



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ-ΑΓΡΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΜΣ: «ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ: ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, ΜΕΤΑΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΥΨΗΛΗΣ ΠΡΟΣΤΙΘΕΜΕΝΗΣ ΑΞΙΑΣ»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
“ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΩΣ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΟΥ
CULEX PIPIENS BIOTYPE MOLESTUS”**



ΤΗΣ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ

ΜΑΡΙΑΣ ΠΑΠΠΑ

ΛΑΡΙΣΑ 2022



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ-ΑΓΡΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΜΣ: «ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΕΣ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΑΡΩΜΑΤΙΚΩΝ ΚΑΙ
ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΩΝ ΦΥΤΩΝ: ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ, ΜΕΤΑΠΟΙΗΣΗ ΚΑΙ
ΠΑΡΑΓΩΓΗ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΥΨΗΛΗΣ ΠΡΟΣΤΙΘΕΜΕΝΗΣ ΑΞΙΑΣ»**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ
“ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΩΣ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΟΥ
CULEX PIPIENS BIOTYPE MOLESTUS”**



ΤΗΣ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑΣ

ΜΑΡΙΑΣ ΠΑΠΠΑ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

- 1. ΗΛΙΟΠΟΥΛΟΣ ΠΑΝΑΓΙΩΤΗΣ, Επιβλέπων Καθηγητής**
- 2. ΒΟΓΙΑΤΖΗ ΕΛΕΝΗ**
- 3. ΓΚΟΥΓΚΟΥΛΙΑΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ**

ΛΑΡΙΣΑ 2022

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	iv
ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	vi
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	vii
ABSTRACT	viii
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	2
1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΦΥΤΩΝ (ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ, ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ, ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ...ΚΤΛ.....	3
1.1 ΓΚΡΕΙΠΦΡΟΥΙΤ	3
1.1.1 ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ-ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	3
1.1.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	5
1.2 ΜΑΝΤΑΡΙΝΙ	8
1.2.1 ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ-ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	8
1.2.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	11
1.3 ΠΕΡΓΑΜΟΝΤΟ	16
1.3.1 ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ-ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ	16
1.3.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ	19
2. ΤΑ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ	21
2.1. ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΓΡΚΕΙΠΦΡΟΥΤ	22
2.1.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	22
2.1.2. ΧΡΗΣΕΙΣ	24
2.1.3. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ	25
2.2. ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΜΑΝΤΑΡΙΝΙΟΥ	26
2.2.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	26
2.2.2. ΧΡΗΣΕΙΣ	28
2.2.3. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ	30
2.3. ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΠΕΡΓΑΜΟΝΤΟΥ	32
2.3.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	32
2.3.2. ΧΡΗΣΕΙΣ	34
2.3.3. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ	36
3. ΤΟΕΝΤΟΜΟ <i>CULEX PIFIENS</i> BIOTYPE <i>MOLESTUS</i>	40
3.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ – ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ	40
3.2. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ	43
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	46
4. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΜΑΝΤΑΡΙΝΙΑΣ, ΓΡΕΙΠ-ΦΡΟΥΤ ΚΑΙ ΠΕΡΓΑΜΟΝΤΟΥ ΣΕ ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ ΤΟΥ ΚΟΥΝΟΥΠΙΟΥ <i>CULEXPIFIENS</i> <i>MOLESTUS</i>	47
4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	47
4.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	48

4.2.1 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ.....	48
4.2.2 ΕΚΤΡΟΦΗ ΕΝΤΟΜΩΝ.....	48
4.2.3 ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ.....	49
4.2.4 ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ	52
4.2.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ.....	55
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	55
6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	61
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	65

ΠΡΟΛΟΓΟΣ-ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

«Με την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής μου εργασίας θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου σε ορισμένους ανθρώπους οι οποίοι συνέβαλλαν στην εκπόνησή της και αποτέλεσαν αρωγό στην διεκπεραίωσή της. Ως ελάχιστη δυνατή μνεία θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα καθηγητή μου κύριο Δρ. Ηλιόπουλο Παναγιώτη, χωρίς τον οποίο δεν θα ήταν δυνατή η πραγματοποίηση της παρούσας έρευνας.

Αρχικά, θα ήθελα να τον ευχαριστήσω για την ανάθεση του θέματος και την εμπιστοσύνη της στο πρόσωπό μου. Του εκφράζω ένα βαθύ ευχαριστώ για όλη τη βοήθεια που μου προσέφερε, για την πολύτιμη υποστήριξή του, τις παραγωγικές υποδείξεις του, το πολύ καλό κλίμα συνεργασίας που είχαμε, την επιστημονικής του καθοδήγηση, την επιμονή και το αμείωτο ενδιαφέρον του, τη συμπαράστασή του τα οποία συνέβαλλαν τα μέγιστα για την πραγματοποίηση της παρούσας έρευνας.

Ακόμη, θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες στα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής μου κύριο Δρ. Γκουγκουλιά Νικόλαο και κυρία Δρ. Βογιατζή Ελένη που μου έκαναν την τιμή καθώς και για τη στήριξη και τη βοήθειά τους καθ' όλη τη διάρκεια της ερευνητικής διαδικασίας. Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω όλους τους καθηγητές του μεταπτυχιακού «Ολοκληρωμένη διαχείριση αρωματικών και φαρμακευτικών φυτών» οι οποίοι με βοήθησαν να εμπλουτίσω τους πνευματικούς μου ορίζοντες και με καθοδήγησαν με τις απαραίτητες πληροφορίες σχετικά με τον εργασιακό μου χώρο.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ θα ήθελα να απευθύνω στη συμφοιτήριά μου Κόκκινου Άσπα για την άψογη συνεργασία στο πειραματικό μέρος της έρευνας καθώς ήταν σημαντική η συνεισφορά της για την διεκπεραίωση της παρούσας εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στην οικογένειά μου για τη στήριξη, τη συμπαράσταση και την κατανόησή τους σε όλη τη διάρκεια εκπόνησης του μεταπτυχιακού μου».

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η χρήση των αιθέριων ελαίων κατά την τελευταία δεκαετία έχει απασχολήσει την επιστημονική κοινότητα σε διάφορους τομείς ιδίως της χρησιμότητάς τους στην καθημερινότητα. Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί η μελέτη της εντομοκτόνου δράσης αιθέριων ελαίων εναντίον προνυμφών του κουνουπιού του *Culex ripiens* biotype *molestus*. Στα πλαίσια της παρούσας έρευνας πραγματοποιήθηκε εργαστηριακό πείραμα και ειδικότερα βιοδοκιμές εργαστηρίου. Κατά την παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι τα αιθέρια έλαια φέρουν σημαντική τοξική επίδραση πάνω στις προνύμφες του κουνουπιού *Culex ripiens* biotype *molestus*. Ειδικότερα, το αιθέριο έλαιο μανταρινιού καταγράφει την υψηλότερη τοξικότητα έναντι του *Culex ripiens* biotype *molestus*. Διαπιστώθηκε ότι τα αιθέρια έλαια του γένους citrusκαταγράφου υψηλή τοξική επίδραση στις προνύμφες των κουνουπιών και θα μπορούσα μελλοντικά να χρησιμοποιηθούν ως εντομοκτόνα φιλικά προς το περιβάλλον.

Λέξεις-Κλειδιά: *Culex ripiens* biotype *molestus*, αιθέρια έλαια, μανταρίνι, περγαμόντο, γκρέιπφρουτ.

ABSTRACT

The use of essential oils during the last decade has occupied the scientific community in various fields, especially their usefulness in everyday life. The purpose of this thesis is to study the insecticidal action of essential oils against larvae of the mosquito *Culex pipiens* biotype *molestus*. In the context of this research, a laboratory experiment was carried out, and in particular laboratory bioassays. During the present study it was found that the essential oils have a significant toxic effect on the larvae of the mosquito *Culex pipiens* biotype *molestus*. In particular, mandarin essential oil records the highest toxicity against *Culex pipiens* biotype *molestus*. It was found that essential oils of the genus citrus register a high toxic effect on mosquito larvae and could be used as environmentally friendly insecticides in the future.

Keywords: *Culex pipiens* biotype *molestus*, essential oils, tangerine, bergamot, grapefruit.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η χρήση των αιθέριων ελαίων κατά την τελευταία δεκαετία έχει απασχολήσει την επιστημονική κοινότητα σε διάφορους τομείς ιδίως της χρησιμότητάς τους στην καθημερινότητα. Πέρα από τις κλασικές τους χρήσεις για την καλλυντική και διατροφική τους αξία, δημιουργήθηκαν απορίες αναφορικά με την συνεισφορά τους στην αποθητική τους δράση και την καταπολέμηση των εντόμων. Ένα πολύ διαδεδομένο έντομο που απασχολεί ιδίως κατά τους θερινούς μήνες είναι το *Culex pipiens* biotype *molestus* κοινώς το κουνούπι.

Σκοπός της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελεί η μελέτη της εντομοκτόνου δράσης αιθέριων ελαίων εναντίον προνυμφών του κουνουπιού του *Culex pipiens* biotype *molestus*. Ειδικότερα, εξετάστηκε η προνυμφοκτόνος δράση τριών αιθέριων ελαίων του γένους *citrus*, και πιο συγκεκριμένα, του γκρέιπφρουτ, του μανταρινιού και του περγαμόντο.

Η εργασία χωρίζεται σε 2 ενότητες, το θεωρητικό υπόβαθρο της εργασίας και το πειραματικό μέρος. Το θεωρητικό κομμάτι της εργασίας περιλαμβάνει την περιγραφή των φυτών και ειδικότερα τα βοτανικά χαρακτηριστικά, την ταξινόμηση και τις καλλιεργητικές μεθόδους τους. Το δεύτερο κεφάλαιο του θεωρητικού μέρους πραγματεύεται τις ιδιότητες, τις χρήσεις και τη χημική σύσταση των προς διερεύνηση αιθέριων ελαίων και τέλος το τρίτο κεφάλαιο παρουσιάζει την συστηματική κατάταξη και τον βιολογικό κύκλο του κουνουπιού (*Culex pipiens* biotype *molestus*). Το ερευνητικό μέρος της εργασίας περιλαμβάνει τη πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε. Αρχικά, εφαρμόστηκαν εργαστηριακές βιοδοκιμές πάνω στις προνύμφες του κουνουπιού με διάφορες συγκεντρώσεις των αιθέριων ελαίων που αναφέρθηκαν προηγουμένως. Κάθε δοκιμή ολοκληρώθηκε μέσα σε τρεις μέρες. Στη συνέχεια, η συλλογή των δεδομένων που συλλέχθηκαν επεξεργάστηκαν με το στατιστικό πρόγραμμα SPSS-23 και τις μεθόδους της περιγραφικής και επαγωγικής ανάλυσης.

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΦΥΤΩΝ (ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ, ΒΟΤΑΝΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ, ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ...ΚΤΛ

1.1 ΓΚΡΕΙΠΦΡΟΥΙΤ

1.1.1 ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ-ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Το γκρέιπφρουτ (*Citrus × paradisi Macfad.*) προέρχεται από τα Μπαρμπέιντος των νησιών της Καραϊβικής, είναι ένα φυσικό υβρίδιο ανάμεσα στο pummelo (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) και το γλυκό πορτοκάλι (*C. sinensis* L. Osb). Ονομάστηκε αρχικά ως *Citrus paradise Macfad.* από τον James Macfadyen το 1837 (Scora, et al., 1982 και Scora, 1988). Το tangelo (*Citrus × tangelo* J.W. Ingram & H.E. Moore, 1975) πιθανότατα προήλθε από τη νοτιοανατολική Ασία πριν από περισσότερα από 3.500 χρόνια. Το Tangelo είναι πιθανότατα αποτέλεσμα διασταυρούμενης επικονίασης από έντομα του μανταρινιού πορτοκαλιού και του pummelo (το pummelo είναι ο πρόγονος του γκρέιπφρουτ) (Shahnawaz, et al., 2018).

Το γκρέιπφρουτ (*Citrus x aurantium*) ανήκει στην οικογένεια Rutaceae, υποοικογένεια Aurantioideae. Το γκρέιπφρουτ θεωρείται μοναδικό μεταξύ των εσπεριδοειδών (*Citrus* sp.) λόγω της χαρακτηριστικής του γεύσης, των πλεονεκτημάτων για την υγεία και της πρόσφατης προέλευσης των νησιών της Καραϊβικής πριν από 300 χρόνια (Scora, 1975). Τα περισσότερα καλλιεργούμενα εσπεριδοειδή προέρχονται από τη Νοτιοανατολική Ασία πριν από το 2000 π.Χ. Το κίτρο (*Citrus medica*), που θεωρείται προγονικό είδος των καλλιεργούμενων εσπεριδοειδών (Raveh, et al., 2020), χρονολογείται από το 4000 π.Χ.

Το γκρέιπφρουτ είναι το τέταρτο πιο σημαντικό εσπεριδοειδή από οικονομική άποψη στον κόσμο. Είναι πλούσιο σε διάφορα θρεπτικά συστατικά, φυτοχημικά, βιταμίνη C και ινοπηκτίνη με ροζ και κόκκινες αποχρώσεις που περιέχουν το ευεργετικό αντιοξειδωτικό λυκοπένιο (Chen, et al., 2016). Υπάρχουν πολλά οφέλη αυτού του φρούτου που αξίζει να αναφερθούν: (i) η φλούδα και το εκχύλισμα σπόρων γκρέιπφρουτ έχουν αντιμυκητιακές ιδιότητες (Okunowo, et al., 2013), (ii) βοηθά στη μείωση της χοληστερόλης (Platt, 2000) και επίσης (iii) στο μελέτες κυττάρων σε ζώα, σκόνη γκρέιπφρουτ, λιμονίνη και ναρινγενίνη μειώνουν την ανάπτυξη και αυξάνουν την αυτοκαταστροφή του καρκίνου του παχέος εντέρου, του στόματος, του δέρματος, των πνευμόνων, του μαστού και του στομάχου (Chidambara, et al., 2011). Οι ποικιλίες εσπεριδοειδών παρουσιάζουν μεγαλύτερη ποικιλομορφία στα μορφολογικά τους χαρακτηριστικά όπως μέγεθος και σχήμα θόλου,

χρώμα, τύπος, αριθμός σπόρων, βάρος καρπού, διάμετρος καρπού, διάμετρος άνθους, οξύτητα κ.λπ. Γενικά στα φυτά, η ποικιλότητα σε φαινοτυπικό επίπεδο είναι πολύ μεγαλύτερο από ό,τι σε γενετικό επίπεδο, καθώς χρησιμοποιούνται επιλεκτικά ουδέτεροι μοριακοί δείκτες για την αξιολόγηση της έκτασης της γενετικής διαφοροποίησης.

Για μελλοντικούς σκοπούς διαχείρισης και διατήρησης της ποικιλίας, αυτή η προσαρμοστική γενετική ποικιλότητα αντιπροσωπεύει σημαντικό δυναμικό. Πρόσφατα ερευνητές (Ahmed, et al., 2018; Jianfeng et al., 2012; Uzun and Yesiloglu, 2012), παρατήρησαν τη σημαντική ποικιλομορφία μεταξύ των καλλιεργημένων γονότυπων του γένους *Citrus* όσον αφορά τα φυσιολογικά, μορφολογικά και αγρονομικά χαρακτηριστικά, αλλά πολύ μικρή διαφοροποίηση του DNA ανιχνεύθηκε χρησιμοποιώντας δείκτες DNA. Ομοίως, σε άλλες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκαν δείκτες για τον προσδιορισμό της γενετικής ποικιλότητας, του χαρακτηρισμού και των φυλογενετικών σχέσεων μεταξύ των εσπεριδοειδών και των σχετικών γενών. Τα γκρέιπφρουτ είναι εξαιρετικά πολυεμβρυϊκά και έχουν χαμηλή γενετική διαφοροποίηση λόγω πυρηνικής προέλευσης και μετάλλαξης.

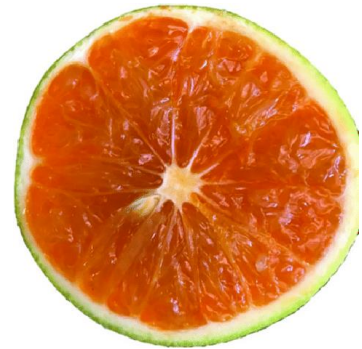
Ουσιαστική γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των ειδών και των ποικιλιών εσπεριδοειδών οφείλεται στη συχνή μετάλλαξη των οφθαλμών, στον ενδοειδικό και διαγενή υβριδισμό, στα απομίγματα και στη μακρά ιστορία της καλλιέργειας. Υπάρχει επείγουσα ανάγκη για διαφοροποίηση των ποικιλιών εσπεριδοειδών φλοιού για την κίτοκαλλιέργεια του Παντζάμπ για τη μείωση των υψηλών κινδύνων που συνδέονται με την εκδήλωση νέων και πιο σοβαρών ασθενειών και παρασίτων. Δεύτερον, υπάρχει μεγαλύτερη ποικιλία στους χαρακτήρες στα εσπεριδοειδή από ό,τι σε άλλες καλλιέργειες φρούτων και τα εσπεριδοειδή είναι φαινοτυπικά η πιο ετερογενής ομάδα.

1.1.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ



Εικόνα 1: Φέτες γκρέιπφρουτ με χρωματισμό της σάρκας που κυμαίνεται από λευκό έως διάφορες αποχρώσεις του κόκκινου και εμφανίζεται μια νέα ποικιλία γκρέιπφρουτ με χρυσαφί σάρκα.

Οι ποικιλίες γκρέιπφρουτ έχουν στενή γενετική βάση. Ο υβριδισμός για την αύξηση της γενετικής ποικιλότητας είναι επιθυμητός. Οι εμπορικά σημαντικές ποικιλίες της αγοράς γκρέιπφρουτ δεν προήλθαν από τη συμβατική αναπαραγωγή. Πολλά από αυτά μπορούν να αναχθούν σε μια σειρά φυσικών μπουμπουκιών ή επαγόμενων μεταλλάξεων του αρχικού λευκού γκρέιπφρουτ που παρήγαγαν ποικιλίες με χρώματα σάρκας που κυμαίνονται από λευκό έως ροζ, ροδακινί και ανδρικό (Εικ. 1). Ένα γκρέιπφρουτ με βαθιά χρυσή σάρκα (Εικ. 2) που ανακαλύφθηκε στο Τέξας θεωρείται ότι είναι μια σωματική μετάλλαξη λευκού γκρέιπφρουτ που μοιάζει με το «*Duncan*» (E.S. Louzada, αδημοσίευτα στοιχεία). Ένα οικογενειακό δέντρο γκρέιπφρουτ, που απεικονίζει ποικιλίες που προέρχονται από φυσικά μπουμπουκία, προκαλούμενες μεταλλάξεις και από σεξουαλικές διασταυρώσεις (που οδηγούν σε ποικιλίες που μοιάζουν με γκρέιπφρουτ), παρουσιάζεται στο (Εικ.4).



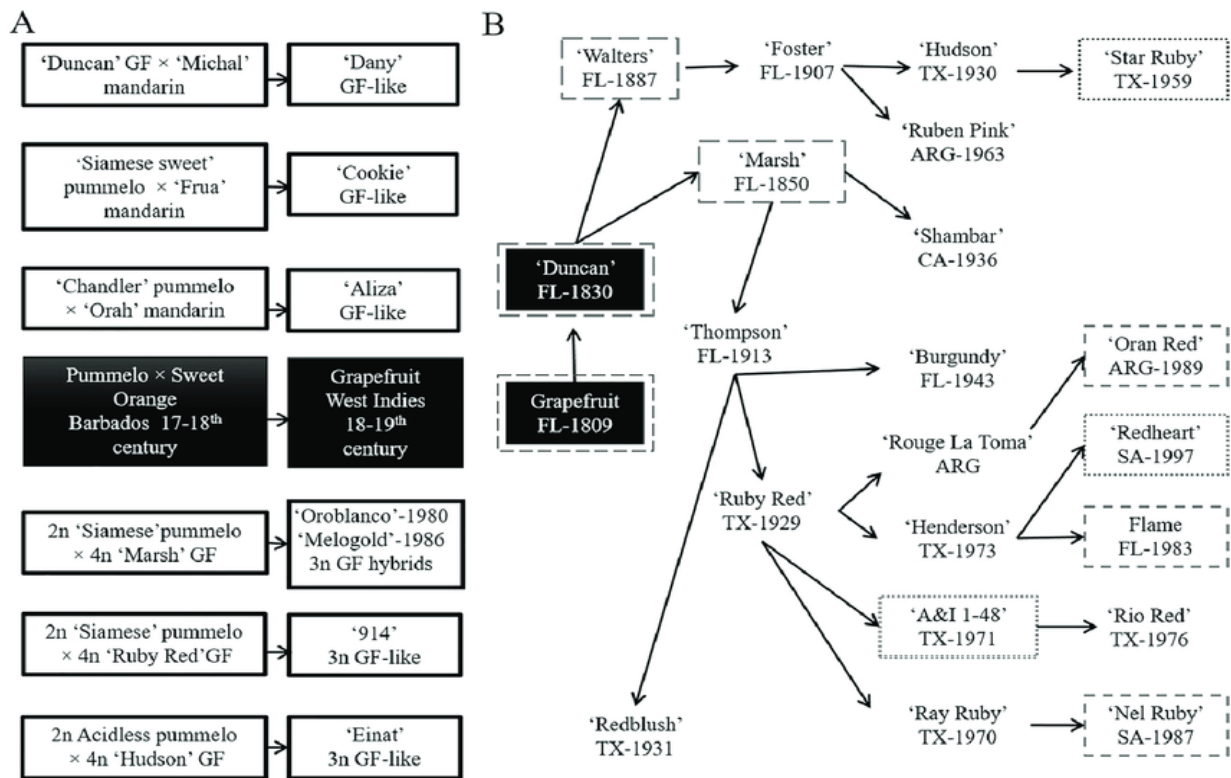
Εικόνα 2: Γκρέιπφρουτ με χρυσαφένιο χρώμα σάρκας, πιθανότατα ένα φυσικό μεταλλαγμένο από σπορώδη, λευκό γκρέιπφρουτ που μοιάζει με το «*Duncan*»



Εικόνα 3: Βλαστημένος σπόρος γκρέιπφρουτ «*Rio Red*» που καταδεικνύει την παρουσία διαφόρων εμβρύων σε έναν μόνο σπόρο (πολυεμβρυονία)

Όπως τα περισσότερα εσπεριδοειδή, το γκρέιπφρουτ έχει υψηλό βαθμό σποροφυτικής απομίξης που οδηγεί σε πολυεμβρυονία, πολλαπλά γενετικά πανομοιότυπα έμβρυα αναπτύσσονται από ένα μόνο γονιμοποιημένο ωάριο με φυσική εμβρυογένεση κυττάρων από τα τοιχώματα του εμβρυϊκού σάκου (Εικ. 3). Αυτά τα πολλαπλά έμβρυα είναι κλώνοι του μητρικού φυτού. Όταν το γκρέιπφρουτ χρησιμοποιείται ως γονέας σπόρων στην αναπαραγωγή, τα ζυγωτικά υβριδικά έμβρυα που προκύπτουν από τη σεξουαλική αναπαραγωγή γενικά δεν αναπτύσσονται λόγω του σκληρού ανταγωνισμού από τα πολυάριθμα, ισχυρά πυρηνικά έμβρυα. Είναι δύσκολο να δημιουργηθεί ένας αρκετά μεγάλος υβριδικός πληθυσμός για την επιλογή ανώτερων ποικιλιών με μεθόδους διάσωσης εμβρύων, επειδή τα

ασθενέστερα ζυγωτικά έμβρυα εξαλείφονται λόγω έλλειψης τροφής. Επειδή τα εσπεριδοειδή είναι μια πολυετής καλλιέργεια με περίοδο νεανικότητας, η παραγωγή βελτιωμένων ποικιλιών μέσω της παραδοσιακής αναπαραγωγής είναι χρονοβόρα. Οι δοκιμές πεδίου για αξιολογήσεις νέων ποικιλιών απαιτούν σημαντική γη και πόρους. Το πυρηνικό έμβρυο και οι οικονομικοί παράγοντες είναι οι κυρίαρχοι λόγοι που περιορίζουν τη διαθεσιμότητα νέων υβριδίων γκρέιφρουτ (Louzada & Ramadugu, 2021).



Εικόνα 4: Προέλευση των μεγάλων ποικιλιών γκρέιφρουτ. (Α) Ποικιλίες που αναπτύχθηκαν με σεξουαλικό υβριδισμό. Εμφανίζεται η καταγωγή των επιλεγμένων υβριδίων. (Β) Ποικιλίες που προκύπτουν από αυθόρμητες ή επαγόμενες μεταλλάξεις. Τα κύρια γεγονότα που σχετίζονται με την προέλευση του γκρέιφρουτ εμφανίζονται σε μαύρα ορθογώνια. Τα ονόματα των ποικιλιών μπουμπουκιών εμφανίζονται χωρίς περιθώρια. Τα διακεκομμένα ορθογώνια αντιπροσωπεύουν ποικιλίες που προκύπτουν μέσω ακτινοβολίας. Οι ποικιλίες που προέρχονται από σπορόφυτα εμφανίζονται σε κουτιά με παύλες. Το έτος και ο τόπος ανάπτυξης της καλλιέργειας υποδεικνύονται: Φλόριντα (FL), Τέξας (TX), Καλιφόρνια (CA), Νότια Αφρική (SA) και Αργεντινή (ARG). Τροποποιήθηκε από τους Da Graca, et al. (2004)

Το πυρηνικό έμβρυο διαδραμάτισε σημαντικό ρόλο στη γενναιόδωρη προέλευση του γκρέιφρουτ στα Μπαρμπέιντος. Οι Άγγλοι άποικοι στο νησί των Μπαρμπέιντος, που δεν ήταν εξοικειωμένοι με τον ασεξουαλικό πολλαπλασιασμό που συνηθίζεται για τα εσπεριδοειδή, καλλιέργησαν το pummelo «*Shaddock*» από σπόρους. Το αυτο-ασυμβίβαστο «*Shaddock*» προφανώς διασταυρώθηκε με ένα γλυκό πορτοκάλι με αποτέλεσμα ένα υβρίδιο με απομικτικά χαρακτηριστικά που κληρονομήθηκαν από τον γονέα γύρης του γλυκού πορτοκαλιού. Ο επαναλαμβανόμενος πολλαπλασιασμός από τους σπόρους που παρήγαγαν

«αληθινούς» απογόνους πιθανώς οδήγησε στον πολλαπλασιασμό των δέντρων γκρέιπφρουτ που αργότερα σταθεροποιήθηκαν ως απομικτικό είδος (Louzada & Ramadugu, 2021).

Οι δύο πιο σημαντικές υβριδικές ποικιλίες γκρέιπφρουτ μέχρι σήμερα είναι η *Oroblanco* και η *Melogold*. Και οι δύο ποικιλίες είναι τριπλοειδείς και χωρίς σπόρους, που προκύπτουν από τη διασταύρωση ενός διπλοειδούς (2n) χαμηλού οξέος pummelo με ένα τετραπλοειδές (4n) λευκό γκρέιπφρουτ *Marsh*. Ένα κόκκινο γκρέιπφρουτ που μοιάζει με «*Oroblanco*», με το όνομα «*Einat*», αναφέρθηκε πρόσφατα από ένα τετραπλοειδές γκρέιπφρουτ «*Hudson*» με ένα διπλοειδές πούμελο χαμηλής οξύτητας (Fidel, et al., 2016). Ένα άλλο γκρέιπφρουτ με κόκκινη σάρκα, που παράγεται επίσης από μια διασταύρωση διπλοειδούς κούμελου χαμηλής οξύτητας με τετραπλοειδή γκρέιπφρουτ «*Ruby Red*», κατοχυρώθηκε με δίπλωμα ευρεσιτεχνίας με το όνομα «914» (Gmitter, 2014). Η υβριδική ποικιλία 914 έχει εξαιρετικά χαμηλή περιεκτικότητα σε φουρανοκουμαρίνη, καθιστώντας την ασφαλή για άτομα που λαμβάνουν φάρμακα που αλληλεπιδρούν με φουρανοκουμαρίνες (NatureBio-technology, 2013). Τα τετραπλοειδή φυτά εσπεριδοειδών ήταν χρήσιμα για την παραγωγή τριπλοειδών απογόνων χωρίς σπόρους με διασταυρώσεις.

Εκτός από τα «*Melogold*» και «*Oroblanco*», τα υβρίδια γκρέιπφρουτ που αναπτύχθηκαν δεν είναι ακόμη διαθέσιμα στο εμπόριο. Το γκρέιπφρουτ «*Νέας Ζηλανδίας*», που υποτίθεται ότι είναι υβρίδιο pummelo, είναι εμπορικά σημαντικό στη Νέα Ζηλανδία. Η εικόνα 4 δείχνει ένα λεπτομερές οικογενειακό δέντρο γκρέιπφρουτ (Louzada & Ramadugu, 2021).

1.2 ΜΑΝΤΑΡΙΝΙ

1.2.1 ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ-ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Η μανταρινιά κατάγεται από την Κίνα όπου καλλιεργήθηκε πρωταρχικά σχεδόν πριν από τρεις χιλιάδες χρόνια. Έπειτα μεταφέρθηκε στην Ευρώπη περίπου την πρώτη δεκαετία του 19^{ου} αιώνα, το 1805, και στις δυτικές χώρες (Ηνωμένες Πολιτείες Αμερικής) το 1840. Η ιστορία αναφέρει ότι το φρούτο πήρε το όνομά του από τους Μανδαρινούς που ήταν οι ανώτεροι αξιωματικοί της Κινεζική αυτοκρατορίας, λόγω του χρώματος των στολών που φορούσαν το οποίο ήταν ίδιο με του μανταρινιού. Επίσης οι Μανδαρίνοι προσέφεραν το φρούτο ως πολύτιμο δώρο. Το μανταρίνι Κλιμεντίνη (το οποίο είναι συνήθως άσπορο) ονομάστηκε έτσι λόγω του μοναχού *Clement Rodier* (1829 - 1904), ο οποίος εντόπισε την ποικιλία αυτή στην Αλγερία. Η χρονική περίοδος κατά την οποία είναι διαθέσιμα στην αγορά, είναι από τον Νοέμβριο, έως τον Ιανουάριο. Στην Ελλάδα τα πρώτα μανταρινιά έφερε ο Ρώσος ναύαρχος Λογγίνος φον Χέυδεν, δώρο προς το Ναύαρχο Τομπάζη. Τα πρώτα δέντρα μανταρινιάς φυτεύτηκαν στην Ελλάδα στο κτήμα Τομπάζη στον Γαλατά Τροιζηνίας (Wang, et al., 2018), (Harper, 2018).

Η μανταρινιά ανήκει στην οικογένεια των μικρόσωμων εσπεριδοειδών και έχει ευλύγιστους βλαστούς και θεωρείται ορθόκλαδο ή πλαγιόκλαδο δέντρο, με σφαιρική κόμη ανάλογα με την ποικιλία. Η μανταρινιά μπορεί να έχει μικτούς βλαστούς με φύλλα και άνθη ή φυλλοφόρους, δηλαδή μόνο φύλλα. Τα φύλλα της είναι έμμισχα, διατάσσονται ελικοειδώς, και φέρουν περύγιο μεσαίου μεγέθους. Πολλές φορές παρατηρείται φυλλόπτωση κατά την καλλιεργητική περίοδο, λόγω κλιματικών συνθηκών ή βιολογικών και θρεπτικών παραγόντων. Όσον αφορά στους οφθαλμούς του φυτού, υπάρχουν δύο είδη, οι βλαστοφόροι ή οι ξυλοφόροι οφθαλμοί, οι οποίοι αναπτύσσονται στις άκρες ή στο πλάγιο μέρος του βλαστού και οι μικτοί ή ανθοφόροι οφθαλμοί οι οποίοι αναπτύσσονται πλάγια στη μασχάλη του φύλλου. Οι καρποί της μανταρινιάς αναπτύσσονται κατά μήκος των βλαστών και το ριζικό της σύστημα αυξάνεται κατά κύματα. Ο καρπός σε όλα τα εσπεριδοειδή ονομάζεται εσπερίδιο και είναι αποτέλεσμα της ανάπτυξης της ωοθήκης αποτελούμενη από καρπόφυλλα ενωμένα στο κέντρο με τον ανθικό άξονα. Το επικάρπιο έχει ένα εξωκάρπιο στο οποίο υπάρχουν χλωροπλάστες και χλωροφύλλη. Οι χλωροπλάστες αυτοί μετατρέπονται σε χρωμοπλάστες κατά το στάδιο της ωρίμανσης, η χλωροφύλλη αποδομείται και παρουσιάζονται έγχρωμες ουσίες όπως είναι τα καρατινοειδή. Οι ουσίες αυτές είναι υπεύθυνες για το έντονο πορτοκαλοειδές χρώμα στους ιστούς και τους χυμούς των καρπών

της μανταρινιάς και άλλων εσπεριδοειδών(Wang, et al., 2018).

Ο καρπός του μανταρινιού είναι ένας καρπός με φλοιό, τραχύ και χαλαρά συνδεδεμένο με το εδώδιμο τμήμα. Στο εδώδιμο τμήμα υπάρχουν σκελίδες οι οποίες χωρίζονται εύκολα, (Εικ. 4). Το χρώμα τους είναι κυρίως πορτοκαλοερρυθρό, είναι φρούτο έγχυμο και στις περισσότερες ποικιλίες του γλυκό στη γεύση. Όταν ο καρπός ωριμάσει, ο φλοιός είναι χαλαρός και τραχύς, με αποτέλεσμα να αποσπάται εύκολα από το εδώδιμο τμήμα. Ο φλοιός αποτελεί το 28-34% του καρπού, το Albedo (άσπρο σπορώδες μεσοκάρπιο), το 21% του καρπού και ο χυμός το 45-51% του καρπού. Η περιεκτικότητά τους σε χυμό κυμαίνεται από 42,5% έως 54,7%, ανάλογα με την ποικιλία και την περίοδο της συγκομιδής. Η περιεκτικότητά του σε κιτρικό οξύ κυμαίνεται μεταξύ 1,2% έως 2,7% και τα διαλυτά στερεά μεταξύ 9,5% και 14,8%. Τα επίπεδα των σακχάρων του μανταρινιού, αυξάνονται κατά την ωρίμανση του. Οπότε η συγκομιδή του θα πρέπει να πραγματοποιείται σύμφωνα με τα κριτήρια συλλεκτικής ωριμότητας και του δείκτη ωρίμανσης ΔΣ/οξέα (Ollitrault, et al., 2020).

Ένα ενήλικο δέντρο του είδους έχει φαρδύ στέμμα και σε κάποιες περιπτώσεις υπερβαίνει τα επτά μέτρα ύψος, είναι αγκαθωτό αιθαλές και τα άνθη του είναι αρωματικά και λευκά και εμφανίζονται επάνω στο δέντρο σε βοτρυώδεις ταξιανθίες. Λόγω της υπερβολικής καρποφορίας, οι καρποφορούντες βλαστοί της λυγίζουν και πολλές φορές φτάνουν ως το έδαφος χωρίς όμως να αποκολλούνται ολόκληροι οι βραχίονες ή να σπάσουν. Το ριζικό σύστημα της μανταρινιάς όπως και σε όλα τα εσπεριδοειδή φτάνει τα 90 εκατοστά, αλλά το 4% έχει ριζικό σύστημα που κυμαίνεται μεταξύ 30 και 60 εκατοστών. Αυτός είναι ο λόγος για τον οποίο τα εσπεριδοειδή χαρακτηρίζονται ως επιπολαιόριζα. Οι ρίζες τους δεν έχουν γόνατα ή μεσογονάτια. Επίσης δεν φέρουν ελαιοφόρους αδένες σε αντίθεση με τα υπόλοιπα μέρη του φυτού (Boyd, 2020).

Το δέντρο και τα υβρίδιά του παρουσιάζουν αντοχές σε χαμηλότερες θερμοκρασίες σε σχέση με άλλα εσπεριδοειδή. Όσον αφορά στην αντοχή του φυτού στις χαμηλές θερμοκρασίες οι αντοχές διαφέρουν ανά ποικιλία, ωστόσο οι καρποί του φυτού όλων των ποικιλιών του είδους, μπορεί να ζημιωθούν σε καιρικές συνθήκες παγετού (Pangaribuan, 2018).

Σύμφωνα με τη βοτανική τους ταξινόμηση η μανταρινιά παρουσιάζει τα εξής χαρακτηριστικά:

Διαίρεση : Σπερματοφόρα

Κλάση : Δικοτυλίδωνα

Τάξη : Géraniales

Οικογένεια : Rutaceae

Υποοικογένεια : Aurantionoidae

Γένος : Citrus.

Ο χυμός του μανταρινιού είναι πολύ ωφέλιμος για την υγεία του ανθρώπου και περιέχει πολλές βιταμίνες και θρεπτικά συστατικά. Συγκεκριμένα σε 100ml χυμού εσπεριδόκαρπων (συμπεριλαμβανομένου και του μανταρινιού), περιέχονται 40-70mg ασκορβικού οξέος και σε δύο μέτρια μανταρινία περιλαμβάνονται 47 mg βιταμίνης C, 28 mg φολικού οξέως, 60 μg Βιταμίνης A και πολλά άλλα θρεπτικά συστατικά όπως A καροτένιο, B καροτένιο, κρυπτοξανθίνη και φυτικές ίνες. Τα μανταρινία έχουν την υψηλότερη περιεκτικότητα σε καροτενοειδή σε σχέση με τα υπόλοιπα εσπεριδοειδή (λίγο λιγότερο από τα πορτοκάλια) και συγκεκριμένα σε β-κρυπτοξανθίνη, στην οποία οφείλεται το έντονο πορτοκαλί χρώμα τους και η διαφοροποίησή τους από τα πορτοκάλια (Goldenberg, 2017).

Τα κύρια χαρακτηριστικά των μανταρινιών σχεδόν όλων των ποικιλιών είναι:

- Μικρό μέγεθος του καρπού (εξαιρούνται ελάχιστες ποικιλίες όπου ο καρπός είναι μεγάλος όπως η ποικιλία King of Siam),
- Βραχεία περίοδο ωρίμανσης και συγκομιδής και
- Ευαισθησία του καρπού στη συγκομιδή γενικότερα στους χειρισμούς (μεταφορά και συσκευασία) (Boyd, 2020).



Εικόνα 4: Καρπός μανταρινιού. Τραχύς φλοιός εξωτερικά και πολλαπλές σκελίδες στο εδάδιμο τμήμα.

Τα μανταρινία αρχικά ταξινομήθηκαν από τον Webber το 1943 στη διεθνή βιβλιογραφία, σε τέσσερις ταξινομικές ομάδες, *King*, *Satsuma*, *Mandarin* και *Tangerine*, ενώ ο Swingle το ίδιο έτος αναφέρει μόνο ένα είδος μανταρινιού για όλα τα μανταρινία, το *C. Reticulata Blanco*. Μία δεκαετία αργότερα, ο Tanaka προσδιόρισε τουλάχιστον 36 είδη μανταρινιού σε πέντε

ταξινομικές ομάδες ενώ ο Hodgson το 1967 αναθεώρησε τις ταξινομήσεις των Tanaka και

Swingle και πρότεινε ότι τα μανταρίνια τα οποία έχουν οικονομική σημασία διαχωρίζονται σε τέσσερα είδη, *C. unshiu* ("Satsuma"), *C. Reticulata Blanco* ("Ponkan", "Dancy", "Clementine"), *C. Deliciosa Tenore* (Φύλλο Ιτιάς ή Μεσόγειος) και *C. Nobilis Loureiro* («Βασιλιάς»). Σε μελέτη του ο Hodgson σχετικά με τους μοριακού δείκτες, διαπιστώνει ότι οι ποικιλίες του μανταρινιού δεν πρέπει να διαχωρίζονται σε πολλά είδη όπως πρότεινε ο Tanaka. Οι σημερινοί συγγραφείς αναφέρουν ότι το μανταρίνι είναι το είδος *Citrus reticulata* και ανήκει στην οικογένεια Rutaceae (Ruiz, et al., 2018).

1.2.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Τις τελευταίες δεκαετίες οι πρακτικές που εφαρμόζονται στη γεωργία έχουν βελτιωθεί και επικεντρωθεί στην μεγιστοποίηση της απόδοσης των καλλιεργειών. Όσον αφορά στα είδη των μανταρινιών, η φύτευσή τους πραγματοποιείται από τα μέσα του φθινοπώρου έως και τα μέσα της άνοιξης, αναλόγως την περιοχή και τα κλιματικά χαρακτηριστικά της. Η πρόωμη φύτευση κατά τους φθινοπωρινούς μήνες, μπορεί να πραγματοποιηθεί σε περιοχές με ήπιο χειμώνα, ενώ σε περιοχές με ψυχρότερο χειμώνα προτιμάται η όψιμη φύτευση κατά τους ανοιξιάτικους μήνες. Και στις δύο περιπτώσεις θα πρέπει να ακολουθούνται οι σωστές καλλιεργητικές μεθόδους και πρακτικές για τη σωστή φροντίδα του φυτού (Shimizu, et al., 2016).

Στην Ελλάδα η καλλιέργεια της μανταρινιάς καλύπτει περίπου 75.000 στρέμματα, με μέση ετήσια παραγωγή 1,5 –2,0 τόνους ανά στρέμμα. Από τη συνολική παραγωγή εσπεριδοειδών, τα μανταρίνια και διάφορα μανταρινοειδή, καταλαμβάνουν το 15% της συνολικής παραγωγής από τα οποία το 50% καταναλώνεται στη χώρα και το υπόλοιπο 50% εξάγεται σε άλλες χώρες. Οι προωθούμενες ποικιλίες μανταρινιού στην Ελλάδα και εκείνες που προτιμούνται για εξαγωγές σε άλλες χώρες (κάποιες είναι ανθεκτικές στ χρόνο και τη μεταχείριση), είναι οι *Nova*, *Clementines*, *Denules*, *SRA63*, *SRA89*, *Clasuelina*, *Caffin*, *Okitsu*, *Oryanique*, *Fortune* και άλλες (Karp, 2016).

Η διαδικασία του πολλαπλασιασμού της μανταρινιάς συμπεριλαμβάνει τον εμβολισμό της επιθυμητής ποικιλίας στο κατάλληλο υποκείμενο το οποίο είναι κυρίως τα σπορόφυτα της *P. Trifoliata*, της μανταρινιάς *Cleopatra* και της νεραντζιάς και του υβριδίου *Carrizo-citrange*. Άλλοι τρόποι συμπεριλαμβάνουν τον πολλαπλασιασμό με εναέριες καταβολάδες. Στην περίπτωση αυτή ίσως τα νέα δέντρα να μη καταφέρουν να επιβιώσουν μακροχρόνια, ίσως να παρουσιάσουν ευπάθεια σε προσβολές από ασθένειες και μειωμένη καρποφορία

(Goldenberg, 2018).

Τα πρώτα πέντε έτη το δέντρο της μανταρινιάς δεν αποδίδει σοδιά. Η μανταρινιά εισέρχεται στην καρποφορία γρηγορότερα στις περιοχές όπου ο χειμώνας είναι ψυχρός ή κατά τις χρονικές περιόδους με ξηρό κλίμα και ξηρασία. Αντίθετα σε κλίματα με ήπιο προς θερμό χειμώνα εφαρμόζεται συνήθως η μέθοδος της δακτυλίωσης, διότι αργούν να μπουν στην καρποφορία. Οι ποικιλίες κυρίως της *Μεσογείου* και της *Dancy*, παρενιαυτοφορούν. Αυτό σημαίνει ότι το ένα έτος τα δέντρα δίνουν μεγάλη παραγωγή με μικρά και εύγευστα μανταρινία, ενώ το επόμενο έτος δίνουν μικρή παραγωγή με μεγάλα και άγευστα μανταρινία. Το φυτό αυτό προτιμά τα βαθιά εδάφη τα οποία είναι καλά αποστραγγιζόμενα και περιέχουν υψηλά επίπεδα οργανικών ουσιών που βοηθούν στην ανάπτυξη του φυτού (Karp, 2014).

Ο καρπός του μανταρινιού χάνει την ποιότητά του εάν παραμείνει επάνω στο δέντρο για μεγάλο χρονικό διάστημα. Ωστόσο οι συνθήκες μετασυλλεκτικής μεταχείρισης έχουν βελτιωθεί με αποτέλεσμα να αυξάνεται η διάρκεια συντήρησής τους για αρκετούς μήνες και σε συνδυασμό με την καλλιέργεια υβριδίων όψιμης ωρίμανσης, από ποικιλίες των οποίων οι καρποί αντέχουν επάνω στο δέντρο για μεγάλο χρονικό διάστημα, μπορούν να υπάρχουν νωπά μανταρινία στην αγορά όλο το έτος (Wu, et al., 2018).

Οι κυριότερες ποικιλίες μανταρινιού παγκοσμίως είναι η Μεσογειακή μανταρινιά (*Citrus deliciosa*), η μανταρινιά Σατσούμα (*Citrus unshiu*), η μανταρινιά King (*Citrus nobilis*), η μανταρινιά Κλεοπάτρα (*Citrus reshni*), η συνηθέστερη ποικιλία *Clementine* (*Citrus reticulata*), η οποία προέρχεται από τη Βόρεια Αφρική και η μανταρινιά *Dancy* (*Citrus tangerina*). Με την εξέλιξη της επιστήμης



Εικόνα 5: Αποφλοιωμένα τμήματα μανταρινιού.

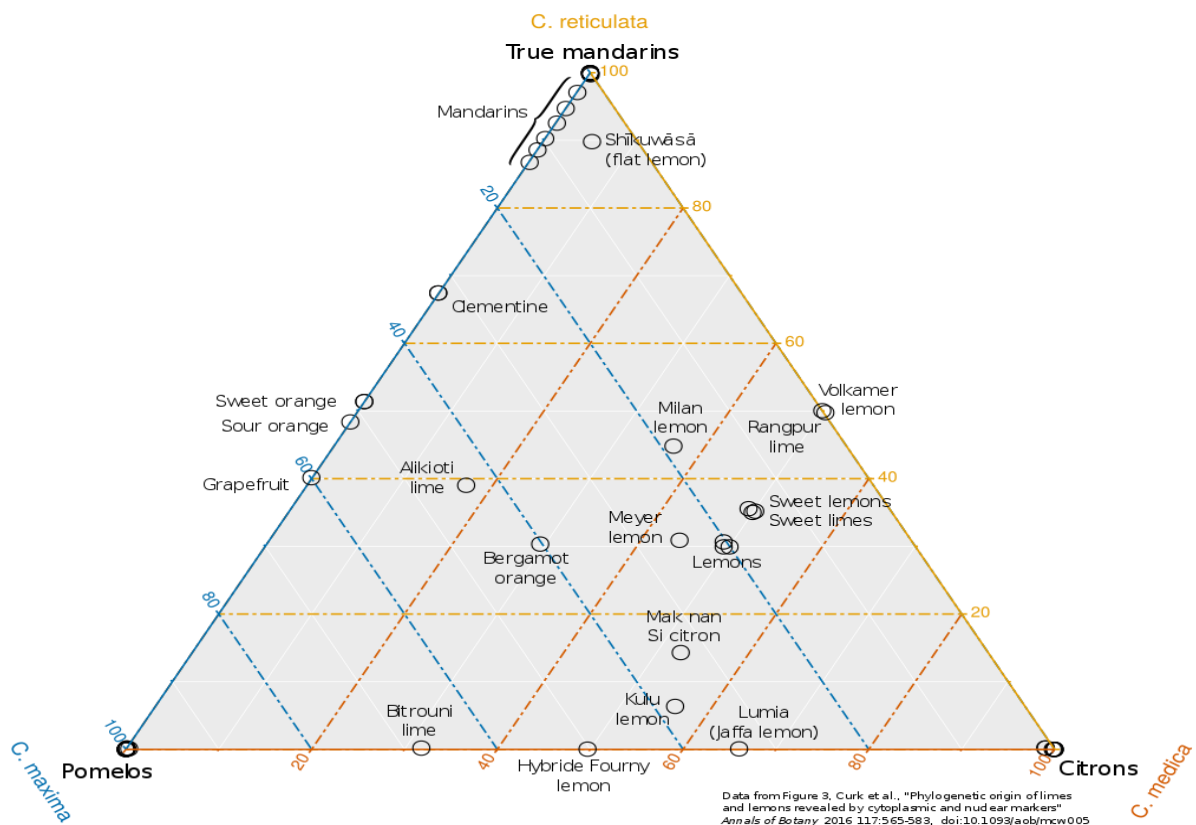
έχουν πραγματοποιηθεί πολλές διασταυρώσεις και υπάρχουν πολλά υβρίδια που προέκυψαν από τη διασταύρωση της μανταρινιάς με άλλα είδη εσπεριδοειδών τα οποία αναφέρονται ως μανταρινοειδή (Tangors, Tangelos) (Andersen, et al., 2014).

Η μανταρινιά αποδίδει περίπου 2-3 τόνους καρπού ανά στρέμμα. Η παγκόσμια παραγωγή μανταρινιών και κλημεντινών ξεπερνά τα 24 εκατομμύρια τόνους ετησίως. Οι χώρες με την μεγαλύτερη παραγωγή είναι η Κίνα με 11,39 εκατομμύρια τόνους ετησίως, η Ισπανία με 2,5 εκατ. Τόνους, η Βραζιλία με 2 εκατομμύρια τόνους και η Ιαπωνία με 1,1

εκατομμύριο τόνους μανταρινιών. Στις υπόλοιπες χώρες της Ευρώπης η παραγωγή είναι πολύ χαμηλότερη, με τη Γαλλία να παράγει σαράντα χιλιάδες τόνους ετησίως (Julian, et al., 2014).

Για την καλύτερη απόδοση της καλλιέργειας επιβάλλεται η επιμελημένη και σωστή εφαρμογή των καλλιεργητικών εφαρμογών όπως το κλάδεμα, η άρδευση, η λίπανση η ζιζανιοκτονία και γενικότερα η φυτοπροστασία. Αυτές οι εφαρμογές πρέπει να πραγματοποιούνται έπειτα από την φύτευση των νεαρών δενδρυλλίων και να εφαρμόζονται καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του εσπεριδεώνα.

Hybridization in citrus cultivars Genetic mixing of three ancestral species



Εικόνα 6: Υβριδισμός σε ποικιλίες εσπεριδοειδών. Τα εσπεριδοειδή συγκεντρώνονται με γενετική ομοιότητα. Οι περισσότερες εμπορικές ποικιλίες εσπεριδοειδών είναι υβρίδια των τριών ειδών στις γωνίες του τριμερούς διαγράμματος (μανταρίνι στην κορυφή). Τα γενετικά διακριτά υβρίδια συχνά φέρουν το ίδιο κοινό όνομα (https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Citrus_tern_cb_simplified_1.svg).

Ο σωματικός υβριδισμός και ο κυβριδισμός στην οικογένεια των εσπεριδοειδών μέσω σύντηξης πρωτόπλαστων, αποτελεί αναπόσπαστο κομμάτι των προγραμμάτων βελτίωσης των

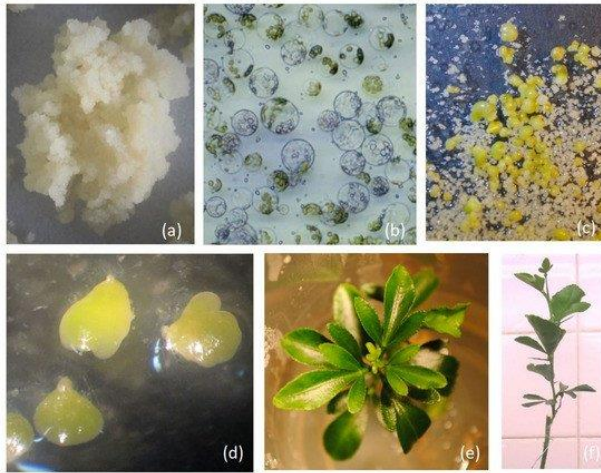
ποικιλιών των εσπεριδοειδών παγκοσμίως. Χρησιμοποιούνται περισσότεροι από 200 γονικούς συνδυασμούς για τη δημιουργία σωματικών υβριδικών φυτών εσπεριδοειδών. Επίσης έχουν παραχθεί και πολλοί κυβριδικοί συνδυασμοί. Οι κυριότερες εφαρμογές σωματικού υβριδισμού για τη βελτίωση των εσπεριδοειδών είναι:

- η παραγωγή ποιοτικών τετραπλοειδών γονέων αναπαραγωγής που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε διαπλοειδείς διασταυρώσεις για τη δημιουργία τριπλοειδών χωρίς σπόρους και
- η άμεση παραγωγή τριπλοειδών με σύντηξη απλοειδών + διπλοειδών.

Οι εφαρμογές του σωματικού υβριδισμού για τη βελτίωση του υποκείμενου υλικού των εσπεριδοειδών, είναι:

- η παραγωγή αλλοτετραπλοειδών υβριδίων που συνδυάζουν συμπληρωματικά διπλοειδή υποκείμενα και
- ο συνδυασμός εσπεριδοειδών με σεξουαλικά ασυμβίβαστα ή δύσκολα υβριδοποιήσιμα γένη που διαθέτουν χαρακτηριστικά ενδιαφέροντος για την επέκταση του γεννητικού πλάσματος (Wu, 2021).

Κάποιοι από τους γονείς των σωματικών υβριδίων τετραπλοειδών, ανθίζουν, είναι γόνιμοι και μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως γονείς γύρης για να δημιουργηθούν οι τριπλοειδείς. Μεγάλο μέρος των αλλοτετραπλοειδών σωματικών υβριδικών υποκειμένων, παρουσιάζουν υψηλές αποδόσεις σε εμπορικές δοκιμές πεδίου και φαίνονται πολλά υποσχόμενα σχετικά με τον έλεγχο του μεγέθους των δέντρων. Τα σπορόδεντρα που προκύπτουν από τα περισσότερα από αυτά τα σωματικά υβριδικά υποκείμενα, παράγουν επαρκή πυρηνικό σπόρο για τυπικό πολλαπλασιασμό. Ο σωματικό υβριδισμός συμβάλλει θετικά στις προσπάθειες για τη βελτίωση στις καλλιέργειες των εσπεριδοειδών (Shimizu, et al., 2016).



Εικόνα 7: Διαδικασία σωματικού υβριδισμού και αναγέννησης φυτών: (α) εμβρυογενής σειρά κάλων από γλυκό πορτοκάλι *Shamouti*. (β) ο πρωτοπλάστης συντήκεται μετά από τρεις παλμούς (35 μ s) των 220 V (DC). (γ) προ-έμβρυο 1 μήνα μετά τη σύντηξη. δ) έμβρυα σε σχήμα καρδιάς δύο μήνες μετά τη σύντηξη. (ε) φυτά *in vitro* σωματικού υβριδίου *Cleopatra* + *WinterHaven* τετραπλοειδή. (στ) εμβολιασμένο φυτό *Shamouti sweet orange* + 4475 *citrumelo Chios cybrid tetraploid somatic hybrid*.

(Dampier, et al., 2022).

1.3 ΠΕΡΓΑΜΟΝΤΟ

1.3.1 ΒΟΤΑΝΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ-ΤΑΞΙΝΟΜΗΣΗ

Το περγαμόντο είναι ο καρπός του πορτοκαλιού περγαμόντο (*Citrus ×aurantium*) και ανήκει στο γένος *Monarda*. Είναι ένα αρωματικό φυτό και έχει παρόμοιο χαρακτηριστικό λουλουδένιο άρωμα με το πορτοκάλι. Είναι ένα από τα κύρια φυτά των οποίων οι καρποί χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αιθέριων ελαίων, αρωμάτων ακόμη και τσαγιού. Το περγαμόντο είναι ένα πολυετές φυτό το οποίο αρχικά καλλιεργήθηκε στη Νότιο Ασία και έπειτα διαδόθηκε σε χώρες της Ευρώπης. Σήμερα καλλιεργείται στην Τουρκία, στη Νότιο Γαλλία, τη Νότιο Ιταλία και στην Ελλάδα και συγκεκριμένα στην Άνδρο, στην Αργολίδα, στην Κέρκυρα, στην Κορινθία, στην Κεφαλονιά και στην Κρήτη. Είναι ένα φυτό που ευδοκμεί σε περιοχές με ζεστό κλίμα και είναι πολύ ευαίσθητο στις χαμηλές θερμοκρασίες. Γενικότερα σχετικά με τη χώρα προέλευσης του φυτού υπάρχουν διάφορες εκδοχές. Σε μελέτη του Verzera και λοιποί, 2003, το φυτό του περγαμόντου συνδέεται με την Ελλάδα, την Κίνα, την Ισπανία, τις Κανάριες νήσους και άλλες περιοχές και επίσης παρουσιάζονται ευρήματα στην Αρχαιότητα. Στην Οθωμανική ιατρική το περγαμόντο χρησιμοποιούνταν ως υλικό για τη δημιουργία φαρμάκων για την αντιμετώπιση ασθενειών, για τη δημιουργία αρωμάτων, καθώς και ως ψυχιατρικό και νευρολογικό ηρεμιστικό για έντονες συμπεριφορές λόγω ορμονικής διαταραχής. Το περγαμόντο ήταν για αρκετούς αιώνες το μεγάλο μυστικό της Ανατολής για τη χρήση του ως φάρμακο και ως άρωμα (Siano, 2012).

Κατά τον 2^ο -3^ο αιώνα μ.Χ. αναφέρονται ευρήματα για τη χρήση του περγαμόντου ως αρωματικό ρούχων και για την αντιμετώπιση της κακοσμίας της στοματικής κοιλότητας. Την περίοδο εκείνη αλλά και από τον 1^ο αιώνα μ.Χ. πρακτικοί γιατροί όπως ήταν ο Αθηναίος, παρήγαγαν αιθέρια έλαια από τον καρπό του περγαμόντου και τα χρησιμοποιούσαν ως πρόληψη σε ασθένειες και ως αντίδοτο σε κάποια δηλητήρια. Μετά το 800μ.Χ. όπου διαδόθηκε το προϊόν της ζάχαρης σε πολλές χώρες, το περγαμόντο χρησιμοποιήθηκε ως γλυκό του κουταλιού, μαρμελάδα ακόμη και ως λουκούμι. Κατά τον 17^ο αιώνα οι Έλληνες πειραματίστηκαν με διασταυρώσεις περγαμόντου με άλλες ποικιλίες εσπεριδοειδών από τις χώρες της Ανατολής όπως είναι το περγαμόντο πορτοκάλι και περγαμόντο λεμόνι. Την ίδια χρονική περίοδο εμφανίζεται σε δύο ελληνικά νησιά το μοσχολέμονο, στην Κέρκυρα και την Κεφαλονιά, το οποίο είναι διασταύρωση του κίτρου της Περγάμου δηλαδή του Περγαμόντου με το Λεμόνι. Τα είδη αυτών των φυτών δεν πολλαπλασιάζονται με σπόρο διότι είναι διασταυρώσεις. Τους τελευταίους δύο αιώνες η καλλιέργεια του περγαμόντου αναπτύσσεται

σημαντικά διότι σε Νοτιότερες περιοχές του πλανήτη οι οποίες είναι θερμές, όπως η Νότιο Ιταλία, η Νότια Ελλάδα, η Μικρά Ασία και άλλες.

Σύμφωνα με τον Bersten, 1939), ο οποίος ειδικεύτηκε στη συγγραφή συγγραμμάτων σχετικά με τον καφέ και το τσάι, το φημισμένο αγγλικό αφέψημα Earl Grey περιέχει ως βασικό αρωματικό συστατικό του το Κερκυραϊκό περγαμόντο (Εικ. 7).



Εικόνα 8: Το εσωτερικό τμήμα του περγαμόντου Κέρκυρας.

Σχετικά με την ονομασία του φυτού υπάρχουν δύο αξιολογήσεις. Η μία υποστηρίζει ότι προέρχεται από την Τούρκικη λέξη Bey Armudu και η δεύτερη υποστηρίζει ότι κατά τον 16^ο αιώνα κάποιοι έμποροι από την Ευρώπη έδωσαν αυτό το όνομα στο φυτό γιατί το ανακάλυψαν στην πόλη Bergama. Η γεύση του χυμού που προκύπτει από τον καρπό του φυτού είναι ξινή αλλά όχι τόσο όσο του λεμονιού και περισσότερο πικρή από του γκρέιπφρουτ. Ο καρπός του περγαμόντου περιέχει φλαβονοειδή, όπως ναριγγίνη, πονσεριτίνη,

νεοεσπεριδίνη, μιτροκίνη, μελιτιδίνη, μιριφλίνη, μπρουτιεριδίνη, νεοεριοκιτρίνη και περγαμοτίνη. Τα φύλλα του φυτού έχουν διάφορα αλκαλοειδή ινδόλης, όπως N,N,N-τριμεθυλτρυπταμίνη. Έως και σήμερα το υψηλότερη ποιότητας λάδι περγαμόντο παράγεται στις ακτές του Ιονίου της Καλαβρίας στην Ιταλία. Η καλύτερη περιοχή στον κόσμο για την καλλιέργεια του περγαμόντου θεωρούνται οι ακτές του Ιονίου, ωστόσο ποτέ δεν έχει καλλιεργηθεί το φυτό στην Ελλάδα για την παραγωγή αιθέριου ελαίου. Ο καρπός του περγαμόντου διαφέρει ανά ποικιλία. Ο καρπός του φυτού στην Κεφαλονιά είναι ώριμος, κίτρινος με διάμετρο 10-20 cm, βάρος 300-650 g και το πάχος της φλούδας του είναι



Εικόνα 9: Περγαμόντο από τα νησιά του Ιονίου

περίπου 2cm,ο εσωτερικός λευκός φλοιός του είναι παχύς (Albedo – άσπρο σπορώδες μεσοκάρπιο) και αποτελεί το 40% του συνολικού βάρους του καρπού και ο χυμός του το 20% του συνολικού βάρους του φρούτου. Το περγαμόντο που καλλιεργείται σε άλλες

<https://enallaktikidrasi.com/2016/05/pergamont-o-idiotites-kai-chrisi/>

περιοχές όπως στην Κέρκυρα, το εσωτερικό τμήμα του φλοιού του (Albedo) έχει έως και 2,5 cm πάχος, και φέρει μία μικρή ποσότητα ελαίου, σε διακριτά σακίδια και ελαιογόνους αδένες. Η λευκή του σάρκα δεν έχει την κολλώδη υφή όπως παρατηρείται στον εσωτερικό φλοιό του κίτρου.

Η διατροφική αξία του φυτού είναι πολύ μεγάλη. Σε μελέτες στο πανεπιστήμιο του Catanzaro, στην Ιταλία, διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς οι οποίοι λάμβαναν αγωγή για την υπερλιπιδαιμία, κατάφεραν να μειώσουν σημαντικά τα επίπεδα χοληστερόλης και τριγλυκεριδίων στο αίμα τους με τη χορήγηση ελαίου του περγαμόντου, επί ένα μήνα. Το περγαμόντο περιέχει πολυφαινόλες και έχει την ικανότητα να αναστέλλει το ένζυμο HMG-CoA λυάση που συνδέεται με την παραγωγή χοληστερόλης από το ήπαρ (Nesci, et al., 2021).

Ένα μέτριο φρούτο περγαμόντου το οποίο ζυγίζει περίπου 180 γραμμάρια, αποδίδει 72 g βιταμίνης A, 144 mg βιταμίνης C, 70 mg Ασβεστίου, 2 g πρωτεϊνών και άλλα θρεπτικά συστατικά σε μικρότερες αναλογίες (Nescietal., 2021).

Η πρώτη σύγχρονη ταξινόμηση του γένους του περγαμόντου *Citrus* (στην οικογένεια Rutaceae), διατυπώθηκε από τον Carl von Linné, ο οποίος, στο «Species Plantarum», πραγματοποίησε μια συγκέντρωση όλων των εσπεριδοειδών σε δύο είδη:

- *Citrus medica* L. (Citron) μαζί με τη μοναδική του ποικιλία. *Citrus medica* var. *limon* (Lemon) και
- *Citrus aurantium* L. (Bitter Orange) μαζί με τις δύο ποικιλίες του, *Citrus aurantium* var. *grandis* (Pomelo) και *Citrus aurantium* var. *sinensis* (γλυκόπορτοκάλι) (Chase et al., 2016).

Οι μεταγενέστερες ταξινομήσεις που ακολούθησαν τους επόμενους αιώνες, δημιουργήθηκαν με βάση τα μορφολογικά και γεωγραφικά δεδομένα του φυτού. Διαφορετικοί συγγραφείς αναφέρουν διαφορετικό αριθμό ειδών. Οι εργαστηριακές τεχνικές έχουν αναπτυχθεί και περιλαμβάνουν συγκεκριμένους μοριακούς δείκτες για την ταξινόμηση των φυτών όπως η Τυχαία Ενίσχυση Πολυμορφικού DNA (RAPD), η cpDNA Απλές επαναλήψεις ακολουθιών (SSR), η Αλληλουχία Χαρακτηρισμένη Ενισχυμένη Περιοχή (SCAR), ο Ενισχυμένος πολυμορφισμός μήκους θραύσματος (AFLP) και πολυμορφισμοί μήκους περιορισμού θραύσματος (RFLPs) και η Inter -Επανάληψη απλής ακολουθίας (ISSRs) (Schwartz, et al., 2016).

Σύμφωνα με μελέτη του Goldschmidt και λοιποί, 2020, υπάρχουν τουλάχιστον 10 προγονικά είδη του περγαμόντου. Από αυτά τα είδη τα επτά προέρχονται από την Ασία και είναι πρωτότυπα: Pomelo (*Citrus maxima*), το αληθινό Mandarin (*C. reticulata*), Papeda (*C. micrantha*), Papeda του Ichang (*C. ichangensis*), Mangshanyegan (*C. mangshanensis*), Citron (*C. medica*) και OvalKumquat (*C. japonica*). Τα υπόλοιπα τρία είδη είναι από την Αυστραλία: DesertLime (*C. glauca*), RoundLime (*C. australis*) και LemonCaviar (*C. Australasica* (Goldschmidt, et al., 2020).

Μία πρόσφατη σημαντική γονιδιοματική μελέτη σύμφωνα με τον Carbonell-Caballero και λοιποί 2015, αμφισβήτησε τις προηγούμενες προτάσεις παρέχοντας το πιο ενημερωμένο εξελικτικό δέντρο σχετικά με τα εσπεριδοειδή. Η μελέτη του Wu και λοιποί, 2014, χρησιμοποίησε τον πολυμορφισμό ενός νουκλεοτιδίου (SNP) και προτείνει ότι τρία γένη τουλάχιστον (*Fortunella*, *Eremocitrus* και *Microcitrus*) έχουν φωλιάσει στο Citrus clade. Από τα δέκα προγονικά είδη τα τρία θεωρούνται αρχέγονα τα οποία είναι τα εξής: *Citrus maxima*, *Citrus reticulata* και *Citrus medica*. Οι μελετητές αναφέρουν ότι το κέντρο της προέλευσης των ειδών του περγαμόντου ήταν οι νοτιοανατολικοί πρόποδες των Ιμαλαΐων, σε μια περιοχή που περιλαμβάνει την ανατολική περιοχή του Assam, τη βόρεια Μιανμάρ και το δυτικό Yunnan (Wu, et al., 2014), (Curk, et al., 2016).

1.3.2 ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΕΣ ΜΕΘΟΔΟΙ

Το φυτό του περγαμόντου καλλιεργείται ως καλλωπιστικό φυτό και προσελκύει μέλισσες, πεταλούδες και κολίβρια. Σύμφωνα με γενετικές έρευνες σχετικές με την προγονική προέλευση των ποικιλιών των εσπεριδοειδών που έχουν σωθεί, το πορτοκάλι περγαμόντο είναι ένα υβρίδιο λεμονιού και πικρού πορτοκαλιού.

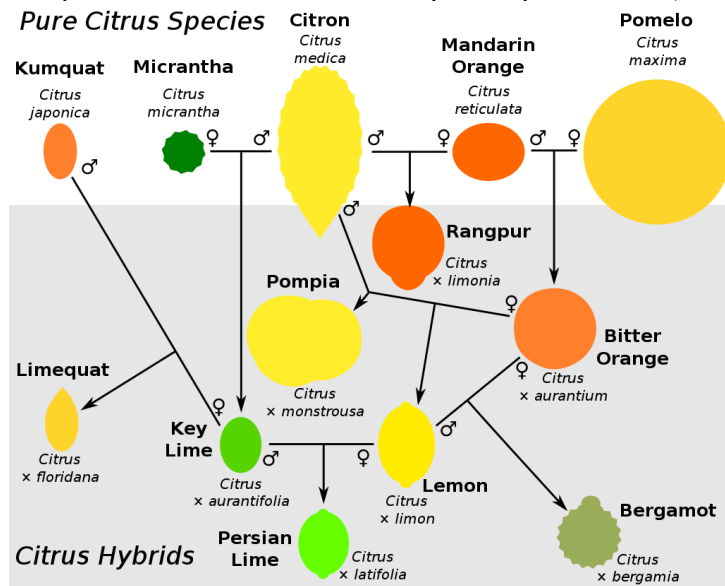
Όπως αναφέρει ο Navarra και λοιποί, 2015, το περγαμόντο καλλιεργείται σε παράκτιος περιοχές και κυρίως κατά μήκος των ακτών του Ιονίου Πελάγους. Αυτό το είδος εσπεριδοειδούς προτιμά τα αλμυρά εδάφη και γενικότερα τα μεσογειακά οικοσυστήματα τα οποία χαρακτηρίζονται από ημίξηρο κλίμα, με ξηρασία κατά τους καλοκαιρινούς μήνες, με υψηλές περιβαλλοντικές θερμοκρασίες και έλλειψη νερού. Οι υψηλότερες αποδόσεις παραγωγής του περγαμόντου εντοπίζονται στην Καλαβρία της Ιταλίας. Οι καιρικές συνθήκες επηρεάζουν την παραγωγικότητα της καλλιέργειας το περγαμόντου και επιφέρουν αλλαγές στη σύνθεση του ελαίου του καρπού του (Kleinwachter and Selmar, 2013).

Οι αλλαγές που παρουσιάζονται στην παραγωγικότητα της καλλιέργειας του φυτού, οφείλονται στην αναστολή της φωτοσύνθεσης και στη μείωση της αφομοίωσης του CO₂ (διοξείδιο του άνθρακα), από τα φυτά. Οι μελετητές αναφέρουν ότι τα έτη 1998 και 1999 όπου η εκστρατεία παραγωγής του περγαμόντου ήταν ιδιαίτερος άνυδρη, υπήρχε ισχυρή επίδραση στην ποιότητα του ελαίου από τον καρπό του φυτού. Οι θερμοκρασίες εκείνα τα δύο έτη κατά τους καλοκαιρινούς μήνες στη Μεσόγειο, πλησίασαν τους 46 °C, στις περιοχές της καλλιέργειας του περγαμόντου και τα φυτά υπεβλήθησαν σε ισχυρό φυτικό στρες.

Η εμπορική καλλιέργεια του φυτού το οποίο καλλιεργείται κυρίως για το φλοιέλαιο, δεν είναι διαδεδομένη παγκοσμίως διότι περιορίζεται κυρίως στην Ιταλία, στην επαρχία της Καλαβρίας. Η παραγωγή του περγαμόντου στη Νότιο Ιταλία φτάνει τις 7.500 στρέμματα.

. Ενώ το δέντρο αναπτύσσεται και αντέχει καλά στη Σικελία και σε τμήματα της Βόρειας Αφρικής και αλλού, σύμφωνα με πληροφορίες το λάδι είναι πολύ μεταβλητό, κατώτερης ποιότητας και επομένως ασύμφορο.

Σύμφωνα με τον Servillo και λοιποί, 2018, το περγαμόντο είναι ένα υβρίδιο μεταξύ κίτρου (*Citrus medica*) και πικρού πορτοκαλιού (*Citrus aurantium*), ενώ ο Curk και λοιποί,



2016 υποστηρίζουν ότι είναι ένα υβρίδιο λεμονιού (*C. limon*) και πικρού πορτοκαλιού (*C. aurantium* L.). Το φυτό αυτό ανθίζει τους μήνες Απρίλιο και Μάιο. Η συγκομιδή των καρπών που έχουν ωριμάσει γίνεται από τον Νοέμβριο έως τον Μάρτιο έτσι ώστε να μη υποστούν βλάβη οι μύες που περιέχουν το πολύτιμο αιθέριο έλαιο με το υπέροχο άρωμα

του φρούτου. Οι μελετητές παρατήρησαν ότι το φυτό αυτό περιέχει δευτερογενείς μεταβολίτες οι οποίοι προέρχονται από την

Εικόνα 10: Το οικογενειακό δέντρο των εσπεριδοειδών (στα αγγλικά). Τα αμιγή είδη εμφανίζονται στην πρώτη γραμμή (λευκό φόντο), ενώ τα υβριδικά είδη αμέσως πιο κάτω (γκρίζο φόντο).

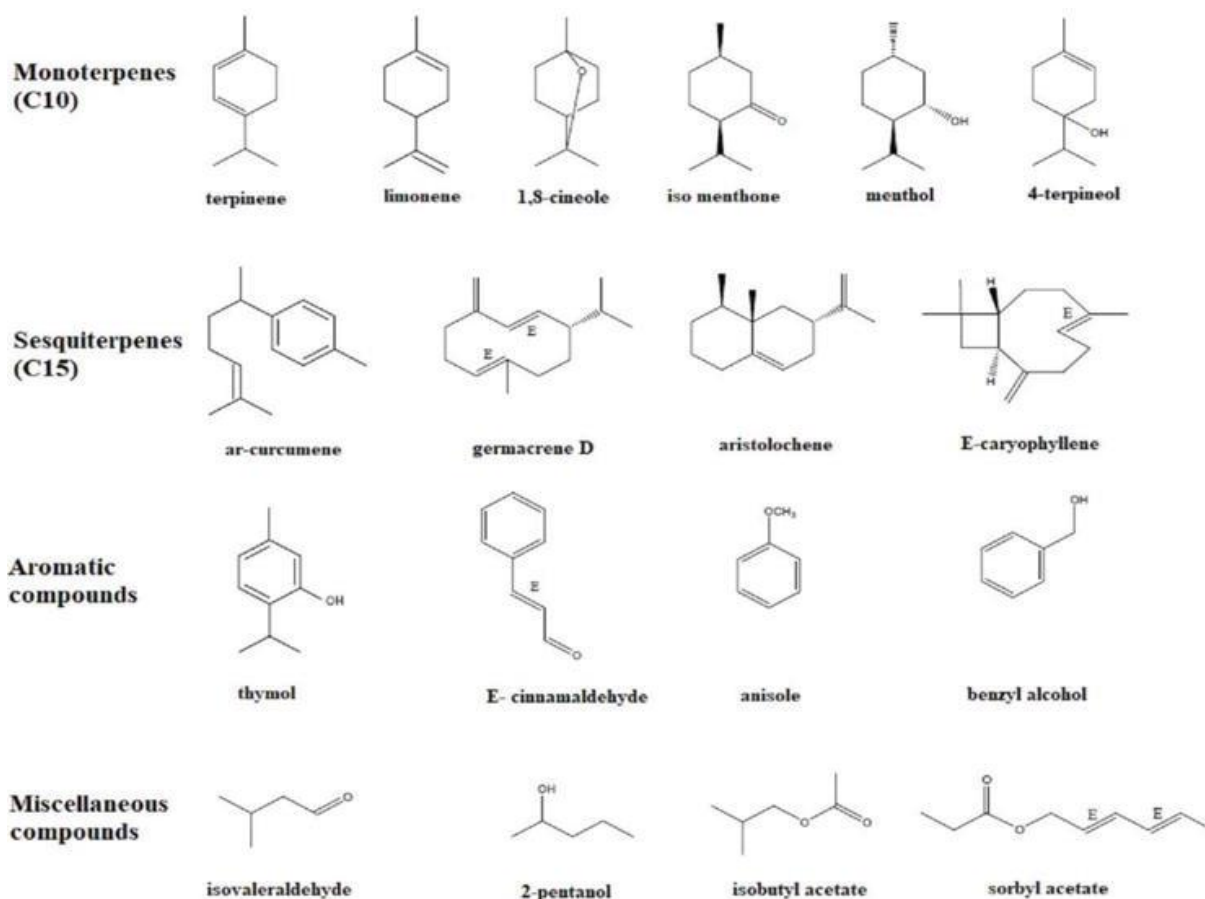
<https://el.wikipedia.org/wiki/%CE%95%CF%83%CF%80%CE%B5%CF%81%CE%B9%CE%B4%CE%BF%CE%B5%CE%B9%CE%B4%CE%AE>

τρυπταμίνη. Η τρυπταμίνη είναι μία ουσία με αποθητική δράση για τα φυτοφάγα έντομα. Οι εντομοκτόνες ιδιότητες και οι μηχανισμοί άμυνας κατά των φυτοπαθογόνων οργανισμών του περγαμόντου, είναι πολύ σημαντικές για την γεωργία.

2. ΤΑ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

Τα αιθέρια έλαια (Eos – Essential Oils) είναι φυσικής προέλευσης συμπυκνωμένο υδρόφοβο υγρά, τα οποία βρίσκονται σε άνθη φυτών, σε σπόρους, φύλλα, φρούτα, ρίζες, σε ξύλο και σε μπουμπούκια. Τα έλαια περιέχουν ένα μείγμα πτητικών ενώσεων το οποίο συντίθεται από τα φυτά ως επί το πλείστον, ως ένας μηχανισμός άμυνας. Ταξινομούνται σε δύο κατηγορίες: τερπένια και τερπενοειδή και αρωματικά και αλειφατικά συστατικά, τα οποία αποτελούν το 20-85% της σύνθεσης EO, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά υπάρχουν σε αρκετά χαμηλότερες συγκεντρώσεις. Τα κύρια χαρακτηριστικά των αιθέριων ελαίων είναι η πικάντικη γεύση, το έντονο άρωμα, αλλά και δυνατές εντομοκτόνες, αντιμικροβιακές, αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Η χρήση τους είναι διαδεδομένη σε πολλά διατροφικά, καλλυντικά και φαρμακευτικά προϊόντα, ωστόσο η χρήση τους θα πρέπει να γίνεται με μέτρο διότι οι υψηλές δόσεις μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά την ανθρώπινη υγεία, λόγω της περιεκτικότητάς τους σε τερπένια (Impellizzeri, et al., 2016), (Navarra, et al., 2015).

Σύμφωνα με το διεθνή οργανισμό τυποποίησης (ISO), (έγγραφο ISO 2020 ISO 9235: 2013-2.11), «ένα προϊόν που λαμβάνεται από φυσική πρώτη ύλη φυτικής προέλευσης με απόσταξη ατμού, με μηχανικές διεργασίες από το επικάρπιο εσπεριδοειδών, ή με ξηρή απόσταξη, μετά από διαχωρισμό της υδατικής φάσης —αν υπάρχει— με φυσικές διεργασίες» (Dugo, et al., 2010). Σε αυτές τις διεργασίες περιλαμβάνονται τρεις μέθοδοι για την παραγωγή EO, η μια από τις οποίες αναφέρεται αποκλειστικά στην παραγωγή ελαίων από εσπεριδοειδή, τα οποία διαχωρίζονται από τα υπόλοιπα EOs βάση της μεθόδου παραγωγής και της χημικής σύνθεσης. Τα EOs που έχουν αποσταχθεί, περιέχουν μόνο πτητικά μόρια, ενώ τα EOs που έχουν υποβληθεί σε ψυχρή έκθλιψη, μπορεί να περιέχουν αρκετά βαρύτερα μόρια και χημικές ενώσεις διαφορετικές σε σχέση με εκείνες των αποσταγμένων.



Εικόνα 11: Κύρια μόρια αιθέριων ελαίων (Noriega, 2020)

2.1. ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΓΡΚΕΙΠΦΡΟΥΤ

2.1.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Το γκρέιπφρουτ (*Citrus paradisi Macf.*), το οποίο φημίζεται για τη γεύση του και τη θρεπτική αξία του, είναι μία από τις μεγαλύτερες οικογένειες εσπεριδοειδών. Το αιθέριο έλαιο του γκρέιπφρουτ εξάγεται από τη φλούδα και χρησιμοποιείται ως πολύτιμο συστατικό λόγω του έντονου ιδιαίτερου αρώματος και της γεύσης του. Η κύρια πηγή του αρώματός του είναι η περιεκτικότητά του σε οξείδια τερπενίου που περιλαμβάνουν αλκοόλες, αιθέρους, αλδεϋδες, κετόνες και εστέρες. Το ΕΟ του γκρέιπφρουτ έχει πολλές και σημαντικές βιολογικές και φαρμακολογικές δραστηριότητες. Σύμφωνα με μελέτη του Okunowo και λοιποί, 2013, το ΕΟ του γκρέιπφρουτ αναστέλλει την ανάπτυξη βακτηρίων αλλοίωσης και παθογόνων στελεχών που μεταδίδονται από τα τρόφιμα. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι το έλαιο λαμβάνεται από τη φλούδα με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης διαπιστώνοντας ανασταλτικά αποτελέσματα έναντι βακτηρίων και μυκήτων και επίσης δυνατότητες για

περεταίρω ανάπτυξη για την αντιμετώπιση ορισμένων ασθενειών. Το έλαιο έχει υψηλά επίπεδα αντιοξειδωτικής δράσης πολύ σημαντική για την αντιμετώπιση ασθενειών και τη συντήρηση τροφίμων (Yangetal., 2010), (Nogueira, et al., 2013), (Okunowo, et al., 2013).

Το 2019 ο Ahmed και οι συνεργάτες του, αναφέρουν ότι το ΕΟ του γκρέιπφρουτ που εκχυλίστηκε με υδροαπόσταξη είχε αντιοξειδωτική δράση χρησιμοποιώντας προσδιορισμούς DPPH και FRAP. Οι ερευνητές διαπίστωσαν ότι το εκχύλισμα φλούδας γκρέιπφρουτ, λόγω των συστατικών που περιέχει, μειώνει κατά μεγάλο ποσοστό τη βιωσιμότητα των κυττάρων HL-60 με τρόπο που εξαρτάται από τη συγκέντρωση. Στην ίδια διαπίστωση είχε καταλήξει και ο Sun με τους συνεργάτες του σε ερευνά τους το 2002. (Ahmed, et al., 2019), (Sun, et al., 2002). Συγκεκριμένα το εκχύλισμα από τη φλούδα (εξωκάρπιο) του γκρέιπφρουτ, το οποίο είναι ένα μείγμα από αιθέριο έλαιο και άλλα μη πτητικά φυτοχημικά, είναι ικανά να αναστείλουν την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό καρκινικών κυττάρων όπως τα νευροβλαστώματα, οι λευχαιμίες και οι γραμμές καρκίνου του προστάτη και του πνεύμονα, όπως υποστηρίζουν οι Cristóbal-Luna και οι συνεργάτες του, σε μελέτη τους το 2018, για τις αντικαρκινικές ιδιότητες του ΕΟ του γκρέιπφρουτ.



Εικόνα 12: Εμπορικό σκεύασμα με αιθέριο έλαιο γκρέιπφρουτ για κοσμητική χρήση για την περιποίηση της επιδερμίδας και των μαλλιών)

Στις μελέτες για τις ιδιότητες του ΕΟ του γκρέιπφρουτ, ο μεγαλύτερος αριθμός των δειγμάτων που χρησιμοποιήθηκαν, παρασκευάστηκαν με μεθόδους ψυχρής έκθλιψης, απόσταξης με ατμό ή υδροαπόσταξης. Η ψυχρή έκθλιψη είναι η σημαντικότερη και η πιο συνήθης μέθοδος εξαγωγής των περισσότερων ΕOs από τη φλούδα του φρούτου. Στις εμπορικές βιομηχανίες και τα εργαστήρια, γκρέιπφρουτ υφίσταται επεξεργασία για τη λήψη χυμού και άλλων παραπροϊόντων. Η μέθοδος που χρησιμοποιείται για την απόσταξη και Παρασκευή του ελαίου από τη φλούδα του γκρέιπφρουτ είναι η μέθοδο ψυχρής έκθλιψης που βασίζεται στους χυμούς χυμών John Bean Food Tech (JBT) και την τεχνολογία του, η οποία χρησιμοποιείται από το 75% της παγκόσμιας παραγωγής χυμού εσπεριδοειδών (Berk, 2016). Ο χυμός του φρούτου και το ΕΟ εξάγονται ξεχωριστά και ταυτόχρονα. Το ΕΟ εκχυλίζεται με τη διαδικασία της μηχανικής ρήξης των σάκων λαδιού στο flavedo του φρούτου όπου εκφράζεται το λάδι ως υδατικό γαλάκτωμα από το οποίο διαχωρίζεται με τη μέθοδο της φυγοκέντρωσης. Η ανάκτηση του ελαίου είναι μία φυσική διαδικασία διαχωρισμό χωρίς την εφαρμογή θερμότητας καθ' όλη τη διαδικασία εξαγωγής και η θερμοκρασία είναι σε

χαμηλότερα επίπεδα απ' ότi στη διαδικασία απόσταξης. Με αυτό τον τρόπο το ΕΟ έχουν χαρακτηριστικά που είναι πιο κοντά σε εκείνα της ουσίας που υπάρχει στη μήτρα του γκρέιπφρουτ. Τα σημαντικότερα χαρακτηριστικά της μεθόδου της ψυχρής έκθλιψης, είναι το χαμηλό κόστος, η μεγάλη παραγωγή και η διατήρηση του έντονου αρώματος. Ωστόσο το έλαιο από τη φλούδα του γκρέιπφρουτ περιέχει υπολείμματα κεριού, φυτοφαρμάκων, κουμαρίνες, καροτενοειδή και άλλα μη πτητικά συστατικά. Κάποια από αυτά περιέχουν ιδιότητες οι οποίες θεωρούνται καλές βιοδραστηριότητες (Berk, 2016).

Ο César και λοιποί, 2009, σε έρευνά τους διαπίστωσαν ότi οι φουρανοκουμαρίνες που απομονώθηκαν από έλαιο φλούδας γκρέιπφρουτ εμφάνισαν ισχυρή *in vitro* ανασταλτική δράση έναντι του εντερικού κυτοχρώματος P450 3A4. Το κυτόχρωμα αυτό είναι ένα ένζυμο που συνδέεται με τις αλληλεπιδράσεις του ελαίου του γκρέιπφρουτ / φαρμάκου στον άνθρωπο.

2.1.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Το αιθέριο έλαιο του γκρέιπφρουτ είναι πολύ χρήσιμο στην κοσμετολογία και την φαρμακολογία. Η αρωματοθεραπεία με έλαιο γκρέιπφρουτ συμβάλλει στην καταστολή της υπερβολικής όρεξης για κατανάλωση φαγητού. Χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της παχυσαρκίας, διότι μειώνει την επιθυμία για κατανάλωση της ζάχαρης. Η αρωματοθεραπεία του χρησιμοποιείται για να προσφέρει χαλάρωση και ευεξία.

Στην κοσμετολογία το ΕΟ του γκρέιπφρουτ χρησιμοποιείται ως καλλυντικό για επιδερμική χρήση, για τη βελτίωση της όψης της επιδερμίδας και των μαλλιών. Στην φαρμακολογία χρησιμοποιείται ως συστατικό για την καταπολέμηση φλεγμονών και την αντιμετώπιση των πονοκεφάλων. Χρησιμοποιείται επίσης ως φυσικό αντί – στρεσογόνο και προτείνεται η χρήση του ως αντιοξειδωτικός και αντικαρκινικός παράγοντας.

2.1.3. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ

Ο Weihui και οι συνεργάτες του το 2020 σε έρευνά τους μελέτησαν τη χημική σύνθεση του αιθέριου ελαίου του γκρέιπφρουτ, η οποία αναλώθηκε με GC-MS. «Η σχετική περιεκτικότητα κάθε συστατικού υπολογίστηκε με τη μέθοδο κανονικοποίησης της περιοχής κορυφής. Τα συστατικά ταυτοποιήθηκαν σύμφωνα με τον δείκτη κατακράτησης και τη φασματική βιβλιοθήκη μάζας NIST. Molecules 2019, 24, x FOR PEER REVIEW 3 από 11 συστατικά υπολογίστηκε με τη μέθοδο κανονικοποίησης περιοχής κορυφής».

Πίνακας 1. Χημική σύνθεση αιθέριου ελαίου ελαφριάς φάσης γκρέιπφρουτ (LPEO) από GC-MS

NO	RI*	ΧΗΜΙΚΗ ΕΝΩΣΗ	ΣΥΝΘΕΣΗ
1	938	α -Pinene	0,76
2	956	Camphene	0,01
3	977	Sabinene	0,6
4	985	β -Pinene	0,05
5	992	β -Myrcene	2,16
6	1007	Octanal	0,36
7	1049	Limonene	93,33
8	1053	β -Ocimene	0,02
9	1103	Linalool	0,012
10	1108	Nonanal	0,05
11	1127	trans-p-Mentha-2,8-dien-1-ol	0,16
12	1137	cis-Limonene oxide	0,43
13	1141	trans-Limonene oxide	0,33
14	1155	Citronellal	0,04
15	1199	α -Terpineol	0,13
16	1208	Decanal	0,19
17	1251	Carvone	0,41
18	1377	α -Copaene	0,13
19	1388	β -Cubebene	0,14
20	1421	Caryophyllene	0,2
21	1457	Humulene	0,03
22	1482	Germacrene D	0,01
23	1519	δ -cadinene	0,04
24	1566	Caryophyllene oxide	0,04
ΣΥΝΟΛΟ			99,74
Monoterpene hydrocarbons		96,93	
Oxygenated monoterpenoids		1,62	

Sesquiterpene hydrocarbons	0,55
Oxygenated sesquiterpenes	0,04
others	0,6

*Οι δείκτες κατακράτησης RIa προσδιορίστηκαν στη στήλη HP-5, χρησιμοποιώντας την ομόλογη σειρά n-αλκανίων (C8–C20).

Όπως φαίνεται στον πίνακα 1, οι 24 χημικές ενώσεις αντιπροσωπεύουν το 99,74% του συνολικού ελαίου αναγνωριστήκαν. Το ποσοστό του λιμονέλιου είναι 93,33% κυρίαρχο συστατικό των μονοτερπενίων ακολουθούμενο από το β-μυρκένιο σε ποσοστό 2,16%, το α-πινένιο 0,76% και σαβινένιο 0,60%. Το μονοτερπενικό οξύ παρουσιάστηκε στο έλαιο σε ποσοστό 1,62%, με καρβόνη 0,41%. Το οξύ cis-λιμονενίου είναι 0,43% και το οξύ trans-λιμονενίου 0,33%. Το σεσκιτερπένιο σε ποσοστό 0,55% περιελάμβανε καρνοφυλλένιο 0,20%, το β-κυβεμπένιο 0,14% α-κοπαένιο, 0,13%. Το Οξύ του καρνοφυλλενίου 0,04% το οποίο ήταν το μοναδικό οξύ σεσκιτερπενίου που ανιχνεύθηκε. Όσον αφορά στις τρεις γραμμικές αλδεύδες: Οκτανάλη (0,36%), δεκαναλική (0,19%) και εννεαλική (0,05%) βρέθηκαν στο LPEO (Shaaban, et al., 2012), (Edris, et al., 2007).

2.2. ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΜΑΝΤΑΡΙΝΙΟΥ

2.2.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Η εξέλιξη στη χρήση των φυσικών προϊόντων συμβάλλει στην πορεία των εφαρμογών των φυσικών και βιολογικών επιστημών, ανοίγοντας νέους δρόμους στους διεπιστημονικούς τομείς (Cang, 2019).

Τα φυσικά προϊόντα έχουν πολλές σημαντικές χρήσεις στη βιοϊατρική την υγεία, τη διατροφή και άλλες επιστήμες, δίνοντας τη δυνατότητα για τη δημιουργία νέων ενώσεων και την ανάπτυξη νέων τεχνικών. Τα εσπεριδοειδή και ειδικά τα μανταρίνια, είναι γνωστά ως σημαντικό υλικό για την παραγωγή υψηλής αξίας προϊόντων στην ιατρική, την φαρμακολογία, την κοσμετολογία και τη διατροφή (Phat, et al., 2019).

Το δέντρο της μανταρινιάς (*Citrus reticulata Blanco*), εγγενές στην Ινδία και την Κίνα αποτελεί μία από τις σημαντικότερες πηγές αιθέριου ελαίου από την οικογένεια των

εσπεριδοειδών. Τα αιθέρια έλαια του μανταρινιού χρησιμοποιούνται σε πολλά διαφορετικά προϊόντα και έχουν πολλές και σημαντικές ιδιότητες. Το ΕΟ του μανταρινιού έχει πολύ σημαντικές αντιβακτηριδιακές, αντιοξειδωτικές και αντικαρκινικές ιδιότητες (Gao, et al., 2011).



Εικόνα 13: Αιθέριο έλαιο μανταρινιού σε γυάλινο σκεύος.

<https://draxe.com/essential-oils/mandarin-essential-oil/>

Το ΕΟ του μανταρινιού είναι πολύ διαδεδομένο στην κοσμετολογία, κυρίως για δερματικές παθήσεις. Λόγω της ιδιότητάς του να μειώνει την ακμή, τις ραγάδες και τα σημάδια στο δέρμα όπως οι ουλές, δεν ερεθίζει την επιδερμίδα και συμβάλει στην αντιφλεγμονώδη δράση για τον καθαρισμό της. έχει επίσης την ιδιότητα να συμβάλλει στην πρόληψη της μόλυνσης του ερεθισμένου δέρματος αποτρέποντας την ανάπτυξη βακτηρίων και μυκήτων. Σύμφωνα με έρευνες το αιθέριο έλαιο του μανταρινιού βοηθά στην εξάλειψη των ουλών στην επιδερμίδα (Nhi, 2020).

Οι ιδιότητες του ΕΟ του μανταρινιού επεκτείνονται και στην αντιμετώπιση του άγχους. Οι αντιστρεσογόνες ουσίες του βοηθούν στην αντιμετώπιση του άγχους και των κρίσεων πανικού μέσω της αρωματοθεραπείας. Βοηθά επίσης στην αντιμετώπιση της ναυτίας και την μετρίαση του πόνου. Τα συστατικά που περιέχει (πηγές μορίων) έχουν την ιδιότητα να αναπτύξουν νέα αναλγητικά και προσφέρουν οφέλη στη χρήση τους για την καταπολέμηση του πόνου, επιδρώντας στο νευρικό σύστημα. Τα τερπένια, χημικές ενώσεις που βρίσκονται στο έλαιο του μανταρινιού, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη δημιουργία αναλγητικών κατά του πόνου.

Οι αντιβακτηριδιακές ιδιότητες του ελαίου είναι γνωστές καθώς και η αντιμικροβιακή του δράση. Σε έρευνα του Severino και λοιποί το 2014, ανακάλυψαν ότι η δράση του ελαίου ήταν σημαντική κυρίως κατά της *Listeria innocua* (είναι ένα είδος θετικών κατά Gram βακτηρίων σε σχήμα ράβδου) που εντοπίζεται στα τρόφιμα. Το ΕΟ του μανταρινιού έχει την ιδιότητα να εξαλείφει το βακτήριο και να συμβάλλει στην υγιεινή εναλλακτική για τη συντήρηση των τροφίμων (Severino, et al., 2014).

Σύμφωνα με έρευνα του (Carlos, et al., 2012), υπάρχουν αντικαρκινικές ιδιότητες στο έλαιο του μανταρινιού. Οι ερευνητές μελέτησαν τις ιδιότητες αυτές σε δύο γραμμές ανάπτυξης ανθρώπινων καρκινικών κυττάρων. Το έλαιο περιέχει μία ουσία η οποία βοηθά

στην αναστολή της ανάπτυξης όγκου αυτών των κυτταρικών γραμμών.

2.2.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Το αιθέριο έλαιο του μανταρινιού χρησιμοποιείται σε πολλά προϊόντα, σε φαρμακευτικά, σε καλλυντικά, σε τρόφιμα και στην αρωματοποιία. Χρησιμοποιείται ως αρωματοθεραπεία για την αντιμετώπιση του άγχους και της ναυτίας (Nhi, 2020).

Μελέτη των Ashley και λοιποί το 2020, έδειξε ότι το έλαιο από τη φλούδα του μανταρινιού είναι ιδανικό για την αντιμετώπιση του άγχους και της ναυτίας, χρησιμοποιώντας το ως αρωματοθεραπεία. Οι ερευνητές μελέτησαν την αποτελεσματικότητα των θεραπευτικών παρεμβάσεων με αιθέρια έλαια στον πόνο, τη ναυτία και το άγχος όταν παρέχονται από νοσηλευτές σε ασθενείς σε οξεία νοσοκομειακά περιβάλλοντα σε ένα μεγάλο σύστημα υγείας. Δέκα νοσοκομεία Allina Health που βρίσκονται στη Μινεσότα και στο δυτικό Ουισκόνσιν έκαναν μια αρωματοθεραπείας στις εγκαταστάσεις τους. Τα αποτελέσματα της έρευνας έπειτα από την εφαρμογή της αρωματοθεραπείας με το έλαιο μανταρινιού, έδειξε αλλαγές στα επίπεδα του πόνου, του άγχους και της ναυτίας στους ασθενείς. Η αρωματοθεραπεία χορηγήθηκε ως μέρος της φροντίδας των ασθενών από τους νοσηλευτές, σε 10.262 ασθενείς, οι οποίοι εισήχθησαν σε νοσοκομεία κατά τη διάρκεια της μελέτης. Χρησιμοποιήθηκαν πολλά έλαια και το κάθε ένα από αυτά επέφερε διαφορετικά αποτελέσματα στη θεραπεία (Ashley, et al., 2020).

Το ΕΟ χρησιμοποιείται ως πόσιμο φάρμακο για την αντιμετώπιση των διαφόρων αναπνευστικών προβλημάτων. Υπάρχει το πόσιμο έλαιο μανταρινιού, το οποίο συνιστάται για άτομα με αναπνευστικά προβλήματα, στομαχικές διαταραχές, εξαντλητικό βήχα και μυϊκούς σπασμούς και κράμπες. Επίσης το πόσιμο έλαιο χρησιμοποιείται για την βελτίωση της λειτουργίας του εντέρου.



Εικόνα 14: 100% αγνό και φυσικό, ψυχρής έκθλιψης αιθέριο έλαιο κόκκινο μανταρίνι. Το μανταρίνι συλλέγεται άγρια στην Αργεντινή. Εξαιρετικά δημοφιλές για το βαθύ άρωμα εσπεριδοειδών. Vegan Friendly and Cruelty Free.

<https://lesol.co.uk/red-mandarin-essential-oil/> μελέτη χρησιμοποιώντας την παροχή

Στην εικόνα 14 παρουσιάζεται ένα εμπορικό βιολογικό σκεύασμα Ιταλικής προέλευσης, πιστοποιημένο από το διεθνή οργανισμό τροφίμων. Το σκεύασμα περιλαμβάνει αιθέριο έλαιο κόκκινου μανταρινιού μας είναι ψυχρής έκθλιψης από τη φρέσκια φλούδα του ώριμου φρούτου μανταρινιού που καλλιεργείται στην Ιταλία. Είναι το έλαιο από πλήρως ώριμο καρπό μανταρινιού, είναι γλυκό με απαλό άρωμα λουλουδιών από το πιο ξινό, λαμπερό, τραγανό αιθέριο έλαιο μανταρινιού. Ένας από τους σύνηθες τρόπους χρήσης αυτού του προϊόντος, είναι η διατήρηση ενός υγιούς πεπτικού συστήματος (Rochele, et al., 2020).



Εικόνα 15: 100% αγνό και φυσικό, ψυχρής έκθλιψης αιθέριο έλαιο από μανταρίνι.

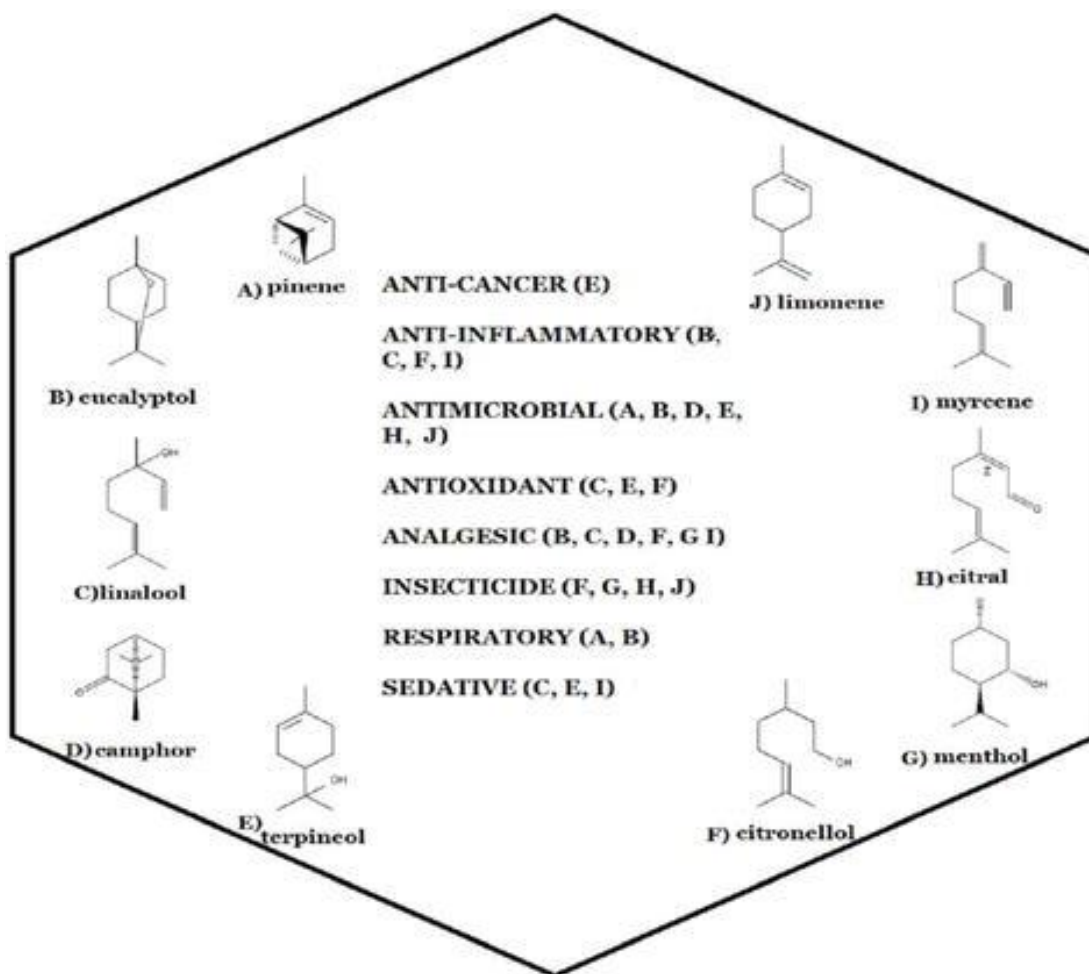
<https://shopee.com.my/Pure-%28Red%29-Mandarin-Essential-Oil-Import-from-Italy-Food-Therapeutic-Grade-i.157070782.4409486944>

2.2.3. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ

Πίνακας 2. Η χημική σύσταση του αιθέριου ελαίου μανταρινιού (Ziarati, 2021).

Components	Concentration(%)	Retention Time (min)
Butanal,3-Methyl	2.65	5.51
Oxiranemethanol	4.34	5.84
Propanoic Acid, 2-Methyl-,Methyle	4.99	6.33
Acetic acid	2.04	7.49
n-Methyl-D3-Aziridine	9.07	9.33
4-Hydroxy Cyclopent	1.92	10.11
4-Methyl-1-D1-Aziridine	2.18	11.88
Limonene	28.11	12.87
1,3,5-Triazine-2,4,6-Triamine	2.35	13.95
4-H-Pyran-4-one,2,3-Dihydro-3,5-Dih	2.65	15.66
4-Vinylphenol	2.51	17.24
4-Vinyl-2-Methoxy-Phenol	2.98	19.35
Benzene,1-Chloro-4-Methoxy	1.65	20.97
Cytidine	8.34	21.72
Dodecanoic acid	1.09	23.67
1,4-Diethynylcyclobutene	4.73	24.58
Xanthotoxin	18.40	27.23

Υπάρχει δυσκολία στον χαρακτηρισμό του αιθέριου ελαίου του μανταρινιού, λόγω της πολυπλοκότητας της ομάδας των εσπεριδοειδών στην οποία ανήκει το μανταρίνι, από βοτανική άποψη. Το πτητικό κλάσμα των αιθέριων ελαίων του μανταρινιού ψυχρής έκθλιψης, κυμαίνεται μεταξύ 96% και 98% του πλήρους ελαίου. Η σύνθεσή του αποτελείται από πολυάριθμα όπως τα τερπένια και τα οξυγονωμένα παράγωγα. ενώ οι περισσότερες χημικές ενώσεις στο έλαιο του μανταρινιού βρίσκονται στην ομάδα των τερπενίων, ωστόσο



Εικόνα 16: Μόρια μονοτερπενίου με θεραπευτική σημασία. (Noriega, 2020).

υπάρχουν και δευτερεύουσες, οι οποίες θα μπορούσαν να είναι είτε σесκιτερπένια είτε συστατικά με περιεκτικότητα οξυγόνου, όπως είναι οι αλκοόλες, οι αλδεΐδες και οι εστέρες (Song, et al., 2020).

Σε έρευνα των Dao και λοιποί, το 2020, ακολουθήθηκε μία διαδικασία υδροαπόσταξης για την απόσταξη του αιθέριου ελαίου του μανταρινιού (Εικ. 16). 100g φλούδας μανταρινιού αλέστηκαν σε μέγεθος 1-3 mm χρησιμοποιώντας ηλεκτρικό μπλέντερ Sunhouse (Μοντέλο SHD5322) και τοποθετήθηκαν στη φιάλη (1000 mL) σε αναλογία



Εικόνα 17: Η διαδικασία εξαγωγής αιθέριου ελαίου από τη φλούδα του μανταρινιού (Dao et al., 2020).

συστατικών/διαλύτη 1:4. Με τη χρήση μίας συσκευής Clevenger, προέκυψε ένα μείγμα αιθέριου ελαίου και νερού, το οποίο αποτέθηκε σε δύο στρώματα υγρού. Οι ερευνητές έλαβαν το καθαρό αιθέριο έλαιο με Na_2SO_4 και το αποθήκευσαν σε σκούρο μπουκάλι (Dao, et al., 2020). Η χημική σύνθεση του ελαίου, εξετάστηκε με τη μέθοδο ανάλυση GC-MS χρησιμοποιώντας όργανο GC Agilent 6890 N σε συνδυασμό με

στήλη HP5-MS και αδρανές MS 5973. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο του μανταρινιού περιέχει «Πινένιο (0,54%, 0,375%), β-πινένιο (0,414%, 0,284%), β-μυρκένιο (1,405%, 1,461%) και Λιμονένιο (97,64%, 97,88%) για HD και ME αντίστοιχα». Οι μελετητές εντόπισαν πέντε ενώσεις που εντοπίστηκαν στο έλαιο από τη φλούδα μανταρινιού, που εκχυλίστηκε με τη συνδυαστική μέθοδο, συμπεριλαμβανομένων των πινένιο (0,518%), β-πινένιο (0,317%), β-μυρκένιο (1,104%), λιμονένιο (97,94%) και σαμπινένιο (0,122%), το μυρσένιο (2,2%) και το απινένιο (1,1%).

2.3. ΑΙΘΕΡΙΟ ΕΛΑΙΟ ΠΕΡΓΑΜΟΝΤΟΥ

2.3.1 ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Στη φλούδα του περγαμόντου περιέχεται μία ποσότητα αιθέριου ελαίου (*Citrus aurantium* subsp. *bergamia*, syn. *Citrus bergamia* Risso et Poiteau). Το έλαιο συσσωρεύεται σε ελαιώδης αδένες που βρίσκονται στη φλούδα του καρπού (εξωκάρπιο) και τα κύρια χαρακτηριστικά του είναι το διαυγές κιτρινοπράσινο χρώμα του >93%, το οποίο αποτελείται από τερπενοειδή (πητικα ή μη πητικα). Το έλαιο του περγαμόντο έχει πολλές σημαντικές καλλυντικές, διατροφικές, φαρμακευτικές, κοσμετολογικές και αρωματικές ιδιότητες. Το

BEO (BergamotEssentialOil) είναι πολύτιμο και για τη βιομηχανία αρωμάτων και έχει υψηλό κόστος. Το έντονο και ιδιαίτερο άρωμά του είναι ένα κύριο χαρακτηριστικό που το κάνει ξεχωριστό και πολύτιμο. Έχει επίσης αξιοσημείωτες βιολογικές δραστηριότητες, λόγω των ιδιοτήτων του ως αναλγητικό, ηρεμιστικό, επουλωτικό, καταπραϋντικό, αντιβακτηριακό και αντιμυκητιακό και αντιφλεγμονώδες (Fathi, et al., 2019).

Σε μελέτη του Impellizzeri και λοιποί, 2016, αναφέρουν οι μελετητές ότι το αιθέριο έλαιο του περγαμόντου παρουσιάζει και αντικαρκινικές ιδιότητες. Είναι μη τοξικό και μη μεταλλαξιογόνο και Generally Recognized As Safe (GRAS), προϊόν, δηλαδή αναγνωρισμένο ασφαλές προϊόν από το διεθνή οργανισμό τροφίμων και προϊόντων. Ωστόσο λόγω της περιεκτικότητας της bergarten η οποία είναι μια φυσική οργανική χημική ένωση που παράγεται από πολλά είδη φυτών και οδηγεί σε χρόνια μελάγχρωση του δέρματος και καρκινογένεση με την παρουσία υπεριώδους φωτός, το BEO έχει φωτοτοξική δράση. Το BEO λόγω του ότι παρουσιάζει αντιδραστικότητα και υδροφοβικότητα, η χρήση του σε προϊόντα που έχουν ως βασικό συστατικό το νερό, απαιτεί ένα φορέα κατάλληλο για τη διασφάλιση της επαρκούς φυσικής σταθερότητας του ελαίου. Ο φορέας αυτός θα πρέπει να εξασφαλίζει και την προστασία του ελαίου από τον κίνδυνο εξάτμισης να επιτρέπει την ελεγχόμενη απελευθέρωση (Impellizzeri, et al., 2016).

Οι ερευνητές Yang και λοιποί, 2018, υποστηρίζουν ότι το BEO, και τα γαλακτώματα τους που χρησιμοποιούνται ως αρωματικοί παράγοντες σε τρόφιμα και ποτά, λόγω του αρώματος και της γεύσης του, παρουσιάζουν κάποια μη πεπτικότητα. Η αρνητική αυτή έκβαση διορθώνεται με την χρήση και ανάμειξή τους με τριακυλογλυκερόλη έλαια, όπως είναι το έλαιο τριγλυκεριδίων μέσης αλυσίδα ή το αραβοσιτέλαιο, σε Παρασκευή γαλακτώματος (Yang et al., 2018).



Εικόνα 18: Περγαμόντο ολόκληρο με έντονο πράσινο χρώμα και τεμαχισμένο σε κίτρινο χρώμα. Μπουκαλάκι με αιθέριο έλαιο περγαμόντου.

<https://apnidukanindia.com/products/bergamot->

Δυτικού Νείλου το έτος 1999 στο Δυτικό ημισφαίριο του πλανήτη και τη Νότιο Ρωσία. Τα

Σε μελέτη των Melliou και λοιποί, 2009, μελετήθηκε η σύνθεση και η ποιότητα του παραγόμενου BEO, σε χρονικό διάστημα δύο ετών καθώς και η προνυμφοκτόνος δράση του έναντι ενός ανθρωπόφιλου βιοτύπου κουνουπιού, όπως το *Culex pipiens* biotype *molestus*, το οποίο είναι ευρέως διαδεδομένο είδος στην Ελλάδα αλλά και σε πολλές άλλες χώρες και υπεύθυνο για τη μετάδοση της ασθένειας του ιού του

αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι τόσο το έλαιο που είχε ληφθεί από τα φύλλα του φυτού όσο και εκείνο που λαμβάνεται με ψυχρή έκθλιψη του φλοιού, παρουσίασαν παρόμοια προνυμφοκτόνο τοξικότητα, παρόλο που υπήρχε διαφοροποίηση στα συστατικά που προσδιορίστηκαν. Οι ιδιότητες αυτές του ελαίου οφείλονται στην περιεκτικότητά του σε λιναλοόλη, τερπινένιο, λιναλύλιο, γερανύλιο και οξικό νερυλεστέρα (Soldati, et al., 2018).

2.3.2. ΧΡΗΣΕΙΣ

Το αιθέριο έλαιο του περγαμόντου χρησιμοποιείται στις βιομηχανίες στην παραγωγή τροφίμων και ποτών, στη ζαχαροπλαστική ως αρωματικό λικέρ, στο ευρέως διαδεδομένο τσάι EralGrey και σε πολλά άλλα σκευάσματα διατροφής για την ενίσχυση της γεύσης και του αρώματος. Το ΒΕΟ είναι εμπορικά πολύ σημαντικό γιατί είναι η σημαντικότερη βάση για τη δημιουργία του νερού αρωμάτων γνωστών οίκων μόδας (eau de cologne) (Εικ. 19) . Το λάδι περγαμόντο που χρησιμοποιείται στην αρωματοποιία, αποστάζεται από τα φύλλα πρώιμης ανάπτυξης του φυτού. Ένα βασικό υποπροϊόν που προκύπτει από το χυμό υψηλής οξύτητας κατά τη διαδικασία εκχύλισης λαδιού είναι το κιτρικό άλας ασβέστη ή κιτρικό οξύ.



Εικόνα 19: Σκευάσματα αρώματος γνωστού ακριβού οίκου μόδας με αιθέριο έλαιο περγαμόντου, με άρωμα φρεσκάδας.

<https://www.gq-magazine.co.uk/gallery/best-mens->

Το ΒΕΟ όταν λαμβάνεται σαν εκχύλισμα από το στόμα, συμβάλλει στη ρύθμιση λιπιδίων στο αίμα (Υπερλιπιδαιμία) και μειώνει τα επίπεδα της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDL ή «κακή»). Το ΒΕΟ χρησιμοποιείται ως εισπνεόμενο σκεύασμα για αρωματοθεραπεία, για την αντιμετώπιση του άγχους, αλλά όχι για άτομα που υποβάλλονται σε ακτινοθεραπεία (Εικ. 20) Λόγω των χαλαρωτικών του επιδράσεων η εισπνοή του ελαίου βοηθά στην αντιμετώπιση κρίσεων πανικού.



Εικόνα 20: Σκευάσματα με αιθέριο έλαιο περγαμόντου

<https://apnidukanindia.com/products/bergamot-oil?variant=41469858676888>

Το ΒΕΟ χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση της πεπτικής δυσφορίας ηρεμώντας το έντερο και να καταπραΰνει τις στομαχικές διαταραχές. Με τη χρήση 2-3 σταγόνων ελαίου έχει παρατηρηθεί βελτίωση στη

λειτουργία του εντέρου και αντιμετώπιση των πόνων στο στομάχι. Μία άλλη σημαντική χρήση του ΒΕΟ είναι ως ενισχυτικό του ανοσοποιητικού συστήματος του ανθρώπου. Λόγω των αντισηπτικών και αντιμικροβιακών ιδιοτήτων του το ΒΕΟ χρησιμοποιείται για την



Εικόνα 21: Σκευάσματα με αιθέριο έλαιο περγαμόντου

<https://apnidukanindia.com/products/bergamot-oil?variant=41469858676888>

αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση των προνυμφών των κουνουπιών (Meliou, et al., 2009). Στο εμπόριο υπάρχουν πολλά σκευάσματα για την απώθηση των κουνουπιών τα οποία περιέχουν λάδι περγαμόντου (Εικ. 22). Επίσης το λάδι καθεαυτό μπορεί να χρησιμοποιηθεί με δερματική επάλειψη για

την ανακούφιση από τσίμπημα κουνουπιού.

καθαριότητα της επιδερμίδας σε καλλυντικά και φαρμακευτικά σκευάσματα (Εικ. 21). Οι περισσότερες εταιρείες στην φαρμακευτική και κοσμετική βιομηχανία χρησιμοποιούν το ΒΕΟ στην παραγωγή πολλών προϊόντων τους, ακολουθώντας συνταγές των παλαιότερων αλλά και ανακαλύπτοντας νέες χρήσεις του ελαίου ανάλογα με τις ανώτερες ιδιότητες που προσφέρει.

Το έλαιο του περγαμόντου είναι εξαιρετικό για την απώθηση κάποιων εντόμων και κυρίως των κουνουπιών, προσφέροντας ταυτόχρονα και το υπέροχο έντονο και ιδιαίτερο άρωμά του. Μελέτες έχουν δείξει ότι είναι



Εικόνα 22: Σκευάσματα με αιθέριο έλαιο περγαμόντου για δερματική επάλειψη, για την απώθηση των κουνουπιών.

2.3.3. ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ

Το αιθέριο έλαιο του περγαμόντου περιέχει έως και 93% πτητικές ενώσεις, κυρίως μονοτερπένια σε ποσοστό 25-53% (λιμονένιο), οξικό λιναλύνιο 15-40% και λεναλοόλη από 2-20%. Στο έλαιο του περγαμόντου παρουσιάζεται ένα μεταβλητό ποσοστό 4-7% μη πτητικών ενώσεων. Τέτοιου είδους ενώσεις είναι τα κεριά, χρωστικές ουσίες, κουμαρίνες και ψωραλένια.

Πίνακας 3. Σύνθεση αποσταγμένου αιθέριου ελαίου από φύλλα περγαμόντου (Melliou, et al., 2009).

Χημική ένωση	Ποσοστό %
β-Pinene	0.05
Myrcene	1.83
Limonene	0.65
cis-Ocimene	1.13
trans-β-Ocimene	2.44
γ-Terpinene	0.88
Terpinolene	0.68
Linalool	34.62
Terpinen-4-ol	0.07
α-Terpineol	6.95
Decanal	0.1
Nerol	1.85
Neral	0.15
Linalyl acetate	29.8
Geranial	0.73
Linalyl propionate	0.38
Neryl acetate	4.85
Geranyl acetate	9.44
	0.48

trans-Caryophyllene	0.05
α -Humulene	0.06
Caryophyllene oxide	0.09
Nonadecane	99.31
Total	

Στον πίνακα 1 παρουσιάζεται η χημική σύνθεση από το έλαιο του περγαμόντου το οποίο προέρχεται από υο φύλλωμά του, από την ποικιλία της Κεφαλονιάς. Σύμφωνα με τους μελετητές, το αιθέριο έλαιο των φύλλων, θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως εναλλακτική φθηνή πηγή λαδιού που μοιάζει με περγαμόντο. Χαρακτηρίζεται από υψηλή περιεκτικότητα σε λιναλοόλη (34,6%) και οξικό λιναλύλιο (29,8%) και χαμηλή συγκέντρωση λιμονενίου (0,65%). Επιπλέον, ο οξικός νερουλεστέρας (4,9%) και ο οξικός γερανυλεστέρας (9,4%) είναι αξιοσημείωτα αυξημένα (Πίνακας 1). Παρακάτω στον πίνακα 2 παρουσιάζεται η σύνθεση του ελαίου ψυχρής έκθλιψης του καρπού του περγαμόντου το οποίο συγκομίστηκε κατά το μην Ιανουάριο. Το ελάχιστο και μέγιστο ποσοστό κάθε συστατικού έχει καταγραφεί σε περίοδο δύο ετών. Για σύγκριση, παρουσιάζεται επίσης η σύνθεση του δείγματος της 15ης Ιανουαρίου με ατμοσφαιρική υδροαπόσταξη καθώς και τα ελάχιστα και μέγιστα ποσοστά των κύριων συστατικών του λαδιού από περγαμόντο Καλαβρίας ψυχρής έκθλιψης.

Πίνακας 4. Σύνθεση λαδιού ψυχρής έκθλιψης καρπού περγαμόντου που συγκομίστηκε στις 15 Ιανουαρίου δείχνει τις καλύτερες ποιοτικές τιμές. Το ελάχιστο και μέγιστο ποσοστό κάθε συστατικού έχει καταγραφεί σε περίοδο δύο ετών. Για σύγκριση, παρουσιάζεται επίσης η σύνθεση του δείγματος της 15ης Ιανουαρίου με ατμοσφαιρική υδροαπόσταξη καθώς και τα ελάχιστα και μέγιστα ποσοστά των κύριων συστατικών ψυχρής έκθλιψης λαδιού περγαμόντο Καλαβρίας (Melliou, et al., 2009).

Χημική Ένωση	Ψυχρή έκθλιψη		Αποσταγμένο	Έλαιο Περγαμόντου Καλαβρίας
	15 ^η Ιανουαρίου Ελάχιστο – Μέγιστο		%	Ελάχιστο – Μέγιστο%
α -Thujene	0.23	0.15 - 0.29	0.29	0.19-0.49
α -Pinene	0.13a	0.00 - 0.79	0.88	0.73-1.84
β -Pinene	0.23b	0.08 - 0.69	0.78	5.15-12.08
Myrcene	0.58	0.26- 0.77	1.33	0.65-1.57
α -Phellandrene	0.01	0.01 - 0.01	0.05	0.02-0.06
α -Terpinene	0.16	0.00 - 0.23	0.30	0.08-0.28
Limonene	25.58c	10.54 - 34.88		25.62-53.19

cis-Ocimene	0.20	0.07 - 0.27	31.66	0.02-0.07
trans-β-Ocimene	0.24	0.12 -	0.50	0.10-0.36
γ-Terpinene		0.24	0.79	5.73-11.38
cis-Sabinene hydrate	10.04	4.28 -	10.32	0.02-0.06
Terpinolene		10.26	-	0.21-0.48
Linalool	0.10	0.05 -	0.75	1.75-20.26
Terpinen-4-ol	0.60	0.28 -	31.76g	0.01-0.04
α-Terpineol		0.57	0.19	0.03-0.10
Nerol	15.33d	14.50 -	3.85	0.01-0.11
Neral		20.18	0.46	0.12-0.34
Linalyl acetate	0.09	0.01 - 0.09	0.15	15.61-40.37
Geranial	0.26e	0.01 -	10.72	0.25-0.49
Linalyl propionate		0.33	0.11	0.01-0.07
α-Terpinenyl acetate	0.26e	0.01 - 0.01	0.05	0.09-0.26
Neryl acetate	0.35	0.00 -	0.00	0.14-0.67
Geranyl acetate		0.46	0.70	0.17-0.80
trans-Caryophyllene	40.51f	30.33 -	1.33	0.22-0.52
α-Bergamotene		40.51	0.20	0.21-0.44
Humulene	0.48	0.01 - 0.83	0.20	0.02-0.04
Valencene	0.16	0.01 - 0.17	0.00	-
α-Bisabolene	0.35	0.01 - 0.35	0.08	-
β-Bisabolene	0.00	0.01- 0.21	0.00	0.30-0.65
α-Bisabolol	0.00	0.11 - 0.59	0.26	0.01-0.03
Linalool+linalyl acetate	0.63	0.21- 0.87	0.00	
Linalool/linalylacetate	0.00	0.00 - 0.04	42.48	
	0.2	0.00 - 0.63		
	0.08	0.00 - 0.12		
	0.77	0.00 - 1.50	2.96	
	0.00	0.00 - 0.10		
	55.84	44.5 - 55.8		
	0.38	0.38 - 0.59		

a (-)-α-Pinene: (+)-α-Pinene= 54:46, b (-)-β-Pinene: (+)-β-Pinene= 92:8, c (-)-Limonene: (+)- Limonene= 2:98, d (-)-Linalool: (+)-Linalool= 99.7:0.3, e (+)-α-Terpineol: (-)-α-Terpineol= 50:50, f (-)-Linalyl acetate: (+)-Linalyl acetate= 99.9:0.1, g (-)-Linalool: (+)-Linalool= 90:10, h only common components or components with percentage >0.1% are presented

Η αναλογία λιναλοόλης/οξικού λιναλυλεστέρα δείχνει το επίπεδο της ποιότητας του

ελαίου του περγαμόντου. Σύμφωνα με την έρευνα των Melliou και συνεργατών το 2009, το έλαιο με την υψηλότερη ποιότητα είχαν τα περγαμόντα Καλαβρίας τα οποία συλλέχθηκαν στα μέσα Ιανουαρίου με αναλογία λιναλοόλης/οξικού λιναλυλεστέρα 0,3 περίπου. Τα έλαια από τα φύλλα του φυτού παρουσίασαν υψηλή περιεκτικότητα σε λιναλοόλη (34,6%) και οξικό λιναλύλιο (29,8%) και χαμηλή συγκέντρωση λιμονενίου (0,65%) καθώς επίσης αυξημένα επίπεδα οξικού νερυλεστέρα (4,9%) και ο οξικού γερανυλεστέρα (9,4%). Σχετικά με το φρουτέλαιο το οποίο λαμβάνεται με τη διαδικασία της υδροαπόσταξης, η ποιότητά του δεν είναι τόσο υψηλή λόγω της αποσύνθεσης του οξικού λιναλυλεστέρα και του ισομερισμού της λιναλοόλης.

Ο Bouzouita και οι συνεργάτες του πραγματοποίησαν έρευνα όπου μελέτησαν το αιθέριο έλαιο της φλούδας του περγαμόντου (*Citrus bergamia* Risso) που καλλιεργείται στην Τυνησία, το οποίο διαχωρίστηκε με υδροαπόσταξη και ελήφθη σε απόδοση 9,7%. Η διερεύνηση της σύνθεσης του ελαίου έγινε με τη χρήση GC και GC-MS με δύο στήλες HP-1 και HP-Innowax. Ταυτοποιήθηκαν δεκαπέντε ενώσεις που αντιπροσωπεύουν το 98,52% του ελαίου. Κύριο χαρακτηριστικό του λαδιού ήταν η υψηλή περιεκτικότητα σε λιμονένιο (59,21%), λιναλοόλη (9,51%) και οξικό λιναλύλιο (16,83%). Από την έρευνα προέκυψε ότι το έλαιο φλούδας περγαμόντου που μελετήθηκε περιείχε 66,37% μονοτερπενικών υδρογονανθράκων και ως κύριο συστατικό το λιμονένιο (59,21%). Επίσης το έλαιο περιείχε 31% οξυγονωμένα μονοτερπένια, με κύρια συστατικά τον οξικό λιναλύλιο (16,83%) και τη λιναλοόλη (9,51%), 1,15% σεσκιτερπένια, -δισαβολένιο (0,47%) και το Trans α -Bergamoten 0,32%.

3. TO ENTOMO *CULEX RIPIENS* BIOTYPE *MOLESTUS*

3.1. ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ – ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Το σύμπλεγμα εντόμων *Culex ripiens* περιλαμβάνει διάφορα είδη. Τα πιο συνηθισμένα είναι τα *Cx. Ripiens ripiens* Linnaeus, 1758 και *Cx. Ripiens quinquefasciatus* Say, 1823, τα οποία υπάρχουν παντού, σε εύκρατες περιοχές και σε τροπικές. Το είδος *Cx. Ripiens ripiens*, έχει δύο βιοτύπους ή αλλιώς διακριτές μορφές. Οι βιότυποι αυτοί είναι το *ripiens* και το *molestus* που δεν διακρίνονται μορφολογικά και διαφέρουν ως προς τη φυσιολογία και τη συμπεριφορά. Ο τύπος *Cx. Ripiens ripiens* υπόκειται σε ετεροδυναμική διάπαυση, γεννά αυγά μόνο έπειτα από ένα γεύμα αίματος (αυτογενές) και επίσης είναι ευρυγαμικό, δεν ζευγαρώνει σε περιορισμένους χώρους. Από την άλλη πλευρά το είδος *Cx. Ripiens molestus*, είναι ομοδυναμικό, δεν διαπαύεται, είναι αυτογενές και γεννά την πρώτη παρτίδα αυγών χωρίς να έχει προηγηθεί γεύμα αίματος και είναι στενογαμικό, ζευγαρώνει σε περιορισμένους χώρους (Reusken, et al., 2010).

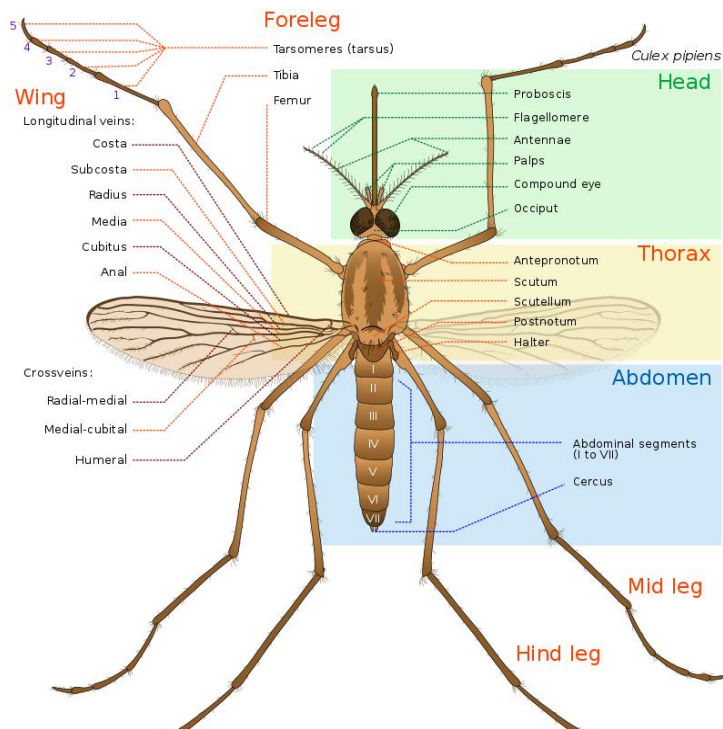
Και οι δύο βιότυποι *molestus* και *ripiens*, εντοπίζονται και καταλαμβάνουν οικοτόπους στις περιοχές των βορειοανατολικών ΗΠΑ και της Ρωσίας. Ο βιότυπος *molestus* εντοπίζεται κυρίως σε υπόγειες περιοχές και σε αστικά περιβάλλοντα. Στην Ευρώπη εμφανίζεται σε υπέργειους και σε υπόγειους οικοτόπους και η υβριδοποίησή τους γίνεται στην Ευρώπη και τις ΗΠΑ. Το έντομο του βιότυπου *molestus* (Εικ. 23)



τρέφεται κυρίως με θηλαστικά (με το τσίμπημα) ενώ τα υβρίδιά τους φαίνεται να έχουν ευκαιριακές συμπεριφορές και τρέφονται με πτηνά και θηλαστικά (δαγκώνουν). Λόγω αυτής της διατροφικής συμπεριφοράς μεταδίδονται οι ασθένειες από τα πτηνά στον άνθρωπο (Medlock, et al., 2012).

Εικόνα 23: Έντομο *Culex ripiens molestus*.

https://de.wikipedia.org/wiki/Culex_ripiens_molestus

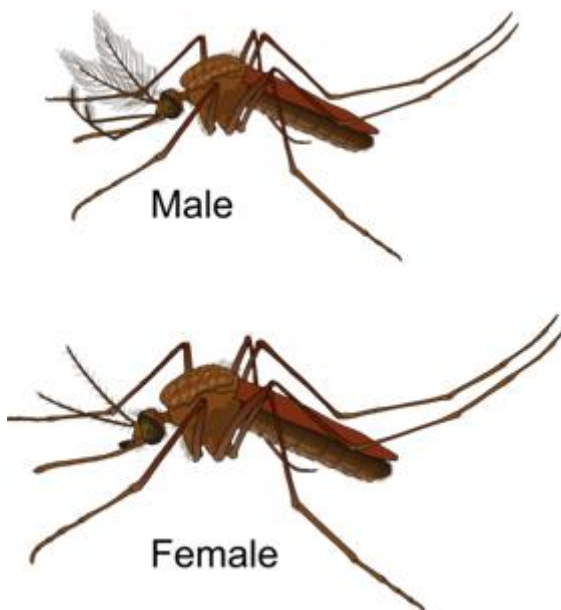


Εικόνα 24: Έντομο *Culex pipiens molestus*, ανατομία.

https://en.wikipedia.org/wiki/Culex_pipiens

δακτυλίων, τμήματα στη ράχη που φέρουν βασικές κιτρινωπές ζώνες και κοιλιά με στρογγυλεμένη άκρη. Συγκεκριμένα το σώμα των ενήλικων κουνουπιών είναι σχετικά λεπτό σε σχέση με άλλα έντομα και επίμηκες και αποτελείται από τρία μέρη, την κεφαλή, το θώρακα και την κοιλιά (Εικ. 24). Στο τμήμα της κεφαλής υπάρχουν δύο οφθαλμοί σύνθετοι και ένα ζευγάρι κεραιών οι οποίες χαρακτηρίζουν το φύλλο του εντόμου, διότι στα αρσενικά έχουν θυσανωειδή μορφή ενώ στα θηλυκά νηματοειδή. Στα θηλυκά ενήλικα έντομα τα στοματικά μέρια είναι προσαρμοσμένα να προσλαμβάνουν αίμα από τα περιφερειακά αγγεία και για νύξη του επιδερμικού ιστού των ξενιστών, ενώ τα στοματικά μέρια στα αρσενικά έντομα έχουν ως μοναδικό σκοπό να λαμβάνουν ζαχαρώδεις ουσίες. Το έντομο έχει τρία ζεύγη ποδιών τα οποία είναι λεπτά και μακριά και ένα ζευγάρι πτερυγίων, τα οποία εκφύονται από το θώρακα. Τα πτερύγια είναι καλυμμένα με λέπια. Η κατάληξη της περιφέρειας των πτερυγίων αποτελείται από κρόσσια και σχηματίζουν ένα μοτίβο το οποίο είναι και κύριο χαρακτηριστικό τους. το τμήμα της κοιλιάς τους είναι μακρύ και λεπτό και αποτελείται από 7 τελομερή (Εικ. 25) (Becker, et al., 2010).

Το έντομο αυτό είναι ένα κουνούπι με μεσαίο μέγεθος που κυμαίνεται μεταξύ 4-10 mm. Το χρώμα του είναι απόχρωση του καφέ στο σύνολο, χωρίς να έχει κάποιο εμφανές σχέδιο. Με βάση το καφετί του χρώμα, μπορεί να διακριθεί από άλλα κουνούπια στην περιοχή της Ευρώπης, πέραν του είδους της υποομάδας *Pipiens*. Άλλα χαρακτηριστικά του που το κάνουν διακριτό σε σχέση με άλλα κουνούπια, είναι η προβοσίδα του, σκούρα ραχιαία λέπια, πόδια δίχως γλωμό και σκουρόχρωμα σχέδια

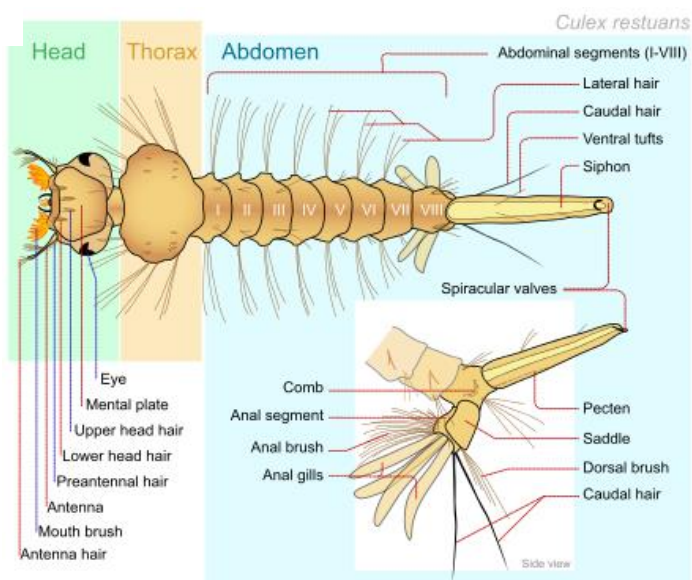


Εικόνα 25: Η κεφαλή *Culex pipiens* όπως φαίνεται στο αρσενικό και στο θηλυκό έντομο.

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Mosquito_gender_en.svg

χρησιμοποιεί το αναπνευστικό σιφώνιο το οποίο βρίσκεται στο 8^ο τμήμα της κοιλιάς της, και το χρησιμοποιεί όταν ανεβαίνει στην επιφάνεια του νερού, για να μπορεί να αναπνέει (**Εικ. 26**). Οι προνύμφες μετατρέπονται σε νύμφες όταν ολοκληρωθεί η ανάπτυξή τους, οι οποίες είναι κι αυτές υδρόβιες όπως οι προνύμφες και ο κορμός τους αποτελείται από ένα κεφαλοθώρακα ο οποίος περιλαμβάνει δύο αναπνευστικά εξαρτήματα και μία κυρτή κοιλιά (Dumas, et al., 2016).

Οι υδρόβιες προνύμφες έχουν ιδιαίτερη ανατομία, σε σχέση με άλλα είδη προνυμφών κουνουπιών. Το σώμα τους είναι σκωληκόμορφο και αποτελείται από τρία μέρη, την κεφαλή, το θώρακα και την κοιλιά. Στο τμήμα της κεφαλής του εντόμου υπάρχουν οι στοματικές ψύκτρες τις οποίες χρησιμοποιούν για να τρέφονται με οργανική ύλη, πρωτόζοα και άλγη, μεταφέροντας το νερό στην κοιλιά. Ο θώρακάς τους που είναι σφαιροειδής, είναι πιο πλατύς από την κεφαλή και δεν υπάρχουν πόδια. Τα μέρη από τα οποία αποτελείται η κοιλιά τους είναι δέκα. Η προνύμφη ως αναπνευστικό σύστημα



Εικόνα 26: Η προνύμφη από το έντομο *Culex pipiens molestus* ανατομία.

<https://www.wikiwand.com/en/Culex>

3.2. ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ

Τα θηλυκά έντομα του γένους *piriens* γεννούν τα αυγά τους σε υγρές επιφάνειες (νερό) (Εικ. 27), σε σχεδίες που περιέχουν 200 περίπου αυγά. Τα αυγά του εντόμου δεν είναι αδρανή και μόλις ολοκληρωθεί η εμβρυϊκή ανάπτυξη οι προνύμφες εκκολάπτονται γρήγορα. Η θερμοκρασία είναι ο σημαντικότερος παράγοντας που καθορίζει τη διάρκεια της ανάπτυξης. τα αυγά εκκολάπτονται μια ημέρα μετά, στους 30°C, τρεις μέρες μετά στους 20°C, δέκα ημέρες μετά στους 10°C και κάτω από τους 7°C η εμβρυϊκή ανάπτυξη δεν



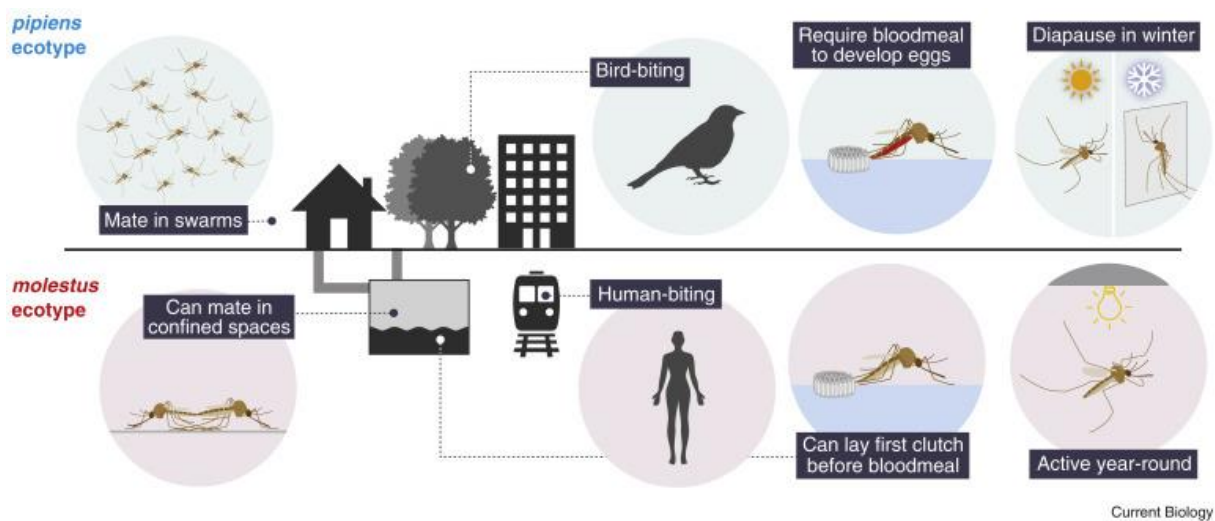
Εικόνα 27: Σχεδία αυγών επάνω σε νερό του είδους *Culex pipiens molestus*.

<http://www.photomacrography.net/forum/viewtopic.php?p=131425>

ολοκληρώνεται (Rizzoli, et al., 2015). Μετά από αυτό το στάδιο ακλουθεί η εξέλιξη των προνυμφών σε ενήλικα έντομα σε χρονικό διάστημα λίγων εβδομάδων, ανάλογα με τα επίπεδα της θερμοκρασίας (6-7 ημέρες στους 30 °C, 21-24 ημέρες στους 15 °C) και ο τόπος κατοικίας τους είναι οποιοδήποτε είδος πηγής νερού. Κουνούπια του είδους αυτού, έχουν βρεθεί σε προσωρινές ή (ημι-)μόνιμες πηγές νερού, σε ορυζώνες, σε λίμνες με βλάστηση, σε περιοχές όπου παρουσιάζονται συχνά πλημμυρικά φαινόμενα, κατά μήκος των άκρων ποταμών σε ακίνητες ζώνες, σε λακκούβες, αυλάκια και οποιαδήποτε υπάρχει κάποια πηγή νερού. Οι προνύμφες εμφανίζονται επίσης και σε τεχνητές υδάτινες μάζες, σε αποχετεύσεις και εργοτάξια, αναπαράγονται σε καθαρά νερά ή και σε νερά μολυσμένα από κάποια οργανική ύλη και ανέχονται μικρές ποσότητες αλατότητας. Ετησίως μπορούν να συμπληρωθούν πολλές γενιές του είδους, ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες που επικρατούν. Οι προνύμφες δηλώνουν την παρουσία τους από τα μέσα της άνοιξης μέχρι τον ερχομό των πρώτων ψυχρών θερμοκρασιών ενώ το καλοκαίρι και το φθινόπωρο το είδος υπάρχει σε αφθονία (Günay, et al., 2017).

Τα θηλυκά που ζευγαρώνουν περνούν το χειμώνα τους σε καταφύγια χωρίς παγετό και δαγκώνουν θερμόαιμα σπονδυλωτά κατά τις νυχτερινές ώρες και έπειτα ξεκουράζονται για την πέψη του αίματος. Τα θηλυκά που διαπαύονται (ξεχειμωνιάζουν) επανενεργοποιούνται την άνοιξη. Αυτό συμβαίνει διότι την χρονική εκείνη περίοδο αυξάνεται η θερμοκρασία και η φωτοπερίοδος (Rudolf, et al., 2013).

Τα ενήλικα έντομα δεν απομακρύνονται από τον τόπο αναπαραγωγής τους σε μεγαλύτερη απόσταση από 500 μέτρα.

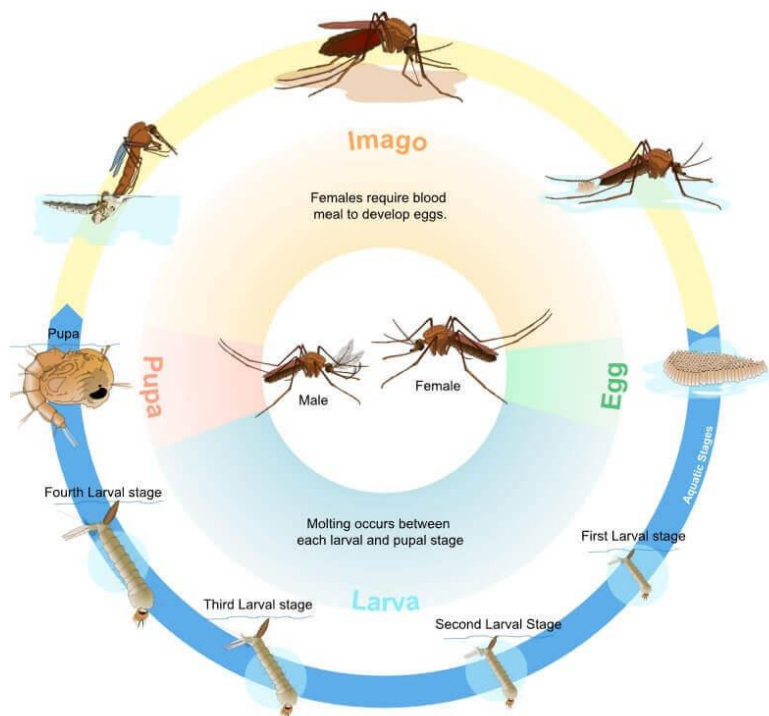


Εικόνα 28: Το *Cx. Piriensmolestus* περιλαμβάνει δύο οικότυπους σε ψυχρότερα, βόρεια γεωγραφικά πλάτη. Ο οικότυπος *ripiens* ζει πάνω από το έδαφος, ενώ ο *molestus* περιορίζεται σε ανθρωπογενείς υπόγειους οικοτόπους. Τα σχηματικά συνοψίζουν αρκετές εντυπωσιακές συμπεριφορικές και φυσιολογικές διαφορές (Haba, et al., 2022).

Η βιολογία του *Cx. Piriens molestus* περιλαμβάνει ολική μεταβλητότητα, γι' αυτό και χαρακτηρίζεται ολομετάβολο έντομο, διότι υφίσταται πλήρη μεταφόρτωση. Τα στάδια του βιολογικού του κύκλου είναι τέσσερα: το αυγό, η προνύμφη, η νύμφη (τα υδρόβια στάδια) και το ενήλικο έντομο. Το στάδιο της προνύμφης περιλαμβάνει τέσσερις διαφορετικές ηλικίες (Εικ. 29). Οι ενεργειακές ανάγκες των δύο φύλλων του εντόμου, καλύπτονται με την λήψη σακχάρων τα οποία λαμβάνουν από το νέκταρ των φυτών και τους χυμούς των καρπών, ουσίες που αποτελούν την μοναδική τροφή για τα αρσενικά. Τα θηλυκά από την άλλη πλευρά, τρέφονται και με αίμα, απαραίτητο για την ολοκλήρωση της διαδικασίας της ωογένεσης. Ο άνεμος μεταφέρει τις οσμές του σώματος των εν δυνάμει ξενιστών καθώς και

του διοξειδίου του άνθρακα και με αυτό τον τρόπο γίνεται η ενεργοποίηση των αισθητήριων οργάνων των θηλυκών εντόμων, μέσω των κεραιών τους. το σωματικό βάρος των θηλυκών αυξάνεται αμέσως μετά τη λήψη αίματος κατά δύο έως τέσσερις φορές . Σύμφωνα με εργαστηριακές έρευνες οι προνύμφες του εντόμου *Cx. Piriens molestus*, παρουσιάζουν μικρότερη ικανότητα επιβίωσης σε σχέση με κουνούπια άλλου είδους, όπως του κουνουπιού τίγρη, το οποίο παρουσιάζει μεγαλύτερη ικανότητα επιβίωσης, γεγονός στο οποίο οφείλεται η μείωση του πληθυσμού του είδους τους, κυρίως σε ενδιαιτήματα όπου υπάρχει και ευημερεί το κουνούπι *Ae. Albopictus* (το κοινό Ασιατικό κουνούπι τίγρης).

Οι προνύμφες του *Cx. piriens* συχνά αναπτύσσονται σε κοινά ενδιαιτήματα με εκείνες των ανωφελών κουνουπιών και του κουνουπιού τίγρη. Εργαστηριακά πειράματα έδειξαν ότι σε συνθήκες τροφικού ανταγωνισμού, οι προνύμφες του *Cx. piriens* υπολείπονται σημαντικά ως προς την ικανότητα επιβίωσης σε σχέση με εκείνες του κουνουπιού τίγρη, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε μείωση των πληθυσμών τους σε ενδιαιτήματα όπου ευημερεί το *Ae. albopictus* (Carrieri, et al., 2003).



Εικόνα 29: Ο Βιολογικό κύκλος του εντόμου *Cx. piriensmolestus*.

<https://mozquit.com/the-mosquito-life-cycle/>

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΜΑΝΤΑΡΙΝΙΑΣ, ΓΡΕΠΠ-ΦΡΟΥΤ ΚΑΙ ΠΕΡΓΑΜΟΝΤΟΥ ΣΕ ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ ΤΟΥ ΚΟΥΝΟΥΠΙΟΥ *CULEX PIPIENS MOLESTUS*

4.1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι ασθένειες που μεταδίδονται από τα έντομα είναι από τις κύριες αιτίες ασθενειών και θανάτου παγκοσμίως. Ένα από τα κυριότερα έντομα που συνδέονται με ανθρώπινες ασθένειες σε τροπικές και σε υποτροπικές περιοχές είναι τα κουνούπια, οι πιο χαρακτηριστικές που προκαλούμενες από αυτά είναι η ελονοσία και ο δάγκειος πυρετός. Βάσει αυτών των δεδομένων ο έλεγχος των κουνουπιών σε παγκόσμια κλίμακα αποτελεί σημαντικό μέλημα για τη δημόσια υγεία.

Η χρήση χημικών αποτελεί μια στρατηγική που χρησιμοποιείται ευρέως και σε καθημερινή βάση. Τα συνθετικά εντομοκτόνα αποτελούν τον κύριο τρόπο καταπολέμησης των κουνουπιών. Ωστόσο, ο έλεγχος των κουνουπιών έχει γίνει πολύπλοκος λόγω της αντοχής τους σε συνθετικά εντομοκτόνα, καθώς και της τοξικότητας των εντομοκτόνων στα ψάρια και άλλους οργανισμούς μη στόχους. Επίσης για τον περιορισμό των επιπτώσεων των κουνουπιών γίνεται ψεκασμός του βιοτόπου με χημικά τα οποία μπορεί να βλάψουν τη δημόσια υγεία. Γι' αυτό κρίνεται σκόπιμο να αναπτυχθούν νέα υλικά για τον έλεγχο των κουνουπιών με ασφαλή τρόπο για τον άνθρωπο και το περιβάλλον (El-KasemBosly, 2022).

Τα φυτικά αιθέρια έλαια έχουν προταθεί ως εναλλακτικές πηγές για την καταπολέμηση των εντόμων, επειδή ορισμένα είναι εκλεκτικά, βιοδιασπώνται σε μη τοξικά προϊόντα και έχουν λίγες επιδράσεις σε οργανισμούς μη στόχους και στο περιβάλλον. Αιθέρια έλαια έχουν τεκμηριωθεί ότι παρουσιάζουν οξείες τοξικές επιδράσεις κατά των εντόμων, επίσης έχουν διεξαχθεί αρκετά πειράματα σχετικά με τις εντομοκτόνες ιδιότητες των αιθέρων ελαίων κατά διαφόρων κουνουπιών.

Τα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών και πιο συγκεκριμένα το λιμονένιο και η λιναλοόλη ως συστατικά αυτών εμφανίζουν εντομοκτόνες ιδιότητες. Ειδικότερα τα πτητικά έλαια της φλούδας πορτοκαλιού και μανταρινιού, που περιέχουν περισσότερο από 70% λιμονένιο, παρουσίασαν τοξικότητα απέναντι στο δεύτερο στάδιο της προνύμφης της *Spodoptera Littoralis*. Γι' αυτό και χρησιμοποιούνται ως παρεμποδιστές της ανάπτυξης προνυμφών.

Η παρούσα μελέτη έχει ως στόχο την αξιολόγηση της προνυμφοκτόνου δράσης τριών αιθέρων ελαίων του Γένους: Citrus . Πιο συγκεκριμένα αξιολογήθηκε η τοξικότητα των

αιθερίων ελαίων του Γρέιπφρουτ (*Citrus paradisi*), του Μανταρινιού (*Citrus reticulata*) και του Περγαμόντο (*Citrus bergamia*) ενάντια των προνυμφών του *Culex pipiens biotype molestus*.

4.2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.2.1 ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε από τον Φεβρουάριο μέχρι τον Μάιο του 2022 στο εργαστήριο φυτοπροστασίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στη Λάρισα. Οι επικρατούσες συνθήκες κατά την διεξαγωγή του πειράματος ήταν $25 \pm 2^\circ\text{C}$, σχετική υγρασία $65 \pm 5\%$ και φωτόφαση 14:10 L:D. Ο φωτισμός προέρχονταν αποκλειστικά από λαμπτήρες φθορίου ψυχρού φωτισμού, με την ένταση να κυμαίνεται από 800 με 1000 Lux στα διαφορετικά σημεία του χώρου.

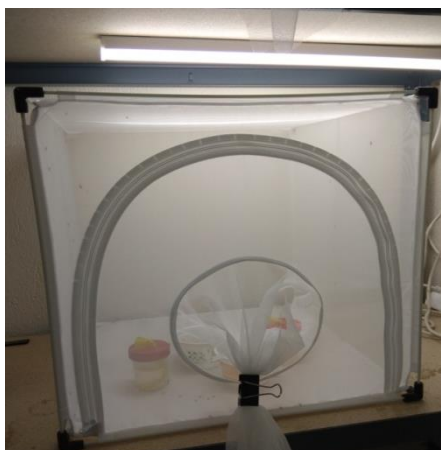
4.2.2 ΕΚΤΡΟΦΗ ENTOMΩΝ

Για να διεξαχθεί το πείραμα χρησιμοποιήθηκαν προνύμφες που προήλθαν από τις εκτροφές κουνουπιών του είδους *Culex pipiens* της μορφής *molestus*.

Η εκτροφή των ενήλικων κουνουπιών έγινε σε ειδικούς κλωβούς από πλαστικό σκελετό διαστάσεων 30x30x30 επενδυμένο με τούλι και με πυκνότητα ατόμων 300-350(εικ.30) Μέσα στον κλωβό υπήρχε ζαχαρόνερο 10% που αποτελούσε την τροφή των ακμαίων και κυπελάκια με νερό όπου τα θηλυκά γεννούσαν.

Ανά δύο ημέρες πραγματοποιούνταν συλλογή των αυγών με ειδική ξύλινη σπάτουλα και τοποθέτησής τους σε μικρές λευκές λεκάνες των 200ml με νερό και μικρής ποσότητας τροφής. Η τροφή που είχαν πρόσβαση τα άτομα ήταν αλεσμένη, σαν πούδρα, κροκέτα για σκύλους (Friskies Adult, Purina, Italy) (Εικ.31). Αλλαγή νερού και τροφής γινόταν κάθε δύο μέρες μέχρι οι προνύμφες να φτάσουν στο στάδιο L1.

Στη συνέχεια οι προνύμφες μεταφερόταν σε μεγαλύτερες λεκάνες (1,5lt) με νερό και τροφή (Εικ.32) ώστε να φτάσουν στο L3 στάδιο και να τις χρησιμοποιήσουμε στο πείραμα. Σε ένα μέρος των προνυμφών συνεχίζουμε την εκτροφή προκειμένου να εξελιχθούν σε ενήλικα και να συνεχιστεί η αναπαραγωγή τους.



Εικόνα 30:Κλωβός εκτροφής κουνουπιών (προσωπική λήψη)



Εικόνα 31: Τροφή (αλεσμένη κροκέτα σκύλου) (προσωπική λήψη)



Εικόνα 32:Δοχείο με νερό προνύμφες και τροφή (προσωπική λήψη)

4.2.3 ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

Τα αιθέρια έλαια του του Γρέιπφρουτ (*Citrus × paradisi*), του Μανταρινιού (*Citrus reticulata*) και του Περγαμόντο (*Citrus bergamia*) που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα ελήφθησαν από την εταιρία 'Etherio – pure essential oils' (Εικ. 33) και παρέμειναν στο ψυγείο στους 4^{OC} μέχρι την χρήση τους. Η ανάλυση των πτητικών συστατικών των αιθερίων ελαίων έγινε με τη μέθοδο της αέριας χρωματογραφίας – φασματομετρίας μάζας, η οποία δόθηκε από τον κατασκευαστή.



Εικόνα 33: Αιθέρια έλαια του του Γρέιπφρουτ (*Citrus × paradisi*), του Μανταρινιού (*Citrus reticulata*) και του Περγαμόντο (*Citrus bergamia*)
Προσωπική λήψη

Τα κύρια δραστικά συστατικά του αιθερίου ελαίου του Γκρέιπφρουτ (*Citrus paradisi*) (πίνακας 1) ήταν:

- D-Limonene (71.8%),
- β-Pinene(5.1%),
- α-Pinene(2.2%)
- β-Phellandrebe (2.0%)

Τα κύρια δραστικά συστατικά του αιθερίου ελαίου του Μανταρινιού (*Citrus reticulata*) (πίνακας 2) ήταν:

- D-Limonene (86,1%),
- Sabinene (2.6%),
- α-Pinene(1,8%)

Τα κύρια δραστικά συστατικά του αιθερίου ελαίου του Περγαμόντο (*Citrus bergamia*) (πίνακας 3) ήταν:

- Limonene (60.5%)
- Linalynacetate (15.9%)
- Linalool (9.6%)
- β-pinene (4.4%)

Πίνακας 5: Χημική ανάλυση αιθερίου ελαίου Γκρέιπφρουτ (*Citrus paradisi*)

α-Pinene	2.2
β-Phellandrene	2.0
β-Pinene	5.1
Octanal	1.0
D-Limonene	71.8
Linalool	0.5
Trans-p-mentha-2,8-dienol	1.3
Limoneneoxide	0.6
α -Terpineol	0.5
Decanal	1.1
Carveol	0.5
d-Carvone	0.6
Myrtenol	0.8
α -Farnesene	0.6
Copaene	0.6
α -Cubebene	0.6
Caryophyllene	0.9

Πίνακας 6: Χημική ανάλυση αιθερίου ελαίου Μανταρίνι (*Citrus reticulata*)

α-Pinene	1.8
β -Phellandrene	0.7
Sabinene	2.6
β -Myrcene	0.8
D-Limonene	86.1
Tricyclene	0.9
Linalylacetate	2.1
Copaene	1.5

Πίνακας 7: Χημική ανάλυση αιθερίου ελαίου Περγαμόντο (*Citrus bergamia*)

α -Pinene	0.5
Sabinene	0.7
β-Pinene	4.4
Myrcene	1.2
Limonene	60.5
Linalool	9.6
α -Terpineol	1.1
Linalylacetate	15.9
Geranylacetate	0.7

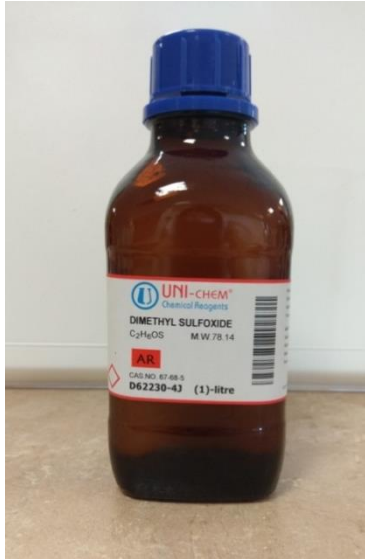
4.2.4 ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

Πραγματοποιήθηκαν Βιοδοκιμές για να διαπιστωθεί η προνυμφοκτόνος δράση των αιθερίων ελαίων του Γκρέιπφρουτ, του Μανταρινιού και του Περγαμόντο, σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και χρόνους έκθεσης.

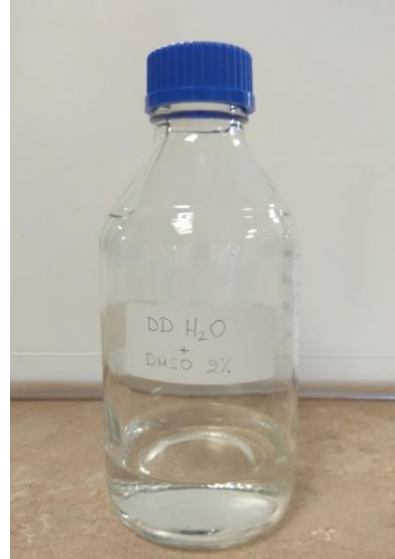
Προετοιμασία πειράματος:

Αρχικά φτιάχνουμε τα μείγματα:

- Νερό: Ως νερό χρησιμοποιούμε μίγμα αποσταγμένου νερού και DMSO (2%) (Mixed Water-MW). (εικ. 34) Σε γυάλινη φιάλη 1lt βάζουμε 980mlαπεσταγμένο νερό και 20 ml DMSO. (Εικ. 35)
- Αιθέριο Έλαιο: Ως αιθέριο έλαιο χρησιμοποιούμε μίγμα DMSO και έλαιο 10% (Mixed Essential Oil – MEO). Σε γυάλινο φιαλίδιο ρίχνουμε 18ml DMSO και 2ml αιθέριο έλαιο (Εικ. 36).



Εικόνα 34: DMSO (2%)
Προσωπική λήψη



Εικόνα 35: Γυάλινη φιάλη 1lt
με 980ml απεσταγμένο νερό και
20 ml DMSO
Προσωπική λήψη



Εικόνα 36: Φιαλίδια με 18ml DMSO και 2ml
αιθέριο έλαιο.
Προσωπική λήψη

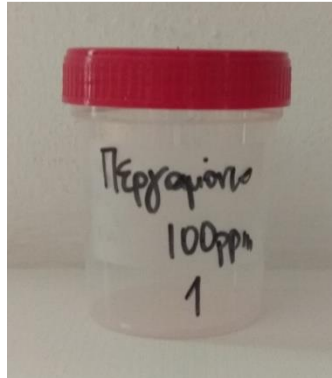
Είκοσι προνύμφες σε στάδιο ανάπτυξης L3 συλλέγονται με την βοήθεια πλαστικής πιπέτας (Εικ. 37) από τις λεκάνες εκτροφής και τοποθετούνται σε πλαστικά φιαλίδια των 120 ml (Εικ. 38).

Μετά από 24, 48 και 72 ώρες καταγράφονται οι νεκρές και ζωντανές προνύμφες. Εάν το χρονικό διάστημα ξεπεράσει τις 48h θα πρέπει να χορηγηθεί τροφή.

Κάθε επανάληψη αποτελείται από 4 πλαστικά φιαλίδια των 120 ml που περιέχουν 50 ml MW και την επιθυμητή δόση ΜΕΟ.



Εικόνα 37: Πλαστική πιπέτα.
Προσωπική λήψη



Εικόνα 38: Πλαστικό
φιαλίδιο 120ml.
Προσωπική λήψη

Πιο συγκεκριμένα,

Για το Αιθέριο Έλαιο Γκρέιπφρουτ 10% εφαρμόσαμε τις ακόλουθες συγκεντρώσεις: 30ppm, 40ppm, 50ppm, 100ppm και 200ppm, η παραλαβή του ελαίου έγινε με αυτόματη πιπέτα (Εικ. 39).



Εικόνα 39: Αυτόματη πιπέτα.
Προσωπική λήψη

Για το Αιθέριο Έλαιο Μανταρίνι 10% εφαρμόσαμε 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm,

50ppm και 100ppm.

Για το Αιθέριο Έλαιο Περγαμόντο 10% εφαρμόσαμε 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 50ppm και 100ppm.

Για κάθε δοσολογία χρειαστήκαμε 4 φιαλίδια με 20 L3 προνύμφες και 50ml MW. Μετά από 24h κάνουμε την πρώτη μέτρηση όπου και καταγράφονται οι νεκρές και ζωντανές προνύμφες. Στο επόμενο 24h κάνουμε την δεύτερη μέτρηση και χορηγούμε τροφή στα άτομα που έχουν επιβιώσει. Η Τρίτη μέτρηση γίνεται αφού περάσει ένα ακόμα 24h.

Η τροφή που χορηγείται είναι ίδια με αυτή της εκτροφής, επίσης τα κυπελάκια του πειράματος τοποθετούνται στο σημείο της εκτροφής ώστε να υπάρχουν οι ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτισμού.

Στο πείραμα χρησιμοποιήσαμε θετικό και αρνητικό μάρτυρα. Για τον θετικό μάρτυρα εφαρμόσαμε σε 4 φιαλίδια/επανάληψη με 20 L3 προνύμφες και 50ml MW ένα προνυμοκτόνο του εμπορίου με δραστική ουσία *Bacillus thuringiensis* σε συγκέντρωση 75% της συνιστώμενης δόσης. Στον αρνητικό μάρτυρα χρησιμοποιήσαμε επίσης 4 φιαλίδια/επανάληψη με 20 L3 προνύμφες και 50ml MW χωρίς καμία προσθήκη.

4.2.5 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

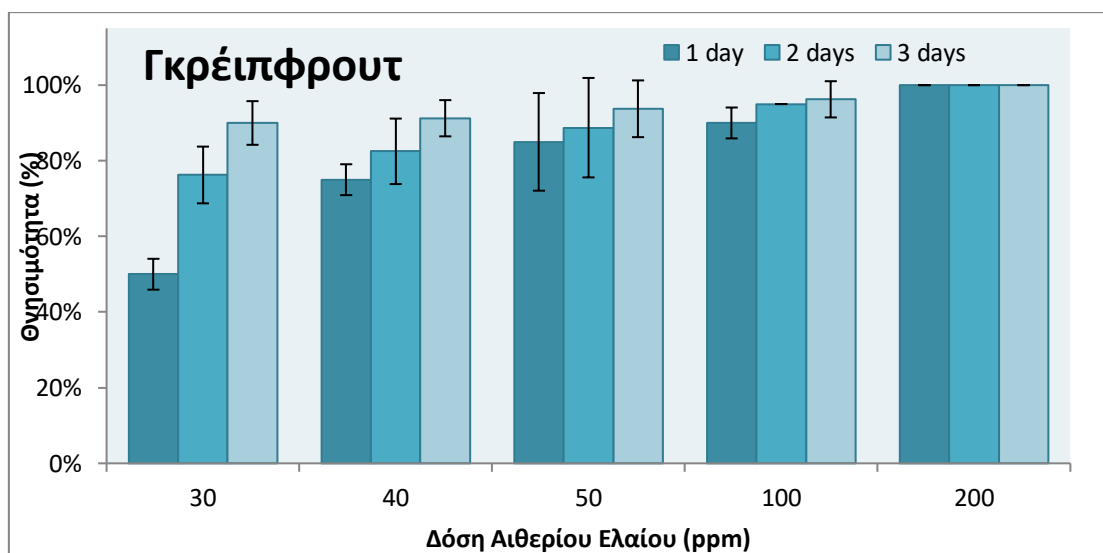
Για τις συγκρίσεις των αποτελεσμάτων έγινε έλεγχος σημαντικότητας του κριτηρίου του F (ANOVA), σε επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$. Όπου υπήρχε σημαντικότητα χρησιμοποιήθηκε η δοκιμασία των Tukey – Kramer (HSD Test). Για τη μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των κυρίων παραγόντων (είδος αιθερίου ελαίου, χρόνος έκθεσης και δόση αιθερίου ελαίου) έγινε πολυπαραγοντική ANOVA για κάθε ένα από τα έντομα των βιοδοκιμών. Η εκτίμηση των θανατηφόρων δόσεων LD_{50} και LD_{99} έγινε με ανάλυση Probit. Για την στατιστική επεξεργασία των δεδομένων χρησιμοποιήθηκε το στατιστικό πακέτο SPSS.

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Η περιγραφική ανάλυση των αποτελεσμάτων της παρούσας έρευνας αποτυπώνονται στον πίνακα 8 που ακολουθεί.

Πίνακας 8: Μετρήσεις θνησιμότητας προνυμφών που εκτέθηκαν στα αιθέρια έλαια

MORTALITY (%)				
	dose (ppm)	1 day	2 days	3 days
<i>Γκρέιπφρουτ</i>	30	50,0±4,1	76,3±7,5	90,0±5,8
	40	75,0±4,1	82,5±8,7	91,3±4,8
	50	85,0±12,9	88,8±13,1	93,8±7,5
	100	90,0±4,1	95,0±0,0	96,3±4,8
	200	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
<i>Μανταρίνι</i>	10	2,5±2,9	16,3±8,5	28,8±10,3
	20	68,8±2,5	82,5±2,9	80,0±5,8
	30	76,3±7,5	87,5±6,5	86,3±2,5
	40	80,0±5,8	90,0±10,8	90,0±0,0
	50	85,0±5,8	91,3±10,3	95,0±0,0
<i>Περγαμόντο</i>	100	100,0±0,0	100,0±0,0	100,0±0,0
	10	17,5±8,7	32,5±8,7	43,8±10,3
	20	31,3±7,5	51,3±7,5	70,0±7,1
	30	42,5±11,9	60,0±12,2	75,0±4,1
	40	83,8±9,5	88,8±4,8	92,5±2,9
	50	86,3±6,3	90,0±5,8	90,0±0,0
100	98,8±2,5	100,0±0,0	100,0±0,0	

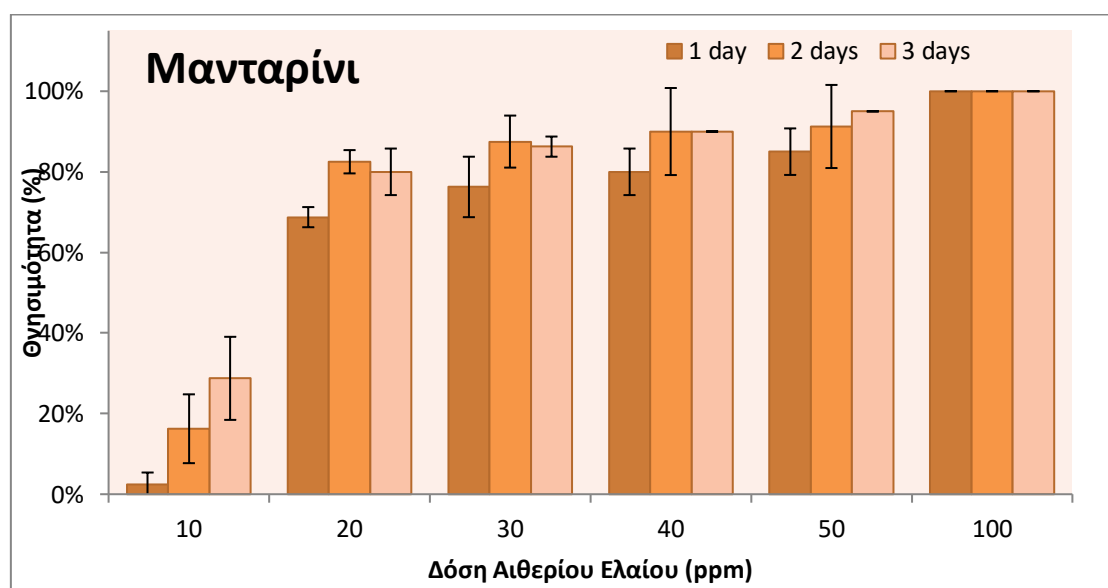


Διάγραμμα 1: Συσχέτιση θνησιμότητας με τη δόση αιθερίου ελαίου γκρέιπφρουτ

Στο διάγραμμα 1 καταγράφονται τα αποτελέσματα των συσχετίσεων μεταξύ της θνησιμότητας και της δόσης αιθερίου ελαίου γκρέιπφρουτ. Σύμφωνα με τα ευρήματα

διαπιστώνονται τα ακόλουθα:

- Διαπιστώθηκε αύξηση της θνησιμότητας με την αύξηση της δόσης και την αύξηση του χρόνου έκθεσης.
- Σημαντική θνησιμότητα πάνω από 80% είχαμε σε όλες τις περιπτώσεις από 50 ppm και πάνω.
- Την πρώτη ημέρα σ' αυτά που εκτέθηκαν για 24 ώρες σημαντική θνησιμότητα είχαμε σε συγκέντρωση από 40 ppm και άνω.
- Στην μικρότερη συγκέντρωση στα 30 ppm σημαντική θνησιμότητα παρουσιάζεται μετά την δεύτερη μέρα.
- Η θνησιμότητα της πρώτης ημέρας στα 30 ppm ήταν σημαντικά μειωμένη απ' όλες τις άλλες.
- Πλήρη θνησιμότητα καταγράφηκε από την πρώτη μέρα μόνο στην περίπτωση της μεγαλύτερης συγκέντρωσης που ήταν τα 200 ppm.



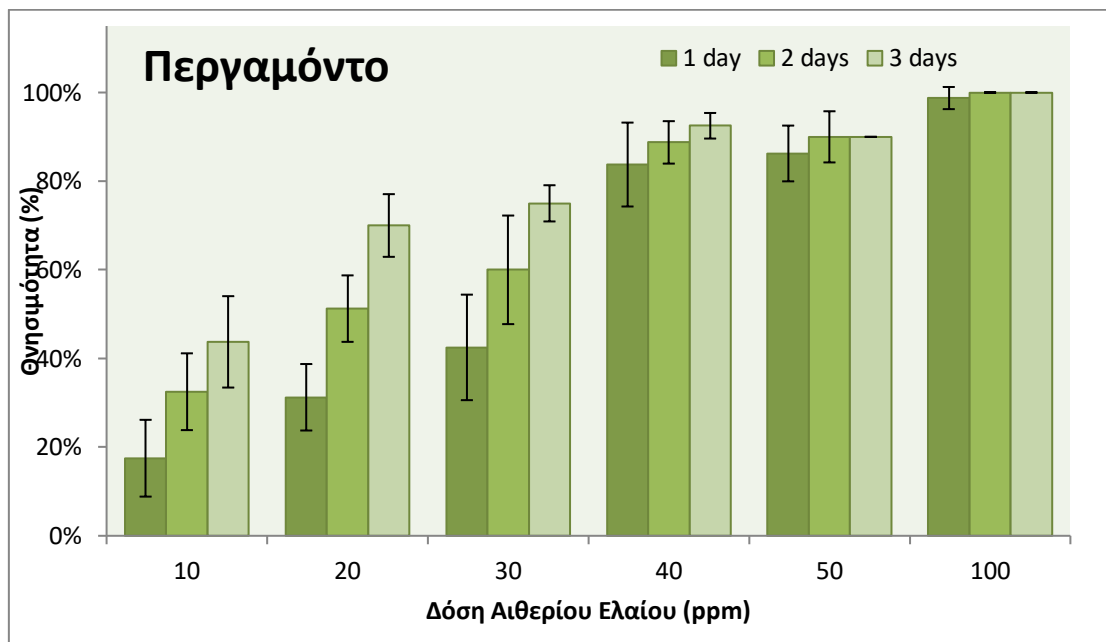
Διάγραμμα 2: Συσχέτιση θνησιμότητας με τη δόση αιθέριου ελαίου μανταρινιού

Το διάγραμμα 2 αναφέρεται στις συσχετίσεις που διαπιστώθηκαν μεταξύ της θνησιμότητας με την δόση αιθέριου ελαίου μανταρινιού. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του διαγράμματος προκύπτουν τα ακόλουθα:

- Σε όλες τις περιπτώσεις η θνησιμότητα αυξήθηκε με την αύξηση της δόσης και

την αύξηση του χρόνου έκθεσης.

- Σημαντική θνησιμότητα πάνω από 80% είχαμε σε όλες τις περιπτώσεις από 40 ppm και πάνω.
- Την πρώτη ημέρα σ' αυτά που εκτέθηκαν για 24 ώρες σημαντική θνησιμότητα είχαμε σε συγκέντρωση από 20 ppm και άνω.
- Στην μικρότερη συγκέντρωση στα 10 ppm δεν παρουσιάζεται σημαντική θνησιμότητα.
- Σημαντική θνησιμότητα καταγράφεται μετά την δεύτερη μέρα σε δόση 20 ppm.
- Η θνησιμότητα της πρώτης ημέρας στα 10 ppm ήταν σημαντικά μειωμένη απ' όλες τις άλλες.
- Πλήρη θνησιμότητα καταγράφηκε από την πρώτη μέρα μόνο στην περίπτωση της μεγαλύτερης συγκέντρωσης που ήταν τα 100 ppm.



Διάγραμμα 3: Συσχέτιση θνησιμότητας με τη δόση αιθερίου ελαίου περγαμόντο

Στο διάγραμμα 3 περιγράφονται τα αποτελέσματα των συσχετίσεων που διαπιστώθηκαν ανάμεσα στη δόση αιθερίου ελαίου περγαμόντο και της θνησιμότητας. Σύμφωνα με τα ευρήματα τους διαγράμματος προκύπτουν τα εξής:

- Σε όλες τις περιπτώσεις η θνησιμότητα αυξήθηκε με την αύξηση της δόσης και

την αύξηση του χρόνου έκθεσης.

- Σημαντική θνησιμότητα πάνω από 80% είχαμε σε όλες τις περιπτώσεις από 40 ppm και πάνω.
- Την πρώτη ημέρα σ' αυτά που εκτέθηκαν για 24 ώρες σημαντική θνησιμότητα είχαμε σε συγκέντρωση από 40 ppm και άνω.
- Στην μικρότερη συγκέντρωση στα 10 ppm σημαντική θνησιμότητα δεν παρουσιάζεται.
- Σημαντική θνησιμότητα καταγράφεται μετά την τρίτη μέρα σε δόση 20 ppm.
- Η θνησιμότητα της πρώτης ημέρας στα 10, 20 και 30ppm ήταν σημαντικά μειωμένη απ' όλες τις άλλες.
- Πλήρη θνησιμότητα καταγράφηκε από την δεύτερη μέρα στην περίπτωση της μεγαλύτερης συγκέντρωσης που ήταν τα 100 ppm.

Πίνακας 8: Τιμές LD₅₀ και LD₉₉ (ppm) και σχετικές παράμετροι Probit για προνύμφες του *C. Piriens molestus* που εκτέθηκαν σε αιθέρια έλαια για 24 ώρες.

Αιθέριο Έλαιο	Παράμετροι probit						
	LD ₅₀ (95% CL)	LD ₉₉ (95% CL)	Intercept ± SEM	Slope ± SEM	χ^2	df	P
ΠΕΡΓΑΜΟΝΤΟ	24,983 (21,589- 28,490)	133,057 (97,745- 214,053)	-4,476 ± 0,398	3,203 ± 0,269	37,210	22	0,022
ΓΚΡΕΙΠΦΡΟΥΤ	25,730 (19,462- 30,610)	182,365 (130,435- 330,526)	-3,858 ± 0,680	2,735 ± 0,407	17,489	18	0,490
ΜΑΝΤΑΡΙΝΙ	20,673 (17,735- 23,431)	90,537 (70,406- 132,980)	-4,771 ± 0,452	3,627 ± 0,313	35,581	22	0,034

CL: όρια εμπιστοσύνης, χ^2 : τιμή chi-square test, df: βαθμοί ελευθερίας για chi-square test, P: πιθανότητα για μεγαλύτερη τιμή του chi-square test, Οι τιμές LD θεωρούνται σημαντικά διαφορετικές όταν τα όρια εμπιστοσύνης δεν επικαλύπτονται.

Στον πίνακα 8 αποτυπώνονται τα αποτελέσματα του ελέγχου Probit. Σύμφωνα με τα ευρήματα καταγράφονται τα εξής:

- Η χαμηλότερη τιμή LD₅₀ και συνεπώς η υψηλότερη σε τοξικότητα καταγράφεται στο αιθέριο έλαιο του μανταρινιού και μετά ακολουθεί του περγαμόντο και του γκρέιπφρουτ.

- Όμως οι διαφορές μεταξύ τους δεν είναι σημαντικές γιατί το μανταρίνι έχει 20,674 το περγαμόντο έχει 24,983 και το γκρέιπφρουτ 25,730.
- Σημαντικά καλύτερη τοξική επίδραση την πρώτη μέρα έκθεσης έδειξε το αιθέριο έλαιο μανταρινιού.

6. ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα έρευνα με τίτλο «Αξιολόγηση αιθέριων ελαίων ως εντομοκτόνα εναντίον του *Culex ripiens biotype molestus*» πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος σπουδών «Τεχνολογίες Διαχείρισης Αρωματικών και Φαρμακευτικών Φυτών: Καλλιέργεια, Μεταποίηση και Παραγωγή Προϊόντων Υψηλής Προστιθέμενης Αξίας». Σκοπός της έρευνας ήταν η διερεύνηση της τοξικής δράσης των αιθέριων ελαίων μανταρινιού, γκρέιπφρουτ και περγαμόντο σε διάφορες συγκεντρώσεις εναντίον των προνυμφών του κουνουπιού *Culex ripiens biotype molestus*.

Πραγματοποιώντας σύγκριση των διαγραμμάτων 1, 2 και 3 παρατηρούμε τα εξής:

- Το αιθέριο έλαιο γκρέιπφρουτ καταγράφει τις υψηλότερες συγκεντρώσεις θνησιμότητας στα 30 ppm από την πρώτη κιόλας ημέρα.
- Το αιθέριο έλαιο μανταρίνι και περγαμόντο δεν παρουσιάζουν και τις 3 ημέρες υψηλή θνησιμότητα κατά την χαμηλότερη δόση των 10 ppm .
- Στη δόση των 40 ppm την υψηλότερη θνησιμότητα καταγράφει το αιθέριο έλαιο μανταρινιού.
- Και τα 3 αιθέρια έλαια δείχνουν αυξημένη θνησιμότητα στη δόση των 50 ppm.
- Στη δόση των 100 ppm το αιθέριο έλαιο μανταρινιού καταγράφει από την πρώτη ημέρα πλήρη θνησιμότητα.

Κατά την παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι τα αιθέρια έλαια φέρουν σημαντική τοξική επίδραση πάνω στις προνύμφες του κουνουπιού *Culex ripiens biotype molestus*. Διερευνώντας τα αποτελέσματα της διεθνούς βιβλιογραφίας διαπιστώθηκε πλειάδα ερευνών οι οποίες πραγματοποίησαν αντίστοιχες έρευνες εξετάζοντας την τοξικότητα των ελαίων του citrusσε προνύμφες κουνουπιών.

Η μελέτη των (Sattar, et al., 2016) σχεδιάστηκε για να αξιολογήσει την προνυμφοκτόνο επίδραση του *Citrus sinensis* στις προνύμφες τέταρτου σταδίου του *Culex quinquefasciatus*. Παρασκευάστηκαν διαφορετικές συγκεντρώσεις υδατικών εκχυλισμάτων φλοιού και φύλλων *Citrus sinensis*. Τα ποσοστά θνησιμότητας των προνυμφών παρατηρήθηκαν μετά από κάθε 24 ώρες έκθεσης. Όλες οι διαβαθμισμένες συγκεντρώσεις (2%, 3%, 4%) τόσο των εκχυλισμάτων φλοιού όσο και των φύλλων έδειξαν σημαντική ($p < 0,05$) προνυμφοκτόνο δράση. Αλλά η συγκέντρωση 4% του εκχυλίσματος φλούδας

αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική καθώς χρειάστηκε λιγότερος χρόνος (5 ημέρες) για να δώσει 100% θνησιμότητα. Δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα στην ομάδα ελέγχου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το *Citrus sinensis* ως δυνητικός παράγοντας βιολογικού ελέγχου κατά του *Culex quinquefasciatus* λόγω της προνυμφοκτόνου δράσης και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως φιλική προς το περιβάλλον προσέγγιση για τον έλεγχο του κουνουπιού.

Σκοπός της μελέτης των Grace et al. (2020) ήταν να προσδιοριστεί η συνεργική προνυμφοκτόνο δράση του *Citrus limon* και του *Bacillus thuringiensis* στον φορέα του δάγκειου πυρετού *Aedes Aegypti*. Το ακατέργαστο μεθανολικό εκχύλισμα φύλλων *Citruslimon* και *Bacillusthuringiensis* δοκιμάστηκαν ξεχωριστά στις προνύμφες τρίτου σταδίου του *Aedesaegypti* σε συγκεντρώσεις 100, 200, 300, 400 και 500 mg/L και στα 0,5, 1,0, 2, 5, 1 και 0,5 mg/L. L αντίστοιχα. Η θνησιμότητα των προνυμφών παρατηρήθηκε μετά από 24 και 48 ώρες και οι αντίστοιχες τιμές LC50 ήταν 285,1 και 219,5 mg/L για το *Citruslimon* και 1,9 και 1,4 mg/L για το *Bacillusthuringiensis* αντίστοιχα. Η συνεργική προνυμφοκτόνο δράση έδειξε υψηλή θνησιμότητα και οι τιμές LC50 της ήταν 158,5 και 109,9 mg/L μετά από 24 και 48 ώρες έκθεσης αντίστοιχα. Αυτή η συνεργική αλληλεπίδραση οφειλόταν στις φυτοενώσεις του λεμονιού εσπεριδοειδών και στις τοξίνες από το *Bacillusthuringiensis* που έδειξαν τοξικότητα στις προνύμφες του φορέα του δάγκειου πυρετού, *Aedesaegypti*. Ως εκ τούτου, η εκμετάλλευση φυτικών χημικών και μικροβιακών φυτοφαρμάκων μπορεί να προταθεί για χρήση σε πρόγραμμα ελέγχου κουνουπιών φορέων για τον έλεγχο των μεταδιδόμενων ασθενειών από τα κουνούπια.

Στην έρευνα των Koutsavitie et al. (2015) συλλέχθηκαν νωπά φύλλα *Myrtus communis* που από διαφορετικές τοποθεσίες στην Ελλάδα, υποβλήθηκαν σε υδροαπόσταξη και τα έλαια που ελήφθησαν αναλύθηκαν με GC-FED και GC-MS. Οι αναλύσεις έδειξαν κυρίως ποσοτικές διαφορές, με τα μονοτερπένια οξικό μυρτενυλεστέρα, άλφα-πινένιο, 1,8-κινεόλη και λιναλοόλη, μαζί με το λιμονένιο, να κυριαρχούν στην πλειονότητα των αναλυόμενων ελαίων *Myrtle*. Η αξιολόγηση της προνυμφοκτόνου δραστηριότητας των δειγμάτων έναντι του κουνουπιού *Culex pipiens* βιοτύπου *molestus* έδειξε ότι όλα τα δείγματα που δοκιμάστηκαν εμφάνισαν μέτρια έως ασθενή τοξικότητα, με καλλιεργημένο *M. Communis* subsp. το *communis* oil είναι το πιο ενεργό.

Η μελέτη των (Hanif, et al., 2021) είχε ως στόχο τον προσδιορισμό της επίδρασης του εκχυλίσματος φύλλων εσπεριδοειδών (*Citrus hystrix*) στη θνησιμότητα της προνύμφης *Culex quinquefasciatus*. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη ήταν μια μέθοδος εργαστηριακής πειραματικής μελέτης με τον πειραματικό σχεδιασμό χρησιμοποιώντας έναν

πλήρως τυχαίοποιημένο σχεδιασμό. Το ερευνητικό πλαίσιο που πραγματοποιήθηκε ήταν η εκτροφή των προνυμφών *Culex quinquefasciatus*, η παρασκευή εκχυλίσματος φύλλων εσπεριδοειδών, η κατασκευή προνυμφοκτόνου υλικού και η φάση παρατήρησης μετά την επεξεργασία. Το εκχύλισμα N-hexane ompletname hystrix έχει υψηλή τοξικότητα επειδή περιέχει αιθέρια έλαια, φλαβονοειδή, αλκαλοειδή, τερπενοειδή, σαπωνίνες και λιμονοειδή. Η βέλτιστη συγκέντρωση εκχυλισμάτων N-εξανίου φύλλων εσπεριδοειδών που οδηγούν σε θνησιμότητα προνυμφών του *Culex quinquefasciatus in vitro* ανήλθε σε 93,33% σε 4 ώρες παρατήρησης με συγκέντρωση 4000 ppm. Το εκχύλισμα φύλλων ασβέστης N-εξανίου έχει προνυμφοκτόνο δράση στην προνύμφη *Culex quinquefasciatus in vitro*.

Τέλος, στην έρευνα των (Sharma, et al., 2022) αξιολογήθηκε η προνυμφοκτόνος επίδραση των αιθέριων ελαίων *Citrus limetta (Musambi)*, *C. limon (Lemon)* και *C. Reticulata (Kinnow)*. Τα αιθέρια έλαια λαμβάνονται με υδροαπόσταξη και χαρακτηρίζονται περαιτέρω από φυτοχημικές και GC-MS εξετάσεις. Η προνυμφοκτόνος βιοδοκιμασία πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με το πρότυπο πρωτόκολλο της ΠΟΥ, 2005 με τροποποιήσεις πλακιδίων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι αλκαλοειδή, τερπένια, τερπενοειδή, ανθρακινόνες, φλαβονοειδή και τανίνες υπήρχαν στα φύλλα και τις φλούδες. Προσδιορίστηκαν d-Λιμονένιο, β-τερπινένιο, λιναλοόλη, κιτράλη, α-πινένιο β καρυοφυλλένιο, τερπινέν-4-όλη, γ-τερπινένιο, 3 καρένιο, συλβεστρένιο, β-οκιμένιο, β-θουτζένιο, σιτρονελάλη, σαμπινένιο και β-P ως κύριες φυτοενώσεις. Επιπλέον, το *C. limetta* βρέθηκε ως το πιο ισχυρό προνυμφοκτόνο. Το αιθέριο έλαιο των φύλλων που έχει LC50 και LC90 τιμές $23,77 \pm 3,45$ και $81,07 \pm 15,24$ ppm και $35,12 \pm 3,55$ και $81,30 \pm 10,79$ ppm και στην περίπτωση των φλοιών, έναντι των *Anopheles stephensi* και *Culex quinquefasciatus* μετά από 24 ώρες, αντίστοιχα. Ως εκ τούτου, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως φιλικά προς το περιβάλλον και φθηνά βοτανικά κουνουπιοκτόνα.

Κλείνοντας την παρούσα έρευνα διαπιστώνουμε ότι σε σχέση με τα ανωτέρω άρθρα τα αιθέρια έλαια του γένους citrusκαταγράφουν υψηλή τοξική επίδραση στις προνύμφες των κουνουπιών και θα μπορούσα μελλοντικά να χρησιμοποιηθούν ως εντομοκτόνα φιλικά προς το περιβάλλον.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Andersen, P., C., Ferguson, J. (2014). *"The Satsuma Mandarin"*. *Electronic Data Information Source*. IFAS Extension, University of Florida. Retrieved 9 April 2018.
- Ahmed, S., Rattanpal, H.S., Gul, K., Dar, R.A, Sharma, A. (2019). *Chemical composition, antioxidant activity and GC-MS analysis of juice and peel oil of grapefruit varieties cultivated in India*. *J. Integr. Agric.* 2019, 18, 1634–1642. [CrossRef].
- Ashley J., Farrar, Francisca C., Farrar. (2020). *Clinical Aromatherapy*. *Nurs Clin N Am* 55 (2020) 489–504 <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2020.06.015> nursing.theclinics.com 0029-6465/20/Published by Elsevier Inc.
- Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Madon M., Dahl C. (2010). *Mosquitoes and their control*. Springer: Heidelberg, Dordrecht, New York. 2010.
- Berk, Z. (2016). *Citrus Fruit Processing*; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands.
- Bersten I., (1939). *Coffee and tea perceptions and illusions*. Rosenillee NSW. Heilan Books, 2017. 9780957758117 (ISBN).
- Bouzouita N., Omri A., Kachouri F. , Casabianca H., Chaabouni M., Okunowo, W.O., Oyedeji, O., Afolabi, L.O., M. (2010). *Chemical Composition of Bergamot (Citrus Bergamia Risso) Essential Oi*. Volume 4, No.4 (Serial No.29) *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, ISSN 1934-7375, USA.
- Boyd, S., Cooke, N., Moyer, A. (2020). "A literary history of the Mandarin orange in Canada". *Gastronomica*. **20** (1): 83–89. doi:10.1525/gfc.2020.20.1.83. ISSN 1529-3262.
- Cang H. M., Ngoc D. D., Duc L. T., Viet N. B., Chinh N. C., Giang B. L. (2019). *Comparative study of Mandarin (Citrus reticulata Blanco) essential oil extracted by microwave-assisted hydrodistillation, microwave extraction and hydrodistillation methods from Tien Giang, Vietnam* *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 96 1303-1311.. OP Conf. Series: Materials Science and Engineering 991 (2020) 012129 IOP Publishing doi:10.1088/1757-899X/991/1/01212.
- Carbonell-Caballero, J., Alonso, R., Ibañez, V., Terol, J., Talon, M., Dopazo, J. (2015). *A Phylogenetic Analysis of 34 Chloroplast Genomes Elucidates the Relationships between Wild and Domestic Species within the Genus Citrus*. *Mol. Biol. Evol.* 2015,

- 32, 2015–2035. [CrossRef].
- Carlos A., Manassero J., Girotti R., Mijailovsky S., García M., de Bravo, Polo M. (2012). *In vitro comparative analysis of antiproliferative activity of essential oil from mandarin peel and its principal component limonene*. PMID: 22943501. DOI: 10.1080/14786419.2012.718775.
- Chase, M.W., Christenhusz, M.J.M., Fay, M.F., Byng, J.W., Judd, W.S., Soltis, D.E., Mabberley, D.J., Sennikov, A.N., Soltis, P.S., Stevens, P.F. (2016). *An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV*. Bot. J. Linn. Soc. 2016, 181, 1–20. [CrossRef].
- Chen, L., Wang, J., Wang, H., Qi, Z., Zheng, Y., Wang, J., Pan, L., Chang, Guanru & Yang, Y. (2016). Biosynthesis of Silver and Gold Crystals Using Grapefruit Extract: *MATEC Web of Conferences*. 67. 02016. 10.1051/mateconf/20166702016.
- Cristóbal-Luna, J.M.; Álvarez-González, I.; Madrigal-Bujaidar, E.; Cevallos, G.C. Grapefruit and its biomedical, antigenotoxic and chemopreventive properties. *Food Chem. Toxicol.* 2018, 112, 224–234. [CrossRef] [PubMed] 25.
- Curk, F., Ollitrault, F., Garcia-Lor, A., Luro, F., Navarro, L., Ollitrault, P. (2016). *Phylogenetic origin of limes and lemons revealed by cytoplasmic and nuclear markers*. *Ann. Bot.* 2016, 117, 565–583. [CrossRef] [PubMed].
- Da Grac, J.V., Louzada, E.S. & Sauls, J.W. (2004). The origin of red-pigmented grapefruit and the development of new varieties. *Proc. Inter. Soc. Citricult.*, 1, 369–374
- Dao T., P., Ngo T., Le T., D., Ngo H., Phuong T., , Tran T., G., Nguyen G., Huynh H. (2020). Comparative study of Mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) essential oil extracted by microwave-assisted hydrodistillation, microwave extraction and hydrodistillation methods from Tien Giang, Vietnam. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 991 (2020) 012129 IOP Publishing doi:10.1088/1757-899X/991/1/012129.
- Dugo, P., Russo, M (2010). *The Oxygen Heterocyclic Components of Citrus Essential Oils. In Citrus Oils: Composition, Advanced Analytical Techniques, Contaminants, and Biological Activity*; Dugo, G., Mondello, L., Eds.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2010; pp. 405–444, ISBN 9781439800294.
- Edris, A.E. (2007). *Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their*

- individual volatile constituents: A review. Phytother. Res.* 2007, 21, 308–323.
- El-Kasem Bosly, HA. (2022). Larvicidal and adulticidal activity of essential oils from plants of the Lamiaceae family against the West Nile virus vector, *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(8), 103350. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103350>
- Fathi M., Vinceković M., Jurić S., Viskiće M., RežekJambrak A., Donsi F. (2019). *Food-grade colloidal systems for the delivery of essential oils*. Food Reviews International. Taylor & Francis Inc.; 2019.
- Fidel, L., Carmeli-Weissberg, M., Yaniv, F., Shaya, Y., Dai, N., Raveh, E., Eyal, Y., Porat, R. & Carmi, N. (2016). Breeding and analysis of two new grapefruit-like varieties with low furanocoumarin content. *Food Nutr. Sci.*, 7, 90–101, doi: 10.4236/fns.2016.72011
- Gao B., Chen Y., Zhang M., Xu Y., Pan S. (2011). *Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activity of Pericarpium Citri Reticulatae Essential Oil*. *Molecules* 16 4082–4096, (2011). *Molecules* 2011, 16, 4082-4096; doi:10.3390/molecules16054082.
- Gmitter, F.G., Jr. (2014). Pummelo grapefruit hybrid tree named 914. U.S. Patent 20140283239, ed 14 Mar. 2014, issued 12 Jan. 2015
- Goldenberg, L., Yaniv, Y., Porat, R., Carmi, N. (2018). "Mandarin fruit quality: a review". *Journal of the Science of Food and Agriculture*. **98** (1): 18–26. doi:10.1002/jsfa.8495. PMID 28631804.
- Goldschmidt, E.E., A., La Malfa, S., Deng, Z. (2020). *The Citrus Genome: Past, Present and Future. In The Citrus Genome; Gentile*. Springer International Publishing: Cham, Switzerland, 2020; pp. 1–3. ISBN 9783030153083.
- Grace, M., Subramanian, A., Tennyson, S. (2020). Synergistic larvicidal action of *Citrus limon* (L.) Osbeck (Rutaceae) and *Bacillus thuringiensis* Berliner 1915 (Bacillaceae) against the dengue vector *Aedes aegypti* Linnaeus 1762 (Diptera: Culicidae). *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 10, 025-033. [10.30574/gscbps.2020.10.1.0249](https://doi.org/10.30574/gscbps.2020.10.1.0249).
- Günay F., Picard M., Robert V. (2017). *Mosquito Key Tool, an interactive identification key for mosquitoes of Euro-Mediterranean*. Version 2.1. ed. Montpellier: IRD; 2017
- Hanif, M., Retno Lastuti, N.D., Kurnijasanti, R. (2021). Effect of Larvicidal Extract N-Hexane Lime Leaves (*Citrus hystrix*) on Larva Instar III Mosquito (*Culex*

- quinquefasciatus). *World's Veterinary Journal* *World Vet J*, 11(3): 416-421.. DOI: <https://dx.doi.org/10.54203/scil.2021.wvj53>
- Impellizzeri D., Cordaro M., Campolo M., Gugliandolo E., Esposito E., Benedetto F. (2016). *Anti-inflammatory and antioxidant effects of flavonoid-rich fraction of bergamot juice (BJe) in a mouse model of intestinal ischemia/reperfusion injury*. *Front Pharmacol* 2016; 7:203.
- Jianfeng, H., Yonghua, Q., Hongxia, M., Chunyan, Z., Zixing, Ye., Guibing, Hu. (2012). Molecular marker analysis of 'Shatangju' and 'Wuzishatangju' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco). *Afr J Biotechnol.*, 11, 15501-15509
- Karp, David (3 February 2016). "*Mandarin oranges, rising stars of the fruit bowl*". The New York Times. Retrieved 7 February 2019.
- Karp, David (13 March 2014). "*Market watch: The wild and elusive Dancy*". Los Angeles Times Retrieved 7 February 2019.
- Koutsaviti, A., Lignou, I., Bazos, I., Koliopoulos, G., Michaelakis, A., Giatropoulos, A., Tzakou, O. (2015). Chemical Composition and Larvicidal Activity of Greek Myrtle Essential Oils against *Culex pipiens* biotype *molestus*. *Natural product communications*, 10, 1759-1762. 10.1177/1934578X1501001031.
- Louzada, E. & Ramadugu, C. (2021). Grapefruit: History, Use, and Breeding. *HortTechnology*, 31, 1-16. 10.21273/HORTTECH04679-20.
- Medlock JM., Hansford KM., Schafner F., Versteirt V., Hendrickx G., Zeller H. (2012). *A review of the invasive mosquitoes in Europe: ecology, public health risks, and control options*. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2012;12:435–47.
- Nature Biotechnology (2013). Drug-proof grapefruit. *Nature Biotechnol.* 31, 186, doi:10.1038/nbt0313-186b.
- Navarra, M., Mannucci, C., Delbò, M., Calapai, G. (2015). Citrus bergamia essential oil: From basic research to clinical application. *Front. Pharmacol.* 2015, 6, 36.
- Nesci S., Palma E., Mollace V., Romeo G., Oppedisano F. (2021). *Enjoy your journey: the bergamot polyphenols from the tree to the cell metabolism*. *Transl Med* (2021) 19:457 <https://doi.org/10.1186/s12967-021-03131-7>.
- Nhi T., Phat D., Quyen N., Cang N., Truc T., Bach L., G., and Muoi V. (2020). *Effects of*

- Vacuum Concentration on Color, Polyphenol and Flavonoid Contents and Antioxidant Activity of Pomelo Citrus maxima* (Burm. f.) Merr. Juice. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 991 (2020) 012060 IOP Publishing doi:10.1088/1757-899X/991/1/012060.
- Noriega P. (2020). Terpens in Essential Oils: Bioactivity and Applications. Submitted: June 8th, 2020 Retrieved August 28thPublished October 10th, 2020. DOI:10.5772/intechopen.93792.
- Okunowo, W.O., Oyedeji, O.A., Afolabi, L.O., &Matanmi, E. (2013). Essential Oil of Grape Fruit (*Citrus paradisi*) Peels and Its Antimicrobial Activities. *American Journal of Plant Sciences*, 4, 1-9.
- Ollitrault, P., Curk, F., Krueger, R. (2020), "Citrus taxonomy", *The Genus Citrus*, Elsevier, pp. 57–81, doi:10.1016/b978-0-12-812163-4.00004-8, ISBN 978-0-12-812163-4, S2CID 242819146, retrieved 2021-01-17.
- Phat D. T., Quyen N. T. C., Linh H. T. K., Trung L. N. Y., Danh V. T., Ngoc T.T .L., Yen N. D., Quan P. M., Toan T. Q. T. (2019). *Study on extraction process and analysis of components in essential oils of Vietnamese orange peel (Citrus sinensis) by microwave assisted hydrodistillation extraction*. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 991 (2020) 012125 IOP Publishing doi:10.1088/1757-899X/991/1/012125 Asian J. Chem. 31 2827-2833 .
- Platt, R. (2000). Current concepts in optimum nutrition for cardio vascular disease. *Prev Cardiol.*, 3, 83-87
- Raveh, E., L. Goldengerg, R. Porat, N.Carmi, A. Gentile, & S. La Malfa (2020). *Conventional breeding of cultivated citrus varieties*, p. 33–48.In:A.Gentile,S.LaMalfa, and Z. Deng (eds.). *The citrus ge-nome*. Springer, Cham, Switzerland.
- Reusken CBEM,. Vries A., Buijs J., Braks MAH., Hartog W., Scholte EJ. (2010). *First evidence for presence of Culex pipiens biotype molestus in the Netherlands, and of hybrid biotype pipiens and molestus in northern Europe*. J Vector Ecol 2010, 35:210–212.
- Rizzoli A., Bolzoni L., Chadwick EA., Capelli G., Montarsi F., Grisenti M. (2015). *Understanding West Nile Virus ecology in Europe: Culex pipiens host feeding preference in a hotspot of virus emergence*. Parasites & Vectors. 2015;8:213.

- Rudolf M., Czajka C., Börstler J., Melaun C., Jöst H., von Thien H. (2013). *First nationwide surveillance of Culex pipiens complex and Culex torrentium mosquitoes demonstrated the presence of Culex pipiens biotype pipiens/molestus hybrids in Germany*. PLoS One. 2013;8(9):e71832-e.
- Sattar, M., Iqbal, Muhammad N., Naeem, A., Ali, S., Mirza, I., Shahzad, Mirza i., Alam, S., Ali, T., Sheikh, R. (2016). Larvicidal Efficacy of Citrus sinensis Extracts against Culex quinquefasciatus. *PSM Microbiology*, 1(2), 56-61
- Salvatore N., Ernesto P., Vincenzo M., Giovanni R., Francesca O., (2021). *Enjoy your journey: the bergamot polyphenols from the tree to the cell metabolism*.
- Schwartz, T., Nylinder, S., Ramadugu, C., Antonelli, A., Pfeil, B.E. (2016). *The Origin of Oranges: A Multi-locus Phylogeny of Rutaceae Subfamily Aurantioideae*. Syst. Bot. 2016, 40, 1053–1062.
- Servillo, L., Giovane, A., Balestrieri, M. L., Cautela, D., Castaldo, D. (2012). *N-Methylated tryptamine derivatives in Citrus genus plants: identification of N,N,N-trimethyltryptamine in bergamot*. J. Agric. Food Chem. 2012, 60, 9512–9518.
- Selmar D. (2013). *Influencing the product quality by deliberately applying drought stress during the cultivation of medicinal plants*. *Industrial Crops and Products*. Volume 42, March 2013, Pages 558-566.
- Servillo L., Castaldo D., Giovane A., Casale R., Onofrio N., Cautela D., Balestieri M.L. (2018). *Biochim. Biophys. Acta Gen. Subj.* [Volume 1862, Issue 4](#), April 2018, Pages 991-998 (2018).
- Severino R., Dang K., Vu F., Donsì S., Salmieri G., Ferrari M., Lacroix M. (2014). *Antibacterial and physical effects of modified chitosan based-coating containing nanoemulsion of mandarin essential oil and three non-thermal treatments against Listeria innocua in green beans*. Int J Food Microbiol. 2014 Nov 17;191:82-8. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2014.09.007. Epub 2014 Sep 16.
- Shahnawaz, A., Harinder, R. & Gurteg, S. (2018). Diversity assessment of grapefruit (citrus × paradisi) and tangelo (citrus × tangelo) under Indian conditions using physico-chemical parameters and SSR markers. *Applied Ecology and Environmental Research*, 16, 5343-5358.
- Shaaban, H.A.H., El-Ghorab, A.H., Takayuki, S. (2012). *Bioactivity of essential oils and*

- their volatile aroma components*: Review. *J. Essent. Oil Res.* 2012, 24, 203–212.
- Sharma, S., Loach, N., Gupta, S., Mohan, L. (2022). Evaluation of larval toxicity, mode of action and chemical composition of citrus essential oils against *Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 39, 102284. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2022.102284>
- Shimizu, T., Kitajima, A., Nonaka, K., Yoshioka, T., Ohta, S., Goto, S., Toyoda, A., Fujiyama, A., Mochizuki, T., Nagasaki, H., Kaminuma, E., Nakamura, Y. (2016). "Hybrid Origins of Citrus Varieties Inferred from DNA Marker Analysis of Nuclear and Organelle Genomes". *PLOS ONE*. **11** (11): e0166969. Bibcode:2016PLoSO..1166969S. doi:10.1371/journal.pone.0166969. PMC 5130255. PMID 27902727.
- Siano, F., Cautela, D. (2012). *Analisi comparativa di oli essenziali agrumari italiani estratti a freddo*. *Ind. Conserve* 2012, 87, 99–108.
- Soldati L., Di Renzo L., Jirillo E., Ascierio PA., Marincola FM., De Lorenzo A. (2018). *The influence of diet on anti-cancer immune responsiveness*. *J Transl Med.* 2018;16:75.
- Suélen R., Josué R., Guilherme L., Moura V., Ruffode O., Julianade C. (2020). *Assessment of compounds and cytotoxicity of Citrus deliciosa Tenore essential oils: From an underexploited by-product to a rich source of high-value bioactive compounds*. *Food Bioscience*, Volume 38, December 2020, 100779.
- Sun, J.; Chu, Y.F.; Wu, X.; Liu, R. Antioxidant and Antiproliferative Activities of Common Fruits. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 7449–7454.
- Teixeira, B., Marques, A., Ramos, C., Neng, N.R., Nogueira, J.M.F., Saraiva, J.A., Nunes, M.L. (2013). *Chemical composition and antibacterial and antioxidant properties of commercial essential oils*. *Ind. Crops Prod.* 2013, 43, 587–595. [CrossRef].
- Uzun, A. & Yesiloglu, T. (2012). Genetic Diversity in Citrus. In book: *Genetic Diversity in Plants*, pp. 213-230. doi:10.5772/32885
- Verzera, A., Trozzi, A., Gazea, F., Ciccirello, G., Cotroneo, A. (2003). *Effects of rootstock on the composition of Bergamot (Citrus bergamia Risso et Poiteau) essential oil*. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 206-210.
- Wang, L., He, F., Huang, Y., He, J., Yang, S., Zeng, J., Deng, C., Jiang, X., Fang, Y., Wen, S., Xu, R. (2018). "Genome of Wild Mandarin and Domestication History of

Mandarin". *Molecular Plant*. **11** (8): 1024–1037.

- Weihui D., Ke L., Shan C., Jingyu S., Balian Z., Jiong C. (2019). *Chemical Composition, Antimicrobial, Antioxidant, and Antiproliferative Properties of Grapefruit Essential Oil Prepared by Molecular Distillation*. National Navel Orange Engineering Research Center, College of Life Sciences, Gannan Normal University, Ganzhou 341000, China; dwh110by@163.com (W.D.); liuke121602026@126.com (K.L.); scoral29116@163.com (S.C.); SJYnj_1997@163.com (J.S.); bal.zh@163.com (B.Z.)
* Academic Editor: Raffaele Capasso Received: 3 December 2019; Accepted: 3 January 2020; Published: 5 January 2020.
- Wu, G., Terol A., Ibanez J., López-García V., Pérez-Román A., Borredá E., Domingo, Concha C., Francisco R.; Carbonell-Caballero, J., Alonso R., Curk, F. (2018). "Genomics of the origin and evolution of Citrus". *Nature*. **554** (7692): 311–316. Bibcode:2018Natur.554..311W. doi:10.1038/nature25447. ISSN 0028-0836. PMID 29414943.
- Wu, G., A., Sugimoto G., Kinjo H., Asama, C., Mitsube, F., Talon, M., Gmitter, G., Jr; Rokhsar, D., S. (2021). "Diversification of mandarin citrus by hybrid speciation and apomixis". *Nature Communications*. **12** (1):4377. Bibcode:2021NatCo..12.4377W. doi:10.1038/s41467-021-24653-0. PMC 8313541. PMID 34312382. and Supplement.
- Wu, G.A., Prochnik, S., Jenkins, J., Salse, J., Hellsten, U., Murat, F., Perrier, X., Ruiz, M., Scalabrin, S., Terol, J. (2014). *Sequencing of diverse mandarin, pummelo and orange genomes reveals complex history of admixture during Citrus domestication*. *Nat. Biotechnol.* 2014, 32, 656–662.
- Wu. X., Song, X., Ting L., Lei W., Liu L., Xiaoping L. (2020). "Antibacterial Effects and Mechanism of Mandarin (*Citrus reticulata* L.) Essential Oil against *Staphylococcus aureus*" *Molecules* 25, no. 21: 4956. <https://doi.org/10.3390/molecules25214956>.
- Yang Y., Zhao C., Tian G., Lu C., Li C., Bao Y. (2018). *Characterization of physical properties and electronic sensory analyses of citrus oilbased nanoemulsions*. *Food Res Int* 2018;109:149–58.
- Yang, S.A., Jeon, S.K., Lee, E.J., Shim, C.H., Lee, I.S. (2010). *Comparative study of the chemical composition and antioxidant activity of six essential oils and their components*. *Nat. Prod. Lett.* 2010, 24, 140–151. [CrossRef] 20.

Yuki H.,Lindy Mcb., (2022). *Origin and status of Culex pipiens mosquito ecotypes*. Author links open overlay panel. Volume 32, Issue 5, 14 March 2022, Pages R237-R246.

Ziarati P. Formerly Academic member in Pharmaceutical Faculty · Medicinal Chemistry, PhD Chemical Toxicology, orcid.org/0000-0002-9802-9949(Πίνακας 2)