



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΤΡΟΦΙΜΑ, ΔΙΑΤΡΟΦΗ & ΥΓΕΙΑ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Προσδιορισμός της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων από καλλιεργούμενη μέντα, ρίγανη, δεντρολίβανο, λουίζα, χαμομήλι και αξιολόγηση της επίδρασής τους στο έντομο - εχθρό της τομάτας *Tuta absoluta* και στο άκαρι *Tetranychus urticae*

**Σαββίνα Ι. Τουφεξή**

Επιβλέπων καθηγητής:

Πέτρος Ταραντίλης, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ  
2021**

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ ΤΟΥ ΑΝΘΡΩΠΟΥ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΧΗΜΕΙΑΣ

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Προσδιορισμός της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων από καλλιεργούμενη μέντα, ρίγανη, δεντρολίβανο, λουίζα, χαμομήλι και αξιολόγηση της επίδρασής τους στο έντομο - εχθρό της τομάτας *Tuta absoluta* και στο άκαρι *Tetranychus urticae*

“Determination of the chemical composition of essential oils and hydrosols from cultivated mint, oregano, rosemary, verbena, chamomile and evaluation of their effect on the insect - enemy of the tomato *Tuta absoluta* and the mite *Tetranychus urticae*”

**Σαββίνα Ι. Τουφεξή**

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή:

Πέτρος Ταραντίλης, Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Χρήστος Παππάς, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Διονύσης Περδίκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

**Προσδιορισμός της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων από καλλιεργούμενη μέντα, ρίγανη, δεντρολίβανο, λουίζα, χαμομήλι και αξιολόγηση της επίδρασής τους στο έντομο - εχθρό της τομάτας *Tuta absoluta* και στο άκαρι *Tetranychus urticae***

ΠΜΣ Τρόφιμα, Διατροφή & Υγεία  
Τμήμα Επιστήμης Τροφίμων & Διατροφής του Ανθρώπου  
Εργαστήριο Χημείας

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Αντικείμενο της παρούσας διατριβής ήταν ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών και η επίδρασή τους σε εχθρούς σημαντικών κηπευτικών καλλιεργειών.

Τα είδη των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών που μελετήθηκαν προέρχονταν από την περιοχή της Καλαμάτας και ήταν τα *Rosmarinus officinalis* (δενδρολίβανο), *Mentha piperita* (μέντα), *Origanum vulgare* (ρίγανη), *Matricaria chamomilla* (χαμομήλι) και *Aloysia citrodora* (λουίζα). Η παραλαβή των αιθερίων ελαίων πραγματοποιήθηκε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης με χρήση της συσκευής Clevenger, ενώ ο διαχωρισμός και η ταυτοποίηση των συστατικών έγινε με σύστημα αέριας χρωματογραφίας- φασματομετρίας μαζών (GC-MS).

Θέλοντας να μελετήσουμε εάν τα αιθέρια έλαια έχουν τη δυνατότητα να μειώσουν τον πληθυσμό του εντόμου *Tuta absoluta* και του ακάρεως *Tetranychus urticae*, εχθρών των κηπευτικών καλλιεργειών, εφαρμόστηκαν βιοδοκιμές. Τα αιθέρια έλαια της μέντας και της ρίγανης κατά τις πειραματικές διαδικασίες εφαρμόστηκαν με τη μορφή γαλακτώματος σε συγκεντρώσεις 0,02, 0,06, 0,08 και 0,16% αιθερίου ελαίου/mL απιονισμένου νερού. Εξετάστηκε η τοξική δράση των δύο ελαίων επί των ωών του *T. absoluta*, ενώ αξιολογήθηκε και η δραστική τους ικανότητα έναντι των ενήλικων ατόμων του *T. urticae*.

Η μεγαλύτερη απόδοση των αρωματικών φυτών σε αιθέριο έλαιο ήταν 9,7% (v/w) για τη ρίγανη και 2,9% (v/w) για τη μέντα. Ακολούθησε η απόδοση της λουίζας με 1,1% (v/w), ενώ τη διαδέχθηκε το χαμομήλι και το δενδρολίβανο με 0,8% και 0,6%, αντίστοιχα. Ο προσδιορισμός των συστατικών με το σύστημα GC-MS έδειξε για το δενδρολίβανο να περιέχει 4 συστατικά ως βασικά τα οποία ήταν η καμφορά στο πιο υψηλό ποσοστό της τάξης του 16,6%, η ευκαλυπτόλη σε ποσοστό 13,8%, η βορνεόλη σε ποσοστό 13,4% και το α-πινένιο που μετείχε σε ποσοστό 11,1%. Από την άλλη, η μέντα περιείχε κυρίως μενθόλη σε ποσοστό 44,3% και μενθόνη με ποσοστό 29,6% της ολικής σύστασης, ενώ στο αιθέριο έλαιο της ρίγανης υπήρχαν η θυμόλη και η καρβακρόλη σε ποσοστά 50,2% και 23,3% αντίστοιχα, και το γ-τερπινένιο σε ποσοστό 12,8%. Τα οξειδία της βισαβολόλης Α και Β (36,6% και 26,5%) και το β-φαρνεσένιο (11,6%) κυριαρχούσαν στο αιθέριο έλαιο του χαμομηλιού με το ποσοστό περιεκτικότητάς τους να καλύπτει πάνω από το μισό της ολικής σύστασης. Τέλος στο αιθέριο έλαιο της λουίζας υπήρχαν η γερανιάλη (31,3%) και η νεράλη (23,6%) ως κύρια συστατικά.

Στα υδρολύματα που εξετάστηκαν υπολογίστηκε επιπλέον η περιεκτικότητά τους σε αιθέριο έλαιο. Η υψηλότερη περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου εμφανίστηκε στο υδρόλυμα του δενδρολίβανου με ποσοστό 0,2%, ενώ η χαμηλότερη προερχόταν από το υδρόλυμα του χαμομηλιού σε ποσοστό 0,01%. Το υδρόλυμα της ρίγανης είχε ποσοστό 0,1%, ενώ χαμηλότερο ποσοστό αιθερίου ελαίου από το υδρόλυμα της ρίγανης είχαν τα υδρολύματα της μέντας και της λουίζας με ποσοστό 0,04% και 0,05%, αντιστοίχως. Ύστερα από τον διαχωρισμό και την ταυτοποίηση των συστατικών σύμφωνα με βάσεις δεδομένων, δημιουργήθηκαν τα χημικά προφίλ των υδρολυμάτων. Στο υδρόλυμα του δενδρολίβανου βρέθηκαν σε ποσοστό περιεκτικότητας μεγαλύτερο από 10%, η βερμπενόνη ( 48,0%) η καμφορά (16,6%) και η βορνεόλη (13,8%). Το μοναδικό κύριο συστατικό του υδρολύματος της μέντας ήταν η μενθόλη σε ποσοστό που ξεπέρασε το 50% της ολικής σύστασης, συγκεκριμένα ήταν στο 54,4%. Το χρωματογράφημα της ρίγανης εμφάνισε 2 μεγάλες κορυφές οι οποίες ήταν η θυμόλη και η καρβακρόλη με ποσοστό 63,5% και 34,5% αντίστοιχα. Στο υδρόλυμα του χαμομηλιού, όπως και στο αιθέριο έλαιο, κύριο ρόλο έπαιξαν τα οξείδια της βισαβολόλης Α και Β σε ποσοστό 57,2% και 29,5%, ενώ η λουίζα περιείχε τη γερανιάλη σε ποσοστό 31,0% και τη νεράλη η οποία μετείχε σε ποσοστό 27,1% της ολικής σύστασης.

Επιπλέον τα δύο έλαια (ρίγανη και μέντα) που χρησιμοποιήθηκαν για τις βιοδοκιμές δεν εμφάνισαν φυτοτοξικότητα στα φυτά της τομάτας. Στα φυτά της συγκέντρωσης 0,16% του αιθερίου ελαίου ρίγανης σημειώθηκε υψηλή φυτοτοξικότητα.

Το γαλάκτωμα του αιθερίου ελαίου μέντας δεν εμφάνισε ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Η εκκόλαψη των ωών βρέθηκε να μην επηρεάζεται από το γαλάκτωμα του αιθερίου ελαίου σε καμία από τις συγκεντρώσεις καθώς το ποσοστό των μη εκκολαπτόντων ήταν πολύ χαμηλό χωρίς να παρουσιάζεται στατιστική σημαντική διαφορά. Η συγκέντρωση αιθερίου ελαίου 0,06% φάνηκε να επιδρά σε ενήλικα άτομα του ακάρεως *T. urticae* μειώνοντας το ποσοστό επιβίωσης κατά 60%. Ωστόσο δεν υπήρχε το ίδιο αποτέλεσμα και στις άλλες δύο επεμβάσεις με τις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις (0,08%; 0,16%). Το γαλάκτωμα του αιθερίου ελαίου της ρίγανης στη μεγαλύτερη συγκέντρωση (0,16%) (v/v) επέφερε μείωση της εκκόλαψης των ωών έως και 50%, ενώ σε μικρότερες συγκεντρώσεις τα ωά παρουσίασαν σχετική ανθεκτικότητα. Τοξική δράση σημειώθηκε επίσης κατά των ενήλικων θηλυκών ατόμων του τετράνυχου με το έλαιο να δρα εξίσου καλά στις τρεις από τις τέσσερις συγκεντρώσεις (0,06%; 0,08% και 0,16%) με μείωση του πληθυσμού έως και 74%.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, η εντομοτοξική δράση των ελαίων της ρίγανης και της μέντας θα μπορούσε να αξιολογηθεί περαιτέρω καθώς έδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα.

**Επιστημονική περιοχή:** Φαρμακευτικά – αρωματικά φυτά

**Λέξεις κλειδιά:** χημικός προσδιορισμός, αιθέριο έλαιο, μέντα, ρίγανη, δεντρολίβανο, λουίζα, χαμομήλι, υδρόλυμα, *T. absoluta*, *T. urtica*

**Determination of the chemical composition of essential oils and hydrosols from cultivated mint, oregano, rosemary, verbena, chamomile and evaluation of their effect on the insect - enemy of the tomato *Tuta absoluta* and the mite *Tetranychus urticae***

MSc Food, Nutrition & Health  
Department of Food Science & Human Nutrition  
Laboratory of Chemistry

## **ABSTRACT**

The subject of this thesis was the qualitative and quantitative determination of essential oils and hydrosols of aromatic and medicinal plants and their effect on enemies of important horticultural crops.

The species of aromatic and medicinal plants studied came from the area of Kalamata and were *Rosmarinus officinalis* (rosemary), *Mentha piperita* (mint), *Origanum vulgare* (oregano), *Matricaria chamomilla* (chamomile) and *Aloysia citrodora* (verbena). The collection of essential oils was performed by the method of water distillation using the Clevenger device, while the separation and identification of the components was done by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS).

In order to study whether the essential oils have the potential to reduce the population of the insect *Tuta absoluta* and the mite *Tetranychus urticae*, enemies of horticultural crops, bioassays were applied. The essential oils of mint and oregano in the experimental procedures were applied in the form of emulsion in concentrations of 0.02, 0.06, 0.08 and 0.16% oil/mL of deionized water. The toxic effect of the two oils on the eggs of *T. absoluta* was examined, while their potency was evaluated against the adults of *T. urticae*.

The highest yield of aromatic plants in essential oil was 9.7% (v / w) for oregano and 2.9% (v / w) for mint. This was followed by the yield of verbena with 1.1% (v / w), while it was followed by chamomile and rosemary with 0.8% and 0.6%, respectively. The determination of the ingredients with the GC-MS system showed for the rosemary to contain 4 ingredients as basic which were the camphor in the most a high percentage of 16.6%, the eucalyptol in 13.8%, the borneol at a rate of 13.4% and  $\alpha$ -pinene which participated in 11.1% . On the other hand, mint contained mainly menthol in 44.3% and menthol in 29.6% of the total composition, while oregano essential oil contained thymol and carvacrol in 50.2% and 23.3% respectively and the  $\gamma$ -terpinene at a rate 12,8%. A-bisabolol A and B oxides (36.6% and 26.5%) and beta-Farnezene (11.6%) dominated chamomile oil, with more than half of their total composition. Finally in verbena essential oil there were geranial (31.3%) and neral (23.6%), as main ingredients.

In the hydrosols examined, their oil content was additionally calculated. The highest oil content occurred in the rosemary hydrosol with a percentage of 0.2%, while the lowest came from the chamomile hydrosol at a rate of 0.01%. The oregano hydrosol had the percentage of 0.1%, while mint and verbena hydrosols had a lower percentage of oil than oregano hydrosol with 0.04% and 0.05%, respectively. After separating and identifying the components according to databases, the chemical

profiles of the hydrosols were created. More than 10% of verbenone (48.0%), camphor (16.6%) and borneol (13.8%) were found in the rosemary hydrosol. The only major ingredient in mint hydrosol was menthol, which accounted for more than 50% of the total composition, at 54.4%. The oregano chromatogram showed 2 large peaks which were thymol and carvacrol with 63.5% and 34.5% respectively. In the hydrosol of chamomile, as in oil, the main role was played by the oxides of  $\alpha$ -bisabolol A and B in a percentage of 57.2% and 29.5%, while the verbena contained the geranial at a rate of 31.0% and the neral which participated in a percentage of 27.1% of the total composition.

In addition, the two oils (oregano and mint) used for the bioassays did not show phytotoxicity to the tomato plants. In bean plants the concentration of 0.16% of oregano oil there was a high percentage of phytotoxicity.

Mint essential oil emulsion did not show encouraging results. Egg hatching of *T. absoluta* was found not to be affected by the oil emulsion at any of the concentrations as the percentage of non-hatching was very low without showing a statistically significant difference. The 0.06% oil concentration appeared to affect adults of *T. urticae* mite by reducing the survival rate by 60%. However, there was no same result in the other two operations with the highest concentrations (0.08%; 0.16%). The emulsion of oregano essential oil at the highest concentration (0.16%) (v / v) resulted in a reduction of egg hatching up to 50%, while at lower concentrations the eggs showed relative resistance. Toxic activity was also observed against adult females of the *Tetranychus urticae* with the oil acting equally well at three of the four concentrations (0.06%; 0.08% and 0.16%) with a reduction in population of up to 74%.

**Scientific area:** Medicinal - aromatic plants

**Keywords:** chemical composition, essential oil, hydrosol, mint, oregano, rosemary, verbena, chamomile, *T. absoluta*, *T. urtica*

## ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Αρχικά θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές και ειλικρινείς ευχαριστίες μου στον επιβλέποντα καθηγητή αυτής της διπλωματικής, Καθηγητή Π. Ταραντίλη για την ανάθεση του θέματος, την καθοδήγηση, την εμπιστοσύνη που μου έδειξε καθώς και τις γνώσεις που μου μεταλαμπάδευσε. Τον ευχαριστώ διότι ήταν πρόθυμος να με βοηθήσει σε ότι του ζητούσα καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου και της μελέτης αυτής, δίνοντάς μου τις σωστές κατευθύνσεις και τα κατάλληλα εφόδια.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή Δ. Περδίκη του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας για την εξαιρετική συνεργασία και τη φιλοξενία στο εργαστήριο. Καθώς και για την επιστημονική του καθοδήγηση, τις εύστοχες παρατηρήσεις και διορθώσεις του κατά την υλοποίηση των πειραμάτων και της μετέπειτα μελέτης του παρόντος κειμένου.

Ακολούθως θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον καθηγητή του μεταπτυχιακού μου, Καθηγητή Χ. Παππά για τη συμμετοχή του στην Τριμελή Εξεταστική Επιτροπή, την αξιολόγηση και εξέταση της εργασίας μου. Μέσα από την καλή του διάθεση και τις στοχευμένες παρατηρήσεις του μετέδιδε κουράγιο και αυτοπεποίθηση.

Ευχαριστώ ξεχωριστά τη Δρ. Δ. Δαφερέρα μέλος ΕΔΙΠ του Εργαστηρίου Χημείας για τις υποδείξεις, τη λεπτομερή καθοδήγηση και επίβλεψή της κατά τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων στον εργαστηριακό χώρο όπως και για τις διορθώσεις επί του κειμένου. Επίσης θα ήθελα να την ευχαριστήσω για την υπομονή που έδειξε στο πρόσωπο μου προσφέροντάς μου γνώση.

Οφείλω να ευχαριστήσω τους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές του Εργαστηρίου Χημείας και κυρίως τον υποψήφιο Διδάκτωρ Μ. Ξαγοράρη για την αμέριστη συμπαράστασή τους και τις χρήσιμες συμβουλές τους κατά την εκπόνηση της παρούσας μελέτης.

Τις ευχαριστίες μου και την βαθύτατη εκτίμησή μου θα ήθελα να εκφράσω στην υποψήφια Διδάκτωρ του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας, Σοφία Δερβίσογλου, για την πολύτιμη βοήθειά της στα αντικείμενα μελέτης και την στήριξή της από την πρώτη μέρα μέχρι και το τέλος της συγγραφής της διατριβής μου. Με το πάθος της για την επιστήμη με βοήθησε να αγαπήσω κι εγώ με τη σειρά μου περισσότερο αυτό για το οποίο κλήθηκα να κάνω.

Ευχαριστώ επίσης τον Θεόδωρο Σταθάκη, για την βοήθεια του με την διατήρηση της εκτροφής του *Tetranychus urticae*.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ τον κ. Σωτήρη Βασιλειάδη - Τζανετουλέα για τη διάθεση του φυτικού υλικού και για τις χρήσιμες πληροφορίες που μου έδωσε για την καλλιέργειά του έτσι ώστε να περατωθεί η συγκεκριμένη μελέτη.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου και το μεγαλύτερο ευχαριστώ στην οικογένειά μου και στους αγαπημένους μου φίλους για την αγάπη, την κατανόηση, την συμπαράσταση αλλά και την ενθάρρυνσή τους να συνεχίσω δυναμικά.

«Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της»

## Πίνακας Περιεχομένων

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	v
Εισαγωγή.....	1
1.1. Γενικά-ΦΑΦ.....	1
1.2. Δευτερογενείς μεταβολίτες .....	2
1.2.1. Τερπένια.....	3
1.2.2. Αιθέρια έλαια.....	4
1.2.2.1. Αιθέρια έλαια ως εντομοκτόνα.....	6
1.2.2.2. Άλλες χρήσεις αιθερίων ελαίων .....	8
1.3. Υδρολύματα .....	8
1.4. Φαρμακευτικά και Αρωματικά Φυτά.....	10
1.4.1. Οικογένεια Lamiaceae .....	10
1.4.1.1. <i>Rosmarinus officinalis</i> L. (δενδρολίβανο) .....	10
1.4.1.2. <i>Mentha piperita</i> L. (μέντα).....	12
1.4.1.3. <i>Origanum vulgare</i> ssp. <i>hirtum</i> (ρίγανη) .....	13
1.4.2. Οικογένεια Asteraceae.....	15
1.4.2.1. <i>Matricaria chamomilla</i> L. (χαμομήλι) .....	16
1.4.3. Οικογένεια Verbenaceae .....	17
1.4.3.1. <i>Aloysia triphylla</i> L'Her Britton (λουΐζα).....	18
1.5. Ολοκληρωμένη Διαχείριση .....	19
1.5.1. Χρήση των επιλεγμένων φυτικών ειδών στη διαχείριση εντόμων και ακάρεων.....	20
1.6. Φυτοτοξικότητα .....	22
1.7. Παραλαβή, Διαχωρισμός και Προσδιορισμός των Συστατικών των Αιθερίων Ελαίων .....	25
1.7.1. Παραλαβή Αιθερίων Ελαίων.....	25
1.7.1.1. Υδροαπόσταξη (Water Distillation – HD).....	27
1.7.2. Διαχωρισμός και Ταυτοποίηση.....	29
1.7.2.1. Αέρια Χρωματογραφία .....	29
1.7.2.2. Φασματομετρία μαζών.....	32



1.8. Εχθροί Καλλιεργειών.....	34
1.8.1. Οικογένεια Gelechiidae.....	34
1.8.1.1. <i>Tuta absoluta</i> .....	35
1.8.2. Οικογένεια Tetranychidae .....	40
1.8.2.1. <i>Tetranychus urticae</i> .....	41
1.9. Σκοπός της Μελέτης.....	45
Υλικά και Μέθοδοι .....	47
2.1. Φυτικό Υλικό Υποστρωμάτων .....	47
2.1.1. <i>Lycopersicon esculentum</i> Mill (τομάτα) .....	47
2.1.2. <i>Phaseolus vulgaris</i> (φασόλι).....	48
2.2. Εκτροφές .....	49
2.2.1. <i>Tuta absoluta</i> .....	49
2.2.2. <i>Tetranychus urticae</i> .....	50
2.3. Παραλαβή, Διαχωρισμός και Ταυτοποίηση.....	51
2.3.1. Δείγματα Φαρμακευτικών και Αρωματικών Φυτών .....	51
2.3.2. Μεθοδολογία απόσταξης των αιθερίων ελαίων .....	51
2.3.3. Προετοιμασία δείγματος για το GC-MS.....	54
2.3.3.1. Αιθέριο έλαιο .....	54
2.3.3.2. Υδρόλυμα .....	55
2.3.4. Προσδιορισμός της σύστασης των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων με σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS) .....	56
2.4. Παρασκευή γαλακτωμάτων .....	57
2.4.1. Μεθοδολογία παρασκευής γαλακτωμάτων .....	57
2.5. Προετοιμασία τρυβλίων .....	60
2.6. Βιοδοκιμές.....	60
2.6.1. Δοκιμές δράσης των αιθερίων ελαίων σε ωά του εντόμου <i>Tuta absoluta</i> .....	60
2.6.2. Δοκιμές δράσης των αιθερίων ελαίων σε ενήλικα θηλυκά άτομα του ακάρεως <i>Tetranychus urticae</i> .....	62
2.6.3. Δοκιμές δράσης των αιθερίων ελαίων σε φυτά καλλιεργειών (Φυτοτοξικότητα) .....	63
2.7. Στατιστική Ανάλυση .....	65
Αποτελέσματα.....	66

3.1. Απόδοση αρωματικών φυτών σε αιθέριο έλαιο.....	66
3.2. Περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου στο υδρολύμα.....	66
3.3. Χημική Σύσταση των Αιθερίων Ελαίων και των Υδρολυμάτων τους ..	67
3.3.1α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του <i>R. Officinalis</i> L.....	67
3.3.1β. Χημική σύσταση του υδρολύματος του <i>R. Officinalis</i> L.....	69
3.3.2α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου της <i>M. piperita</i> L.....	72
3.3.2β. Χημική σύσταση του υδρολύματος της <i>M. piperita</i> L. ....	73
3.3.3α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του <i>O. vulgare</i> L. ....	76
3.3.3β. Χημική σύσταση του υδρολύματος του <i>O. vulgare</i> L. ....	78
3.3.4α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του <i>M. chamomilla</i> L.....	80
3.3.4β. Χημική σύσταση του υδρολύματος του <i>M. chamomilla</i> L.....	82
3.3.5α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου της <i>A. citrodora</i> L. ....	84
3.3.5β. Χημική σύσταση του υδρολύματος της <i>A. citrodora</i> .....	85
3.4. Εντομοκτόνος και Ακαρεοκτόνος Δράση των Αιθερίων Ελαίων .....	88
3.4.1. Επίδραση σε ωά του <i>Tuta absoluta</i> .....	88
3.4.1.1. Επίδραση αιθερίου ελαίου <i>M. piperita</i> σε ωά <i>T. absoluta</i> .....	89
3.4.1.2. Επίδραση αιθερίου ελαίου <i>O. vulgare</i> σε ωά <i>T. absoluta</i> .....	94
3.4.2. Επίδραση σε ενήλικα θηλυκά <i>Tetranychus urticae</i> .....	98
3.4.2.1. Επίδραση αιθερίου ελαίου <i>M. piperita</i> σε ενήλικα θηλυκά <i>T. urticae</i> .....	98
3.4.2.2 Επίδραση αιθερίου ελαίου <i>O. vulgare</i> σε ενήλικα θηλυκά <i>T. urticae</i> .....	109
3.5. Φυτοτοξικότητα .....	121
Συμπεράσματα- Συζήτηση .....	124
Βιβλιογραφία .....	136

# Κεφάλαιο 1

## Εισαγωγή

### 1.1. Γενικά-ΦΑΦ

Τα φυτά για τη φυσιολογική ανάπτυξή τους συνθέτουν κυτταρικά συστατικά όπως είναι τα λιπίδια, οι υδατάνθρακες, τα νουκλεϊκά οξέα και οι πρωτεΐνες. Τα ίδια συμβάλουν και ρυθμίζουν τον μεταβολισμό καθώς επίσης είναι απαραίτητα και για άλλες πρωταρχικές διεργασίες επιβίωσης του φυτού όπως η φωτοσύνθεση και η αναπνοή. Σε περίπτωση έλλειψης αυτών, δεν μπορούν να παραλάβουν τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά και να τα επεξεργαστούν με τελικό αποτέλεσμα τη νέκρωσή τους. Εξαιτίας του καθοριστικού ρόλου τους για την επιβίωση και βελτίωση των φυτών ονομάζονται πρωτογενείς μεταβολίτες (Wu & Chappel, 2008). Σύμφωνα με τους Taiz και Zeiger (2010), υπάρχουν όμως και οι δευτερογενείς μεταβολίτες που λειτουργούν ως βοηθητικοί. Είναι οργανικές ενώσεις δομικά και χημικά διαφορετικές μεταξύ τους και δεν έχουν άμεση σχέση με την ανάπτυξη του φυτού. Σε αντίξοες συνθήκες ή συνθήκες στρες ορισμένοι φυτικοί οργανισμοί όπως τα αρωματικά και φαρμακευτικά φυτά, συνθέτουν αυτές τις ενώσεις για να μπορέσουν να ανταπεξέλθουν. Υπό μεταβαλλόμενες περιβαλλοντικές συνθήκες απαιτείται ισορροπημένη παραγωγή πρωτογενών και δευτερογενών μεταβολιτών για τη σωστή ανάπτυξη των φυτών.

## 1.2. Δευτερογενείς μεταβολίτες

Ο κύκλος γλυκόλυσης και τρικαρβοξυλικού οξέος είναι οι βασικές μεταβολικοί οδοί που συνδέονται με τον μεταβολισμό των υδατανθράκων, των λιπιδίων και των πρωτεϊνών για την ανάπτυξη και τη βελτίωση των φυτών. Εντούτοις σε ορισμένες συνθήκες ο πρωτογενής μεταβολισμός μεταβαίνει σε δευτερογενή για να συνθέσει διαφορετικά είδη οργανικών ενώσεων. Έτσι τα φυτά ευρισκόμενα σε συνθήκες έντονης περιβαλλοντικής πίεσης (υψηλές ή πολύ χαμηλές θερμοκρασίες, έντονη ξηρασία, ακραίες συνθήκες φωτός, υψηλά ποσοστά CO<sub>2</sub>) ή υπό απειλή λόγω προσβολής παρασίτων (έντομα, μύκητες, βακτήρια, ιοί, ζιζάνια) ενεργοποιούν τη σύνθεση διάφορων ενώσεων που ονομάζονται δευτερογενείς μεταβολίτες ως προστασία (Yadav et al., 2021).

Το άρωμα που εκπέμπουν οι δευτερογενείς μεταβολίτες και μερικές φορές το χρώμα τους είναι οι κύριοι παράγοντες που προστατεύουν το φυτό από τους φυσικούς εχθρούς. Κυρίως έχουν απωθητική ή και τοξική δράση ενάντια σε βιοτικούς παράγοντες όπως είναι τα φυτοφάγα έντομα και οι προνύμφες τους, επηρεάζοντας είτε ένζυμα που συμβάλουν στο νευρικό σύστημα είτε τη διαδρομή του αναπνευστικού. Ωστόσο, σε περίπτωση προσβολής από παθογόνους μικροοργανισμούς, παραδείγματος χάριν μυκήτων, προκαλούν αναστολή της εξάπλωσής τους επεμβαίνοντας στην ανάπτυξη του μυκηλίου τους (Mrid et al., 2021). Στην περίπτωση των ζιζανίων που αναπτύσσονται και ανταγωνίζονται την κύρια καλλιέργεια για τα θρεπτικά συστατικά και τον ήλιο, έχουν περιοριστική δράση συμβάλλοντας στην αναστολή της βλάστησης και της ανάπτυξής τους.

Εκτός από αυτές τις δράσεις όμως, έχουν και ένα σημαντικό οικολογικό πλεονέκτημα προσελκύοντας επικονιαστές και συμβάλλοντας με αυτόν τον τρόπο στη διασπορά των σπόρων. Δηλαδή, οι δευτερογενείς μεταβολίτες μπορούν να δράσουν ως μόρια σηματοδότησης -αποκαλούμενα ορμόνες- για να μπορέσουν τα φυτά να προσεγγίσουν τα απαραίτητα ζώα και έντομα. Άλλος ένας ζωτικός ρόλος είναι ότι μπορούν να δημιουργήσουν ευνοϊκό κλίμα για τη συμβίωση με ευεργετικά μικρόβια (Mrid et al., 2021).

Επομένως, με βάση τη δομή και τη χημική τους φύση ταξινομούνται στις εξής τρεις κατηγορίες: τα τερπένια, τα φαινολικά και τις ενώσεις που περιέχουν άζωτο (N). Μέσα από έρευνες και παρατηρήσεις αιώνων έχουν ανακαλυφθεί ενώσεις οι οποίες είναι βοηθητικές και ευεργετικές όχι μόνο για τα φυτά αλλά και για τον άνθρωπο. Επιπλέον χρησιμοποιούνται σε φαρμακευτικά προϊόντα, προϊόντα τροφίμων αλλά και στον τομέα της ιατρικής. Έχουν ταυτοποιηθεί περίπου 100.000 δευτερογενείς μεταβολίτες με τη γνώση και τον τρόπο δράσης τους να αποτελεί σημαντικό εργαλείο για τη βελτίωση των τομέων όπου συνεισφέρουν.

### **1.2.1. Τερπένια**

Η ομάδα των τερπενίων ή αλλιώς και ισοπρενοειδή, αποτελείται από έναν μεγάλο αριθμό φυσικών ενώσεων που βρίσκονται κυρίως στα φυτά. Τα τερπένια είναι ομάδες που δημιουργούνται από ισοπρένια. Για τη σύνθεσή τους απαιτείται ο σχηματισμός και η συμπύκνωση της υπομονάδας του ισοπρενίου C<sub>5</sub>- ώστε να μπορέσει να δημιουργηθεί ο σκελετός των διαφορετικών τερπενίων και μετά από μετατροπή των προνυλδιφοσφωρικών να προκύψει το τελικό προϊόν (Graßmann, 2005). Σύμφωνα με την οργάνωση και τον αριθμό μονάδων των ισοπρενίων που χαρακτηρίζεται από τον μοριακό τύπο C<sub>5</sub>H<sub>8</sub>, τα τερπένια ταξινομούνται σε υποκατηγορίες. Πιο αναλυτικά, διακρίνονται σε μονοτερπένια που έχουν 10 άτομα άνθρακα, δηλαδή 2 μόρια ισοπρενίου, σε σεσκιτερπένια με 15 άτομα άνθρακα και 3 μόρια ισοπρενίου, σε διτερπένια (20 άτομα άνθρακα και 4 μόρια ισοπρενίου), σε σεστερτερπένια (25 άτομα άνθρακα με 5 μόρια ισοπρενίου), σε τριτερπένια (30 άτομα άνθρακα με 6 μόρια ισοπρενίου), σε τετρατερπένια (40 άτομα άνθρακα με 8 μονάδες ισοπρενίου) και σε πολυτερπένια που απαρτίζονται από μεγάλο αριθμό ισοπρενικών μορίων (Kandi et al., 2015).

Τα μονοτερπένια, τα σεσκιτερπένια και τα διτερπένια είναι ενώσεις που συναντώνται πιο συχνά στα αιθέρια έλαια των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών ως κύρια συστατικά. Τα συναντάμε σχεδόν σε όλα τα μέρη του φυτού όπως στα φύλλα, τον φλοιό, τις ρίζες και τα άνθη (Kandi et al., 2015). Ο πρωταρχικός τους ρόλος είναι η προστασία των φυτών αλλά και των ζώων όπου περιέχονται από

βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες. Έχουν τη δυνατότητα να αποκρούουν παθογόνους μικροοργανισμούς και έντομα ως εντομοαπωθητικά, ενώ ευθύνονται και για τον θάνατο κάποιων επιβλαβών εντόμων. Ωστόσο, ένας άλλος ρόλος τους είναι να προσελκύουν ωφέλιμα έντομα που βοηθούν είτε στην καταπολέμηση των εχθρών του φυτού είτε στην επικονίαση.

Σύμφωνα με τον Franklin και τους συνεργάτες του (2001), τα τερπένια είναι μία εναλλακτική λύση για την αντιμετώπιση των εντόμων και των οικιακών παρασίτων όπως οι ψείρες. Δεν είναι λίγες οι αναφορές των τερπενίων ως βιολογικά εντομοκτόνα ή εντομοαπωθητικά. Για παράδειγμα, η καρβακρόλη και η θυμόλη χάρη στην χαρακτηριστική υδροξυλομάδα που περιέχουν, εμφάνισαν αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), ενός σημαντικού ενζύμου για τους νευροδιαβιβαστές των εντόμων. Επιπλέον τα τερπένια π-κυμένιο, γ-τερπινένιο και α-τερπινένιο έδειξαν ακαρεοκτόνο δράση έναντι του *R. microplus* (Cardoso et al., 2020). Η θυμοκινόνη και η πουλεγόνη, τερπένια που συναντώνται σε μεγάλη περιεκτικότητα στο μαύρο κύμινο και στη μέντα αντίστοιχα, σε συνδυασμό με μηχανισμό αργού ρυθμού απελευθέρωσης αποτέλεσαν σημαντικό εργαλείο για την αντιμετώπιση του εχθρού αποθηκευμένων προϊόντων *Sitophilus zeamais* (Herrera et al., 2017).

Επιπλέον υπάρχουν και άλλες χρήσεις των τερπενίων που θεωρούνται αξιοσημείωτες για τον άνθρωπο. Χρησιμοποιούνται σε πολλά προϊόντα περιποίησης και ομορφιάς καθώς και στην ιατρική μέσω ιατρικών φαρμάκων και σκευασμάτων (Santos et al., 2014). Στις βιομηχανίες τροφίμων αλλά και στις γαλακτοβιομηχανίες εντάσσονται σε προϊόντα λόγω των ισχυρών γεύσεων και αρωμάτων που προσδίδουν. Τελευταία υπάρχει μεγάλο ενδιαφέρον για τις τερπενικές ενώσεις καθώς δείχνουν να συμβάλουν σε σημαντικές ασθένειες του ανθρώπου έχοντας θεραπευτικές ιδιότητες. Παρ' όλα αυτά, θα πρέπει να πραγματοποιηθούν και άλλες έρευνες ώστε να αξιολογηθούν εκτενώς οι δράσεις τους.

### **1.2.2. Αιθέρια έλαια**

Ιστορικά το πρώτο αιθέριο έλαιο το οποίο έχει αναφερθεί είναι το τερεβινθέλαιο που προέρχεται από το φυτό τερέβινθος (*Pistacia terebinthus*). Η διαδικασία με την

οποία λαμβάνονται τα αιθέρια έλαια, η απόσταξη, αναπτύχθηκε στην Ανατολή και συγκεκριμένα από τους Άραβες κατά τον Μεσαίωνα (Bakkali et al., 2008). Η πρώτη συστηματική έρευνα των συστατικών των αιθερίων ελαίων αναδείχθηκε από τον Γάλλο χημικό J. B. Dumas, ο οποίος ανέλυσε έναν αριθμό ενώσεων δημοσιεύοντας το έργο του το 1833 στο γαλλικό επιστημονικό περιοδικό «Liebig's Annalen der Pharmacie» (Guenther & Althausen, 1948). Με την περαιτέρω ανάλυση των αιθερίων ελαίων ασχολήθηκε ένας ακόμη Γάλλος χημικός, ο M. Berthelot, ενώ ο A. Kekule έδωσε την ονομασία «τερπένια» για το χαρακτηρισμό κάποιων ενώσεων με τα χαρακτηριστικά που αναφέρθηκαν στην προηγούμενη παράγραφο. Ωστόσο, η εξέλιξη των αιθερίων ελαίων με αποτέλεσμα την ευρεία επέκτασή τους, ήρθε από τη σημαντικότερη μελέτη του O. Wallach που προσπάθησε να απομονώσει τα επιμέρους συστατικά των αιθερίων ελαίων και να τα αναλύσει μελετώντας βασικές τους ιδιότητες.

Αιθέριο έλαιο ορίζεται ως το πτητικό λάδι που λαμβάνεται με τη διαδικασία της απόσταξης, δηλαδή με φυσικό μέσο. Τα αιθέρια έλαια είναι ένα μίγμα πτητικών ενώσεων που προέρχονται από την παραλαβή τους από τα φαρμακευτικά και αρωματικά φυτά. Συνήθως έχουν ευχάριστη οσμή και είναι άχρωμα ή ελαφρώς υποκίτρινου χρώματος. Είναι υγρά, λιπώδη και με πτητικό χαρακτήρα. Έχουν μικρότερη πυκνότητα από αυτή του νερού και λόγω της φύσης τους μπορούν να διαλυθούν εύκολα σε λιπίδια αλλά και σε οργανικούς διαλύτες (Bakkali et al., 2008; Pandey et al., 2017). Απαντώνται σε όλα τα μέρη του φυτού (άνθη, φύλλα, σπόρους, ρίζες, φλοιό), ενώ βρίσκονται αποθηκευμένα μέσα στο κυτταρόπλασμα των κυττάρων, σε αδενικά τριχώματα και σε κανάλια.

Συνήθως περιέχουν ένα μίγμα των 20-60 συστατικών κατά μέσο όρο, ενώ μερικές φορές μπορούν να φτάσουν ή να ξεπεράσουν σε αριθμό τα 100. Οι συγκεντρώσεις των συστατικών διαφέρουν μεταξύ τους και μπορούν να κυμαίνονται από πολύ χαμηλές, της τάξεως του 0,01% έως πολύ υψηλές (70%). Τα συστατικά με τις υψηλές συγκεντρώσεις (10% -70%) είναι αυτά που χαρακτηρίζουν ένα έλαιο και αποκαλούνται ως κύρια. Αν και ο αριθμός τους είναι μικρός (1-4), λόγω της περιεκτικότητάς τους είναι πολύ σημαντικά διότι καθορίζουν τις βιολογικές ιδιότητες

των ελαίων. Το μεγαλύτερο ποσοστό των συστατικών όπως αναφέραμε, αποτελείται από τερπένια και τερπενοειδή. Παρά ταύτα συναντώνται συχνά αρωματικές και αλειφατικές ενώσεις (Guenther & Althausen, 1948; Bakkali et al., 2008).

Η απόδοση των φυτών σε αιθέριο έλαιο καθώς και η χημική σύσταση τους είναι ένα πολυπαραγοντικό αποτέλεσμα που χρήζει μεγάλης σημασίας. Το προϊόν εκχύλισης μπορεί να ποικίλει ανάλογα με το μέρος του φυτού ή ακόμα και με το ίδιο το φυτό. Ανάλογα σε ποιο στάδιο της ανάπτυξής του βρίσκεται, σε ποια περιοχή αναπτύχθηκε, με τι μέσα και ποια χρονική περίοδο συγκομίστηκε το φυτικό υλικό, καθορίζεται και το ανάλογο αποτέλεσμα. Παράλληλα, οι καλλιεργητικές μέθοδοι (άρδευση, λίπανση), οι περιβαλλοντικοί παράγοντες (διάρκεια ημέρας, θερμοκρασία, ξηρασία) καθώς και οι μολύνσεις ή οι τυχόν προσβολές εντόμων στα φυτά συμβάλλουν στην ποικιλομορφία του χημικού προφίλ των αιθερίων ελαίων (Franz and Novak, 2010), ενώ σημαντικό ρόλο παίζει και η μέθοδος παραλαβής των συστατικών.

### **1.2.2.1. Αιθέρια έλαια ως εντομοκτόνα**

Σήμερα λόγω του αυξανόμενου προβλήματος με τα συνθετικά φυτοπροστατευτικά, δίνεται περισσότερη έμφαση στη μελέτη των φυσικών εντομοκτόνων. Η μελέτη των δευτερογενών μεταβολιτών έχει δώσει κάποιες βιοδραστικές ενώσεις οι οποίες φαίνεται να έχουν ισχυρά πλεονεκτήματα έναντι των φυτοφαρμάκων του εμπορίου. Μέχρι τις πρόσφατες μελέτες έχουν ερευνηθεί περισσότερα από 2.000 είδη φυτών και ενώσεις που χαρακτηρίζονται με εντομοκτόνο ή εντομοαπωθητική δράση.

Ενώσεις φαινολικών, τερπενοειδών, φαινυλοπροπανοειδών, αλκαλοειδών και στεροειδών ομάδων έχει αποδειχθεί ότι δρουν επηρεάζοντας την ανάπτυξη, την πρόσληψη τροφής και την αναπαραγωγή πολλών εντόμων. Για παράδειγμα μέσω της αναστολής ενός ενζύμου της ακετυλοχολινεστεράσης δεν επιτρέπεται η σύνθεση της ακετυλοχολίνης. Έτσι με τη διακοπή της σύνθεσης της ακετυλοχολίνης που μεταφέρει νευρικά ερεθίσματα στον οργανισμό, το έντομο παρουσιάζει συμπτώματα αδυναμίας, παράλυσης και μακροπρόθεσμα επέρχεται ο θάνατός του. Παρ' όλα αυτά είναι μικρός ο αριθμός ερευνών που έχουν μελετήσει τον μηχανισμό δράσης των ελαίων σε βάθος.



Ωστόσο δεν είναι λίγες οι παρατηρήσεις ερευνητών τόσο σε εργαστηριακά πειράματα *in vivo* όσο και σε πειράματα στο πεδίο που αποδεικνύουν την τοξική ή απωθητική δράση. Πρόσφατα ο Cai με τους συνεργάτες του (2020), έδειξαν ότι μείγμα πτητικών ενώσεων (διμεθυλοσουλφύδιο και 1,8 σινεόλη) έχει καλή απωθητική δράση έναντι ενός φυσικού εχθρού των φυτών του τσαγιού, το *Empoasca onukii Matsuda*. Σημαντική εντομοκτόνο δράση κατά της πράσινης αφίδας της ροδακινιάς (*Myzus persicae*) εμφάνισε μέρος των δευτερογενών ενώσεων του φυτού *Dracocephalum kotschyi*. Επίσης ένα άλλο μείγμα δευτερογενών μεταβολιτών -πλούσιο σε υδρογονάνθρακες μονοτερπενίων και σεσκιτερπενίων- που εμφάνισε αυξημένη τοξικότητα κατά της αφίδας ήταν από βιομηχανικά παραπροϊόντα της κάνναβης (Benelli et al., 2018). Στην περίπτωση καλλιέργειας μπάμιας εκχυλίσματα από *Azadirachta indica* (neem) και *Nicotiana tabacum* (καπνός) μείωσαν σημαντικά την προσβολή από προνύμφες του εντόμου *Helicoverpa armigera* και παρατηρήθηκε αύξηση των φυτών (Javed et al., 2018). Οι Paradimitriou et al. (2019) εξέτασαν δύο συγκεντρώσεις (500 και 1000  $\mu\text{L/L}$ ) του αιθερίου ελαίου του φυτού *M. pulegium* προερχόμενων από δύο διαφορετικές περιοχές (Καλαμάτα, Ορεστιάδα), έναντι του ακάρεως *T. urticae*. Το ποσοστό θνησιμότητας για τη μικρή συγκέντρωση κυμαινόταν από 68% έως 71%, ενώ για τη μεγάλη συγκέντρωση των 1000  $\mu\text{L/L}$  το ποσοστό ήταν 86% και 92% αντίστοιχα για τις δύο περιοχές. Αυτή η διαφοροποίηση οφείλεται στη διαφορετική σύσταση των ελαίων από την κάθε περιοχή. Σε μία άλλη περίπτωση, έλαια από φυτά της ελληνικής χλωρίδας όπως *O. majorana*, *M. pulegium* και *M. officinalis* αξιολογήθηκαν για την επίδραση τους στη μακροζωία και στη γονιμότητα της αφίδας *M. persicae* (Petraakis et al., 2014). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι όλα τα παραπάνω έλαια προκάλεσαν σημαντική μείωση της διάρκειας ζωής και της γονιμότητας του εντόμου. Ωστόσο το έλαιο του *M. pulegium* εμφάνισε τη σημαντικότερη μείωση της διάρκειας ζωής έως 8 ημέρες καθώς και μείωση της γονιμότητας έως 40 φορές με συγκέντρωση 500  $\mu\text{L/L}$ .

Επιπλέον το μεγαλύτερο πλεονέκτημα των φυσικών σκευασμάτων βασίζεται στην πολύπλοκη σύνθεσή τους που τους καθιστά δύσκολους στη δημιουργία ανθεκτικότητας των εντόμων. Το ενδιαφέρον είναι ότι έχουν πολλαπλές θέσεις

στόχους και έτσι μειώνεται η πιθανότητα τα παράσιτα να μπορούν να αναπτύξουν τέτοιους αμυντικούς μηχανισμούς όπως γίνεται στην περίπτωση των συνθετικών φυτοφαρμάκων.

### **1.2.2.2. Άλλες χρήσεις αιθερίων ελαίων**

Έχουν καταγραφεί περίπου 3000 αιθέρια έλαια εκ των οποίων τα 300 είναι εμπορικά σημαντικά. Σε βιομηχανικό επίπεδο τα αιθέρια έλαια εμφανίστηκαν το πρώτο μισό του 19<sup>ου</sup> αιώνα λόγω της μεγάλης ζήτησης που είχαν ως αρώματα στη βιομηχανία τροφίμων. Έκτοτε σημείωσαν άνοδο εξαιτίας της χρήσης όλο και περισσότερων φυσικών προϊόντων σε πολλούς τομείς λόγω των ιδιοτήτων τους. Για παράδειγμα, ορισμένα από τα συστατικά των αιθερίων ελαίων χρησιμοποιούνται σε αρώματα και καλλυντικά από βιομηχανίες καλλυντικών, στην οδοντιατρική μέσω κάποιων σκευασμάτων ή ακόμα και μέσω των προϊόντων στοματικής υγιεινής και στη γεωργία σε φυτοπροστατευτικά προϊόντα για την αντιμετώπιση διαφόρων ασθενειών και μυκήτων (Zengin and Baysal, 2014). Επίσης μεγάλο εύρος εφαρμογής έχουν στη βιομηχανία τροφίμων ως βελτιωτές γεύσεων. Εξαιρετικά αποτελέσματα εμφανίζουν και ως συντηρητικά τροφίμων μέσα ή πάνω σε αυτά, λόγω της αντισηπτικής, αντιμικροβιακής και αντιμυκητιακής δράσης που έχουν. Παρ' όλα αυτά δεν έχουν εγκριθεί ακόμα από την Ε.Ε. για αυτήν τους τη χρήση (Sharma et al., 2021). Άλλη μία χρήση των αιθερίων ελαίων με ανατολικές ρίζες είναι στην αρωματοθεραπεία και στο μασάζ. Τα έλαια προστίθενται σε έλαια βάσης (δαφνέλαιο, καστορέλαιο, αβοκαντέλαιο) προωθώντας την ευεξία, τη χαλάρωση, την υπεραιμία για καλύτερη κίνηση του αίματος και την αναζωογόνηση. Λόγω της νέας έλξης των ατόμων και των βιομηχανιών για φυσικά, οικολογικά προϊόντα είναι σημαντικό και απαραίτητο να αναπτυχθεί καλύτερη κατανόηση του τρόπου βιολογικής δράσης για νέες εφαρμογές τόσο σε θέματα ανθρώπινης υγείας όσο και στη γεωργία και το περιβάλλον.

### **1.3. Υδρολύματα**

Τα υδρολύματα τα οποία αναφέρονται και ως αρωματικά νερά, προέρχονται από την διαδικασία της απόσταξης των αιθερίων ελαίων με ατμό ή με νερό. Αρχικά, οι

αποστάξεις πραγματοποιούνταν για τη λήψη των αιθερίων ελαίων, ενώ το υδρόλυμα που παραγόταν θεωρούνταν ως παραπροϊόν μηδενικής αξίας (Catty, 2001). Ωστόσο, την τελευταία δεκαετία η ανησυχία της εξέλιξης του πλανήτη, η περιβαλλοντική επιβάρυνση όπως και η οικονομική δυσχέρεια των βιομηχανιών για τη διάθεση των λυμάτων έχει προκαλέσει μεγάλο ενδιαφέρον στην επιστημονική κοινότητα η δυνατότητα αξιοποίησης των παραπροϊόντων της απόσταξης.

Τα υδρολύματα είναι πολύπλοκα μείγματα. Περιέχουν νερό που εισάγεται κατά τη διάρκεια επεξεργασίας του φυτικού υλικού και βιολογικά ενεργές πτητικές ενώσεις όπως ίχνη αιθερίου ελαίου και πολλά υδατοδιαλυτά συστατικά (Sağdic, 2004). Έτσι μπορεί να παρουσιάζουν κάποιες από τις βιολογικές δράσεις των ελαίων δημιουργώντας ένα επιπλέον κίνητρο για περισσότερη ανάλυση. Τα υδρολύματα, όπως είναι λογικό, εμφανίζουν πιο ήπια μυρωδιά από τα αιθέρια έλαια. Χρησιμοποιούνται στην αρωματοθεραπεία και λόγω της μεγάλης αραιώσης τους μπορούν να εφαρμοστούν τοπικά και άμεσα.

Ορισμένα υδρολύματα έχουν εμφανίσει αντιμικροβιακές και αντιβακτηριακές ιδιότητες έναντι των βακτηρίων *E. coli* και *Salmonella typhimurium* (Prusinowska et al., 2015; Boyran & Ozcan, 2005). Επιπλέον, η Garzoli και η ομάδα της (2020) ανακαλύψανε ότι το υδρόλυμα της λεβάντας όταν είναι εγκλεισμένο σε νανογαλάκτωμα έχει μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση κατά του *E. Coli* και του *B. Cereus*. Μία άλλη έρευνα με υδρολύματα ρίγανης και θυμαριού σε συγκεντρώσεις 50 mL και 75 mL/100 mL νερού έδειξαν αυξημένη ανασταλτική δράση των βακτηρίων (Sağdic, 2004). Εντούτοις, άλλες μελέτες έχουν δείξει ότι έχουν μικρή αντιμικροβιακή και αντιμυκητιακή δραστηριότητα (Moteza- Semnani et al., 2011; Derwich et al., 2010). Παρά τις αντιθέσεις το θετικό είναι ότι εμφανίζουν μεγάλη αντιμικροβιακή σταθερότητα με την προοπτική να χρησιμοποιηθούν ως συντηρητικά σε αποθηκευμένα τρόφιμα (Prusinowska et al., 2015) καθώς μπορούν να βρουν εφαρμογή και σε καλλυντικά (Kunicka-Styczyńska et al., 2015).

## 1.4. Φαρμακευτικά και Αρωματικά Φυτά

### 1.4.1. Οικογένεια *Lamiaceae*

Η *Lamiaceae* ή *Labiatae* είναι οικογένεια φυτών με περίπου 233 γένη και 6.900 είδη. Στην Ευρώπη υπάρχουν 452 είδη και πιο συγκεκριμένα στην Ελλάδα γύρω στα 300 (Heywood et al., 2007). Όπως διακρίνεται, μία από τις περιοχές με την μεγαλύτερη συγκέντρωση ειδών της οικογένειας αυτής είναι η λεκάνη της Μεσογείου. Ορισμένα παραδείγματα φυτών που συναντώνται εδώ είναι: δενδρολίβανο, μαντζουράνα, μελισσόχορτο, ρίγανη, λεβάντα και μέντα. Επιπλέον στην Ελλάδα θα μπορούσε να θεωρηθεί ως η πιο σημαντική οικογένεια φαρμακευτικών-αρωματικών φυτών καθώς υπάρχουν πολλά ενδημικά και μη είδη που βρίσκονται σε όλες σχεδόν τις περιοχές της (Kokkini et al., 1988).

Τα φυτά είναι ποώδη, ημι-θαμνώδη ή θαμνώδη, ετήσια ή πολυετή. Ένα από τα κύρια χαρακτηριστικά της οικογένειας είναι η τετραγωνική διατομή του βλαστού. Τα φύλλα είναι απλά, αντίθετα ή και με σταυροειδή διάταξη, απουσία παράφυλλων, ενώ τα άνθη είναι ισχυρά ζυγόμορφα με έντονη οσμή (Agostini et al., 2009).

Το αρωματικό δυναμικό και η πλούσια χημική σύσταση των φυτών χαρακτηριζόμενη από ενώσεις που έχουν ευρύ φάσμα ιδιοτήτων είναι τα χαρακτηριστικά που παρουσιάζουν μεγάλο ενδιαφέρον και εφαρμόζονται στην ιατρική, τη βιομηχανία καλλυντικών, αρωμάτων και τροφίμων (Waller et al., 2017; Lee et al., 2011). Αποτέλεσμα αυτού του πράγματος είναι η εντατική καλλιέργεια πολλών φυτών αυτής της οικογένειας σε μεγάλες εκτάσεις.

#### 1.4.1.1. *Rosmarinus officinalis* L. (δενδρολίβανο)

Το φυτικό είδος *Rosmarinus officinalis* L. είναι ένα φαρμακευτικό – αρωματικό φυτό με μεγάλη σημασία. Ετυμολογικά το λατινικό του όνομα σημαίνει “δροσιά της θάλασσας”. Η προέλευση του δενδρολίβανου είναι από τις παραμεσόγειες περιοχές αλλά τώρα καλλιεργείται σε πολλές χώρες με ευνοϊκές γι’ αυτό συνθήκες. Καλλιεργείται για τις μαγειρικές του χρήσεις και για την παραγωγή του αιθερίου ελαίου (Karabag et al., 2019). Γνωστό στην Ελλάδα από την αρχαιότητα μέχρι σήμερα,

όπου εντοπίζεται αυτοφυές ακόμη και σε πετρώδεις τόπους στην Πελοπόννησο, την Ήπειρο και τα νησιά.

Πρόκειται για έναν αειθαλή, πυκνόφυλλο θάμνο με ύψος που δεν ξεπερνά τα 2 m. Έχει γκρίζο, ξυλώδη κορμό που διακλαδίζεται από πολύ χαμηλά και συνήθως είναι στρεβλωμένος. Τα φύλλα του είναι δερματώδη, άκαμπτα, μικρά και βελονοειδή έτσι ώστε να μπορεί να αντέξει σε θερμές και άγονες περιοχές (Κατσιώτης & Χατζοπούλου, 2013). Στην πάνω επιφάνεια έχουν έντονο πράσινο χρώμα, ενώ αντιθέτως από κάτω είναι χνουδωτά με τριχοειδείς αδένες που βοηθούν στην διάχυση του χαρακτηριστικού αρώματος. Τα άνθη του με κυανό, κυανόλευκο ή πιο σπάνια λευκό χρώμα, εκφύονται κατά ομάδες μεταξύ των περιοχών των φύλλων και του βλαστού. Όσον αφορά την καλλιέργειά του, είναι ένα φυτό που δεν έχει ιδιαίτερες απαιτήσεις αφού μπορεί να προσαρμοστεί σε ένα μεγάλο εύρος pH εδάφους (4,5-8,7) και δεν χρειάζεται άρδευση παρά μόνο ως βοήθεια κατά τους καλοκαιρινούς μήνες. Ωστόσο, έχει παρατηρηθεί ότι σε πιο εύφορα εδάφη το φυτό εμφανίζεται πιο εύρωστο αλλά λιγότερο αρωματικό. Εντούτοις όταν βρίσκεται σε αμμώδη ή χαλκώδη εδάφη το άρωμα που διαχέει είναι εντονότερο λόγω της πίεσης του φυτού να αντέξει (Ali et al., 2019).

Το δυναμικό του δενδρολίβανου είναι άφθονο καθώς αποτελεί πηγή πολλών πτητικών και μη πτητικών ενώσεων. Από τη μελέτη πολλών ερευνητών έχει αποδειχθεί ότι η σύνθεση των ενώσεων ποικίλει. Αυτό το αποτέλεσμα είναι πολυπαραγοντικό διότι μπορεί να αποδοθεί στις κλιματικές αλλαγές, στην ηλικία των φυτών, στη μέθοδο αποθήκευσης, στη διαδικασία ξήρανσης καθώς και στον τρόπο αλλά και τον τύπο του διαλύτη που χρησιμοποιείται κατά την απόσταξη (Linarres et al., 2011; Ali et al., 2019). Οι Bogres et al (2019) όπως αναφέρει ο Linarres και η ομάδα του, βρήκαν περίπου 150 διαφορετικές ενώσεις. Οι πιο συχνά αναφερόμενες και από άλλες έρευνες είναι η 1,8 σινεόλη, α-πινένιο, καμφορά, οξικός βορνυλεστέρας, καμφένιο, βορνεόλη, α-τερπινεόλη, λιμονένιο, β-πινένιο, β-καρυοφυλλένιο και μυρκένιο (Satyal et al., 2017; Borges et al., 2019). Επίσης, τα κύρια συστατικά των πολικών, μη πτητικών κλασμάτων που ταυτοποιήθηκαν και έδειξαν ισχυρή αντιοξειδωτική δράση ήταν το ροσμαρονικό και καρσονικό οξύ, η ροσμανόλη, η

καρνοσόλη, η λουτεολίνη, η κυρσετίνη και η απιγενίνη (Karadag et al., 2019; Ali et al., 2019). Εν ολίγοις, το αιθέριο έλαιο αποτελείται ως επί τω πλείστον από τερπένια ενώ το μη πτητικό κλάσμα από φλαβονοειδή, φαινολικά οξέα, πολυφαινόλες και κάποια μη πτητικά τερπενοειδή.

Αυτό το φυτικό είδος όπως και τα παράγωγα του, έχει δείξει σε βάθος χρόνου ότι είναι πολύ χρήσιμο φαρμακευτικό-αρωματικό φυτό. Όπως προαναφέραμε, περιέχει συστατικά τα οποία διαθέτουν αντιοξειδωτική, αντιμικροβιακή και αναλγητική δράση. Το έλαιο του χαρακτηρίζεται από τα πιο διαδεδομένα και χρησιμοποιημένα έλαια στον κόσμο. Εφαρμόζεται ευρύτατα στον τομέα των τροφίμων, στη βιομηχανία καλλυντικών αλλά και στη φαρμακοβιομηχανία. Στην παραδοσιακή ιατρική θεωρήθηκε ήπιο αναλγητικό και διεγερτικό, με αποτέλεσμα να χρησιμοποιείται κατά των φλεγμονών, των κεφαλαλγιών, της σωματικής και ψυχικής κόπωσης. Στη μαγειρική ως αυτούσιο φυτό δίνει ευχάριστη μυρωδιά και γεύση. Συμπληρωματικά αξίζει να σημειωθεί ότι έχει διερευνηθεί η εντομοκτόνος δράση του σε ένα ευρύ φάσμα παρασιτικών εντόμων (Kiran & Prakash, 2015; Miresmailli et al., 2006).

#### **1.4.1.2. *Mentha piperita* L. (μέντα)**

Η μέντα ανήκει στην οικογένεια Lamiaceae και από τον 17<sup>ο</sup> αιώνα που αναγνωρίσθηκε ως ξεχωριστό είδος έπαιξε σημαντικό ρόλο στην ζωή του ανθρώπου. Είναι υβριδικό αποτέλεσμα των *Mentha spicata* L. και *Mentha aquatic*. Τον 18<sup>ο</sup> αιώνα ξεκίνησε να χρησιμοποιείται στην Αγγλία στο χώρο της ιατρικής από καλλιέργειες που υπήρχαν στην περιοχή του Mitcham. Έκτοτε καλλιεργείται σε όλη την Ευρωπαϊκή Ήπειρο, την Αμερική, την Βόρεια Αφρική και άλλες χώρες που ανήκουν στην εύκρατη ζώνη (Singh et al., 2015).

Η *Mentha piperita* L. είναι ποώδες, πολυετές φυτό με τετραγωνικό, ερυθροϊώδη βλαστό ύψους 30-100 cm. Τα φύλλα του έχουν σχήμα ωοειδές και είναι οδοντωτά με μικρές ή μεγάλες πτυχώσεις ανάλογα με την ποικιλία του φυτού. Επίσης σε όλο το μήκος της επιφάνειάς τους καλύπτονται από αδενικές τρίχες ενώ τα άνθη του έχουν μωβ ή ροζ χρώμα. Σχετικά με την καλλιέργειά του μπορεί να αναπτυχθεί σχεδόν σε όλα τα εδάφη πλην από τα αργυλώδη και τα πολύ υγρά. Δεν προτιμάει τον άμεσο ή

έντονο ήλιο αλλά παρ' όλα αυτά θέλει φως. Ένα ακόμα χαρακτηριστικό είναι ότι αντέχει στο κρύο εξαιτίας των ριζομάτων που διαθέτει.

Κατά κύριο λόγο το εναέριο τμήμα του φυτού είναι αυτό που χρησιμοποιείται πιο πολύ και παράγει ένα ευχάριστο άρωμα. Η απόδοση του αιθερίου ελαίου όπου θεωρείται και το βασικό φαρμακευτικό συστατικό είναι σε ποσοστό από 0,1 έως 1,5%. Σύμφωνα με μελέτες το έλαιο αποτελείται από 4 κύρια συστατικά: τη μενθόνη, τη μενθόλη, το μεντοφουράνιο και το οξικό μενθύλιο (Sokovic et al., 2009; Murray, 2020). Άλλες φαρμακευτικές ενώσεις που περιλαμβάνει το αιθέριο έλαιο είναι αυτές του καφεϊκού οξέος, της χολίνης και διάφορων φλαβονοειδών, καροτινών, τοκοφερολών και τανίνων. Βέβαια υπάρχουν διαφοροποιήσεις των επιμέρους συστατικών και της εκατοστιαίας περιεκτικότητας τους επί του συνολικού ποσοστού λόγω της ποικιλίας, του κλίματος και της γεωγραφικής θέσης.

Απότοκο των συστατικών αυτών είναι η αντιμικροβιακή, αντιβακτηριακή, αντισπασμωδική, αντισηπτική, αντική και αντιμυκητιασική δράση που έχει (Lis-Balchin et al., 1997). Η μενθόλη χρησιμοποιείται σε οδοντόκρεμες, αρωματικά στόματος, σε τσίχλες-καραμέλες, ροφήματα και τρόφιμα ως προσθετικό γεύσης. Ακόμα χρησιμοποιείται και στην καπνοβιομηχανία. Επίσης τα φύλλα της είτε ξερά είτε φρέσκα είναι πηγή φρεσκάδας και μπορούν να ενταχθούν σε τρόφιμα και ποτά. Στην παραδοσιακή ιατρική έχει παίξει κατασταλτικό ρόλο στον πονόλαιμο, τον πονόδοντο, το κρυολόγημα, τις κράμπες και τις ναυτίες. Αξίζει να αναφερθεί και η δράση του αιθερίου ελαίου στη θεραπεία των καρκίνων (Briggs, 1993), ενώ αξιοσημείωτη είναι και η δράση του ως εντομοκτόνο.

#### **1.4.1.3. *Origanum vulgare ssp. hirtum* (ρίγανη)**

Το τρίτο φυτό της οικογένειας Lamiaceae που θα εξετάσουμε σε αυτή τη μελέτη είναι η ρίγανη. Η ρίγανη είναι ιθαγενές φυτό της Μεσογείου με μεγάλη εξάπλωση σε χώρες γύρω από αυτήν αλλά και στην κεντρική Ασία. Τα περισσότερα είδη, δηλαδή περίπου το 75% του συνόλου συναντώνται στην Ανατολική Μεσόγειο, ενώ το υπόλοιπο 25% ανήκει στη δυτική πλευρά.

Χαρακτηρίζεται ως αρωματικό, ποώδες και πολυετές φυτό με βλαστό όρθιο, τετραγωνικό που δεν ξεπερνά το ύψος των 80 cm. Έχει φύλλα σχετικά μικρά, έμμισχα, ωειδή, διατεταγμένα αντιθέτως και τα άνθη του είναι μικρά, λευκά σε σύνθετη ταξιανθία από σπονδυλωτούς στάχεις (Κατσιώτης & Χατζοπούλου, 2010). Επιπροσθέτως, ολόκληρο το φυτό καλύπτεται από αδενικά τριχίδια. Αυτοφύεται σε χαμηλά έως μεσαία υψόμετρα, σε φωτεινές συνήθως θέσεις αφού της αρέσει η μεγάλη φωτοπερίοδος. Μπορεί να καλλιεργηθεί και να αναπτυχθεί εύκολα σε όλων των τύπων τα εδάφη καθώς επίσης δεν έχει πολλές απαιτήσεις σε νερό.

Γενικά καλλιεργείται σε πολλά μέρη με μεγάλη επιτυχία αν και λέγεται ότι η καλύτερη ρίγανη είναι η ελληνική. Ύστερα από αρκετές μελέτες έχει παρατηρηθεί ότι το φυτό-ποικιλία της κάθε περιοχής αποδίδει διαφορετικό χημικό προφίλ δίνοντας μια ποικιλομορφία στην ποσοτική και ποιοτική σύνθεση του αιθερίου ελαίου (Fraj et al., 2019; Lukas et al., 2013). Το αιθέριο έλαιο αποτελείται από ενώσεις όπως υδρογονάνθρακες μονοτερπενίου (α και β-πινένιο, π-κυμένιο), σεσκιτερπένια (β-καρυοφυλλένιο), φαινόλες (καρβακρόλη, θυμόλη) και μη πτητικές ενώσεις όπως φαινολικά οξέα και флаβονοειδή (Fraj et al., 2019). Το κύριο συστατικό της ρίγανης, η καρβακρόλη, αποτελεί έως και το 68% της συνολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου. Όμως, χημικά μπορεί να υπάρξει και ρίγανη με κύριο συστατικό την θυμόλη. Έτσι, προκύπτουν κυρίως δύο τύποι ρίγανης: της καρβακρόλης και της θυμόλης και εν μέρει μεικτοί τύποι των αναλογιών μεταξύ των δύο. Εμπορικά συνηθίζεται να προτιμάται ο τύπος της καρβακρόλης διότι αυτή είναι που ευθύνεται για τις φαρμακευτικές δράσεις (Silva et al., 2012). Ειδικότερα ξεχωρίζει για την αντιμικροβιακή και την αντιοξειδωτική δράση της.

Στον τομέα της ιατρικής χρησιμοποιείται για την θεραπεία των εντερικών διαταραχών, την προσωρινή απώλεια της όρεξης, τη διέγερση της έκκρισης της χολής και εξωτερικά σε φλεγμονές του δέρματος (Chishti et al., 2013). Επίσης είναι αποτελεσματικό κατά του βήχα και των καρκινικών κυττάρων. Στον τομέα των τροφίμων μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την αποφυγή οξείδωσης προϊόντων ή ως ενισχυτικό γεύσης. Στην καθημερινότητα παίζει πρωταρχικό ρόλο στα πιάτα της μεσογειακής κουζίνας και είναι ένα συστατικό που δε λείπει σχεδόν ποτέ. Η



ολοκληρωμένη χρήση της ρίγανης τόσο ως φάρμακο όσο και ως καρύκευμα, έχει ως αποτέλεσμα να συμβάλει σημαντικά στην οικονομική του σημασία.

Στον αντίποδα, η αρβουτίνη ένα από τα συστατικά της ρίγανης, είναι παράγωγο υδροκινόνης του οποίου οι μεταβολίτες θα μπορούσαν να παρουσιάσουν επιπτώσεις στην καθημερινή διατροφή. Εντούτοις, όπως αναφέρει ο Lukas (2013) έχει ενδιαφέρον για τις διουρητικές, αντιφλεγμονώδεις και λευκαντικές ιδιότητές της. Ωστόσο άλλο ένα πρόβλημα που αντιμετωπίζει η ρίγανη είναι η παράνομη συλλογή της καθώς υπάρχει κίνδυνος εξαφάνισης συγκεκριμένων ποικιλιών όχι μόνο από Ελλάδα αλλά και από άλλες περιοχές με αυτοφυή βλάστηση.

#### **1.4.2. Οικογένεια Asteraceae**

Η οικογένεια Asteraceae ή αλλιώς Compositae είναι μία μεγάλη και πολύ διαδεδομένη οικογένεια ανθοφόρων φυτών ανά τον κόσμο. Σήμερα υπολογίζεται ότι αποτελείται από 32.913 είδη, τα οποία κατανέμονται σε 1.911 γένη και 13 υποοικογένειες (Rustaiyan & Faridchehr, 2021). Χάρη στην προσαρμοστικότητα της σε εύκρατα, τροπικά, αλλά και κρύα κλίματα συναντάται σε όλο τον πλανήτη εκτός από την Αρκτική και την Ανταρκτική. Στην ευρωπαϊκή χλωρίδα όπως και στην λεκάνη της Μεσογείου είναι η κύρια οικογένεια με 1.616 και 4.337 είδη αντιστοίχως (Greuter, 2008). Κάποια πολύ γνωστά φυτά είναι το χαμομήλι, ο ηλιάνθος, η μαργαρίτα, το χρυσάνθεμο και το γαϊδουράγκαθο.

Περιλαμβάνει κυρίως πόες, ημί-θάμνους, θάμνους, αναρριχητικά φυτά και σπανιότερα δέντρα. Είναι μονοετή, διετή ή πολυετή. Στα φύλλα και τον βλαστό τους συχνά υπάρχουν εκκριτικά κανάλια με ρητίνη ή γαλακτώδη χυμό (Hegnauer, 1977). Τα φύλλα μπορεί να είναι τοποθετημένα εναλλάξ, αντίθετα ή κατά σπονδύλους. Ακόμη, το έλασμα τους μπορεί να είναι απλό, αλλά πολλές φορές παρουσιάζει έντονες αυλακώσεις ή ποικιλόμορφα σκισίματα με διάφορου τύπου οδοντώσεις. Ενώ το πιο αντιπροσωπευτικό χαρακτηριστικό τους είναι η ταξιανθία. Αυτή συγκροτείται από ένα ή περισσότερα κεφάλια αποκαλούμενο γενικά ως ανθικό κεφάλιο (Morhardt & Morhardt, 1977). Το κεφάλιο είναι ένας συμπυκνωμένος βότρυς με πολλά άμισχα

άνθη, τα ανθίδια οπού σε μία μακροσκοπική του εικόνα μοιάζει ως ένα πολύ μεγάλο απλό άνθος.

Από χημικής άποψης τα φυτικά είδη της οικογένειας Asteraceae χαρακτηρίζονται από την εμφάνιση λακτόνων, φρουκτόνων, ακετυλενικών ενώσεων, τριτερπενοειδών και φλαβονοειδών. Τα αιθέρια έλαια είναι γνωστά για τις πολυάριθμες δράσεις τους όπως η αντιμικροβιακή, η αντιοξειδωτική, η αντιβακτηριακή με αποτέλεσμα να γίνεται χρήση των φυτών αυτών σε διάφορους τομείς.

#### **1.4.2.1. *Matricaria chamomilla* L. (χαμομήλι)**

Το χαμομήλι *M. chamomilla*, γνωστό και ως γερμανικό χαμομήλι ανήκει στην οικογένεια Asteraceae και είναι από τα πιο αγαπημένα και διεθνώς χρησιμοποιούμενα φαρμακευτικά – αρωματικά φυτά. Αναπτύσσεται σε αυτόχθονες περιοχές της Βόρεια και Κεντρικής Ευρώπης αλλά κατά κύριο λόγο στην ΝΑ Ευρώπη, την Βόρεια Αφρική και την Βόρεια Αμερική (Upadhyay & Patra, 2011). Εξαιτίας της μεγάλης απήχησης του βοτάνου εισήχθη και άρχισε να καλλιεργείται σε πολλές περιοχές της Ινδίας, της Ρωσίας, της Βραζιλίας και άλλων χωρών (Upadhyay, Singh, Tewari, 2016).

Είναι ετήσια πόα, ύψους 20-100 cm, με φύλλα εναλλάξ και πτεροειδή. Το ανθικό κεφάλιο του φυτού έχει μέγεθος 1,5-2,5 cm με σωληνόμορφα ανθίδια κίτρινου χρώματος και 12-16 λογχοειδή λευκά ανθίδια στην περιφέρειά του. Το φυτό για να αναπτυχθεί επιτυχώς χρειάζεται εύκρατες και δροσερές συνθήκες με θερμοκρασίες που κυμαίνονται από 7-26 °C. Πάρα ταύτα είναι ανθεκτικό και σε χαμηλότερες θερμοκρασίες (Singh, Khanam, Misra, Srivastava, 2011). Στο αρχικό στάδιο της ανάπτυξής του χρειάζεται αρκετό νερό για να βλαστήσει, ενώ στη συνέχεια έχει χαμηλές αρδευτικές ανάγκες (Sarifi-Rad et al., 2018). Αναπτύσσεται σε οποιοδήποτε τύπο εδάφους με καλή αποστράγγιση, αλλά προτιμάει τα αμμώδη ή αμμοαργιλώδη με pH 4-8. Παρόλο που δεν απαιτεί μεγάλες ποσότητες λιπάσματος, καλό θα ήταν αφού εξεταστεί με εδαφολογική ανάλυση το έδαφος του πεδίου και πριν την εγκατάσταση, να γίνει μία ορθολογική λίπανση. Όταν αναπτύσσεται σε σκιερά μέρη

μπορεί να δώσει μεγαλύτερη περιεκτικότητα σε χαμαζουλένιο, ένα από τα χαρακτηριστικά συστατικά του αιθερίου ελαίου του φυτού.

Η μεγαλύτερη περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου βρίσκεται κυρίως στο κεφάλιο και στα βράκτια και λιγότερο στο υπόλοιπο φυτό. Γενικά υπάρχει μεγάλη διαφοροποίηση στην ποιοτική και ποσοτική σύσταση των κλασμάτων από περιοχή σε περιοχή και από εποχή σε εποχή. Εντούτοις υπάρχουν κάποια συστατικά που ανιχνεύονται σε όλα τα αιθέρια έλαια όπως τα σεσκιτερπένια: α-βισαβολόλη, Α και Β οξείδιο βισαβολόλης, οξείδιο βιβαβολόνης, (E)-β-φαρνεσένιο, το χαμαζουλένιο και οι πολυακετυλικές ενώσεις. Επίσης ανιχνεύθηκαν μονοτερπένια όπως λιμονένιο, γ-τερπένιο και (Z)-β-οκυμένιο (Heuskin et al., 2009). Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Φαρμακοποιία (ΕΦ) (2010), θα πρέπει τα άνθη του χαμομηλιού να περιέχουν τουλάχιστον 4 mL/kg, δηλαδή περίπου 0,4% χαμαζουλένιο και τουλάχιστον 0,25% της απιγενίνης 7-γλυκοζίτη. Το χαρακτηριστικό μπλε χρώμα του αιθερίου ελαίου προκύπτει από την ένωση του χαμαζουλενίου με αντιπροσωπευτική μυρωδιά, ενώ η απόδοση του είναι από 0,3-1,5% (Sticher, 2010; Sharifi-Rad et al., 2018).

Λόγω των παραπάνω χημικών ενώσεων, το χαμομήλι έχει χαρακτηριστεί ως ένα πολυχρησιμοποιούμενο φυτό τόσο στην ιατρική και στη φαρμακοποιία όσο και σε άλλους τομείς όπως αυτόν των τροφίμων. Ήταν γνωστό στην αρχαία Αίγυπτο, την Ελλάδα και την Ρώμη ως φυτικό φάρμακο, γεγονός που επιβεβαιώνεται και σήμερα καθώς προτείνεται ως συστατικό πολλών παραδοσιακών και ομοιοπαθητικών φαρμακευτικών σκευασμάτων (Das et al., 1998). Χρησιμοποιείται επίσης ως αντιφλεγμονώδες, αντισπασμωδικό, ηρεμιστικό και αντισηπτικό για λοιμώξεις και ερεθισμούς του δέρματος αλλά και για πληγές που αργούν να επουλωθούν. Απόρροια της εκτεταμένης χρήσης του είναι η δημιουργία μεγάλου χάσματος ζήτησης και προσφοράς με αποτέλεσμα να συλλέγεται παρανόμως από την φύση.

### 1.4.3. Οικογένεια Verbenaceae

Μία άλλη οικογένεια κάποιων φαρμακευτικών – αρωματικών φυτών είναι η Verbenaceae. Η οικογένεια Verbenaceae αποτελείται από 98 γένη και 2.600 είδη. Διανέμεται παγκοσμίως αλλά το μεγαλύτερο ποσοστό των ειδών παρουσιάζεται σε

τροπικές και υποτροπικές συνθήκες. Ο μικρός αριθμός των γένων και των φυτών της οικογένειας Verbenaceae που βρίσκουν χρήση οι άνθρωποι είναι περιοριστικός

παράγοντας για την επιστημονική κοινότητα με αποτέλεσμα να μην υπάρχει επαρκής βιβλιογραφία.

#### **1.4.3.1. *Aloysia triphyla* L'Her Britton (λουΐζα)**

Η λουΐζα η οποία έχει πολλές επιστημονικές και κοινές ονομασίες, είναι είδος της οικογένειας Verbenaceae. Προέρχεται από την Νότια Αμερική όπου ο πολιτισμός των Ίνκας το χρησιμοποιούσε για ιατρικούς και φαρμακευτικούς σκοπούς. Στην Ευρώπη ήρθε τον 17<sup>ο</sup> αιώνα μ.Χ. από Ισπανούς και Πορτογάλους ερευνητές αξιοποιώντας το αιθέριο έλαιο του, αλλά και το ίδιο το φυτό. Έπειτα άρχισε να καλλιεργείται σε χώρες της λεκάνης της Μεσογείου, της κεντρικής Ευρώπης, αλλά και σε ασιατικές χώρες με εύκρατο κλίμα όπως το Βιετνάμ (Elechosa et al., 2017).

Μορφολογικά είναι ένας φυλλοβόλος, πολυετής θάμνος ύψους έως 3 m. Τα φύλλα του είναι λογχοειδή, τραχιά με αυλακώσεις, ενώ τα μικρού μεγέθους άνθη του ποικίλουν σε χρωματισμούς αφήνοντας ένα έντονο άρωμα που θυμίζει λεμόνι (Bahramsoltani et al., 2018). Η καλλιέργειά της στο έδαφος είναι εύκολη καθώς προτιμάει δροσερά, γόνιμα, με καλή αποστράγγιση εδάφη και μικρή ποσότητα λίπανσης την άνοιξη για να αναπτυχθεί επιτυχώς. Ωστόσο έχει πολλές απαιτήσεις σε νερό, ειδικά κατά τους καλοκαιρινούς μήνες. Συνήθως συγκομίζεται κατά την έναρξη της ανθοφορίας της, δηλαδή στις αρχές του καλοκαιριού, αλλά μπορεί να δώσει και δεύτερη σοδειά χαμηλότερης ποιότητας μετά από λίγους μήνες (Ody, βιβλίο). Η λουΐζα αφού συγκομιστεί αξιοποιείται σε πολλούς τομείς.

Το αιθέριο έλαιο της λουΐζας έχει αναλυθεί από πολλούς ερευνητές και παρά τις διαφορές, φαίνεται ότι έχει κάποια κύρια συστατικά που επικρατούν στην πλειονότητα των δειγμάτων. Για παράδειγμα η γερανιάλη, η νεράλη, η σιτρονελάλη, η 1,8 σινεόλη και το μη πτητικό συστατικό βερμπασκοσίδη (Bahramsoltani et al., 2018). Επιπλέον το έλαιο αποτελείται κυρίως από μονοτερπένια, τερπενοειδή, σεσκιτερπένια, σεσκιτερπενοειδή, φλαβονοειδή και φαινολικά παράγωγα και κάποιες λιπαρές αλκοόλες.

Εξαιτίας αυτής της χημικής σύνθεσης, το αιθέριο έλαιο είναι υπεύθυνο για μία σειρά σημαντικών βιολογικών δραστηριοτήτων όπως η αντιμικροβιακή, η αναισθητική, η νευροπροστατευτική, η αντιοξειδωτική χάρη στα φαινολικά, η αντικαρκινική και η ηρεμιστική. Έτσι, βρίσκει εφαρμογή σε πολλά προϊόντα τροφίμων και ποτών ως ενισχυτικό γεύσης ή ως αναζωογονητικό, σε φαρμακευτικά ή ιατρικά προϊόντα για καρδιακές παθήσεις, διαταραχές στομάχου, θλίψης και νευρικότητας ή ακόμη και σε καλλυντικά προϊόντα. Εντούτοις, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή (Οδηγία 2009/164/ΕΕ, της 22ας Δεκεμβρίου 2009) υπάρχει περιορισμός της χρήσης του αιθερίου ελαίου και των παράγωγων του εκτός του ακέραιου, ως συστατικό αρώματος με βάση την δυνατότητα πρόκλησης ευαισθητοποίησης. Δηλαδή, η μέγιστη επιτρεπόμενη συγκέντρωση στο τελικό καλλυντικό πρέπει να είναι 0,2% και το επίπεδο της ελεύθερης αλλυλικής αλκοόλης στον εστέρα πρέπει να είναι χαμηλότερο από 0,1% (ΕΕ, 2010).

### **1.5. Ολοκληρωμένη Διαχείριση**

Η ανεξέλεγκτη χρήση των συνθετικών φυτοφαρμάκων για την καταπολέμηση εχθρών και ασθενειών που προσβάλουν τις καλλιέργειες τόσα χρόνια έχει προκαλέσει ανεπανόρθωτα προβλήματα στον πλανήτη. Έτσι δημιουργήθηκε η ανάγκη εναλλακτικών ιδεών με βιολογικά σκευάσματα που αντικαθιστούν τις ρυπογόνους εισόδους και δεν επιβαρύνουν την υγεία των καταναλωτών αλλά και τη ρύπανση της Γης. Ο βιολογικός έλεγχος δεν είναι κάτι πρόσφατο. Έχει χρησιμοποιηθεί από το 304 π.Χ. στην Κίνα όπου ενέταξαν σε καλλιέργεια εσπεριδοειδών μυρμηγκία για την αντιμετώπιση επιζήμιων εντόμων (Πέκκας, 2010). Αλλά και στη σύγχρονη εποχή, το 1880 στην Καλιφόρνια ήταν η πρώτη σχεδιασμένη βιολογική καταπολέμηση με την εισαγωγή του αρπακτικού εντόμου *Rodolia cardinalis* ενάντια του *Icerya purchasi*. Έκτοτε ήταν λίγες οι αναφορές μέχρι το τέλος της δεκαετίας του 1960, ενώ σήμερα έχει γίνει άμεση ανάγκη. Ο όρος “βιολογική καταπολέμηση” ορίζεται ως η μέθοδος

διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών όπως έντομα, ζιζάνια και ασθένειες με τη χρήση φυσικών εχθρών. Ωστόσο στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών περιλαμβάνεται και η εφαρμογή εντομοκτόνων από φυτικά σκευάσματα. Για παράδειγμα, τα αιθέρια έλαια τα οποία είναι δευτερογενείς μεταβολίτες φαρμακευτικών-αρωματικών φυτών έχουν πολλές δράσεις εκ των οποίων κάποιες είναι η εντομοαπωθητική, η μυκητοκτόνος, η εντομοκτόνος και η ακαρεοκτόνος. Πολλές είναι επίσης οι περιπτώσεις που παρουσιάζουν συνεργιστική δράση.

### **1.5.1. Χρήση των επιλεγμένων φυτικών ειδών στη διαχείριση εντόμων και ακάρεων**

Δύο από αυτά τα φυτά είναι η ρίγανη και η μέντα, όπου εκτός από φαρμακευτικές δράσεις έχουν εντομοκτόνες ή εντομοαπωθητικές δράσεις και συμβάλλουν στη διαχείριση των εντόμων σε βιολογικές- εναλλακτικές καλλιέργειες.

Συγκεκριμένα, το αιθέριο έλαιο μέντας, με κύριες ενώσεις τη μενθόνη και τη μενθόλη, ως καπνιστικό με συγκεντρώσεις 75 μL/L και 100 μL/L αέρα έδειξε 100% θνησιμότητα έναντι του *S. oryzae* και του *T. castaneum*, αντιστοίχως (Rajkumar et al., 2019). Οι Kumar et al. (2011) ανέφεραν την προνυμφοκτόνο δράση με LC<sub>50</sub> 111,9 ppm και LC<sub>90</sub> 295,18 ppm ύστερα από ένα 24ωρο. Οι ίδιοι μελέτησαν και την απωθητική ιδιότητα του γαλακτώματος του αιθερίου ελαίου με επιτυχής προστασία 100% για 150 λεπτά, καθώς αργότερα άρχισε να εξασθενεί. Ωστόσο και πάλι είχε καλύτερα αποτελέσματα από τον μάρτυρα. Απωθητική δράση παρατήρησαν και οι Guinti et al. (2021) όπου με ενθυλάκωση του αιθερίου ελαίου κατάφεραν να απομακρύνουν άτομα του είδους *Rhyzopetha dominica*. Εντούτοις ήταν από τους πρώτους που ανέφεραν την ενδεχόμενη συμπεριφορά απομνημόνευσης και ανάπτυξης ανθεκτικότητας των εντόμων με αποτέλεσμα τη μείωση της αποτελεσματικότητάς του μετά από κάποιες επαναλήψεις. Σε μια άλλη μελέτη το αιθέριο έλαιο μέντας παρείχε σημαντική προστασία ως απωθητικό έναντι των κουνουπιών *Anopheles annulari* (100%), *A. culicifacies* (92%), *Culex quinquefasciatus* (84%) (Ansari et al., 2000). Οι Erler et al. (2006) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η αποτελεσματικότητα του αιθερίου ελαίου είναι ανάλογη με τη συγκέντρωσή του. Παραδείγματος χάριν αποτελέσματα

της ίδια έρευνας δείχνουν ότι με 5 μL αιθερίου ελαίου είναι αποτελεσματικό κατά 40% ενώ με τη διπλάσια ποσότητα (10 μL) αυξάνεται περίπου το διπλάσιο και η δράση του (77%). Εκτός αυτού, παρουσιάζει και δράση έναντι ενήλικων εντόμων. Ατμοί του αιθερίου ελαίου προκάλεσαν 97% θνησιμότητα του εντόμου *Culex ripiens quinquefasciatus* μέσα σε 24 ώρες (Yang et al., 2005).

Επιπρόσθετα, λόγω της έντονης πτητικότητάς του, οι ερευνητές έχουν ενθυλακώσει το αιθέριο έλαιο σε νανοσωματίδιο χιτοζάνης και στη συνέχεια εξέτασαν την αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης, ενός ενζύμου που καταλύει την διάσπαση σημαντικών νευροδιαβιβαστών των εντόμων. Σε έναν σημαντικό εχθρό των ριζών και των αλεύρων, το *S. oryzae* είχε 52% αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης, ενώ το *T. castaneum* είχε 37% θέτοντας αυτόν τον σχεδιασμό ικανό για μία εξέλιξη πολλά υποσχόμενη (Rajkumar et al., 2020).

Από την άλλη μεριά το αιθέριο έλαιο της ρίγανης έχει εμφανίσει εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο δράση. Ατμοί του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκεντρώσεις 0,5, 1, 1,5 και 2 μL/L αέρα έδειξαν αποτελεσματικότητα έναντι του ακάρεως *T. urticae* και του εντόμου *B. tabaci*. Εντός 120 ωρών και με τη μεγαλύτερη συγκέντρωση που χρησιμοποιήθηκε (2 μL/L) είχαν τοξική επίδραση με ποσοστό θνησιμότητας 95% ενηλίκων και νυμφών του *T. urticae* και 100% μόνο για τα ενήλικα του *B. tabaci* (Çalmasur et al., 2006). Ατμοί του αιθερίου ελαίου επίσης προκάλεσαν τοξικότητα έναντι ενήλικων ατόμων του σκαθαριού *Tribolium castaneum* δείχνοντας πιο αποτελεσματικό τον τρόπο του καπνίσματος σε κλειστό-θερμοκηπιακό χώρο ( $LD_{50} = 0,55 \text{ mg/cm}^3$ ) παρά σε ανοιχτό πεδίο ( $LD_{50} > 0,353 \text{ mg/cm}^3$ ) λόγω πτητικών ουσιών που χάνονται γρήγορα στην ατμόσφαιρα (Kim et al., 2010). Σε δοκιμές απωθητικότητας προκάλεσαν ισχυρή αντίδραση των ίδιων εντόμων στα 0,03 και 0,06  $\text{mg/cm}^2$  με απώθηση περίπου 98% και στις δύο περιπτώσεις, ενώ σε συγκέντρωση των 0,001  $\text{mg/cm}^2$  η μείωση της δραστηριότητας ήταν αισθητή.

Ψεκασμός των ενήλικων ατόμων του *Aedes aegypti* σε συγκέντρωση 13,3  $\mu\text{g/mL}$  είχε ως αποτέλεσμα την μείωση του πληθυσμού κατά το ήμισυ, δηλαδή 50% μετά από 90 λεπτά (A.A. de Oliveira et al., 2021). Αντίθετα για προνύμφες του κουνουπιού *A. aegypti* το έλαιο ήταν τοξικό στις ίδιες τιμές με συγκέντρωση 37,5  $\mu\text{g/mL}$ . Διαλύματα

αιθερίου ελαίου με συγκεντρώσεις 0,01, 0,1 0,5, 1,0, 2,5 και 5% (ο/ο) εξετάστηκαν για την απωθητική δράση των ίδιων εντόμων. Το υψηλότερο ποσοστό που παρατηρήθηκε ήταν 37,8% για δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις, την 0,5 και 1,0%, αποτέλεσμα που δηλώνει την μέτρια δράση του για το συγκεκριμένο έντομο. Ακόμη, προνύμφες τρίτου σταδίου *An. stephensi*, *An. subpictus*, *Cx. quinquefasciatus* και *Cx. tritaeniorhynchus* παρουσίασαν θνησιμότητα 50% των ατόμων τους σε τιμές συγκεντρώσεων 67, 74, 80 και 84 µg/ mL, αντιστοίχως (Govindarajan et al., 2016). Οι τελευταίοι απομόνωσαν τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου ρίγανης, που ήταν η καρβακρόλη και η τέρπεν-4-όλη σε ποσοστό 38,30% και 28,70% αντίστοιχα και ήλεγξαν αν ευθύνονται αυτά για την τοξικότητα των παραπάνω εντόμων-κουνουπιών. Οι ενώσεις ήταν πιο αποτελεσματικές έναντι του *An. stephensi*, ακολουθούμενο από το *An. subpictus*, *Cx. quinquefasciatus* και *Cx. tritaeniorhynchus*. Καθώς έχει μελετηθεί σε πλήθος εντόμων (*Spodoptera littoralis*, Boisduval) (Agliassa and Maffei, 2018), *Aedes aegypti* (Giatropoulos et al., 2018), ακάρεων (*Tetranychus urticae*, Koch) (Mahmoud et al., 2019), προνυμφών (*Tenebrio molitor*, Fabricius) (Martynov et al., 2019) και άλλων ζώων (*Artemia salina*) με αξιοσημείωτα αποτελέσματα, ενδέχεται να έχει την δυνατότητα να αξιοποιηθεί καταλλήλως στη βιώσιμη διαχείριση των καλλιεργειών.

## 1.6. Φυτοτοξικότητα

Τα αιθέρια έλαια αποτελούν βιώσιμες εναλλακτικές λύσεις στη βιολογική διαχείριση καλλιεργειών έναντι επιβλαβών οργανισμών καθώς ασκούν μικρότερη τοξικότητα σε θηλαστικά όπως τον άνθρωπο και είναι πιο ασφαλή από τα χημικά φυτοφάρμακα. Παρά ταύτα, μπορεί ορισμένες ενώσεις αιθερίων ελαίων να προκαλούν φυτοτοξικότητα, έχοντας παράπλευρες απώλειες. Κατά συνέπεια, μαζί με την εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο δράση των ελαίων καθίσταται απαραίτητο να έχουμε γνώση και της πιθανής επίδρασής τους στα φυτά των καλλιεργειών.

Δοκιμές *in vitro* εξέτασαν τη βλαστική και αναπτυξιακή ικανότητα σπόρων τομάτας και αγγουριού, φυτών εμπορικής σημασίας, όταν αυτά εκτέθηκαν σε έλαιο ρίγανης.



20 σπόροι κάθε φυτού τοποθετήθηκαν πάνω σε χαρτί φίλτρου το οποίο ήταν εμποτισμένο με 0,125, 0,250, 0,5 και 1  $\mu\text{L}/\text{mL}$  αιθέριο έλαιο ρίγανης. Το αποτέλεσμα ήταν μία δοσοεξαρτώμενη φυτοτοξική δράση κατά της βλάστησης των σπόρων. Για την ακρίβεια στους σπόρους της τομάτας είχε ανασταλτική δράση περίπου 50% στην χαμηλότερη συγκέντρωση των 0,125  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , ενώ στην μεγαλύτερη συγκέντρωση υπήρχε μηδενική βλάστηση και ανάπτυξη (Ibáñez & Blázquez, 2020). Στις ίδιες δόσεις έδειξε ολοκληρωτική αναστολή της βλάστησης σπόρων του *Portulaca oleracea*, *Lolium multiflorum*, *Echinochloa crus-galli* (Ibáñez & Blázquez, 2018). Συγκεκριμένα, η θυμόλη και η καρβακρόλη χαρακτηρίζονται ως ισχυρά ανασταλτικά της βλάστησης των φυτών (Synowiec et al., 2017). Αυτά τα μονοτερπένια εντοπίζονται κυρίως σε αιθέρια έλαια ορισμένων ειδών που ανήκουν σε οικογένειες Lamiaceae, Verbenaceae, όπως ρίγανη, θυμάρι κ.α. Επομένως μπορεί να περιγραφεί ως ένα αρκετά φυτοτοξικό έλαιο ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Ωστόσο, θα μπορούσε να αποτελέσει ένα εύχρηστο βιολογικό ζιζανιοκτόνο για τον επιλεκτικό έλεγχο των ζιζανίων.

Για το αιθέριο έλαιο μέντας πραγματοποιήθηκε μελέτη για την φυτοτοξικότητα δύο φυτικών καλλιεργειών της τομάτας και του ραπανιού και τριών ζιζανίων. Διαφορετικές συγκεντρώσεις (300, 600, 900, 1200, 1500 και 1800  $\mu\text{L}/\text{L}$ ) υποβλήθηκαν σε δοκιμασία ελέγχου της βλαστικής ικανότητας των φυτών και των ζιζανίων. Μέγιστη ανασταλτική δράση έδειξε να έχουν το ραπανάκι και τα τρία ζιζάνια στη μέγιστη συγκέντρωση. Αντιθέτως, στο φυτό της τομάτας η συνολική ανασταλτική δράση επιτεύχθηκε με τη συγκέντρωση των 900  $\mu\text{L}/\text{L}$  (Mahdaviikia & Saharkhiz, 2015). Αυτό σημαίνει ότι το φυτό της τομάτας στο αιθέριο έλαιο της μέντας έδειξε μία μεγαλύτερη ευαισθησία σε σχέση με τα άλλα φυτά, χωρίς όμως αυτό να σημαίνει ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε μικρότερες συγκεντρώσεις για την καταπολέμηση κάποιων εχθρών. Εντούτοις το συγκεκριμένο έλαιο δεν αξιολογήθηκε στην παρούσα μελέτη διότι ήταν λιγότερο αποτελεσματικό από το έλαιο ρίγανης ως προς την αντιμετώπιση των εχθρών.

Στον αντίποδα έχουν δείξει και άλλα αιθέρια έλαια την ανασταλτική δράση έναντι φυτών και σπόρων με δυνατότητα χρήσης ως ζιζανιοκτόνα. Υπερισχύουν έναντι των συνθετικών ζιζανιοκτόνων διότι είναι φιλικότερα προς το περιβάλλον με χαμηλότερη

περιβαλλοντική τοξικότητα, μικρότερες παρενέργειες στα θηλαστικά ενώ δεν αφήνουν υπολείμματα στο έδαφος (Han et al., 2021). Η έρευνα του Hazrati και των συνεργατών του (2018), έδειξε ότι τα αιθέρια έλαια του δενδρολίβανου (*R. officinalis*) και της αλμύρας (*S. hortensis*) μπορούν να αντιμετωπίσουν αποτελεσματικά τα ζιζάνια *A. retroflexus* και *B. tectorum* ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Για παράδειγμα, μία δόση 400  $\mu\text{L}/\text{mL}$  αιθερίου ελαίου δενδρολίβανου μείωσε την βλάστηση του *A. retroflexus* σε ποσοστό 91,3% και σε 56,7% την ανάπτυξη του *B. tectorum*. Η εφαρμογή των ελαίων από *E. citriodora* και *C. Nardus* σε συγκέντρωση 20% μείωσε πάνω από το 50% της φυτικής μάζας των φυτών *D. horizontalis* και *C. echinatus* σε σχέση με τον μάρτυρα που ήταν απιονισμένο νερό με γαλακτοματοποιητή. Επιπλέον αποδείχθηκε ότι η καθαρή σιτρονελάλη εμφάνισε μείωση της βλάστησης των ζιζανίων έως και 90% (Ootani et al., 2017). Αυτό οφείλεται στην ικανότητα της ένωσης για αναστολή του κυτταρικού πολλαπλασιασμού που έχει ως αποτέλεσμα τη διαπερατότητα της μεμβράνης των φυτικών κυττάρων και μακροπρόθεσμα την απώλεια των φυσιολογικών και βιοχημικών διεργασιών τους. Επιπλέον το έλαιο του φυτού *A. artemisiifolia* δοκιμάστηκε σε μονοκοτυλήδονα (*Poa annua*, *Setaria viridis*) και δικοτυλήδονα (*Amaranthus retroflexus*, *Medicago sativa*) ζιζάνια με θετικά αποτελέσματα καταστολής (Han et al., 2021). Ο Molinaro και οι συνεργάτες του (2016) έδειξαν ότι η ένωση ισοβαλίνη που εξήχθη από το ίδιο φυτό ανέστειλε τη βλάστηση του κάρδαμου και του ραδικιού.

Όπως και να έχει θα πρέπει να γίνονται δοκιμές τοξικότητας κατά των εξεταζόμενων φυτών για την καλύτερη δυνατή αντιμετώπιση των εχθρών, των ασθενειών και των ζιζανίων χωρίς να προκαλούνται προβλήματα στην ίδια την καλλιέργεια.

## **1.7. Παραλαβή, Διαχωρισμός και Προσδιορισμός των Συστατικών των Αιθερίων Ελαίων**

### **1.7.1. Παραλαβή Αιθερίων Ελαίων**

Τα αιθέρια έλαια αποτελούν ένα μικρό μέρος της σύνθεσης των φυτών. Ωστόσο παίζουν βασικό ρόλο στον καθορισμό σημαντικών χαρακτηριστικών-δράσεων των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών. Για τον λόγο αυτό, η παραλαβή των αιθερίων ελαίων και κατ' επέκταση των συστατικών τους είναι πολύ σημαντική υπόθεση για τη μετέπειτα μελέτη τους και θα πρέπει να γίνεται με την ορθότερη μέθοδο για το εκάστοτε φυτικό υλικό. Ο επιτυχής διαχωρισμός και προσδιορισμός των συστατικών των αιθερίων ελαίων εξαρτάται άμεσα από την σωστή επιλογή του τρόπου παραλαβής. Μεταξύ αυτών, οι πιο γνωστές και κλασσικές τεχνικές είναι η απόσταξη και η εκχύλιση, ενώ υπάρχουν και μηχανικής παραλαβής.

Ανάλογα με το φυτικό υλικό που έχουμε να επεξεργαστούμε, για παράδειγμα φύλλα, άνθη, σπόρους, βλαστούς, πρέπει να επιλέξουμε και την κατάλληλη τεχνική. Επίσης, η απόδοση αιθερίου ελαίου και το χημικό προφίλ των βιοδραστικών συστατικών και των πτητικών ενώσεων είναι παράγοντες που εξαρτώνται από αυτήν (Drinić et al., 2020; Κατσακιώτης & Χατζοπούλου, 2010). Επομένως, στην πιο απλή, οικονομική και ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική έχουμε την απόσταξη η οποία ανάλογα με τον τρόπο που γίνεται διακρίνεται σε 3 είδη: την υδροαπόσταξη (Water Distillation), την υδρο-ατμοαπόσταξη (Water and Steam Distillation) και την ατμοαπόσταξη (Steam Distillation). Στην πρώτη τεχνική, το φυτικό υλικό βρίσκεται μέσα στον άμβυκα μαζί με το νερό όπου θερμαίνεται μέχρι βρασμού. Αυτό που την διαχωρίζει κατά πολύ από τις άλλες είναι ότι σε αυτήν το φυτικό υλικό έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό, προκαλώντας ενδεχομένως κάποια αλλοίωση. Στην υδρο-ατμοαπόσταξη, τα μέρη του φυτικού υλικού δεν έρχονται σε επαφή με το νερό που βράζει, αλλά βρίσκονται σε ένα ανώτερο επίπεδο από αυτό με σκοπό να διαπεράσουν μόνο οι ατμοί του από το υλικό συμπαρασύροντας το αιθέριο έλαιο. Αυτή η τεχνική χρησιμοποιείται σε μικρής κλίμακας αποστάξεις διότι είναι χρονοβόρα και έχει μειωμένη απόδοση αιθερίου ελαίου. Το πλεονέκτημά της, όπως και της

ατμοαπόσταξης, είναι ότι δεν έρχεται ποτέ σε επαφή με το νερό που βράζει. Στην ατμοαπόσταξη δεν εισάγεται καθόλου νερό αλλά ατμός. Παράγεται από γεννήτρια ατμού και διοχετεύεται υπό πίεση μεγαλύτερη της ατμοσφαιρικής. Χρησιμοποιείται σε μεγάλης κλίμακας βιομηχανικές αποστάξεις λόγω της μεγαλύτερης απόδοσης και καλύτερης ποιότητας αιθερίου ελαίου που επιτυγχάνεται. Στον αντίποδα είναι η αυξημένη δυσκολία και υψηλού κόστους εγκατάσταση και μετακίνηση του αποστακτικού συγκροτήματος (Κατσιώτης & Χατζοπούλου, 2010). Σαν σύγχρονη τεχνολογική εξέλιξη στον τρόπο εκχύλισης με απόσταξη, υπάρχει και η τεχνική απόσταξης υπό κενό (Vacuum Distillation) με μεγάλα πλεονεκτήματα (Wu et al., 2019).

Στη συνέχεια υπάρχουν οι τεχνικές εκχύλισης. Επιλέγονται όταν οι τεχνικές απόσταξης προκαλούν αλλοίωση κάποιων συστατικών με αποτέλεσμα να παραλαμβάνεται αιθέριο έλαιο με υποδεέστερα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά. Η λογική της μεθόδου βασίζεται στη διαβροχή του φυτικού υλικού με κατάλληλα εκχυλιστικά μέσα όπως οργανικούς διαλύτες, κρύο και ζεστό λίπος ώστε να παρασυρθεί τα αιθέριο έλαιο με τα επιθυμητά συστατικά και έπειτα στην έκπλυση του διαλύματος για τον διαχωρισμό του. Η διαδικασία της εκχύλισης με οργανικό διαλύτη θεωρείται από τις πιο απλές. Συνήθως χρησιμοποιούνται μεγάλης καθαρότητας διαλύτες όπως ο πετρελαϊκός αιθέρας, που έχουν την ιδιότητα να εισέρχονται στα κατώτερα στρώματα του φυτικού υλικού, τους ιστούς, και να παραλαμβάνουν τα πτητικά και μη πτητικά συστατικά του φυτού. Ακολούθως το αιθέριο έλαιο συμπυκνώνεται με την ολική απομάκρυνση του διαλύτη υπό κενό. Η επιλογή της τεχνικής με κρύο λίπος-έλαιο γίνεται όταν θέλουμε να παραλάβουμε τα χημικά συστατικά από ευαίσθητα φυτικά υλικά όπου η παραγωγή αρωμάτων τους συνεχίζεται και μετά τη συλλογή τους. Αφορά μία τεχνική απομόνωσης προερχόμενη από πολύ παλιά, η οποία πλέον χρησιμοποιείται σπανίως και βασίζεται στην εξαιρετική ιδιότητα του λίπους να απορροφά και να συγκρατεί τα συστατικά εκείνα που αποτελούν το άρωμα ενός φυτού. Η διαφορά της εκχύλισης με ζεστό λίπος έγκειται στην φύση του φυτικού υλικού. Σε αυτήν την περίπτωση χρησιμοποιούνται

φυτικά υλικά που δε χαρακτηρίζονται για την ευαισθησία τους και σταματούν τις φυσιολογικές τους δραστηριότητες μετά τη συλλογή.

Σε πιο εξελιγμένες και σύνθετες μεθόδους εκχύλισης εντάσσονται η εκχύλιση με υγρό υπό πίεση (Pressurized Liquid Extraction, PLE), η εκχύλιση υποβοηθούμενη από μικροκύματα (Microwave-Assisted Extraction, MAE) (Nabet et al., 2019), η εκχύλιση με μικροκύματα απουσία διαλύτη (Solvent-Free Microwave Extraction, SFME), η εκχύλιση με υπερκρίσιμα υγρά (Supercritical Fluid Extraction, SFE) και η εκχύλιση υποβοηθούμενη από υπερήχους (Ultrasound-Assisted Extraction, UAE) (Santos-Zea et al., 2018). Οι τελευταίες είναι πιο βραχύχρονες και με μεγαλύτερη επιλεκτικότητα σε σχέση με τις προηγούμενες απλές τεχνικές εκχύλισης. Επίσης είναι πιο φιλικές προς το περιβάλλον καθώς δεν απαιτούν μεγάλες ποσότητες και υψηλής καθαρότητας διαλύτες, δημιουργώντας μικρότερο οικονομικό κόστος.

Τέλος, εκτός αυτών των τεχνικών (απόσταξη και εκχύλιση) υπάρχουν και μέθοδοι μηχανικής παραλαβής με πίεση. Καρποί που περιέχουν στην φλούδα τους έλαια, όπως τα εσπεριδοειδή, αλλά και ξηροί καρποί που είναι εκ φύσεως αρκετά σκληροί, συνθλίβονται με ειδικά μηχανήματα με σκοπό να απελευθερώσουν το έλαιο, όπου διαχωρίζεται από το στερεό υπόλειμμα με ειδική διεργασία. Η επιλογή λάθος μεθόδου μπορεί να επιφέρει την καταστροφή ή αλλοίωση του φυτικού υλικού με αποτέλεσμα την μείωση της χημικής σύστασης και της βιοδραστικότητας του. Γι' αυτό επιλέξαμε την μέθοδο της υδροαπόσταξης.

#### **1.7.1.1. Υδροαπόσταξη (Water Distillation – HD)**

Η υδροαπόσταξη χαρακτηρίζεται ως η πιο απλή και παλαιότερη διαδικασία απόσταξης για την παραλαβή αιθερίων ελαίων. Η παραγωγή και απομόνωση των αιθερίων ελαίων έχει αναφερθεί από παλιά σε διάφορους πολιτισμούς κυρίως του Ανατολικού κόσμου, συμπεριλαμβανομένων των Ινδών, των Περσών και των Αιγυπτίων. Μάλιστα, η διαδικασία απόσταξης όπως την γνωρίζουμε σήμερα είναι βασισμένη στο πρωτόγονο, παραδοσιακό σύστημα απόσταξης της Ινδίας με την μέθοδο *bharaka* (Handa et al., 2018 – ICS). Παρ' όλα αυτά, η πρώτη λεπτομερής καταγεγραμμένη αναφορά για την μέθοδο της υδροαπόσταξης έγινε από τον Ισπανό

γιατρό Arnaldo de Villanova στις αρχές του 13<sup>ου</sup> αιώνα, ενώ χρησιμοποιήθηκε αποκλειστικά για την παραλαβή αιθερίου ελαίου από τον Ελβετό Bombastus Paracalsus von Honhehleim δύο αιώνες μετά.

Η διαδικασία σε εργαστηριακό επίπεδο πραγματοποιείται χρησιμοποιώντας συσκευή τύπου Clevenger. Το αποστακτικό συγκρότημα περιλαμβάνει μία γυάλινη φιάλη (1, 2 ή 5L) όπου εμπεριέχεται το φυτικό υλικό μαζί με το νερό. Το νερό σε αυτήν την περίπτωση θα πρέπει να καλύπτει το φυτικό υλικό προς αποφυγήν της υπερθέρμανσης και αλλοίωσής του. Εάν δεν είναι αρκετό το νερό καθ' όλη τη διάρκεια της απόσταξης, υπάρχει κίνδυνος εμφάνισης ανεπιθύμητων ουσιών (άνθρακας) ή θερμική διάσπαση των συστατικών. Η γυάλινη φιάλη, ανάλογα με το μέγεθός της, τοποθετείται μέσα σε συγκεκριμένο θερμαινόμενο μανδύα όπου αποτελεί το μέσο θέρμανσης του μίγματος με ρυθμιζόμενη ένταση και στη συνέχεια συνδέεται με τη συσκευή τύπου Clevenger. Η συσκευή απαρτίζεται από δύο κυλινδρικούς σωλήνες τον έναν πάνω στον άλλον. Κατά τη θέρμανση του νερού τα υδατοδιαλυτά στοιχεία συμπαρασύρονται μέσα από τους ιστούς των μερών του φυτού με τους ατμούς οι οποίοι έχουν ανοδική πορεία και μετακινούνται προς τον πρώτο σωλήνα. Με την βοήθεια του δεύτερου σωλήνα όπου παίζει τον ρόλο του ψυκτήρα, μέσω της εναλλαγής της θερμότητας τα αέρια ψύχονται και από την αέρια φάση περνάνε στην υγρή. Ο ψυκτήρας φέρει 2 ανοίγματα στο πλάι που ενώνονται με λάστιχα για την είσοδο και την έξοδο του νερού (ψυκτικό μέσο). Το υγρό που είναι ένα μίγμα αιθερίου ελαίου με νερό κατέρχεται και καταλήγει σε ένα βαθμονομημένο κυλινδρικό σωλήνα που είναι συνέχεια του πρώτου. Εκεί, επειδή το έλαιο είναι ελαφρύτερο από το νερό λόγω της μικρότερης πυκνότητάς του, συγκεντρώνεται στο ανώτερο επίπεδο και γίνεται εύκολα διακριτό.

Τα αποσταγμένα έλαια με την τεχνική της υδροαπόσταξης διαφέρουν ελαφρώς στο χρώμα και την ένταση σε σχέση με τα άλλα παραγόμενα έλαια, δίνοντας πιο σκούρα απόχρωση. Πέρα από αυτό, όπως ήδη έχουμε αναφέρει, αυτός ο τρόπος απόσταξης είναι πολυχρησιμοποιημένος έχοντας τα μειονεκτήματα και τα πλεονεκτήματά του. Όμως, έχει αρχίσει να χάνει έδαφος εξαιτίας της εμφάνισης καλύτερων μεθόδων, πιο

σύντομων και καλύτερης επιλεκτικότητας χωρίς να ελλοχεύει ο κίνδυνος της αλλοίωσης των συστατικών.

### **1.7.2. Διαχωρισμός και Ταυτοποίηση**

Τα φυσικά προϊόντα, όπως και τα αιθέρια έλαια απαρτίζονται από πολύπλοκες ενώσεις συστατικών οι οποίες είναι απαραίτητο να ταυτοποιούνται ώστε να μπορούμε να έχουμε καλύτερη άποψη και γνώση για την ποιότητα του κάθε αιθερίου ελαίου. Για την ανάλυση αυτών υπάρχουν αρκετές μέθοδοι διαχωρισμού που χρησιμοποιούνται ανάλογα με την πολικότητα και το μίγμα των ενώσεων που θέλουμε να ταυτοποιήσουμε (Bartle & Mayers, 2002). Η αέρια χρωματογραφία (GC) είναι πλέον η πιο διαδεδομένη και τυπική αναλυτική μέθοδος που υποστηρίζει τον επιτυχή προσδιορισμό των αιθερίων ελαίων των φυτών. Επιπλέον έχει μεγάλη σημασία στην έρευνα, την ανάπτυξη αλλά και τον ποιοτικό έλεγχο τόσο στον τομέα των βιομηχανιών όσο και της ιατρικής και της χημείας. Η ιδέα της αέριας χρωματογραφίας περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον A.J.P. Martin και τον R.L.M. Synge το 1941, ενώ το 1952 ο πρώτος σε συνεργασία με τον A.T. James αναφέρουν σε σχετική δημοσίευση τον διαχωρισμό των πτητικών λιπαρών οξέων με διαχωριστική χρωματογραφία έχοντας ως κινητή φάση αέριο και ως στατική ένα έλαιο σιλικόνης. Η αέρια χρωματογραφία ύστερα από ιστορία 50 χρόνων είναι ευρέως γνωστή επειδή είναι απλή ως διαδικασία, διαθέτει μεγάλη ταχύτητα και υψηλή ευαισθησία. Σε συνδυασμό με άλλες αναλυτικές τεχνικές όπως είναι η φασματομετρία μαζών έχει εξαιρετική ικανότητα ανάλυσης, ποσοτικού και ποιοτικού προσδιορισμού σε ευρύ φάσμα ουσιών (Stashenko & Matrinez, 2014).

#### **1.7.2.1. Αέρια Χρωματογραφία**

Ο αέριος χρωματογράφος διακρίνεται από τέσσερα κύρια τμήματα: την έγχυση, τον διαχωρισμό, την ανίχνευση και τις μονάδες χειρισμού των δεδομένων. Αρχικά, το δείγμα που εισέρχεται στον εγχυτήρα μπορεί να είναι είτε υγρό διάλυμα, είτε αέριο. Κατά τη διαδικασία της ανάλυσης η εισαγωγή του δείγματος γίνεται με ειδική μικροσύριγγα στη βαλβίδα εισαγωγής όπου βρίσκεται στην κορυφή του συστήματος.

Οι υψηλές θερμοκρασίες (200-300°C) που επικρατούν στη στήλη έχουν ως αποτέλεσμα την άμεση εξάτμιση του δείγματος και την παράσυρση των συστατικών κατά μήκος της στήλης με την βοήθεια ενός φέροντος αερίου. Ως φέρον αέριο μπορεί να χρησιμοποιηθεί κάθε αέριο που μπορεί να διαχωριστεί και να διαφοροποιηθεί από τα άλλα συστατικά του δείγματος στον ανιχνευτή. Πρέπει να είναι υψηλής καθαρότητας, αδρανές και απαλλαγμένο από προσμίξεις, υδρογόνο και υγρασία διότι κάτι τέτοιο θα κατέστρεφε την ευαίσθητη στήλη σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα. Επίσης, αν δεν είναι μεγάλης καθαρότητας είναι πιθανό να αλλοιώσει το αποτέλεσμα εμφανίζοντας επιπλέον κορυφές στο τελικό χρωματογράφημα. Το φέρον αέριο, όπου συνήθως είναι το ήλιο (He) αλλά μπορεί να είναι και το Ar, H<sub>2</sub> ή N<sub>2</sub> οδηγείται μέσα από ρυθμιστές παροχής πίεσης στην στήλη. Ύστερα, τα μόρια διαπερνούν μέσα από τη στήλη και ανάλογα με την πολικότητά τους τα συστατικά διαχωρίζονται. Η ποσότητα των μορίων του κάθε συστατικού ανιχνεύεται μέσω μιας φυσικής ή φυσικοχημικής διεργασίας στέλνοντας μέσω του ανιχνευτή το κατάλληλο σήμα στον καταγραφέα (Εικ. 1.1). Εκεί σύμφωνα με ένα σύστημα δεδομένων γίνεται η επεξεργασία και παράγεται γράφημα με κορυφές (χρωματογράφημα) όπου η κάθε κορυφή συσχετίζεται με κάποιο συστατικό (Stashenko & Matrinez, 2014; Χατζηιωάννου & Κουππαρης, 2003).

Όπως αναφέρθηκε, το φέρον αέριο ελέγχεται από ρυθμιστές παροχής πίεσης. Πιο αναλυτικά, ο έλεγχος της σταθερής ροής του αερίου είναι μεγάλης σημασίας διότι επηρεάζει την ποιότητα της ανάλυσης αλλά και την αποδοτικότητα της στήλης καθώς μπορεί να δημιουργήσει προβλήματα. Για την ανάλυση και την ταυτοποίηση των συστατικών παίζουν σημαντικό ρόλο οι χρόνοι κατακράτησης οι οποίοι εξαρτώνται άμεσα με την ταχύτητα του φέροντος αερίου. Επομένως το φέρον αέριο εισέρχεται στο σύστημα της στήλης με τη βοήθεια συστήματος βαλβίδων μειωμένο έως και 99% από την αρχική τιμή των ατμοσφαιρών, δηλαδή με 1,4 έως 4 ατμόσφαιρες.

Η εισαγωγή του δείγματος εφαρμόζεται με μικροσύριγγα από την κορυφή της στήλης ενώ θα πρέπει να γίνεται ακαριαία και σε υψηλές θερμοκρασίες ώστε να μην υπάρχουν απώλειες των μορίων. Η οπή της εισαγωγής καλύπτεται από ένα ελαστικό αντοχής σε ακραίες θερμοκρασίες το οποίο δρα ως βαλβίδα επιτρέποντας την είσοδο



του φέροντος αερίου αλλά όχι την έξοδο. Οι ποσότητες των δειγμάτων που χρησιμοποιούνται για την ανάλυση είναι 0,1-10 μl για τα υγρά και σχεδόν η χιλιαπλάσια για τα αέρια (Χατζηγιάννου & Κουππαρης, 2010).

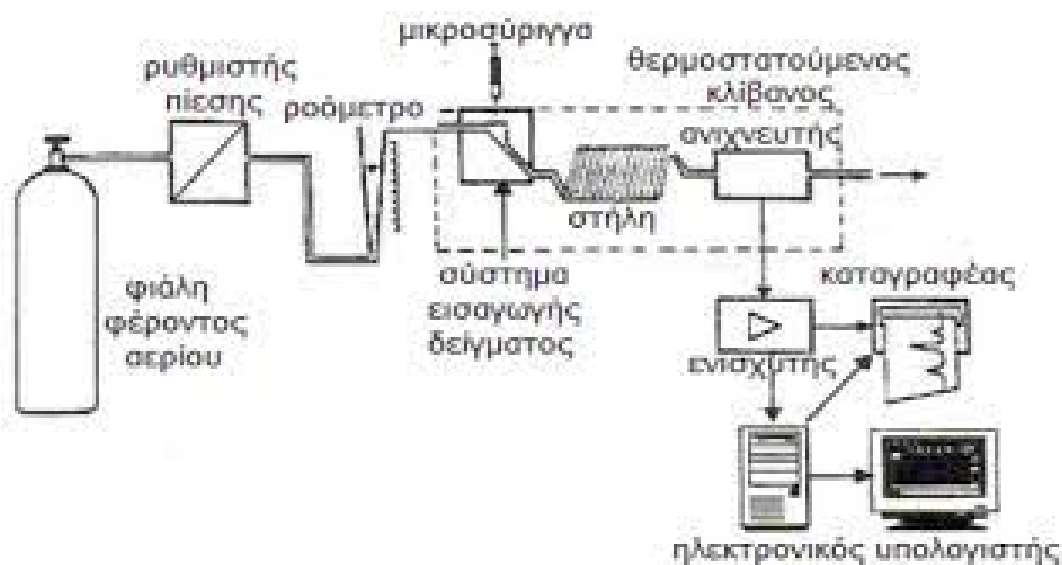
Η καρδιά του χρωματογράφου είναι η στήλη, εφόσον εκεί επιτελείται η διαδικασία του διαχωρισμού των συστατικών του εκάστοτε δείγματος. Υπάρχουν δύο ειδών στήλες, οι πληρωμένες και οι τριχοειδείς. Η κάθε στήλη αποτελείται από έναν επιμήκη σωλήνα ανάλογο του είδους και συρρικνώνεται σε μορφή σπιδράλ ή U ώστε να καταλαμβάνει τον ελάχιστο δυνατό χώρο. Για τις πληρωμένες στήλες το μήκος είναι 1-3 m με εσωτερική διάμετρο 3 mm, ενώ το υλικό από το οποίο είναι κατασκευασμένες είναι το γυαλί ή το μέταλλο. Όσον αφορά τις τριχοειδείς στήλες, είναι αυτές που συναντώνται πιο συχνά λόγω του πλεονεκτήματος της υψηλότερης διαχωριστικής ικανότητας και του μικρότερου χρόνου ανάλυσης. Το υλικό κατασκευής τους είναι συνήθως το πυρίτιο, ο ανοξειδωτος χάλυβας και το γυαλί και το μήκος τους φτάνει τα 100 m ενώ το τοίχωμά τους είναι επικαλυμμένο με λεπτό στρώμα στατικής φάσης ή επικαλύπτει το υλικό πλήρωσης. Ωστόσο η επιλογή της κατάλληλης στήλης εξαρτάται από την χημική φύση του αναλυτή, τον διαλύτη που χρησιμοποιείται και τη μήτρα του δείγματος (Bartle & Mayers, 2002; Skoog et al., 2007).

Στο τέλος της στήλης βρίσκεται ο ανιχνευτής προσδιορίζοντας τη συγκέντρωση των συστατικών. Σύμφωνα με τη χρήση και τα συστατικά υπάρχουν αρκετοί ανιχνευτές. Διακρίνονται σε γενικής χρήσης όπως είναι ο ανιχνευτής θερμικής αγωγιμότητας και ο ανιχνευτής ιονισμού φλόγας και σε ειδικής όπως είναι ο ανιχνευτής σύλληψης ηλεκτρονίων αλλά και το φασματόμετρο μάζας το οποίο αξιοποιείται συχνά για λόγους μεγάλης εκλεκτικότητας και γενικής χρήσης. Ως τελευταίο βήμα το σήμα αφού περάσει από τον ανιχνευτή καταγράφεται από τον καταγραφέα και αποδίδεται με την μορφή χρωματογραφήματος είτε από μία ξεχωριστή μονάδα είτε από ηλεκτρονικό υπολογιστή που είναι συνδεδεμένος με το σύστημα της αέριας χρωματογραφίας.

Η αέρια χρωματογραφία είναι μία απλή και γρήγορη μέθοδος. Η μικρή ποσότητα δείγματος που χρησιμοποιείται και η υψηλή διαχωριστική ικανότητα των συστατικών την καθιστούν από τις πιο βολικές και ευρέως γνωστές μεθόδους με αυξημένο ποσοστό χρήσης. Επιπλέον με τον κατάλληλο ανιχνευτή είναι ιδιαίτερα ακριβής και

αξιόπιστη. Σε αντίθεση με τα πλεονεκτήματα, ένα από τα μειονεκτήματά της είναι η αποτρεπτική χρήση της σε μη πτητικά δείγματα. Καθώς επίσης καθίσταται ακατάλληλη ως μέθοδος για τα μεγάλα και θερμικά ασταθή δείγματα. Παρά τα κάποια μειονεκτήματα που αντιμετωπίζει, έχει ευρύ φάσμα χρήσης σε διάφορους τομείς.

Η αέρια χρωματογραφία βρίσκει χρήση σε τομείς όπως η βιομηχανία τροφίμων, φαρμάκων, καλλυντικών και περιβάλλοντος. Παίζει σημαντικό ρόλο στον ποιοτικό έλεγχο σκευασμάτων και προϊόντων. Η γνώση της ποιοτικής και ποσοτικής ανάλυσης της σύνθεσης των συστατικών των τροφίμων, των φυσικών προϊόντων, των φαρμάκων, των περιβαλλοντικών ρύπων και άλλων δειγμάτων βοηθά στην αντιμετώπιση οικολογικών και μη προβλημάτων και στην εξέλιξη. Πέραν αυτών, βοηθά τόσο στον ιατρικό τομέα σε θέματα υγείας όσο και σε ιατροδικαστικές εξετάσεις εφόσον δίνει την δυνατότητα ανάλυσης σάλιου, αίματος και άλλων εκκρίσεων που περιλαμβάνουν οργανικά πτητικά συστατικά.



Εικόνα 1.1. Σχηματική απεικόνιση του συστήματος αέριας χρωματογραφίας

### 1.7.2.2. Φασματομετρία μαζών

Η φασματομετρία μαζών χαρακτηρίζεται ως μία τεχνική ανάλυσης η οποία σε συνδυασμό με την αέρια χρωματογραφία που αναφέραμε μπορεί να ταυτοποιήσει πτητικές ενώσεις αιθερίων ελαίων. Ως ορισμός αποδίδεται η τεχνική προσδιορισμού

ενώσεων ή στοιχείων με τη βοήθεια του ιονισμού μορίων ή ατόμων και την καταγραφή της σχετικής έντασης του ιοντικού φορτίου. Διακρίνεται για τη μεγάλη ευαισθησία και την επιλεκτικότητα ενώ έχει αποδειχθεί ότι έχει μεγάλη ποικιλία εφαρμογών και τεράστια ανάπτυξη τις τελευταίες δεκαετίες. Επίσης άλλα δύο πλεονεκτήματά του είναι ότι μπορεί θεωρητικά να δράσει μεμονωμένα ως ολικός ανιχνευτής αναλύοντας οποιαδήποτε ένωση και έχει τη δυνατότητα εύρεσης δομής άγνωστης ένωσης (Clench & Tetler, 2000).

Ένας τυπικός φασματογράφος απαρτίζεται από τα εξής τμήματα: το σύστημα εισαγωγής του δείγματος, το σύστημα ιονισμού, τον αναλυτή μαζών, τον ανιχνευτή, το σύστημα κενού και τον ηλεκτρονικό υπολογιστή. Μετά την εξαγωγή των συστατικών από τη στήλη, τα μόρια εισέρχονται στο σύστημα ιονισμού. Ελεύθερα ηλεκτρόνια υψηλής κινητικής ενέργειας συγκρούονται με τα μόρια προκαλώντας τον ιονισμό και κατ' επέκταση τη διάσπασή τους σε ιόντα μικρότερης μάζας, τα θραύσματα. Αυτά εισέρχονται στον αναλυτή μαζών και διαχωρίζονται σύμφωνα με τον λόγο μάζας προς φορτίο ( $m/z$ ) που διαθέτει το καθένα. Ο αναλυτής μαζών και ο ανιχνευτής βασίζονται στην πορεία που θα ακολουθήσει το κάθε ιόν στέλνοντας σήμα μετά από την έξοδό τους. Τα σήματα καταγράφονται στον ηλεκτρονικό υπολογιστή και στο τέλος προκύπτει ένα διάγραμμα φάσματος μαζών για κάθε ένα συστατικό που υπάρχει στο αρχικό δείγμα.

Το κάθε σήμα αντιπροσωπεύει και ένα ιοντικό θραύσμα. Όσο μεγαλύτερο είναι το ηλεκτρικό σήμα, τόσο μεγαλύτερη είναι και η αφθονία του θραύσματος. Αυτό το σήμα που προέρχεται από τον ανιχνευτή, ψηφιοποιείται και μεταφέρεται στο σύστημα του ηλεκτρονικού υπολογιστή όπου με τα κατάλληλα μέσα και το σωστό λογισμικό γίνεται η ταυτοποίηση των συστατικών από τις ήδη ενημερωμένες βιβλιοθήκες αποκαλούμενες ως βάσεις δεδομένων. Το φάσμα του θραύσματος από κάθε ένα συστατικό που έχει ήδη αναγνωρισθεί είναι αποθηκευμένο σε αυτές τις βάσεις και μπορεί να γίνει άμεση σύγκριση. Η κορυφή του φάσματος που έχει τη μεγαλύτερη ένταση καλείται ως κύρια κορυφή και συνήθως τα υπόλοιπα φάσματα προσαρμόζονται ανάλογα με το ύψος της πρώτης.

Να σημειωθεί ότι ανάλογα με την τεχνική και τις συνθήκες του ιονισμού μπορεί να παραχθεί τελείως διαφορετικό φάσμα για την ίδια ένωση. Υπάρχουν αρκετές τεχνικές ιονισμού και γι' αυτό τις διαχωρίζουμε σε δύο μεγάλες κατηγορίες. Οι σκληρές τεχνικές ιονισμού χρησιμοποιούν υψηλή ένταση ενέργειας προκαλώντας διάσπαση των μορίων σε θυγατρικά ιόντα. Στον αντίποδα οι μαλακές τεχνικές δημιουργούν ιονισμό σε ηπιότερη ένταση με μικρή θραύση. Κάποιες από αυτές τις τεχνικές είναι: ο ηλεκτροψεκασμός (electrospray, ESI), ο χημικός ιονισμός με ατμοσφαιρική πίεση (Atmospheric Pressure Chemical Ionisation, APCI), ο φωτοϊονισμός (Atmospheric Pressure Photo Ionisation, APPI), ο βομβαρδισμός με άτομα (Fast Atom Bombardment, FAB) ή με ιόντα (Secondary Ion MS) και ο ιονισμός με λέιζερ (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation, MALDI). Επομένως η κατάλληλη τεχνική ιονισμού των μορίων είναι μία σημαντική επιλογή που επηρεάζει άμεσα το αποτέλεσμα (Przybylski et al., 2003).

Η συνεχής αναζήτηση και η πρόοδος στη μικροηλεκτρονική καθώς και οι αυξανόμενες απαιτήσεις στη χημική ανάλυση, έχουν ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη της τεχνικής καθιστώντας την απαραίτητο εργαλείο για μεγάλο φάσμα επιστημονικών, ερευνητικών δραστηριοτήτων. Κύριο πεδίο εφαρμογής είναι οι επιστήμες ζωής, των τροφίμων, οι περιβαλλοντικές επιστήμες και οι τεχνολογίες οπτικής. Αυτό συμβαίνει λόγω των πληροφοριών που προσφέρει για την ποιοτική και ποσοτική σύσταση αγνώστων μιγμάτων, τη χημική δομή πολύ μεγάλου αριθμού ενώσεων, την παρουσία και το ποσοστό ισοτόπων και τη δομή και σύσταση επιφανειών με μορφή απεικόνισης (MS Imaging).

## **1.8. Εχθροί Καλλιεργείων**

### **1.8.1. Οικογένεια Gelechiidae**

Η οικογένεια Gelechiidae περιλαμβάνει περίπου 500 γένη με 4.700 είδη, αριθμός που μπορεί να αυξηθεί τα επόμενα χρόνια καθώς περιγράφονται περισσότερα έντομα. Έχει παγκόσμια διανομή και συγκαταλέγεται μεταξύ των πιο ποικιλόμορφων

οικογενειών στην τάξη των λεπιδοπτέρων. Ανήκει στα μικρά έως μεσαία μεγέθη εντόμων και τα περισσότερα είναι ολομετάβολα. Το χρώμα τους είναι συνήθως σκούρο με αποχρώσεις του καφέ και του γκρι (Karsholt et al., 2013). Έχουν ένα ευρύ φάσμα διατροφικών συνηθειών. Η οικογένεια των Gelechiidae περιλαμβάνει κάποια έντομα που είναι ωφέλιμα για την καταπολέμηση των ζιζανίων σε σημαντικές καλλιέργειες. Ωστόσο υπάρχει ένας σοβαρός αριθμός παρασιτικών επιβλαβών ατόμων. Οι προνύμφες της οικογένειας χαρακτηρίζονται ως μονοφάγοι σε φυτά ξενιστές που προσβάλλουν. Ο Zhang σε δημοσίευσή του το 1994 είχε καταγράψει 258 είδη από 85 γένη ως οικονομικά σημαντικά εξαιτίας της μεγάλης ζημιάς που προκαλούν σε καλλιέργειες υψίστης οικονομικής σημασίας. Κάποια από αυτά είναι το *Pectinophora gossypiella*, *Sitotroga cerealella*, *Phthorimaea operculella* και το *Tuta absoluta*.

#### **1.8.1.1. *Tuta absoluta***

Το *Tuta absoluta* ή αλλιώς στα ελληνικά Φυλλορύκτης της τομάτας, είναι ένα είδος που προσβάλλει κυρίως φυτά της οικογένειας Solanaceae. Λεπιδόπτερο της οικογένειας Gelechiidae, το οποίο προέρχεται από την Νότια Αμερική, όπου πρωτοεμφανίστηκε τη δεκαετία του 1950 (Desneux et al., 2010). Έκτοτε εισήλθε στην Ευρώπη μέσω της Ισπανίας το 2006 και μέσα σε μία δεκαετία εξαπλώθηκε ταχύτατα, αρχικά στις περιοχές της Μεσογείου και στη συνέχεια σε Αφρική και Ασία. Όπως αναφέρουν ο Zhang και οι συνεργάτες του (2020), στην Κίνα το *Tuta absoluta* ήταν έντομο καραντίνας και οι ερευνητές της χώρας είχαν αναπτύξει ένα σύστημα μοριακής ανίχνευσης και ένα σχέδιο επιτήρησης με σκοπό την αποτροπή της εισβολής του σε αυτήν. Παρ' όλα αυτά, το 2017 εντοπίστηκε και αναγνωρίστηκε σε οικιακά φυτά τομάτας στην κομητεία Huocheng της Κίνας αποτελώντας πλέον απειλή και για την υπόλοιπη χώρα. Στην Ελλάδα εμφανίστηκε τον Ιούνιο του 2009 σε μια περιοχή κοντά στα Χανιά της Κρήτης, στο Ηράκλειο, την Πρέβεζα και την Πάτρα. Αυτό εκφράζει το γεγονός ότι υπήρχαν πολλαπλές, ταυτόχρονες εισαγωγές και όχι φυσική εξάπλωση

από ένα σημείο εισαγωγής όπως θα μπορούσε να υποθέσει κανείς (Rotidakis et al., 2010).

Από μορφολογικής άποψης τα ωά του *Tuta absoluta* έχουν σχήμα ωοειδές-κυλινδρικό, μέγεθος περίπου 0,4 mm και χρώμα υπόλευκο (Εικόνα 1.2.) Όσο πλησιάζει η ώρα της εκκόλαψης αρχίζει να διακρίνεται η κεφαλή της προνύμφης δίνοντας στο αυγό ένα γκριζωπό χρωματισμό. Οι εκκολαφθείσες προνύμφες έχουν χρώμα κίτρινο, ενώ καθώς περνούν οι μέρες και αναπτύσσονται, αποκτούν πράσινο και αργότερα ελαφρώς καφέ χρώμα. Το μέγεθος τους ξεκινάει από 0,5 mm έως 3 mm και όσο αναπτύσσονται σχηματίζεται πίσω από τη κεφαλή μια χαρακτηριστική μαύρη γραμμή (Harizanova et al., 2009). Στο επόμενο στάδιο η νύμφη έχει μέγεθος 4 mm. Αρχικά, η πούπα έχει κιτρινοπράσινο χρώμα και λίγο πριν την ενηλικίωση της γίνεται καστανό. Το ενήλικο αναγνωρίζεται από τα εξής χαρακτηριστικά: καστανό με γκρι αποχρώσεις, μήκους 6-7 mm, άνοιγμα πτερύγων περίπου 10 mm και μακριές, νηματοειδείς κεραίες με εναλλασσόμενες ζώνες μαύρου και ασημένιου χρώματος (Adamou et al., 2016) (Εικ. 1.3.).

Έχει κύκλο ζωής τεσσάρων σταδίων: ωό, προνύμφη με 4 προνυμφικά υποστάδια, χρυσαλίδα και ενήλικο. Το ενήλικο θηλυκό αφού συζευχθεί εναποθέτει τα αυγά μεμονωμένα ή ανά ομάδες των 2-3 ωών στο κάτω μέρος των ανώτερων φύλλων ή στον μίσχο του φυτού. Ο χρόνος επώασης κάτω από φυσιολογικές συνθήκες είναι 4-5 ημέρες. Αφού εκκολαφθούν οι προνύμφες διεισδύουν στο μεσσόφυλλο, αφήνοντας την άνω και κάτω επιδερμίδα ανέγγιχτες. Διατρέφονται από το παρέγχυμα δημιουργώντας στοές, αρχικά μικρές και στη συνέχεια μεγαλύτερες (Εικ. 1.4.). Οι προνύμφες μπορούν να είναι συνεχώς δραστήριες εφόσον υπάρχουν αποθέματα τροφής. Το στάδιο των προνυμφών διαρκεί περίπου 20 μέρες σε βέλτιστες συνθήκες ή 60-70% του συνολικού κύκλου ζωής, εκπροσωπώντας το μεγαλύτερο στάδιο (Rossini et al., 2019). Η νύμφωση λαμβάνει μέρος στο έδαφος, στην άνω επιφάνεια των φύλλων ή εντός των στοών αναλόγως των συνθηκών που επικρατούν. Όταν δεν νυμφώνεται στο έδαφος, δημιουργεί ένα κουκούλι γύρω από το σώμα της για λόγους προστασίας. Η διαδικασία νύμφωσης διαρκεί 4-7 ημέρες και μετά από αυτό βγαίνει το ενήλικο. Ο βιολογικός κύκλος ολοκληρώνεται σε 29-38 μέρες σε θερμοκρασίες  $\pm 25$

°C, αλλά έχει αναφερθεί ότι μπορεί να κρατήσει έως και 2 μήνες σε χαμηλές θερμοκρασίες. Αυτό σημαίνει ότι μπορεί να έχει αναπαραγωγικό ρυθμό 9-10 γενεών ετησίως, ενώ ένα ώριμο θηλυκό μπορεί να γεννήσει μεταξύ 250-300 αυγών (Mkonyi et al., 2020). Επιπλέον έχει παρατηρηθεί ότι ενήλικα παρθένα θηλυκά της Γαλλίας και της Τυνησίας παρουσιάζουν το φαινόμενο της παρθενογένεσης αποδιδόμενο σε κάποια λοίμωξη από το βακτήριο *Wolbachia* (Biondi et al., 2018).

Όπως αναφέρθηκε, το έντομο τρέφεται και αναπτύσσεται πάνω σε φυτά της οικογένειας Solanaceae μερικά από τα οποία είναι μελιτζάνα, καπνός, πιπεριά, πατάτα. Ο κυριότερος ξενιστής του όμως είναι η τομάτα, δημιουργώντας τεράστια προβλήματα στην οικονομική σημασία και εμπορική της αξία. Το στάδιο των προνυμφών είναι το μεγαλύτερο μέρος της συνολικής διάρκειας της ζωής του εντόμου και αυτό που κάνει τη μεγαλύτερη ζημιά. Είναι ικανό να προκαλέσει απώλειες στην παραγωγή που μπορεί να φτάσουν μέχρι και το 100%. Αρχικά οι στοές που ορύσσουν οι προνύμφες στα φύλλα μειώνουν την φωτοσυνθετική ικανότητα των φυτών, ενώ στη συνέχεια μετατρέπονται σε εκτεταμένους θαλάμους. Σε περίπτωση που η κατάσταση γίνει ανεξέλεγκτη μπορεί να προκαλέσει ζημιά και στα υπόλοιπα μέρη του φυτού όπως βλαστό, μίσχους των ανθέων, άνθη και καρπούς με αποτέλεσμα να υφίστανται απώλειες που ξεπερνούν το 80% του φυτού ή ακόμα και την ολοκληρωτική του καταστροφή (Roditakis et al., 2010; Mkonyi et al., 2020). Στους καρπούς, που είναι και το σημαντικότερο μέρος του φυτού, εισέρχονται όταν είναι ακόμη πράσινοι. Η είσοδος τους γίνεται κυρίως από την πλευρά του κάλυκα δημιουργώντας μια οπή και ορύσσοντας στοές οι οποίες γίνονται διακριτές μετά από λίγες ημέρες (Biondi et al., 2018) (Εικ. 1.5.). Αυτό τους καθιστά μη εμπορεύσιμους ενώ θα πρέπει να αφαιρούνται από το φυτό και να καταστρέφονται διότι είναι εστία δευτερογενών μολύνσεων από μύκητες και άλλους παθογόνους μικροοργανισμούς.

Η ταχεία εξάπλωση του εντόμου παγκοσμίως τα τελευταία χρόνια καθώς και το μέγεθος της ζημιάς που προκαλεί, το αναδεικνύει ως τη σημαντικότερη απειλή για την παγκόσμια παραγωγή της τομάτας. Έχουν γίνει αρκετές προσπάθειες για την αντιμετώπιση του, όμως η απόκτηση αντοχής σε συχνά χρησιμοποιούμενα φυτοφάρμακα είναι αποθαρρυντικός παράγοντας. Ο χημικός έλεγχος είναι ο πιο

γνωστός τρόπος για να διαχειριστούν οι αγρότες το *Tuta absoluta*. Απόρροια αυτού δεν είναι μόνο οι επιβλαβείς επιπτώσεις των χημικών στο περιβάλλον, αλλά και η ανάγκη να βρεθούν βιώσιμες εναλλακτικές λύσεις (Ndereyimana et al., 2020). Υπάρχουν πολλές επιλογές στα πλαίσια της ολοκληρωμένης διαχείρισης για την αντιμετώπιση αυτού του εντόμου. Φερομόνες φύλου έχουν χρησιμοποιηθεί με μεγάλη επιτυχία σε κλειστά θερμοκήπια, για τον αποπροσανατολισμό των εντόμων, με αποτέλεσμα τον εντοπισμό και την παγίδευσή τους. Στον αντίποδα, σε μεγάλες καλλιεργητικές εκτάσεις υπό συνθήκες πεδίου δεν είναι εφικτό διότι έχει μεγάλο κόστος (Filho et al., 2000). Επιπλέον άλλες μελέτες έδειξαν ικανοποιητικά αποτελέσματα έναντι του *Tuta absoluta* με την χρήση εντομοπαθογόνων μυκήτων και νηματωδών και εντομοκτόνων φυτικής προέλευσης (Biondi et al., 2018; Alsaedi et al., 2018; Nylahyane et al., 2012). Ο συνδυασμός αρπακτικών εντόμων, παρασίτων και ενδεχομένως βιολογικών εντομοκτόνων στα πλαίσια της ολοκληρωμένης διαχείρισης, μπορεί να μειώσει τον πληθυσμό του εχθρού με φυσικό τρόπο έως και 75%. Ωστόσο, η υγιεινή εντός της καλλιέργειας είναι πολύ σημαντική για τη μείωση εξάπλωσης του εντόμου.

Ένα ακόμη πρόβλημα που τονώνει το ήδη υπάρχον είναι ότι οι θερμοκρασιακές συνθήκες επιβίωσης του εντόμου είναι παρόμοιες με τις βέλτιστες συνθήκες ανάπτυξης του κατ' εξοχήν φυτού ξενιστή, της τομάτας (15-35 °C). Ωστόσο, εκμεταλλευόμενοι την τεχνολογία του RNA, βρίσκεται σε εξέλιξη η ανάπτυξη ποικιλιών τομάτας ανθεκτικών στο *Tuta absoluta*, ως ένα μελλοντικό εργαλείο για την αντιμετώπισή του (Biondi et al. 2018).





(α)



(β)

**Εικόνα 1.2.** (α) Εναποθετημένα ωά πάνω στο μίσχο του φύλλου από *Tuta absoluta* με γυμνό οφθαλμό  
(β) Ωό *Tuta absoluta* με στερεοσκόπιο



**Εικόνα 1.3.** Ενήλικο άτομο *T. absoluta*



**Εικόνα 1.4.** Στοές από την διατροφική δραστηριότητα της προνύμφης του *T. absoluta*



**Εικόνα 1.5.** Προσβολή από *T. absoluta* σε καρπούς τομάτας

### 1.8.2. Οικογένεια Tetranychidae

Η οικογένεια Tetranychidae περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό πολυφάγων και κυρίως φυτοφάγων ακάρεων. Υπάρχουν περίπου 1200 φυτοφάγα είδη της οικογένειας με παγκόσμια διανομή. Το σώμα τους είναι μικρού μεγέθους (400  $\mu\text{m}$ ) και το χρώμα διαφέρει ανάλογα με το είδος από κιτρινωπό έως κόκκινο με όλες τις ενδιάμεσες αποχρώσεις. Είναι σημαντικά παράσιτα των καλλιεργειών και των δασικών οικοσυστημάτων και μπορούν να προκαλέσουν μεγάλες ζημιές αν δεν περιοριστεί ο αριθμός τους από την αρχή. Το πιο γνωστό άκαρι παγκοσμίως είναι το *Tetranychus urticae*. Στην Ελλάδα συναντάμε και άλλα ακάρεα-εχθρούς των καλλιεργειών όπως ο κόκκινος τετράνυχος της μηλιάς (*Panonychus ulmi*), ο κόκκινος τετράνυχος των εσπεριδοειδών (*P. Citri*) και το *T. turkestanii* που προσβάλλει το βαμβάκι (Zhang, 2003).

### **1.8.2.1. *Tetranychus urticae***

Το άκαρι *Tetranychus urticae* (Koch), κοινός ή δίστικτος τετράνουχος, ανήκει στην οικογένεια Tetranychidae. Ακάρεα της οικογένειας αυτής είναι κυρίως φυτοφάγα και έχουν μεγάλη σημασία λόγω της διατροφικής τους προτίμησης με αποτέλεσμα να αποτελούν απειλή για πολλά καλλιεργούμενα φυτά. Πιο συγκεκριμένα ο κοινός τετράνουχος χαρακτηρίζεται ως πολυφάγο είδος. Μέχρι σήμερα έχει αναφερθεί σε 3.877 είδη φυτών εκ των οποίων περισσότερα των 150 είναι οικονομικής σημασίας (Attia et al., 2013). Ανάμεσα στα είδη αυτά είναι φυτά θερμοκηπίων (τομάτα, αγγουράκι, πιπεριά, μελιτζάνα), φυτά μεγάλων καλλιεργειών (βαμβάκι, καλαμπόκι) και διάφορα εσπεριδοειδή. Έχει τρεις τρόπους που μπορεί να μεταφερθεί από το ένα φυτό στο άλλο ή από τη μια καλλιέργεια στην άλλη και αυτοί είναι οι εξής: από μόνο του, παρασιτώντας σε έναν άλλον οργανισμό ή ακόμη και με τον αέρα. Επομένως η ποικιλοτρόπως ταχεία εξάπλωσή του καθώς και η γρήγορη ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε σκευάσματα ακαρεοκτόνων το καθιστούν πολύ σημαντικό εχθρό των καλλιεργειών παγκοσμίως.

Το θηλυκό του *T. urticae* εναποθέτει τα αυγά του μεμονωμένα στο κάτω μέρος του φύλλου του προσβεβλημένου φυτού. Τα ωά είναι μικρά, στρογγυλά, λεία, μήκους 0,13 mm. Το χρώμα τους είναι αρχικά υπόλευκο (Εικ. 1.6.) και όσο αναπτύσσεται το έμβρυο στο εσωτερικό τους και είναι ευδιάκριτο, γίνονται καστανά. Η περίοδος επώασης κυμαίνεται από 2,5 έως 5 ημέρες για το θηλυκό και από 3 έως 4 για το αρσενικό (Sandeera et al., 2019). Η νεοεκκολαφθείσα προνύμφη είναι σφαιρική, χρώματος υπόλευκη, με 3 ζεύγη ποδιών και μήκους περίπου 0,14 mm. Μετά την διαδικασία της έκδυσης η προνύμφη περνάει στο στάδιο της πρωτονύμφης. Η πρωτονύμφη είναι μεγαλύτερου μήκους, 0,18 mm και έχει 4 ζεύγη ποδιών. Αφού τραφεί το άκαρι, αλλάζει χρώμα και από υπόλευκο γίνεται κίτρινο-πράσινο (Εικ. 1.7.). Η δευτερονύμφη έχει μήκος 0,30 mm ενώ σιγά-σιγά αρχίζει να σχηματίζεται το σώμα τους και να διακρίνονται τα αρσενικά από τα θηλυκά. Τέλος, τα ενήλικα θηλυκά έχουν μέσο όρο μήκους 0,48 mm, σχήματος ωοειδούς με στρογγυλεμένο οπισθόσωμα ενώ τα αρσενικά είναι αισθητά μικρότερα με μήκος 0,41 mm και σχήμα πιο πολύ οξύληκτο

(Κωβαίος, 2010). Και τα δύο ενήλικα άτομα υπό φυσιολογικές συνθήκες έχουν κιτρινοπράσινο χρώμα με δύο σκοτεινόχρωμες κηλίδες στη ραχιαία πλευρά του ιδιοσώματός τους (Εικ. 1.8.). Αντιθέτως, τα θηλυκά όταν διαπαύουν γίνονται πορτοκαλί ή κόκκινα.

Τα ενήλικα άτομα διαχειμάζουν σε προφυλαγμένες θέσεις όπως κάτω από ξερά φύλλα που βρίσκονται στο έδαφος, σε πέτρες, ξύλα ή σπανιότερα σε ρωγμές δένδρων. Όταν οι θερμοκρασίες τεθούν ξανά ευνοϊκές για αυτά, δηλαδή στις αρχές της άνοιξης, τότε είναι πολύ δραστήρια προσβάλλοντας τους ξενιστές με εναπόθεση των ωών τους στην κάτω επιφάνεια των φύλλων. Η επώαση των ωών στους 24-26 °C διαρκεί περίπου 5 ημέρες, ενώ το διάστημα μέχρι την ενηλικίωση τους είναι 11 και 12 μέρες για τα αρσενικά και τα θηλυκά, αντιστοίχως. Από αυτό καταλαβαίνουμε ότι το άκαρι συμπληρώνει πολύ γρήγορα τον βιολογικό του κύκλο. Επιπλέον τα ενήλικα θηλυκά ζούνε έως και δύο φορές περισσότερο από τα αρσενικά (Sandeepa et al., 2019). Τα πρώτα έχουν μέση διάρκεια ζωής 30 μέρες και σε αυτό το διάστημα εναποθέτουν περίπου 80-100 αυγά. Όσον αφορά τις περιβαλλοντικές απαιτήσεις, ο πληθυσμός των φυτοφάγων ακάρεων *T. Urticae* προτιμάει υψηλές θερμοκρασίες και χαμηλή σχετική υγρασία (Κωβαίος, 2010; Cloyd, 2007). Επομένως όταν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές, σύντομα σχηματίζονται αποικίες απεικονιζόμενες στην κάτω επιφάνεια των φύλλων ενώ όταν ο πληθυσμός τους αυξάνεται γίνονται αντιληπτά και στην άνω πλευρά τους.

Σε δενδρώδεις καλλιέργειες η κατανομή του πληθυσμού δεν είναι η ίδια παντού από την αρχή. Μεγαλύτερη κινητικότητα διακρίνεται στο εσωτερικό της κόμης, ενώ όσο πολλαπλασιάζονται τα ακάρεα παρατηρείται και στην περιφέρεια της. Η αυξημένη δραστηριότητά του και η συνεχής διατροφή του προκαλεί νεκρωτικές-χλωρωτικές κηλίδες σε όλο το έλασμα του φύλλου αποχρωματίζοντάς το. Το φύλλο αποκτά ένα χρώμα κιτρινωπό προς γκρι ή γνωστό ως χρυσή κηλίδα (Meck et al., 2012). Η μικρή προσβολή των φυτών από το *T. urticae* προκαλεί μείωση της φωτοσυνθετικής ικανότητας των φύλλων με αποτέλεσμα σε μεγαλύτερες προσβολές να ακολουθείται ξήρανση και πτώση αυτών. Επιπρόσθετα συχνό είναι το φαινόμενο κάλυψης των φύλλων από ιστούς εξαιτίας της τάσης των ακάρεων να υφαίνουν

πολυάριθμους ιστούς και να διαμένουν ή να καλύπτονται εκεί (Εικ. 1.9.). Οι Meck et al. (2012), παρατήρησαν ότι η προσβολή των καρπών είναι αποτέλεσμα συνάρτησης μιας μεγάλης προσβολής. Λόγω της έλλειψης φύλλων, οι καρποί εκτίθενται άμεσα στον ήλιο με αποτέλεσμα να αποκτούν εγκαύματα και να μην παρουσιάζουν ομοιομορφία μεταξύ τους. Εν κατακλείδι, το *T. urticae* αποτελεί σοβαρό εχθρό της τομάτας ενώ δημιουργεί τεράστια προβλήματα τόσο σε μονοετή όσο και σε πολυετή φυτά επηρεάζοντας σε μακροχρόνια προσβολή μέχρι και το ριζικό τους σύστημα. Η άμεση επέμβαση των αγροτών για τον έλεγχο του πληθυσμού του στις καλλιέργειες αλλά και οι εναλλακτικές λύσεις μπορούν να οδηγήσουν στον περιορισμό του.

Κάθε χρόνο η αντιμετώπιση του *T. urticae* γίνεται όλο και πιο πολυσυζητημένο θέμα διότι είναι μία από τις αιτίες μείωσης των αποδόσεων της τομάτας και άλλων καλλιεργειών με εμπορική αξία. Οι χειμερινοί ψεκασμοί είναι άνωφελι γιατί όπως αναφέραμε τα ενήλικα άτομα διαπαύουν εκείνη την περίοδο. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τον ανεξέλεγκτο ψεκασμό των φυτών και των δένδρων κατά την περίοδο της άνοιξης και του καλοκαιριού, δηλαδή πολύ κοντά στο διάστημα της συγκομιδής. Εκτός αυτού, το άκαρι έχει παρουσιάσει γρήγορη ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε διάφορα γνωστά ακαρεοκτόνα όπως hexythiazox, clofentezine ακόμα και στο abamectin (Kwon et al., 2015; Κωβαίος, 2010). Σύμφωνα με τα προηγούμενα δύο επιχειρήματα και σε συνδυασμό με την πρόκληση σοβαρών περιβαλλοντικών προβλημάτων αλλά και προβλημάτων υγείας στους ανθρώπους, θα πρέπει η χρήση μη φυσικών χημικών σκευασμάτων να μειωθεί στο ελάχιστο. Κατά συνέπεια, είναι απαραίτητο να βρεθούν και να γίνουν ευρέως γνωστοί νέοι εναλλακτικοί τρόποι αντιμετώπισης του φυτοφάγου εχθρού. Η χρήση αρπακτικών ακάρεων αλλά και εντόμων της οικογένειας Coccinellidae φαίνεται να έχει καλά αποτελέσματα έναντι του *T. urticae*. Για παράδειγμα, το *Phytoseiulus persimilis* θεωρείται από τους πιο αποτελεσματικούς θηρευτές του. Επίσης τα αιθέρια έλαια και οι μόνο- δι- και σέски-τερπινικές ενώσεις τους έχουν επιφέρει εξαιρετική ακαρεοκτόνο και εντομοκτόνο δράση (Pavella et al., 2016). Ωστόσο, σε ορισμένες περιπτώσεις αυτές οι χημικές ενώσεις μπορούν να λειτουργήσουν συνεργιστικά δίνοντας αυξημένη αποτελεσματικότητα.



**Εικόνα 1.6.** Ωα *T. urticae* πάνω σε φύλλο φασολιάς από στερεοσκόπιο



**Εικόνα 1.7.** Ανήλικο άτομο *T. urticae* που έχει τραφεί



**Εικόνα 1.8.** Ενήλικα θυληκά άτομα *T. urticae* και ένα αυγό  
[https://www.researchgate.net/figure/Two-females-and-one-egg-of-the-two-spotted-spider-mite-Tetranychus-urticae-Koch-Acari\\_fig2\\_306441632](https://www.researchgate.net/figure/Two-females-and-one-egg-of-the-two-spotted-spider-mite-Tetranychus-urticae-Koch-Acari_fig2_306441632)



**Εικόνα 1.9.** Αριστερά διακρίνεται το φαινόμενο κάλυψης των φύλλων και δεξιά το φαινόμενο αποχρωματισμού ύστερα από προχωρημένη προσβολή του ακάρεως

### 1.9. Σκοπός της Μελέτης

Η χρήση συνθετικών παρασιτοκτόνων αποτελεί την κύρια μέθοδο αντιμετώπισης εντόμων και ακάρεων, σημαντικών εχθρών των καλλιεργειών. Ένα από τα μεγαλύτερα προβλήματα όμως της αλόγιστης και κατά κόρον χρήσης τους είναι η ανάπτυξη της ανθεκτικότητας που παρουσιάζουν οι ζωντανοί παρασιτικοί οργανισμοί καθώς και η μόλυνση του περιβάλλοντος. Τα αιθέρια έλαια των αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών αποτελούν πλούσια πηγή πολλών και διαφορετικών βιοδραστικών ενώσεων. Εξαιτίας της πληθώρας των ενώσεων αυτών είναι λιγότερο πιθανό να αναπτυχθεί ανθεκτικότητα των εντόμων και των ακάρεων σε αυτά. Επομένως, στο πλαίσιο αξιοποίησης του ελληνικού πλούτου αλλά και της ολοκληρωμένης διαχείρισης για την αντιμετώπιση σημαντικών εχθρών των καλλιεργειών, καλούμαστε να μελετήσουμε επιπλέον δράσεις των ελαίων, αναζητώντας οικονομικότερες και πιο φιλικές προς το περιβάλλον λύσεις. Η χημική σύσταση των ελαίων εμφανίζει μεγάλη παραλλακτικότητα λόγω της γεωγραφικής προέλευσης ή άλλων βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων, όπως είναι οι εδαφοκλιματικοί ή οι μηχανικές βλάβες. Ως αποτέλεσμα αυτής της διαφοροποίησης είναι η εμφάνιση διαφορετικών χημειούπων αιθερίων ελαίων που διαφοροποιεί και την πιθανή βιολογική δράση του αιθερίου ελαίου ή/και των υδρολυμάτων τους, αντίστοιχα. Η επίδραση αιθερίων ελαίων στην επιβίωση του *T. absoluta* έχει μελετηθεί σε σχετικά πολύ μικρό βαθμό καθώς ένας

περιορισμένος αριθμός μελετών είναι διαθέσιμος (Ndereyimana et al., 2020; Pinto et al., 2019; Moawad et al., 2013; Nilahyane et al., 2012). Από την άλλη πλευρά, πολύ λίγο έχουν εξεταστεί τα έλαια της μέντας και της ρίγανης για την αντιμετώπιση του *T. urticae*.

Συνεπώς, σκοπός της μελέτης αυτής ήταν ο ποσοτικός και ποιοτικός προσδιορισμός των συστατικών των αιθερίων ελαίων καθώς και των υδρολυμάτων των φυτών δενδρολίβανου, μέντας, ρίγανης, λουίζας και χαμομηλιού από την περιοχή της Καλαμάτας. Ενώ επιπλέον αξιολογήθηκε η τοξική δράση των ελαίων της μέντας και της ρίγανης επί των ωών του εντόμου *Tuta absoluta* και έναντι των ενήλικων θηλυκών ακάρεων του είδους *Tetranychus urticae*.



## Κεφάλαιο 2

### Υλικά και Μέθοδοι

#### 2.1. Φυτικό Υλικό Υποστρωμάτων

Όπως έχουμε αναφέρει, το έντομο *Tuta abdsoluta* και το άκαρι *Tetranychus urticae* είναι σημαντικοί εχθροί κυρίως των θερμοκηπιακών καλλιεργειών. Δημιουργούν ζημιές σε μελιτζάνες, φασόλια, πατάτες, αλλά το μεγαλύτερο πρόβλημα παρουσιάζεται στην τομάτα καθώς αποτελεί καλλιέργεια τεράστιας οικονομικής σημασίας. Επομένως, ως υπόστρωμα για την εκτροφή του *Tuta absoluta* χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας (*Lycopersicon esculentum* Mill) (Elpida F1), ενώ για το *Tetranychus urticae*, φυτά φασολιάς (*Phaseolus vulgaris*, υποποικιλίας Borlotti).

##### 2.1.1. *Lycopersicon esculentum* Mill (τομάτα)

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε για τα φυτά της τομάτας ήταν αυτή της προβλάστησης των σπόρων. Αρχικά για το υπόστρωμα της ανάπτυξης των φυτών γινόταν μίξη φυτοχώματος με περλίτη, που βοηθά στον αερισμό και την καλύτερη συγκράτηση της υγρασίας του εδάφους, σε αναλογία 3:1. Για μέγιστη ομογενοποίηση το μίγμα διαβρεχόταν με νερό έως ότου γίνει νωπό. Μετά, σε πλαστικούς δίσκους σποράς, διαστάσεων 24 x 28 cm και ύψους 6 cm τοποθετούνταν μέχρι τη μέση του ύψους τους μίγμα υποστρώματος και αφού προσθέτονταν ένας σπόρος σε κάθε θέση, σκεπάζονταν με επιπλέον ποσότητα χώματος μέχρι να καλυφθεί πλήρως. Έπειτα ακολουθούσε καλή συμπίεση και διαβροχή με νερό για την επίτευξη καλής βλάστησης και σταθερού ριζικού συστήματος κατά την ανάπτυξη του φυτού.

Οι πλαστικοί δίσκοι σποράς μεταφέρονταν σε μεγαλύτερους δίσκους διαστάσεων 35 x 45 cm και αυτοί με τη σειρά τους μέσα σε κλωβούς. Οι κλωβοί βρίσκονταν εντός του υαλόφρακτου θερμοκηπίου του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α.) πάνω σε ξύλινους ή μεταλλικούς πάγκους ύψους 50 cm. Η κατασκευή των κλωβών διατήρησης των φυτών ήταν με ξύλινη υποστύλωση, καλυμμένη από όλες τις πλευρές με λεπτή μουσελίνα επιτυγχάνοντας αερισμό των φυτών και μείωση πιθανότητας προσβολών από εχθρούς στο εσωτερικό του χώρου. Στο θερμοκήπιο υπήρχε κλιματιστικό μηχάνημα για τη διατήρηση της θερμοκρασίας στους  $22,5 \pm 2$  °C, καθ' όλη τη διάρκεια του έτους.

Μετά το πέρας αυτής της διαδικασίας και αφού τα νεαρά φυτά τομάτας έφταναν στο στάδιο των 2-3 πραγματικών φύλλων μεταφυτεύονταν σε πλαστικές γλάστρες διαμέτρου 11 cm και ύψους 10 cm έτσι ώστε να αναπτυχθούν σωστά. Οι γλάστρες αποθηκεύονταν σε νέους κλωβούς διαστάσεων 100 cm μήκους και 60 cm ύψους, για μεγαλύτερη προστασία. Κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φυτών και μέχρι να φτάσουν περίπου τα 30 cm ποτίζονταν κάθε 2 με 3 ημέρες, ενώ παράλληλα γινόταν σχολαστικός έλεγχος για τυχόν επιβλαβείς οργανισμούς όπως ακάρεα και έντομα. Τα φυτά έπρεπε να διατηρούνται σε καλή κατάσταση, να είναι εύρωστα και απαλλαγμένα από κάθε ασθένεια ή εχθρό για να μπορούν να χρησιμοποιούνται τόσο στις εκτροφές του εντόμου όσο και ως υπόστρωμα στις βιοδοκιμές. Περιπτώσεις φυτών που δεν τηρούσαν τις κατάλληλες προϋποθέσεις αφαιρούνταν επιτόπου.

### **2.1.2. *Phaseolus vulgaris* (φασόλι)**

Στην περίπτωση του φασολιού η διαδικασία σποράς ήταν πιο απλή. Τα φασόλια ήταν του εμπορίου, υποποικιλίας Borlotti. Αρχικά ετοιμαζόταν το υπόστρωμα ανάπτυξης του φυτού με περλίτη και φυτόχωμα με αναλογία 1:3. Αφού το μίγμα διαβρέχονταν με νερό, μικρές πλαστικές γλάστρες διαμέτρου 11 cm και ύψους 13 cm, γέμιζαν με αυτό μέχρι τα 2/3 και τοποθετούνταν σε κάθε μία 5 σπόροι φασολιάς με μερική απόσταση μεταξύ τους. Εν συνεχεία, σκεπάζονταν με το υπόλοιπο χώμα δημιουργώντας κάποια επίστρωση, ενώ παράλληλα ασκούνταν πίεση με σκοπό την

καλή πρόσφυση των σπόρων στο υπόστρωμα και την επιτυχή βλάστηση ενός υγιούς και δυνατού φυτού.

Όπως στα φυτά της τομάτας έτσι και στου φασολιού, οι γλάστρες αφού ποτίζονταν καλά, τοποθετούνταν σε μεγάλους λευκούς δίσκους, μέσα σε κλωβούς ίδιας κατασκευής με τους προαναφερθέντες. Κάθε 2-3 μέρες το νερό ήταν απαραίτητο, ενώ παρακολουθούνταν η ανάπτυξη των φυτών. Όταν έφταναν στο επιθυμητό ύψος, μεταφέρονταν στην εκτροφή των ακάρεων αποτελώντας το κατάλληλο καταφύγιο γι' αυτά.

## **2.2. Εκτροφές**

Όλες οι εκτροφές των εντόμων και των ακάρεων που χρησιμοποιήθηκαν στην μελέτη προϋπήρχαν στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας.

### **2.2.1. *Tuta absoluta***

Η εκτροφή του εντόμου διατηρούνταν μέσα σε μικρούς και μεγάλους κλωβούς διαστάσεων 36 cm μήκους, 64 cm ύψους και 95 cm μήκους, 61 cm ύψους αντιστοίχως, κατασκευασμένους από λεπτή μουσελίνα (Εικ. 2.1.), οι οποίοι βρίσκονταν στο υπόγειο εντομοτροφείο του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας μέσα σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών. Με τη βοήθεια αισθητήρων και χρονοδιακοπών, οι συνθήκες που επικρατούσαν ήταν  $25\pm 1$  °C, σχετική υγρασία  $65\pm 5\%$  και φωτοπερίοδο 16:8. Κάθε εβδομάδα προσθέτονταν 2-3 καινούργια, εύρωστα φυτά σε κάθε κλωβό εκτροφής για την εναπόθεση ωών και την ανάπτυξη των προνυμφών, ενώ τοποθετούνταν και τροφή (σιρόπι) για τα ενήλικα άτομα. Επίσης ανά τακτά χρονικά διαστήματα πραγματοποιούνταν έλεγχος της εκτροφής για την αποφυγή ύπαρξης εχθρών ή ακόμα και ασθενειών που θα επηρέαζαν τον πληθυσμό και τις αποδόσεις των εντόμων. Σε τέτοια περίπτωση ανάλογα με το εύρος της προσβολής, είτε αφαιρούνταν μέρος των φύλλων των φυτών είτε ολόκληρα τα φυτά.



Εικόνα 2.1. Εκτροφή του *T. absoluta* μέσα σε ειδικούς κλωβούς μουσελίνας

### 2.2.2. *Tetranychus urticae*

Τα άτομα του ακάρεως *T. urticae* προϋπήρχαν. Ο πληθυσμός εκτρέφονταν σε φυτά φασολιάς μέσα σε ξύλινους κλωβούς καλυμμένους με μουσελίνα για καλύτερο αερισμό (Εικ. 2.2.). Οι κλωβοί που περιείχαν τις εκτροφές βρίσκονταν και αυτοί μέσα σε δωμάτιο στο κτήριο του Εργαστηρίου Γεωργικής Εντομολογίας και Ζωολογίας του Γ.Π.Α. Οι συνθήκες ήταν ελεγχόμενες με θερμοκρασία  $25\pm 1$  °C, σχετική υγρασία  $65\pm 5\%$  και φωτοπερίοδο 16 ώρες φως και 8 ώρες σκοτάδι, με στόχο τη σωστή διαβίωση των ακάρεων. Η διατήρηση της εκτροφής είχε τις ίδιες απαιτήσεις με την εκτροφή των εντόμων που περιγράφηκε στην παράγραφο 2.2.1. Δηλαδή κάθε εβδομάδα τοποθετούνταν μέσα στον κλωβό 3 σε αριθμό καινούργια, εύρωστα φυτά φασολιάς για την ενίσχυση της εκτροφής.



Εικόνα 2.2. Εκτροφή του *T. urticae* σε ειδικό ξύλινο κλωβό από μουσελίνα

## 2.3. Παραλαβή, Διαχωρισμός και Ταυτοποίηση

### 2.3.1. Δείγματα Φαρμακευτικών και Αρωματικών Φυτών

Τα αρωματικά φυτά από τα οποία έγινε η παραλαβή των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων ήταν: το δενδρολίβανο (*Rosmarinus officinalis* L.), η μέντα (*Mentha piperita* L.), η ρίγανη (*Origanum vulgare* L.), η λουΐζα (*Aloysia citrodora* L.) και το χαμομήλι (*Matricaria chamomilla* L.). Τα αρωματικά φυτά συγκομίστηκαν το έτος 2020 κατά την περίοδο Ιουλίου-Αυγούστου στην περιοχή Καρούτες της Αρχαίας Ολυμπίας του νομού Ηλείας και αποξηράθηκαν σε ξηραντήρια. Όλα τα δείγματα ήταν απαλλαγμένα από τον ξυλώδη ιστό του εκάστοτε φυτού και αποτελούνταν μόνο από φύλλα. Εξαιρεση αποτέλεσε το δείγμα χαμομηλιού όπου απαρτιζόταν εξ' ολοκλήρου από άνθη. Στη συνέχεια όλα τα δείγματα πέρασαν από συσκευή άλεσης ώστε να σπάσουν σε μικρότερα κομμάτια για μέγιστο αποτέλεσμα. Με αυτόν τον τρόπο μπόρεσε να εισχωρήσει καλύτερα ο διαλύτης (νερό) στο φυτικό ιστό και να συμπαρασύρει μεγαλύτερο μέρος του αιθερίου ελαίου.

### 2.3.2. Μεθοδολογία απόσταξης των αιθερίων ελαίων

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε για την απόσταξη των αιθερίων ελαίων των εξεταζόμενων φυτών ήταν αυτή της υδροαπόσταξης με συσκευή Clevenger και θερμαντικό μανδύα ως θερμαντική πηγή. Αρχικά το κάθε δείγμα φυτικού υλικού έπρεπε να αλεσθεί ελαφρώς σε συσκευή άλεσης. Αφού ζυγίστηκε σε ζυγό ακριβείας, μεταφέρθηκε μέσα σε σφαιρική φιάλη των 2000 mL μαζί με 3 μικρά κομμάτια πορσελάνης για την αποφυγή αφρισμού κατά τον βρασμό. Για το δενδρολίβανο και τη μέντα ο όγκος που ζυγίστηκε ήταν 150 g, ενώ για τα υπόλοιπα φυτά (ρίγανη, λουΐζα, χαμομήλι) ήταν 100 g. Ακολούθησε προσθήκη 1000 έως 1500 mL απιονισμένου νερού μέχρι να καλυφθεί το δείγμα και ανάδευση της φιάλης με σκοπό την καλή ενυδάτωση του φυτικού υλικού. Στη συνέχεια μεταφέρθηκε η σφαιρική φιάλη εντός του θερμαντικού μανδύα και από πάνω της προσαρμόστηκε η συσκευή Clevenger. Επέκταση της συσκευής Clevenger ήταν ένας σωληνοειδής ψυκτήρας στηριζόμενος

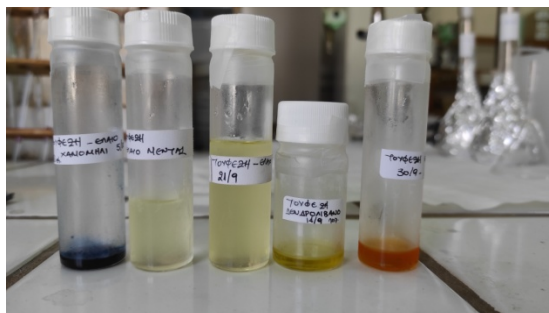
επιπλέον σε ψηλό στατό για περισσότερη ασφάλεια. Ο ψυκτήρας έφερε 2 οπές συνδεδεμένες με λάστιχα για τη διέλευση του νερού που έπαιζε τον ρόλο του ψυκτικού υγρού (Εικ. 2.3.). Στις ενώσεις μεταξύ των σωλήνων και της φιάλης υπήρχαν άγκιστρα, ενώ στο άνω μέρος του ψυκτήρα τοποθετήθηκε βαμβάκι ως πώμα για να μειωθεί η απώλεια των πτητικών ενώσεων κατά τη διάρκεια της απόσταξης. Παράλληλα, η φιάλη και ένα μέρος του σκελετού της συσκευής καλύφθηκαν με αλουμινόχαρτο προς αποφυγήν απώλειας της θερμοκρασίας. Η ένδειξη θερμοκρασίας του θερμομανδύα ήταν στους 8 °C έως ότου ζεσταθεί το νερό, ενώ στη συνέχεια μειωνόταν σταδιακά μέχρι τους 6 °C. Παρά το γεγονός ότι το δείγμα άρχισε να θερμαίνεται, ως χρόνος έναρξης της απόσταξης χαρακτηρίστηκε η στιγμή που ξεκίνησε η συμπύκνωση των υδρατμών στον ψυκτήρα. Το κάθε φυτικό υλικό αφέθηκε για απόσταξη τόσο ώστε να μην παρατηρείται επιπλέον αύξηση του όγκου του συλλεγόμενου αιθερίου ελαίου στην συσκευή Clevenger. Η διάρκεια αυτή ήταν 3 ώρες για κάθε ένα από τα εξεταζόμενα δείγματα φυτικού υλικού. Ύστερα, η συσκευή έμεινε σε κατάσταση ηρεμίας για 30 λεπτά της ώρας, μέχρι να επέλθει πλήρης διαχωρισμός των δύο φάσεων: υδρολύματος και αιθερίου ελαίου (Εικ. 2.4.). Ακολούθως το υδρόλυμα που ήταν πρώτο λόγω της πυκνότητάς του, αποθηκεύτηκε σε ποτήρι ζέσεως και το αιθέριο έλαιο αφότου έγινε μέτρηση του όγκου του στην βαθμονομημένη κλίμακα της συσκευής Clevenger, συλλέχθηκε σε ξεχωριστό ποτήρι ζέσεως. Όλα τα δείγματα των αιθερίων ελαίων ήταν απαραίτητο να απαλλαχθούν από την υγρασία με συγκεκριμένη διαδικασία προτού αποθηκευτούν στην κατάψυξη του Εργαστηρίου Χημείας του Γ.Π.Α. στους 5 °C. Η επεξεργασία απομόνωσης του αιθερίου ελαίου από την υγρασία είχε ως εξής: μέσα στο ποτήρι ζέσεως έγινε προσθήκη ελάχιστων mg θειικού μαγνησίου (Magnesium sulfate) όπου αναδεύτηκε πολύ καλά. Το διάλυμα με την βοήθεια σύριγγας πέρασε μέσα από μη πολικό φίλτρο, διαμέτρου 13 mm και μέσω της διαδικασίας της διήθησης το έλαιο συλλέχθηκε σε ένα μικρότερο μπουκαλάκι όπου αποθηκεύτηκε για τη μετέπειτα χρήση του (Εικ. 2.5.). Η μέθοδος της υδροαπόσταξης και η ακόλουθη διαδικασία μέχρι την παραλαβή του εκάστοτε αιθερίου ελαίου πραγματοποιήθηκε 2 φορές για κάθε ένα από τα φυτικά δείγματα (δενδρολίβανο, μέντα, ρίγανη, χαμομήλι, λουΐζα).



**Εικόνα 2.3.** Συσκευή απόσταξης Clevenger



**Εικόνα 2.4.** Διαχωρισμός δύο φάσεων (πάνω το έλαιο και κάτω το υδρόλυμα)



Εικόνα 2.5. Παραλαβή και αποθήκευση αιθερίων ελαίων σε μπουκαλάκια

### 2.3.3. Προετοιμασία δείγματος για το GC-MS

#### 2.3.3.1. Αιθέριο έλαιο

Επειδή η στήλη του GC-MS που χρησιμοποιήθηκε ήταν πολύ ευαίσθητη και δεν θέλαμε να έχουμε τεράστιες κορυφές στο χρωματογράφημα, έπρεπε το δείγμα επεξεργασίας να είναι αρκετά αραιό. Για τον λόγο αυτό αραιώθηκε με πτητικό διαιθυλαιθέρα (Diethyl Ether). Πραγματοποιήθηκαν 2 αραιώσεις με στόχο το δείγμα να επέλθει σε αναλογία 3:10000. Το αιθέριο έλαιο αφού αφέθηκε εκτός ψυγείου έως ότου έρθει σε θερμοκρασία δωματίου, ήταν έτοιμο προς χρήση. Έτσι με τη βοήθεια αυτόματης πιπέτας μεταβαλλόμενου όγκου προστέθηκαν 10  $\mu\text{L}$  αιθερίου ελαίου και 990  $\mu\text{L}$  διαιθυλαιθέρα εντός μικρού φιαλιδίου, παρασκευάζοντας το διάλυμα 1 ( $\Delta 1$ ) και αναλογία 1:100. Μετά από ανακίνησή του και με τη βοήθεια της ίδια πιπέτας μεταφέρθηκαν σε καινούργιο φιαλίδιο 30  $\mu\text{L}$  διαλύματος 1, ενώ προστέθηκαν ακόμα 960  $\mu\text{L}$  διαιθυλαιθέρα και 10  $\mu\text{L}$  κυκλοεξανόνης (Cyclohexanone). Η κυκλοεξανόνη προστέθηκε ως πρότυπη ουσία για τον ποσοτικό προσδιορισμό των υπολοίπων ουσιών του διαλύματος, σε συγκέντρωση 20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  διαλύματος. Το τελευταίο διάλυμα, όπου ονομάστηκε και διάλυμα εργασίας ( $\Delta\text{E}$ ) ήταν και αυτό που χρησιμοποιήθηκε για τον προσδιορισμό της σύστασης του κάθε αιθερίου ελαίου. Τα διαλύματα εργασίας για τα 5 διαφορετικά έλαια (δενδρολίβανο, μέντα, ρίγανη, χαμομήλι, λουίζα) παρασκευάστηκαν με τον ίδιο τρόπο και αξιοποιήθηκαν επιτόπου.



### 2.3.3.2. Υδρολύμα

Πάρα ταύτα, τα υδρολύματα παρασκευάστηκαν με διαφορετικό τρόπο το καθένα λόγω της διαφορετικής τους σύστασης με τα έλαια, αλλά και με τα υπόλοιπα υδρολύματα. Αρχικά έπρεπε να γίνει συμπύκνωση του υδρολύματος και ύστερα να αραιωθεί με κάποιο μη πολικό διαλύτη. Για τη διαδικασία της συμπύκνωσης παρελήφθησαν 25 mL υδρολύματος και μεταφέρθηκαν σε διαχωριστική χοάνη (Εικ. 2.6.). Εκεί προστέθηκαν 25 mL διαιθυλαιθέρα και ύστερα από ανακίνηση και απελευθέρωση του αέρα, συλλέχθηκε η πρώτη φάση από τις 2, επαναλαμβάνοντας άλλες 2 φορές τη διαδικασία. Στη δεύτερη φάση υπήρχε ένα μέρος του διαιθυλαιθέρα όπου παρέσυρε, λόγω της πολικότητάς του, όλα τα συστατικά του υδρολύματος. Επομένως έπρεπε να συλλεχθεί σε διαφορετικό ποτήρι ζέσεως. Μετά από 3 επαναλήψεις το διάλυμα του διαιθυλαιθέρα με τα συστατικά του υδρολύματος υπέστη συμπύκνωση με άζωτο αέριο (N) στον απαγωγό μέχρι να φτάσει τον όγκο των 20 mL. Με τη βοήθεια σύριγγας το διάλυμα μεταφέρθηκε μέσα από μη πολικό φίλτρο σε προζυγισμένο φιαλίδιο και πραγματοποιήθηκε συμπύκνωση μέχρι ξηρού με άζωτο (N). Ζυγίζοντας για δεύτερη φορά το φιαλίδιο, υπολογίστηκε από τη διαφορά η ποσότητα των συστατικών σε mg που υπήρχε στα 25 mL υδρολύματος αιθερίου ελαίου. Συγκεκριμένη ποσότητα καθαρού διαιθυλαιθέρα προστέθηκε σε κάθε φιαλίδιο για να χρησιμοποιηθεί στην παρασκευή δειγμάτων εργασίας στο GC-MS. Όλα τα δείγματα δεν αραιώθηκαν με τις ίδιες αναλογίες εξαιτίας κάποιων διαλυμάτων που ήταν ήδη πολύ αραιωμένα, όπως του χαμομηλιού. Επομένως, στο δείγμα εργασίας υδρολύματος του χαμομηλιού (ΔΕχ) προστέθηκαν με αυτόματη πιπέτα συνολικά 990 μL φάσης διαιθυλαιθέρα-αιθερίου ελαίου μέχρι ξηρού και 10 μL κυκλοεξανόνης ως πρότυπη ουσία, όπου διατηρήθηκε σε όλα τα δείγματα εργασίας υδρολυμάτων. Τα δείγματα λουίζας και μέντας παρασκευάστηκαν με 500 μL φάσης διαιθυλαιθέρα-αιθερίου ελαίου και 490 μL διαιθυλαιθέρα. Της ρίγανης και του δενδρολίβανου έγιναν πιο αραιά με προσθήκη 200 μL και 100 μL δείγματος φάσης διαιθυλαιθέρα-αιθερίου ελαίου με 790 μL και 890 μL καθαρού διαιθυλαιθέρα, αντίστοιχα. Τέλος, τα μπουκαλάκια σφραγίστηκαν και χρησιμοποιήθηκαν επιτόπου για τον προσδιορισμό της σύστασής τους.



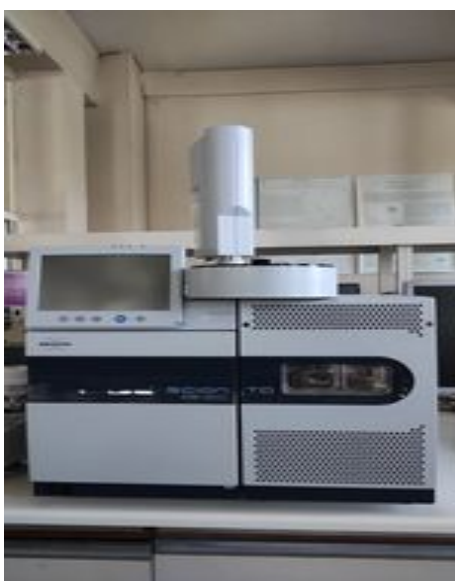
Εικόνα 2.6. Διαχωριστική χοάνη

#### 2.3.4. Προσδιορισμός της σύστασης των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων με σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών (GC-MS)

Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών των αιθερίων ελαίων και υδρολυμάτων έλαβε μέρος στο Εργαστήριο Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α.). Η μέθοδος πραγματοποιήθηκε με σύγχρονο σύστημα αέριας χρωματογραφίας συνδεδεμένο με φασματομετρία μαζών (GC-MS). Χρησιμοποιήθηκε αέριος χρωματογράφος 436-GC / Brucker, με αυτόματο δειγματολήπτη CP-8400, ο οποίος ήταν εφοδιασμένος με ανιχνευτή φασματομετρίας μαζών (Εικ. 2.7.). Επιπλέον η αναλυτική τριχοειδής άπολη στήλη ήταν Rxi – 5Sil ms με μήκος 30 m, εσωτερική διάμετρο 0,25 mm και πάχος φιλμ 0.25  $\mu\text{m}$ , ενώ η επεξεργασία των χρωματογραφημάτων έγινε με το πρόγραμμα Brucker.

Εφόσον παρασκευάσθηκαν τα δείγματα των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων όπως έχουμε ήδη περιγράψει στην προηγούμενη παράγραφο, τοποθετήθηκαν στη βάση με ειδική αριθμημένη σειρά. Η έγχυση του εξεταζόμενου δείγματος γινόταν αυτόματα και ακαριαία με τη βοήθεια ενσωματωμένης μικροσύριγγας στο σύστημα. Η θερμοκρασία του εισαγωγέα και του ανιχνευτή ήταν 220 °C και 230 °C, αντίστοιχα. Η λειτουργία πηγής ήταν στα 70 eV με σχετική ένταση

ιοντικού ρεύματος 400 m/z. Παράλληλα, παρουσιάστηκε σταδιακή αύξηση της θερμοκρασίας για τον επιτυχή διαχωρισμό των συστατικών ανάλογα με την πολικότητά τους. Αρχικά η θερμοκρασία ξεκίνησε στους 60 °C και αυξήθηκε μέχρι τους 250 °C με ρυθμό μεταβολής 3 °C ανά λεπτό. Η διάρκεια της διαδικασίας της αέριας χρωματογραφίας ήταν 63,33 λεπτά. Ως φέρον αέριο χρησιμοποιήθηκε το ήλιο (He) με ταχύτητα ροής 1,0 mL/λεπτό. Τέλος, η ταυτοποίηση των συστατικών των ελαίων και των υδρολυμάτων πραγματοποιήθηκε με σύγκριση των χρόνων κατακράτησης και των φασμάτων μαζών και με βοήθεια των αντίστοιχων δεδομένων βάσεων από τις βιβλιοθήκες Adams07 και NIST.



Εικόνα 2.7. Σύστημα αέριας χρωματογραφίας- φασματομετρίας μαζών (GC-MS)

## 2.4. Παρασκευή γαλακτωμάτων

### 2.4.1. Μεθοδολογία παρασκευής γαλακτωμάτων

Τα αιθέρια έλαια που δοκιμάστηκαν για την εντομοαπωθητική και εντομοκτόνο δράση τους ήταν των φυτών μέντας και ρίγανης. Εξαιτίας της δυσκολίας του αιθερίου ελαίου να διαλυθεί μέσα σε νερό, έγινε χρήση γαλακτωματοποιητή. Ύστερα από δοκιμές δύο γαλακτωματοποιητών, του Tween 20 και του DMSO, καταλήξαμε στο δεύτερο καθώς είχε χαμηλότερο ποσοστό επιρροής στα έντομα. Επομένως για την παρασκευή γαλακτωμάτων χρησιμοποιήθηκε ο γαλακτωματοποιητής DMSO, το

απιονισμένο νερό ως μέσο αραίωσης και το έλαιο σε κάθε περίπτωση (Εικ. 2.8.). Χρησιμοποιήθηκαν δύο περιεκτικότητες DMSO (0,1% , 0,2% (v/v)) διότι το έλαιο της ρίγανης και η μεγαλύτερη από τις συγκεντρώσεις του αιθερίου ελαίου μέντας που εξετάστηκαν, ήταν δύσκολο να διαλυθούν και να ομογενοποιηθούν στο νερό.

Η παρασκευή των γαλακτωμάτων απαιτούσε όλα τα υγρά να είναι σε θερμοκρασία δωματίου. Έτσι, έβγαινε το συγκεκριμένο έλαιο από την ψύξη και έμενε σε κατάσταση ηρεμίας μέχρις ότου έρθει στη θερμοκρασία των 25 °C. Σε αντίθεση με το έλαιο, το νερό και ο γαλακτωματοποιητής ήταν ήδη σε αυτή την θερμοκρασία. Αρχικά έγινε μέτρηση του απιονισμένου νερού με τη βοήθεια ενός ογκομετρικού κυλίνδρου και προστέθηκαν 50 mL σε κωνική φιάλη συνολικού όγκου 250 mL. Στη συνέχεια, με χρήση αυτόματης πιπέτας ρυθμιζόμενου όγκου εισήχθη η διαφορετική συγκέντρωση του κάθε αιθερίου ελαίου και στο τέλος το DMSO στην ανάλογη περιεκτικότητα. Στην περίπτωση του μάρτυρα προστέθηκαν μόνο το απιονισμένο νερό και η ανάλογη ποσότητα του DMSO. Το στόμιο της κωνικής φιάλης σφραγίστηκε με ειδικό πώμα από τεφλόν και εν συνεχεία αναδεύτηκε ελαφρώς με το χέρι. Με τη βοήθεια μιας μεταλλικής εργαστηριακής βάσης στήριξης η κωνική φιάλη σταθεροποιήθηκε και εμβαπτίστηκε σε υδατόλουτρο υπερήχων συχνότητας 35 Hz, με θερμοκρασία 20 °C για 30 λεπτά (Εικ. 2.9.). Ύστερα από αυτή τη διαδικασία, το διάλυμα μεταφέρθηκε είτε σε ποτήρι ζέσεως είτε σε υάλινο μπουκάλι ψεκασμού χωρητικότητας 100 mL με σκοπό να χρησιμοποιηθεί άμεσα στις βιοδοκιμές ή στα πειράματα της φυτοτοξικότητας, αντίστοιχα. Τα φιαλίδια των αιθερίων ελαίων, όπως και του γαλακτωματοποιητή αποθηκεύονταν, αφού πρώτα κλίνονταν αεροστεγώς με καπάκι και λεπτή ταινία πάραφιλμ.

Οι συγκεντρώσεις που παρασκευάστηκαν για τις βιοδοκιμές των ελαίων έναντι των εντόμων και των ακάρεων ήταν 0,02, 0,06, 0,08 και 0,16% (v/v) για κάθε έλαιο (μέντα, ρίγανη). Με βάση αυτό, φαίνεται να δημιουργήθηκαν 10 διαλύματα συνολικά με διαφορετικές συγκεντρώσεις αιθερίου ελαίου και DMSO εκ των οποίων ήταν:

- 0,02, 0,06, 0,08% (v/v) αιθερίου ελαίου μέντας με 0,1% (v/v) DMSO
- 0,16% (v/v) αιθερίου ελαίου μέντας με 0,2% (v/v) DMSO

- 0,02, 0,06, 0,08, 0,16% (v/v) αιθερίου ελαίου ρίγανης με 0,2% (v/v) DMSO
- απιονισμένο νερό με 0,1% (v/v) DMSO, ως θετικός μάρτυρας στην πρώτη περίπτωση
- απιονισμένο νερό με 0,2% (v/v) DMSO, ως θετικός μάρτυρας στις άλλες δύο περιπτώσεις



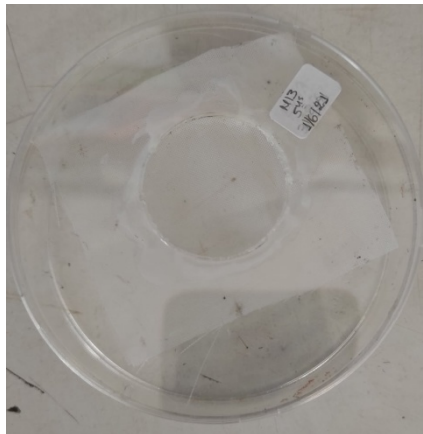
**Εικόνα 2.8.** Απιονισμένο νερό, έλαιο και DMSO ως γαλακτωματοποιητής για την παρασκευή διαλύματος



**Εικόνα 2.9.** Υδατόλουτρο υπερήχων

## 2.5. Προετοιμασία τρυβλίων

Οι επεμβάσεις πραγματοποιήθηκαν μέσα σε πλαστικά τρυβλία Petri όπου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ακόμη και για παρατήρηση μικρών ζώων όπως π.χ. εντόμων. Οι διαστάσεις τους ήταν διαμέτρου 9 cm και ύψους 1,5 cm. Στο καπάκι των τρυβλίων ανοίχθηκε οπή 3,5 cm με χρήση πυρωμένου σωλήνα και στη συνέχεια καλύφθηκε με τμήμα λεπτής μουσελίνας με σκοπό τον καλύτερο αερισμό και την αποφυγή ανάπτυξης υγρασίας στο εσωτερικό τους (Εικ. 2.10.). Η βάση των τρυβλίων ήταν πλήρως καλυμμένη με βαμβάκι ελαφρώς εμποτισμένο με νερό. Από πάνω αποτέθηκε φύλλο τομάτας στον ρόλο του υποστρώματος των πειραμάτων, και με αυτό τον τρόπο διατηρήθηκε σε καλή κατάσταση για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα.



Εικόνα 2.10. Τρυβλίο κατάλληλα διαμορφωμένο με μία οπή στη μέση καλυμμένη από μουσελίνα

## 2.6. Βιοδοκιμές

### 2.6.1. Δοκιμές δράσης των αιθερίων ελαίων σε ωά του εντόμου *Tuta absoluta*

Ο έλεγχος της δράσης των ελαίων ως προς την εκκόλαψη των ωών του εντόμου *T. absoluta* έγινε μέσα σε πλαστικά, δοκιμαστικά τρυβλία Petri όπως αναφέρθηκαν στην παράγραφο 2.5. Σε όλη την πειραματική διαδικασία καθώς και στις εκτροφές του εντόμου χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας (Elrida F1). Για την απόκτηση των ωών του εντόμου, μία μέρα πριν την καθορισμένη επέμβαση, 4 εύρωστα φυτά τομάτας ύψους περίπου 50 cm και 15 φυλλαρίων το καθένα εισήχθησαν στην εκτροφή του εντόμου

με σκοπό τα ενήλικα θηλυκά να εναποθέσουν εκεί ωα γνωρίζοντας την ηλικία τους. Έτσι, την επόμενη ημέρα με τη βοήθεια ειδικού πινέλου συλλέχθηκαν ωα μιας ημέρας και τοποθετήθηκαν σε ξεχωριστό φύλλο τομάτας σε ομάδες των 5.

Αφού έγινε αποκοπή των φύλλων από εύρωστα, καθαρά φυτά τομάτας πραγματοποιήθηκε η εμβάπτιση τους για 5 δευτερόλεπτα μέσα σε διάλυμα αιθερίου ελαίου, εντομοκτόνου ή απιονισμένου νερού. Τα φύλλα αφέθηκαν για μισή ώρα έως ότου εξατμιστεί η περίσσεια υγρασίας και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν σε τρυβλία Petri (Εικ. 2.11.). Κάθε φυλλάριο αποτέλεσε την αρένα για μία ξεχωριστή επανάληψη της πειραματικής διαδικασίας. Έπειτα, με βοήθεια χοντρού πινέλου εμποτίστηκαν τα ωα με διάλυμα ανά ομάδες των 5 για χρονικό διάστημα 5 δευτερολέπτων και τοποθετήθηκαν πάνω στα φύλλα. Τα τρυβλία σφραγίστηκαν με λεπτή ταινία πάραφιλμ και αποθηκεύτηκαν σε θαλάμους σταθερών συνθηκών στο υπόγειο του Εργαστηρίου Ζωολογίας και Εντομολογίας. Οι συνθήκες που επικρατούσαν ήταν  $25\pm 1$  °C,  $65\pm 5\%$  σχετική υγρασία και 16:8 φωτοπερίοδο. Η εκκόλαψη των ωών ελεγχόταν κάθε 24 ώρες για 8 ημέρες και η παρατήρηση γινόταν με στερεοσκόπιο του εργαστηρίου (Εικ. 2.12.).

Τα έλαια που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτές τις δοκιμές ήταν το αιθέριο έλαιο μέντας και το αιθέριο έλαιο ρίγανης. Δοκιμάστηκαν 4 διαφορετικές συγκεντρώσεις από το κάθε έλαιο, οι οποίες ήταν 0,02, 0,06, 0,08 και 0,16  $\mu\text{L/L}$ . Τα γαλακτώματα των ελαίων παρασκευάστηκαν λίγη ώρα πριν τις επεμβάσεις με τις ανάλογες συγκεντρώσεις γαλακτωματοποιητή, καθώς και το γαλάκτωμα του σκέτου απιονισμένου νερού με DMSO, το οποίο έπαιζε τον ρόλο του θετικού μάρτυρα. Ως αρνητικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το εντομοκτόνο Laser 480SC (spinosad 48%) στη μέγιστη συνιστώμενη δόση 75  $\text{mL/L}$ , σύμφωνα με την ετικέτα. Επομένως, εφαρμόστηκαν συνολικά από 10 επαναλήψεις για το κάθε γαλάκτωμα αιθερίου ελαίου και από 5 επαναλήψεις για τους μάρτυρες.



Εικόνα 2.11. Διαδικασία εξάτμισης υγρασίας



Εικόνα 2.12. Παρατήρηση με εργαστηριακό στερεοσκόπιο

### 2.6.2. Δοκιμές δράσης των αιθερίων ελαίων σε ενήλικα θηλυκά άτομα του ακάρεως *Tetranychus urticae*

Παρόμοια διαδικασία ακολουθήθηκε και με τις βιοδοκιμές στο άκαρι *T. urticae*. Για τον συγχρονισμό των ενήλικων θηλυκών χρησιμοποιήθηκαν τρυβλία ιδίων διαστάσεων και σύνθεσης τα οποία περιείχαν 4 φύλλα τομάτας. Σε κάθε τρυβλίο γινόταν μεταφορά 30 ενήλικων θηλυκών ατόμων από την εκτροφή του ακάρεως και μετά από 24 ώρες ακολουθούσε η απομάκρυνσή τους. Με τον τρόπο αυτό ήταν δυνατή η παραλαβή ωών μίας ημέρας τα οποία αφού εκκολάπτονταν παρακολουθούνταν ανά 24 ώρες μέχρι την 1η ημέρα της ενηλικίωσης των θηλυκών οπότε και λαμβάνονταν για το πείραμα. Ως υπόστρωμα για τις επεμβάσεις χρησιμοποιήθηκαν φύλλα από φυτά τομάτας. Αφού έγινε η προετοιμασία των



τρυβλίων, η παρασκευή των γαλακτωμάτων με τις 4 συγκεντρώσεις των δύο αιθερίων ελαίων και η παρασκευή του εντομοκτόνου και του νερού με DMSO, φυλλάρια εμβαπτίστηκαν εντός των διαλυμάτων για 5 δευτερόλεπτα. Μετά το πέρας μισής ώρας και ενώ είχαν στεγνώσει, μεταφέρθηκαν πάνω στο εμποτισμένο βαμβάκι που υπήρχε ως υπόστρωμα σε κάθε τρυβλίο. Ο μίσχος του κάθε φύλλου καλύφθηκε με διαβρεγμένες ίνες βαμβακιού με σκοπό την διατήρησή του. Ένας άλλος λόγος του νωπού βαμβακιού ήταν η αποτροπή διαφυγής των ατόμων ακάρεων που τοποθετήθηκαν στη συνέχεια επάνω στο φύλλο. Σύμφωνα με την μέθοδο του Ditttrich (1962), 5 θηλυκά άτομα ακάρεως τετράνουχου (*Tetranychus urticae*) εισήχθησαν σε κάθε ένα τρυβλίο με την βοήθεια ενός λεπτού πινέλου, αφού πρώτα εμβαπτίστηκαν μέσα σε γαλάκτωμα ή ακαρεοκτόνο. Για την επιλογή υγιών θηλυκών ατόμων μιας ημέρας χρησιμοποιήθηκε η μεθοδολογία συγχρονισμού. Μετέπειτα, τα τρυβλία κλείστηκαν με ταινία πάραφυλμ και μεταφέρθηκαν σε πλαστικούς δίσκους εντός θαλάμων με σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας  $25\pm 1$  °C, σχετικής υγρασίας  $65\pm 5\%$  και φωτοπεριόδου 16 ώρες μέρας και 8 ώρες σκότους. Οι μετρήσεις επαναλήφθηκαν κάθε 24 ώρες για 7 ημέρες με βοήθεια στερεοσκοπίου, ενώ καταγράφηκαν τα ζωντανά άτομα ακάρεων.

Έγινε εφαρμογή 10 επαναλήψεων με τα γαλακτώματα των 2 διαφορετικών ελαίων (μέντας και ρίγανης) που περιείχαν ποσότητα απιονισμένου νερού και συγκεκριμένη ποσότητα γαλακτωματοποιητή DMSO. Στους μάρτυρες (απιονισμένο νερό με DMSO, ακαρεοκτόνο) οι επεμβάσεις έγιναν από 5 φορές για την κάθε συγκέντρωση γαλακτώματος. Στο διάλυμα του ακαρεοκτόνου χρησιμοποιήθηκε το Vertimec 1.8EC (abamectin 1,8%), καθώς ανέφερε στην ετικέτα επίδραση σε ενήλικα άτομα τετράνουχου. Η δόση εφαρμογής τηρήθηκε σύμφωνα με την ετικέτα στα 0,6 mL/L νερού.

### **2.6.3. Δοκιμές δράσης των αιθερίων ελαίων σε φυτά καλλιέργειών (Φυτοτοξικότητα)**

Για την εκτίμηση της φυτοτοξικότητας χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας και φασολιού. Η σπορά και η ανάπτυξη των φυτών, όπως και η διαδικασία παρασκευής

των διαλυμάτων ήταν αυτή που περιγράφεται στην παράγραφο 2.4.1. Τα γαλακτώματα μετά την παρασκευή τους και αφού ήρθαν σε θερμοκρασία δωματίου, μεταγγίστηκαν απευθείας σε υάλινους ψεκαστήρες όγκου 100 mL με τη βοήθεια μιας υάλινης χοάνης. Έπειτα χρησιμοποιήθηκαν δύο φυτά από κάθε είδος (τομάτα, φασόλι) για καθεμία συγκέντρωση αιθερίου ελαίου μέντας και ρίγανης που εφαρμόστηκε στο πείραμα. Ο θετικός μάρτυρας (απιονισμένο νερό με DMSO) εφαρμόστηκε εξίσου σε δύο φυτά, ενώ αρνητικός μάρτυρας (εντομοκτόνο) δεν υπήρχε. Η μεθοδολογία των επεμβάσεων ψεκασμού που ακολουθήθηκε ήταν η ίδια και για τις δύο περιπτώσεις ελαίων.

Εύρωστα φυτά, ίδιου ύψους επιλέχθηκαν και μεταφέρθηκαν εκτός θερμοκηπίου για την εφαρμογή των γαλακτωμάτων. Λίγο πριν την χρήση τα φιαλίδια ανακινήθηκαν καλά. Ο ψεκασμός έλαβε χώρα από απόσταση 30 cm καλύπτοντας όλο το ύψος του φυτού (Εικ. 2.13.). Αφού στέγνωσαν τα φυτά, αποθηκεύτηκαν στο θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας σε καθαρούς κλωβούς από μουσελίνα, διαστάσεων 95 cm μήκους και 61 cm ύψους. Έπειτα, οι μετρήσεις έγιναν κάθε 4 μέρες το πρώτο δεκαπενθήμερο και κάθε 7 για τον υπόλοιπο μήνα. Σε κάθε μέτρηση καταγράφονταν το ύψος, ο αριθμός των φύλλων του κάθε φυτού και τυχόν κηλίδες που παρατηρούνταν σε αυτά, ενώ ταυτόχρονα γινόταν έλεγχος και για ασθένειες ή εχθρούς. Στο τέλος ποτίζονταν, αν αυτό ήταν απαραίτητο και επανατοποθετούνταν εντός των κλωβών.



**Εικόνα 2.13.** Εφαρμογή των συγκεντρώσεων (0,02; 0,06; 0,08; 0,16%) αιθερίου ελαίου μέντας και ρίγανης σε φυτά τομάτας και φασολιάς

## **2.7. Στατιστική Ανάλυση**

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με την μέθοδο της ανάλυσης διασποράς (ANOVA) και οι μέσοι διαχωρίστηκαν με την δοκιμασία Tukey-Kramer HSD test. Οι αναλύσεις έγιναν με το στατιστικό πακέτο JMP10.0.0 (SAS Institute, 2012).

## Κεφάλαιο 3

### Αποτελέσματα

#### 3.1. Απόδοση αρωματικών φυτών σε αιθέριο έλαιο

Για την παραλαβή του συνολικού όγκου του αιθερίου ελαίου κάθε αρωματικού φυτού πραγματοποιήθηκαν 2 αποστάξεις με την τεχνική της υδροαπόσταξης. Χρησιμοποιήθηκαν τα φύλλα των φυτών μέντας, ρίγανης, λουΐζας και δενδρολίβανου. Αντιθέτως, στην περίπτωση του χαμομηλιού χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά τα άνθη του. Η απόδοση του αιθερίου ελαίου εκφράζεται σε mL ανά 100 g ξερού φυτικού υλικού. Έτσι η ρίγανη με το μεγαλύτερο ποσοστό απόδοσης κατά μέσο όρο (κ.μ.ο.) μεταξύ των 5 αρωματικών φυτών ανήλθε στο ύψος του 9,67% (v/w). Η δεύτερη καλύτερη απόδοση ήταν αυτή της μέντας που είχε κ.μ.ο. 2,94%. Η απόδοση της λουΐζας ήταν 1,11% και από τις 2 αποστάξεις, δηλαδή παρήχθησαν 1,11 mL αιθερίου ελαίου από 100 g ξηρής φυτικής μάζας. Από το δενδρολίβανο η απόδοση κ.μ.ο. ήταν 0,75%, ενώ η απόδοση του χαμομηλιού που ήταν και η χαμηλότερη βρισκόταν στο 0,63% (v/w).

#### 3.2. Περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου στο υδρόλυμα

Ύστερα από την υδροαπόσταξη το διάλυμα του νερού που βρισκόταν στη βαθμονομημένη κλίμακα της συσκευής Clevenger συλλέχθηκε και υπολογίσθηκε η περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου που είχε περάσει σε αυτό. Η περιεκτικότητα του

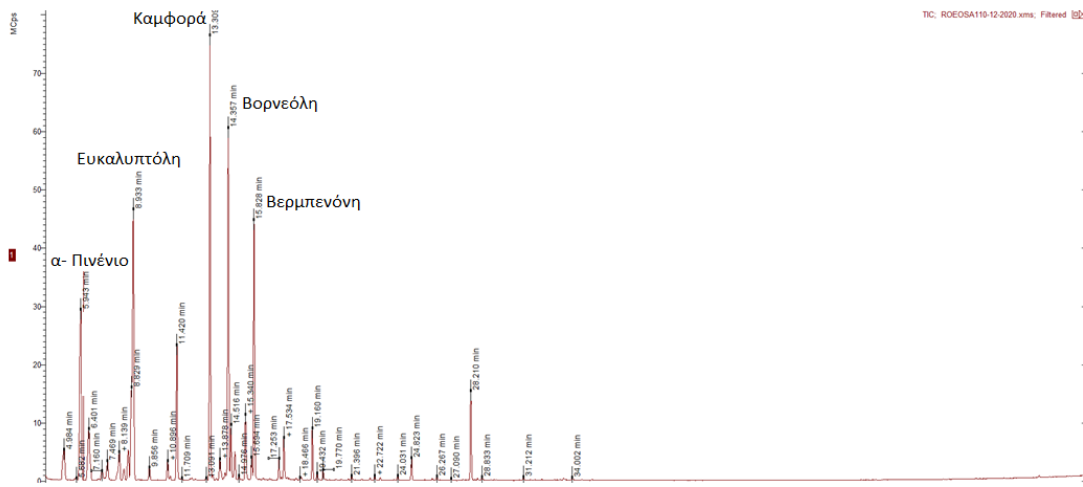
αιθερίου ελαίου στο υδρόλυμα εξαρτάται από το πόσο υδρόφιλες είναι οι ενώσεις που περιέχονται στο κάθε έλαιο και εκφράζεται σε g ανά 100 mL υδρολύματος (w/v). Το υδρόλυμα με το μεγαλύτερο ποσοστό περιεκτικότητας αιθερίου ελαίου είναι του δενδρολίβανου με 0,20%. Ακολουθεί το υδρόλυμα της ρίγανης με περιεκτικότητα 0,10% και το υδρόλυμα της λουΐζας με 0,05% περιεκτικότητα αιθερίου ελαίου. Στα 100 mL υδρολύματος μέντας βρέθηκαν 0,04 g αιθερίου ελαίου (0,04%), ενώ στο υδρόλυμα του χαμομηλιού η περιεκτικότητα ήταν 0,01%.

### **3.3. Χημική Σύσταση των Αιθερίων Ελαίων και των Υδρολυμάτων τους**

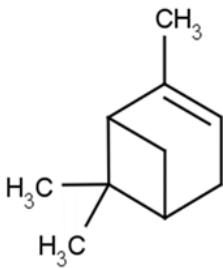
#### **3.3.1α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του *R. Officinalis L.***

Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου πραγματοποιήθηκε σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών.

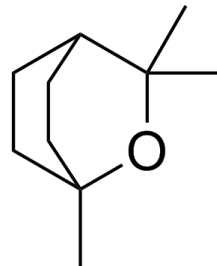
Σύμφωνα με το χρωματογράφημα (Εικ. 3.1.) ανιχνεύτηκαν 47 κορυφές, ενώ ταυτοποιήθηκαν μόνο 38 ουσίες που αντιστοιχούν στο 99,8% της συνολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου. Όπως φαίνεται και στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3.1.) τα σημαντικότερα συστατικά του αιθερίου ελαίου δενδρολίβανου που βρίσκονταν σε περιεκτικότητα μεγαλύτερη από 10% ήταν 4. Το α-πινένιο (Εικ. 3.2.) με ποσοστό περιεκτικότητας 11,3%, η ευκαλυπτόλη (Εικ. 3.3.) με ποσοστό 14,0%, η καμφορά (Εικ. 3.4.) η οποία μετείχε στο μεγαλύτερο ποσοστό με 16,9% και η βορνεόλη (Εικ. 3.5.) με 13,7% επί της ολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου. Σε μικρότερα ποσοστά φαίνεται ότι μετείχαν η βερμπενόνη (9,5%) και η λιναλοόλη (5,5%). Οι οξυγονούχες ενώσεις του αιθερίου ελαίου βρίσκονταν σε ποσοστό 58%, ενώ η μη οξυγονούχες καταλάμβαναν ένα ποσοστό της τάξης του 42%. Στον πίνακα αναγράφεται επίσης η συγκέντρωση των συστατικών του ελαίου σε 1 mL διαλύματος, εκφρασμένη σε πρότυπη ουσία, την κυκλοεξανόνη. Η συγκέντρωση είναι ανάλογη της περιεκτικότητας. Επομένως σύμφωνα με την πρότυπη ουσία την κυκλοεξανόνη, στο 1 mL διαλύματος υπήρχαν 95,37 μg α-πινενίου, 118,8 μg ευκαλυπτόλης, 115,76 μg βορνεόλης, ενώ η μεγαλύτερη συγκέντρωση με 143,21 μg ήταν της καμφοράς.



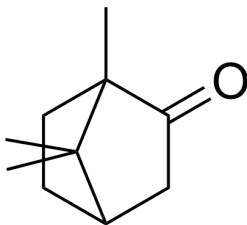
Εικόνα 3.1. Αέριο χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το έλαιο του *R. officinalis*



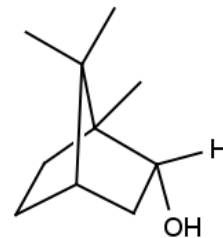
Εικόνα 3.2. δομή α-πινενίου



Εικόνα 3.3. δομή ευκαλυπτόλης



Εικόνα 3.4. δομή καμφοράς



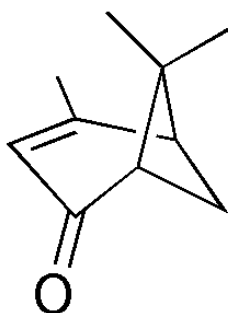
Εικόνα 3.5. δομή βορνεόλης

### 3.3.1β. Χημική σύσταση του υδρολύματος του *R. Officinalis L.*

Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών του υδρολύματος του δενδρολίβανου έλαβε χώρα σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας- φασματομετρίας μαζών. Το αέριο χρωματογράφημα (Εικόνα 3.6.) εμφάνισε 43 κορυφές εκ των οποίων οι 37 ταυτοποιήθηκαν και αντιστοιχούν σε ποσοστό περιεκτικότητας 99,5% επί της συνολικής σύστασης του υδρολύματος (Πίνακας 3.1.). Τα συστατικά που βρέθηκαν σε ποσοστό περιεκτικότητας μεγαλύτερο του 10% ήταν 3 και χαρακτηρίστηκαν ως κύρια συστατικά. Το πρώτο συστατικό με το μεγαλύτερο ποσοστό ήταν η βερμπενόνη (Εικ. 3.7.) η οποία μετείχε με 48,5%, δεύτερο με σχεδόν το 1/3 του ποσοστού της βερμπενόνης ήταν η καμφορά με 16,8% και τρίτο η βορνεόλη με 13,9%. Σε πολύ μικρότερα ποσοστά μετείχαν η ευκαλυπτόλη (4,7%), η τερπινεόλη (3,4%) και η λιναλοόλη (2,3%). Το σύνολο των συστατικών (100%) ήταν οξυγονούχες ενώσεις καθώς είναι πιο εύκολο να σχηματίσουν δεσμούς υδρογόνου με το νερό. Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις που περιέχονται σε 1 mL διαλύματος, η βερμπενόνη έχει την υψηλότερη η οποία φτάνει περίπου στο 1 mg/mL. Η συγκέντρωση της καμφοράς ήταν 345,10 μg/mL , ενώ της βορνεόλης 285,64 μg/mL.



Εικόνα 3.6. Αέριο χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το υδρόλυμα του *R. officinalis*



Εικόνα 3.7. δομή βερμπενόνης

Πίνακας 3.1. Χημική σύσταση και σύγκριση του αιθερίου ελαίου και του υδρολύματος από το φυτό *R. officinalis*. Με έντονη γραφή οι ουσίες για τις οποίες γίνεται λόγος στο κείμενο

No α	Rt (min.) <sup>β</sup>	Συστατικά <sup>γ</sup>	Έλαιο		Υδρόλυμα	
			% <sup>δ</sup>	C (μg/mL) <sup>ε</sup>	% <sup>δ</sup>	C (μg/mL) <sup>ε</sup>
1	4.169	4-hexen-1-ol*	-	-	0,2	3,88
2	5.682	Tricyclene	0,1	1,07	-	-
3	5.943	<b>d-α-Pinene</b>	<b>11,3</b>	<b>95,37</b>	-	-
4	6.401	Camphene	3,9	33,13	-	-



5	7.160	1-Octen-3-ol + (b-Pinene)	0,6	4,70	0,3	6,36
6	7.384	3-Methyl-3-cyclohexen-1-one	-	-	0,1	2,57
7	7.469	b-Myrcene	1,2	9,97	-	-
8	8.139	3-Carene	1,9	15,75	-	-
9	8.401	a-Terpinene	0,6	4,72	-	-
10	8.647	p-Cymene	1,4	12,15	-	-
11	8.829	D-Limonene	3,5	29,63	-	-
12	8.933	<b>Eucalyptol</b>	<b>14,0</b>	<b>118,80</b>	<b>4,7</b>	<b>97,53</b>
13	9.262	Benzeneacetaldehyde	-	-	0,2	4,16
14	9.856	γ-Terpinene	0,6	4,66	-	-
15	10.326	cis-Linalool oxide	-	-	0,1	2,83
16	10.896	Terpinolene	0,8	6,84	-	-
17	10.931	trans-Linalool oxide (furanoid)	-	-	0,2	4,34
18	11.044	p-Cymenene	0,2	1,55	-	-
19	11.420	<b>Linalool</b>	<b>5,5</b>	<b>46,55</b>	<b>2,3</b>	<b>47,36</b>
20	11.710	2,6 -dimethyl-3,5Hpetadien-2-ol	-	-	ίχνος	0,37
21	12.280	Chrysanthenone	-	-	0,2	3,54
22	13.091	trans-Pinocarveol	0,1	0,99	0,1	2,25
23	13.309	<b>Camphor</b>	<b>16,9</b>	<b>143,21</b>	<b>16,8</b>	<b>345,10</b>
24	13.662	Camphene hydrate	-	-	ίχνος	0,87
25	13.878	trans-Pinocamphone	1,1	9,52	0,2	4,72
26	13.962	Pinocarvone	-	-	0,2	3,90
27	14.357	<b>Borneol</b>	<b>13,7</b>	<b>115,76</b>	<b>13,9</b>	<b>285,64</b>
28	14.516	cis-Pinocamphone	2,1	17,82	0,9	18,63
29	14.733	Terpinen-4-ol	1,2	9,88	1,1	22,90
30	14.976	p-Cymen-8-ol	0,1	1,10	0,6	11,89
31	15.340	<b>a-Terpineol</b>	<b>2,7</b>	<b>23,02</b>	<b>3,4</b>	<b>69,37</b>
32	15.828	D-Verbenone	<b>9,5</b>	<b>80,69</b>	<b>48,5</b>	<b>996,28</b>
33	16.121	2-Oxabicyclo[2.2.2]octan-6-one, 1,3,3-trimethyl-	-	-	0,2	4,26
34	16.357	trans-Carveol	-	-	0,1	2,72
35	17.253	cis-p-Menth-2-en-7-ol *	0,8	7,01	0,9	18,60
36	17.389	D-Carvone	0,1	0,70	0,1	2,32
37	17.534	trans-p-Menth-2-en-7-ol *	1,6	13,74	2,3	47,57
38	17.736	Geraniol	ίχνος	0,00	ίχνος	1,13
39	17.834	cis-Myrtanol	-	-	ίχνος	0,00
40	18.231	trans-Myrtanol	-	-	ίχνος	1,37
41	18.445	Isopiperitenone	-	-	0,6	12,35
42	19.160	Bornyl acetate	1,9	15,69	-	-
43	19.432	Thymol	0,3	2,52	0,1	2,19
44	19.770	Carvacrol	0,4	3,64	0,2	3,65
45	20.183	2-methoxy-4-vinylphenol	-	-	0,1	1,89
46	21.396	Piperitenone	0,2	1,70	0,6	12,38

47	21.974	Eugenol	-	-	0,2	3,21
48	23.037	a-Copaene	0,1	0,85	-	-
49	24.031	Methyl eugenol	0,2	1,43	0,1	2,71
50	24.823	b-Caryophyllene	0,8	6,88	-	-
51	26.267	a-Humulene	0,1	1,18	-	-
52	27.090	γ-Murolene	ίχνος	0,60	-	-
53	28.833	δ-Cadinene	0,2	1,45	-	-
54	31.212	Caryophyllene oxide	0,1	1,10	-	-
55	33.507	Methyl jasmonate (Z)	-	-	ίχνος	1,22
<b>Συνολικό ποσοστό ουσιών</b>			100,0		99,7	
<b>Συνολικό ποσοστό ταυτοποίησης</b>			99,8		99,5	

α: αριθμός ταυτοποιημένων ουσιών από τα χρωματογραφήματα των εικόνων 3.1. και 3.6.

β: Rt (Retention time): χρόνος έκλουσης των ταυτοποιημένων ουσιών.

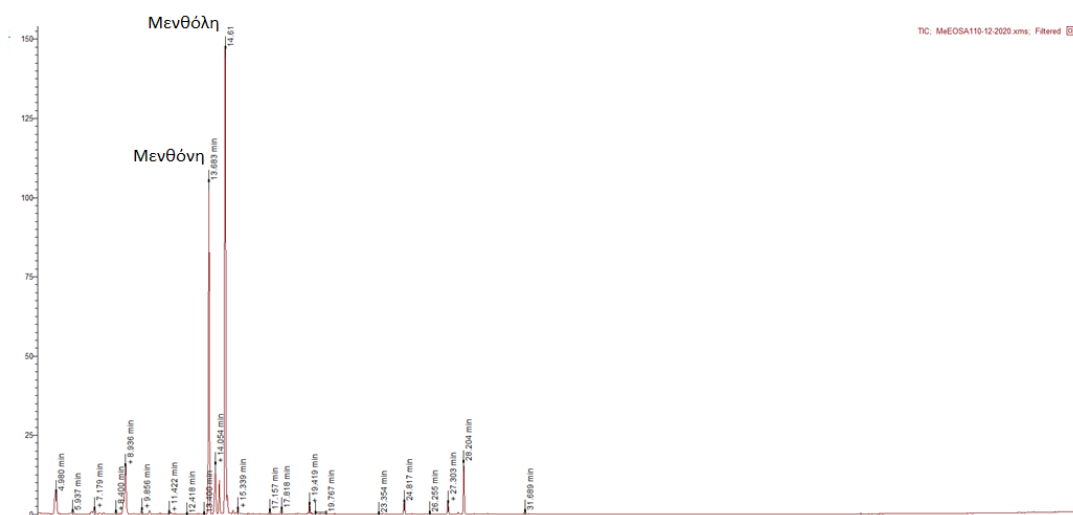
γ: συστατικά που ταυτοποιήθηκαν συγκρίνοντας τους χρόνους έκλουσης και τα φάσματα μαζών με τα αντίστοιχα δεδομένα των ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών Adams07 και NIST.

δ: εκατοστιαία περιεκτικότητα της εκάστοτε ουσίας επί της ολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου και του υδρόλυματος του *R. officinalis*.

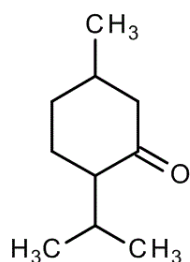
ε: συγκέντρωση της εκάστοτε ουσίας που υπάρχει στο έλαιο και στο υδρόλυμα, εκφρασμένη σε πρότυπη ουσία Cyclohexanone.

### 3.3.2α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου της *M. piperita* L.

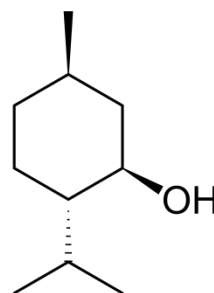
Το χρωματογράφημα (Εικ. 3.8.) του αιθερίου ελαίου μέντας που παρελήφθη από σύστημα αέριας χρωματογραφίας – φασματομετρίας μαζών για τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό, κατέγραψε μεταξύ άλλων 2 μεγάλες κορυφές. Τα κύρια συστατικά που αντιστοιχούν σε αυτές τις κορυφές ήταν η μενθόνη (Εικ. 3.9.) με ποσοστό 29,6% και η μενθόλη (Εικ. 3.10.) με ποσοστό 44,3% (Πίνακας 3.2.). Και τα δύο συστατικά βρίσκονταν σε μεγάλο ποσοστό, ενώ οι αμέσως επόμενες ενώσεις ήταν η ευκαλυπτόλη (6,3%) και η ισο-μενθόνη (5,7%) με ποσοστό περιεκτικότητας μικρότερο του 10%. Οι υπόλοιπες 27 ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν βρίσκονται σε πολύ μικρό ποσοστό που κυμαίνεται από 2,9% έως 0,03%. Το ποσοστό περιεκτικότητας που είναι χαμηλότερο από 0,08% χαρακτηρίζεται ως ίχνος. Η πλειονότητα των συστατικών ήταν οξυγονούχες ενώσεις σε ποσοστό 52% ενώ οι μη οξυγονούχες απάρτιζαν το υπόλοιπο 48%. Συνολικά ταυτοποιήθηκαν 31 συστατικά από τις 35 κορυφές που εμφανίστηκαν στο χρωματογράφημα, και αντιστοιχούν στο 99,8% της συνολικής σύστασης του ελαίου μέντας.



Εικόνα 3.8. Αέριο χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το έλαιο του *M. Piperita*



Εικόνα 3.9. δομή μενθόνης



Εικόνα 3.10. δομή μενθόλης

### 3.3.2β. Χημική σύσταση του υδρολύματος της *M. piperita* L.

Στο χρωματογράφημα της Εικόνας 3.11. που παρελήφθη ύστερα από τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό με GC-MS, έδειξε να ξεχωρίζει μία μόνο κορυφή. Το συστατικό που χαρακτηρίζει το συγκεκριμένο υδρόλυμα της μέντας είναι η μενθόλη. Καταλαμβάνει το μισό και παραπάνω από το ποσοστό περιεκτικότητας του υδρολύματος με 54,4% (Πίνακας 3.2.). Ωστόσο, υπάρχουν και άλλα συστατικά που παίζουν συμπληρωματικό ρόλο τα οποία είναι η μενθόνη (9,9%), η τερπινεν-4-όλη (6,1%) και η πιπεριτόνη (4,5%). Η συγκέντρωση που αναγράφεται στον πίνακα (Πίνακας 3.2.) εκφράζεται σε  $\mu\text{g}/\text{mL}$  διαλύματος. Δηλαδή, 1 mL διαλύματος περιέχει

949,53 μg μενθόλης, 171,86 μg μενθόνης, 106,77 μg τερπινέν-4-όλης και 77,94 μg πιπεριτόνης. Από τις 68 κορυφές που εμφανίστηκαν στο χρωματογράφημα ταυτοποιήθηκαν μόνο οι 43 οι οποίες αντιστοιχούν σε ποσοστό 97,4% της ολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου και είναι όλες οξυγονούχες ενώσεις (100%). Αυτό σημαίνει πως τα υπόλοιπα συστατικά που δεν μπόρεσαν να ταυτοποιηθούν λάμβαναν πολύ μικρό ποσοστό περιεκτικότητας στο υδρόλυμα.



**Εικόνα 3.11.** Αέριο χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το υδρόλυμα του *M. Piperita*

**Πίνακας 3.2.** Χημική σύσταση και σύγκριση του αιθερίου ελαίου και του υδρολύματος από το φυτό *M. piperita*. Με έντονη γραφή οι ουσίες για τις οποίες γίνεται λόγος στο κείμενο

No <sup>α</sup>	Rt (min.) <sup>β</sup>	Συστατικά <sup>γ</sup>	Έλαιο		Υδρόλυμα	
			% <sup>δ</sup>	C (μg/mL) <sup>ε</sup>	% <sup>δ</sup>	C (μg/mL) <sup>ε</sup>
1	5.937	<b>α-Pinene</b>	0,6	2,57	-	-
2	6.241	3-Methyl-cyclohexanol	-	-	ίχνο ς	0,82
3	6.419	3-Methyl-cyclohexanone	-	-	ίχνο ς	0,97
4	7.008	Sabinene	0,4	1,70	-	-

5	7.151	1-Octen-3-ol	-	-	0,1	2,42
6	7.179	b-Pinene	0,9	4,04	-	-
7	7.460	b-Myrcene	0,2	0,70	-	-
8	7.685	3-Octanol	-	-	0,3	5,49
9	8.400	a-Terpinene	0,4	1,64	-	-
10	8.654	p-Cymene	ίχνος	0,00	-	-
11	8.827	Limonene	1,3	5,79	-	-
12	8.936	<b>Eucalyptol</b>	<b>6,3</b>	<b>29,45</b>	<b>3,7</b>	<b>64,45</b>
13	9.260	Benzeneacetaldehyde	-	-	0,5	9,19
14	9.856	γ-Terpinene	0,5	2,47	-	-
15	10.301	cis-Sabinene hydrate	0,3	1,58	-	-
16	10.317	cis-Linalool oxide B	-	-	0,5	9,43
17	10.888	Terpinolene	0,2	0,69	-	-
18	10.933	trans-Linalool oxide B	-	-	ίχνο ς	1,05
19	11.422	Linalool	0,3	1,45	0,7	12,36
20	11.877	Phenylethyl Alcohol	-	-	0,2	3,32
21	12.309	trans-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	-	-	ίχνο ς	1,03
22	12.418	Ment-2-en-1-ol <cis-p>	ίχνος	0,00	0,3	4,51
23	12.889	cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	-	-	0,1	1,67
24	13.039	Sabinol <trans->	-	-	0,2	4,08
25	13.144	trans-p-Menth-2-en-1-ol	-	-	0,3	5,02
26	13.294	Verbenol	-	-	0,1	1,76
27	13.400	Isopulegol	ίχνος	0,34	0,5	9,36
28	13.683	<b>Menthone</b>	<b>29,6</b>	<b>137,24</b>	<b>9,9</b>	<b>171,86</b>
29	14.054	<b>Iso-menthone</b>	<b>5,7</b>	<b>26,38</b>	<b>4,4</b>	<b>76,75</b>
30	14.281	neo-Menthol	2,9	13,82	3,9	68,31
31	14.611	<b>Menthol</b>	<b>44,3</b>	<b>205,44</b>	<b>54,4</b>	<b>949,53</b>
32	14.765	<b>Terpinen-4-ol</b>	-	-	<b>6,1</b>	<b>106,77</b>
33	15.071	Iso-menthol	0,3	1,42	0,2	4,25
34	15.228	Neiso-menthol	-	-	ίχνο ς	0,97
35	15.339	a-Terpineol	0,5	2,35	3,4	59,92
36	15.945	trans-Piperitol	-	-	0,1	1,99
37	17.157	Pulegone	0,4	1,89	1,4	23,47
38	17.389	Carvone	-	-	ίχνο ς	0,00
39	17.818	Piperitone	0,6	2,56	<b>4,5</b>	<b>77,94</b>
40	18.766	p-Mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol	-	-	0,5	9,38
41	19.419	Methyl acetate	1,0	4,70	-	-
42	19.426	Thymol	-	-	0,4	6,05
43	19.549	Dihydroedulan II	ίχνος	0,00	-	-
44	19.767	Carvacrol	0,2	0,78	0,1	1,86

45	19.890	6-Hydroxy Carvotanacetone	-	-	0,1	1,37
46	20.188	2-Methoxy-4-vinylphenol	-	-	ίχνο ς	0,71
47	20.952	1,2-Cyclohexanediol, 4-methyl-1-(1-methylethyl)-,(1a,2a,4a)	-	-	ίχνο ς	1,08
48	21.399	Piperitenone	-	-	ίχνο ς	0,84
49	21.971	Eugenol	-	-	0,2	3,77
50	23.354	b-Bourbonene	0,1	0,59	-	-
51	23.693	Jasmone (E)	-	-	0,1	1,98
52	24.817	b-Caryophyllene	1,2	5,61	-	-
53	26.255	b-Farnesene (E)	0,1	0,60	-	-
54	27.147	Methyl-vanillin	-	-	ίχνο ς	0,55
55	27.303	Germacrene D	1,1	5,19	-	-
56	27.563	4-(2-Methyl-cyclohex-1-enyl)-but-3-en-2-one	-	-	0,1	2,25
57	27.806	Mint furanone	-	-	0,1	1,97
58	27.892	Bicyclogermacrene	0,1	0,62	-	-
59	31.689	Globulol	0,3	1,54	ίχνο ς	0,83
60	33.984	epi-a-Muurolol	-	-	ίχνο ς	0,49
<b>Συνολικό ποσοστό ουσιών</b>			100,0		98,5	
<b>Συνολικό ποσοστό ταυτοποίησης</b>			99,8		97,4	

α: αριθμός ταυτοποιημένων ουσιών από τα χρωματογραφήματα των εικόνων 3.8. και 3.11.

β: Rt (Retention time): χρόνος έκλουσης των ταυτοποιημένων ουσιών.

γ: συστατικά που ταυτοποιήθηκαν συγκρίνοντας τους χρόνους έκλουσης και τα φάσματα μαζών με τα αντίστοιχα δεδομένα των ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών Adams07 και NIST.

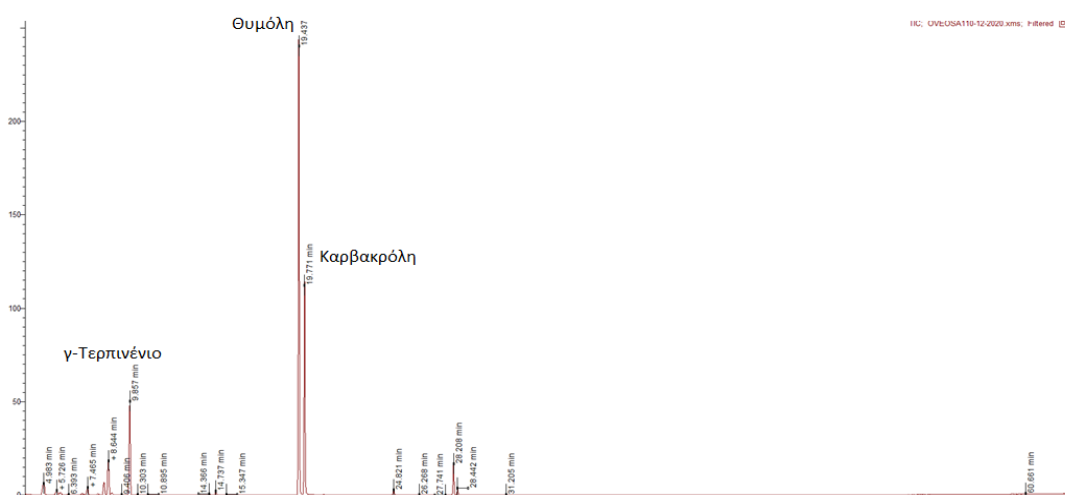
δ: εκατοστιαία περιεκτικότητα της εκάστοτε ουσίας επί της ολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου και του υδrolύματος του *M. piperita*.

ε: συγκέντρωση της εκάστοτε ουσίας που υπάρχει στο έλαιο και στο υδρόλυμα, εκφρασμένη σε πρότυπη ουσία Cyclohexanone.

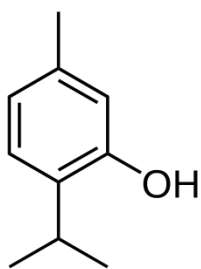
### 3.3.3α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του *O. vulgare* L.

Το αιθέριο έλαιο της ρίγανης μετά από τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών παρουσίασε το χρωματογράφημα της Εικόνας 3.12. Διακρίνονται 2 μεγάλες κορυφές και μία ελαφρώς

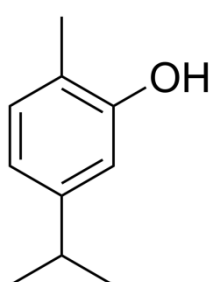
μικρότερη που βρίσκονται σε ποσοστό περιεκτικότητας άνω του 10%. Οι 3 κύριες κορυφές ανήκουν στη θυμόλη (Εικ. 3.13.) με ποσοστό περιεκτικότητας 50,2%, στην καρβακρόλη (Εικ. 3.14.) με 23,3% και στο γ-τερπινένιο (Εικ. 3.15.) που κατέχει το ποσοστό του 12,8%. Σε πολύ μικρότερα ποσοστά συμμετείχαν το π-κυμένιο (5,4%) και το α-τερπινένιο (1,9%), ενώ όσα συστατικά είχαν περιεκτικότητα σε ποσοστό μικρότερη του 0,08% χαρακτηρίστηκαν ως ίχνοσ. Η συγκέντρωση των συστατικών εκφρασμένη σε πρότυπη ουσία κυκλοεξανόνης είναι υψηλή στα 3 κύρια συστατικά. Επομένως, στο 1 mL διαλύματος περιέχονται 352,11 μg θυμόλης, 163,72 μg καρβακρόλης και 90,01 μg γ-τερπινενίου. Όπως φαίνεται στον πίνακα (Πίνακας 3.3.) ταυτοποιήθηκαν 21 συστατικά που απαρτίζουν το 99,6% της ολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου, ενώ το υπόλοιπο 0,04% ανήκει σε 3 κορυφές όπου η ταυτοποίησή τους δεν ήταν εφικτή. Το μεγαλύτερο μέρος των συστατικών του πίνακα ήταν μη οξυγονούχες ενώσεις (71%), ενώ η βορνεόλη, η 4-τερπινενόλη, η τερπινεόλη, η θυμόλη και η καρβακρόλη ήταν οξυγονούχες που αντιστοιχούσαν στο 29%.



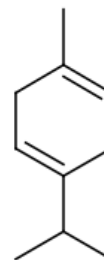
**Εικόνα 3.12.** Αέριο χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το αιθέριο έλαιο του *O. vulgare*



Εικόνα 3.13. δομή θυμόλης



Εικόνα 3.14. δομή καρβακρόλης

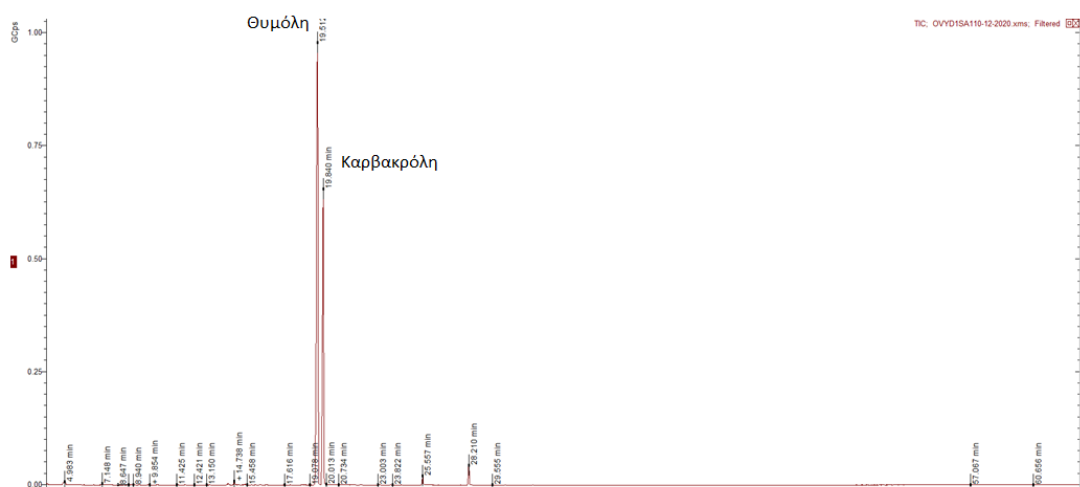


Εικόνα 3.15. δομή γ-τερπινενίου

### 3.3.3β. Χημική σύσταση του υδρολύματος του *O. vulgare* L.

Σύμφωνα με το χρωματογράφημα που παρελήφθη (Εικ. 3.16.) υπάρχουν 25 κορυφές εκ των οποίων οι 2 είναι πολύ μεγάλες και ανήκουν στα κύρια συστατικά. Τα 2 αυτά βασικά συστατικά βρίσκονται σε ποσοστό υψηλότερο του 10%, ενώ μαζί καλύπτουν πάνω από το 95% του ποσοστού περιεκτικότητας του υδρολύματος (Πίνακας 3.3.). Η θυμόλη που κυριαρχεί στο υδρόλυμα ήταν σε ποσοστό 63,5% και η καρβακρόλη κατείχε το ποσοστό του 34,5%. Τα υπόλοιπα 17 συστατικά που ταυτοποιήθηκαν βρισκόντουσαν σε μικρότερα ποσοστά. Τα ποσοστά που ήταν κάτω του 0,08% χαρακτηρίστηκαν ως ίχνη. Οι ενώσεις που ταυτοποιήθηκαν στο σύνολο (14) αντιστοιχούν σε ποσοστό 99,7% της ολικής σύστασης του υδρολύματος της ρίγανης. Το 86% αυτών ήταν οξυγονούχες ενώσεις και το υπόλοιπο 14% μη οξυγονούχες.





Εικόνα 3.16. Αέριο χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το υδρόλυμα του *O. Vulgare*

Πίνακας 3.3. Χημική σύσταση και σύγκριση του αιθερίου ελαίου και του υδρολύματος από το φυτό *O. vulgare*. Με έντονη γραφή οι ουσίες για τις οποίες γίνεται λόγος στο κείμενο

No <sup>α</sup>	Rt (min.) <sup>β</sup>	Συστατικά <sup>γ</sup>	Έλαιο		Υδρόλυμα	
			% <sup>δ</sup>	C (μg/mL) <sup>ε</sup>	% <sup>δ</sup>	C (μg/mL) <sup>ε</sup>
1	5.726	a-Thujene	1,0	6,85	-	-
2	5.945	a-Pinene	0,5	3,82	-	-
3	6.393	Camphene	0,1	0,68	-	-
4	7.155	1-Octen-3-ol + (b-Pinene)	0,3	1,81	0,2	4,57
5	7.465	b-Myrcene	1,3	9,15	-	-
6	8.045	a-Phellandrene	0,3	2,15	-	-
7	8.398	<b>a-Terpinene</b>	<b>1,9</b>	<b>13,78</b>	-	-
8	8.644	p-Cymene	5,4	37,58	ίχνος	0,54
9	8.836	Limonene	0,3	2,09	-	-
10	8.940	Benzyl alcohol	-	-	ίχνος	0,74
11	9.265	Benzeneacetaldehyde	-	-	ίχνος	0,44
12	9.406	b-Ocimene (E)	ίχνος	0,40	-	-
13	9.857	<b>γ-Terpinene</b>	<b>12,8</b>	<b>90,01</b>	ίχνος	0,83
14	10.303	cis-Sabinene hydrate	0,1	0,72	-	-
15	10.895	Terpinolene	0,1	0,66	-	-
16	11.425	Linalool	-	-	ίχνος	0,83
17	14.366	Borneol	0,2	1,33	0,2	4,63

18	14.737	Terpinen-4-ol	0,5	3,29	0,4	10,15
19	14.977	p-Cymen-8-ol	-	-	ίχνος	0,70
20	15.347	a-Terpineol	0,1	0,72	ίχνος	1,80
21	15.458	cis-Dihydrocarvone	-	-	ίχνος	0,00
22	19.437	<b>Thymol</b>	<b>50,2</b>	352,11	<b>63,5</b>	1719,28
23	19.771	<b>Carvacrol</b>	<b>23,3</b>	163,72	<b>34,5</b>	932,81
24	24.821	b-Caryophyllene	0,6	4,35	-	-
25	25.557	p-Cymene-2,5-diol	-	-	0,9	23,72
26	26.268	a-Humulene	0,1	0,68	-	-
27	28.442	b-Bisolene	0,8	5,68	-	-
<b>Συνολικό ποσοστό ουσιών</b>			99,9		99,7	
<b>Συνολικό ποσοστό ταυτοποίησης</b>			99,6		99,7	

α: αριθμός ταυτοποιημένων ουσιών από τα χρωματογραφήματα των εικόνων 3.12. και 3.16.

β: Rt (Retention time): χρόνος έκλουσης των ταυτοποιημένων ουσιών.

γ: συστατικά που ταυτοποιήθηκαν συγκρίνοντας τους χρόνους έκλουσης και τα φάσματα μαζών με τα αντίστοιχα δεδομένα των ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών Adams07 και NIST.

δ: εκατοστιαία περιεκτικότητα της εκάστοτε ουσίας επί της ολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου και του υδρολύματος του *O. vulgare*.

ε: συγκέντρωση της εκάστοτε ουσίας που υπάρχει στο έλαιο και στο υδρόλυμα, εκφρασμένη σε πρότυπη ουσία Cyclohexanone.

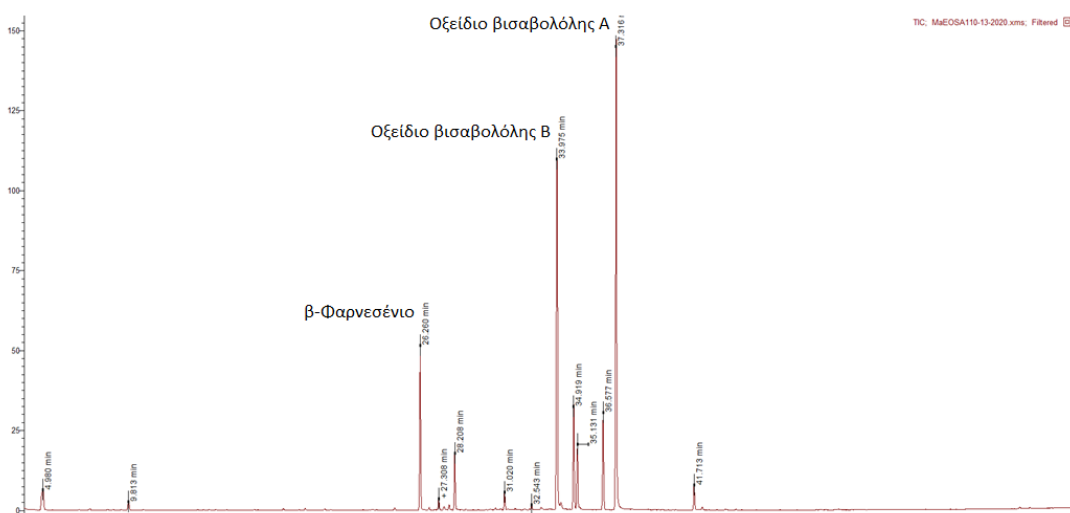
### 3.3.4α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου του *M. chamomilla*

#### L.

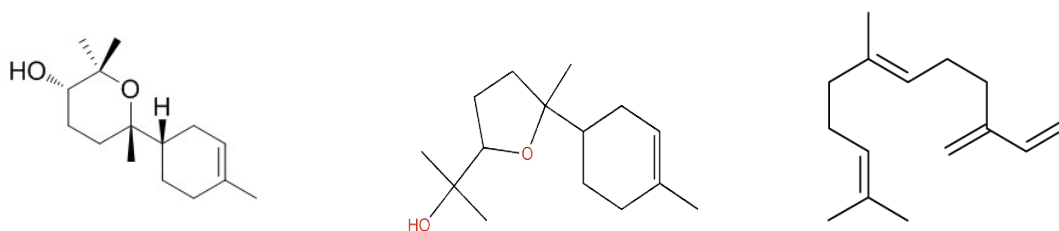
Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών του αιθερίου ελαίου του *M. chamomilla* L. (χαμομήλι) πραγματοποιήθηκε σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών όπως αυτός περιγράφεται στην παράγραφο 2.3.4.

Το χρωματογράφημα του αιθερίου ελαίου χαμομηλιού που παρελήφθη (Εικ. 3.17.) έδειξε μικρό αριθμό κορυφών εκ των οποίων οι 3 χαρακτηρίστηκαν ως βασικές. Το μεγαλύτερο ποσοστό περιεκτικότητας των συστατικών, που κάλυπτε περισσότερο από το 50% της ολικής σύστασης, είχαν τα οξείδια της βισαβολόλης Α και Β (Εικ. 3.18. ,3.19.) με 36,6% και 26,5%, αντιστοίχως. Ακολούθησε το β- φαρνεσένιο (Εικ. 3.20.) σε

ποσοστό 11,6%. Αντιθέτως, σε μικρότερο ποσοστό παρουσιάστηκε το οξύδιο της βισαβολόλης A (7,7%) και το χαμαζουλένιο (7,4%), όπου ευθύνεται για το σκούρο μπλε χρώμα του αιθερίου ελαίου. Από το χρωματογράφημα δεν μπόρεσε να ταυτοποιηθεί μόνο ένα συστατικό. Τα υπόλοιπα 11 συστατικά που ταυτοποιήθηκαν αντιστοιχούν σε ποσοστό 99,6% του συνόλου της περιεκτικότητας όπως φαίνεται και στον Πίνακα 3.4. Η συγκέντρωση των συστατικών με υψηλό ποσοστό περιεκτικότητας στο έλαιο ήταν εξίσου υψηλή. Σε 1 mL διαλύματος ανιχνεύτηκαν 224,36 μg οξειδίου βισαβολόλης A, 162,67 μg οξειδίου βισαβολόλης B και 71,39 μg β- φερνεζάνιου. Από τα 11 συστατικά, τα 7 δηλαδή το 64% ήταν οξυγονούχες ενώσεις, ενώ το υπόλοιπο 36% ήταν μη οξυγονούχες ενώσεις.



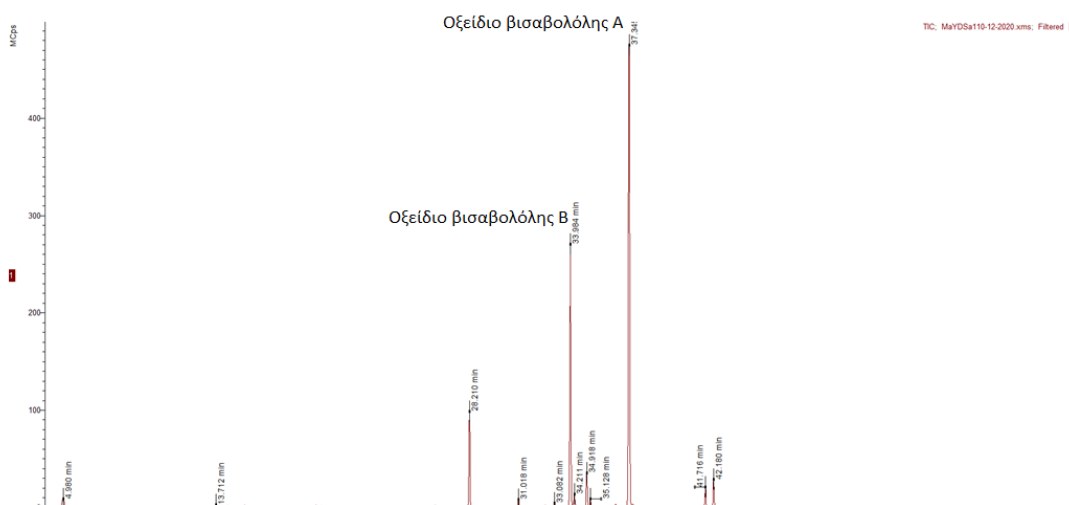
**Εικόνα 3.17.** Αέριο χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το έλαιο του *M. chamomilla*



Εικόνα 3.18. δομή οξειδίου βισαβολόλης Α Εικόνα 3.19. δομή οξειδίου βισαβολόλης Β Εικόνα 3.20. δομή β-φαρνεσανίου

### 3.3.4β. Χημική σύσταση του υδρολύματος του *M. chamomilla* L.

Το χρωματογράφημα με τις λιγότερες κορυφές ήταν αυτό του υδρολύματος του χαμομηλιού (Εικ. 3.21.). Από τις 10 κορυφές ταυτοποιήθηκαν οι 8, όπως παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 3.4.), που αναλογούν σε ποσοστό περιεκτικότητας 97,6% της ολικής σύστασης. Τα βασικά συστατικά είναι τα οξείδια της βισαβολόλης Α και Β σε ποσοστό 57,2% και 29,5% αντιστοίχως καλύπτοντας το 87% της συνολικής περιεκτικότητας. Άλλα συστατικά σε μικρότερα ποσοστά ήταν το οξείδιο της βισαβολόνης Α (3,8%), ο σπιροαιθέρας (Ε) (2,9%) και ο σπιροαιθέρας (Ζ) (2,1%). Η συγκέντρωση των συστατικών σε διάλυμα κυκλοεξανόνης ήταν ανάλογη με την περιεκτικότητά τους στο υδρόλυμα. Με άλλα λόγια, όσο μεγαλύτερο ποσοστό περιεκτικότητας, τόσο μεγαλύτερη η συγκέντρωση. Επομένως, η συγκέντρωση του οξειδίου της βισαβολόλης Α ήταν 545,82 μg/mL, του οξειδίου της βισαβολόλης Β ήταν 281,25 μg/mL και του οξειδίου της βισαβολόνης Α ήταν 36,44 μg/mL.



**Εικόνα 3.21.** Αέριο χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το υδρόλυμα του *M. chamomilla*

**Πίνακας 3.4.** Χημική σύσταση και σύγκριση του αιθερίου ελαίου και του υδrolύματος από το φυτό *M. chamomilla*. Με έντονη γραφή οι ουσίες για τις οποίες γίνεται λόγος στο κείμενο

No <sup>α</sup>	Rt (min.) <sup>β</sup>	Συστατικά <sup>γ</sup>	Έλαιο		Υδρόλυμα	
			% <sup>δ</sup>	C (μg/mL) <sup>ε</sup>	% <sup>δ</sup>	C (μg/mL) <sup>ε</sup>
1	9.813	Artemisia ketone	0,8	4,90	-	-
2	13.712	trans-Chrysanthemol	-	-	0,3	2,88
3	26.260	<b>b-Farnesene (E)</b>	<b>11,6</b>	<b>71,39</b>	-	-
4	27.308	Germacrene D	0,8	5,11	-	-
5	27.895	Bicyclogermacrene	0,4	2,48	-	-
6	31.020	Spathulenol	1,3	8,08	0,9	8,50
7	33.975	<b>a-Bisabolol oxide B</b>	<b>26,5</b>	<b>162,67</b>	<b>29,5</b>	<b>281,25</b>
8	34.919	<b>a-Bisabolone oxide A</b>	<b>7,7</b>	<b>47,07</b>	<b>3,8</b>	<b>36,44</b>
9	35.131	a-Bisabolol	4,6	28,20	0,9	8,18
10	36.577	<b>Chamazulene</b>	<b>7,4</b>	<b>45,66</b>	-	-
11	37.316	<b>a-Bisabolol oxide A</b>	<b>36,6</b>	<b>224,36</b>	<b>57,2</b>	<b>545,82</b>
12	41.713	<b>Spiroether (Z)</b>	<b>1,9</b>	<b>11,46</b>	<b>2,1</b>	<b>20,34</b>
13	42.180	<b>Spiroether (E)</b>	-	-	<b>2,9</b>	<b>28,41</b>
<b>Συνολικό ποσοστό ουσιών</b>			<b>100,0</b>		<b>100,0</b>	
<b>Συνολικό ποσοστό ταυτοποίησης</b>			<b>99,6</b>		<b>97,6</b>	

α: αριθμός ταυτοποιημένων ουσιών από τα χρωματογραφήματα των εικόνων 3.17. και 3.21.

β: Rt (Retention time): χρόνος έκλουσης των ταυτοποιημένων ουσιών.

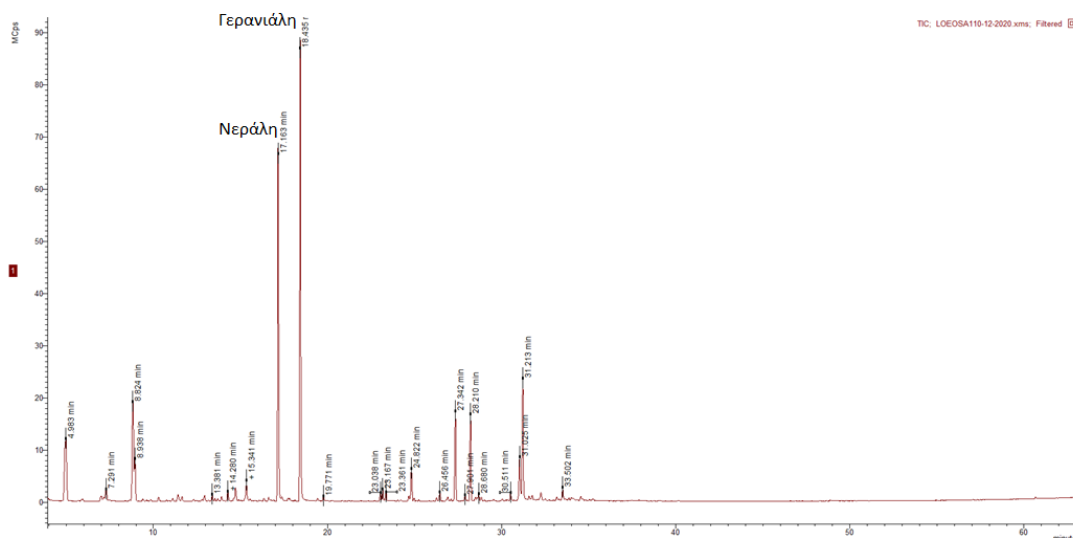
γ: συστατικά που ταυτοποιήθηκαν συγκρίνοντας τους χρόνους έκλουσης και τα φάσματα μαζών με τα αντίστοιχα δεδομένα των ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών Adams07 και NIST.

δ: εκατοστιαία περιεκτικότητα της εκάστοτε ουσίας επί της ολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου και του υδρολύματος του *M. chamomilla*.

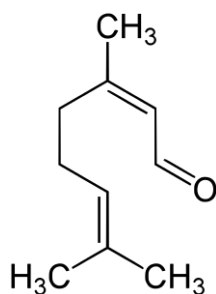
ε: συγκέντρωση της εκάστοτε ουσίας που υπάρχει στο έλαιο και στο υδρόλυμα, εκφρασμένη σε πρότυπη ουσία Cyclohexanone.

### **3.3.5α. Χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου της *A. citrodora* L.**

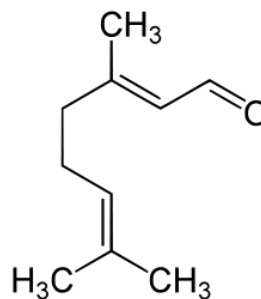
Αποτέλεσμα του ποιοτικού προσδιορισμού των συστατικών του αιθερίου ελαίου λουΐζας σε σύστημα αέριας χρωματογραφίας-φασματομετρίας μαζών ήταν το παρακάτω αέριο χρωματογράφημα (Εικ. 3.22.). Απεικονίστηκαν 23 κορυφές συστατικών που περιέχονται στο έλαιο και ταυτοποιήθηκαν μόνο οι 21 εκφράζοντας το 98,7% της συνολικής ποσότητας της σύστασης (Πίνακας 3.5.). Από τα 21 συστατικά 2 φάνηκαν να είναι τα κύρια τα οποία βρίσκονταν σε ποσοστό μεγαλύτερο του 10%. Αυτά ήταν η νεράλη (Εικ. 3.23.) σε ποσοστό 23,6% και η γερανιάλη (Εικ. 3.24.) σε ποσοστό 31,3%. Σε μικρότερα ποσοστά ήταν το οξείδιο του καρυοφυλλενίου (9,6%), το λιμονένιο (9,3%) και η α- κουρκουμίνη (6,6%). Το μεγαλύτερο ποσοστό των συστατικών ήταν οξυγονούχες ενώσεις (62%), ενώ αντίθετα το υπόλοιπο 38% ήταν μη οξυγονούχες. Στον πίνακα αναγράφεται και η συγκέντρωση του κάθε συστατικού στο 1 mL διαλύματος. Παραδείγματος χάριν, η συγκέντρωση της γερανιάλης εκφρασμένη σε κυκλοεξανόνη ήταν 66,09 μg, 49,81 μg της νεράλης, 20,26 μg του οξειδίου του καρυοφυλλενίου και 19,74 μg του λιμονένιου.



Εικόνα 3.22. Χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το έλαιο του *A. citrodora*



Εικόνα 3.23. δομή νεράλης

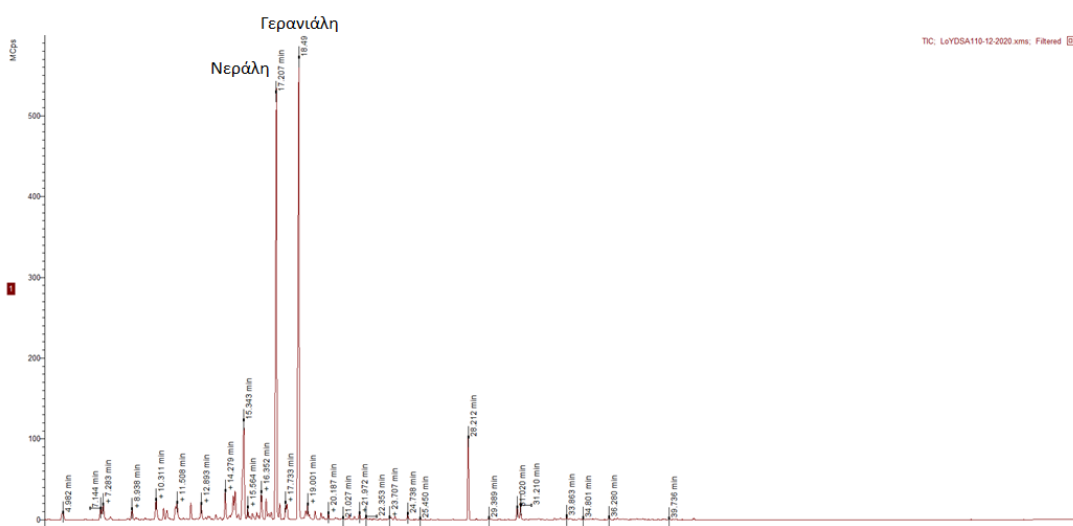


Εικόνα 3.243. δομή γερανιάλης

### 3.3.5β. Χημική σύσταση του υδρολύματος της *A. citrodora*

Ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός των συστατικών του υδρολύματος της λουίζας πραγματοποιήθηκε σε σύστημα GC-MS. Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν από το αέριο χρωματογράφημα (Εικ. 3.25.) ανέδειξαν 2 μεγάλες κορυφές που ανήκουν στην γερανιάλη και την νεράλη. Τα 2 κύρια αυτά συστατικά μετέχουν σε ποσοστό μεγαλύτερο από 10%. Πιο συγκεκριμένα η γερανιάλη ήταν σε ποσοστό

31,0% ενώ η νεράλη σε ποσοστό 27,1%. Επιπλέον υπήρχαν και άλλα συστατικά σε μικρότερα ποσοστά όπως η τερπενιόλη (8,3%) ενώ όλα τα υπόλοιπα δεν ξεπέρασαν το ποσοστό του 1,8% (Πίνακας 3.5.). Συνολικά ταυτοποιήθηκαν 49 συστατικά που καλύπτουν την περιεκτικότητα της ολικής σύστασης σε ένα ποσοστό της τάξεως του 96%. Τα περισσότερα από αυτά ανήκουν στις οξυγονούχες ενώσεις (98%), ενώ άλλα στις μη οξυγονούχες (2%). Επιπλέον η συγκέντρωση των κύριων συστατικών σε 1 mL διαλύματος ήταν 680,13 µg/mL για την γερανιάλη και 594,55 µg/mL για την νεράλη. Η συγκέντρωση των υπόλοιπων συστατικών κυμάνθηκε από 1,44 έως 183,11 µg/mL διαλύματος.



Εικόνα 3.25. Χρωματογράφημα των ουσιών που απομονώθηκαν από το υδρόλυμα του *A. citrodora*

Πίνακας 3.5. Χημική σύσταση και σύγκριση του αιθερίου ελαίου και του υδρόλυματος από το φυτό *A. citrodora*. Με έντονη γραφή οι ουσίες για τις οποίες γίνεται λόγος στο κείμενο

No <sup>α</sup>	Rt (min.) <sup>β</sup>	Συστατικά <sup>γ</sup>	Έλαιο		Υδρόλυμα	
			% <sup>δ</sup>	C (µg/mL) <sup>ε</sup>	% <sup>δ</sup>	C (µg/mL) <sup>ε</sup>
1	7.144	1-Octen-3-ol	-	-	0,9	19,78
2	7.291	6-Methyl-5-hepten-2-one	1,0	2,09	1,4	29,97
3	8.824	<b>D-Limonene</b>	<b>9,3</b>	<b>19,74</b>	-	-



4	8.938	Eucalyptol	3,6	7,69	0,8	17,68
5	9.165	1-Methyl-1-cyclopentene	-	-	0,2	4,26
6	9.688	3-methyl-2-cyclohexen-1-one (Seudenone)	-	-	0,1	1,73
7	10.311	cis-2-Norbornanol	-	-	1,7	36,84
8	10.929	cis-Linalool oxide (Furanoid)	-	-	0,8	17,04
9	11.428	Linalool	-	-	0,7	15,95
10	11.508	6-Methyl-3,5-heptadiene-2-one	-	-	1,3	28,26
11	11.875	Phenylethyl alcohol	-	-	0,1	2,59
12	12.302	trans-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	-	-	0,9	19,50
13	12.787	2-(1-methylethylidene)-cyclohexanone	-	-	ίχνος	1,44
14	12.893	cis-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	-	-	1,0	22,30
15	13.290	cis-Verbenol	-	-	0,2	4,15
16	13.381	trans-Chrysanthemal	0,5	1,00	0,2	3,84
17	13.740	Sabina cetone	-	-	0,3	7,13
18	14.280	Borneol	0,7	1,55	1,8	39,62
19	14.523	cis-Pinocamphone	-	-	0,3	6,77
20	14.740	Terpinen-4-ol	-	-	1,5	32,55
21	15.030	trans-p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	-	-	0,4	8,75
22	15.341	<b>a-Terpineol</b>	1,5	3,25	<b>8,3</b>	183,11
23	15.564	trans-Isopiperitenol	-	-	0,7	16,23
24	15.845	trans-Carveol	-	-	0,5	10,13
25	16.085	5-Isopropenyl-2-methylcyclopent-1-enecarboxaldehyde	-	-	0,4	8,95
26	16.352	cis-Carveol	-	-	1,8	39,58
27	16.620	Nerol	-	-	1,2	27,34
28	16.781	cis-p-Mentha-1(7),8-dien-2-ol	-	-	0,5	10,54
29	17.163	<b>Neral</b>	<b>23,6</b>	49,81	<b>27,1</b>	594,55
30	17.402	Carvone	-	-	0,8	18,03
31	17.733	Geraniol	-	-	0,9	19,20
32	17.814	Piperitone	-	-	0,9	19,02
33	18.435	<b>Geranial</b>	<b>31,3</b>	66,09	<b>31,0</b>	680,13
34	18.896	Tetramethylfuran	-	-	0,2	4,35
35	19.432	Thymol	-	-	0,5	10,82
36	19.771	Carvacrol	0,3	0,71	0,4	7,80
37	20.187	p-Vinylguaiacol	-	-	0,4	7,87
38	21.027	p-Mentha-1,4-dien-7-ol	-	-	0,1	2,37
39	21.379	Piperitenone	-	-	0,2	4,83
40	21.684	Limonene-1,2-diol	-	-	0,2	4,02
41	21.972	Eugenol	-	-	0,4	8,97
42	23.038	a-Copaene	0,6	1,29	-	-
43	23.167	Geranyl acetate (E)	0,9	1,79	-	-
44	23.361	b-Bourbonene	0,7	1,42	-	-
45	23.707	cis-Jasmone	-	-	0,3	6,02
46	24.019	Methyleugenol	-	-	0,2	4,26
47	24.738	Car-3-en-5-one	-	-	0,4	8,50
48	24.822	b-Caryophyllene	2,2	4,71	-	-

49	26.456	Alloaromadendrene	0,6	1,36	-	-
50	27.342	<b>a-Curcumene</b>	<b>6,6</b>	<b>13,86</b>	-	-
51	27.901	γ-Amorhene	0,5	1,04	-	-
52	28.680	a-Cadinene	0,3	0,69	-	-
53	30.511	Nerolidol (E)	0,6	1,25	-	-
54	31.025	Spathulenol	3,4	7,22	0,8	18,72
55	31.213	<b>Caryophyllene oxide</b>	<b>9,6</b>	<b>20,26</b>	<b>0,8</b>	<b>18,22</b>
56	33.502	epi-a-Cadinol	0,9	1,91	-	-
57	33.863	cis-1H-Benzocyclohepten-7-ol, 2,3,4,4a,5,6,7,8-octahydro-1,1,4a,7-tetramethyl-	-	-	0,2	4,11
58	36.280	Aromadendrane-4,10-diol	-	-	0,2	4,39
<b>Συνολικό ποσοστό ουσιών</b>			<b>99,9</b>		<b>100,0</b>	
<b>Συνολικό ποσοστό ταυτοποίησης</b>			<b>98,7</b>		<b>94,0</b>	

α: αριθμός ταυτοποιημένων ουσιών από τα χρωματογραφήματα των εικόνων 3.22. και 3.25.

β: Rt (Retention time): χρόνος έκλουσης των ταυτοποιημένων ουσιών.

γ: συστατικά που ταυτοποιήθηκαν συγκρίνοντας τους χρόνους έκλουσης και τα φάσματα μαζών με τα αντίστοιχα δεδομένα των ηλεκτρονικών βιβλιοθηκών Adams07 και NIST.

δ: εκατοστιαία περιεκτικότητα της εκάστοτε ουσίας επί της ολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου και του υδρολύματος του *A. citrodora*.

ε: συγκέντρωση της εκάστοτε ουσίας που υπάρχει στο έλαιο και στο υδρόλυμα, εκφρασμένη σε πρότυπη ουσία Cyclohexanone.

### 3.4. Εντομοκτόνος και Ακαρεοκτόνος Δράση των Αιθερίων Ελαίων

#### 3.4.1. Επίδραση σε ωά του *Tuta absoluta*

Ο μέσος όρος εκκόλαψης των ωών για το *T. absoluta* παρατηρήθηκε ότι είναι 4 ημέρες. Όσες επεμβάσεις εμφάνιζαν κάποια τοξική δράση είχαν ως αποτέλεσμα την αφυδάτωση των ωών. Τα συμπτώματα ξεκινούσαν κυρίως μετά την 3<sup>η</sup> ημέρα όπου παρουσιαζόταν μία εικόνα αφυδάτωσης των ωών ενώ μέχρι την 7<sup>η</sup> ημέρα που ήταν και η τελευταία ημέρα της μέτρησης, η εικόνα ήταν πιο ξεκάθαρη. Τα ωά είχαν πάρει μία απόχρωση σκούρου καστανού χρώματος εξαιτίας της νεκρής αφυδατωμένης προνύμφης που διακρινόταν στο εσωτερικό τους (Εικ. 3.26.). Επιπλέον ορισμένες προνύμφες παρόλο που ήταν νεκρές είχαν προλάβει να εξέλθουν ελάχιστα από το ωό όπως στην Εικόνα 3.27., με την κεφαλή εκτός ωού και το αφυδατωμένο σώμα εντός. Ο αριθμός των ωών με αυτά τα χαρακτηριστικά προσμετρήθηκε στον αριθμό των μη εκκολαπτόμενων ωών καθώς φάνηκε ότι δεν ολοκληρώθηκε η εκκόλαψη.



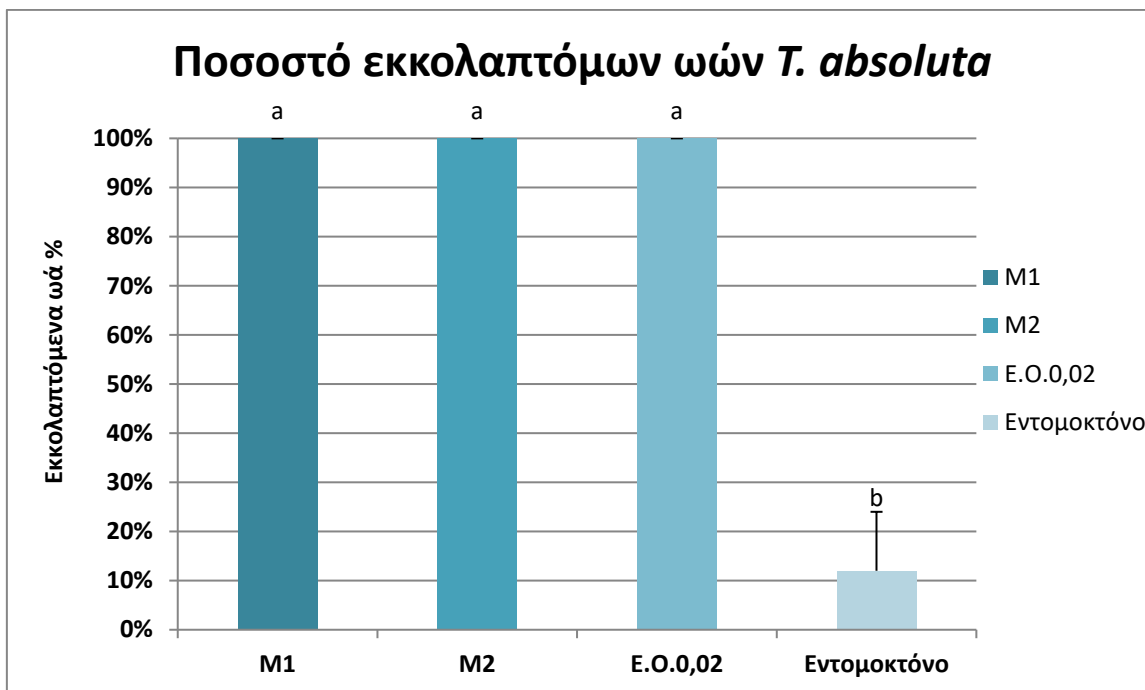
**Εικόνα 3.26.** Αφυδατωμένο, μη εκκολαπτόμενο ωο από *T. absoluta*



**Εικόνα 3.27.** Νεκρή προνύμφη που δεν έχει προλάβει να εκκολαφθεί πλήρως

#### **3.4.1.1. Επίδραση αιθερίου ελαίου *M. piperita* σε ωά *T. absoluta***

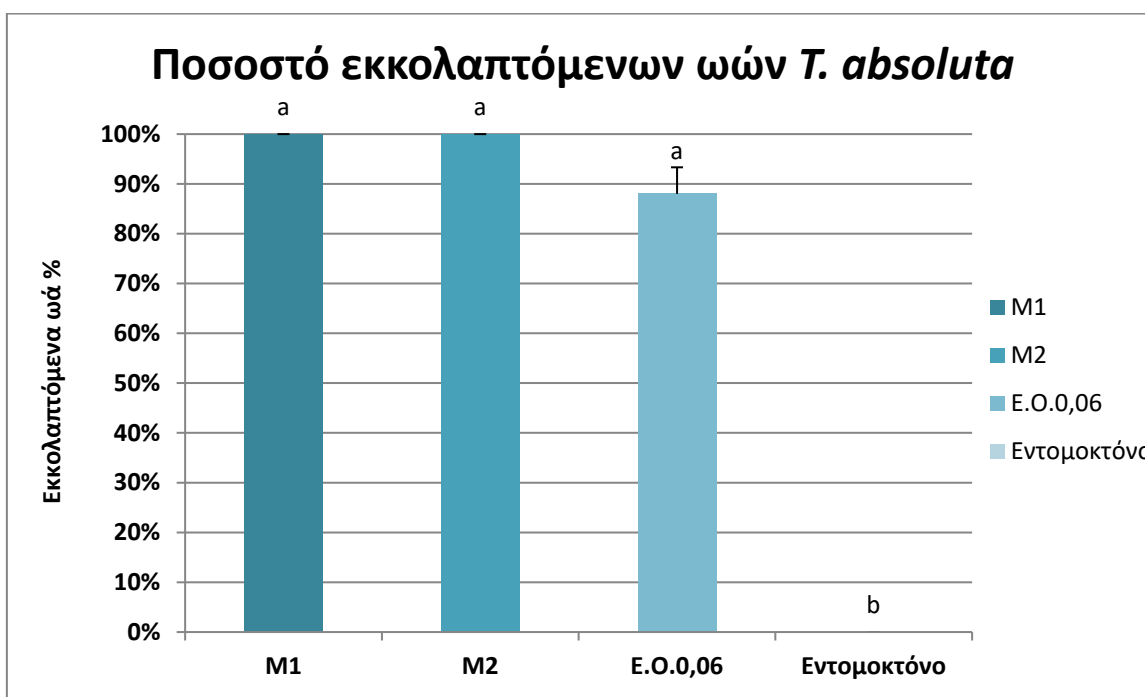
Αρχικά έγινε η επέμβαση του αιθερίου ελαίου της μέντας στη μικρότερη συγκέντρωση των 0,02% v/v με DMSO ως γαλακτωματοποιητή περιεκτικότητας 0,1% v/v. Όπως φαίνεται και στο Ιστόγραμμα 3.1. το έλαιο σε αυτήν τη συγκέντρωση δεν επηρέασε την εκκόλαψη των ωών του εντόμου καθώς το ποσοστό είναι ίδιο (100%) με τους 2 θετικούς μάρτυρες, το απιονισμένο νερό και τον γαλακτωματοποιητή. Στα ωά που είχαν εμβυπτιστεί σε διάλυμα Laser το ποσοστό εκκόλαψης άγγιξε το 12%. Παρ' όλα αυτά οι προνύμφες που επέζησαν από την επέμβαση με το εντομοκτόνο παρουσίασαν νωχελικότητα ως προς το βάδισμα και τη διατροφή τους.



**Ιστόγραμμα 3.1.** Συνολικό ποσοστό εκκόλαψης ωών του *T. absoluta* από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,02% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

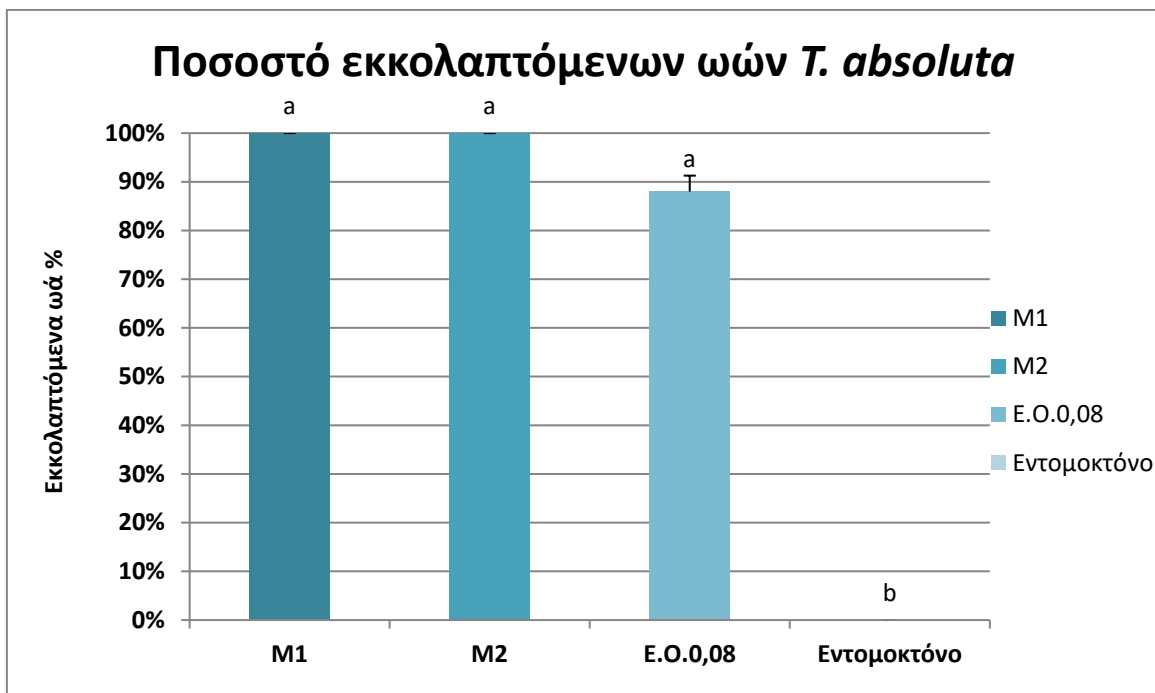
Στη δεύτερη επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας με την συγκέντρωση να είναι στο 0,06% και την περιεκτικότητα του γαλακτωματοποιητή στο 0,1%, παρατηρήθηκε μία πτώση του ποσοστού εκκόλαψης των ωών (Ιστόγραμμα 3.2.). Συγκεκριμένα το έλαιο μέντας σε αυτή την συγκέντρωση επέφερε θνησιμότητα ωών σε ποσοστό 12%, δηλαδή εκκολάφθηκε μόνο το 88%. Οι μάρτυρες με το απιονισμένο νερό και τον

γαλακτωματοποιητή απουσίας αιθερίου ελαίου έφτασαν σε ποσοστό εκκόλαψης 100%, δίνοντας την ίδια εικόνα με την προηγούμενη επέμβαση. Όλα τα ωά μπόρεσαν να εκκολαφθούν και να επιβιώσουν οι προνύμφες. Η εμφάνιση των ωών σε εντομοκτόνο οδήγησε σε μηδενικό ποσοστό εκκόλαψης προνυμφών. Οι επεμβάσεις δεν διέφεραν μεταξύ του αιθερίου ελαίου και των θετικών μαρτύρων, αλλά υπήρχε διαφορά στην μεταχείριση με το εντομοκτόνο.



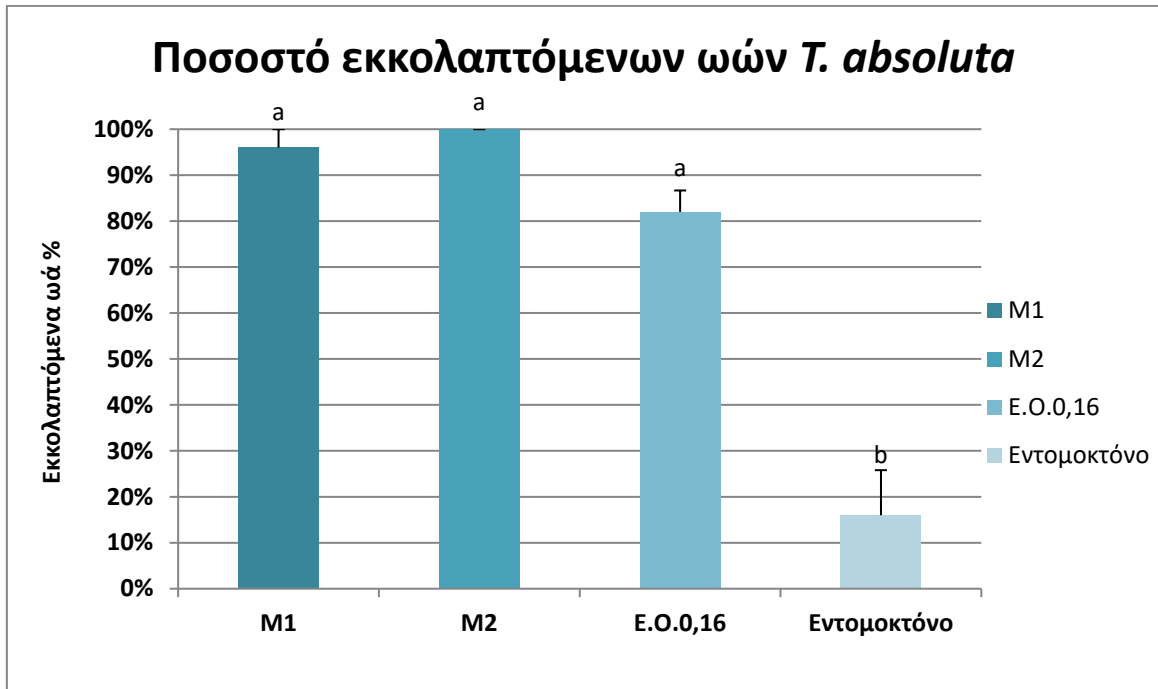
**Ιστόγραμμα 3.2.** Συνολικό ποσοστό εκκόλαψης ωών του *T. absoluta* από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,06% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Ίδια ακριβώς αποτελέσματα παρατηρούνται και στην 3<sup>η</sup> επέμβαση κατά την οποία το αιθέριο έλαιο εξετάσθηκε στη συγκέντρωση των 0,08% v/v. Στο Ιστόγραμμα 3.3. παρατηρείται ότι το ποσοστό εκκόλαψης των ωών του εντόμου ύστερα από εμφάνιση τους στο διάλυμα του αιθερίου ελαίου μέντας ήταν 88%, ενώ τα διαλύματα νερού και DMSO είχαν 100% εκκόλαψη. Το εντομοκτόνο που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας έδειξε μηδενικό ποσοστό εκκόλαψης.



**Ιστόγραμμα 3.3.** Συνολικό ποσοστό εκκόλαψης ωών του *T. absoluta* από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,08% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

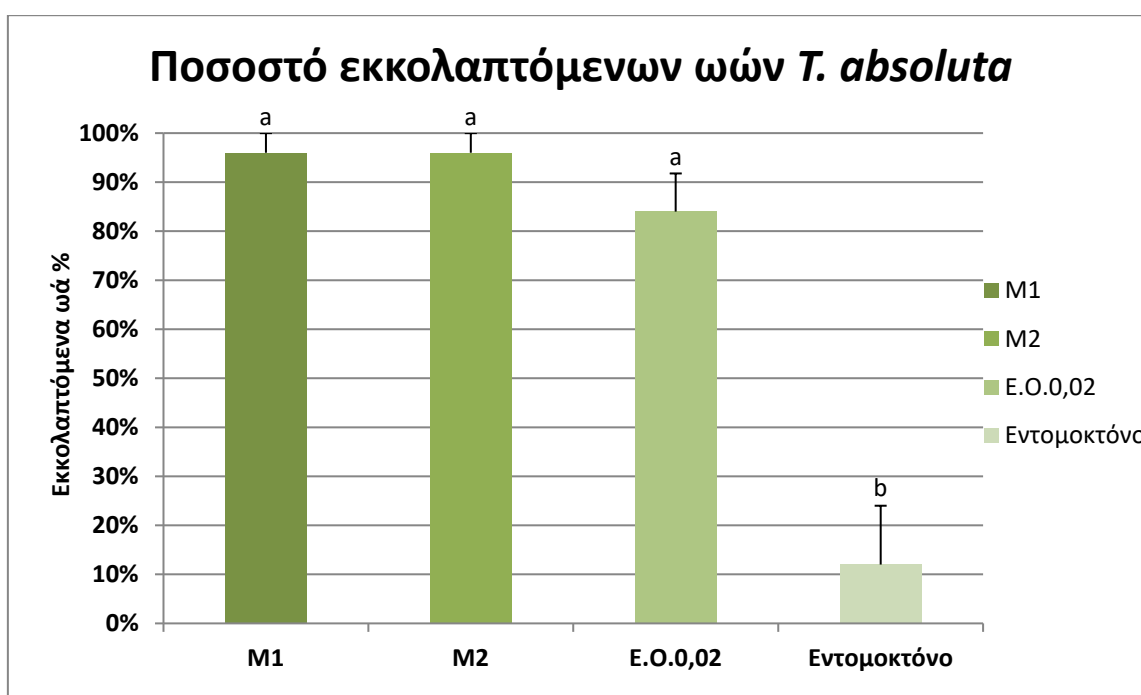
Στην τελευταία επέμβαση με την μεγαλύτερη συγκέντρωση του αιθερίου ελαίου μέντας το ποσοστό εκκόλαψης των ωών μειώθηκε στο 82% (Ιστόγραμμα 3.4.) χωρίς όμως να έχει σημαντική διαφορά με τις προηγούμενες επεμβάσεις των μικρότερων συγκεντρώσεων ( $F=1,39$ ;  $df=104$ ;  $P>0,05$ ). Τα ποσοστά εκκόλαψης των μαρτύρων ήταν 96% και 100% για το απιονισμένο νερό και για τον γαλακτωματοποιητή, αντίστοιχα. Από τα ωά που είχαν εμβαπτιστεί σε εντομοκτόνο μπόρεσαν να εκκολαφθούν μόνο 4, ποσοστό που ανέρχεται στο 16%. Από τη στατιστική ανάλυση φαίνεται ότι οι επεμβάσεις διέφεραν στατιστικώς σημαντικά με τον μάρτυρα - εντομοκτόνο ( $F=312,29$ ;  $df=104$ ;  $P<0,05$ ).



**Ιστόγραμμα 3.4.** Συνολικό ποσοστό εκκόλαψης ωών του *T. absoluta* από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,16% (ν/ν). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

### 3.4.1.2. Επίδραση αιθερίου ελαίου *O. vulgare* σε ωά *T. absoluta*

Τα αποτελέσματα από την πειραματική διαδικασία επαφής του αιθερίου ελαίου ρίγανης με τα ωά του *T. absoluta* εμφανίζονται στα παρακάτω Ιστογράμματα 3.5., 3.6., 3.7., 3.8. Εμβαπτίζοντας αυγά *T. absoluta* σε αιθέριο έλαιο ρίγανης με συγκέντρωση 0,02% το ποσοστό εκκόλαψης ανέρχεται σε 84%. Αυτό σημαίνει ότι μόνο τα 8 στα 50 αυγά δεν μπόρεσαν να εκκολαφθούν επιτυχώς. Οι μεταχειρίσεις των μαρτύρων του απιονισμένου νερού και του DMSO είχαν ποσοστό εκκόλαψης 96% και 100%, αντιστοίχως, ενώ το εντομοκτόνο είχε πολύ χαμηλό ποσοστό (16%).

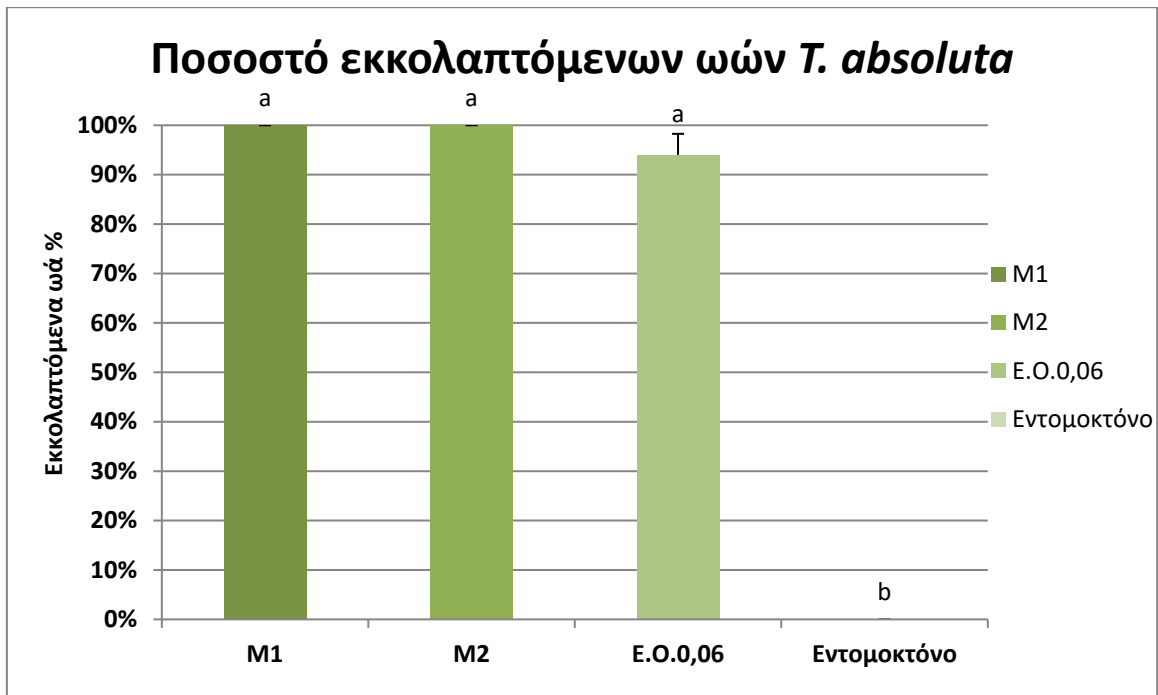


**Ιστόγραμμα 3.5.** Συνολικό ποσοστό εκκόλαψης ωών του *T. absoluta* από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,02% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Το Ιστόγραμμα 3.6. αναπαριστά τα αποτελέσματα της επέμβασης του αιθερίου ελαίου ρίγανης με συγκέντρωση 0,06% v/v. Το διάλυμα του γαλακτωματοποιητή με το

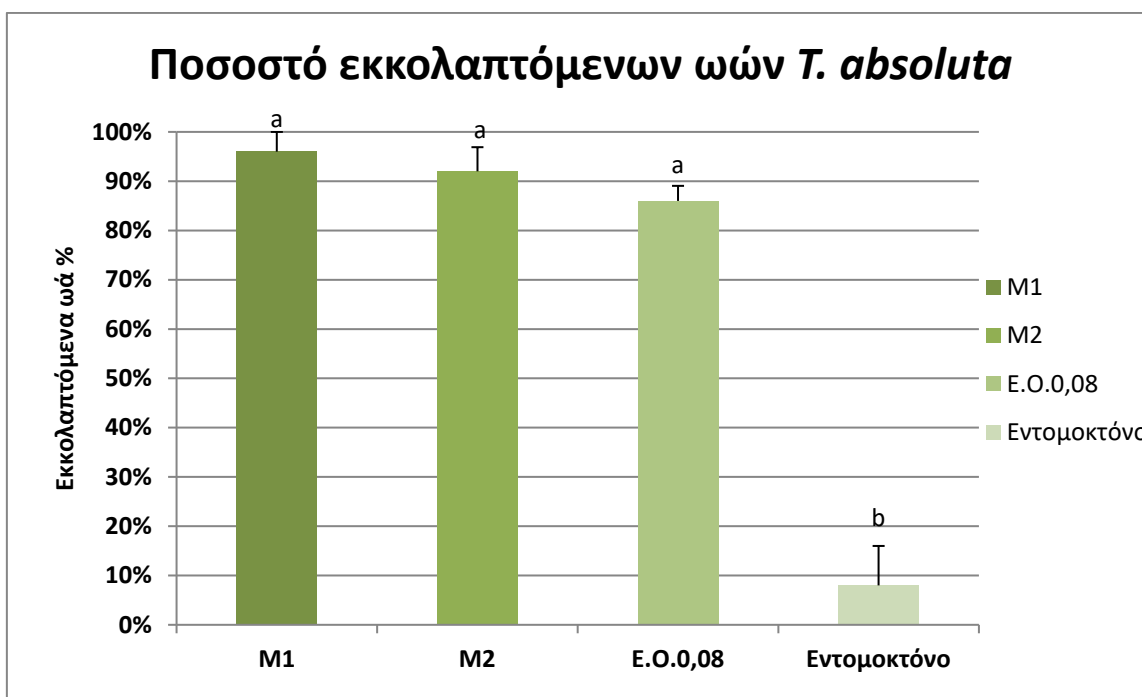


απιονισμένο νερό και σκέτο το απιονισμένο νερό όταν εφαρμόστηκε δεν επηρέασε την εκκολαψιμότητα των ωών δίνοντας το ακέραιο ποσοστό του 100%. Λίγο πιο χαμηλά αλλά με ασήμαντη διαφορά ήταν το ποσοστό εκκόλαψης των ωών στην μεταχείριση με το διάλυμα του αιθερίου ελαίου (94%). Αντιθέτως, τα ωά που είχαν εμβαπτιστεί με εντομοκτόνο σκεύασμα Laser είχαν πολύ χαμηλό ποσοστό εκκόλαψης (12%), όπως ήταν αναμενόμενο.



**Ιστόγραμμα 3.6.** Συνολικό ποσοστό εκκόλαψης ωών του *T. absoluta* από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,06% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

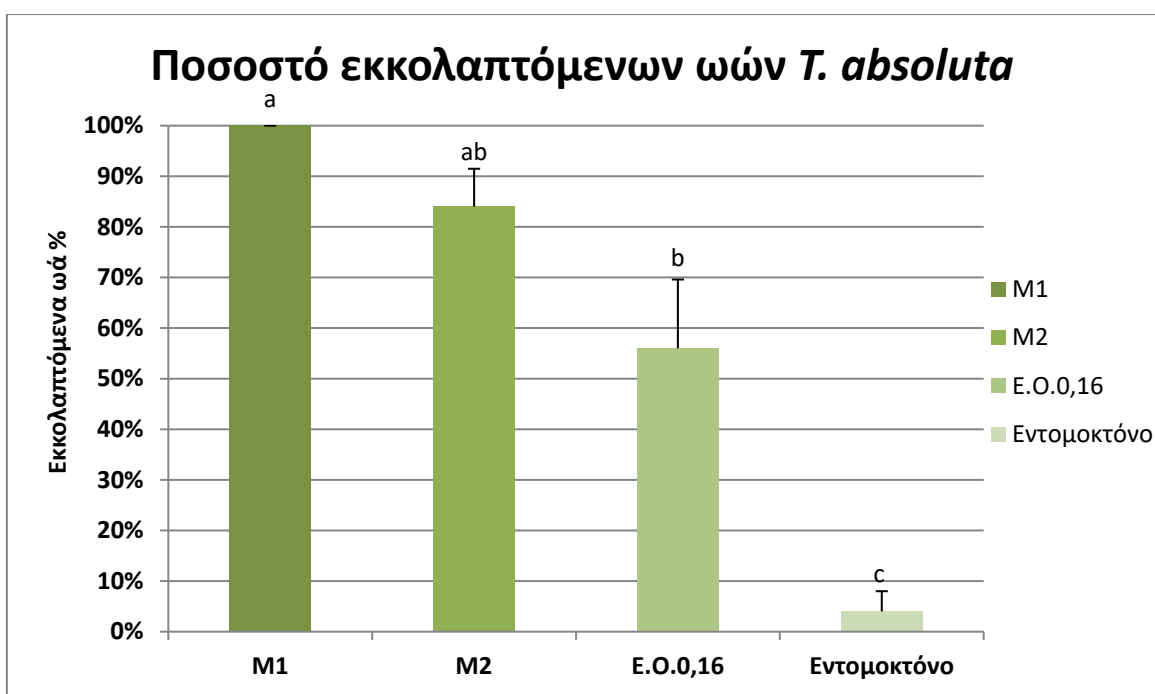
Το γαλάκτωμα του αιθερίου ελαίου ρίγανης με συγκέντρωση 0,08% επέφερε συνολικό ποσοστό εκκόλαψης 86% και ο μάρτυρας γαλακτώματος που στερούνταν αιθερίου ελαίου 92% αντίστοιχα (Ιστόγραμμα 3.7.). Η εμφάνιση ωών σε απιονισμένο νερό δεν επηρέασε την εκκόλαψή τους με αποτέλεσμα το ποσοστό να φτάσει στο 96%, ενώ το εντομοκτόνο διάλυμα επέφερε θνησιμότητα ωών 99,2%.



**Ιστόγραμμα 3.7.** Συνολικό ποσοστό εκκόλαψης ωών του *T. absoluta* από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,08% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Όπως φαίνεται στο Ιστόγραμμα 3.8., στην υψηλότερη συγκέντρωση αιθερίου ελαίου ρίγανης (0,16%) που χρησιμοποιήθηκε, έγινε αισθητή η μείωση του ποσοστού εκκόλαψης όπου ελαττώθηκε σχεδόν κατά το ήμισυ. Χαρακτηριστικά, η μη εκκόλαψη ωών που προήλθε από το έλαιο της ρίγανης άγγιξε το 44%, δείχνοντας ότι έχει κάποια

τοξική δράση έναντι των ωών του εντόμου. Από την άλλη, το διάλυμα του γαλακτωματοποιητή μείωσε το ποσοστό εκκόλαψης στο 84%, ενώ στα δείγματα του μάρτυρα με σκέτο απιονισμένο νερό εκκόλαφθηκαν όλα τα ωά (100%). Το εντομοκτόνο ως αρνητικός μάρτυρας επέφερε μικρό ποσοστό εκκόλαψης της τάξης του 4%. Οι επεμβάσεις διέφεραν μεταξύ τους. Στατιστικώς σημαντική διαφορά παρατηρήθηκε με το γαλάκτωμα αιθερίου ελαίου ρίγανης σε σχέση με τους μάρτυρες, καθώς και το σκεύασμα του εντομοκτόνου που διέφερε από τις υπόλοιπες επεμβάσεις ( $F=99,22$ ;  $df=99$ ;  $P<0,0001$ ). Επίσης μεταξύ των συγκεντρώσεων δεν υπήρξε κάποια διαφορά ( $F=1,92$ ;  $df=99$ ;  $P>0,05$ ).



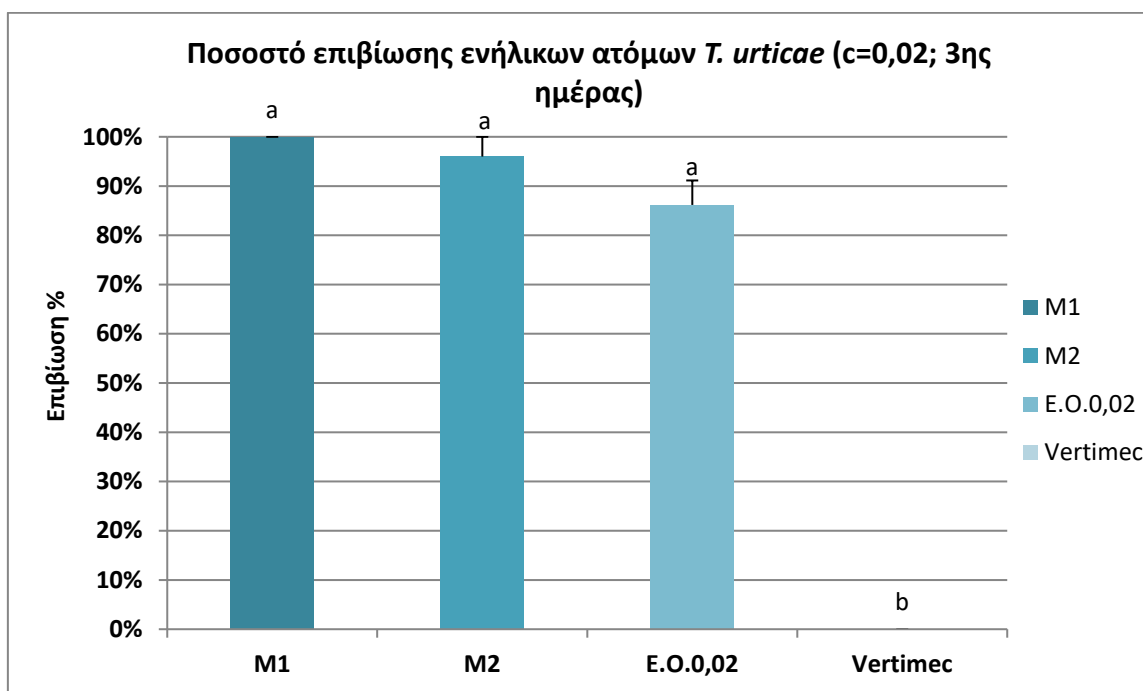
**Ιστόγραμμα 3.8.** Συνολικό ποσοστό εκκόλαψης ωών του *T. absoluta* από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,016% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

### 3.4.2. Επίδραση σε ενήλικα θηλυκά *Tetranychus urticae*

#### 3.4.2.1. Επίδραση αιθερίου ελαίου *M. ripperita* σε ενήλικα θηλυκά *T. urticae*

Σύμφωνα με την στατιστική ανάλυση, κατά την τρίτη ημέρα πραγματοποιήθηκε μέτρηση και τα αποτελέσματά της έδειξαν ότι δεν υπήρχε σημαντική διαφορά ανάμεσα στις συγκεντρώσεις, παρά μόνο μεταξύ των επεμβάσεων ( $F=325,44$ ;  $df=104$ ;  $P<0,0001$ ). Επιπλέον η ανάλυση δεδομένων αλληλεπίδρασης δεν έδειξε κάποια διαφορά ( $F=0,54$ ;  $df=104$ ;  $P>0,05$ ).

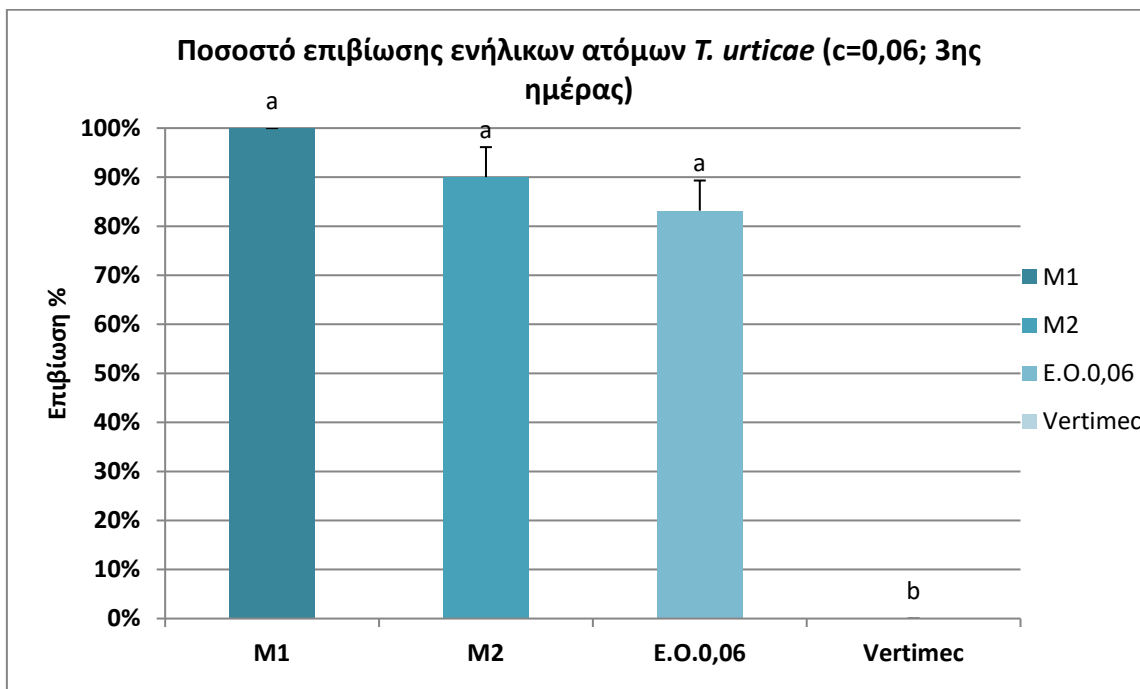
Πιο αναλυτικά, σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.9. φαίνεται ότι η επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας με συγκέντρωση 0,02% δεν επηρέασε καθόλου την επιβίωση των ατόμων καθώς το ποσοστό ήταν 86%, λίγο χαμηλότερο από το ποσοστό επιβίωσης του μάρτυρα με απιονισμένο νερό (100%) και αυτού με γαλακτωματοποιητή απουσίας αιθερίου ελαίου (96%).



**Ιστόγραμμα 3.9.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 3<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,02% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

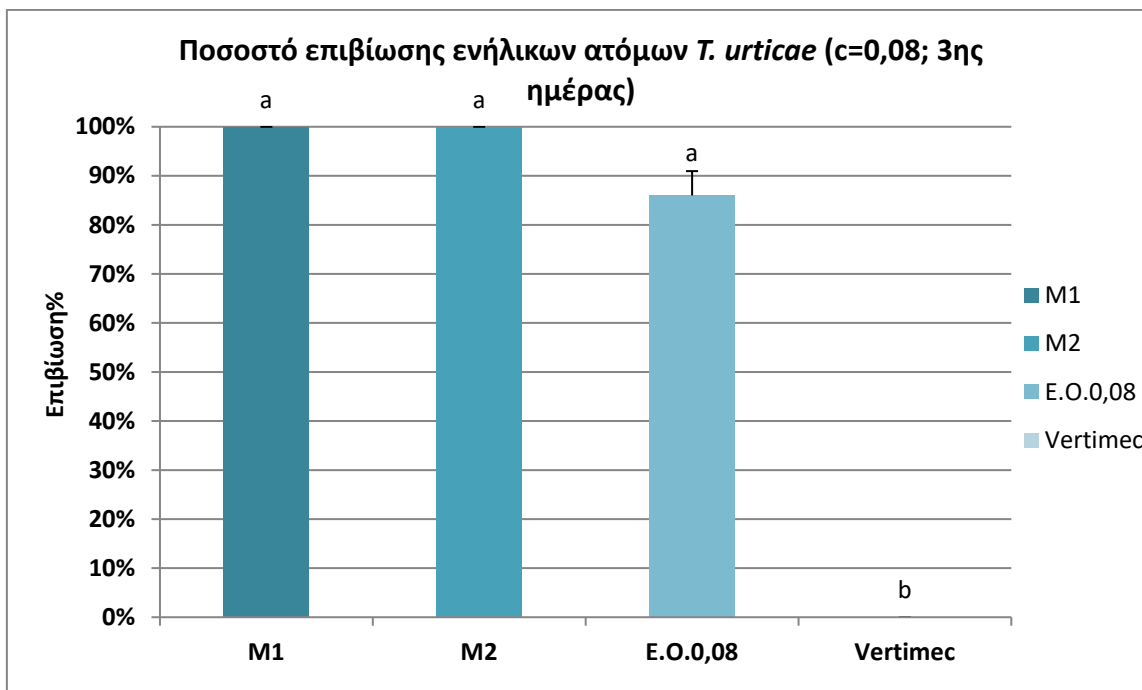
Στο Ιστόγραμμα 3.10. παρατηρήθηκε στη συγκέντρωση 0,06% του αιθερίου ελαίου ποσοστό επιβίωσης 83%, ενώ στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις ήταν στο 90% και 100%

για το DMSO και το νερό αντίστοιχα. Η διαφορά μεταξύ των τριών μεταχειρίσεων δεν ήταν σημαντική, παρά μόνο με το ακαρεοκτόνο.



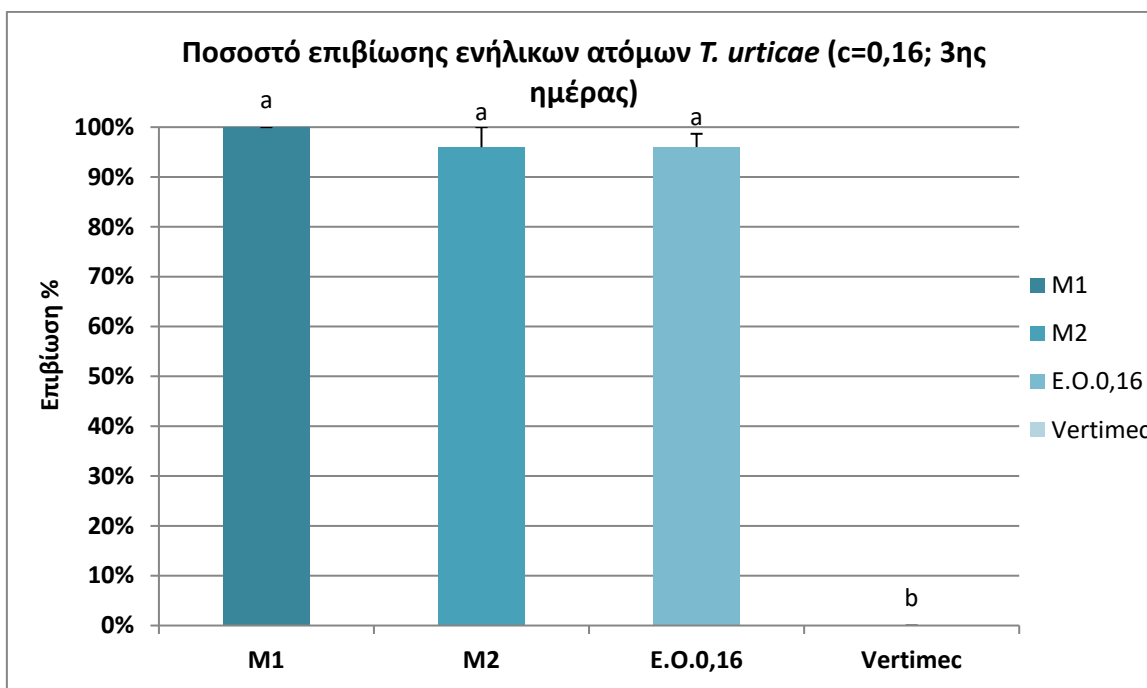
**Ιστόγραμμα 3.10.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 3<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,06% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Όπως και στις προηγούμενες συγκεντρώσεις τα ποσοστά επιβίωσης κατά την τρίτη ημέρα ήταν υψηλά σε όλες τις επεμβάσεις χωρίς να διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους. Πιο αναλυτικά και σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.11., το ποσοστό των μαρτύρων (απιονισμένο νερό και DMSO) ήταν στο 100% ενώ το ποσοστό του αιθερίου ελαίου ανερχόταν στο 86%. Το ποσοστό του ακαρεοκτόνου ήδη από την πρώτη ημέρα της επέμβασης ήταν στο 0%.



**Ιστόγραμμα 3.11.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 3<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,08% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

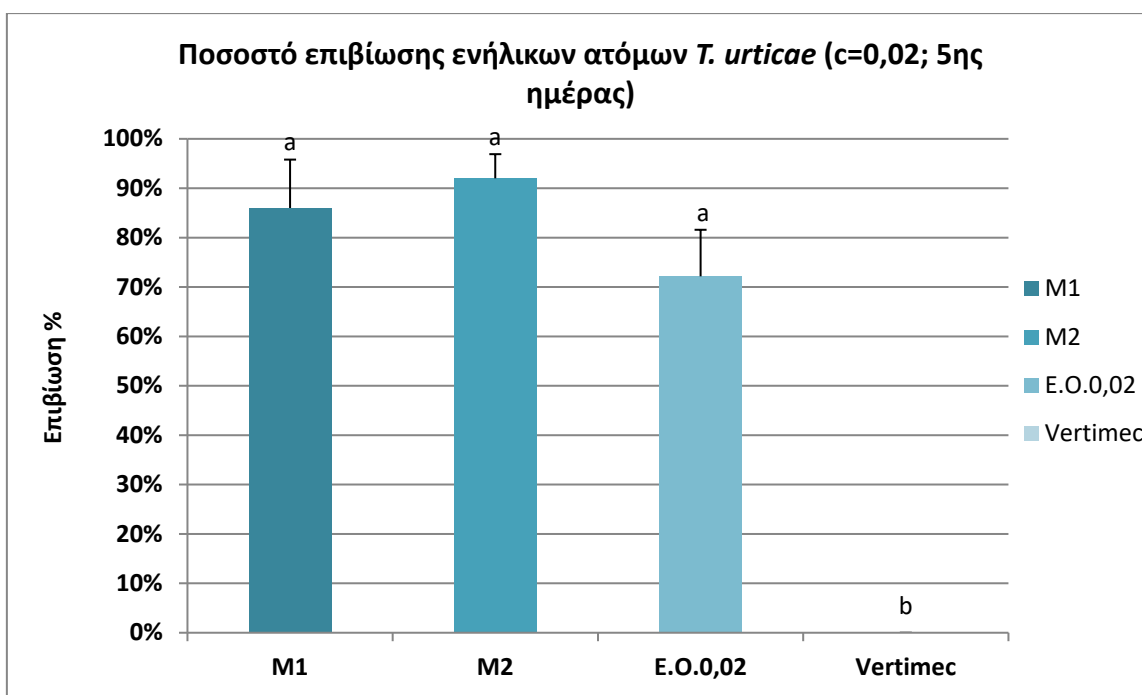
Σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.12. παρατηρήθηκε ότι τα ποσοστά τόσο των μαρτύρων (απιονισμένου νερού και γαλακτωματοποιητή) όσο και της υψηλότερης συγκέντρωσης του αιθερίου ελαίου μέντας που μελετήθηκε ήταν υψηλά. Συγκεκριμένα, για την συγκέντρωση 0,16% του αιθερίου ελαίου το ποσοστό επιβίωσης όπως και το ποσοστό του γαλακτωματοποιητή απουσία αιθερίου ελαίου ήταν 96%. Ενώ το ποσοστό του νερού ανερχόταν στο 100% χωρίς να διαφέρει στατιστικώς σημαντικά με τις άλλες δύο μεταχειρίσεις.



**Ιστόγραμμα 3.12.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 3<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,16% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Σε γενική εικόνα την πέμπτη ημέρα των μετρήσεων τα ποσοστά επιβίωσης του *T. urticae* μειώθηκαν περίπου 10% κατά μέσο όρο. Παρ' όλα αυτά η ανάλυση δεδομένων έδειξε ότι υπάρχει διαφορά ανάμεσα στις επεμβάσεις, καθώς το ακαρεοκτόνο και η τελευταία συγκέντρωση του αιθερίου ελαίου ρίγανης (0,16%) μείωσαν αρκετά το ποσοστό του πληθυσμού ( $F=90,83$ ;  $df=104$ ;  $P<0,0001$ ). Ωστόσο οι συγκεντρώσεις του αιθερίου ελαίου ρίγανης δεν είχαν διαφορά μεταξύ τους ( $F=0,74$ ;  $df=104$ ;  $P<0,05$ ).

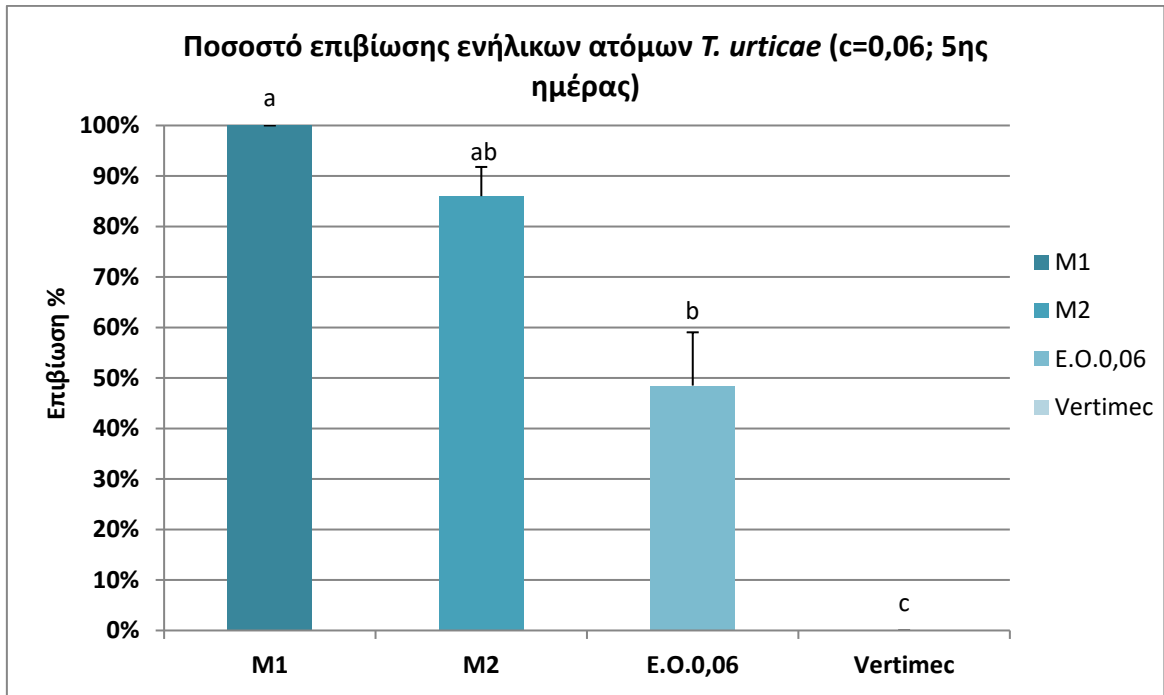
Στην συγκέντρωση 0,02% (v/v) το ποσοστό επιβίωσης των ατόμων του *T. urticae* στην επέμβαση του αιθερίου ελαίου έχει μειωθεί στο 72% ενώ ταυτόχρονα έχουν μειωθεί και τα ποσοστά στους θετικούς μάρτυρες, 86% για το νερό και 92% για τον γαλακτωματοποιητή. Επομένως τα ποσοστά των τριών επεμβάσεων εκτός του εντομοκτόνου δε διαφέρουν σημαντικά (Ιστόγραμμα 3.13.).



**Ιστόγραμμα 3.13.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 5<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,02% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

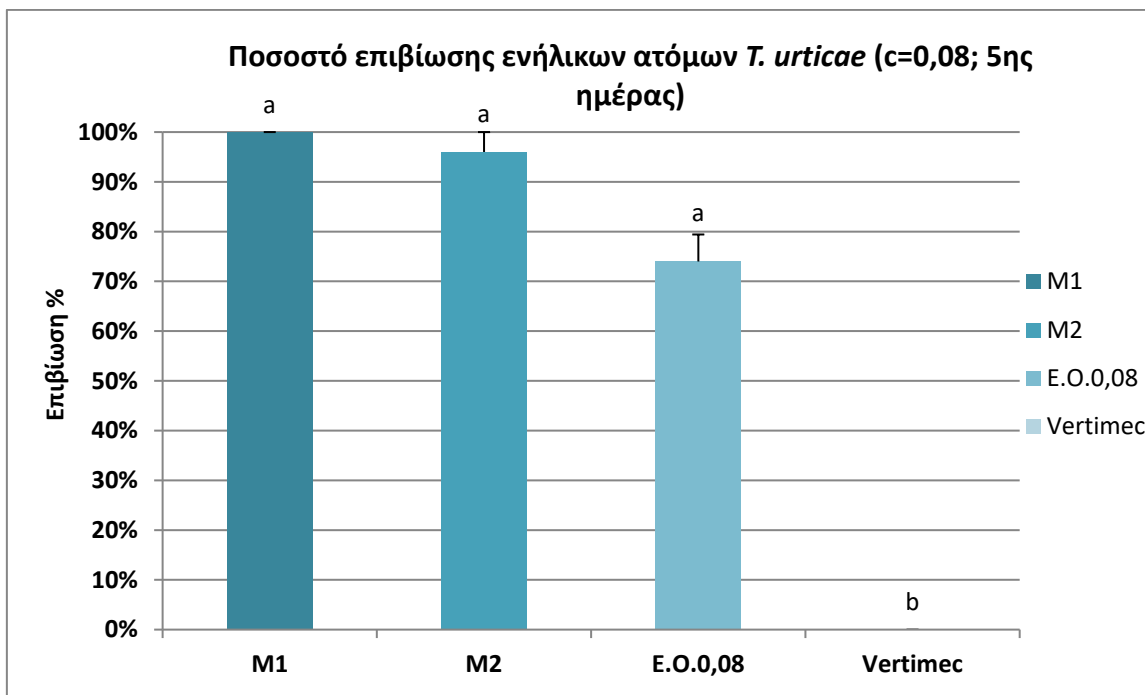
Το ποσοστό επιβίωσης των ατόμων στο αιθέριο έλαιο έπεσε κάτω από το 50%. Πιο συγκεκριμένα έφτασε στο 48,5%, ποσοστό που δείχνει ότι υπάρχει μία δράση. Η τιμή του μάρτυρα με νερό παρέμεινε στο 100% και δεν είχε διαφορά με τον μάρτυρα του DMSO (86%). Ωστόσο διαφορά δεν υπήρξε και μεταξύ του αιθερίου ελαίου και του γαλακτωματοποιητή απουσίας ελαίου (Ιστόγραμμα 3.14.).





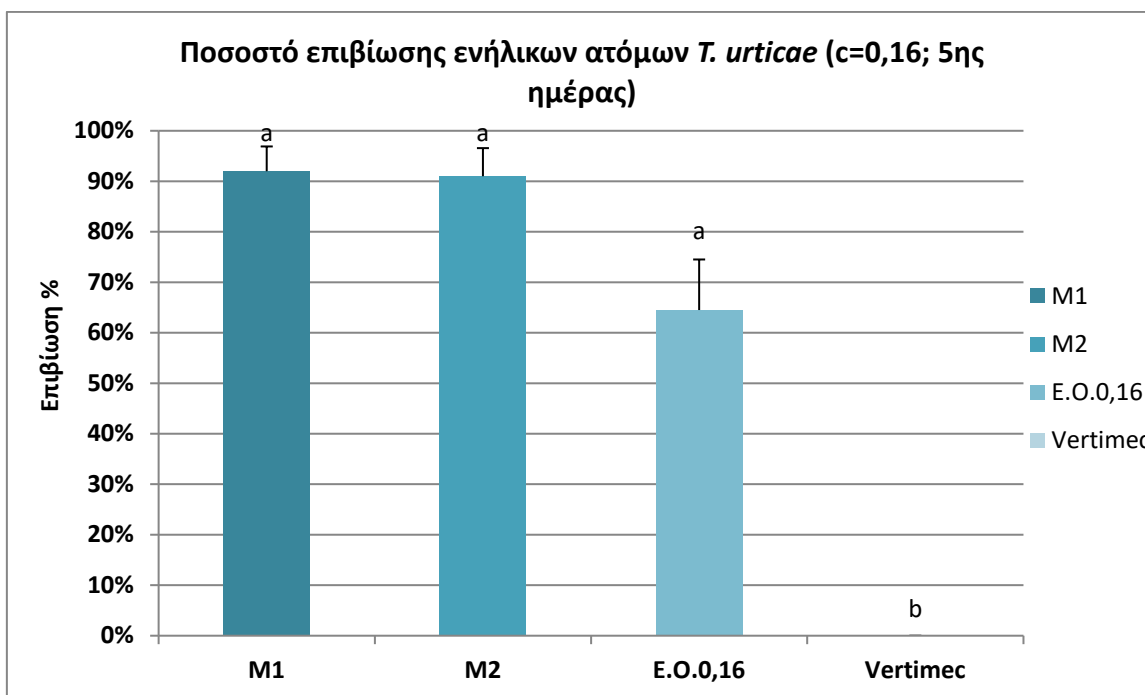
**Ιστόγραμμα 3.14.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 5<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,06% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Όπως φαίνεται στο παρακάτω Ιστόγραμμα (Ιστόγραμμα 3.15.) στην συγκέντρωση 0,08% αιθερίου ελαίου μειώθηκε το ποσοστό επιβίωσης των ατόμων *T. urticae* κατά 26% από την πρώτη ημέρα, χωρίς να διαφέρει σημαντικά από τα αποτελέσματα των μαρτύρων. Τα αποτελέσματα για το απιονισμένο νερό και τον γαλακτωματοποιητή απουσίας αιθερίου ελαίου ήταν σε υψηλά ποσοστά με 100% και 96% αντίστοιχα. Το ακαρεοκτόνο ήταν σε μηδενικό ποσοστό καθώς ήταν πολύ δραστικό.



**Ιστόγραμμα 3.15.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 5<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,08% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

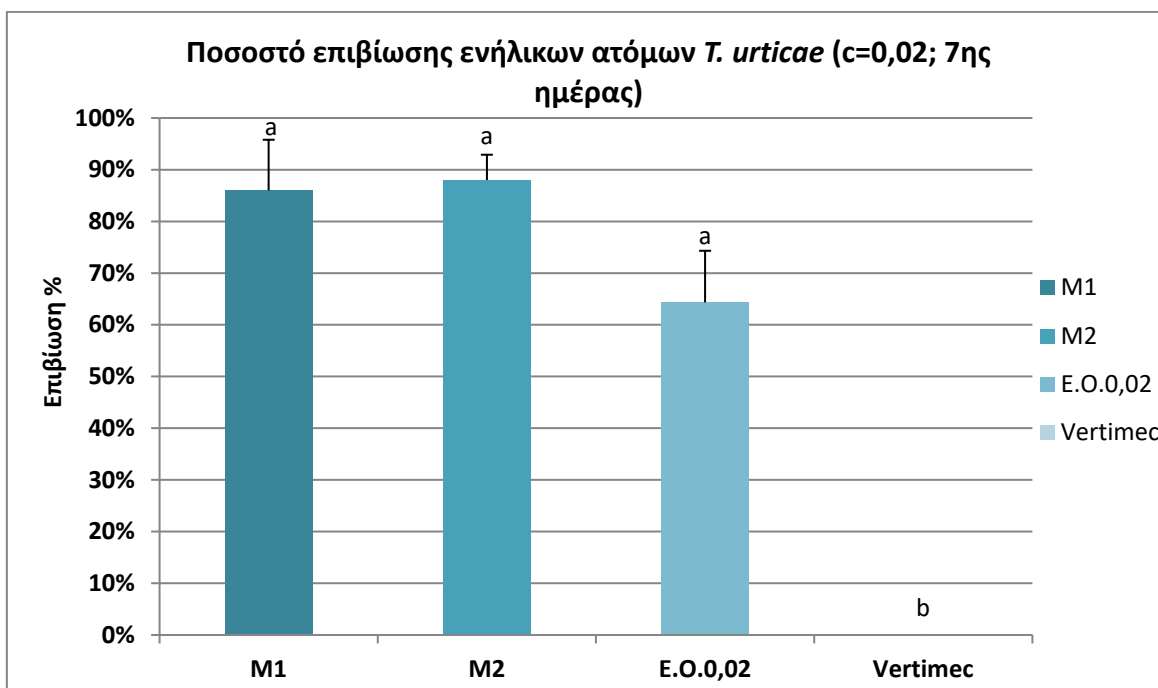
Στο Ιστόγραμμα 3.16. παρατηρείται μία μείωση του ποσοστού επιβίωσης και στις τρεις μεταχειρίσεις σε σχέση και με την τρίτη ημέρα της ίδιας συγκέντρωσης αλλά και μεταξύ της προηγούμενης συγκέντρωσης αιθερίου ελαίου (0,08) χωρίς όμως να διαφέρουν σημαντικά. Στην μεταχείριση με τον γαλακτωματοποιητή παρουσία αιθερίου ελαίου συγκέντρωσης 0,16% το ποσοστό επιβίωσης των ατόμων του ακάρεως ανέρχεται σε 64,5%, ενώ στον μάρτυρα1 με το απιονισμένο νερό είναι 92% και στον μάρτυρα2 με το DMSO είναι 91%.



**Ιστόγραμμα 3.16.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 5<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,16% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

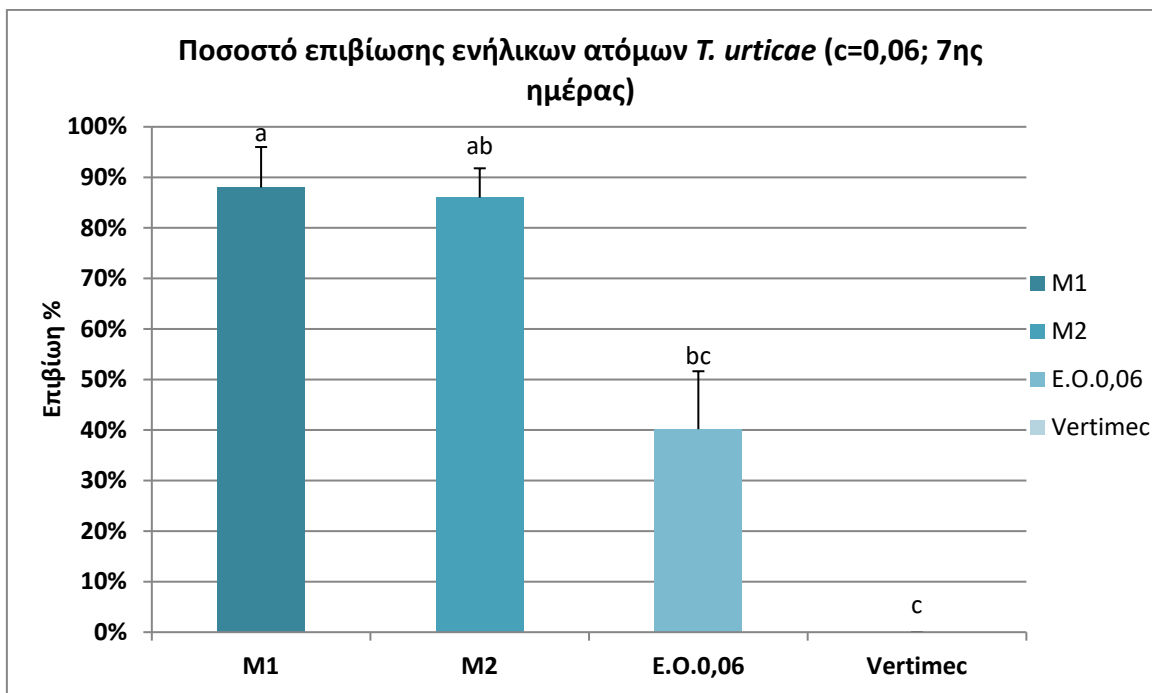
Η ανάλυση δεδομένων των μετρήσεων της τελευταίας μέρας έδειξε ότι οι επεμβάσεις διέφεραν μεταξύ τους στατιστικώς σημαντικά καθώς το ακαρεοκτόνο είχε μείωση του πληθυσμού 100% ( $F=58,07$ ;  $df=104$ ;  $P<0,0001$ ). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά μεταξύ των συγκεντρώσεων του αιθερίου ελαίου μέντας ( $F=0,39$ ;  $df=104$ ;  $P>0,05$ ) αλλά ούτε και στην αλληλεπίδραση των επεμβάσεων με τις συγκεντρώσεις ( $F=0,58$ ;  $df=104$ ;  $P>0,05$ ).

Σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.17. το ποσοστό επιβίωσης των ατόμων κατά την μεταχείριση του γαλακτωματοποιητή παρουσία αιθερίου ελαίου μειώθηκε στο 64,3% χωρίς όμως να παρουσιάζει στατιστικώς σημαντικές διαφορές με την επέμβαση του νερού που παρέμεινε στο ίδιο ποσοστό της τάξης του 86% και με την επέμβαση του σκέτου γαλακτωματοποιητή που είχε ποσοστό 88%. Το ακαρεοκτόνο είχε ποσοστό επιβίωσης 0%, όπου ήταν και το αναμενόμενο.



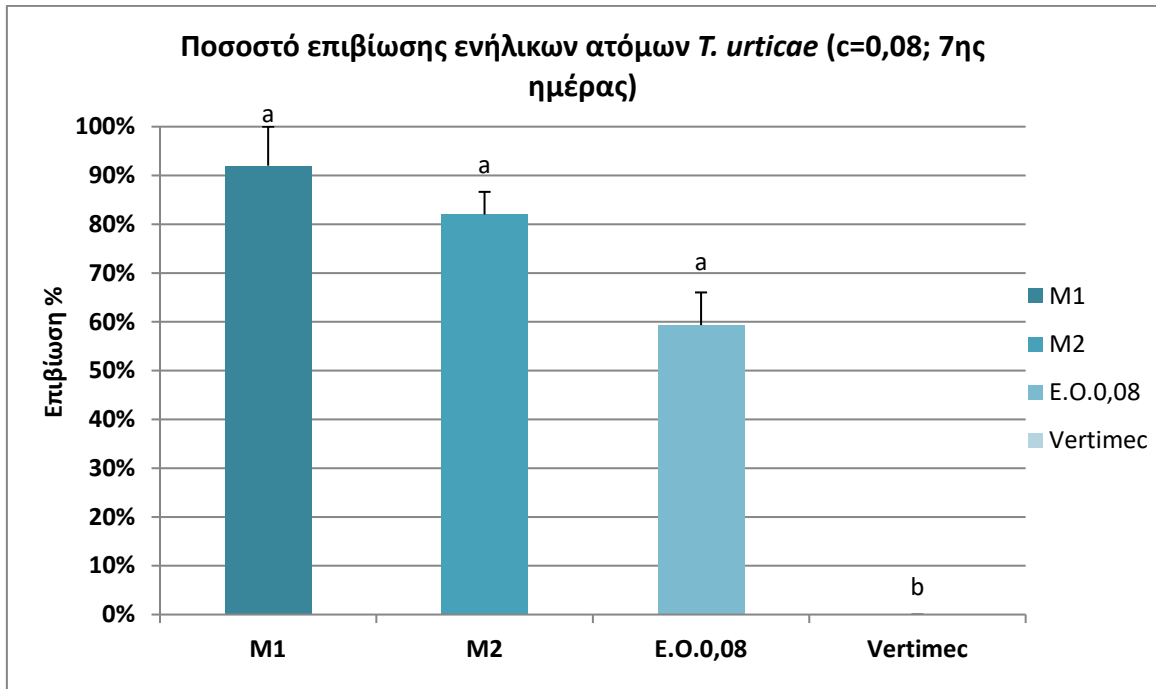
**Ιστόγραμμα 3.17.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 7<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,02% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Την τελευταία ημέρα της μέτρησης, όπως παρατηρείται στο Ιστόγραμμα 3.18. το ποσοστό επιβίωσης στην επέμβαση του αιθερίου ελαίου μειώθηκε κατά το ήμισυ της τρίτης ημέρας και έφτασε στο 40%. Αντίθετα το ποσοστό στην εφαρμογή του γαλακτωματοποιητή παρέμεινε το ίδιο (86%) ενώ το ποσοστό του θετικού μάρτυρα με απιονισμένο νερό έπεσε στο 88%. Το ποσοστό επιβίωσης του αιθερίου ελαίου δεν διέφερε σημαντικά από το ποσοστό του ακαρεοκτόνου που ήταν 0% αλλά ούτε και από το ποσοστό του DMSO.



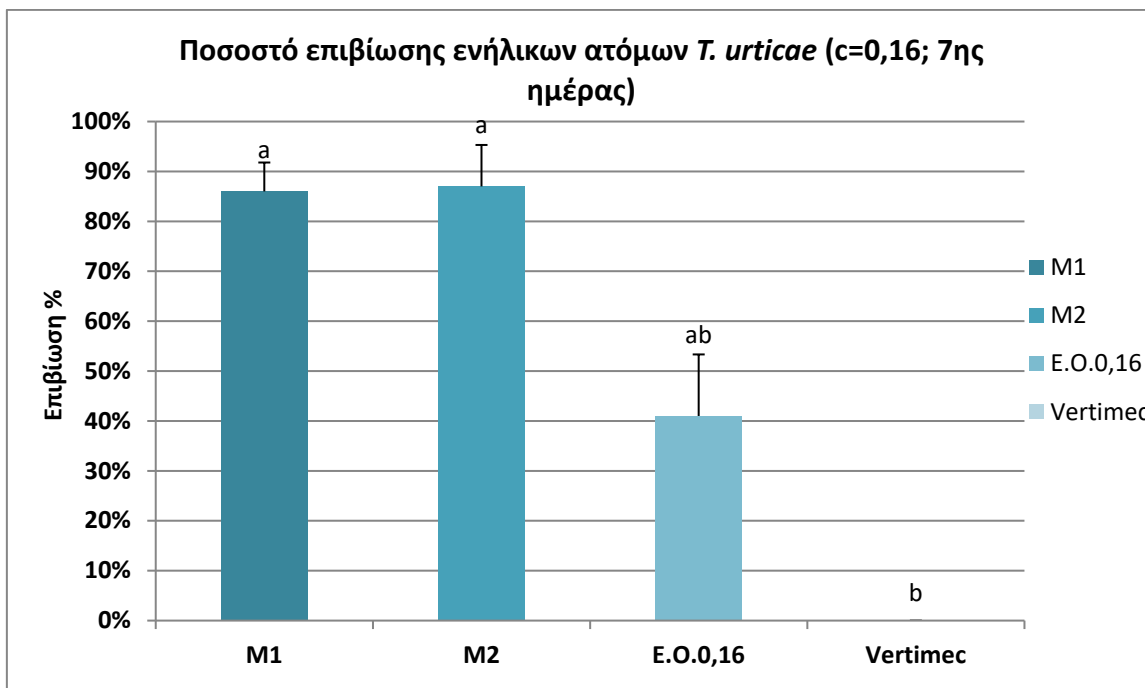
**Ιστογράμμα 3.18.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 7<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,06% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Την έβδομη ημέρα του πειράματος της συγκέντρωσης αιθερίου ελαίου(0,08%) το ποσοστό επιβίωσης μειώθηκε στο 59% (Ιστογράμμα 3.19.). Στον μάρτυρα του απιονισμένου νερού μειώθηκε ελάχιστα φτάνοντας στο 92% ενώ στον μάρτυρα με σκέτο γαλακτωματοποιητή έφτασε στο 82% χωρίς όμως να διαφέρει σημαντικά από αυτό του νερού. Επίσης παρατηρήθηκε ότι σε σχέση με τη συγκέντρωση 0,06 αιθερίου ελαίου αυτή ήταν λιγότερο δραστική.



**Ιστόγραμμα 3.19.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 7<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,08% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.20. στη μεγαλύτερη συγκέντρωση αιθερίου ελαίου υπήρξε μείωση του ποσοστού επιβίωσης στο 41%. Το ποσοστό επιβίωσης ατόμων στο απιονισμένο νερό ήταν 86% ενώ στον γαλακτωματοποιητή 87%. Το ακαρεοκτόνο λόγω της μεγάλης δραστηριότητάς του ήταν στο 0%. Το έλαιο δεν είχε σημαντική διαφορά μεταξύ των θετικών μαρτύρων αλλά ούτε και του ακαρεοκτόνου, ενώ το ακαρεοκτόνο διέφερε από τους άλλους δύο μάρτυρες.



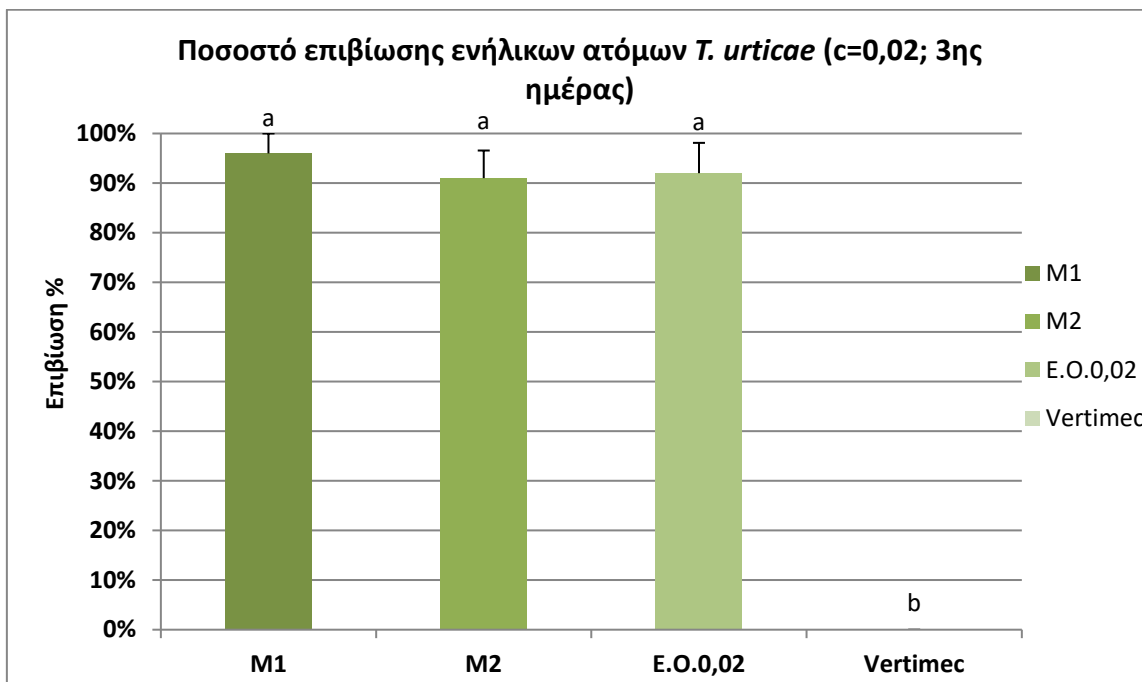
**Ιστόγραμμα 3.20.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 7<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου μέντας σε συγκέντρωση 0,16% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

### 3.4.2.2 Επίδραση αιθερίου ελαίου *O. vulgare* σε ενήλικα θηλυκά *T. urticae*

Το δεύτερο έλαιο που εξετάστηκε η επίδρασή του στα θηλυκά άτομα του τετράνυχου ήταν της ρίγανης. Μεταξύ των συγκεντρώσεων της τρίτης ημέρας δεν παρατηρήθηκε στατιστικώς σημαντική διαφορά ( $F=0,32$ ;  $df=99$ ;  $P>0,05$ ). Επίσης η αλληλεπίδραση των επεμβάσεων και των συγκεντρώσεων δεν έδειξε κάποια σημαντική επίδραση στα αποτελέσματα ( $F=1,59$ ;  $df=99$ ;  $P>0,05$ ). Παρά ταύτα οι διαφορετικές επεμβάσεις επηρέσαν τα αποτελέσματα θνησιμότητας της τρίτης ημέρας ( $F=116,93$ ;  $df=99$ ;  $P<0,0001$ ).

Σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.21. παρατηρήθηκε στη μικρότερη συγκέντρωση του 0,02% αιθερίου ελαίου ότι το ποσοστό επιβίωσης ήταν 92% ενώ το ποσοστό για το απιονισμένο νερό που έπαιξε τον ρόλο του μάρτυρα, ήταν 96% και για τον γαλακτωματοποιητή 91%. Ο αριθμός ατόμων που επιβίωσαν ήταν πολύ μεγάλος και

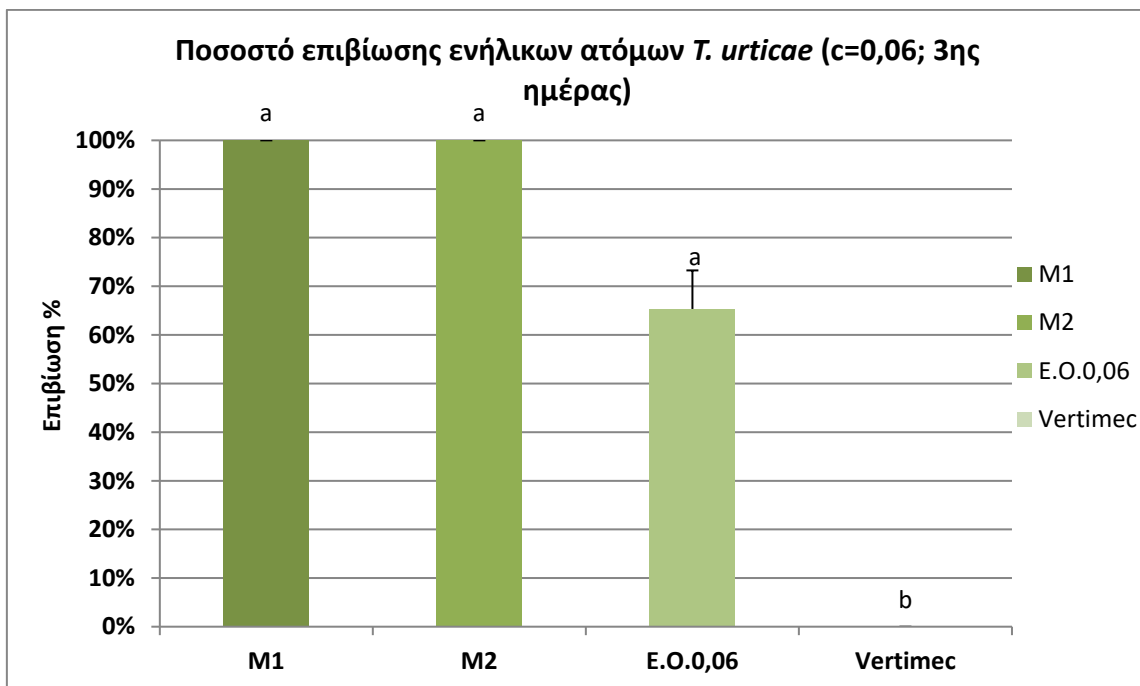
παρόμοιος για όλες τις μεταχειρίσεις, εκτός του ακαρεοκτόνου. Το ακαρεοκτόνο μείωσε το ποσοστό επιβίωσης του ακάρεως στο 0% ήδη από την πρώτη ημέρα.



**Ιστόγραμμα 3.21.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 3<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,02% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

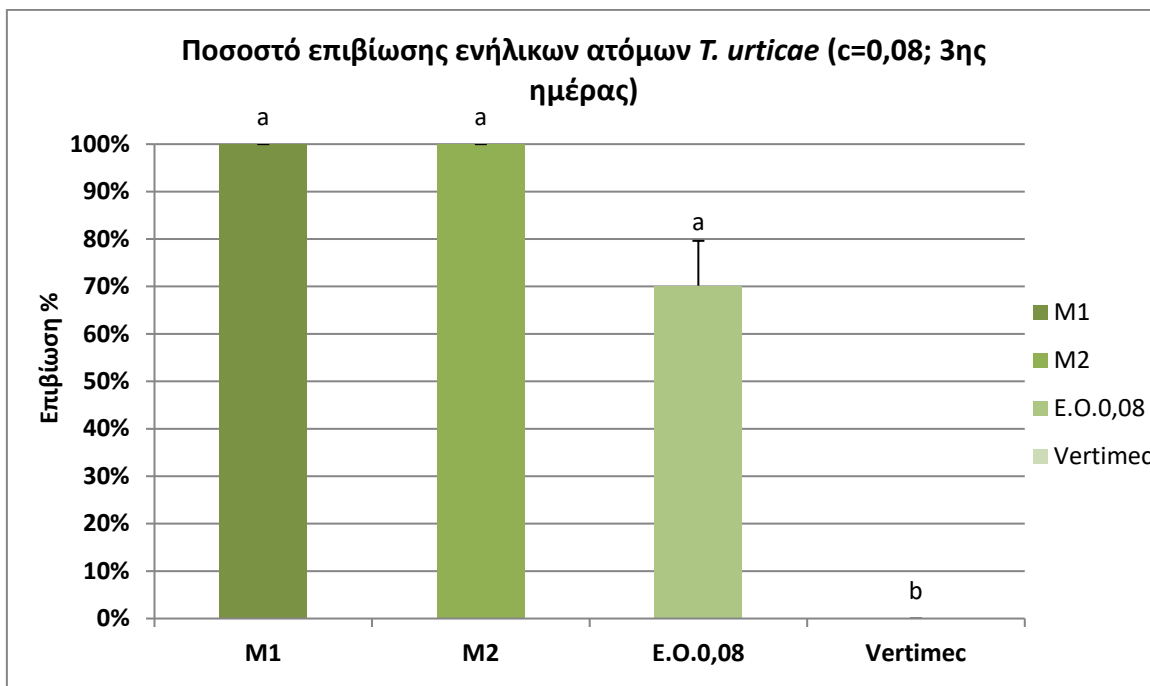
Στη συγκέντρωση 0,06% του αιθερίου ελαίου που μελετήθηκε όπως φαίνεται και στο Ιστόγραμμα 3.22., κατά την τρίτη ημέρα το ποσοστό επιβίωσης έπεσε λίγο πιο κάτω από το 70% ενώ και οι δύο μάρτυρες είχαν 100%. Παρ' όλα αυτά η διαφορά δεν ήταν στατιστικώς σημαντική μεταξύ των τριών, παρά μόνο με το ακαρεοκτόνο που ήταν 0%.





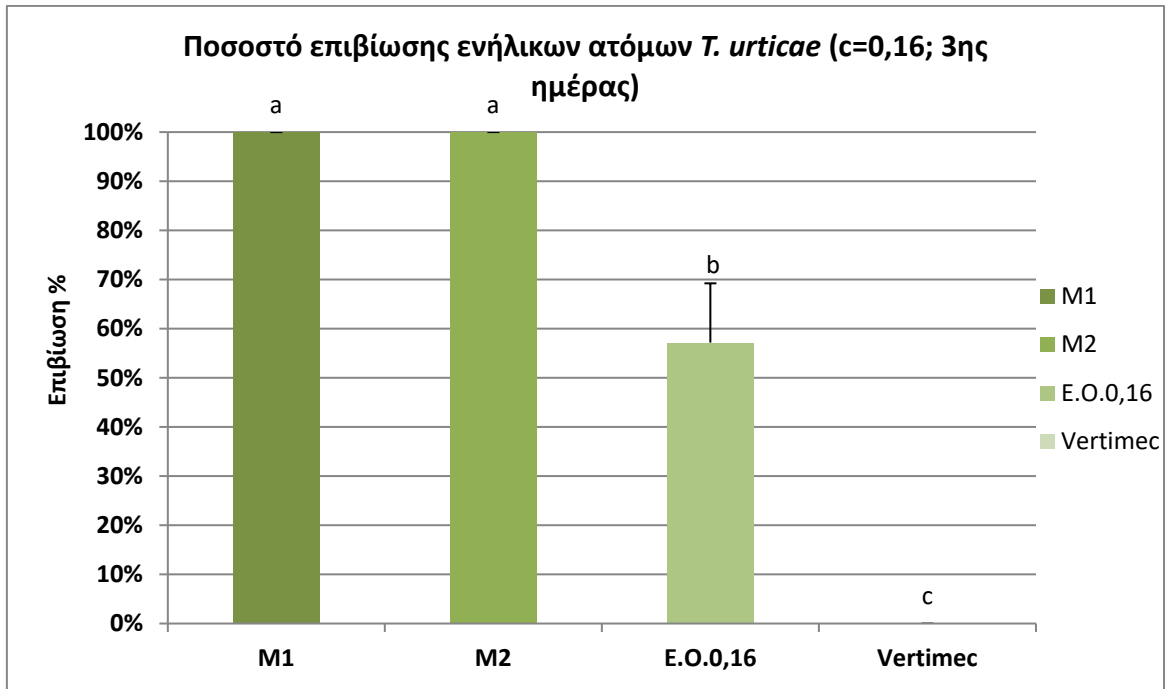
**Ιστόγραμμα 3.22.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 3<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,06% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Όπως και στις προηγούμενες επεμβάσεις με τις μικρότερες συγκεντρώσεις έτσι και σε αυτήν την συγκέντρωση (0,08%) το ποσοστό επιβίωσης κατά την τρίτη ημέρα δεν εμφανίζει διαφορά από τους θετικούς μάρτυρες (Ιστόγραμμα 3.23.). Πιο αναλυτικά, το ποσοστό επιβίωσης στην μεταχείριση με το διάλυμα αιθερίου ελαίου ήταν 70% ενώ των μαρτύρων ήταν 100%. Επιπλέον το ποσοστό θνησιμότητας για το ακαρεοκτόνο ήταν 100%, δηλαδή δεν επιβίωσε κανένα άκαρι.



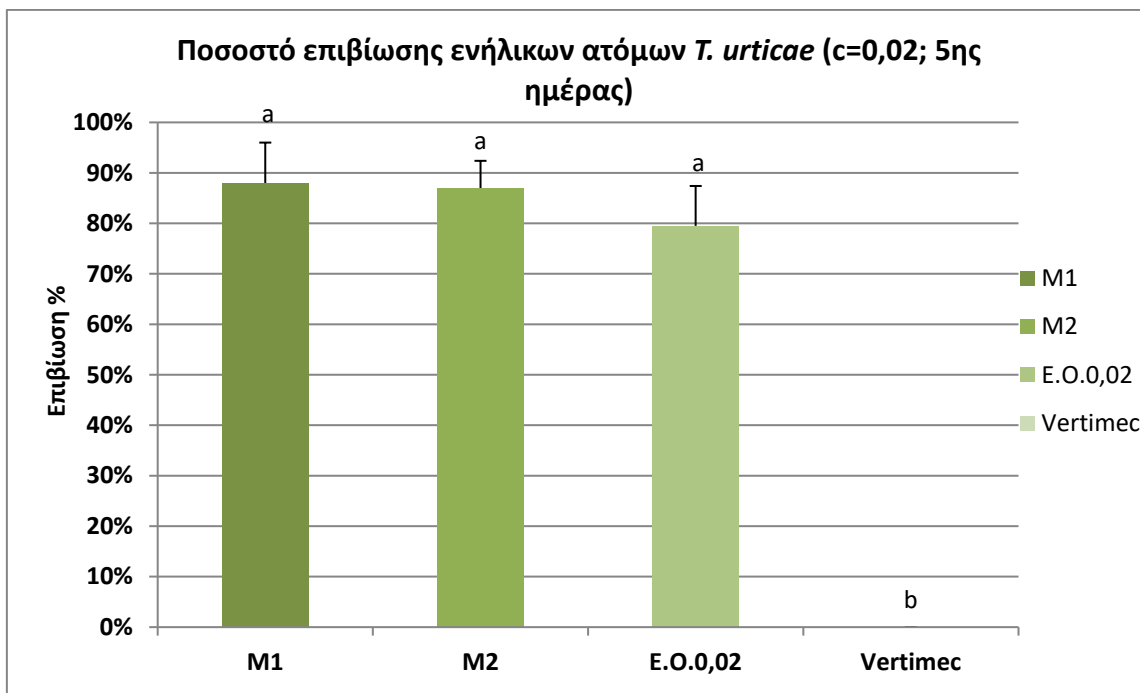
**Ιστόγραμμα 3.23.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 3<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,08% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Η μεγαλύτερη συγκέντρωση αιθερίου ελαίου που χρησιμοποιήθηκε (0,16%) έδειξε από τις πρώτες ημέρες μία διαφορετική εικόνα. Σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.24., το ποσοστό επιβίωσης του γαλακτώματος αιθερίου ελαίου ήταν 57% ήδη από την τρίτη ημέρα, διαφέροντας στατιστικά από τους μάρτυρες του απιονισμένου νερού και του σκέτου DMSO όπου το ποσοστό τους ήταν 100%. Το ποσοστό του ακαρεοκτόνου ήταν 0% και διέφερε τόσο από το γαλάκτωμα του αιθερίου ελαίου όσο και από τους άλλους δύο μάρτυρες.



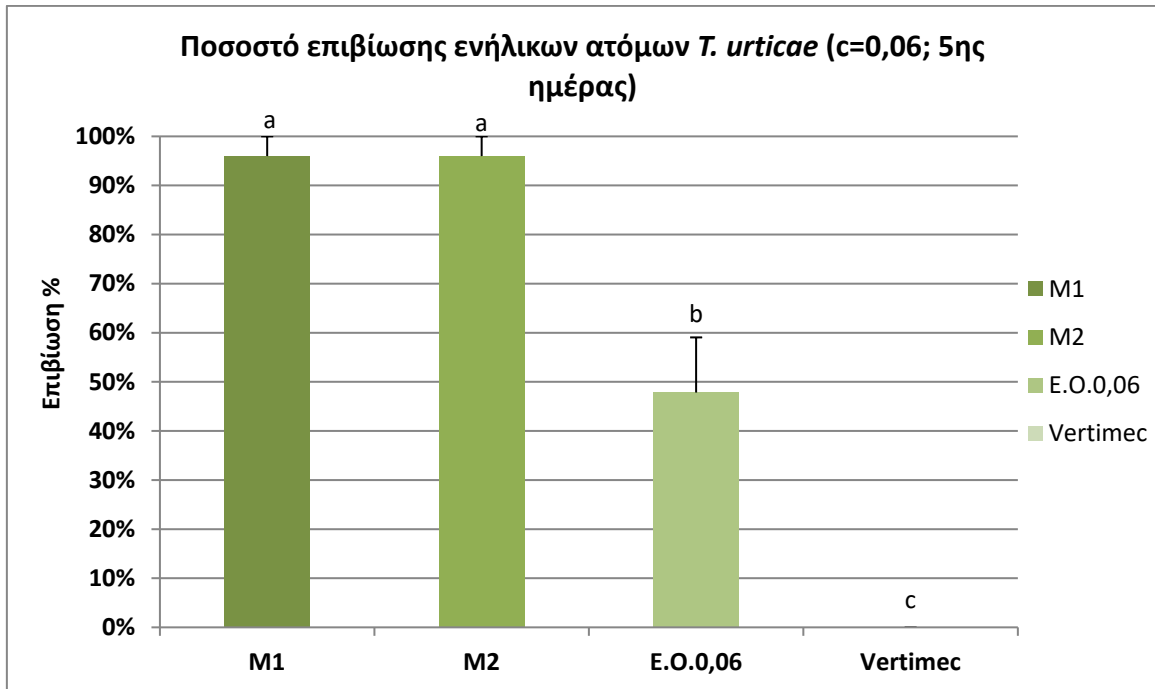
**Ιστόγραμμα 3.24.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 3<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,16% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Στη συγκέντρωση (0,02%) παρατηρήθηκε όπως φαίνεται και στο Ιστόγραμμα 3.25. μικρή μείωση και στις τρεις μεταχειρίσεις σε σχέση με την τρίτη ημέρα. Στο διάλυμα του γαλακτωματοποιητή παρουσίας αιθερίου ελαίου ρίγανης το ποσοστό επιβίωσης ήταν 79,5%. Το απιονισμένο νερό μειώθηκε στο 88% και ήταν ακολουθούμενο από τον γαλακτωματοποιητή απουσίας αιθερίου ελαίου που ήταν στο 87%.



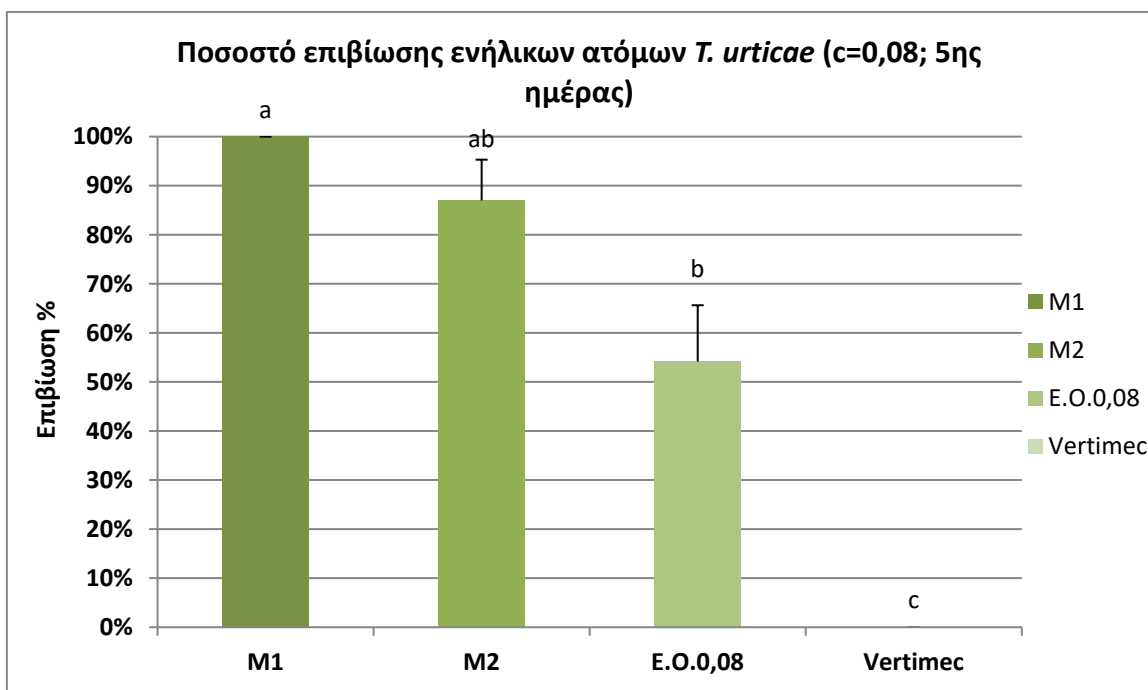
**Ιστόγραμμα 3.25.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 5<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,02% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.26. το ποσοστό επιβίωσης των ατόμων του ακάρεως στις μεταχειρίσεις του απιονισμένου νερού και του διαλύματος DMSO μειώθηκε κατά 4%, ενώ του διαλύματος αιθερίου ελαίου στη συγκέντρωση 0,06% έφτασε το 47,8%. Αυτό σημαίνει ότι υπήρχε επίδραση κατά του τετράνυχου καθώς το διάλυμα του αιθερίου ελαίου διέφερε στατιστικώς σημαντικά από τους δύο μάρτυρες αλλά και από το ακαρεοκτόνο που ήταν σε ποσοστό 0%.



**Ιστόγραμμα 3.26.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 5<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,06% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

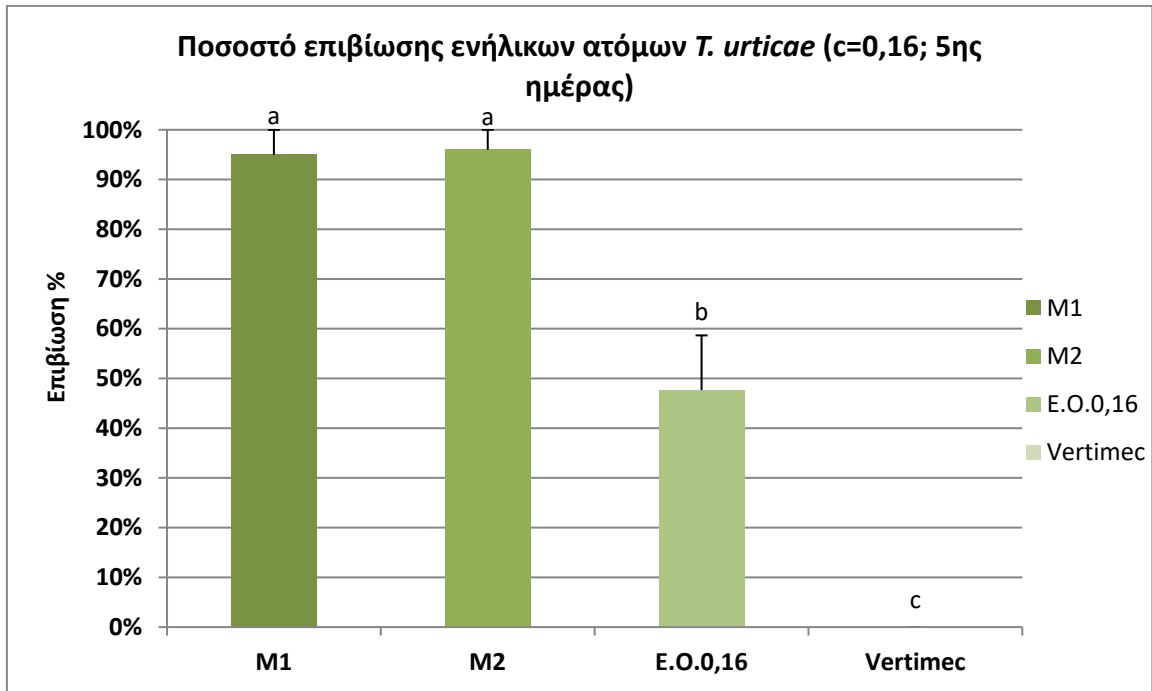
Σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.27. παρατηρήθηκε την πέμπτη ημέρα στη συγκέντρωση 0,08% του αιθερίου ελαίου ποσοστό επιβίωσης 54%, ενώ στον μάρτυρα του απιονισμένου νερού το ποσοστό παρέμεινε 100%. Για την μεταχείριση του σκέτου γαλακτωματοποιητή το ποσοστό επιβίωσης μειώθηκε στο 87% χωρίς όμως να διαφέρει σημαντικά από τον μάρτυρα του νερού. Ωστόσο η επέμβαση του αιθερίου ελαίου διέφερε από το νερό αλλά όχι από τον γαλακτωματοποιητή απουσίας ελαίου. Το ακαρεοκτόνο με ποσοστό επιβίωσης 0% διέφερε από όλες τις μεταχειρίσεις.



**Ιστογράμμα 3.27.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 5<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,08% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

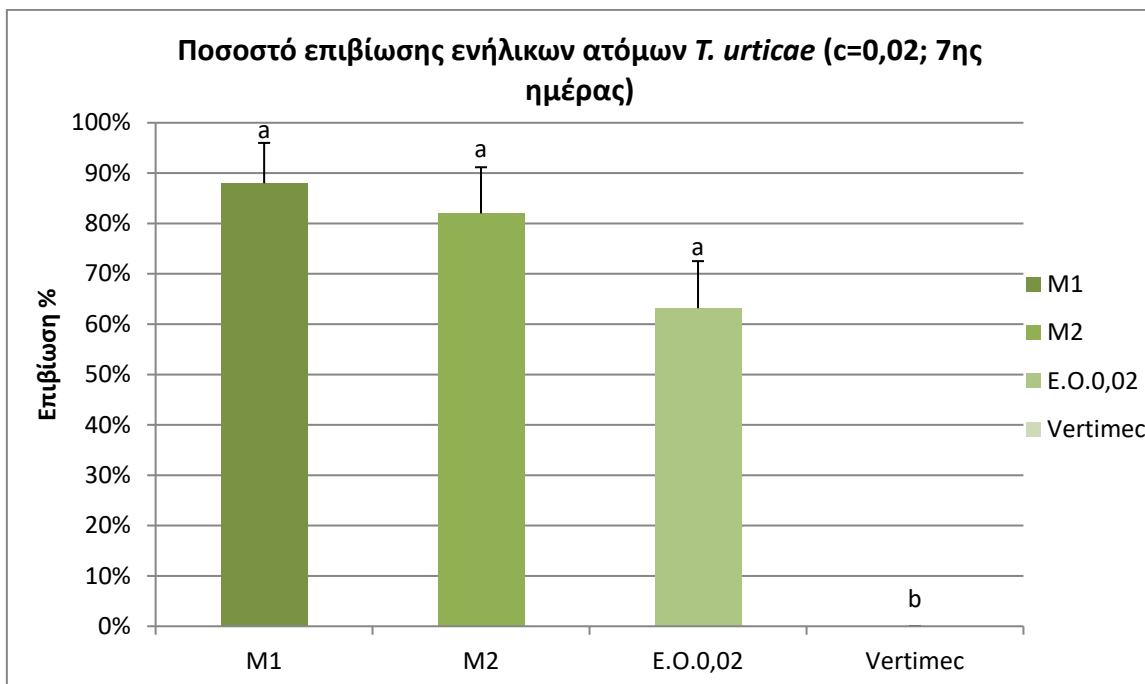
Το ποσοστό επιβίωσης των ατόμων στην επέμβαση του αιθερίου ελαίου με συγκέντρωση 0,16% μειώθηκε και άλλο φτάνοντας στο 47% (Ιστογράμμα 3.28.). Επιπλέον το ποσοστό του απιονισμένου νερού και του γαλακτώματος απουσίας αιθερίου ελαίου παρέμεινε υψηλά (95% και 96%, αντίστοιχα).

Από την στατιστική ανάλυση των δεδομένων της πέμπτης ημέρας και βάση των Ιστογραμμάτων φάνηκε ότι υπήρχε επίδραση με θετικά αποτελέσματα από το έλαιο της ρίγανης διαφέροντας σημαντικώς από τις άλλες επεμβάσεις (μάρτυρες) ( $F=73,40$ ;  $df=99$ ;  $P<0,0001$ ). Ωστόσο φάνηκε ότι οι συγκεντρώσεις του αιθερίου ελαίου δεν έπαιξαν δοσοεξαρτώμενο ρόλο στη μείωση του πληθυσμού των ακάρεων ( $F=0,14$ ;  $df=99$ ;  $P>0,05$ ). Εξίσου και η αλληλεπίδραση των δύο δεν εμφάνισε σημαντικές διαφορές ( $F=1,28$ ;  $df=99$ ;  $P>0,05$ ).



**Ιστόγραμμα 3.28.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 5<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,16% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

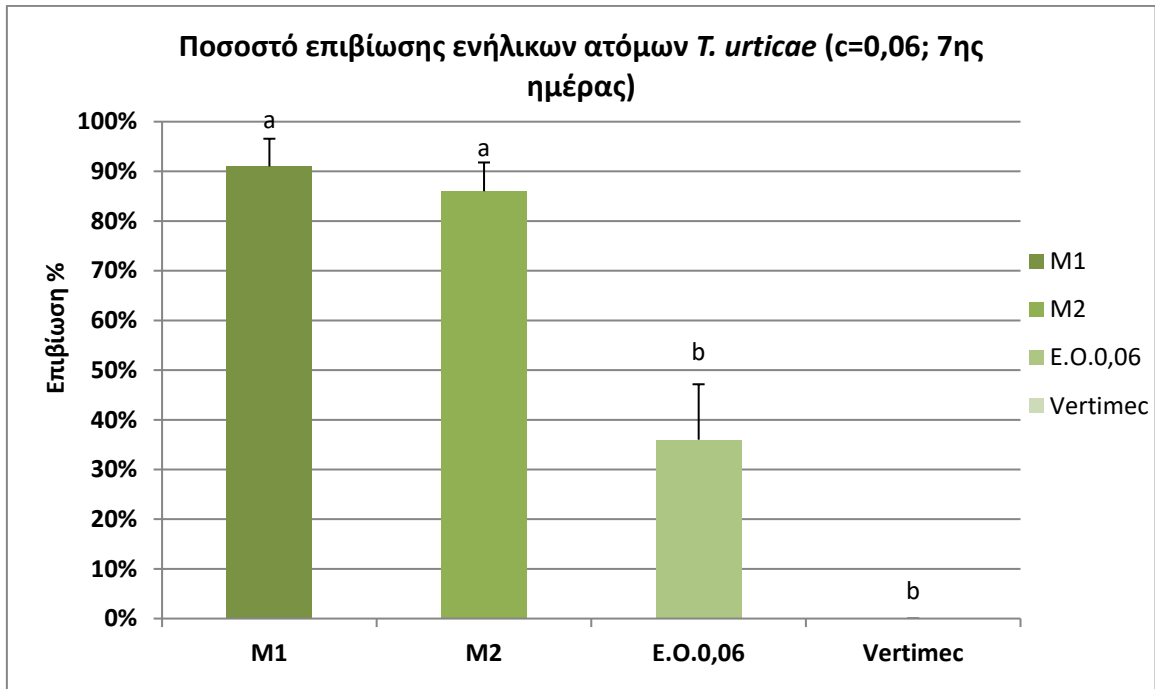
Την τελευταία ημέρα της μέτρησης σύμφωνα με το Ιστόγραμμα 3.29. παρατηρείται ότι το διάλυμα αιθερίου ελαίου είχε επίδραση στα άτομα του τετράνυχου μειώνοντας το ποσοστό επιβίωσης στο 63%. Ωστόσο δεν ήταν σημαντική η διαφορά με τους μάρτυρες που ήταν σε ποσοστό 82% και 87% για τον γαλακτωματοποιητή και το απιονισμένο νερό αντίστοιχα.



**Ιστόγραμμα 3.29.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 7<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,02% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

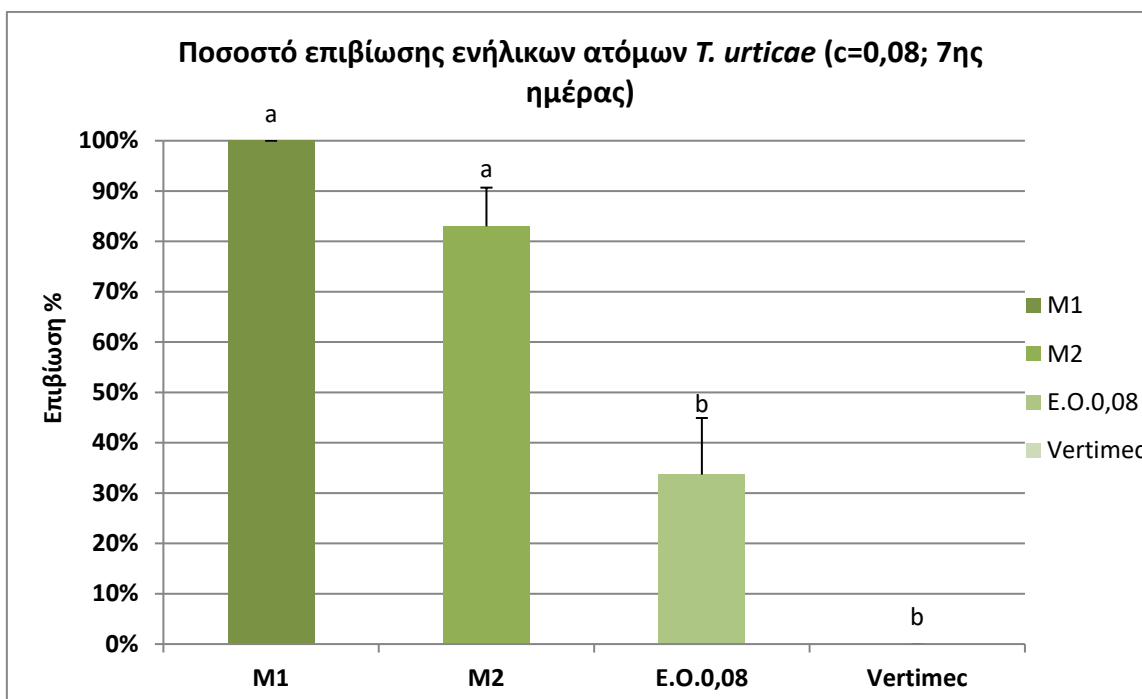
Στη συγκέντρωση 0,06, καταγράφηκε μείωση των ποσοστών σε όλες τις μεταχειρίσεις όπως φαίνεται και στο Ιστόγραμμα 3.30. Το ποσοστό επιβίωσης του διαλύματος του αιθερίου ελαίου ήταν 36% το οποίο φάνηκε από την στατιστική ανάλυση ότι δεν διέφερε σημαντικά από το ακαρεοκτόνο που ήταν στο 0%. Το ποσοστό του μάρτυρα απιονισμένου νερού ήταν 91% ενώ του γαλακτωματοποιητή απουσίας ελαίου ήταν 86%. Οι δύο μεταχειρίσεις δεν διέφεραν μεταξύ τους αλλά διέφεραν με την μεταχείριση του αιθερίου ελαίου. Στην προηγούμενη συγκέντρωση (0,02%) η μεταχείριση του αιθερίου ελαίου δεν διέφερε από τους μάρτυρες. Αυτό σημαίνει ότι η μεγαλύτερη συγκέντρωση (0,06%) έχει σημαντική επίδραση στην επιβίωση των ακάρεων, χωρίς να διαφέρουν και μεταξύ τους οι συγκεντρώσεις.





**Ιστόγραμμα 3.30.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 7<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,06% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

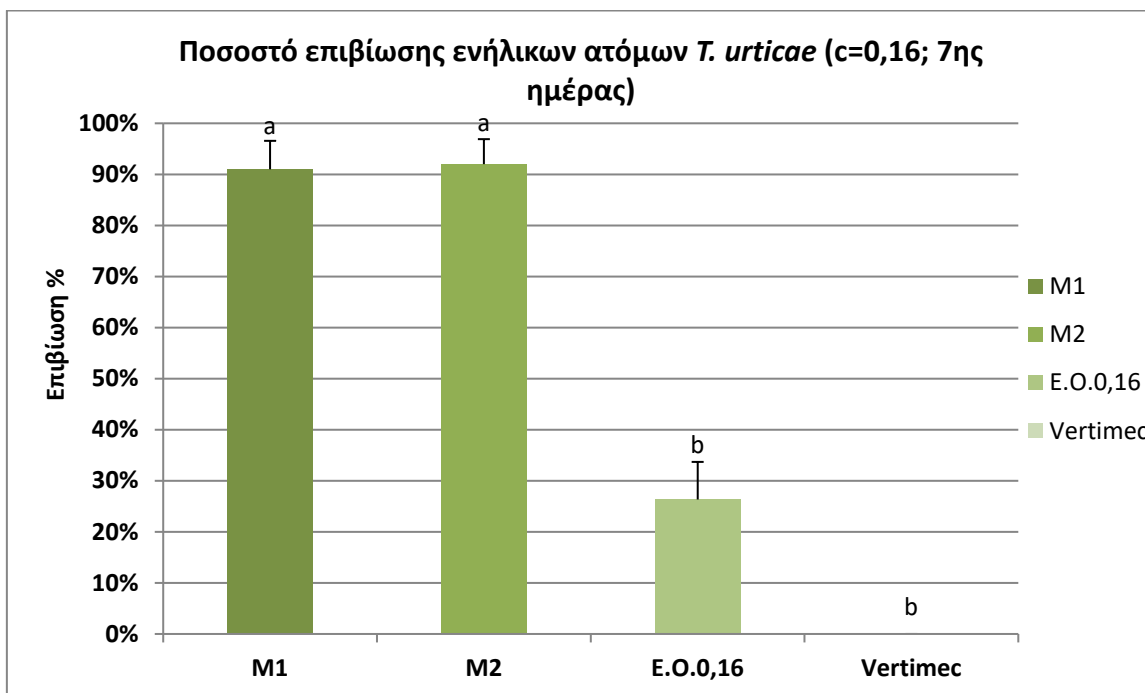
Το γαλάκτωμα του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,08% επέφερε συνολικό ποσοστό επιβίωσης 33% που σημαίνει ότι θανατώθηκαν 2 στα 3 άτομα ακάρεως ύστερα από 7 ημέρες (Ιστόγραμμα 3.31.). Το ποσοστό επιβίωσης της μεταχείρισης με το απιονισμένο νερό ήταν 100%, ενώ του γαλακτώματος που στερούνταν αιθερίου ελαίου ήταν 83%. Τα δύο τελευταία δεν είχαν σημαντική διαφορά. Ωστόσο διέφεραν με την επέμβαση του αιθερίου ελαίου και του ακαρεοκτόνου. Επίσης το ποσοστό του ελαίου φάνηκε ότι δε διέφερε σημαντικά από αυτό του ακαρεοκτόνου.



**Ιστόγραμμα 3.31.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 7<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,08% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

Την ίδια εικόνα περίπου παρατηρούμε και στο Ιστόγραμμα 3.32., όπου την τελευταία ημέρα η μεγαλύτερη συγκέντρωση του γαλακτώματος επέφερε συνολικό ποσοστό επιβίωσης της τάξης του 26,3%. Στις μεταχειρίσεις των μαρτύρων υπήρχαν κάποιες απώλειες ατόμων αλλά το ποσοστό ήταν εξίσου υψηλό με τις προηγούμενες ημέρες. Το ποσοστό επιβίωσης με το απιονισμένο νερό ήταν στο 91%, ενώ στο γαλάκτωμα με σκέτο DMSO ήταν στο 92%. Διαφορά παρατηρήθηκε μεταξύ της επέμβασης του αιθερίου ελαίου και των θετικών μαρτύρων αλλά όχι μεταξύ του ακαρεοκτόνου και του ελαίου.

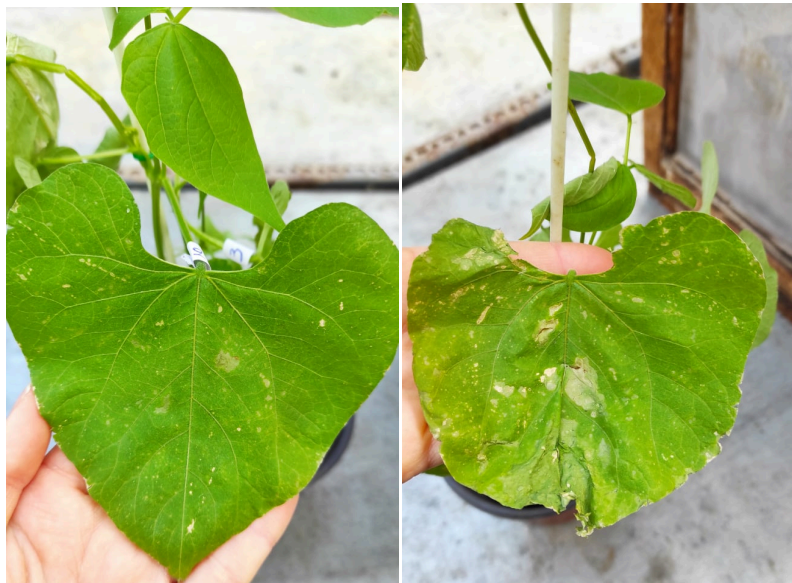
Συγκρίνοντας την τελευταία ημέρα ο πληθυσμός των ακάρεων φάνηκε ότι δεν επηρεάστηκε από την δόση του αιθερίου ελαίου αλλά από την παρουσία του ίδιου του ελαίου. Επομένως αυτό σημαίνει ότι σύμφωνα με την ανάλυση υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των επεμβάσεων της έβδομης ημέρας ( $F=77,33$ ;  $df=99$ ;  $P<0,0001$ ), ενώ δεν υπάρχει κάποια σημαντική διαφορά ανάμεσα στις συγκεντρώσεις του αιθερίου ελαίου ( $F=0,31$ ;  $df=99$ ;  $P>0,05$ ). Επιπλέον η αλληλεπίδραση τους δεν έδειξε να διαφέρει ( $F=1,42$ ;  $df=99$ ;  $P>0,05$ ).



**Ιστόγραμμα 3.32.** Συνολικό ποσοστό επιβίωσης ατόμων *T. urticae* κατά την 7<sup>η</sup> ημέρα, από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε συγκέντρωση 0,16% (v/v). Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό ενώ το M2 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή DMSO με απιονισμένο νερό.

### 3.5. Φυτοτοξικότητα

Στο Ιστόγραμμα 3.33. παρατηρούμε την επίδραση του αιθερίου ελαίου ρίγανης που έχει στα φυτά υπολογίζοντας το ποσοστό των φύλλων που εμφανίστηκαν στίγματα ή κηλίδες προς τα συνολικά φύλλα. Το ποσοστό για τις πρώτες 10 ημέρες είναι μεγάλο λόγω του μικρού αριθμού φύλλων των φυτών, ενώ στη συνέχεια και μέχρι την μέτρηση των 30 ημερών τα φύλλα αυξήθηκαν (Ιστόγραμμα 3.34.) χωρίς όμως να αυξηθούν και τα στίγματα. Εκεί που παρατηρείται μία αύξηση κηλίδων με τελικό ποσοστό 13% (Εικ. 3.28.) σε σχέση με τον μάρτυρα που ήταν 4% (Εικ.3.29.), είναι στην μεγαλύτερη συγκέντρωση του αιθερίου ελαίου (0,16%). Επομένως, σύμφωνα με την ανάλυση υπάρχει στατιστικώς σημαντική διαφορά μεταξύ των συγκεντρώσεων ( $F=7,95$ ;  $df=4,9$ ;  $P<0,05$ ). Ωστόσο ο χρόνος περάτωσης από τον ψεκασμό δεν είναι παράγοντας επιρροής των επεμβάσεων ( $F=0,28$ ;  $df=1,9$ ;  $P>0,05$ ).



(α)

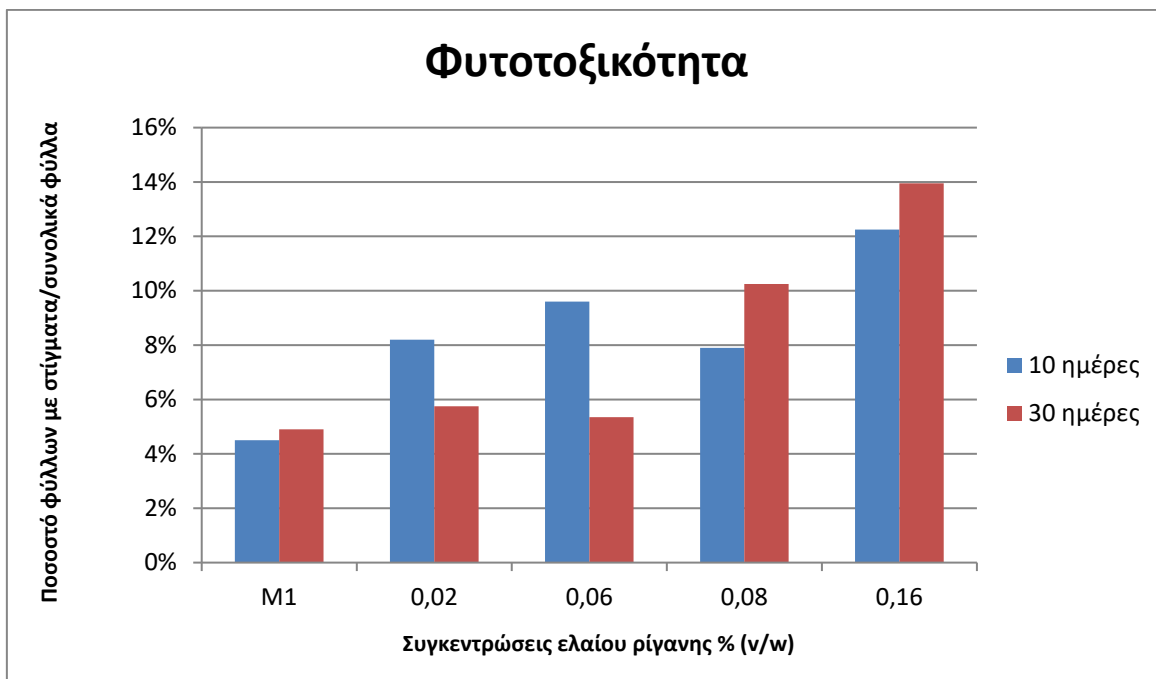
(β)

**Εικόνα 3.28.** (α) κηλίδες σε φύλλα φασολιάς από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης (0,16%) στις 10 ημέρες

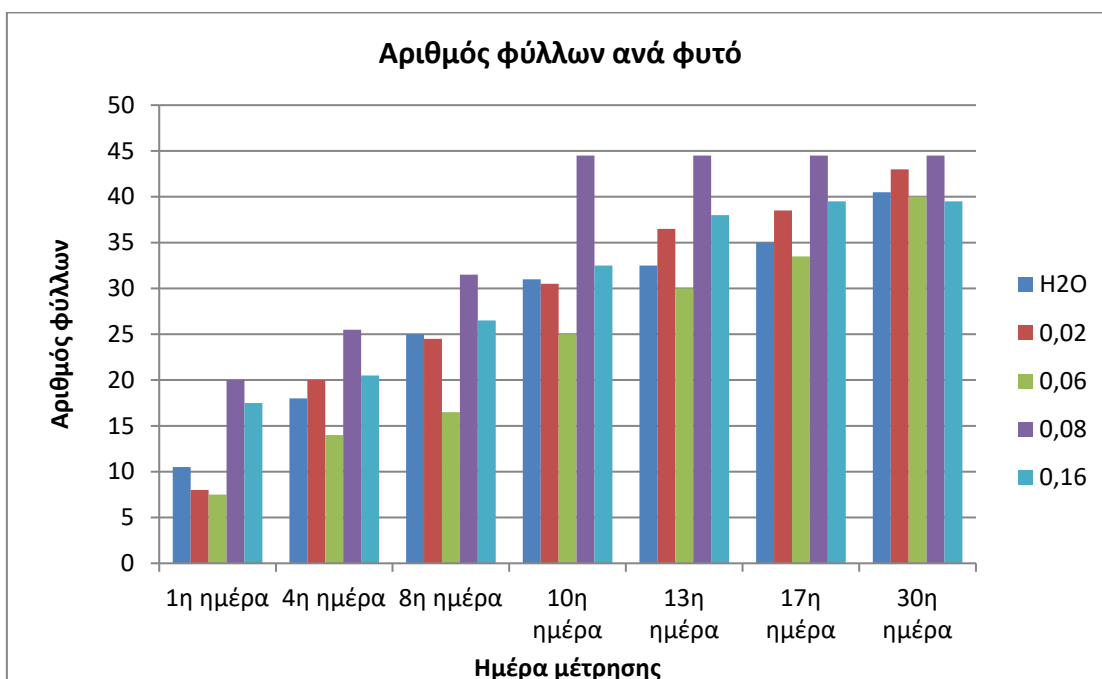
(β) κηλίδες σε φύλλα φασολιάς από την επέμβαση του αιθερίου ελαίου ρίγανης (0,16%) στις 30 ημέρες



**Εικόνα 3.29.** φύλλο φασολιάς από την επέμβαση του μάρτυρα (απινισμένο νερό με DMSO)



**Ιστογράμμο 3.33.** Ποσοστό φύλλων με στίγματα προς συνολικό αριθμό φύλλων κάθε φυτού που έχει ψεκαστεί με διαφορετικές συγκεντρώσεις αιθερίου ελαίου ρίγανης. Το M1 αντιπροσωπεύει τον μάρτυρα απιονισμένο νερό. Οι μετρήσεις πραγματοποιήθηκαν στις 10 και στις 30 ημέρες.



**Ιστογράμμο 3.34.** Ο μέσος όρος συνολικού αριθμού φύλλων από τα φυτά κάθε συγκέντρωσης αιθερίου ελαίου ρίγανης. Το H2O είναι τα φυτά μάρτυρες

## Κεφάλαιο 4

### Συμπεράσματα- Συζήτηση

Στην παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή έγινε μελέτη των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων από τα φαρμακευτικά-αρωματικά φυτά: δενδρολίβανο, μέντα ρίγανη, χαμομήλι και λουίζα. Ο χημειότυπος των αιθερίων ελαίων μπορεί να επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες διαφοροποιώντας τον από περιοχή σε περιοχή και από εποχή σε εποχή. Τα φυτά προέρχονταν από την Καλαμάτα και τα αποτελέσματα της μελέτης μπορούν να αποτελέσουν μία επιπλέον πληροφορία για τον προσδιορισμό και τον χαρακτηρισμό των φυτών αυτής της περιοχής. Επιπρόσθετα τα προβλήματα που έχουν παρουσιαστεί από τη χρήση των συνθετικών παρασιτοκτόνων είναι μείζονος σημασίας καθώς επηρεάζουν την ποιότητα του εδάφους, την υγεία των θηλαστικών και των ωφέλιμων εντόμων, ενώ προκαλούν και περιβαλλοντική μόλυνση. Ένα ακόμη πρόβλημα είναι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των επιβλαβών οργανισμών που έχει δημιουργήσει την ανάγκη για εναλλακτικές μεθόδους ελέγχου φυτοπροστασίας που είναι φιλικότερες προς το περιβάλλον. Μεταξύ αυτών είναι και τα παρασιτοκτόνα με βάση το αιθέριο έλαιο. Πολλές μελέτες έχουν δημοσιευτεί υποδεικνύοντας μεγάλες προοπτικές για τα αιθέρια έλαια ως δραστικά συστατικά. Έτσι σκοπός της μελέτης αυτής, εκτός από τον προσδιορισμό των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων από αρωματικά φυτά της ελληνικής χλωρίδας, είναι και η εξέταση της επίδρασης δύο εξ' αυτών σε επιβλαβή έντομα (*Tuta absoluta*) και ακάρεα (*Tetranychus urticae*) των καλλιεργειών.

Η απόδοση του δενδρολίβανου σε αιθέριο έλαιο ως μέσος όρος από τις 2 αποστάξεις που πραγματοποιήθηκαν συνολικά χρησιμοποιώντας ξηρό φυτικό υλικό ήταν 0,75% (v/w). Η εκατοστιαία αυτή απόδοση είναι μεταξύ των τιμών που αναφέρθηκαν στην μελέτη του *A. angioni* και των συνεργατών του (2004) όπου εξέτασαν 17 δείγματα διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών της Ιταλίας. Οι τιμές απόδοσης των ελαίων κυμαίνονταν μεταξύ των τιμών 0,48% και 1,75% (v/w). Μελέτη επίσης των Alirouf και Saharkhiz (2016) σχετικά με την απόδοση του ιρανικού δενδρολίβανου έδειξε να κυμαίνεται στο 0,94% (v/w) κατά την περίοδο της ανθοφορίας, χρησιμοποιώντας την μέθοδο υδροαπόσταξης με συσκευή Clevenger για διάστημα 3 ωρών.

Η απόδοση του αρωματικού φυτού μέντας σε αιθέριο έλαιο κατά μέσο όρο και από τις 2 αποστάξεις που διεξήχθησαν στην παρούσα μελέτη ήταν 2,94% (v/w). Το αποτέλεσμα αυτό συμφωνεί με την μελέτη του Benchikha και της ομάδας του (2005), οι οποίοι αποστάζοντας τα φύλλα του φυτού με την μέθοδο της υδροαπόσταξης είχαν απόδοση σε έλαιο 3,7% (v/w). Αντιθέτως, οι Derwich et al., 2010 είχαν πολύ μικρότερη απόδοση από τις προαναφερόμενες. Συγκεκριμένα, ξηρό φυτικό υλικό από μαροκινά φυτά μέντας ύστερα από την μέθοδο της υδροαπόσταξης έδωσε απόδοση αιθερίου ελαίου περίπου 1,02 % (v/w).

Η μεγαλύτερη απόδοση αιθερίου ελαίου από τα εξεταζόμενα αρωματικά φυτά ήταν αυτή της ρίγανης με μέσο όρο 9,67% (v/w). Συγκρίνοντας την απόδοση του αιθερίου ελαίου από εναέρια τμήματα του *O. vulgare* που καλλιεργείται στη νότια Ελλάδα με προηγούμενες μελέτες προέκυψε τεράστια διαφορά. Το περιεχόμενο της συγκεκριμένης ρίγανης αποδείχθηκε πολύ υψηλότερο από οποιοδήποτε άλλο της βιβλιογραφίας. Μελέτες που έγιναν από φυτά περιοχών της Κίνας και του Πακιστάν, σημείωσαν τις χαμηλότερες αποδόσεις που κυμαίνονταν από 0,1 έως 0,9% (Gong et al., 2014; Zhao et al., 2021). Λίγο υψηλότερο ποσοστό απόδοσης με 1,7% (v/w) έδωσαν τα φυτά ρίγανης που καλλιεργήθηκαν στην Σαουδική Αραβία και αποστάχθηκαν κατά τον ίδιο τρόπο με της παρούσας μελέτης (Khan et al., 2018). Ωστόσο, το υψηλότερο ποσοστό και πιο κοντά στα αποτελέσματα της παρούσας

μελέτης παρατηρήθηκε πάλι από ελληνικά φυτά με 8,0% (v/w) από την Kokkini & Vokou (1989).

Το χαμομήλι είναι το φυτό με τις χαμηλότερες αποδόσεις αιθερίου ελαίου. Στη συγκεκριμένη διατριβή η απόδοση ήταν 0,63%. Αυτό έρχεται να το επιβεβαιώσει και μία ακόμη μελέτη από το Ιράν όπου εξέταζε την χημική σύσταση και τις αποδόσεις του αιθερίου ελαίου σε διαφορετικά καθεστώτα άρδευσης. Τα αποτελέσματα των αποδόσεων ήταν μεταξύ 0,62% και 0,75% (v/w), με το μεγαλύτερο ποσοστό να παρουσιάζεται στην περίπτωση της μικρότερης άρδευσης (Pirzad et al., 2006).

Ο μέσος όρος απόδοσης αιθερίου ελαίου από 2 αποστάξεις που πραγματοποιήθηκαν με την *Aloysia citriodora* ήταν 1,1% (v/w). Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε με άγριους πληθυσμούς φυτών της Αργεντινής, η απόδοση κυμαινόταν μεταξύ 0,16% και 1,93% (v/w) με τις περισσότερες αποδόσεις να βρίσκονται σε ποσοστό 0,2% έως 0,4%. Η διαφοροποίηση αυτή υπήρχε λόγω της συλλογής των δειγμάτων από διαφορετικές περιοχές αντικατοπτρίζοντας έτσι την ισχυρή βιοποικιλότητα που υπάρχει σε αυτή την χώρα (Elechosa et al., 2017). Οι Hashemi et al. (2018) εξετάζοντας φυτά λουίζας από το Ιράν είχαν μεγαλύτερες αποδόσεις αιθερίου ελαίου από ξηρό φυτικό υλικό, απ' ότι οι υπόλοιπες μελέτες. Πριν από την μέθοδο της υδροαπόσταξης δοκίμασαν να επεξεργαστούν το φυτικό υλικό που ήταν εμβαπτισμένο σε νερό με την διαδικασία των υπερήχων για χρονικό διάστημα μισής ώρας. Η διαφορά της απόδοσης με το φυτικό υλικό που δεν επεξεργάστηκε με υπερήχους ήταν 0,2%. Δηλαδή, σύμφωνα με το πρώτο δείγμα επεξεργασίας η απόδοση ήταν 2,6% (v/w), ενώ με το δεύτερο δείγμα απουσίας υπερήχων ήταν 2,4% (v/w).

Η μελέτη της χημικής σύνθεσης του αιθερίου ελαίου δενδρολίβανου έδειξε ότι υπάρχουν τέσσερα κύρια συστατικά τα οποία είναι η καμφορά με ποσοστό 16,9%, η ευκαλυπτόλη που μετείχε σε ποσοστό 14,0%, η βορνεόλη με 13,7% και τέλος το α-πινένιο με 11,3%. Ενώ σε μικρότερα ποσοστά ήταν η βερμπενόνη η οποία είχε ποσοστό 9,5%, η λιναλοόλη με 5,5% και το καμφένιο μετέχοντας σε ποσοστό 3,9%. Ωστόσο τα ευρήματα της μελέτης αυτής δεν συμφωνούν με τη βιβλιογραφία καθώς στις περισσότερες έρευνες το α-πινένιο και το καμφένιο υπάρχουν σε υψηλότερα



ποσοστά. Συνήθως βρίσκονται μεταξύ των τριών κύριων ενώσεων κατέχοντας ποσοστό που κυμαίνεται από 12,59% έως 42,57% για το α-πινένιο και 6% έως 7,6% για το καμφένιο (Farhat et al., 2017; Alipour et al., 2016; Angioni et al., 2004). Στη μελέτη των Barreto et al. (2014) σε δείγμα δενδρολίβανου από τη Βραζιλία η ευκαλυπτόλη ήταν πρώτη με ποσοστό 30,8% ακολουθούμενη από την καμφορά η οποία μετείχε σε ποσοστό 10,1%. Επιπλέον αυτό που παρατηρήθηκε είναι ότι η βορνεόλη είχε χαμηλό ποσοστό περιεκτικότητας σε φυτά του Μαρόκου, της Ιταλίας και της Γαλλίας σε σχέση με το δενδρολίβανο της Καλαμάτας, ενώ η βερμπενόνη που ήταν κοντά στο 10% είχε μηδενικό ποσοστό σε αυτά (Oualdi et al., 2021). Οι μεγάλες διαφοροποιήσεις μπορούν να αποδοθούν στη γεωγραφική περιοχή των φυτών, στην εποχή της συλλογής, στην ηλικία του φυτού, στο έδαφος αλλά και στις καλλιεργητικές μεθόδους που ακολουθεί ο κάθε παραγωγός.

Από την άλλη, υπήρχαν αρκετές διαφορές στη σύνθεση μεταξύ αιθερίου ελαίου δενδρολίβανου και υδρολύματος. Εκτός από την καμφορά και τη βορνεόλη που ήταν σε παρόμοια ποσοστά με το αιθέριο έλαιο (16,8% και 13,9% αντίστοιχα), η περιεκτικότητα της ευκαλυπτόλης μειώθηκε κατά τρεις φορές από το αιθέριο έλαιο φτάνοντας σε ποσοστό 4,7% και το καμφένιο δεν ανιχνεύθηκε καν. Η αναλογία βερμπενόνης στο υδρόλυμα ήταν 5 φορές μεγαλύτερη (48,5%) από τη βερμπενόνη στο αιθέριο έλαιο (9,5%). Επίσης παρατηρήθηκε η απουσία του α-πινενίου που ήταν από τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου του δενδρολίβανου, ενώ η λιναλοόλη μειώθηκε κατά το ήμισυ (2,3%). Σύμφωνα με τον Tomi και τους συνεργάτες του (2016), σημειώθηκε απουσία α-πινενίου όπως ακριβώς συνέβη και στο δείγμα της μελέτης μας. Το ποσοστό της βερμπενόνης αυξήθηκε επίσης (7,4%) χωρίς όμως να αποτελεί το κυριότερο συστατικό όπως έγινε στην περίπτωση του δενδρολίβανου της Καλαμάτας. Ωστόσο στην ίδια πηγή παρατηρήθηκε διπλασιασμός της λιναλοόλης και τετραπλασιασμός της βορνεόλης φτάνοντας σε ποσοστά 1,9% και 20,4% αντιστοίχως. Αυτές οι διαφορές μπορεί να οφείλονται στην υδατοδιαλυτότητα των αρωματικών πτητικών συστατικών.

Στο αιθέριο έλαιο της μέντας τα βασικά συστατικά βρέθηκαν να είναι δύο, η μενθόλη (44,3%) και η μενθόνη (29,6%) ακολουθούμενα από ευκαλυπτόλη με

ποσοστό 6,3% και ισο-μενθόνη με 5,7%. Ο συνδυασμός των δύο πρώτων κύριων συστατικών μενθόλης και μενθόνης εμφανίζεται σε πάρα πολλές μελέτες (Reddy et al., 2019; Behnam et al., 2006; Benchikha et al., 2005). Οι Taherpour et al. (2017) μελέτησαν τη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου από φυτά μέντας που εκχυλίστηκαν είτε με υδροαπόσταξη είτε με μικρο-εκχύλιση στερεάς φάσης. Τα αποτελέσματα κυμάνθηκαν από 29,4% έως 45,3% για τη μενθόλη και από 16,0% έως 16,9% για τη μενθόνη. Επίσης σύμφωνα με την πρόσφατη μελέτη των Soltanbeigi et al. (2021) τα κύρια συστατικά μενθόλη και μενθόνη ήταν μεταξύ των τιμών 22,5% - 44,6% και 13,8%-37,4%, αντιστοίχως, ανάλογα με τον χρόνο φύτευσης και τον χρόνο κοπής των εξεταζόμενων φυτών. Συγκεκριμένα παρατηρήθηκε ότι η μενθόλη είναι αυξημένη στην ανοιξιιάτικη καλλιέργεια ενώ το ποσοστό της μενθόνης αυξάνεται κατά την φθινοπωρινή. Οι Grulova et al. (2014) κατέγραψαν πολύ υψηλά ποσοστά μενθόλης που έφτασαν έως και 71,3% ακολουθούμενη από τη μενθόνη η οποία μετείχε σε ποσοστό 16,6%. Στην δημοσιευμένη μελέτη του 2012 που διεξήχθη από τον Saharkhiz και τους συνεργάτες του, εξετάζοντας τη χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου ιρανικής μέντας, ανέφεραν ως κύριο συστατικό τη μενθόλη με ποσοστό 53,3% και να την ακολουθούν το οξικό μενθύλιο (15,1%) και η μενθοφουράνη (11,2%), τοποθετώντας την μενθόνη στην έκτη θέση με ποσοστό 2,4%.

Το υδρόλυμα της μέντας παρόλο που εμφανίζει κάποιες διαφορές σε σχέση με το αιθέριο έλαιο, εξακολουθεί να έχει ως κύριες ενώσεις τη μενθόλη (54,4%) και τη μενθόνη (9,9%). Τρίτη σε σειρά ένωση ανιχνεύτηκε η τερπινεν-4-όλη η οποία κατείχε ποσοστό 6,1%, ενώ στο αιθέριο έλαιο ήταν μηδενικό. Το ποσοστό της πιπεριτόνης αυξήθηκε κατά 7 φορές (4,5%), ενώ η ευκαλυπτόλη μειώθηκε σχεδόν κατά 3% αγγίζοντας το ποσοστό 3,7% της συνολικής σύστασης. Η ίδια εικόνα παρατηρείται και στη μελέτη των Garneau, Collin και Gangon (2014) όπου η μενθόλη (68,8%) και η μενθόνη (2,4%) αναγνωρίστηκαν ως τα κύρια συστατικά ενώ η τερπινεν-4-όλη και η πιπεριτόνη που δεν υπήρχαν στο έλαιο εμφανίστηκαν στο αντίστοιχο υδρόλυμα μέντας με ποσοστό 3,5% και 2,0%, παρατηρώντας επίσης ότι η σύνθεσή τους δεν επηρεάζεται όταν βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου. Σε αντίστοιχη μελέτη των Arsanjani et al. (2020) σε δείγμα μέντας από το Ιράν, η μενθόλη και η μενθόνη ήταν τα

βασικά συστατικά του υδρολύματος με ποσοστό συμμετοχής 67,9% και 6,9% αντίστοιχα. Αντιθέτως με τις προηγούμενες έρευνες σε αυτήν δεν υπήρχε τερπινεν-4-όλη και το ποσοστό της πιπεριτόνης ήταν στο 1,2%.

Μελετώντας τη χημική σύνθεση της ρίγανης έδειξε ότι υπάρχουν τρία κύρια συστατικά που καλύπτουν περίπου το 85% της συνολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου. Η θυμόλη ήταν η ένωση με το μεγαλύτερο ποσοστό συμμετοχής (50,2%), ακολούθησε η θυμόλη με ποσοστό 23,3% και στη συνέχεια το γ-τερπινένιο σε ποσοστό λίγο μεγαλύτερο από 10% (12,8%). Το π-κυμένιο ήταν η ένωση που μετείχε σε ποσοστό 5,4%. Παρόμοια σύνθεση με του αιθερίου ελαίου ρίγανης της παρούσας μελέτης είχε το έλαιο ιρανικής ρίγανης με κύρια συστατικά τη θυμόλη σε ποσοστό που ανερχόταν σε 37,13%, το γ-τερπινένιο που μετείχε σε ποσοστό 9,67% και την καρβακρόλη με ποσοστό 9,57%. Σε μικρότερα ποσοστά μετείχαν το π-κυμένιο (3,6%), όπως ακριβώς και στη δική μας έρευνα, και η ευκαλυπτόλη (3,8%)(Vazirian et al., 2015). Από την άλλη πλευρά η ρίγανη της Σαουδικής Αραβίας σύμφωνα με τους Khan et al. (2018) έχει ως κύριο συστατικό αιθερίου ελαίου την καρβακρόλη με ποσοστό 70% ενώ ακολουθείται από γ-τερπινένιο (5,6%), π-κυμένιο (4,5%) και θυμόλη (2,2%). Μεταξύ των οξυγονωμένων μονοτερπενίων και με μεγάλη απόκλιση από τα αποτελέσματα μας, η καρβακρόλη (14,5%), η θυμόλη (12,6%), η β-φενυλική αλκοόλη (12,8%) και η δ-τερπινεόλη (7,5%) ήταν οι κύριες ενώσεις του αιθερίου ελαίου ρίγανης πορτογαλικής προέλευσης, ενώ από υδρογονάνθρακες μονοτερπενίου υπήρχε το γ-τερπινένιο και το α-τερπινένιο σε σημαντικά ποσοστά της τάξης του 11,6% και 3,7% αντίστοιχα (Teixeira et al., 2013). Οι διαφοροποιήσεις αυτές συμβαίνουν διότι η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου εξαρτάται από πολλούς παράγοντες. Τα έλαια της ρίγανης ανάλογα με τα κύρια χαρακτηριστικά τους χωρίζονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες: στο έλαιο τύπου θυμόλη και τύπου καρβακρόλη. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν και έλαια ρίγανης που δεν έχουν ούτε την μία ούτε την άλλη ουσία ως κύρια. Για παράδειγμα η μελέτη των Zhao et al. (2021) έδειξε την μεθυλευγενόλη ως κύρια ουσία με ποσοστό 16,5%, ενώ η καρβακρόλη και η θυμόλη κατείχαν μόλις το 15% και 9,8% της συνολικής σύστασης του αιθερίου ελαίου.

Στο υδρόλυμα της μέντας παρατηρήθηκε η αύξηση των δύο κύριων ουσιών, της θυμόλης (63,5%) και της καρβακρόλης (34,5%) καλύπτοντας το 98% της ολικής σύστασης. Οι υπόλοιπες ενώσεις υπήρχαν σε ίχνος ενώ ελαχιστοποιήθηκε το ποσοστό του π-κυμενίου και εμφανίστηκε σε ποσοστό 0,9% η π-κυμεν-2,5-διόλη. Οι μονοτερπενικές φαινόλες όπως η θυμόλη και η καρβακρόλη λόγω της υδρόφιλης φύσης τους μπορούν να δημιουργήσουν πιο εύκολα δεσμούς υδρογόνου με το νερό με αποτέλεσμα να υπάρχουν σε μεγάλη συγκέντρωση στο υδρόλυμα της ρίγανης.

Το αιθέριο έλαιο του χαμομηλιού εξετάζοντας το χρωματογράφημα έδειξε ότι μεταξύ των έντεκα κορυφών που εμφανίστηκαν, τρία συστατικά ήταν τα κυριότερα με ποσοστό μεγαλύτερο από 10%. Το οξύδιο της βισαβολόλης A που κατείχε το ποσοστό 36,6%, το οξύδιο της βισαβολόλης B με ποσοστό συμμετοχής 26,5% και το β-φαρνεσένιο με 11,6%. Σε μικρότερα ποσοστά υπήρχε το οξύδιο της βισαβολόνης A (7,7%), το χαμαζουλένιο (7,4%) που ευθύνεται για το μπλε χρώμα του αιθερίου ελαίου και η α-βισαβολόλη με 4,6%. Η ίδια σύσταση με κύρια συστατικά τα οξείδια της βισαβολόλης A και B (25,5%-35,7% και 12,2% - 30,5%), το β-φαρνεσένιο (4,9% - 8,1%) και το χαμαζουλένιο με ποσοστό 2,9% έως 10,0% συναντάται και σε άλλες μελέτες (Singh et al. 2011; Behnam et al., 2020). Ωστόσο υπάρχουν και αναφορές από χημική ανάλυση που φαίνεται να έχουν ως βασικό συστατικό το β-φαρνεσένιο. Οι Ayoughi et al. (2011) ανέφεραν το β-φαρνεσένιο ως κύριο συστατικό με ποσοστό συμμετοχής 24,2% ακολουθούμενο από το οξύδιο της α-βισαβολόλης με ποσοστό 10,2%, το α-φαρμεζένιο (8,7%) και την ένωση α-βισαβολόλη κατέχοντας ποσοστό 7,2%. Επιπλέον οι Stanojevic et al. (2016) παρουσίασαν έλαιο το οποίο είχε εκχυλιστεί σε συσκευή Clevenger, με κυριότερη ένωση το β-φαρνεσένιο που μετείχε σε ποσοστό 29,8%, ενώ η υπόλοιπη χημική σύσταση αποτελούνταν από α-φαρνεσένιο (9,3%), α-βισαβολόλη και το οξύδιο της α-βισαβολόλης (15,7%), χαμαζουλένιο (6,4%), δ-γερμακρένιο (6,2%) και σπιροαιθέρας (5,6%).

Αναλύοντας τη χημική σύσταση του υδρόλυματος του χαμομηλιού παρατηρήθηκε ότι το οξύδιο της βισαβολόλης A με ποσοστό 36,6% και το οξύδιο της βισαβολόλης B με 26,5% ήταν και εδώ οι δύο βασικές ενώσεις. Λόγω της σύνθεσής τους το β-φαρνεσένιο και το χαμαζουλένιο δεν μπόρεσαν να περάσουν στο υδρόλυμα, ενώ το

οξείδιο της βισαβολόλης A ήταν σε ποσοστό μειωμένο κατά 50% (3,8%). Επίσης δεν ανιχνεύτηκε καθόλου δ- γερμακρένιο.

Το τελευταίο από τα 5 έλαια που εξετάστηκε ήταν η λουίζα. Η μελέτη της χημικής σύστασης έδειξε ότι κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου ήταν η γερανιάλη (31,3%) και η νεράλη (23,6%). Σε μικρότερα ποσοστά περιεκτικότητας ήταν το οξείδιο του καρυοφυλλενίου με ποσοστό 9,6%, το λιμονένιο με ποσοστό συμμετοχής 9,3%, η α-κουρκουμίνη με 6,6% και τέλος η ευκαλυπτόλη (3,6%) και η σπαθουλενόλη (3,4%). Τα αποτελέσματα αυτά έρχονται να συμφωνήσουν και με προηγούμενες μελέτες οι οποίες κατέγραψαν τις ίδιες ενώσεις. Φυτά λουίζας από την περιοχή του Ιράν εκχυλίστηκαν με την μέθοδο της υδροαπόσταξης με συσκευή Clevenger και ύστερα από αέρια χρωματογραφία ανιχνεύθηκαν ως βασικές ενώσεις η γερανιόλη σε ποσοστό 23-27% και η νεράλη με ποσοστό διακύμανσης μεταξύ 16-18%. Ακολούθησαν το λιμονένιο (8,0% -13,6%), το trans-καρυοφυλλένιο (6,1%-6,4%), η α-κουρκουμίνη (5,1%-5,5%), η σπαθουλενόλη (5,1%-5,4%) και το οξείδιο του καρυοφυλλενίου (5,4%-5,7%) (Hashemi et al., 2018). Μεταξύ 36 δειγμάτων Αργεντινής μόνο δύο είχαν ως κύριες ενώσεις τη γερανιάλη και τη νεράλη, ενώ τα υπόλοιπα εμφάνισαν κυριαρχία των συνθέσεων της κιτρινελάλης, της θουγίονης, της λιναλοόλης ή της καρβόνης, αποδεικνύοντας έτσι την τεράστια διαφοροποίηση μεταξύ των φυτών μιας χώρας λόγω της μεγάλης βιοποικιλότητάς της (Elechosa et al., 2017). Οι Oukerrou et al. (2017) κατέγραψαν ως κύρια συστατικά σε μαροκινά δείγματα την σπαθουλενόλη με 15,6%, την α-κουρκουμίνη, το οξείδιο του καρυοφυλλενίου σε ποσοστό 14,1% και τη νεράλη με ποσοστό 10,0%.

Στο υδρόλυμα της λουίζας παρατηρήθηκαν πολλές αλλαγές καθώς αυξήθηκαν σχεδόν στο διπλάσιο οι ενώσεις φτάνοντας τις 49. Οι κύριες ουσίες παρέμειναν στα ίδια ποσοστά με τη γερανιάλη να κατέχει το 31,0% και τη νεράλη το 27,1%. Η σπαθουλενόλη και το οξείδιο του καρυοφυλλενίου μειώθηκαν σε ποσοστό 0,8% ενώ η α-τερπινεόλη αυξήθηκε κατά 7 φορές (8,3%). Επίσης η ευκαλυπτόλη μειώθηκε κατά 4,5 φορές φτάνοντας από το 3,6% στο 0,8%. Αντιθέτως το λιμονένιο δεν ανιχνεύθηκε καθόλου στο υδρόλυμα ενώ στο έλαιο ήταν τέταρτο σε ποσοστό περιεκτικότητας.

Όταν χρησιμοποιούνται αιθέρια έλαια για την αντιμετώπιση κάποιων επιβλαβών οργανισμών πολλές φορές μπορεί να υπάρχουν παρενέργειες σε οργανισμούς μη στόχους όπως είναι αρπακτικά έντομα, έντομα επικονιαστές ή ακόμη και το ίδιο το φυτό που κάνουμε την επέμβαση. Επομένως η φυτοτοξικότητα είναι ένα κεφάλαιο που θα πρέπει να εξεταστεί εκτενώς πριν βγει στην αγορά ένα φυτικό σκεύασμα κατά των εντόμων ή των ακάρεων. Στην παρούσα εργασία η μεγαλύτερη συγκέντρωση αιθερίου ελαίου ρίγανης (0,16%) έδειξε να επηρεάζει τα φυτά φασολιάς (*Phaseolus vulgaris* L.) σε ποσοστό 10% περισσότερο από τον μάρτυρα. Αυτό φαίνεται και από άλλες έρευνες καθώς μελετήθηκε η τοξική δράση του αιθερίου ελαίου ρίγανης σε δόσεις των 16  $\mu\text{L}$ , 97  $\mu\text{L}$ , 256  $\mu\text{L}$  και 610  $\mu\text{L}$  και παρατηρήθηκε μειωμένη ανάπτυξη και απόδοση των φυτών στις τρεις μεγαλύτερες συγκεντρώσεις, ενώ στη μικρότερη (16  $\mu\text{L/L}$ ) δεν προκάλεσε καμία ζημιά (Wogiatzi et al., 2014). Επιπλέον, έλαιο ρίγανης σε δόση 1,25 mg/mL είχε ανασταλτική δράση σε φυτά μαρουλιού και κάρδαμου. Σε φυτά *Ailanthus altissima* δοκιμάστηκαν 14 έλαια εκ των οποίων και έλαιο της ρίγανης το οποίο μαζί με το έλαιο του δενδρολίβανου έδειξε υψηλή θνησιμότητα (Karalija et al., 2020). Έχει αποδειχθεί ότι η παρουσία οξυγονωμένων μονοτερπενίων, όπως είναι η θυμόλη και η καρβακρόλη, συνδέεται με ισχυρή φυτοτοξική δράση (Amri et al., 2013). Ωστόσο σε άλλες μελέτες έχει αναφερθεί ότι το έλαιο ρίγανης δεν έχει τοξική δράση όταν βρίσκεται σε συγκέντρωση 5000 mg/L (Badawy et al., 2018).

Και τα δύο έλαια κατά την πειραματική διαδικασία επί των ωών του *Tuta absoluta* δεν διέφεραν πολύ ως προς την τοξική τους δράση. Συγκεκριμένα το έλαιο της μέντας σε όλες τις συγκεντρώσεις που δοκιμάστηκε (0,02%; 0,06%; 0,08%; 0,16%) έδειξε παρόμοια ποσοστά εκκόλαψης με τους μάρτυρες του νερού και του γαλακτωματοποιητή. Τα ωά δεν φάνηκαν ευαίσθητα ούτε στο έλαιο της ρίγανης, με το ποσοστό εκκόλαψης να ανέρχεται στο 84%, 94% και 86% αντίστοιχα στις συγκεντρώσεις 0,02%, 0,06%, και 0,08%. Ωστόσο στην μεγαλύτερη συγκέντρωση (0,16%) του αιθερίου ελαίου τα ωά επηρεάστηκαν και το ποσοστό μειώθηκε στο 56% χωρίς όμως να διαφέρει σημαντικά από τον γαλακτωματοποιητή.

Αναζητήθηκαν μελέτες για την δράση των αιθερίων ελαίων μέντας και ρίγανης έναντι των ωών του εχθρού της τομάτας *T. absoluta* αλλά η βιβλιογραφία ήταν

περιορισμένη. Ωστόσο υπάρχει μελέτη κατά την οποία εξετάζεται η επίδραση των ελαίων λεβάντας, μαϊντανού και γαρύφαλλου αλλά και των ενώσεων σινεόλης, ευγενόλης και ισο-ευγενόλης σε ωά *Tuta absoluta*. Η λεβάντα και η σινεόλη δεν εμφάνισαν τοξικότητα ως προς τα ωά του εντόμου. Αντιθέτως το έλαιο του μαϊντανού, η ευγενόλη και η ισο-ευγενόλη μείωσαν έως και 100% την εκκόλαψη των ωών σε συγκέντρωση 30  $\mu\text{L}/100\text{ mL}$  νερού, ενώ παρατηρήθηκε ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση των ελαίων τόσο μειώνεται το ποσοστό εκκόλαψης (Moawad, Ebadah and Mahmoud, 2013). Οι Pinto, Vella και Agro (2019) έλαβαν θετικά αποτελέσματα όταν εξέτασαν τα αιθέρια έλαια βασιλικού, κυπαρισσιού, δάφνης, μέντας και ρίγανης έναντι προνυμφών του επιβλαβούς εντόμου *T. absoluta*. Το έλαιο βασιλικού σε συγκέντρωση 100  $\mu\text{L}/\text{mL}$  όταν ήρθε σε επαφή με τις προνύμφες του εντόμου αύξησε το ποσοστό θνησιμότητας σε 41,6% μέσα σε 2 ημέρες από την επέμβαση. Επιπλέον, η δόση 0,5  $\mu\text{L}/\text{mL}$  αιθερίου ελαίου ρίγανης προκάλεσε 43,8% θνησιμότητα, ενώ αυξήθηκε σε ποσοστό 100% όταν η συγκέντρωση έγινε 3  $\mu\text{L}/\text{mL}$ . Από αυτό προκύπτει το συμπέρασμα ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του αιθερίου ελαίου τόσο αυξάνεται και το ποσοστό θνησιμότητας. Με το έλαιο της μέντας δεν καταγράφηκε σημαντική μείωση του πληθυσμού των προνυμφών, ενώ υπήρξε μικρή μείωση (13%) στο έλαιο της δάφνης συγκέντρωσης 100  $\mu\text{L}/\text{mL}$ .

Το αιθέριο έλαιο της μέντας εξετάστηκε για την αποτελεσματικότητά του ως ακαρεοκτόνο στα ενήλικα άτομα του *T. urticae*. Το έλαιο επέφερε μεγαλύτερη συγκριτικά θνησιμότητα (60%) στη συγκέντρωση 0,06% σε σχέση με τις άλλες συγκεντρώσεις. Παρά ταύτα το ποσοστό δεν διέφερε στατιστικώς σημαντικά με τον μάρτυρα του γαλακτωματοποιητή που είχε ποσοστό θνησιμότητας 16%. Επίσης και η συγκέντρωση του 0,16% (v/v) έδειξε ότι έχει επίδραση μειώνοντας το ποσοστό του πληθυσμού κάτω από το 50% και πιο συγκεκριμένα φτάνοντας στο 59%. Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με άλλες μελέτες όπου σε μορφή ατμών του αιθερίου ελαίου *Mentha piperita* με συγκέντρωση 15,86 mg/L αέρα μειώθηκε ο πληθυσμός των ατόμων *T. urticae* στο μισό (50%) και παρατηρήθηκε 100% απωθητική δράση. Σε μικρότερη συγκέντρωση από αυτή, το έλαιο *M. longifolia* εμφάνισε τοξική δράση και  $\text{LC}_{50} = 11,08\text{ mg/L}$  αέρα (Reddy & Dolma, 2017). Φαίνεται ότι τα φυτά του γένους

*Mentha* προκαλούν τοξικότητα στα άτομα του *T. urticae* καθώς και το *Mentha spicata* παρουσίασε LC<sub>50</sub> και LC<sub>90</sub> σε συγκεντρώσεις 1,3 μL/L αέρα και 16,9 μL/L αέρα, αντιστοίχως (Pavela et al., 2016).

Η πειραματική διαδικασία ελέγχου της δράσης του αιθερίου ελαίου ρίγανης στο *Tetranychus urticae* επέφερε σημαντικά αποτελέσματα σε όλες τις συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν εκτός από την χαμηλότερη (0,02%) που ακόμη και την τελευταία μέρα το ποσοστό επιβίωσης ήταν υψηλό (63%). Στις υπόλοιπες μεταχειρίσεις το ποσοστό επιβίωσης ήταν αρκετά χαμηλό φτάνοντας κοντά στα ποσοστά θνησιμότητας του ακαρεοκτόνου, ενώ παρατηρήθηκε και ένας θετικός συσχετισμός μεταξύ της συγκέντρωσης του ελαίου και του ποσοστού θνησιμότητας. Η συγκέντρωση 0,16% έδωσε εξαιρετικά αποτελέσματα για την αντιμετώπιση του *T. urticae* αφού το ποσοστό επιβίωσης του πληθυσμού ήταν της τάξης του 26%. Σύμφωνα με τα παραπάνω, συμπεραίνεται ότι η υψηλή δράση του αιθερίου ελαίου στα ενήλικα άτομα του ακάρεως θα μπορούσε να αξιοποιηθεί ως ένας περιοριστικός παράγοντας της ανάπτυξης των προσβολών του επιβλαβούς πολυφάγου ακάρεως.

Αυτό έρχεται να επιβεβαιώσει και μία άλλη μελέτη που πραγματοποιήθηκε εμβαπτίζοντας ενήλικα θηλυκά άτομα σε έλαιο ρίγανης εμφανίζοντας LC<sub>50</sub> σε συγκέντρωση 67,8 mg/L. Στην ίδια έρευνα το έλαιο ρίγανης σε μορφή καπνού εμφάνισε την δεύτερη υψηλότερη τοξικότητα με 8,52 mg/L αέρα για την μείωση του 50% του πληθυσμού. Η πρώτη ένωση ήταν η πουλεγόνη που μείωσε τον πληθυσμό του ακάρεως στο 50% με 3,81 mg/L αέρα, ενώ το λιμονένιο ερχόταν τρίτο με 10,32 mg/L αέρα (Badawy et al., 2018). Παρόμοια συμπεράσματα εμφάνισε και προηγούμενη μελέτη της ερευνητικής ομάδας όταν άλλα μονοτερπενια και η μενθόλη προκάλεσαν την υψηλότερη τοξικότητα με LC<sub>50</sub> σε συγκέντρωση 128,5 mg/L (Badawy et al., 2010). Παρατηρείται ότι η καπνιστική μέθοδος έχει καλύτερα αποτελέσματα καθώς επηρεάζει άμεσα το αναπνευστικό σύστημα των ακάρεων (Kim et al., 2003).

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν ο χημικός προσδιορισμός των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων των φαρμακευτικών - αρωματικών φυτών δενδρολίβανου, μέντας, ρίγανης, λουίζας και χαμομηλιού καθώς και η αξιολόγηση της τοξικής δράσης των ελαίων της μέντας και της ρίγανης έναντι



των εχθρών των κηπευτικών καλλιεργειών *T. absoluta* και *T. urticae*. Με βάση λοιπόν τον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό των συστατικών των αιθερίων ελαίων και των υδρολυμάτων των συγκεκριμένων φυτών, καταλήξαμε ότι η ρίγανη της Καλαμάτας έχει πολύ μεγάλη απόδοση ελαίου σε σχέση με τα αναφερόμενα φυτά ρίγανης της βιβλιογραφίας, όπως και ότι κάποια συστατικά ανιχνεύονται σε μεγαλύτερη συγκέντρωση στα υδρολύματα απ' ό,τι στα αιθέρια έλαια λόγω της πολικότητάς τους. Η χημική σύσταση των ελαίων και των υδρολυμάτων των φυτών της περιοχής της Καλαμάτας διέφερε από αυτή των φυτών άλλων περιοχών που είχαν αναφερθεί στη βιβλιογραφία. Επίσης, όσον αφορά την τοξική δράση των αιθερίων ελαίων της μέντας και της ρίγανης φάνηκε ότι όσο αυξάνεται η συγκέντρωση των ελαίων στο διάλυμα, τόσο μεγαλύτερο είναι το ποσοστό θνησιμότητας του *T. urticae* ή μικρότερο το ποσοστό εκκόλαψης του *T. absoluta*. Το έλαιο της ρίγανης εμφάνισε μεγαλύτερη τοξικότητα από το έλαιο της μέντας και στους δύο εχθρούς με σημαντικά αποτελέσματα στην εκκόλαψη του εντόμου *T. absoluta*.

Συνοψίζοντας, αξίζει να τονιστεί ότι το αιθέριο έλαιο και το υδρόλυμα της ρίγανης έδειξαν πολύ καλό χημικό προφίλ που συμβάλει αποτελεσματικά στη μείωση της εκκόλαψης των ωών του εντόμου – εχθρού. Θα ήταν ενδιαφέρον να πραγματοποιηθούν περαιτέρω πειράματα σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις του ελαίου ρίγανης ή σε συνδυασμό με άλλα αιθέρια έλαια και σε μεγαλύτερη κλίμακα. Ακόμη, κρίνεται σκόπιμο να αναφερθεί πως θα είχε ιδιαίτερη σημασία η αξιολόγηση της δραστικής ικανότητας των υδρολυμάτων έναντι των εχθρών *T. absoluta* και *T. urticae*.

## Βιβλιογραφία

Adamou H., Adamou B., Garba M., Oumarou S., Abou M., Kimba A. and Delmas P. (2016). **Confirmation of the presence of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidea) in Niger (West Africa)**. International Journal of Science, Environment and Technology, 5(6): pp. 4481-4486

Agostini F., Santos A.C.A., Rossato M., Pansera M.R., Santos P.L., Serafini L.A Molon R. and Moyna P. (2009). **Essential oil yield and composition of Lamiaceae species growing in Southern Brazil**. Archives of Biology and Technology, 52(2): pp. 473-478

Ali A., Chua B.L., and Clow Y.H. (2019). **An insight into the extraction and fractionation technologies of the essential oils and bioactive compounds in *Rosmarinus officinalis* L.: Past, present and future**. TrAC Trends in Analytical, 118: pp. 338-351

Alipour M. and Saharkhiz M. J. (2016). **Phytotoxic activity and variation in essential oil content and composition of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) during different phenological growth stages**. Biological and Agricultural Biotechnology, 7: pp. 271-278

Alseadi G., Ashouri A. and Talaei-Hassanlou R. (2017). **Evaluation of *Bacillus thuringiensis* to control *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidea) under laboratory conditions**. Agricultural Sciences, 8: pp. 591-599

Angioni A., Barra A., Cereti E., Barile D., Coisson J. D., Arlorio J., Dessi S., Coroneo and Cabras P. (2004). **Chemical composition, plant genetic differences, antimicrobial and antifungal activity investigation of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(11): pp. 3530-3535

Arsanjani Z.N., Etemadfard H. and Moein M., (2020). **Comparative chemical evaluation of commercially available mint hydrosols produced in Fars province, Iran**. Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences, 9(1): pp. 52-58

Attia S., Grissa K.L., Lognar G., Bitume E., Hance T. and Mailleux A.C. (2013). **A review of the major biological approaches to control the worldwide pest *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) with special reference to natura pesticides**. Biological approaches to control *Tetranychus urticae*. Journal of Pest Science, 86: pp. 361-386

Ayoughi F., Marzagar M., Sahari M.A. and Naghdibadi H. (2011). **Chemical compositions of essential oils of *Artemisia dracunculus* L. and endemic *Matricaria chamomilla* L. and an evaluation of their antioxidative effect**. Journal of Agricultural Science and Technology, 13(1): pp. 79-88

Badaww M.E.I., El-Arami S.A.A. and Abdelgaleil S.A.M. (2010). **Acaricidal and quantitative structure activity relationship of monoterpenes against the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae***. Experimental and Applied Acarology, 52: pp. 261-274.

- Badawy M.E.I., Abdelgaleli S.A.M, Mahmoud N., Marei A.E.-S. (2018). **Preparation and characterizations of essential oil and monoterpene nanoemulsions and acaricidal activity against two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae* Koch).** International Journal of Acarology, 44(7): pp. 330-340
- Bahramsoltani R., Rostamiasrabadi P., Shahpiri Z., Marques M.A., Rahimi R. and Farzaei M.H. (2018) ***Aloysia citrodora* Paláu (Lemon verbena) review of phytochemistry and pharmacology.** Journal of Ethnopharmacology. 222: pp. 34-51
- Bakkali F., Averberk S., Averbeck D. and Idaomar M. (2008). **Biological effects of essential oils – A review.** Food and Chemical Toxicology, 46(2): pp. 446-475
- Bartle K. and Myers P. (2002). **History of gas chromatography.** TrAC Trends in Analytical Chemistry, 21(9-10): pp. 547-557
- Barreto H.M., Filho E.C.S., Lima E.O., Coutinho H.D.M., Morais-Braga M.F.B., Tavares C.C.A., Tintino S.R., Rego J.V., Abreu A.P.L., Gomes Lustosa M.C., Oliveira R.W.G., Cito A.M.G.L. and Lopes J.A.D. (2014). **Chemical composition and possible use as adjuvant of the antibiotic therapy of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L.** Industrial Crops and Products, 59: pp. 290-294
- Bayraz N. and Özcan M. (2005). **Antifungal effect of some spice hydrosols.** Fitoterapia, 76(7-8): pp. 661-665
- Behnam S., Farzaneh M., Ahmadzadeh M. and Tehrani A.S. (2006). **Composition and antifungal activity of essential oils of *Mentha piperita* and *Lavendula angustifolia* on post-harvest phytopathogens.** Communicationd in Agricultural and Applied Biological Sciences, 71(3): pp. 1321-1326
- Benello G. Pavela R., Petrellii R. Cappellacci L., Santini G., Fiorini D., Sut S. Dall'Acqua S., Canale A. and Maggi F. (2018). **The essential oil from industrial hemp (*Cannabis sativa* L.) by-products as an effective tool for insect pes management in organic crops.** Ind. Crops Products, 122: pp. 308-315
- Benchikha N., Djiazi F. and Lanez T. (2008). **Chemical composition and in vitro antimicrobial activity of essential oils of *Mentha piperita*.** Journal of Pharmacy and Chemistry
- Biondi A., Guedes R. N. C, Wan F.-H. and Desneux N. (2018) **Ecology, worldwide spread, and management of the invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*: past, present, and future.** Annual Review of Entomology, 63: pp. 239-258
- Borges R.S., Ortiz B.L.S., Pereira A.C.M., Keita H. and Carvalho J.C.T. (2019) ***Rosmarinus officinalis* essential oil: a review of this phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved.** Journal of Ethnopharmacology, pp. 29-45
- Briggs C. (1993). **Peppermint: medicinal herb and flavouring agent.** CPJ, 126: pp. 89-95

Cai X., Luo Z., Lui Y., Chu B., Bian L., Li Z., Xin Z. and Chen Z. (2020). **Primary screening and application and repellent plant volatiles to control tea leafhopper, *Empoasca onukii* Matsuda**. Past Management Science, 76(4): pp. 1304-1312

Calmasur O., Aslan I. and Sahin F. (2006). **Insecticidal and acaricidal effect of three Lamiaceae plant essential oils against *Tetranychus urticae* Koch and *Bemisia tabaci* Genn.** Industrial crops and Products, 23(2): pp. 140-146

Catty S. (2001). **Hydrosols: The Next Aromatherapy**. Rochester: Healing Art Press, pp. 9-10,12,28

Chishti S., Kaloo Z.A., Sultan P. (2013). **Medicinal importance of genus *Origanum*: a review**. Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy, 5(10): pp. 171-177

Clench M.R. and Tetler L.W. (2000). **Detectors: Mass Spectrometry**. In: **Wilson I., Poole C. and Cooke M. (eds)**. Encyclopedia of Separation Science. Academic Press, San Diego, California, pp. 4502

Cloyd R.A. (2007). **Management of plant- feeding mites in interior plantscapes**. Pest Technology 1(1): pp. 27-32

Das M., Mallavarapu G.R. and Kumar S. (1998). **Chamomile (*Chamomille Recutita*): Economic botany, biology, chemistry, domestication, and cultivation**. Journal of Medicinal Plant Sci.. pp. 1074-1109

Derwich E., Benziane Z. and Boukir A. (2010). **Antibacterial activity and chemical composition of the leaf essential oil of *Mentha rotundifolia* from Morocco**. Electronic Journal Environ Agric Food Chem., 9: pp. 19-28

Derwich E., Benziane Z. and Boukir A. (2010). **Antibacterial activity and chemical composition of the leaf essential oil of *Mentha rotundifolia* from Morocco**. Electronic Journal Environ Agric Food Chem., 9: pp. 19-28

Desneux N., Wajnberg E., Wyckhuys K.A.G., Burgio G., Arpaia S., Narváez-Vasquez C.A., González-Cabrera J., Ruescas D.C., Tabone E., Frandon J., Pizzol J., Poncet C., Cabello T. and Urbaneja A. (2010). **Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic**. Journal of Pest Science, 83: pp. 197-215

Drinic Z., Pljevljakusic D., Zivkovic J. Bigovic D. and Savikin K. (2020). **Microwave-assisted extraction of *O. vulgare* L. spp. *hirtum* essential oil: comparison with conventional hydro-distillation**. Food and Bioproducts Processing, 140: pp. 158-165

Elechosa A.M., Lira L. P., Juarez A.M., Viturro I.C., Heit I.C., Molina C.A., Martinez J.A., Lopez S., Molina M.A., Van Baren M.C. and Bandoni L.A. (2017). **Essential oil chemotypes of *Aloysia citrodora* (*Verbenacea*) in northwestern Argentina**. Biochemical Systematics and Ecology, 74: pp. 19-29

Farhat A., Benmossa H., Bachoual R., Nasfi Z., Elfallen W., Romdhane M. and Bouajila J. (2017). **Efficiency of the optimized microwave assisted extractions on the yield, chemical**

**composition, and biological activities of tunisian *Rosmarinus officinalis* L. essential oil.** Food and Bioproducts Processing, 105: pp. 224-233

Filho M.M., Vilela E.F., Jham G.N., Attygalle A., Svatos A. and Meinwald J. (2000). **Initial studies of mating disruption of the tomato moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) using synthetic sex pheromone.** Journal of the Brazilian Chemical Society. 11(6): pp. 621-628

Fraj A., Jaafar F., Matri M., Coderch L. and Ladhari N. (2019). **A comparative study of oregano (*Origanum vulgare* L.) essential oil-based polycaprolactone nanocapsules/microspheres: Preparation, physicochemical characterization, and storage stability.** Industrial Crops and Products, 140: 111669

Franklin L.U., Cunnington G.D. and Young D. (2001). **Terpene based pesticide treatments for killing terrestrial arthropods including, amongst others. Lice, lice eggs, mites and ants.** Google Patents

Franz C. and Novak J. (2010). **Sources of essential oils.** In: Baser, K.H.C. and Buchbauer, G. (eds.). **Handbook of essential oils. Science, technology and applications.** CRC Press, Boca Raton, United States of America, pp. 991

Gong H.Y., Liu W.H., Lv G.Y. and Xiaoying Zhou (2014). **Analysis of essential oils of *Origanum vulgare* from six production areas of China and Pakistan.** Revista Brasileira de Farmacognosia, 24(1): pp. 25-32

Govindarajan M. Rageeswary M., Hoti S.L. and Benelli G. (2016). **Larvicidal potential of carvacrol and terpinene-4-ol from the essential oil of *Origanum vulgare* (Lamiaceae) against *Anopheles stephansi*, *Anopheles subpictus*, *Culex quinquefasciatus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae).** Research in Veterinary Science, 104: pp. 77-82

Graßmann J. (2005). **Terpenoids as plant antioxidants.** Vitamins & Hormones, 72: pp. 505-535

Greuter W., Brautigam S., Kirschner J. and Stepanek J. (2008). **Med-Checklist. A Critical inventory of vascular plants of the circum- mediterranean countries.** OPTIMA, Berlin

Grulova D., De Martinoo L., Mancini E., Salamon I. and De Feo V. (2015). **Seasonal variability of the main components of *Mentha x piperita* L.** Journal of the Science of Food and Agriculture, 95(3): pp. 621-627

Harizanova V., Stoeva A. and Mohamedova M. (2009). **Tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Pololny) (Lepidoptera: Gelechiidae) – first record in Bulgaria.** Agricultura Science and Technology, 1(3): pp. 95-98

Hashemi S.M.B., Khaneghah A.M., Koubaa M., Barba F.J., Abedi E., Niakousari M. and Tavakoli J. (2018). **Extraction of essential oil from *Aloysia citriodora* Palau leaves using continuous and pulsed ultrasound: kinetics, antioxidant activity and antimicrobial properties.** Process Biochemistry, 65: pp. 197-204

Herrera J.M., Goni M.L. Ganan N.A. and Zygadlo J.A. (2017). **An insecticide formulation of terpene ketones against *Sitophilus zeamais* and its incorporation into low density polyethylene films.** Crop Protection, 998: pp. 33-39

Heuskin S., Godin B., Leroy P., Capella Q., Wathelet J-P., Verheggen F., Haubruge E. and Lognay G., (2009). **Fast gas chromatography characterisation of purified semiochemicals from essential oils of *Matricaria chamomilla* L. (Asteraceae) and *Nepeta cataria* L. (Lamiaceae).** Journal of Chromatography A, pp. 2768-2775

Heywood V.H., Brummitt R.K., Culham A. and Seberg O. (2007) **Flowering plant families of the world.** Royal Botanic Gardens, Kew

Heywood H. V., Harborne B. J. and Turner B. L. (1977). **The Biology and chemistry of the Compositae.** Academic press Inc. U.S.

Ibanez M.D. and Blazquez M.A. (2018). **Phytotoxicity of essential oils on selected weeds: potential hazard on food crops.** Plants, 2(4): pp. 146-153

Ibanez M.D. and Blazquez M.A. (2020). **Phytotoxic effects of commercial essential oils on selected vegetable crops: cucumber and tomato.** Sustainable Chemistry and Pharmacy, 15: 100209

Javed M., Majeed M.Z., Ali M. and Afzal M. (2018). **Field efficacy of selected synthetic and botanical insecticides against *Lepidopterous Bores, Earias vittella* and *Helicoverpa armigera* (Lepodoptera: Noctuidea), on Okra (*Abelmoschus esculentus* (L.) Moench).** Pakistan Journal of Zoology, 50(6): pp. 2019-2028

Karadag A.E., Demirci B., Caskurlu A., Demirci F., Okur M.E., Orak D., Sipahi H. and Baser K.H.C. (2019). **In vitro antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and analgesic evaluation of *Rosmarinus officinalis* L. flower extract fractions.** South African Journal of Botany, 125: pp. 21-220

Karsholt O., Mutanen M., Lee S., and Kaila L. (2013). **A molecular analysis of the Gelechiidae (Lepidoptera, Gelechiidea) with an interpretative grouping of its taxa.** Systematic Entomology, 38(2): pp. 334-348

Khan M., Khan S.T., Khan N., Mahmood A., Al-Kedhairy A.A. and Alkathlan H.Z. (2018). **The composition of the essential oil and aqueous distillate of *Origanum vulgare* L. growing in Saudi Arabia and evaluation of their antibacterial activity.** Arabian Journal of Chemistry, 11(8): pp. 1189-1200

Kim S.-I., Yoon J.-S., Jung J.W., Hong K.-B., Ahn Y.-J. and Kwon H.W. (2010). **Toxicity and repellency of origanum essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidea) adults.** Journal of Asian- Pacific Entomology, 13(4): pp. 396-373

Kiran S. and Prakash B. (2015). **Toxicity and biochemical efficacy of chemically characterized *Rosmarinus officinalis* essential oil against *Sitophilus oryzae* and *Oryzaephilus surinamensis*.** Industrial Crops and Products, 74: pp. 817-823

- Kokkini A. and Vokou D. (1989). **Carvacrol-rich plants in Greece**. Flavour and Fragrance Journal, 4(1): pp. 1-7
- Kokkini S., Karagiannakidou V., Hanlidou E. and Vokou D. (1998). **Geographical and altitudinal distribution of the Lamiaceae in Greece**. Phytion, 28: pp. 215-228
- Kumar P., Mishra S., Malik A. and Satya S., (2011). **Insecticidal properties of Mentha species: A review**. Industrial Crops and products, 34(1): pp. 802-817
- Kunicka-Stycynska A., Smigielski K., Prusinowska R., Rajkowska K., Kusmider B. and Sikora M. (2015). **Preservative activity of lavender hydrosols in moisturizing body gels**. Letters in applied microbiology, 60(1): pp. 27-32
- Kumar S., Wahab N. and Warikoo R. (2011). **Bioefficacy of Mentha piperita essential oil against dengue fever mosquito Aedes aegypti L.** Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1(2): pp. 85-88
- Kwon D.H., Clark and Lee S.H. (2015). **Toxicodynamic mechanisms and monitoring of acaricide resistance in the two-spotted spider mite**. Pesti Biochem Physiol, 121: pp. 97-101
- Lee C.-J., Chen L.-G., Chang T.-L., Ke W.-M., Lo Y.-F. and Wang C.-C. (2011). **The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants**. Food Chemistry, 124 (3): pp. 833-841
- Linares B., Arraez-Roman D., Herrero M., Ibanez E., Segura- Carretero A. and Fernandez-Gutierrez A. (2011). **Comparison of different extraction procedures for the comprehensive characterization of bioactive phenolic compounds in Rosmarinus officinalis by reversed-phase high-performance liquid chromatography with diode array detection coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry**. Journal of Chromatography A, 1218 (42): pp. 7882-7690
- Lis-Balchin M., Deans S.G. and Hart S. (1997). **A study of the variability of commercial peppermint oils using antimicrobial and pharmacological parameters**. Medical Science Research, 25: pp. 151-152
- Lukas B., Schmiderer C. and Novak J. (2013). **Phytochemical diversity of Origanum vulgare L. subsp. Vulgare (Lamiaceae) from Austria**. Biochemical Systematics and Ecology, 50: pp. 106-113
- Mahdavi B., Ghorat F., Nasrollahzadeh M.S., Hosseini-Tabar M. and Rezaei-Seresht H. (2020). **Chemical composition, antioxidant, antibacterial, cytotoxicity, and hemolyses activity of essential oils from flower of Matricaria chamomilla var. Chamomilla**. Anti-infective Agents, 18(3): pp. 224-232 (9)
- Mahdavia F. and Saharkhiz M.J. (2015). **Phytotoxic activity of essential oil and water extract of peppermint (Mentha x piperita L. CV. Mitcham)**. Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2(4): pp. 146-153

Meck E.D., Walgenbach J.F. and Kennedy G.G. (2012) **Association of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) feeding and gold fleck damage on tomato fruit.** Crop Protection, 42: pp. 24-29

Miresmaili S, Bradbury R. and Isan M.B. (2006). **Compactive toxicity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil and Blends of its major constituents against *Tetranychus urticae*. Koch (Acari: Tetranychidae) on two different host plants.** Pest Management Science: Formerly Pesticide Science, 62: pp. 366-371

Mkonyi L., Rubanga D. Richard M., Zekeya N., Sawahiko S., Maiseli B. and Machuve D. (2020). **Early identification of *Tuta absoluta* in tomato plants using deep learning.** Scientific Africa, 10: e00590

Moawad S.S., Ebadah M.A. and Mahmoud Y.A. (2013). **Biological and histological studies on the efficacy botanical and commercial oils on *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae).** Egyptian Journal of Biological Pest Control, 23(2): pp. 301-308

Molinaro F., Mozzetti Monterumici C., Ferrero A., Tabasso S. and Negre M. (2016). **Bioherbicidal activity of a germacranolide sesquiterpene dilactone from *Ambrosia artemisiifolia* L.** Journal of Environmental Science and Health Part B Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes, 51: pp. 847-852

Momen F.M., Amer S.A.A. and Refaat A.M. (2001). **Influence of mint and peppermint on *Tetranychus urticae* and some predacious mites of the family Phytoseiidae (Acari: Tetranychidae: Phytoseiidae).** Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica, 36(1-2): pp. 143-153

Morhardt S. and Morhardt J. E. (2004). **California desert flowers: An introduction to families, genera, and species.** University of California Press, pp. 295

Morteza- Semnani K., Saeedi M. and Akbarzadeh M., (2011). **Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Mentha pulegium* L.** Essent Oli Bearing Plants, 14: pp. 208-213

Mrid R.B., Bermrid B., Hafsa J., Boukcim H., Sobeh M. and Yasri A. (2021). **Secondary metabolites as biostimulant and bioprotectant agents: A review.** Science of The Total Environment, 777: 146204

Murray ND M.T. (2020). **94 – *Mentha piperita* (Peppermint).** Textbook of Natural Medicine (Fifth Edition), pp. 713-715 e.1

Ndereyimana A., Nyalala S., Murerva P. and Gaidashova S., (2020). **Field efficacy of entomopathogens and plant extracts on *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) infesting tomato in Rwanda.** Crop Protection, 134: 105183

Nilahyane A., Bouharroud R., Hormatallah A. and Taadaouit N.A. (2012). **Larvicidal effect of plant extracts on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae).** IOBC/WPRS Bull, 80: pp. 305-310

Oliveira A.A., Franca L.P., Ramos A. de S., Ferreira J.L.P., Maria A.C.B., Oliveria K.M.T., Araujo Jr E. S., da Silva J.N., Branches A.D.S., Barros G.A., Silva N.G., Tadei W.P., Amaral A.C.F. and



Andreas Silva J.R. (2021). **Larvicidal, adulticidal and repellent activities against *Aedes aegypti* L. of two commonly used spices, *Origanum vulgare* L. and *Thymus vulgaris* L.** South African Journal of Botany, 140: pp. 17-24

Oualdi I., Brahmi F., Mokhtari O., Adbellaoui S., Tahani A. and Oussaid A. (2021). ***Rosmarinus officinalis* from Morocco, Italy and France: Insight into chemical compositions and biological properties.** Materialstoday PROCEEDINGS, 45(8): pp. 7706-7710

Oukerrou M.A., Tilaoui M., Mouse H.A., Leouifoudi I., Jaafari A. and Ziad A. (2017). **Chemical composition and cytotoxic and antibacterial activities of the essential oil of *Aloysia citriodora* Palau Grown in Morocco.** Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences

Pandey A.K., Kumae P., Tripathi N.N. and Bajpai V.K. (2017). **Essential oils: sources of antimicrobials and food preservatives.** Frontiers in Microbiology, 7: 2161

Papadimitriou Dimitris M., Petrakis Eleftherios A., Arvaniti Konstantina A., Kimbaris Athanasios C., Perdakis Dionyssios Ch. (2019). **Comparative bioactivity of essential oils from two *Mentha pulegium* (Lamiaceae) chemotypes against *Aphis gossypii*, *Aphis spiraecola*, *Tetranychus urticae* and the generalist predator *Nesidiocoris tenuis*.** Phytoparasitica, 47: pp.683-692

Pavela R., Stepanycheva E., Schenikova A., Chermenskaya T. and Petrova M. (2016). **Essential oils as prospective fumigants against *Tetranychus urticae* Koch.** Industrial Crops and Products, 94: pp. 755-761

Pekas A. (2009) **Βιολογική καταπολέμηση στη Γεωργία: πραγματικότητα ή ουτοπία;** Περιοδικό Γεωργία- Κτηνοτροφία

Petrakis Eleftherios A., Kimbaris Athanasios C., Perdakis Dionyssios Ch., Lykouressis Dionyssios P., Tarantilis Petros A., Polissiou Moschos G. (2014). **Responses of *Myzus persicae* (Sulzer) to three Lamiaceae essential oils obtained by microwave-assisted and conventional hydrodistillation.** Industrial Crops and Products, 62: pp. 272-279

Pinto M.L., Vella L. and Agro A. (2019). **Investigations on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechoodea): larvae infestation on the tomato cultivated in open field evaluation of five essential oils against larvae in laboratory.** International Journal of Entomology Research, 4(4): pp. 07-14

Pirzad A., Alyari H., Shakiba M.R., Zehtab-Salmasi S. and Mohammedi A. (2006). **Essential oil content and composition of german chamomile (*Marticaria chamomilla* L.) at Different Irrigation Regimes.** Journal of Agronomy, 5(3): pp. 451-455

Prybylski M., Weinmann W. and Fligge T.A. (2003). **Mas spectrometry.** In: Gauglitz G. and Vo-Dinh T. (eds). Handbook of Spectroscopy. Wiley- VCH, Weinheim, Germany, pp. 538

Prusinowska R., Śmigielski K., Stobiecka A. and Kunicka- Styczyńska A. (2015). **Hydrolates from lavender (*Lavandula angustifolia*) – their chemical composition as well as aromatic, antimicrobial and antioxidant properties.** Natural products research, pp. 386-393

- Reddy D., Al-Rajab A.J., Sharma M., Moses M.M., Reddy G.R. and Al-Bratty M. (2019) **Chemical constituents, in vitro antibacterial and antifungal activity of *Mentha x Piperita* L. (peppermint) essential oils.** Journal of King Saud University-Science, 31(4): pp. 528-533
- Reddy S.G.E. and Dolma S.K. (2017). **Acaricidal activities of essential oils against two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* Koch.** Toxic Review. 37(1): pp. 62-66
- Rossni L., Severini M., Contarini M. and Speranza S. (2019). **A novel modelling approach to describe an insect life cycle vis-à-vis plant protection: description and application in the case study of *Tuta absoluta*.** Ecological Modelling, 409: pp. 108778
- Rustaiyan A. and Faridchehr A. (2021). **Constituents and biological activities of selected genera of the Iranian Asteraceae family.** Journal of Herbal Medicine, 25: 100405
- Sağdıç O. (2003). **Sensitivity of four pathogenic bacteria to Turkish thyme and oregano hydrosols.** LWT-food Science and Technology, 36(5): pp. 467-473
- Saharkhiz M.J., Motamedi M., Zomorodian K., Pakshir K., Miri R. and Hemyari K. (2012). **Chemical composition, antifungal and antibiofilm activities of the essential oil of *Mentha piperita* L.** International Scholarly Research Network ISRN Pharmaceutics 1: 718645
- Sandreepa A.R., Pradeep S., Thara KT. and Sridhara S. (2019). **Biology of *Tetranychus urticae* Koch (Acaria: Tetranychidea) on carnation under laboratory condition.** Journal of Entomology and Zoology studies, 7(1): pp. 1394-1398
- Santos Gardoso A., Santos E.G.G., Lima A.S. Temeyer K.B., Perez de Leon A., Costa Junior L.M. and Santos Soares A.M. (2020). **Terpenes on *Rhipicephalus (Boophilus) microplus*: Acaricidal activity and acetylcholinesterase inhibition.** Veterinary Parasitology, 280: 109090
- Santos M.L., Mahalhaes C.F., da Rosa M.B., de Assis Santos D., Brasileiro B.G., de Carvalho L.M. et al. (2014). **Antifungal activity of extracts from *Piper aduncum* leaves prepared by different solvents and extraction techniques against dermatophytes *Trichophyton rubrum* and *Trichophyton interdigitale*.** Brazilian Journal of Microbiology, 44(4); pp. 1275-1278
- Satyral P., Jones T., Lopez E., McFeeters R., Ali N. and Mansi I. (2017). **Chemotypic characterization and biological activity of *Rosmarinus officinalis*.** Foods, 6: pp.1-15
- Sharifi- Rad M., Nazaruk J., Polito L., Morais- Braga M.F.B., Janaina E., Continho H. Douglas M., Salehi B., Tabanel G., Montanari C., Del Mar Contreras M., Yousaf Z., Setzer N. W., Deepa R. V., Martorell M., Sureda A. and Sharifi-Rad J. (2018). **Matricaria genus as a source of antimicrobial agents: from farm to pharmacy and food applications.** Microbiological Research, 215: pp. 76-88
- Sharma S., Barkauskaite S., Jaiswal A.K. and Jaiswal S. (2021). **Essential oils as additives in active food packaging.** Food Chemistry, 343: 128403
- Silva F.V., Guimareas A.G., Silva E.R.S., Sousa-Neto B.P., Machado F.D.F., Quintians-Junior L.J., Arcanjo D.D.R., Oliveira F.A. and Oliveira R.C.M. (2012). **Anti-inflammatory and anti-ulcer activities of carvacrol, a monoterpene present in the essential oil of oregano.** Journal of Medicinal Food, 15: pp. 984-991

Singh O., Khanam Z., Misra N. and Srivastava M.K. (2011). **Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview**. Pharmacognosy Reviews, 5 (9): pp. 82-95

Singh R., Shushni M.A.M. and Belkheir A. (2015). **Antibacterial and antioxidant activities of *Mentha piperita* L.** Arabian Journal of Chemistry, 8(3): pp. 322-328

Skoog D.A., Holler F.J. and Crouch S.R. (2007). **Principles of instrumental analysis**. Thomson Books/Cole, pp. 1039

Sokovic M.D. Vukojevic J., Marin P.D., Brikic D.D., Vais V. and Van Griensven L.J.L.D. (2009). **Chemical composition of essential oils of thymus and mentha species and their antifungal activities**. Molecules, 14: pp. 238-249

Soltanbeigi A., Özgüven M. and Hassanpouraghdam M.B. (2021). **Planting-date and cutting-time affect the growth and essential oil composition of *Mentha x piperita* and *Mentha arvensis***. Industrial Crops and Products, 170: 113790

Stanojevic L.P., Marjanovic-Balaban Z.R., KAlaba V.D., Stanojevic J.S. and Cvetkovik D. (2018). **Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of chamomile flowers essential oil (*Matricaria chamomilla* L.)**. Journal of essential oil bearing plants, pp. 2017-2028

Sticher O. (2010). **Ätherische öle und Drogen, die ätherisches öl enthalten**. Pharmakognosie-phytopharmazie Springer, pp. 939-1050

Taherpour A.A., Khaef S., Yari A., Nikeafshar S., Fatho M. and Ghambari S. (2017). **Chemical composition analysis of the essentials oil of *Mentha piperita* L. from Kermanshah, Iran by hydrodistillation and HS/SPME methods**. Journal of Analytical Science and Technology, 8

Taiz L. and Zeiger E. (2010). **Plant Physiology**. Sinauer Associates, Sunderland, pp. 607-611

Teixeira B., Marques A., Ramos C., Serreno C., Matos O. Neng N. R., Nogueira J.M.F., Saraiva J.A. and Nunes M.L. (2013). **Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil**. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93(11): pp. 2707-2714

Tomi K., Kitao M., Konish N., Murakami H., Matsumura Y. and Hayashi T. (2016). **Enantioselective GC-MS analysis of volatile components from rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) essential oils and hydrosols**. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 80(5): pp. 840-847

Upadhyay R. K. and Patra D.D. (2016) **Influence of secondary plant nutrients (Ca and Mg) on growth and yield of chamomille (*Matricaria recutita* L.)**. Asian Journal Crop Sci., 3(3): pp. 151-157

Vallavan R., Chinappan G., Inbaraj K.C., Jayaraman D., Panneerselvan C. and Cheruvathur A.P. (2019). **Toxicity, antifeedant and biochemical efficacy of *Mentha piperita* L. essential oil and their major constituents against stored grain pest**. Pesticide Biochemistry and Physiology, 156: pp. 138-144

- Vasirian M., Mohammadi M., Farzaei M.H., Amim G. and Amanzadeh Y. (2015). **Chemical composition and antioxidant activity of *Origanum vulgare* subsp. *vulgare* essential oil from Iran.** Research Journal of Pharmacognosy, 2(1): pp.41-46
- Waller B.S., Cleff B.M., Serra F.E., Dos Reis Gomes A., De Mello J.R.B., De Faria R.O. and Meireles M.C.A. (2017). **Plants from Lamiaceae family as source of antifungal molecules in humane and veterinary medicine.** Microbial Pathogenesis, 104: pp. 232-237
- Wu S. and Chappell J. (2008). **Metabolic engineering of natural product in plants; tools of the trade and challenges for the future.** Current Opinion in Biotechnology, 19: pp. 145-152
- Wu Z., Xie L., Li Y., Wang Y., Wang X., Wan N., Huang X., Zhang X. and Yang M. (2019). **A novel application of the vacuum distillation technology in extracting *Origanum vulgare* L. essential oils.** Industrial Crops and products, 139: 111516
- Yadav B., Jogawat A., Rahman Md S. and Narayan O.P. (2021). **Secondary metabolites in the drought stress tolerance of crop plants: A review.** Gene Reports, 23: 101040
- Zengin H. and Baysal A.H. (2014). **Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy.** Molecules, 19: pp. 17779-17798
- Zhang G.-f., Ma D.-y., Wang Y.-s., Gao Y.-h., Liu W.-x., Shang R., Fu W.-j., Xian X.-q., Wang J., Kuang M. and Wan F.-h. (2020) **First repost of the South America tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick), in China.** Journal of Integrative Agriculture, 19(7): pp. 1912-1917
- Zhao Y., Yang Y.-H., Ye M., Wng K.-B., Fan L.-M. and Su F.-W. (2021). **Chemical composition and antifungal activity of essential oil from *Origanum vulgare* against *Botrytis cinerea*.** Food Chemistry, 356(15): 130506