

ΤΕΧΝΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι)  
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Μελέτη της τοξικότητας αιθέριων ελαίων φυτών της οικογένειας Lamiaceae  
στον ψευδόκοκκο του αμπελιού  
*Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae)

Πτυχιακή εργασία της σπουδάστριας

**Παναγιώτα Σ. Παπατσάκωνα**

Καλαμάτα, Νοέμβριος 2013

Φ7827

ΤΕΧΝΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι)  
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

Μελέτη της τοξικότητας αιθέριων ελαίων φυτών της οικογένειας Lamiaceae  
στον ψευδόκοκκο του αμπελιού  
*Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae)

Εισηγητής : Δρ Σταθάς Γεώργιος

Παναγιώτα Παπατσάκωνα  
Καλαμάτα, Νοέμβριος 2013

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Δρα Φιλίτσα Καραμαούνα για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε καθ' όλη την διάρκεια της μελέτης, την παροχή βιβλιογραφίας και φωτογραφικού υλικού.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω ακόμα τους Δρα Παπαχρήστο Δημήτρη και Δρα Μιχαηλάκη Αντώνη για την σπουδαία βοήθεια που μου παρείχαν κατά την διάρκεια της μελέτης μου αλλά και για την υπέροχη συνεργασία που είχαμε.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή μου Δρα Σταθά Γεώργιο για την ανάθεση και εξέταση της πτυχιακής μου μελέτης, καθώς και για όσα με δίδαξε κατά τη διάρκεια της φοίτησης μου στο Α.Τ.Ε.Ι Καλαμάτας.

Οφείλω επίσης να ευχαριστήσω την φίλη και συμφοιτήτρια μου Ελεάννα για την ιδιαίτερη βοήθεια που μου προσέφερε καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης αυτής.

Τέλος θα ήθελα από τα βάθη της καρδιάς μου να ευχαριστήσω την οικογένεια μου που τόσα χρόνια με στήριξε για να φτάσω ως εδώ, περισσότερο τη μητέρα μου Φωτεινή Παπατσάκωνα που παράλες τις δυσκολίες που αντιμετωπίσαμε ήταν πάντα δίπλα μου και να αφιερώσω αυτή την εργασία στη μνήμη του πολυαγαπημένου μου πατέρα Σπυρίδωνα Παπατσάκωνα.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η πτυχιακή μελέτη είναι υποχρεωτικό και αναπόσπαστο κομμάτι για την σταδιοδρομία των φοιτητών πάνω στο αντικείμενο των σπουδών τους, καθώς επίσης και ένα σημαντικό και απαραίτητο υπόβαθρο για την συνέχιση παραπάνω σπουδών σε αυτό το αντικείμενο.

Η επιλογή του θέματος αυτού, έγινε λόγω της ευαισθησίας μου για το περιβάλλον και του ενδιαφέροντος μου για την Βιολογική αντιμετώπιση των φυσικών εχθρών. Αυτό το ενδιαφέρον γιγαντώθηκε κατά την διάρκεια της πρακτικής μου άσκησης στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο με την επαφή που είχα με τα έντομα, την εξοικείωση που απέκτησα όσον αφορά την παρατήρησή τους, καθώς επίσης και με τις γνώσεις που αποκόμισα από όλα αυτά. Ήρθα σε επαφή με ένα ξεχωριστό κόσμο, και αυτό με έκανε να αγαπήσω ακόμα περισσότερο το αντικείμενο των σπουδών μου.

Η εργασία αυτή αποτελείται από 3 κεφάλαια:

Το πρώτο κεφάλαιο αναφέρεται στον ψευδόκοκκο *Planococcus ficus* και την αντιμετώπισή του.

Το δεύτερο κεφάλαιο αναφέρεται στα αιθέρια έλαια, τον ρόλο τους, την προέλευση και την σύνθεσή τους, και τέλος,

Το τρίτο κεφάλαιο περιλαμβάνει το πείραμα το οποίο πραγματοποιήθηκε σε συνθήκες εργαστηρίου στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο και εξετάζει την δράση των αιθέριων ελαίων στον ψευδόκοκκο *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae).

Τα αποτελέσματα της πτυχιακής εργασίας έχουν ανακοινωθεί σε δύο Συνέδρια (Karamaouna et al. 2010, Καραμαούνα κ.α. 2010) και έχουν δημοσιευτεί σε συνδυασμό με σχετικά στοιχεία για άλλα αιθέρια έλαια καρπούς εσπεριδοειδών για δημοσίευση σε έγκριτο επιστημονικό περιοδικό (Karamaouna et al., 2013).

<b>ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ</b> .....	3
<b>ΠΡΟΛΟΓΟΣ</b> .....	4
<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ</b> .....	6
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1</b> .....	7
<b>Ο ψευδόκοκκος του αμπελιού <i>Planococcus ficus</i></b> .....	7
1.1 Ιστορικό – Εξάπλωση .....	7
1.2 Μορφολογία – Βιολογία .....	7
1.3 Ξενιστές – Ζημιές .....	8
1.4 Χημική αντιμετώπιση.....	9
1.5 Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση.....	9
1.6 Βιολογική αντιμετώπιση.....	10
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2</b> .....	11
<b>Αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών και η εφαρμογή τους στη φυτοπροστασία από εντομολογικούς εχθρούς</b> .....	11
2.1 Αιθέρια έλαια.....	11
2.2 Ιστορικές Καταγραφές.....	11
2.3 Σύνθεση των αιθέριων ελαίων.....	12
2.4 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων .....	12
2.5 Παραλαβή των αιθέριων ελαίων .....	13
2.5.1. Απόσταξη.....	13
2.5.2. Εκχύλιση.....	14
2.5.3 Μηχανική Παραλαβή .....	15
2.5.4. Εκχύλιση με μικροκύματα (MAE: microwave assisted extraction).....	16
2.6 Ρόλος των αιθερίων ελαίων.....	16
2.7 Δράση των αιθέριων ελαίων στα έντομα.....	17
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3</b> .....	19
<b>Τοξικότητα αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών</b> .....	19
<b><i>Satureja thymbra</i> L. (θρούμπι), <i>Mentha piperita</i> (μέντα)</b> .....	19
<b><i>Lavandula angustifolia</i> Mill (λεβάντα) και <i>Ocimum basilicum</i> L. (βασιλικός)</b>	
3.1 Εισαγωγή.....	19
3.2 Σκοπός του πειράματος .....	20
3.3 Υλικά και μέθοδοι .....	20
3.3.1 Εντομοτροφείο – θάλαμος ανάπτυξης εντόμων.....	20
3.3.2 Κουτιά για την εκτροφή του ψευδόκοκκου.....	20
3.3.3 Φυτά ξενιστές – υποστρώματα .....	20
3.3.4 Λοιπός εξοπλισμός .....	22
3.3.5 Εκτροφή του ψευδόκοκκου <i>P. ficus</i> .....	21
3.3.6 Βιοδοκιμές .....	21
3.4 Πειραματικό σχέδιο και στατιστική ανάλυση .....	25
3.5 Αποτελέσματα .....	25
3.6 Συζήτηση αποτελεσμάτων .....	26
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	28

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της εργασίας ήταν να προσδιοριστεί η τοξική δράση τεσσάρων αιθέριων ελαίων στον ψευδόκκοκο του αμπελιού *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae). Τα αιθέρια έλαια που δοκιμάστηκαν προέρχονταν από αρωματικά φυτά *Satureja thymbra* L. (θρούμπι), *Mentha piperita* (μέντα), *Lavandula angustifolia* Mill (λεβάντα) και *Ocimum basilicum* L. (βασιλικός). Η παραλαβή των αιθέριων ελαίων από τα φυτά 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 3ης 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 του θρούμπιού και της μέντας που εξετάστηκαν φαίνεται να διαθέτουν αρκετά καλή εντομοκτόνο δράση, εφάμιλλη ενός ορυκτέλαιου, έναντι του ψευδόκοκκου του αμπελιού, ενώ προκάλεσαν ελαφρά φυτοτοξικότητα στα φύλλα του αμπελιού. Τα αιθέρια έλαια της λεβάντας και του βασιλικού ήταν μέτριας τοξικής δράσης κατά του ψευδόκοκκου κι επίσης το αιθέριο έλαιο του βασιλικού προκάλεσε σημαντική φυτοτοξικότητα, καθιστώντας για τους λόγους αυτούς αμφίβολη τη δυνατότητα αξιοποίησής τους ως δραστικές ουσίες εντομοκτόνων σκευασμάτων έναντι του ψευδόκοκκου του αμπελιού. Σε κάθε περίπτωση η παρούσα εργασία αποτελεί μία προκαταρκτική μελέτη για την εκτίμηση της τοξικής δράσης των εν λόγω αιθέριων ελαίων στον ψευδόκοκκο *P. ficus* και απαιτείται επιπλέον πειραματισμός για να διευκρινιστεί η αποτελεσματικότητά τους σε συνθήκες ημι-υπαίθρου και τελικά αγρού καθώς και 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 Ιστορικό – Εξάπλωση

Ο ψευδόκοκκος του αμπελιού *Planococcus ficus* (Signoret) (Hemiptera: Pseudococcidae) αποτελεί εντομολογικό εχθρό σε πολλές αμπελοπαραγωγικές περιοχές του κόσμου (Μεσογειακή ζώνη της Ευρώπης, Βόρεια και Νότια Αφρική, Μέση Ανατολή, Καλιφόρνια, Μεξικό, Αργεντινή). 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 είναι το κύριο είδος ψευδόκοκκου που προσβάλλει το αμπέλι (Ηράκλειο, Πελοπόννησος) (Μιχαλόπουλος κ.α. 2005).

Ο ψευδόκοκκος του αμπελιού *P. ficus* αποτελεί χαρακτηριστικό παράδειγμα εντόμου που ενδημούσε στα αμπέλια με σπάνιες εξάρσεις και που με την αλόγιστη χρήση εντομοκτόνων στα επιτραπέζια σταφύλια έγινε πλέον σημαντικός εχθρός για την καλλιέργεια. Η διαταραχή αυτή οφείλεται στην θανάτωση και παρεμπόδιση της δράσης των ιθαγενών φυσικών εχθρών του ψευδόκοκκου, επομένως θα πρέπει να γίνεται προσπάθεια για την προστασία τους.

### 1.2 Μορφολογία – Βιολογία

Το ενήλικο θηλυκό έχει ωοειδές σώμα, είναι μικρό (2.5-5mm) και το σώμα του καλύπτεται από άσπρο κηρώδες επίχρισμα. Το αρσενικό είναι πιο μικρό και έχει καστανοκίτρινο ή καστανοκόκκινο χρώμα. Η προνύμφη στην αρχή έχει χρώμα καστανό ανοικτό και στο τέλος παίρνει το χρώμα του ενήλικου θηλυκού. 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 *Planococcus citri* δεν είναι δυνατή.

Ο ψευδόκοκκος έχει 3-4 γενεές το χρόνο και διαχειμάζει ως ωό, νύμφη ή ως ακμαίο κάτω από τον φλοιό στον κορμό ή στις ρίζες ή σε άλλες προφυλαγμένες θέσεις. Τα αυγά από ωχροκίτρινα γίνονται πορτοκαλόχροα που υποδηλώνει ότι πλησιάζει ο χρόνος εκκόλαψης.

Με τη βοήθεια των μυρμηγκιών μεταφέρονται στις φωλιές τους και γι αυτό είναι πολύ δύσκολη η αντιμετώπιση. Η ζωνηρή κίνηση των μυρμηγκιών στο πρέμνο υποδηλώνει παρουσία του

ψευδόκοκκου. Η μεταφορά όμως μπορεί να γίνει με δυνατό άνεμο, με τις καλλιεργητικές εργασίες (ξεφύλλισμα, λάστιχα ραντίσματος κλπ), από τα πουλιά, από μεγαλύτερα έντομα π.χ. ακρίδες από πρέμνο σε πρέμνο με τη βοήθεια των συρμάτων υποστύλωσης που τα διασχίζουν οι κινητές νεαρές νύμφες.

Την άνοιξη το έντομο δραστηριοποιείται και τα θηλυκά άτομα ωοτοκούν και προσβάλλουν την νεαρή βλάστηση. Τα θηλυκά γεννούν 200-400 αυγά σε ωόσακκο απ'όπου αρχίζει η ανάπτυξη της 2ης γενεάς. Στη 2η γενεά οι κινούμενες προνύμφες μετακινούνται στα φύλλα και σταφύλια που συνεχίζουν τον ίδιο κύκλο. Το έντομο αυτό έχει 3-4 γενιές το χρόνο. Το φθινόπωρο μετακινείται κάτω από τις φλούδες στις διχάλες των βραχιόνων και το κορμό όπου διαχειμάζει. Γενικά προτιμούν υγρά και σκιερά μέρη, ενώ ο ξηρός καιρός δεν το ευνοεί.

### 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* (Aprocynaceae), ο φίκος ο βενιαμίν *F. benjamini*, η ντάλια *Dahlia* sp. κ.α.

Προσβάλλει όλα τα φυτικά μέρη και τα καλύπτει με βαμβακώδη κέρινα νημάτια. Οι καρποί υφίστανται σημαντική υποβάθμιση ως προς την εμπορική τους αξία από τα διάφορα αποχωρήματα του εντόμου και την άφθονη μελιτώδη ουσία που εκκρίνει. Εξασθενεί τα φυτά με την απομύζηση χυμών κι επιπλέον προκαλεί την ανάπτυξη καπνιάς στα μελιτώδη εκκρίματά του. Στα εσπεριδοειδή μπορεί να προκαλέσει και πτώση μικρών καρπών.

Η συκιά αποτελεί τον κυριότερο ξενιστή και αποτελεί εστία διασποράς του στα αμπέλια με το δυνατό άνεμο, πουλιά κλπ. Συκιές μέχρι και υψόμετρο 800μ φιλοξενούν στις σχισμές του κορμού όλα τα στάδια του εντόμου.

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



φορέαςλώσεων 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.

#### 1.4 Χημική αντιμετώπιση

Για τη χημική αντιμετώπιση του ψευδόκοκκου *P. ficus* συστήνονται δύο ψεκάσμοι με θερινό ορυκτέλαιο ή άλλα κατάλληλα εντομοκτόνα στο μέγιστο της εκκόλαψης των νυμφών της 1ης και 2ης γενιάς και ένας χειμερινός ψεκάσμος με χειμερινό ορυκτέλαιο ή θερινό ορυκτέλαιο μαζί με οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο, ή άλλο κατάλληλο εντομοκτόνο.

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

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.

#### 1.5 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 .

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.

## 1.6 Βιολογική αντιμετώπιση

Σημαντική πηγή θνησιμότητας του ψευδόκοκκου του αμπελιού *P. ficus* είναι οι φυσικοί του εχθροί. 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*, *Leptomastidea abnormis*, *Leptomastix flavus*, *Leptomastix dactylopii* και *Coccidoxenoides peregrinus* (Hymenoptera: Encyrtidae) και τα αρπακτικά *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera: Coccinellidae) και τα αρπακτικά αυγών Cecidomyiidae.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

### Αιθέρια έλαια αρωματικών φυτών και η εφαρμογή τους στη φυτοπροστασία από εντομολογικούς εχθρούς

#### 2.1 Αιθέρια έλαια

Σύμφωνα με τον Hergreaves (1975), αιθέρια έλαια θεωρείται η ομάδα των αρωματικών πτητικών ουσιών, οι οποίες είναι διαλυτές στην αλκοόλη, λιγότερο διαλυτές στο νερό και αποτελούνται από ένα μίγμα εστέρων, αλδεϋδών, κετονών και τερπενίων. Η σύνθεσή τους είναι αποτέλεσμα αποκλειστικά φυσικών ενζυματικών αντιδράσεων. Το χαρακτηριστικό άρωμα κάθε αιθέριου ελαίου είναι συνισταμένη όλων των συστατικών του, αλλά πολλές φορές η παρουσία ενός μόνο συστατικού σε αναλογία 1% ή και μικρότερη, έχει σαν αποτέλεσμα την αλλαγή του αρώματος.

Στα φυτά η παραγωγή των αιθερίων ελαίων γίνεται σε ειδικευμένους εκκριτικούς σχηματισμούς, όπως τα ελαιοφόρα δοχεία, αδενώδη τοιχώματα, ελαιοφόροι πόροι και ιδιόβλαστα ελαιοκύτταρα. Ο πραγματικός ρόλος των αιθερίων ελαίων για τα φυτά δεν έχει γίνει ακόμη γνωστός. Γύρω από το ρόλο και τη σημασία των αιθερίων ελαίων έχουν γίνει μόνο υποθέσεις. Τα αιθέρια έλαια είναι πρόδρομες ουσίες δραστικών μεταβολιτών και μειώνουν την απώλεια του νερού με την διαπνοή. Τα αιθέρια έλαια προσελκύουν τα έντομα, που μαζεύουν τη γύρη και βοηθούν έτσι στην αναπαραγωγή και επικονίαση. Τέλος τα αιθέρια έλαια, λόγω των διαφόρων συστατικών που περιέχουν, έχουν αντισηπτικές ιδιότητες και ενεργούν κατά των βακτηρίων, των μυκήτων και των ζυμών.

#### 2.2 Ιστορικές Καταγραφές

Οι αρχαίοι Έλληνες και οι Ρωμαίοι χρησιμοποιούσαν όλα σχεδόν τα αρωματικά φυτά σαν αρτύματα και για τον αρωματισμό του κρασιού. Η εμπορία των αιθερίων ελαίων ξεκίνησε από την Ασία, πριν από 6000-7000 χρόνια, από τους Κινέζους και συνεχίστηκε από τους Άραβες οι οποίοι το μετέφεραν στην Ευρώπη. Η μέθοδος της απόσταξης για την παραγωγή και απομόνωση των αιθερίων ελαίων, εφαρμόστηκε για πρώτη φορά από ανατολικούς λαούς και ιδίως από τους Ινδούς, Πέρσες και Αιγυπτίους. Το πρώτο αιθέριο έλαιο, που αποστάχθηκε με πρωτόγονο τρόπο, ήταν το τερεβινθέλαιο που βγαίνει από το ρετσίνι των κωνοφόρων δένδρων. Για να εξάγουν τα αιθέρια έλαια από τα άνθη, τα φύλλα και τις ρίζες, τοποθετούσαν τα φυτικά αυτά τμήματα μέσα σε δοχεία, που

περιείχαν λίπος εκλεκτής ποιότητας και τα άφηναν στον ήλιο για κάποιο χρονικό διάστημα. Με την αφαίρεση του λίπους, το προϊόν που παρέμενε ήταν μια αρωματική αλοιφή.

Η πρώτη λεπτομερής περιγραφή απόσταξης αιθερίων ελαίων, ανήκει στον Καταλανό γιατρό Arnald de Villanova (1235-1311). Η απόσταξη σαν μέθοδος παραλαβής του αιθέριου ελαίου από τα φυτά, με τη βοήθεια της θερμότητας, πραγματοποιήθηκε από τον Ελβετό Bombastus Paracelsus von Hohenheim (1493-1541). Μέχρι τον 18<sup>ο</sup> αιώνα αρκετοί ερευνητές, κυρίως φαρμακοποιοί, ασχολήθηκαν και περιέγραψαν τις μεθόδους παραλαβής και την φύση των αιθερίων ελαίων. Ο 18ος αιώνας μπορεί να χαρακτηριστεί ως ο αιώνας των Άγγλων βοτανολόγων.

### 2.3 Σύνθεση των αιθερίων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια απαντώνται συνήθως σε εξωτερικούς ή εσωτερικούς θύλακες (αδένες) κυρίως στα πράσινα μέρη του φυτού, στα άνθη ενώ οι ποσότητες που βρίσκονται μέσα στα φυτά είναι πολύ μικρές της τάξεως του 0,3% - 0,7%. Η κατανομή των αδένων στα φυτικά όργανα είναι ακανόνιστη, για παράδειγμα στην κάτω επιφάνεια των φύλλων μέντας περιέχονται 10-25 αδένες ενώ στην πάνω επιφάνεια 1-6 σε κάθε τετραγωνικό χιλιοστό. Η σύνθεση τους είναι αποτέλεσμα αποκλειστικά φυσικών ενζυματικών αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα όταν ο νεαρός φυτικός ιστός του καρυκεύματος σπάσει ή μικροτεμαχιστεί.

Γενικά τα συστατικά των αιθερίων ελαίων χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, στα οξυγονούχα και στα μη οξυγονούχα.

Τα οξυγονούχα συστατικά είναι υπεύθυνα για το χαρακτηριστικό άρωμα των αιθερίων ελαίων και τα κυριότερα αυτών είναι τα εξής: Αλκοόλες, Αλδεΐδες, Κετόνες, Φαινόλες, Οξέα και Εστέρες.

Τα κυριότερα μη οξυγονούχα συστατικά είναι τα μονοκυκλικά και δικυκλικά τερπένια όπως το λεμονένιο, πινένιο και καμφένιο. Επίσης περιλαμβάνουν τους υδατάνθρακες, οι οποίοι έχουν ελάχιστη συμβολή στο άρωμα των αιθερίων ελαίων.

### 2.4 Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων

Από χημική άποψη, τα φυτικά αιθέρια έλαια αποτελούνται κυρίως από τερπένια. Τα τερπένια είναι μικρά οργανικά μόρια που εμφανίζουν τεράστια ποικιλομορφία ως προς τη δομή τους. Σήμερα γνωρίζουμε τη δομή χιλιάδων τερπενίων, μερικά από αυτά είναι υδρογονάνθρακες, άλλα περιέχουν άτομα οξυγόνου, άλλα είναι μόρια ανοιχτής αλυσίδας και άλλα περιέχουν δακτυλίους.

## 2.5 Παραλαβή των αιθέριων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια παραλαμβάνονται από τα αρωματικά φυτά με διάφορες μεθόδους όπως απόσταξη, εκχύλιση και μηχανική παραλαβή καθώς και με νέες τεχνικές όπως εκχύλιση με υπέρηχους και με μικροκύματα.

### 2.5.1. Απόσταξη

Η μέθοδος της απόσταξης είναι η πιο διαδεδομένη και οικονομική μέθοδος.

#### **Υδροαπόσταξη (water distillation)**

Στην υδροαπόσταξη, το προς απόσταξη φυτικό υλικό, τοποθετείται σε σφαιρική φιάλη με νερό, η οποία συνδέεται με ψυκτήρα και με θερμαντική συσκευή. Το χαρακτηριστικό της μεθόδου αυτής είναι ότι το νερό και το φυτικό υλικό είναι σε άμεση επαφή. Στην υδροαπόσταξη πρέπει να αποφεύγεται η υπερθέρμανση του φυτικού υλικού, ώστε να μην συμβαίνει θερμική διάσπαση διαφόρων συστατικών του αιθερίου ελαίου. Τα μειονεκτήματα της μεθόδου είναι: μεγάλος χρόνος, μικρή απόδοση σε αιθέριο έλαιο, παραλαβή κατώτερης ποιότητας αιθερίου ελαίου.

#### **Υδροατμοαπόσταξη (water and steam distillation)**

Στην υδροατμοαπόσταξη το φυτικό υλικό δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό, αλλά τοποθετείται σε πλέγμα που βρίσκεται πιο ψηλά από την επιφάνεια του νερού. Ο ατμός που σχηματίζεται από την θέρμανση του νερού, έρχεται σε επαφή με τη μάζα του φυτικού υλικού και παρασύρει το αιθέριο έλαιο.

#### **Απόσταξη με υδρατμούς (steam distillation)**

Στην απόσταξη με υδρατμούς εισάγεται ατμός, ο οποίος παράγεται σε ειδικό ατμολέβητα, που περιέχει το φυτικό υλικό και ο ατμός παρασύρει το αιθέριο έλαιο. Στην απόσταξη με υδρατμούς ανήκει η συσκευή μικροαπόσταξης- εκχύλισης Likens- Nickerson. Η συσκευή αποτελείται από το κύριο σώμα, διαμορφωμένο για οργανικούς διαλύτες ελαφρύτερους του νερού, έναν ψυκτήρα και δύο φιάλες, μια σφαιρική και μια απιοειδή. Το δείγμα τοποθετείται μαζί με νερό (σε αναλογία 1/10) στη σφαιρική φιάλη και ο οργανικός διαλύτης (κυρίως διαιθυλαιθέρας) στην απιοειδή και θερμαίνεται με υδατόλουτρο. Οι σχηματιζόμενοι ατμοί από την σφαιρική φιάλη, που περιέχουν τα πτητικά συστατικά του αιθερίου ελαίου, φθάνουν στο ψυκτήρα, υγροποιούνται και κυλούν στον κύριο χώρο της συσκευής, όπου υπάρχει σε ισορροπία η οργανική και η υδατική φάση. Εκεί τα



πητικα συστατικα εκχυλιζονται απο τον οργανικο διαλυτη. Στο τελος της διαδικασιας (μετα απο 1 ωρα τουλαχιστον) όλα τα συστατικα του αιθεριου ελαιου εχουν συγκεντρωθει στην αποιδη φιαλη.

### **2.5.2. Εκχύλιση**

Η συνήθης περίπτωση διαχωρισμού με εκχύλιση, είναι η υγρό- υγρό εκχύλιση. Η εκχύλιση αυτή με υγρούς διαλύτες (συνήθως νερό – οργανικός διαλύτης) βασίζεται στην κατανομή της διαλυμένης ουσίας μεταξύ δύο υγρών, τα οποία είναι πρακτικώς μη αναμίξιμα ( υδατική – οργανική φάση). Στην υδατική φάση κατά κύριο λόγο συλλέγονται οι πολικές ουσίες και τα ανόργανα συστατικά, ενώ στην οργανική οι μη πολικές ουσίες.

Η μέθοδος της εκχύλισης χρησιμοποιείται για την παραλαβή του αιθεριου ελαιου απο φυτικα υλικα, τα οποία είναι ευπαθη στην αποσταξη, όπως ανθη και φυλλα. Ανάλογα με το χρησιμοποιούμενο εκχυλιστικό υλικό, διακρίνεται σε εκχύλιση με ψυχρό λίπος, εκχύλιση με θερμό λίπος, με πτητικούς διαλύτες και σε υπερκρίσιμη εκχύλιση.

#### **Εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες**

Ως διαλύτες χρησιμοποιούνται κυρίως ο πετρελαϊκός αιθέρας, το βενζόλιο, η αιθυλική αλκοόλη. Το προϊόν που λαμβάνεται κατά την εκχύλιση, μετά την απομάκρυνση του πτητικού διαλύτη, εκτός από το αιθέριο έλαιο περιέχει και άλλες ουσίες, όπως κύρους και χρωστικές. Μετά από επεξεργασία με αιθυλική αλκοόλη λαμβάνεται τελικά το αιθέριο έλαιο.

#### **Εκχύλιση με ψυχρό λίπος**

Η εκχύλιση με ψυχρό λίπος αποτελεί βελτίωση του τρόπου παρασκευής αρωματικών αλοιφών. Το λίπος που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι καθαρό και ημίσκληρο. Το λίπος έχει την ικανότητα να απορροφά και να συγκρατεί τις πτητικές ουσίες με τις οποίες έρχεται σε επαφή. Η εκχύλιση διαρκεί 24-30 ώρες, ενώ το λαμβανόμενο λίπος μαζί με το αιθέριο έλαιο ή διατίθεται ως έχει ή επεξεργάζεται με αλκοόλη .

#### **Εκχύλιση με θερμό λίπος**

Η εκχύλιση αυτή ομοιάζει με την εκχύλιση με ψυχρό λίπος, με τη διαφορά ότι τα άνθη και το λίπος τοποθετούνται σε δοχεία που θερμαίνονται στους 80<sup>0</sup>C. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται για την παραλαβή των αιθεριων ελαιων απο εσπεριδοειδη και τριαντάφυλλα.



### **Εκχύλιση με υδρόφιλους διαλύτες**

Τελευταία χρησιμοποιούνται υδατοδιαλυτοί διαλύτες ως εκχυλιστικά μέσα ή σε ανάμιξη με το νερό, για την παραλαβή των περισσότερων φυτικών συστατικών, που χρησιμοποιούνται στην κοσμετολογία. Τέτοιοι διαλύτες είναι η αιθυλενογλυκόλη, προπυλενογλυκόλη, η βουτεενογλυκόλη.

### **Υπερκρίσιμη Εκχύλιση (SFE)**

Κάθε συστατικό σε θερμοκρασία και πίεση πάνω από το κρίσιμο σημείο (το σημείο που αλλάζει φάση) βρίσκεται σε υπερκρίσιμη κατάσταση. Πάνω από την κρίσιμη θερμοκρασία ένα συστατικό που είναι αέριο δεν μπορεί να υγροποιηθεί παρόλη την εφαρμογή υψηλής πίεσης. Η κρίσιμη πίεση είναι των ατμών του αερίου σε κρίσιμη θερμοκρασία. Το ρευστό σε υπερκρίσιμο περιβάλλον διατηρεί τις ιδιότητες τόσο της υγρής όσο και της αέριας φάσης. Η υπερκρίσιμη εκχύλιση είναι μια ραγδαία αναπτυσσόμενη μέθοδος διαχωρισμού, χρησιμοποιώντας διαλύτες όπως το διοξείδιο του άνθρακα CO<sub>2</sub> σε υπερκρίσιμες συνθήκες. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την πλήρη απομάκρυνση του CO<sub>2</sub> από το εκχύλισμα, με μια απλή εκτόνωση σε ατμοσφαιρική πίεση. Βασικό μειονέκτημα της μεθόδου είναι η μεγάλες πιέσεις λειτουργίας, που συνεπάγεται μεγάλο κόστος, καθώς επίσης και η πολυπλοκότητά της.

### **Εκχύλιση με υπερήχους**

Στην εκχύλιση με υπέρηχους, το δείγμα τοποθετείται με κατάλληλο οργανικό διαλύτη σε λουτρό υπερήχων. Η διάδοση των υπερήχων χαρακτηρίζεται από ελάχιστη συχνότητα 16kHz και προκαλεί κίνηση του υγρού λόγω συμπίεσης και αραιώσης. Με την αύξηση της πίεσης επιτυγχάνονται φαινόμενα διεύθυνσης και μεταφοράς, ενώ με την αύξηση της θερμοκρασίας επιταχύνονται φαινόμενα διάχυσης και διαλυτοποίησης. Με την χρήση των υπερήχων μειώνεται ο χρόνος εκχύλισης, χρησιμοποιούνται μικρότεροι όγκοι διαλυτών και εκχυλίζονται ταυτόχρονα πολλά δείγματα. Η εκχύλιση με υπέρηχους εφαρμόζεται στον προσδιορισμό ενώσεων που είναι θερμικά ασταθείς.

### **2.5.3 Μηχανική Παραλαβή**

Εδώ τα αιθέρια έλαια παραλαμβάνονται με μηχανικά μέσα (πιεστήρια). Χρησιμοποιούνται στους ξηρούς καρπούς και στους φλοιούς των εσπεριδοειδών. Τα μηχανήματα για τους ξηρούς καρπούς είναι πιεστήρια, που μοιάζουν με αυτά που χρησιμοποιούνται στα ελαιοτριβεία. Τα μηχανήματα για τους φλοιούς των εσπεριδοειδών, είτε ξύνουν είτε τρυπούν τους φλοιούς με αποτέλεσμα την απελευθέρωση των αιθερίων ελαίων, που στη συνέχεια διαχωρίζονται από το στερεό υπόλειμμα.

#### **2.5.4. Εκχύλιση με μικροκύματα (MAE: microwave assisted extraction)**

Τις τελευταίες δεκαετίες υπήρχε έντονο ενδιαφέρον για την ανάπτυξη νέων τεχνικών παραλαβής των αιθερίων ελαίων, με την χρήση των οποίων έχει τελικά επέλθει σημαντική μείωση στο χρόνο εκχύλισης και στον όγκο δείγματος διαλύτη. Έτσι άρχισε η χρήση των μικροκυμάτων (MW) στην εκχύλιση.

Με τα μικροκύματα υπάρχει σημαντική μείωση στο χρόνο εκχύλισης, σε σχέση με τις κλασσικές μεθόδους (Soxhlet). Με τις συμβατικές μεθόδους η θερμότητα μεταδίδεται από την θερμαντική πλάκα στο δοχείο θέρμανσης και από εκεί στο διάλυμα. Αντίθετα με τα μικροκύματα η θέρμανση ξεκινάει από το δείγμα, μιας και το δοχείο δεν απορροφά την ακτινοβολία των μικροκυμάτων. Όπως φαίνεται παρακάτω, η θερμότητα, που παράγεται από τα MW, είναι εξάρτηση του διαλύματος. Αυτό συμβαίνει μιας και υπάρχουν διαλύτες που απορροφούν τα MW (π.χ μεθανόλη) και άλλοι που δεν την απορροφούν και επομένως δεν θερμαίνονται (π.χ εξάνιο). Με την MAE υπάρχει επίσης και σημαντική μείωση στον όγκο δείγματος και διαλύτη, σε σχέση με την Soxhlet, λόγω της αποδοτικότερης εκχύλισης.

#### **Solvent Free Microwave Extraction (SFME)**

Η SFME είναι μια τεχνική που συνδυάζει την ακτινοβολία των μικροκυμάτων και την ξηρή απόσταξη. Με την τεχνική αυτή το φυτικό μέρος τοποθετείται σε δοχείο, μέσα σε φούρνο μικροκυμάτων, χωρίς την προσθήκη νερού ή κάποιου οργανικού διαλύτη. Τα μικροκύματα αλληλεπιδρούν με το εγκλωβισμένο (εσωτερικό) νερό, που υπάρχει στο φυτό, προκαλώντας την θέρμανσή του. Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη διαστολή των κυττάρων του φυτού, τη ρήξη των αδένων των ελαιοφόρων υποδοχέων και τελικά την απελευθέρωση του αιθέριου ελαίου. Το αιθέριο έλαιο, στη συνέχεια εξατμίζεται μαζί με το 'εσωτερικό' νερό και παραλαμβάνεται με την βοήθεια ψυκτήρα.

### **2.6 Ρόλος των αιθερίων ελαίων**

Τα αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνταν κυρίως στην αρωματοποιία αλλά και στην ιατρική. Ήταν ήδη διαδεδομένη η χρήση τους για την αντιμετώπιση μιας μεγάλης ποικιλίας σωματικών και ψυχικών δυσαρμονιών, τόσο από τους βοτανολόγους όσο και από τους γιατρούς, που διατηρήθηκε μέχρι τα τέλη του 19ου αιώνα. Συνήθως χρησιμοποιούνταν αρωματικά φυτά για θεραπευτικούς σκοπούς και τα πιο διαδεδομένα ήταν το χαμομήλι, η κανέλλα, το θυμάρι, το δενδρολίβανο, η δάφνη, ο μάραθος κ.α. Μέχρι το 1940, ο κύριος ρόλος των αιθερίων ελαίων ήταν στο να αρωματίζουν τα σύνθετα

(χημικά φάρμακα), τα οποία είχαν αντικαταστήσει τα παραδοσιακά βότανα. Σκευάσματα φυτικής προέλευσης από περισσότερα από 2.000 είδη φυτών έχουν διαπιστωθεί να έχουν εντομοκτόνο δράση, όπως πχ. είδη των οικογενειών *Ariaceae* (καρότο), *Lamiaceae* (μέντα), *Myrtaceae* (μυρτιά) και *Rutaceae* (εσπεριδοειδή).

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

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

Η μελέτη των αιθερίων ελαίων συνεχίζεται έως σήμερα, με αποτέλεσμα να έχουν μελετηθεί τα περισσότερα από αυτά. Σε αυτό έχει βοηθήσει η εφαρμογή νέων, βελτιωμένων μεθόδων ανάλυσης. Οι κυριότερες από αυτές είναι η αέρια χρωματογραφία (GC), η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC), η φασματογραφία μαζών (MS).

## 2.7 Δράση των αιθερίων ελαίων στα έντομα

Τα έντομα χρησιμοποιούν τα αιθέρια έλαια μαζί με άλλα χημικά και οπτικά ερεθίσματα στην επιλογή ή απόρριψη ενός φυτού. Αιθέρια έλαια από τα φυτά ξενιστές και ιδιαίτερα τα άνθη είναι ισχυρά ελκυστικά για πολλά έντομα. Τα ίδια αιθέρια έλαια έχει αποδειχθεί ότι είναι ελκυστικά για ορισμένα αρπακτικά και υμενόπτερα παρασιτοειδή, φυσικούς εχθρούς φυτοпараσιτικών εντόμων.

Τα αιθέρια έλαια επίσης έχουν εντομο-απωθητικές ιδιότητες προσφέροντας προστασία στο φυτό από έντομα-εχθρούς. Οι εντομο-απωθητικές ιδιότητες ορισμένων αιθερίων ελαίων είναι γνωστές εδώ και πολλά χρόνια. Αιθέρια έλαια χρησιμοποιούνται από τους ανθρώπους για την προστασία προϊόντων, ζώων αλλά και των ίδιων από επιβλαβή έντομα.

Εκτός από τις απωθητικές ιδιότητες πολλά αιθέρια έλαια παρεμποδίζουν την τροφική δραστηριότητα των εντόμων, ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις είναι τοξικά. Η εντομοκτόνος δράση των αιθερίων ελαίων έχει μελετηθεί εκτεταμένα. Βιοδοκιμές αιθέριου ελαίου της λεβάντας *L. officinalis* στο στάδιο των ωών και των ενήλικων θηλυκών σε αρπακτικά ακάρεα *Euseius yousefi*

Zaher and el-Borolossy, *Typhlodromus athiasae* Porth and Swirski, *Amblyseius zaheri* Yousef and el-Borolossy, *Neoseiulus barkeri* (Hughes) έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο της λεβάντας ήταν ιδιαίτερα τοξικό και στα δύο στάδια του *Euseius yousefi* Zaher and el-Borolossy και σχετικά μη τοξικό στο *Typhlodromus athiasae* Porth and Swirski.

Μελέτες των Momen et al. (2001) και Momen and Amer (2003) με αιθέρια έλαια μέντας (*Mentha viridis*, *Mentha piperita* L.), βασιλικού και λεβάντας (*L. officinalis*) σε διάφορα αρπακτικά ακάρεα Phytoseiidae έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια της μέντας και του βασιλικού ήταν τοξικά στο *Euseius yousefi* Zaher and el-Borolossy ενώ το αιθέριο έλαιο της λεβάντας ήταν τοξικό στο *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot. Το αιθέριο έλαιο του βασιλικού ήταν σχετικά μη τοξικό στα θηλυκά άτομα του *A. swirskii*.

Μελέτη της οξείας τοξικότητας τεσσάρων αιθέριων ελαίων των φυτών *Majorana hortensis* Moench, *Rosmarinus officinalis* L., *M. piperita* and *L. officinalis* σε ενήλικα θηλυκά του αρπακτικού ακάρεως *A. swirskii*, έδειξε ότι το αιθέριο έλαιο μέντας ήταν το πιο τοξικό στα θηλυκά άτομα ενώ το αιθέριο έλαιο της λεβάντας ήταν το λιγότερο τοξικό στα αρπακτικά.



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### Τοξικότητα αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών *Satureja thymbra* L. (θρούμπι), *Mentha piperita* (μέντα), *Lavandula angustifolia* Mill (λεβάντα) και *Ocimum basilicum* L. (βασιλικός)

#### 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. 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.

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.

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. 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 πρέμων, καθώς και των αρνητικών επιπτώσεων στους πληθυσμούς των φυσικών εχθρών του ψευδόκοκκου. 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.

Πολύ λίγα εντομοκτόνα (κυρίως ορυκτέλαια) είναι εγκεκριμένα για χρήση κατά του ψευδόκοκκου *P. ficus* στην Ευρωπαϊκή Ένωση, γεγονός που αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης ανθεκτικότητας.

Τέλος, οι αρνητικές επιπτώσεις από την εντατική χρήση των συνθετικών εντομοκτόνων στην υγεία και το περιβάλλον 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, ωστόσο υπάρχουν πολύ λίγα στοιχεία για την δράση τους στους ψευδόκοκκους.

### 3.2 Σκοπός του πειράματος

Σκοπός της εργασίας ήταν να προσδιοριστεί η τοξική δράση των αιθέριων ελαίων φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *Planococcus ficus* (Hemiptera: Pseudococcidae), καθώς και τυχόν φυτοτοξικότητα αυτών στο αμπέλι.

Τα αιθέρια έλαια που δοκιμάστηκαν προέρχονταν από τα αρωματικά φυτά *Satureja thymbra* L. (θρούμπι), *Mentha piperita* L. (μέντα), *Lavandula angustifolia* Mill (λεβάντα) και *Ocimum basilicum* L. (βασιλικός).

### 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 1α).

#### 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.

Το πείραμα (βιοδοκιμές με τα αιθέρια έλαια) πραγματοποιήθηκε σε φύλλα αμπελιού ποικιλίας «Σουλτανίνα», *Vitis vinifera* L. cv. Sultana.



### 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 ψεκάσμό 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 έγινε με βάσεις τις κλείδες ταξινόμησης των Cox και Ben-Don (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 (Εικόνα 1). Τα κουτιά εκτροφής του ψευδόκοκκου διατηρούνταν σε θάλαμο ανάπτυξης με ελεγχόμενη θερμοκρασία  $26^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  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 Βιοδοκιμές

Η μελέτη της επίδρασης των αιθέριων ελαίων των αρωματικών φυτών βασιλικός, θρούμπι, λεβάντα και μέντα στον ψευδόκοκκο του αμπελιού *P. ficus* έγινε με βιοδοκιμές στο εργαστήριο με απ' ευθείας έκθεση του εντόμου στο ψεκάστικό 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 λεπτό στρώμα άγαρ για τη διατήρηση της υγρασίας τους. Το άγαρ είχε προηγουμένως αποστειρωθεί σε κλίβανο υγρής αποστείρωσης (αυτόκαυστο – autoclave) στους  $121^{\circ}\text{C}$  για 20 λεπτά.



**Εικόνα 1α.** Πλαστικά κουτιά που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτροφή του ψευδόκοκκου *Planococcus ficus*



**Εικόνα 1β.** Πατάτα με ψευδόκοκκο *Planococcus ficus*.

Δοκιμάστηκαν δύο κλάσεις μεγέθους του ψευδόκοκκου, 1-1.5 mm και > 1.5 mm (κυρίως 3ης ηλικίας νύμφες και ενήλικα θηλυκά άτομα πριν την ωοτοκία, αντίστοιχα). Μερικές ώρες πριν τις βιοδοκιμές, ψευδόκοκκοι του ίδιου περιόπου μεγέθους μεταφέρονταν από την μαζική εκτροφή στα τρυβλία Petri. Σε κάθε τρυβλίο τοποθετούνταν δέκα άτομα ψευδόκοκκου από μία κλάση μεγέθους (Εικόνα 2).

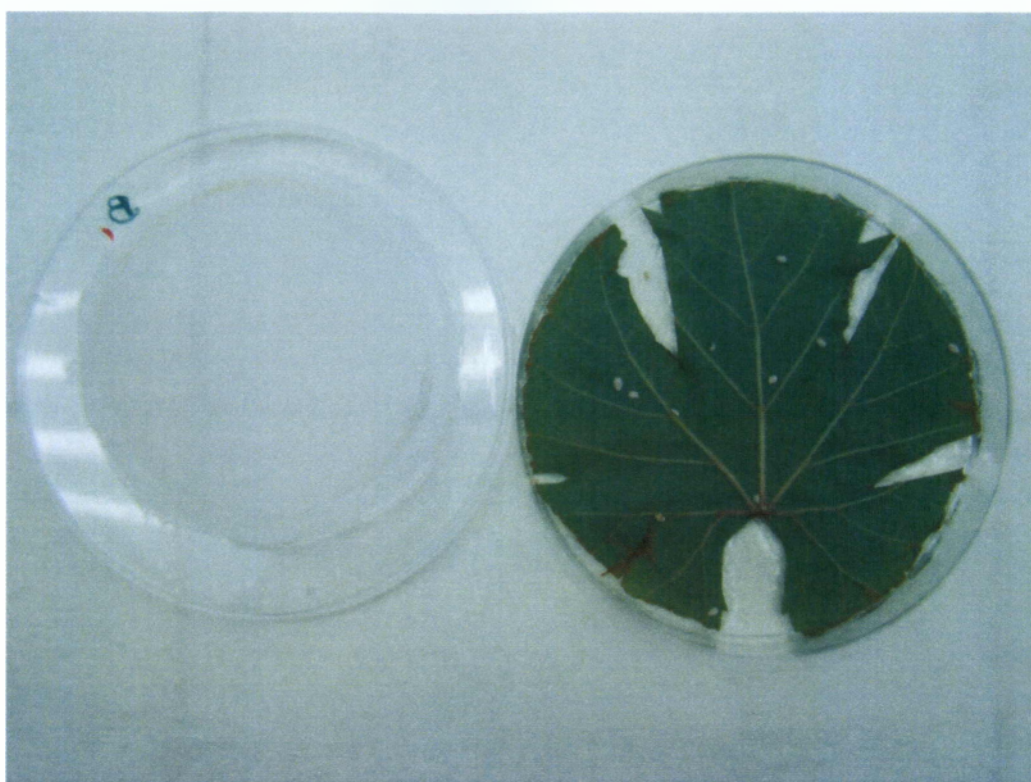
Κάθε τρυβλίο ψεκάζονταν με 1 mL υδατικού διαλύματος αιθέριου ελαίου από θρούμπι, μέντα, λεβάντα ή βασιλικό (με 2% Tergitol γαλακτωματοποιητή). Ο ψεκασμός πραγματοποιήθηκε με ένα μικρού όγκου ψεκαστικό δοχείο με varoizateur για φαρμακευτική χρήση. Αμέσως μετά τον ψεκασμό απομακρύνονταν από τα τρυβλία η περίσσεια του ψεκαστικού διαλύματος, τα τρυβλία 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 Triona 81 EW (ορυκτέλαιο 81% β/β σε μορφή γαλακτώματος).

Η επιλογή του σκεύασματος αναφοράς βασίστηκε στα εξής: α) το σκεύασμα Triona 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 Triona 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.

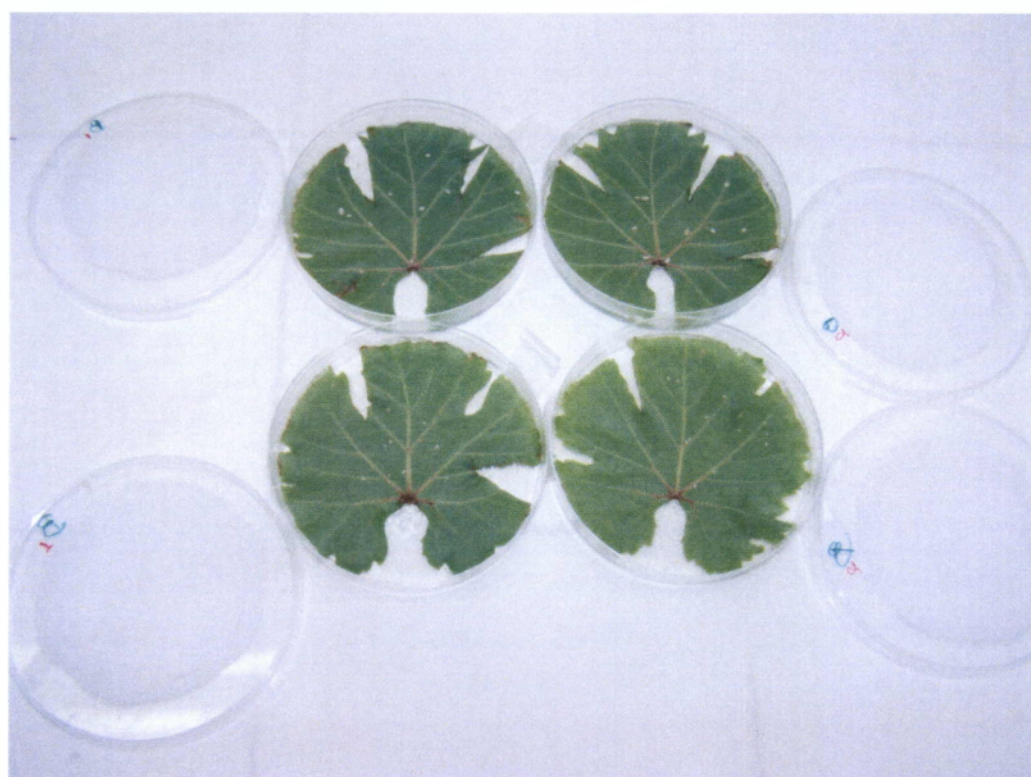
Δοκιμάστηκαν 3-4 συγκεντρώσεις (mg αιθέριου ελαίου η ορυκτέλαιου/mL υδατικού διαλύματος Tergitol) για κάθε αιθέριο έλαιο/σκεύασμα αναφοράς και κλάση μεγέθους του ψευδόκοκκου: 4.5, 9, 13.5 και 18 mg/mL για το θρούμπι, 4.5, 9 και 18 mg/mL για τη μέντα, 9, 18, 27 και 36 mg/mL για τη λεβάντα και 9, 36, 45 και 63 mg/mL για το βασιλικό, και 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 τεσσάρων 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%), ελαφρά (1-25%), μέτρια (25-50%), σημαντική (>50%).





**Εικόνα 2α.** Φύλλο αμπελιού σε τριβλίο πάνω σε στρώμα από άγαρ



**Εικόνα 2β.** Τριβλία με 10 άτομα από κάθε κλάση μεγέθους του *Planococcus ficus* πάνω σε φύλλο αμπελιού.

### 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 LC50 και LC90 καθώς και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95%. Η σύγκριση των τιμών LC50 ή LC90 πραγματοποιήθηκε με βάση τα διαστήματα εμπιστοσύνης (Finney 1971). Για την στατιστική επεξεργασία και ανάλυση των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πρόγραμμα SPSS 14.0 (SPSS2005).

### 3.5 Αποτελέσματα

#### 3.5.1 Τοξική δράση αιθέριων ελαίων

Την ισχυρότερη τοξική δράση έναντι του εντόμου εμφάνισαν τα αιθέρια έλαια του θρουμπιού και της μέντας με LC<sub>50</sub> από 2,7 – 8,1mg/mL αιθερίου ελαίου/ml υδατικού διαλύματος, ανάλογα με το αιθέριο έλαιο και το στάδιο ανάπτυξης του εντόμου (Πίνακας 1). Οι τιμές LC<sub>50</sub> αυτών των αιθερίων ελαίων ήταν σημαντικά στατιστικά μικρότερες από αυτές του ορυκτέλαιου στα αντίστοιχα στάδια ανάπτυξης του εντόμου, υποδεικνύοντας ισχυρότερη τοξική δράση των αιθερίων ελαίων έναντι του χημικού μάρτυρα. Τη μικρότερη δράση έδειξαν το αιθέριο έλαιο της λεβάντας με τιμές LC50 19,8 και 22,5 mg/mL αιθερίου ελαίου/ml υδατικού διαλύματος για τις νύμφες 3ης ηλικίας και τα ενήλικα θηλυκά του εντόμου αντίστοιχα, και το αιθέριο έλαιο του βασιλικού με τιμές LC50 46,8 και 44,1 mg/mL αιθερίου ελαίου/ml υδατικού διαλύματος για τις νύμφες 3ης ηλικίας και τα ενήλικα θηλυκά αντίστοιχα. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ των τιμών των LC50 που υπολογίστηκαν για τις νύμφες 3ης ηλικίας και τα ενήλικα θηλυκά για κάθε αιθέριο έλαιο (Πίνακας 1).

#### 3.5.2 Φυτοτοξικότητα αιθερίων ελαίων

Για τα αιθέρια έλαια της λεβάντας, του θρουμπιού και της μέντας παρατηρήθηκε ελαφρά φυτοτοξικότητα στις υψηλότερες συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν (> 27 mg/mL, > 13.5 mg/mL και > 9 mg/mL, αντίστοιχα) όπως επίσης και στο παραφινικό λάδι (25.9 mg/mL) ενώ για το αιθέριο έλαιο του βασιλικού παρατηρήθηκε σημαντική φυτοτοξικότητα στις περισσότερες συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκαν. Τα συμπτώματα φυτοτοξικότητας αφορούσαν καφέ μεταχρωματισμό με τη μορφή κηλίδων, οι οποίες στη συνέχεια γίνονταν νεκρωτικές.

**Πίνακας 1.** Τιμές LC50 και LC90 (mg/mL) των αιθέριων ελαίων από τα αρωματικά φυτά *Satureja thymbra*, *Mentha piperita*, *Lanandula angustifolia* και *Ocinum basilicum* κατά των νυμφών 3ης ηλικίας και ενήλικων θηλυκών ατόμων του ψευδόκοκκου του αμπελιού *Planococcus ficus*

Αιθέριο έλαιο – Βιολογικό στάδιο	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>S. thymbra</i> -L3	227	1,6±0,2	2,7	1,8-4,5	18,9	11,7-50,4	15	27,3*
<i>S. thymbra</i> -Ενήλικα	210	1,5±0,2	6,3	4,5-8,1	45,9	27-109,8	13	11,3
<i>M. piperita</i> -L3	158	2,7±0,5	5,4	3,6-6,3	15,3	11,7-23,4	10	16,3
<i>M. piperita</i> - Ενήλικα	343	2,4±0,3	8,1	6,3-9,0	27,9	21,6-41,4	22	30,8
<i>L. angustifolia</i> -L3	169	3,5±0,5	19,8	17,1-22,5	45,9	36,9-65,7	10	16,7
<i>L. angustifolia</i> - Ενήλικα	217	5,1±0,7	22,5	20,7-26,1	41,4	36,9-50,4	13	20,9
<i>O. basilicum</i> - L3	155	9,6±1,3	46,8	44,1-48,6	63,9	59,4-70,2	13	21,9
<i>O. basilicum</i> - Ενήλικα	231	7,5±1,2	44,1	35,1-49,5	65,7	56,7-106,2	14	43,6*
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

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

<sup>b</sup> Οι τιμές LC50 ή LC90 είναι σημαντικές όταν τα διαστήματα εμπιστοσύνης (95% CI) δεν επικαλύπτονται.

\* Διόρθωση στην εκτίμηση των διαστημάτων εμπιστοσύνης CI γιατί το χ<sup>2</sup> Goodness-of-fit τεστ έδειξε σημαντικότητα (P<0.05).

### 3.6 Συζήτηση αποτελεσμάτων

Τα αιθέρια έλαια του θρουμπιού και της μέντας που εξετάστηκαν φαίνεται να διαθέτουν αρκετά καλή εντομοκτόνο δράση, εφάμιλλη ενός ορυκτέλαιου, έναντι του ψευδόκοκκου του αμπελιού, ενώ προκάλεσαν ελαφρά φυτοτοξικότητα στα φύλλα του αμπελιού. Τα αιθέρια έλαια της λεβάντας και του βασιλικού ήταν μέτριας τοξικής δράσης κατά του ψευδόκοκκου κι επίσης το αιθέριο έλαιο του βασιλικού προκέλεσε σημαντική φυτοτοξικότητα, καθιστώντας για τους λόγους αυτούς αμφίβολη τη δυνατότητα αξιοποίησής τους ως δραστικές ουσίες εντομοκτόνων σκευασμάτων έναντι του ψευδόκοκκου του αμπελιού. Άλλες συγκριτικές μελέτες της δράσης ατμών αιθερίων ελαίων σε έντομα όπως της μέντας *M. piperita* και βασιλικού σε διάφορα είδη αφίδων έδειξαν ότι αυτά τα αιθέρια έλαια ήταν πολύ τοξικά με πιο τοξικά τα αιθέρια έλαια της μέντας (Kimbaris et al. 2010).



Σε κάθε περίπτωση η παρούσα εργασία αποτελεί μία προκαταρκτική μελέτη για την εκτίμηση της τοξικής δράσης των εν λόγω αιθέριων ελαίων στον ψευδόκοκκο *P. ficus* και απαιτείται επιπλέον πειραματισμός για να διευκρινιστεί η αποτελεσματικότητα τους σε συνθήκες ημι-υπαίθρου και τελικά αγρού καθώς και δυσμενείς επιδράσεις που μπορεί να έχουν είτε στα πρέμνα του αμπελιού είτε στους φυσικούς εχθρούς του ψευδόκοκκου.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Cox J.M., 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.
- Desneux N., Decourtye A., and Delpuech J.-M. (2007) The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52: 81–106.
- Finney D.J. (1971) Probit Analysis, Third Edition. London: Cambridge University Press.
- Goren A.C., Topcu G., Bilsel G., Bilsel M., Wilkinson J.M., Cavanagh H.M.A. (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.
- Hassiotis C.N., Tarantilis P.A., Daferera D., Polissiou M.G. (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.
- Ibrahim M.A., Kainulainen P., Aflatuni A., Tiilokkala K., Holopainen J.K. (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.
- Karamaouna, F., A.C. Kimbaris, P. Papatsakona, E. Tsora, A. Michaelakis, Papachristos D. (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*, p.: 58-59.
- Karamaouna F., Kimbaris A., Michaelakis A., Papachristos D., Polissiou M., Papatsakona P., Tsora E. (2013) Insecticidal activity of plant essential oils against the vine mealybug, *Planococcus ficus*. *Journal of Insect Science (in press)*.
- Kimbaris A.C., Papachristos D.P., Michaelakis A., Martinou A.F., Polissiou M.G. (2010) Toxicity of plant essential oil vapours to aphid pests and their coccinellid predators. *Biocontrol Science and Technology*, 411-422.

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

Monta L.D., Duso C., Malagnini V. (2011) Current status of scale insects (Hemiptera: Coccoidea) in the Italian vineyards. *Bollettino di Zoologia Agraria e di Bachicoltura*, 33: 343-350.

Ntalli N.G., Ferrari F., Giannakou I., Menkissoglu Spiroudi U. (2010) *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58: 7856-7863.

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

Papachristos D.P., Stamopoulos D.C. (2002) 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 D.P., Stamopoulos D.C. (2004) Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 40: 517-525.

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 W.A. (2005) Results of foreign exploration for natural enemies of *Planococcus ficus* (Homoptera: Pseudococcidae), a new invasive mealybug in California vineyards. *7th International Conference on Pests in Agriculture*, Montpellier, France.

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.*

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

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

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

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

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

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

Ροδιτάκης, Ν. Οι ζωικοί εχθροί του αμπελιού και η αντιμετώπιση τους.

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

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

Τσούκα Δ. (2003) Η επίδραση των αιθερίων ελαίων στη συμπεριφορά του *Bemissia tabaci*. Πτυχιακή Εργασία ΑΤΕΙ Ηρακλείου, Ηράκλειο Κρήτης.

<http://chimikoergastirio.blogspot.gr>. 2013. <<http://chimikoergastirio.blogspot.gr>>.

<http://www.bayercropscience.gr>. 2013. <<http://www.bayercropscience.gr>>.

<http://www.etherio.gr> . 2013. <<http://www.etherio.gr> >.