

**«ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ»**  
**«Σχολή Γεωπονικών Επιστημών»**  
**«Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού**  
**Περιβάλλοντος»**  
**«Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών»**  
**«Αειφόρος Αγροτική Παραγωγή και Διαχείριση Περιβάλλοντος»**  
**«ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ»**

**«ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ»**

**«Τοξικές επιδράσεις συστατικών αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών σε ενήλικα της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)»**



**Μπαλή Ελευθερία-Μαρία**

**Βόλος 2016**

« Τοξικές επιδράσεις συστατικών αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών σε  
ενήλικα της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera:  
Tephritidae)»

Μπαλή Ελευθερία-Μαρία

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Επιβλέπων: Δρ. Παπαδόπουλος Νικόλαος (Καθηγητής Εφαρμοσμένης  
Εντομολογίας στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας).

Μέλος: Αθανασίου Χρήστος (Αναπληρωτής Καθηγητής Εντομολογίας στο  
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας).

Μέλος: Δρ. Παπαχρήστος Δημήτριος (Γεωπόνος Εντομολόγος στο Μπενάκειο  
Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο).

Copyright © ΜΠΑΛΗ ΕΛΕΥΘΕΡΙΑ-ΜΑΡΙΑ, 2016.

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας διατριβής, εξ' ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης.

Η έγκριση της Μεταπτυχιακής Διατριβής Ειδίκευσης από το τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δε δηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε κατά το έτος 2015 στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Στο κείμενο που ακολουθεί, εξετάζεται η επίδραση της τοξικότητας κάποιων συστατικών των αιθέριων ελαίων των εσπεριδοειδών στα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου. Παράγοντες όπως το είδος της τροφής, το φύλο και η ηλικία των εντόμων που χρησιμοποιήθηκαν, εξετάστηκαν σε συνδυασμό με διάφορες συγκεντρώσεις των προς αξιολόγηση συστατικών ώστε να ληφθούν τα αποτελέσματα και να εξαχθούν τα συμπεράσματα. Επιπλέον, στη μελέτη περιλαμβάνεται ένα κεφάλαιο με γενικές πληροφορίες για τη μύγα της Μεσογείου, τα αιθέρια έλαια των φυτών αλλά και τις μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις, ένα κεφάλαιο με τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν και τις μεθόδους που εφαρμόστηκαν, ένα κεφάλαιο με την παρουσίαση των αποτελεσμάτων και τέλος, η συζήτηση και τα συμπεράσματα που εξήχθησαν από την αξιολόγηση αυτών των αποτελεσμάτων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κύριο Παπαδόπουλο Νικόλαο, για την ανάθεση του θέματος της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης και την πολύτιμη καθοδήγησή του κατά τη διάρκεια της διεξαγωγής του πειράματος αλλά και κατά τη διάρκεια της συγγραφής της παρούσας μελέτης. Επιπλέον ευχαριστώ τον Αναπληρωτή καθηγητή κύριο Αθανασίου Χρήστο και τον Δρ Παπαχρήστο Δημήτριο, για την προσεκτική μελέτη και διόρθωση της παρούσας μεταπτυχιακής μελέτης. Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τη Δρα Παπαναστασίου Στέλλα για τη βοήθειά της τόσο στη λήψη και επεξεργασία των αποτελεσμάτων και στην κατανόηση της δομής και διεξαγωγής του πειράματος, όσο και στη συγγραφή της μελέτης αυτής. Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα Διονυσοπούλου Νικολέτα για τη συνδρομή της κατά τη διεξαγωγή της πειραματικής διαδικασίας.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα εργασία έγινε με σκοπό την μελέτη της τοξικότητας τριών συστατικών (λιμονένιο, α-πινένιο και λιναλοόλη) του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού σε ενήλικα της μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από τις εκτροφές του εργαστηρίου και ανήκαν στη φυλή του Μπενακείου. Στα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε σταθερές συνθήκες εργαστηρίου, εξετάστηκε η τοξικότητα των συγκεκριμένων συστατικών σε ενήλικα της μύγας της Μεσογείου σε σχέση με το φύλο, τη διατροφή και σε ένα από αυτά, σε σχέση με την ηλικία.

Πιο αναλυτικά, στην πρώτη πειραματική ενότητα μελετήθηκε η τοξικότητα της ακετόνης ώστε να εξακριβωθεί ότι δεν έχει κάποια επίδραση στα αποτελέσματα των επόμενων πειραμάτων. Συνοπτικά, έγινε εφαρμογή 2μL καθαρής ακετόνης στην κοιλιά ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου, τα οποία τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης. Αφού τοποθετήθηκαν ανά πέντε άτομα του ίδιου φύλου σε κλουβάκια, λαμβάνονταν μετρήσεις για τη θνησιμότητά τους κάθε μέρα για τις επόμενες 20 ημέρες. Σαν αποτέλεσμα, βρέθηκε ότι όντως η ακετόνη δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της τοξικότητας των τριών συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού και συμπερασματικά, η οφειλόμενη στην τοξικότητα αυτών των συστατικών θνησιμότητα επηρεάζεται μόνο από το φύλο και τη διατροφή των εντόμων. Ωστόσο, τα αρσενικά εμφάνισαν υψηλότερη θνησιμότητα από τα θηλυκά ανεξάρτητα από το είδος τροφής που δέχονταν, ενώ τα άτομα που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, έζησαν για μακρύτερο χρονικό διάστημα ανεξάρτητα από το φύλο.

Στη δεύτερη πειραματική ενότητα εξετάστηκε η τοξικότητα των τριών συστατικών του ελαίου σε ενήλικα 5-7 ημερών ώστε να προσδιοριστούν οι υποθανατηφόρες και θανατηφόρες δόσεις αυτών. Συνοπτικά χρησιμοποιήθηκαν αραιώσεις των συστατικών, οι οποίες εφαρμόστηκαν στα ενήλικα του εντόμου που τρέφονταν με μία από τις δύο διαφορετικές τροφές (ζάχαρη ή μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης). Η εφαρμογή έγινε όπως και στο πείραμα της ακετόνης (2 μL στην κοιλιά του κάθε εντόμου). Έπειτα τα ενήλικα χωρισμένα ανάλογα με το φύλο και τη διατροφή τους τοποθετήθηκαν ανά πέντε άτομα σε κλουβάκια και οι μετρήσεις για τη θνησιμότητα λαμβάνονταν στις 24-48 και 72 ώρες από την εφαρμογή (στην ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι μετρήσεις των 24 ωρών). Από τα

αποτελέσματα της τοξικότητας δεν προκύπτει με σαφήνεια ότι κάποιο από τα τρία συστατικά ήταν πιο τοξικό από τα υπόλοιπα. Ωστόσο εξάγεται το συμπέρασμα ότι η λιναλοόλη προκαλεί τη χαμηλότερη θνησιμότητα στα ενήλικα ανεξάρτητα από το φύλο και την τροφή που δέχονταν, ενώ η τοξικότητα του λιμονενίου και του α-πινενίου, επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την τροφή και το φύλο των εντόμων. Σε γενικές γραμμές τα αρσενικά σε σύγκριση με τα θηλυκά ήταν πιο ευαίσθητα στις τοξικές επιδράσεις των αιθέριων ελαίων.

Στην τρίτη πειραματική ενότητα, μελετήθηκε η επίδραση της υποθανατηφόρου δόσης του λιμονενίου στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου. Συνοπτικά, εφαρμόστηκε υποθανατηφόρος δόση (LD<sub>20</sub>) λιμονενίου σε ενήλικα που τράφηκαν με μία από τις δύο τροφές (ζάχαρη ή μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης). Η εφαρμογή ήταν και πάλι 2  $\mu$ L στην κοιλιά κάθε ενήλικου. Έπειτα τοποθετήθηκαν μεμονωμένα σε κλουβάκια όπου παρατηρούνταν ως το τέλος της ζωής τους. Για τα αρσενικά καταγραφόταν η ημερομηνία θανάτου, ενώ για τα θηλυκά καταγραφόταν τόσο η ημερομηνία θανάτου όσο και η ημερήσια ωοπαραγωγή των θηλυκών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα αρσενικά ζουν για μακρύτερο χρονικό διάστημα από τα θηλυκά ανεξάρτητα από την τροφή που δέχονταν ή την έκθεσή τους στο λιμονένιο σε σχέση με το μάρτυρα (ακετόνη). Επίσης φαίνεται ότι η διατροφή των εντόμων με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, επηρέασε θετικά τη μακροζωία αυτών σε σύγκριση με εκείνα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, ανεξάρτητα το φύλο και την έκθεση τους ή όχι στο λιμονένιο. Ακόμη, εξάγεται σαν συμπέρασμα ότι η έκθεση στην υποθανατηφόρο δόση του λιμονενίου προκαλεί αύξηση στη διάρκεια ζωής των ενηλίκων εντόμων ανεξάρτητα από την τροφή που δέχονταν, αυξάνοντας παράλληλα την ωοπαραγωγή των θηλυκών.

Στην τέταρτη και τελευταία πειραματική ενότητα έγινε συσχέτιση της υποθανατηφόρου δόσης και των τριών συστατικών (λιμονένιο, α-πινένιο και λιναλοόλη) με την ηλικία των εντόμων (5-10-15-20 ημέρες). Συνοπτικά, η εφαρμογή των υποθανατηφόρων δόσεων του λιμονενίου, του α-πινενίου και της λιναλοόλης έγινε σε ενήλικα που τρέφονταν με μία από τις δύο διαφορετικές τροφές (ζάχαρη ή μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης) όταν τα έντομα έφταναν στην κατάλληλη ηλικία. Η εφαρμογή ήταν και πάλι 2  $\mu$ L στην κοιλιά του κάθε ενήλικου. Στη συνέχεια, αυτά τοποθετούνταν ανά πέντε άτομα (ιδίου φύλου) σε κλουβάκια και οι μετρήσεις της θνησιμότητας καταγράφονταν στις 24-48 και 72 ώρες από την εφαρμογή (στην ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι μετρήσεις των 24 ωρών).

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι η θνησιμότητα από τα συστατικά λιμονένιο και α-πινένιο, επηρεάζεται σε πολύ μεγάλο βαθμό από το φύλο και τη διατροφή των ατόμων, ενώ στη λιναλοόλη δε φαίνεται να είναι σημαντική η επίδραση αυτών των παραγόντων. Στο λιμονένιο, όσο αυξάνεται η ηλικία των εντόμων, αυξάνεται και η θνησιμότητά τους ενώ στο α-πινένιο συμβαίνει το αντίθετο.

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι τα τρία συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού που εξετάστηκαν, είναι πολλά υποσχόμενες ουσίες για τη χρήση τους σε προγράμματα βιολογικής αντιμετώπισης της μύγας της Μεσογείου, λόγω της τοξικής τους δράσης έναντι των ενηλίκων. Ωστόσο, λόγω της μεγάλης παραλλακτικότητας των αποτελεσμάτων, το συγκεκριμένο αντικείμενο χρήζει περεταίρω έρευνας.

**Λέξεις κλειδιά:** λιμονένιο, α-πινένιο λιναλοόλη, υποθανατηφόρες δόσεις, θνησιμότητα.

## SUMMARY

The purpose of this research was to study the toxicity of 3 components (limonene, a-pinene and linalool) of orange's essential oil to Mediterranean fruit flies *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) adults. The insects used, came from the laboratory's breeding and were part of Benakeio race. During the experiments which were carried out in fixed laboratory conditions, the toxicity of those compounds was tested in adults of med fly in relation to sex, nutrition and in one case to age.

Thoroughly, in the first experiment, acetone's toxicity was studied in order to prove that it would not affect the results of following experiments. Briefly 2  $\mu\text{L}$  of pure acetone were applied on the abdomen of adult insects fed only with sugar or a mixture of sugar and protein. After placing per 5 individuals of the same sex in cages measurements for their mortality percentage were taking on a daily base for the next 20 days. As a result, it was proved that acetone does not indeed affect the results of the toxicity of the 3 compounds of orange's essential oil and in conclusion, the mortality due to the toxicity of those compounds is only affected by the insect's sex and nutrition. However the percentage of mortality was higher in males than in females regardless the nutrition they received, whereas individuals fed with sugar-protein mixture lived longer, regardless their sex.

During the second experiment the toxicity of the three compounds of the oil was tested on 5-7 days old adults in order to determine the sub lethal and lethal dose. Briefly, dilutions of the compounds were applied on adults who were fed with sugar or sugar-protein mixture. The application was as in the acetone experiment (2  $\mu\text{L}$  in each insect's abdomen). Afterwards the adults divided according to sex and nutrition were placed per 5 in cages and the mortality measurements were taken at the 24<sup>th</sup>, 48<sup>th</sup> and 72<sup>nd</sup> hour after the application (only the 24<sup>th</sup> hour measurements were taken into consideration in analyzing the results). From the toxicity results does not occur clearly that any of the three compounds was more toxic than the rest. However, we came to the conclusion that linalool causes lower mortality percentages to adults regardless their sex and nutrition, whereas the toxicity of limonene and a-pinene is highly affected by the insects' sex and nutrition. In general males were more sensitive to essential oil's toxic influence than females.



During the third experiment the effect of limonene's sub lethal dose on demographic characteristics of the adults of med fly was studied. Briefly, sub lethal dose (LD<sub>20</sub>) of limonene was applied on adults fed with sugar or sugar-protein mixture. The application was again 2 µL in each adult's abdomen. Then, they were placed singly in cages, where they were observed until the end of their lives. For males date of death was recorded, whereas for females date of death and daily fecundity were recorded. The results showed that males lived longer than females regardless their nutrition or their exposure to limonene in relation to the control (acetone). It also appears that the insects' nutrition with sugar-protein mixture affected positively their longevity compared to those who were fed only with sugar, regardless their sex and their exposure or non-exposure to limonene. Furthermore, we came to the conclusion that exposure to sub lethal dose of limonene increased the life span of adult insects, regardless their nutrition, increasing at the same time females' fecundity.

Finally, in the fourth experiment the sub lethal dose of all three compounds (limonene, a-pinene and linalool) and the insects' age (5-10-15-20 days) were correlated. Briefly, sub lethal doses of limonene, a-pinene and linalool were applied to adults fed with sugar or sugar-protein mixture when the insects reached the right age. The application was again 2 µL in each adult's abdomen. Then they were placed per five (of the same sex) in cages and mortality measurements were recorded in the 24<sup>th</sup>, 48<sup>th</sup> and 72<sup>nd</sup> hour after the application (only the 24<sup>th</sup> hour measurements were taken into consideration in analyzing the results). From the results occurs that mortality percentage due to the compounds limonene and a-pinene is highly affected by the sex and nutrition of the individuals, whereas by linalool those factors do not appear to have a serious effect. By limonene the older the insects are, the higher their mortality, whereas by a-pinene it is the exact opposite.

Based on the above results occurs that the 3 compounds of orange's essential oil that were tested, are highly promising substances concerning their use in programs of biological management of the med fly because of their toxic effect on adults. Nevertheless due to the variability of results, further research is required.

**Key words:** limonene, a-pinene, linalool, sub lethal dose, mortality.

«Εγώ, η Μπαλή Ελευθερία-Μαρία είμαι η συγγραφέας αυτής της Μ.Δ.Ε. Αυτή η Μ.Δ.Ε. αντικατοπτρίζει την έρευνα που έγινε από μένα και δεν έχει υποβληθεί (εξ ολοκλήρου ή μέρος της) σαν προπτυχιακή διατριβή ή Μ.Δ.Ε. ή ως μέρος Διδακτορικής Διατριβής σε αυτό ή άλλο Προπτυχιακό ή Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Ιδρυμάτων Τριτοβάθμιας Εκπαίδευσης του εσωτερικού ή εξωτερικού. Όποια συνεργασία καθώς και το μέγεθος αυτής δηλώνονται επακριβώς στο αντίστοιχο πεδίο αυτής της διατριβής. Επίσης έχω διαβάσει όλες τις βιβλιογραφικές αναφορές που παρατίθενται στο τέλος».

«Ως επιβλέπων της έρευνας που περιγράφεται σε αυτή τη διατριβή, δηλώνω ότι όλοι οι όροι του Εσωτερικού Κανονισμού του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος έχουν τηρηθεί από την κα Μπαλή Ελευθερία-Μαρία».

## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

|   |    |
|---|----|
| 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....  | 1  |
| 1.1 Η μύγα της Μεσογείου.....   | 1  |
| 1.1.1 Κατάταξη.....   | 1  |
| 1.1.2 Γενικά χαρακτηριστικά.....  | 1  |
| 1.1.3 Μορφολογία του εντόμου.....   | 2  |
| 1.1.4 Βιολογικός κύκλος.....  | 2  |
| 1.1.5 Αντιμετώπιση.....   | 3  |
| 1.2 Αιθέρια έλαια και έντομα.....   | 4  |
| 1.2.1 Αιθέρια έλαια.....  | 5  |
| 1.2.2 Αιθέρια έλαια ως εντομοκτόνα και απωθητικά.....   | 6  |
| 1.2.3 Αιθέρια έλαια ως προσελκυστικά.....   | 11 |
| 1.3 Αιθέρια έλαια και μύγα της Μεσογείου.....   | 12 |
| 1.3.1 Προσέλκυση διατροφή και παγίδευση.....  | 12 |
| 1.3.2 Ανταγωνιστικότητα στη σύζευξη.....  | 12 |
| 1.4 Αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών και μύγα της Μεσογείου.....   | 15 |
| 1.4.1 Συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού.....  | 15 |
| 1.4.2 Προσέλκυση.....   | 15 |
| 1.4.3 Ωτοκία.....   | 16 |
| 1.4.4 Τοξικότητα.....   | 18 |
| 1.5 Σκοπός της διατριβής.....   | 20 |
| 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....   | 23 |
| 2.1 Συνθήκες εργαστηρίου.....   | 23 |
| 2.2 Έντομα και εκτροφή.....   | 23 |
| 2.3 Χημικές ενώσεις.....  | 26 |
| 2.4 Μεταχείριση εντόμων.....  | 27 |
| 2.4.1. Βιοδοκιμή.....   | 28 |
| 2.5 Πείραμα 1:Τοξικότητα διαλύτη (ακετόνη).....   | 31 |
| 2.6 Πείραμα 2: Τοξικότητα του λιμονενίου, του α-πινενίου και της λιναλοόλης σε<br>ενήλικα της μύγας της Μεσογείου.....              | 32 |
| 2.7 Πείραμα 3: Επίδραση της υποθανατηφόρου δόσης λιμονενίου (LD <sub>20</sub> ) στα<br>δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων..... | 33 |
| 2.8 Πείραμα 4: Επίδραση της ηλικίας των ενηλίκων, στην τοξικότητα του   |    |

|   |    |
|---|----|
| λιμονενίου, του α-πινενίου και της λιναλοόλης.....  | 35 |
| 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....  | 37 |
| 3.1 Πείραμα 1:Τοξικότητα διαλύτη (ακετόνη).....   | 37 |
| 3.2 Πείραμα 2: Τοξικότητα βασικών συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού (λιμονένιο, α-πινένιο, λιναλοόλη).....                         | 43 |
| 3.2.1. Διαγράμματα επίδρασης της τροφής στη θνησιμότητα.....  | 43 |
| 3.2.2 Επίδραση του λιμονενίου, του α-πινενίου και της λιναλοόλης στη θνησιμότητα ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών ) της μύγας της Μεσογείου..... | 48 |
| 3.2.3 Εκτίμηση των LD <sub>20</sub> LD <sub>50</sub> και LD <sub>90</sub> .....   | 52 |
| 3.2.4 Βάρος.....  | 53 |
| 3.3 Πείραμα 3: Επίδραση υποθανατηφόρου δόσης λιμονενίου (LD <sub>20</sub> ) στα βιολογικά χαρακτηριστικά ενηλίκων.....                          | 55 |
| 3.4 Πείραμα 4: Επίδραση της ηλικίας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου στην τοξικότητα του λιμονενίου, του α-πινενίου και της λιναλοόλης..... | 65 |
| 3.4.1. Λιμονένιο.....   | 65 |
| 3.4.2 α-πινένιο.....  | 66 |
| 3.4.3 Λιναλοόλη.....  | 68 |
| 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....  | 71 |
| 4.1 Τοξικότητα συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού (λιμονένιο, α-πινένιο, λιναλοόλη) σε ενήλικα της μύγας της Μεσογείου.....         | 71 |
| 4.2 : Επίδραση υποθανατηφόρου δόσης λιμονενίου (LD <sub>20</sub> ) στα βιολογικά χαρακτηριστικά ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου.....           | 73 |
| 4.3 Σχέση ηλικίας και τοξικής επίδρασης των συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού (λιμονένιο, α-πινένιο, λιναλοόλη).....               | 74 |
| 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....  | 77 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....  | 79 |

# 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

## 1.1 Η μύγα της Μεσογείου

### 1.1.1 Κατάταξη

|              |                            |
|--------------|----------------------------|
| Βασίλειο:    | Animalia                   |
| Συνομοταξία: | Arthropoda                 |
| Κλάση:       | Insecta                    |
| Τάξη:        | Diptera                    |
| Οικογένεια:  | Tephritidae                |
| Γένος:       | <i>Ceratitis</i>           |
| Είδος:       | <i>Ceratitis. Capitata</i> |

### 1.1.2 Γενικά χαρακτηριστικά

Η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) είναι ένα δίπτερο, ολομετάβολο έντομο που ανήκει στην οικογένεια Tephritidae. Στη οικογένεια αυτή ανήκουν επίσης πολλά άλλα είδη μεγάλης οικονομικής σημασίας όπως π.χ. είδη των γενών *Bactrocera Ragoletis* και *Anastrepha*. Είναι ένα εξαιρετικά πολυφάγο είδος με περισσότερα από 300 είδη ξενιστών, το 40% των οποίων ανήκει σε 5 οικογένειες: Myrtaceae (6%), Rosaceae (10%), Rutaceae (9%), Sapotaceae (9%), και Solanaceae (6%) (Liquidó et al., 1991). Η μύγα της Μεσογείου αποτελεί το σοβαρότερο εχθρό της οικογένειας Tephritidae αλλά και έναν από τους σημαντικότερους εχθρούς της παγκόσμιας παραγωγής φρούτων (Papadopoulos et al., 2001a; Katsoyannos et al., 1997).

Είναι πολυκυκλικό είδος συμπληρώνοντας, ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή, το κλίμα της και τη διαθεσιμότητα ξενιστών, αρκετές γενιές το έτος (Fletcher, 1989). Στην Ελλάδα, θεωρείται ότι έχει 3-7 γενεές το έτος, ανάλογα με τις καιρικές συνθήκες που επικρατούν και την περιοχή (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Επίσης είναι ιδιαίτερα κοσμοπολίτικο είδος. Προέρχεται από την υποσαχάρια κεντρική-ανατολική Αφρική και έχει εξαπλωθεί και εγκατασταθεί στις περισσότερες τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές της γης (Ευρώπη, Κεντρική, Νότια και

Βόρεια Αμερική, Μέση Ανατολή, Αυστραλία, Νησιά Ατλαντικού και Ινδικού Ωκεανού, Ανατολική Ασία) (Malacrida et al., 2007; Papadopoulos et al., 2013).

### 1.1.3 Μορφολογία του εντόμου

Τα ενήλικα έχουν μήκος που ποικίλει από 3,5 έως 5mm (περίπου τα 2/3 του μεγέθους της οικιακής μύγας). Διαθέτουν διαφανείς, λεπτές πτέρυγες με μαύρες και καφέ ζώνες καθώς και κηλίδες. Στην άνω επιφάνεια της κοιλιακής χώρας υπάρχουν διασκορπισμένες λεπτές, μαύρες σμήριγγες καθώς και δύο στενές ζώνες ανοιχτού χρώματος στο οπίσθιο τμήμα. Τα μάτια τους έχουν πορφυρό χρώμα και ο θώρακας τους είναι υποκίτρινος με μαύρες κηλίδες. Τα αρσενικά άτομα χαρακτηρίζονται από ένα ζεύγος κερατοειδών αποφύσεων στο κεφάλι που καταλήγουν σε πεπλατυσμένους σχηματισμούς. Χαρακτηριστικό γνώρισμα των θηλυκών ατόμων είναι ο προεξέχων ωοθέτης στο πίσω μέρος της κοιλίας, ο οποίος όταν εκτείνεται έχει μήκος 1,2mm (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Τα αυγά είναι λεία, λευκά, επιμήκη, ελλειπτικού σχήματος, με μήκος 0,9-1,1mm και διάμετρο 0,2-0,3mm. Οι προνύμφες έχουν υπόλευκο χρώμα, είναι άποδες, ακέφαλες με κυλινδρικό σχήμα. Το σχήμα της νύμφης είναι ελλειψοειδές με μήκος 4,4-4,5mm και διάμετρο 2-2,5mm. Το χρώμα της νύμφης εξαρτάται κυρίως από τον ξενιστή στον οποίο αναπτύσσεται η προνύμφη και μπορεί να είναι από υπόλευκο ως σκούρο καστανό (Papadopoulos, 2004).

### 1.1.4 Βιολογικός κύκλος

Τα ενήλικα, μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα την άνοιξη, τρέφονται με πρωτεϊνούχες και ζαχαρούχες ουσίες ώστε να ωριμάσουν αναπαραγωγικά και να καλύψουν τις ενεργειακές τους ανάγκες. Η έκλυση σεξουαλικής φερομόνης από τα αρσενικά έχει ως απώτερο στόχο την προσέλκυση επιδεκτικών προς σύζευξη θηλυκών. Μετά την προσέγγιση των θηλυκών ακολουθεί ένα σύνολο πολύπλοκων συμπεριφορών τόσο από τα αρσενικά όσο και από τα θηλυκά, που χαρακτηρίζεται ως «ερωτοτροπία»-courtship (Briceno and Eberhard, 2000). Έπειτα, τα θηλυκά ωοτοκούν σε ώριμους ή ημιώριμους καρπούς ομάδες των 1-6 αυγών. Η εναπόθεσή τους από τα θηλυκά γίνεται διατρυπώντας με τον ωοθέτη τους το περικάρπιο ή το μεσοκάρπιο, ακόμη η εναπόθεση των αυγών μπορεί να γίνει και σε σχισμές ή

τραύματα των καρπών. Μετά την εκκόλαψη των προνυμφών οι προνύμφες ξεκινούν να διατρέφονται στο μεσοκάρπιο, υποβαθμίζοντας έτσι τον καρπό. Η υποβάθμιση των καρπών συνεχίζεται και μετά την απομάκρυνση των εντόμων από αυτούς καθώς είναι εύκολη η προσβολή τους από μύκητες και βακτήρια λόγω των νυγμάτων ωοτοκίας. Όταν οι προνύμφες ολοκληρώσουν την ανάπτυξή τους εγκαταλείπουν τον καρπό και πέφτουν στο έδαφος όπου νυμφώνονται σε μικρό βάθος (5cm) (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).

### 1.1.5 Αντιμετώπιση

Ο τρόπος αντιμετώπισης της μύγας της Μεσογείου, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες όπως, την έκταση των καλλιεργούμενων οπωρώνων, την αγροτική πολιτική της χώρας παραγωγής αλλά και των χωρών στις οποίες γίνονται εξαγωγές και το είδος της καλλιέργειας (συμβατική, ολοκληρωμένη, βιολογική). Στη χώρα μας εφαρμόζεται η ολοκληρωμένη μέθοδος αντιμετώπισης, που βασίζεται στην παρακολούθηση των πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου με τροφικές και φερομονικές παγίδες (McPhail και Jackson αντίστοιχα) ή με δειγματοληψίες καρπών. Με βάση αυτά τα δεδομένα λαμβάνονται αποφάσεις για τη διεξαγωγή ψεκασμών με χημικά εντομοκτόνα (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).

Όσο τα τελευταία χρόνια γίνονται έρευνες για την ανάπτυξη νέων μεθόδων αντιμετώπισης, φιλικών προς το περιβάλλον. Οι πιο ελπιδοφόρες από αυτές είναι, η εξαπόλυση στείρων εντόμων (Sterile Insect Technique – SIT), η μαζική παγίδευση και η χρήση εχθρών και παθογόνων (παρασιτοειδή, εντομοπαθογόνοι μύκητες, ιοί και νηματώδεις) (Papadopoulos and Katsoyannos, 2003). Η μέθοδος των στείρων εντόμων (SIT, Sterile insect technique) που βρίσκεται σήμερα σε προτεραιότητα τόσο στον Ευρωπαϊκό χώρο αλλά και σε διεθνές επίπεδο (Robinson, 2002), στηρίζεται στη μαζική παραγωγή, στείρωση με τη χρήση ακτινοβολίας και απελευθέρωση στο περιβάλλον στείρων αρσενικών ατόμων. Τα απελευθερούμενα άτομα συζευγνύονται με τον τοπικό πληθυσμό και οδηγούν σε μείωση της αναπαραγωγικής του δυνατότητας καθώς τα αυγά που εναποτίθενται στους καρπούς είναι άγονα (Hendrichs *et al.*, 2002). Η μέθοδος της μαζικής παγίδευσης μπορεί να έχει ικανοποιητικά αποτελέσματα ιδιαίτερα σε χαμηλές πυκνότητες του πληθυσμού για αυτό έρευνες γίνονται για τη βελτιστοποίηση της μεθόδου με την ανάπτυξη νέων ελκυστικών και αποτελεσματικότερων παγίδων. Η βιολογική



καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου αφορά κυρίως την εκτροφή και εξαπόλυση είτε ιθαγενών είτε εξωτικών παρασιτοειδών για τη μείωση του πληθυσμού του εντόμου. Στην Ελλάδα η παρουσία του παρασιτοειδούς *Aganaspis daci* (Weld) σε παρασιτισμένες νύμφες της μύγας της Μεσογείου που προέρχονταν από προσβεβλημένα σύκα στο νησί της Χίου, δείχνει ότι το παρασιτοειδές αυτό μπορεί να παίξει σημαντικό ρόλο στη βιολογική καταπολέμηση του εντόμου (Paradopoulos and Katsoyannos, 2003). Στα καλλιεργητικά μέτρα κατά του εντόμου συμπεριλαμβάνονται η καταστροφή των προσβεβλημένων καρπών πριν τη συγκομιδή, καθώς επίσης και των μη καλλιεργούμενων άγριων ξενιστών.

Τα τελευταία έτη γίνονται έρευνες με σκοπό να μελετηθεί και αξιοποιηθεί εμπορικά η τοξικότητα που φαίνεται να έχουν τα αιθέρια έλαια κάποιων φυτών σε διάφορα επιζήμια για τη γεωργία έντομα. Κάποιες από τις πρακτικές συχνά εφαρμόζονται συνδυαστικά για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Τέλος, αυστηροί κανονισμοί καραντίνας έχουν συσταθεί με σκοπό να αποτραπεί η εισαγωγή της μύγας της Μεσογείου σε μη προσβεβλημένες περιοχές, μέσω του εμπορίου νωπών φρούτων (Parachristos and Paradopoulos, 2009). Επιπλέον, γίνεται απεντόμωση των φρούτων που πάνε για εμπορία, με χρήση χαμηλών και υψηλών θερμοκρασιών και ακτινοβολίας γ, ώστε να μην εμφανιστούν προσβολές (Mitchell and Saul, 1990).

## 1.2 Αιθέρια έλαια και έντομα

Όπως είναι γνωστό, η πλέον διαδεδομένη μέθοδος για την αντιμετώπιση των εντομολογικών εχθρών των καλλιεργειών, είναι η χρήση συνθετικών εντομοκτόνων. Όμως, κατά τα τελευταία 15 έτη, το ενδιαφέρον για την ανάπτυξη φυσικών απωθητικών έχει αυξηθεί κυρίως λόγω της ευαισθητοποίησης του κόσμου απέναντι στο περιβάλλον αλλά και εξαιτίας της ανάπτυξης ανθεκτικότητας για κάποιες χημικές ουσίες σε πληθυσμούς εντόμων (Ayvaz et al., 2010; Ngamo Tinkeu et al., 2007; Nerio et al., 2010). Επίσης, ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τα φυσικά εντομοκτόνα έχει παρουσιαστεί και στον τομέα των αποθηκευμένων προϊόντων καθώς και εκεί η χρήση συνθετικών εντομοκτόνων είναι η κύρια μέθοδος ελέγχου επιβλαβών οργανισμών. Έτσι, λόγω της αυξημένης ανησυχίας του κοινού για την τοξικότητα των υπολειμμάτων των εντομοκτόνων που εφαρμόζονται αλλά και την εμφάνιση ανθεκτικότητας στα έντομα όπως αναφέρθηκε, υπάρχει σημαντικό ενδιαφέρον για τα φυσικά προϊόντα που είναι λιγότερο επιβλαβή για την υγεία των θηλαστικών και το

περιβάλλον σε σύγκριση με τα συμβατικά εντομοκτόνα (Kordali *et al.*, 2006). Εύκολα αντιλαμβάνεται κανείς γιατί πλέον τα εντομοκτόνα φυτικής προελεύσεως αποτελούν το 1% της παγκόσμιας αγοράς των εντομοκτόνων (Ayvaz *et al.*, 2010). Κάποια από τα φυτικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται κατά των εντόμων, είναι τα αιθέρια έλαια των φυτών ή ακόμα και μεμονωμένα τα συστατικά τους (Ngamo Tinkeu *et al.*, 2007).

### 1.2.1 Αιθέρια έλαια

Τα αιθέρια έλαια είναι πτητικές, φυσικές ενώσεις που χαρακτηρίζονται από μια ισχυρή οσμή και παράγονται από αρωματικά φυτά ως δευτερογενείς μεταβολίτες. Συνήθως λαμβάνονται με ατμό ή με υδροαπόσταξη που αναπτύχθηκε για πρώτη φορά το Μεσαίωνα από τους Άραβες (Bakkali *et al.*, 2008). Τα κυριότερα συστατικά των αιθέριων ελαίων είναι τα τερπένια [μονοτερπένια (C10) και σεσκιτερπένια (C15)] και μία ποικιλία αρωματικών ουσιών: φαινόλες, οξείδια, αιθέρες, αλκοόλες, εστέρες, αλδεΐδες και κετόνες που καθορίζουν το χαρακτηριστικό άρωμα και την οσμή του φυτού από το οποίο προέρχονται (Batish *et al.*, 2008). Συνήθως χαρακτηρίζονται από δύο ή τρία συστατικά σε αρκετά υψηλές συγκεντρώσεις (20-70%), ενώ τα υπόλοιπα συστατικά υπάρχουν σε ίχνη (Bakkali *et al.*, 2008).

Όσον αφορά τις φυσικές τους ιδιότητες τα αιθέρια έλαια βρίσκονται σε υγρή μορφή, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, αλλά γίνονται πτητικά σε θερμοκρασίες βρασμού (μεταξύ 50 – 320° C). Λόγω της πτητικότητας τους έχουν χαρακτηριστικό άρωμα και τα περισσότερα είναι σχεδόν άχρωμα και έχουν υψηλό δείκτη διάθλασης. Είναι διαλυτά στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες αλλά έχουν πολύ μικρή διαλυτότητα στο νερό. Επίσης έχουν χαμηλότερη πυκνότητα από το νερό γεγονός που επιτρέπει το διαχωρισμό τους κατά την υδροαπόσταξη (Δ2). Αυτές οι ενώσεις μπορούν να συντεθούν σε όλα τα όργανα των φυτών, μπουμπούκια, άνθη, φύλλα, μίσχους, κλαδιά, σπόρους, καρπούς, ρίζες, ξύλο ή φλοιό, και να αποθηκεύονται σε εκκριτικά κύτταρα, κοιλότητες, επιδερμικά κύτταρα ή αδενικό τρίχωμα.

Στη φύση, τα αιθέρια έλαια παίζουν σημαντικό ρόλο στην προστασία των φυτών ως αντιβακτηριακά, αντιικά, αντιμυκητιασικά, εντομοκτόνα και απωθητικά, καθώς μειώνουν την όρεξη των φυτοφάγων ζώων για τα φύλλα ή/και τους καρπούς των φυτών που τα συνθέτουν. Μπορούν επίσης να λειτουργήσουν προσελκυστικά για μερικά έντομα τα οποία ευνοούν τη διασπορά της γύρης και των σπόρων (Batish

*et al.*, 2008). Λόγω αυτών των δράσεών τους, χρησιμοποιούνται σε βαλσαμώσεις, στη διατήρηση των τροφών και ως αντιμικροβιακά, αναλγητικά, ηρεμιστικά, αντιφλεγμονώδη, σπασμολυτικά και τοπικά αναισθητικά (Bakkali *et al.*, 2008). Περίπου 3.000 αιθέρια έλαια είναι γνωστά και 10% από αυτά έχουν εμπορική σημασία (FAO, 1995) στον τομέα των καλλυντικών, των τροφίμων και των φαρμακευτικών βιομηχανιών (Kurdelas *et al.*, 2012).

### 1.2.2 Αιθέρια έλαια ως εντομοκτόνα και απωθητικά

Έρευνες έχουν δείξει ότι στις κύριες δράσεις των αιθέριων ελαίων από διάφορα είδη φυτών, περιλαμβάνονται, η απώθηση, η αποτροπή, η μειωμένη γευστικότητα, και η άμεση τοξικότητα και βασίζονται περισσότερο σε καπνογόνο και απωθητική δραστηριότητα παρά σε τοξικότητα επαφής (Ayvaz *et al.*, 2010; Kostyukovsky *et al.*, 2002). Επίσης έχει αποδειχθεί ωοκτόνος και νυμφοκτόνος δράση έναντι διαφόρων ειδών εντόμων και άλλων αρθροπόδων και θεωρούνται ως συμβατά με το περιβάλλον, φυτοφάρμακα (López *et al.*, 2011). Πιο συγκεκριμένα, μονοτερπένια όπως: α-πινένιο, λιμονένιο, τερπινολένιο, κιτρονελλόλη, κιτρονελλάλη, καμφορά και θυμόλη είναι κοινά συστατικά πολλών αιθερίων ελαίων που παρουσιάζουν εντομοαπωθητική δραστηριότητα (Murugan *et al.*, 2012). Σύμφωνα με τον Αμερικανικό Οργανισμό Τροφίμων και Φαρμάκων τα περισσότερα από τα τερπένια και φαινόλες που βρίσκονται στα φυτικά αιθέρια έλαια έχουν ελάχιστη τοξικότητα στα σπονδυλωτά και έχουν εγκριθεί ως GRAS (Generally Recognized As Safe - γενικά θεωρούνται ως ασφαλείς) (Kostyukovsky *et al.*, 2002).

Τα τελευταία χρόνια έχουν εξεταστεί τα αιθέρια έλαια πολλών φυτικών ειδών ώστε να αξιολογηθεί η δράση τους έναντι σημαντικών εχθρών καλλιεργούμενων προϊόντων. Μεγάλο ποσοστό αυτών των μελετών, όπως αναφέρθηκε, αφορούν σημαντικά έντομα αποθηκών και δίνουν ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα σε έρευνα των Lee *et al.*, (2004) αποδείχθηκε η τοξική καπνογόνος δράση των αιθέριων ελαίων έξι φυτών της οικογένειας Myrtaceae εναντίον των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων: *Sitophilus oryzae* L, *Tribolium castaneum* (Herbst) και *Rhyzopertha dominica* (Fabricius). Αυτά τα φυτά ήταν: *Eucalyptus nicholii*, *E. codonocarpa* (Blakely & Mckie), *E. blakelyi* (Maiden), *Callistemon sieberi* (DC), *Melaleuca fulgens* (Brown) και *M. armillaris* (Solander). Εξαιτίας της σημασίας του *S. oryzae* ως εχθρού των αποθηκευμένων προϊόντων, έχουν διεξαχθεί για την

αντιμετώπιση του και άλλες μελέτες για τη χρήση αιθέριων ελαίων ως εντομοκτόνα. Σε έρευνα των Liu *et al.*, (2006) φάνηκε η εντομοαπωθητική και εντομοκτόνος δράση των αιθέριων ελαίων που προέρχονται από φύλλα του φυτού *Artemisia princeps* (Pamp) και από τους σπόρους του *Cinnamomum camphora* (L.) Presl. τόσο εναντίον του συγκεκριμένου εντόμου (*S. oryzae*), όσο και εναντίον του εντόμου *Bruchus rufimanus* (Boheman) που επίσης προσβάλλει τα αποθηκευμένα προϊόντα. Στην ίδια έρευνα, τα δύο έλαια, εξετάστηκαν και μεμονωμένα αλλά και ως μίγμα δίνοντας ακόμα καλύτερα αποτελέσματα κατά των εντόμων. Υψηλή τοξικότητα κατά του *S. oryzae*, έχουν, τα αιθέρια έλαια του ευκαλύπτου και του δεντρολίβανου ως καπνιστικά, ενώ, τα αιθέρια έλαια της λεβάντας, του θυμαριού, του ηλανγκ-ηλανγκ και του γκρέιπφρουτ, επέδειξαν χαμηλή τοξικότητα εναντίον του *S. oryzae* (Lee *et al.*, 2001).

Ένα άλλο έντομο αποθηκών που έχει απασχολήσει πολύ τον ερευνητικό κόσμο σε σχέση με τα αιθέρια έλαια, είναι το *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). Παρατηρήθηκε πως οι χαμηλές δόσεις των αιθέριων ελαίων των φυτών *Annona senegalensis* (Pers) (Annonaceae), *Hyptis spicigera* (Lamarck) (Lamiaceae) και *Lippia rugosa* (A. Chev) (Verbenaceae) μπορούν να μειώσουν σταδιακά το δυναμικό επιβίωσης του εντόμου καθώς έχουμε μείωση της ωοτοκίας (Ngamo Tinkeu *et al.*, 2007). Επίσης, έρευνα των Kouninki *et al.*, (2007) έχει δείξει εντομοκτόνο δράση του αιθέριου ελαίου του φυτού *Xylopiia aethiopica* (Dunal) A Rich. (Annonaceae) έναντι ενηλίκων του συγκεκριμένου εντόμου. Επίσης, τα αιθέρια έλαια των φυτών *Lippia organoides* (Kunth), *Eucalyptus citriodora* (Hook) και *Tagetes lucida* (Cavanilles) είχαν αρκετά καλή εντομοαπωθητική δράση κατά του εντόμου *S. zeamais* (Nerio *et al.*, 2009). Στην προηγούμενη μελέτη φάνηκε πως συγκριτικά, το αιθέριο έλαιο του *L. organoides* ήταν πιο ενεργό απωθητικό, πιθανώς λόγω της παρουσίας της θυμόλης, η οποία είναι ένα φυσικό εντομοκτόνο. Η εντομοαπωθητική δράση της θυμόλης έχει επίσης αναφερθεί εναντίον των εντόμων *Tribolium confusum* (du Val) (Ojimekwe and Adler, 1999) και *Lasioderma serricornis* (Fadricius.) (Hori, 2003). Τέλος υψηλή απωθητική ή / και τοξική επίδραση έναντι του *S. zeamais*, εμφάνισαν τα αιθέρια έλαια των φυτών *Cupressus sempervirens* (L.) και *Eucalyptus saligna* (Smith) (Tarondjou *et al.*, 2005). Στην ίδια έρευνα αποδείχθηκε και η τοξικότητα των συγκεκριμένων ελαίων κατά των εντόμων, *Sitophilus granarius* (L.), *T. confusum* και *Prostephanus truncatus* (Horn). Σε έρευνα των Kordali *et al.*, (2006) για την αντιμετώπιση του *S. granarius*, απομονώθηκαν και δοκιμάστηκαν για την τοξική του

δράση, τα αιθέρια έλαια των εναέριων μερών τριών ειδών του γένους *Artemisia* [*A. absinthium* (L.), *A. santonicum* (L.) και *A. Spicigera* (Koch)]. Όλα τα αιθέρια έλαια που εξετάστηκαν βρέθηκαν να είναι τοξικά για τα ενήλικα του συγκεκριμένου εντόμου και διαπιστώθηκε επίσης ότι η εντομοκτόνος δραστηριότητα τους, αυξανόταν με την αύξηση της δόσης και του χρόνου έκθεσης.

Σε μελέτη που διεξήχθη για να προσδιοριστεί η εντομοκτόνος δραστηριότητα των αιθέριων ελαίων που προέρχονται από ρίγανη, *Origanum onites* L. (Lamiales: Lamiaceae), θρούμπι, *Satureja thymbra* L. (Lamiales: Lamiaceae) και μυρτιά, *Myrtus communis* L. (Rosales: Myrtaceae) εναντίον τριών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων [*Ephestia kuehniella* (Zeller) (Λεπιδόπτερα: Pyralidae), *Plodia interpunctella* (Hübner) (Λεπιδόπτερα: Pyralidae) και *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Κολεόπτερα: Bruchidae)] διαπιστώθηκε ότι τα έντομα *A. obtectus* ήταν τα πιο ανεκτικά εναντίον των αιθέριων ελαίων. Ωστόσο, ήταν τα πιο ευαίσθητα στο αιθέριο έλαιο της μυρτιάς. Τα έλαια της ρίγανης και του θρούμπι ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματικά εναντίον των εντόμων *P. interpunctella* και *E. kuehniella* (Ayvaz *et al.*, 2010). Επίσης, το αιθέριο έλαιο της μαντζουράνας (*Origanum majorana* L.) βρέθηκε να είναι πολύ τοξικό εναντίον του εντόμου *A. obtectus*, ενώ, λιγότερο τοξικό ήταν το αιθέριο έλαιο του θυμαριού (*Thymus serpyllum* L.) (Isman, 2000). Για το ίδιο έντομο, από έρευνα των Papachristos και Stamopoulos, (2002) προέκυψε ότι το έλαιο της λεβάντας (*Lavandula hybrida* L.) ήταν το πλέον τοξικό για τα ανήλικα και τα ενήλικα (Papachristos and Stamopoulos, 2003) στάδια του εντόμου, ενώ τα έλαια του δεντρολίβανου (*Rosmarinus officinalis* L.) και του ευκαλύπτου [*Eucalyptus globulus* (Labillardière)], φάνηκαν ιδιαίτερα τοξικά έναντι των προνυμφών του πρώτου σταδίου. Τέλος, άλλη έρευνα για το έντομο *P. interpunctella*, έδειξε τοξικότητα των αιθερίων ελαίων των αρωματικών φυτών, δεντρολίβανο (*Rosmarinus officinalis*) και θυμάρι (*Thymus vulgaris*), έναντι των προνυμφών του εντόμου. Στην μελέτη των Sanna Passino *et al.*, (2004), η δραστηριότητα των ελαίων παρατηρήθηκε μετά από μόλυνση της διατροφής των προνυμφικών σταδίων του εντόμου με μικροκάψουλες που περιείχαν τα έλαια, αλλά και με την έκθεση αυτών σε ατμούς των ελαίων.

Εκτός από τις μελέτες για την τοξική επίδραση των αιθέριων ελαίων στα έντομα αποθηκών, έχουν διεξαχθεί πολλές μελέτες και για άλλα σημαντικά έντομα που προσβάλουν γεωργικά προϊόντα αλλά και έντομα υγειονομικής σημασίας. Πιο συγκεκριμένα, το αιθέριο έλαιο που εξάγεται από τα υπέργεια μέρη του φυτού

*Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betcher) Cheel, αξιολογήθηκε για τοξικότητα κατά των ενηλικών την μύγα της Μεσογείου και του παρασιτοειδούς *Psytalia concolor* (Szepliget) και αποδείχθηκε πιο τοξικό για τη μύγα της Μεσογείου. Επίσης, το αιθέριο έλαιο του *M. alternifolia* έδειξε αξιοσημείωτη τοξικότητα εναντίον ενηλικών, νυμφών και αυγών του αλευρώδους *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood), καθώς και άλλων γεωργικών παρασίτων (Benelli *et al.*, 2013). Ακόμη, η αποτελεσματική δράση διάφορων αιθέριων ελαίων, κατά του *T. vaporariorum*, έχει αποδειχθεί και σε έρευνα των Choi *et al.*, (2003).

Τα αιθέρια έλαια των φυτών, κύμινο (*Cuminum cyminum* L.), γλυκάνισο (*Pimpinella anisum* L.), ρίγανη (*Origanum syriacum* L.) και ευκάλυπτος [*Eucalyptus camaldulensis* (Dehnhardt)] δρουν αποτελεσματικά σαν καπνιστικά εναντίον της αφίδας του βάμβακος [*Aphis gossypii* (Glover)] και του ακάρεος *Tetranychus cinnabarinus* (Dufour) (Tuni and Sahinkaya, 1998). Γενικά, το αιθέριο το έλαιο του ευκαλύπτου είναι πλούσιο σε κινεόλη, που έχει αποδειχθεί ότι είναι αποτελεσματικό κατά των ακάρεων: *Varroa jacobsoni* (Oudemans), *Tetranychus urticae* (Koch), *Phytoseiulus persimilis* (Athias-Henriot) και *Dermatophagoides pteronyssinus* (Trouessart) (Batish *et al.*, 2008). Σε έρευνα των Chiou Ling Chang *et al.*, (2009) αποδείχθηκε ότι το αιθέριο έλαιο του βασιλικού (*Oscimum basilicum* L.) καθώς και τρία από τα συστατικά του, τα οποία βρίσκονται σε μεγαλύτερο σε αυτό (trans-ανηθόλη, εστραγόλη και λιναλοόλη), έχουν ιδιαίτερα τοξική εντομοκτόνο δράση έναντι τριών ειδών της οικογένειας Tephritidae [*C. capitata*, *Bactrocera dorsalis* (Hendel), και *Bactrocera cucurbitae* (Coquillett)].

Όσον αφορά τα έντομα υγειονομικής σημασίας, έρευνες έχουν γίνει για την αντιμετώπιση κυρίως των κουνουπιών. Πολλοί ερευνητές έχουν αναφερθεί στην αποτελεσματικότητα του εκχυλίσματος του πορτοκαλιού έναντι των προνυμφών κουνουπιών. Μελέτη των Murugan *et al.*, (2012) απέδειξε την αποτελεσματικότητα του αιθέριου ελαίου του περικαρπίου του πορτοκαλιού ως νυμφοκτόνο, απωθητικό και ακμαιοκτόνο έναντι των ειδών, *Anopheles stephensi* Liston, *Aedes aegypti* L. και *Culex quinquefasciatus* Say. Επίσης, τα αιθέρια έλαια που προέρχονται από τους σπόρους του γλυκάνισου (*Pimpinella anisum* L.), αποξηραμένους καρπούς ευκαλύπτου (*E. camaldulensis*), αποξηραμένα φύλλα δυόσμου (*Mentha piperita* L.) και βασιλικού (*O. basilicum*) και τα νωπά φύλλα δάφνης (*Laurus nobilis* L.) ελέγχθηκαν για την απωθητική δράση τους κατά των ενηλικών θηλυκών ατόμων του εντόμου *Culex pipiens* L. Όλα τα αιθέρια έλαια έδειξαν απωθητική δράση σε

διάφορους βαθμούς, με αυτές του ευκαλύπτου, του βασιλικού και του γλυκάνισου να είναι οι πιο ενεργές καθώς η απωθητική ικανότητα των άλλων ελαίων ήταν εξαρτώμενη από τη συγκέντρωση (Erler *et al.*, 2006). Επίσης το αιθέριο έλαιο από το φυτό *Cymbopogon nardus* (L.) Rendle, είναι δημοφιλές για τις απωθητικές του ικανότητες έναντι των κουνουπιών (Arancibia *et al.*, 2013).

Ένα ακόμη έντομο που έχει ερευνηθεί η αντιμετώπισή του με αιθέρια έλαια είναι το αιματοφάγο, *Triatoma infestans* Klug. Η σημασία αυτού του εντόμου έγκειται στο γεγονός ότι μπορεί να είναι φορέας του πρωτόζωου *Trypanosoma cruzi* Chagas που προκαλεί τη λοιμώδη νόσο Chagas που είναι αρκετά κοινή σε χώρες της Αμερικάνικης ηπείρου. Τα αποτελέσματα της έρευνας των López *et al.*, (2011) δείχνουν ότι τα αιθέρια έλαια ορισμένων ειδών του γένους *Tagetes* έχουν σημαντική εντομοκτόνο δράση κατά συγκεκριμένου εντόμου, όπως επίσης και κατά της μύγας της Μεσογείου. Τέλος, για τα ίδια έντομα, αποτελεσματικές εντομοαπωθητικές ιδιότητες έχει το αιθέριο έλαιο του *Baccharis darwinii* Hooker & Arnott. Οι ιδιότητες του ελαίου πιθανόν να σχετίζεται με την υψηλή περιεκτικότητα του σε λιμονένιο (47,1%) το οποίο είναι αναγνωρισμένο για τις ιδιότητές του έναντι εντόμων (Kurdelas *et al.*, 2012). Παρόλα αυτά, έρευνα των Nerio *et al.*, (2010) έδειξε πως αν και η απωθητική δράση των αιθέριων ελαίων αποδίδεται γενικά σε ορισμένες συγκεκριμένες ενώσεις που αναφέρθηκαν παραπάνω, ένα συνεργιστικό φαινόμενο μεταξύ αυτών των μεταβολιτών μπορεί να οδηγήσει σε υψηλότερη βιοδραστικότητα σε σύγκριση με τη χρήση μεμονωμένων συστατικών. Κατά συνέπεια, δευτερεύοντα συστατικά που βρέθηκαν σε χαμηλά ποσοστά μπορούν να δρουν ως συνεργιστικά, στην ενίσχυση της αποτελεσματικότητας των κυριότερων συστατικών μέσω μιας ποικιλίας μηχανισμών. Συμπερασματικά, τα αιθέρια έλαια που προέρχονται από φυτά των οικογενειών, Myrtaceae, Lauraceae, Lamiaceae, και Asteraceae έχει αποδειχθεί ότι έχουν τη δυνατότητα να παρέχουν αποτελεσματική απώθηση των εντόμων, με τον ασφαλέστερο τρόπο για τον άνθρωπο και το περιβάλλον (Arancibia *et al.*, 2013).

Παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα των ερευνών, δεν είναι τόσο εύκολη η χρήση των αιθέριων ελαίων σε εμπορική κλίμακα ως φυτοπροστατευτικά, καθώς είναι ιδιαίτερα αυξημένο το κόστος τους, διότι η υψηλή μεταβλητότητα τους μειώνει το χρόνο προστασίας των προϊόντων και έτσι είναι απαραίτητη η χρήση μεγάλης ποσότητας αυτών. Για το λόγω αυτό, θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν ειδικές τεχνικές όπως η ανάμειξη τους με κάποιο υλικό πρόσφυσης, ώστε να έχουμε σταδιακή

απελευθέρωση των ουσιών αυτών στο χώρο εφαρμογής (Kouninki et al., 2007; Nerio et al., 2010).

### 1.2.3 Αιθέρια έλαια ως προσελκυστικά

Όπως αναφέρθηκε, τα αιθέρια έλαια δεν έχουν μόνο απωθητικές και εντομοκτόνες ιδιότητες, αλλά λόγω της αφθονίας τους στο φυτικό βασίλειο, διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στις αλληλεπιδράσεις των φυτών εντόμων καθώς μπορούν να δράσουν ως προσελκυστικά ωφελώντας έτσι τα φυτά ξενιστές (Reddy and Guerrero, 2000). Πολλοί από τους σαρκώδεις καρπούς είναι ιδιαίτερα πλούσιοι σε πτητικές ουσίες που προσελκύουν έντομα και ζώα που βοηθούν στη διασπορά των σπόρων τους, αποτρέποντας παράλληλα έντομα εχθρούς. Ακόμη αυτές οι ουσίες έχουν σημαντικό ρόλο στην προσέλκυση αρπακτικών για φυτοφάγα έντομα (Degenhardt et al., 2009) και επικονιαστές (Kessler et al., 2008).

Όσον αφορά τα έντομα, τα αιθέρια έλαια από φυτά ξενιστές, μπορεί να σηματοδοτούν την παρουσία τροφής ή θέσεων ωοτοκίας για τα θηλυκά. Χάρη σε τέτοιες ενώσεις, τα αρσενικά πολλών φυτοφάγων εντόμων συγκεντρώνονται στις θέσεις ωοτοκίας των θηλυκών έχοντας έτσι περισσότερες πιθανότητες να συζευχθούν με κάποιο θηλυκό. Σε έρευνα των Cornelius et al., (2000) φάνηκε ότι οι οσμές του φρούτου γκουάβα, ήταν ιδιαίτερα ελκυστικές για τα θηλυκά του *B. dorsalis*, ενώ οι οσμές από παπάγια, καραμπόλα (starfruit), κόκκινη γκουάβα, πορτοκάλι και μάνγκο, ήταν ελκυστικές, αλλά όχι σε τέτοιο βαθμό.

Πέρα από την επίδραση που έχουν οι ενώσεις των φυτών, στη χωρική κατανομή των αρσενικών και θηλυκών ατόμων, μπορεί να έχουν επίδραση στο σεξουαλικό κάλεσμα των ενηλίκων (Shelly et al., 2007) και στην παραγωγή και απελευθέρωση φερομονών φύλου (Paradopoulos et al., 2006b). Αναλυτικότερα, η παραγωγή φερομονών των φυτοφάγων εντόμων, επηρεάζεται από τις πτητικές ενώσεις των φυτών με τρεις κυρίως τρόπους. Πρώτον, μπορεί να ενισχύσουν την ελκυστικότητα της φερομόνης του φύλου, κάνοντας έτσι τα έντομα που έχουν έρθει σε επαφή με τέτοιες ενώσεις, πιο ανταγωνιστικά στη σύζευξη. (Το φαινόμενο αυτό έχει παρατηρηθεί σε σκαθάρια, λεπιδόπτερα, και μύγες). Δεύτερον, αυτές οι ενώσεις μπορεί να χρησιμοποιηθούν ως πρόδρομες ενώσεις για τη σύνθεση φερομονών (Paradopoulos et al., 2001b). Τρίτον, οι ενώσεις των φυτών ξενιστών, μπορούν να διεγείρουν την παραγωγή φερομονών (Shelly, 2001).



### 1.3 Αιθέρια έλαια και μύγα της Μεσογείου

Όπως και στα έντομα που αναφέρθηκαν, έτσι και στη μύγα της Μεσογείου τα αιθέρια έλαια έχουν την ικανότητα να επιδρούν σε πολλές δραστηριότητες της όπως η διατροφή, η σεξουαλική συμπεριφορά και η ωοτοκία, ενώ παράλληλα φαίνεται να εμφανίζουν και τοξική δράση στα διαφορετικά στάδια ανάπτυξης του εντόμου.

#### 1.3.1 Προσέλκυση, διατροφή και παγίδευση

Όσον αφορά την επίδραση των αιθέριων στη διατροφή των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου, είναι γνωστό ότι τέτοιου είδους ουσίες, καταδεικνύουν το στάδιο ωρίμανσης του καρπού και την καταλληλότητα του για τη διατροφή του εντόμου ή ακόμα και για την εναπόθεση των αυγών, ώστε να υπάρχει το κατάλληλο υπόστρωμα ανάπτυξης για τις προνύμφες. Για παράδειγμα, εκκρίματα από στέλεχος του *Ficus benjamina* L. και του *Litchi chinensis* Sonnerat βρέθηκε ότι λειτουργούν ως προσελκυστικά για τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου ώστε να τραφούν (Warthen and Mcinnis, 1989). Σε έρευνα των Cossé *et al.*, (1995) φάνηκε ότι συγκεκριμένες ουσίες του μάνγκο, οι οποίες προσδιορίστηκαν, λειτουργούν σαν προσελκυστικά του φυτού ξενιστή ως προς τα άτομα της μύγας της Μεσογείου. Επίσης, τα αρσενικά έλκονται από οσμές που προέρχονται από το φλοιό των καρπών του πορτοκαλιού και το φλοιό των δέντρων του φυτού γκουάβα καθώς τρέφονται με ουσίες που εκκρίνονται από αυτά τα φυτά και τους καρπούς τους (Paradopoulos *et al.*, 2006b). Εφόσον τέτοιες ουσίες, προσελκύουν τα έντομα, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν και ως προσελκυστικά σε παγίδες. Το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο προσελκυστικό σε προγράμματα παγίδευσης της μύγας της Μεσογείου είναι το trimedlure, μια συνθετική ένωση ιδιαίτερα ελκυστική για τα αρσενικά άτομα του εντόμου.

#### 1.3.2 Ανταγωνιστικότητα στη σύζευξη

Οι ενώσεις των φυτών φαίνεται να έχουν σημαντική επίδραση στη σύζευξη και τη συμπεριφορά ορισμένων μυγών των φρούτων της οικογένειας Tephritidae. Ειδικότερα, η έκθεση σε ορισμένες φυτικές ενώσεις έχει αποδειχθεί ότι αυξάνει την επιτυχία των αρσενικών στη σύζευξη σε διάφορα είδη. Στη μύγα της Μεσογείου, τα

θηλυκά έλκονται από τα αρσενικά που εκλύουν τη σεξουαλική φερομόνη. Τα θηλυκά συζευγνύονται μία φορά ή δύο φορές, σπανιότερα, κατά τη διάρκεια της ζωής τους, ενώ τα αρσενικά είναι πολυγαμικά. Η προσέλκυση του θηλυκού από το αρσενικό αποτελείται από σύνθετες δραστηριότητες, συμπεριλαμβανομένης της κίνησης των πτερυγών και την παραγωγή ήχου από το μέρος της κοιλιάς (Paradopoulos *et al.*, 2009) και της έκλυσης της φερομόνης φύλου, που λειτουργεί σαν κάλεσμα των θηλυκών. Τα αρσενικά αναζητούν θηλυκούς συντρόφους κοντά σε φυτά ξενιστές καθώς τα θηλυκά συγκεντρώνονται εκεί ώστε να αναζητήσουν τροφή και θέσεις ωοτοκίας.

Επιπλέον, τα φυτά ξενιστές μπορούν να επηρεάσουν την αναπαραγωγική συμπεριφορά των αρσενικών μέσω χημικών αλληλεπιδράσεων. Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, οι ουσίες κάποιων φυτών που προσλαμβάνονται από τις προνύμφες ή τα ενήλικα άτομα, μπορούν να χρησιμεύσουν ως πρόδρομες ενώσεις στη σύνθεση της φερομόνης φύλου των αρσενικών (Shelly, 2001). Ανάμεσα στα έλαια που έχουν μελετηθεί για την επίδρασή τους στη σύζευξη και έχει βρεθεί ότι έχουν σημαντικά αποτελέσματα στην αύξηση της επιτυχίας της, είναι το αιθέριο έλαιο του πορτοκαλιού, το έλαιο της ρίζας του φυτού τζίντζερ *Zingiber officinale* Roscoe, τα έλαια από τους καρπούς και το φλοιό του δέντρου γκουάβα και το έλαιο από τους σπόρους του καλλωπιστικού φυτού αγγελική (Shelly, 2001; Shelly and Villalobos, 2004; Shelly *et al.*, 2008). Αν και δεν είναι γνωστό ποια ένωση είναι υπεύθυνη για την αύξηση της συχνότητας σύζευξης, όλες οι ουσίες που έχουν δοκιμαστεί, περιέχουν τον υδρογονάνθρακα  $\alpha$ -coraene, το οποίο όταν δοκιμάστηκε και μόνο του, βρέθηκε να αυξάνει την επιτυχία σύζευξης (Shelly *et al.*, 2008). Η ίδια έρευνα έδειξε ότι η έκθεση των αρσενικών ατόμων της μύγας της Μεσογείου σε αιθέριο έλαιο του δέντρου Manuka (δέντρο της Νέας Ζηλανδίας) αύξησε σημαντικά την επιτυχία της σύζευξης, αντίθετα η έκθεση σε μάνγκο δεν είχε καμία επίδραση στη σύζευξη. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην απουσία (ή παρουσία σε πολύ μικρές ποσότητες) του  $\alpha$ -coraene στις ποικιλίες μάνγκο που χρησιμοποιήθηκαν (Shelly *et al.*, 2008). Τα δεδομένα δείχνουν ότι το σεσκιτερπένιο  $\alpha$ -coraene, ένα ισχυρό ελκυστικό δόλωμα για τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου, που υπάρχει τόσο στο αιθέριο έλαιο του πορτοκαλιού όσο και σε αυτό από τη ρίζα του τζίντζερ, λειτουργεί σημαντικά στην αύξηση της επιτυχίας της σύζευξης. Η διαπίστωση αυτή, βέβαια, δεν εξαλείφει την πιθανότητα ότι και άλλες ενώσεις, που δρουν μεμονωμένα είτε συλλογικά, μπορεί να δώσουν παρόμοια αποτελέσματα (Katsoyannos *et al.*, 1997).

Αυτή η υπόθεση έχει τεκμηριωθεί σε έρευνα των Kouloussis *et al.*, (2013) καθώς αποδείχθηκε ότι το μίγμα κάποιων καθαρών ενώσεων (γερανιόλη, α-πινένιο, λιμονένιο,β-μυρσένιο και λιναλοόλη) αύξησε την επιτυχία της σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου κατά 70% σε σχέση με εκείνα που δεν εκτέθηκαν. Συμπερασματικά προκύπτει ότι το α-copaene δεν αποτελεί αναγκαίο συστατικό για την αύξηση της επιτυχίας της σύζευξης.

Η σημαντικότερη εφαρμογή για την οποία εξετάζονται που τα αποτελέσματα των ερευνών για την επίδραση των αιθέριων ελαίων στην επιτυχία της σύζευξης, έχει να κάνει με τη βελτίωση της εξαπόλυσης στείρων αρσενικών εντόμων [Sterile Insect Technique (SIT)] (Shelly *et al.*, 2007), μιας τεχνικής ελέγχου του πληθυσμού του εντόμου σε περιοχές με υψηλούς πληθυσμούς αυτού. Η τεχνική περιλαμβάνει μαζική παραγωγή των αρσενικών του είδους-στόχου και απελευθέρωση των ακτινοβολημένων (στειρωμένων) αρσενικών στο περιβάλλον. Η σύζευξη ανάμεσα σε στείρα αρσενικά και θηλυκά του άγριου πληθυσμού, έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή και απόθεση στείρων αυγών, μειώνοντας έτσι το αναπαραγωγικό δυναμικό του άγριου πληθυσμού. Η επιτυχία του SIT εξαρτάται, σε μεγάλο βαθμό, από την ικανότητα των στείρων αρσενικών να προσελκύσουν θηλυκά και να συζευχθούν (Shelly *et al.*, 2004a). Συνήθως γίνεται έκθεση των αρσενικών στις οσμές εκάστοτε ελαίου όμως, σε έρευνα των Juan-Blasco *et al.*, (2013) φάνηκε ότι η προσθήκη ελαίου της ρίζας τζίντζερ στην τροφή των στείρων αρσενικών ενισχύει την ανταγωνιστικότητα των αρσενικών για σύζευξη σε τέτοια επίπεδα που μπορούν να συγκριθούν με την έκθεση σε οσμές του ελαίου τζίντζερ.

## 1.4 Αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών και μύγα της Μεσογείου

### 1.4.1 Συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού

Το α-coraene, που φαίνεται να είναι μια πολύ ελκυστική ουσία για τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου και εμφανίζεται στα αιθέρια έλαια πολλών φυτικών ειδών, στο πορτοκαλί, το οποίο είναι ιδιαίτερα ελκυστικό για τις μύγες της Μεσογείου, είναι παρούσα σε μικρές ποσότητες που ανέρχονται μόλις στο 0,1% του συνολικού όγκου του αιθέριου ελαίου. Έτσι, εκτός από το α-coraene, και άλλες ουσίες είναι υπεύθυνες για την παρατηρούμενη αύξηση της ανταγωνιστικότητας στη σύζευξη (Paradopoulos *et al.*, 2001b). Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η θετική επίδραση του μίγματος καθαρών ουσιών (γερανιόλη, α-πινένιο, λιμονένιο, β-μυρσένιο και λιναλοόλη) έχει αποδειχθεί (Kouloussis *et al.*, 2013), δίνοντας έτσι σημαντικά στοιχεία για τη δράση, μεμονωμένη ή συνεργηστική, των καθαρών ουσιών των αιθέριων ελαίων. Το κύριο συστατικό του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού είναι το μονοτερπένιο λιμονένιο (94%), άλλα μονοτερπένια (α-πινένιο 0,54%, 0,74% σαβινένιο και 1,18% μυρσένιο), αλκοόλες (λιναλοόλη 0,89%, τερπινόλη 0,06%), και αλδεΐδες (κιτράλη-Z 0.09%, κιτράλη-E 0.14%, κιτρονελλάλη 0,07%), ενώ το υπόλοιπο 1,73% αντιπροσωπεύεται από οκτανάλη, νονανάλη, δεκανάλη και δωδεκανάλη (Stashenko *et al.*, 1996).

### 1.4.2 Προσέλκυση

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, η έκθεση των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου, στο άρωμα του πορτοκαλιού αυξάνει την επιτυχία της σύζευξης σε σχέση με μη εκτεθειμένα αρσενικά (Shelly *et al.*, 2004a). Οι Paradopoulos *et al.*, (2001b) παρατήρησαν πως πλεονέκτημα στη σύζευξη είχαν μόνο αρσενικά άτομα που ήρθαν σε άμεση επαφή με τραυματισμένους καρπούς εσπεριδοειδών. Πιστεύεται ότι αυτό το φαινόμενο συνδέεται με την απόκτηση ορισμένων ουσιών του εξωκαρπίου, που μέσω της κατάποσης, δίνουν πλεονέκτημα σύζευξης στα έντομα, καθώς στη μελέτη, φάνηκε πως τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου αποκτούσαν πλεονέκτημα στη σύζευξη μόνο μετά την προσγείωση τους σε τραυματισμένους καρπούς και φέρνοντας την προβοσκίδα τους σε επαφή με τις χημικές ουσίες που εκκρίνονταν από τους τραυματισμένους στην επιφάνεια καρπούς. Το να αποκτήσουν

αυτό το πλεονέκτημα ήταν ανεξάρτητο από την ηλικία που είχαν τα άτομα τη στιγμή της έκθεσης και η διάρκεια της επίδρασης διήρκεσε τουλάχιστον 10 ημέρες μετά από έκθεση 24ων ωρών.

Σε μελέτη των Kouloussis *et al.*, (2013) αποδείχθηκε ότι η έκθεση σε αιθέρια έλαια από νεράντζι, μανταρίνι, λεμόνι και γκρέιπφρουτ προσδίδει επίσης ένα σημαντικό πλεονέκτημα στα αρσενικά, όπως επίσης και η έκθεση σε τραυματισμένους καρπούς από μανταρίνια και λεμόνια. Η έκθεση σε τραυματισμένους καρπούς από γκρέιπφρουτ και νεράντζια, είχε κάποια επίδραση αλλά όχι σημαντική. Αυτά τα αποτελέσματα δείχνουν ότι οι χημικές ουσίες που είναι υπεύθυνες για την αύξηση της ανταγωνιστικότητας σύζευξης στη μύγα της Μεσογείου, υπάρχουν σε διάφορα είδη και ποικιλίες εσπεριδοειδών. Ωστόσο, είναι τεκμηριωμένο ότι τα θηλυκά δεν έλκονται από το αιθέριο έλαιο του πορτοκαλιού. Ως εκ τούτου, η πιθανότητα, τα θηλυκά να ανιχνεύουν έλαιο σε αρσενικά άτομα, θα πρέπει να αποκλειστεί ως πιθανός μηχανισμός της αυξημένης επιτυχίας στη σύζευξη των εκτεθειμένων αρσενικών (Papadopoulos *et al.*, 2006b). Όμως, σε έρευνα των Shelly *et al.*, (2007) όπου χρησιμοποιήθηκαν νεκρά έντομα της μύγας της Μεσογείου τα οποία εκτέθηκαν σε έλαιο της ρίζας του τζίντζερ φάνηκε ότι το πλεονέκτημα στη σύζευξη παρέχεται στα αρσενικά μέσω ενός εξωτερικού φαινομένου καθώς και στα νεκρά έντομα, υπήρξε προσέλκυση θηλυκών. Άρα, η έκθεση στο συγκεκριμένο έλαιο, προκαλεί μια μεταβολή στη μυρωδιά του σώματος και έτσι η έλξη των θηλυκών, δεν οφείλεται σε εσωτερική επεξεργασία, π.χ., τη χρήση των αερομεταφερόμενων μορίων του ελαίου στη σύνθεση της φερομόνης φύλου.

### 1.4.3 Ωοτοκία

Η περιεκτικότητα του εξωκαρπίου σε αιθέριο έλαιο και η πυκνότητα των ελαιογόνων αδένων φαίνεται να είναι οι πιο κρίσιμες παράμετροι που επηρεάζουν την ωοτοκία των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου. Παράγοντες όπως το χρώμα των καρπών, η σύνθεση των αιθέριων ελαίων, και άλλα ερεθίσματα αφής του περικαρπίου των εσπεριδοειδών μπορούν επίσης να επηρεάσουν την ωοτοκία στα εσπεριδοειδή. Παρόλα αυτά, η ποσότητα των αιθέριων ελαίων στο φλοιό φαίνεται να είναι ένας καλός δείκτης για την ευαισθησία των εσπεριδοειδών στις προσβολές από τη μύγα της Μεσογείου. Ειδικότερα, φάνηκε ότι τα αιθέρια έλαια επηρεάζουν τη μύγα

της Μεσογείου μέσω θανατηφόρων επιπτώσεων στις νεαρές προνύμφες και ισχυρών αρνητικών επιπτώσεων στη γονιμότητα των ενηλίκων. Κατά την επαφή με τα εσπεριδοειδή, τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου, αντιμετωπίζουν τον αλληλοχημικό αμυντικό μηχανισμό του καρπού, η αποτελεσματικότητα του οποίου μπορεί να ποικίλει λόγω των ποιοτικών και ποσοτικών χαρακτηριστικών των αιθέριων ελαίων (Ioannou *et al.*, 2012). Συνεπώς, η επιτυχία της αναπαραγωγής επηρεάζεται έντονα από την ικανότητα των θηλυκών να εντοπίζουν και να ωτοκοούν στους καρπούς των κατάλληλων ειδών ξενιστών που επιτρέπουν την επιβίωση και την ανάπτυξη των προνυμφών. Για την ανίχνευση τέτοιων καρπών τα θηλυκά χρησιμοποιούν μια ποικιλία χημικών, οπτικών και απτικών ερεθισμάτων (Papadopoulos *et al.*, 2006a). Επίσης, έρευνες έχουν δείξει ότι τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών επηρεάζουν τη γονιμότητα των θηλυκών, μειώνοντας την περίοδο πριν την ωτοκία, διεγείροντας την ωτοκία (Papachristos and Papadopoulos, 2009). Αυτή η διέγερση, οφείλεται στις ιδιότητες του λιμονενίου (Papachristos *et al.*, 2009). Έρευνα των Ioannou *et al.*, (2012) έδειξε ότι η αξιολόγηση των σταδιακά αυξανόμενων δόσεων του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού, υποδηλώνει την ύπαρξη μιας βέλτιστης συγκέντρωσης του ελαίου, πάνω από την οποία η προσέλκυση για ωτοκία αρχίζει να μειώνεται, υποδεικνύοντας πιθανή ανασταλτική επίδραση. Έτσι, φαίνεται ότι τα θηλυκά προσαρμόζουν τις προσπάθειες για ωτοκία ανάλογα με την ένταση των οσμών του αιθέριου ελαίου. Πράγματι, το αιθέριο έλαιο του μανταρινιού Satsuma, το οποίο περιέχει χαμηλότερο ποσοστό λιμονενίου από το αιθέριο έλαιο του γκρέιπφρουτ, παρουσιάζει υψηλότερα ποσοστά ωτοκίας των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου.

Ωστόσο, τα αιθέρια έλαια δεν είναι οι μόνες οσμές που εκλύονται από ώριμα φρούτα και πιθανόν επηρεάζουν την ωτοκία. Για παράδειγμα, ο χυμός από γκουάβα έχει χρησιμοποιηθεί ως διεγερτικό για την ωτοκία της μύγας της Μεσογείου (Papadopoulos *et al.*, 2006b). Ως εκ τούτου, τα θηλυκά είναι σε θέση να διακρίνουν μεταξύ των οσμών από το περικάρπιο και των οσμών από τον πολτό και τις αξιοποιούν κατάλληλα προς όφελός τους. Οι υψηλές συγκεντρώσεις από έλαια εσπεριδοειδών, υποδεικνύουν υποστρώματα (περιοχές του καρπού ή ολόκληρος καρπός) ακατάλληλα για ωτοκία (Katsoyannos *et al.*, 1997). Ενώ αντίθετα, οι οσμές από χυμό υποδεικνύουν κατάλληλες θέσεις για ωτοκία που μπορεί να συνδέονται με αυξημένη εκκόλαψη των αυγών και επιβίωση των προνυμφών. Τέλος, εργαστηριακές μελέτες έδειξαν ότι η έκθεση θηλυκών απόμων σε χυμούς

εσπεριδοειδών επάγει την αναπαραγωγή σε νεαρότερη ηλικία. Επιπλέον, τα θηλυκά που παραμένουν αναπαραγωγικά ενεργά για μεγαλύτερο διάστημα της ζωής τους, ωτοκοούν υψηλότερο αριθμό αυγών (Ioannou, 2005).

#### 1.4.4 Τοξικότητα

Οι χημικές ιδιότητες των καρπών και ειδικά τα αιθέρια έλαια του περικαρπίου θεωρούνται ανάμεσα στους πιο σημαντικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας των εσπεριδοειδών εναντίον των μυγών των φρούτων (Aluja and Mangan, 2008; Parachristos et al., 2008) αλλά και ενός ευρέος φάσματος άλλων εντόμων και παθογόνων των φυτών. Τα εσπεριδοειδή εμφανίζουν έναν αριθμό μηχανισμών αντοχής που μειώνουν την επιβίωση, τη γονιμότητα και τη μακροζωία της μύγας της Μεσογείου που προσβάλλει τους καρπούς τους (Parachristos et al., 2008; Parachristos and Papadopoulos, 2009). Αυτό εξηγεί και την έλλειψη της έλξης των θηλυκών στις ουσίες που προέρχονται από επιφανειακές τομές στους καρπούς, καθώς έχουν αλληλοπαθητική δράση στις προνύμφες. Οι προνύμφες εισχωρούν μέσα από το περικάρπιο στο πιο θρεπτικό μέρος του καρπού, το ενδοκάρπιο. Για να φτάσουν εκεί όμως, πρέπει να ξεπεράσουν τις τοξικές επιδράσεις των χημικών ουσιών του εξωκαρπίου (κυρίως αιθέρια έλαια) (Parachristos et al., 2008), τα θανατηφόρα αποτελέσματα της έκκρισης κόμμεος και τον σχηματισμό του σκληρού κάλου γύρω από την κοιλότητα που έχει τοποθετηθεί το αυγό που έχει σαν συνέπεια τη θανάτωση της νεοεκκολαφθείσας προνύμφης. Η τάση των θηλυκών να ωτοκοούν μέσα ή κοντά σε πληγές των καρπών των εσπεριδοειδών για να κατευθύνουν την ωτοκία μακριά από τις τοξικές περιοχές του εξωκαρπίου είναι ένας τρόπος προσαρμογής τους, στις συνθήκες αυτές (Papadopoulos et al., 2015). Επιπλέον, κατά την ωτοκία σε υγιείς ιστούς των εσπεριδοειδών, τα θηλυκά έχουν την ικανότητα να ωτοκοούν αποφεύγοντας τους ελαιογόνους αδένες που είναι και οι πηγές των αιθέριων ελαίων, ιδιαίτερα τοξικών για τις νεαρές προνύμφες (Parachristos and Papadopoulos, 2009). Όταν τα αυγά εναποτίθενται σε 'ρηχές' (μικρού βάθους επιφανειών *flavedo*) πληγές των καρπών, αυξάνεται η έκθεση των απογόνων στα έλαια, με αποτέλεσμα την αύξηση της θνησιμότητας των προνυμφών, και την καταστολή της ανάπτυξής τους. Αντίθετα, η ωτοκία σε βαθιές πληγές του εξωκαρπίου, βελτιώνει την εκκόλαψη των αυγών και την ανάπτυξη των προνυμφών, ενώ η τοποθέτηση των αυγών απευθείας στο μεσοκάρπιο δίνει σχετικά

υψηλή επιβίωση των προνυμφών (Katsoyannos *et al.*, 1997). Έτσι, τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών θεωρείται ότι αποτελούν τον πιο σημαντικό παράγοντα θνησιμότητας για τα ανήλικα στάδια της μύγας της Μεσογείου. Αυτή η ιδιότητα, πιθανόν οφείλεται στη λιναλοόλη, η οποία είναι η αντιπροσωπευτική ένωση των ανώριμων εσπεριδοειδών και συνδέεται με υψηλή τοξικότητα εναντίον των ανήλικων σταδίων της μύγας της Μεσογείου (Papachristos *et al.*, 2009). Τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά του περικαρπίου των εσπεριδοειδών, όπως η ποιότητα και η ποσότητα των αιθέριων ελαίων του εξωκαρπίου, το πάχος του περικαρπίου, η ελαστικότητα και η μηχανική αντοχή του καρπού φαίνεται να αποτελεί ένα ισχυρό εμπόδιο ενάντια στις προσβολές από μύγα της Μεσογείου αλλά και άλλων ειδών της ίδιας οικογένειας (Papadopoulos *et al.*, 2015).

Συμπερασματικά, η τοξική δράση των αιθέριων ελαίων του περικαρπίου των εσπεριδοειδών καθορίζει την ανθεκτικότητά τους σε προσβολές των ειδών της οικογένειας Tephritidae (Papachristos and Papadopoulos, 2009; Rodríguez *et al.*, 2011). Σε έρευνα των Papachristos και Papadopoulos, (2009) φαίνεται ότι το αιθέριο του έλαιο λεμονιού ήταν λιγότερο τοξικό κατά των προνυμφών της μύγας της Μεσογείου σε σύγκριση με τα αιθέρια έλαια του πορτοκαλιού και του νεραντζιού. Αυτό μπορεί να οφείλεται στην περιεκτικότητα των ελαίων σε λιμονένιο, που είναι υψηλότερη στο έλαιο του πορτοκαλιού και των νεραντζιού (96,2 – 97,4%) και χαμηλότερη στο έλαιο του λεμονιού (74,3%) (Papadopoulos *et al.*, 2006a) αλλά και στην παρουσία σημαντικών ποσοτήτων του α-πινενίου και β-πινενίου, τα οποία παρουσιάζουν πολύ χαμηλή τοξικότητα έναντι των προνυμφών (Papachristos *et al.*, 2009). Αντίθετα, σε έρευνα των Salvatore *et al.*, (2004) αποδείχθηκε ότι λεμόνια τα οποία ήταν υπερώριμα ή σε μερική σήψη, δεν προσβλήθηκαν από μύγα της Μεσογείου. Αυτή η αντίσταση των λεμονιών αποδίδεται, μεταξύ άλλων, στο αιθέριο έλαιο του φλοιού τους. Τα αποτελέσματά της έρευνας δείχνουν ότι το εκχύλισμα του φλοιού νωπών λεμονιών, μπορεί να αποτελέσει ένα ισχυρό προνυμφοκτόνο. Αν το εκχύλισμα προέρχεται από αποθηκευμένα λεμόνια, είναι απαραίτητη η προσθήκη μικρής ποσότητας κιτράλης ή κιτράλης και 5,7-διμεθοξικουμαρίνης, έτσι ώστε να έχει και αυτό την τοξικότητα του εκχυλίσματος από το φρέσκο λεμόνι. Έτσι ένα τέτοιο μείγμα μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φυσικό εντομοκτόνο.

Άρα το σημαντικότερο ρόλο στην τοξικότητα των αιθέριων ελαίων των εσπεριδοειδών, παίζουν οι συγκεντρώσεις των επιμέρους συστατικών τους. Με βάση την τοξική τους δράση εναντίον των προνυμφών της μύγας της Μεσογείου, τα



συστατικά των αιθέριων ελαίων των εσπεριδοειδών ταξινομούνται σε τρεις ομάδες. Τα πιο ενεργά είναι τα οξυγονωμένα μονοτερπένια που ακολουθούνται από τα μονοτερπένια υδρογονανθράκων (με εξαίρεση τα α-πινένιο και β-πινένιο) και τα σεσκιτερπένια. Τα οξυγονωμένα μονοτερπένια ως καθαρές ουσίες, είναι σημαντικά πιο τοξικά από το λιμονένιο και άλλους υδρογονάνθρακες των ελαίων. Ωστόσο, λόγω της χαμηλής συγκέντρωσης τους στο μείγμα του ελαίου, δεν αυξάνουν την τοξικότητα των αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών κατά των προνυμφών της Μεσογειακής μύγας (Parachristos and Papadopoulos, 2009).

Αξιολογώντας τις θετικές επιδράσεις των αιθέριων ελαίων των εσπεριδοειδών στη σύζευξη αλλά και τις αρνητικές σχετικά με την επιβίωση των ανήλικων σταδίων της μύγας της Μεσογείου, συμπεραίνουμε ότι, υπάρχει βέλτιστη δόση έκθεσης στα έλαια εσπεριδοειδών όπου η επαγωγή της επιτυχίας της σύζευξης των αρσενικών είναι υψηλή και η θνησιμότητα χαμηλή. Σε έρευνα των Kouloussis *et al.*, (2013) φάνηκε ότι υπάρχει θετική σχέση μεταξύ της ποσότητας του αιθέριου ελαίου του γκρέιπφρουτ και των επιπτώσεων στην επιτυχία της σύζευξης. Ωστόσο, η αύξηση της δόσης πέρα από ένα συγκεκριμένο όριο, απέτυχε να ενισχύσει περαιτέρω την ανταγωνιστικότητα στη σύζευξη και επίσης, προκάλεσε άμεση τοξικότητα κατά τη διάρκεια της έκθεσης.

### 1.5 Σκοπός της διατριβής

Όπως προκύπτει από τα ανωτέρω, η σχέση της μύγας της Μεσογείου με το αιθέριο έλαιο του πορτοκαλιού και τα συστατικά του είναι στενή και πολυδιάστατη. Θετικές επιδράσεις στην εύρεση ξενιστή και την ωτοκία των θηλυκών, καθώς επίσης και στην αύξηση της σεξουαλικής ανταγωνιστικότητας των αρσενικών, έχουν τεκμηριωθεί. Επίσης, τοξικές επιδράσεις έχουν βρεθεί στις νεοεκκολαφθείσες προνύμφες. Ωστόσο δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες όσον αφορά τις πιθανές τοξικές επιδράσεις των συστατικών του, στα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου. Στην παρούσα διατριβή, μελετήθηκε η τοξικότητα τριών εκ των σημαντικότερων συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού (λιμονένιο, α-πινένιο και λιναλοόλη). Πιο αναλυτικά, διερευνήθηκαν, (α) η άμεση τοξικότητα με επαφή των τριών αυτών συστατικών σε ενήλικα, αρσενικά και θηλυκά, της μύγας της Μεσογείου, που είχαν διατραφεί μόνο με ζάχαρη ή με μείγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης (υδρολυμένη μαγιά), (β) η επίδραση της υποθανατηφόρου δόσης LD<sub>20</sub> του

λιμονενίου στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των εντόμων και (γ) η τοξική επίδραση των τριών συστατικών σε ενήλικα που τρέφονταν με τις παραπάνω τροφές, σε σχέση με την ηλικία τους. Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη εντομοκτόνων ουσιών που θα έχουν ως βάση τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών. Η πρόσφατη ανάπτυξη μεθοδολογίας για την τυποποίηση αιθέριων ελαίων σε κάψουλες πολυουρίας, ως «φορείς απελευθέρωσης», συμβάλει προς την παραπάνω κατεύθυνση. Ωστόσο, η παρασκευή τέτοιων καψουλών, χρειάζεται περαιτέρω βελτιστοποίηση ώστε να αυξηθεί η διάρκεια απελευθέρωσης (Mihou *et al*, 2007).



## **2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας από τον Ιανουάριο του 2015 ως τον Ιούλιο του 2015. Μελετήθηκε η επίδραση της τοξικότητας συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού σε ενήλικα, θηλυκά και αρσενικά της μύγας της Μεσογείου τα οποία τρέφονταν με δυο διαφορετικές τροφές. Τα έντομα εκτρέφονταν σε κατάλληλες συνθήκες στις εγκαταστάσεις του εργαστηρίου και η εφαρμογή του τοξικού παράγοντα πραγματοποιούνταν σε συγκεκριμένη ηλικία. Στη συνέχεια τα ενήλικα τοποθετούνταν σε ατομικά κλουβιά και ανάλογα με την πειραματική διαδικασία καταγραφόταν η θνησιμότητα και τα δημογραφικά χαρακτηριστικά τους.

### **2.1. Συνθήκες εργαστηρίου**

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, σε ελεγχόμενες συνθήκες: θερμοκρασία  $25 \pm 1^{\circ}\text{C}$ , σχετική υγρασία  $65 \pm 5 \%$  και φωτοπερίοδος 14:10 (Φ:Σ), με τη φωτόφαση να διαρκεί από τις 7:00 έως τις 21:00. Η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία ρυθμίζονταν και διατηρούνταν σταθερές ανεξάρτητα από τις συνθήκες του περιβάλλοντος με τη βοήθεια κλιματικής μονάδας STULZ Comp Trol 1001 (Diamar Ltd.). Το φως στο χώρο όπου πραγματοποιήθηκαν οι παρατηρήσεις, προερχόταν από λαμπτήρες φθορίου και συμπληρωνόταν από το φυσικό φως που έμπαινε στο εντομοδωμάτιο από τα τέσσερα παράθυρα της οροφής. Η φωτοπερίοδος στους χώρους εκτροφής και διεξαγωγής των πειραμάτων ρυθμιζόταν με συσκευές – χρονόμετρα προσαρμοσμένες στην παροχή ηλεκτρικού ρεύματος των λαμπτήρων.

### **2.2. Έντομα και εκτροφή**

Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν για την πραγματοποίηση της συγκεκριμένης μελέτης ήταν έντομα της εργαστηριακής φυλής της μύγας της Μεσογείου Μπενάκειο. Πρόκειται για μια φυλή που εκτρέφεται σε συνθήκες εργαστηρίου εδώ και περισσότερα από 30 περίπου χρόνια.

Ανάλογα με τις ανάγκες των πειραμάτων, περίπου δύο φορές την εβδομάδα, τοποθετούνταν στα κλουβιά των εκτροφών (Εικόνα 2.1) τεχνητά υποστρώματα ωτοκίας (dome) που αποτελούνταν από ένα κόκκινο, πλαστικό ημισφαίριο διαμέτρου 5cm και πάχους 1,5cm το οποίο έφερε 40 – 50 ομοιογενώς κατανομημένες οπές, διαμέτρου 1mm (Εικόνα 2.2). Αφού παρέμενε εκεί για μια περίπου ημέρα ώστε να ωτοκήσουν αρκετά θηλυκά, τα αυγά συλλέγονταν από την κοιλότητα του τεχνητού υποστρώματος ωτοκίας με τη βοήθεια μαλακού πινέλου και μεταφέρονταν σε τεχνητή τροφή που αποτελούταν από 100g κρυσταλλικής ζάχαρης (σακχαρόζη), 100g μαγιάς μπύρας, 50g σογιάλευρου, 8g κιτρικού οξέος, 8g ασκορβικού οξέος, 2g μίγματος αλάτων, 1.5g προπιονικού νατρίου και 500 ml νερού (Boller, 1985). Οι προνύμφες ολοκλήρωναν την ανάπτυξή τους μετά από επτά (7) περίπου ημέρες στις σταθερές συνθήκες του Εργαστηρίου και νυμφώνονταν σε στρώμα αποστειρωμένης άμμου. Μετά την ολοκλήρωση της νύμφωσης, οι νύμφες συλλέγονταν σε τρυβλίο Petri διαμέτρου 9cm. Τα έντομα αμέσως μετά την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα, διατηρούνταν σε κλουβιά Plexiglas 20x20x20 cm (Εικόνα 2.3). Τα κλουβιά είχαν τις τρεις πλευρές τους καλυμμένες με λεπτή οργαντίνα για αερισμό και στη μία πλευρά υπήρχε η είσοδος που έκλεινε με πλαστικό γιαουρτόκουτο αντίστοιχης διαμέτρου. Σε κάθε κλουβί τοποθετούνταν τρυβλίο με τροφή ενηλίκων [ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό σε αναλογία (4:1:5) ή μόνο κρυσταλλική ζάχαρη (σακχαρόζη)] και πλαστικό φιαλίδιο με νερό.



**Εικόνα 2.1** Ξύλινο κλουβί για την εκτροφή της μύγας της Μεσογείου.



**Εικόνα 2.2** Τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας (πλαστικό dome).



Εικόνα 2.3 Κλουβί από Plexiglass για τη διατήρηση των ενηλίκων.

### 2.3. Χημικές ενώσεις

Οι χημικές ενώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ως τοξικοί παράγοντες αποτελούν συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού. Αυτές ήταν το λιμονένιο [(R)-(+)-Limonene], η λιναλοόλη (Linalool) και το α-πινένιο [(-)-α-Pinene]. Η καθαρότητα των ουσιών ήταν της τάξης του 97% για το λιμονένιο και τη λιναλοόλη και της τάξης του 98% για το α-πινένιο. Τα συγκεκριμένα σκευάσματα προέρχονταν, από την εταιρεία Sigma-Aldrich. Τα συστατικά αυτά φυλάσσονταν σε σκούρα γυάλινα μπουκαλάκια (Εικόνα 2.4) και ήταν τοποθετημένα σε σκοτεινό χώρο, ώστε να μην είναι εκτεθειμένα στο φως και επηρεαστεί η σύστασή τους λόγω φωτοδιάσπασης. Για τις διαφορετικές εφαρμογές πραγματοποιούνταν αραιώσεις των συγκεκριμένων συστατικών με ακετόνη.



**Εικόνα 2.4** Μπουκαλάκια στα οποία φυλάσσονταν τα συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού.

## 2.4. Μεταχείριση εντόμων

Όταν τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου έφταναν στην επιθυμητή, για την κάθε εφαρμογή, ηλικία πραγματοποιούνταν βιοδοκιμές με τις ουσίες του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού που περιγράφονται με λεπτομέρεια σε επόμενο υποκεφάλαιο. Μετά τη βιοδοκιμή, τα έντομα τοποθετούνταν σε ατομικά κλουβιά για τη λήψη μετρήσεων-παρατηρήσεων. Τα ατομικά κλουβιά αποτελούνταν από διαφανή πλαστικά ποτήρια χωρητικότητας 400 ml, προσαρμοσμένα σε τρυβλία Petri διαμέτρου 9cm (Εικόνα 2.5). Τα ποτήρια έφεραν στο πλευρικό τοίχωμα οπή 5x5 cm καλυμμένη με οργαντίνα για να επιτρέπεται ο αερισμός. Ανάλογα με τη φύση του πειράματος τα τρυβλία της βάσης των κλουβιών είτε έφεραν τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας (dome) είτε όχι. Το τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας αποτελούσαν από ένα κόκκινο, πλαστικό ημισφαίριο προσαρτημένο στο τρυβλίο Petri που αποτελούσε τη βάση του ατομικού κλουβιού (Εικόνα 2.6). Στα τοιχώματα κάθε κλουβιού τοποθετούνταν τροφή (ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό σε αναλογία 4:1:5 ή μόνο διάλυμα ζάχαρης σε νερό σε αναλογία 1:3) και στο τρυβλίο που ήταν προσαρμοσμένο στη βάση του κλουβιού τοποθετούνταν νερό και φιλίτι. Στα ατομικά κλουβιά, ανάλογα με το πείραμα τοποθετούνταν από ένα έως πέντε άτομα. Τέλος για συγκεκριμένο χρονικό διάστημα και ανάλογα με την πειραματική διαδικασία, λαμβάνονταν οι απαραίτητες μετρήσεις ώστε να προκύψουν τα αποτελέσματα.





**Εικόνα 2.5** Ατομικά κλουβιά εντόμων.



**Εικόνα 2.6** Ατομικά κλουβιά εντόμων με υπόστρωμα ωτοκίας.

#### **2.4.1. Βιοδοκιμή**

Η διαδικασία της βιοδοκιμής που ακολουθήθηκε ήταν παραπλήσια για το σύνολο των πειραμάτων με την ηλικία των εντόμων και τις αραιώσεις των διαλυμάτων να μεταβάλλονται ανάλογα με τη μεταχείριση. Αναλυτικότερα αφού τα

έντομα είχαν τοποθετηθεί στα Plexiglass εκτροφής, μετά την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα, με τη βοήθεια ενός αναρροφητήρα εντόμων-respirator (γυάλινος σωλήνας ενσωματωμένος σε σωλήνα από λάστιχο όπου στο σημείο ένωσης υπήρχε λεπτή οργαντίνα) (Εικόνα 2.7) λαμβανόταν συγκεκριμένος αριθμός (5 με 10) ατόμων κάθε φορά. Τα ενήλικα τοποθετούνταν σε ένα πλαστικό φιαλίδιο με οπή στο πώμα όπου και αναισθητοποιούνταν με CO<sub>2</sub> (Εικόνα 2.8). Τα αναισθητοποιημένα άτομα τοποθετούνταν με το νωτιαίο τμήμα του θώρακα σε ειδική πορώδη επιφάνεια του συστήματος αναισθητοποίησης από την οποία διερχόταν χαμηλή ροή CO<sub>2</sub> όπου γινόταν η εφαρμογή των συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού στην περιοχή της κοιλιάς με τη χρήση γυάλινης μικροσύριγγας (Εικόνα 2.9). Η ποσότητα που εφαρμοζόταν ήταν 2 μL και οι αραιώσεις των συστατικών σε ακετόνη εξαρτιόνταν από το κάθε πείραμα και φυλάσσονταν σε μικρά διαφανή μπουκαλάκια του 1,5 ml (Εικόνα 2.10). Μετά την εφαρμογή τα έντομα μεταφέρονταν προσεκτικά από τις πτέρυγες με τη βοήθεια μαλακής λαβίδας (Εικόνα 2.11) στα ατομικά κλουβάκια.



**Εικόνα 2.7** Respirator (αναρροφητήρας εντόμων).



**Εικόνα 2.8** Σύστημα αναισθητοποίησης ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου με CO<sub>2</sub>.



**Εικόνα 2.9** Γυάλινη μικροσύριγγα.



**Εικόνα 2.10** Μπουκαλάκια στα οποία φυλάσσονταν οι αραιώσεις των συστατικών.



**Εικόνα 2.11** Μαλακή λαβίδα.

### **2.5 Πείραμα 1: Τοξικότητα διαλύτη (ακετόνη).**

Ο διαλύτης που χρησιμοποιήθηκε για τις αραιώσεις των συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού ήταν η ακετόνη. Στο πρώτο πείραμα ελέγχθηκε η τοξικότητα της ακετόνης στα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου. Για το σκοπό του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 400 ενήλικα ηλικίας 6 ημερών (100 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη, 100 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, 100 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και 100 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη). Στις παραπάνω ομάδες των ενηλίκων έγινε εφαρμογή 2  $\mu\text{L}$  ακετόνης με τη διαδικασία που περιγράφηκε παραπάνω. Μετά τη μεταχείριση, τα έντομα τοποθετούνταν ανά 5 άτομα στα 'ατομικά' κλουβάκια. Τα κλουβάκια ελέγχονταν κάθε ημέρα για τις επόμενες 20 μέρες και καταγραφόταν η θνησιμότητα των ενηλίκων. Παλαιότερα στοιχεία του εργαστηρίου έχουν δείξει ότι στις ίδιες συνθήκες, ενήλικα στα οποία δεν είχε εφαρμοστεί κανένας τοξικός παράγοντας, είχαν την ίδια αντίδραση με αυτά που είχαν εκτεθεί σε ακετόνη.

Η στατιστική ανάλυση των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πακέτο IBM SPSS Statistics 22 (SPSS, Chicago, IL., USA). Οι συγκρίσεις για την επίδραση της ακετόνης στη θνησιμότητα των ατόμων διαφορετικού φύλου που είχαν διατραφεί με τις δυο διαφορετικές τροφές, πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση παραλλακτικότητας (one-way ANOVA) ( $P < 0.05$ ). Για την εξαγωγή των καμπυλών επιβίωσης των εντόμων, χρησιμοποιήθηκε η εφαρμογή «Survival Analysis».

## **2.6 Πείραμα 2: Τοξικότητα του λιμονένιο, του α-πινένιο και της λιναλοόλης σε ενήλικα της μύγας της Μεσογείου**

Στη δεύτερη πειραματική ενότητα ελέγχθηκε η τοξικότητα τριών συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού (λιμονένιο, α-πινένιο, λιναλοόλη). Εφαρμόστηκαν οκτώ διαφορετικές συγκεντρώσεις (100%, 25%, 3%, 2,5%, 2%, 1,5% 1% και 0,5%) σε ακετόνη, για κάθε συστατικό. Σε κάθε έντομο γινόταν εφαρμογή 2 μL με τη μικροσύριγγα. Αντίστοιχα με τη συγκέντρωση που εξεταζόταν κάθε φορά, η εφαρμογή σε κάθε έντομο ήταν 2, 0,5, 0,06, 0,05, 0,04, 0,03, 0,02, 0,01 μL συστατικού /έντομο ωστόσο στην ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν οι ακριβείς επί 100 (Οι συγκεντρώσεις που έδωσαν 100% θνησιμότητα δεν συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση των αποτελεσμάτων). Η κάθε συγκέντρωση εφαρμόστηκε σε 300 έντομα (25 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη, 25 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, 25 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και 25 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, για κάθε συστατικό) ηλικίας 5 ως 7 ημερών. Οι διαφορετικές συγκεντρώσεις εφαρμόστηκαν στην κοιλία των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου σύμφωνα με τη βιοδοκιμή που περιγράφεται παραπάνω (Υποκεφάλαιο 2.4.1). Στη συνέχεια, τα ενήλικα τοποθετούνταν σε ομάδες των 5 ατόμων σε ατομικά κλουβιά με τροφή και νερό. Η θνησιμότητα των εντόμων καταγραφόταν 24, 48 και 72 ώρες μετά την εφαρμογή (στην ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι μετρήσεις των 24 ωρών).

### *Βάρος ενηλίκων*

Μέσω τυχαίας επιλογής διαχωρίστηκαν και ζυγίστηκαν συνολικά 200 ενήλικα (50 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη, 50 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, 50 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και 50 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη) ώστε να υπολογιστεί το μέσο βάρος αρσενικών και θηλυκών που τρέφονταν με διαφορετικά είδη τροφής. Τα έντομα λαμβάνονταν και αναισθητοποιούνταν, σύμφωνα με την τεχνική που περιγράφηκε και στη βιοδοκιμή του Υποκεφαλαίου 2.4.1, στη συνέχεια το κάθε άτομο τοποθετούταν μεμονωμένα σε ζυγό ακριβείας (Precisa 40SM-200A) και καταγραφόταν το βάρος του σε mg.

Η στατιστική ανάλυση των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πακέτο IBM SPSS Statistics 22 (SPSS, Chicago, IL., USA). Ο προσδιορισμός των

υποθανατηφόρων και θανατηφόρων δόσεων καθώς και των ορίων εμπιστοσύνης των τριών συστατικών που εξετάστηκαν, έγινε με την εφαρμογή της Probit Analysis. Οι συγκρίσεις του βάρους ανάλογα με το φύλο και τις διατροφικές συνήθειες των εντόμων, πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση παραλλακτικότητας (one-way ANOVA) ( $P < 0.05$ ) και η επίδρασή τους εκτιμήθηκε με τη χρήση του κριτηρίου t (t-test) για ανεξάρτητα δείγματα (Independent samples t-test).

### **2.7 Πείραμα 3: Επίδραση της υποθανατηφόρου δόσης λιμονενίου ( $LD_{20}$ ) στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων**

Στην τρίτη πειραματική ενότητα ελέγχθηκε η επίδραση της υποθανατηφόρου δόσης ενός μόνο συστατικού του αιθέριου ελαίου, του λιμονενίου, στην επιβίωση των αρσενικών και στην επιβίωση και την ωοπαραγωγή των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου. Στα αρσενικά και τα θηλυκά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη, η εφαρμογή ήταν, 0,034 και 0,0122  $\mu\text{L}$  λιμονενίου / έντομο αντίστοιχα, και στα αρσενικά και θηλυκά που τράφηκαν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, η εφαρμογή ήταν, 0,028 και 0,0112  $\mu\text{L}$  λιμονενίου / έντομο αντίστοιχα. Ως μάρτυρας για τη σύγκριση των αποτελεσμάτων της επίδρασης του λιμονενίου στα δημογραφικά χαρακτηριστικά χρησιμοποιήθηκαν ενήλικα στα οποία εφαρμόστηκε καθαρή ακετόνη. Η βιοδοκιμή, που περιγράφεται αναλυτικά στο Υποκεφάλαιο 2.4.1, πραγματοποιήθηκε στην ηλικία των 5 ημερών σε 800 ενήλικα (100 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη, 100 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, 100 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και 100 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, για το λιμονένιο και αντίστοιχος αριθμός ατόμων για την ακετόνη). Από τα άτομα στα οποία εφαρμόστηκε λιμονένιο, για τη λήψη των αποτελεσμάτων, χρησιμοποιήθηκαν, 200 ενήλικα (50 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη, 50 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, 50 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και 50 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη) ενώ από αυτά που εφαρμόστηκε η ακετόνη, χρησιμοποιήθηκαν, 120 ενήλικα (30 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη, 30 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, 30 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και 30 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη). Μετά τη βιοδοκιμή, τα έντομα τοποθετούνταν ανά μεταχείριση σε κλουβιά Plexiglass. Έπειτα από 3 ημέρες μεταφέρθηκαν 30 άτομα από καθεμία από τις τέσσερις μεταχειρίσεις της ακετόνης και 50 άτομα από καθεμία από τις τέσσερις μεταχειρίσεις του λιμονενίου και

τοποθετήθηκαν μεμονωμένα σε ατομικά κλουβάκια με τροφή και νερό. Τα αρσενικά τοποθετήθηκαν σε απλά ατομικά κλουβάκια, ενώ τα θηλυκά σε κλουβάκια με κοίλο πλαστικό υπόστρωμα ωτοκίας (dome) ώστε να γίνεται και καταμέτρηση των αυγών. Καθημερινά, καταγραφόταν ο αριθμός των νεκρών αρσενικών και θηλυκών ατόμων και ο αριθμός των αυγών που ωτοκούσαν τα θηλυκά. Για την καταμέτρηση των αυγών χρησιμοποιούσαν ένα μικρό, μαλακό πινέλο και ένας δίσκος με μαύρο υφασμάτινο κάλυμμα εμποτισμένο με νερό (Εικόνα 2.12). Με το πινέλο λαμβάνονταν τα αυγά από την κάτω επιφάνεια του dome, απλώνονταν στο μαύρο κάλυμμα και καταμετρούνταν μακροσκοπικά (με γυμνό μάτι) λόγω της αντίθεσης με το μαύρο φόντο.



**Εικόνα 2.12** Δίσκος με μαύρο κάλυμμα για την καταμέτρηση των αυγών.

Η στατιστική ανάλυση των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πακέτο IBM SPSS Statistics 22 (SPSS, Chicago, IL., USA). Για τον υπολογισμό των καμπυλών επιβίωσης των εντόμων στα οποία εφαρμόστηκε η υποθανατηφόρος δόση του λιμονενίου ή η ακετόνη, χρησιμοποιήθηκε η εφαρμογή Survival Analysis. Η επιβίωση των αρσενικών και θηλυκών ατόμων αναλύθηκε με τον εκτιμητή Kaplan-Meier (KM) και οι συγκρίσεις έγιναν με τη χρήση του ελέγχου log-rank (Mantel-Cox) (log rank test  $P < 0,05$ ). Η επίδραση της υποθανατηφόρου δόσης του λιμονενίου στην ωοπαραγωγή των θηλυκών ανάλογα με την τροφή τους, προσδιορίστηκε με το γενικευμένο γραμμικό πρότυπο (Generalized linear Models).

## **2.8 Πείραμα 4: Επίδραση της ηλικίας των ενηλίκων, στην τοξικότητα του λιμονενίου, του α-πινενίου και της λιναλοόλης**

Για την πραγματοποίηση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν 120 ενήλικα (30 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη, 30 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, 30 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και 30 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη) για καθεμία από τις τέσσερις ηλικίες (5-10-15-20 ημερών). Η εφαρμογή της υποθανατηφόρου δόσης (LD<sub>20</sub>) πραγματοποιήθηκε και για τα τρία συστατικά (λιμονένιο, α-πινένιο και λιναλοόλη) σύμφωνα με τη βιοδοκιμή που περιγράφεται παραπάνω (Υποκεφάλαιο 2.4.1). Μετά την εφαρμογή, τα ενήλικα τοποθετούνταν σε ομάδες των 5 ατόμων σε ατομικά κλουβιά με τροφή και νερό. Η θνησιμότητα των εντόμων καταγραφόταν 24, 48 και 72 ώρες μετά την εφαρμογή (στην ανάλυση των αποτελεσμάτων χρησιμοποιήθηκαν μόνο οι μετρήσεις των 24 ωρών).

Η στατιστική ανάλυση των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πακέτο IBM SPSS Statistics 22 (SPSS, Chicago, IL., USA). Η επίδραση της υποθανατηφόρου δόσης των συστατικών σε σχέση με την ηλικία, ανάλογα με το φύλο και τη διατροφή των εντόμων προσδιορίστηκε με την ανάλυση παραλλακτικότητας Univariate Analysis of Variance (UNIANOVA).



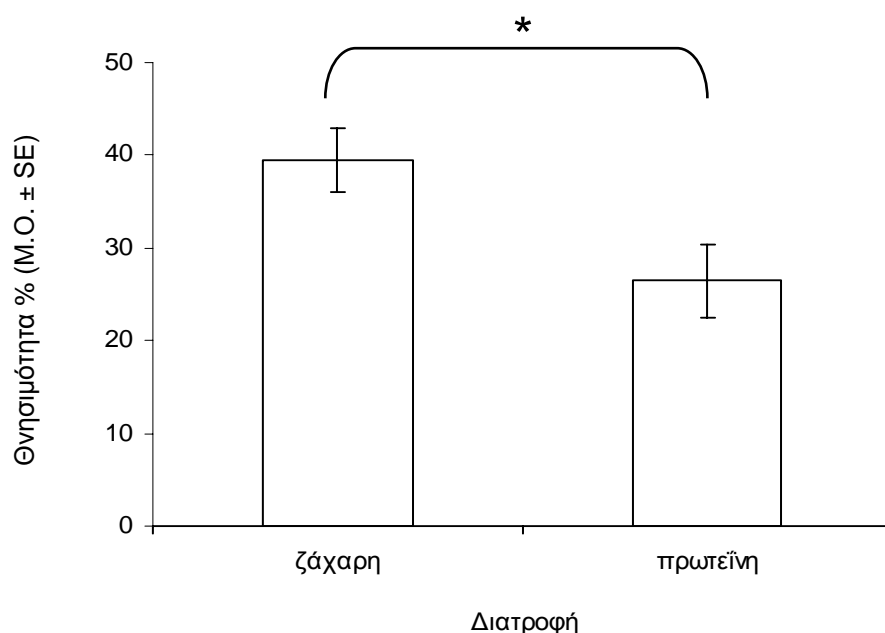


### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

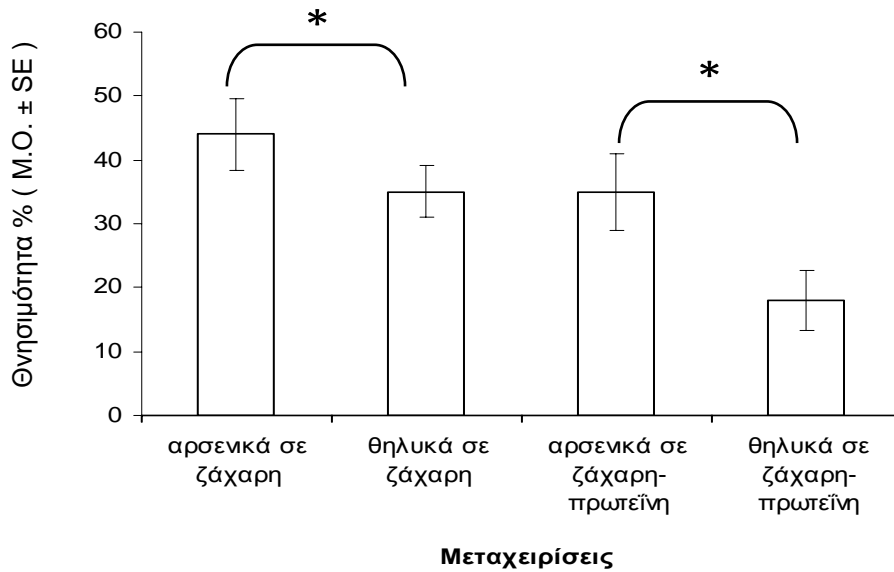
#### 3.1 Πείραμα 1: Τοξικότητα διαλύτη (ακετόνη)

Στο Διάγραμμα 3.1 φαίνεται ότι ανεξάρτητα από το φύλο, η διατροφή των ενηλίκων επηρέασε σημαντικά τη θνησιμότητα των εντόμων καθώς τα άτομα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη είχαν σημαντικά αυξημένη θνησιμότητα σε σύγκριση με εκείνα που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ( $F_{1, 78}=6,117, P=0,016$ ).

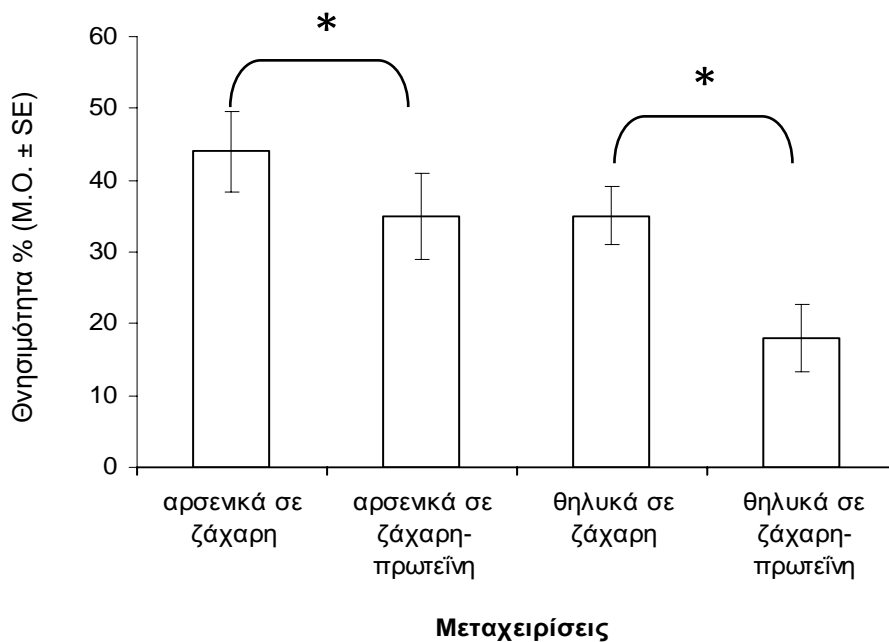
Στο Διάγραμμα 3.2 φαίνεται πως τα αρσενικά εμφάνισαν υψηλότερη θνησιμότητα σε σχέση με τα θηλυκά είτε τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, είτε με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ( $F_{1, 79}=6,52, P=0,013$ ). Ενώ στο Διάγραμμα 3.3 φαίνεται πως τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά είχαν σημαντικά υψηλότερη θνησιμότητα όταν τρέφονταν με ζάχαρη ( $F_{1, 79}=6,52, P=0,013$ ). Ωστόσο η αλληλεπίδραση τροφής και φύλου δε βρέθηκε σημαντική ως προς τη θνησιμότητα ( $F_{1, 79}=0,617, P=0,435$ ).



**Διάγραμμα 3.1.** Θνησιμότητα % (M.O. ± SE) ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη ανεξάρτητα από το φύλο (n=40 κλουβάρια των 5 ατόμων ανά τροφή). Ο αστερίσκος υποδεικνύει στατιστικώς σημαντικές διαφορές ( $P<0,05$ ).



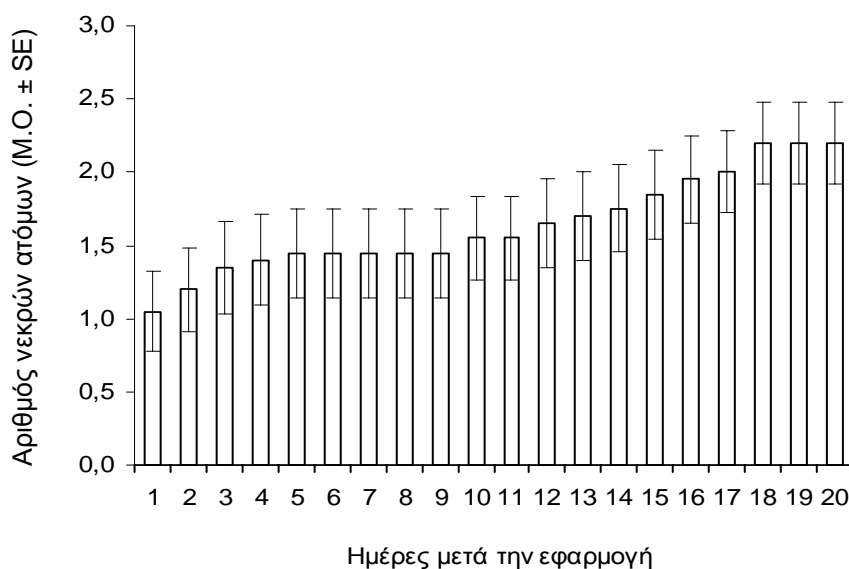
**Διάγραμμα 3.2.** Θνησιμότητα % (M.O. ± SE) ανάλογα με το φύλο και τη διατροφή που δέχονταν τα εκτεθειμένα σε ακετόνη έντομα. Σύγκριση με βάση το φύλο (n=20 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση). Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ( $P<0,05$ ).



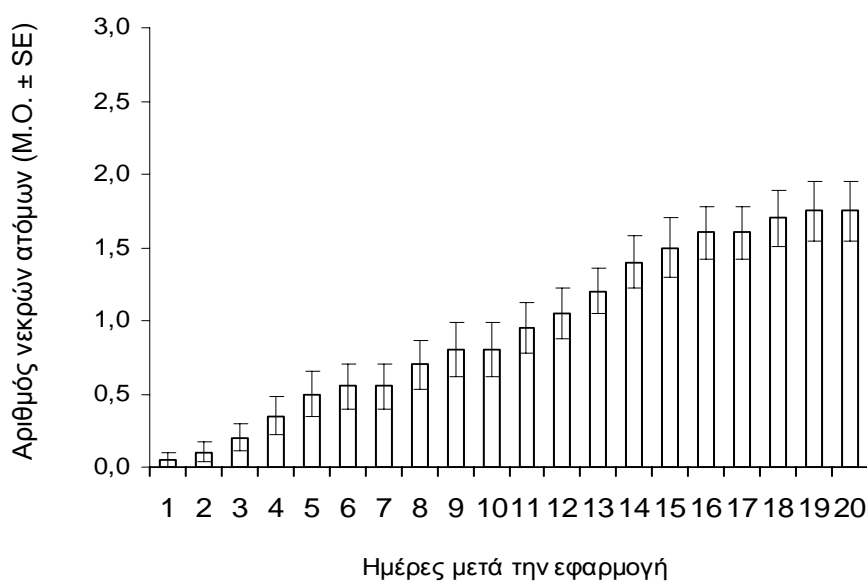
**Διάγραμμα 3.3.** Θνησιμότητα % (M.O. ± SE) ανάλογα με το φύλο και τη διατροφή που δέχονταν τα εκτεθειμένα σε ακετόνη έντομα. Σύγκριση με βάση την τροφή (n=20 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση). Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ( $P<0,05$ ).

Στα Διαγράμματα 3.4, 3.5, 3.6 και 3.7, δίνεται αθροιστικά η θνησιμότητα των ενηλίκων της κάθε μεταχείρισης σε σχέση με τις ημέρες μετά την εφαρμογή της ακετόνης. Γενικά, παρατηρήθηκε μια τάση αύξησης της θνησιμότητας σε σχέση με το χρονικό διάστημα μετά την εφαρμογή χωρίς απότομες διακυμάνσεις. Αρσενικά και

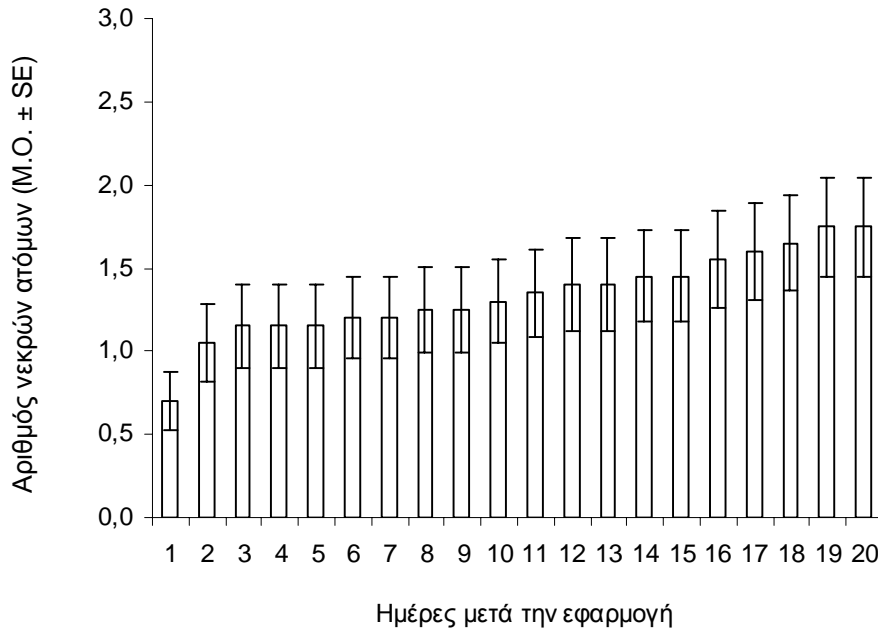
θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη εμφάνισαν μεγαλύτερη αύξηση στη θνησιμότητα κατά τη διάρκεια του εικοσαήμερου της παρατήρησης σε σχέση με τα αρσενικά και θηλυκά που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης. Τα θηλυκά που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης παρουσίασαν τη χαμηλότερη αύξηση θνησιμότητας.



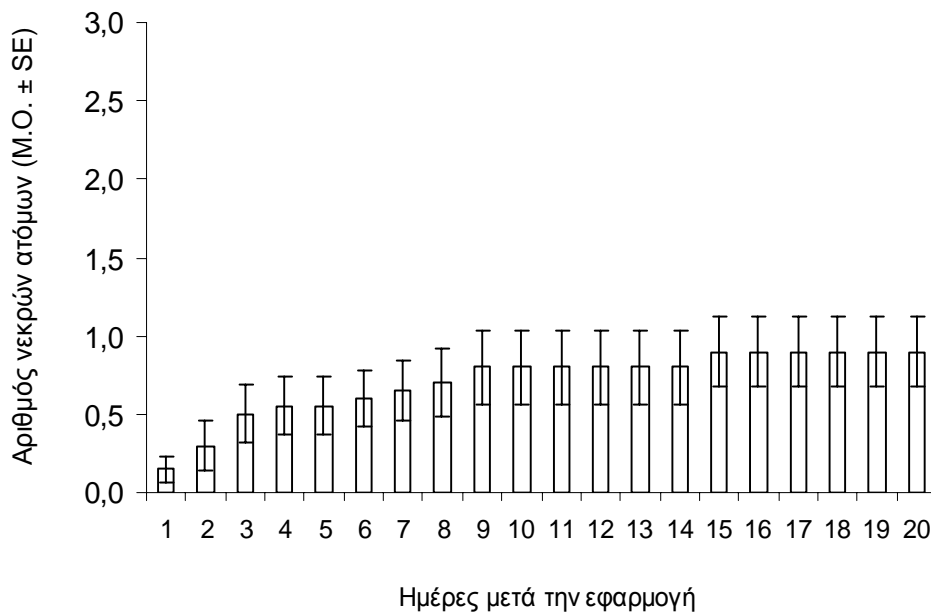
**Διάγραμμα 3.4.** Αριθμός νεκρών αρσενικών ενθλιικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε ακετόνη κατά τη διάρκεια του πειράματος (20 μέρες) (n= κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).



**Διάγραμμα 3.5.** Αριθμός νεκρών θηλυκών ενθλιικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε ακετόνη κατά τη διάρκεια του πειράματος (20 μέρες) (n=20 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).



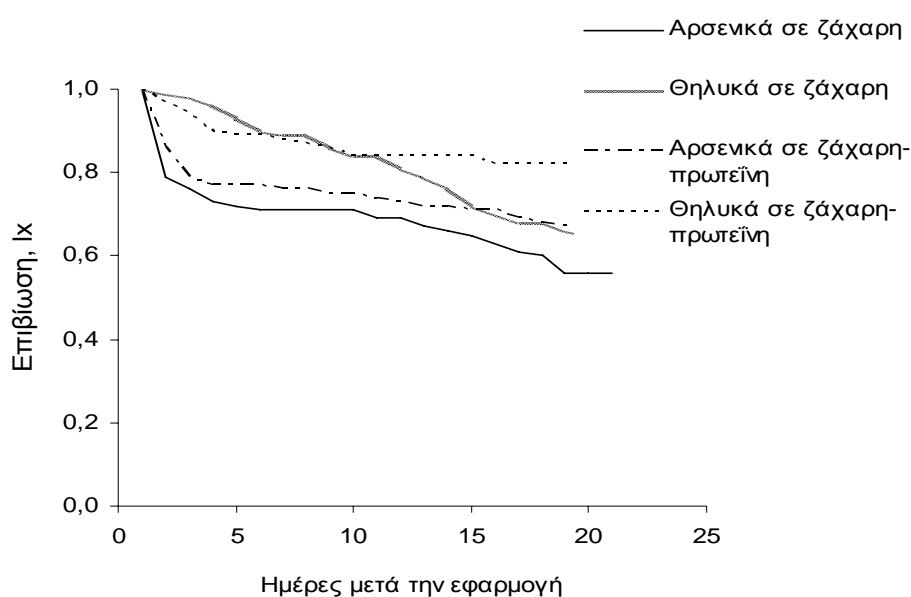
**Διάγραμμα 3.6.** Αριθμός νεκρών αρσενικών ενηλίκων που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη κατά τη διάρκεια του πειράματος (20 μέρες) (n=20 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).



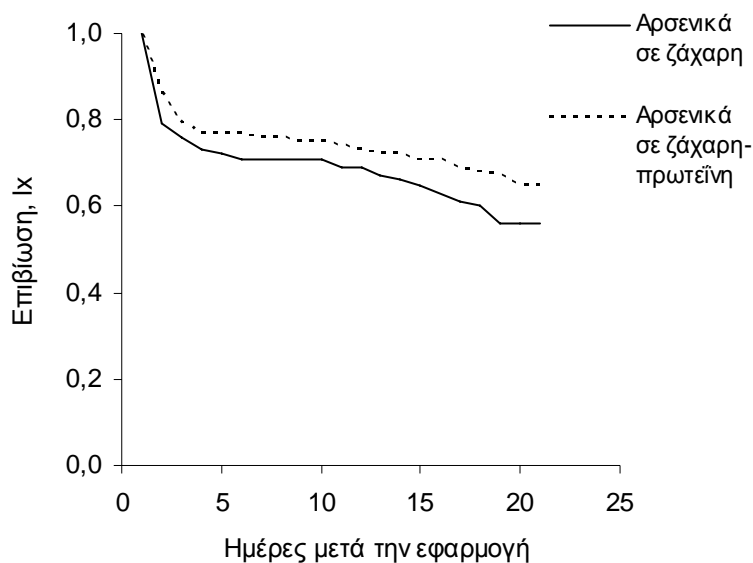
**Διάγραμμα 3.7.** Αριθμός νεκρών θηλυκών ενηλίκων που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη κατά τη διάρκεια του πειράματος (20 μέρες) (n=20 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).

Στα Διαγράμματα 3.8, 3.9 και 3.10 δίνονται οι καμπύλες επιβίωσης αρσενικών και θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης - πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη στην ηλικία των 5 ημερών. Η επιβίωση των θηλυκών σε σχέση με την ηλικία ήταν υψηλότερη από εκείνη των αρσενικών, ανεξάρτητα από την

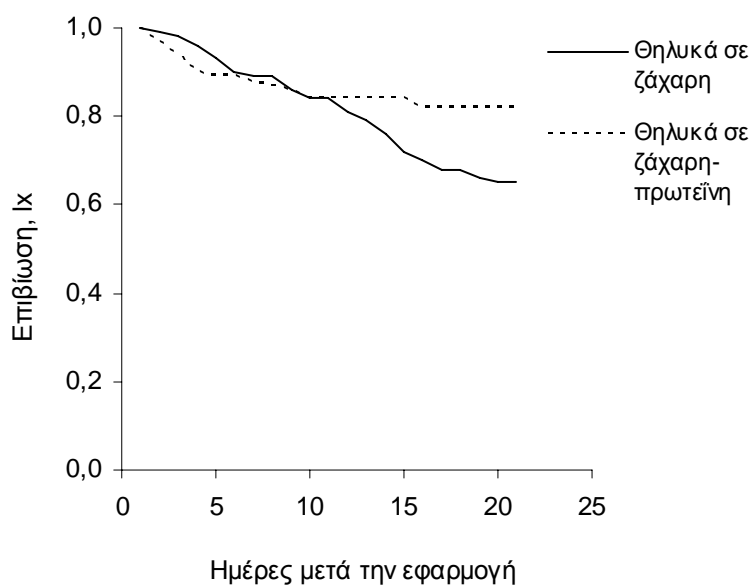
τροφή των ενηλίκων (Διάγραμμα 3.8). Επίσης, η επιβίωση των αρσενικών που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ήταν υψηλότερη από την επιβίωση των αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη μετά την εφαρμογή της ακετόνης (Διάγραμμα 3.9). Αντίστοιχα, η επιβίωση των θηλυκών που τρέφονταν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ήταν υψηλότερη από την επιβίωση των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη αλλά η διαφορά στην επιβίωση εκδηλώθηκε 10 με 11 ημέρες μετά την εφαρμογή της ακετόνης (Διάγραμμα 3.10). Συνολικά, ποσοστά επιβίωσης άνω του 60% καταγράφηκαν 20 μέρες μετά την εφαρμογή της ακετόνης.



**Διάγραμμα 3.8.** Επιβίωση σε σχέση με την ηλικία ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που τράφηκαν με δύο διαφορετικές τροφές, έπειτα από την έκθεσή τους σε ακετόνη (n=100 ενήλικα ανά μεταχείριση).



**Διάγραμμα 3.9.** Επιβίωση σε σχέση με την ηλικία αρσενικών που τράφηκαν με τις δυο διαφορετικές τροφές έπειτα από την έκθεσή τους σε ακετόνη (n=100 ενήλικα αρσενικά ανά μεταχείριση).

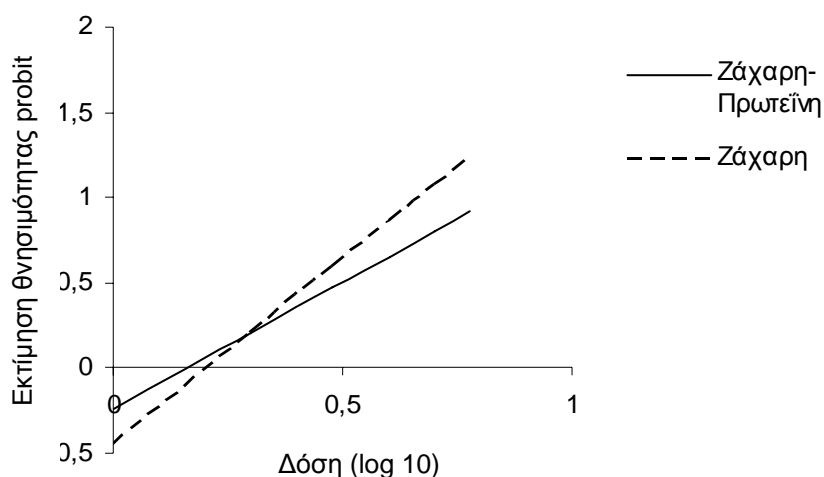


**Διάγραμμα 3.10.** Επιβίωση σε σχέση με την ηλικία θηλυκών που τράφηκαν με τις δυο διαφορετικές τροφές έπειτα από την έκθεσή τους σε ακετόνη (n=100 ενήλικα θηλυκά ανά μεταχείριση).

## 3.2 Πείραμα 2: Τοξικότητα βασικών συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού (λιμονένιο, α-πινένιο, λιναλοόλη)

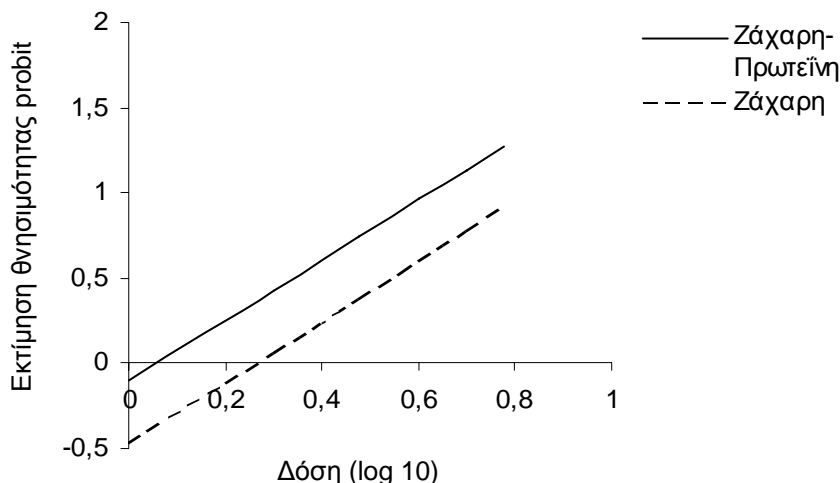
### 3.2.1. Διαγράμματα επίδρασης της τροφής στη θνησιμότητα

Στα Διαγράμματα 3.11 έως 3.13 δίνεται η εκτίμηση της θνησιμότητας ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη ή με ζάχαρη και πρωτεΐνη σε σχέση με την έκθεση σε τρία συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού. Στο Διάγραμμα 3.11 φαίνεται πως ανεξάρτητα από το φύλο, η θνησιμότητα των ενηλίκων που τράφηκαν με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε διαφορετικές συγκεντρώσεις λιμονενίου, ήταν υψηλότερη σε σχέση με τη θνησιμότητα των ενηλίκων που τράφηκαν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης. Αντίθετα, τα ενήλικα που τράφηκαν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εμφάνισαν υψηλότερη θνησιμότητα σε σχέση με αυτά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη όταν εκτέθηκαν σε συγκεντρώσεις α-πινενίου (Διάγραμμα 3.12) Τέλος, ενήλικα που εκτέθηκαν σε λιναλοόλη εμφάνισαν παραπλήσιες θνησιμότητες ανεξάρτητα από την τροφή (Διάγραμμα 3.13).

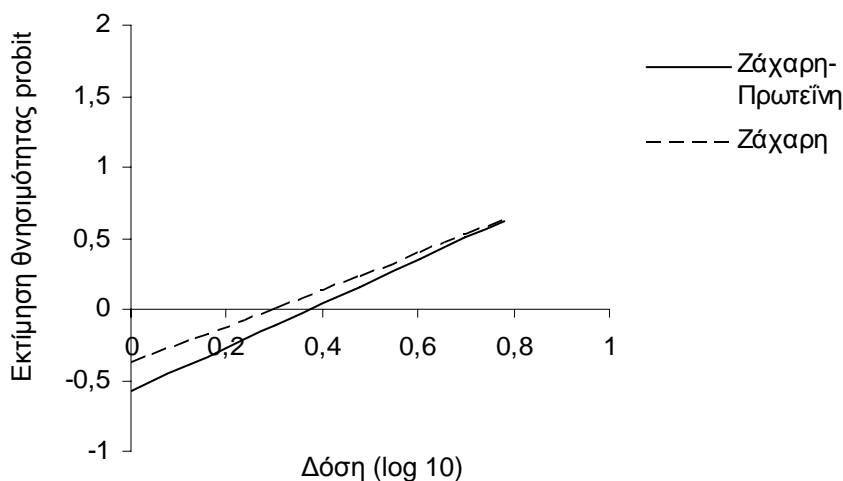


**Διάγραμμα 3.11.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για ενήλικα που τράφηκαν στις δυο διαφορετικές τροφές και εκτέθηκαν στο λιμονένιο (n=50 ενήλικα ανά τροφή για κάθε δόση).





**Διάγραμμα 3.12.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για ενήλικα που τράφηκαν στις δυο διαφορετικές τροφές και εκτέθηκαν στο α-πινένιο (n=50 ενήλικα ανά τροφή για κάθε δόση).



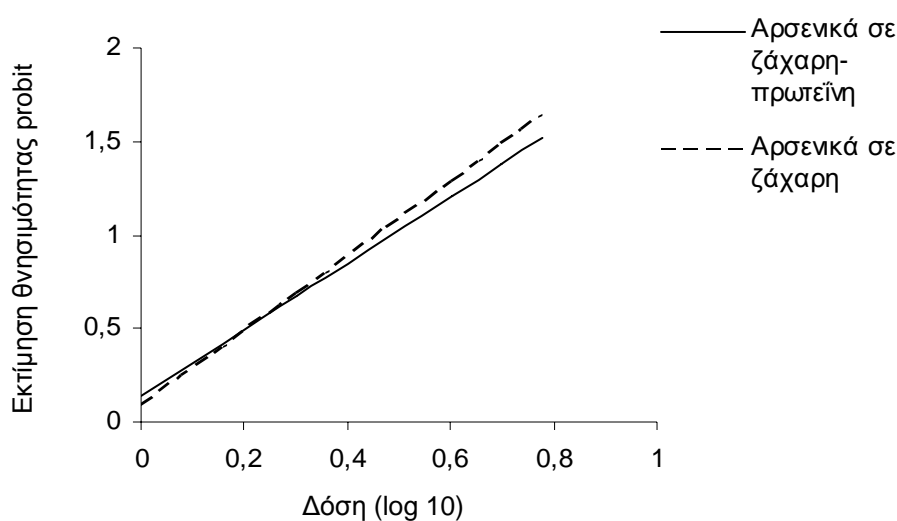
**Διάγραμμα 3.13.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για ενήλικα που τράφηκαν στις δυο διαφορετικές τροφές και εκτέθηκαν στη λιναλοόλη (n=50 ενήλικα ανά τροφή για κάθε δόση).

Στο Διάγραμμα 3.14 δίνεται η εκτίμηση της θνησιμότητας για τα αρσενικά που τράφηκαν με τα δύο είδη τροφής (μόνο ζάχαρη, ζάχαρη και πρωτεΐνη) και εκτέθηκαν σε λιμονένιο. Φαίνεται ότι τα αρσενικά που τράφηκαν με ζάχαρη ήταν πιο ευαίσθητα από αυτά που τράφηκαν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εμφάνισαν ελάχιστα υψηλότερη πιθανότητα θνησιμότητας.

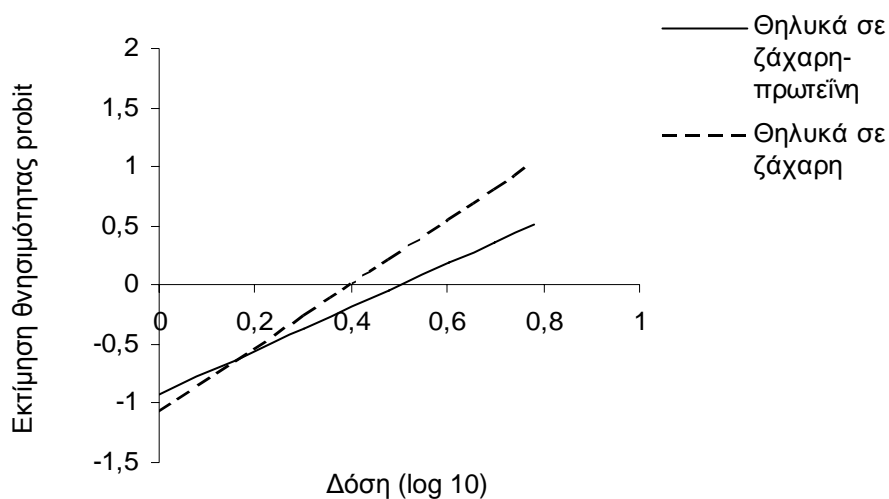
Στο Διάγραμμα 3.15 δίνεται η εκτίμηση της θνησιμότητας για τα θηλυκά που τράφηκαν με τα δύο είδη τροφής (μόνο ζάχαρη, ζάχαρη και πρωτεΐνη) και εκτέθηκαν σε λιμονένιο. Κατ' αντιστοιχία με τα αρσενικά, τα θηλυκά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη εκδήλωσαν αυξημένη πιθανότητα θνησιμότητας σε σχέση με αυτά που

τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης και πρωτεΐνης. Στα Διαγράμματα 3.16 και 3.17 δίνεται η εκτίμηση της θνησιμότητας για τα αρσενικά και τα θηλυκά που τράφηκαν με τα δύο είδη τροφής (μόνο ζάχαρη, ζάχαρη και πρωτεΐνη) και εκτέθηκαν σε α-πινένιο. Στην περίπτωση αυτή, φαίνεται πως ανεξάρτητα από το φύλο, τα άτομα που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης εμφάνισαν υψηλότερη πιθανότητα θνησιμότητας. Ωστόσο, τα θηλυκά που τράφηκαν με ζάχαρη επηρεάστηκαν μόνο από τις υψηλές δόσεις του α-πινενίου.

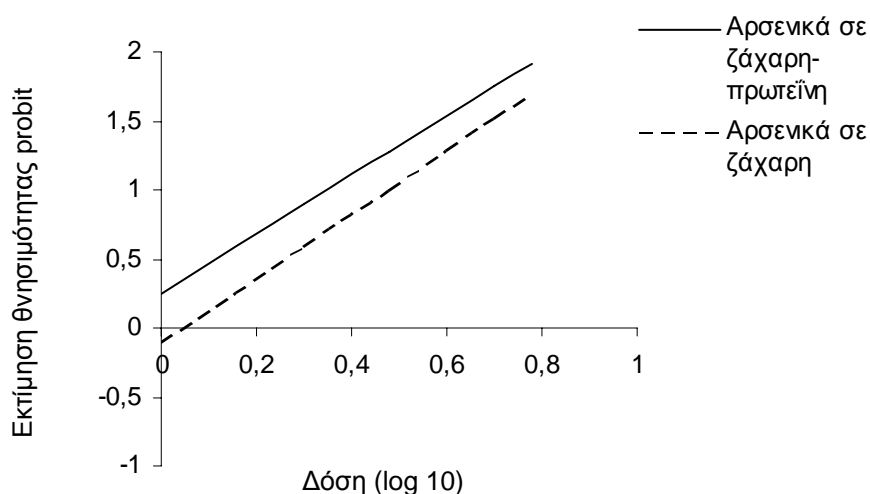
Στα Διαγράμματα 3.18 και 3.19 δίνεται η εκτίμηση της θνησιμότητας για τα αρσενικά και τα θηλυκά που τράφηκαν με τα δύο είδη τροφής (μόνο ζάχαρη, ζάχαρη και πρωτεΐνη) και εκτέθηκαν σε λιναλοόλη. Τα αρσενικά δεν εμφάνισαν μεγάλες διαφορές στην εκτίμηση της θνησιμότητας ανάμεσα στις δυο διαφορετικές τροφές. Τα θηλυκά εμφάνισαν σε γενικές γραμμές χαμηλά επίπεδα θνησιμότητας και μόνο στις υψηλές δόσεις της λιναλοόλης. Τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη εμφάνισαν υψηλότερη πιθανότητα θνησιμότητας σε σχέση με αυτά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη.



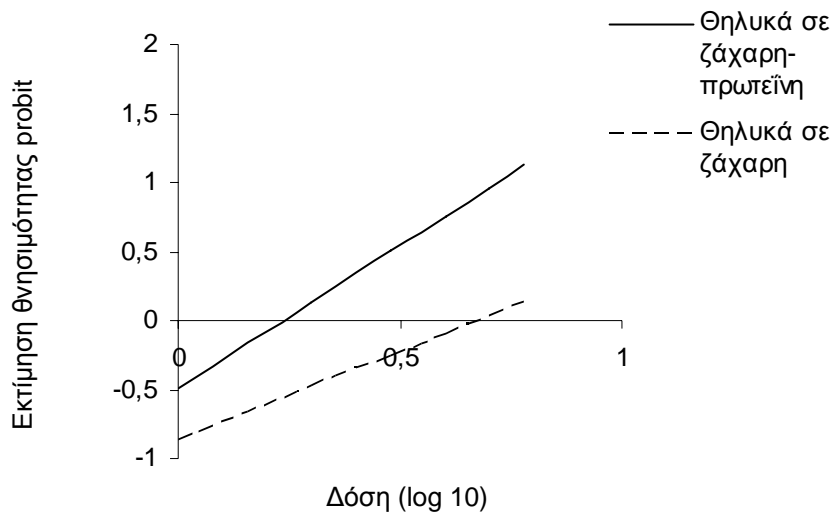
**Διάγραμμα 3.14.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για αρσενικά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη σε σύγκριση με αυτά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε λιμονένιο (n=25 αρσενικά ανά τροφή για κάθε δόση).



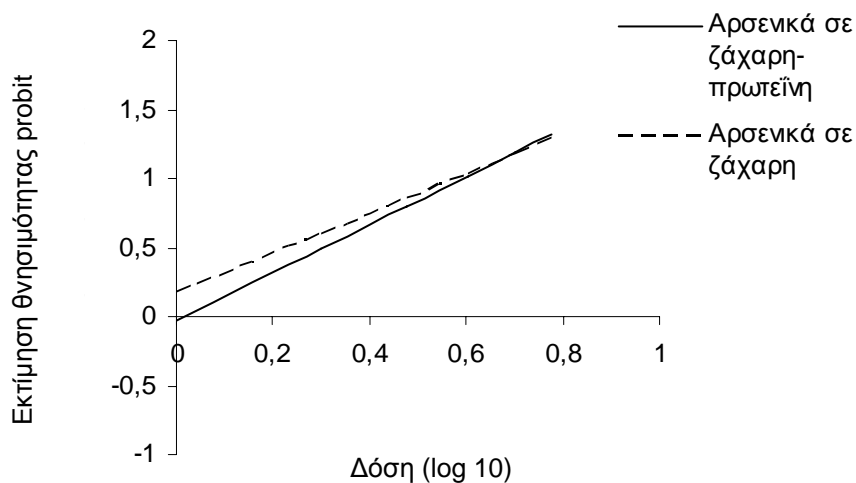
**Διάγραμμα 3.15.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για θηλυκά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη σε σύγκριση με αυτά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε λιμονένιο (n=25 θηλυκά ανά τροφή για κάθε δόση).



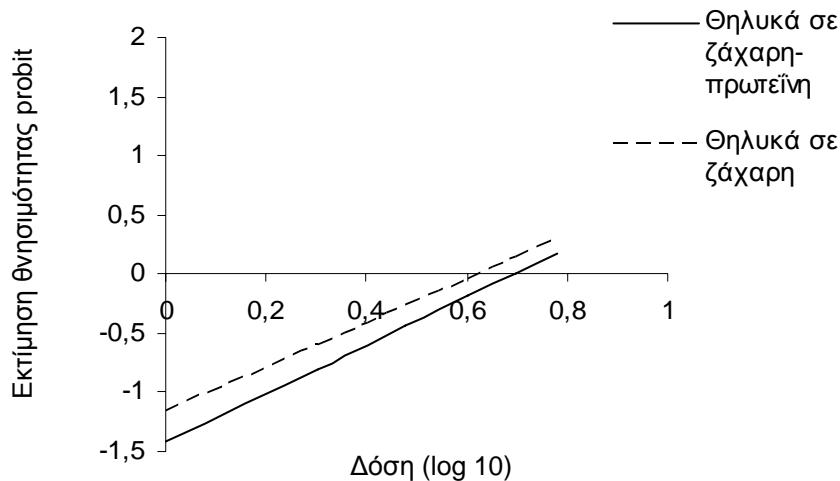
**Διάγραμμα 3.16.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για αρσενικά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη σε σύγκριση με αυτά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε α-πινένιο (n=25 αρσενικά ανά τροφή για κάθε δόση).



**Διάγραμμα 3.17.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για θηλυκά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη σε σύγκριση με αυτά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε α-πινένιο (n=25 θηλυκά ανά τροφή για κάθε δόση).



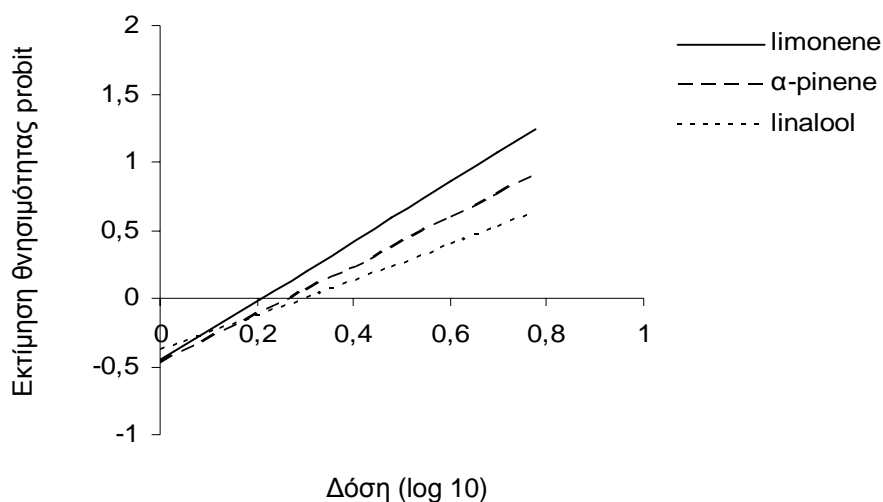
**Διάγραμμα 3.18.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για αρσενικά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη σε σύγκριση με αυτά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε λιναλοόλη (n=25 αρσενικά ανά τροφή για κάθε δόση).



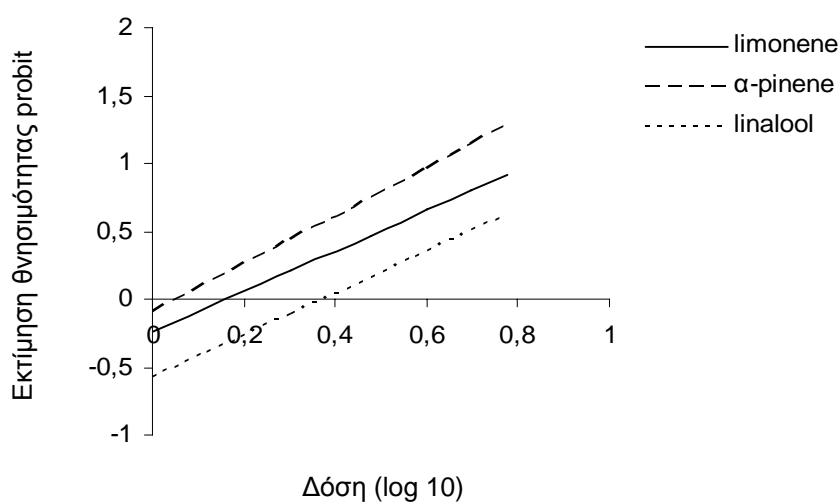
**Διάγραμμα 3.19.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για θηλυκά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη σε σύγκριση με αυτά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε λιναλοόλη (n=25 θηλυκά ανά τροφή για κάθε δόση).

### 3.2.2 Επίδραση του λιμονενίου, του α-πινενίου και της λιναλοόλης στη θνησιμότητα ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών) της μύγας της Μεσογείου

Στο Διάγραμμα 3.20 φαίνεται ότι μεταξύ των ενηλίκων που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη, τη μεγαλύτερη θνησιμότητα εκδήλωσαν αυτά που εκτέθηκαν σε λιμονένιο και τη μικρότερη αυτά που εκτέθηκαν σε λιναλοόλη. Αντίθετα στο Διάγραμμα 3.21 φαίνεται ότι μεταξύ των ενηλίκων που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, η πιθανότητα θνησιμότητας ήταν αυξημένη στα άτομα που εκτέθηκαν σε α-πινένιο και χαμηλότερη σε εκείνα που εκτέθηκαν σε λιναλοόλη.



**Διάγραμμα 3.20.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για τα άτομα που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε κάθε τοξικό παράγοντα (λιμονένιο ή α-πινένιο ή λιναλοόλη) (n=50 ενήλικα ανά τοξικό παράγοντα για κάθε δόση).



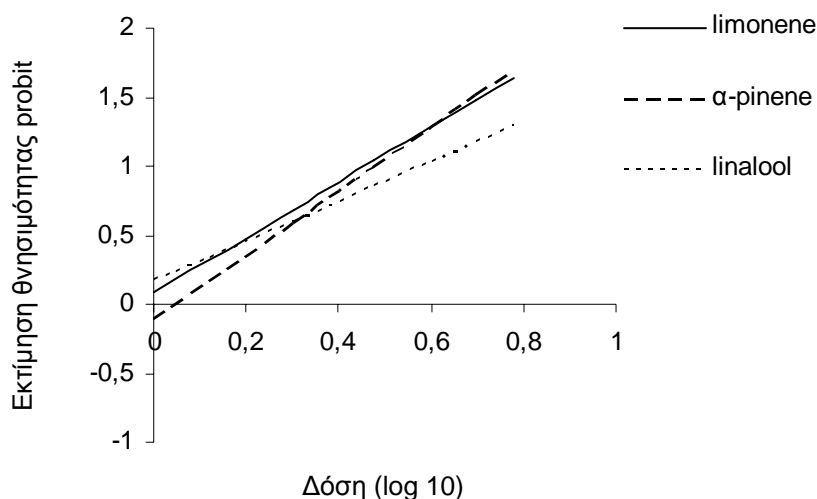
**Διάγραμμα 3.21.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για τα άτομα που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε κάθε τοξικό παράγοντα (λιμονένιο ή α-πινένιο ή λιναλοόλη) (n=50 ενήλικα ανά τοξικό παράγοντα για κάθε δόση).

Στο Διάγραμμα 3.22 δίνεται η εκτίμηση της θνησιμότητας για τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν στα τρία συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού. Φαίνεται πως σε όλες τις δόσεις, η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη στα αρσενικά που εκτέθηκαν σε λιναλοόλη. Υψηλότερη θνησιμότητα στις υψηλές δόσεις είχαν τα αρσενικά που εκτέθηκαν στο α-πινένιο ενώ στις χαμηλότερες δόσεις, στο λιμονένιο, με μικρές διαφορές.

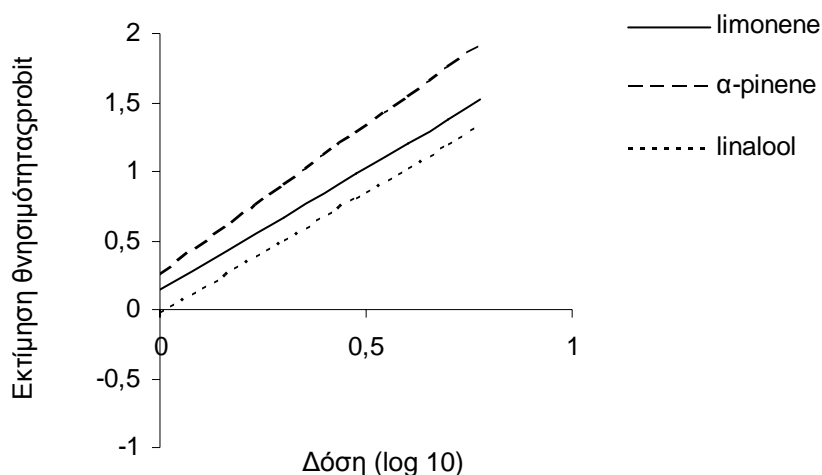
Στο Διάγραμμα 3.23 δίνεται η εκτίμηση της θνησιμότητας για τα αρσενικά που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν στα τρία συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού. Στη μεταχείριση αυτή παρατηρήθηκε αυξημένη θνησιμότητα για τα αρσενικά που εκτέθηκαν στο λιμονένιο ενώ η χαμηλότερη τοξικότητα εκδηλώθηκε όταν τα αρσενικά εκτέθηκαν στη λιναλοόλη.

Στο Διάγραμμα 3.24 δίνεται η εκτίμηση της θνησιμότητας για τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν στα τρία συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού. Σε αντίθεση με τα αρσενικά, η θνησιμότητα ήταν υψηλότερη στα θηλυκά που εκτέθηκαν σε λιμονένιο και χαμηλότερη σε αυτά που εκτέθηκαν στο α-πινένιο. Επίσης μόνο στις αυξημένες δόσεις του α-πινενίου και της λιναλοόλης, εμφανίστηκε αυξημένη θνησιμότητα.

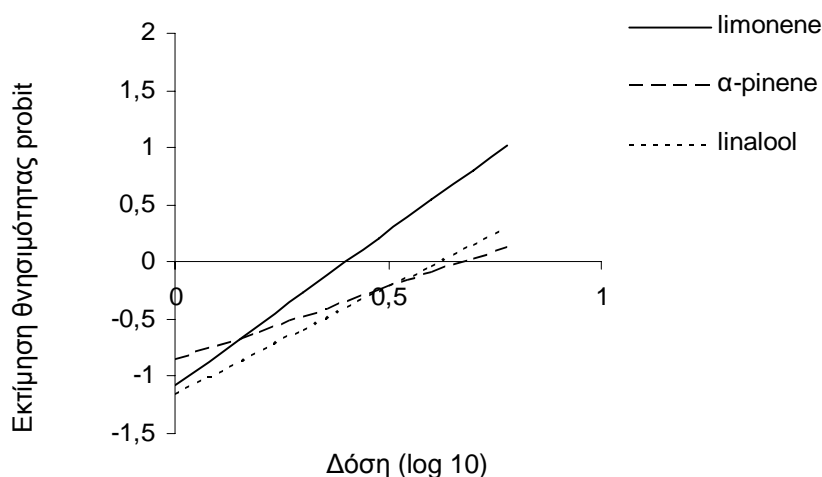
Στο Διάγραμμα 3.25 δίνεται η εκτίμηση της θνησιμότητας για τα θηλυκά που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν στα τρία συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού. Στην περίπτωση αυτή, αυξημένη πιθανότητα θνησιμότητας είχαν τα θηλυκά που εκτέθηκαν στο α-πινένιο, ενώ η χαμηλότερη εκείνα που εκτέθηκαν στη λιναλοόλη.



**Διάγραμμα 3.22.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για αρσενικά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε κάθε τοξικό παράγοντα (λιμονένιο ή α-πινένιο ή λιναλοόλη) (n=25 αρσενικά ανά τοξικό παράγοντα για κάθε δόση).

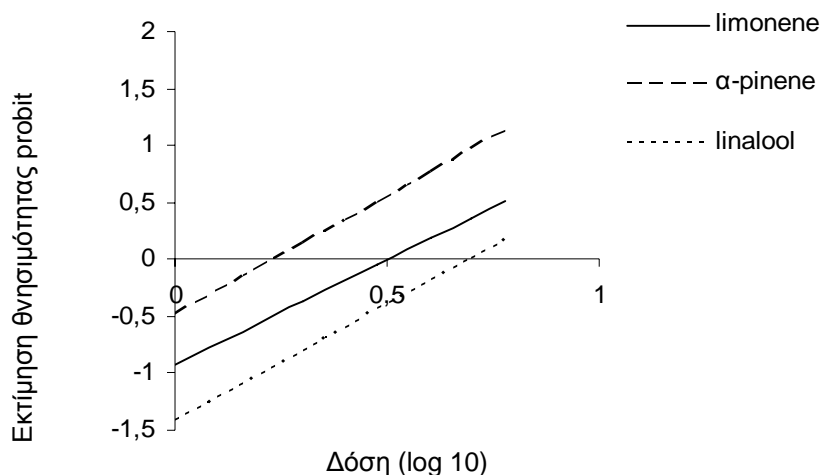


**Διάγραμμα 3.23.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για αρσενικά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε κάθε τοξικό παράγοντα (λιμονένιο ή α-πινένιο ή λιναλοόλη). (n=25 αρσενικά ανά τοξικό παράγοντα για κάθε δόση).



**Διάγραμμα 3.24.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για θηλυκά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε κάθε τοξικό παράγοντα (λιμονένιο ή α-πινένιο ή λιναλοόλη) (n=25 θηλυκά ανά τοξικό παράγοντα για κάθε δόση).





**Διάγραμμα 3.25.** Σχέση δόσης (\*100) και θνησιμότητας για θηλυκά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε κάθε τοξικό παράγοντα (λιμονένιο ή α-πινένιο ή λιναλοόλη) (n=25 θηλυκά ανά τοξικό παράγοντα για κάθε δόση).

### 3.2.3. Εκτίμηση των $LD_{20}$ , $LD_{50}$ και $LD_{90}$

Στον Πίνακα 3.1 δίνονται οι θανατηφόρες δόσεις (Lethal Doses - LD) 20, 50 και 90 και τα όρια εμπιστοσύνης (Confidence Limits - CL) για τα αρσενικά και τα θηλυκά που τράφηκαν είτε με ζάχαρη και πρωτεΐνη είτε μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε λιμονένιο, α-πινένιο και λιναλοόλη.

Η  $LD_{50}$  για τα άτομα που τράφηκαν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ήταν σημαντικά υψηλότερη για τα θηλυκά που εκτεθήκαν σε λιμονένιο και λιναλοόλη σε σχέση με αυτή των αρσενικών, ενώ οι τιμές για τα άτομα που εκτέθηκαν σε α-πινένιο δε διέφεραν σημαντικά ανάλογα με το φύλο. Άρα τα αρσενικά που τρέφονται με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ήταν πιο ευαίσθητα από τα θηλυκά όταν εκτέθηκαν σε λιμονένιο ή λιναλοόλη. Όταν τα ενήλικα, ανεξάρτητα από το φύλο τρέφονταν μόνο με ζάχαρη τότε τα αρσενικά ήταν πιο ευαίσθητα συγκριτικά με τα θηλυκά και στους 3 τοξικούς παράγοντες. Σχετικά με την επίδραση της τροφής στη θνησιμότητα των ατόμων του ίδιου φύλου που εκτέθηκαν στους 3 τοξικούς παράγοντες, δεν παρατηρείται με σαφήνεια κάποια διαφοροποίηση καθώς οι τιμές είναι παρεμφερείς τόσο στα ενήλικα που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη όσο και σε αυτά που τράφηκαν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης. Ωστόσο τα θηλυκά που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε α-πινένιο ήταν πιο ευαίσθητα από αυτά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη.

Όσον αφορά την LD<sub>20</sub>, όπως και στην LD<sub>50</sub>, η επίδραση της τροφής στη θνησιμότητα των ατόμων του ίδιου φύλου που εκτέθηκαν στους 3 τοξικούς παράγοντες, δε φάνηκε να είναι σημαντική καθώς δεν υπάρχουν ιδιαίτερες διαφοροποιήσεις στις τιμές της. Τα αρσενικά άτομα ήταν πιο ευαίσθητα από τα θηλυκά όταν είχαν εκτεθεί σε λιναλοόλη ανεξάρτητα από την τροφή που τους χορηγούνταν. Ενώ όταν η διατροφή τους αποτελούνταν μόνο από ζάχαρη, τα αρσενικά ήταν πιο ευαίσθητα από τα θηλυκά όταν αυτά είχαν εκτεθεί σε λιμονένιο.

Τέλος σχετικά με τις τιμές της LD<sub>90</sub> δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές ανάμεσα σε αυτές. Ωστόσο φαίνεται ότι γενικά τα αρσενικά που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και είχαν εκτεθεί στο α-πινένιο ήταν πιο ευαίσθητα. Αντίθετα πιο ανθεκτικά ήταν τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε α-πινένιο καθώς εμφάνισαν τη χαμηλότερη και την υψηλότερη τιμή LD<sub>90</sub> αντίστοιχα.

**Πίνακας 3.1** Εκτίμηση των τιμών LD<sub>20</sub>, LD<sub>50</sub> και LD<sub>90</sub> \*100 (μL) και των ορίων εμπιστοσύνης τους, για αρσενικά και θηλυκά που τράφηκαν με διαφορετικές τροφές και εκτέθηκαν σε λιμονένιο ή α-πινένιο ή λιναλοόλη.

|                     |          | *100 μl (CL) |                  |                   | n                      | slope | df    | χ <sup>2</sup> |       |
|---------------------|----------|--------------|------------------|-------------------|------------------------|-------|-------|----------------|-------|
|                     |          | LD20         | LD50             | LD90              |                        |       |       |                |       |
| Ζάχαρη-<br>Πρωτεΐνη | Αρσενικά | λιμονένιο    | 0,28 (0,28-0,61) | 0,83 (0,24-1,31)  | 4,40 (3,13-9,16)       | 25    | 1,774 | 4              | 5,539 |
|                     |          | α-πινένιο    | 0,31 (0,04-0,61) | 0,77 (0,26-1,17)  | 3,03 (2,21-5,42)       | 25    | 2,153 | 3              | 2,231 |
|                     |          | λιναλοόλη    | 0,33 (0,04-0,69) | 1,03 (0,37-1,55)  | 5,70 (3,94-13,68)      | 25    | 1,730 | 4              | 1,373 |
|                     | Θηλυκά   | λιμονένιο    | 1,11 (0,37-1,71) | 3,17 (2,24-4,32)  | 15,57 (8,97-67,89)     | 25    | 1,854 | 3              | 5,053 |
|                     |          | α-πινένιο    | 0,67 (0,24-1,07) | 1,72 (1,09-2,23)  | 7,13 (5,05-14,69)      | 25    | 2,075 | 4              | 2,818 |
|                     |          | λιναλοόλη    | 1,90 (1,04-2,52) | 4,93 (3,84-7,79)  | 21,04 (11,40-105,62)   | 25    | 2,036 | 4              | 1,725 |
| Ζάχαρη              | Αρσενικά | λιμονένιο    | 0,34 (0,63-0,67) | 0,91 (0,36-1,35)  | 3,97 (2,94-6,98)       | 25    | 2,004 | 4              | 6,114 |
|                     |          | α-πινένιο    | 0,48 (0,00-1,08) | 1,12 (0,04-1,89)  | 4,01 (2,46-37,96)      | 25    | 2,311 | 4              | 7,697 |
|                     |          | λιναλοόλη    | 0,19 (0,00-0,54) | 0,76 (0,10-1,34)  | 5,98 (3,72-26,34)      | 25    | 1,430 | 3              | 4,733 |
|                     | Θηλυκά   | λιμονένιο    | 1,22 (0,73-1,62) | 2,52 (1,99-3,04)  | 7,55 (5,66-12,82)      | 25    | 2,689 | 4              | 4,676 |
|                     |          | α-πινένιο    | 1,04 (0,08-1,77) | 4,77 (3,14-19,88) | 48,60 (14,45-43155,87) | 25    | 1,272 | 3              | 2,141 |
|                     |          | λιναλοόλη    | 1,47 (0,66-2,09) | 4,19 (3,13-6,72)  | 20,48 (10,59-124,93)   | 25    | 1,860 | 3              | 2,938 |

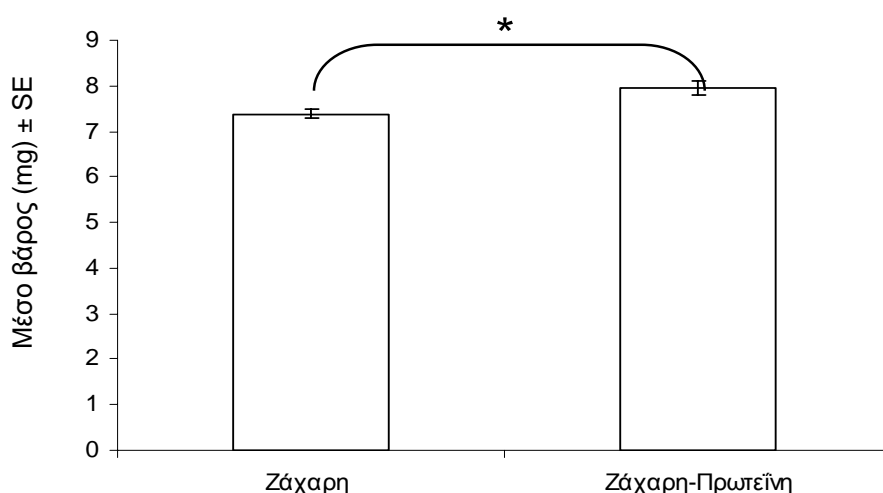
### 3.2.4 Βάρος

Στο Διάγραμμα 3.26 δίνεται το μέσο βάρος σε mg ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης. Ανεξάρτητα από το φύλο η διατροφή ήταν σημαντικός παράγοντας για το βάρος, καθώς τα άτομα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη είχαν σημαντικά μικρότερο βάρος

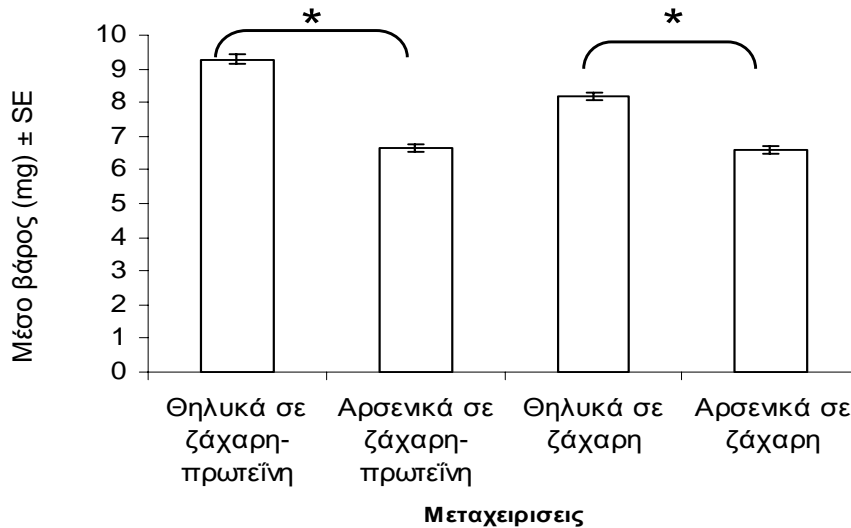
σε σχέση με αυτά που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ( $F_{1, 98}=8,641$ ,  $P=0,004$ ).

Στο Διάγραμμα 3.27 φαίνεται ότι τα θηλυκά ήταν βαρύτερα από τα αρσενικά, τόσο αυτά που διατρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ( $F_{1, 98}=193,801$ ,  $P<0,001$ ) όσο και εκείνα που διατρέφονταν μόνο με ζάχαρη ( $F_{1, 98}=108,704$ ,  $P<0,001$ ).

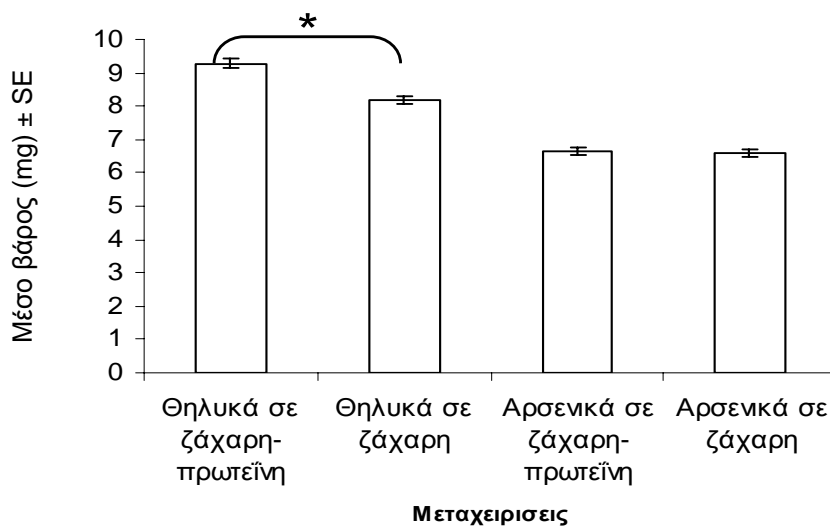
Στο Διάγραμμα 3.28 παρατηρείται ότι τα θηλυκά που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ήταν σημαντικά βαρύτερα σε σχέση με τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ( $F_{1, 98}=37,953$ ,  $P<0,001$ ) ενώ ανάμεσα στα αρσενικά που τρέφονταν με διαφορετικές τροφές, δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές στο βάρος.



**Διάγραμμα 3.26.** Σχέση βάρους εντόμων και τροφής ενηλίκων (ζάχαρη ή μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης), ανεξάρτητα από το φύλο ( $n=100$  ενήλικα ανά τροφή). Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ( $P<0,05$ ).



**Διάγραμμα 3.27.** Σχέση της τροφής και του φύλου ενηλίκων με το βάρος. Σύγκριση με βάση το φύλο (n=50 ενήλικα ανά μεταχείριση). Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ( $P < 0,05$ ).



**Διάγραμμα 3.28.** Σχέση τροφής ενηλίκων και φύλου εντόμων με το βάρος. Σύγκριση με βάση την τροφή (n=50 ενήλικα ανά μεταχείριση). Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ( $P < 0,05$ ).

### 3.3 Πείραμα 3: Επίδραση υποθανατηφόρου δόσης λιμονενίου ( $LD_{20}$ ) στα βιολογικά χαρακτηριστικά ενηλίκων

Στον Πίνακα 3.2 δίνεται η μέση διάρκεια ζωής και το τυπικό σφάλμα αρσενικών και θηλυκών που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης και πρωτεΐνης ή μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρο δόση λιμονενίου ή μόνο σε ακετόνη (μάρτυρας). Τα αρσενικά έζησαν σημαντικά μακρύτερο χρονικό διάστημα από τα

θηλυκά ανεξάρτητα από την τροφή και την έκθεση σε τοξικό παράγοντα (log-rank test;  $\chi^2=39,897$ ,  $df=1$ ,  $P<0.001$ ). Τα ενήλικα που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης είχαν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής ανεξαρτήτως φύλου και έκθεσης στον τοξικό παράγοντα (log-rank test;  $\chi^2=20,739$ ,  $df=1$ ,  $P<0.001$ ). Τα ενήλικα που εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου είχαν σημαντικά αυξημένη διάρκεια ζωής σε σύγκριση με εκείνα που εκτέθηκαν σε ακετόνη (log-rank test;  $\chi^2=9,019$ ,  $df=1$ ,  $P=0.003$ ).

Στα Διαγράμματα 3.29 και 3.30 δίνεται η επιβίωση των αρσενικών που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη και με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης αντίστοιχα και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου ή σε ακετόνη. Τα αρσενικά που εκτέθηκαν σε λιμονένιο και τράφηκαν μόνο με ζάχαρη έζησαν για μακρύτερο χρονικό διάστημα από αυτά που εκτέθηκαν σε καθαρή ακετόνη (log-rank test;  $\chi^2=6,059$ ,  $df=1$ ,  $P=0.014$ ), ενώ στα αρσενικά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης διαφορές ανάλογα με την έκθεση δεν ήταν σημαντικές ( $P>0,05$ ).

Στα Διαγράμματα 3.31 και 3.32 δίνεται η επιβίωση των θηλυκών που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη και με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης αντίστοιχα και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου ή σε ακετόνη. Η επιβίωση, σε σχέση με την ηλικία, ήταν υψηλότερη για τα θηλυκά που εκτέθηκαν στο λιμονένιο και τράφηκαν μόνο με ζάχαρη, σε σχέση με εκείνα που εκτέθηκαν σε ακετόνη και δέχθηκαν την ίδια τροφή (log-rank test;  $\chi^2=4,595$ ,  $df=1$ ,  $P=0.032$ ). Συγκεκριμένα, ποσοστό μεγαλύτερο του 60% επιβίωσε ως την 20<sup>η</sup> μέρα στα άτομα που είχαν εκτεθεί στο λιμονένιο και είχαν τραφεί μόνο με ζάχαρη. Στα θηλυκά που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης οι διαφορές, δεν ήταν σημαντικές ( $P>0,05$ ).

Στα Διαγράμματα 3.33 και 3.34 δίνεται η ωοπαραγωγή ανά θηλυκό, ανά ημέρα, των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης αντίστοιχα και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου ή σε ακετόνη. Τα θηλυκά που εκτέθηκαν στο λιμονένιο είχαν υψηλότερη ωοπαραγωγή από τα μη εκτεθειμένα ανεξάρτητα από την τροφή που δέχτηκαν ( $F_{1, 52}=9,813$ ,  $P=0,002$ ).

Στο Διάγραμμα 3.35 δίνεται η επιβίωση των θηλυκών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη. Τα άτομα που τράφηκαν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης έζησαν για μακρύτερο χρονικό διάστημα σε σχέση με εκείνα που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη (log-rank test;  $\chi^2=4,358$ ,  $df=1$ ,  $P=0.037$ ). Συγκεκριμένα, ποσοστό μεγαλύτερο του 80% επιβίωσε ως την 20<sup>η</sup> μέρα

στα άτομα που είχαν τραφεί με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ενώ το αντίστοιχο ποσοστό για τα άτομα που είχαν τραφεί μόνο με ζάχαρη, ήταν περίπου το 50%.

Στο Διάγραμμα 3.36 δίνεται η επιβίωση των αρσενικών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη. Και σε αυτή την περίπτωση, η επιβίωση των ατόμων που τρέφονταν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ήταν υψηλότερη σε σχέση με την επιβίωση εκείνων που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (log-rank test;  $\chi^2=11,306$ ,  $df=1$ ,  $P=0.001$ ).

Στο Διάγραμμα 3.37 δίνεται η ωοπαραγωγή των θηλυκών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη. Τα θηλυκά που τρέφονταν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης είχαν ιδιαίτερα αυξημένη ωοπαραγωγή σε σύγκριση με εκείνα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ( $F_{1, 52}=73,740$ ,  $P<0,001$ ).

Στο Διάγραμμα 3.38 δίνεται η επιβίωση των θηλυκών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε λιμονένιο. Η επιβίωση των θηλυκών που τράφηκαν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, ήταν υψηλότερη σε σχέση με την επιβίωση εκείνων που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη αλλά όχι σε σημαντικό βαθμό ( $P>0,05$ ).

Στο Διάγραμμα 3.39 δίνεται η επιβίωση των αρσενικών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε λιμονένιο. Τα άτομα που τρέφονταν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης παρουσίασαν υψηλότερο βαθμό επιβίωσης σε σχέση με αυτά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (log-rank test;  $\chi^2=15,552$ ,  $df=1$ ,  $P<0,001$ ).

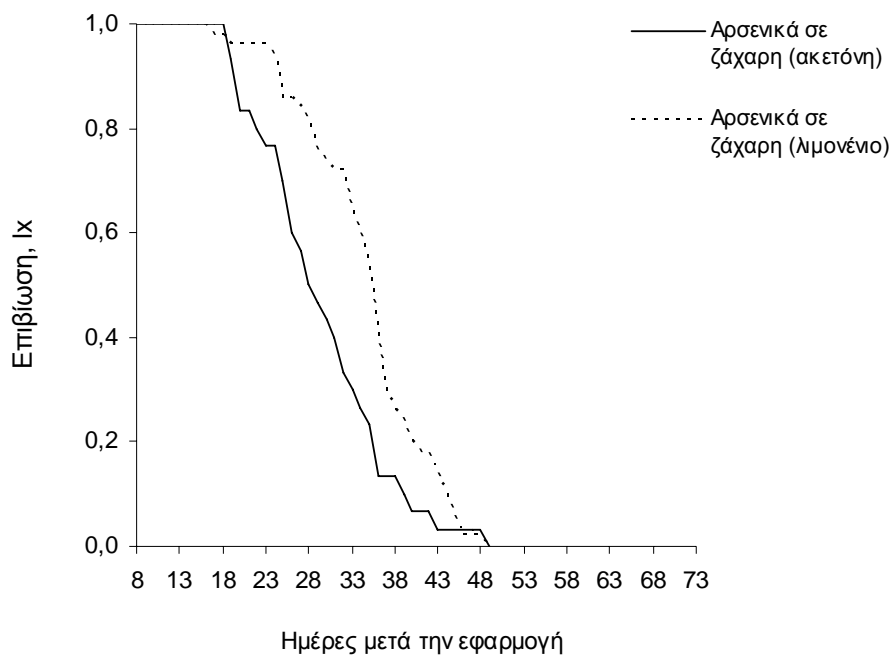
Στο Διάγραμμα 3.40 δίνεται η ωοπαραγωγή των θηλυκών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε λιμονένιο. Τα θηλυκά που τρέφονταν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης παρουσίασαν αυξημένη ωοπαραγωγή σε σύγκριση με εκείνα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ( $F_{1, 52}=73,740$ ,  $P<0,001$ ).

Τέλος στο Διάγραμμα 3.41 δίνεται συγκεντρωτικά η ωοπαραγωγή των θηλυκών που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε λιμονένιο ή σε ακετόνη, παρουσιάζοντας με διαφορετικό τρόπο τα αποτελέσματα για την ωοπαραγωγή των θηλυκών που αναφέρθηκαν και εξηγήθηκαν παραπάνω.

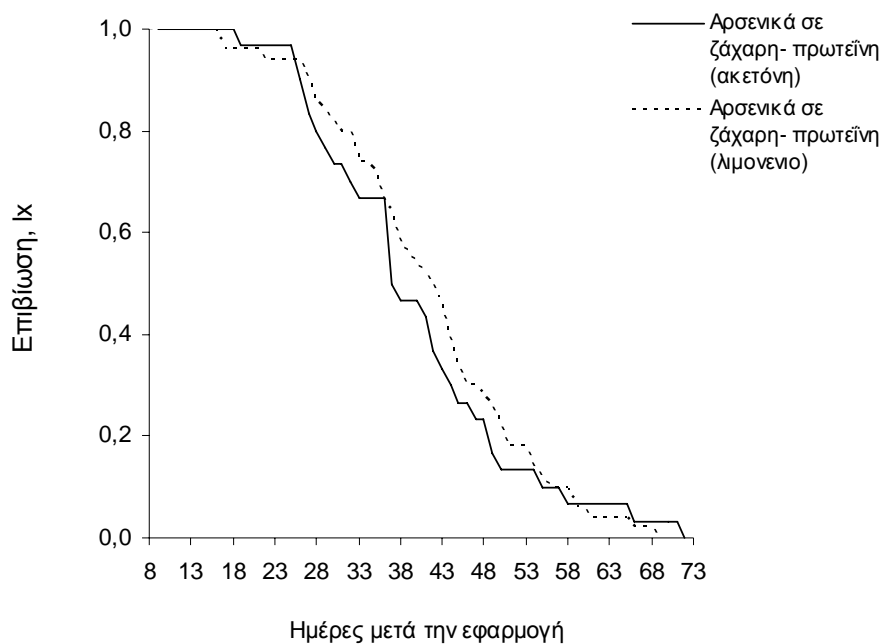
Σε όλα τα Διαγράμματα, παρουσιάζεται η διάρκεια ζωής των ενηλίκων από την 8<sup>η</sup> μέρα της ζωής τους και μετά.

**Πίνακας 3.2.** Παράμετροι της διάρκειας ζωής αρσενικών και θηλυκών της μύγας της Μεσογείου που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ή μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε ακετόνη ή σε υποθανατηφόρο δόση λιμονενίου.

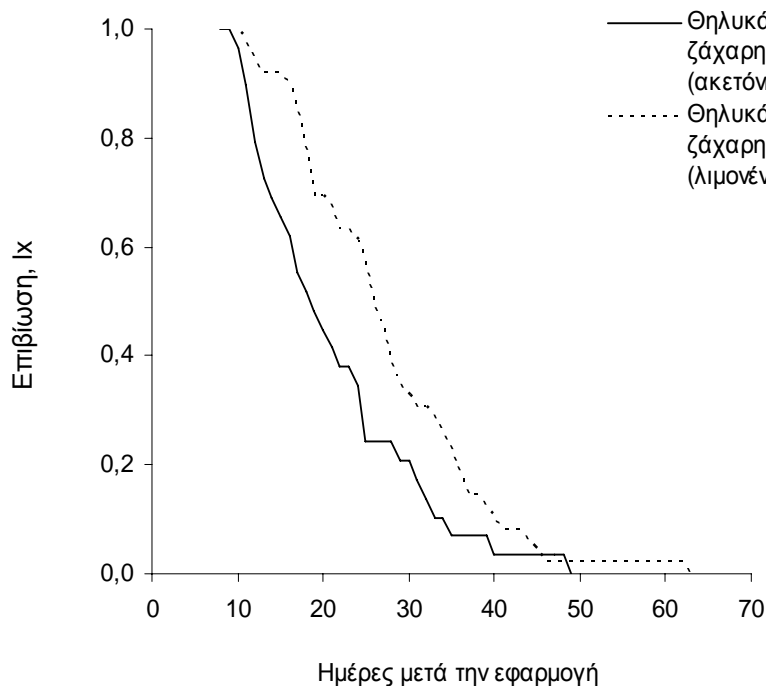
|                  | <u>Διάρκεια ζωής (ημέρες ± SE)</u> |                                 |           |           |
|------------------|------------------------------------|---------------------------------|-----------|-----------|
|                  | Μέσος όρος                         | <u>Τεταρτημόρια (Quartiles)</u> |           |           |
| Μεταχείριση      |                                    | <u>25</u>                       | <u>50</u> | <u>75</u> |
| <b>Ακετόνη</b>   |                                    |                                 |           |           |
| <u>Αρσενικά</u>  |                                    |                                 |           |           |
| Ζάχαρη           | 21,63 ± 1,38                       | 27 ± 1,39                       | 20 ± 2,05 | 17 ± 2,51 |
| Ζάχαρη-Πρωτεΐνη  | 31,10 ± 2,23                       | 38 ± 2,90                       | 28 ± 3,13 | 21 ± 3,23 |
| <u>Θηλυκά</u>    |                                    |                                 |           |           |
| Ζάχαρη           | 13,41 ± 1,81                       | 17 ± 3,23                       | 11 ± 2,69 | 5 ± 1,20  |
| Ζάχαρη-Πρωτεΐνη  | 20,38 ± 1,71                       | 26 ± 1,31                       | 18 ± 1,34 | 13 ± 1,81 |
| <b>Λιμονένιο</b> |                                    |                                 |           |           |
| <u>Αρσενικά</u>  |                                    |                                 |           |           |
| Ζάχαρη           | 26,92 ± 1,00                       | 31 ± 1,81                       | 28 ± 0,69 | 22 ± 1,72 |
| Ζάχαρη-Πρωτεΐνη  | 33,74 ± 1,66                       | 42 ± 2,44                       | 34 ± 1,96 | 25 ± 2,22 |
| <u>Θηλυκά</u>    |                                    |                                 |           |           |
| Ζάχαρη           | 19,49 ± 1,50                       | 27 ± 2,43                       | 18 ± 1,17 | 11 ± 0,81 |
| Ζάχαρη-Πρωτεΐνη  | 21,94 ± 1,58                       | 23 ± 3,01                       | 19 ± 0,58 | 16 ± 0,73 |



**Διάγραμμα 3.29.** Επιβίωση αρσενικών που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου (n=50), ή σε ακετόνη (n=30) (log rank test,  $P < 0.05$ ).

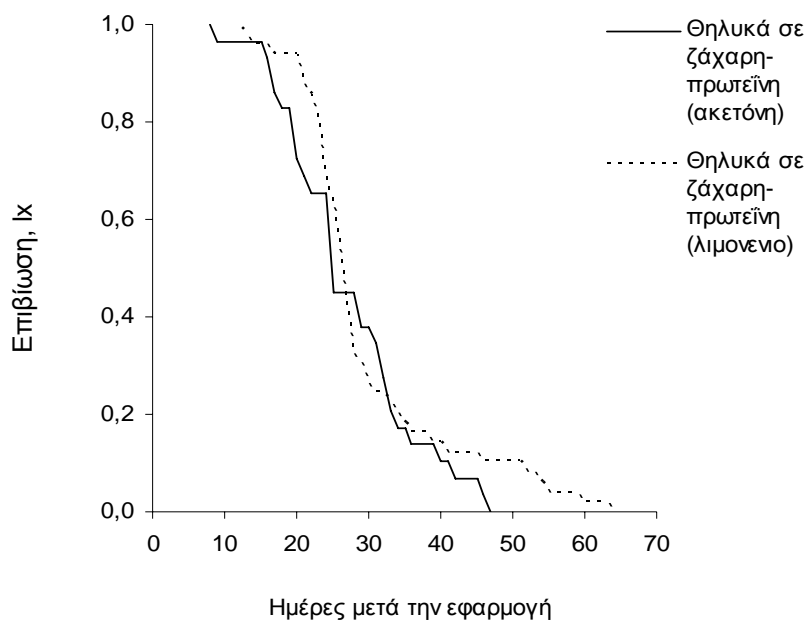


**Διάγραμμα 3.30.** Επιβίωση αρσενικών που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου (n=50), ή σε ακετόνη (n=30) (log rank test,  $P<0.05$ ).

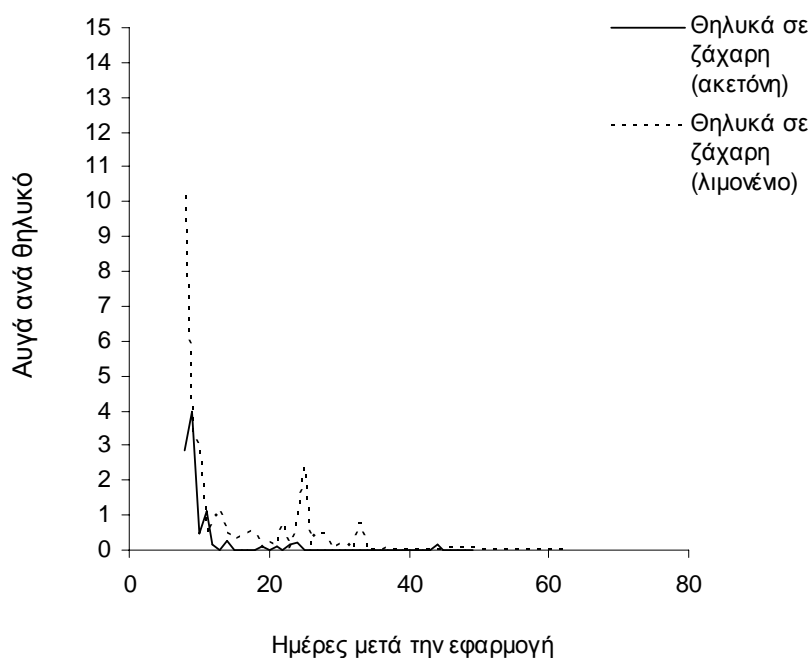


**Διάγραμμα 3.31.** Επιβίωση θηλυκών που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου (n=50), ή σε ακετόνη (n=30) (log rank test,  $P<0.05$ ).

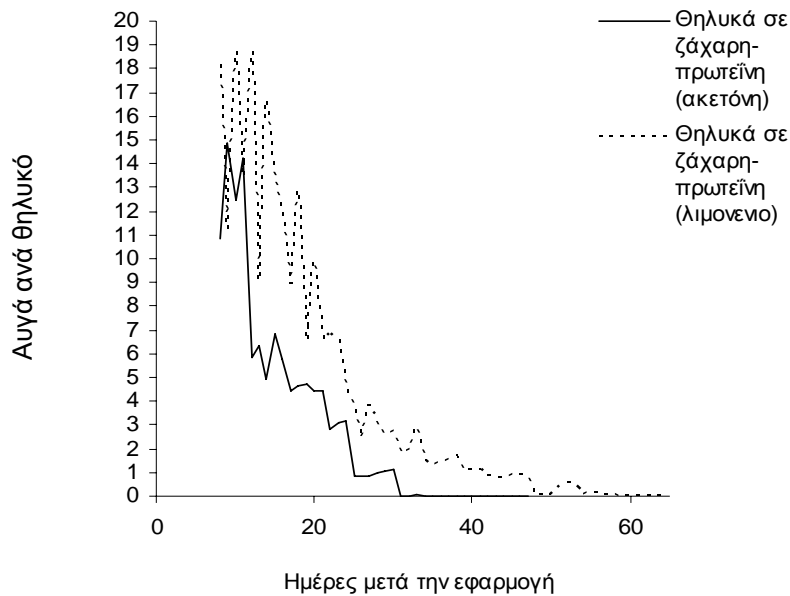




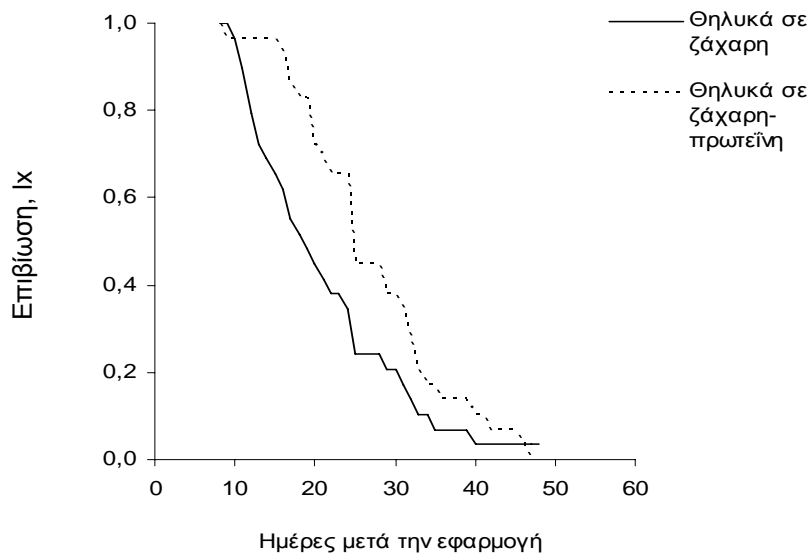
**Διάγραμμα 3.32.** Επιβίωση θηλυκών που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου ( $n=50$ ), ή σε ακετόνη ( $n=30$ ) (log rank test,  $P<0.05$ ).



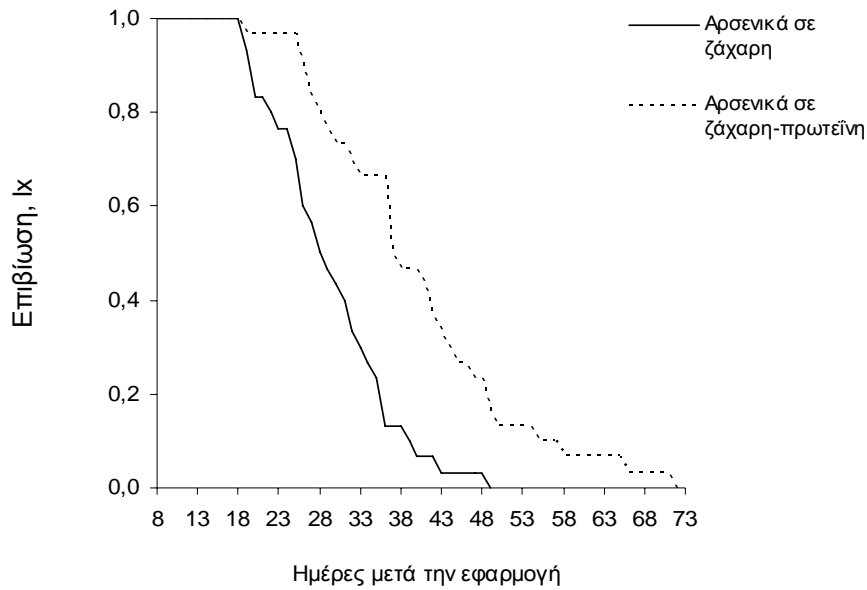
**Διάγραμμα 3.33.** Ωοπαραγωγή θηλυκών που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου ( $n=50$ ), ή σε ακετόνη ( $n=30$ ) ( $P<0.05$ ).



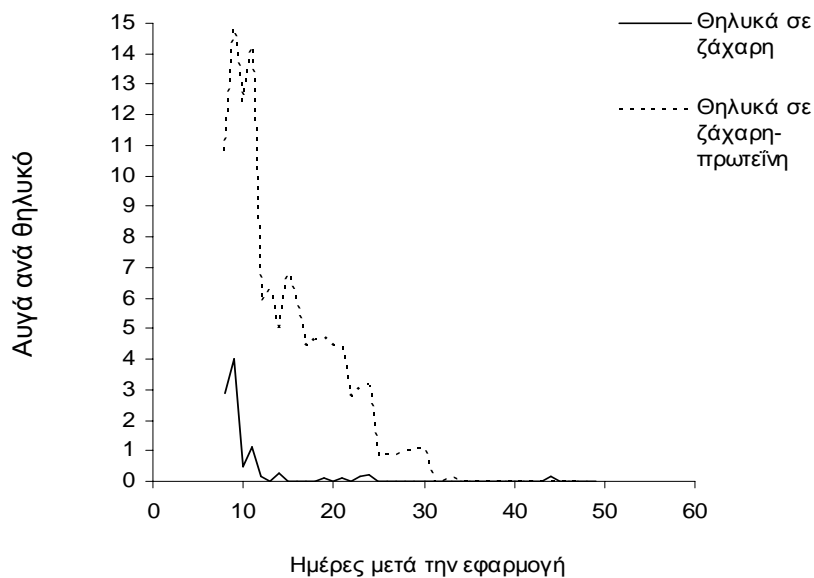
**Διάγραμμα 3.34.** Ωοπαράγωγή θηλυκών που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου ( $n=50$ ), ή σε ακετόνη ( $n=30$ ) ( $P<0.05$ ).



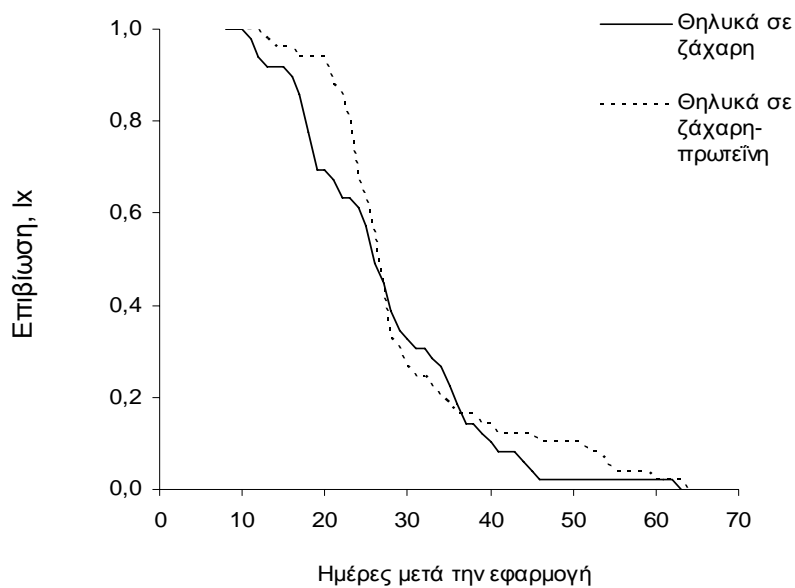
**Διάγραμμα 3.35.** Επιβίωση θηλυκών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη, αποτελώντας το μάρτυρα (log rank test,  $P<0.05$ ).



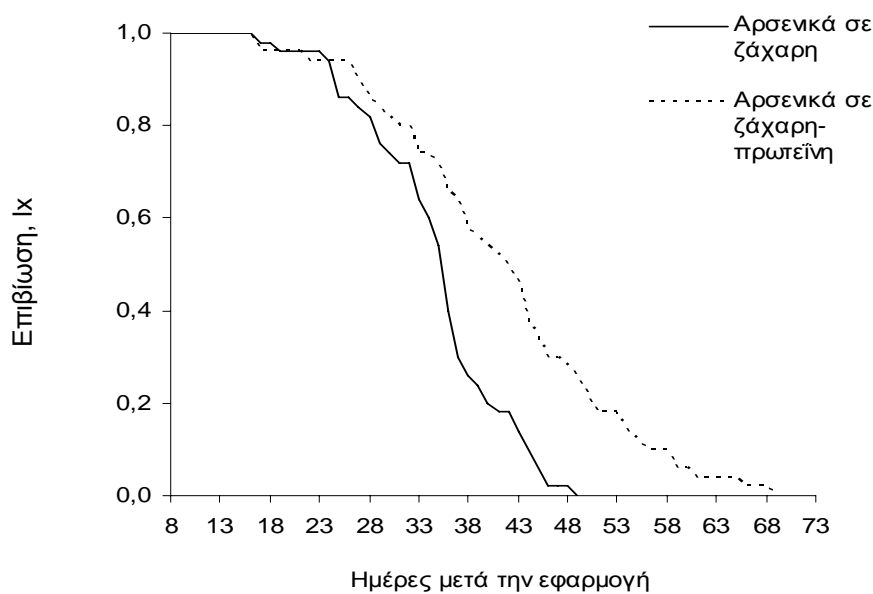
**Διάγραμμα 3.36.** Επιβίωση αρσενικών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη, αποτελώντας το μάρτυρα (log rank test,  $P<0.05$ ).



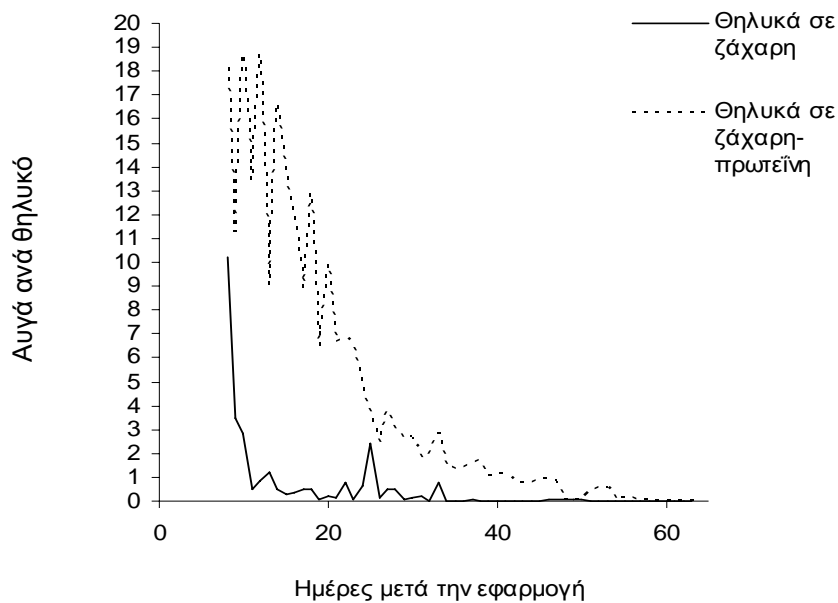
**Διάγραμμα 3.37.** Ωοπαράγωγή θηλυκών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε ακετόνη, αποτελώντας το μάρτυρα ( $P<0.05$ ).



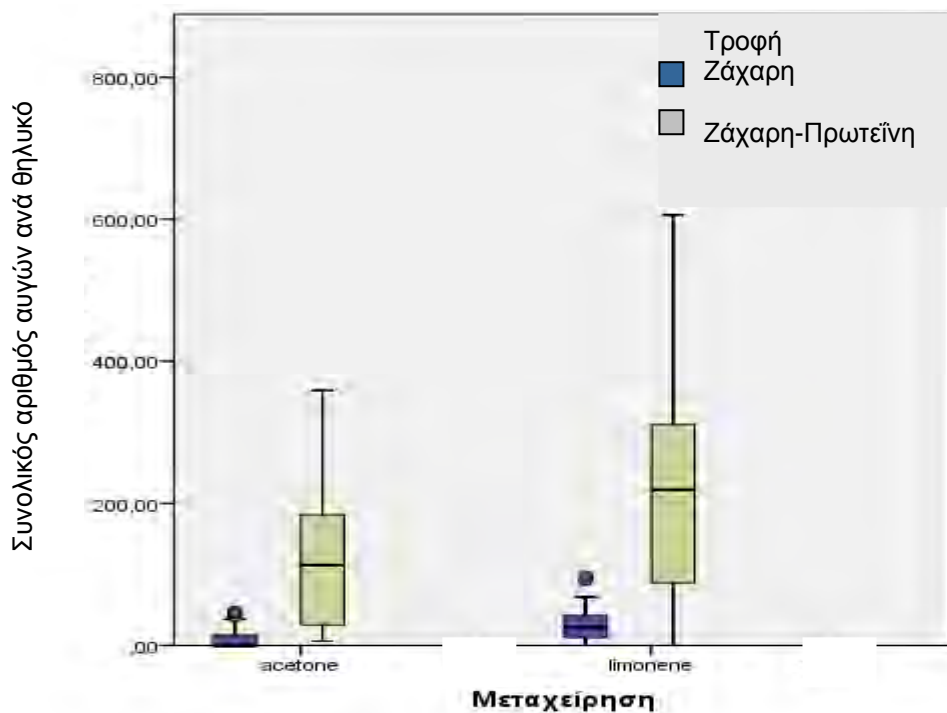
**Διάγραμμα 3.38.** Επιβίωση θηλυκών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρα δόση λιμονενίου (log rank test,  $P < 0.05$ ).



**Διάγραμμα 3.39.** Επιβίωση αρσενικών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρα δόση λιμονενίου (log rank test,  $P < 0.05$ ).



**Διάγραμμα 3.40.** Ωοπαραγωγή θηλυκών που τράφηκαν με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρα δόση λιμονενίου ( $P < 0.05$ ).



**Διάγραμμα 3.41.** Κυτιογράμματα (box plots) της συνολικής (σε όλη τη διάρκεια ζωής) ωοπαραγωγή θηλυκών που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη ή με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης και εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρο δόση λιμονενίου ή σε ακετόνη.

### 3.4 Πείραμα 4: Επίδραση της ηλικίας των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου στην τοξικότητα του λιμονενίου, του α-πινενίου και της λιναλοόλης

#### 3.4.1. Λιμονένιο

Στον Πίνακα 3.3 δίνεται συγκεντρωτικά η μέση θνησιμότητα ενηλίκων που τράφηκαν με τις δύο διαφορετικές τροφές και δέχθηκαν υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου σε τέσσερις διαφορετικές ηλικίες (5,10, 15 και 20 ημερών).

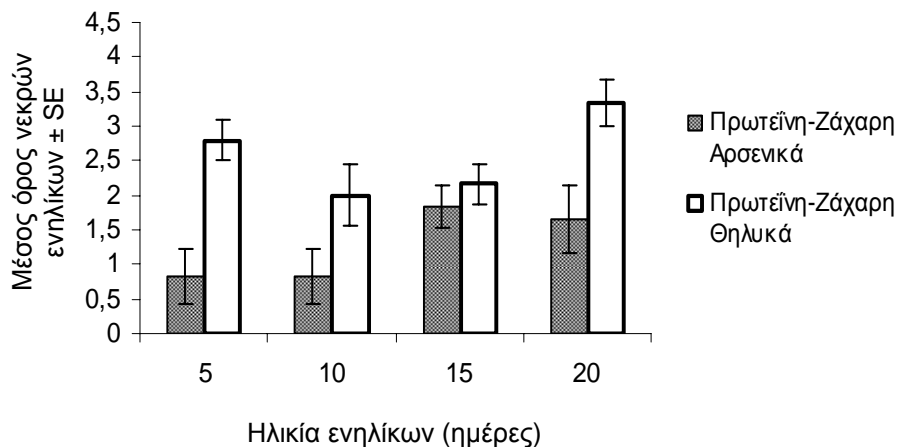
Στο Διάγραμμα 3.42 δίνεται η μέση θνησιμότητα ( $\pm$  SE) αρσενικών και θηλυκών ατόμων, που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, σε σχέση με την ηλικία τους.

Στο Διάγραμμα 3.43. δίνεται η μέση θνησιμότητα ( $\pm$  SE) αρσενικών και θηλυκών ατόμων, που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη, σε σχέση με την ηλικία τους.

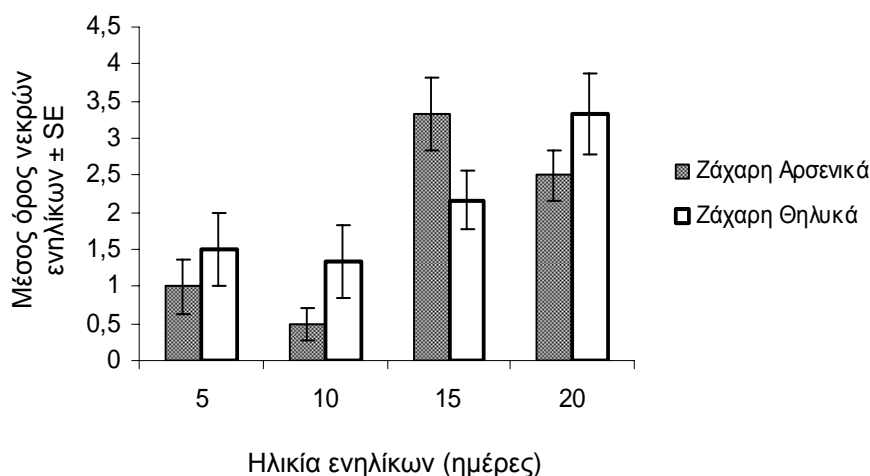
Από τον πίνακα και τα διαγράμματα προκύπτει ότι γενικά πιο ευαίσθητα ήταν τα θηλυκά, εκτός από την περίπτωση των 15 ημερών για τα άτομα που τράφηκαν με ζάχαρη όπου τα αρσενικά εμφάνισαν αυξημένη θνησιμότητα σε σχέση με τα θηλυκά. Γενικά, όσο αυξανόταν η ηλικία αυξανόταν και η θνησιμότητα των ατόμων. Ωστόσο, παρατηρήθηκε αυξημένη θνησιμότητα στα θηλυκά άτομα των 5 ημερών ανεξάρτητα από την τροφή αλλά και στα αρσενικά άτομα που τράφηκαν με ζάχαρη, διαφοροποιώντας έτσι την ανάλογη αύξηση ηλικίας-θνησιμότητας. Βάσει της ανάλυσης παραλλακτικότητας (UNIANOVA) που έγινε, φάνηκε να είναι σημαντικοί παράγοντες θνησιμότητας η ηλικία ( $F_{3, 88}=11,254$ ,  $P<0,001$ ), και το φύλο ( $F_{1, 88}=13,061$ ,  $P=0,001$ ).

**Πίνακας 3.3.** Επίδραση της ηλικίας, του είδους της τροφής και του φύλου των ενηλίκων στη θνησιμότητα ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου (n=6 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).

| Τροφή           |          | Μ.Ο. Νεκρών ενηλίκων $\pm$ SE |                 |                 |                 |
|-----------------|----------|-------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                 |          | 5 ημ                          | 10 ημ           | 15 ημ           | 20 ημ           |
| Πρωτεΐνη-Ζάχαρη | Αρσενικά | 0,83 $\pm$ 0,4                | 0,83 $\pm$ 0,4  | 1,83 $\pm$ 0,3  | 1,66 $\pm$ 0,49 |
|                 | Θηλυκά   | 2,8 $\pm$ 0,3                 | 2 $\pm$ 0,44    | 2,16 $\pm$ 0,3  | 3,33 $\pm$ 0,33 |
| Ζάχαρη          | Αρσενικά | 1 $\pm$ 0,36                  | 0,5 $\pm$ 0,22  | 3,33 $\pm$ 0,49 | 2,5 $\pm$ 0,34  |
|                 | Θηλυκά   | 1,5 $\pm$ 0,5                 | 1,33 $\pm$ 0,49 | 2,16 $\pm$ 0,4  | 3,33 $\pm$ 0,55 |



**Διάγραμμα 3.42.** Μέσος όρος νεκρών ενηλίκων ( $\pm$  SE), που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, σε σχέση με την ηλικία τους ( $n=6$  κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).



**Διάγραμμα 3.43.** Μέσος όρος νεκρών ενηλίκων ( $\pm$  SE), που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη, σε σχέση με την ηλικία τους ( $n=6$  κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).

### 3.4.2 $\alpha$ -ΠΙΝΕΝΙΟ

Στον Πίνακα 3.4 δίνεται συγκεντρωτικά η μέση θνησιμότητα ενηλίκων που τράφηκαν με τις δύο διαφορετικές τροφές και δέχθηκαν υποθανατηφόρες δόσεις  $\alpha$ -πινενίου σε τέσσερις διαφορετικές ηλικίες (5, 10, 15 και 20 ημερών).

Στο Διάγραμμα 3.44 δίνεται η μέση θνησιμότητα ( $\pm$  SE) αρσενικών και θηλυκών ατόμων, που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, σε σχέση με την ηλικία τους.

Στο Διάγραμμα 3.45. δίνεται η μέση θνησιμότητα ( $\pm$  SE) αρσενικών και θηλυκών ατόμων, που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη, σε σχέση με την ηλικία τους.

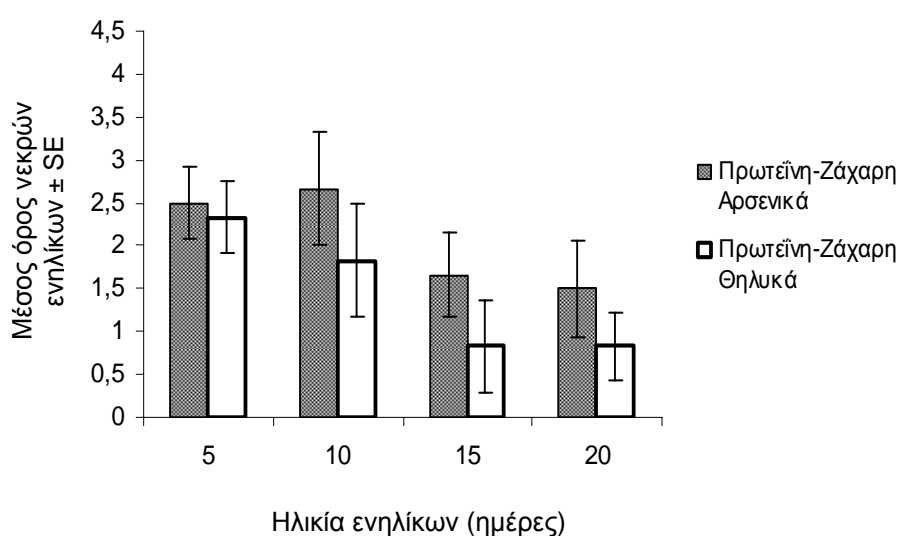
Από τον πίνακα και τα διαγράμματα φαίνεται ότι η θνησιμότητα ήταν αυξημένη στις μικρότερες ηλικίες και τα αρσενικά ήταν πιο ευαίσθητα από τα θηλυκά ανεξαρτήτως τροφής και ηλικίας.

Στο Διάγραμμα 3.44, υπάρχει μια διαφοροποίηση στα αρσενικά, καθώς τη δεύτερη μέρα είχαν αυξημένη θνησιμότητα σε σχέση με την πρώτη, ενώ στα θηλυκά η θνησιμότητα μειωνόταν σταδιακά όσο αυξανόταν η ηλικία.

Στο Διάγραμμα 3.45, φαίνεται μια διαφοροποίηση, καθώς τα άτομα είχαν αυξημένη θνησιμότητα στις ηλικίες των 5 και 15 ημερών ανεξαρτήτως φύλου. Από την ανάλυση παραλλακτικότητας (UNIANOVA) φάνηκε να είναι σημαντικοί παράγοντες θνησιμότητας το φύλο ( $F_{1, 80}=22,781, P<0,001$ ) και η ηλικία ( $F_{3, 80}=3,688, P=0,015$ ).

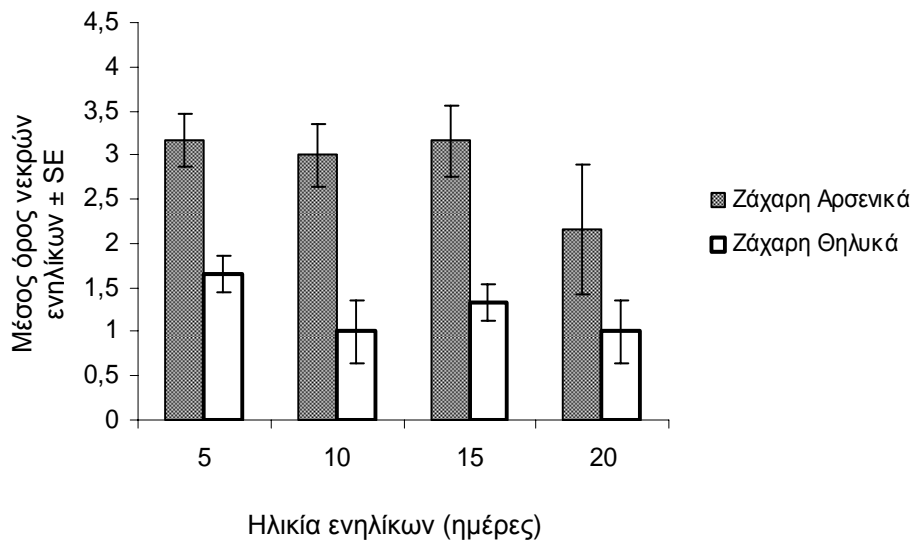
**Πίνακας 3.4.** Επίδραση της ηλικίας, του είδους της τροφής και του φύλου των ενηλίκων στη θνησιμότητα ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις α-πινενίου (n=6 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).

|                 |          | <u>M.O. Νεκρών ενηλίκων ± SE</u> |             |             |             |
|-----------------|----------|----------------------------------|-------------|-------------|-------------|
| Τροφή           |          | 5 ημ                             | 10 ημ       | 15 ημ       | 20 ημ       |
| Πρωτεΐνη-Ζάχαρη | Αρσενικά | 2,5 ± 0,42                       | 2,66 ± 0,66 | 1,66 ± 0,49 | 1,5 ± 0,56  |
|                 | Θηλυκά   | 2,33 ± 0,42                      | 1,83 ± 0,65 | 0,83 ± 0,54 | 0,83 ± 0,4  |
| Ζάχαρη          | Αρσενικά | 3,16 ± 0,3                       | 3 ± 0,36    | 3,16 ± 0,4  | 2,16 ± 0,74 |
|                 | Θηλυκά   | 1,66 ± 0,21                      | 1 ± 0,36    | 1,33 ± 0,21 | 1 ± 0,36    |



**Διάγραμμα 3.44.** Μέσος όρος νεκρών ενηλίκων(± SE), που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, σε σχέση με την ηλικία τους (n=6 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).





**Διάγραμμα 3.45.** Μέσος όρος νεκρών ενηλίκων ( $\pm$  SE), που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη, σε σχέση με την ηλικία τους ( $n=6$  κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).

### 3.4.3 Λιναλοόλη

Στον Πίνακα 3.5 δίνεται συγκεντρωτικά η μέση θνησιμότητα ενηλίκων που τράφηκαν με τις δύο διαφορετικές τροφές και δέχθηκαν υποθανατηφόρες δόσεις λιναλοόλης σε 4 διαφορετικές ηλικίες (5, 10, 15 και 20 ημερών).

Στο Διάγραμμα 3.46 δίνεται η μέση θνησιμότητα ( $\pm$  SE) αρσενικών και θηλυκών ατόμων, που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, σε σχέση με την ηλικία τους.

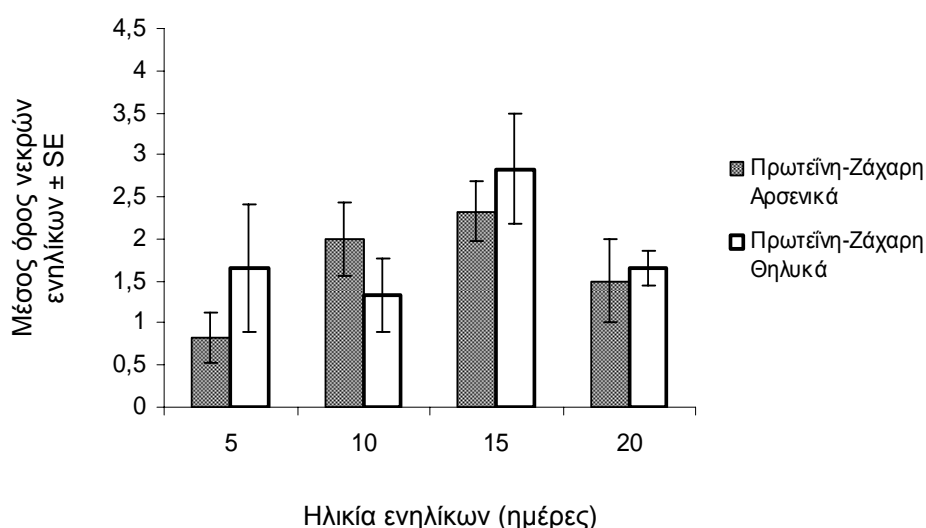
Στο Διάγραμμα 3.47. δίνεται η μέση θνησιμότητα ( $\pm$  SE) αρσενικών και θηλυκών ατόμων, που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη, σε σχέση με την ηλικία τους.

Από τον πίνακα και τα διαγράμματα φαίνεται πως η θνησιμότητα των αρσενικών που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης ήταν αυξημένη στις ηλικίες των 10 και 15 ημερών, ενώ τα αντίστοιχα θηλυκά άτομα είχαν αυξημένη θνησιμότητα στις ηλικίες των 5 και 25 ημερών. Γενικότερα τα θηλυκά ήταν πιο ευαίσθητα από τα αρσενικά σε όλες τις ηλικίες εκτός από αυτή των 10 ημερών. Όσον αφορά τα άτομα που τράφηκαν με ζάχαρη, τα αρσενικά παρουσίασαν αυξημένη θνησιμότητα στις ηλικίες των 5, 10 και 20 ημερών, ενώ τα θηλυκά σε αυτές των 10 και 15 ημερών. Γενικά τα αρσενικά φάνηκε να είναι πιο ευαίσθητα από τα θηλυκά σε όλες τις ηλικίες εκτός από αυτή των 15 ημερών. Από τη στατιστική ανάλυση παραλλακτικότητας

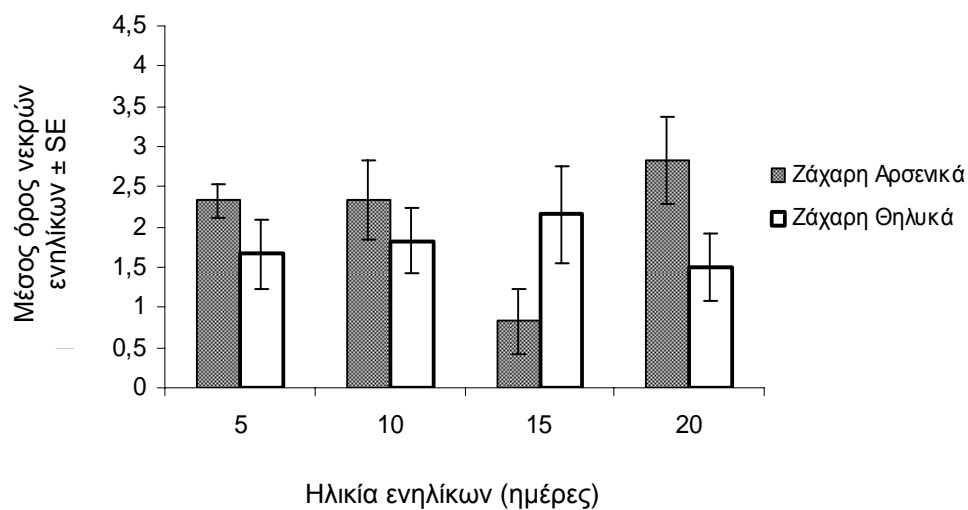
(UNIANOVA) προέκυψε πως κανένας από τους τρεις παράγοντες (φύλο, ηλικία, διατροφή) δεν ήταν σημαντικός, καθώς δεν είχαν ξεκάθαρη τάση.

**Πίνακας 3.5.** Επίδραση της ηλικίας, του είδους της τροφής και του φύλου των ενηλίκων στη θνησιμότητα ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που εκτέθηκαν σε υποθανατηφόρες δόσεις λιναλοόλης (n=6 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).

|          |          | <u>Μ.Ο. Νεκρών ενηλίκων ± SE</u> |             |             |             |  |
|----------|----------|----------------------------------|-------------|-------------|-------------|--|
| Τροφή    |          | 5 ημ                             | 10 ημ       | 15 ημ       | 20 ημ       |  |
| Πρωτεΐνη | Αρσενικά | 0,83 ± 0,3                       | 2 ± 0,44    | 2,33 ± 0,35 | 1,5 ± 0,5   |  |
|          | Θηλυκά   | 1,66 ± 0,76                      | 1,33 ± 0,43 | 2,83 ± 0,65 | 1,66 ± 0,21 |  |
| Ζάχαρη   | Αρσενικά | 2,33 ± 0,21                      | 2,33 ± 0,49 | 0,83 ± 0,4  | 2,83 ± 0,54 |  |
|          | Θηλυκά   | 1,66 ± 0,42                      | 1,83 ± 0,4  | 2,16 ± 0,6  | 1,5 ± 0,42  |  |



**Διάγραμμα 3.46.** Μέσος όρος νεκρών ενηλίκων (± SE), που τράφηκαν με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, σε σχέση με την ηλικία τους (n=6 κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).



**Διάγραμμα 3.47.** Μέσος όρος νεκρών ενηλίκων ( $\pm$  SE), που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη, σε σχέση με την ηλικία τους ( $n=6$  κλουβάκια των 5 ατόμων ανά μεταχείριση).

## 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 4.1 Τοξικότητα συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού (λιμονένιο, α-πινένιο, λιναλοόλη) σε ενήλικα της μύγας της Μεσογείου

Από τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής προκύπτει ότι (α) η ακετόνη δεν έχει κάποια τοξική επίδραση στα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου και (β) η θνησιμότητα επηρεάζεται μόνο από το φύλο των εντόμων και το είδος της τροφής. Τα αρσενικά φάνηκε να εκδηλώνουν υψηλότερη θνησιμότητα σε σχέση με τα θηλυκά, ανεξάρτητα από την τροφή που δέχονταν. Επίσης στα ενήλικα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη παρατηρήθηκε αυξημένη θνησιμότητα σε σχέση με αυτά που τρέφονταν με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, ανεξάρτητα από το φύλο. Παραπλήσια αποτελέσματα όσον αφορά την επίδραση της τροφής έχουν βρεθεί και από άλλους ερευνητές (Cangussu and Zucoloto, 1997) οι οποίοι σε πειράματα που πραγματοποίησαν στο εργαστήριο αναφέρουν ότι παρατηρήθηκε σημαντικά χαμηλότερη διάρκεια ζωής όταν αρσενικά της μύγας της Μεσογείου δεν είχαν στη διάθεσή τους πρωτεΐνη.

Όσον αφορά την τοξική επίδραση των τριών συστατικών που αξιολογήθηκαν, δεν προκύπτει με σαφήνεια ότι κάποιο από αυτά ήταν πιο τοξικό από τα υπόλοιπα, καθώς υπήρχε έντονη διαφοροποίηση στα αποτελέσματα μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ή/και ανάλογα με την τροφή των ενηλίκων. Η λιναλοόλη δείχνει τη μικρότερη (αν και όχι σημαντική) τοξικότητα ανεξάρτητα το φύλο και την τροφή των εντόμων. Σχετικά με την τροφή των εντόμων, παρατηρήθηκε αυξημένη τοξική επίδραση του λιμονενίου στα ενήλικα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, ενώ όταν η τροφή που δέχονταν ήταν το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, πιο τοξικό ήταν το α-πινένιο. Ωστόσο, τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη έδειξαν την ίδια ευαισθησία τόσο στο λιμονένιο, όσο και στο α-πινένιο. Σε έρευνα των Kumar *et al.*, (2014) που εξετάστηκαν κάποια συστατικά των αιθέριων ελαίων για τη δράση τους κατά της οικιακής μύγας, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae), φάνηκε χαμηλή τοξικότητα του λιμονενίου, ενώ πιο αποτελεσματικές ήταν οι ουσίες μενθόλη και μενθόνη. Επίσης η τοξικότητα του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού σαν σύνολο, και όχι των συστατικών του μεμονωμένα, εναντίον άλλων εντόμων, έχει αποδειχθεί και από άλλες έρευνες. Πιο συγκεκριμένα, το αιθέριο έλαιο του πορτοκαλιού έχει ιδιαίτερα σημαντική τοξική δράση σαν υποκαπνιστικό τόσο στα ενήλικα (Rossi and Palacios,

2013) όσο και στα ανήλικα στάδια της οικιακής μύγας, (Kumar *et al.*, 2012) αλλά και για όλα τα στάδια του βιολογικού κύκλου του εντόμου αποθηκών, *T. confusum* (Theon *et al.*, 2013). Περισσότερες είναι οι μελέτες που αφορούν την τοξική δράση του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού αλλά και κάποιων συστατικών του στα ανήλικα στάδια εντόμων. Όσον αφορά την ουσία λιναλοόλη, οι Parachristos *et al.*, (2009) τη συνέδεσαν με την υψηλή τοξικότητα του αιθέριου ελαίου ανώριμων εσπεριδοειδών σε ανήλικα της μύγας της Μεσογείου καθώς αυτή είναι η κυρίαρχη ένωση της σύστασης του συγκεκριμένου ελαίου, ενώ στην ίδια έρευνα φάνηκε ότι το α-πινένιο έχει χαμηλή τοξικότητα στα ανήλικα της μύγας της Μεσογείου. Αυτή η διαφοροποίηση στην ανταπόκριση των ανήλικων και ενήλικων σταδίων της μύγας της Μεσογείου στη λιναλοόλη και το α-πινένιο μπορεί να οφείλεται σε πιθανές μεταβολές στο βιοχημικό τρόπο μεταβολισμού κάποιων τοξικών ουσιών στον οργανισμό του ως αποτέλεσμα της αναπτυξιακής διαδικασίας που οδηγεί σε μετάβαση από μια προνυμφική ηλικία σε κάποια άλλη. Σε έρευνα των Michaelakis *et al.*, (2009) αξιολογήθηκε η τοξικότητα του πινενίου (α και β εναντιομερή) και αιθέριων ελαίων κάποιων εσπεριδοειδών (νεράντζι, λεμόνι και πορτοκάλι) εναντίον των προνυμφών του *C. ripiens*. Σε αυτή, διαπιστώθηκε η ισχυρή τοξική δράση των αιθέριων ελαίων των εσπεριδοειδών αλλά και των εναντιομερών του πινενίου, εναντίον των προνυμφών.

Γενικά τα αρσενικά ήταν πιο ευαίσθητα από τα θηλυκά στην τοξικότητα από τα συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού, πιθανότατα αυτό συνέβη λόγω της διαφοράς του μεγέθους ανάμεσα στα δυο φύλα. Τα θηλυκά ήταν βαρύτερα ανεξάρτητα από την τροφή που δέχονταν. Άρα, μπορούμε να εξάγουμε το συμπέρασμα ότι όσο πιο μεγάλο είναι το σώμα του ενηλικού, τόσο μικρότερη η τοξικότητα που εμφανίζεται. Αυτό εξηγείται από το γεγονός ότι το μεγαλύτερο σε μέγεθος σώμα, μπορεί να δεχθεί και να μεταβολίσει μεγαλύτερη ποσότητα από κάποιον τοξικό παράγοντα σε σύγκριση με ένα σώμα μικρότερου μεγέθους, κάνοντας έτσι τα μικρόσωμα άτομα πιο ευαίσθητα σε τοξικότητες. Επίσης, πέρα από τη διαφορά του βάρους (Parachristos and Stamopoulos, 2003), μια άλλη πιθανή εξήγηση είναι ότι ανάλογα με το φύλο, υπάρχουν διαφορετικά μεταβολικά μονοπάτια στα θηλυκά και τα αρσενικά, όπως υποστηρίχθηκε σε έρευνες για το έντομο *A. odtectus* καθώς φάνηκε ότι τα θηλυκά είχαν μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στα αιθέρια έλαια της λεβάντας και του δεντρολίβανου, σε σχέση με τα αρσενικά (Parachristos *et al.*, 2004). Ωστόσο σημαντική επίδραση στο βάρος των θηλυκών ατόμων είχε και η

τροφή τους, καθώς αυτά που είχαν την πλήρη διατροφή με το μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης, ήταν βαρύτερα από αυτά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, λόγω του ότι το μίγμα τα βοηθάει να ωριμάσουν περισσότερα αυγά, αυξάνοντας έτσι το βάρος τους.

#### 4.2 Επίδραση υποθανατηφόρου δόσης λιμονενίου (LD<sub>20</sub>) στα βιολογικά χαρακτηριστικά ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου

Από τα αποτελέσματα προκύπτει ότι τα αρσενικά ζουν περισσότερο ανεξάρτητα από την τροφή και τον τοξικό παράγοντα που δέχτηκαν, γεγονός που μπορεί να εξηγηθεί από το κόστος αναπαραγωγής που είναι μεγαλύτερο στα θηλυκά σε σχέση με τα αρσενικά, με αποτέλεσμα να στερούνται αυτά τα ποσοστά από τη μακροζωία (Carey *et al*, 1998). Αντίθετα τα αρσενικά άτομα που διοχετεύουν τα ποσοστά της ενέργειάς τους μόνο στην αναπαραγωγή και τη μακροζωία, είναι λογικό ότι ζουν περισσότερο. Επίσης, τα άτομα που τράφηκαν με μίγμα έζησαν περισσότερο ανεξάρτητα από το φύλο και την έκθεση στον τοξικό παράγοντα ενώ τα θηλυκά παρουσίασαν και αυξημένη ωτοκία. Η εξήγηση για αυτή την αύξηση της διάρκειας ζωής είναι ότι το μίγμα παρέχει στα έντομα περισσότερη ενέργεια η οποία αυξάνει την αντοχή και την επιβίωσή τους, όπως έχει αποδειχθεί και σε έρευνα των Cangussu και Zucoloto, (1997) ενώ στα θηλυκά, βοηθάει στην ωρίμανση περισσότερων αυγών (Carey *et al*, 1998).

Γενικά, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω και φάνηκε και από τα αποτελέσματα, πολλές από τις ουσίες των φυτών (αιθέρια έλαια και τα συστατικά τους) έχουν την ιδιότητα τόσο να “βοηθούν” τα φυτά που τα εκλύουν, προσελκύοντας ωφέλιμους οργανισμούς, όσο και να τα προστατεύουν από διάφορους εχθρούς και ασθένειες καθώς είναι τοξικές για αυτούς. Ωστόσο, στα αποτελέσματά μας φάνηκε ότι τα άτομα που εκτέθηκαν στον τοξικό παράγοντα, λιμονένιο, έζησαν για μακρύτερο χρονικό διάστημα σε σχέση με εκείνα που δεν εκτέθηκαν. Σε συγκεντρωτική έρευνα των Leonov *et al.*, (2015) για το φαινόμενο αύξησης της μακροζωίας (hormetic effect) σε διάφορα είδη εχθρών, φαίνεται πως παρόμοια αποτελέσματα έχουν βρεθεί και για τα έντομα *Drosophila melanogaster* Meigen, *Apis mellifera* L. και κάποια είδη κουνουπιών. Έτσι, προκύπτει πως η έκθεση σε φυτοχημικά, επηρεάζει τη δομή και τις μεταβολικές διεργασίες των οργανισμών. Σε κάποια άτομα προκαλεί άμεση τοξική επίδραση, ενώ σε όσα

καταφέρουν να επιβιώσουν της πρώτης έκθεσης, λειτουργεί θετικά ως προς τη μακροζωία, καθυστερώντας την ανάπτυξη κάποιων χαρακτηριστικών γήρανσης (Leonon *et al.*, 2015). Σχετικά με την ωοπαραγωγή, παρατηρήθηκε σημαντική αύξησή της στα θηλυκά που εκτέθηκαν στο λιμονένιο, πράγμα το οποίο έχει τεκμηριωθεί και από έρευνα των Ioannou *et al.*, (2012) καθώς το λιμονένιο έχει την ικανότητα να διεγείρει την ωοτοκία με αποτέλεσμα την αύξηση της ωοπαραγωγής.

#### 4.3 Σχέση ηλικίας και τοξικής επίδρασης των συστατικών του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού (λιμονένιο, α-πινένιο, λιναλοόλη)

Από τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης προκύπτει ότι στο λιμονένιο και στο α-πινένιο η θνησιμότητα επηρεάζεται σημαντικά και από το φύλο και από την ηλικία των εντόμων καθώς υπάρχει έντονη διαφοροποίηση στα αποτελέσματα, τόσο ανάμεσα στα αρσενικά και τα θηλυκά όσο και σε συνδυασμό με την πάροδο της ηλικίας. Ενώ στη λιναλοόλη, βάσει της ανάλυσης, δεν παρατηρήθηκε ξεκάθαρη τάση για την επίδραση κάποιου από τους παράγοντες που εξετάστηκαν, καθώς τα αποτελέσματα δεν είχαν έντονες διακυμάνσεις. Στο λιμονένιο, παρατηρήθηκε πως η θνησιμότητα ήταν ανάλογη με την ηλικία και πιθανότατα αυτό συμβαίνει λόγω της ωρίμανσης των εντόμων. Καθώς μεγαλώνουν τα έντομα στα κλουβιά, έχουμε το φαινόμενο wear and tear, κατά το οποίο φθείρονται οι πτέρυγες των ενηλίκων από το πέταγμα και την τριβή στο κλουβί, ενώ υπάρχει κατανάλωση ενέργειας και από τα δυο φύλα. Τα αρσενικά χρησιμοποιούν την ενέργειά τους για το σεξουαλικό κάλεσμα (calling) και τη σύζευξη, και τα θηλυκά τη διοχετεύουν στην ωρίμανση των αυγών αλλά και στην εναπόθεση αυτών σε διάφορα μέρη του κλουβιού, χάνοντας έτσι και τα δυο φύλα σε μακροζωία. Έτσι λόγω αυτής της εξασθένησης του οργανισμού τους, μεγαλώνοντας τα άτομα γίνονται πιο ευαίσθητα στους τοξικούς παράγοντες (λιμονένιο) και αυξάνεται η θνησιμότητά τους σε περίπτωση επαφής.

Στο α-πινένιο, η διακύμανση της θνησιμότητας είναι διαφορετική καθώς τα νεαρά άτομα είναι πιο ευαίσθητα στον τοξικό παράγοντα ενώ τα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας δείχνουν υψηλότερη αντοχή. Αυτή η διαφοροποίηση μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι οι μηχανισμοί άμυνας κατά της τοξικότητας (detoxication path), αποκτώνται με το πέρασμα του χρόνου καθώς ο οργανισμός μεγαλώνοντας συνθέτει τα κατάλληλα ένζυμα που εξυπηρετούν αυτή τη λειτουργία. Έτσι, τα νεαρά ενήλικα άτομα που δεν παράγουν τα επιθυμητά ένζυμα για την αποδόμηση του τοξικού

παράγοντα, είναι πιο ευαίσθητα στο α-πινένιο. Η διαφορά μεταξύ της επίδρασης του λιμονενίου και του α-πινενίου, μπορεί να εξηγηθεί αν λάβουμε υπόψη το γεγονός ότι τα ένζυμα που παράγονται και επηρεάζουν την άμυνα του εντόμου, έχουν διαφορετικό τρόπο λειτουργίας ανάλογα με την ηλικία των εντόμων και τον τοξικό παράγοντα. Έτσι, τα ένζυμα που αποδομούν το λιμονένιο στα νεαρά ενήλικα άτομα κάνουντάς τα πιο ανθεκτικά, μπορεί να δρουν με αντίστροφο τρόπο στην αποδόμηση του α-πινενίου προσδίδοντας ανθεκτικότητα στα άτομα μεγαλύτερης ηλικίας.





## 5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Εν κατακλείδι, σύμφωνα με την παρούσα έρευνα, τρία από τα σημαντικότερα συστατικά του αιθέριου ελαίου του πορτοκαλιού, είναι πολλά υποσχόμενες ουσίες για τη χρήση τους σε προγράμματα βιολογικής αντιμετώπισης της μύγας της Μεσογείου, λόγω της τοξικής τους δράσης έναντι των ενηλίκων.

Πιο συγκεκριμένα, το λιμονένιο και το α-πινένιο έδειξαν ιδιαίτερα αυξημένη τοξικότητα στα έντομα (αρσενικά και θηλυκά) που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και με μίγμα ζάχαρης-πρωτεΐνης αντίστοιχα, ενώ φάνηκε ότι η τοξικότητα και των δύο αυτών ουσιών επηρεάζεται από την ηλικία των εντόμων. Αντίθετα, συμπεραίνουμε ότι η λιναλοόλη δε φαίνεται να έχει κάποια σημαντική επίδραση στα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου, ανεξαρτήτως φύλου, τροφής και ηλικίας. Επίσης, η έκθεση των εντόμων σε υποθανατηφόρες δόσεις λιμονενίου, παρατείνει τη διάρκεια ζωής τους και αυξάνει την ωοπαραγωγή, πληροφορία η οποία θα μπορούσε να φανεί χρήσιμη και να αξιοποιηθεί στον τομέα της παραγωγής και εξαπόλυσης στείρων εντόμων για τη μείωση τοπικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου. Ωστόσο, εξαιτίας αυτής της διαφοροποίησης των αποτελεσμάτων ανάλογα με την διατροφή το φύλο και την ηλικία των εντόμων, είναι απαραίτητη η περαιτέρω έρευνα της δράσης τους.



## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aluja M. and Mangan R. L., 2008. Fruit fly (Diptera: Tephritidae) host status determination: critical conceptual, methodological, and regulatory considerations. *Annual Review of Entomology*. 53: 473–502.
- Arancibia M., Rabossi A., Bochicchio P. A., Moreno S., López-Caballero M. E., Gómez- Guillén M. C. and Montero P., 2013. Biodegradable Films Containing Clove or Citronella Essential Oils against the Mediterranean Fruit Fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Agriculture and Food Technology*. 3(3): 1-7.
- Ayvaz A., Sagdic O., Karaborklu S. and Ozturk I., 2010. Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored-product insects. *Journal of Insect Science*. Vol 10 (21).
- Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. and Idaomar M., 2008. Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*. 46: 446–475.
- Batish D. R., Singh H. P., Kohli R. K. and Kaur S., 2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*. 256: 2166–2174.
- Benelli G., Canale A., Flamini G., Cioni P. L., Demia F., Ceccarini L., Macchiac M. and Conti B., 2013. Biototoxicity of *Melaleuca alternifolia* (Myrtaceae) essential oil against the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), and its parasitoid *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae). *Industrial Crops and Products*. 50: 596–603.
- Briceno R. D. and Eberhard W. G., 2000. Male wing positions during courtship by Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*) (Diptera: Tephritidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*. 73: 143-147.
- Carey J. R., Liedo P., Müller H. G., Wang J. L. and Chiou J. M., 1998. Relationship of Age Patterns of Fecundity to Mortality, Longevity, and Lifetime Reproduction in a Large Cohort of Mediterranean Fruit Fly Females. *Journal of Cermtology: BIOLOGICAL SCIENCES*. 53(4): 245-251.
- Chiou Ling Chang C. L., Cho I. K. and Li A. X., 2009. Insecticidal Activity of Basil Oil, trans-Anethole, Estragole, and Linalool to Adult Fruit Flies of *Ceratitis*

- capitata*, *Bactrocera dorsalis*, and *Bactrocera cucurbitae*. *Journal of Economic Entomology*. 102 (1): 203-209.
- Choi W. I., Lee E. H., Choi B. R., Park H. M., and Ahn Y. J., 2003. Toxicity of Plant Essential Oils to *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). *Journal of Economic Entomology*. 96(5): 1479-1484.
- Cornelius M. L., Duan J. J. and Messing A. M., 2000. Volatile Host Fruit Odors as Attractants for the Oriental Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*. 93(1): 93-100.
- Cossé A. A., Todd J. L., Millar J. G., Martínez L. A. and Baker T. C., 1995. Electroantennographic and Coupled Gas Chromatographic-Electroantennographic Responses of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata*, to Male-Produced Volatiles and Mango Odor. *Journal of Chemical Ecology*. 21.(11).
- Δ2: Διαδίκτυο [https://el.wikipedia.org/wiki/Αιθέριο\\_έλαιο](https://el.wikipedia.org/wiki/Αιθέριο_έλαιο).
- Degenhardt J., Hiltbold I., Köllner T. G., Frey M., Gierl A., Gershenzon J., Hibbard B. E., Eilersieck M. R. and Turlings T. C. J., 2009. Restoring a maize root signal that attracts insect-killing nematodes to control a major pest. *Proc Natl Acad Sci USA*. 106: 13213–13218.
- Erler F., Ulug I. and Yalcinkaya B., 2006. Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*. *Fitoterapia* 77: 491–494.
- FAO, 1995. *Flavours and Fragrances of Plant Origin*. Rome.
- Fletcher B. S., 1989. *Life history strategies of Tephritidae fruit flies, Vol. A: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control* (ed. by A. S. Robinson and G. Hooper). Elsevier, Amsterdam, pp. 195-208.
- Hendrichs J., Robinson A. S., Cayol J. P. and Enkerlin W., 2002. Medfly area wide Sterile insect technique programmes for prevention, suppression or eradication: The importance of mating behavior studies. *Florida Entomologist*. 85: 1-13.
- Hori, M., 2003. Repellency of essential oils against the cigarette beetle, *Lasioderma serricornis* (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). *Applied Entomology and Zoology*. 38, 467–473.
- Ioannou, C.S. 2005. *Effect of olfactory compounds from oranges on the oviposition and other biological parameters of the Mediterranean fruit fly Ceratitis capitata*

- (*Diptera: Tephritidae*). Masters, Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece, Master Thesis (in Greek with English summary).
- Ioannou C. S., Papadopoulos N. T., Kouloussis N. A., Tananaki C. I. and Katsoyannos B. I., 2012. Essential oils of citrus fruit stimulate oviposition in the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Physiological Entomology*. 37(4): 330-339.
- Isman M. B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*. 19: 603-608.
- Juan-Blasco M., San Andrés V., Martínez-Utrillas M. A., Argilés R., Pla I., Urbaneja A. and Sabater-Muñoz B., 2013. Alternatives to ginger root oil aromatherapy for improved mating performance of sterile *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) males. *Journal of Applied Entomology*. 137(1): 244–251.
- Katsoyannos B. I., Kouloussis N. A. and Papadopoulos N. T., 1997. Response of *Ceratitis capitata* to citrus chemicals under semi-natural conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82 : 181–188.
- Kessler D., Gase K. and Baldwin I. T., (2008). Field experiments with transformed plants reveal the sense of floral scents. *Science* 321: 1200–1202.
- Kordali S., Aslan I., Çalmaşur O. and Cakir A., 2006. Toxicity of essential oils isolated from three *Artemisia* species and some of their major components to granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Industrial Crops and Products*. 23: 162–170.
- Kostyukovsky M., Rafaeli A., Gileadi C., Demchenko N. and Shaaya E., 2002. Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science*. 58: 1101–1106.
- Kouloussis N. A., Katsoyannos B. I., Papadopoulos N. T., Ioannou C. S. and Iliadis I. V., 2013. Enhanced mating competitiveness of *Ceratitis capitata* males following exposure to citrus compounds. *Journal of Applied Entomology*. 137: 30–38.
- Kouninki H., Hance T., Noudjou F. A., Lognay G., Malaisse F., Ngassoum M. B., Mapongmetsem P. M., Ngamo L. S. T., and Haubruge E., 2007. Toxicity of some terpenoids of essential oils of *Xylopiya aethiopica* from Cameroon against *Sitophilus zeamais* Motschulsky. *Journal of Applied Entomology*. 131(4): 269-274.

- Kumar P., Mishra S., Malik A. and Satya S., 2012. Insecticidal Evaluation of essential oils of *Citrus sinensis* L. (Myrtales: Myrtaceae) against housefly, *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Parasitology Research*. 110: 1929–1936.
- Kumar P., Mishra S., Malik A. and Satya S., 2014. Biocontrol potential of essential oil monoterpenes against housefly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 100: 1-6.
- Kurdelas R. R., López S., Lima B., Feresin G. E., Zygadlo J., Zacchino S., López M. L., Tapia A. and Freile M. L., 2012. Chemical composition, anti-insect and antimicrobial activity of *Baccharis darwinii* essential oil from Argentina, Patagonia. *Industrial Crops and Products* 40: 261-267.
- Lee B.-H., Annis P. C., Tumaalii F. and Choi W.-S., 2004. Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *Journal of Stored Products Research*. 40(5): 553-564.
- Lee B.-H., Choi W.-S., Lee S.-E. and Park B.-S. 2001. Fumigant toxicity of essential oils and their constituent compounds towards the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.). *Crop Protection* 20: 317-320.
- Leonov A., Arlia-Ciommo A., Piano A., Svistkova V., Lutchman V., Medkour Y. and Titorenko V. I., 2015. Longevity Extension by Phytochemicals (Review). *Molecules*. 20: 6544-6572.
- Liquido N. J., Shinoda L. A. and Cunningham R. T., 1991. *Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) an annotated world review*. In: M.D Lanham (eds), Entomological Society of America. Miscellaneous Publications, 77, Volume 83, pp. 1863-1878.
- Liu C. H., Mishra A. K., Tan R. X., Tang C., Yang H. and Shen Y. F., 2006. Repellent and insecticidal activities of essential oils from *Artemisia princeps* and *Cinnamomum camphora* and their effect on seed germination of wheat and broad bean. *Bioresource Technology* 97: 1969–1973.
- López S. B., López M. L., Aragón L. M., Tereschuk M. L., Slanis A. C., Feresin G. E., Zygadlo J. A., and Tapia A. A., 2011. Composition and Anti-insect Activity of Essential Oils from *Tagetes* L. Species (Asteraceae, Helenieae) on *Ceratitidis capitata* Wiedemann and *Triatoma infestans* Klug. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59(10): 5286-92.

- Malacrida A. R., Gomulski L. M., Bonizzoni M., Bertin S., Gasperi G. and Guglicimino C. R., 2007. Globalization and fruit fly invasion and expansion: the medfly paradigm. *Genetica* 131: 1-9.
- Mihou A. P., Michaelakis A., Krokos F. D., Mazomenos B. E. and Couladouros E. A., 2007. Prolonged slow release of (Z)-11-hexadecenyl acetate employing polyurea microcapsule. *Journal of Applied Entomology*. 131(2): 128–133.
- Michaelakis A., Papachristos D., Kimbaris A., Koliopoulos G., Giatropoulos A., Polissiou M. G., (2009). Citrus essential oils and four enantiomeric pinenes against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*. 105: 769–773.
- Mithcell W. C. and Saul S. H., 1990. Current control methods for the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, and their application in the U.S.A. *Review of Agricultural Entomology*. 78: 923-940.
- Murugan K., Kumar P. M., Kovendan K., Amerasan D., Subrmaniam J. and Hwang J. S., 2012. Larvicidal, pupicidal, repellent and adulticidal activity of *Citrus sinensis* orange peel extract against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*. 111(4): 1757-69.
- Nerio L. S., Verbel J. O. and Stashenko E. E., 2009. Repellent activity of essential oils from seven aromatic plants grown in Colombia against *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research* 45: 212–214.
- Nerio L. S., Verbel J. O. and Stashenko E., 2010. Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*. 101: 372–378.
- Ngamo Tinkeu L. S., Goudoum A., Ngassoum M. B., Mapongmetsem, Lognay G., Malaisse F., and Hance T., 2007. Chronic toxicity of essential oils of 3 local aromatic plants towards *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera : Curculionidae). *African Journal of Agricultural Research*. 2 (4): 164-167.
- Ojmelukwe, P.C., Adler, C., 1999. Potential of zimtaldehyde, 4-allyl-anisol, linalool, terpineol and other phytochemicals for the control of the confused flour beetle (*Tribolium confusum* J. d. V.) (Col., Tenebrionidae). *Journal of Pest Science*. 72, 81– 86.
- Papachristos D. P., Karamanoli K. I., Stamopoulos D. C. and Menkissoglu-Spiroudi U., 2004. The relationship between the chemical composition of three



- essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides odtectus* (Say). *Pest Management Science*. 60: 514-520.
- Papachristos D. P., Kimbaris A. C., Papadopoulos N. T. and Polissiou M. G., 2009. Toxicity of citrus essential oils against *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) larvae. *Annals of Applied Biology*. 155: 381–389.
- Papachristos D. P. and Papadopoulos N. T., 2009. Are citrus species favorable hosts for the Mediterranean fruit fly? A demographic perspective. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 132 : 1–12.
- Papachristos D. P., Papadopoulos N. T. and Nanos G. D., 2008. Survival and development of immature stages of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in citrus fruit. *Journal of Economic Entomology*. 101: 866–872.
- Papachristos D. P. and Stamopoulos D. C., 2002. Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*. 38: 365–373.
- Papachristos D. P. and Stamopoulos D. C., 2003. Selection of *Acanthoscelides odtectus* (Say) for resistance to lavender essential oil vapour. *Journal of Stored Products Research*. 39: 433-441.
- Papadopoulos N. T., 2004. *Mediterranean fruit fly Ceratitidis capitata* (Wiedemann), (Diptera: Tephritidae). In: J. L. Capinera (eds), *Encyclopedia of Entomology*, Kluwer Academic Publishers, The Netherlands, Volume 2, pp. 1367-1370.
- Papadopoulos N. T., Carey J. R., Liedo P. Müller H.-G. and Sentürk D. 2009. Virgin females compete for mates in the male lekking species *Ceratitidis capitata*. *Physiological Entomology*, Journal compilation.
- Papadopoulos N. T. and Katsoyannos B. I., 2003 Field parasitism of *Ceratitidis capitata* larvae by *Aganapsis daci* in Chios, Greece. *Biocontrol* 48: 191-195.
- Papadopoulos N. T., Katsoyannos B. I., Carey J. R. and Kouloussis N. A., 2001a. Seasonal and annual occurrence of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in northern Greece. *Annals of the Entomological Society of America*. 94: 41-50.
- Papadopoulos N. T., Katsoyannos B. I., Kouloussis N. A., 2006a. Effect of plant chemicals on the behavior of the Mediterranean fruit fly. *Proceedings of International Fruit Fly Meeting Brazil*, 5–12 September 2006.

- Papadopoulos N. T., Katsoyannos B. I., Kouloussis N. A. and Hendrichs J., 2001b. Effect of orange peel substances on mating competitiveness of male *Ceratitidis capitata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 99: 253–261.
- Papadopoulos N. T., Papachristos D. P. and Ioannou C. 2015. Citrus Fruits and the Mediterranean Fruit Fly. *Acta Horticulturae* 1065. Papadopoulos N. T., Plant R. E. and Carey J. R., 2013. From trickle to flood: the large-scale, cryptic invasion of California by tropical fruit flies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 280. doi: 10.1098/rsrb. 2013. 1466.
- Papadopoulos N. T., Shelly T. E., Niyazi N. and Jang E., 2006b. Olfactory and Behavioral Mechanisms Underlying Enhanced Mating Competitiveness Following Exposure to Ginger Root Oil and Orange Oil in Males of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior*.19.(3).
- Reddy G. V. and Guerrero A., 2000. Behavioral Responses of the Diamondback Moth, *Plutella xylostella*, to Green Leaf Volatiles of *Brassica oleracea* Subsp. *capitata*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48: 6025–6029.
- Robinson A. S., 2002. Genetic sexing strains in medfly, *Ceratitidis capitata*, sterile insect technique programmes. *Genetica* 116: 5-13.
- Rodríguez A., San Andrés V., Cervera M., Redondo A., Alquézar B., Shimada T., Gadea J., Rodrigo M. J., Zacarías L., Palou L., López M. M., Castañera P. and Peña L., 2011. Terpene Down-Regulation in Orange Reveals the Role of Fruit Aromas in Mediating Interactions with Insect Herbivores and Pathogens. *Plant Physiology*. 156: 793–802.
- Rossi Y. E. and Palacios S. M., 2013. Fumigant toxicity of *Citrus sinensis* essential oil on *Musca domestica* L. adults in the absence and presence of a P450 inhibitor. *Acta Tropica*. 127: 33-37.
- Salvatore A., Borkosky S., Willink E. and Bardón A., 2004. Toxic Effects of Lemon Peel Constituents on *Ceratitidis capitata*. *Journal of Chemical Ecology*. 30(2): 323-333.
- Sanna Passino G, Bazzoni E. and Moretti M. D. L., 2004. Microencapsulated essential oils active against indianmeal moth. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*. 30: 125–132.

- Shelly T. E., 2001. Exposure to  $\alpha$ -Copaene and  $\alpha$ -Copaene-Containing Oils Enhances Mating Success of Male Mediterranean Fruit Flies (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America*. 94(3): 497-502.
- Shelly T. E., Cowan A. N., Edu J. and Pahio E., 2008. Mating Success of Male Mediterranean Fruit Flies Following Exposure to Two Sources of  $\alpha$ -copaene, Manuka Oil and Mango. *Florida Entomologist*. 91(1): 9-15.
- Shelly T. E., Dang C. and Kennelly S., 2004a. Exposure to Orange (*Citrus sinensis* L.) Trees, Fruit, and Oil Enhances Mating Success of Male Mediterranean Fruit Flies (*Ceratitis capitata* [Wiedemann]). *Journal of Insect Behavior*. 17(3).
- Shelly T. E., Edu J., Pahio E. and Nishimoto J., 2007. Scented Males and Choosy Females: Does Male Odor Influence Female Mate Choice in the Mediterranean Fruit Fly? *Journal of Chemical Ecology*. 33: 2308–2324.
- Shelly T. E., Mcinnis D. O., Pahio E., and Edu J., 2004. Aromatherapy in the Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae): Sterile Males Exposed to Ginger Root Oil in Prerelease Storage Boxes Display Increased Mating Competitiveness in Field-Cage Trials. *Journal of Economic Entomology*. 97(3): 846-853.
- Shelly T. E., and Villalobos E. M., 2004. Host-plant influence on the mating success of male Mediterranean fruit flies: variable effects within and between individual plants. *Animal Behavior*. 68(2): 417-426.
- Stashenko, E. E, R. Martinez, M. I. Pinzón & J. Ramirez, 1996. Changes in chemical composition of catalytically hydrogenated orange oil (*Citrus sinensis*). *Journal of Chromatography* 752: 217–222.
- Tapondjou A. L., Adler C., Fontem D. A., Bouda H. and Reichmuth C., 2005. Bioactivities of cymol and essential oils of *Cupressus sempervirens* and *Eucalyptus saligna* against *Sitophilus zeamais* Motschulsky and *Tribolium confusum* du Val. *Journal of Stored Products Research*. 41: 91–102.
- Τζανακάκης, Μ. Ε. και Κατσόγιαννος Β. Ι., 2003. *Έντομα Καρποφόρων Δέντρων και Αμπέλου*. Αγρότυπος. Αθήνα.
- Theon G., Papachristos D. P. and Stamopoulos D. C., 2013. Fumigant toxicity of 6 essential oils to the immature stages and adults of *Tribolium confusum*. *Hellenic Plant Protection Journal*. 6(1): 29-39.
- Tuni, I., Sahinkaya, S., 1998. Sensitivity of two greenhouse pests to vapours of essential oils. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 86(2): 183-187.

Warthen J. D. Jr., and Mcinnis D. O., 1989. Isolation and Identification of Male Medfly Attractive Components in *Litchi chinensis* Stems and *Ficus spp.* Stem Exudates. *Journal of Chemical Ecology*. 15(6): 1931-1946.