



**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ  
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

**Τοξικότητα αιθέριων ελαίων από καρπούς των εσπεριδοειδών *Citrus sinensis* L.  
(πορτοκάλι) και *C. limon* L. (λεμόνι) στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *Planococcus ficus*  
(Hemiptera: Pseudococcidae)**

Πτυχιακή εργασία της σπουδάστριας

**Ελεάννα Τσώρα**

Καλαμάτα, Μάιος 2012

ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Α.Τ.Ε.Ι) ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Τοξικότητα αιθέριων ελαίων από καρπούς των εσπεριδοειδών *Citrus sinensis* L.  
(πορτοκάλι) και *C. limon* L. (λεμόνι) στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *Planococcus ficus*  
(Hemiptera: Pseudococcidae)

Εισηγητής: Δρ Σταθός Γεώργιος

Ελεάννα Τσώρα  
Καλαμάτα, Μάϊος 2012

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θέλω να εκφράσω τις ευχαριστίες μου στον καθηγητή μου κ. Γεώργιο Σταθά, Επίκουρο Καθηγητή του ΑΤΕΙ Καλαμάτας, και στην Δρα Φιλίτσα Καραμασούνα, Ερευνήτρια στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο για την αμέριστη βοήθεια τους με συμβουλές, παραινέσεις και υλικό, ώστε να καταστεί δυνατή η εκπόνηση της εργασίας αυτής.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τους Δρες Αντώνη Μιχαηλάκη και Δημήτριο Παπαχρήστο, Ερευνητές στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο για την πολύτιμη βοήθεια τους ιδιαίτερα με την στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων, και τον Δρα Αθανάσιο Κυμπάρη, Λέκτορα του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης, για την χημική ανάλυση των αιθέριων ελαίων που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές της πτυχιακής μελέτης.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες και προς τους συναδέλφους μου Παναγιώτα Παπατσάκωνα, Ρενάτα Τουφεξή και Ευφροσύνη Στράτου για την υποστήριξη και βοήθειά τους.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία αφορά στη μελέτη της επίδρασης των αιθέριων ελαίων καρπών εσπεριδοειδών, πορτοκάλι και λεμόνι, στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae).

Η εργασία αυτή αποτελείται από τρεις θεματικές ενότητες (κεφάλαια):

Το πρώτο κεφάλαιο αναφέρεται στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *P. ficus*.

Το δεύτερο κεφάλαιο αφορά στα αιθέρια έλαια και την εφαρμογή τους στη φυτοπροστασία από εντομολογικούς εχθρούς.

Τέλος το τρίτο κεφάλαιο παρουσιάζει το πείραμα που πραγματοποιήθηκε σε συνθήκες εργαστηρίου στο Μ.Φ.Ι. και εξετάζει την επίδραση αιθέριων ελαίων καρπών πορτοκαλιάς (*Citrus sinensis*) και λεμονιάς (*Citrus limon*) στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *P. ficus*.

Τα αποτελέσματα της πτυχιακής εργασίας είναι άξια δημοσίευσης. Έχουν ανακοινωθεί σε δύο Συνέδρια (Karamaouna et al. 2010, Καραμαούνα κ.α. 2010) και έχουν υποβληθεί σε συνδυασμό με σχετικά στοιχεία για άλλα αιθέρια έλαια από αρωματικά φυτά για δημοσίευση σε έγκριτο επιστημονικό περιοδικό (Karamaouna et al. 2012).

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1. Ο ψευδόκοκκος του αμπελιού <i>Planococcus ficus</i></b>	8
1.1 Καταγωγή- Εξάπλωση- Σημασία	8
1.2 Μορφολογία- Βιολογία	8
1.3 Ξενιστές- Ζημιές	9
1.4 Αντιμετώπιση	10
1.4.1 Χημική αντιμετώπιση	10
1.4.2 Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση	10
1.4.3 Βιολογική αντιμετώπιση	11
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2. Αιθήρια έλαια και φυτοπροστασία από εντομολογικούς εχθρούς</b>	12
2.1 Αιθήρια έλαια	12
2.2 Βιοσύνθεση και χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων	12
2.3 Παραλαβή των αιθέριων ελαίων	13
2.3.1 Μηχανική παραλαβή	13
2.3.2 Παραλαβή με απόσταξη	13
2.3.3 Παραλαβή με εκχύλιση	14
2.4. Αιθήρια έλαια εσπεριδοειδών	15
2.4.1 Αιθήρια έλαια από τους καρπούς των εσπεριδοειδών	16
2.4.2 Αιθήρια έλαια από τα άνθη των εσπεριδοειδών	16
2.4.3 Αιθήρια έλαια από τα φύλλα και τους βλαστούς των εσπεριδοειδών	16
2.5 Ρόλος των αιθέριων ελαίων	17
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3. Τοξικότητα αιθέριων ελαίων από καρπούς των εσπεριδοειδών <i>Citrus sinensis</i> L. (πορτοκάλι) και <i>C. limon</i> L. (λεμόνι) στον ψευδόκοκκο του αμπελιού <i>Planococcus ficus</i></b>	18
3.1 Εισαγωγή	18
3.2 Σκοπός του πειράματος	19
3.3 Υλικά και μέθοδοι	19
3.3.1 Εντομοτροφείο –Θάλαμος ανάπτυξης εντόμων	19
3.3.2 Κουτιά για την εκτροφή του ψευδόκοκκου	19
3.3.3 Φυτά ξενιστές-υποστρώματα	20
3.3.4 Λοιπός εξοπλισμός	20
3.3.5 Εκτροφή του ψευδόκοκκου <i>P. ficus</i>	20
3.3.6 Αιθήρια έλαια	22
3.3.7 Βιοδοκιμές	22
3.4 Πειραματικό σχέδιο και στατιστική ανάλυση	24
3.5 Αποτελέσματα	24
3.5.1 Χημική σύσταση αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού και λεμονιού	24
3.5.2 Δράση (LC <sub>50</sub> ) αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού και λεμονιού έναντι του <i>P. ficus</i>	24
3.5.3 Φυτοτοξικότητα αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού και λεμονιού στο αμπέλι	25

3.6 Συζήτηση αποτελεσμάτων

25

**ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**

28

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της εργασίας ήταν να προσδιοριστεί η τοξική δράση δύο αιθέριων ελαίων στον ψευδόκκοκο του αμπελιού *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae). Τα αιθέρια έλαια που δοκιμάστηκαν προέρχονταν από καρπούς των εσπεριδοειδών *Citrus sinensis* L. (πορτοκάλι) και *C. limon* L. (λεμόνι). Η παραλαβή των αιθέριων ελαίων από τους καρπούς έγινε με υδροαπόσταξη με συσκευή τύπου Clevenger και ακολούθησε ανάλυση για τον προσδιορισμό της σύστασής τους με αέρια χρωματογραφία – φασματομετρία μαζών (GC-MS). Η τοξικότητα των αιθέριων ελαίων στον ψευδόκκοκο του αμπελιού προσδιορίστηκε με βιοδοκιμές στο εργαστήριο σε άτομα από δύο κλάσεις μεγέθους, 1-1,5 mm και >1,5 mm, που περιλάμβαναν κυρίως νύμφες 3<sup>ης</sup> ηλικίας και ενήλικα θηλυκά πριν την ωοτοκία, αντίστοιχα. Ψευδόκοκκοι της ίδιας κλάσης μεγέθους (βιολογικού σταδίου) τοποθετούνταν σε φύλλα αμπελιού πάνω σε υπόστρωμα με άγαρ μέσα σε τριβλία Petri (9 cm) και ψεκάζονταν μέχρι απορροής με υδατικό διάλυμα (με γαλακτωματοποιητή), διαφόρων συγκεντρώσεων των αιθέριων ελαίων. Εικοσιτέσσερις ώρες μετά τον ψεκασμό γίνονταν μέτρηση της θνησιμότητας των εντόμων και ελέγχονταν τα ψεκασμένα φύλλα του αμπελιού για την παρουσία συμπτωμάτων φυτοτοξικότητας.

Τα αιθέρια έλαια από τους καρπούς των εσπεριδοειδών είχαν πολύ ισχυρή τοξική δράση έναντι του εντόμου με τιμές LC<sub>50</sub> που κυμαίνονταν μεταξύ 3 και 7 μl αιθέριου ελαίου/ml υδατικού διαλύματος ανάλογα με το είδος του αιθέριου ελαίου και το στάδιο ανάπτυξης του εντόμου. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών των LC<sub>50</sub> που υπολογίστηκαν για τις νύμφες 3<sup>ης</sup> ηλικίας και τα ενήλικα θηλυκά και για τα δύο αιθέρια έλαια. Επίσης δεν παρατηρήθηκαν συμπτώματα φυτοτοξικότητας στα φύλλα του αμπελιού σε καμία από τις δοκιμασθείσες συγκεντρώσεις. Τα αιθέρια έλαια που εξετάστηκαν φαίνεται να διαθέτουν ισχυρή εντομοκτόνο δράση έναντι του ψευδόκοκκου του αμπελιού. Απαιτείται επιπλέον πειραματισμός για να διευκρινιστεί η αποτελεσματικότητά τους σε συνθήκες αγρού καθώς και οι τυχόν δυσμενείς επιδράσεις που μπορεί να έχουν είτε στα πρέμνα του αμπελιού είτε στους φυσικούς εχθρούς του ψευδόκοκκου.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

### Ο ψευδόκοκκος του αμπελιού *Planococcus ficus*

#### 1.1 Καταγωγή-Εξάπλωση-Σημασία

Ο ψευδόκοκκος *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) έχει βρεθεί σε Μεσογειακές περιοχές της Ευρώπης, στην Βόρεια και Νότια Αφρική, Μέση Ανατολή, Αργεντινή, Μεξικό και Καλιφόρνια (<http://vinemealvbug.uckac.edu/VMB.htm>, Ηλεκτρονική βάση δεδομένων Scale Net). Στην Ιταλία είναι το πιο βλαβερό είδος ψευδόκοκκου στο αμπέλι (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003) και στην Καλιφόρνια αποτελεί μεγάλης οικονομικής σημασίας εντομολογικό εχθρό του αμπελιού όπου προκαλεί ζημιές στα επιτραπέζια και οινοποιήσιμα σταφύλια και τη σταφίδα (Daane and Bentley, 2000). Στη χώρα μας στο νομό Ηρακλείου Κρήτης, το *P. ficus* είναι το πιο συνηθισμένο είδος ψευδόκοκκου που προσβάλλει το αμπέλι (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003, Βαρίκου et al. 2010).

#### 1.2 Μορφολογία-Βιολογία

Το θηλυκό άτομο του ψευδόκοκκου του αμπελιού *P. ficus* είναι άπτερο όπως όλα τα θηλυκά κοκκοειδή. Έχει σώμα μαλακό, σακόμορφο, με σαφείς δακτυλίους που σκεπάζεται από λευκά- βαμβακώδη κέρνινα εκκρίματα. Το ενήλικο αρσενικό είναι καστανέρυθρο πτερωτό. Όλα τα βιολογικά στάδια του εντόμου είναι κινητά.

Ο ψευδόκοκκος *P. ficus* διακρίνεται εύκολα στα στάδια της νύμφης και του ενήλικου θηλυκού από άλλα είδη ψευδόκοκκων. Τα αρσενικά άτομα του *P. ficus* ξεχωρίζουν από άλλα είδη ψευδόκοκκων που ανήκουν σε άλλα γένη ενώ η διάκριση από το είδος *P. citri* (ίδιο γένος) δεν είναι δυνατή. Ο Tranfaglia (1981) δίνει μορφολογικά χαρακτηριστικά για τον διαχωρισμό του *P. ficus* από το *P. citri*.

Το έντομο έχει πολλές γενιές το χρόνο, που επικαλύπτονται. Τα θηλυκά μπορούν να εναποθέσουν περισσότερα από 500 ωά (κατά μέσο όρο περίπου 300 ωά/θηλυκό). Όλα τα βιολογικά στάδια ανάπτυξης του ψευδόκοκκου μπορεί να βρεθούν σε όλα τα φυτικά μέρη του πρέμνου δηλαδή στις ρίζες, τον κορμό κάτω από το φλοιό, τους βραχίονες, τους βλαστούς, τα φύλλα και τους βότρυες. Δεν υπάρχει στάδιο διάπαυσης γι' αυτό όλα τα στάδια ανάπτυξης συναντώνται καθόλη τη διάρκεια του έτους (Daane and Bentley 2000).



Κατά τους μήνες του χειμώνα τα ωά, οι νύμφες και τα ενήλικα μπορούν να βρεθούν κάτω από το φλοιό, μέσα στους αναπτυσσόμενους οφθαλμούς, και πάνω στις ρίζες. Καθώς οι θερμοκρασίες ανεβαίνουν την άνοιξη, η πυκνότητα του ψευδόκοκκου αυξάνεται και οι ψευδόκοκκοι μετακινούνται προς τους βραχίονες και τα υπέργεια μέρη του φυτού. Ο ψευδόκοκκος βρίσκεται σε όλα τα μέρη του αμπελιού συμπεριλαμβανομένων των φύλλων και των βοτρυών στο τέλος της άνοιξης και το καλοκαίρι. Λίγο μετά την συγκομιδή η πυκνότητα του ψευδόκοκκου μειώνεται. Αυτή η γενικευμένη βιολογία ισχύει για τους περισσότερους πληθυσμούς του ψευδόκοκκου, ωστόσο ποικίλει ελαφρά ανάλογα με την τοποθεσία και την ποικιλία (Daane and Bantley 2000).

### 1.3 Ξενιστές-Ζημιές

Ο ψευδόκοκκος *P. ficus* προσβάλλει το αμπέλι *Vitis vinifera* (Vitaceae), τη μηλιά *Malus domestica* (Rosaceae), τη συκιά *Ficus carica* (Moraceae), τη ροδιά *Punica granatum* (Punicaceae), το κακάο (*Theobroma* sp.), το αβοκάντο, τη χουρμαδιά, τον πλάτανο (*Platanus orientalis*) και διάφορα καλλωπιστικά όπως η πικροδάφνη *Nerium oleander* (Apocynaceae), ο φίκος ο βενιαμίν *F. benjamini*, η ντάλια *Dahlia* sp. κ.α.. Τρέφεται με όλα τα μέρη του φυτού ιδιαίτερα τις ρίζες και κάτω από το φλοιό όπου νύσσει και μυζά χυμό και καλύπτει με κηρώδη και μελιτώδη εκκρίματα. Η μύζηση χυμών εξασθενεί τα φυτά και σε μεγάλη πυκνότητα πληθυσμού έχει μεγάλη επίπτωση στη καρποφορία. Επίσης η ανάπτυξη καπνιάς στα μελιτώδη εκκρίματα του εντόμου υποβαθμίζει την ποιότητα των σταφυλιών (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003, Ηλεκτρονική βάση δεδομένων Scale Net).

Ο ψευδόκοκκος *P. ficus* είναι εν δυνάμει σοβαρός εχθρός του αμπελιού για πολλούς λόγους: α) βιολογικές παράμετροι όπως ο μεγάλος αριθμός ωών/θηλυκών και αριθμός γενιών/έτος ευνοούν την ραγδαία αύξηση του πληθυσμού του β) έχει μεγάλο φάσμα υποτροπικών και τροπικών καλλιεργούμενων φυτών ξενιστών αλλά και ζιζανίων ενώ φαίνεται να προτιμά το αμπέλι, γ) μπορεί να τρέφεται από όλα τα φυτικά μέρη καθ' όλη τη διάρκεια του έτους με τον διαχειμάζοντα πληθυσμό προφυλαγμένο κάτω από το φλοιό του πρέμνου ή στο έδαφος πάνω στις ρίζες, δ) εκκρίνει πολλά μελιτώδη εκκρίματα με επακόλουθη ανάπτυξη καπνιάς σε μεγάλο βαθμό και αποφύλλωση ε) είναι φορέας ιώσεων στο αμπέλι και στ) οι προφυλαγμένες θέσεις που βρίσκεται εγκατεστημένος ο ψευδόκοκκος τον προστατεύουν από τα περισσότερα εντομοκτόνα που εφαρμόζονται στο φύλλωμα, υψηλές θερμοκρασίες κατά το καλοκαίρι, τα παρασιτοειδή και άλλους φυσικούς εχθρούς (Daane and Bentley 2000).

## 1.4 Αντιμετώπιση

### 1.4.1 Χημική Αντιμετώπιση

Για τη χημική αντιμετώπιση του ψευδόκοκκου *P. ficus* συστήνονται δύο ψεκασμοί με θερινό ορυκτέλαιο ή άλλα κατάλληλα εντομοκτόνα στο μέγιστο της εκκόλαψης των νυμφών της 1<sup>ης</sup> και 2<sup>ης</sup> γενιάς και ένας χειμερινός ψεκασμός με χειμερινό ορυκτέλαιο ή θερινό ορυκτέλαιο μαζί με οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο, ή άλλο κατάλληλο εντομοκτόνο (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003).

Στις Η.Π.Α., τα προγράμματα χημικής καταπολέμησης του *P. ficus* περιλαμβάνουν οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα σε συνδυασμό με ένα διασυστηματικό εντομοκτόνο με την δραστική ουσία chloronicotinyλ ή/και ένα ρυθμιστή ανάπτυξης εντόμων (Daane et al. 2004).

Πολύ λίγα εντομοκτόνα (κυρίως ορυκτέλαια) έχουν έγκριση χρήσης κατά του *P. ficus* στο αμπέλι στην Ευρωπαϊκή Ένωση σήμερα, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων 2012, ΜΑΡΑ, ΜiΡΑΑF 2012).

### 1.4.2 Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση

Η καλύτερη μέθοδος για να αποφευχθεί η ζημιά από τον ψευδόκοκκο του αμπελιού *P. ficus* είναι η λήψη μέτρων προφύλαξης για να μην φτάσει ο ψευδόκοκκος στον αμπελώνα ή η χημική αντιμετώπιση του στην έναρξη της προσβολής.

Η παρακολούθηση του πληθυσμού του ψευδόκοκκου γίνεται με φερομονικές παγίδες (συνθετική φερομόνη φύλου που τα θηλυκά χρησιμοποιούν για να προσελκύσουν τα πτερωτά ενήλικα αρσενικά). Οι φερομονικές παγίδες είναι διαθέσιμες στο εμπόριο και συστήνεται να χρησιμοποιούνται σε πυκνότητα 2 παγίδες/80-160 στρ (η ακτίνα δράσης της φερομόνης υπολογίζεται στα 90 μέτρα). Οι φερομονικές παγίδες θα πρέπει να αναρτώνται πάνω από τους βραχίονες και κοντά στο κέντρο του πρέμνου και να ελέγχονται κάθε 2-4 εβδομάδες ανάλογα με την πυκνότητα του πληθυσμού του ψευδόκοκκου και την ευαισθησία της ποικιλίας. Η φερομόνη πρέπει να αλλάζεται τουλάχιστον κάθε 4-8 εβδομάδες. Συνήθως σε ένα προσβεβλημένο από ψευδόκοκκο αμπελώνα βρίσκονται 20-300 αρσενικά ανά παγίδα ανά εβδομάδα (Daane and Bentley 2000, Μιχαλόπουλος κ.α. 2005).

Για τον εντοπισμό νέας προσβολής είναι απαραίτητη η οπτική παρατήρηση η οποία είναι επίπονη καθώς το έντομο βρίσκεται κρυμμένο κάτω από το φλοιό ή στο έδαφος (ρίζες). Η παρουσία μυρμηγκιών που «περιφρουρούν» τον ψευδόκοκκο, μελιτώδους εκκρίματος ή η εικόνα «βρεγμένου φλοιού» και κηρώδους εκκρίματος στο πρέμνο υποδηλώνει προσβολή από τον ψευδόκοκκο.

### 1.4.3 Βιολογική Αντιμετώπιση

Τα κυριότερα παρασιτοειδή και αρπακτικά έντομα που έχουν αναφερθεί ως φυσικοί εχθροί ή έχουν χρησιμοποιηθεί για την βιολογική αντιμετώπιση του ψευδόκοκκου του αμπελιού *P. ficus* είναι τα παρασιτοειδή *Anagyrus pseudococci* και *Leptomastidea abnormis* (Hymenoptera: Encyrtidae) και τα αρπακτικά *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae). Το ποσοστό παρασιτισμού στην Καλιφόρνια μπορεί να φτάσει το 80% του ψευδόκοκκου αλλά ο παρασιτισμός σε άτομα του ψευδόκοκκου που βρίσκονται στις ρίζες και κάτω από το φλοιό είναι χαμηλός (Daane 2000).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### Αιθέρια έλαια και φυτοπροστασία από εντομολογικούς εχθρούς

#### 2.1 Αιθέρια έλαια

Τα αιθέρια έλαια είναι μίγματα από πτητικές ουσίες οι οποίες δίνουν στα διάφορα φυτά συγκεκριμένες φαρμακευτικές ιδιότητες και το χαρακτηριστικό τους άρωμα (<http://www.etherio.gr/definitios.htm>).

Τα φυτά παράγουν αιθέρια έλαια για να τα χρησιμοποιήσουν στην προσέλκυση των εντομών (επικονίαση), να τα προστατέψουν από τα φυτοφάγα ζώα (τα αιθέρια έλαια είναι συνήθως πικρά και μερικές φορές δηλητηριώδη), να μειώσουν τη διαπνοή του νερού από τα φύλλα (ιδιαίτερα τους θερμούς μήνες), να τα προστατέψουν από διάφορες ασθένειες, να τα βοηθήσουν να ανταγωνιστούν άλλα φυτά που αναπτύσσονται στην ίδια περιοχή (αλληλοπάθεια) και τέλος να τα χρησιμοποιήσουν ως αποθήκες ενέργειας (<http://www.etherio.gr/definitios.htm>).

#### 2.2 Βιοσύνθεση και χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων

Τα αρωματικά φυτά αποθηκεύουν τα αιθέρια έλαια μέσα σε ειδικούς αδένες που βρίσκονται στα φύλλα, το βλαστό, τα άνθη, το φλοιό, το ξύλο, ακόμη και τις ρίζες. Η παραγωγή αιθέριων ελαίων έχει εντοπιστεί σε περίπου 2000 φυτικά είδη που ανήκουν σε 60 οικογένειες όπως οι Astersceae (Compositae), Labiaceae (Labiatae), Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae κ.α. (<http://www.etherio.gr/definitions.htm>).

Η ποιότητα των αιθέριων ελαίων εξαρτάται από διάφορες φυσικές σταθερές (ειδικό βάρος, δείκτης διαθλάσεως, στροφική ικανότητα κλπ.) και κυρίως από τη χημική σύσταση τους. Ο προσδιορισμός των συστατικών των αιθέριων ελαίων παλιότερα γινόταν με διάφορες χημικές αντιδράσεις οι οποίες τα κατέτασσαν σε ομάδες (εστέρες, αλκοόλες) και απαιτούσαν μεγάλες ποσότητες αιθέριων ελαίων και πολύ χρόνο. Σήμερα χρησιμοποιούνται νέες σύγχρονες μέθοδοι με συνηθέστερη την Αέρια – Χρωματογραφία (GC) σε συνδυασμό με την φασματομετρία μαζών. Με τη μέθοδο αυτή, η ανάλυση είναι ταχύτατη και ακριβής και χρειάζεται πολύ μικρή ποσότητα (1-10 ml) αιθέριου έλαιου (<http://www.etherio.gr/definitions.htm>).

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των περιεχομένων δραστικών συστατικών των αιθέριων ελαίων γίνεται με Αέρια Χρωματογραφία ή Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (HPLC) ή και συνδυασμό των προαναφερόμενων μεθόδων με την φασματομετρία μαζών (MS). Δρόγες με σύνθετη χημική σύσταση ελέγχονται με βιολογικές μεθόδους, όπως οι RIA (radio immuno assay) και ELISA (enzyme linked immune sorbet assay) (<http://www.etherio.gr/definitions.htm>).

### **2.3 Παραλαβή των αιθέριων ελαίων**

Η μέθοδος παραλαβής των αιθέριων ελαίων εξαρτάται από το είδος του φυτού, το φυτικό τμήμα που περιέχει το έλαιο (βλαστός, ρίζα, άνθος, σπέρματα, φύλλα) την περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο, τη χημική σύνθεση των διαφόρων συστατικών του αιθέριου ελαίου, την τιμή του, το κόστος της επένδυσης για τις εγκαταστάσεις και άλλοι παράγοντες. Οι κυριότεροι μέθοδοι παραλαβής αιθέριων ελαίων είναι η μηχανική παραλαβή, η απόσταξη και η εκχύλιση (Σκουμπής 1988).

#### **2.3.1 Μηχανική παραλαβή**

Παραλαβή αιθέριων ελαίων με μηχανικά μέσα γίνεται από τους φλοιούς των εσπεριδοειδών και τους ξηρούς καρπούς. Για τους καρπούς των εσπεριδοειδών χρησιμοποιούνται δύο ειδών μέσα: α) αυτά που επεξεργάζονται ολόκληρους τους καρπούς και έπειτα γίνεται η εξαγωγή του αιθέριου ελαίου από τους φλοιούς πριν την χυμοποίηση και β) αυτά που επεξεργάζονται μόνο τους φλοιούς εφόσον οι καρποί έχουν κοπεί σε κομμάτια και έχει αφαιρεθεί ο χυμός. Ο πρώτος τρόπος θεωρείται καλύτερος. Τα μηχανήματα που χρησιμοποιούνται για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από ξηρούς καρπούς είναι πιεστήρια και μοιάζουν με αυτά των ελαιοτριβείων (Μπαρμπέρη 2006, Μπουρτσουκλή 2008).

#### **2.3.2 Παραλαβή με απόσταξη**

Η απόσταξη είναι πιο απλή, οικονομική και ευρύτατα χρησιμοποιούμενη μέθοδος για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων από όλα σχεδόν τα αρωματικά φυτά. Χρησιμοποιούμενη κιάλας από την αρχαιότητα, σήμερα, χάρη στην τεχνική πρόοδο που σημειώθηκε, η μέθοδος της απόσταξης τόσο από άποψη μηχανημάτων, όσο και συνθηκών λειτουργίας τους έχει βελτιωθεί σημαντικά και αποτελεί τη βάση για κάθε βιομηχανία αιθέριων ελαίων. Ανάλογα με τον τρόπο που λαμβάνει χώρα διακρίνεται σε τρία είδη τα οποία θεωρητικά δε διαφέρουν μεταξύ τους αλλά πρακτικά παρουσιάζουν διαφορές που επιδρούν στα λαμβανόμενα



προϊόντα: α) Υδραπόσταξη ή απόσταξη με νερό, β) Υδρο-απόσταξη ή απόσταξη με νερό και ατμό και γ) Απόσταξη με υδρατμούς (Σκουμπής 1988).

Η *υδραπόσταξη ή απόσταξη με νερό (water distillation)* χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στο παρελθόν ενώ σήμερα η χρήση της έχει περιοριστεί αισθητά. Το χαρακτηριστικό της απόσταξης αυτής είναι ότι το νερό και το φυτικό υλικό έρχονται σε άμεση επαφή μεταξύ τους με αποτέλεσμα την υδρόλυση των διαφόρων συστατικών του αιθέριου ελαίου που συνεπάγεται υποβάθμιση της ποιότητας του. Η υδροαπόσταξη εφαρμόζεται σε φυτικά υλικά όπως οι τριμμένες ρίζες ή καρποί, τα ροδοπέταλα και τα άνθη των εσπεριδοειδών. Στα θετικά στοιχεία της μεθόδου συγκαταλέγονται ότι η απλή και εύκολη χρήση, το μικρό κόστος και η εύκολη μεταφορά του αποστακτικού συγκροτήματος και ότι είναι κατάλληλη για απόσταξη τριμμένων καρπών ή άλλων υλικών που αποστάζονται δύσκολα με άλλο τρόπο. Μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι απαιτεί περισσότερο χρόνο και καύσιμα και έχει μικρή απόδοση σε αιθέριο έλαιο κατώτερης ποιότητας (Σκουμπής 1988, Κοκκαλιάρης 2003).

Η *υδρο-απόσταξη ή απόσταξη με νερό και ατμό (water and steam distillation)* αντικατέστησε την προηγούμενη και χρησιμοποιείται για μικρής κλίμακας αποστάξεις. Υπερέχει από την υδραπόσταξη διότι το φυτικό υλικό που επεξεργάζεται δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό αλλά τοποθετείται σε πλέγμα λίγο πάνω από τη επιφάνεια του νερού που βρίσκεται στον πάτο του άμβυκα απόσταξης ώστε ο ατμός που παράγεται να παρασύρει το αιθέριο έλαιο. Με την υδροατμοαπόσταξη έχουμε μικρότερη κατανάλωση καυσίμου και περιορισμό της αποδόμησης των συστατικών των αιθέριων ελαίων.

Η *απόσταξη με υδρατμούς (steam distillation)* εμφανίζει πολλές ομοιότητες με τη προηγούμενη μέθοδο αλλά χαρακτηρίζεται ως πιο σύγχρονη και γι' αυτό χρησιμοποιείται ευρύτατα από τις βιομηχανίες για μεγάλες αποστάξεις. Η διαφορά της μεθόδου με την υδροατμοαπόσταξη είναι ότι ατμός παράγεται σε ειδικό ατμολέβητα ή ατμογεννήτρια και στη συνέχεια εισάγεται στον άμβυκα απόσταξης όπου υπάρχει το φυτικό υλικό, συνήθως με πίεση μεγαλύτερη από την ατμοσφαιρική. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου περιλαμβάνουν την παραλαβή αιθέριου ελαίου σε μεγαλύτερη ποσότητα και ανώτερη ποιότητα, τη δυνατότητα εφαρμογής της σε βιομηχανική κλίμακα και ότι είναι κατάλληλη για όλα σχεδόν τα αρωματικά φυτά (Σκουμπής 1988).

### 2.3.3 Παραλαβή με εκχύλιση

Η μέθοδος της εκχύλισης χρησιμοποιείται για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από άνθη ή φυτικά υλικά που είναι ευπαθή στην απόσταξη. Η εκχύλιση αποδίδει όλο το αιθέριο έλαιο που αντιπροσωπεύει το πραγματικό άρωμα του φυτικού υλικού, είναι όμως πιο

δαπανηρή μέθοδος και απαιτεί ειδικευμένο προσωπικό και ακριβό διαλυτή. Διακρίνεται σε α) Εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες, β) Εκχύλιση με ψυχρό λίπος, γ) Εκχύλιση με θερμό λίπος, δ) Εκχύλιση με υδρόφιλους διαλύτες (Σκουμπής 1988, Μπουρτσουκλή 2008).

Η *εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες* αποτελεί την πιο εύχρηστη μέθοδο εκχύλισης αιθέριων ελαίων αλλά χρειάζεται πολυδάπανες εγκαταστάσεις και ειδικευμένο προσωπικό. Κατά την εφαρμογή της χρησιμοποιείται ως πτητικός διαλύτης πετρελαϊκός αιθέρας καθώς και βενζόλιο, αιθυλική αλκοόλη κλπ. Στη συνέχεια αφαιρείται ο πτητικός διαλύτης και μετά γίνεται ειδική κατεργασία με αλκοόλη και παραλαμβάνεται ως το τελικό προϊόν καθαρό αιθέριο έλαιο (Σκουμπής 1988).

Η *εκχύλιση με ψυχρό λίπος* είναι αποτέλεσμα του βελτιωμένου τρόπου παρασκευής αρωματικών αλοιφών που χρησιμοποιούνταν στην αρχαιότητα, όταν τοποθετούσαν άνθη ή ρίζες μέσα σε γυάλινα δοχεία που περιείχαν λίπος. Χρησιμοποιήθηκε ευρύτατα στο παρελθόν ενώ σήμερα έχει πλέον εγκαταλειφθεί. Ως φυτικό υλικό χρησιμοποιούνται τα άνθη που συνεχίζουν να διαχέουν το άρωμα τους στο περιβάλλον και μετά τη συλλογή τους. Για την επιτυχία της μεθόδου θα πρέπει το λίπος που χρησιμοποιείται (συνήθως χοιρινό ή μίγμα βοδινού και χοιρινού λίπους), να είναι τελείως καθαρό και απαλλαγμένο από κάθε οσμή. Μετά την εκχύλιση που διαρκεί 24-30 min, το λίπος και το αιθέριο έλαιο κατεργάζονται με αλκοόλη, οπότε αφαιρείται το λίπος και λαμβάνεται το καθαρό αιθέριο έλαιο (Σκουμπής 1988, Μπουρτσουκλή 2008).

Η *εκχύλιση με θερμό λίπος* μοιάζει με την προηγούμενη και εφαρμόζεται για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από άνθη που δεν συνεχίζουν να παράγουν και να διαχέουν το άρωμα τους στο περιβάλλον και μετά την συλλογή τους. Το λίπος με τα άνθη τοποθετούνται σε δοχεία γύρω στους 80 °C. Όταν το λίπος κορεστεί με αιθέριο έλαιο τότε με ειδική κατεργασία λαμβάνεται το καθαρό αιθέριο έλαιο. Ωστόσο, η παραπάνω μέθοδος μέχρι σήμερα έχει εγκαταλειφθεί (Σκουμπής 1988).

Η *εκχύλιση με υδρόφιλους διαλύτες* γίνεται με την χρήση υδροδιαλυτών διαλυτών ως μέσα εκχύλισης ή σε ανάμειξη με νερό για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων και εφαρμόζεται στον κλάδο της κοσμετολογίας. Πιθανοί διαλύτες είναι η αιθυλενογλυκόλη και βουτυλενογλυκόλη (Σκουμπής 1988).

## **2.4 Αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών**

Τα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών λαμβάνονται από τους καρπούς, τα άνθη, τα φύλλα και βλαστούς.

#### **2.4.1 Αιθέρια έλαια από τους καρπούς των εσπεριδοειδών**

Το αιθέριο έλαιο του καρπού των εσπεριδοειδών βρίσκεται στο επικάρπιο του φλοιού και λαμβάνεται με μια από τις μηχανικές μεθόδους (απόξεση, συμπίεση κλπ.), είτε πριν από την εκχύμωση των καρπών είτε μετά από αυτή. Τα αιθέρια έλαια στο επικάρπιο περιέχονται σε αδένες που είναι διασπαρμένοι σε διάφορα βάθη και έχουν διάμετρο που κυμαίνεται από 0,6 έως 0,9 χιλιοστά (Σκουμπής 1988).

Η ποιότητα και επομένως η αξία του αιθέριου ελαίου εξαρτάται από το είδος του εσπεριδοειδούς από το οποίο λαμβάνεται. Έτσι τα γνωστά είδη κατατάσσονται, αναλόγως της αξίας του αιθέριου ελαίου με την εξής φθίνουσα σειρά: περγαμόντο, μανταρίνι, νεράντζι, λεμόνι, πορτοκάλι (Σκουμπής 1988).

Τα αιθέρια έλαια που λαμβάνονται από το φλοιό των εσπεριδοειδών χρησιμοποιούνται στην ποτοποιία, ζαχαροπλαστική, καραμελοποιία, φαρμακευτική, αρωματοποιία, σαπωνοποιία, βιομηχανία τροφίμων κλπ. (Σκουμπής 1988).

#### **2.4.2 Αιθέρια έλαια από τα άνθη των εσπεριδοειδών**

Τα άνθη των εσπεριδοειδών περιέχουν αιθέριο έλαιο, που παραλαμβάνεται κυρίως με απόσταξη με υδρατμούς και ονομάζεται νερολί (neroli). Το προϊόν ανάλογα με το φυτό το οποίο λαμβάνεται παίρνει και το όνομα, όπως π.χ. νερολί νεραντζιάς, λεμονιάς κλπ. Για να ληφθεί καλής ποιότητας νερολί, τα άνθη πρέπει να αποστάζονται αμέσως μετά την συλλογή τους. Εκτός από την μέθοδο της απόσταξης, για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων από τα άνθη χρησιμοποιείται και η μέθοδος της εκχύλισης, είτε με πετρελαϊκό αιθέρα, είτε με ψυχρό λίπος. Τα νερολί χρησιμοποιούνται κυρίως στην αρωματοποιία καθώς και σε άλλες βιομηχανίες (σαπωνοποιία κλπ.) (Σκουμπής 1988).

Κατά την απόσταξη των ανθέων εκτός από το αιθέριο έλαιο (νερολί) λαμβάνεται και το ανθόνερο ή ανθόσταγμα το οποίο αποτελείται από νερό και αιθέριο έλαιο (απόσταγμα). Η ποιότητα του ανθόνερου εξαρτάται από την συμπύκνωση του, δηλαδή από την ποσότητα του αποστάγματος που λαμβάνεται ανά μονάδα αποσταγμένων ανθέων. Το ανθόνερο χρησιμοποιείται κυρίως στην αρωματοποιία, σαπωνοποιία καθώς και σε άλλα προϊόντα κατώτερης συνήθως ποιότητας (Σκουμπής 1988).

#### **2.4.3 Αιθέρια έλαια από τα φύλλα και τους βλαστούς των εσπεριδοειδών**

Τα φύλλα και οι βλαστοί (λαίμαργοι κλπ.) των εσπεριδοειδών περιέχουν αιθέριο έλαιο που λαμβάνεται με απόσταξη και ονομάζεται πετιγκρεΐν. Αυτό μοιάζει με το ανθόνερο αλλά είναι κατώτερης ποιότητας και χρησιμοποιείται κυρίως στην αρωματοποιία, σαπωνοποιία



κλπ. Τα προς απόσταξη φύλλα και οι βλαστοί συλλέγονται την εποχή του κλαδέματος και αποστάζονται αμέσως (Σκουμπής 1988).

## 2.5 Ρόλος των αιθέριων ελαίων

Σκευάσματα φυτικής προέλευσης από περισσότερα από 2.000 είδη φυτών έχουν διαπιστωθεί να έχουν εντομοκτόνο δράση, όπως π.χ. είδη των οικογενειών *Ariaceae* (καρότο), *Lamiaceae* (μέντα), *Myrtaceae* (μυρτιά), *Rutaceae* (εσπεριδοειδή). Το σημαντικότερο ίσως πλεονέκτημα της χρησιμοποίησης των αιθέριων ελαίων ή/και των συστατικών τους ως φυτοπροστατευτικά είναι ότι δεν είναι τοξικά στα θηλαστικά π.χ. δοκιμές τοξικότητας της ευγενόλης, έδειξαν ότι η ευγενόλη είναι περίπου 1.500 φορές λιγότερο τοξική από το φυσικό πύρεθρο και 15.000 φορές λιγότερο τοξική από το οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο *azirphosmethyl* (Isman 2000).

Τα αιθέρια έλαια των φυτών εκτός από την εντομοκτόνο δράση τους, είναι γνωστά και για τις αντισηπτικές τους ιδιότητες με δράση κατά των βακτηρίων των μυκήτων και των ζυμών. Επίσης τα αιθέρια έλαια μπορούν να χρησιμοποιηθούν από τα φυτά για να προσελκύσουν έντομα επικονιαστές, ή να προστατεύσουν τα φυτά από ασθένειες (Isman 2000, Isman et al. 2007).

Μερικά αιθέρια έλαια δεν είναι μόνο εντομοκτόνα αλλά έχουν και φυτοτοξικά αποτελέσματα. Σε πολλές περιπτώσεις, αυτό θα θεωρούνταν σοβαρό μειονέκτημα στη χρήση τους για την αντιμετώπιση των επιβλαβών εντόμων, όμως, αυτό ανοίγει επίσης την πόρτα στη χρήση μερικών αιθέριων ελαίων ως ζιζανιοκτόνα. Κατά τον Tworkoski (2002) τα έλαια του κόκκινου θυμαριού (*Thymus vulgaris*), θρούμπι (*Satureja hortensis*), κανέλας (*Cinnamomum zeylanicum*) και γαριφάλου (*Syzygium aromaticum*) είναι ιδιαίτερα φυτοτοξικά.

Τα αιθέρια έλαια είναι φυσικά προϊόντα μεγάλης οικονομικής σημασίας καθώς χρησιμοποιούνται στην αρωματοποιία, την κοσμετολογία, τη βιομηχανία τροφίμων και στην φαρμακευτική όπου προσδίδουν στα φάρμακα ευχάριστη οσμή ή γεύση (Βουρλιώτη - Αράπη 2010).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### Τοξικότητα αιθέριων ελαίων από καρπούς των εσπεριδοειδών *Citrus sinensis* L. (πορτοκάλι) και *Citrus limon* L. (λεμόνι) στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *Planococcus ficus*

#### 3.1 Εισαγωγή

Τα φυτικά αιθέρια έλαια εμφανίζουν βιολογική δράση ενάντια σε ένα ευρύ φάσμα εντομολογικών εχθρών και ακάρεων και είναι δυνατόν να δράσουν ως καπνιστικά (με ατμούς), εντομοκτόνα επαφής, απωθητικά και αντιδιαιτητικοί παράγοντες ή μπορούν να επηρεάσουν το ρυθμό ανάπτυξης, την αναπαραγωγή και τη συμπεριφορά των φυτοφάγων αρθροπόδων (Harwood *et al.* 1990, Papachristos and Stamopoulos 2002, 2004, Petrakis *et al.* 2005, Isman *et al.* 2008). Επιπλέον τα αιθέρια έλαια είναι «καλές» εναλλακτικές ουσίες σε σχέση με τα συμβατικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα λόγω της χαμηλής τοξικότητάς τους στα θηλαστικά και της ταχείας αποδόμησής τους στο περιβάλλον (Rebenhorst 1996, Misra and Pavlostathis 1997, Isman 2000).

Τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών έχει βρεθεί να συμμετέχουν στους μηχανισμούς ανθεκτικότητας των καρπών των εσπεριδοειδών ενάντια στην προσβολή από την μύγα της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) (Papachristos *et al.* 2009). Επίσης έχουν εντομοκτόνες ιδιότητες μέσω της δράσης τους με ατμούς ή επαφή για ένα ευρύ φάσμα εντομολογικών εχθρών των φυτών και των αποθηκευμένων προϊόντων καθώς και εντόμων υγειονομικής σημασίας (φορείς ασθενειών) (Don-Pedro 1996, Hollingsworth 2005, Michaelakis *et al.* 2009, Kimbaris *et al.* 2010).

Ο ψευδόκοκκος του αμπελιού *P. ficus* έχει μεγάλη γεωγραφική εξάπλωση στις αμπελοκομικές περιοχές ανά την υφήλιο και είναι οικονομικής σημασίας εντομολογικός εχθρός στους αμπελώνες και τα φυτώρια (Monta *et al.* 2001, Gülec *et al.* 2007, Sforza *et al.* 2005, Varikou *et al.* 2010).

Η αντιμετώπιση του *P. ficus* στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας στο αμπέλι είναι δυνατή με ένα συνδυασμό διαθέσιμων καλλιεργητικών, βιολογικών και χημικών μέτρων ωστόσο η ευρύτερα χρησιμοποιούμενη μέθοδος σήμερα είναι η χημική καταπολέμηση με συνθετικά εντομοκτόνα (Daane *et al.* 2003; Walton 2003; Daane *et al.* 2004; Castillo *et al.* 2005; Gülec *et al.* 2007). Παρόλα αυτά, τα προγράμματα χημικής

καταπολέμησης του *P. ficus* είναι συχνά αναποτελεσματικά λόγω του ότι μέρος του πληθυσμού του ψευδόκοκκου βρίσκεται σε προστατευμένες θέσεις στα ρυτιδώματα του φλοιού του κορμού και των βραχιόνων των πρέμνων, καθώς και των αρνητικών επιπτώσεων στους πληθυσμούς των φυσικών εχθρών του ψευδόκοκκου (Daane et al. 2003, 2004; Castillo et al. 2005; Walton 2003; Desneux et al. 2007; Gülec et al. 2007). Επιπλέον, η χημική καταπολέμηση κατά του ψευδόκοκκου *P. ficus* στις Η.Π.Α. (οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα σε συνδυασμό με ένα διασυστηματικό ή/και ένα ρυθμιστή ανάπτυξης) μπορεί να είναι απαγορευτική για οικονομικούς λόγους για κάποιους παραγωγούς (Daane et al. 2004). Πολύ λίγα εντομοκτόνα (κυρίως ορυκτέλαια) είναι εγκεκριμένα για χρήση κατά του ψευδόκοκκου *P. ficus* στην Ευρωπαϊκή Ένωση, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης ανθεκτικότητας (Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων 2012; MAPA 2012; MiPAAF 2012). Τέλος, οι αρνητικές επιπτώσεις από την εντατική χρήση των συνθετικών εντομοκτόνων στην υγεία και το περιβάλλον (Isman 2006) αποτελούν περαιτέρω περιορισμούς στην χημική καταπολέμηση του συγκεκριμένου εντομολογικού εχθρού.

Λαμβάνοντας υπόψη τους παραπάνω περιορισμούς, οι φυτικής προέλευσης ουσίες με εντομοκτόνες ιδιότητες, συμπεριλαμβανομένων των αιθέριων ελαίων, θεωρούνται γενικά πιθανές εναλλακτικές ουσίες των συνθετικών εντομοκτόνων (Isman 2006), ωστόσο υπάρχουν πολύ λίγα στοιχεία για την δράση τους στους ψευδόκοκκους. Κατά τον Hollingsworth (2005) το λιμονένιο, που είναι το κύριο συστατικό των αιθέριων ελαίων στους καρπούς των εσπεριδοειδών, έχει πολύ μεγάλη εντομοκτόνο δράση σε κάποια είδη ψευδόκοκκου.

### 3.2 Σκοπός του πειράματος

Σκοπός του πειράματος ήταν η μελέτη σε συνθήκες εργαστηρίου της τοξικής δράσης αιθέριων ελαίων από καρπούς των εσπεριδοειδών *Citrus sinensis* L. (πορτοκάλι) και *C. limon* L. (λεμόνι) στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *P. ficus* και τυχόν φυτοτοξικότητας στο αμπέλι.

### 3.3 Υλικά και μέθοδοι

#### 3.3.1 Εντομοτροφείο – θάλαμος ανάπτυξης εντόμων

Για την εκτροφή του ψευδόκοκκου χρησιμοποιήθηκε ένας θάλαμος ανάπτυξης Gallenkamp CO<sub>2</sub> με ελεγχόμενη θερμοκρασία 26 °C ± 1 °C και συνεχές σκοτάδι.

#### 3.3.2 Κουτιά για την εκτροφή του ψευδόκοκκου

Για την μαζική εκτροφή του ψευδόκοκκου χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά κουτιά διαστάσεων 17 x 11 x 5 cm (μήκος x πλάτος x ύψος). Τα κουτιά έφεραν στα πλαϊνά

τοιχώματα δύο κυκλικές οπές ( $d = 1,5$  εκ.) που ήταν καλυμμένες από πολυεστερικό ύφασμα με πόρους για αερισμό (Εικόνα 1).

### 3.3.3 Φυτά ξενιστές – υποστρώματα

Η μαζική εκτροφή του ψευδόκοκκου έγινε σε προβλαστημένες πατάτες που προορίζονταν για πατατόσπορο και στις οποίες είχε σπάσει ο λήθαργος (Εικόνα 1 β).

Το πείραμα (βιοδοκιμές με τα αιθέρια έλαια) πραγματοποιήθηκε σε φύλλα αμπελιού ποικιλίας «Σουλτανίνα», *Vitis vinifera* L. cv. Soultanina, σε τριβλία Petri διαμέτρου 9 εκ. Τα φύλλα του αμπελιού τοποθετήθηκαν στα τριβλία πάνω σε ένα λεπτό στρώμα από άγαρ για τη διατήρηση της υγρασίας τους και πάνω στα φύλλα τοποθετήθηκαν οι ψευδόκοκκοι (Εικόνα 2). Το άγαρ είχε προηγουμένως αποστειρωθεί σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης (αυτόκαυστο – autoclave) στους 121 °C για 20 λεπτά.

### 3.3.4 Λοιπός εξοπλισμός

Ένα στερεοσκόπιο (X5 – X50) που έφερε γραμμική κλίμακα σε έναν από τους προσοφθάλμιους φακούς του χρησιμοποιήθηκε για την μέτρηση του μεγέθους των ψευδόκοκκων πριν την έναρξη του πειράματος. Με την βοήθεια του στερεοσκοπίου έγινε και η μέτρηση της θνησιμότητας των εντόμων μετά τον ψεκάσμο τους με τα αιθέρια έλαια.

Επίσης χρησιμοποιήθηκαν νυστέρια και λαβίδες που χρησίμευσαν στην προετοιμασία (κοπή και τοποθέτηση) των φύλλων του αμπελιού στα τριβλία Petri.

### 3.3.5 Εκτροφή του ψευδόκοκκου *P. ficus*

Ο ψευδόκοκκος που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα προέρχονταν από εκτροφή που υπήρχε στο Εργαστήριο του Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μ.Φ.Ι και είχε ξεκινήσει από άτομα που συλλέχτηκαν από προσβεβλημένο αμπελώνα στην περιοχή Γαστούνη του νομού Ηλείας, Πελοπόννησος. Η αναγνώριση του είδους του ψευδόκοκκου





(α)



(β)

**Εικόνα 1 (α)** Πλαστικά κουτιά που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτροφή του ψευδόσκοκκου *Planococcus ficus*, **(β)** Πατάτα με ψευδόσκοκκο *P. ficus*

έγινε με βάσεις τις κλείδες ταξινόμησης των Cox και Ben-Dov (1986). Το φυτικό υπόστρωμα- ξενιστής του ψευδόκοκκου ήταν προβλαστημένες πατάτες τοποθετημένες μέσα στα πλαστικά κουτιά (2-3 πατάτες/κουτί) που προαναφέρθηκαν στα υλικά του πειράματος. Τα κουτιά εκτροφής του ψευδόκοκκου διατηρούνταν σε θάλαμο ανάπτυξης με ελεγχόμενη θερμοκρασία  $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  και συνεχές σκοτάδι. Η εκτροφή εφοδιαζόταν σε τακτά χρονικά διαστήματα, ανάλογα με την εξάπλωση της προσβολής, με νέες προβλαστημένες πατάτες. Όλα τα στάδια ανάπτυξης του ψευδόκοκκου συνυπήρχαν στην εκτροφή.

### 3.3.6 Αιθέρια έλαια

Τα φυτικά δείγματα για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων που δοκιμάστηκαν προέρχονταν από τους φλοιούς καρπών λεμονιάς (*Citrus limon* L.) και πορτοκαλιάς (*Citrus sinensis* L.) από καλλιέργειες εσπεριδοειδών στην Άρτα, Ήπειρο. Για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων χρησιμοποιήθηκε 0.5 κιλό φρέσκων φλοιών αμέσως μετά την συλλογή των καρπών κατά τα μέσα Μαρτίου του 2008. Η παραλαβή των αιθέριων ελαίων έγινε με την μέθοδο της υδροαπόσταξης με τη χρήση συσκευής τύπου Clevenger. Ο όγκος του τελικού προϊόντος υπολογίστηκε και εκφράστηκε ως mL αιθέριου έλαιου/100 γραμμάρια φρέσκου φυτικού υλικού (φλοιού λεμονιού ή πορτοκαλιού). Επίσης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό της χημικής σύστασης των υπό δοκιμή αιθέριων ελαίων με αέρια χρωματογραφία και φασματογραφία μάζας (Gas chromatography-Mass Spectrometry, GC/MS) στο Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης.

### 3.3.7 Βιοδοκιμές

Η μελέτη της επίδρασης των αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού και λεμονιού στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *P. ficus* έγινε με βιοδοκιμές στο εργαστήριο με απ' ευθείας έκθεση του εντόμου στο ψεκαστικό υγρό που περιείχε τα αιθέρια έλαια (εκτίμηση οξείας τοξικότητας). Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν τριβλία Petri (διάμετρος = 9 εκ.) που έφεραν καπάκια με ανοίγματα (διάμετρος = 6 εκ.) που καλύπτονταν με πολυεστερικό ύφασμα με πόρους για αερισμό. Τα τριβλία περιείχαν από ένα φύλλο αμπελιού τοποθετημένο με την κάτω επιφάνεια του φύλλου προς τα πάνω, σε στρώμα άγαρ. Δοκιμάστηκαν δύο κλάσεις μεγέθους του ψευδόκοκκου, 1-1.5 mm και > 1.5 mm (κυρίως 3<sup>η</sup> ηλικίας νύμφες και ενήλικα θηλυκά άτομα πριν την ωοτοκία, αντίστοιχα). Μερικές ώρες πριν τις βιοδοκιμές, ψευδόκοκκοι του ίδιου περίπου μεγέθους μεταφέρονταν από την μαζική εκτροφή στα τριβλία Petri. Σε κάθε τριβλίο τοποθετούνταν δέκα άτομα ψευδόκοκκου από μία κλάση μεγέθους (Εικόνα 2).

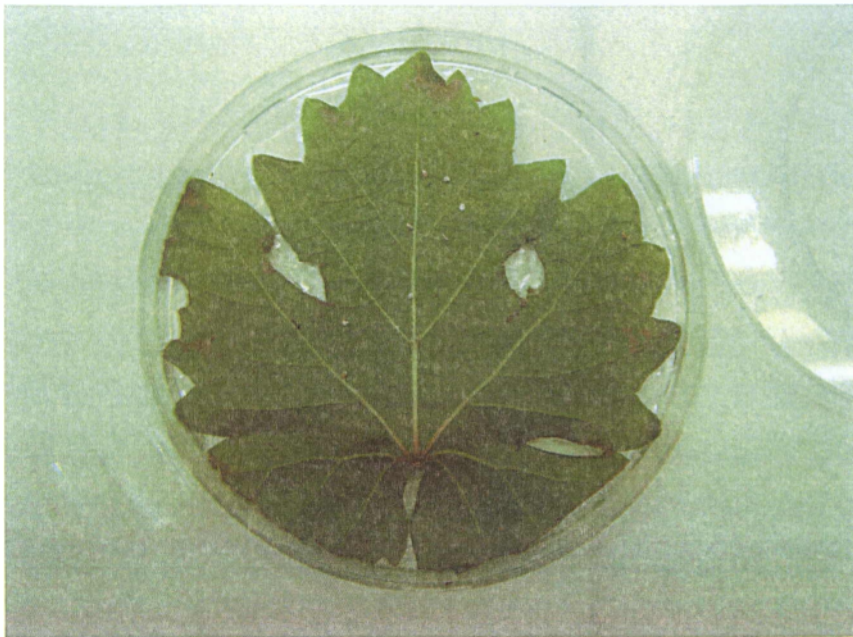
Κάθε τρυβλίο ψεκάζονταν με 1 mL υδατικού διαλύματος αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού ή λεμονιού (με 2% Tergitol γαλακτωματοποιητή). Ο ψεκασμός πραγματοποιήθηκε με ένα μικρού όγκου ψεκαστικό δοχείο με varoizateur για φαρμακευτική χρήση. Αμέσως μετά τον ψεκασμό απομακρύνονταν από τα τριβλία η περίσσεια του ψεκαστικού διαλύματος, τα τριβλία καλύπτονταν με τα καπάκια που έφεραν τις οπές για αερισμό και διατηρούνταν σε θάλαμο ανάπτυξης με θερμοκρασία  $26\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  και φωτοπερίοδο 16:8 (Φ:Σ). Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε και για τους μάρτυρες που ήταν α) νερό, β) νερό με 1% Tergitol και γ) το σκεύασμα αναφοράς Trioia 81 EW (ορυκτέλαιο 81% β/β σε μορφή γαλακτώματος) στη συγκέντρωση 22,7mg/ml.

Η επιλογή του σκευάσματος αναφοράς βασίστηκε στα εξής: α) το σκεύασμα Trioia 81 EW έχει έγκριση χρήσης στο αμπέλι κατά του κόκκινου τετράνυχου οπότε είναι δυνατό να χρησιμοποιηθεί στην καλλιέργεια για την καταπολέμηση άλλου εχθρού εκτός του ψευδόκοκκου με πιθανές δυσμενείς επιδράσεις στην ωφέλιμη εντομοπανίδα και β) το σκεύασμα Trioia 78 EW με την ίδια δραστική ουσία και μορφή (ορυκτέλαιο 78% β/β σε μορφή γαλακτώματος) έχει έγκριση κατά του ψευδόκοκκου *Planococcus citri* (Risso) (Hemiptera: Pseudococcidae) στη χώρα μας για τα εσπεριδοειδή, μηλοειδή και πυρηνόκαρπα.

Δοκιμάστηκαν 3-4 συγκεντρώσεις (mg αιθέριου ελαίου η ορυκτέλαιου/mL υδατικού διαλύματος Tergitol) για κάθε αιθέριο έλαιο/σκεύασμα αναφοράς κλάση μεγέθους του ψευδόκοκκου: 4.5, 9.0 και 13.5 mg/mL για το πορτοκάλι, 0.9, 4.5, 9.0 και 13.5 mg/mL για το λεμόνι, 6.4, 12.8, 19.2 και 25.9 mg/mL για το ορυκτέλαιο). Κάθε συγκέντρωση επαναλήφθηκε 3-4 φορές.

Εικοσιτέσσερις ώρες μετά τον ψεκασμό γίνονταν μέτρηση της θνησιμότητας των εντόμων, με παρατήρηση αυτών στο στερεοσκόπιο (X5 – X50), προκειμένου να εκτιμηθεί η τοξική επίδραση των δύο αιθέριων ελαίων (οξεία τοξικότητα) στο έντομο και ελέγχονταν τα ψεκασμένα φύλλα για παρουσία συμπτωμάτων φυτοτοξικότητας. Η εκτίμηση της σοβαρότητας της φυτοτοξικότητας έγινε ως ποσοστό (%) φυλλικής επιφάνειας με συμπτώματα (κυρίως μεταχρωματισμός και νέκρωση του ελάσματος των φύλλων): καθόλου (0-1%), ελαφριά (1-25%), μέτρια (25-50%), σημαντική (>50%).





**Εικόνα 2.** Τρυβλίο με ψευδόκοκκο *Planococcus ficus* για βιοδοκιμή με αιθέριο έλαιο πορτοκαλιού

### 3.4 Πειραματικό σχέδιο και στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων θνησιμότητας του ψευδόκοκκου στις βιοδοκιμές έγινε με την μέθοδο probit και υπολογίστηκαν οι τιμές  $LC_{50}$  και  $LC_{90}$  καθώς και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95%. Η σύγκριση των τιμών  $LC_{50}$  ή  $LC_{90}$  πραγματοποιήθηκε με βάση τα διαστήματα εμπιστοσύνης (Finney 1971). Για την στατιστική επεξεργασία και ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 14.0 (SPSS 2005).

### 3.5 Αποτελέσματα

#### 3.5.1 Χημική σύσταση αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού και λεμονιού

Η ποιοτική και ποσοτική ανάλυση της χημικής σύστασης (GC-MS) των αιθέριων ελαίων των καρπών πορτοκαλιάς και λεμονιάς που δοκιμάστηκαν, έδειξε ότι το κυρίαρχο συστατικό ήταν το λιμονένιο, σε μεγαλύτερο ποσοστό στο πορτοκάλι (94.2%) από ότι στο λεμόνι (57.0%) (Κυμπάρης, προσωπική επικοινωνία).

#### 3.5.2 Δράση ( $LC_{50}$ ) αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού και λεμονιού έναντι του *P. ficus*

Τα αιθέρια έλαια που απομονώθηκαν από τους καρπούς των εσπεριδοειδών είχαν αρκετά ισχυρή τοξική δράση έναντι του εντόμου, με τιμές  $LC_{50}$  που κυμαίνονταν μεταξύ 2,7-



5,4 mg αιθέριου ελαίου/ml υδατικού διαλύματος ανάλογα με το είδος του αιθέριου ελαίου για τις νύμφες 3<sup>ης</sup> ηλικίας και τα ενήλικα θηλυκά αντίστοιχα. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών των LC<sub>50</sub> που υπολογίστηκαν για τις νύμφες 3<sup>ης</sup> ηλικίας και τα ενήλικα θηλυκά και για τα δύο αιθέρια έλαια. Οι τιμές αυτές LC<sub>50</sub> ήταν σημαντικά μικρότερες από αυτές του ορυκτέλαιου αναφοράς (Πίνακας 1) και επομένως υποδεικνύουν μεγαλύτερη τοξική δράση των υπό δοκιμή αιθέριων ελαίων συγκριτικά με το σκεύασμα αναφοράς.

Πίνακας 1. Τιμές LC<sub>50</sub> και LC<sub>90</sub> (mg/mL) των αιθέριων ελαίων από καρπούς εσπεριδοειδών

Αιθέριο έλαιο	n <sup>a</sup>	Slope ± SE	LC <sub>50</sub> (mg/mL)	95% CI <sup>b</sup>	LC <sub>90</sub> (mg/mL) <sup>b</sup>	95% CI <sup>b</sup>	df	χ <sup>2</sup>
<i>C. limon</i> -L3	228	1,4±0,2	3,6	1,8-4,5	29,7	18,0-67,5	14	17,4
<i>C. limon</i> -Ενήλικα	236	1,9±0,2	2,7	1,8-3,6	14,4	10,8-21,6	14	11,6
<i>C. sinensis</i> -L3	117	3,2±0,5	5,4	4,5-6,3	13,5	10,8-19,8	10	9,3
<i>C. sinensis</i> -Ενήλικα	176	2,8±0,5	5,4	4,5-7,2	16,2	12,6-27,9	10	9,9
Triona 81 EW -L3	231	3,3±0,4	9,1	7,3-10,7	22,7	20,4-30,3	14	13,9
Triona 81 EW -Ενήλικα	236	3,5±0,4	10,9	9,3-12,5	25,7	22,0-33,0	14	20,4

(*Citrus limon* and *C. sinensis*) κατά των νυμφών 3<sup>ης</sup> ηλικίας και ενήλικων θηλυκών ατόμων του ψευδόκοκκου του αμπελιού *Planococcus ficus*

<sup>a</sup> Αριθμός εντόμων που χρησιμοποιήθηκαν

<sup>b</sup> Οι τιμές LC<sub>50</sub> ή LC<sub>90</sub> είναι σημαντικές όταν τα διαστήματα εμπιστοσύνης (95% CI) δεν επικαλύπτονται.

### 3.5.3 Φυτοτοξικότητα αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού και λεμονιού στο αμπέλι

Δεν παρατηρήθηκαν συμπτώματα φυτοτοξικότητας από τα αιθέρια έλαια πορτοκαλιού και λεμονιού στα φύλλα του αμπελιού σε καμία από τις δοκιμασθείσες συγκεντρώσεις ή από το υδατικό διάλυμα του γαλακτωματοποιητή Tergitol. Το ορυκτέλαιο αναφοράς προκάλεσε ελαφριά φυτοτοξικότητα (ποσοστό συμπτωμάτων στα φύλλα <25%) μόνο στην μεγαλύτερη δοκιμασθείσα συγκέντρωση (25.9 mg/mL).

### 3.6 Συζήτηση αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα για την χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων από καρπούς πορτοκαλιάς και λεμονιάς, τα οποία δοκιμάστηκαν, είναι σε συμφωνία με αποτελέσματα της

βιβλιογραφίας από ανάλογες μελέτες σε άλλους εντομολογικούς εχθρούς (Goren et al. 2004; Hassiotis et al. 2010; Kimbaris et al. 2010; Ntalli et al. 2010).

Τα αιθέρια έλαια που εξετάστηκαν φαίνεται να διαθέτουν ισχυρή εντομοκτόνο δράση έναντι του ψευδόκοκκου του αμπελιού με τιμές  $LC_{50}$  που κυμαίνονταν μεταξύ μεταξύ 2,7-5,4 mg αιθέριου ελαίου/ml υδατικού διαλύματος ανάλογα με το είδος του αιθέριου ελαίου και το στάδιο ανάπτυξης του εντόμου. Η εντομοκτόνος δράση του λιμονένιου, που αποτελεί το κύριο συστατικό των δοκιμασθέντων αιθέριων ελαίων, έχει αποδειχτεί έναντι άλλων ειδών ψευδόκοκκου. Ψεκασμοί με λιμονένιο σε υδατικό διάλυμα 1% (μαζί με γαλακτωματοποιητή/επιφανειοτασιενεργό) προκάλεσαν 44% θνησιμότητα σε 3<sup>ης</sup> και 4<sup>ης</sup> ηλικίας νύμφες του *Planococcus citri* σε φυτά γαρδένιας σε πειράματα στο θερμοκήπιο. Το ποσοστό αυτό θνησιμότητας ήταν εφάμιλλο με αυτό που προκάλεσε σκεύασμα αναφοράς με άλατα Καλίου (περιεκτικότητα 49%) και σημαντικά μεγαλύτερο από αυτό που επιτεύχθηκε με ένα ορυκτέλαιο αναφοράς (περιεκτικότητα 98.8%) (Hollingsworth 2005). Επιπρόσθετα, βιοδοκιμές στο εργαστήριο με το ίδιο διάλυμα λιμονένιου είχαν ως αποτέλεσμα θνησιμότητα 95-100% σε νύμφες και ενήλικα του ψευδόκοκκου *Nipaeococcus nipae* (Maskell) (Hemiptera: Pseudococcidae) σε ψεκασμένα φύλλα καρύδας, 92% θνησιμότητα σε 3<sup>ης</sup> και 4<sup>ης</sup> ηλικίας νύμφες του *Pseudococcus longispinus* (Targioni-Tozzetti) (Hemiptera: Pseudococcidae) σε φασόλια μετά από εμβάπτιση για 1 λεπτό, και 100% θνησιμότητα σε ωά του *Rhizoecus* spp. σε ρίζες γαρδένιας μετά από εφαρμογή με εμβάπτιση επίσης για 1 λεπτό (Hollingsworth 2005).

Τα εξεταζόμενα αιθέρια έλαια καρπών εσπεριδοειδών δεν προκάλεσαν φυτοτοξικότητα στα φύλλα του αμπελιού. Κατά τον Hollingsworth (2005) υδατικό διάλυμα λιμονένιου (1%) είχε φυτοτοξική δράση σε φτέρη, ginger και ευαίσθητα άνθη αλλά δεν προκάλεσε συμπτώματα σε καλλωπιστικά φυτά με παχιά και κηρώδη φύλλα όπως τα φοινικοειδή, τα *Cycas* sp. και οι ορχιδέες. Επίσης, το λιμονένιο έχει αποδειχτεί φυτοτοξικό στις φράουλες σε συγκεντρώσεις που ξεπερνούν το 3% και σε σπορόφυτα λάχανου και καρώτου σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 9% (Ibrahim et al. 2001). Παρόλα αυτά, όπως επισημαίνει ο Hollingsworth (2005) η επίτευξη ενός καλού γαλακτώματος όταν γίνεται ανάμιξη ενός ελαίου (όπως π.χ. το λιμονένιο) με έναν γαλακτωματοποιητή προκειμένου να αποφευχθεί ο εύκολος διαχωρισμός των δύο φάσεων, είναι ιδιαίτερης σημασίας για τυχόν παραλλακτικότητα που μπορεί να εμφανίσει το σκεύασμα στην τοξική δράση του έναντι του εντόμου-στόχου αλλά και στο φυτό (φυτοτοξικότητα).

Συμπερασματικά, η ισχυρή εντομοκτόνος δράση των εξεταζόμενων αιθέριων ελαίων από τους καρπούς πορτοκαλιάς και λεμονιάς έναντι του ψευδόκοκκου του αμπελιού *P. ficus*

και η απουσία φυτοτοξικής δράσης τους στο αμπέλι, καταστούν τους φλοιούς των καρπών της πορτοκαλιάς και της λεμονιάς ελκυστικές υποψήφιες φυτικές πρώτες ύλες για την παραλαβή αιθέριων ελαίων με σκοπό την παρασκευή εναλλακτικών εντομοκτόνων κατά του ψευδόκοκκου. Το συμπέρασμα αυτό ενισχύεται από το γεγονός ότι η διαδικασία παραλαβής των αιθέριων ελαίων από τους φλοιούς των καρπών εσπεριδοειδών είναι εύκολη και οικονομική διαδικασία αφού αυτοί παράγονται ως παραπροϊόντα της βιομηχανίας χυμών. Ωστόσο, επισημαίνεται ότι η παρούσα εργασία αποτελεί μία προκαταρκτική μελέτη για την εκτίμηση της τοξικής δράσης των εν λόγω αιθέριων ελαίων στον ψευδόκοκκο *P. ficus*. Απαιτείται επιπλέον πειραματισμός για να διευκρινιστεί η αποτελεσματικότητά τους σε συνθήκες ημι-υπαίθρου και τελικά υπαίθρου καθώς και οι τυχόν δυσμενείς επιδράσεις που μπορεί να έχουν είτε στα πρέμνα του αμπελιού είτε στους φυσικούς εχθρούς του ψευδόκοκκου.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Βουρλιώτη-Αράπη Φ. (2010) *Μελέτη των αιθερίων ελαίων του γένους Juniperus της ελληνικής χλωρίδας: χημική σύσταση και βιοδραστικότητα*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Μεταπτυχιακή διατριβή.

Castillo AAF, Hernández HG, Daane KM. 2005. *Los Pijo Harinosos de la Vid*. Libro Técnico No. 9. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Sonora, Mexico.

Cox JM, Ben-Dov Y. 1986. Planococcine mealybugs of economic importance from the Mediterranean Basin and their distinction from a new African genus (Hemiptera: Pseudococcidae). *Bulletin of Entomological Research* 76:481-489.

Daane, K.M. and W.J., Bentley (2000) University of California Cooperative Extension <<http://vincemealybug.uckac.edu>>

Daane KM, Malakar-Kuenen R, Guillén M, Bentley WJ, Bianchi M, Gonzalez D. 2003. Abiotic and biotic refuges hamper biological control of mealybug pests in California vineyards. *Proceedings of the 1st International Symposium on Biological Control of Arthropods* (ed. R. van Driesch), pp. 389–398. FHTET-03055. USDA Forest Service Publishers, Morgantown, West Virginia.

Daane KM, Malakar-Kuenen RD, Walton VM. 2004. Temperature-development of *Anagyrus pseudococci* (Hymenoptera: Encyrtidae) as a parasitoid of the vine mealybug, *Planococcus ficus* (Homoptera: Pseudococcidae). *Biological Control* 31: 123-132.

Desneux N, Decourtye A, and Delpuech J-M. 2007. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology* 52: 81–106.

Don-Pendro KN. 1996. Fumigant toxicity of citrus peel oils against adults and immature stages of storage insect pests. *Pesticide Science* 47: 213-223.

Finney DJ. 1971. Probit Analysis, Third Edition. London: Cambridge University Press.

Goren AC, Topcu G, Bilsel G, Bilsel M, Wilkinson JM, Cavanagh HMA. 2004. Analysis of essential oil *Satureja thymbra* by hydrodistillation, thermal disorder, and headspace GC/MS techniques and its antimicrobial activity. *Natural Product Research* 18: 189-195.

Gülec G, Kilincer AN, Kaydan MB, Ulgenturk S. 2007. Some biological interactions between the parasitoid *Anagyrus pseudococci* (Girault) (Hymenoptera: Encyrtidae) and its host *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Coccoidea: Pseudococcidae). *Journal of Pest Science* 80: 43-49.

Harwood SH, Moldenke AF, Berry RE. 1990. Toxicity of peppermint monoterpenes to the variegated cutworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 83: 1761-1767.

Hassiotis CN, Tarantilis PA, Daferera D, Polissiou MG. 2010. Etherio, a new variety of *Lavandula angustifolia* with improved essential oil production and composition from natural selected genotypes growing in Greece. *Industrial Crops and Products* 32: 77-82.

Hollingsworth RG. 2005. Limonene, a citrus extract, for control of mealybugs and scale insects. *Ecotoxicology* 98: 772-779.

Ibrahim MA, Kainulainen P, Aflatuni A, Tiilokkala K, Holopainen JK. 2001. Insecticidal, repellent, antimicrobial activity and phytotoxicity of essential oils: with special reference to limonene and its suitability for control of insect pests (Review). *Agricultural and Food Science in Finland* 10: 243-259.

Isman MB. 2000. Plant essential oils for pest management and disease management. *Crop Protection* 19: 603-608.



Isman MB. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* 51:45–66.

Isman, M.B., Machial, C.M. & Miresmailli, S. (2007). Essential Oil-Based Pesticides: New Insights from old Chemistry. pp. 201-209. In: H. Ohkawa, H. Miyarawa and P.W. Lee (eds) *Pesticide Chemistry: Crop protection, Public Health, Environmental Safety*. Wiley – VCH.

Isman MB, Wilson JA, Bradbury R. 2008. Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*) against larvae of *Pseudaletia unipuncta* and *Trichoplusia ni* in relation to their chemical composition. *Pharmaceutical Biology* 46:82-87.

Karamaouna, F., A.C. Kimbaris, P. Papatsakona, E. Tsora, A. Michaelakis and D. Papachristos (2010) Effect of essential oils on the vine mealybug *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Book of Abstracts of the XII International Symposium on Scale Insect Studies*, 6-9 April 2010, Chania, Hellas, 58-59.

Καραμαούνα, Φ., Κυμπάρης, Α., Παπατσάκωνα, Π., Τσώρα, Ε., Μιχαηλάκης, Α. και Παπαχρήστος, Δ. (2010) Τοξικότητα αιθερίων ελαίων στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae). 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη, 3-6 Νοεμβρίου 2009.

Karamaouna F, Kimbaris A, Michaelakis A, Papachristos D, Polissiou M, Panagiota Papatsakona P, Tsora. 2012 Insecticidal activity of plant essential oils against the vine mealybug, *Planococcus ficus*. *Phytoparastica (submitted)*

Kimbaris AC, Papachristos DP, Michaelakis A, Martinou AF, Polissiou MG. 2010. Toxicity of plant essential oil vapours to aphid pests and their coccinellid predators. *Biocontrol Science and Technology* 20: 411-422.

Κοκαλιάρης, Σ., (2003) Παραγωγή αιθερίων ελαίων από αρωματικά φυτά. Πτυχιακή εργασία Τ.Ε.Ι Καλαμάτας. Καλαμάτα.

Kumar P, Mishra S, Malik A and Satya S. 2011. Repellent, larvicidal and pupicidal properties of essential oils and their formulations against the housefly, *Musca domestica*. *Medical and Veterinary Entomology* 25: 302–310.

MAPA [Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación]. 2012. *Registro de productos fitosanitarios*. <http://www.mapa.es/es/agricultura/pags/fitos/registro/menu.asp>

Michaelakis A, Papachristos D, Kimbaris A, Koliopoulos G, Giatropoulos A, Polissiou MG 2009. Citrus essential oils and four enantiomeric pinenes against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research* 105:769-773.

MiPAAF [Ministero delle Politiche Agricole, Alimentari e Forestali]. 2012. *Banca Dati Fitofarmaci*. Centro di Ricerca per la Patologia Vegetale, Roma. <http://www.sian.it/fitovis/>

Misra G and Pavlostathis SG. 1997. Biodegradation kinetics of monoterpenes in liquid and soil-slurry systems. *Applied Microbiology and Biotechnology* 47: 572-577.

Monta, L.D., Duso, C., and Malagnini, V. (2001) Current status of scale insects (Hemiptera: Coccoidea) in the Italian vineyards. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, 33 (3): 343-350.

Μιχαλόπουλος, Γ., Κοντοδήμας, Δ., Μυλωνάς Π. (2005) Ο ψευδόκοκκος του αμπελιού *Planococcus ficus* (Signoret) (Homoptera: Pseudococcidae). *Γεωργία-Κτηνοτροφία* 1:56-62.

Μπαρμπέρη, Ε. (2006) Αρωματικά και Φαρμακευτικά φυτά στην Ελλάδα. Πτυχιακή εργασία Τ.Ε.Ι Καλαμάτας. Καλαμάτα.

Μπουρτσουκλή, Δ. (2008) Παρουσίαση των κυριότερων αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών και η καλλιέργειά αυτών στην Ελλάδα. Προοπτικές και εξέλιξη. Πτυχιακή εργασία Τ.Ε.Ι Καλαμάτας. Καλαμάτα.

Ntalli NG, Ferrari F, Giannakou I, Menkissoglu Spiroudi U. 2010. Phytochemistry and nematocidal activity of the essential oils from 8 Greek Lamiaceae Aromatic plants and 13 terpene components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 58: 7856-7863.

Papachristos DP, Stamopoulos DC. 2002a. Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 38: 117-128.

Papachristos DP, Stamopoulos DC. 2002b. Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 38: 365-373.

Papachristos DP, Stamopoulos DC. 2004. Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* 40:517-525.

Papachristos DP, Kimbaris AC, Papadopoulos NT, Polissiou MG. 2009. Toxicity of citrus essential oils against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) larvae. *Annals of Applied Biology* 155: 381-389.

Petrakis PV, Roussis V, Papadimitriou D, Vagias C, Tsitsimpikou C. 2005. The effects of terpenoid extracts from 15 pine species on the feeding behavioural sequence of the late instars of the pine processionary caterpillar *Thaumetopea pityocampa*. *Behavioural Processes* 69: 303-322.

Rebenhorst J. 1996. Production of methoxyphenol-type natural aroma chemicals by biotransformation of eugenol with a new *Pseudomonas* sp. *Applied Microbiology and Biotechnology* 46: 470-474.

Sforza R., Kirk A, Jones WA. 2005. Results of foreign exploration for natural enemies of *Planococcus ficus* (Homoptera: Pseudococcidae), a new invasive mealybug in California vineyards. In 7th International Conference on Pests in Agriculture, 26-27 October 2005, Montpellier, France.



SPSS. 2005. SPSS Base 14.0 for Windows User's Guide. SPSS Inc., Chicago, IL.

Twoorkoski T. 2002. Herbicide effects of essential oils. *Weed Science* 50: 425–431.

Varikou K, Birouraki, A, Bagis N, Kontodimas DC. 2010. Effect of temperature on the development and longevity of *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae). *Annals of Entomological Society of America* 103: 943-948.

Walton VM. 2003. Development of an integrated pest management system for vine mealybug, *Planococcus ficus* (Signoret), in vineyards in the western Cape Province, South Africa. PhD Thesis. University of Stellenbosch, Stellenbosch, South Africa.

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. 2008. *Authorized Plant Protection Products Data base*. <http://www.minagric.gr/svspest/>

Scalenet: A datadase of the scale insects of the world  
<<http://www.sel.barc.usda.gov/scalenet/scalenet.htm>

Σκρουμπής, Β. (1988) Αρωματικά φυτά και αιθέρια έλαια. Θεσσαλονίκη

Τζανακάκης, Μ.Ε., και Κατσόγιαννος, Β.Ι., (2003) Έντομα καρποφόρων δένδρων και αμπέλου. Αγρότυπος, Μαρούσι, σελ. 360.

Tranfaglia, A. and Viggiani, G. (1972) Dati biologici sullo *Scymnus includens*(Kirsch). [Biological data on *Scymnus includens* (Kirsch)]. *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri' Portici*, 30: 9-18.

Walton V.M. (2003) Development of an integrated pest management system for vine mealybug, *Planococcus ficus* (Signoret), in vineyards in the western Cape Province, South Africa. PhD Thesis. University of Stellenbosch, Stellenbosch, South Africa.

**Ηλεκτρονικές διευθύνσεις:**

[http://bioapiculture.blogspot.com/2008/04/blog-post\\_4776.html](http://bioapiculture.blogspot.com/2008/04/blog-post_4776.html)

<http://www.bayercropscience.gr>

<http://www.etherio.gr> Η πληρέστερη συλλογή αιθέριων ελαίων στην Ελλάδα