα δύο φυτοπαθογόνα. Η MIC (ελαχιστη συγκέντρωση αναστολής της μυκηλιακής ανάπτυξης) της καρβακρόλης και των αιθέριων ελαίων *C. capitatus* και *O. vulgare* subsp. *hirtum*, υπολογίστηκαν σε 34.9  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα για το *F. solani* και σε 52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα για το *A. alternata* ενώ η MIC του αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, υπολογίστηκε σε 52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα για το *F. solani* και σε 87.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα για το *A. alternata*. Το EC50 υπολογίστηκε στη περίπτωση του αιθέριου ελαίου *S. triloba* σε 471.6  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα για το *F. solani* και σε 751.2  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα για το *A. alternata*. Ο θετικός μάρτυρας (καρβακρόλη) διαπιστώθηκε ότι διαθέτει μυκοστατική δράση στο *F. solani* στις συγκεντρώσεις 34.9 – 52.4 – 69.9  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα και μυκοτοξική στις συγκεντρώσεις 87.4 – 104.8 – 122.2  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα ενώ η δράση στο *A. alternata* ήταν μυκοστατική σε όλες τις συγκεντρώσεις. Η αντιμυκητική δράση των πλούσιων σε καρβακρόλη αιθέριων ελαίων του *O. vulgare* subsp. *hirtum*, *C. capitatus* και *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, ήταν αποτελεσματικότερη από το χημειότυπο 1,8 κινεόλη του *S. triloba* (L.) και στα δύο φυτοπαθογόνα. Τα πλούσια σε καρβακρόλη αιθέρια έλαια ανέστειλαν περισσότερο αποτελεσματικά τη μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* συγκριτικά με το *A. alternata*.

**Λέξεις κλειδιά:** Αιθέρια έλαια, καρβακρόλη, *Coridothymus capitatus*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla*, *Salvia triloba*, αντιμυκητική δράση, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata*.

## ABSTRACT

In the present master's thesis was studied *in vitro* the antifungal effect of the volatile compounds of essential oils from aromatic plants of the *Lamiaceae* family: *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla*, *Coridothymus capitatus*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* and *Salvia triloba* on two phytopathogenic fungi: *Fusarium solani* and *Alternaria alternata*, which among others can cause post-harvest diseases.

Initially, infected plant products of the family *Solanaceae* (potato tubers, tomato fruits), from the phytopathogenic fungi *F. solani* and *A. alternata*, were searched on the marketplace. The phytopathogenic fungi were isolated, identified and their cultures used in *in vitro* assays to test the effect of essential oils in the mycelial growth of the phytopathogens (fumigant effect).

According to previous results of gas chromatographic analysis, the essential oil of the aromatic plant *S. triloba* belongs to the 1,8 cineole chemotype, while the essential oils of the aromatic plants: *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, *C. capitatus* and *O. vulgare* subsp. *hirtum*, belong to the carvacrol chemotype. Carvacrol was used as a positive control to evaluate the effects of the 3 essential oils belonging to the carvacrol chemotype.

The results of the bioassays showed after 8 days that the essential oils *C. capitatus*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* and *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, completely inhibited the mycelial growth of the phytopathogenic fungi *F. solani* and *A. alternata*, whereas the essential oil of *S. triloba* significantly inhibited the mycelial growth of the two phytopathogenic fungi in a dose dependent manner. The antifungal effect of the essential oils was characterized as mycostatic at all concentrations used for both of the phytopathogens. The MIC (Minimum Inhibitory Concentration) of carvacrol and essential oils of *C. capitatus* and *O. vulgare* subsp. *hirtum* were calculated in 34.9  $\mu\text{L L}^{-1}$  air for *F. solani* and 52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  air for *A. alternata*, while the MIC of the essential oil *S. horvatii* ssp. *macrophylla* was calculated at 52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  air for *F. solani* and 87.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  air for *A. alternata*. EC50 was calculated in the case of *S. triloba* essential oil in 471.6  $\mu\text{L L}^{-1}$  air for *F. solani* and 751.2  $\mu\text{L L}^{-1}$  air for *A. alternata*. The positive control (carvacrol) was found to have mycostatic effect in *F. solani* at concentrations of 34.9 - 52.4 - 69.9  $\mu\text{L L}^{-1}$  air and mycotoxic effect at concentrations of 87.4 - 104.8 - 122.2  $\mu\text{L L}^{-1}$  air, while the effect in *A. alternata* was found to have mycostatic effect at all concentrations. The antifungal effect of carvacrol-rich essential oils of *O. vulgare* subsp. *hirtum*, *C. capitatus* and *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, was more effective than the chemotype 1,8 cineole of *S. triloba* (L.) in both phytopathogens. Carvacrol-rich essential oils inhibited the mycelial growth of *F. solani* more effectively than *A. alternata*.

**Keywords:** Essential oils, carvacrol, *Coridothymus capitatus*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla*, *Salvia triloba*, antifungal effect, *Fusarium solani*, *Alternaria alternata*.





## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

Ευχαριστίες.....	- 8 -
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	- 9 -
ABSTRACT.....	- 10 -
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	- 15 -
Κεφάλαιο: 1 <sup>ο</sup> .....	- 17 -
1. Θεωρητικό μέρος.....	- 19 -
1.1. Αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών .....	- 19 -
1.1.1. Ο ρόλος των δευτερογενών μεταβολιτών που βιοσυνθέτουν τα φυτά .....	- 20 -
1.1.1.1. Τερπένια .....	- 21 -
1.2. Η οικογένεια <i>Lamiaceae (Labiatae)</i> .....	- 27 -
1.2.1. Υποοικογένεια <i>Stachyoideae</i> .....	- 28 -
1.2.1.1. <i>Satureja horvatil ssp. macrophylla</i> .....	- 28 -
1.2.1.2. <i>Coridothymus capitatus</i> .....	- 30 -
1.2.1.3. <i>Origanum vulgare subsp. hirtum</i> .....	- 32 -
1.2.1.4. <i>Salvia triloba</i> .....	- 34 -
1.2.2. Καρβακρόλη & Θυμόλη: κυρίαρχα συστατικά της οικογένειας <i>Lamiaceae</i> .....	- 36 -
1.3. Φυτοπαθογόνοι μύκητες.....	- 37 -
1.3.1. <i>Fusarium</i> sp.....	- 37 -
1.3.2. <i>Alternaria</i> sp.....	- 41 -
1.4. Αναφορά στις βιολογικές δράσεις αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών .....	- 45 -
1.4.1. Η αξιοποίηση των αρωματικών φυτών και των αιθέριων ελαίων τους στη φυτοπροστασία- 45 -	
1.4.1.1. Αντιμικροβιακή δράση .....	- 47 -
1.4.1.1.1. Αντιμυκωτική δράση.....	- 47 -
1.4.1.1.2. Η χρήση των αιθέριων ελαίων στην αντιμετώπιση φυτοπαθογόνων μυκήτων .....	- 48 -
1.5. Σκοπός διατριβής.....	- 51 -
Κεφάλαιο: 2 <sup>ο</sup> .....	- 53 -
2. Εργαστηριακό μέρος.....	- 55 -
2.1. Υλικά και μέθοδοι.....	- 55 -
2.2. Βιοδοκιμές σε φυτοπαθογόνους μύκητες.....	- 58 -
2.3.1. Απομόνωση και καλλιέργεια φυτοπαθογόνων μυκήτων.....	- 58 -
2.3.1.1. Ταυτοποίηση φυτοπαθογόνων μυκήτων .....	- 59 -
2.3.1.1.1. Διατήρηση φυτοπαθογόνων μυκήτων .....	- 59 -

2.3.2. Μέθοδος εκτίμησης της επίδρασης των πτητικών ενώσεων.....	59 -
2.3.3. Στατιστική ανάλυση.....	61 -
Κεφάλαιο: 3 <sup>ο</sup> .....	63 -
3. Αποτελέσματα βιοδοκιμών σε φυτοπαθογόνους μύκητες.....	65 -
3.1. Αποτελέσματα απομόνωσης και καλλιέργειας φυτοπαθογόνων μυκήτων .....	65 -
3.1.1. <i>Fusarium solani</i> .....	65 -
3.1.2. <i>Alternaria alternata</i> .....	66 -
3.2. Αποτελέσματα επίδρασης των πτητικών ενώσεων των αιθέριων ελαίων <i>in vitro</i> (αντιμυκητική δράσης).....	67 -
3.2.1. Βιοδοκιμή 1 <sup>η</sup> : <i>Fusarium solani</i> .....	67 -
3.2.1.1. Επίδραση του αιθέριου ελαίου του <i>S. triloba</i> στο <i>F. solani</i> .....	67 -
3.2.1.2. Επίδραση αιθέριου ελαίου του <i>S. horvatii</i> ssp. <i>macrophylla</i> στο <i>F. solani</i> .....	70 -
3.2.1.3. Επίδραση αιθέριου ελαίου του <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> στο <i>F. solani</i> .....	73 -
3.2.1.4. Επίδραση αιθέριου ελαίου του <i>C. capitatus</i> στο <i>F. solani</i> .....	75 -
3.2.1.5. Επίδραση της Καρβακρόλης στο <i>F. solani</i> .....	77 -
3.2.2. Βιοδοκιμή 2 <sup>η</sup> : <i>Alternaria alternata</i> .....	79 -
3.2.2.1. Επίδραση αιθέριου ελαίου του <i>S. triloba</i> στο <i>A. alternata</i> .....	79 -
3.2.2.2. Επίδραση αιθέριου ελαίου του <i>S. horvatii</i> ssp. <i>macrophylla</i> στο <i>A. alternata</i> .....	82 -
3.2.2.3. Επίδραση αιθέριου ελαίου του <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> στο <i>A. alternata</i> .....	85 -
3.2.2.4. Επίδραση αιθέριου ελαίου του <i>C. capitatus</i> στο <i>A. alternata</i> .....	87 -
3.2.2.5. Επίδραση της Καρβακρόλης στο <i>A. alternata</i> .....	89 -
Κεφάλαιο: 4 <sup>ο</sup> .....	92 -
4. Συζήτηση.....	94 -
4.1. Χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων .....	94 -
4.2. Βιοδοκιμές.....	94 -
4.2.1. Η επιλογή της μεθόδου .....	94 -
4.2.2. Βιοδραστικότητα των αιθέριων ελαίων στα επιλεγμένα φυτοπαθογόνα.....	95 -
4.2.2.1. Αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου <i>S. triloba</i> .....	95 -
4.2.2.2. Αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου <i>S. horvatii</i> ssp. <i>macrophylla</i> .....	96 -
4.2.2.3. Αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου <i>O. vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> .....	97 -
4.2.2.4. Αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου <i>C. capitatus</i> .....	98 -
4.2.2.5. Αντιμυκητική δράση της καρβακρόλης .....	99 -
4.3. Περαιτέρω έρευνα – προτάσεις.....	100 -
4.3.1. <i>Salvia triloba</i> .....	100 -
4.3.2. Αιθέρια έλαια με χημειότυπο: Καρβακρόλη .....	100 -
4.3.2.1. <i>Satureja horvatii</i> ssp. <i>macrophylla</i> .....	100 -

4.3.2.2. <i>Coridothymus capitatus</i> και <i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i> .....	- 101 -
4.4. Συμπεράσματα.....	- 102 -
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	- 104 -
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	- 107 -

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η αναζήτηση εναλλακτικών φυτοπροστατευτικών μέσων παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον και είναι ένα πεδίο που πρόκειται να ανταποκριθεί στις μελλοντικές απαιτήσεις της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας.

Η αλόγιστη χρήση αγροχημικών σκευασμάτων στην καθημερινή γεωργική πρακτική, είχε ως αποτέλεσμα την εμφάνιση δυσμενών περιβαλλοντικών επιδράσεων. Στον αντίποδα η αξιοποίηση εκλεκτικών φυτοπροστατευτικών ουσιών δεν συνεπάγεται την υπολειμματικότητα τους και από μελέτες που έχουν πραγματοποιηθεί, θεωρούνται ουσίες μη τοξικές για το περιβάλλον. Πλεονεκτήματα όπως αυτά εμφανίζονται στις πτητικές ενώσεις που περιέχονται στα αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών, όπως στα μονοτερπένια τα οποία χαρακτηρίζονται από τη μειωμένη υπολειμματική διάρκεια στο έδαφος λόγω της υψηλής τους πτητικότητας, ή μη έκπτυξης τους στα υπόγεια ύδατα και από τη χαμηλή τους τοξικότητα στα θηλαστικά (*Isman 2000*).

Οι πτητικές ενώσεις των αιθέριων ελαίων εμφανίζουν εμπορικό ενδιαφέρον στη βιομηχανία αγροχημικών για φυτοπροστατευτικούς σκοπούς και στη φαρμακευτική βιομηχανία (*Bakkali et al., 2007*) και δικαιολογημένα έχουν χαρακτηριστεί από πολλούς ερευνητές ως αποτελεσματικά συστατικά (*Zareii et al., 2014*), αφού αν αξιοποιηθούν μπορούν να καλύψουν έναν σημαντικό προβληματισμό της γεωργίας: τη στοχευμένη αντιμετώπιση των φυτοπαθογόνων. Τα κυρίαρχα σε περιεκτικότητα συστατικά των αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* όπως η καρβακρόλη εμφανίζουν σημαντική αντιμυκητική δράση σε φυτοπαθογόνα όπως τα *Fusarium sp.* και *Alternaria sp.* (*Arras & Grella 1992 · Arras & Usai 2001*). Επιπλέον τα αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών μπορούν να συμβάλουν σημαντικά στην αντιμετώπιση των μετασυλλεκτικών σήψεων προκαλούμενες από φυτοπαθογόνους μύκητες (*Neri et al., 2010*), ενώ όταν συνδυαστούν, μπορούν να παρουσιάσουν υψηλή αντιμυκητική δράση (*Nikkhaha et al., 2017*).

Τα αποτελέσματα *in vitro* βιοδοκιμών αιθέριων ελαίων σε παθογόνους μικροοργανισμούς είναι αρκετά ενθαρρυντικά για τη συνέχιση αυτού του σκοπού *in vivo*. Η απαγόρευση της χρήσης πολλών συμβατικών φυτοπροστατευτικών ουσιών, είχε ως αποτέλεσμα την εύρεση εναλλακτικών μέσων φυτοπροστασίας. Στα περισσότερα εμπορικά σημαντικά φυτικά είδη έχουν μελετηθεί οι βιολογικές δράσεις αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών, με αποτέλεσμα να μειωθούν σε πολύ σημαντικό βαθμό, προβλήματα όπως οι μετασυλλεκτικές σήψεις που αλλοιώνουν τη ποιότητα των καρπών των προϊόντων και κατά συνέπεια τα καθιστούν μη εμπορεύσιμα. Η προσπάθεια εύρεσης αντιμικροβιακών παραγόντων στα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών δεν περιορίζεται μόνο στη μελέτη των συνεργιστικών βιολογικών δράσεων που παρουσιάζουν στη φυτοπροστασία, αλλά επεκτείνεται και στην έρευνα και για τη βιοδραστικότητα τους στην αντιμετώπιση σοβαρών προβλημάτων της ανθρώπινης υγείας (*Balunas & Kinghorn 2005*).



*Κεφάλαιο: 1<sup>ο</sup>*  
**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ**





## 1. Θεωρητικό μέρος

### 1.1. Αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών

Τα αιθέρια έλαια είναι πτητικά, πολυσύνθετα μίγματα πολλών διαφορετικών ενώσεων, που χαρακτηρίζονται από έντονη οσμή και γεύση και παράγονται από αρωματικά φυτά ως δευτερογενείς μεταβολίτες (Bakkali et al., 2007 · Edris 2007). Τα αιθέρια έλαια αποτελούνται κυρίως από μικρού μοριακού βάρους τερπένια (ακόρεστους υδρογονάνθρακες), μονοτερπένια και σесκιτερπένια ενώ σε μικρότερη ποσότητα διτερπένια ή αλκοόλες και κετόνες με παρόμοιους δομικούς σκελετούς (Samuelsson 1996). Δεδομένου ότι είναι πτητικές ενώσεις, τα μόριά τους εξατμίζονται εύκολα και διασκορπίζόμενα στον ατμοσφαιρικό αέρα, έρχονται σε επαφή με τα όργανα όσφρησης, τα οποία και διεγείρουν. Προκαλούν έτσι, συνήθως μια ευχάριστη αίσθηση χαρακτηριστική για το κάθε είδος. Πρόκειται ουσιαστικά για χημικές πτητικές ενώσεις, οι οποίες συγκεντρώνονται σε ειδικά κύτταρα, που λειτουργούν ως φυσικοί αποθηκευτικοί χώροι και χρησιμοποιούνται από το ίδιο το φυτό για την προστασία του, την προσαρμοστικότητα του σε αντίξοες συνθήκες ανάπτυξης όπως η θερμοκρασία κ.ά. (Gooch 2011 · Πολυσίου 2002).

Η απόδοση των φυτών σε αιθέριο έλαιο καθώς και η χημική τους σύσταση καθορίζεται, από ένα πλήθος παραγόντων όπως το υψόμετρο, το έδαφος, η γεωγραφική θέση, το κλίμα και η εποχιακή διακύμανση (εδαφοπεριβαλλοντικοί παράγοντες), το στάδιο ανάπτυξης των οργάνων (καρποί, φύλλα, άνθη), το γονότυπο (Stahl-Biskup & Saez 2002), το μέρος του φυτού (π.χ. άνθη), το εκκριτικό όργανο που παράγει τα αιθέρια έλαια (π.χ. αδενικές τρίχες) και τέλος οι χημικές και μηχανικές βλάβες. Τη σύσταση του αιθέριου ελαίου και επομένως τη βιοδραστητικότητα του μπορούν να επηρεάσουν ο χρόνος και η ώρα συλλογής του φυτικού υλικού, η μέθοδος αποξήρανσης του, ο τρόπος και ο χώρος διατήρησης του, καθώς και η μέθοδος που εφαρμόζεται για τη παραλαβή του αιθέριου ελαίου (Πολυσίου 2002). Για την επιλογή της κατάλληλης μεθόδου εξαγωγής του αιθέριου ελαίου λαμβάνονται υπόψη μεταξύ άλλων η χημική σύνθεση των διαφόρων συστατικών του αιθέριου ελαίου και ο σκοπός της χρήσης του (Σκρουμπής 1998).

Η απόσταξη είναι η πιο αποδοτική, απλή στη χρήση και οικονομική μέθοδος παραλαβής πτητικών συστατικών αιθέριων ελαίων. Η διαδικασία της απόσταξης του φυτικού υλικού ξεκινά με την τοποθέτηση τού μέσα σε δοχείο με νερό. Όταν θερμανθεί μέχρι το σημείο βρασμού, σχηματίζονται ατμοί που παρασύρουν το αιθέριο έλαιο από τους φυτικούς ιστούς και στη συνέχεια συμπυκνώνονται οι ατμοί με ψύξη και υγροποιούνται. Στο σημείο αυτό γίνεται διαχωρισμός του αιθέριου ελαίου από το νερό λόγω διαφοράς στο ειδικό βάρος. Από τα είδη απόσταξης τα σημαντικότερα είναι η υδροαπόσταξη ή η απόσταξη με νερό (water distillation), η απόσταξη με υδρατμούς, η υδρο-ατμοαπόσταξη και άλλα είδη (Πολυσίου 2002). Η μέθοδος της εκχύλισης με πτητικούς διαλύτες χρησιμοποιείται ορισμένες φορές για τη παραλαβή αιθέριων ελαίων μεγάλης αξίας (γιασεμί, υάκινθος, τριαντάφυλλο κλπ.) Το πλεονέκτημα της μεθόδου της εκχύλισης με διαλύτες είναι ότι δεν παραλαμβάνονται μόνο τα πτητικά συστατικά, όπως στην απόσταξη, αλλά όλο το αιθέριο έλαιο (πτητικές και μη πτητικές ενώσεις). Όμως η μέθοδος της εκχύλισης με διαλύτες, απαιτεί καλά ειδικευμένο προσωπικό και μεγαλύτερη δαπάνη από εκείνη της απόσταξης.

Σε περιπτώσεις παραλαβής βιοδραστητικών συστατικών προτιμάται η εκχύλιση με υδροαπόσταξη ή απόσταξη με υδρατμούς. Το προϊόν εκχύλισης μπορεί να ποικίλει σε ποιότητα, ποσότητα και σύνθεση ανάλογα με το κλίμα, τη σύσταση του εδάφους, το όργανο του φυτού, την ηλικία και το στάδιο του βλαστικού κύκλου (Masotti et al. 2003, Martinez et al., 2005, Angioni et al. 2006). Έτσι, για να ληφθούν αιθέρια έλαια σταθερής σύνθεσης, πρέπει να εξάγονται υπό τις ίδιες συνθήκες από το ίδιο όργανο του φυτού που αναπτύσσεται στο ίδιο έδαφος, κάτω από το ίδιο κλίμα και έχει συλλεχθεί την ίδια εποχή. Τα περισσότερα από τα εμπορικά αιθέρια έλαια χημειοτυπούνται με ανάλυση αέριας χρωματογραφίας και φασματομετρία μάζας (Smith et al., 2005).

Τα αιθέρια έλαια εκτός του ότι προσδίδουν στο φυτό από το οποίο παράγονται τη χαρακτηριστική οσμή και γεύση, παρουσιάζουν ενδιαφέρουσες βιολογικές δράσεις (Samuelsson 1996). Σύμφωνα με ερευνητικά δεδομένα έχει διαπιστωθεί ότι συγκεκριμένα αιθέρια έλαια αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών ή βιοδραστικά συστατικά αυτών επηρεάζουν τη συμπεριφορά ή την βιολογία συγκεκριμένων εντόμων (Υφαντή 2006, Isman 2000). Ορισμένα αιθέρια έλαια παρουσιάζουν αντιμικροβιακή δράση (Mihajlov-Krstev et al., 2014 · Vitoratos et al., 2013 · Soylu et al., 2007), αντιβακτηριακή (Edris 2007), αντιοξειδωτική (Cuvelier et al., 1996), αντικαρκινική (Bhalla et al., 2013) και άλλες (Bezić et al., 2013). Από τα 3.000 γνωστά αιθέρια έλαια, τα 300 παρουσιάζουν πρακτικές εφαρμογές εμπορικού ενδιαφέροντος (Bakkali et al., 2007) στη βιομηχανία τροφίμων (Moon & Rhee 2016 · Rotz et al., 2004), τη φαρμακευτική βιομηχανία (Adorjan & Buchbauer 2010) και τη βιομηχανία αγροχημικών για φυτοπροστατευτικούς σκοπούς (Isman 2000).

### 1.1.1. Ο ρόλος των δευτερογενών μεταβολιτών που βιοσυνθέτουν τα φυτά

Ένα αιθέριο έλαιο μπορεί να περιλαμβάνει περισσότερα από 60 επιμέρους συστατικά. Ένα κύριο συστατικό μπορεί να αποτελεί μέχρι και το 85% του αιθέριου ελαίου, ενώ άλλα συστατικά μπορεί να ανευρίσκονται ως ίχνη μόνο (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Σχετικά δεδομένα δείχνουν ότι και ορισμένα συστατικά δευτερογενούς μεταβολισμού, σχετίζονται με την αντιμικροβιακή δράση, ενδεχομένως μέσω της συνεργιστικής τους δράσης με τα άλλα συστατικά. Αυτό έχει αποδειχθεί για το φασκόμηλο (Marino et al., 2001), ορισμένα είδη θυμαριού και ρίγανης (Lattoufi & Tantaoui-Elaraki 1994 · Paster et al., 1995).

Τα δευτερογενή ή φυσικά προϊόντα, αναφέρονται ως δευτερογενείς μεταβολίτες του φυτικού μεταβολισμού. Είναι οι ουσίες που βιοσυντίθενται κατά τις χημικές μεταβολικές διαδικασίες των υδατανθράκων, των λιπών και των αμινοξέων. Σε αυτές οφείλονται οι βιολογικές δράσεις των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Ο ρόλος τους στον οργανισμό που τους εκκρίνει, είναι να λειτουργούν ως σημειοχημικές ή τοξικές ουσίες ή ρυθμιστές συγκεκριμένης βιολογικής λειτουργίας (Ραγκούση-Ιγνατιάδου 1998).

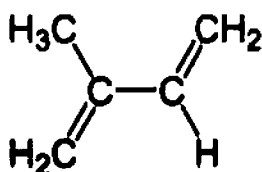
Οι δευτερογενείς μεταβολίτες γενικά, χρησιμεύουν στο φυτό σαν μέσα προσαρμογής στις διακυμάνσεις των συνθηκών θερμοκρασίας και του φωτός (αντιοξειδωτικά), των συνθηκών καταπόνησης, μόλυνσης ή κατά των φυτοφάγων ζώων (Harborne & Williams · 2000 Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013).

Εκτός από την γνωστή θεωρία ότι η απελευθέρωση των δευτερογενών μεταβολιτών από τα φυτά συνδέεται με τους μηχανισμούς άμυνας τους εναντίον των φυτοφάγων ζώων και άλλων εχθρών (Harborne & Williams 2000), σύμφωνα με νεότερες απόψεις αυτή η χημική άμυνα μπορεί να είναι εναντίον και αβιοτικών καταπονήσεων (stress), όπως η έλλειψη νερού, η φωτσαποδόμηση ή οι ακραίες κλιματικές συνθήκες (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Οι ομάδες δευτερογενών μεταβολιτών που αφορούν την οικογένεια *Lamiaceae* είναι τα τερπένια. Αν και αδρανή και χωρίς λειτουργικό ρόλο ορισμένα πτητικά τερπένια, ως αποτέλεσμα της φυσικής επιλογής, δρουν σαν σήματα που σχετίζονται με την προστασία και την επικοινωνία του φυτού με το περιβάλλον (Halorainen 2004). Τα τερπένια είναι αυτά που εμφανίζονται σε μεγαλύτερη συχνότητα και αφθονία στην σύσταση του αιθέριου ελαίου (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013) και για αυτό το λόγο πρόκειται να περιγραφεί η βιοσύνθεση της κατηγορίας αυτής, καθώς οι ομάδες μονοτερπένια και σεσκιτερπένια παρουσιάζουν οικονομική σημασία.

### 1.1.1.1. Τερπένια

Τα περισσότερα από τα συστατικά των αιθερίων ελαίων που παράγονται από αρωματικά φαρμακευτικά φυτά αποτελούνται από τερπένια μικρού μοριακού βάρους και κυρίως μονοτερπένια, σεσκιτερπένια και σε μικρότερο βαθμό διτερπένια που παράγονται σε εξειδικευμένους εκκριτικούς σχηματισμούς των φυτών όπως είναι οι ελαιοφόροι αγωγοί (σέλινο), οι ελαιοφόρες τρίχες (ρίγανη, δυόσμος), οι ελαιοφόρες κοιλότητες (εσπεριδοειδή), τα ιδιόβλαστα ελαιοκύτταρα (δάφνη) (Χριστοδουλάκης 2011 · Κωφίδης 2004). Τα τερπένια που έχουν την ευθύνη για το χαρακτηριστικό άρωμα των πετάλων, παράγονται είτε μέσα στα πέταλα είτε σε ειδικούς σχηματισμούς των ανθέων, τα οσμοφόρα (Χριστοδουλάκης 2011).

Τα τερπένια ή τερπενοειδή συνιστούν την πολυπληθέστερη κατηγορία δευτερογενών μεταβολιτών με περίπου 25.000 μέλη. Είναι υδρογονάνθρακες με κυτταρικό σκελετό ισοπρενίου ανοικτής αλυσίδας ή κυκλικό (μόνο- ή δικυκλικό) (σχήμα 1.1). Οι μονάδες του ισοπρενίου συνδέονται μεταξύ τους ως «κεφαλή-ουρά» για να σχηματίσουν τις γραμμικές αλυσίδες ή δακτυλίους και οδηγούν στον σχηματισμό σκελετών με C<sub>10</sub>, C<sub>15</sub>, C<sub>20</sub>, C<sub>25</sub>, C<sub>30</sub> και C<sub>40</sub>. Είναι λιπόφιλα συστατικά τα οποία συντίθενται από το ακέτυλο CoA μέσω του μονοπατιού του μεβαλονικού οξέος και προέρχονται από τη συνένωση δύο ή περισσότερων δομικών μονάδων που έχουν τον διακλαδισμένο ανθρακικό σκελετό του ισοπρενίου (σχήμα 1.1). Η βιοσύνθεσή τους ξεκινά από το οξικό ή το σικιμικό οξύ. Το οξικό οξύ, το οποίο σχηματίζεται από υδατάνθρακες μέσω του πυροσταφυλικού οξέος, είναι η πρόδρομος ένωση πολλών σημαντικών φυσικών προϊόντων (Γαρδέλη 2009). Δύο κύριοι οδοί ξεκινούν από το οξικό οξύ, η οδός του ακυλο-πολυμηλονικού οξέος, που οδηγεί σε λιπαρά οξέα και πολυκετίδια και η οδός του μεβαλονικού οξέος, που οδηγεί σε τερπένια και στεροειδή. Η κατάταξη γίνεται με βάση τη βιοσυνθετική προέλευση του βασικού ανθρακικού σκελετού και την ιδιαίτερη δομή κάθε μορίου (Buchanan et al., 2000).

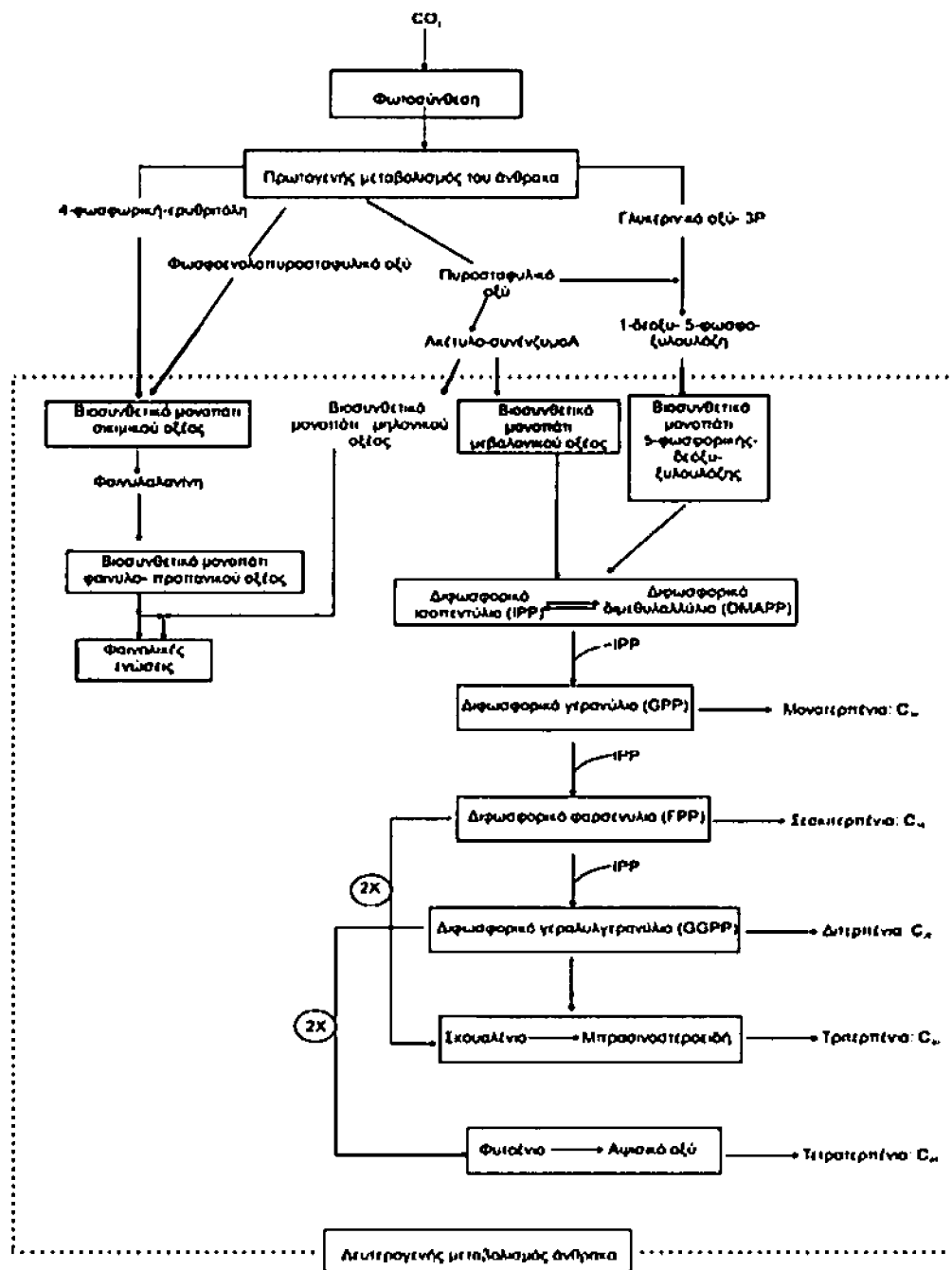


Σχήμα 1.1.: Συντακτικός τύπος ισοπρενίου (C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>) (πηγή: [pubchem.ncbi.nlm.nih.gov](http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov))

### Βιογένεση τερπενίων

Η βιογένεσή τους ξεκινά από δύο προϊόντα της φωτοσυνθετικής δραστηριότητας του φυτικού οργανισμού και συγκεκριμένα τα: πυρουβικό και σικιμικό οξύ. Καθότι προϊόν μεταβολισμού των σακχάρων, το πρώτο μετασχηματίζεται σε ακέτυλο-CoA. Η συμπύκνωση τριών μορίων αυτού του συνενζύμου δίνει με τη σειρά της το μεβαλονικό οξύ. Αυτό το οξύ μετασχηματίζεται σε δύο μονάδες πυροφωσφορικού ισοπρενίου (IPP), ενώ από τα τελευταία προκύπτει το φωσφορικό διμεθυλοαλλύλιο (DMAPP). Από αντιδράσεις και μετασχηματισμούς αυτών των δύο, παράγεται το πυροφωσφορικό γερανύλιο (GPP) όπου δίνει και αυτό με τη σειρά του γερανιόλη και άλλα μονοτερπένια (Καράταγλης 1999). Ταυτόχρονα, από τη συμπύκνωση του GPP με το πυροφωσφορικό ισοπεντενύλιο προκύπτει το πυροφωσφορικό φαρνεσύλιο (σχήμα 1.2), το οποίο είναι πρόδρομο των σεσκιτερπενίων (Samuelsson 1996). Γυρνώντας πίσω κατά τη δημιουργία του μεβαλονικού οξέος,

λαμβάναν χώρα ταυτοχρόνως ευθύγραμμες συμπυκνώσεις μονάδων ακετυλου-CoA, δίνοντας ως αποτέλεσμα λιπαρά οξέα και ακετογενέινες (Ruzicka et al., 1953).



Σχήμα 1.2.: Βιοσύνθεση Τερπενικών και Φαινολικών Ενώσεων (Πηγές: Buchanan et al. 2000 · Κανέλης 2005)

## Ταξινόμηση τερπενίων

Σύμφωνα με τον αριθμό των ισοπρενικών ομάδων που υπάρχουν στο μόριό τους κατατάσσονται διαδοχικά σε: μονοτερπένια (C10) με τη συνένωση 2 ισοπρενικών ομάδων, σεσκιτερπένια (C15) με τη συνένωση 3, διτερπένια (C20) με τη συνένωση 4, σεστερτερπένια (C25) με τη συνένωση 5, τριτερπένια (C30) με τη συνένωση 6, τετρατερπένια (C40) με τη συνένωση 8, πολυτερπένια με τη συνένωση άνω των 8 ισοπρενικών ομάδων (Copolly & Hill, 2007).

Η ταξινόμησή τους (Πίνακας 1.1) γίνεται ανάλογα με τον αριθμό των ισοπρενικών μονάδων (C5H8) που περιέχουν στο μόριό τους:

Ταξινόμηση	Αριθμός ατόμων άνθρακα C	Μονάδες Ισοπρενίου (C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> )
Μονοτερπένια (C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> )	10	2
Σεσκιτερπένια (C <sub>15</sub> H <sub>24</sub> )	15	3
Διτερπένια (C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> )	20	4
Σεστερτερπένια (C <sub>25</sub> H <sub>40</sub> )	25	5
Τριτερπένια (C <sub>30</sub> H <sub>48</sub> )	30	6
Τετρατερπένια (C <sub>40</sub> H <sub>64</sub> )	40	8
Πολυτερπένια (C <sub>5</sub> H <sub>8</sub> ) <sub>n</sub>	>40	n

Πίνακας 1.1.: Ταξινόμηση Τερπενίων με βάση τον αριθμό μονάδων ισοπρενίου που περιέχουν

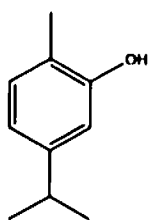
Ο διαχωρισμός των τερπενικών συστατικών στα αιθέρια έλαια γίνεται σε δύο κύριες ομάδες: Τα οξυγονομένα και μη οξυγονομένα τερπένια.

Στα οξυγονούχα τερπένια ανήκουν: Α) Αλκοόλες: κιτρονελλόλη, βορνεόλη, γερανιόλη, α-τερπινεόλη κ.ά. Β) Κετόνες: καρβόνη, πουλεγόνη, καμφορά κ.ά. Γ) Φαινόλες: καρβακρόλη, θυμόλη κ.ά. Δ) Φαινολικοί αιθέρες: ανηθόλη, σαφρόλη, κ.ά. Ε) Αλδεΐδες: βενζοϊκή, κιτράλη, βανιλινική κ.ά.

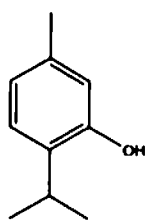
Στα μη οξυγονούχα τερπένια ανήκουν οι υδρογονάνθρακες και ειδικότερα: Α) Μονοτερπένια: β-πινένιο, α-πινένιο, μυρκένιο, λιμονένιο, γ-τερπινένιο, α-τερπινένιο, σαβινένιο κ.ά. Β) Σεσκιτερπένια: καρυοφυλλένιο, ελεμένιο, χουμουλένιο, γερμακρένιο κ.ά. (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013).

### Μονοτερπένια (C10)

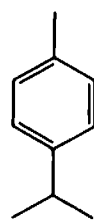
Τα μονοτερπένια είναι ενώσεις στο μόριό των οποίων παίρνουν μέρος δύο μόρια ισοπρενίου και συνεπώς έχουν δέκα άτομα άνθρακα. Τα δύο αυτά μόρια μπορεί να σχηματίζουν ευθύγραμμη αλυσίδα ή να έχουν κυκλική δομή. Συνήθως είναι πτητικά, αδιάλυτα στο νερό και συχνά είναι εύοσμα (Καράταγλης 1999). Είναι άκυκλα, μονοκυκλικά ή δικυκλικά. Άκυκλα μονοτερπένια είναι η γερανιάλη, η νεράλη, η κιτρονελλάλη που αποτελούν τα κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου του μελισσόχορτου (Carnat et al., 1998). Η καρβακρόλη, η θυμόλη και το π-κυμένιο (σχήμα 1.3) που περιέχονται σε σημαντικά ποσοστά στο αιθέριο έλαιο ρίγανης, θυμαριού και δίκταμου, η μενθόλη στη μέντα, η καρβόνη στο δεντρολίβανο (Daferera et al., 2003) και η 1,8 κινεόλη στο φασκόμηλο (Usano-Alemamy et al., 2013), αποτελούν χαρακτηριστικά μονοκυκλικά μονοτερπένια. Από τα δικυκλικά μονοτερπένια (σχήμα 1.4) αυτά που απαντώνται ευρέως στα αρωματικά φυτά είναι το α- και β-πινένιο, η βορνεόλη η καμφορά, η θουγιόνη (σχήμα 1.4) συστατικά που συναντώνται στα αιθέρια έλαια ορισμένων ποικιλιών φασκόμηλου.



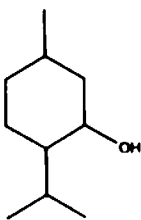
καρβακρόλη



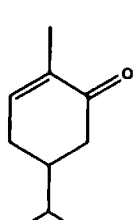
θυμόλη



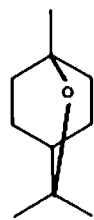
π-κυμένιο



μενθόλη

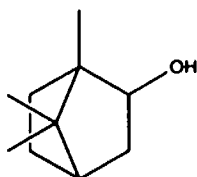


καρβόνη

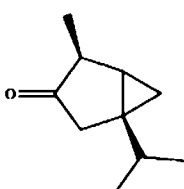


1,8 κινεόλη

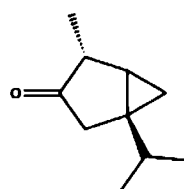
Σχήμα 1.3.: Μονοκυκλικά μονοτερπένια (πηγή: *Bakkali et al., 2007* · *Usano-Alemayn et al., 2013*)



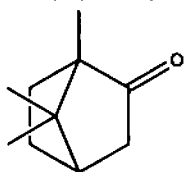
βορνεόλη



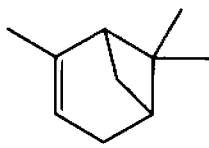
α-θουγιόνη (cis)



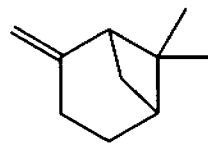
β-θουγιόνη (trans)



καμφορά



α-πινένιο



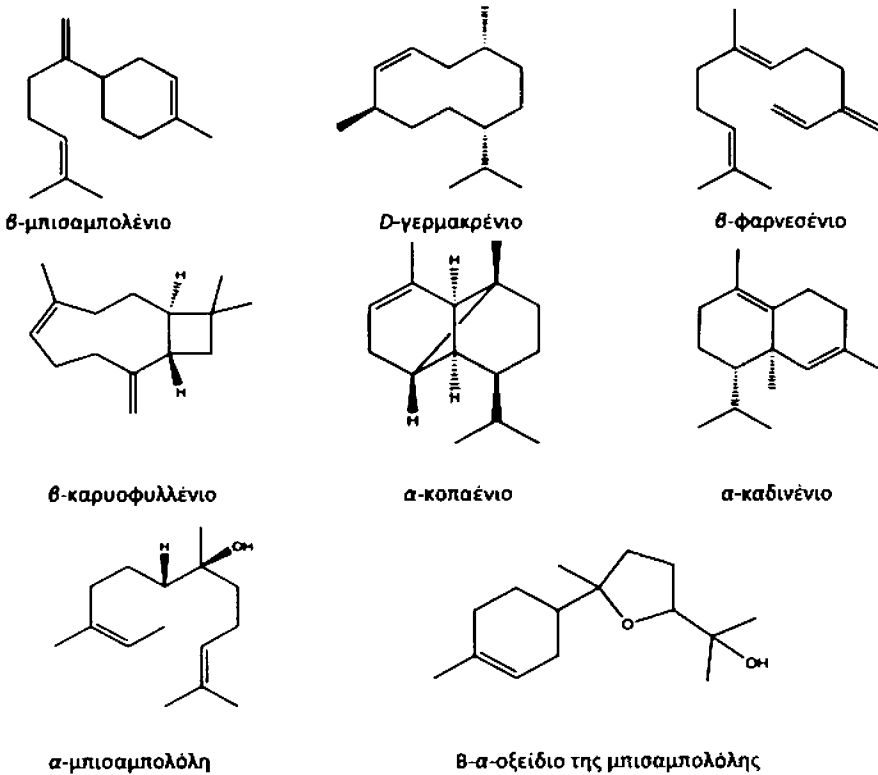
β-πινένιο

Σχήμα 1.4.: Δικυκλικά μονοτερπένια (πηγή: *Bakkali et al., 2007*)

Η καρβακρόλη  $C_{10}H_{14}O_2$  (σχήμα 1.3) είναι μια φυσική μονοτερπενική φαινόλη (υδρογονανθρακική φαινόλη) ισομερής με τη θυμόλη, και συνήθως αποτελεί το κύριο συστατικό των αιθερίων ελαίων των φυτών της οικογένειας *Lamiaceae*. Βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών, θυμάρι, θρούμπι, και κυρίως σε αρκετά υποείδη της ρίγανης. Η καρβακρόλη έχει χαρακτηριστεί ως ο αντιμικροβιακός παράγοντας των παραπάνω αιθερίων ελαίων και έχει κεντρίσει το ενδιαφέρον πολλών μελετητών (*Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013*).

## Σεσκιτερπένια (C15)

Τα σεσκιτερπένια είναι πτητικές τερπενικές ενώσεις που περιέχουν στο μόριο τους τρεις ισοπρενικές ομάδες και συνεπώς 15 άτομα άνθρακα. Ανάλογα με τον αριθμό των δακτυλίων ταξινομούνται με τη σειρά τους σε άκυκλα, μονοκυκλικά, δικυκλικά και τρικυκλικά. Από τα άκυκλα σεσκιτερπένια προέρχεται και η φυτοορμόνη Αποσκισικό οξύ (ABA). Τα μονοκυκλικά β-μπιζαμπολένιο και το D-γερμακρένιο, τα δικυκλικά β-καρφοφυλλένιο, α-κοπαένιο, ακαδινένιο ανευρίσκονται στα αιθέρια έλαια των φυτών του γένους *Origanum*, του μελισσόχορτου. Τα σεσκιτερπένια αποτελούν τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου αρωματικών φυτών του γένους *Salvia* όπως η μονοκυκλική α-μπισαμπολόλη και τα οξείδιά της αλλά και το β-φαρνεσένιο (σχήμα 1.5).



Σχήμα 1.5.: Σεσκιτερπένια (πηγή: Bakkali et al., 2007)

### Διτερπένια (C20)

Τα διτερπένια είναι μια ομάδα ενώσεων με 20 άτομα άνθρακα στο μόριο τους και θεωρείται ότι προέρχονται από τέσσερις ισοπρενικές ρίζες (Καράταγλης 1999). Τα πιο χαρακτηριστικά διτερπένια είναι το καρνοσικό οξύ και η καρνοσόλη που έχουν ανευρεθεί σε οργανικά εκχυλίσματα δεντρολίβανου και φασκόμηλου (Cunvelier et al., 1996). Η φυτόλη είναι μια άκυκλη διτερπενική αλκοόλη ευθείας αλυσίδας, η οποία απαντάται σε δύο ισομερές μορφές την trans-φυτόλη και τη cis-φυτόλη και αποτελεί την "ουρά" στο μόριο της χλωροφύλλης. Η μανουλοόλη είναι μια δικυκλική διτερπενική αλκοόλη ενώ οι γιβεριλλίνες είναι οι γνωστές φυτοορμόνες. Οι τελευταίες περιέχουν τον γιββανικό σκελετό (Καράταγλης 1999).



## 1.2. Η οικογένεια *Lamiaceae (Labiatae)*

Η οικογένεια των χειλανθών (ή χειλοστέφανων) είναι γνωστή από την Ολιγόκαινο περίοδο. Περιλαμβάνει αρωματικά φυτά, μελισσοκομικά, αρτυματικά, πλούσια σε αιθέρια έλαια αλκοολικής, φαινολικής, τερπενικής, κετονικής ή αλδευδικής σύστασης. Γι' αυτό χρησιμοποιούνται όμως στομαχικά, αντισπασμωδικά, διουρητικά ή καθαρτικά. Επίσης πολλά σπέρματα φυτών περιέχουν δεψικές ουσίες, κόμμεα ή φυτικές βλεννώδεις ουσίες. Στην οικογένεια ταξινομούνται 200 γένη με 3.200 περίπου ήδη κοσμοπολίτικης εξαπλώσεως με επίκεντρο την περιοχή της Μεσογείου. Αντιπροσωπευτικά γένη για την Ελλάδα είναι τα: *Origanum*, *Teucrium*, *Satureja*, *Micromeria*, *Ocimum*, *Thymus*, *Mentha*, *Scutellaria*, *Salvia*, *Lavandula*, *Marrubium*, *Sideritis*, *Melissa*, *Phlomis*, *Nepeta*, *Ballota*, *Prasium* κ.ά. (Στεφανάκη-Νικηφοράκη 1999).

### Ανατομία – μορφολογία:

Η οικογένεια *Lamiaceae* περιλαμβάνει ποώδη φυτά μονοετή ή πολυετή με τετράγωνο βλαστό, θαμνώδη ή ημιθαμνώδη με αρωματικά φύλλα, σπάνια δένδρα ή αναρριχώμενα. Τα φύλλα των χειλανθών είναι συνήθως απλά, αντίθετα σταυροειδώς τοποθετημένα ή κατά σπονδύλους, χωρίς παράφυλλα, πλούσια σε αδένες που εκκρίνουν αιθέριο έλαιο. Τα άνθη σχηματίζουν κυματώδεις ταξιανθίες ή βρίσκονται κατά σπόνδλους στον ανθοφόρο βλαστό. Είναι διγενή, ζυγόμορφα, δίχειλα με διπλό πενταμελές περιάνθιο. Από τα πέντε πέταλα της στεφάνης τα δύο συνήθως σχηματίζουν το άνω χείλος και τα τρία το κάτω, σπάνια τα τέσσερα σχηματίζουν το άνω χείλος και το ένα το κάτω χείλος (υποοικογένεια: *Ocimoideae*), ή όλα τα πέταλα σχηματίζουν το άνω χείλος (γένος *Teucrium*). Ο κάλυκας είναι πεντάλοβος· στις πιο εξελιγμένες μορφές φυτών παρατηρείται προσοδευτική μετάβαση προς δίχειλο κανονικά με τρία σέπαλα στο άνω χείλος και δύο στο κάτω ή ένα σε ένα σέπαλο στο πάνω χείλος και τέσσερα στο κάτω. Οι στήμονες είναι τέσσερες, επιπέταλοι σε δύο σπονδυλώματα, διδύναμοι, σπάνια είναι δύο (*Salvia*). Η ωοθήκη είναι επιφυής, αποτελείται από δύο συμφυή καρπόφυλλα και χωρίζεται με ψευδές διάφραγμα σε τέσσερις χώρους που ο καθένας έχει μία ανάτροπη σπερματική βλάστη. Ο καρπός είναι ξηρός διασπώμενος κατά την ωρίμανση σε τέσσερα καρυοειδή καρπίδια, σπάνια δρύπη (γένος: *Prasium*). Η επικονίαση των φυτών επιτυγχάνεται με τα έντομα (Στεφανάκη-Νικηφοράκη 1999).

### Αδενώδεις ή αδενικές τρίχες:

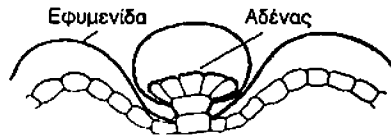
Τα αδενικά κύτταρα είναι πλούσια σε πρωτόπλασμα, με μεγάλο πυρήνα και έντονο μεταβολισμό. Συμμετέχουν στην έκκριση διαφόρων ουσιών που αποβάλλονται στην επιφάνεια της επιδερμίδας του οργάνου. Ως επί το πλείστο οι εκκρινόμενες ουσίες είναι αιθέρια έλαια και συχνά αυτού του είδους τις εκκριτικές τρίχες τις ονομάζουν αδένες (glands). Αποτελούνται συνήθως από τρία μέρη: τη κεφαλή (head), το μίσχο (stalk) και τη βάση (base). Η κεφαλή αποτελεί το εκκριτικό τμήμα του αδένου, ο μίσχος συνδέει την κεφαλή με την επιδερμίδα, ενώ η βάση είναι το επιδερμικό κύτταρο με το οποίο συνδέεται η βάση της τρίχας (Καράταγλης & Κωνσταντίνου 2005). Το επιδερμικό κύτταρο που πρόκειται να διαφοροποιηθεί σε τρίχα ονομάζεται τριχοβλάστη (Χριστοδουλάκης 2011). Ως αδένες λειτουργεί μόνο το τελικό κύτταρο, το οποίο διογκώνεται σφαιρικά συσσωρεύοντας το έκκριμα μεταξύ εφυμενίδας και κυτταρικού τοιχώματος (Καράταγλης & Κωνσταντίνου 2005). Οι αδενικές τρίχες, προέρχονται και αυτές από επιδερμικά κύτταρα τα οποία διαφοροποιούνται και αποκτούν μεγάλη φυσιολογική εξειδίκευση (Χριστοδουλάκης 2011).

Τα αδενικά τριχώματα παρουσιάζουν πολλαπλούς ρόλους, ανάλογα με το είδος του εκκρίματος και την οικολογία του φυτού (Χριστοδουλάκης 2011). Συμμετέχουν στην έκκριση διαφόρων ουσιών, όπως διαλείμματα αλάτων, σακχάρων, τερπενίων, αιθερίων ελαίων,

πρωτεολυτικών ενζύμων. Σε όλες τις περιπτώσεις η δομή των τριχών αυτών έχει προσαρμοστεί στο μηχανισμό σύνθεσης και αποβολής του εκκρίματος (Καράταγλης & Κωνσταντίνου 2005).

#### Τρίχες που εκκρίνουν τερπένια:

Οι αδενώδεις τρίχες της κατηγορίας αυτής ανυπτροσωπεύονται κατάβαση από τους αδένες της οικογένειας των *Lamiaceae* που εκκρίνουν αιθέρια έλαια (εικόνα 1.1). Αποτελούν χαρακτηριστικό γνώρισμα της οικογένειας και συνίστανται από ένα κύτταρο βάσης, ένα μονόστηλο μίσχο που αποτελείται από ένα ή περισσότερα κύτταρα και μία κεφαλή με ένα ή περισσότερα εκκριτικά κύτταρα. Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο φαίνεται ότι τα χυμοτόπια περιέχουν οσμιόφυλα συστατικά, στο δε στάδιο της έκκρισης παρατηρείται μία αύξηση της παρουσίας της συσκευής *Golgi* και του ενδοπλασματικού δικτύου, τα σακκίδια των οποίων γίνονται πιο πλατιά. Το κυτόπλασμα συστέλλεται ακανόνιστα από το κυτταρικό τοίχωμα, το δε κυτταρικό τοίχωμα αποχωρίζεται μεταξύ ηλεκτρικού στρώματος και στρώματος υμενίνης, συντελώντας στο σχηματισμό του υπεφυμενιδικού διαστήματος. Το έκκριμα συγκεντρώνεται στον υπεφυμενιδικό χώρο. Σε μερικές περιπτώσεις ο χώρος αυτός παραμένει μικρός, προφανώς λόγω της παρουσίας πόρων στην εφυμενίδα. Σε άλλες πάλι περιπτώσεις η πορεία της παραγωγής εκκρίματος τελειώνει με το θάνατο των κυττάρων (Καράταγλης & Κωνσταντίνου 2005). Τα αιθέρια έλαια συχνά βρίσκονται στις αδενώδεις τρίχες, οι οποίες προεξέχουν από την επιδερμίδα και εξυτηρετούν στο να "διαφημίζουν" τη τοξικότητα του φυτού, αφού με το άρωμά τους αποτρέπουν τα χορτοφάγα ζώα πριν ακόμα προσπαθήσουν να τα δοκιμάσουν. Στις αδενώδεις τρίχες τα τερπένια αποταμιεύονται σε τροποποιημένο εξωκυττάριο διάστημα μεταξύ της επιδερμίδας και του κυτταρικού τοιχώματος (Καράταγλης 1999).



Εικόνα 1.1.: Εκκριτικός αδένας σε τμήμα εγκάρσιας τομής φύλλου *Thymus capitata* (πηγή: Fahh 1982)

#### 1.2.1. Υποοικογένεια *Stachyoideae*

Είναι φυτά με συμφυή κάλυκα, δίχειλη ή σχεδόν ακτινόμορφη στεφάνη, στήμονες τέσσαρες ή δύο και ωσθήκη τετραμερή (Στεφανάκη-Νικηφοράκη 1999). Τα αρωματικά φυτά αυτής της υποοικογένειας των *Lamiaceae* (*Labiatae*) είναι γνωστά για τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες και ενδεικτικά τα είδη που φαίνεται από τη βιβλιογραφία να αιχμαλωτίζουν το ενδιαφέρον, είναι τα *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla*, *Coridothymus capitatus*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Salvia triloba* και αποτελούν το αντικείμενο μελέτης αυτής της διατριβής.

##### 1.2.1.1. *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla*

Το *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla* αποτελεί μέλος της ομάδας του *Satureja montana* (ορεινό θρούμπι), είναι ενδημικό φυτό της χώρας μας, το οποίο απαντάται στις βορειοδυτικές περιοχές της (Dardioti et al., 2010 · Υfanti et al., 2015).

Είναι πολυστέλεχοι θαμνίσκοι, με βλαστούς όρθιους, αποξυλωμένους, διακλαδιζόμενους ή μη επιφάνεια (Δαρδιώτη 2005). Οι ανθοφόροι βλαστοί με πυκνό τρίχωμα μήκους 0,1-0,2 mm έχουν

διάμετρο 0,5-0,8 mm. Τα φύλλα είναι συνήθως με επίπεδο έλασμα, αντιστρόφως λογχοειδή, συχνά έμμισχα και καλύπτονται από αραιά έως πυκνά τριχίδια και εμφανή αδενικά λέπια. Η ταξιανθία με 7-14 σπονδύλους σε απόσταση 4-6 mm μεταξύ τους. Τα άνθη βρίσκονται ως 6-10 ανά σπόνδυλο ταξιανθίας και είναι διαταγμένα σε κύμη με μήκος μίσχου 1-2,5 mm (Δαρδιώτη 2005). Τα βράκτια είναι ομοιόσημα των φύλλων, σχεδόν ισομήκη έως διπλάσια των σπονδύλων της ταξιανθίας. Ο κάλυκας, σε μίσχο μήκους 12 mm, με 5 οξύληκτους οδόντες, ισομήκεις έως ανισομήκεις με λόγο μήκους μεγάλων οδόντων προς μήκος μικρών οδόντων και με σωλήνα μήκους σχεδόν ίσου έως διπλάσιου του μήκους των οδόντων. Η στεφάνη είναι λευκή με ή χωρίς ιώδη στίγματα στην εσωτερική της επιφάνεια (Δαρδιώτη 2005).

Βρίσκεται συνήθως σε υψόμετρο από 900 έως 2000 m. Ωστόσο, έχει βρεθεί και σε χαμηλά υψόμετρα 300-700 m στα χλωριδικά διαμερίσματα της νότιας και βόρειας Πίνδου, μέσα σε φαράγγια και σε χαράδρες και κοντά σε ποταμούς (Δαρδιώτη 2005).



Εικόνα 1.2.: Δείγμα του *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla* (πηγή: Δαρδιώτη 2005)

#### Χημική σύσταση – αιθέριο έλαιο:

Από έρευνες φαίνεται ότι το ποσοστό του αιθερίου ελαίου σχετίζεται αρνητικά με το υψόμετρο όπου αυτοφύονται τα φυτά και ότι η μεταβολή της σύστασης των αιθερίων ελαίων ακολουθεί ένα γεωγραφικό πρότυπο, το οποίο σχετίζεται με τις βιοκλιματικές ζώνες. Ο χημειότυπος της καρβακρόλης κυριαρχεί σε περιοχές Μεσογειακών και Υπομεσογειακών βιοκλιματικών ζωνών, η ένυδρη λιναλοόλη ή *trans*-σαβινένιο ή/και η βορνεόλη στις Υπομεσογειακές-εύκρατες Μεσογειακές βιοκλιματικές ζώνες, ενώ η θυμόλη σε όλες τις περιπτώσεις (Dardioti et al., 2010).

Το αιθέριο έλαιο και το εκχύλισμα μεθανόλης του γένους *Satureja* παρουσιάζουν αντιοξειδωτικές, αντιβακτηριακές και αντιμυκητιακές ιδιότητες (Güllüce et al., 2003). Ολόκληρο το φυτό, καθώς και το αιθέριο έλαιο και τα εκχυλίσματά του *S. montana* χρησιμοποιούνται στην παραδοσιακή ιατρική ως φάρμακο για το πεπτικό σύστημα, ως βακτηριοκτόνο και μυκητοκτόνο (Μαλούπα κ.ά., 2013). Σε μελέτη των ερευνητών του *Universidade de Lisboa* της Πορτογαλίας εκτιμήθηκε η ανασταλτική δράση του εκχυλίσματος του αιθερίου ελαίου *S. montana* στο ένζυμο ακετυλοχολινεστεράση, ως πιθανός δείκτης για τον έλεγχο της νόσου του Alzheimer (Silva et al., 2009).

Η μελέτη της ενδοπληθυσμικής ποικιλότητας των αιθερίων ελαίων σε 2 πληθυσμούς των φυτών *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, παρουσίασε ότι η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο παρουσιάζει μικρή διακύμανση μεταξύ των διαφορετικών ατόμων στον πληθυσμό του Λάκμου (0,3-0,4%) και μεγάλη (0,3-1,6%) στον πληθυσμό του Γράμμου (Δαρδιώτη 2005).

### 1.2.1.2. *Coridothymus capitatus*

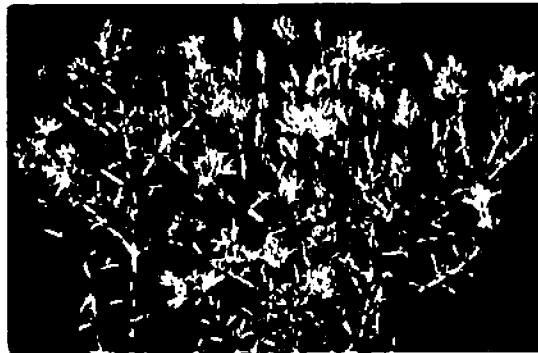
Η διεθνής εμπορική ονομασία του *Coridothymus capitatus* είναι Ισπανική ρίγανη. Η κοινή του ονομασία είναι *Κεφαλωτό θυμάρι* ή *Κεφαλοθύμαρο* στη χώρα μας και εμπορικά χρησιμοποιείται ως καρύκευμα ρίγανης. Στη χώρα μας απαντάται σε νησιωτικές περιοχές και στα παράλια της Ηπειρωτικής Ελλάδας σε υψόμετρο συνήθως χαμηλότερο των 600 μέτρων (Πολυσίου 2002). Αυτοφύεται στη περιοχή της Μεσογείου και πρόκειται για ένα από τα χαρακτηριστικότερα αρωματικά φυτά της νησιωτικής Ελλάδας. Φύεται σε άγονες και βραχώδεις περιοχές (Skoula & Graye 2004) είναι πολυετής ξυλώδης θάμνος, φρυγανικού τύπου (Πολυσίου 2002). Είναι φυτό ανθεκτικό στην ξηρασία, λόγω της μειωμένης διαπνοής και του μαξιλαρόμορφου σχήματός του (nhmc.uoc.gr).

#### Στοιχεία καλλιέργειας:

Τα καταλληλότερα εδάφη για την ανάπτυξη του θυμαριού, είναι εκείνα με μικρό υψόμετρο 300-500 m και σχετική κλίση. Τα άνυδρα και άγονα εδάφη, ευνοούν την συσσώρευση των δραστικών αρωματικών συστατικών, αν και οριακά σε αυτά περιορίζεται η βλαστική ανάπτυξη του θυμαριού. Το θυμάρι προσαρμόζεται και αναπτύσσεται σωστά σε εδάφη όπως εκείνα των ορεινών νοτιοανατολικών περιοχών των μεσογειακών χωρών, ξηρά, φτωχά και ιπετρώδη, αλλά ακόμη και σε αργιλώδη, προσήλια (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013).

Οι ανάγκες του θυμαριού σε νερό είναι μεγάλες κατά την πρώτη περίοδο της ανάπτυξης του (την άνοιξη). Κατά συνέπεια, θα πρέπει να γίνονται ποτίσματα εάν δε βρέξει αυτή την περίοδο.

Στις αδενικές του τρίχες βιοσυντίθεται το αιθέριο έλαιο του. Για την παραγωγή αιθέριου ελαίου η συγκομιδή πραγματοποιείται κατά την ανθοφορία, συνήθως ξεκινώντας από τον Απρίλιο έως Μάιο, ανάλογα με την περιοχή. Σε αυτό το στάδιο ανάπτυξης του φυτού η παραγωγή του αιθέριου ελαίου είναι στο μέγιστο της περιεκτικότητας του (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Το φυτό δεν πρέπει να ξεριζώνεται για τη λήψη του φλοιού γιατί συγκρατεί το επιφανειακό έδαφος και ελαττώνει την διάβρωση του (Στεφανάκη-Νικηφοράκη 1999).



Εικόνα 1.3.: *Coridothymus capitatus* (πηγή: flora.org)

## Χημική σύσταση – αιθέριο έλαιο:

Η απόσταξη διενεργείται σε καλά στοιβαγμένους άμβυκες με ατμό, λαμβάνοντας υπόψη ότι το φυτικό υλικό περιέχει μεγάλο ποσοστό από βλαστούς. Η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο ποικίλει δραματικά ανάλογα με το γένος του θυμαριού, τις οικολογικές και εδαφοκλιματικές συνθήκες, το χρόνο της συγκομιδής, την ηλικία του φυτού, τις καλλιεργητικές τεχνικές και τις συνθήκες αποθήκευσης (Martinez et al., 2005). Οι χημειότυποι του αιθέριου ελαίου του *C. caritatus*, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία φαίνεται να είναι δύο, ένας με κυρίαρχο συστατικό την καρβακρόλη και ένας με κυρίαρχο την θυμόλη (Lassaad et al., 2005). Οι υψηλότερες αποδόσεις σε αιθέριο έλαιο καταγράφονται το καλοκαίρι (2.32 – 5.23 %), ενώ οι χαμηλότερες την άνοιξη (1.16 – 3.70 %) (Μπαθρέλλου & Σταύρου 2007).

### 1.2.1.3. *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*

Το *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* κοινώς *Ελληνική ρίγανη* (η Λατινική λέξη *hirtus* σημαίνει τριχωτό), είναι φυτό της ευρύτερης περιοχής της Μεσογείου και της Κεντρικής Ασίας, με ευρεία εξάπλωση στις χώρες γύρω από αυτήν. Είναι ποώδες, πολυετές φυτό, με βλαστό όρθιο τετραγωνικό, πολύκλαδο, τριχωτό, ύψους 30 έως 80 cm. Τα φύλλα του είναι σχετικά μικρά 1-2 cm, αντίθετα, έμμεσα ή προμήκη, πολύ πριονωτά. Τα άνθη διατάσσονται σε σύνθετη ταξιανθία από μικρούς σπονδυλωτούς στάχεις που περιλαμβάνουν τα ανθοφόρα στελέχη. Είναι μικρά με δίφυλλη, συμπέταλη λευκή στεφάνη και σωληνοειδή κάλυκα με 5 οδόντες (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013).

Ενώ το 75% των ειδών του γένους *Origanum* απαντώνται σε περιοχές της Ανατολικής Μεσογείου, λίγα σχετικά είδη ανευρίσκονται στη Μεσόγειο (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2010). Η καλλιέργεια της ρίγανης στην Ελλάδα εντοπίζεται στην Ήπειρο (Κοκκίνη *et al.*, 1994), στη Μακεδονία, στη Θράκη και στη Θεσσαλία (Πολυσίου 2002). Η ρίγανη μπορεί να καλλιεργηθεί σε πεδινές, ημιορεινές και ορεινές περιοχές και σε ποικιλία εδαφών, εκτός από τα πολύ αμμώδη και αργιλώδη. Το γένος *Origanum* περιλαμβάνει πολυετή ποώδη ή φρυγανώδη φυτά αυτοφυή ή καλλιεργούμενα πλούσια σε αιθέριο έλαιο (Στεφανιάκη-Νικηφοράκη 1999), τα οποία μπορούν να φτάσουν το 1 m στο ύψος.

Στην Ελλάδα απαντάται σε υψόμετρο από την επιφάνεια της θάλασσας έως και τα 2000 m. Είναι ένα αρκετά εντυπωσιακό φυτό με άνθη λευκά έως ερυθροκυανά. Χαρακτηριστικό είναι ότι τα άτομα που προέρχονται από σπόρο είναι αρκετά ποικιλόμορφα. Τα φύλλα είναι πρασινοσταχτόμορφα, σε αντίθετη διάταξη, ωοειδή, τριχωτά στη κάτω επιφάνεια (εικόνα 1.4), τα οποία τρίβοντας τα, αναδύουν την χαρακτηριστική έντονη μυρωδιά της (Κουτσός 2006). Πρόκειται για τη μαγειρική ρίγανη που συνήθως διατίθεται στο εμπόριο σε ξηρή μορφή για ράφια μπαχαρικών ([missouribotanicalgarden.org](http://missouribotanicalgarden.org)).

Είναι το πλέον παραγωγικό είδος ρίγανης σε αιθέριο έλαιο από τα 45 είδη, 6 υψείδη και 3 ποικιλίες που έχουν καταγραφεί (Μαλούπα *κ.ά.*, 2013). Η περιεκτικότητα του αιθέριου ελαίου ποικίλει ανάλογα με το είδος και την περιοχή (Μαλούπα *κ.ά.*, 2013). Το αιθέριο έλαιο της χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία και στη φαρμακοποιία, ενώ η ξηρή δρόγη ως άρτυμα ή ρόφημα. Επίσης, το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται στα σιτηρέσια των χοίρων και των πουλερικών βιολογικής εκτροφής αντικαθιστώντας τα επιβλαβή αντιβιοτικά, ενώ επιπλέον παρουσιάζει αντισηπτικές και αποχρεμπτικές ιδιότητες (Κουτσός 2006).



Εικόνα 1.4.: *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* (πηγή: [gardentags.com](http://gardentags.com))

## Στοιχεία καλλιέργειας:

Η ρίγανη είναι φυτό μακράς φωτοπερίοδου. Τα φυτά που αναπτύσσονται σε φωτοπερίοδο 12 h και περισσότερο, είναι περισσότερο εύρωστα και με πιο πλούσιο φύλλωμα (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Οι ελαιώδεις αδένες δεν φαίνεται να επηρεάζονται τόσο από την φωτοπερίοδο, όσο από το στάδιο ανάπτυξης του φυτού και είναι περισσότεροι όσο αναπτύσσεται το φυτό (Marzi 1996).

Η καλλιέργεια της ρίγανης είναι εφικτή σε όλους τους τύπους του εδάφους, παρόλο που αυτό το είδος προτιμά τα ασβεστούχα εδάφη ενώ προσαρμόζεται επίσης αρκετά καλά και στο ξηρό έδαφος (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Οι εκτάσεις που θα χρησιμοποιηθούν για την καλλιέργεια της θα πρέπει το καλοκαίρι να οργωθούν με βαθιά άροση, ενώ στις αρχές του φθινοπώρου με τις πρώτες βροχές να γίνει μία ελαφρότερη κατεργασία του εδάφους (με φρέζα ή δισκοσβάρνα).

Η συλλογή της ρίγανης γίνεται κατά την ανθοφορία του φυτού. Εάν πρόκειται το υλικό να αποσταχθεί, συγκομίζεται στην πλήρη ανθοφορία, ενώ για την παραγωγή δρόγης στην αρχή της ανθοφορίας το συγκομισμένο υλικό μεταφέρεται στο χωράφι για μερική ξήρανση, ή ξηραίνεται σε ειδικά υπόστεγα ή ξηραντήρια και στη συνέχεια, αν πρόκειται να διατεθεί σαν ξηρή δρόγη τρίβεται και κοσκινίζεται (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Η συγκομιδή έχει διάρκεια 15 ημέρες, αρχίζει πολύ νωρίς το πρωί και πραγματοποιείται Ιούνιο-Ιούλιο, ανάλογα με τη περιοχή.

## Χημική σύσταση – αιθέριο έλαιο:

Οι τερπενικές φαινόλες καρβακρόλη και θυμόλη είναι οι δυο χημειότυποι του αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum*, ενώ υπάρχει και ενδιάμεσος χημειότυπος καρβακρόλη-θυμόλης, συστατικά στα οποία αποδίδονται οι βιολογικές δράσεις του. Η καρβακρόλη συνήθως κυμαίνεται από 70-85% ενώ σε αυτοφυείς πληθυσμούς ξεπερνά και το 90% (Κουτσός 2006). Άλλα συστατικά του αιθέριου ελαίου είναι το π-κυμένιο και γ-τερπινένιο, που θεωρούνται πρόδρομες ενώσεις της θυμόλης και καρβακρόλης αντίστοιχα, στις οποίες αποδίδεται η βιολογική δραστηριότητα (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Η ποιοτική σύσταση των αυτοφυών πληθυσμών ρίγανης και η περιεκτικότητα του αιθέριου ελαίου τους, φαίνεται να διαμορφώνονται από τη γεωγραφική προέλευση (Kokkini et al., 1994).

Αξιοσημείωτο είναι ότι η αυτοφυείς πληθυσμοί του *O. vulgare* subsp. *hirtum*, ακόμη και σε πολύ στενά γεωγραφικά όρια εμφανίζουν σημαντικές διαφορές ως προς την απόδοση και σύσταση των αιθέριων ελαίων τους (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Το *O. vulgare* ssp. *hirtum* παρουσιάζει πολύ υψηλή περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο έως και 9% σε αυτοφυείς πληθυσμούς και αθροίσματα φαινολικών ουσιών πολλές φορές >85%. Όταν η περιεκτικότητα σε καρβακρόλη είναι υψηλή, η βιολογική δράση του αιθέριου ελαίου ενισχύεται (Colin et al., 1989). Υπεύθυνα για την αντιοξειδωτική δράση είναι τα συστατικά καρβακρόλη και θυμόλη και λόγω των ιδιοτήτων αυτών, έχει μελετηθεί η χρήση της ρίγανης και του ριγανέλαιου ως συστατικά της διατροφής των ζώων και υπάρχουν αντίστοιχες εφαρμογές (Bampidis et al., 2005).

#### 1.2.1.4. *Salvia triloba*

Το όνομα του γένους *Salvia* προέρχεται από το λατινικό ρήμα *salvare* (=σώζω ζωές), αν και ήταν γνωστό και στην αρχαιότητα. Το *Salvia triloba* είναι το πιο εξαπλωμένο είδος του γένους *Salvia* στην Ελλάδα και κοινώς ονομάζεται *Ελληνικό φασκόμηλο*. Έχει αρκετά συνώνυμα όπως *S. fruticosa* Mill, *S. libanotica* Boiss., και *Gail*, *S. lobryana* Aznav., *S. thomasli* Lacoita, *S. triloba* L. fil. (Karousou et al., 1998). Κατά την αρχαιότητα χρησιμοποιούνταν σαν πολυφάρμακο και το αναφέρουν ο Διοσκουρίδης, ο Αέτιος, ο Ιπποκράτης και ο Γαληνός (Μαλούπα κ.ά., 2013).

Το *S. triloba* είναι μικρός, ορθόκλαδος θάμνος, ύψους 40–80 cm και πλάτους 45-65 cm. Ο βλαστός είναι ξυλώδης, έντονα διακλαδωμένος στη βάση, τα άνθη είναι ιώδη–μπλε (εικόνα 1.5), ροζ ή άσπρα, μέχρι 3 cm, μικρά, λογχοειδή, εκφυόμενα 2-6 κατά αραιούς σπονδύλους και κάθε σπόνδυλος περιλαμβάνει 5-9 δίχειλα, ιώδη ή ρόδινα συμπέταλα άνθη. Τα φύλλα είναι ελλειψοειδή, απλά ή με δύο πλευρικούς λοβούς στη βάση τους, με διαφορετικό χρωματισμό στις δύο όψεις τους, χνουδωτά στενόμακρα 2.5-6 cm, πράσινα μέχρι γκριζωπά – οφειλόμενο στα τριχίδια με χαρακτηριστική μυρωδιά (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013).

Ανθίζει από το Μάρτιο έως τον Ιούνιο. Είναι πολυετές ενδημικό φυτό της Ελλάδας, αυτόχθον φυτό της Ιταλίας, της Κυρηναϊκής και των χωρών της ανατολικής Μεσογείου έως τη Συρία (Hedge 1982). Φύεται σε περιοχές με χαμηλή βλάστηση (μακκί και φρύγανα), σε βραχώδη, ξηρά εδάφη και σε υψόμετρα από 0-900m (Μαλούπα κ.ά., 2013).

Η απόδοση σε νωπό προϊόν μπορεί να φτάσει τα 1.300 kg/στρ. στον 2<sup>ο</sup> ή 3<sup>ο</sup> χρόνο καλλιέργειας, με σχέση νωπού προς ξηρό βάρος περίπου 3,5:1 (Μαλούπα κ.ά., 2013).

#### Στοιχεία καλλιέργειας:

Τα εδάφη που θερμαίνονται γρήγορα την άνοιξη ενδείκνυνται για το φασκόμηλο, όπως και τα αμμώδη ή τα ασβεστούχα, αλλά και τα καλά προσανατολισμένα στον ήλιο (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Το χώμα πρέπει να είναι καλά στραγγισμένο, αρκετά πλούσιο σε άζωτο (περίπου 15 kg/στρέμμα) και με pH 6–6,5.

Τα είδη του φασκόμηλου προτιμούν σχετικά θερμότερα κλίματα και όχι τα πολύ κρύα, ενώ είναι ολιγαρκή ως προς τις ανάγκες τους σε νερό (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Αν και το φασκόμηλο είναι ξηρικό φυτό, εντούτοις η διαθεσιμότητα του νερού αυξάνει την παραγωγή και σε περιόδους ανομβρίας ή καλοκαιρινής ξηρασίας το πότισμα αποδίδει και δεύτερη κοπή κατά το φθινόπωρο (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Ανάλογα με τις συνθήκες μπορεί να χρειαστούν 5-9 αρδεύσεις της τάξης των 30 m<sup>3</sup>/στρέμμα ανά άρδευση κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου.



Εικόνα 1.5.: *Salvia triloba* (πηγή: [robinsyard.blogspot.gr](http://robinsyard.blogspot.gr))



Η συγκομιδή που συνήθως προτείνεται για τις μεταμεσημβρινές ώρες, για τον πρώτο χρόνο πραγματοποιείται μία φορά (Αύγουστο-Σεπτέμβριο). Τον δεύτερο χρόνο συνήθως πραγματοποιούνται δύο κοπές, η πρώτη στο πρώτο δεκαπενθήμερο του Ιουνίου και η δεύτερη τον Σεπτέμβριο και υπάρχει περαιτέρω δυνατότητα τρίτης κοπής στην περίπτωση που πραγματοποιούνται τακτικές αρδεύσεις (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013).

#### Εχθροί και ασθένειες:

Το φασκόμηλο μπορεί να προσβληθεί από δύο μύκητες του εδάφους που συνήθως βρίσκονται σε χώματα συμπιεσμένα και κορεσμένα με νερό. Πρόκειται για τα *Pythium* sp. και *Phytophthora cryptogea*, που μπορούν να προκαλέσουν σημαντικές βλάβες (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Τα συμπτώματα που εμφανίζονται στο σύστημα των ριζών και ακολούθως στο υπέργειο τμήμα του φυτού, είναι μεταξύ άλλων η νέκρωση στο επίπεδο των ριζών, η αποξήρανση των βλαστών και η εμφάνιση κίτρινων, καφέ και μαύρων σημαδιών στα φύλλα (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Επιπλέον σημαντικές βλάβες στα νεαρά φυτά μέσα στα σπορεία, μπορεί να προκαλέσει το *Fusarium* sp. Η αντιμετώπιση τέτοιων προβλημάτων θα πρέπει να γίνεται με τα κατάλληλα μέσα αλλά και με προληπτικούς τρόπους όπως η αντιμετώπιση με ακατάλληλα φυτοπροστατευτικά μέσα και με συστηματική απομάκρυνση των ασθενών φυτών και με απολυμάνσεις του εδάφους (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Όταν το κλίμα είναι πιο υγρό το κυρίως πρόβλημα είναι οι μύκητες του γένους *Oidium*, οι οποίοι αντιμετωπίζονται με βάση το θειάφι (5Kg/στρέμμα) ή αλλά ειδικά αντιωιδιακά.

Μεταξύ των εχθρών που μπορούν να πλήξουν το φασκόμηλο είναι το *Eupteryx* του *Salvia*, ένα επίφοβο ημίπτερο που μπορεί να αναπτύσσεται για αρκετές γενεές, λόγω των θερμών κλιματολογικών συνθηκών, οι επιθέσεις του οποίου μπορούν να περιοριστούν με φυσικές ή συνθετικές πυρεθρίνες (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013).

#### Χημική σύσταση – αιθέριο έλαιο:

Τα αιθέρια έλαια του γένους *Salvia* είναι συνήθως γνωστά σαν τοξικά, επειδή περιέχουν μέχρι και 60 % θουγιόνη, μία τοξική κετόνη, αλλά τα αιθέρια έλαια του *S. triloba* είναι χαμηλής περιεκτικότητας σε θουγιόνη και θεωρούνται πολύ ασφαλέστερα (Katsiotis & Ikononou 1984). Το αιθέριο έλαιο του *S. triloba* είναι πολύ πλούσιο σε 1,8 κινεόλη και μπορεί να περιέχει σε μικρές ποσότητες θουγιόνες (<5%) (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Τα μονοτερπένια 1,8 κινεόλη και καμφορά έχει αποδειχθεί ότι αναστέλλουν το φύτεμα και την ανάπτυξη φυτών ανταγωνιστών εκδηλώνοντας με αυτό τον τρόπο φαινόμενα αλληλοπάθειας (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Το είδος *S. triloba* χαρακτηρίζεται από ένα φλαβονοειδές αποκαλούμενο σαλβιγενίνη, με το οποίο γίνεται δυνατό να ανιχνευτούν οι νοθεύσεις της *S. officinalis* με το *S. triloba*. Στη φυτοπροστασία το αιθέριο έλαιο χρησιμοποιείται και ως απωθητικό εντόμων (Prakash 1990).

Είναι σημαντική πηγή ροσμαρινικού οξέος, το οποίο παρουσιάζει μια σειρά από ενδιαφέρουσες βιολογικές δράσεις, π.χ. αντιική, αντιβακτηριακή, αντιφλεγμονώδη και αντιοξειδωτική. Τα φύλλα του φυτού με τη μορφή αφεψήγματος χρησιμοποιούνται ως αντιδιαβητικό φάρμακο (Στεφανιάκη-Νικηφοράκη 1999). Το αιθέριο έλαιο αξιοποιείται επίσης στη βιομηχανία τροφίμων και στην φαρμακοβιομηχανία (Rota et al., 2004).

### 1.2.2. Καρβακρόλη & Θυμόλη: κυρίαρχα συστατικά της οικογένειας *Lamiaceae*

Σε αποτελέσματα που προκύπτουν από αεριοχρωματογραφικές αναλύσεις η καρβακρόλη απαντάται σε ισχυρές συγκεντρώσεις στα αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών. Στο αιθέριο έλαιο του *C. capitatus* η ποσοστιαία περιεκτικότητα της καρβακρόλης συνήθως κυμαίνεται έως και 75% (v/v), ενώ στα υποείδη του *D. vulgare* μπορεί να ανέλθει έως και πάνω από 90% (v/v). Από τη χρωματογραφική ανάλυση του αιθερίου ελαίου του φυτού *S. montana* η καρβακρόλη αποδεικνύεται ως το κυρίαρχο συστατικό του σε ποσοστό 52.4% (Marin et al., 2011).

Η θυμόλη έχει σχεδόν ίδιο μοριακό τύπο με την καρβακρόλη, έχοντας την υδροξυλομάδα σε διαφορετική θέση στο φαινολικό δακτύλιο. Και οι δύο ουσίες εμφανίζονται να καθιστούν την κυτταρική μεμβράνη διαπερατή (Lambert et al., 2001). Η καρβακρόλη και η θυμόλη είναι σε θέση να αποσυνθέσουν την εξωτερική μεμβράνη των gram (-) βακτηριδίων, απελευθερώνοντας λιποπολυσακχαρίτες (LPS) και αυξάνοντας την διαπερατότητά της κυτταροπλασματικής μεμβράνης στο ATP.

Σχετικές μελέτες στο *Bacillus cereus* έχουν δείξει ότι η καρβακρόλη αλληλοεπιδρά με την κυτταρική μεμβράνη, όπου διαλύεται στο φωσφολιπιδικό στρώμα και πιθανώς εισάγεται μεταξύ των αλυσίδων λιπαρών οξέων (Ultee et al., 2000). Αυτή η παραμόρφωση της φυσικής δομής μπορεί να προκαλέσει την επέκταση και αποσταθεροποίηση της μεμβράνης, αυξάνοντας την ρευστότητα των μεμβρανών, η οποία στη συνέχεια αυξάνει την παθητική διαπερατότητα (Ultee et al., 2000). Η μέτρηση της μέσης θερμοκρασίας των βακτηριακών λιπιδίων επιβεβαιώνει ότι οι μεμβράνες στιγμιαία γίνονται περισσότερο ρευστές με την παρουσία της καρβακρόλης (Ultee et al., 2000). Επιπλέον το pH της κυτταρικής μεμβράνης μεταβάλλεται εξαιτίας της παρουσίας της καρβακρόλης (Ultee et al., 2000). Ως συμπέρασμα αυτού ήταν ότι η καρβακρόλη μορφώνει κανάλια μέσω της μεμβράνης με το να ωθεί χώρια τις αλυσίδες λιπαρών οξέων των φωσφολιπιδίων, εκτρέποντας τα ιόντα να αφήσουν το κυτταρόπλασμα (Ultee et al., 2000). Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης, που περιέχει ως κύριο συστατικό την καρβακρόλη, δημιουργεί διαρροή φωσφορικών ιόντων από τα *Staphylococcus aureus* και *Pseudomonas aeruginosa* (Lambert et al., 2001).

Η καρβακρόλη είναι σε θέση να εμποδίσει την παραγωγή διαρροϊκής τοξίνης από το *B. cereus*. Οι Juven et al., (1994) εξέτασαν την δράση της θυμόλης έναντι των *Salmonella typhimurium* και *S. aureus* και υπέθεσαν ότι η θυμόλη δεσμεύεται στις πρωτεΐνες μεμβρανών υδροφοβικά και με τη βοήθεια δεσμών υδρογόνου, μεταβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο τα χαρακτηριστικά διαπερατότητας της μεμβράνης (Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013). Σε χαμηλότερο pH το μόριο της θυμόλης διίσταται λιγότερο και επομένως είναι πιο υδροφοβικό και μπορεί έτσι να δεσμευτεί καλύτερα στα υδροφοβικά τμήματα των πρωτεϊνών και να διαλυθεί καλύτερα στη φάση λιπιδίων (Juven et al., 1994).

Ορισμένα αιθέρια έλαια μπορούν να προκαλέσουν εκτεταμένη αλλοίωση στη πλασματική μεμβράνη των φυτοπαθογόνων μυκήτων (Zhou et al., 2018 ' Puzstahelyi et al., 2015). Η πλασματική μεμβράνη, ως πλέγμα προστασίας του κυττάρου, διαδραματίζει έναν σημαντικό ρόλο στη βιωσιμότητα των μυκήτων. Η εργοστερόλη είναι ένα από τα πιο σημαντικά υλικά της πλασματικής μεμβράνης, διατηρώντας τη λειτουργικότητα και την ακεραιότητα της. Ο αποκλεισμός της σύνθεσης της, προκαλεί δυσλειτουργία στη κυτταρική μεμβράνη. Η μορφολογία της μυκηλιακής υφής τροποποιείται, καθώς αναστέλλονται τα ένζυμα που συνδέονται με τη μεμβράνη, όπως η χιτίνωση και η 3-γλουκανάση (Adams et al., 1996) και μειώνεται η περιεκτικότητα σε εργοστερόλη (Zhou et al., 2018), με αποτέλεσμα να προκαλείται η αποσταθεροποίηση και τελικώς η διάρρηξη της κυτταρικής μεμβράνης (De Oliveira et al., 2011; El-Mogy and Alsanis, 2012). Η καρβακρόλη που βρίσκεται στα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών της οικογένειας *Lamiaceae*, μπορεί να αναστέλλει τη σύνθεση της εργοστερόλης κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο στο φυτοπαθογόνο μύκητα *Rhizopus stolonifer* που προκαλεί μετασυλλεκτική σήψη σε καρπούς ροδάκινου (Zhou et al., 2018).

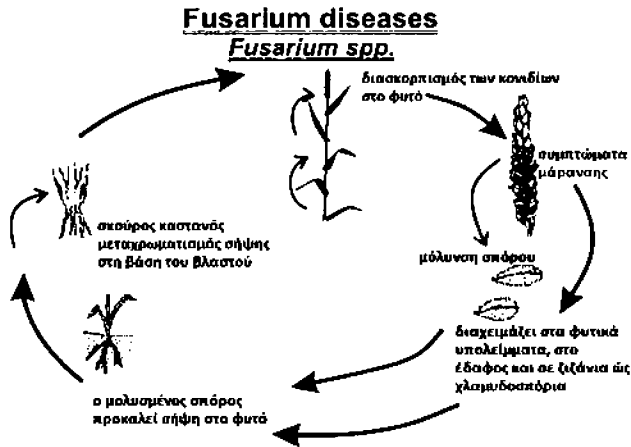
### 1.3. Φυτοπαθογόνοι μύκητες

Οι σήψεις ανάλογα του παθογόνου αιτίου και του προσβεβλημένου οργάνου διακρίνονται σε υγρές ή μαλακές όταν ακολουθούνται από έκκριση υγρών ή ξηρές σήψεις όταν μολυσμένος ιστός αφυδατώνεται αλλά διατηρεί την συνεκτικότητά του. Η συνεχής δράση των παθογόνων αιτιών οδηγεί συνήθως στην αποδιοργάνωση και νέκρωση των φυτικών ιστών και αυτό γίνεται είτε με ενζυματική δράση κατά την οποία διασπώνται τα συστατικά κυτταρικών τοιχωμάτων και τα κύτταρα αποχωρίζονται, οι ιστοί καταρρέουν και προκαλούνται συμπτώματα σήψεων, είτε με την άμεση δράση τοξινών που παράγουν τα παθογόνα και καταστρέφουν απευθείας το πρωτόπλασμα των φυτικών ξενιστών (Τζάμος 2007).

#### 1.3.1. *Fusarium* sp.

Το γένος *Fusarium* θεωρείται ως ένα από τα σημαντικότερα φυτοπαθογόνα γένη μυκήτων. Προκαλεί σοβαρές καταστρεπτικές ασθένειες, όπως αδρομυκώσεις, σηψιρριζίες, σήψεις της βάσεως και του στελέχους, τήξεις σπορειών, αλλά και εναέριας προσβολές ανθέων όπως στα σιτηρά (Τζάμος 2007).

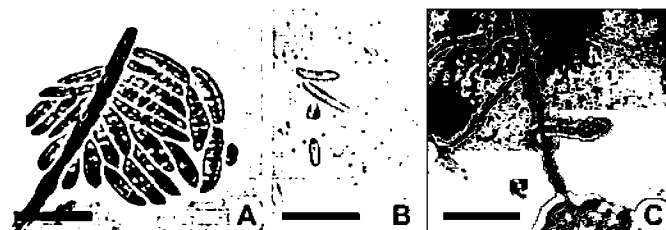
Ο μύκητας *F. solani* ευνοείται από υψηλή υγρασία και θερμοκρασίες 25-32 °C (Τσαπικούνης 1996) και διατηρείται στα νεκρά υπολείμματα των φυτών ως σαπροφυτικό μυκήλιο με μικροκονίδια και μακροκονίδια ή στο έδαφος ως χλαμυδοσπόρια και μεταδίδεται με το έδαφος και με το νερό (σχήμα 1.6). Μολύνει τα φυτά από τις λεπτές ρίζες και τα ακρορριζία και εγκαθίσταται στα αγγεία του ξύλου (Τζάμος 2007) και υποβοηθάται από τραυματισμούς και προσβολές από νηματώδεις (Τσαπικούνης 1996). Εάν ο μύκητας φθάσει μέσω των αγγείων μέχρι τους καρπούς, τότε οι σπόροι πιθανόν να είναι μολυσμένοι εσωτερικά ή εξωτερικά με κονίδια.



Σχήμα 1.6.: Βιολογικός κύκλος του *Fusarium* spp. (πηγή: cereals.ahdb.org.uk)

Τα μικροκονίδια δημιουργούνται πάνω σε ένα φιαλίδιο, που σχηματίζεται στην υφή που αποτελεί διακλάδωση του κονιδιοφόρου. Είναι ωσειδή-ελλειψοειδή, κυλινδρικά, διαστάσεων 5-12 x 2.2-3.5 μm με συνήθως 0 ή 1-2 septa (Su et al., 2010). Τα μακροκονίδια (εικόνα 1.6. Α) σχηματίζονται είτε στους κονιδιοφόρους είτε στα σποριοδόχεια (τύπου *Tubercularia*) με συνήθως 3-5 septa (Su et al., 2010). Έχουν λεπτά τοιχώματα με τρία έως πέντε εγκάρσια χωρίσματα, οξυκατάληκτα άκρα. Τα χλαμυδοσπόρια είναι επάκρια ή ενδιάμεσα και σχηματίζονται συνήθως μεμονωμένα και περιστασιακά κατά ζεύγη ή σε αλυσίδες (Τζάμος 2007).

Ως εδαφογενές παθογόνο επιβιώνει για μεγάλες περιόδους κυρίως υπό την μορφή χλαμυδοσπόριων (εικόνα 1.6. C.), τα οποία είναι μονοκύτταρα ή δίκύτταρα σπόρια με παχύ κυτταρικό τοίχωμα. Όταν οι ρίζες προσεγγίζουν τα χλαμυδοσπόρια, αυτά βλαστάνουν και οι αναπτυσσόμενες υφές προσκολλώνται στις ρίζες των φυτών (Bishop & Cooper 1983a · Di Pietro et al., 2001) στις οποίες εισχωρεί είτε έμμεσα στα σημεία έκπτυξης των δευτερευουσών ριζών ή και εξαιτίας πληγών (Agrios 2005), είτε άμεσα (Rodríguez-Galvez & Mendgen 1995). Απο τους μεσοκυττάριους χώρους το μυκήλιο προχωρά έως ότου εισέλθει μέσω των βοθρίων στα αγγεία του ξύλου (Bishop & Cooper 1983b). Σε αυτή την ιδιαίτερη φάση της μόλυνσης ο μύκητας παραμένει στα αγγεία του ξύλου απο τα οποία αποικίζει τον ξενιστή μέσω της παραγωγής μικροκονιδίων (εικόνα 1.6. B) τα οποία μεταφέρονται ανοδικά μέσω της ροής του ανιόντος χυμού (Bishop & Cooper 1983a). Τα μικροκονίδια βλαστάνουν και το μυκήλιο διαπερνά τα άνω τοιχώματα των αγγείων παράγοντας τελικά περισσότερα κονίδια μέσα στο επόμενο αγγείο.

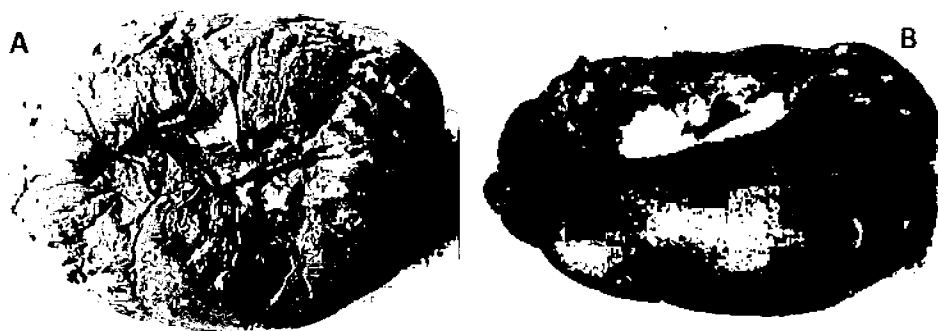


Εικόνα 1.6.: Μορφολογία των κονιδίων του *Fusarium solani*, (A) Μακροκονίδια (B) Μικροκονίδια (C) Χλαμυδοσπόρια (πηγή: Su et al., 2010)

#### Η ξηρή σήψη που προκαλεί το *Fusarium* sp.:

Η ξηρή σήψη (dry rot) που προκαλείται από μύκητες του γένους *Fusarium* (*F. sambucinum*, *F. solani*, *F. culmorum* και *F. Avenaceum*), μπορεί να προκαλέσει βλάβες σε αποθηκευμένους καρπούς πατάτας, καθώς και στα σπορεία μετά τη φύτευση και αποτελεί σε παγκόσμια κλίμακα, μια από τις σημαντικότερες μετασυλλεκτικές ασθένειες (Wharton et al., 2007).

Η ξηρή σήψη είναι ένα συχνό πρόβλημα που ξεκινά συνήθως με μία σκούρα κηλίδα διαμέτρου 1-2 cm στο κάτω μέρος του καρπού. Η κηλίδα έχει σκούρο χρώμα. Η λοίμωξη αρχίζει στη περιοχή της πληγής. Μόλις ξεκινήσει η μόλυνση, διευρύνεται αργά προς όλες τις κατευθύνσεις. Στο σημείο εμφάνισης της κηλίδας, ο καρπός βαθουλώνει. Η κηλίδα σταδιακά αυξάνει σε μέγεθος και απλώνεται καλύπτοντας όλο το κάτω μέρος του καρπού. Το δέρμα πάνω από τη μολυσμένη περιοχή βυθίζεται και δημιουργούνται ρυτίδες, ορισμένες φορές σε ομόκεντρους δακτυλίους (Εικόνα 1.7.A). Εσωτερικά, οι μολυσμένες περιοχές είναι από ανοικτό καφέ χρώμα έως μαύρο, καθώς ο μύκητας καταστρέφει τα κύτταρα του κονδύλου. Οι εσωτερικές κοιλότητες που δημιουργούνται από μολύνσεις ξηρής σήψης γενικά περιέχουν μυκήλιο διαφόρων χρωμάτων (Εικόνα 1.7.B).



Εικόνα 2.7. (A) Εξωτερική και (B) εσωτερική εμφάνιση συμπτωμάτων ξηρής σήψης σε καρπό πατάτας. (πηγή: [www.agric.wa.gov.au](http://www.agric.wa.gov.au))

Οι μολυσμένες περιοχές συνήθως παραμένουν ξηρές, αλλά σε υψηλά επίπεδα υγρασίας, είναι πιθανή η είσοδος βακτηρίων. Εάν οι μολυσμένες περιοχές δεν αφαιρεθούν, ο κόνδυλος μπορεί να σαπίσει και να συρρικνωθεί εντελώς. Το γένος *Fusarium* μπορεί επίσης να προκαλέσει μάρανση στα φυτά, η οποία περιλαμβάνει την παρεμπόδιση της ανάπτυξης, τη χλώρωση των φύλλων και την πτώση των κατώτερων φύλλων.

Τα είδη του γένους *Fusarium* μπορούν να επιβιώσουν στο έδαφος για μεγάλο χρονικό διάστημα είτε ως σπόρια, είτε σε αποσυντιθέμενο φυτικό υλικό. Το έδαφος στο οποίο φύονται οι κόνδυλοι κατά τη συγκομιδή, περιέχει σπόρια που μπορεί να οδηγήσουν σε μόλυνση κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Η διάδοση της ασθένειας μπορεί να οφείλεται σε πληγές που δημιουργούνται κατά τη συγκομιδή των σπόρων. Τα τραύματα που δημιουργούνται κατά τη διάρκεια αυτών των διαδικασιών επιτρέπουν στους μύκητες *Fusarium* να εισέλθουν στον κόνδυλο και να εξαπλωθούν. Την ανάπτυξη της ξηρής σήψης βοηθούν θερμοκρασίες 15 έως 20 °C και υψηλή σχετική υγρασία. Οι χαμηλότερες θερμοκρασίες και υγρασία επιβραδύνουν τον μύκητα, αλλά η ανάπτυξη της ξηρής σήψης συνεχίζεται ακόμη και με τις χαμηλότερες θερμοκρασίες αποθήκευσης (4 °C). Οι κόνδυλοι πατάτας παρόλο που έχουν μολυνθεί, δεν παρουσιάζουν συμπτώματα κατά τη διάρκεια ή μετά τη διαμετακόμισή τους, ανάλογα με την ευαισθησία της κάθε καλλιέργειας στη ξηρή σήψη (Wharton et al., 2007).

Η διαχείριση της ξηρής σήψης γενικά περιλαμβάνει, την εφαρμογή τεχνικών ελαχιστοποίησης της μόλυνσης. Όταν οι κόνδυλοι σπόρων συγκομίζονται, η μόλυνση μπορεί να ελαχιστοποιηθεί εξασφαλίζοντας ότι οι καρποί πατάτας διατηρούνται υπό συνθήκες που προάγουν την ταχεία επούλωση. Πολύ σημαντική είναι η αποφυγή της μόλυνσης κατά την αποθήκευση των καρπών, σε περιβάλλον χωρίς υψηλή υγρασία.

Η αντιμετώπιση της ασθένειας που προκαλεί το *F. solani* στηρίζεται στη χρήση ανθεκτικών ποικιλιών και πολλαπλασιαστικού υλικού απαλλαγμένο από ασθένειες. Ένας τρόπος περιορισμού του παθογόνου κατά τα πρώτα στάδια της προσβολής, ήταν η χρήση του διασυστηματικού μυκητοκτόνου ημμεξαζόλ, όπου η εφαρμογή του γινόταν με ριζοπότισμα (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2008), όμως η χρήση χημικών σκευασμάτων δεν έχει δώσει σημαντικό αποτέλεσμα, καθώς δημιουργεί επιπλέον προβλήματα λόγω της υπολειμματικότητας τους όπως η φυτοτοξικότητα από την αλόγιστη χρήση τους, η μη εκλεκτικότητα τους, η αρνητική επίδραση στους ωφέλιμους μικροοργανισμούς και η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των παθογόνων στα συνθετικά χημικά σκευάσματα. Στον νομό Ηλείας πριν την καθιέρωση των εμβολιασμένων φυτών, τα βενζιμιδαζολικά (benomyl κ.ά.) συχνά αδυνατούσαν να ελέγχουν τους μύκητες και πολλές φορές χάνονταν ολόκληρες φυτείες καρπουζιών (Τσαπικούνης 1996).

Στον αντίποδα η βιολογική καταπολέμηση του *Fusarium* sp. Έχει παρουσιάσει σημαντικά δεδομένα από τη χρήση ανταγωνιστών μικροοργανισμών για τον έλεγχο του, όπως τα βακτήρια: *Burkholderia cepacia* (Bevivino et al., 2005) και *Pseudomonas fluorescence* (Lemanceau & Alabouvette, 1991), και μυκήτων όπως τα: *Gliocladium* και *Trichoderma* (Shoukamy et al., 2006). Η ηλιοαπολύμανση επίσης έχει παρουσιάσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα μειώνοντας την ασθένεια (Agrios 2005). Ωστόσο η βιολογική καταπολέμηση του μύκητα, είναι ένα πεδίο που απαιτεί περαιτέρω μελέτη.

## Μυκοτοξίνες του γένους *Fusarium*:

Οι μύκητες παράγουν μυκοτοξίνες, στους καρπούς των φυτών, οι οποίες είναι υπεύθυνες για σημαντικά προβλήματα δηλητηριάσεων στα (αγροτικά) ζώα και άνθρωπο. Οι σημαντικότερες μυκοτοξίνες του γένους *Fusarium* είναι οι: τριχοθηκένια (trichothecenes) με πιο σημαντικές τη δεοξυνιβαλενόλη και τη τοξίνηΤ-2 που επηρεάζουν κυρίως την ευκαρυωτική πρωτεϊνοσύνθεση, η ζεαραλενόνη (zearalenol) που είναι λακτόνη του ρεσοκυκλικού οξέος, με αμελητέα οξεία τοξικότητα αλλά πολύ υψηλή οιστρογονική δραστηριότητα και οι φουμονισίνες (fumonisins), οι οποίες επηρεάζουν τη βιοσύνθεση του κεραμίδιου και είναι πιθανώς καρκινογόνες για τον άνθρωπο (Adam et al., 2015).

Τα τριχοθηκένια παράγονται από αρκετά μέλη του γένους *Fusarium*, συμπεριλαμβανομένων του *F. solani* (Clark et al., 1995). Δοκιμές με τριχοθηκένια σε χαμηλή δοσολογία, είχαν ως αποτέλεσμα την έκφραση πολλών από τα χαρακτηριστικά της προσβολής του ζωϊκού οργανισμού από μυκοτοξίνες, συμπεριλαμβανομένων της αναιμίας, της ανοσοκαταστολής, της αιμορραγίας και της άρνησης τροφής (Desjardins & Hohn 1997).

Οι μυκοτοξίνες του γένους *Fusarium* περιλαμβάνουν, ισχυρά οιστρογονικά πολυκετίδια, τις ζεαραλενόνες, οι οποίες προκαλούν αιδοιοκολπίτιδα και οιστρογονική έκκριση σε χοίρους. Η ζεαραλενόνη παράγεται κυρίως από το *F. graminearum*, το οποίο εμφανίζεται φυσικά σε υψηλής υγρασίας καλαμπόκι και έχει βρεθεί σε περιβλήματα καρπών. Η κατανάλωση ζωοτροφών μολυσμένων με ζεαραλενόνες προκαλούν σοβαρά προβλήματα αναπαραγωγής και γονιμότητας στα ζώα (Marasas et al., 1984).

Οι μυκοτοξίνες εννιατίνες (enniatins) και μποβερικίνες (beauvericins) αποτελούν μια οικογένεια κυκλικών δεψιπεπτιδίων που παράγονται από πολλά είδη του γένους *Fusarium* και έχουν αποδειχθεί τοξικές τόσο στα σπονδυλωτά όσο και στα φυτά (Desjardins & Hohn 1997).

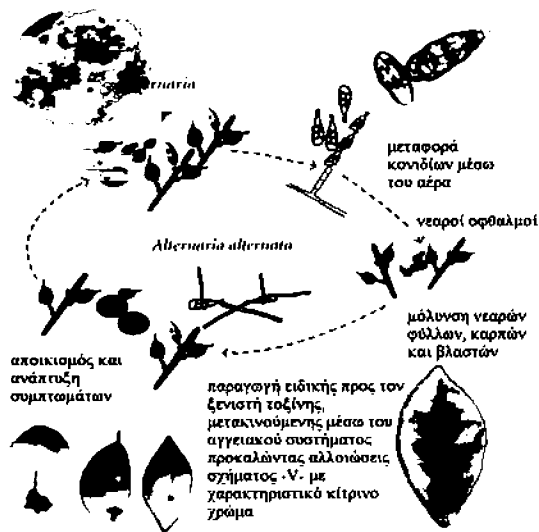
Το φουμαρικό οξύ σχηματίζεται από πολλά είδη *Fusarium* όπως το *F. solani* και η σπουδαιότερη επίδραση του φουμαρικού οξέος είναι στους νευροδιαβιβαστές (Rimando & Porter, 1999 · Adam et al., 2015) θεωρείται ότι δρα ως αναστολέας της ντοπαμίνης-β-μονοοξυγενάση (Nagasaka et al., 1985 · Adam et al., 2015).

Τοξίνες που εκκρίνονται από τα παθογόνα στα αγγεία, μεταφέρονται στα φύλλα όπου προκαλούν μείωση της σύνθεσης της χλωροφύλλης κατά μήκος των νευρώσεων, καταστρέφουν την ικανότητα των μεμβρανών των κυττάρων να ελέγχουν την απώλεια νερού μέσω της εξατμισοδιαπνοής και τη διαπερατότητα τους, προκαλώντας έτσι ενδοαγγειακή νέκρωση, επιναστία των φύλλων, μάρανση και καστανό μεταχρωματισμό (Agrios 2005).

### 1.3.2. *Alternaria* sp.

Το γένος μυκήτων *Alternaria* (Early blight, target spot, *Alternaria* blight) είναι υπεύθυνο για απειράριθμες κηλιδώσεις συνήθως σε συγκεντρικούς κύκλους, νεκρώσεις, σηψιρριζίες, ή και γενικότερες σήψεις. Αντιπροσωπευτικά είδη είναι τα *Alternaria alternata* και *Alternaria solani* που προσβάλλουν την τομάτα αλλά και άλλα σολανώδη (Τσαπικούνης 1996).

Ο μύκητας *Alternaria alternata* διατηρείται στα υπολείμματα της καλλιέργειας και μαζί με τον μολυσμένο σπόρο αποτελούν τις αρχικές πηγές μόλυνσης. Η μετάδοση του ευνοείται από υψηλή σχετική υγρασία, ελεύθερη υγρασία (σταγόνα) με βέλτιστο εύρος 70-90%, βροχή και θερμοκρασίες 24-29 °C (Τσαπικούνης 1996) και ανέμους μεγάλης ταχύτητας. Τυπικό παράδειγμα διασποράς των σπορίων (σχήμα 1.7) του μύκητα *Alternaria* στην ατμόσφαιρα τέτοιων ευνοϊκών συνθηκών είναι οι απογευματινές ώρες ηλιόλουστων ημερών, κατά τους θερινούς μήνες (Kirk et al., 2008 ' Bush & Prochnau 2004).



Σχήμα 1.7.: Βιολογικός κύκλος του *Alternaria* spp. (πηγή: Kuang-Ren Chung 2012)

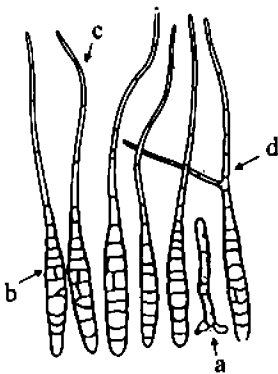
Επιβιώνει με τη μορφή κονιδίων, μυκηλίων ή και με τη μορφή γλαυδοσπορίων (Παναγόπουλος 2000). Οι καλλιέργειές του μύκητα απαιτούν οξυγόνο και μια πηγή οργανικού αζώτου, καθώς και μικρές ποσότητες υδατανθράκων, καθώς στερούνται χλωροφύλλης (kirk et al., 2008 ' Kwon-Chung & Bennett 2001)

Ο μύκητας σχηματίζει πολυκύτταρο καστανό μυκήλιο, με κονιδιοφόρους και κονίδια. Τα κονίδια (εικόνα 1.8.) είναι δικτυσπόρια σκούρου καστανού χρώματος, σχηματίζονται κατα κανόνα μεμονωμένα. Το κυρίως σώμα τους (σχήμα 1.8.b) έχει σχήμα ελλειπσοειδές, επίμηκες και είναι ελαφρώς διογκωμένο στο σημείο πρόσφυσής του με τον κονιδιοφόρο, έχουν ράμφος (beak) ίσο ή μεγαλύτερο από το μήκος του σπορίου και διαστάσεις: 153-288 x 18-20 μm. Εμφανίζουν 9-11 εγκάρσια και λίγα ή καθόλου επιμήκη διαφράγματα (septa). Το ράμφος (σχήμα 1.8.c) των κονιδίων σε μερικές περιπτώσεις διακλαδίζεται κοντά στο σημείο ένωσης του με το κυρίως σώμα του κονιδίου (σχήμα 1.8.d), έχει πάχος 2,5-5 μm και είναι κεκαμμένο χρώματος ανοιχτού κίτρινου (Ellis & Gibson 1975). Οι κονιδιοφόροι (σχήμα 1.8.a) είναι μεμονωμένοι ή σε μικρές δέσμες, ευθείς ή κεκαμμένοι με septa και έχουν χρώμα ανοιχτό καστανό με διάμετρο 6-10 μm και μήκος μέχρι 100 μm (Τζάμος 2007).

## Τα συμπτώματα της Αλτερναρίωσης:

Απαραίτητη προϋπόθεση για τη βλάστηση των κονιδίων του μύκητα αλλά και τη πραγματοποίηση των μολύνσεων, είναι η υγρασία των φυτών. Η ασθένεια ευνοείται ιδιαίτερώς όταν μετά από μια βροχή, επικρατεί υγρός καιρός. Τα κονίδια βλαστάνουν μέσα σε 1-2 ώρες σε θερμοκρασίες που κυμαίνονται μεταξύ 8 έως 32 °C. Στα στομάτια ή με διάτρηση της εφυμενίδας σε θερμοκρασίες 10-25 °C, αρχίζει η είσοδος του μύκητα εντός των ιστών. Για τη μόλυνση σε θερμοκρασία 22 °C απαιτούνται μόνο 3 ώρες (Παναγόπουλος 2000), ενώ σε θερμοκρασία 15 °C απαιτούνται 8 ώρες. Ο χρόνος επώασης είναι 2-3 ημέρες. Η άριστη θερμοκρασία για το σχηματισμό των κονιδιοφόρων και κονιδίων είναι 19 έως 23 °C (Rotem 1994). Η παραγωγή σπορίων και η ανάπτυξη των εξανθήσεων εξαρτάται από την υγρασία.

Όλα τα αναπτυξιακά στάδια του φυτού μπορούν να είναι ευπαθή στο μύκητα και όλα τα υπέργεια μέρη μπορούν να προβληθούν. Στα ανεπτυγμένα φυτά σχηματίζονται, πρώτα στα παλαιότερα φύλλα της βάσης, κυκλικές ή γωνιώδεις καστανές ή μαύρες κηλίδες με συγκεντρικούς κύκλους (συγκεντρικές ζώνες) διαμέτρου 3-10 mm (Παναγόπουλος 2000).



Σχήμα 1.8.: Μορφολογία κονιδιοφόρου (a), κυρίως σώμα κονιδίου (b), ράμφους (c), διακλάδωσης του ράμφους (d) του *Alternaria* sp. (πηγή: Ellis & Gibson 1975)



Εικόνα 1.8.: Κονίδια *Alternaria alternata* (πηγή: [plantmanagementnetwork.org](http://plantmanagementnetwork.org))

Στα νεαρά φυτά τα συμπτώματα εμφανίζονται ως σκοτεινές περιοχές στη βάση του στελέχους κοντά στην επιφάνεια του εδάφους, οι οποίες εξελίσσονται γύρω από το στέλεχος και προς τα πάνω αποξηραίνοντας το φυτό (ΥΠΑΑΤ). Σε στελέχη και μίσχους των καρπών σχηματίζονται οι χαρακτηριστικές βυθισμένες κηλίδες στους καρπούς (εικόνα 1.9.) που μοιάζουν με στόχο (target spot). Η προσβολή ξεκινά περιμετρικά του κάλυκα ή από τραυματισμούς και έχει δερματώδη υφή (Παναγόπουλος 2000). Στις κηλίδες σχηματίζεται η χαρακτηριστική μαύρη εξάνθηση. Συνήθως οι κηλίδες συχνά περιβάλλονται από χλωρωτική ζώνη στα παλαιότερα φύλλα. Οι προσβεβλημένοι ιστοί μεταχρωματίζονται σε μαύροι, νεκρώνονται και τελικά τα περισσότερο προσβεβλημένα φύλλα μαραίνονται και πέφτουν πρόωρα (Παναγόπουλος 2000).



Εικόνα 1.9.: Συμπτώματα προσβολής από *Alternaria alternata* σε καρπούς ταμάτας (πηγή: [seminis-us.com](http://seminis-us.com))



Ο μύκητας *Alternaria* προκαλεί τήξεις στα νεαρά φυτάρια μετά τη μεταφύτευση στο στέλεχος και το λαιμό δημιουργώντας έλκη βυθισμένα στο κέντρο όπου συχνά περιβάλλονται από ομόκεντρους καστανούς δακτυλλούς, ενώ στα φύλλα μπορεί να φτάσουν το 1.5 cm σε διάμετρο (Τσαπικούνης 1996).

Η αντιμετώπιση των αλτερναριώσεων βασίζεται στη χρησιμοποίηση υγιούς σπόρου και υγιών φυταρίων. Τα φυτικά υπολείμματα της καλλιέργειας θα πρέπει να καταστρέφονται αλλά και να χορηγείται ισορροπημένη λίπανση. Γενικά δεν απαιτείται ειδική προστασία των φυτών με χημικά για την αλτερναρίωση, διότι μυκητοκτόνα εγκεκριμένα για άλλες ασθένειες όπως ωίδιο και περονόσπορος, προσφέρουν ταυτόχρονη προστασία (ΥΠΑΑΤ). Τα βενζιμιδαζολικά γενικώς δεν φαίνεται να είναι αποτελεσματικά (Παναγόπουλος 2000), για την αντιμετώπιση της ασθένειας λόγω της ανάπτυξης ανθεκτικών στελεχών σε αυτά. Συνιστώνται προληπτικοί ψεκασμοί ανά 7-10 ημέρες με διθειοκαρβαμιδικά ή με ehlorothalonil, cytochanil+maneb, folpet, dichlofluanid, iprodione, mancozeb, proprineb, proprineb+cytochanil, metiram, zineb, ziram.

Στοιχεία που αφορούν τη βιολογική καταπολέμηση του γένους *Alternaria* περιλαμβάνουν την αντιμετώπιση του με ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς. Σύμφωνα με τους Das & Anima (1968) ο μύκητας *R. stolonifer* και σε χαμηλότερο βαθμό το *Trichoderma viride* και το *Fusarium equiseti* παρεμποδίζουν την ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου. Η δράση του *R. stolonifer* οφείλεται στη παραγωγή μιας μυκοστατικής ουσίας από το μύκητα αυτόν, που πιθανόν να είναι παράγωγο της κουμαρίνης.

#### **Μυκοτοξίνες του γένους *Alternaria*:**

Τα είδη του γένους *Alternaria* παράγουν μυκοτοξίνες, ικανές να προκαλέσουν χλώρωση και νέκρωση των φυτών, όταν εισαχθούν σε αυτά (Rotem 1994). Τέτοια τοξική ουσία αποτελεί το το νουαζονικό οξύ (tenuazonic acid) (Logrieco et al., 2003) που αναστέλλει τη σύνθεση των πρωτεϊνών, ενώ λιγότερο τοξικούς μεταβολίτες αποτελούν η αλτερναριόλη και ο μεθυλεθαίρας της αλτερναριόλης, το αλτενουένιο (altenuene), οι αλτεροτοξίνες (altertoxins) I, II και III (Logrieco et al., 2003; Pitt et al., 2009), η ζινιόλη (zinniol), το αλτερναρικό οξύ και η τενοξίνη (Rotem 1994 · Scott 2001).

Η κυριότερη τοξίνη του μύκητα *A. solani* που απομονώθηκε από νεκρωτικούς ιστούς φυτού τομάτας, καθώς και από διήθημα καλλιέργειας του μύκητα και σχετίζεται με την παθογένεια, είναι το αλτερναρικό οξύ (Brian et al., 1952 · Langsdorf et al., 1990). Η εισαγωγή της τοξίνης αυτής στο αγγειακό σύστημα των φυτών τομάτας και πατάτας προκάλεσε την εμφάνιση χλωρώσεων, νεκρώσεων και χαρακτηριστικών κηλίδων στα φύλλα ή ακόμα και τη νέκρωση ολόκληρων των φυτών. Επιπλέον το φυτοπαθογόνο παράγει και άλλες τοξίνες όπως η ζινιόλη που επηρεάζει τη διαπερατότητα των μεμβρανών και η αλτεροσολανόλη A (altersolanol A) (Holestein & Stoessl 1983 · Rotem 1994).

Από την απομόνωση του μεταβολίτη αλτεροσολανόλη A από το μύκητα *A. solani*, διαπιστώθηκε ότι προκαλεί φυτοτοξικότητα (Holestein & Stoessl 1983). Σε πειράματα στο θερμοκήπιο παρατηρήθηκε ότι τα 50 μg / ml διαλύματος του μεταβολίτη προκάλεσαν χλώρωση, νέκρωση και σήψη των φύλλων φυτών πατάτας.

Οι εξειδικευμένες τοξίνες προς τους ξενιστές (HSTs) που παράγονται από το είδος *A. Alternata*, παρουσιάζουν μοναδικούς τρόπους δράσης και τοξικότητας στα αντίστοιχα φυτά ξενιστές τους, όπως η μυκοτοξίνη AM (σε καρπούς αχλαδιών και μήλων) που δρα στους χλωροπλάστες (Nishimura et al., 1987), ζημώνει όχι μόνο τους καρπούς, αλλά και τα φύλλα ευπαθών ποικιλιών αχλαδιάς στο μύκητα (Nishimura and Kohmoto 1983 · Kohmoto et al., 1993).

Πολλά είδη *Alternaria* παράγουν μη εκλεκτικές προς τους ξενιστές τους μυκοτοξίνες που παρουσιάζουν φυτοτοξική δράση, όπως η μπρεφελδίνη Α που προκαλεί αποσυναρμολόγηση του συμπλέγματος Golgi, η αλτεροτοξίνη και η τεντοξίνη (Thomma 2003) και άλλες που είναι επιβλαβείς για τον άνθρωπο και άλλα ζώα (Orvehed et al., 1988). Η δράση των μυκοτοξινών στην πρωτοπλασματική μεμβράνη συνίσταται σε μεταβολή της διαπερατότητας της και άλλες ιστολογικές αλλοιώσεις των ξενιστών όπως η απώλεια ηλεκτρολυτών και κυρίως Κ<sup>+</sup> από τους προσβεβλημένους ιστούς.

Ορισμένα είδη *Alternaria* μπορούν επίσης να προκαλέσουν λοιμώξεις του ανώτερου αναπνευστικού και άσθμα στους ανθρώπους (Bush & Prochnau 2004). Η μεταλλαξιογόνος δράση της αλτεροτοξίνης ΙΙΙ, παρουσιάζεται δέκα φορές μικρότερη από εκείνη της αφλατοξίνης Β1 (Bottalico and Logrieco, 1998).

#### 1.4. Αναφορά στις βιολογικές δράσεις αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών

Χάρη στην χημική ποικιλότητα και την εξειδίκευση που έχουν αποκτήσει, μέσα από τη διαδικασία της φυσικής επιλογής, τα φυσικά προϊόντα παρουσιάζουν τεράστιες δυνατότητες ως ρυθμιστές μοριακών λειτουργιών, γεγονός που τα καθιστά βασική πηγή για την ανακάλυψη φαρμάκων και την παροχή σχεδιαστικών προτύπων για την κατασκευή συνθετικών μορίων (Hong 2011).

Οι βιολογικές χρήσεις των αιθέριων ελαίων συμβάλλουν μέσω των ευρύτερων εφαρμογών που παρέχουν τα δραστικά τους συστατικά, στην καταπολέμηση μικροβίων, παρασίτων και ασθενειών στη γεωργία, ενώ έχουν αποδειχθεί σημαντικές και στην υγεία. Οι πιο σημαντικές βιολογικές δράσεις των αιθέριων ελαίων είναι η αντιική, η αντιοξειδωτική, η αντιφλεγμονώδης και η αντικαρκινική.

Η **αντιοξειδωτική δράση** των αιθέριων ελαίων οφείλεται κυρίως σε φαινολικά τερπένια στα οποία συνήθως η ρίγανη, το θυμάρι, το φασκόμηλο, το δενδρολίβανο, το χαμομήλι και το πράσινο τσάι είναι ιδιαίτερα υψηλά σε περιεκτικότητα. Το αιθέριο έλαιο δενδρολίβανου είναι το πιο καλά μελετημένο για τις αντιοξειδωτικές του ιδιότητες (Yanishlieva et al., 2006). Το αιθέριο έλαιο του φυτού *S. montana* παρουσιάζει αντιοξειδωτική δράση (Trifan et al., 2015). Το φασκόμηλο και η ρίγανη φαίνεται να προσελκύουν το ενδιαφέρον των ερευνητών που μελετούν την αντιοξειδωτική τους δράση (Yamasaki et al., 1998).

Η **αντιφλεγμονώδης δράση** των αιθέριων ελαίων αποδίδεται στη λιπόφιλη φύση τους. Τα αιθέρια έλαια ενσωματώνονται στην κυτταρική μεμβράνη των κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος που παράγουν ισταμίνη, εμποδίζοντας με αυτό τον τρόπο λειτουργικές πρωτεΐνες, έτσι ώστε να καταστέλλονται (Lahlou 2004 · Παρασκευάκης 2014).

Η **αντιική δράση** των αρωματικών φυτών είναι ένα σημαντικό πεδίο που απαιτεί περαιτέρω έρευνα. Μεταξύ των ειδών *Satureja*, φαίνεται ότι το *S. montana* έχει αξιολογηθεί για την αντιική του δραστηριότητα, καθώς το υδατικό εκχύλισμα αυτού του φυτού προκάλεσε ισχυρή αντιική δραστηριότητα κατά του ιού ανοσοανεπάρκειας του ανθρώπου (*Human Immunodeficiency Virus-1*) με αποτελεσματική δόση τα 16 μg/ml.

Υπάρχει διαθέσιμος ένας μεγάλος όγκος εργασιών που αναφέρεται στην **αντικαρκινική δράση** των αιθέριων ελαίων (Vicuna et al., 2009). Ανάμεσα σε ορισμένα είδη φυτών της διαίρεσης *Magnoliophyta*, το *S. montana* μπορεί να επάγει την ερυθροϊδή διαφοροποίηση σε ανθρώπινα ερυθρολευχαιμικά κύτταρα K562 και αναστέλλει τη κυτταρική ανάπτυξη (Lampronti et al., 2006). Το εκχύλισμα του *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, που ανήκει στον χημειότυπο της καρβακρόλης, μπορεί να προκαλέσει απόπτωση και νέκρωση στη καρκινική κυτταρική σειρά A549 (Yfanti et al., 2015). Τα άνθη και τα φύλλα του φυτού *Salvia* αποτελούν την μεγαλύτερη πηγή της σκλαρεόλης ουσίας με αντιλευχαιμική δράση σε *in vitro* μελέτες (Chinou 2005).

##### 1.4.1. Η αξιοποίηση των αρωματικών φυτών και των αιθέριων ελαίων τους στη φυτοπροστασία

Σε ολοκληρωμένα προγράμματα διαχείρισης φυτοπαθογόνων ιδιαίτερη σημασία παρουσιάζει, η αξιοποίηση των αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών έναντι των συμβατικών φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων.

Σήμερα, χωρίς την εφαρμογή προγραμμάτων ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας, κινδυνεύει να εξαφανιστεί το 20-40% της γεωργικής παραγωγής στο χωράφι και το 10-20% στους χώρους αποθήκευσης. Η χρήση σύνθετων χημικών παρασιτοκτόνων είναι συνώνυμο της συμβατικής

φυτοπροστασίας, η οποία εύκολα συνεπάγεται τη καταχρηστική και μη ορθολογική χρησιμοποίηση των φυτοφαρμάκων (Μπούρμπος κ.ά., 1997).

Τα πεδία στα οποία μπορούν να αξιοποιηθούν στην αντιμετώπιση των ασθενειών των καλλιεργούμενων φυτών, εστιάζονται στη χρησιμοποίηση των αρωματικών φυτών που περιέχουν αιθέρια έλαια σε μικτή καλλιέργεια με τα καλλιεργούμενα είδη, στην ενσωμάτωση χορτομάζας αρωματικών φυτών στο έδαφος και κυρίως εκείνων των τμημάτων που περιέχουν τα περισσότερα αιθέρια έλαια με αλληλοπαθητικές ιδιότητες, στην εξουδετέρωση των τοξικών ριζοσφαιρινών με τη βοήθεια μικροοργανισμών για την ανταγωνιστική ριζοσφαιρική μικροχλωρίδα, στη διέγερση των καλλιεργούμενων φυτών με σκοπό την παραγωγή αλληλοχημικών-αιθέριων ελαίων, στη παρασκευή φυτικών εκχυλισμάτων αρωματικών φυτών που περιέχουν αιθέρια έλαια με παρασιτοκτόνες ιδιότητες και στη παραγωγή φυτοπροστατευτικών προϊόντων με βάση τα φυτικά αιθέρια έλαια.

Μεταξύ των πολλών σесκιτερπενίων που αποτελούν παράγοντες αποτροπής της βόσκησης των φυτών, είναι και οι λακτόνες που βρίσκονται στις αδενώδεις τρίχες των μελών της οικογένειας των *Compositae* (π.χ. ο ηλιάνθος, η αρτεμισία κ.ά.) (Καράταγλης 1999).

Πολλά μονοτερπένια και τα παράγωγα τους εκδηλώνουν έντονες τοξικές ιδιότητες για πολλά έντομα. Τα πυρεθροειδή π.χ. είναι εστέρες των μονοτερπενίων που παρουσιάζουν πολύ έντονη εντομοκτόνο δράση, προκαλώντας παράλυση του νευρικού συστήματος, απώλεια των αισθήσεων και συχνά το θάνατο. Τέτοιες ουσίες βρίσκονται στα άνθη και στα φύλλα των ειδών του *Chrysanthemum coccineum* και *C. Marshalii* (Καράταγλης 1999). Τόσο τα φυσικά όσο και τα συνθετικά πυρεθροειδή είναι εντομοκτόνα εμπορικά διαδεδομένα, επειδή διατηρούνται για μικρό χρονικό διάστημα στο περιβάλλον και παρουσιάζουν ασήμαντη τοξικότητα σε όλα τα θηλαστικά.

Συστατικά ορισμένων αιθέριων ελαίων όπως τα Τερπενοειδή και οι φαινολικές ενώσεις, έχουν ερευνηθεί για την αποτελεσματικότητά τους σε επιβλαβή έντομα για καλλιέργειες, όπως το *Myzus persicae* και το *Sporoptera litura* (Isman 2000). Συγκεκριμένα αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών δεν απωθούν απλά τα έντομα αλλά παρουσιάζουν και καπνιστικές εντομοκτόνες δράσεις. Τα έντομα αυτά αποτελούν συνήθεις εχθρούς των καλλιεργειών όπως οι αφίδες, ο αλευρώδης *Trialeurodes vaporariorum* και *Bemisia tabaci* Genn (Isman 2000). Επιπλέον έχει διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου ρίγανης κατά της δροσόφιλας και της φασκομηλιάς κατά του δάκου της ελιάς (Μιχελάκης κ.ά., 1997).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει και η επίδραση της μετασυλλεκτικής εφαρμογής πτητικών ουσιών. Η καρβόνη (μονοτερπένιο) μια ακόρεστη τερπενική κετόνη που επιμηκύνει αποτελεσματικά τη διάρκεια του λήθαργου των οφθαλμών των κονδύλων πατάτας από βοτανικό σπόρο (TPS) στους 10°C. Παρά το γεγονός ότι προκαλεί αύξηση των αναγωγικών σακχάρων και της αναπνοής στους κονδύλους, μετά από μεγάλη διάρκεια συντήρηση δεν έχει σημαντική επίδραση σε ποιοτικά χαρακτηριστικά των κονδύλων, όπως είναι η συγκέντρωση γλυκόζης, φρουκτόζης και σακχαρόζης (Καρανίσα κ.ά., 2016).

Ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρήση των αιθέριων ελαίων ως βιολογικά ζιζανιοκτόνα (Tworkoski 2002). Η βλάστηση άλλων φυτών στις καλλιέργειες μπορεί να ανασταλθεί από μονοτερπένια που υπάρχουν στο φασκόμηλο, τη ρίγανη, τη μέντα και τη λεβάντα, συστατικά που παρουσιάζουν πολύ χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά και μικρή υπολειμματική διάρκεια στο έδαφος, λόγω της μη έκπλυσης τους στα υπόγεια ύδατα ή και της υψηλής τους πτητικότητας. Το αιθέριο έλαιο του δεντρολίβανου παρεμποδίζει πλήρως τη βλάστηση των ετήσιων ζιζανίων *Chenopodium album*, *Portulaca oleracea* και *Echinochloa crus-galli* (Angellini et al., 2003). Η ενσωμάτωση ορισμένων αρωματικών φυτών ως χλωρή λίπανση, όπως ο μάραθος, ο άνηθος, ο βασιλικός, ο κόλιανδρος, το μελισσόχορτο, η ρίγανη, μέντα σε καλλιέργεια καλαμποκιού μείωσαν την βλάστηση του *Echinochloa crus-galli* (Dhima et al., 2009).

Αξίζει να αναφερθεί ότι πολλά αιθέρια έλαια παρουσιάζουν ακαρεοκτόνο δράση (Roh et al., 2013). Η χρήση των αιθέριων ελαίων του θυμαριού και του φασκόμηλου στην καταπολέμηση της βαρόασης (*Varroa*), που οφείλεται σε ένα είδος μικροσκοπικού ακάρεος που προσβάλλει τα

μελίσινα. Μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένα αιθέρια έλαια διαθέτουν νηματοδοκτώνες ιδιότητες (Fe Andrés et al., 2012).

Οι αντιϊκές δράσεις των αιθέριων ελαίων έχουν διερευνηθεί σε ορισμένο πλήθος αρωματικών φυτών. Το αιθέριο έλαιο του *S. montana* L., εφαρμόστηκε σε ποικιλίες *Chenopodium amaranticolor* και *Chenopodium quinoa* Willd., μολυσμένες με τους ιούς TMV (Tobacco Mosaic Virus) και CMV (Cucumber Mosaic Virus), με αποτέλεσμα την αναστολή της ανάπτυξης τους στα φυτά κατά 29,2% και 24,1% αντίστοιχα (Bezić et al., 2013).

#### 1.4.1.1. Αντιμικροβιακή δράση

Παρόλο που η αντιμικροβιακή δράση και η τοξικότητα των τερπενίων έχει τεκμηριωθεί, ο τρόπος δράσης τους είναι πολύπλοκος και σε πολλές περιπτώσεις δεν έχει διερευνηθεί πλήρως (Koroch et al., 2007). Η αντιμικροβιακή δράση αυτών των συστατικών αποσκοπεί στη κυτταρική μεμβράνη (Stamatl et al., 1999 · Bakka et al., 2007). Πάραυτα η αντιμικροβιακή δράση των αιθέριων ελαίων αποδίδεται σύμφωνα με ορισμένους ερευνητές στην αλληλεπίδραση των λειτουργικών ομάδων τους με τον κυτταρικό μικροβιακό φάκελο (Lahlou 2004). Τα αιθέρια έλαια με υδροξυλική ομάδα σε φαινολικό δακτύλιο χαρακτηρίζονται από ισχυρότερη αντιμικροβιακή δράση (Benchaar et al., 2009). Αντιπροσωπευτικά παραδείγματα αποτελούν η καρβακρόλη, η θυμόλη (οξυγονωμένα μονοτερπένια) και η ευγενόλη (παράγωγο του φαινυλ-προπενίου). Αυτό αποδίδεται στο ότι η υδροξυλική ομάδα εμπλέκεται στην αδρανσοποίηση μικροβιακών ενζύμων (Burt 2004), αλλά και στη μεταφορά ιόντων κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης (Ultee et al., 2002).

Τα αιθέρια έλαια ρίγανης, θυμαριού, δίκταμου και μαντζουράνας παρουσιάζουν αντιβακτηριακές δράσεις όπως κατά του *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Daferera et al., 2003). Τα φαινολικά συστατικά του *Driganum vulgare* μπορεί να παρουσιάζουν πιθανή αντιβακτηριακή δράση εναντίον του βακτηρίου *Helicobacter pylori* (Sung-Sook Chun et al., 2005). Έχει διερευνηθεί η δυνατότητα εφαρμογής ορισμένων αιθέριων ελαίων με αντιβακτηριακή δράση σε παγοπυρηνοποιητικά βακτήρια (INA) με σκοπό την προστασία ευαίσθητων στο παγετό καλλιεργειών (Karamanoli et al., 2000).

Τα αιθέρια έλαια των ειδών *Satureja* παρουσιάζουν σημαντική αντιβακτηριακή δράση εναντίων της ανάπτυξης του *Pseudomonas aeruginosa* (Fereshteh Jafari et al., 2016), ενώ τα αιθανολικά εκχυλίσματα των συγκεκριμένων ειδών *Satureja* παρουσιάστηκαν αποτελεσματικά στα θετικά κατά Gram βακτήρια *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* και *Streptococcus agalactiae* και (Zareii et al., 2014). Το αιθέριο έλαιο του *S. montana* έχει παρουσιάσει σημαντική αντιβακτηριακή δράση εναντίον επιλεγμένων βακτηρίων όπως τα: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* και *Bacillus subtilis* (Damjanovic-Vratnica et al., 2011). Επίσης έχει διαπιστωθεί ότι ο κύκλος της βλάστησης του *S. montana* επηρεάζει τη χημική σύνθεση και την αντιβακτηριακή δραστηριότητα του αιθέριου ελαίου του. Η φυτική μάζα του αιθέριου ελαίου που συγκομίζεται πριν από την περίοδο άνθισης, παρουσιάζει ισχυρότερη αντιβακτηριακή δράση σε σύγκριση με εκείνης που συγκομίστηκε κατά τη διάρκεια της ανθοφορίας (Damjanovic-Vratnica et al., 2011).

##### 1.4.1.1.1. Αντιμυκητική δράση

Οι απαιτήσεις των καταναλωτών για ασφαλή και ποιοτικά τρόφιμα και η απαγόρευση πολλών φυτοπροστατευτικών ουσιών, πιέζει συνεχώς την εγκατάλειψη των συμβατικών γεωργικών πρακτικών και στρέφει τον φακό στην αναζήτηση εναλλακτικών μέσων προστασίας των καρπών από μετασυσπαστικές σήψεις, εξ αιτίας των προσβολών από μικροοργανισμούς (Agrios 2005). Οι μυκητολογικές ασθένειες είναι η κύρια αιτία που προκαλούνται σημαντικές οικονομικές απώλειες

μετά τη συγκομιδή των φρούτων και λαχανικών, κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης, της μεταφοράς και της εμπορίας. Λόγω της υψηλής τοξικότητάς των συνθετικών μυκητοκτόνων, της μεγάλης υπολειμματικότητάς τους, της μακράς περιόδου αποικοδόμησής τους, της ρύπανσης του περιβάλλοντος, τις επιπτώσεις στα τρόφιμα και τις πιθανές παρενέργειες στον άνθρωπο, η χρήση τους για την προστασία από μετασυλλεκτικές σήψεις έχει περιοριστεί. Η χρήση των αιθέριων ελαίων και ιδιαίτερα εκείνων που χαρακτηρίζονται ως GRAS (General Recognized As Safe), παρουσιάζει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για την προστασία φρούτων και λαχανικών από μετασυλλεκτικές σήψεις. Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι η χρήση φυσικών αντιμικροβιακών, όπως τα αιθέρια έλαια μπορεί να αποτελέσει εναλλακτική και πιο φιλική μέθοδο για τη συντήρηση των νωπών προϊόντων (Tzortzakis 2009).

Ανάμεσα στα διάφορα γένη ενδιαφέρον για τις αντιμυκωτικές ιδιότητες παρουσιάζουν τα *Origanum*, *Thymus*, *Eucalyptus*, *Mentha*, *Siderlitis*, *Achilea*. Τα αιθέρια έλαια ειδών που ανήκουν στα παραπάνω γένη διαθέτουν μυκοτοξικές, μυκοστατικές ιδιότητες ή επηρεάζουν τη σποροποίηση συγκεκριμένων φυτοπαθογόνων μυκήτων. Τα αιθέρια έλαια των *Salvia* και *Origanum*, προκαλούν αναστολή της ανάπτυξης των μυκήτων *Fusarium* sp., *Aspergillus* sp., *Verticillium dahlia*, *Penicillium* sp. Μικροσκοπικές παρατηρήσεις δείχνουν πως το αιθέριο έλαιο του θυμαριού τραυματίζει τις υφές των μυκήτων *Botrytis cinera* και *Penicillium digitatum* (Rattanapitigorn et al., 2006).

Τα αιθέρια έλαια συγκεκριμένων αρωματικών φυτών έχουν παρουσιάσει τη δυνατότητα αντικατάστασης των συνθετικών μυκητοκτόνων στη διαχείριση των μετασυλλεκτικών σήψεων. Έχει διερευνηθεί η *in vitro* και η *in vivo* δραστηριότητα των αιθέριων ελαίων από τα φυτά *O. vulgare* L. ssp. *hirtum*, *Thymus vulgaris* L. και *Citrus limon* L., έναντι ορισμένων σημαντικών παθογόνων μυκήτων: *B. cinerea*, *Penicillium italicum* και *P. digitatum* (Vitoratos et al., 2013). Σχετικά με τη μυκητοκτόνο δράση, αναφέρεται ότι τα αιθέρια έλαια ρίγανης, θυμαριού, δίκταμου και μαντζουράνας παρεμποδίζουν πλήρως την ανάπτυξη των *B. cinerea*, *Fusarium* sp., (Daferera et al., 2003) και *P. digitatum* σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις (Daferera et al., 2000). Επίσης, τα αιθέρια έλαια ρίγανης και μάραθου μειώνουν σημαντικά την ανάπτυξη του μύκητα *Sclerotinia sclerotiorum* (Soylu et al., 2007), ενώ το αιθέριο έλαιο της ρίγανης αποτρέπει την ανάπτυξη του *Fusarium verticillioides* στο καλαμπόκι (Velluti et al., 2004).

Οι φαρμακευτικές ιδιότητες του αιθέριου ελαίου του δίκταμου της Κρήτης *Origanum dictamnus* L. αποτελούν αντικείμενο πολλών μελετών, επισημαίνοντας την ισχυρή αντιμικροβιακή του δράση έναντι πολλών φυτοπαθογόνων μυκήτων (Liolios et al., 2010 · Stavropoulou et al., 2014). Σε άλλη έρευνα τα αιθέρια έλαια των: *Thymus vulgaris* L., *T. serpyllum* L. και *S. montana* L., αποδείχτηκε ότι επάγουν την αναστολή της μυκηλιακής ανάπτυξης των *V. dahliae* και *Penicillium aurantiogriseum* (Rus et al., 2015). Έχει βρεθεί ότι η ανάπτυξη του μύκητα *Aspergillus* (*A. niger*, *A. fumigatus* and *A. restrictus*) παρεμποδίζεται από το αιθέριο έλαιο του φυτού *S. montana* L. ssp. *montana* (Mihajilov-Krstev et al., 2014), ενώ σε άλλη έρευνα που πραγματοποιήθηκε στην Ιταλία, παρατηρήθηκε να έχει αντιμυκωτική δράση στα: *Fusarium roseae*, *Phytophthora cryptogea*, και *B. cinerea* (Fraternali et al., 2007).

#### 1.4.1.1.2. Η χρήση των αιθέριων ελαίων στην αντιμετώπιση φυτοπαθογόνων μυκήτων

Σύμφωνα με επιστημονικές μελέτες η αντιμυκωτική δράση ενός αιθέριου ελαίου μπορεί να παρατηρηθεί, είτε με την εξ' επαφής εφαρμογή του, είτε με την υποκαπνιστική δράση των πτητικών του ενώσεων (Feng et al., 2011 · Ferdes & Ungureanu 2012). Το φυτοπροστατευτικό ενδιαφέρον της αντιμυκωτικής ή υποκαπνιστικής δράσης ορισμένων αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών, πηγάζει από την ευκολία της εφαρμογής των μεθόδων ή και από τις ελάχιστες μεταχειρίσεις των προϊόντων,

ενώ απουσιάζει η επικινδυνότητα ανάπτυξης ανθεκτικότητας, πράγμα που συμβαίνει με τα συνθετικά μυκητοκτόνα.

Η αντιμυκωτική δράση του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. montana* έχει μελετηθεί έναντι των φυτοπαθογόνων μυκήτων: *Trichophyton violaceum*, *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton tonsurans*, *Trichophyton mentagrophytes* και *Pyricularia oryzae*. Χρησιμοποιώντας τη μέθοδο disc diffusion, καταδείχθηκε η μέγιστη αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου (ζώνη αναστολής της μυκηλιακής ανάπτυξης > 70%), με κυρίαρχο συστατικό τη καρβακρόλη περίπου 60% (Fereshteh Jafari et al., 2016 · Entela Haloc et al., 2014).

Στην *in vitro* διερεύνηση της αντιμυκωτικής δράσης των αιθέριων ελαίων από τα αρωματικά φυτά: *Thymus vulgaris* L., *Thymus serpyllum* L. και *S. montana* L., εναντίων των μυκήτων: *V. dahliae* και *Penicillium aurantiogriseum* οι δοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε μέσο CYGA (chloramphenicol-yeast-glucose-agar) με αιθέριο έλαιο στις συγκεντρώσεις: 0.25, 0.5, 1, 5, 10 και 15 mg/L. Η ελάχιστη συγκέντρωση που εξασφάλισε την αναστολή της μυκηλιακής ανάπτυξης του *V. dahliae*, με σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με το μάρτυρα, είναι τα 0.25 mg/L και στις τρεις περιπτώσεις αιθέριων ελαίων. Το αιθέριο έλαιο των *Thymus vulgaris* L. και *Thymus serpyllum* L., προκάλεσαν αναστολή της μυκηλιακής ανάπτυξης του *P. aurantiogriseum* στα 0.25 mg/L, ενώ το *S. montana* L., στα 0.5 mg/L. (Rus et al., 2015).

Η αντιμυκωτική δράση του αιθέριου ελαίου του φυτού *S. montana* που καλλιεργείται στην κεντρική Ιταλία, αξιολογήθηκε έναντι εννέα φυτοπαθογόνων μυκήτων: *Fusarium roseae*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium graminearum*, *Fusarium sporotrichoides*, *Fusarium culmorum*, *A. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora cryptogea* και *B. cinerea*, με τη μέθοδο διάχυσης σε άγαρ (Zambonelli et al., 1996). Η μεταχείριση του 1 μl ανέστειλε τη μυκηλιακή ανάπτυξη όλων των φυτοπαθογόνων για 2 ημέρες. Η μεταχείριση 4 μl μετά από 10 ημέρες, χαρακτηρίστηκε ως μυκοτοξική για τα: *F. roseae*, *P. cryptogea* και *B. cinerea*, ενώ για όλους τους άλλους μύκητες που δοκιμάστηκαν σε αυτή τη συγκέντρωση ελαίου ήταν μυκοστατική (Fraternali et al., 2007).

Στη μελέτη επίδρασης του αιθέριου ελαίου του *S. montana* L. ssp. *montana* σε στελέχη των μυκήτων: *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus restrictus*, *Penicillium chrysogenum* και *Acremonium chrysogenum*, παρατηρήθηκε υψηλή αντιμυκωτική δράση σε όλα τα μυκητιακά στελέχη του γένους *Aspergillus* (*A. Niger*, *A. Fumigatus* και *A. Restrictus*) (Mihajilov-Krstev et al., 2014).

Ενδιαφέρον παρουσιάζουν και οι συνεργιστικές δράσεις των πιθανών συνδυασμών αιθερίων ελαίων σε φυτοπαθογόνους μύκητες. Στις *in vitro* δοκιμές διερεύνησης των αντιμυκωτικών δράσεων των αιθέριων ελαίων θυμαριού (*Thymus vulgaris*), κανέλας (*Cinnamomum zeylanicum*), δεντρολίβανου (*Rosmarinus officinalis*) και μαντζουράνας (*Origanum majorana*), έναντι των μυκήτων *P. expansum* και *B. cinerea*, συνέργεια απέδειξαν οι διπλοί συνδυασμοί των αιθέριων ελαίων: θυμάρι-κανέλα, θυμάρι-δενδρολίβανο, κανέλα-δενδρολίβανο (FICI ≤ 0,5). Ο τριπλός συνδυασμός θυμαριού-κανέλας-δενδρολίβανου παρουσίασε αντιμυκωτική δράση στα *Botrytis cinerea* (FICI=0,5) και *Penicillium expansum* (FICI=0,375), ενώ ο συνδυασμός αιθέριων ελαίων κανέλας-μαντζουράνας-θυμαριού παρουσίασε αντιμυκωτική δράση στα *B. cinerea* (FIC=0,375) και *Penicillium expansum* (FIC=0,625) (Nikkhaha et al., 2017).

Η αντιμυκωτική δράση του αιθέριου ελαίου του ενδημικού αρωματικού φυτού *S. horvatii* ssp. *macrophylla* σε *in vitro* βιοδοκιμές, ανέστειλε κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο την ανάπτυξη του μυκηλίου στα φυτοπαθογόνα είδη μυκήτων *A. alternata* και *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* που προσβάλουν την τομάτα (Υφαντή κ.ά., 2015) και ανέστειλε σε ποσότητα 3 μl / τρυβλίο τη μυκηλιακή ανάπτυξη του *Fusarium* sp., που προκαλεί τη ξηρή σήψη της πατάτας (Υφαντή κ.ά., 2019). Η υποκαπνιστική δράση των συστατικών του αιθέριου ελαίου ήταν περισσότερο αποτελεσματική συγκριτικά με την εξ' επαφής δράση (Υφαντή κ.ά., 2015).

Στο πλαίσιο της βιολογικής καταπολέμησης του μύκητα *Aspergillus carbonarius* μετασυσπλεκτικά σε σταφύλια, με στόχο την πρόληψη επιβάρυνσής τους με ωχρατοξίνη Α, εξετάστηκε *in vitro* η επίδραση των αιθέριων ελαίων των φυτών: *S. triloba*, *Laurus nobilis*, *O. vulgare* και *O.*

*dictamnus*, με ενσωμάτωση των ελαίων σε θρεπτικό υπόστρωμα Malt Extract Agar, σε συγκεντρώσεις 0, 25, 75, 150 και 250 ppm. Τα τρυβλία με το θρεπτικό υπόστρωμα εμβολιάστηκαν στο κέντρο τους με σπόρια του μύκητα. Το πείραμα έγινε με δύο διαφορετικά ωχρατοξινογόνα στελέχη του *A. carbonarius* σε τρεις επαναλήψεις. Η εκτίμηση της ανάπτυξης του μύκητα πραγματοποιήθηκε με μέτρηση της διαμέτρου του μυκηλίου, κατά τη διάρκεια 7 ημερών ανάπτυξης στο σκοτάδι, στους 25 °C. Η επίδραση των κυρίαρχων συστατικών καρβακρόλη και θυμόλη των αιθέριων ελαίων *O. vulgare* και *O. dictamnus*, παρουσιάστηκε ως στατιστικώς σημαντική στη μυκηλιακή ανάπτυξη (Κονταξάκης κ.ά., 2016).

Το αιθέριο έλαιο του αρωματικού φυτού *C. capitatus* έχει παρουσιάσει μυκοτοξική δράση στο μύκητα *A. alternata* και μυκοστατική στο *P. italicum* σε συγκέντρωση 400 ppm (Arras & Grella 1992). Εργαστηριακές μελέτες έχουν παρουσιάσει ότι το αιθέριο έλαιο του *C. capitatus* αναστέλλει σε συγκέντρωση 2 μλ / τρυβλίο τη μυκηλιακή ανάπτυξη του *Fusarium* sp., (Υφαντή κ.ά., 2019), ενώ σε συγκέντρωση 250 ppm, αναστέλλει την μυκηλιακή ανάπτυξη των *P. italicum*, *P. digitatum*, *B. cinerea*, *Alternaria citri* που προκαλούν μετασυσπληκτικές σήψεις σε καρπούς εσπεροδοειδών (Arras & Grella 1992). Όμως η εφαρμογή του σε καρπό πορτοκαλιού είναι μυκοτοξική σε συγκέντρωση 75 ppm (Arras & Usai 2001). Η μυκητοτοξική ιδιότητα του αιθέριου ελαίου οφείλεται κυρίως στην καρβακρόλη (Arras & Usai 2001 · Arras & Grella 1992).

Οι *in vivo* βιοδοκιμές διερεύνησης των αντιμυκητικών δράσεων παρουσιάζουν εξίσου ενδιαφέρον. Στις *in vivo* βιοδοκιμές που πραγματοποιήθηκαν με τεχνητό εμβολιασμό αχλαδιών με φυτοπαθογόνους μύκητες, παρουσιάστηκαν σημαντικά αποτελέσματα, όσον αφορά τις συνδυαστικές μεταχειρίσεις των αιθέριων ελαίων. Τα αχλάδια που είχαν υποστεί μεταχείριση με τριπλό συνδυασμό αιθέριων ελαίων κανέλλας-δεντρολίβανου-θυμαριού (78, 1250, 39 μg/ml αντίστοιχα) έδειξαν μυκηλιακή ανάπτυξη 6 mm για το *Botrytis cinerea* και 8 mm για το *Penicillium expansum*, μετά από 10 ημέρες με επώαση στους 25 °C. Τα αποτελέσματα έδειξαν επίσης ότι οι μεταχειρίσεις με διπλό συνδυασμό των αιθέριων ελαίων θυμαριού-κανέλλας, παρουσιάζουν σημαντικότερη αναστολή της μυκηλιακής ανάπτυξης, σε σύγκριση με τις μεταχειρίσεις με μεμονομένα τα αιθέρια έλαια (Nikkhaha et al., 2017). Η μεγάλη περιεκτικότητα της καρβακρόλης που περιέχεται στο αιθέριο έλαιο ρίγανης, παρουσιάζει υψηλή αναστολή της μυκηλιακής ανάπτυξης του *Neofabraea alba* σε μήλα κατά τη μετασυσπληκτική εφαρμογή της (Neri et al., 2010).

Στην *in vivo* μελέτη της επίδρασης του αιθέριου ελαίου του φυτού *O. dictamnus* L., στην ανάπτυξη του μύκητα *B. cinera* σε καρπούς πιπεριάς *Capsicum annum* L. cv. *Sammy* κατά την αποθήκευση, καρποί εμβολιασμένοι με το μύκητα εκτέθηκαν σε διάφορες συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου (0, 50, 100, 250 ppm) για 1, 2 ημέρες ή σε συνεχόμενη εφαρμογή για 14 ημέρες, σε συνθήκες 12 °C και 95% RH. Επτά ημέρες μετά τον εμβολιασμό, η συνεχής εφαρμογή αιθέριου ελαίου οδήγησε σε αναστολή της ανάπτυξης του μύκητα, η οποία εκδηλώθηκε με το περιορισμό της επιφανειακής σήψης σε όλες τις συγκεντρώσεις. Επιπλέον, 14 ημέρες μετά τον εμβολιασμό των καρπών παρατηρήθηκε αξιοσημείωτη αναστολή της σποριογένεσης σε όλες τις συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου, ακόμη και στη συγκέντρωση των 50 ppm (Σταυροπούλου κ.ά., 2016).

Τα αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών μπορούν σε ορισμένες περιπτώσεις να αντικαταστήσουν τα συνθετικά μυκητοκτόνα στη διαχείριση των μετασυσπληκτικών σήψεων φρούτων και λαχανικών. Το αιθέριο έλαιο του *Thymus vulgaris* L. σε συγκέντρωση 0.13 μλ /ml αναστέλλει τη μυκηλιακή ανάπτυξη του *P. italicum* και το αιθέριο έλαιο του *O. vulgare* ssp. *hirtum* αναστέλλει τη μυκηλιακή ανάπτυξη του *Botrytis cinerea* σε συγκέντρωση 0,02 μλ /ml (Vitoratos et al., 2013) και του *F. solani* σε συγκέντρωση 2 μλ / τρυβλίο (Υφαντή κ.ά., 2019). Τα πειράματα *in vivo* επιβεβαίωσαν την ισχυρή αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου *O. vulgare* L. ssp. *hirtum* για το μετασυσπληκτικό έλεγχο του *B. cinera* σε καρπούς τομάτας στα 0,30 μλ /ml. Το αποτέλεσμα αυτό αποδεικνύει ότι τα αιθέρια έλαια μετά από κατάλληλη συνταγοποίηση, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για τον έλεγχο των μετασυσπληκτικών σήψεων που προκαλούνται από παθογόνα όπως τα *Botrytis* και *Penicillium* (Vitoratos et al., 2013).



### 1.5. Σκοπός διατριβής

Σκοπός της διατριβής, ήταν η διερεύνηση της αντιμυκητικής δράσης επιλεγμένων αιθέριων ελαίων σε συγκεκριμένους φυτοπαθογόνους μύκητες. Μελετήθηκε *in vitro* η αντιμυκητική δράση των συστατικών των αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών της οικογένειας *Lamiaceae*: *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla*, *Coridothymus capitatus*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* και *Salvia triloba* στους φυτοπαθογόνους μύκητες: *Fusarium solani* και *Alternaria alternata*.

Το ενδιαφέρον ώστε η εν λόγω μελέτη να εκπονηθεί σε αυτά τα είδη μυκήτων, προήλθε από τη βαρύτητα των προβλημάτων που δημιουργούν στα εμπορικά σημαντικά καλλιεργήσιμα φυτικά είδη, οι μετασυσπαστικές σήψεις που προκαλούνται από το *A. alternata* στους καρπούς τομάτας και οι ξηρές σήψεις που προκαλούνται από το εδαφογενές παθογόνο *F. solani* στη πατάτα. Οι προσβολές από τους φυτοπαθογόνους μύκητες *F. solani* και *A. alternata* αναζητήθηκαν σε φυτά της οικογένειας *Solanaceae*, συλλέχθηκαν και ταυτοποιήθηκαν στο διαπιστευμένο Εργαστήριο Ταυτοποίησης Φυτοπαθογόνων Μυκήτων και Βακτηρίων του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων και το Εργαστήριο Φυτοϋγείας. Στη συνέχεια οι φυτοπαθογόνοι μύκητες καλλιεργήθηκαν στις συνθήκες εργαστηρίου *in vitro* με σκοπό τη χρησιμοποίησή τους στις βιοδοκιμές με τα αιθέρια έλαια.

Από τη μελέτη των σχετικών επιστημονικών δημοσιεύσεων της βιβλιογραφίας παρατηρήθηκε ότι η μέθοδος εκτίμησης της επίδρασης των πτητικών ενώσεων των αιθέριων ελαίων (fumigant or vapor action), παρουσιάζει αξιόσημαντα αποτελέσματα στην *in vitro* διερεύνηση των αντιμυκητικών τους δράσεων (Feng et al., 2011) και έπειτα από μια σειρά προκαταρκτικών πειραμάτων, η μέθοδος επιλέχθηκε με ορισμένες τροποποιήσεις για την υλοποίηση του σκοπού αυτής της διατριβής.

Εκτός από τις βιοδοκιμές με τα αιθέρια έλαια, πραγματοποιήθηκε και μελέτη της επίδρασης του δευτερογενούς μεταβολίτη καρβακρόλη στους ίδιους φυτοπαθογόνους μύκητες *F. solani* και *A. alternata*. Η καρβακρόλη φάνηκε αρχικά από τη μελέτη της σχετικής βιβλιογραφίας και έπειτα σύμφωνα με τα αποτελέσματα των αεριοχρωματογραφικών αναλύσεων, ως ένα εκ των κυρίαρχων συστατικών του δευτερογενούς φυτικού μεταβολισμού στα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών: *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, *C. capitatus*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές της διατριβής. Επομένως, επειδή 3 από τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές ανήκουν στο χημειότυπο της καρβακρόλης, η καρβακρόλη χρησιμοποιήθηκε ως θετικός μάρτυρας, για την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

*Κεφάλαιο: 2<sup>ο</sup>*  
**ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**



## 2. Εργαστηριακό μέρος

### 2.1. Υλικά και μέθοδοι

#### Όργανα και συσκευές:

- ο Διακορευτής.
- ο Επωαστικός θάλαμος (FOC 120i Cooled Incubator, Velp Scientifica, Italy).
- ο Ηλεκτρονικός ζυγός ακριβείας τριών δεκαδικών ψηφίων (Kern PLS 510, Kern @Sohn GmbH, Germany).
- ο Θάλαμος ελεγχόμενων συνθηκών (Ψυγείο με κατάψυξη) K138CA50 Siemens/Europe).
- ο Θάλαμος οριζόντιας νηματικής ροής (Airstream Horizontal Laminar Flow Clean Bench AHC-4A1, Esco, Singapore).
- ο Κλίβανος υγρής αποστείρωσης 12 Lt (Autoclave, Steam sterilizer, AES-12 Rayra, R. Espinar S.L., Barcelona, Spain).
- ο Μεγεθυντικός φακός x5, με λάμπα φθορίου (Magnifying lamp x5, CT-200, CT Brand).
- ο Πιπέττα ρυθμιζόμενη 100-1000 µL (Pipetman, Gilson, France).
- ο Πιπέττα ρυθμιζόμενη 20-200 µL (Pipetman, Gilson, France).
- ο Στήλη απιονισμού νερού.
- ο Συσκευή κυκλικής ανάδευσης (Orto Alresa, España)
- ο Συστήματα φωτογράφισης: Power shot G6 , 7.1 megapixels, Canon, & I phone 5s, 8 megapixels, Apple.
- ο Τριοφθάλμιο στερεοσκόπιο (Leica, MZ75).
- ο Τριοφθάλμιο μικροσκόπιο (Leica, DM1000).

### Αντιδραστήρια:

- Potato Dextrose Agar (PDA) (Cat. No. 4019352, Biolife).
- Αιθανόλη (Ethanol,  $C_2H_6O$ , MW:46.07, assay 98 %, Riedel-de Haen).
- Αντιβιοτικό Χλωραμφενικόλη (Antibiotic: Chloramphenicol  $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ , assay 98 % MW: 323.13g/mol CAS: 56-75-7, Sigma-Aldrich).
- Γλυκερόλη (Glycerol,  $C_3H_8O_3$  MW: 92.09,  $C_3H_8O_3$ , Assay 99.98 %, CAS: 56-81-5, Fisher Scientific).
- Καρβακρόλη (Carvacrol,  $C_{10}H_{14}O$ , assay 97.0 %,  $M_r$  150.22, [GA11781] Fluka, Sigma-Aldrich).
- Λακτοφαινόλη (Lactophenol blue solution, CI: 47780, 1.13741.0100.  $CH_3CH(OH)COOHCH_2(OH)CH(OH)CH_2(OH)C_6H_5OH$ , Merck KgaA)

### Αναλώσιμα:

- Parafilm "M", Laboratory Film, Bemis.
- Αλουμινόχαρτο εμπορείου.
- Αντικειμενοφόροι πλάκες 76x26, CML, France.
- Αποστειρωμένες αμπούλες Cryovial 2 mL, Cryo.S., Greiner Bio-One, Germany.
- Αποστειρωμένα Τύρ για ρυθμιζόμενες πιπέττες 1000  $\mu$ L και 200  $\mu$ L, FL medical.
- Αποστειρωμένα πλαστικά τρυβλία petri διαμέτρου 45 και 90 mm, Sarstedt.
- Αποστειρωμένες πιπέττες μιας χρήσης 10 mL., Corning Incorporated, USA.
- Αποστειρωμένο φίλτρο 0.45  $\mu$ m (Sterile Syringe Filter, Part. No. 431220, Corning, German)
- Γυάλινη σύριγγα 10  $\mu$ L (Microfilter syringes, Hamilton Switzerland).
- Αποστειρωμένες πιπέττες των 10 mL.
- Γυάλινες φιάλες 500 mL και 1 L με βιδωτό πώμα, Simax, Czech Republic.
- Γυάλινο Χωνί.
- Διηθητικό χαρτί Whatman No 1.
- Καλυπτρίδες αντικειμενοφόρων 22x22, Deltelab, Spain.
- Καμινέτο εμπορείου (φλόγα Bunsen).

- ο Κλαδευτήρι
- ο Μικροβιολογικός κρίκος
- ο Ογκομετρικός κύλινδρος 1L, Bomet.
- ο Παρασκευαστική βελόνα.
- ο Πλαστικός μικροβιολογικός κρίκος μιας χρήσης, Ansa / Microloop.
- ο Πλαστικοί σωλήνες προτυλενίου Erendorf των 1,5 mL.
- ο Πλαστικός περιέκτης.
- ο Πουάρ 3<sup>ων</sup> βαλβιδών
- ο Χάρακας

## 2.2. Βιοδοκιμές σε φυτοπαθογόνους μύκητες

Στις *In vitro* δοκιμές διερευνήθηκε η επίδραση των αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών *Salvia triloba*, *Satureja hortensis* ssp. *macrophylla*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Coridothymus capitatus*, σε δύο είδη φυτοπαθογόνων μυκήτων: στο εδαφογενές φυτοπαθογόνο *Fusarium solani* που προκαλεί μετασυλλεκτικά την ξηρή σήψη σε κονδύλους πατάτας και στο φυτοπαθογόνο *Alternaria alternata*, που προκαλεί μετασυλλεκτικά προσβολές σε καρπούς τομάτας.

Η απομόνωση και ταυτοποίηση των φυτοπαθογόνων μυκήτων καθώς και οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Ταυτοποίησης Φυτοπαθογόνων Βακτηρίων και Μυκήτων, του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.

Προσβολές από τους φυτοπαθογόνους μύκητες *F. solani* και *A. alternata* αναζητήθηκαν και απομονώθηκαν στο εργαστήριο από προσβεβλημένους κονδύλους πατάτας και καρπούς τομάτας αντίστοιχα. Τα συμπτώματα που εμφανίστηκαν στα προσβεβλημένα φυτικά όργανα και η μορφή της αγενούς καρποφορίας των μυκήτων, η οποία παρατηρήθηκε μικροσκοπικά, λήφθηκαν υπόψη για την ταυτοποίηση των μυκήτων στο εργαστήριο.

Η αντιμυκητική δράση των αιθέριων ελαίων εκτιμήθηκε *in vitro* με τη μέθοδο της επίδρασης των πτητικών ενώσεων (υποκαπνιστική δράση) στη μυκηλιακή ανάπτυξη των μυκήτων, όπως αναλύεται από τους: *Feng et al. (2011)*.

### 2.3.1. Απομόνωση και καλλιέργεια φυτοπαθογόνων μυκήτων

#### Προετοιμασία θρεπτικού υποστρώματος

- Στερεό Θρεπτικό υλικό: PDA & Chloramphenicol (1 L) :

Για την παρασκευή 1L στερεού θρεπτικού υλικού PDA με αντιβιοτικό Chloramphenicol, ζυγίστηκαν και μεταφέρθηκαν σε γυάλινη φιάλη 42 g και 100 mg αντίστοιχα. Προστέθηκε 1 L d H<sub>2</sub>O και το διάλυμα αναδεύτηκε σε συσκευή ανάδευσης για 3 λεπτά και τοποθετήθηκε σε autoclave για αποστείρωση στους 121 °C για 20 min. Αφού ολοκληρώθηκε η διαδικασία της αποστείρωσης, το θρεπτικό υλικό αφέθηκε να κρυώσει αρκετά (περίπου στους 45 °C) και διαμοιράστηκε σε αποστειρωμένα πλαστικά τρυβλία petri διαμέτρου 90 mm εντός του θαλάμου νηματικής ροής υπό ασηπτικές συνθήκες.

#### Πορεία εργασίας:

Τον Σεπτέμβριο του 2017 συλλέχθηκαν πατάτες εμπορίου, με εμφανή συμπτώματα ξηρής σήψης (σκοτεινές ρυτιδωμένες κηλίδες με υπόλευκες εξανθήσεις). Την ίδια περίοδο συλλέχθηκαν από καρπούς τομάτας, καρποί με εμφανή συμπτώματα προσβολών του γένους *Alternaria* όπως νεκρωτικές κηλίδες με συγκεντρικούς καστανούς δακτυλίους. Οι προσβεβλημένοι καρποί μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο Ταυτοποίησης Φυτοπαθογόνων Βακτηρίων και Μυκήτων, του τμήματος Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων, με τη βοήθεια πλαστικού περιέκτη.

Η απομόνωση των φυτοπαθογόνων μυκήτων έλαβε χώρα στο θάλαμο νηματικής ροής (Laminar air flow) του εργαστηρίου. Πραγματοποιήθηκε απομόνωση των φυτοπαθογόνων από τους προσβεβλημένους καρπούς. Η παρασκευαστική βελόνα πριν έλθει σε επαφή με το προς απομόνωση φυτοπαθογόνο, εμβολιάστηκε αιθανόλη και αμέσως μετά πυρακτώθηκε σε φλόγα Bunsen, λήφθηκε υλικό και εμβολιάστηκε σε καθαρά τρυβλία petri με θρεπτικό υπόστρωμα PDA. Ακολούθησε

κλείσιμο των τρυβλίων με parafilm, σήμανση των στοιχείων τους με μαρκαδόρο και επώαση τους σε επωαστικό θάλαμο στους  $26 \pm 1$  °C. Τα τρυβλία ελέγχονταν τακτικά σε καθημερινή βάση για τη καθαρότητα των καλλιέργειών. Στη περίπτωση όπου εμφανίζονταν μικτές καλλιέργειες, ακολούθησε διαχωρισμός των αποικιών με ανακαλλιέργεια σε καθαρά τρυβλία με θρεπτικό υπόστρωμα PDA, με σκοπό την ανάπτυξη καθαρών αποικιών. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε όσες φορές κρίθηκε απαραίτητο έως ότου ληφθούν μονόσπορες καλλιέργειες.

### 2.3.1.1. Ταυτοποίηση φυτοπαθογόνων μυκήτων

Τα τρυβλία με καθαρές αποικίες που παρουσίασαν τα χαρακτηριστικά ανάπτυξης των μυκήτων *Fusarium solani* και *Alternaria alternata*, παρατηρήθηκαν σε τριοφθάλμιο στερεοσκόπιο (Leica) και φωτογραφήθηκαν (Apple). Έπειτα από αυτά προετοιμάστηκαν μικροσκοπικά παρασκευάσματα για την παρατήρηση των χαρακτηριστικών τους σε τριοφθάλμιο μικροσκόπιο (Leica) τα οποία επίσης φωτογραφήθηκαν (Canon). Για την εξασφάλιση της ενδεδειγμένης παρατήρησης των μικροσκοπικών παρασκευασμάτων, χρησιμοποιήθηκε η χρώση μυκηλιακών υφών με διάλυμα Λακτοφαινόλης.

#### 2.3.1.1.1. Διατήρηση φυτοπαθογόνων μυκήτων

Αποθέματα των φυτοπαθογόνων μυκήτων λήφθηκαν από τρυβλία με καθαρές αποικίες. Για τη συλλογή και διατήρηση των κονιδίων χρησιμοποιήθηκε διάλυμα γλυκερόλης 19 % για το *F. solani* και 23 % για το *A. alternata*. Το απόθεμα τοποθετήθηκε σε Cryovial και διατηρήθηκαν στους  $-80$  °C.

### 2.3.2. Μέθοδος εκτίμησης της επίδρασης των πτητικών ενώσεων

#### Προετοιμασία:

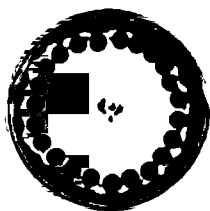
Για την εκτίμηση της επίδρασης πτητικών ενώσεων των αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του μυκηλίου, αποστειρώθηκαν σε autoclave στους  $121$  °C για 20 min: θρεπτικό υλικό PDA + Chloramphenicol σε γυάλινες φιάλες του 1 L, λαβίδα και διηθητικό χαρτί Whatman No 1 διαμέτρου 7 mm κομμένα με διακορευτή. Αφού ολοκληρώθηκε η διαδικασία της αποστείρωσης, τα αποστειρωμένα εργαλεία μεταφέρθηκαν εντός του θαλάμου νηματικής ροής και το θρεπτικό υλικό λίγο πριν κρυώσει εντός της φιάλης, διαμοιράστηκε με αποστειρωμένη πιπέτα σε αποστειρωμένα πλαστικά τρυβλία petri διαμέτρου 90 mm (20 ml / τρυβλίο) υπό ασηπτικές συνθήκες και αφέθηκε να στερεοποιηθεί.

#### Πορεία εργασίας:

Ως πειραματικός θάλαμος στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκε αποστειρωμένο πλαστικό τρυβλίο petri διαμέτρου 90 mm με 20 ml στερεοποιημένου θρεπτικού υλικού PDA + Chloramphenicol. Με τη βοήθεια κατάλληλου αποστειρωμένου εργαλείου αποκόπηκε δίσκος μυκηλίου διαμέτρου 7 mm από τη περιφέρεια καλλιέργειας των φυτοπαθογόνων μυκήτων *F. solani* (καλλιέργεια 7 ημερών) (Εικόνα 2.1) και *A. alternata* (καλλιέργεια 8 ημερών) (Εικόνα 2.2). Το εμβόλιο μεταφέρθηκε και τοποθετήθηκαν στο κέντρο καθαρών τρυβλίων με θρεπτικό υπόστρωμα PDA και ασκήθηκε ελαφριά πίεση, ώστε να εξασφαλιστεί η επαφή του εμβολίου με το υπόστρωμα. Στο κέντρο της εσωτερικής



πλευράς των καλυμμάτων των τρυβλίων (Σχήμα 2.1) τοποθετήθηκε ένας αποστειρωμένος δίσκος Whatman No 1, διαμέτρου 7 mm, ο οποίος εμποτίστηκε με αιθέριο έλαιο.

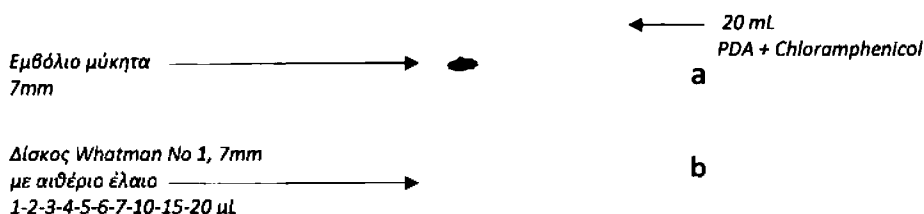


Εικόνα 2.1.



Εικόνα 2.2.

Εικόνες 2.1. & 2.2.: Περιμετρική αφαίρεση εμβολίου από 2.1.): *F. solani* και 2.2.): *A. alternata* σε τρυβλίο με PDA + Chloramphenicol.



Σχήμα 2.1.: Σχηματική παράσταση τρυβλίου που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές εκτίμησης της αντιμυκητικής δράσης των πτητικών ενώσεων των αιθέριων ελαίων, α): βάση τρυβλίου β): κάλυμμα τρυβλίου.

Το αιθέριο έλαιο του *S. triloba* δοκιμάστηκε στις ποσότητες 0-1-5-10-15-20  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο, ενώ τα αιθέρια έλαια των *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* και *C. capitatus* στις ποσότητες 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο. Στη συνέχεια τα τρυβλία κλείστηκαν με parafilm, ώστε οι πτητικές ενώσεις των αιθέριων ελαίων να παραμείνουν εντός του πειραματικού θαλάμου. Τα τρυβλία επώαστηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους  $26 \pm 1$  °C για 8 ημέρες.

Ως αρνητικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε τρυβλίο εμβολιασμένο με το φυτοπαθογόνο χωρίς αιθέριο έλαιο, ενώ ως θετικός μάρτυρας, χρησιμοποιήθηκε η καρβακρόλη. Πραγματοποιήθηκαν 3 επαναλήψεις ανά μεταχείριση.

Η ανάπτυξη του μύκητα εκτιμήθηκε λαμβάνοντας καθημερινές μετρήσεις της διαμέτρου των αποικιών σε δύο διαστάσεις με χάρακα (mm).

Η επίδραση των πτητικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου στην ανάπτυξη του μύκητα σε σύγκριση με το μάρτυρα υπολογίστηκε από τον τύπο:

$$\text{Λόγος ανάσχεσης (\%)} = \left[ \frac{C - T}{C} \right] * 100$$

Όπου:

C : Η διάμετρος της αποικίας του Μάρτυρα (mm).

T : Η διάμετρος της αποικίας του μύκητα στο τρυβλίο που περιέχει αιθέριο έλαιο (μεταχείριση) (mm).

Υπολογίστηκε η ελάχιστη συγκέντρωση αναστολής της μυκηλιακής ανάπτυξης του μύκητα (MIC: Minimum inhibitory concentration) σε  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα λαμβάνοντας υπόψη, ότι ο όγκος του θρεπτικού υλικού εντός του τρυβλίου είναι 20 mL και του τρυβλίου 77 mL.

Στη περίπτωση που τα αιθέρια έλαια επίδρασαν στη μυκηλιακή ανάπτυξη κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο, υπολογίστηκε με ανάλυση Probit (*Finney 1947*) η μέση αποτελεσματική συγκέντρωση (η συγκέντρωση που αναστέλλει το 50% της μυκηλιακής ανάπτυξης) (Half effective concentration).

Τα εμβόλια που δεν αναπτύχθηκαν, μετά από 8 μερες επίδρασης μεταφέρθηκαν σε καθαρά αποστειρωμένα τρυβλία 45 mm με υπόστρωμα PDA και επώαστηκαν στις ίδιες συνθήκες, με σκοπό το προσδιορισμό του τρόπου δράσης του αιθέριου ελαίου (μυκοστατική ή μυκοτοξική).

Στην περίπτωση που παρατηρήθηκε ανάπτυξη του μυκηλίου μετά από τρείς ημέρες, η επίδραση χαρακτηρίστηκε ως μυκοστατική ενώ στη περίπτωση που δεν παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη ως μυκοτοξική.

### 2.3.3. Στατιστική ανάλυση

Πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων με σκοπό την αξιολόγηση τους, χρησιμοποιώντας τις πραγματικές τιμές της μυκηλιακής ανάπτυξης εκφρασμένες σε mm. Χρησιμοποιήθηκε το λογισμικό στατιστικής ανάλυσης IBM \* SPSS® Statistics 25 και πραγματοποιήθηκε η ανάλυση διακύμανσης μονής κατεύθυνσης One way ANOVA. Στη σύγκριση των μέσων όρων χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο LSD (Least Significant Difference) με επίπεδο σημαντικότητας 5% ( $p \leq 0.05$ ).

*Κεφάλαιο: 3<sup>ο</sup>*  
**ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

### 3. Αποτελέσματα βιοδοκιμών σε φυτοπαθογόνους μύκητες

#### 3.1. Αποτελέσματα απομόνωσης και καλλιέργειας φυτοπαθογόνων μυκήτων

Οι φυτοπαθογόνοι μύκητες απομονώθηκαν από προσβεβλημένο καρπό τομάτας και κόνδυλο πατάτας και καλλιεργήθηκαν *In vitro*. Στις βιοδοκιμές που ακολούθησαν, χρησιμοποιήθηκαν τα απομονωμένα στελέχη.

##### 3.1.1. *Fusarium solani*

Από προσβεβλημένο καρπό πατάτας με εμφανή συμπτώματα προσβολής από *F. solani* όπως σκοτεινόχρωμες κηλίδες με ρυτιδωμένη περιφέρεια κατά συγκεντρικούς κύκλους και την παρουσία υπόλευκων εξανθήσεων (Εικόνα 3.1), απομονώθηκε στέλεχος του φυτοπαθογόνου μύκητα και καλλιεργήθηκε *in vitro*. Αρχικά πραγματοποιήθηκε μακροσκοπική παρατήρηση της καλλιέργειας (Εικόνα 3.2. α. & β.) και έπειτα μικροσκοπική παρατήρηση των μακροκονιδίων και μικροκονιδίων (Εικόνα 3.2. γ.).



Εικόνα 3.1.: Κόνδυλος πατάτας με συμπτώματα ξηρής σήψης



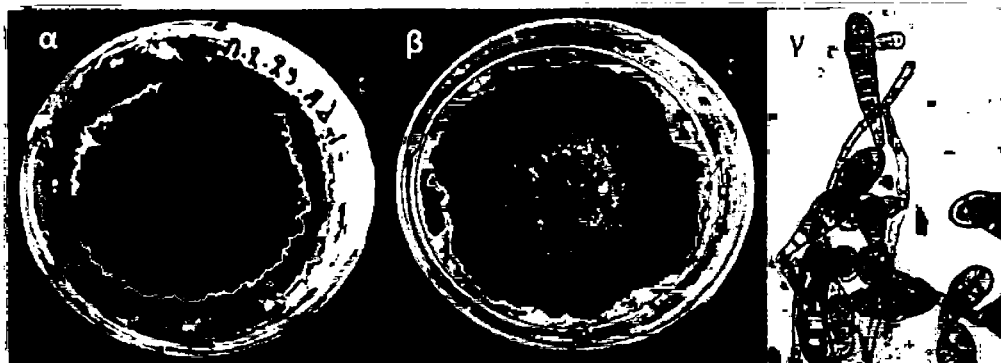
Εικόνα 3.2.: Μακροσκοπική παρατήρηση καλλιέργειας του *F. solani* σε υπόστρωμα PDA με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C, α): βάση τρυβλίου, β): κάλυμμα τρυβλίου, γ): μικροσκοπική παρατήρηση μακροκονιδίων και μικροκονιδίων.

### 3.1.2. *Alternaria alternata*

Από προσβεβλημένο καρπό τομάτας με εμφανή συμπτώματα προσβολής από *A. Alternata*, όπως βυθισμένες σκοτεινόχρωμες νεκρωτικές κηλίδες στην περιφέρεια των οποίων διακρίνονται συγκεντρικοί δακτύλιοι (Εικόνα 3.3), απομονώθηκε στέλεχος του φυτοπαθογόνου μύκητα και καλλιεργήθηκε *in vitro*. Αρχικά πραγματοποιήθηκε μακροσκοπική παρατήρηση της καλλιέργειας (Εικόνα 3.4. α. & β.) και έπειτα μικροσκοπική παρατήρηση της αγενούς καρποφορίας (Εικόνα 3.4. γ.).



Εικόνα 3.3.: Προσβεβλημένος καρπός τομάτας με συμπτώματα προσβολής από *A. alternata*



Εικόνα 3.4.: Μακροσκοπική παρατήρηση καλλιέργειας του *A. alternata* σε υπόστρωμα PDA με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C, α): βάση τρυβλίου, β): κάλυμμα τρυβλίου, γ): μικροσκοπική παρατήρηση αγενούς καρποφορίας.

### 3.2. Αποτελέσματα επίδρασης των πτητικών ενώσεων των αιθέριων ελαίων *in vitro* (αντιμυκητωτικής δράσης)

Στα γραφήματα που ακολουθούν (3.1, 3.2, 3.3., 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10), αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των επιλεγμένων αιθέριων στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* και *A. alternata* εκφρασμένα ως ποσοστό (%) της μέγιστης ανάπτυξης του μάρτυρα. Στο μέγιστο της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα αποδόθηκε η τιμή 100 %. Οι μέσοι όροι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα στους πίνακες (3.1, 3.2, 3.3., 3.4, 3.5, 3.6, 3.7, 3.8, 3.9, 3.10) που ακολουθούν, δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά μεταξύ τους.

#### 3.2.1. Βιοδοκιμή 1<sup>η</sup>: *Fusarium solani*

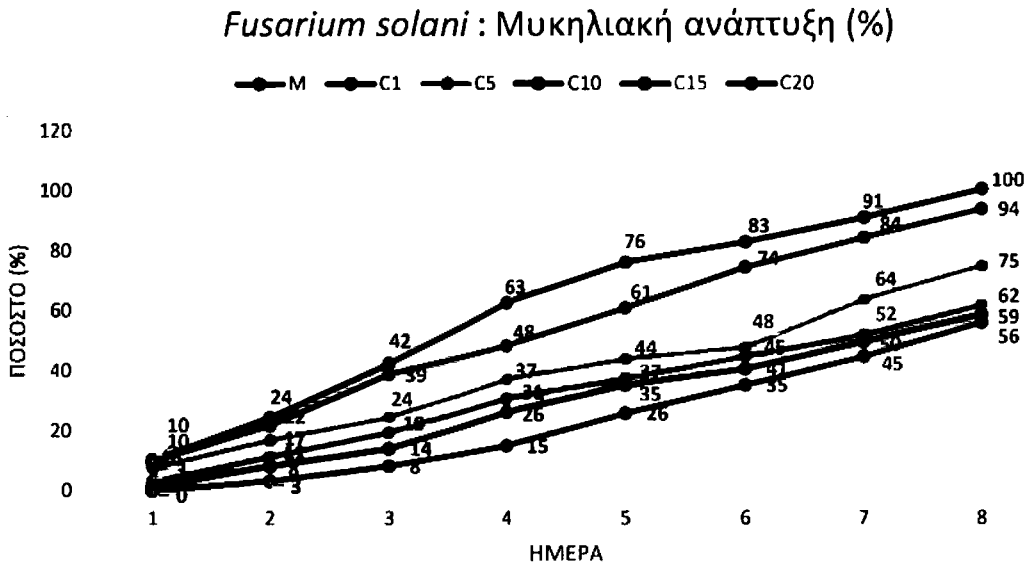
##### 3.2.1.1. Επίδραση του αιθέριου ελαίου του *S. triloba* στο *F. solani*

Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των πτητικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου του *S. triloba* και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-5-10-15-20 μλ / τρυβλίο (Πίνακας 3.1) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *F. solani* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.5).

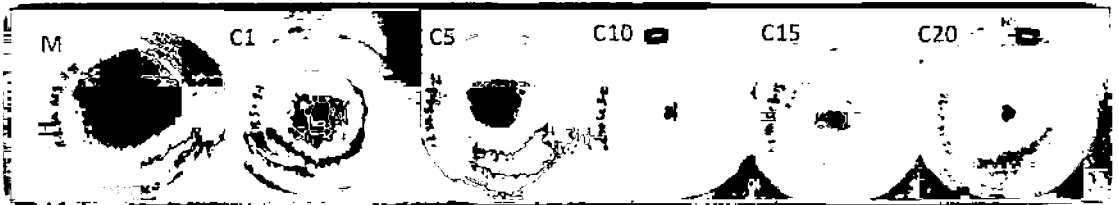
ΠΟΣΟΤΗΤΑ (μL)	<i>Salvia triloba</i>
0	81 ± 1.2 a
1	76 ± 2.3 a
5	62 ± 3.1 b
10	53 ± 0.6 c
15	50 ± 5.8 c
20	48 ± 2.5 c

Πίνακας 3.1.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *F. solani* την 8η ημέρα μετά την επίδραση με αιθέριο ελαίο του *S. triloba* ποσότητας 0-1-5-10-15-20 μL/τρυβλίο (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.1), αναφέρονται τα αποτελέσματα της μυκηλιακής ανάπτυξης του *F. solani* παρουσία διαφορετικών ποσοτήτων αιθέριου ελαίου του *S. triloba*.



Γράφημα 3.1.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *S. triloba* με επίωση στους  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της μέγιστης μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C10: 10  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C15: 15  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C20: 20  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



Εικόνα 3.5.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *S. triloba* έπειτα από επίωση στους  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C10: 10  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C15: 15  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C20: 20  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.

**Ποσότητα: 1  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο :**

Την 1η ημέρα παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη, χωρίς να παρουσιάζει στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.40$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 94 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα, χωρίς η μεταξύ τους διαφορά να είναι σημαντική (LSD  $p=0.06$ ). Αντίθετα σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη των ποσοτήτων 5-10-15  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

#### Ποσότητα: 5 $\mu$ L / τρυβλίο :

Την 1η ημέρα παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη η οποία παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο παρουσίασε το 75 % της ανάπτυξης του μάρτυρα. Η μυκηλιακή ανάπτυξη της συγκεκριμένης μεταχείρισης παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με το μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ) και όλες τις υπόλοιπες ποσότητες: 1  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ), 10  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.02$ ), 15-20  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

#### Ποσότητα: 10 $\mu$ L / τρυβλίο :

Την 1η ημέρα παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη η οποία παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο παρουσίασε το 62 % της ανάπτυξης του μάρτυρα. Η διαφορά στο τέλος του πειράματος διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική συγκριτικά με το μάρτυρα (LSD  $p=0.02$ ) και τις ποσότητες 1  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και 5  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.02$ ). Αντίθετα ήταν στατιστικώς μη σημαντική αναφορικά με τις ποσότητες 15  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.36$ ) και 20  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.10$ ).

#### Ποσότητα: 15 $\mu$ L / τρυβλίο :

Την 1η ημέρα άρχισε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 59 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ) με τις ποσότητες 1  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και 5  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ). Αντίθετα δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 10  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.36$ ) και 20  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.43$ ).

#### Ποσότητα: 20 $\mu$ L / τρυβλίο :

Η μυκηλιακή ανάπτυξη άρχισε την 2η ημέρα από την έναρξη του πειράματος παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα μέχρι και το τέλος του πειράματος (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 56 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά με τις ποσότητες 1-5  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ). Αντίθετα δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 10  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.10$ ) και 15  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.43$ ).

#### ❖ Υπολογισμός EC50:

Η μέση αποτελεσματική συγκέντρωση (EC50) του *S. triloba* υπολογίστηκε σε 27  $\mu$ L / τρυβλίο για το *F. solani* (Probit analysis).



### 3.2.1.2. Επίδραση αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* στο *F. solani*

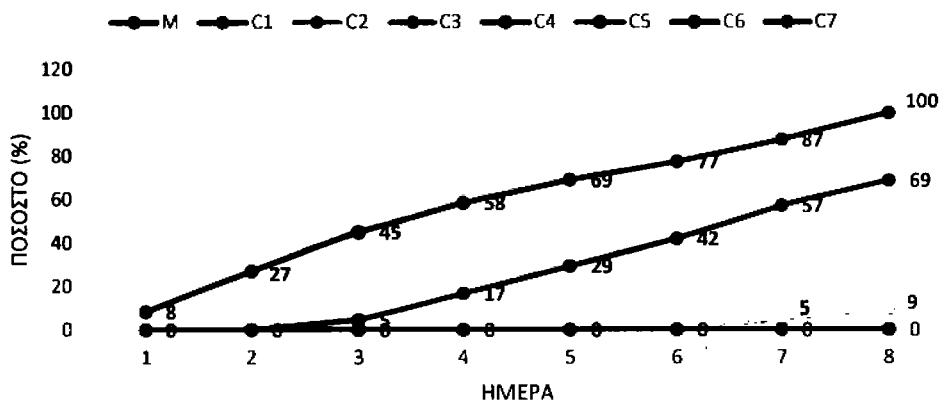
Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των πτητικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (Πίνακας 3.2) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *F. solani* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.6).

ΠΟΣΟΤΗΤΑ ( $\mu\text{L}$ )	<i>S. horvatii</i> ssp. <i>macrophylla</i>
0	73 $\pm$ 5.3 a
1	52 $\pm$ 4.7 b
2	13 $\pm$ 3.6 c
3	7 d
4	7 d
5	7 d
6	7 d
7	7 d

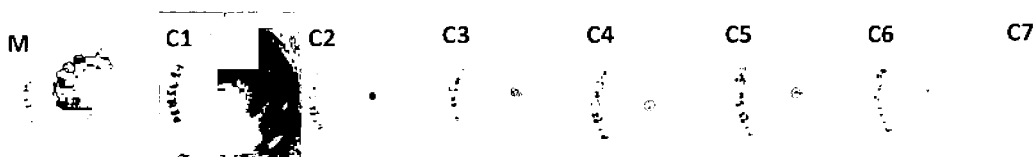
Πίνακας 3.2.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *F. solani* την 8η ημέρα μετά την επίδραση με αιθέριο ελαίο του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* ποσότητας 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.2), αναφέρονται τα αποτελέσματα της μυκηλιακής ανάπτυξης του *F. solani*, παρουσία διαφορετικών ποσοτήτων αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla*.

#### *Fusarium solani* : Μυκηλιακή ανάπτυξη (%)



Γράφημα 3.2.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της μέγιστης μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



Εικόνα 3.6.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.

#### **Ποσότητα: 1 μL / τρυβλίο :**

Την 3η ημέρα παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη η οποία παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 69 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Στο τέλος του πειράματος η μυκηλιακή ανάπτυξη της συγκεκριμένης μεταχείρισης παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά τόσο συγκριτικά με το μάρτυρα, όσο και συγκριτικά με τις ποσότητες 2-3-4-5-6-7 μL/τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

#### **Ποσότητα: 2 μL / τρυβλίο :**

Την 7η ημέρα άρχισε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 9 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ) συγκριτικά με το μάρτυρα. Επιπλέον διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και 3-4-5-6-7 μL/τρυβλίο (LSD  $p=0.04$ ).

#### **Ποσότητα: 3 μL / τρυβλίο :**

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάλθηκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες: 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και 2 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.04$ ), ενώ σε σχέση με τις υπόλοιπες ποσότητες (4-5-6-7 μL / τρυβλίο) δεν διαπιστώθηκε σημαντική διαφορά (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρουσίασε το αιθέριο έλαιο ήταν μυκοστατική (Εικόνα 3.7).

#### **❖ Υπολογισμός MIC:**

Η ελάχιστη συγκέντρωση του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* που αναστέλλει την ανάπτυξη του μύκητα *F. solani* (MIC) προσδιορίστηκε σε: 3 μL / τρυβλίο (52.4 μL L<sup>-1</sup> αέρα).

#### **Ποσότητα: 4 μL / τρυβλίο :**

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάλθηκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες: 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και 2 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.04$ ). Αντίθετα δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 3-5-6-7 μL / τρυβλίο (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρουσίασε το αιθέριο έλαιο διαπιστώθηκε ότι ήταν μυκοστατική (Εικόνα 3.7).

#### **Ποσότητα: 5 μL / τρυβλίο :**

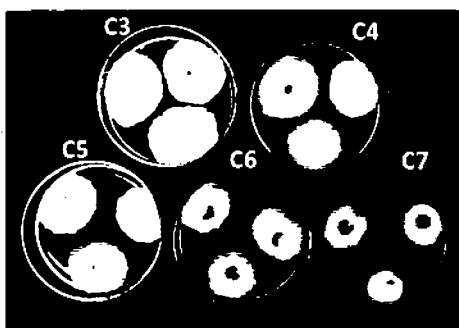
Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάλθηκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες: 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και 2 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.04$ ). Αντίθετα δεν διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις υπόλοιπες ποσότητες: 3-4-6-7 μL / τρυβλίο (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση του αιθέριου ελαίου ήταν μυκοστατική (Εικόνα 3.7).

### Ποσότητα: 6 $\mu$ L / τρυβλίο :

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάληκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά αναφορικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες: 1  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και 2  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.04$ ). Αντίθετα δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 3-4-5-7  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρουσίασε το αιθέριο έλαιο ήταν μυκοστατική (εικόνα 3.7).

### Ποσότητα: 7 $\mu$ L / τρυβλίο :

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάληκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά αναφορικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον διαπιστώθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες: 1  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και 2  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=0.04$ ). Αντίθετα δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 3-4-5-6  $\mu$ L / τρυβλίο (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρουσίασε το αιθέριο έλαιο ήταν μυκοστατική (εικόνα 3.7).



Εικόνα 3.7.: Μακροσκοπική παρατήρηση της μυκοστατικής δράσης του αιθέριου ελαίου του *S. horvatii ssp. macrophylla* στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* στις ποσότητες 3-7  $\mu$ L/τρυβλίο σε υπόστρωμα (PDA) με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C. Τα εμβόλια του *F. solani* αναπτύχθηκαν. C3: 3  $\mu$ L/τρυβλίο, C4: 4  $\mu$ L/τρυβλίο, C5: 5  $\mu$ L/τρυβλίο, C6: 6  $\mu$ L/τρυβλίο, C7: 7  $\mu$ L/τρυβλίο.

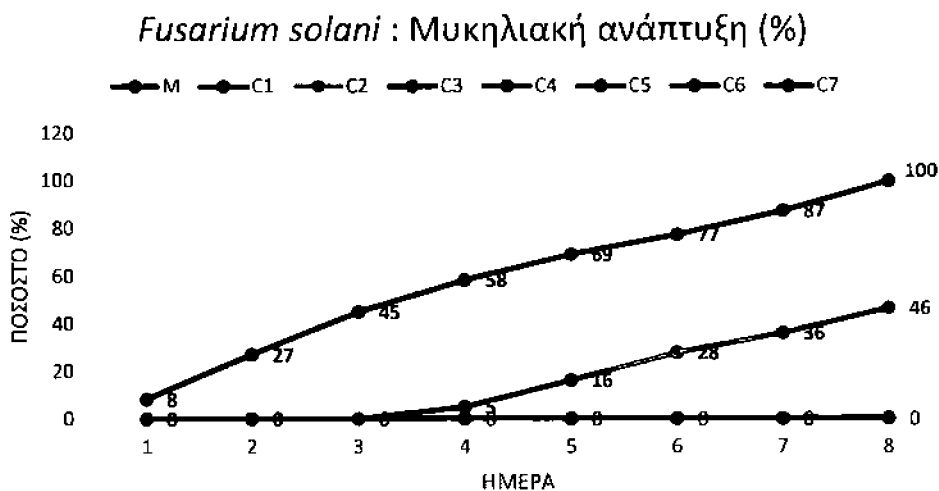
### 3.2.1.3. Επίδραση αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* στο *F. solani*

Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των πτηκικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (Πίνακας 3.3) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *F. solani* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.8).

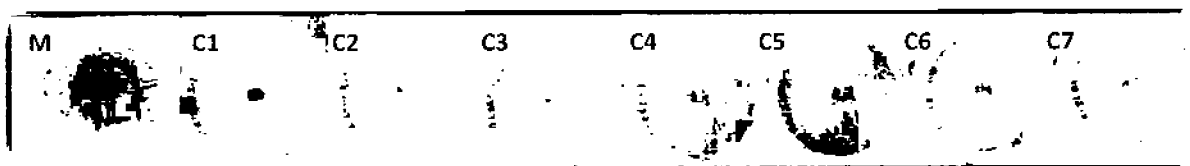
ΠΟΣΟΤΗΤΑ ( $\mu\text{L}$ )	<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>
0	73 $\pm$ 5.3 a
1	38 $\pm$ 9 b
2	7 c
3	7 c
4	7 c
5	7 c
6	7 c
7	7 c

Πίνακας 3.3.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *F. solani* την 8η ημέρα μετά την επίδραση με αιθέριο ελαίο του *O. vulgare* subsp. *hirtum* ποσότητας 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.3), αναφέρονται τα αποτελέσματα της μυκηλιακής ανάπτυξης του *F. solani* παρουσία διαφορετικών ποσοτήτων αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum*.



Γράφημα 3.3: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της μέγιστης μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



Εικόνα 3.8.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.

### Ποσότητα: 1 μL / τρυβλίο :

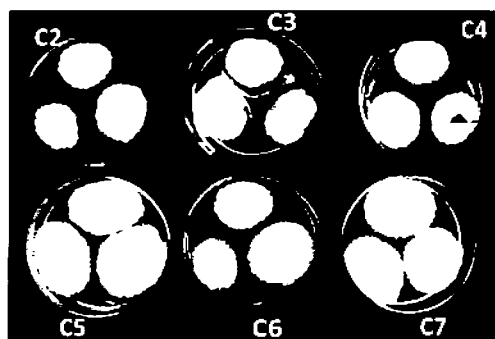
Την 4η ημέρα άρχισε η μυκηλιακή ανάπτυξη και διαπιστώθηκε ότι ήταν στατιστικώς σημαντική συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 46 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά τόσο συγκριτικά με το μάρτυρα όσο και με τις ποσότητες 2-3-4-5-6-7 μL/τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

### Ποσότητες: 2-3-4-5-6-7 μL / τρυβλίο :

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάλθηκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά τόσο με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ) όσο και με τη μυκηλιακή ανάπτυξη της ποσότητας 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ). Αναφορικά μεταξύ αυτών των ποσοτήτων δεν διαπιστώθηκε διαφορά (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρουσίασε το αιθέριο έλαιο ήταν μυκοστατική (Εικόνα 3.9).

#### ❖ Υπολογισμός MIC:

Η ελάχιστη συγκέντρωση του *O. vulgare* subsp. *hirtum* που αναστέλλει την ανάπτυξη του μύκητα *F. solani* (MIC) προσδιορίστηκε σε: 2 μL / τρυβλίο (34.9 μL L<sup>-1</sup> αέρα).



Εικόνα 3.9.: Μακροσκοπική παρατήρηση της μυκοστατικής δράσης του αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* στις ποσότητες 2-7 μL/τρυβλίο σε υπόστρωμα (PDA) με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C. Τα εμβόλια του *F. solani* αναπτύχθηκαν. C2: 2 μL/τρυβλίο, C3: 3 μL/τρυβλίο, C4: 4 μL/τρυβλίο, C5: 5 μL/τρυβλίο, C6: 6 μL/τρυβλίο, C7: 7 μL/τρυβλίο.

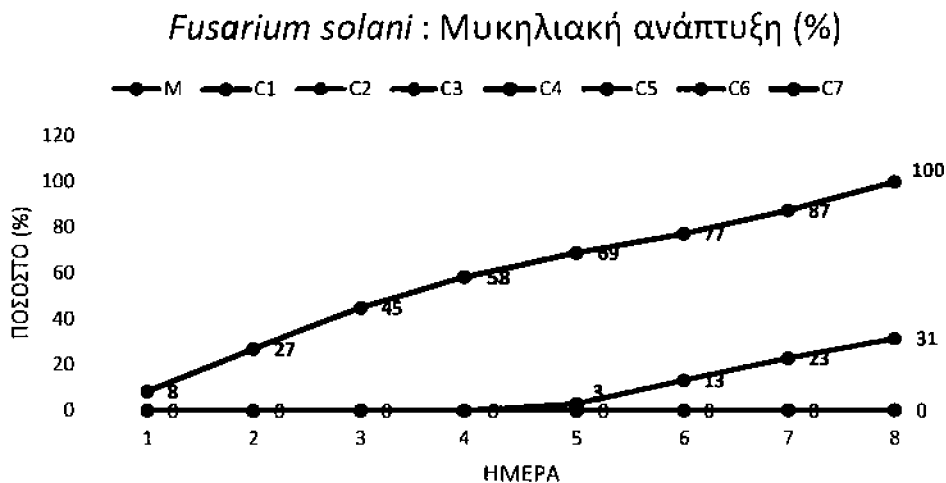
### 3.2.1.4. Επίδραση αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* στο *F. solani*

Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των πτητικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (Πίνακας 3.4) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *F. solani* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.10).

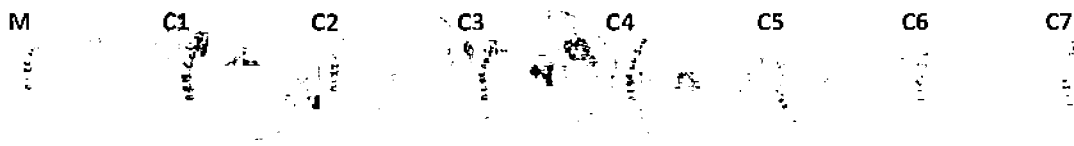
ΠΟΣΟΤΗΤΑ ( $\mu\text{L}$ )	<i>Coridothymus capitatus</i>
0	73 $\pm$ 5.4 a
1	28 $\pm$ 6.4 b
2	7 c
3	7 c
4	7 c
5	7 c
6	7 c
7	7 c

Πίνακας 3.4.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *F. solani* την 8η ημέρα μετά την επίδραση με αιθέριο έλαιο του *C. capitatus* ποσότητας 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλία (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.4) αναφέρονται τα αποτελέσματα της μυκηλιακής ανάπτυξης του *F. solani* παρουσία διαφορετικών ποσοτήτων αιθέριου ελαίου του *C. Capitatus*.



Γράφημα 3.4.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της μέγιστης μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



Εικόνα 3.10.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* έπειτα από επώαση στους 26  $\pm$  1 $^{\circ}\text{C}$ . Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.

### Ποσότητα: 1 μL / τρυβλίο :

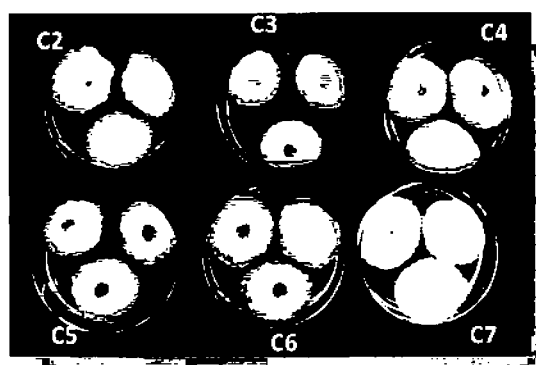
Την 5η ημέρα άρχισε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 31 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά τόσο συγκριτικά με το μάρτυρα όσο και συγκριτικά με τις ποσότητες 2-3-4-5-6-7 μL/τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

### Ποσότητες: 2-3-4-5-6-7 μL / τρυβλίο :

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάληκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά τόσο συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα όσο και σε σχέση με τη ποσότητα 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ). Αναφορικά μεταξύ αυτών των ποσοτήτων δεν διαπιστώθηκε διαφορά (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρουσίασε το αιθέριο έλαιο ήταν μυκοστατική (Εικόνα 3.11).

#### ❖ Υπολογισμός MIC:

Η ελάχιστη συγκέντρωση του *C. capitatus* που αναστέλλει την ανάπτυξη του μύκητα *F. solani* (MIC) υπολογίστηκε σε: 2 μL / τρυβλίο (34.9 μL L<sup>-1</sup> αέρα)



Εικόνα 3.11.: Μακροσκοπική παρατήρηση της μυκοστατικής δράσης του αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* στις ποσότητες 2-7 μL/τρυβλίο σε υπόστρωμα (PDA) με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C. Τα εμβόλια του *F. solani* αναπτύχθηκαν. C2: 2 μL/τρυβλίο, C3: 3 μL/τρυβλίο, C4: 4 μL/τρυβλίο, C5: 5 μL/τρυβλίο, C6: 6 μL/τρυβλίο, C7: 7 μL/τρυβλίο.

### 3.2.1.5. Επίδραση της Καρβακρόλης στο *F. solani*

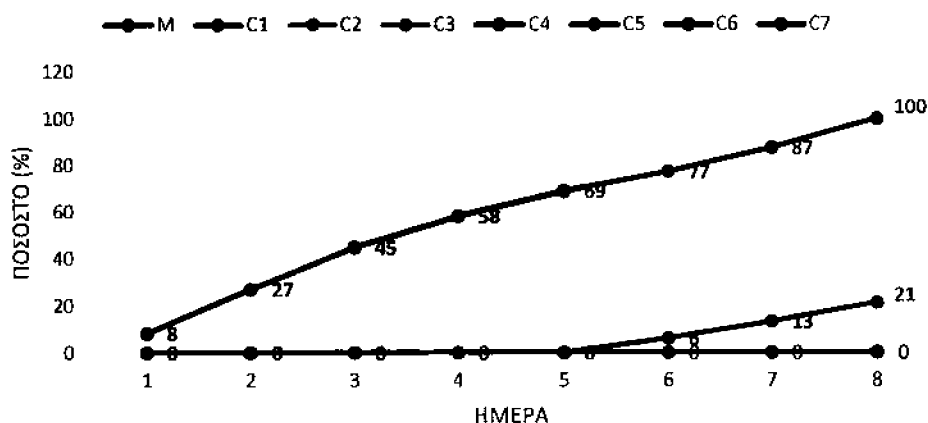
Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των πτητικών ενώσεων της καρβακρόλης και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (Πίνακας 3.5) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *F. solani* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.12).

ΠΟΣΟΤΗΤΑ ( $\mu\text{L}$ )	Καρβακρόλη
0	73 $\pm$ 5.4 a
1	21 $\pm$ 1.7 b
2	7 c
3	7 c
4	7 c
5	7 c
6	7 c
7	7 c

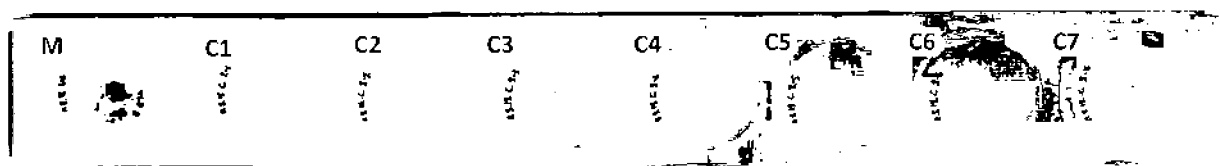
Πίνακας 3.5.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *F. solani* την 8η ημέρα μετά την επίδραση της Καρβακρόλης ποσότητας 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.5) αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης της Καρβακρόλης στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani*.

### *Fusarium solani* : Μυκηλιακή ανάπτυξη (%)



Γράφημα 3.5.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία της καρβακρόλης εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της μέγιστης μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Όπου: Μ: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



Εικόνα 3.12.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία Καρβακρόλης έπειτα από ετώαση στους 26  $\pm$  1°C. Όπου Μ: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



**Ποσότητα: 1 μL / τρυβλίο :**

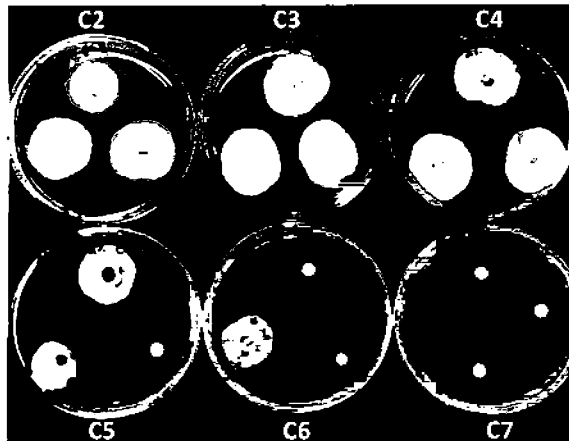
Την 6η ημέρα ξεκίνησε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 21 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά τόσο συγκριτικά με το μάρτυρα όσο και σε σχέση με τις υπόλοιπες ποσότητες 2-3-4-5-6-7 μL/τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**Ποσότητες: 2-3-4-5-6-7 μL / τρυβλίο :**

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάλθηκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά τόσο συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα, όσο και σε σχέση με τη ποσότητα 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ). Αναφορικά μεταξύ αυτών των ποσοτήτων δεν διαπιστώθηκε διαφορά (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρουσίασε η καρβακρόλη ήταν μυκοστατική στις ποσότητες 2-4 μL / τρυβλίο (Εικόνα 3.13) και μυκοτοξική στις ποσότητες 5-7 μL / τρυβλίο (Εικόνα 3.13).

❖ **Υπολογισμός MIC:**

Η ελάχιστη συγκέντρωση (MIC) της καρβακρόλης που αναστέλλει την ανάπτυξη του μύκητα *F. solani* προσδιορίστηκε σε: 2 μL / τρυβλίο (34.9 μL L<sup>-1</sup> αέρα).



Εικόνα 3.13.: Μακροσκοπική παρατήρηση της μυκοστατικής δράσης της καρβακρόλης (τα εμβόλια αναπτύχθηκαν) στις ποσότητες 2-4 μL/τρυβλίο και της μυκοτοξικής δράσης της στις ποσότητες 5-7 μL/τρυβλίο (τα εμβόλια δεν αναπτύχθηκαν), στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* σε υπόστρωμα (PDA) με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C. C2: 2 μL/τρυβλίο, C3: 3 μL/τρυβλίο, C4: 4 μL/τρυβλίο, C5: 5 μL/τρυβλίο, C6: 6 μL/τρυβλίο, C7: 7 μL/τρυβλίο.

### 3.2.2. Βιοδοκιμή 2<sup>η</sup>: *Alternaria alternata*

#### 3.2.2.1. Επίδραση αιθέριου ελαίου του *S. triloba* στο *A. alternata*

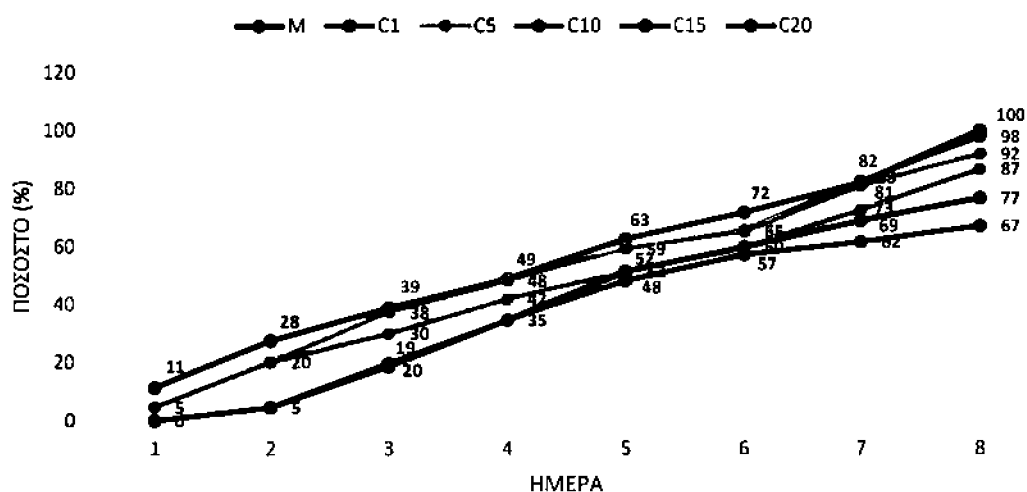
Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των πτητικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου του *S. triloba* και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-5-10-15-20 μλ / τρυβλίο (Πίνακας 3.6) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *A. alternata* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.14).

ΠΟΣΟΤΗΤΑ (μλ)	<i>Salvia triloba</i>
0	71 ± 2.5 a
1	70 ± 0.8 a
5	66 ± 0.8 b
10	63 ± 0.5 c
15	56 ± 1.2 d
20	50 ± 0.5 e

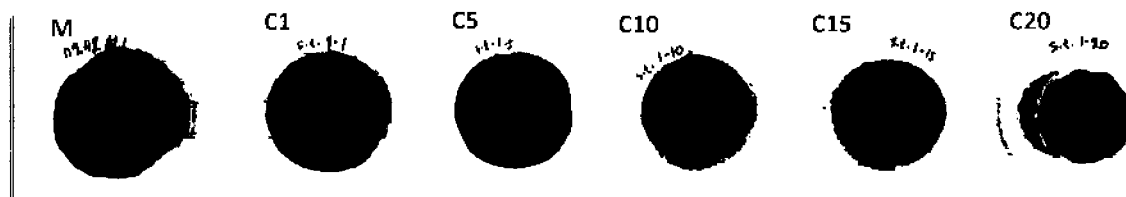
Πίνακας 3.6.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *A. alternata* την 8η ημέρα μετά την επίδραση με αιθέριο ελαίο του *S. triloba* ποσότητας 0-1-5-10-15-20 μλ/τρυβλίο (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.6) αναφέρονται τα αποτελέσματα της μυκηλιακής ανάπτυξης του *A. alternata* παρουσία αιθέριου ελαίου του *S. triloba*.

### *Alternaria alternata* : Μυκηλιακή ανάπτυξη (%)



Γράφημα 3.6.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *S. triloba* εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της μέγιστης μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Όπου: Μ: Μάρτυρας 0 μL/τρυβλίο, C1: 1 μL/τρυβλίο, C5: 5 μL/τρυβλίο, C10: 10 μL/τρυβλίο, C15: 15 μL/τρυβλίο, C20: 20 μL/τρυβλίο.



Εικόνα 3.14.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *S. triloba* με επώαση στους  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . Όπου: Μ: Μάρτυρας 0 μL/τρυβλίο, C1: 1 μL/τρυβλίο, C5: 5 μL/τρυβλίο, C10: 10 μL/τρυβλίο, C15: 15 μL/τρυβλίο, C20: 20 μL/τρυβλίο.

#### Ποσότητα: 1 μL / τρυβλίο :

Την 1η ημέρα παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη η οποία παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 98 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα χωρίς να παρατηρείται σημαντική στατιστική διαφορά (LSD  $p=0.20$ ). Αντίθετα παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες: 5 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.01$ ), 10-15-20 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**Ποσότητα: 5 μL / τρυβλίο :**

Την 1η ημέρα ξεκίνησε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 92 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες του 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.01$ ) και των 10 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.02$ ).

**Ποσότητα: 10 μL / τρυβλίο :**

Την 1η ημέρα παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη η οποία παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο παρουσίασε το 92 % της ανάπτυξης του μάρτυρα. Η μεταξύ τους διαφορά διαπιστώθηκε πως ήταν στατιστικώς σημαντική (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες: 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.01$ ), 5 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.02$ ), 15-20 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**Ποσότητα: 15 μL / τρυβλίο :**

Την 1η ημέρα άρχισε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 77 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με όλες τις ποσότητες: 1-5-10-20 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**Ποσότητα: 20 μL / τρυβλίο :**

Την 2η ημέρα ημέρα παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη η οποία παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 67 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με όλες τις ποσότητες: 1-5-10-15 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**❖ Υπολογισμός EC50:**

Η μέση αποτελεσματική συγκέντρωση (EC50) του *S. triloba* υπολογίστηκε σε 43 μL / τρυβλίο για το *A. alternata* (Probit ανάλυση).

### 3.2.2.2. Επίδραση αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* στο *A. alternata*

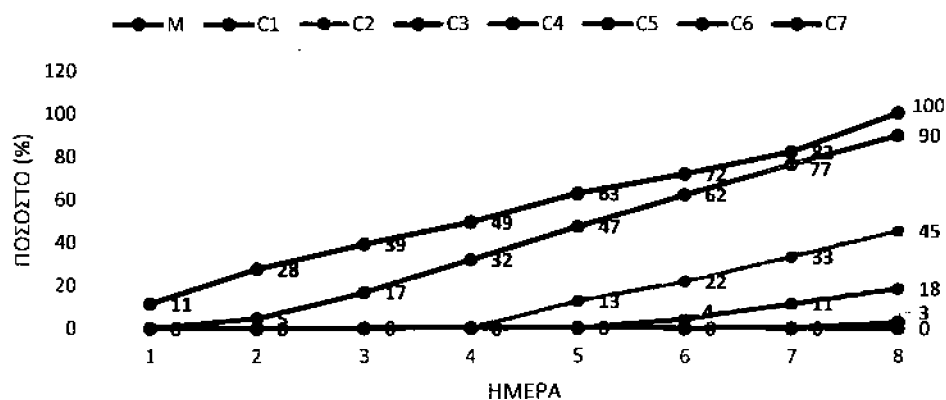
Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των πτητικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (Πίνακας 3.7) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *A. alternata* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.15).

ΠΟΣΟΤΗΤΑ (μL)	<i>Satureja horvatii</i> ssp. <i>macrophylla</i>
0	71 ± 2.5 a
1	65 ± 1.8 b
2	36 ± 1.5 c
3	19 ± 1,6 d
4	9 ± 1 e
5	7 e
6	7 e
7	7 e

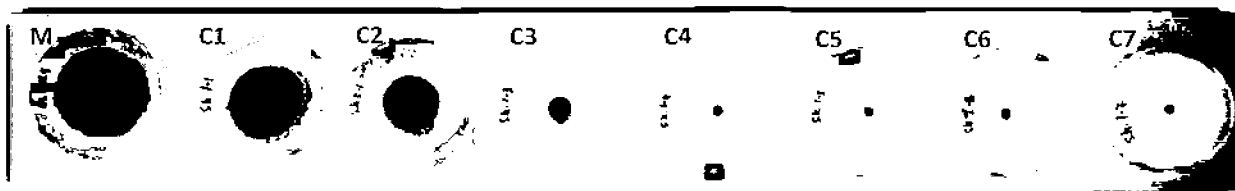
Πίνακας 3.7.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *A. alternata* την 8η ημέρα μετά την επίδραση με αιθέριο ελαίο του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* ποσότητας 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.7), αναφέρονται τα αποτελέσματα της μυκηλιακής ανάπτυξης του *A. alternata*, παρουσία διαφορετικών ποσοτήτων αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla*.

#### *Alternaria alternata* : Μυκηλιακή ανάπτυξη (%)



Γράφημα 3.7.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της μέγιστης μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο



Εικόνα 3.15.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* με επώαση στους 26 ± 1°C. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο

**Ποσότητα: 1 μL / τρυβλίο :**

Την 2η ημέρα παρατηρήθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη η οποία παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο παρουσίασε το 90 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Η μεταξύ τους διαφορά διαπιστώθηκε ότι ήταν στατιστικώς σημαντική (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 2-3-4-5-6-7 μL/τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**Ποσότητα: 2 μL / τρυβλίο :**

Την 4η ημέρα άρχισε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο είχε το 45 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες: 1-3-4-5-6-7 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**Ποσότητα: 3 μL / τρυβλίο :**

Την 6η ημέρα διαπιστώθηκε μυκηλιακή ανάπτυξη η οποία παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 18 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες: 1-2-4-5-6-7 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**Ποσότητα: 4 μL / τρυβλίο :**

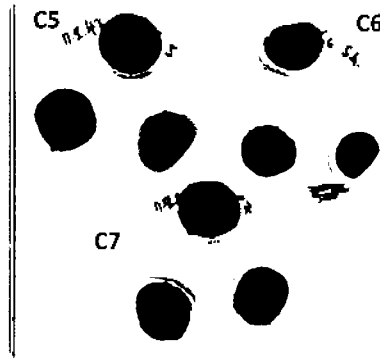
Την 8η ημέρα άρχισε η μυκηλιακή ανάπτυξη και παρουσίασε το 3 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Η μεταξύ τους διαφορά ήταν στατιστικώς σημαντική (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 1-2-3 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) όχι όμως με τις ποσότητες 5-6-7 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.22$ ).

**Ποσότητες: 5-6-7 μL / τρυβλίο :**

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάλθηκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ), όπως και με τις ποσότητες 1-3 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ). Αντίθετα δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη ποσότητα 4 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.22$ ). Αναφορικά μεταξύ αυτών των ποσοτήτων δεν διαπιστώθηκε διαφορά (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση του αιθέριου ελαίου ήταν μυκοστατική (Εικόνα 3.16).

❖ **Υπολογισμός MIC:**

Η ελάχιστη συγκέντρωση του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* που αναστέλλει την ανάπτυξη του μύκητα *A. alternata* (MIC) προσδιορίστηκε σε: 5 μL / τρυβλίο (87.4 μL L<sup>-1</sup> αέρα).



Εικόνα 3.16.: Μακροσκοπική παρατήρηση της μυκοστατικής δράσης του αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* στις ποσότητες 5-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο σε υπόστρωμα (PDA) με επώαση στους  $26 \pm 1^\circ\text{C}$ . Τα εμβόλια του *A. alternata* αναπτύχθηκαν. C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.

### 3.2.2.3. Επίδραση αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* στο *A. alternata*

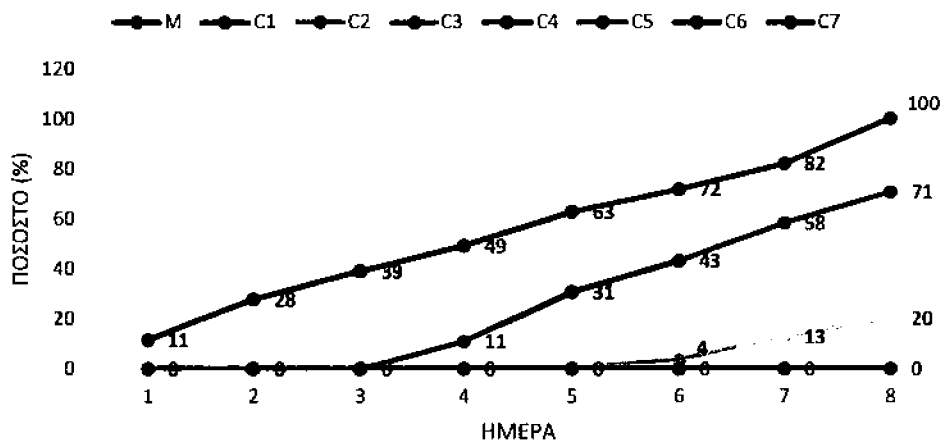
Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των πτητικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (Πίνακας 3.8) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *A. alternata* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.17).

ΠΟΣΙΟΤΗΤΑ ( $\mu\text{L}$ )	<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>hirtum</i>
0	71 $\pm$ 2.5 a
1	52 $\pm$ 2.3 b
2	20 $\pm$ 0.5 c
3	7 d
4	7 d
5	7 d
6	7 d
7	7 d

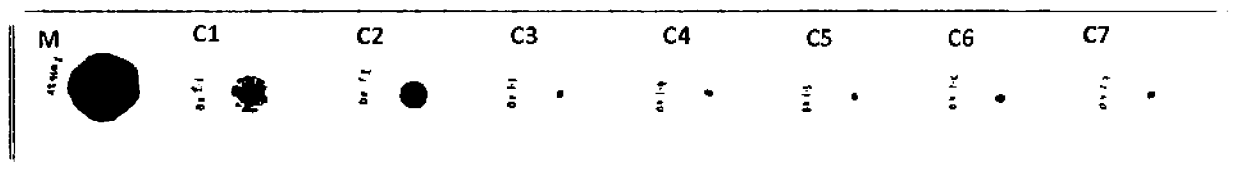
Πίνακας 3.8.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *A. alternata* την 8η ημέρα μετά την επίδραση με αιθέριο ελαίο του *O. vulgare* subsp. *hirtum* ποσότητας 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.8), αναφέρονται τα αποτελέσματα της μυκηλιακής ανάπτυξης του *A. alternata*, παρουσία διαφορετικών ποσοτήτων αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum*.

#### *Alternaria alternata* : Μυκηλιακή ανάπτυξη (%)



Γράφημα 3.8.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της μέγιστης μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



Εικόνα 3.17.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* με επώαση στους 26  $\pm$  1°C. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



**Ποσότητα: 1 μL / τρυβλίο :**

Την 4η ημέρα ξεκίνησε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 71 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη ποσότητα των 2 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**Ποσότητα: 2 μL / τρυβλίο :**

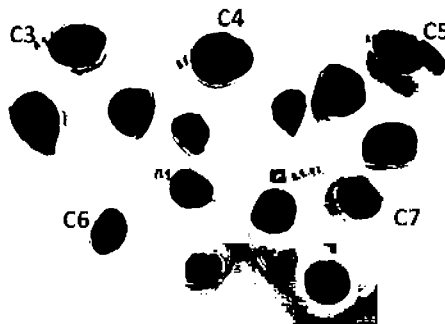
Την 6η ημέρα ξεκίνησε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 20 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες του 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και των 3 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

**Ποσότητες: 3-4-5-6-7 μL / τρυβλίο :**

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάληκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη ποσότητα 2 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ). Αναφορικά μεταξύ αυτών των ποσοτήτων δεν διαπιστώθηκε διαφορά (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρουσίασε το αιθέριο έλαιο ήταν μυκοστατική (Εικόνα 3.18).

❖ Υπολογισμός MIC:

Η ελάχιστη συγκέντρωση του *O. vulgare* subsp. *hirtum* που αναστέλλει την ανάπτυξη του μύκητα *A. alternata* (MIC) προσδιορίστηκε σε: 3 μL / τρυβλίο σε: 52.4 μL L<sup>-1</sup> αέρα.



Εικόνα 3.18.: Μακροσκοπική παρατήρηση της μυκοστατικής δράσης του αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* στις ποσότητες 3-7 μL/τρυβλίο σε υπόστρωμα (PDA) με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C. Τα εμβόλια του *A. alternata* αναπτύχθηκαν. C3: 3 μL/τρυβλίο, C4: 4 μL/τρυβλίο, C5: 5 μL/τρυβλίο, C6: 6 μL/τρυβλίο, C7: 7 μL/τρυβλίο.

### 3.2.2.4. Επίδραση αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* στο *A. alternata*

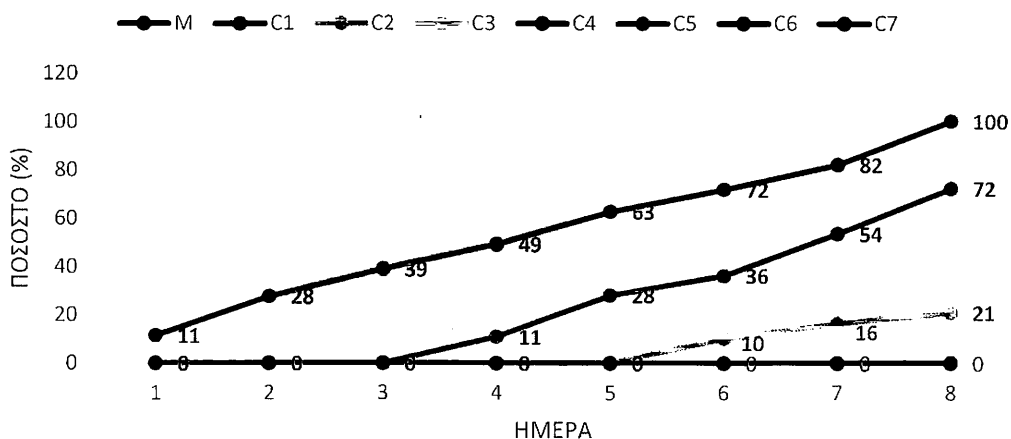
Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης των πτητικών ενώσεων του αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (Πίνακας 3.9) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *A. alternata* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.19).

ΠΟΣΟΤΗΤΑ ( $\mu\text{L}$ )	<i>Coridothymus capitatus</i>
0	71 $\pm$ 2.5 a
1	53 $\pm$ 1 b
2	20 $\pm$ 0.8 c
3	7 d
4	7 d
5	7 d
6	7 d
7	7 d

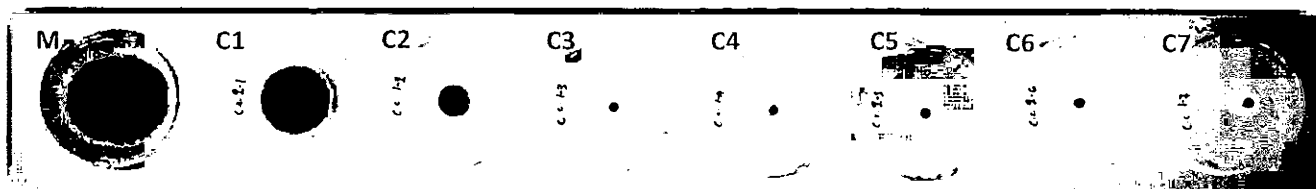
Πίνακας 3.9.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *A. alternata* την 8η ημέρα μετά την επίδραση με αιθέριο ελαίο του *C. capitatus* ποσότητας 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.9), αναφέρονται τα αποτελέσματα της μυκηλιακής ανάπτυξης του *A. alternata*, παρουσία διαφορετικών ποσοτήτων αιθέριου ελαίου του *C. Capitatus*.

### *Alternaria alternata* : Μυκηλιακή ανάπτυξη (%)



Γράφημα 3.9.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* εκφρασμένη ως ποσοστό (%) της μέγιστης μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



Εικόνα 3.19.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* με επώαση στους 26  $\pm$  1°C. Όπου: M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.

#### Ποσότητα: 1 $\mu\text{L}$ / τρυβλίο :

Την 4η ημέρα ξεκίνησε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 72 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

#### Ποσότητα: 2 $\mu\text{L}$ / τρυβλίο :

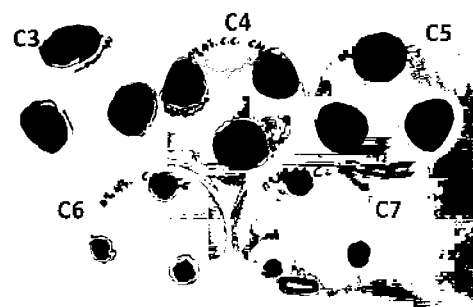
Την 6η ημέρα ξεκίνησε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 21 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρουσιάστηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 1-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

#### Ποσότητες: 3-4-5-6-7 $\mu\text{L}$ / τρυβλίο :

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάληκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη ποσότητα 2  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ). Αναφορικά μεταξύ αυτών των ποσοτήτων δεν διαπιστώθηκε διαφορά (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρατηρήθηκε ήταν μυκοστατική (Εικόνα 3.20).

#### ❖ Υπολογισμός MIC:

Η ελάχιστη ελάχιστη συγκέντρωση του *C. capitatus* που αναστέλλει την ανάπτυξη του μύκητα *A. alternata* (MIC) υπολογίστηκε σε: 3  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα).



Εικόνα 3.20.: Μακροσκοπική παρατήρηση της μυκοστατικής δράσης του αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* στις ποσότητες 3-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο σε υπόστρωμα (PDA) με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C. Τα εμβόλια του *A. alternata* αναπτύχθηκαν. C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.

### 3.2.2.5. Επίδραση της Καρβακρόλης στο *A. alternata*

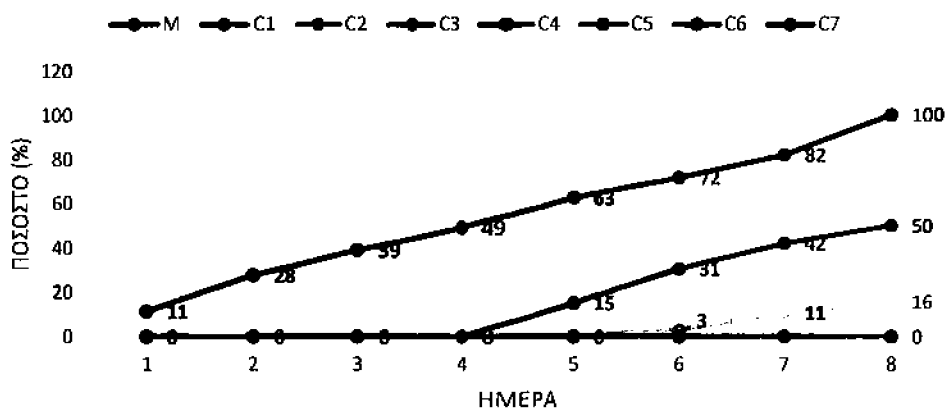
Στη συνέχεια αναφέρονται τα αποτελέσματα της επίδρασης της καρβακρόλης και συγκεκριμένα των ποσοτήτων 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (Πίνακας 3.10) στη μυκηλιακή ανάπτυξη (mm) του *A. alternata* μετά από 8 ημέρες (Εικόνα 3.21).

ΠΟΣΙΟΤΗΤΑ ( $\mu\text{L}$ )	Καρβακρόλη
0	71 $\pm$ 2.5 a
1	39 $\pm$ 2.5 b
2	17 $\pm$ 0.5 c
3	7 d
4	7 d
5	7 d
6	7 d
7	7 d

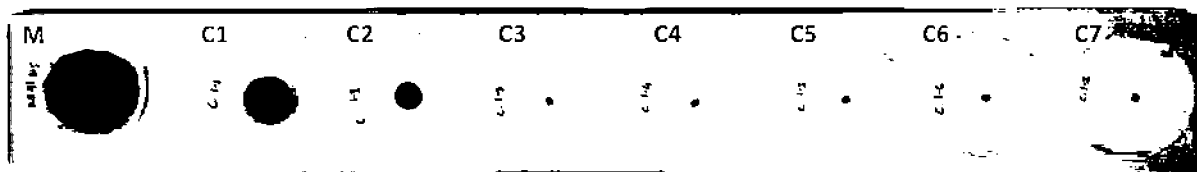
Πίνακας 3.10.: Μέσος όρος και τυπικό σφάλμα της μυκηλιακής ανάπτυξης (mm) του μύκητα *A. alternata* την 8η ημέρα μετά την επίδραση με καρβακρόλη ποσότητας 0-1-2-3-4-5-6-7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο (LSD  $p \leq 0.05$ ).

Στο γράφημα που ακολουθεί (Γράφημα 3.10), αναφέρονται τα αποτελέσματα της μυκηλιακής ανάπτυξης του *A. alternata*, παρουσία διαφορετικών ποσοτήτων καρβακρόλης.

### *Alternaria alternata* : Μυκηλιακή ανάπτυξη (%)



Γράφημα 3.10.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία της καρβακρόλης με επίωση στους 26  $\pm$  1 °C. M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.



Εικόνα 3.21.: Μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* (8η ημέρα) σε υπόστρωμα (PDA) παρουσία της καρβακρόλης με επίωση στους 26  $\pm$  1 °C. M: Μάρτυρας 0  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C1: 1  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C2: 2  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C3: 3  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C4: 4  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C5: 5  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C6: 6  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο, C7: 7  $\mu\text{L}$ /τρυβλίο.

#### Ποσότητα: 1 μL / τρυβλίο :

Την 5η ημέρα άρχισε η μυκηλιακή ανάπτυξη η οποία παρουσίασε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 50 % της μυκηλιακής ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες 2-3-4-5-6-7 μL/τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

#### Ποσότητα: 2 μL / τρυβλίο :

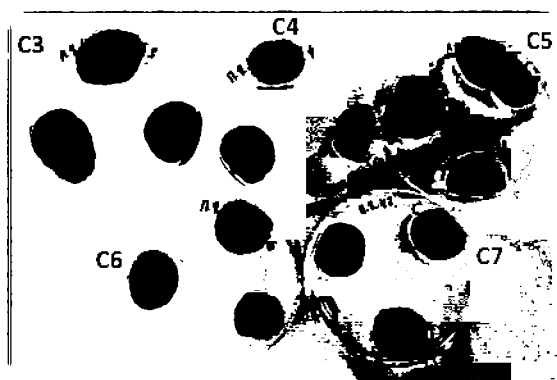
Την 6η ημέρα άρχισε η μυκηλιακή ανάπτυξη παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Την 8η ημέρα το μυκήλιο εμφάνισε το 16 % της ανάπτυξης του μάρτυρα παρουσιάζοντας στατιστικώς σημαντική διαφορά (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τις ποσότητες του 1 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ) και 3 μL/τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ).

#### Ποσότητα: 3-4-5-6-7 μL / τρυβλίο :

Η μυκηλιακή ανάπτυξη αναστάλθηκε πλήρως παρουσιάζοντας την 8η ημέρα στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μάρτυρα (LSD  $p=0.00$ ). Επιπλέον παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά συγκριτικά με τη ποσότητα των 2 μL / τρυβλίο (LSD  $p=0.00$ ). Αναφορικά μεταξύ αυτών των ποσοτήτων δεν διαπιστώθηκε διαφορά (LSD  $p=1.00$ ). Η δράση που παρουσίασε το αιθέριο έλαιο ήταν μυκοστατική (Εικόνα 3.22).

#### ❖ Υπολογισμός MIC:

Η ελάχιστη συγκέντρωση της καρβακρόλης που αναστέλλει την ανάπτυξη του μύκητα *A. alternata* (MIC) υπολογίστηκε σε: 3 μL / τρυβλίο σε: 52.4 μL L<sup>-1</sup> αέρα.



Εικόνα 3.22.: Μακροσκοπική παρατήρηση της μυκοστατικής δράσης της Καρβακρόλης στη μυκηλιακή ανάπτυξη του *A. alternata* στις ποσότητες 3-7 μL/τρυβλίο σε υπόστρωμα (PDA) με επώαση στους  $26 \pm 1$  °C. Τα εμβόλια του *A. alternata* αναπτύχθηκαν. C3: 3 μL/τρυβλίο, C4: 4 μL/τρυβλίο, C5: 5 μL/τρυβλίο, C6: 6 μL/τρυβλίο, C7: 7 μL/τρυβλίο.



Κεφάλαιο: 4<sup>ο</sup>  
ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

#### 4. Συζήτηση

Η μελέτη της αντιμυκωτικής δράσης των αιθέριων ελαίων, περιλαμβάνει πολλά στάδια μεταξύ των οποίων αναφέρονται: ο εντοπισμός του φυτικού υλικού και των φυτοπαθογόνων στελεχών στα οποία πρόκειται να γίνει η μελέτη, η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου πειραματικής μελέτης και η ερμηνεία της ανάλυσης των συστατικών των αιθέριων ελαίων σε σχέση με το αποτέλεσμα της δράσης. Τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές είχαν παραληφθεί με υδροαπόσταξη και αναλυθεί με αεριοχρωματογραφία από την κ. Υφαντή (Υφαντή 2014).

##### 4.1. Χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των αναλύσεων τα αιθέρια έλαια των *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, *O. vulgare* subspp. *hirtum* και *C. capitatus* που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές ανήκουν στο χημειότυπο της Καρβακρόλης (Υφαντή et al., 2018), ενώ το αιθέριο έλαιο του *S. triloba* ανήκει στο χημειότυπο της 1,8 Κινεόλης.

##### 4.2. Βιοδοκιμές

Στις *in vitro* βιοδοκιμές διερεύνησης των αντιμυκωτικών δράσεων, χρησιμοποιήθηκε η μέθοδος εκτίμησης της επίδρασης των πτητικών ενώσεων των αιθέριων ελαίων (υποκαπνιστική δράση) στη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων μυκήτων.

###### 4.2.1. Η επιλογή της μεθόδου

Από τη μελέτη της επιλεγμένης βιβλιογραφίας που αφορούν τις *in vitro* βιοδοκιμές (Soylu et al., 2010 · Feng et al., 2011 · Υφαντή 2014) σχετικά με τη βιοδραστικότητα των αιθέριων ελαίων στα φυτοπαθογόνα *Fusarium* sp., και *Alternaria* sp., συγκριτικά με άλλες δύο μεθόδους, όπως της εξ επαφής δράσης και της μεθόδου της ενσωμάτωσης του αιθέριου ελαίου στο θρεπτικό υλικό (Υφαντή κ.ά., 2015 · Feng et al., 2011), καλύτερα αποτελέσματα στη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων μυκήτων έχει παρουσιάσει η μέθοδος εκτίμησης της επίδρασης των πτητικών ενώσεων των αιθέριων ελαίων (υποκαπνιστική δράση).

Το χαρακτηριστικό που κάνει τη μέθοδο ξεχωριστή σύμφωνα με ερευνητές οφείλεται στη λιπόφιλη φύση των πτητικών συστατικών των αιθέριων ελαίων. Τα αιθέρια έλαια προσροφώνται καλύτερα από την επίσης λιπόφιλη μυκηλιακή υφή σε σύγκριση με το υψηλής περιεκτικότητας νερό στο θρεπτικό υλικό (Υφαντή 2014 · Feng et al., 2011 · Inouye et al., 2000 · Soylu et al., 2010). Επιπλέον άλλη μια κρίσιμη παράμετρος κατά πολλούς ερευνητές, αποτελεί η ευαισθησία των κονιδίων και των μυκηλιακών υφών κατά το χρόνο έκθεσης τους στις αντιμυκωτικές ενώσεις (Feng et al., 2011).



Μολονότι και στις δύο μεθόδους η ποσότητα αιθέριου ελαίου που χρησιμοποιείται είναι ίδια, στα τρυβλία της μεθόδου ενσωμάτωσης στο θρεπτικό υλικό η πραγματική συγκέντρωση είναι μικρότερη κατά την ενσωμάτωση, εξαιτίας της μετάβασης των πτητικών συστατικών σε αέρια κατάσταση και απομακρύνονται από την υψηλή θερμοκρασία (40-45 °C), με αποτέλεσμα αυτά να χάνονται (Υφαντή 2014).

#### 4.2.2. Βιοδραστικότητα των αιθέριων ελαίων στα επιλεγμένα φυτοπαθογόνα

Τα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών που ανήκουν στο χημειότυπο της καρβακρόλης *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* και *C. capitatus* έδειξαν σημαντικότερη αντιμυκητική δράση στα *F. solani* και *A. alternata*, συγκριτικά με το αιθέριο έλαιο του αρωματικού φυτού *S. triloba* που ανήκει στο χημειότυπο της 1,8 Κινεόλης.

Όπως προκύπτει από τη μελέτη της επιλεγμένης βιβλιογραφίας, τα αιθέρια έλαια υψηλής περιεκτικότητας σε καρβακρόλη επηρεάζουν σημαντικά τη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων. Τα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών *C. capitatus*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* και *S. horvatii* ssp. *macrophylla* είναι πλούσια στις τερπενικές φαινόλες καρβακρόλη και θυμόλη που παρουσιάζουν υψηλή επίδραση στη μυκηλιακή ανάπτυξη σε παθογόνα που προκαλούν μετασυσπλεκτικές σήψεις όπως το *A. alternata* (Daferera et al., 2003 · Lopez-Reyes et al., 2010 · Feng et al., 2011 · Υφαντή κ.ά., 2015). Η καρβακρόλη και η θυμόλη είναι ισομερή θέσης· ο βαθμός της αντιμυκητικής τους δράσης, επηρεάζεται από τη διαφορετική θέση του υδροξυλίου στο φαινολικό τους δακτύλιο (Ahmad et al., 2011).

##### 4.2.2.1. Αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου *S. triloba*

Από την ανάλυση του αιθέριου ελαίου του *S. triloba* που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές ταυτοποιήθηκαν 47 συστατικά, από τα οποία οι οξυγονωμένοι τερπενικοί υδατάνθρακες (16 συστατικά) αποτελούν το 52 % του αιθέριου ελαίου, οι μονοτερπενικοί υδατάνθρακες (13 συστατικά) το 26,7 %, οι σεσκιτερπενικοί υδρογονάνθρακες (9 συστατικά) το (8,00 %), τα οξυγονωμένα μονοτερπένια (5 συστατικά) το 6,00 %, τα διτερπένια (1 συστατικό) 1,5 %, ενώ διάφορα συστατικά (4 συστατικά) αποτελούν το 6,10 % του αιθέριου ελαίου. Κύρια συστατικά του αιθέριου ελαίου αποτελούν τα οξυγονωμένα μονοτερπένια 1,8 cineole (20,3 %) και Camphor (9,6 %), ενώ οι δύο θουγιόνες αποτελούν στο σύνολό τους το 5,9 % του αιθέριου ελαίου (α-Thujone 4%, b- Thujone 1,9%).

Στις δημοσιευμένες μελέτες που αφορούν τη χημική σύσταση του αιθέριου ελαίου του Ελληνικού φασκόμηλου (*S. triloba*), φαίνεται ότι χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε 1,8-cineole (Langer et al., 1996). Συγκεκριμένα έχει βρεθεί ότι στα αιθέρια έλαια του *S. triloba* τόσο από φυσικούς πληθυσμούς, όσο και από εμπορικά δείγματα, κυριαρχεί η 1,8- κινεόλη ακολουθούμενη από την καμφορά, ενώ η περιεκτικότητα της α- και της β-θουγιόνης είναι αρκετά χαμηλή συγκρινόμενη με εκείνη των αιθέριων ελαίων του *Salvia officinalis* (Katsiotis & Icanomou 1984 · Harvala et al., 1987).

Σε μελέτες και άλλων ερευνητών, οι θουγιόνες αποτελούν κύρια συστατικά ορισμένων αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών *Salvia* και *Artemisia*, που παρουσιάζουν

μυκοστατική δράση στο *F. solani* (Farzaneh et al., 2006). Η υψηλή περιεκτικότητα αιθέριων ελαίων σε α και β-Thujone σχετίζεται με τη τοξικότητα ορισμένων εκχυλισμάτων *Salvia* και *Artemisia* (Tong et al., 2003 · Lachenmeier & Uebelacker 2010 · Lachenmeier & Uebelacker 2010) ωστόσο, χωρίς τα αποτελέσματα των ερευνών να επιβεβαιώνουν ως αποκλειστικό αίτιο της τοξικότητας, τις θουγιόνες (Lachenmeier & Uebelacker 2010).

Η 1,8 cineole αποδεδειγμένα θα μπορούσε να δράσει συνεργιστικά με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες, ενισχύοντας την αντιμικροβιακή δράση (Simsek & Duman 2017), ενώ ενδιαφέρον παρουσιάζει η αντιμυκητική δράση της Camphor, η οποία σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα (Kurita et al., 1981 · Belletti et al., 2010) φαίνεται να είναι σημαντικότερη σε σύγκριση με εκείνη των συστατικών που βρίσκονται στο αιθέριο έλαιο του *S. triloba* σε ποσοστό μεταξύ 1-5 % όπως οι: Caryophyllene (4,3 %), borneol (3,5 %) και Linalool (1,1 %). Τα συστατικά που βρίσκονται στο αιθέριο έλαιο του *S. triloba* σε ποσοστό μεγαλύτερο του 5% όπως τα: δ-Terpineol (5,8%), α-Pinene (5,2%), Camphene (5,2 %) και β-Pinene (5,7 %), παρουσιάζουν συνεργιστική αντιμυκητική δράση με την 1,8 cineole σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα (Kurita et al., 1981 · Belletti et al., 2010).

Στις βιοδοκιμές δεν παρουσιάστηκε αποκλίνουσα συμπεριφορά συγκριτικά με τα προαναφερθέντα, όπου το αιθέριο έλαιο του *S. triloba* επέδρασε στη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο και την 8η ημέρα στην ποσότητα 20 μL / τρυβλίο, το μυκήλιο του *A. alternata* αναπύχθηκε κατά 67 % και του *F. solani* κατά 56 %. Ωστόσο η μέση αποτελεσματική συγκέντρωση EC50 υπολογίστηκε, για το *A. Alternata* 43 μL και για το *F. solani* σε 27 μL.

#### 4.2.2.2. Αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου *S. horvatii* ssp. *macrophylla*

Η καρβακρόλη παρουσιάζεται ως το κυρίαρχο συστατικό των αιθέριων ελαίων του *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, ιδιαίτερα στα φυτά που προέρχονται από περιοχές Μεσογειακών και Υπομεσογειακών βιοκλιματικών ζωνών. Η ένυδρη λιναλοόλη ή trans-σαβινένιο ή/και η βορνεόλη απαντώνται στις Υπομεσογειακές-εύκρατες Μεσογειακές βιοκλιματικές ζώνες, ενώ η θυμόλη απαντάται ως κοινό συστατικό του αιθέριου ελαίου σε κάθε περίπτωση (Dardiati et al., 2010).

Από την ανάλυση του αιθέριου ελαίου του *S. horvatii* ssp. *macrophylla* που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές ταυτοποιήθηκαν 48 συστατικά (Υφαντή 2014 · Υφαντή κ.ά., 2015), από τα οποία οι οξυγονωμένοι τερπενικοί υδατάνθρακες (14 συστατικά) αποτελούν το 62% του αιθέριου ελαίου, οι μονοτερπενικοί υδατάνθρακες (14 συστατικά) το 24,8 %, οι σεσκιτερπενικοί υδρογονάνθρακες (14 συστατικά) το (6,76 %), τα οξυγονωμένα μονοτερπένια (3 συστατικά) το 3,22 %, ενώ διάφορα συστατικά (3 συστατικά) αφορούν το 3,02% του αιθέριου ελαίου. Το σύνολο των δύο φαινολών ανέρχεται σε ποσοστό 50,34 % με την οξυγονωμένη μονοτερπενική φαινόλη καρβακρόλη σε υψηλή περιεκτικότητα (47,31 %), γεγονός το οποίο σχετίζεται με την αντιμυκητική δράση των αιθέριων ελαίων του είδους *S. montana* (Haloc I et al., 2014) και η θυμόλη συμμετέχει με ένα πολύ μικρότερο ποσοστό (3,03 %). Το σημαντικό ποσοστό των δύο πρόδρομων ενώσεων βιοσύνθεσης των δύο φαινολών, το p-Cymene (11,22%) και το g-Terpinene (7,1%) και της θυμόλης (3,03 %) φαίνεται από την βιβλιογραφία να ενισχύει την αντιμικροβιακή δράση όπως έχει παρουσιαστεί σε μελέτες

(Miladi et al., 2017 · Moon & Rhee 2016). Σε ποσοστό πάνω από 1% περιέχονται τα συστατικά Linalool (2,03%) b-Bisabolene (1,52 %), Camphene (1,5 %), a-Myrcene (1,32 %), a-Terpinene (1,31 %), 1,8-Cineole (1,03 %), και ορισμένα σύμφωνα με τη βιβλιογραφία εκφράζουν πιθανή αντιμυκητική δράση. Το συστατικό Borneol (7,04%) είναι ικανό να παρουσιάσει αντιμυκητική δράση στην ανάπτυξη των *A. fumigatus* και *E. floccosum* προκαλώντας stress στο κυτταρικό τοίχωμα (Su Yeon Lee et al., 2012). Τα Caryophyllene (4,86%) και Caryophyllene oxide (2,59 %) έχουν επίσης δοκιμαστεί ως αντιμυκητικοί παράγοντες (Yang et al., 1999), το 1-Octen-3-ol (2,15 %) αναστέλλει τη μυκηλιακή ανάπτυξη και τη βλάστηση των σπορίων στα *F. tricinctum* και *F. oxysporum* και για αυτό το λόγο είναι ικανό να παρουσιάσει πιθανές εφαρμογές στον έλεγχο παθογόνων παραγόντων (Chuan Xiong et al., 2017) και το Terpinene-4-ol (1,05%) έχει παρουσιάσει αντιμυκητική δράση στο παθογόνο *C. posadasii* (Brilhante et al., 2016).

Στις βιοδοκιμές το αιθέριο έλαιο του *S. borvatii* ssp. *macrophylla* επέδρασε σημαντικά στη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων μέχρι και την 8η ημέρα. Η ελάχιστη συγκέντρωση (MIC) του αιθέριου ελαίου *S. borvatii* ssp. *macrophylla* που αναστέλλει πλήρως τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *A. alternata* (ποσότητα 5  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο) υπολογίστηκε σε: 87.5  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα, ενώ του *F. solani* (ποσότητα 3  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο) ήταν μικρότερη: 52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα, Η δράση του αιθέριου ελαίου στις ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν μυκοστατική και για τα δύο φυτοπαθγόνα.

#### 4.2.2.3. Αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου *O. vulgare* subsp. *hirtum*

Ός το κυρίαρχο συστατικό των αιθέριων ελαίων της Ελληνικής ρίγανης (*O. vulgare* subsp. *hirtum*) παρουσιάζεται συνήθως η καρβακρόλη και στη συνέχεια η θυμόλη (Marin et al., 2011). Η αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου είναι ισχυρή, όταν η περιεκτικότητα σε καρβακρόλη είναι υψηλή (Colin et al., 1989). Η σημαντική αντιμυκητική δραστηριότητα σε φυτοπαθγόνα όταν η καρβακρόλη και η θυμόλη βρίσκονται σε υψηλή περιεκτικότητα (Muller-Riebau et al., 1995). Κατά συνέπεια, η υψηλή περιεκτικότητα σε θυμόλη και καρβακρόλη μπορεί να αντιπροσωπεύει την υψηλή αντιμυκητική δράση του *O. vulgare* subsp. *hirtum* (Adam et al., 1998).

Στην ανάλυση του αιθέριου ελαίου του *O. vulgare* subsp. *hirtum* που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές ταυτοποιήθηκαν 31 συστατικά (Υφαντή 2014), από τα οποία οι οξυγονωμένοι τερπενικοί υδατάνθρακες αποτελούν το 78,56% του αιθέριου ελαίου, οι μονοτερπενικοί υδατάνθρακες το 17,21 %, οι σεσκιτερπενικοί υδρογονάνθρακες το (2,99 %), τα οξυγονωμένα σεσκιτερπένια το 0,4 % του αιθέριου ελαίου. Κύριο συστατικό αποτελεί η οξυγονωμένη μονοτερπενική φαινόλη καρβακρόλη (63,99%), γεγονός το οποίο σχετίζεται με την αντιμυκητική δράση των αιθέριων ελαίων του (Muller-Riebau et al., 1995 · Adam et al., 1998), ενώ σε μικρότερο ποσοστό περιέχεται η θυμόλη (12,17 %). Το σύνολο των δύο φαινολών ανέρχεται σε ποσοστό 76,16%. Τα συστατικά που απαντώνται στο αιθέριο έλαιο σε ποσοστό κοντά στο 5% όπως των: p-Cymene (5,4 %) g-Terpinene (5,27 %), παρουσιάζουν αντιμυκητικές δράσεις (Adam et al., 1998) και ένα ενδεχόμενο είναι ότι μπορεί να υποβοηθούν την δράση αυτή της καρβακρόλης συνεργιστικά (Martino et al., 2009). Επιπλέον υπάρχουν συστατικά που βρίσκονται σε μικρότερο ποσοστό κοντά στο 1% όπως το Caryophyllene 1,92 % και το a- Myrcene (1,68 %), ενώ το a-Terpinene (1,63 %) έχει αναφερθεί

επίσης σε μελέτες για τις βιολογικές του δράσεις (Orman & Deans 2000). Η α-Thujene (1,19 %) όπως σχολιάστηκε και για τις θουγιόνες του αιθέριου ελαίου του *S. triloba*, αποτελεί δυνητικά τοξικό παράγοντα, όμως στη προκειμένη περίπτωση βρίσκεται σε πολύ χαμηλή περιεκτικότητα, συγκρινόμενη με τη περιεκτικότητα του κυρίαρχου συστατικού που είναι η καρβακρόλη.

Στις βιοδοκιμές το αιθέριο έλαιο του *D. vulgare* subsp. *hirtum* επέδρασε σημαντικά στη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων μέχρι και την 8η ημέρα. Η ελάχιστη συγκέντρωση (MIC) του αιθέριου ελαίου *D. vulgare* subsp. *hirtum* που αναστέλλει πλήρως τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *A. alternata* (ποσότητα 3  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο) υπολογίστηκε σε: 52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα, ενώ του *F. solani* (ποσότητα 2  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο) ήταν μικρότερη: 34.9  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα, με διαφορά η οποία είναι πιθανόν να οφείλεται στον διαφορετικό ρυθμό ανάπτυξης των δύο μυκήτων. Η δράση του αιθέριου ελαίου στις ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν μυκοστατική και για τα δύο φυτοπαθογόνα.

#### 4.2.2.4. Αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου *C. capitatus*

Στις δημοσιευμένες μελέτες που αφορούν τη χημική σύσταση του αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* φαίνεται να προσδιορίζονται κυρίως δύο χημειότυποι, ένας με κυρίαρχο συστατικό την καρβακρόλη και ένας με κυρίαρχο τη θυμόλη (Lassaad et al., 2005 · Marin et al., 2011), συστατικά τα οποία σε υψηλή περιεκτικότητα αφορούν την αντιμικροβιακή δράση του αιθέριου ελαίου του (Bouayad Alam et al., 2013). Συγκρίνοντας τα στοιχεία της βιβλιογραφίας που αφορούν την ανάλυση του αιθέριου ελαίου του Ελληνικού *C. capitatus* έχει περιεκτικότητα 81,5% καρβακρόλη (Karrouhtsis et al., 1998), ενώ το Τουρκικό είδος παρουσιάζει περιεκτικότητα σε καρβακρόλη μόνο 35,6%. Άλλες ενώσεις στα ελληνικά είδη αναφέρθηκαν ως p-cymene (6,4%),  $\gamma$ -terpinene (2,2%) και θυμόλη (1,5%). Η διαφορά αυτή είναι πολύ σημαντική, καθώς και τα δύο είδη καλλιεργούνται στις δύο πλευρές του Αιγαίου, ενώ το ποσοστό χημικής σύνθεσης των φυτών διαφέρει αρκετά (Goren et al., 2003).

Στην ανάλυση του αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές, ταυτοποιήθηκαν 24 συστατικά (Yfanti et al., 2018), από τα οποία, οι οξυγονωμένοι τερπενικοί υδατάνθρακες (8 συστατικά) αποτελούν το 79,05% του αιθέριου ελαίου, οι μονοτερπενικοί υδατάνθρακες (11 συστατικά) το 15,92 %, οι sesquiterπενικοί υδρογονάνθρακες (3 συστατικά) το (4,41 %) και 0,63% διάφορα συστατικά (2 συστατικά). Το σύνολο των δύο φαινολών ανέρχεται σε ποσοστό (75,22 %) με υψηλή περιεκτικότητα σε καρβακρόλη (74,78 %) ενώ σε θυμόλη (0,44 %). Σε χαμηλότερη περιεκτικότητα βρίσκονται τα p-Cymene (6,40 %), g-Terpinene (4,20 %) τα οποία σύμφωνα με την επιλεγμένη βιβλιογραφία φαίνεται συνήθως να απαντώνται σε περιεκτικότητα κοντά στο 5-10% (Karrouhtsis et al., 1998 · Bouayad Alam et al., 2013), γεγονός το οποίο μπορεί να ενισχύει την αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου σε φυτοπαθογόνους μύκητες όπως τα *Fusarium oxysporum* και *Alternaria solani* (Bouayad Alam et al., 2013). Τα συστατικά που περιέχονται στο αιθέριο έλαιο του *C. capitatus* κοντά στο 1% Caryophyllene (4,07 %),  $\alpha$ -Myrcene (1,48 %),  $\alpha$ -Terpinene (1,58 %), Linalool (1,09 %), Borneol (1,13 %) όπως και πολλά άλλα συστατικά, είναι πιθανό να παρουσιάζουν συνεργιστική δράση σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα (Karrouhtsis et al., 1998).

Στις βιοδοκιμές το αιθέριο έλαιο του *C. capitatus* επέδρασε σημαντικά στη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθογόνων μέχρι και την 8η ημέρα. Η ελάχιστη συγκέντρωση

(MIC) του αιθέριου ελαίου *C. capitatus* που αναστέλλει πλήρως τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *A. alternata* (ποσότητα 3  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο) υπολογίστηκε σε: 52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα, ενώ του *F. solani* (ποσότητα 2  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο) ήταν μικρότερη: 34.9  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα, με διαφορά που πιθανόν να οφείλεται στον διαφορετικό ρυθμό ανάπτυξης των δύο μυκήτων. Η δράση του αιθέριου ελαίου στις ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν μυκοστατική και για τα δύο φυτοπαθγόνα.

#### 4.2.2.5. Αντιμυκωτική δράση της καρβακρόλης

Ήδη έχει παρουσιαστεί από βιβλιογραφικά δεδομένα η σημαντική αντιμυκωτική δράση της καρβακρόλης, που είτε συμμετέχει ως κυρίαρχο συστατικό σε αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών (Neri et al., 2010 · Marin et al., 2011 · Κατσιώτης & Χατζοπούλου 2013 · Haloc I et al., 2014 · Yfanti et al., 2015 · Fereshteh Jafari et al., 2016 · Υφαντή κ.ά., 2019) είτε χρησιμοποιείται ως μεμονωμένος αντιμικροβιακός παράγοντας σε πειράματα (Juven et al. 1994 · Ultee et al., 2000 · Burt et al., 2007 · Vieuna et al., 2009) και το αποτέλεσμα αυτό επιβεβαιώνεται από τις βιοδοκιμές που πραγματοποιήθηκαν με τους φυτοπαθγόνους μύκητες *Fusarium solani* και *Alternaria alternata*. Αυξανόμενης της καρβακρόλης, η MIC των αιθέριων ελαίων μειώνεται (Υφαντή κ.ά., 2019).

Στις βιοδοκιμές η καρβακρόλη που χρησιμοποιήθηκε, επέδρασε σημαντικά στη μυκηλιακή ανάπτυξη των φυτοπαθγόνων μέχρι και την 8η ημέρα. Η ελάχιστη συγκέντρωση (MIC) της καρβακρόλης που αναστέλλει πλήρως τη μυκηλιακή ανάπτυξη του μύκητα *A. alternata* (ποσότητα 3  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο) υπολογίστηκε σε: 52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα, ενώ του *F. solani* (ποσότητα 2  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο) ήταν μικρότερη σε: 34.9  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα. Η δράση της καρβακρόλης στις ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν, ήταν μυκοστατική για το *A. alternata* ενώ για το *F. solani* ήταν μυκοστατική στις ποσότητες 2-3-4  $\mu\text{L}$  και μυκοτοξική στις ποσότητες 5-6-7  $\mu\text{L}$ .

Σύμφωνα με βιβλιογραφικά δεδομένα βιοδοκιμές έχουν αποδείξει ότι η μυκοτοξικότητα της καρβακρόλης ή των αιθέριων ελαίων υψηλής περιεκτικότητας σε καρβακρόλη έναντι παθογόνων μυκήτων εδάφους που προκαλούν ασθένειες όπως τα *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum* και *Phytophthora capsici*, οφείλεται στις διαφορετικές συγκεντρώσεις του φαινολικού κλάσματος (Muller-Riebau et al., 1995).

Η καρβακρόλη φαίνεται να έχει παραπάνω από μια απλή επίδραση στην αναστολή των μυκήτων. Αυτό το συμπέρασμα αντλείται από τη μυκητοτοξικότητα που έχουν παρουσιάσει τα αιθέρια έλαια ρίγανης, θυμαριού και δίκταμου, στην αντιμυκωτική τους δράση στο *Penicillium digitatum*, όπου της ρίγανης και του θυμαριού απέδεδξαν υψηλότερη μυκοτοξικότητα σε σύγκριση με του δικτάμου, λόγω της μεγαλύτερης περιεκτικότητας τους σε θυμόλη και καρβακρόλη (Daferera et al., 2003).

### 4.3. Περαιτέρω έρευνα – προτάσεις

Η εμφάνιση ανθεκτικών φυτοπαθογόνων στελεχών από τη μη ορθολογική και αλόγιστη χρήση ορισμένων συνθετικών μυκητοκτόνων (Stange & Eckert 1994), που επιφυλάσσουν κινδύνους για την υγεία και το περιβάλλον, δημιουργεί την ανάγκη εξερεύνησης του πεδίου των εναλλακτικών φυτοπροστατευτικών ουσιών. Τα αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών παρέχουν ένα ευρύ φάσμα εφαρμογών στην πρόληψη των μετασυλλεκτικών σήψεων των καρπών, γεγονός το οποίο στρέφει το ενδιαφέρον στη μελέτη των πτητικών τους ενώσεων.

#### 4.3.1. *Salvia triloba*

Όσον αφορά τα συστατικά του αιθέριου ελαίου του *S. triloba* που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές, ανήκει στο χημειότυπο 1,8 cineole (20,3 %) ενώ έχει χαμηλή περιεκτικότητα σε α-Thujone 4% και b- Thujone 1,9%, γεγονός το οποίο αποτελεί συγκριτικό πλεονέκτημα σε σχέση με άλλα αιθέρια έλαια *Salvia spp.*, στην έρευνα των αντιμυκωτικών δράσεων και δημιουργεί την ανάγκη για περαιτέρω μελέτη:

- Της συνεργιστικής δράσης της 1,8 κινεόλης μαζί με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες ή/και με ανταγωνιστές μύκητες σε φυτοπαθογόνα.
- Της αντιμυκωτικής δράσης των θουγιόνων.

#### 4.3.2. Αιθέρια έλαια με χημειότυπο: Καρβακρόλη

##### 4.3.2.1. *Satureja horvatii ssp. macrophylla*

Το *S. horvatii ssp. macrophylla* που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές, είναι γνωστό τη τελευταία δεκαετία ως ενδημικό υποείδος και παρουσιάζει ορισμένες διαφορές στη περιεκτικότητα σε καρβακρόλη και θυμόλη μεταξύ των υποειδών του και επομένως ενδιαφέρουσες βιολογικές δράσεις, γεγονός το οποίο δημιουργεί την ανάγκη για περαιτέρω μελέτη:

- Των βιοδραστικών συστατικών του ως αντιμυκωτικοί παράγοντες.
- Της πιθανής συνεργιστικής δράσης που μπορεί να εκφράσει με άλλους αντιμικροβιακούς παράγοντες.
- Της αντιβακτηριακής του δράσης.

#### 4.3.2.2. *Coridothymus capitatus* και *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*

Και τα δύο αιθέρια έλαια παρουσίασαν υψηλή περιεκτικότητα σε καρβακρόλη και αξιοσημείωτη αντιμυκητική δράση στα φυτοπαθογόνα. Η αντιμυκητική δράση του αιθέριου ελαίου του *C. capitatus* στις βιοδοκιμές ήταν η σημαντικότερη από του *O. vulgare* subsp. *hirtum* αλλά και από όλα τα άλλα, ενώ η υψηλή του περιεκτικότητα σε καρβακρόλη (74,78 %) δημιουργεί την ανάγκη για περαιτέρω μελέτη:

- Της *in vivo* μετασυλλεκτικής εφαρμογής του για τη προστασία των καρπών εμπορικής σημαντικών φυτικών ειδών λόγω του μικρού χρονικού διαστήματος μεταξύ συγκομιδής-κατανάλωσης και της απαίτησης των καταναλωτών για ασφαλή τρόφιμα.
- Της αξιοποίησης του ως εναλλακτική λύση στην αντιμετώπιση εδαφογενών φυτοπαθογόνων
- Της αντιβακτηριακής του δράσης
- Την αξιοποίηση του ως αντιμικροβιακό παράγοντα σε συσκευασίες τροφίμων.
- Την αξιολόγηση της τοξικότητας της καρβακρόλης παρουσία της θυμόλης.

#### 4.3.2.3. Η μυκοτοξικότητα της καρβακρόλης και των πτητικών ενώσεων ως πεδίο έρευνας:

Οι διαφορετικές επιδράσεις μεταξύ των επεμβάσεων με αιθέρια έλαια, εξαρτώνται από τις μυκοτοξικές ιδιότητες των κυρίαρχων συστατικών τους και από τη πιθανή συνέργεια που μπορούν να παρουσιάσουν. Αυτό επίσης σημαίνει ότι είναι χρήσιμο να μελετηθούν οι πιθανές φυτοτοξικές επιδράσεις των αιθέριων ελαίων (*Lopez-Reyes et al., 2010*).

Η μυκοτοξικότητα σε ορισμένες ποσότητες ίσως θέτει μια νέα δυνατότητα των αιθέριων ελαίων αρωματικών φυτών ως φυσικά μυκητοκτόνα που προσεγγίζουν ρεαλιστικά το επίπεδο αποτελεσματικότητας των συμβατικών μυκητοκτόνων (εξαρτάται από τη περιεκτικότητα σε καρβακρόλη και θυμόλη), με τη διαφορά ότι τα φυσικά μυκητοκτόνα δεν θα παρουσιάζουν τις δυσμενείς επιδράσεις των συμβατικών μη εκλεκτικών μυκητοκτόνων, όπως τη τοξικότητα σε οργανισμούς μη στόχους και στο περιβάλλον (*Muller-Riebau et al., 1995*).

#### 4.4. Συμπεράσματα

Σύμφωνα με την επιλεγμένη βιβλιογραφία τα αιθέρια έλαια στα οποία κυρίαρχα συστατικά είναι η οξυγονωμένη μονοτερπενική φαινόλη καρβακρόλη, όπως τα *Coridothymus Capitatus*, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* και *Satureja horvatii* ssp., *macrophylla*, παρουσιάζουν ενδιαφέρουσα επίδραση στη μυκηλιακή ανάπτυξη φυτοπαθογόνων που προκαλούν μετασυλλεκτικές σήψεις όπως τα *Fusarium* sp. (Υφαντή κ.ά., 2019 · Kadaglidou et al., 2011) και *A. alternata* (Feng et al., 2011).

Το αιθέριο έλαιο του *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, με κύριο συστατικό τη καρβακρόλη (47,31 %), ενώ τη θυμόλη σε μικρότερο ποσοστό (3,03 %), ανέστειλε τη μυκηλιακή ανάπτυξη του *F. solani* στη ποσότητα των 3  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (MIC: 52.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα) και του *A. alternata* στη ποσότητα των 5  $\mu\text{L}$  / τρυβλίο (MIC: 87.4  $\mu\text{L L}^{-1}$  αέρα).

Η αντιμυκητική δράση των αιθέριων ελαίων χαρακτηρίστηκε ως μυκοστατική σε όλες τις ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν και για τα δύο φυτοπαθογόνα. Η αντιμυκητική δράση της καρβακρόλης, χαρακτηρίστηκε για το *F. solani* ως μυκοστατική στις ποσότητες 2-3-4  $\mu\text{L}$  και ως μυκοτοξική στις ποσότητες 5-6-7  $\mu\text{L}$  ενώ για το *A. alternata* ως μυκοστατική σε όλες τις ποσότητες που χρησιμοποιήθηκαν.

Αντίθετα το αιθέριο έλαιο *Salvia triloba* όπου κύρια συστατικά του αποτελούν τα οξυγονωμένα μονοτερπένια 1,8 cineole (20,3 %) και Camphor (9,6 %), δεν ανέστειλε πλήρως την μυκηλιακή ανάπτυξη επιδρώντας κατά δοσοεξαρτώμενο τρόπο στους φυτοπαθογόνους μύκητες *A. alternata* (EC50: 43  $\mu\text{L}$ ) και *F. solani* (EC50: 27  $\mu\text{L}$ ).

Στη μυκηλιακή ανάπτυξη και των δύο φυτοπαθογόνων η αντιμυκητική δράση της καρβακρόλης και των αιθέριων ελαίων πλούσιων σε καρβακρόλη, ήταν αποτελεσματικότερη από το χημειότυπο 1,8 κινεόλη του *S. triloba*. Η καρβακρόλη και οι πτητικές ενώσεις όλων των αιθέριων ελαίων, παρουσίασαν υψηλότερη ανάσχεση της μυκηλιακής ανάπτυξης του *F. solani* σε σύγκριση με του *A. alternata*.

Εκτιμώντας τα προηγούμενα δεδομένα, η αντιμυκητική δράση των αιθέριων ελαίων ήταν σημαντικότερη στο φυτοπαθογόνο μύκητα *F. solani* σε σύγκριση με το *A. alternata*.

Όπως προκύπτει από τη μελέτη της βιβλιογραφίας και από τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών, η αντιμυκητική δράση που παρουσιάζεται από τα αιθέρια έλαια *C. capitatus*, *O. vulgare* subsp. *hirtum* και *S. horvatii* ssp. *macrophylla*, φαίνεται να είναι ανάλογη της περιεκτικότητας τους σε καρβακρόλη και σε θυμόλη, ενώ τα περισσότερα από τα υπόλοιπα συστατικά που περιέχονται στα συγκεκριμένα αιθέρια έλαια σε ποσοστό μεγαλύτερο του 1%, είναι πιθανό να διαδραματίζουν κάποιο συνεργιστικό ρόλο στην αντιμυκητική δράση της καρβακρόλης ή/και στο σύνολο των φαινολικών συστατικών.





## **ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ:**

Υπολογισμοί EC50

*Fusarium solani* :

*Salvia triloba* - ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ: EC50

Conc. (μL)	Log (C%)	Βιωσιμότητα (%)	Θνησιμότητα (%)	Prop, p	Corr, p	Logit (P)	Probit, (P)	
0		100	0	0,00				
1	0,00	98	2	0,02				
5	0,70	92	8	0,08	0,08	-2,40	3,62	
10	1,00	87	13	0,13	0,14	-1,86	3,90	
15	1,18	77	23	0,23	0,23	-1,19	4,27	
20	1,30	67	33	0,33	0,33	-0,71	4,56	
						<i>slope:</i>	2,79	1,55
						<i>intercept:</i>	-4,46	2,47
						<i>test value</i>	0	5
						<i>Log (C%):</i>	1,60	1,63
						<i>EC50:</i>	39	43

*Alternaria alternata* :

*Salvia triloba* - ΥΠΟΛΟΓΙΣΜΟΣ: EC50

Conc. (μL)	Log (C%)	Βιωσιμότητα (%)	Θνησιμότητα (%)	Prop, p	Corr, p	Logit (P)	Probit, (P)	
0		100	0	0,00				
1	0,00	94	6	0,06				
5	0,70	75	25	0,25	0,26	-1,07	4,34	
10	1,00	62	38	0,38	0,38	-0,48	4,70	
15	1,18	59	41	0,41	0,41	-0,36	4,78	
20	1,30	56	44	0,44	0,44	-0,23	4,86	
						<i>slope:</i>	1,40	0,85
						<i>intercept:</i>	-1,99	3,78
						<i>test value</i>	0	5
						<i>Log (C%):</i>	1,43	1,43
						<i>EC50:</i>	27	27

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

### **ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΠΗΓΕΣ:**

**Adam G., Wiesenberger G., Güldener U., 2015.** Fusarium Mycotoxins and Their Role In Plant-Pathogen Interactions. In: Zeilinger S., Martín JF., García-Estrada C. (eds) Biosynthesis and Molecular Genetics of Fungal Secondary Metabolites, Volume 2. Fungal Biology. Springer, New York, NY.

**Adam K., Sivropoulou A., Kokkini S., Lanaras T., and Arsenakis M., 1998.** Antifungal Activities of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum*, *Mentha spicata*, *Lavandula angustifolia*, and *Salvia fruticosa* Essential Oils against Human Pathogenic Fungi. *J. Agric. Food Chem.* 1998, 46, 1739–1745.

**Adams S., Kunz B., & Weidenböcker M., 1996.** Mycelial Deformations of *Cladosporium herbarum* due to the Application of Eugenol or Carvacrol, *Journal of Essential Oil Research*, 8:5, 535-540.

**Adorjan B., Buchbauer G., 2010.** Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25, 407–426.

**Agrios G.N., 2005.** Chapter 11-Plant diseases caused by fungi. In: Agrios, G.N. (ed.) *Plant Pathology*, 5th ed. Academic Press, San Diego.

**Ahmad A., Khan A., Akhtar F., Yousuf S., Xess I., Khan L.A., Manzoor N., 2011.** Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 30, 41-50.

**Angelini L.G., Carpanese G., Cioni P.L., Morelli I, Macchia M., Flamini G., 2003.** Essential Oils from Mediterranean Lamiaceae as Weed Germination Inhibitors. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 6158-6164.

**Angioni A., Barra A., Coroneo V., Dessi S., Cabras P., 2006.** Chemical composition, seasonal variability, and antifungal activity of *Lavandula stoechas* L. ssp. *stoechas* essential oils from stem/leaves and flowers. *J. Agric. Food Chem.* 54, 4364–4370.

**Arras G. and Grella G.E., 1992.** Wild thyme, *Thymus capitatus*, essential oil seasonal-changes and antimycotic activity. *Journal of horticultural science* 67, 197-202.

**Arras G. and Usai M., 2001.** Fungitoxic activity of 12 essential oils against postharvest citrus pathogens: Chemical analysis of *Thymus capitatus* oil and its effect in subatmospheric pressure conditions. *Journal of food protection* 64,1025-1029.

**Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D., Idaomar M., 2007.** Biological effects of essential oils – A review, *Food and Chemical Toxicology* 46 (2008) 446–475.

**Bampidis V., Christodoulou V., Florou-Paneri P., Christaki E., Spais A., Chatzopoulou P., 2005.** Effect of dietary dried oregano leaves supplementation on performance and carcass characteristics of growing lambs. *Animal Feed Science and Technology*, 121, 285-295.

**Belletti N., Kamdem S.S., Tabanelli G., Lanciotti R., Gardini F., 2010.** Modeling of combined effects of citral, linalool and  $\beta$ -pinene used against *Saccharomyces cerevisiae* in citrus-based beverages subjected to a mild heat treatment. *International Journal of Food Microbiology* 136 (2010) 283–289.

- Benchaar C., Calsamiglia S., Chaves A.V., Fraser G.R., Colombatto D., McAllister T.A., Beauchemin K.A., 2008.** A review of plant-derived essential oils in ruminant nutrition and production. *Animal Feed Science and Technology* 145 (2008) 209-228.
- Bevino A., Peggion V., Chiarini L., Tabacchioni S., Cantale C., Dalmastrì C., 2005.** Effect of *Fusarium verticillioides* on maize-root-associated *Burkholderia cenocepacia* populations. *Res Microbiol.* 2005 Dec;156(10):974-83. Epub 2005 Jul 18.
- Bezić N., Dunkić V. and Vuko E., 2013.** Antiphytoviral Activity of Essential Oils of Some Lamiaceae Species and Their Most Important Compounds on CMV and TMV. *Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education* (A. Méndez-Vilas, Ed.).
- Bhalla Y., Gupta V. K. and Jaitak V., 2013.** Anticancer activity of essential oils: a review. *J. Sci.Food Agric.*, 93: 3643–3653. doi:10.1002/jsfa.6267
- Bishop C.D., and Cooper R.M., 1983a.** An ultrastructural study of vascular colonization in 3 vascular wilt diseases: 1. Colonization of susceptible cultivars. *Physiological Plant Pathology* 23. 323-44.
- Bishop C.D., and Cooper R.M., 1983b.** An ultrastructural study of root invasion in three vascular wilt diseases. *Physiological Plant Pathology*, Vol., 22, Issue 1, 1983, Pages 15-27, IN1-IN13.
- Bottalico A., and Logrieco A., 1998.** Toxicogenic *Alternaria* species of economic importance. In *Mycotoxins in Agriculture*, eds K.K. Sinha and D. Bhatnagar. New York: Marcel Dekker. pp. 65–108.
- Bouayad Alam S., Gaouar Benyelles N., El Amine Dib M., Djabou N., Tabti L., Paolini J., Muselli A., Costa J., 2013.** Antifungal activity of essential oils of three aromatic plants from western Algeria against five fungal pathogens of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) *Journal of Applied Botany and Food Quality* 87, 56 - 61 (2014).
- Brian P.W., Elson G.W., Hemming H.G. and Wright J.M., 1952.** The phytotoxic properties of alternaric acid in relation to the etiology of plant diseases caused by *Alternaria solani* (Ell. & Mart.) Jones & Grout. *Annals of Applied Biology* 39: 308-321
- Brilhante R.S., Caetano É.P., Lima R.A., Marques F.J., Castelo-Branco D.S., Melo C.V., Guedes G.M., Oliveira J.S., Camargo Z.P., Moreira J.L., Monteiro A.J., Bandeira T.J., Cordeiro R.A., Rocha M.F., Sidrim J.J., 2016.** Terpinen-4-ol, tyrosol, and  $\beta$ -lapachone as potential antifungals against dimorphic fungi. *Braz. J. Microbiol.* vol.47 no.4 São Paulo Oct./Dec. 2016.
- Buchanan B. B., Gruissem W., & Jones R. L., 2000.** *Biochemistry & molecular biology of plants.* Rockville, Md.: American Society of Plant Physiologists.
- Burt S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* (94): 223-253.
- Bush R.K., and Prochnau J.J., 2004.** *Alternaria*-induced asthma. *Allergy Clin Immunol.*2004;113(2):227-34.
- Carnat, A.B., Carnat, D., & Lamaison, J.-L. 1998.** The aromatic and polyphenolic compositions of lemon balm (*Melissa officinalis* L. *subsp. officinalis*) tea. *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, 72, 301–305.
- Chinou I., 2005.** Labdanes of natural origin-Biological activities (1981-2004). *Curr. Med. Chem.*12:1295-1317.

- Chuan Xiong, Qiang Li, Shuhong Li, Cheng Chen, Zuqin Chen and Wenli Huang, 2017. In vitro Antimicrobial Activities and Mechanism of 1-Octen-3-ol against Food-related Bacteria and Pathogenic Fungi. *Journal of Oleo Science* 2017.
- Clark C.A., Hoy M.W., and Nelson P.E., 1995. Variation among isolates of *Fusarium lateritium* from sweetpotato for pathogenicity and vegetative compatibility. *Phytopathology* 85:624-629.
- Colin M.E., J. Ducos de Lahitte, Larribau E., Boue T., 1989. Activity of essential oils of Labiateae on *Ascosphaera apis* and treatment of an apiary *Apidologie* 20 (3): 221-228.
- Conolly, J.D. & Hill, R. 2007. Triterpenoids. *Natural Product Reports*, 2, 465-486.
- Cuvelier, M.-E., Richard H., Berset C., 1996. Antioxidative activity and phenolic composition of pilotplant and commercial extracts of sage and rosemary. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73, 645-652.
- Daferera D.J., Ziogas B.N., Polissiou M.G., 2000. GS-MS Analysis of Essential Oils from Some Greek Aromatic Plants and Their Fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. *J. Agric. Food Chem.*, 48, 2576-2581.
- Daferera, D.J., Ziogas, B.N., Polissiou, M.G. 2003. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium* sp. and *Clavibacter michiganensis subsp. Michiganensis* *Crop Protection*, 22, 39-44.
- Damjanovic-Vratnica B., Perovic A., Šukovic D. and Perovic S., 2011. Effect of vegetation cycle on chemical content and antibacterial activity of *Satureja montana* L. *Arch. Biol. Sci., Belgrade*, 63 (4), 1173-1179, 2011.
- Dardioti A., Hanlidou E., Lanaras T. and Kokkini S., 2010. The essential oils of the Greek endemic *Satureja horvatii ssp. macrophylla* in relation to bioclimate. *Chem. Biodivers.* 7:1968-1977.
- Das M.L., and Anima H., 1968. Influence of *Rhizopus nigricans* on the development of *Alternaria solani*. *Phytopathology* 63: 40-46.
- De Oliveira T. L. C., de Araújo Soares R., Ramos E. M., das Graças Cardoso M., Alves E., Piccoli R. H., 2011. Antimicrobial activity of *Satureja montana* L., essential oil against *Clostridium perfringens* type A inoculated in mortadella-type sausages formulated with different levels of sodium nitrite. *Int. J. Food Microbiol.* 144, 546–555. 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.11.022
- Desjardins A.E., and Hohn T.M., 1997. Mycotoxins in Plant Pathogenesis. *Molecular Plant-Microbe Interactions* Vol. 10, No. 2, 1997, pp. 147–152. Publication no. M-1997-0109-010. The American Phytopathological Society.
- Dhima K.V., Vasiakoglou I.B., Gatsis Th.D., Panou-Philotheou, E., Eleftherochorinos I., 2009. Effects of aromatic Plants incorporated as green manure on weed and maize development. *Field Crops Research*, 110, 235-241.
- Di Pietro A., García-MacEira F.I., Méglecz E., Roncero M.I., 2001. A MAP kinase of the vascular wilt fungus *Fusarium oxysporum* is essential for root penetration and pathogenesis. *Mol Microbiol.* 2001 Mar;39(5):1140-52.
- Dorman H.J.D., and Deans, S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology* 88, 308 – 316.

- Edris E.A., 2007.** Pharmaceutical & Therapeutic Potentials of Essential Oils and Their Individual Volatile Constituents: A review. Review Article in *Phytotherapy Research* 21, 803-323.
- Ellis M.B., and Gibson I.A.S., 1975.** *Alternaria solani*. CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No 475. Commonwealth Mycological Institute Kew, Surrey, UK.
- El-Mogy M. M., Alsanusi B. W., 2012.** Cassia oil for controlling plant and human pathogens on fresh strawberries. *Food Control* 28, 157–162. 10.1016/j.foodcont.2012.04.036
- Entela Haloc I., Toska V., Baldissierotto A., Goci E., Vertuani S., Manfredini S., 2014.** Evaluation of antifungal activity of *Satureja montana* essential oil before and after inclusion in beta-cyclodextrine. *Int J Pharmacy Pharm Sci*, 6 (2014), pp. 189-191.
- Fahn, A. 1982.** Plant anatomy (3rd ed.), Pergamon Press, Oxford, New York.
- Farzaneh M., Ahmadzadeh M., Hadian J., Tehrani A.S., 2006.** Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of three species of *Artemisia* on some soil-borne phytopathogens. *Commun. Agric. Appl. Biol Sci.*, 2006;71(3 Pt B):1327-33.
- Fe Andrés M., González, Coloma A., Sanz J., Burillo J., Sainz P., 2012.** Nematicidal activity of essential oils: a review. *Phytochemistry Reviews*, Volume 11, 371-390.
- Feng W., Chen J., Zheng X., , Liu Q., 2011.** Thyme oil to control *Alternaria alternata* in vitro and in vivo as fumigant and contact treatments. *Food Control*, 22, 78–81.
- Ferdes M., and Ungureanu C., 2012.** Antimicrobial activity of essential oils against four food – born fungal strains. *U.P.B. Sci. Bull., Series B*, 74, 87-98.
- Fereshteh Jafari, Fatemeh Ghavidei, Mohammad M. Zarshenas, 2016.** A Critical Overview on the Pharmacological and Clinical Aspects of Popular *Satureja* Species. *Journal of Acupuncture and Meridian Studies. J Acupunct Meridian Stud* 2016; 9 (3) : 118-127.
- Finney D.J., 1947.** Probit analysis: a statistical treatment of the sigmoid response curve. Cambridge: Cambridge University Press, 1947. 256 p., University of Oxford, Oxford, England.
- Fraternali D., Giamperi L, Bucchini A., Ricci D., Epifano F., Genovese S., and Curni M., 2007.** Chemical composition and antifungal activity of the essential oil of *Satureja montana* from Central Italy. *Chemistry of Natural Compounds*, Vol. 43, No. 5, 2007.
- Gooch J.W., 2011.** Essential Oils. In *Encyclopedic Dictionary of Polymers (Second Edition)* (Editor-in-Chief: Shahidi F., ed) Springer Science+Business Media.
- Gören A.G, Bilsel G., Bilsel M., & Demir H., and Kocabaş E.E., 2003.** Analysis of Essential Oil of *Coridothymus capitatus* (L.) and Its Antibacterial and Antifungal Activity. *Zeitschrift für Naturforschung. C, Journal of biosciences*. 58. 687-90. 10.1515/znc-2003-9-1016.
- Güllüce M., Sökmen M., Daferera D., Açar G., Ozkan H., Kartal N., Polissiou M., Sökmen A., Sahin F., 2003.** In vitro antibacterial, antifungal, and antioxidant activities of the essential oil and methanol extracts of herbal parts and callus cultures of *Satureja hortensis* L. *J Agric Food Chem*. 2003 Jul 2;51(14):3958-65.
- Haloc I E., Toska V., Baldissierotto A., Goci E., Vertuani S., Manfredini S., 2014.** Evaluation of antifungal activity of *Satureja montana* essential oil before and after inclusion in Beta-Cyclodextrine. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, [S.I.], p. 189-191.
- Harbone, J.B., & Williams, C.A., 2000.** Advances in flavonoid research since 1992. *Phytochemistry*, 55, 481-504.

**Harbone, J.B., 1998.** In *Phytochemical Methods. A guide to modern techniques of plant analysis.* Chapman & Hall, 3rd edition.

**Harborne J.B. 1990.** Role of secondary metabolites In chemical defense mechanisms in plants. *Plant secondary metabolites bioactivity. Bioactive compounds from plants. Ciba Foundation Symposium 154,* 126-139.

**Harvala G., Menounos, P., and Argyriadou N., 1987.** Essential Oil from *Salvia triloba*, *Fitoterapia*, 58, 353-356 (1987).

**Haslam E. 1986.** Secondary metabolism – Fact or fiction. *Natural Product Reports*, 3, 323-344.

**Hedge I.C., 1982.** *Salvia* Linnaeus, In: Davls PH (ed), *Flora of Turkey and the East Aegean islands*, vol. 7. Edinburgh University Press, Edinburgh, pp. 188-192.

**Holenstein J.E. and Stoessl A., 1983.** Metabolites of *Alternaria solani*, Part IX: Phytotoxicity of Altersolanol A. *Phytopathologische Zeitschrift* 108: 143-147.

**Holopainen K.J., 2004.** Multiple functions of inducible plant volatiles. *TRENDS in Plant Science*, Vol 9, 11, 529-533.

**Hong, J., 2011.** Role of natural product diversity in chemical biology. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 15, 350-354.

**Inouye S., Tsuruoka T., Watanabe M., Takeo K., Akao M., Nishiyama Y., Yamaguchi H. 2000.** Inhibitory effect of essential oils on apical growth of *Aspergillus fumigatus* by vapour contact. *Mycoses* 43, 17-23.

**Isman M.B., 2000.** Plant Essential Oils as Green Pesticides for Pest and Disease Management. *Crop Protection* 19, 603-608.

**Juven B.J., Kanner J., Schved F., Weisslowicz H., 1994.** Factors that teract with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J. of Applied Bacteriology* 76, 626-631.

**Kadoglidou K., Lagopodi A., Karamanoli K., Vokou D., Bardas G.A., Menexes G., and Constantinidou H.I.A., 2011.** Inhibitory and stimulatory effects of essential oils and individual monoterpenoids on growth and sporulation of four soil-borne fungal isoates of *Aspergillus terreus*, *Fusarium oxysporum*, *Penicillium expansum* and *Verticillium dahliae*. *Eur. J. Plant Pathol.* 130:297-309.

**Karamanoli K., Vokou D., Menkissoglu U. & Constantinidou H.I., 2000.** Bacterial colonization of phyllosphere of mediteranean aromatic plants. *Journal of chemical ecology* 26, 2035-2048.

**Karousou R., Vokou D., Kokkini S., 1998.** Variation of *Salvia fruticosa* essential oils on the island of Crete (Greece). *Bot Acta.* 111: 250-254.

**Karpouhtsis I., Pardali E., Feggou E., Kokkini S., Scouras Z. G., and Mavragani-Tsipidou P., 1998.** Insecticidal and genotoxic activities of oregano essential oils. *J. Agric. Food. Chem.* 46, 1111-1115.

**Katsiotis S., and Iconomou N.J., 1984.** Qualltative and quantitative comparative gas liquid chromatographic analysis of the essential oil of *Salvia triloba* grown in Greece. *Pharm Acta Helv.* 59, 29.

**Kintzios S., 2000.** Sage. The genus *Salvia*. Medicinal and aromatic plants-industrial profiles. *Hardwood academic publshers*, 14, 252.



- Kirk P.M., Cannon P.F., Minter D.W., J.A., 2008.** Dictionary of the Fungi. 10th ed. Wallingford, GB: CABI Publishing; 2008.
- Kohmoto K., Itoh Y., Shimomura N., Kondoh Y., Otani H., Kodama N., Nishimura S., and Nakatsuka S., 1993.** Isolation and biological activities of two host- specific toxins from the tangerine pathotype of *Alternaria alternata*. *Phytopathology*, 83: 495- 502.
- Kokkini S., Karousou R., Vokou D., 1994.** Pattern of geographic variation of *Origanum vulgare* trichomes and essential content in Greece. *Biochemical Systematics and Ecology* 22, (5), 517-528.
- Koroch A.R., Juliani H.R., Zygodlo J.A. 2007.** Bioactivity of Essential Oils and Their Components. *Flavours and Fragrances*, pp 87-115.
- Kuang-Ren Chung 2012.** Stress Response and Pathogenicity of the Necrotrophic Fungal Pathogen *Alternaria alternata*. *Scientifica*, 2012, 10.6064/2012/635431.
- Kurita N., Miyaji M., Kurane R., and Takahara Y., 1981.** Antifungal Activity of Components of Essential Oils. *Agric. Biol. Chem.*, 45 (4), 945-952, 1981.
- Kwon-Chung K.J., Bennett J.E., Medical Mycology.** 2nd ed. Philadelphia and London: Lea & Febiger; 1992.
- Lachenmeier D.W., and Uebelacker M., 2010.** Risk assessment of thujone in foods and medicines containing sage and wormwood--evidence for a need of regulatory changes? *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 2010 Dec; 58 (3) : 437-43.
- Lahlou M., 2004.** Essential oils and fragrance compounds: bioactivity and mechanisms of action. *Flavour Fragr. J.*, 19:159-165.
- Laird K., and Phillips C., 2011.** Vapour phase: a potential future use of essential oils as antimicrobials? *Lettres in Applied Microbiology* 54, 169-174.
- Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P.J., Nychas G.J.E., 2001.** A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology* 91:453-462.
- Lampronti I., Saab A.M., and Gambari R., 2006.** Antiproliferative activity of essential oils derived from plants belonging to the Magnoliophyta division. *International Journal of Oncology* 29: 989-995, 2006 989.
- Langer R., Mechtler C.H., and Jurenitsch J., 1996.** Phytochemical Analysis. Composition of the Essential Oils of Commercial Samples of *Salvia officinalis* L. and *S. fruticosa* Miller: A Comparison of Oils Obtained by Extraction and Steam Distillation, *Phytochemical Analysis*, 7, 289-293 (1996).
- Langsdorf G., Furuichi N., Doke N. and Nishimura S., 1990.** Investigations on *Alternaria solani* infections: Detection of alternaric acid and a susceptibility inducing factor in the spore-germination fluid of *Alternaria solani*. *Journal of Phytopathology* 128: 271-282.
- Lassaad H., Romdhane M., Planche H., and Abderrabba M., 2005.** Towards gas chromatography-mass spectrometry coupling protocols for both identifying and quantification essential oils of *Thymus capitatus* Hoff et Link. *Journal of chromatography A* 1064,129-134.
- Lattaoui N., and Tantaoui- Elaraki A., 1994.** Individual and combined antibacterial activity of the main components of three thyme essential oils. *Rivista Italiana EPPOS* 13, 13-9.

- Lemanceau P., and Alabouvette C., 1991. Biological control of fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*. *Crop Protection* Volume 10, Issue 4, August 1991, Pages 279-286.
- Liolios C.C., Graikou K., Skaltsa E., & Chinou I., 2010. Dittany of Crete: a botanical and ethnopharmacological review. *J. Ethnopharmacol.* 131(2):229-41.
- Logrieco A., Bottalico A., Mule G., Moretti A., and Perrone G., 2003. Epidemiology of toxigenic fungi and their associated mycotoxins for some Mediterranean crops. *European Journal of Plant Pathology* 109: 645–667.
- Lopez-Reyes G.J., Spadaro D., Lodovica Gullino M., Garibaldia A., 2010. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples in vivo. *Flavour Fragr. J.* 2010, 25, 171–177.
- Marasas W.F.O., Nelson, P.E., and Toussoun T.A., 1984. Toxigenic *Fusarium* Species: Identity and Mycotoxicology. The Pennsylvania State University Press, University Park, PA.
- Marin M., Novaković M., Tešević V., Vučković I., Milojević N., Vuković-Gačića B., and Marina P.D., 2011. Antioxidative, antibacterial and antifungal activity of the essential oil of wild-growing *Satureja montana* L. from Dalmatia, Croatia. *Flavour and Fragrance Journal.* 2012, 27, 216-223. 2012 John Wiley & Sons, Ltd.
- Martinez R.M., Jordan M.J., Quilez M., Sotomayor J.A., 2005. Effects of edaphoclimatic conditions on *Thymus hyemalis* L. essential oil yield and composition *J. Essent. Oil Res.*, 17,614-618.
- Martino L., De Feo V., Formisano C., Mignola E., and Senatore F., 2009. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from Three Chemotypes of *Origanum vulgare* L. ssp. *hirtum* (Link) Letswaart Growing Wild in Campania (Southern Italy). *Molecules* 2009, 14, 2735-2746; doi:10.3390/molecules14082735.
- Marzi V., 1996. Agricultural practices for oregano. In *Proceedings of the IPGRI International Workshop on Oregano 8-12 May 1996*, CIHEAM, Valenzano, Bari, Italy- Editor S. Padulosi.
- Masotti, V., Juteau, F., Bessière, J.M., Viano, J., 2003. Seasonal and phenological variations of the essential oil from the narrow endemic species *Artemisia malinieri* and its biological activities. *J. Agric. Food Chem.* 51, 7115–7121.
- Mihajilov-Krstev T., Radnović D., Kitić D., Stankov Jovanović V., Mitić V., Stojanović-Radić Z., Zlatković B., 2014. Chemical composition, antimicrobial, antioxidative and anticholinesterase activity of *Satureja montana* L. ssp. *montana* essential oil. *Cent. Eur. J. Biol.* • 9(7) • 2014 • 668-677.
- Miladi H., Zmantar T., Kouidhi B., Al Qurashi Y.M.A., Bakhrouf A., Chaabouni Y., Mahdouani K., Chaieb K., 2017. Synergistic effect of eugenol, carvacrol, thymol, p-cymene and  $\gamma$ -terpinene on inhibition of drug resistance and biofilm formation of oral bacteria. *Microb. Pathog.*, 2017 Nov ;112 : 156-163.
- Moon H., and Rhee M.S., 2016. Synergism between carvacrol or thymol increases the antimicrobial efficacy of soy sauce with no sensory impact. *International Journal of Food Microbiology* 217 (2016) 35–41.
- Muller-Riebau F., Berger B., Yegen O., 1995. Chemical composition and fungitoxic properties to phytopathogenic fungi of essential oils of selected aromatic plants growing wild in Turkey. *J. Agric. Food Chem.* 1995, 43, 2262-2266.

- Nagasaka A., Hara I., Imai Y., Uchikawa T., Yamauchi K., Suzuki S., 1985. Effect of fusaric acid (a dopamine beta-hydroxylase inhibitor) on phaeochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf)* 22(4):437–444.
- Neri F., Mari M., Brigati S., Bertolini P., 2010. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rot caused by fungi on four cultivars of apples in vivo. *Postharvest Biol. Technol.* 2009, 51, 425.
- Nikkhaha M., Hashemib M., Habibi Najafia M.B., Farhoosha R., 2017. Synergistic effects of some essential oils against fungal spoilage on pear fruit. *International Journal of Food Microbiology* 257 (2017) 285-294.
- Nishimura S., and Kohmoto K., 1983. Host specific toxins and chemical structures from *Alternaria* species. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 21: 87-116.
- Nishimura S., Vance C.P. and Doke N., 1987. Molecular Determinants of plant diseases. Japan Scientific Societies Press, Tokyo, Springer-Verlag, Berlin, 293 pp.
- Orved M., Haggblom P., and Soderhall K., 1988. Nitrogen inhibition of mycotoxin production by *Alternaria alternata*," *Applied and Environmental Microbiology*, vol.54, no.10, pp.2361–2364, 1988.
- Paster N., Juven B.J., Shaaya E., Menasherov M., Nitzan R., Weisslowicz H., Ravid U., 1995. Antifungal activity of oregano and thyme essential oils applied as fumigants against fungi attacking stored grain. *J. of Food Protection* 58 (1), 81-85.
- Pitt J.I., & Hocking A.D., 2009. *Fungi and Food Spoilage*. 3 rd ed. Springer
- Prakash V., 1990. *Leafy spices*. CRC Press, Inc, Boca Raton, Florida, USA.
- Pusztahelyi T., Holb I.J and Pócsi I., 2015. Secondary metabolites in fungus-plant interactions. *Frontiers in Plant Science* 2015; 6: 573.
- Rattanapitigorna P., Arakawab M., Tsuru M., 2006. Vanillin enhances the antifungal effect of plant essential oils against *Botrytis cinerea*. *International Journal of Aromatherapy Volume 16, Issues 3–4, 2006, Pages 193-198.*
- Rimando A.M., Porter J.K., 1999. Effects of fusarium mycotoxins on levels of serotonin, melatonin, and 5-hydroxytryptophan in pineal cell cultures. *Adv Exp Med Biol* 467:425–431.
- Rocha M.F., Sidrim J.J., 2016. Terpinen-4-ol, tyrosol, and  $\beta$ -lapachone as potential antifungals against dimorphic fungi. *Braz. J. Microbiol.*, 2016 Oct-Dec; 47(4): 917–924.
- Roh H.S., Lee B.H., Park C.G., 2013. Acaricidal and repellent effects of myrtacean essential oils and their major constituents against *Tetranychus urticae* (Tetranychidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*16, 245–249.
- Rota C., Carramiñana J.J., Burillo J., and Herrera A., 2004. In vitro Antimicrobial Activity of essential oils from aromatic plants against selected foodborne pathogens. *J. Food Prot.* 6:1092-1308.
- Rotem J., 1994. *The Genus Alternaria. Biology, Epidemiology and Pathogenicity* APS Press. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA. 313 pp.
- Rus C., Sumalan R.M., Alexa E., Copolovici D.M., Pop G., Botau D., 2015. Study on chemical composition and antifungal activity of essential oils obtained from representative species belonging to the Lamiaceae family. *Plant Soil Environ.* Vol. 61, 2015, No. 7: 297–302.

- Ruzicka, L., A. Eschenmoser and H. Heusser. 1953. The isoprene rule and the biogenesis of terpenic compounds. *Experientia* 9: 357-396.
- Samuelsson G., 1996. Φαρμακευτικά προϊόντα φυσικής προέλευσης. Εγχειρίδιο φαρμακογνωσίας. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 133-135.
- Scott P.M., 2001. Analysis of Agricultural Commodities and Foods for *Alternaria* Mycotoxins. *Journal of AOAC International*, Vol. 84, No. 6, 2001.
- Shoukamy M.A., Guebitz G.M., El- Katatny M.H.A., Shaban G.M., & Abdelzaher H.M.A., 2006. Antagonism of *Trichoderma* or *Gliocladium* Species on Two Phytopathogenic Species of *Fusarium*. *Journal of Natural Fibers*, Vol., 3, 2006 - Issue 2-3 Pages 1-17. Published online: 08 Oct 2008.
- Silva F.V., Martins A., Salta J., Neng N.R., Nogueira J.M., Mira D., Gaspar N., Justino J., Grosso C., Urieta J.S., Palavra A.M., Rauter A.P., 2009. Phytochemical profile and anticholinesterase and antimicrobial activities of supercritical versus conventional extracts of *Satureja montana*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57 (2009), pp. 11557-11563.
- Şimşek M., and Duman R., 2017. Investigation of Effect of 1,8-cineole on Antimicrobial Activity of *Chlorhexidine Gluconate*. *Pharmacognosy Res.* 2017 Jul-Sep; 9(3): 234–237.
- Skoula M., and Grayer R., 2004. Volatile oils of *Coridothymus capitatus*, *Satureja thymbra*, *Satureja spnosa* and *Thymbra calostachya* (Lamiaceae) from Crete. *Flavour and Fragrance Journal*. In press.
- Smith, R.L., Cohen, S.M., Doull, J., Feron, V.J., Goodman, J.I., Marnett, L.J., Portoghese, P.S., Waddell, W.J., Wagner, B.M., Hall, B.L., Higley, N.A., Lucas-Gavin, C., Adams, T.B., 2005. A procedure for the safety evaluation of natural flavor complexes used as ingredients in food: essential oils. *Food Chem. Toxicol.* 43, 345–363.
- Sorce, C., Lorenzi, R. and Ranalli, P. 1997. The effects of (S)-(+)-carvone treatments on seed potato tuber dormancy and sprouting. *Potato Res.* 40:155-161.
- Soylu E.M., Kurt Ş., Soylu S., 2010. In vitro and In vivo antifungal activities of essential oils of various plants against tomato gray mould disease agent *Botrytis cinera*. *International Journal of Food Microbiology*, 143, 183-189.
- Soylu S., Yigitbas H., Soylu E.M, Kurt Ş., 2007. Antifungal effects of essential oils from oregano and fennel on *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal of Applied Microbiology*, 103, 1021-1030.
- Stahl-Biskup E. & F. Saez, 2002. The genus thyme. *Medicinal and aromatic plants – industrial profiles*, 24, Taylor & Francis, 2, 75.
- Stammatl A, Bonsi P, Zucco F, Moezelaar R, Alakomi HL, von Wright A. 1999. Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays. *Food chem. Toxicol.*, 37, 813-23.
- Stange R.R., and Eckert J.W., 1994. Influence of postharvest handling and surfactants on control of green mold of lemons by curing. *Phytopathology*, 84, 612 – 616.
- Stavropoulou A., Loulakakis, K. Magan N., & Tzortzakis N., 2014. *Origanum dictamnus* oil vapour suppresses the development of grey mould in eggplant fruit in vitro. *Biomed Research International*, Article ID 562679, 2014:11.

- Su J.F., Lee Y.C., Chen C.W. Hsieh T.F., 2010. Sheath and root rot of phalaenopsis caused by *Fusarium solani*. Proc., 1st International Orchid Symposium, Acta Hort. 878, 389-394, ISHS 2010.
- Su Yeon Lee ,Seon Hong Kim, Chang Young Hong, Mi-Jin Parkb and In-Gyu Choia, 2012. Effects of (-)-borneol on the growth and morphology of *Aspergillus fumigatus* and *Epidermophyton floccosom*. Flavor and Fragrance Journal Flavour Fragr. J. 2013, 28, 129–134.
- Sung-Sook Chun, Dhiraj A. Vatter, Yuan-Tong Lin, Kalidas Shetty, 2005. Phenolic antioxidants from clonal oregano (*Origanum vulgare*) with antimicrobial activity against *Helicobacter pylori*. Process Biochemistry, Volume 40, Issue 2, February 2005, Pages 809-816.
- Thomma B.P.H.J., 2003. Alternaria spp.: from general saprophyte to specific parasite. Molecular Plant Pathology, vol.4, no.4, pp. 225–236, 2003.
- Tong T., Schneir, A.B., Williams, S.R., Ly, B.T., Richardson, W.R., 2003. Sage tea related convulsions in a pediatric patient. J. Toxicol. Clin. Toxicol. 41, 727–728.
- Trifan A., Aprotosoia A.N., Brebu M., Cioanca O., Gille E., Hancianu M., Miron A., 2015. Chemical composition and antioxidant of essential oil rom Romanian *Satureja montana* L. FARMACIA, 2015, Vol. 63, 3.
- Tworkoski T., 2002. Herbicide effects of essential oils. Weed Science. Physiology, cbemistry and biochemistry, 50, 425-431.
- Tzortzakis N., G., 2009. Essential oil: Innovative tool to improve the preservation of fresh produce-a review. Fresh Produce. Global Science Books, 3:87-97.
- Ultee A., Bennik M.H.J., Moezelaar R., 2002. The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen *Bacillus cereus*. Applied and Environmental Microbiology, 68: 1561-1568.
- Ultee A., Kets E.P.W., Alberda M., Hoekstra F.A., Smid E.J., 2000. daptation of the food-borne pathogen *Bacillus cereus* to carvacrol. Archives of Microbiology 174 (4), 233-238.
- Usano-Aleman J., Herraiz-Peñalver D., Cuadrado J., Díaz S., Santa-Cruz M., & Palá-Paúl J., 2013. Seasonal Variation of the Essential Oils of *Salvia lavandulifolia*: Antlbacterial Activity. Pages 195-203
- Velluti A., Sanchis V., Bamos A.J., Marin S., 2004. Effect of essential oils of cinnamon, clove, lemon grass, oregano and palmarosa on growth of and fumonisin B1 production by *Fusarium verticillioides* in maize. J. Sci. Food Agric., 84, 1141-1146
- Vicuna G.C., Stashenko E.E., Fuentes J.L., 2009. Chemical composition of the Lippia organoides essential oils and their antigenotoxicity against bleomysic-Induced DNA damage. Fitoterapia.
- Vitoratos A., Bilalis D., Karkanis A., Efthimidou A., 2013. Antifungal Activity of Plant Essential Oils Against *Botrytis cinerea*, *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. Not Bot Horti Agrobi, 2013, 41(1):86-92.
- Wharton P., Hammerschmidt R. and Kirk W., 2007. Fusarium dry rot. Michigan potato diseases. Extension bulletin · E-2992 · New · May 2007. Department of Plant Pathology, Michigan State University.
- Yamasaki K., Nakano M., Kawahata T., Mori H., Otake T., Ueda N., Oishi I., Inami R., Yamane M., Nakamura M., Murata H., Nakanishi T., 1998. Anti-HIV-1 activity of herbs in Labiatae. Biol Pharm Bull., 21 (8) 829-833 (1998).

**Yang D., Michel L., Chaumont J.P., Millet-Clerc J., 1999.** Use of caryophyllene oxide as an antifungal agent in an in vitro experimental model of onychomycosis. *Mycopathologia* 1999 Nov ; 148 (2) :79-82.

**Yfanti P., Batistatou A., Manos G., Lekka M.E., 2015.** The Aromatic Plant *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla* Induces Apoptosis and Cell Death to the A549 Cancer Cell Line. *American Journal of Plant Sciences* Vol.6 No.13, August 2015.

**Yfanti P., Leneti E., Patakioutas G., Douma D., Lekka M. E., 2018.** Qualitative composition of volatile constituents in three wild grown species of aromatic plants commercially known as Oregano. 30th International Symposium on the Chemistry of Natural Products & 10th International Congress on Biodiversity 25-29 November, Athens, Greece.

**Zambonelli A., Zechini D'Aulerio A., Bianchi A., and Albasini A., 1996.** Effects of Essential Oils on Phytopathogenic Fungi In Vitro. *Phytopathol.*, 144, 491 (1996).

**Zareii B., Seyfi T, Movahedi R., Cheraghi J., Ebrahimi S., 2014.** Antibacterial effects of plant extracts of *Alcea digitata* L., *Satureja bachtiarica* L. and *Ferulago angulata* L. *J Babol Univ Med Sci.* 2014; 16: 31-37.

**Zhou D., Wang Z., Li M., Xing M., Xian T., Tu K., 2018.** Carvacrol and eugenol effectively inhibit *Rhizopus stolonifera* and control postharvest soft rot decay in peaches. *J. Appl. Microbiol.* 2018, 124, 166–178.

**Zhou H.,, Tao N.,, Jia L., 2014.** Antifungal activity of citral, octanal and  $\alpha$ -terpineol against *Geotrichum citri-aurantii*. *Food Control* Vol. 37, March 2014, Pages 277-283.

## ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ:

Γαρδέλη Χ., 2009.. Μελέτη της χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων ορισμένων αρωματικών φυτών της Ελληνικής χλωρίδας. Διδακτορική Διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

Δαρδιώτη Α., 2005. Βιοσυστηματική μελέτη της ομάδας *Satureja montana* L. στην Ελλάδα. Διδακτορική διατριβή. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Τμήμα Βιολογίας, Τομέας Βοτανικής

Καβαδάς .Σ., 1956. Εικονογραφημένον Βοτανικόν Φυτολογικόν Λεξικόν. Αθήναι, σ. 245-249.

Κανέλης, Α. 2005. Ρύθμιση βιοσύνθεσης δευτερογενών μεταβολιτών – Εφαρμογές της μεταβολικής μηχανικής και λειτουργικής γονιδιωματικής στη φαρμακογνωσία. Εφαρμοσμένη Φαρμακογνωσία II. Εκδόσεις ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

Καρανίσα Θ., Ακουμιανάκης Κ., Αλεξόπουλος Α., Καραπάνος Ι., 2016. Επίδραση της μετασυλλεκτικής εφαρμογής πτητικών ουσιών στο λήθαργο και στην αποθήκευση κονδύλων πατάτας από βοτανικό σπόρο (TPS). Πρακτικά 27ου Συνεδρίου της ΕΕΕΟ 2016 Τόμος 17(B). Βόλος 2016.

Καράταγλης Σ., 1999. Φυσιολογία φυτών. Εκδόσεις Art of text. Τρίτη έκδοση. Θεσσαλονίκη. Σελ., 365-427

Καράταγλης ΣΤ.Σ., Κωνσταντίνου Μ.Κ. 2005. Βοτανική Μορφολογία Ανατομία. Εκδόσεις Χάρις Ε.Π.Ε. - Θεσσαλονίκη 2005. Σελ. 136-141.

Κατσιώτης Σ., & Χατζοπούλου Π., 2013. Αρωματικά φαρμακευτικά φυτά και αιθέρια έλαια. Β' Έκδοση. Εκδόσεις: Αδελφών Κυριακίδη, Θεσσαλονίκη. Σελ. 254, 256, 258, 550-551, 555-556, 650-670, 799-820, 875-893.

Κονταξάκης Ε., Λυδάκης Δ., Σταυροπούλου Α., Φυσαράκης Ι., Magan N., 2016. Επίδραση πέντε αιθέριων ελαίων στην ανάπτυξη του μύκητα *Aspergillus carbonarius*. Πρακτικά 27ου Συνεδρίου της ΕΕΕΟ 2016 Τόμος 17(B). Βόλος 2016.

Κουτσός Θ.Β., 2006. Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά. Πρώτη έκδοση. Βοτανική ταξινόμηση: Οικολογία: Καλλιεργητικές οδηγίες: Χρήσεις: Αναφορά στη βιολογική και βιοδυναμική γεωργία. Θεσσαλονίκη. Εκδόσεις ΖΗΤΗ, 2006: σελ. 249-258, 265-268.

Κωφίδης Γ., 2004. Εποχιακές μεταβολές στη δομή, φωτοσύνθεση και τα αιθέρια έλαια των αρωματικών φυτών κατά την υψομετρική διαβάθμιση του Παγκαίου. Διδακτορική διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη.

Μαλούπα Ε., Γρηγοριάδου Κ., Λάζαρη Δ., Κρίγκας Ν., 2013. Καλλιέργεια, Μεταποίηση και Διασφάλιση Ποιότητας των Ελληνικών Αρωματικών-Φαρμακευτικών Φυτών: Βασικές Αρχές Καθετοποιημένης Παραγωγής. ΓΕΩΤ.Ε.Ε. Παράρτημα Ανατ. Μακεδονίας. Καβάλα 2013.

Μιχελάκης κ.ά., 1997. Η επίδραση της φασκομηλιάς (*Salvia sp.*) στην αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών. Φαρμακευτικά και Αρωματικά Φυτά. Ζ' Τριήμερο Εργασίας. Κύπρος, Παραλίμνι, 21-25 Μαρτίου.

Μοναστηριώτη Μ., 2003. Ο ρόλος του νευροδιαβιβαστή / νευρορμόνη Οκτοπαμίνη στον έλεγχο ωοαπόθεσης των εντόμων. 10ο Πανελλήνιο Εντομολογικό συνέδριο, Ηράκλειο, Περιλήψεις.

**Μπαθρέλλου Κ., & Σταύρου Π., 2007.** Ταξινόμηση, κατανομή και αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών στους τύπους οικοτόπων της περιοχής Νότιας Μάνης, όρους Σαγγιά και Ακρωτηρίου Ταινάρου. Μεταπτυχιακή διατριβή. Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα Βιολογίας. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

**Μπούρμπος Β., Σκουντριδάκης Μ., Δαράκης Γ., 1997.** Τα φυτικά αιθέρια έλαια στην αντιμετώπιση των ασθενειών των φυτών. Φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά. Ζ' τριήμερο εργασίας. Πολιτιστικό Τεχνολογικό Ίδρυμα ΕΤΒΑ, Κύπρος. Σελ. 496-506.

**Παναγόπουλος Χ.Γ., 2000.** Ασθένειες τομάτας, μελιτζάνας, πιπεριάς και μπάμιας. Ασθένειες Κηπευτικών Καλλιεργειών. Εκδόσεις Α. Σταμούλης, Αθήνα, σελ. 15-189.

**Παρασκευάκης Ν., 2014.** Επίδραση των αιθέριων ελαίων της ρίγανης στα ζυμωτικά φαινόμενα και στη γαλακτοπαραγωγή αιγών. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

**Πολυσίου Μ., 2002.** Επενδυτικές δυνατότητες στον τομέα αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών στην Ελλάδα, Υ.Ε.Ο., Γ.Π.Α., Αθήνα.

**Ραγκούση-Ιγνατιάδου Β., 1998.** Χημεία Φυσικών Προϊόντων, Τμήμα Φαρμακευτικής, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα.

**Σκρούμπης Β., 1998.** Αρωματικά, φαρμακευτικά και μελισσοτροφικά φυτά της Ελλάδας. Αγροτύπος. Σελ. 23-28.

**Σταυροπούλου Α., Καλοτεράκης Ν., Χριστουλάκη Μ., Γκούμας Δ., Τζωρτζάκης Ν., Λουλακάκης Κ., 2016.** Επίδραση αιθέριου ελαίου από δίκταμο στην ανάπτυξη του μύκητα *Botrytis cinera* μετασυλλεκτικά σε καρπούς πιπεριάς. Πρακτικά 27ου Συνέδριου της ΕΕΕΟ 2016 Τόμος 17(Β). Βόλος 2016.

**Στεφανάκη-Νικηφοράκη Μ., 1999.** Συστηματική Βοτανική (Τόμος: Α') Αγγειόσπερμα. Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε. – Αθήνα 1999. Σελ. 90-100.

**Τζάμος Ε., 2007.** Φυτοπαθολογία. Β' έκδοση. Εκδόσεις Σταμούλη Α.Ε. - Αθήνα 2007. Σελ.: 242-245.

**Τσαπικούνης Φ., 1996.** Βιολογική και Ολοκληρωμένη Καταπολέμηση στο Θερμοκήπιο. Εκδόσεις Α. Σταμούλης - Αθήνα 1996. Σελ. 191-204.

**Υφαντή Π., 2014.** Βιολογικές δράσεις αρωματικών-φαρμακευτικών φυτών. Διδακτορική διατριβή. Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων, Σχολή Θετικών Επιστημών, Τμήμα χημείας.

**Υφαντή Π., Ζήσης Κ., Μάνος Γ., Καριπίδης Χ., Λενέτη Ε., 2007.** Ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των αιθέριων ελαίων τεσσάρων αρωματικών φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* στη Νοτιοδυτική Ήπειρο. Πρακτικά 23ου Πανελληνίου Επιστημονικού Συνέδριου ΕΕΕΕΟ, Χανιά, 677-680.

**Υφαντή Π., Παπαβλασόπουλος Α., Ζήσης Κ., Μπαδέκα Α., Λενέτη Ε., Πατακιούτας Γ., & Μάνος Γ., 2005.** Επίδραση αιθέριου ελαίου του φυτού *Coridothymus capitatus* (L.) στην αφίδα των χρυσανθέμων *Macrosiphoniella sanborni* (Gillette) (Hemiptera: Aphididae), 11ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Καρδίτσα, σελ.144-148.

**Υφαντή Π., Πατακιούτας Γ., Λενέτη Ε., Ζήσης Κ., Μάνος Γ., Λέκκα Μ., 2015.** Επίδραση πτητικών ενώσεων του αρωματικού φυτού *Satureja horvatii* ssp. *macrophylla* σε δύο φυτοπαθογόνους μύκητες της τομάτας. 27ο Επιστημονικό Συνέδριο ΕΕΕΟ, Βόλος, σελ.183-187.



Υφαντή Π., Πατακιούτας Γ., Παπαντζίκος Β., Δούμα Δ., Λέκκα Μ.Ε., 2019. Επίδραση τριών αιθέριων ελαίων στη ανάπτυξη του φυτοπαθογόνου μύκητα *Fusarium sp.* 29ο Επιστημονικό Συνέδριο ΕΕΕΟ, Πάτρα 15-18 Οκτωβρίου, σελ.77.

Υφαντή Π., 2006. Επίδραση αιθέριου ελαίου του φυτού *Coridothymus capitatus* (L.) στην α φίδα των χρυσανθέμων *Macrosiphoniella sanborni* (Gillette). Μεταπτυχιακή διατριβή. Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών, Αγροχημεία - Βιολογικές καλλιέργειες, Ιωάννινα.

Χριστοδουλάκης Ν. Σ., 2011. Ανατομία φυτών "τα φυτά ένδοθεν". Εκδόσεις ΠΕΡΠΙΝΙΑ. Αθήνα. Σελ. 43, 44, 63, 66, 68, 200, 268.

#### ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΙ:

(ΕΟΚ) Κανονισμός αριθ. 2092/91 του Συμβουλίου της 24ης Ιουνίου 1991 περί του βιολογικού τρόπου παραγωγής γεωργικών προϊόντων και των σχετικών ενδείξεων στα γεωργικά προϊόντα και στα είδη διατροφής (ΕΕ L 198 της 22.7.1991, σ. 1).

#### ΥΠΟΥΡΓΙΚΕΣ ΑΠΟΦΑΣΕΙΣ:

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, 2008. «Χορήγηση οριστικής έγκρισης στο φυτοπροστατευτικό προϊόν (μυκητοκτόνο) ΗΥΜΕΧΑΖΟΛ ΥΨΙΛΟΝ 36 SL», Αριθ. πρωτ: 125376. Αθήνα. <http://www.minagric.gr/greek/data/HYMECHAZOL%20%CE%A5%CE%A8%CE%99%CE%9B%CE%9F%CE%9D%2036%20SL.pdf>

(ΥΠΑΑΤ) Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. Γενική Διεύθυνση Φυτικής Παραγωγής. Διεύθυνση Προστασίας Φυτικής Παραγωγής. ΟΔΗΓΙΕΣ ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗΣ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΣΤΗΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΤΗΣ ΒΙΟΜΗΧΑΝΙΚΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ. Σελίδες 30-31.

ΔΙΑΔΙΚΤΥΑΚΕΣ ΠΗΓΕΣ:

- <https://www.agric.wa.gov.au/potatoes/fusarium-dry-rot-potatoes>
- <http://www.nhmc.uoc.gr/el/museum/photo-archive/selection/images/nhmc.image.80941>
- <http://www.missouribotanicalgarden.org/PlantFinder/PlantFinderDetails.aspx?kempercode=q980>
- <http://votanokipos.com/index.php/2010-07-12-10-05-04/2011-09-08-16-19-17/209-2011-09-08-16-08-09>
- <http://www.uniprot.org/taxonomy/49988>
- <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound>
- <http://www.pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- <http://flora.org.il/plants/CORCAP/>
- <https://www.gardentags.com/profile/pinkladygaga/origanum-vulgare-subsp-hirtum-hot-and-spicy/396154>
- <https://seminis-us.com/resources/disease-guides/tomatoes/fruit-rots/>
- <http://robinsyard.blogspot.gr/2012/07/salvia-fruticosa.html>
- [https://cereals.ahdb.org.uk/cereal-disease-encyclopedia/diseases/fusarium-\(foot-rot,-seedling-blight,-ear-\(head\)-blight\).aspx](https://cereals.ahdb.org.uk/cereal-disease-encyclopedia/diseases/fusarium-(foot-rot,-seedling-blight,-ear-(head)-blight).aspx)
- <http://www.plantmanagementnetwork.org/elements/view.aspx?ID=4441>