



Τ.Ε.Ι. ΚΡΗΤΗΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΑΙΘΕΡΙΟΥ ΕΛΑΙΟΥ ΒΑΣΙΛΙΚΟΥ ΣΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ



ΝΙΚΟΣ ΜΑΝΙΟΥΔΑΚΗΣ

ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ ΠΑΝΑΓΙΩΤΑ ΨΕΙΡΟΦΩΝΙΑ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ, 2014

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΜΕΡΟΣ Α: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ	5
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
2. ΤΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ	7
2.1. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ	7
2.1.1. ΑΥΓΟ	8
2.1.2. ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ	10
2.1.3. ΠΛΑΓΓΟΝΕΣ (ΝΥΜΦΕΣ)	10
2.1.4. ΕΝΗΛΙΚΑ	11
2.2. ΚΥΡΙΟΤΕΡΑ ΓΕΝΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	12
2.3. ΒΙΟΟΙΚΟΛΟΓΙΑ	13
2.4. ΕΣΤΙΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ	14
2.5. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	15
2.5.1 ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ	16
2.5.2. ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΙΑ ΚΑΙ ΑΚΜΑΙΟΚΤΟΝΙΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ ΑΠΟ ΤΙΣ ΚΑΤΑ ΤΟΠΟΥΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΕΣ	16
2.5.3 ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΩΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ ΣΕ ΜΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ	19
3. ΤΑ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ	19
3.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ	19
3.2. ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ	20
3.3. ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΦΥΤΟ ΠΟΥ ΤΑ ΠΑΡΑΓΕΙ	22
3.4. ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ	24
3.5. ΧΗΜΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ	24
3.5.1. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΤΗΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ	25
4. Ο ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΥΓΕΙΑΣ (WORLD HEALTH ORGANIZATION -WHO).	26
4. 1. ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΟΚΙΜΩΝ ΤΟΥ ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΥΓΕΙΑΣ ΓΙΑ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ	26
4. 1. 1. ΦΑΣΗ 1: ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ	28
4. 1. 2. ΦΑΣΗ 2: ΜΙΚΡΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΠΕΛΙΟΥ	30
4. 1. 3. ΦΑΣΗ 3: ΜΕΓΑΛΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΠΕΛΙΟΥ	32

ΜΕΡΟΣ Β: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	34
ΟΙ ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ	
1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	35
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	35
2.1. Η ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ	35
2.2. ΟΙ ΔΟΚΙΜΕΣ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ	35
2.2.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	35
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	36
3.1. ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑ 1	36
3.2.ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑ 2	38
3.3.ΒΙΟΔΟΚΙΜΗ 1	40
3.3.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 6 ΩΡΕΣ	41
3.3.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 24 ΩΡΕΣ	42
3.3.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 48 ΩΡΕΣ	44
3.3.4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 72 ΩΡΕΣ	45
3.3.5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 96 ΩΡΕΣ	46
3.3.6. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 120 ΩΡΕΣ	48
3.4. ΒΙΟΔΟΚΙΜΗ 2	49
3.4.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 6 ΩΡΕΣ	49
3.4.2.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 24 ΩΡΕΣ	51
3.4.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 48 ΩΡΕΣ	52
4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	54
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	55

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Γεωργικής Φαρμακολογίας του ΤΕΙ Κρήτης. Σκοπός του πειράματος είναι ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας αιθέριου ελαίου βασιλικού διαφόρων συγκεντρώσεων στην αντιμετώπιση των προνυμφών κουνουπιών. Για το πείραμα χρησιμοποιήθηκε το πρωτόκολλο του Παγκοσμίου Οργανισμού υγείας. Το συγκεκριμένο πείραμα αποτελεί μέρος μιας σειράς πειραμάτων του Εργαστηρίου Γεωργικής Φαρμακολογίας σχετικά με τη χρήση αιθέριων ελαίων στην αντιμετώπιση προνυμφών κουνουπιών. Θα ήθελα να ευχαριστήσω την εισηγήτρια μου Γιώτα Ψειροφωνιά για τη βοήθεια της καθ όλη τη διάρκεια του πειράματος μου.

ΜΕΡΟΣ Α:
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΚΗ ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ

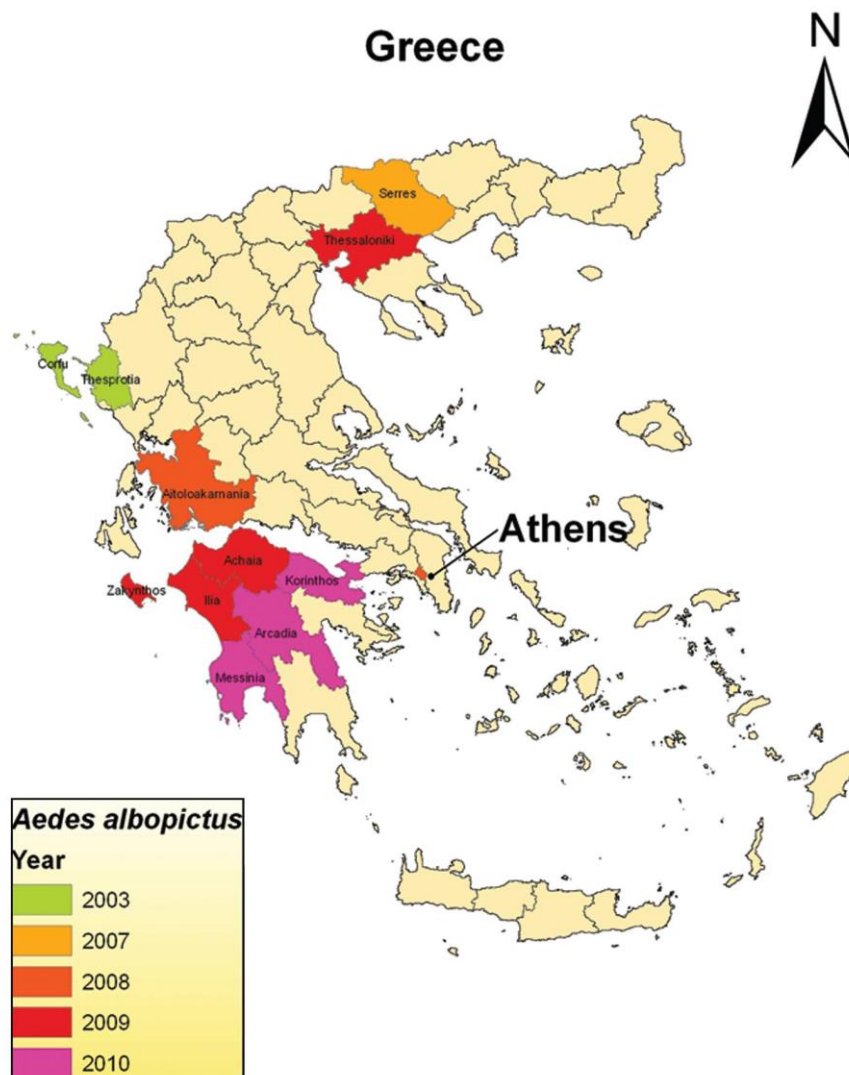
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Ένα μεγάλο θέμα για τη δημόσια υγεία είναι τα κουνούπια. Τα διάφορα είδη κουνουπιών μπορούν να δημιουργήσουν σοβαρό θέμα στη δημόσια υγεία, άμεσα με τα τσιμπήματα τους ή έμμεσα με το να μεταφέρουν στον άνθρωπο διάφορες ασθένειες. Ειδικά η δεύτερη περίπτωση αποτελεί ένα σοβαρό πρόβλημα τόσο παλαιότερα όσο και τα τελευταία χρόνια με αποτέλεσμα τα κουνούπια σε πολλές περιπτώσεις να αποτελούν κίνδυνο για τη ζωή ηλικιωμένων και μικρών παιδιών. (Παρασκευόπουλος, 2013).

Εκτός από τα σοβαρά και προφανή προβλήματα που προαναφέρθηκαν και έχουν άμεση σχέση με τη δημόσια υγεία ένα ακόμη πρόβλημα που δημιουργείται από τα κουνούπια είναι η όχληση, η ενόχληση δηλαδή από την ύπαρξη τους στο χώρο. Γενικά για πολλούς ανθρώπους τα κουνούπια είναι απεχθή. Η έμφυτη δυσφορία που δημιουργείται σε πολλούς ανθρώπους όταν υπάρχουν κουνούπια στο χώρο δεν τους επιτρέπει να έχουν πολλές καθημερινές δραστηριότητες χωρίς τη χρήση κάποιων προστατευτικών μέτρων (Παρασκευόπουλος, 2013).

Το κυριότερο πρόβλημα, όπως προαναφέρθηκε, έχει να κάνει με τον κίνδυνο μετάδοσης ασθενειών όπως είναι ο ιός του Δυτικού Νείλου, ο Δάγγειος και κίτρινος πυρετός, η ελονοσία, η μετάδοση φιλαριάσεων και άλλων αρμποιώσεων (Chikungunya, Tahyna, Sindbis, Inkoo, Snowhoe Hare Virus, Rift Valley fever). Ο Ιός του Δυτικού Νείλου παρουσιάστηκε στην Ελλάδα το 2010 και συγκεκριμένα στη Μακεδονία ενώ στην Μεσόγειο το 1994. Φορείς της ασθένειας του ιού του δυτικού Νείλου είναι κυρίως είδη του γένους *Culex* στον οποίο οφείλεται ο ενζωτικός κύκλος μετάδοσης του. Ωστόσο πολλά είδη κουνουπιών μεταφέρουν τον ιό από μολυσμένα πουλιά στον άνθρωπο και στα ζώα (Παρασκευόπουλος, 2013).

Μαζί με τον ιό του Δυτικού Νείλου εμφανίστηκε σε πολλές περιοχές της χώρας μας και το είδος *Aedes albopictus* (κοινώς ονομαζόμενο κουνούπι τίγρης) το οποίο συνδέθηκε λανθασμένα με τα κρούσματα του ιού του Δυτικού Νείλου γιατί στο εξωτερικό κατά κανόνα το συγκεκριμένο είδος μετέφερε τον Ιό (Κιούλος, προσωπική επικοινωνία). Για να μελετηθεί η διασπορά του νεοεισαχθέντος είδους έγιναν προσπάθειες να εντοπιστούν οι περιοχές στις οποίες υπάρχει το κουνούπι τίγρης στην Ελλάδα κατά τα έτη 2003-2010 και τα αποτελέσματα φαίνονται στο χάρτη που ακολουθεί (Giatropoulos et al, 2012).

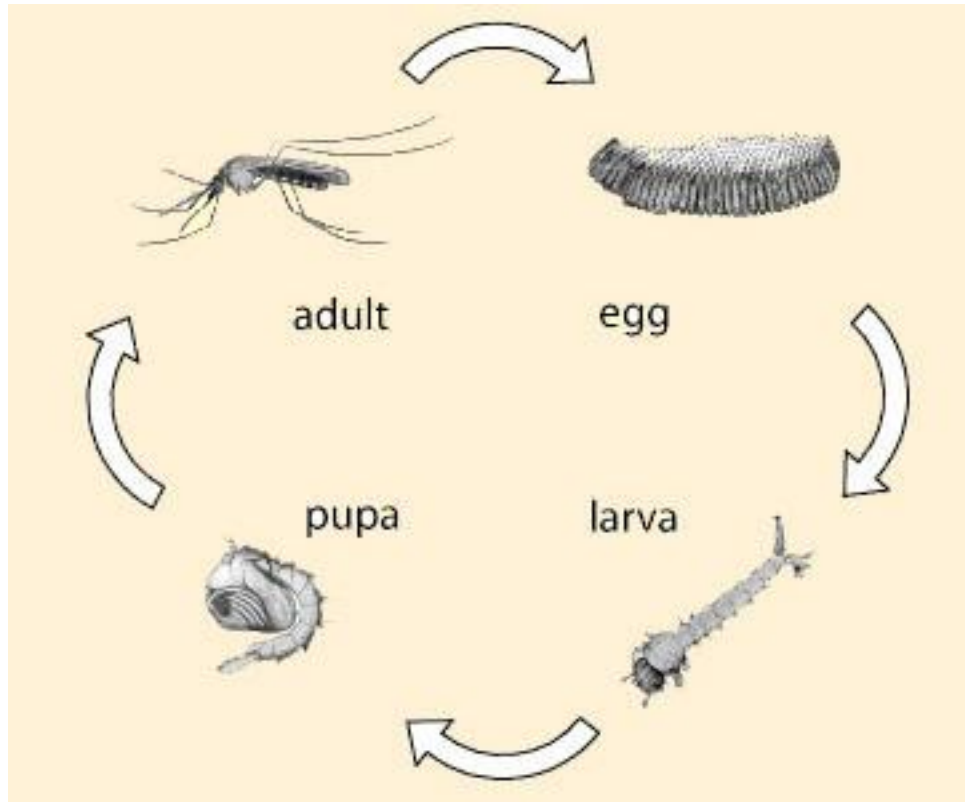


Εικόνα 1: Περιοχές στις οποίες έχει εντοπιστεί το είδος *Aedes albopictus*
 (Πηγή φωτογραφίας: http://www.conops.gr/wp-content/uploads/map_greece.jpg)

2. ΤΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ

2.1. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

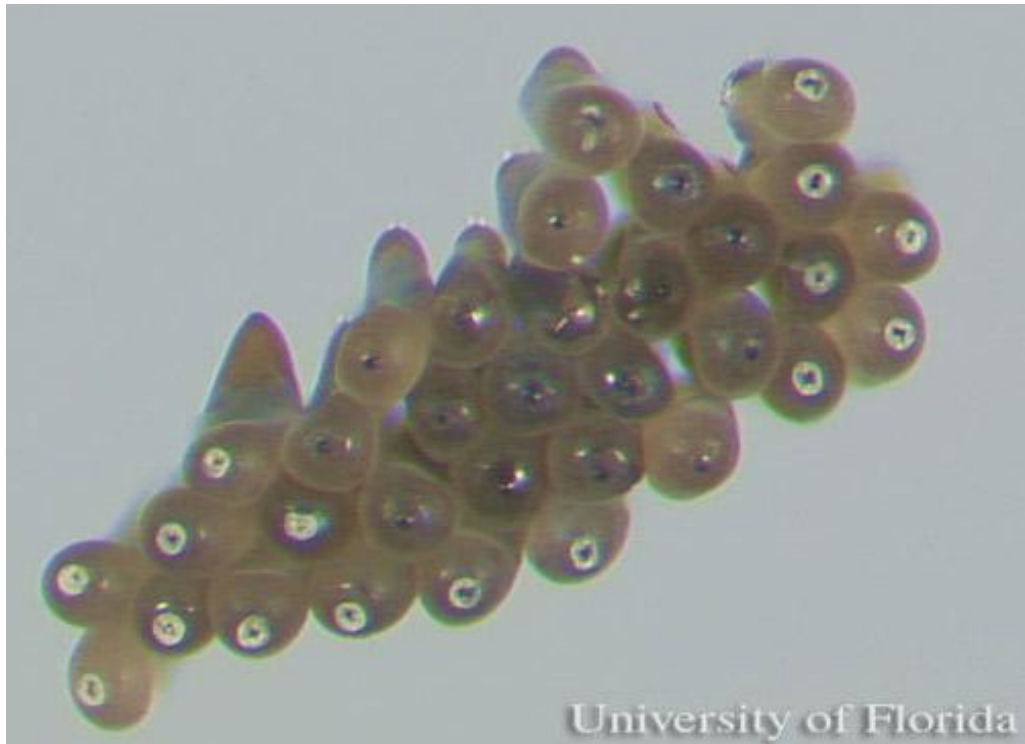
Ο βιολογικός κύκλος των κουνουπιών ξεκινάει με τα αυγά. Από τα αυγά εκκολάπτονται οι προνύμφες οι οποίες είναι υποχρεωτικά υδρόβιες. Επόμενο στάδιο είναι οι πλαγγόνες οι οποίες επειδή κινούνται στο νερό ονομάζονται καταχρηστικά νύμφες από τους ειδικούς και ζουν επίσης στο νερό. Ο βιολογικός κύκλος ολοκληρώνεται με τα ενήλικα, τα γνωστά σε όλους στην εμφάνιση κουνούπια (Εικ. 2) (Πηγή: <http://www.mosquitoes.org/LifeCycle.html>).



Εικόνα 2: Ο βιολογικός Κύκλος των κουνουπιών με τα τέσσερα στάδια
(Πηγή: <http://www.mosquitoes.org/LifeCycle.html>).

2.1.1.ΑΥΓΟ

Τα αυγά είναι λεία και επιμήκη. Ανάλογα με το γένος στο οποίο ανήκουν έχουν διάφορους χρωματισμούς και εναποτίθενται είτε μεμονωμένα είτε όλα μαζί στις λεγόμενες σχεδίες. Συγκεκριμένα στο γένος *Anopheles* (Εικ 4) τα αυγά εναποτίθεντο μεμονωμένα στην επιφάνεια του νερού και το χρώμα τους είναι σκουρό. Στο γένος *Culex* τα αυγά έχουν ανοιχτόχρωμο χρωματισμό και αποτίθενται πολλά μαζί σε σχεδίες (Εικ. 3) και σε φύλλα πάνω στην επιφάνεια του νερού. Τα κουνούπια που ανήκουν στα γένη *Aedes* και *Ochlerotatus* αποθέτουν τα πολύ μικρά αυγά τους στο υγρό χόμα κοντά στις θέσεις ανάπτυξης των προνυμφών (Πηγή: <http://www.mosquitoes.org/LifeCycle.html>).



Εικόνα 3: Αυγά *Culex* sp τα οποία αποτίθενται σε σχεδίες στην επιφάνεια του νερού
(Πηγή: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/southern_house_mosquito.htm).



Εικόνα 4: Αυγά *Anopheles* sp τα οποία αποτίθενται μεμονωμένα στην επιφάνεια του νερού.
(Πηγή: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/southern_house_mosquito.htm).

2.1.2.ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ

Οι προνύμφες είναι υδρόβιες και μοιάζουν, όπως προαναφέρθηκε, με μικρά σκουλήκια τα οποία έχουν μια χαρακτηριστική κίνηση μέσα στο νερό. Είναι ευκέφαλες άποδες και αποτελούν εξαίρεση στη τάξη των δίπτερων (οι προνύμφες των δίπτερων είναι κατά κανόνα ακέφαλες άποδες). Φέρουν ένα αναπνευστικό σιφόνι (εικ. 5) το οποίο και πλησιάζουν στην επιφάνεια του νερού για να αναπνεύσουν χρησιμοποιώντας το οξυγόνο της ατμόσφαιρας (Πηγή: <http://www.mosquitoes.org/LifeCycle.html>).



Εικόνα 5: Προνύμφες κουνουπιών κάτω από την επιφάνεια του νερού

(Πηγή: <http://www.theguardian.com/environment/2013/aug/28/crook-county-durham-mosquito-larvae-expressions>).

2.1.3.ΠΛΑΓΓΟΝΕΣ (ΝΥΜΦΕΣ)

Οι νύμφες είναι και αυτές υδρόβιες σαν τις προνύμφες. Σε αντίθεση με τις πλαγγόνες άλλων δίπτερων έχουν την ικανότητα να μετακινούνται μέσα στο νερό. Ανάλογα με το είδος έχουν διαφορετικούς χρωματισμούς αλλά κυρίως είναι ανοιχτόχρωμες (Πηγή: <http://www.mosquitoes.org/LifeCycle.html>).



Εικόνα 6: Νύμφη κουνουπιού (πλαγγόνα) κάτω από την επιφάνεια του νερού
(Πηγή: http://medent.usyd.edu.au/arbovirus/mosquit/photos/mansonia_uniformis_pupa.jpg).

2.1.4.ΕΝΗΛΙΚΑ

Είναι λεπτά έντομα με μακρύ σώμα το οποίο αποτελείται από λέπια και μακριά πόδια που τα χρησιμοποιεί μόνο για στήριξη. Αποτελούνται από ένα ζεύγος πετερόγων που είναι μεμβρανοειδείς, τα στοματικά τους μόρια είναι νύσσαντος μυζητικού τύπου και οι κεραίες στα αρσενικά είναι πετεροειδείς ενώ στα θηλυκά νηματοειδείς τριχωτές. Αυτά που νύσσουν είναι τα θηλυκά τα οποία χρησιμοποιούν το αίμα για να ωοτοκήσουν. Αυτό επιτυγχάνεται με τη μακριά προβοσκίδα την οποία έχουν, ενώ το πιο σημαντικό εξάρτημα τους είναι τα γλωσσίδα τα οποία βρίσκονται στο κάτω χείλος (Πηγή: <http://www.mosquitoes.org/LifeCycle.html>).



Εικόνα 7: *Aedes albopictus*

(Πηγή: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/asian_tiger.htm).



Εικόνα 8: *Culex pipiens*

(Πηγή: http://influentialpoints.com/Gallery/Mosquitoes_and_Biting_Midges.htm).

2.2.ΚΥΡΙΟΤΕΡΑ ΓΕΝΗ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Στην Ελλάδα μετά από έρευνες που πραγματοποιήθηκαν από το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, σε συνεργασία με το Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, έχουν καταγραφεί 60 είδη που ταξινομούνται σε 7 γένη: *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia*, *Culiseta*, *Uranotaenia* & *Ochlerotatus* από τα οποία αυτά που βρέθηκαν σε μεγαλύτερους πληθυσμούς είναι τα εξής:

Γένος *Anopheles*: Κύριες θέσεις αναπαραγωγής: καθαρά στάσιμα νερά εκτεθειμένα στον ήλιο με πλούσια υδρόβια βλάστηση, ορυζώνες. Τα περισσότερα είδη παρουσιάζουν σχετική ανθεκτικότητα στο αλάτι και μπορούν να βρεθούν σε παραθαλάσσιους βάλτους και έλη ικανότητα πτήσης 2-5 km. Τσιμπάει από το σούρουπο μέχρι το χάραμα, καθ' όλη τη διάρκεια της νύχτας. Τα κουνούπια του γένους *Anopheles* είναι τα σημαντικότερα για την Ελλάδα ως ενδιάμεσοι ξενιστές της ελονοσίας (Πηγή: <http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes/>).

Γένος *Aedes*: Το σώμα της προνύμφης σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια του νερού. Οι προνύμφες αναπτύσσονται σε πολύ μικρές φυσικές ή τεχνητές συγκεντρώσεις νερού όπως κοιλότητες δέντρων, γλάστρες, κουτιά από κονσέρβες, βάζα, κουβάδες, σπασμένα μπουκάλια, ή πεταμένα λάστιχα αυτοκινήτων. Τα κουνούπια του γένους *Aedes* παρουσιάζουν μεγάλο υγειονομικό ενδιαφέρον ως ενδιάμεσοι ξενιστές του κίτρινου πυρετού, του δάγκειου, της φιλαρίασης και των ιογενών εγκεφαλίτιδων. (Πηγή: <http://www.mosquitoes.org/Aedes.html>)

Γένος *Culex*: Οι προνύμφες συχνά βρίσκονται και σε συγκεντρώσεις νερού που προέρχονται από τον άνθρωπο, όπως οικόπεδα υπό κατασκευή, βαρέλια νερού, κονσερβοκούτια, μεταλλικά ντεπόζιτα, διακοσμητικές λιμνούλες, δοχεία στους κήπους και ανθοδοχεία και οποιαδήποτε ποσότητα νερού μείνει στάσιμη από ανθρώπινη δραστηριότητα. Αντέχουν και σε νερά με μια μικρή ποσότητα αλατιού (ελαφρώς υφάλμυρα) και μπορούν να βρεθούν επίσης σε τρύπες βράχων. Το γένος *Culex* περιέχει είδη που είναι ενδιάμεσοι ξενιστές πολλών αρμποϊών και της φιλαρίασης. Τα κουνούπια του γένους *Culex* είναι τα πιο ενοχλητικά για τους κατοίκους των πόλεων. (Πηγή: http://www.wrbu.org/SpeciesPages_non-ANO/non-ANO_A-hab/CXgel_hab.html)

2.3.ΒΙΟΟΙΚΟΛΟΓΙΑ

Η γνώση της βιοοικολογίας των κουνουπιών αποτελεί το βασικότερο στοιχείο για την αποτελεσματική αντιμετώπιση τους μέσα από προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης τους για αυτό και μελετάται από τους ειδικούς εκτενώς.

Ανάλογα με το είδος του ξενιστή που προτιμούν για τη λήψη αίματος διακρίνονται σε ανθρωπόφιλα (είδη με βασικό ξενιστή τον άνθρωπο), ζωόφιλα (κυρίως θηλαστικά), ορνιθοφιλα (πτηνά), ερπετόφιλα (ερπετά), κ.λ.π. Ανάλογα με τα σημεία όπου αναζητούν τον ξενιστή τους διακρίνονται οικοδίαιτα (προτιμούν τα σπίτια για αναζήτηση ξενιστή) ή αγροδίαιτα (τα συναντάμε στην ύπαιθρο), ενδόφιλα και εξώφιλα (προτιμούν εσωτερικούς ή

εξωτερικούς χώρους αντίστοιχα, για την ανάπαυση τους μετά την αιμοληψία ή κατά την διάρκεια της ημέρας). Ανάλογα με το μέγεθος του χώρου που χρειάζονται για την πτήση κατά τη σύζευξη διακρίνονται σε στενόγαμα και ευρύγαμα και με βάση το χρόνο δραστηριοποίησης των τέλειων εντόμων σε νυκτόβια και ημερόβια είδη (Colpitts et al, 2012).

Ο αριθμός των ωών που μπορεί να γεννήσει ένα θηλυκό κουνούπι σε κανονικές συνθήκες εξαρτάται από το είδος και κυμαίνεται από 40-500 και η ωοτοκία γίνεται σε υδάτινες συλλογές που επιλέγονται ειδικά από τα θηλυκά. Οι προνύμφες τρέφονται με μικροοργανισμούς ή μικροσκοπικά σωματίδια οργανικής ύλης που επιπλέουν, αιωρούνται ή υπάρχουν στον πυθμένα του νερού της εστίας. Η ανάπτυξη των προνυμφών ολοκληρώνεται σε 4 στάδια. Η ανάπτυξη της νύμφης αρχίζει μέσα στην προνύμφη του 4ου σταδίου. Μέσα στο νερό η νύμφη κολυμπά με πολύ χαρακτηριστική κίνηση πάνω κάτω και δεν λαμβάνει τροφή ούτε μεταβάλλεται σε μέγεθος. Η δραστηριότητα τους έχει να κάνει με τη θερμοκρασία και την υγρασία του αέρα. Έτσι τις πρώτες πρωινές, τις πρώτες νυχτερινές ώρες και κατά τη διάρκεια της νύχτας τα περισσότερα είδη είναι πιο ενεργητικά και τσιμπούν, αλλά υπάρχουν και είδη που τσιμπούν και όλο το εικοσιτετράωρο. Τα κουνούπια τρέφονται με νέκταρ ή γύρη που βρίσκουν στη φύση, όμως τα θηλυκά χρειάζονται και αίμα προκειμένου να μπορέσουν να κάνουν αβγά. Εφόσον το θηλυκό πραγματοποιήσει ένα γεύμα αίματος τότε ωριμάζουν τα αβγά του τα οποία και τοποθετεί στην επιφάνεια του νερού και στη συνέχεια εκκολάπτονται οι προνύμφες που τρέφονται με διάφορα οργανικά υπολείμματα που υπάρχουν στο νερό (Olsen et al., 1989).

Τα κουνούπια ερεθίζονται και προσελκύνονται από την κίνηση, από τη σωματική θερμότητα, από την υγρασία και το διοξείδιο του άνθρακα που εκπνέεται με την αναπνοή. Το σφύριγμα που κάνουν προέρχεται από το συγχρονισμένο τους φτερούγισμα. Στον άνεμο τα κουνούπια δεν παρουσιάζουν αντίσταση και με αυτόν μπορούν να μεταφερθούν σε πολύ μακρινές αποστάσεις (Olsen et al., 1989).

2.4.ΕΣΤΙΕΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

Δυνητική εστία ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών προκαλεί η στασιμότητα του νερού είτε από φυσικές εστίες, όπως υφάλμυρα παράκτια έλη αρδευτικά ή αποστραγγιστικά, ρέματα και ανοικτά κανάλια, εξίσου και ανοικτά κανάλια διοχέτευσης λημμάτων, μικρά ποτάμια ή μικρές λίμνες και επίσης αποχετεύσεις όμβριων υδάτων, φυσικές κοιλοότητες δένδρων, είτε από τεχνητές εστίες όπως δοχεία μεταφοράς ή φύλαξης νερού, δοχεία με μεγάλο άνοιγμα (καροτσάκια, λεκάνες πλυσίματος, βάρκες, βαρέλια), δοχεία με στενό άνοιγμα (ανθοδοχεία,

βάζα, κονσερβοκούτια, μπουκάλια κλπ), από πισίνες που δεν συντηρούνται, σιντριβάνια, διακοσμητικές λιμνούλες, διαρροές από αρδευτικά συστήματα, αντικείμενα που συγκρατούν νερό (πιατάκια γλαστρών, υδρορροές, σωλήνες κλπ), ποτίστρες ζώων, παλιά ελαστικά αυτοκινήτων, πηγάδια (πηγή: http://mosquito.ifas.ufl.edu/Mosquito_Biology.htm).



Εικόνα 9: Εστίες ανάπτυξης Προνυμφών κουνουπιών

2.5. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Η αντιμετώπιση των κουνουπιών διενεργείται από τις κατά τόπους περιφέρειες με ανάθεση εργολαβίας σε ιδιώτες για ψεκασμούς υδάτων –δυσνητικών εστιών των κουνουπιών. Πριν τη διενέργεια του διαγωνισμού για τον ορισμό αναδόχου για τις προνυμφοκτονίες απαιτείται η δημιουργία σχεδίου ολοκληρωμένης διαχείρισης του προβλήματος (Πηγή: <http://www.keelpno.gr/>).

2.5.1. ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ

Η αποξήρανση ελωδών περιοχών ήταν πάντα ένα ζητούμενο στην κουνουποκτονία. Ο περιορισμός των μεγάλων εστιών ανάπτυξης επετεύχθη σε πολλές περιοχές στο παρελθόν με την αποστράγγιση ή επιχωμάτωση του εδάφους, με την απομάκρυνση της βλάστησης από τις εστίες αυτές ώστε η ροή του νερού να είναι συνεχείς όπως ένα ρυάκι το οποίο καταλήγει σε λιμνάζοντα νερά. Κατά καιρούς στο παρελθόν έχουν γίνει και προσπάθειες κάλυψης των μικρών εστιών. Παράδειγμα αποξήρανσης έλους αποτελεί ένα μεγάλος έλος που υπήρχε στην περιοχή της Γεωργιούπολης στο Νομό Χανίων και αποξηράνθηκε τον 19^ο αιώνα (Πηγή: <http://www.explorecrete.com/crete-west/GR-georgiopolis-istoria.html>).

Προσπάθειες έχουν γίνει και για την εξαπόλυση και πολλών προνυμοφάγων οργανισμών σε μεγάλες φυσικές εστίες όπως μύκητες, νηματώδεις αλλά ακόμα και από ένα είδος ψαριού που τρέφεται από προνύμφες κουνουπιών το *Gambusia affinis*. Το συγκεκριμένο είδος έχει εγκατασταθεί πολύ καλά στη λίμνη του Κουρνά, στο Νομό Χανίων (Τιγκιλής, 2007).



Εικόνα 10: Η λίμνη Κουρνά στην οποία έχει εγκατασταθεί με επιτυχία το *Gambusia affinis*.

2.5.2. ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΙΑ ΚΑΙ ΑΚΜΑΙΟΚΤΟΝΙΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ ΑΠΟ ΤΙΣ ΚΑΤΑ ΤΟΠΟΥΣ ΠΕΡΙΦΕΡΕΙΕΣ

Όπως προαναφέρθηκε η αντιμετώπιση των κουνουπιών γίνεται από την Περιφέρεια με την ανάθεση εργολαβίας σε ιδιώτη. Βασικός στόχος της ενέργειας είναι η αντιμετώπιση των προνυμφών και δευτερευόντως των ενηλίκων εντόμων. Αντικείμενα της ενεργείας αυτής είναι (Πηγή: http://www.pthes.gov.gr/data/diak_prokir/2014/diak572a.pdf):

- Η διενέργεια δειγματοληψιών και η συγκέντρωση των αποτελεσμάτων σε βάση δεδομένων για την παρακολούθηση της εξέλιξης του πληθυσμού των προνυμφών και των ενήλικων εντόμων.
- Η πραγματοποίηση επίγειων και από αέρος ψεκασμών για την καταπολέμηση των προνυμφών των κουνουπιών και των ενήλικων κουνουπιών.
- Η προμήθεια και διάθεση για τις ανάγκες του έργου, εγκεκριμένων σκευασμάτων.

Η πραγματοποίηση ψεκαστικών παρεμβάσεων από εδάφους και αέρος καθώς και τις απαιτούμενες υποστηρικτικές ενέργειες για την καλή εκτέλεση του έργου με στόχο την διασφάλιση της δημόσιας υγείας και της ποιότητας ζωής των κατοίκων.



Εικόνα 11: Ψεκασμός από εργολάβο στο Ν. Μαγνησίας (Πηγή: <http://magnesianews.gr/magnisia>)

Εγκεκριμένες δραστικές ουσίες για προνυμφοκτονία είναι οι παρακάτω (Πηγή: <https://diavgeia.gov.gr/doc/BEATΘ-ΞΕ0>):

- **Diflubenzuron.** Πρόκειται για εντομοκτόνο που ανήκει στην κατηγορία των ρυθμιστών ανάπτυξης. Εγκεκριμένα σκευάσματα για τη χώρα μας είναι τα ακόλουθα: DU-DIM 15 SC, DU-DIM 2 DT, DU-DIM 2 GR, OPRAH 15 SC, OPRAH 2 DT, Diflubenzuron-ZAPI 10 SC, Diflubenzuron-ZAPI 2 DT (Πηγή: <https://diavgeia.gov.gr/doc/BEATΘ-ΞΕ0>).

- Τα προνυμφοκτόνα σκεύασματα Vectobac 12 SC και BITOR με δραστική ουσία το βιολογικό παράγοντα *Bacillus thuringiensis* (Bti) έχουν οριστική έγκριση κυκλοφορίας στη χώρα μας βάση της οποίας επιτρέπεται η χρήση τους και σε ορυζώνες.
- Το προνυμφοκτόνο σκεύασμα BIOPREN BM 20 EC με δραστική ουσία s-methoprene έχει προσωρινή έγκριση στη χώρα μας βάση της οποίας επιτρέπεται η χρήση του και σε ορυζώνες.

Η ακμαιοκτονία είναι το τελευταίο στάδιο που χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση των κουνουπιών όταν η προνυμφοκτονία δεν έχει φέρει τα αναμενόμενα αποτελέσματα. Οι εναλλακτικές μεθόδους είναι οι υπολειμματικοί ψεκασμοί με τη ψεκασμούς επιφανειών ή με εκνεφώσεις, σε κατοικημένες περιοχές, ψεκασμοί με υπέρμικρου όγκου ULV μόνο όταν το πρόβλημα έχει φτάσει στο απροχώρητο και σε περιοχές που τα κρούσματα είναι περισσότερα. Τέλος, εφαρμογή ακμαιοκτόνων βιοκτόνων με υπολειμματικούς ψεκασμούς εντός οικιών επιτρέπεται μόνο σε έκτατες συνθήκες που απειλείται η Δημόσια Υγεία. Τα εγκεκριμένα σκεύασματα που χρησιμοποιούνται εναντίον των κουνουπιών αλλά όταν αυτά βρίσκονται στο στάδιο του ενήλικου με υπολειμματικούς ψεκασμούς επιφανειών (όχι υδάτινων επιφανειών) και μόνο από εδάφους είναι τα ακόλουθα (Πηγή: <https://diavgeia.gov.gr/doc/BEATΘ-ΞΕ0>):

- Imperator 25 EC με δραστική ουσία permethrinb 25 % w/v.
- Icon 2,5 CS με δραστική ουσία lamda cyhalothrin 2.5 % w/v
- STEEL 25 EC με δραστική ουσία permethrin 25 % w/v
- AlphaCypermethrin FARMA-CHEM 6 CS με δραστική ουσία alpha cypermethrin 0 % w/v
- K-OTHRINE WP με δραστική ουσία deltamethrin 2,5% w/w
- Deltamethrin FARMA-CHEM 2.5 WP με δραστική ουσία deltamethrin 2.5 % w/w
- Fendona 6 SC με δραστική ουσία alpha-cypermethrin 6 % w/v
- Attack 25 WP με δραστική ουσία permethrin 25 % w/w
- Segethrin 2,5 WP με δραστική ουσία deltamethrin 2.5 % w/w
- Canasta 1,5 SC με δραστική ουσία alpha-cypermethrin 1.5 % w/w
- Result 6 SC με δραστική ουσία alpha-cypermethrin 6 % w/v
- Ianos 25 EC με δραστική ουσία permethrin 25 % w/v
- Solfac 50 EW με δραστική ουσία cyfluthrin 5% w/v
- Trianos 2,5 WP με δραστική ουσία deltamethrin 2.5 % w/w

- Power AC με δραστική ουσία alpha-cypermethrin 6,24% w/v
- Dobil Microcap 3 CS με δραστική ουσία bifenthrin 2.97% w/v. T

2.5.3. ΟΡΓΑΝΩΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΩΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ ΣΕ ΜΙΑ ΠΕΡΙΟΧΗ

Δεδομένου το γεγονός ότι πρόκειται για εφαρμογές οι οποίες πρέπει να καλύπτουν μεγάλες εκτάσεις σε συγκεκριμένο χρονικό διαστήματα η επιτυχής οργάνωση προϋποθέτει μια πλειάδα επιμέρους ενεργειών οι οποίες είναι απαραίτητες για να λυθούν πρακτικά θέματα για την επιτυχή αντιμετώπιση των κουνουπιών σε μία μεγάλη περιοχή:

1. Την έγκαιρη εξασφάλιση των απαραίτητων κονδυλίων.
2. Την έγκαιρη έναρξη των διαδικασιών για τον ορισμό των αναδόχων (που θα υλοποιήσουν τα επιμέρους έργα αντιμετώπισης)
3. Τον ορισμό του φορέα ή των φορέων επίβλεψης των έργων (που πρέπει σαφώς να είναι διαφορετικοί από τους φορείς που πραγματοποιούν τις επεμβάσεις καταπολέμησης).

Για το σωστό σχεδιασμό είναι απαραίτητο να αξιολογηθούν όλα τα διαθέσιμα στοιχεία από προηγούμενες χρονιές συμπεριλαμβανομένων δεδομένων για την επιδημιολογία των ασθενειών, της παρουσίας των διαφόρων ειδών κουνουπιών και της εποχικής διακύμανσης των πληθυσμών τους δεδομένων από την παλαιότερη χαρτογράφηση όλων των εστιών ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών και τέλος στοιχεία για τη συμπεριφορά των ενήλικων κουνουπιών και των σημείων ανάπαυσης ή διαχείμανσης τους.

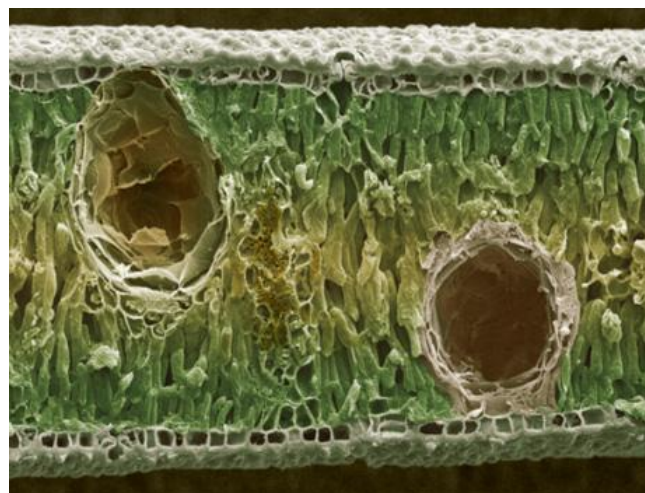
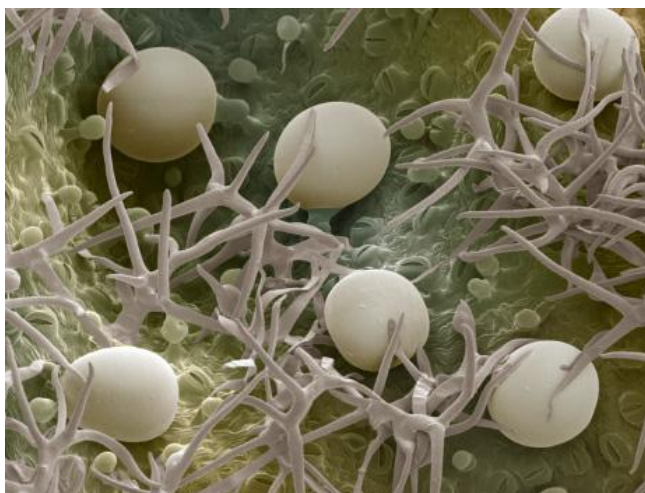
3.ΤΑ ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

3.1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Αιθέρια έλαια θεωρείται η ομάδα των αρωματικών πτητικών ουσιών, οι οποίες είναι διαλυτές στην αλκοόλη, λιγότερο διαλυτές στο νερό και αποτελούνται από ένα μίγμα εστέρων, αλδεϋδών, κετονών και τερπενίων στη μεγαλύτερη τους αναλογία. Τα τερπένια είναι μικρά οργανικά μόρια που εμφανίζουν τεράστια ποικιλομορφία ως προς τη δομή τους. Σήμερα είναι γνωστή η δομή χιλιάδων τερπενίων, μερικά από αυτά είναι υδρογονάνθρακες, άλλα περιέχουν άτομα οξυγόνου, άλλα είναι κυκλικές και άλλα μη κυκλικές οργανικές ενώσεις. Η σύνθεση των αιθερίων ελαίων είναι αποτέλεσμα αποκλειστικά φυσικών ενζυμικών αντιδράσεων. Το χαρακτηριστικό άρωμα κάθε αιθέριου ελαίου είναι συνισταμένη όλων των συστατικών του, αλλά πολλές φορές η παρουσία ενός μόνο συστατικού σε

αναλογία 1% ή και μικρότερη, έχει ως αποτέλεσμα την αλλαγή του αρώματος. Από χημική άποψη, τα φυτικά αιθέρια έλαια αποτελούνται κυρίως από τερπένια (Hargreaves, 1975).

Στα φυτά η παραγωγή των αιθερίων ελαίων γίνεται σε εξωτερικούς και εσωτερικούς ειδικευμένους εκκριτικούς σχηματισμούς, όπως τα ελαιοφόρα δοχεία, αδενώδη τοιχώματα, ελαιοφόροι πόροι και ιδιόβλαστα ελαιοκύτταρα (Πηγή: <http://www.naha.org/explore-aromatherapy/about-aromatherapy/what-are-essential-oils/>).



Εικόνα 12: Εξωτερικός (αριστερά) και εσωτερικός (δεξιά) εκκριτικός σχηματισμός παραγωγής αιθερίων ελαίων (πηγή: <http://www.naha.org/explore-aromatherapy/about-aromatherapy/what-are-essential-oils/>)

3.2.ΙΣΤΟΡΙΚΗ ΑΝΑΔΡΟΜΗ

Το πρώτο αιθέριο έλαιο, που αποστάχθηκε με πρωτόγονο τρόπο, ήταν το τερεβινθέλαιο που βγαίνει από το ρετσίνι των κωνοφόρων δένδρων. Για να εξάγουν τα αιθέρια έλαια από τα άνθη, τα φύλλα και τις ρίζες, τοποθετούσαν τα φυτικά αυτά τμήματα μέσα σε δοχεία, που περιείχαν λίπος εκλεκτής ποιότητας(φυτικό ή ζωικό) και τα άφηναν στον ήλιο για κάποιο χρονικό διάστημα. Με την αφαίρεση του λίπους, το προϊόν που παρέμενε ήταν μια αρωματική αλοιφή. Η πρώτη λεπτομερής περιγραφή απόσταξης αιθερίων ελαίων, ανήκει στον Καταλανό γιατρό Arnald de Villanova (1235-1311). Η απόσταξη, ως μέθοδος παραλαβής αιθέριου ελαίου από τα φυτά, με τη βοήθεια της θερμότητας, πραγματοποιήθηκε από τον Ελβετό Bombastus Paracelsus von Honhehheim (1493-1541). Μέχρι το 18^ο αι. αρκετοί ερευνητές, κυρίως φαρμακοποιοί, ασχολήθηκαν και περιέγραψαν τη φύση και τις

μεθόδους παραλαβής των αιθερίων ελαίων. Ο 18ος αι. μπορεί να χαρακτηριστεί ως ο αιώνας των Άγγλων βοτανολόγων (Firenzuoli et al, 2014).

Οι αρχαίοι Έλληνες και οι Ρωμαίοι χρησιμοποιούσαν όλα σχεδόν τα αρωματικά φυτά σαν αρτύματα και για τον αρωματισμό του κρασιού. Η εμπορία των αιθερίων ελαίων ξεκίνησε από την Ασία, πριν από 6000-7000 χρόνια, από τους Κινέζους και συνεχίστηκε από τους Άραβες οι οποίοι το μετέφεραν στην Ευρώπη. Η μέθοδος της απόσταξης για την παραγωγή και απομόνωση των αιθερίων ελαίων, εφαρμόστηκε για πρώτη φορά από ανατολικούς λαούς και ιδίως από τους Ινδούς, Πέρσες και Αιγυπτίους. Από το 7000 π. Χ. έως το 4000 π. Χ. τα λιπαρά έλαια από ελιά και σουσάμι πιστεύεται ότι έχουν συνδυαστεί με αρωματικά φυτά για να δημιουργήσουν τις πρώτες αλοιφές στη Νεολιθική Εποχή το 3000 π. Χ. (Πηγή: <http://www.Essentialoils.co.za/history-essential-oils.htm>).

Καθώς οι Αιγύπτιοι μαθαίνουν να γράφουν και να κάνουν τούβλα, είχαν ήδη εισάγει μεγάλες ποσότητες μύρου. Κατά πάσα πιθανότητα το εμπόριο ξεκίνησε με τα μπαχαρικά, το κόμμι και άλλα αρωματικά φυτά, που κυρίως προορίζονταν για θρησκευτικούς σκοπούς.

Σε σύγχρονη αρχαιολογική αποστολή, το 1975 στην κοιλάδα του Ινδού ποταμού, ο Δρ. Paolo Rovesti βρήκε ασυνήθιστη συσκευή από τερακότα, που βρίσκεται σήμερα στο μουσείο Τάξιλα, μαζί με άλλα δοχεία αρωμάτων και ελαίων. Έμοιαζε με πρωτόγονη συσκευή απόσταξης, αν και η ταμπέλα που το χρονολογούσε στο 3000 π. Χ. το τοποθετούσε χρονολογικά 4000 χρόνια νωρίτερα από ότι μαρτυρούν οι περισσότερες πηγές ως ημερομηνία της εφεύρεσης της απόσταξης. Στη συνέχεια ανακαλύφθηκε στο Αφγανιστάν συσκευή παρόμοιου σχεδιασμού, αναμφισβήτητα συσκευή απόσταξης, που χρονολογείται γύρω στο 2000 π. Χ. Το βιβλίο της Εξόδου (1200 π. Χ.) περιέχει τη συνταγή για το άγιο λάδι που δόθηκε στο Μωϋσή για τη μύηση των ιερέων: μύρο, κανέλα και καλάμι, αναμεμειγμένα με ελαιόλαδο. Παρά το γεγονός ότι ο Μωϋσής θέσπισε αυστηρή τιμωρία για όσους είχαν ιερά έλαια και θυμιάματα για κοσμική χρήση, τα αρωματικά έλαια δεν περιορίστηκαν σε θρησκευτική χρήση όπως μαθαίνουμε από βιβλία και τραγούδια της εποχής (Πηγή: <http://www.essentialoils.co.za/history-essential-oils.htm>).

Πρώτοι οι Αιγύπτιοι, σύμφωνα με ιστορικές μαρτυρίες, έκαigan λιβάνι για θεραπευτικούς σκοπούς. Κάπνιζαν τους ασθενείς τους αλλά και τον αέρα γύρω από αυτούς, για να τον απολυμάνουν. Αργότερα άλειβαν τους νεκρούς με αιθέρια έλαια για αντισηψία, και έχουμε παράδειγμα τις μούμιες του Φαραώ που σώζονται μέχρι σήμερα. Όλοι οι λαοί που ασχολήθηκαν με τη χρήση των αιθερίων ελαίων φαίνεται πως είχαν βαθιά γνώση των θεραπευτικών ιδιοτήτων των αντίστοιχων φυτών. Οι Κινέζοι είναι πιθανό να γνώριζαν

νωρίτερα από τους Αιγυπτίους τα μυστικά της αρωματοθεραπείας. Οι γνώσεις αυτές πέρασαν αργότερα στους Έλληνες και από αυτούς στους Ρωμαίους. Είναι γνωστό πως οι Αρχαίοι Έλληνες γιατροί χρησιμοποιούσαν τα αιθέρια έλαια, όπως ο Διοσκουρίδης κι ο Γαληνός, που διετέλεσαν προσωπικοί γιατροί Ρωμαίων Αυτοκρατόρων. Η ανακάλυψη πρωτόγονων αποστακτήρων τοποθετεί τη χρήση των αιθερίων ελαίων ακόμη παλαιότερα στο χρόνο, σε προϊστορικές εποχές. Οι γιατροί της κάθε εποχής είχαν με το μέρος τους τη φύση και τα φάρμακα που αυτή προσφέρει, τα αιθέρια έλαια, για να θεραπεύσουν πλήθος ασθενειών. Βασικό στοιχείο της θεραπευτικής που ασκούσαν ήταν η επιδίωξη της ισορροπίας κυκλοφορικού και λεμφικού συστήματος. Με τη διαρκή τόνωση των σημείων στο σώμα που δέχονται πιέσεις και εντάσεις καθημερινά, κατόρθωναν να απομακρύνουν τους κινδύνους που απειλούσαν την υγεία και ασθένειες που προσέβαλαν τον καταπονημένο οργανισμό. Στην Ελλάδα, πολύτιμα έλαια, αρώματα, καλλυντικά, σκιάς ματιών και βαφές δέρματος, μύρα ομορφιάς και βαφές μαλλιών ήταν σε καθολική χρήση. Εξαγωγή και πώληση των ειδών αυτών αποτέλεσαν σημαντικό μέρος των συναλλαγών γύρω από τη Μεσόγειο. Κατά τη διάρκεια του 8ου και 7ου αι π. Χ. Έλληνες έμποροι κυριαρχούν στις αγορές των αιθερίων ελαίων και αρωμάτων.

Όταν ο Μέγας Αλέξανδρος εισήλθε στην σκηνή του βασιλιά Δαρείου που νικήθηκε μετά τη μάχη της Ισσού, ο Αλέξανδρος πέταξε έξω το κουτί του βασιλιά που περιείχε ανεκτίμητης αξίας έλαια, αλοιφές και τα αρώματα. Κατά ειρωνικό τρόπο, αφού ο Αλέξανδρος ταξίδεψε εκτενώς στην Ασία, είχε τόσο εθιστεί σε αρωματισμένα έλαια που έκαιγε ένα αραβικό θυμίαμα στο θρόνο του συνεχώς. Έστειλε μοσχεύματα φυτών σε συμμαθητή του στην Αθήνα, από παντού όπου είχε ταξιδέψει. Ο συμμαθητής του τα μοσχεύματα τα χρησιμοποίησε για τη δημιουργία ενός βοτανικού κήπου στην Αθήνα.

3.3. ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΓΙΑ ΤΟ ΦΥΤΟ ΠΟΥ ΤΑ ΠΑΡΑΓΕΙ

Σχετικά με τη σημασία των αιθερίων ελαίων στα φυτά που τα παράγουν έχουν γίνει υποθέσεις, ενώ πραγματικός βιολογικός τους ρόλος ερευνάται ακόμα. Εικάζεται ότι τα φυτά παράγουν αιθέρια έλαια για να είναι ανταγωνιστικά έναντι άλλων φυτών και να προσελκύσουν επικονιαστές, να αναπτύξουν ένα μηχανισμό άμυνας απέναντι σε εχθρούς και άλλες θεωρίες οι οποίες δεν έχουν επιβεβαιωθεί πλήρως. Τα αιθέρια έλαια είναι πρόδρομες ουσίες δραστικών μεταβολιτών και μειώνουν την απώλεια του νερού με την διαπνοή.

Σημαντική είναι η βιολογική δράση των αιθερίων ελαίων ως αλληλοπαθητικών δραστικών ουσιών, απωθητικών ή ως προσελκυστικών, στην φυτοπαθογόνο/φυτοφάγο

αλληλεπίδραση. Παρατηρήθηκε ότι γύρω από αρωματικά φυτά, όπως η Σάλβια (*Salvia* sp) και η Αρτεμισία (*Artemisia* sp) δε φύτρωναν ετήσια φυτά σε διάμετρο 90 cm, ενώ σε απόσταση 2-6m η παρουσία τους ήταν περιορισμένη. Εξαιτίας αυτού του φαινομένου βρέθηκε ότι πτητικά συστατικά (κινεόλη, καμφορά, πινένιο, θουγιόνη) που απελευθερώνονται από τα φυτικά είδη δρουν ως αναστολείς της φύτρωσης στο εγγύς περιβάλλον των φυτών. Τα τερπενοειδή εκπέμπονται κατά τη διάρκεια θερμών περιόδων και συμπυκνώνονται στην επιφάνεια του εδάφους γύρω από τα φυτικά είδη (Kishan et al. 2001).. Μία ακόμη δράση που έχει παρατηρηθεί αφορά στην άμυνα και στην επούλωση πληγών σε είδη κωνοφόρων δέντρων. Σε συνδυασμό με τις ρητίνες που εκκρίνουν τα κωνοφόρα σε περίπτωση τραυματισμού, συντελούν στην επούλωση της πληγής και επομένως στην πρόληψη της εισόδου σε παθογόνους παράγοντες (Kishan et al. 2001).

Τα αιθέρια έλαια προσελκύουν τα έντομα, που μαζεύουν τη γύρη και βοηθούν έτσι στην αναπαραγωγή και επικονίαση. Επιπλέον πτητικά μονοτερπένια που εκκρίνονται κατά τη διάρκεια φυτοφάγου δραστηριότητας ή δραστηριότητας εντόμων λειτουργούν ως αποτρεπτικά ή αντιβιοτικά για τα φυτά, αλλά επίσης μπορούν να δράσουν και ως οδηγός για θηρευτές (π. χ. παρασιτικές σφήκες). Τέλος τα αιθέρια έλαια, λόγω των διαφόρων συστατικών που περιέχουν, έχουν αντισηπτικές ιδιότητες και ενεργούν κατά των βακτηρίων, των μυκήτων και των ζυμών. Φυτά σε ακραία περιβάλλοντα συχνά πρέπει να αντεπεξέλθουν σε ακραίες θερμοκρασίες. Η σύνδεση μεταξύ συγκέντρωσης ισοπρενίου (τερπένιο) και θερμοαντοχής οδήγησε στην εικασία ότι αυτά τα συστατικά αυξάνουν την αντοχή στη θερμότητα αλληλεπιδρώντας με τις μεμβράνες των φυτών. Μία παρόμοια δράση εικάζεται και για τις φυσιολογικές και φαρμακολογικές λειτουργίες στον άνθρωπο. Στη γεωπονική επιστήμη έχουν ήδη πρακτική εφαρμογή ως προαγωγοί της άνθησης, νηματωδοκτόνα, κ. α. Μέσα από τη διαδικασία της φυσικής επιλογής τα φυσικά προϊόντα διαθέτουν μοναδική και συντριπτική χημική ποικιλότητα και έχουν εξελιχθεί διαθέτοντας άριστη αλληλεπίδραση με τα βιολογικά μακρομόρια. Χάρη στην ποικιλότητα και την εξειδίκευση τα φυσικά προϊόντα παρουσιάζουν τεράστιες δυνατότητες ως ρυθμιστές μοριακών λειτουργιών, γεγονός που τα καθιστά βασική πηγή για την ανακάλυψη φαρμάκων και την παροχή σχεδιαστικών προτύπων για την κατασκευή συνθετικών μορίων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα φυτικού είδους που συνέβαλε στην καταπολέμηση της παιδικής λευχαιμίας είναι ο Καθάρανθος ο ρόδινος, *Catharanthus roseus*, (L.) G. Don. Ενώ, όσον αφορά τον τομέα των τροφίμων η χρήση των αιθερίων ελαίων ως συντηρητικών τροφίμων και φυσικών αντιοξειδωτικών ήταν διαδεδομένη παραδοσιακά στην τοπική κουζίνα και αξιοποιείται από τη βιομηχανία τροφίμων σήμερα.

3.4.ΦΥΣΙΚΕΣ ΙΔΙΟΤΗΤΕΣ

Τα αιθέρια έλαια βρίσκονται σε υγρή μορφή, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, αλλά γίνονται πτητικά σε θερμοκρασίες ζέσης (50-320 C). Λόγω της πτητικότητας έχουν χαρακτηριστικό άρωμα. Η πλειονότητα των αιθερίων ελαίων είναι σχεδόν άχρωμα και έχουν υψηλό δείκτη διάθλασης, με εξαίρεση το αιθέριο έλαιο της αρτεμισίας. Είναι διαλυτά στους περισσότερους οργανικούς διαλύτες αλλά έχουν πολύ μικρή διαλυτότητα στο νερό. Επίσης έχουν χαμηλότερη πυκνότητα από το νερό γεγονός που επιτρέπει το διαχωρισμό τους με υδροαπόσταξη, με ορισμένες εξαιρέσεις, όπως τα αιθέρια έλαια της κανέλας και του γαρύφαλλου (Firenzuoli et al, 2014).

3.5.ΧΗΜΙΚΗ ΠΟΙΚΙΛΟΤΗΤΑ

Τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν ετερογένεια. Συγκεκριμένα, περιέχουν πτητικά συστατικά κατά 85-99%, που είναι μίγμα από τερπενικές, τερπενοειδείς και άλλες αρωματικές και αλειφατικές ενώσεις. Τα τερπένια έχουν ως βάση μία αλυσίδα πενταμερούς άνθρακα (C5), το ισοπρένιο και χωρίζονται σε μονοτερπένια (MT) (C10) και σεσκιτερπένια (C15). Τα μονοτερπένια είναι το πιο σύνηθες συστατικό των αιθερίων ελαίων και ορισμένες φορές συνεισφέρουν έως και 90% στη συνολική σύσταση τους. Τα MT μπορούν να χωριστούν στις υποκατηγορίες υδρογονάνθρακες, αλκοόλες, κετόνες, κ. α. Γνωστά αιθέρια έλαια που ανήκουν στην κατηγορία των MT υδρογονανθράκων είναι το πινένιο και το λιμονένιο, που βρίσκονται άφθονα στην οικογένεια των κωνοφόρων και εσπεριδοειδών. Στις MT αλκοόλες ανήκουν η γερανιόλη, η λιναλόλη και η βορνεόλη, ενώ χαρακτηριστικά παραδείγματα MT κετονών είναι η καμφορά και η θουγιόνη. Τα σεσκιτερπένια απαντώνται κυρίως στις οικογένειες Zingiberaceae και Asteraceae. Παράδειγμα σεσκιτερπενίου είναι το β-εποξειδίο του καρνοφυλλενίου που βρίσκεται στο αιθέριο έλαιο του γαρύφαλλου και του φασκόμηλου. Υπάρχουν πάνω από 1. 000 μονοτερπένια και πιθανόν 3. 000 σεσκιτερπένια που έχουν προσδιοριστεί μέχρι στιγμής. Τέλος, σε μικρότερο ποσοστό συμμετέχουν στα αιθέρια έλαια οι αρωματικές ενώσεις της ομάδας του φαινυλοπροπανίου. Τυπικά μέλη αυτής της ομάδας είναι οι κουμαρίνες στις οποίες ανήκουν οι ενώσεις ανηθόλη ή εστραγκόλ, που βρίσκονται στην οικογένεια Apiaceae και Rutaceae. Άλλες τυπικές αρωματικές ουσίες είναι η ευγενόλη και η βανιλίνη.

3.5.1. ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ ΤΗΝ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ

Η χημική ταυτότητα των αρωματικών φυτών, αυτοφυών ή καλλιεργούμενων, προσδιορίζεται από την ποσότητα του αιθέριου ελαίου που παράγουν (απόδοση σε αιθέριο έλαιο: ml/100gr ξηρού βάρους φυτού) και από την ποιοτική και ποσοτική σύσταση αιθερίων ελαίων (δηλαδή το είδος των ενώσεων που συνιστούν το αιθέριο έλαιο και την εκατοστιαία συμμετοχή τους). Και οι δύο παράμετροι ποικίλουν τόσο στα αυτοφυή όσο και στα καλλιεργούμενα αρωματικά φυτά ως προς (Bilia et al, 2014):

- Τα διαφορετικά τμήματα των φυτών που παράγουν αιθέριο έλαιο. Συνήθως τα άνθη και τα φύλλα παράγουν τις μεγαλύτερες ποσότητες ενώ οι βλαστοί τη μικρότερη.
- Την εποχή συλλογής (εποχική ποικιλότητα). Όσον αφορά στην ποσότητα, κυρίως συνδέεται με τη φάση ανάπτυξης του φυτού, π. χ. το φασκόμηλο παράγει διπλάσια ποσότητα αιθέριου ελαίου κατά το καλοκαίρι από την άνοιξη που είναι η εποχή ανθοφορίας του. Αλλά και η σύστασή τους διαφοροποιείται κατά τη διάρκεια του έτους.
- Τη γεωγραφική-κλιματική ποικιλότητα. Μεγάλος βαθμός ποικιλότητας έχει καταγραφεί στους αυτοφυείς πληθυσμούς των αρωματικών φυτών ανάλογα με την περιοχή εξάπλωσής τους.

4. Ο ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΣ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΣ ΥΓΕΙΑΣ (WORLD HEALTH ORGANIZATION -WHO).

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας είναι η αρχή συντονισμού και έλεγχου για θέματα υγείας του οργανισμού Ηνωμένων Εθνών. Αρμοδιότητες του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας είναι να μεριμνήσει για τη λύση παγκόσμιων προβλημάτων υγείας η δημιουργία πρωτοκόλλων και προτύπων για θέματα υγείας, καθώς και η τεχνική υποστήριξη και παρακολούθηση μεμονωμένων περιπτώσεων κρατών ή/και περιοχών που αντιμετωπίζουν σοβαρά θέματα υγείας. Τα παραπάνω βασίζονται σε συγκέντρωση στοιχείων σε ότι αφορά έρευνες που γίνονται από ερευνητικά και εκπαιδευτικά ιδρύματα, στην επιλογή των σημαντικών ερευνητικών δεδομένων και στη δημιουργία μίας βάσης δεδομένων (Πηγή: <http://www.who.int/about/en/>).

Στα αρχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας υπάρχει και μία βάση δεδομένων που αφορά σε πρωτόκολλα δοκιμών αποτελεσματικότητας σκευασμάτων για την αντιμετώπιση εντόμων. Για να δοθεί άδεια κυκλοφορίας σε ένα σκεύασμα στη χώρα μας πρέπει να έχουν γίνει δοκιμές αποτελεσματικότητας από κάποιον διαπιστευμένο φορέα ο οποίος θα ακολουθήσει εγκεκριμένα πρωτόκολλα δοκιμών. Ένα από τα εγκεκριμένα πρωτόκολλα δοκιμών αποτελεσματικότητας το οποίο και χρησιμοποιείται σχεδόν αποκλειστικά στη χώρα μας είναι τα πρωτόκολλα του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας Ιδρύθηκε επίσημα το 1948 και εδρεύει στη Γενεύη (Πηγή: <http://el.wikipedia.org>).

4. 1. ΤΟ ΠΡΩΤΟΚΟΛΛΟ ΔΟΚΙΜΩΝ ΤΟΥ ΠΑΓΚΟΣΜΙΟΥ ΟΡΓΑΝΙΣΜΟΥ ΥΓΕΙΑΣ ΓΙΑ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ.

Αντικείμενο του πρωτοκόλλου είναι να παρέχει σαφείς και τυποποιημένες διαδικασίες για τον έλεγχο αποτελεσματικότητας των δυνητικών προνυμοφοκόνων ουσιών και των ρυθμιστών ανάπτυξης των προνυμφών. Για τη δημιουργία του πρωτοκόλλου εναρμονίστηκαν διάφορα πρότυπα δοκιμών από διαφορετικές χώρες και έτσι πρόεκυψαν πλήρεις και σαφείς οδηγίες δοκιμών. Μια πρώτη μορφή του πρωτοκόλλου παρουσιάστηκε τον Οκτώβριο του 1996 στη Γενεύη η οποία και τροποποιήθηκε και βελτιώθηκε το Δεκέμβριο του 2004 (World Health Organization, 2005).

Οι δοκιμές των ουσιών γίνονται σε τρεις φάσεις (World Health Organization, 2005) :

ΦΑΣΗ 1 → Μελέτη της ουσίας στο εργαστήριο

→ Αποτελεσματικότητα και δραστηριότητα της ουσίας

→ Προσδιορισμός της απαιτούμενης συγκέντρωσης και διασταυρούμενη ανθεκτικότητα

ΦΑΣΗ 2 → Μικρής κλίμακας δοκιμές στο πεδίο

→ Αποτελεσματικότητα υπό διαφορετικές οικολογικές συνθήκες

→ Μέθοδος εφαρμογής

→ Αρχική και υπολειμματική δραστηριότητα

→ Επίδραση σε οργανισμούς μη στόχους

ΦΑΣΗ 3 → Μεγάλης κλίμακας δοκιμές στο πεδίο

→ Αποτελεσματικότητα και ελλειμματικότητα

→ Αποδοχή από το ευρύ κοινό και τις αρχές

→ Επίδραση στους οργανισμούς μη στόχους

4. 1. 1. ΦΑΣΗ 1: ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

Αντικείμενο των βιοδοκιμών στο εργαστήριο είναι (World Health Organization, 2005) :

- Να προσδιοριστεί η επίδραση διαφόρων συγκεντρώσεων της προς μελέτη ουσίας στη θνησιμότητα των προνυμφών
- Να προσδιοριστεί η συγκέντρωση που θα επιφέρει το θάνατο του 50 % (LC₅₀) και του 90 % (LC₉₀) του δείγματος.
- Να προσδιοριστεί η συγκέντρωση ευαισθησίας, η συγκέντρωση δηλαδή που έχει την πρώτη έστω και ελάχιστη επίδραση στις προνύμφες.
- Να προσδιοριστεί η διασταυρούμενη ανθεκτικότητα με άλλα, συχνά χρησιμοποιούμενα, σκευάσματα.

Υλικά και Μέθοδοι

- Πιπέτα με δυνατότητα μέτρησης 100-1000 μl
- Πιπέτες γυάλινες 1ml
- Δοχεία 120 και 250 ml
- Σήτα για τα δοχεία
- Φύλλα καταγραφών
- Ογκομετρικός κύλινδρος
- Εξοπλισμός καταγραφής θερμοκρασίας και υγρασίας (Data Logger)

Ο πρόχειρος έλεγχος των συγκεντρώσεων

Πριν τη βιοδοκιμή πραγματοποιείται ένας πρόχειρος έλεγχος πολλών συγκεντρώσεων της προς εξέταση ουσίας για να διαπιστωθεί η δράση της, να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις που θα χρησιμοποιηθούν για τη βιοδοκιμή και να καθοριστεί ο διαλύτης (ακετόνη ή αιθανόλη). Κατά κανόνα η βιοδοκιμή αρχικά πραγματοποιείται με συγκεντρώσεις που έχουν μεταξύ τους λογαριθμική σχέση όπως για παράδειγμα 1, 10, 100 και 1000 ppm εκτός αν προκύψουν άλλα δεδομένα από τις πρόχειρες δοκιμές που έγιναν αρχικά (World Health Organization, 2005).

Η βιοδοκιμή

Για τη βιοδοκιμή απαιτείται η παρασκευή στοκ διαλύματος 1% σε ακετόνη ή αιθανόλη. Έτσι 0, 2 ml της υπό εξέταση ουσίας διαλύεται σε 19, 8 ml ακετόνης ή αιθανόλης και παρασκευάζεται έτσι 20 ml στοκ διάλυμα. Για τον έλεγχο κάθε πιθανής συγκέντρωσης απαιτούνται 3 επαναλήψεις (3 δοχεία) με 25 προνύμφες τρίτου ή τετάρτου σταδίου το κάθε ένα. Στη συνέχεια παρασκευάζονται η προς εξέταση συγκεντρώσεις ξεκινώντας από τη μικρότερη. Σε έναν ογκομετρικό κύλινδρο τοποθετείται η απαιτούμενη ποσότητα της ουσίας μαζί με απιονισμένο ή αποχλωριωμένο νερό έτσι ώστε να παρασκευαστεί διάλυμα της συγκεκριμένης συγκέντρωσης (μετρούμενο σε ppm). Για κάθε δοχείο απαιτούνται 100 με 200 ml από το τελικό διάλυμα με την προϋπόθεση ότι θα υπάρχει τουλάχιστον 5-10 cm βάθος για να κινηθούν οι προνύμφες. Κατά κανόνα σε κάθε βιοδοκιμή δοκιμάζονται 3-6 συγκεντρώσεις της ουσίας (3x3 ή 6x3 δοχεία) και 3 δοχεία μόνο με απιονισμένο ή αποχλωριωμένο νερό αποτελούν το μάρτυρα (Control). Από τις τρεις επαναλήψεις για την κάθε μεταχείριση εξάγεται ο μέσος όρος (World Health Organization, 2005).

Οι μετρήσεις λαμβάνονται 24 ώρες μετά. Για εντομοκτόνα αργής δράσης λαμβάνονται μετρήσεις και 48 ώρες μετά τις δοκιμές. Ωστόσο οι μετρήσεις τελειώνουν μόλις πεθάνει ή μεταμορφωθεί η τελευταία προνύμφη από τα δοχεία με τις συγκεντρώσεις. Στην περίπτωση που νυμφωθεί το 10% από κάποιο δοχείο το πείραμα επαναλαμβάνεται. Επίσης η βιοδοκιμή επαναλαμβάνεται στην περίπτωση που παρατηρηθεί θνησιμότητα πάνω από 20% στο μάρτυρα τότε επίσης επαναλαμβάνεται το πείραμα (World Health Organization, 2005).

Τα αποτελέσματα

Η διεξαγωγή των βιοδοκιμών έχει ως αποτέλεσμα να υπολογιστούν οι συγκεντρώσεις που θα έχουν ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 50%, του 90% και του 99% του πληθυσμού των προνυμφών σε 24 ώρες (LC₅₀, LC₉₀ και LC₉₉).

Ανεπιθύμητη είναι η νύμφωση των προνυμφών. Στην περίπτωση που νυμφωθεί το 10% του Μάρτυρα ή και παραπάνω το πείραμα πρέπει να επαναληφθεί. Ανεπιθύμητη είναι και η θνησιμότητα των προνυμφών του μάρτυρα. Στην περίπτωση που το ποσοστό θνησιμότητας είναι από 0-5% το πείραμα συνεχίζεται ως έχει. Στην περίπτωση που το ποσοστό θνησιμότητας είναι 5-20% απαιτείται η διόρθωση των αποτελεσμάτων με τον παρακάτω τύπο (World Health Organization, 2005).

$$\text{Mortality (\%)} = \frac{X-Y}{X} \cdot 100$$

Όπου X είναι το ποσοστό επιβίωσης στο μάρτυρα και όπου Y είναι το ποσοστό επιβίωσης στην κάθε μεταχείριση (ο μέσος όρος) (World Health Organization, 2005).

Στην περίπτωση που παρατηρηθεί θνησιμότητα στο Μάρτυρα πάνω από 20% τα αποτελέσματα δεν θεωρούνται έγκυρα και το πείραμα επαναλαμβάνεται.

Τα αποτελέσματα επεξεργάζονται στον υπολογιστή με στατιστική ανάλυση με λιγότερο από 25% διάστημα εμπιστοσύνης (World Health Organization, 2005).

Μετά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων πραγματοποιούνται και άλλες δοκιμές, με ενδιάμεσες κατάλληλες συγκεντρώσεις για τον προσδιορισμό της ακριβούς συγκέντρωσης που θα επιφέρει τη θανάτωση του 50%, του 90% και του 99% των προνυμφών.

Ο έλεγχος για διασταυρούμενη ανθεκτικότητα.

Η διασταυρούμενη ανθεκτικότητα εμφανίζεται όταν η ανθεκτικότητα που αποκτά ένας οργανισμός σε ένα εντομοκτόνο εμφανίζεται και ως ανθεκτικότητα σε ένα άλλο εντομοκτόνο, ακόμη και αν το έντομο δεν έχει εκτεθεί ποτέ σε αυτό.

Για να διαπιστωθεί ή όχι η ύπαρξη διασταυρούμενης ανθεκτικότητας η υπό δοκιμή ουσία εφαρμόζεται σε άγριους πληθυσμούς προνυμφών που είναι γνωστό ότι παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στα γνωστά και χρησιμοποιούμενα εντομοκτόνα και σε πληθυσμούς εργαστηρίου που είναι γνωστό ότι δεν παρουσιάζουν ανθεκτικότητα (World Health Organization, 2005).

4. 1. 2. ΦΑΣΗ 2: ΜΙΚΡΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΠΕΔΙΟΥ

Αντικείμενο των βιοδοκιμών πεδίου μικρής κλίμακας είναι (World Health Organization, 2005) :

- Να καταγραφεί η αποτελεσματικότητα και η υπολειμματική δράση υποψήφιων εντομοκτόνων σε διαφορετικές εστίες και οικολογικές συνθήκες.
- Να υπολογιστεί η κατάλληλη δόση εφαρμογής στις εστίες.
- Να καταγραφούν οι αβιοτικοί παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της ουσίας.

- Ναι πραγματοποιηθούν ποιοτικές μετρήσεις στους οργανισμούς μη στόχους.

Οι βιοδοκιμές

Αρχικά επιλέγονται οι εστίες οι οποίες πρέπει να είναι αντιπροσωπευτικές:

Δεξαμενές με στάσιμο νερό (με τσιμέντο ή χωρίς) αυλάκια άρδευσης, βόθροι, δεξαμενές που συλλέγουν λύματα, λίμνες, υγρότοποι, και αχρησιμοποίητα φρεάτια για το γένος *Culex* spp, τσιμεντένιες δεξαμενές, ξεχασμένα βαρέλια αποθήκευσης νερού και στάσιμα νερά από κλιματιστικά για το γένος *Aedes* spp και μη χρησιμοποιούμενα φρεάτια, λακκούβες στους κήπους, λίμνες, στάσιμα νερά σε ναυπηγεία, ορυζώνες, λίμνες, τους υγρότοπους, τα έλη, για το γένος *Anopheles* spp. (World Health Organization, 2005). Οι βιοδοκιμές πραγματοποιούνται με 3-5 συγκεντρώσεις οι οποίες είναι συνήθως πολλαπλάσια της LC₉₀. Η ποσότητα της προς δοκιμή ουσίας υπολογίζεται με τον υπολογισμό του όγκου των υγρών της εστίας, και αν αυτό δεν είναι δυνατόν, υπολογίζεται κατά προσέγγιση με την μέτρηση της επιφάνειας της εστίας επί το μέσο βάθους.

Για την δοκιμή της κάθε συγκέντρωσης απαιτούνται τρεις επαναλήψεις σε τρεις εστίες κατά το δυνατόν όμοιες μεταξύ τους και τους αντίστοιχους τρεις μάρτυρες. Στην περίπτωση που είναι δυνατόν η εστία χωρίζεται στα δύο και το ένα τμήμα αποτελεί το μάρτυρα (δεξαμενές νερού με τσιμέντο στις οποίες μπορεί να μπει διαχωριστικό). Απαραίτητα προϋπόθεση είναι η επιφάνεια της εστίας να είναι τουλάχιστον 4 m² και όχι πάνω από 20 m². Από την κάθε επέμβαση εξάγεται ο μέσος όρος (World Health Organization, 2005).

Πριν την έναρξη των βιοδοκιμή οι εστίες πρέπει να ελεγχθούν τουλάχιστον 2 φορές για την αφθονία των δειγμάτων με την κατάλληλη μέθοδο. Στην περίπτωση που δεν υπάρχει ικανοποιητικός αριθμός προνυμφών τρίτου και τετάρτου σταδίου η εστία απορρίπτεται. Οι εστίες παρακολουθούνται για το ίδιο χρονικό διάστημα που αναμένεται ότι θα διαρκέσει η βιοδοκιμή. Οι νύμφες για αυτό το χρονικό διαστημα μεταφέρονται στο εργαστήριο και τα ενήλικα που εξέρχονται από αυτές καταμετρούνται (World Health Organization, 2005).

Στη συνέχεια προστίθεται στην εστία η ποσότητα του τυποποιημένου σκευάσματος που απαιτείται για τη δημιουργία της προς μελέτη συγκέντρωσης.

Η αποτελεσματικότητα της κάθε εφαρμογής δίδεται από τον παρακάτω τύπο:

$$IE (\%) = 100 - \frac{C1}{T1} - \frac{T2}{C2} \quad 100$$

Όπου C1 είναι ο αριθμός των ενηλίκων στο μάρτυρα πριν την επέμβαση, C2 είναι ο αριθμός των ενηλίκων στο μάρτυρα μετά την επέμβαση T1 είναι ο αριθμός των ενηλίκων στο κομμάτι της εστίας που υπέστη τη μεταχείριση πριν την επέμβαση T2 είναι ο αριθμός των ενηλίκων στο κομμάτι της εστίας που υπέστη τη μεταχείριση μετά την επέμβαση Η επεξεργασία των αποτελεσμάτων γίνεται με το δείκτη ANOVA. (World Health Organization, 2005).

Κατά τη διάρκεια των βιοδοκιμών παρατηρήσεις που αφορούν σε καιρικά φαινόμενα καθώς και σε επιδράσεις των υπό δοκιμή ουσιών σε άλλους έμβιους οργανισμούς όπως για παράδειγμα τα άγλη και άλλα δίπτερα (π. χ. Chironomidae) καταγράφονται (World Health Organization, 2005).

4. 1. 3. ΦΑΣΗ 3: ΜΕΓΑΛΗΣ ΚΛΙΜΑΚΑΣ ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΠΕΔΙΟΥ

Η καταλληλότερη συγκέντρωση, όπως αυτή προσδιορίστηκε από τις βιοδοκιμές μικρής κλίμακας χρησιμοποιείται για να πραγματοποιηθούν βιοδοκιμές μεγάλης κλίμακας.

Αντικείμενο των βιοδοκιμών πεδίου μεγάλης κλίμακας είναι (World Health Organization, 2005) :

- Να επιβεβαιωθούν οι προνυμοκτόνες ιδιότητες της συγκεκριμένης ουσίας στη συγκεκριμένη δοσολογία
- Να επιβεβαιωθεί η υπολειμματική δράση της ουσίας
- Να καταγράφουν πληροφορίες που αφορούν στην ευκολία εφαρμογής της νέας εντομοκτόνου ουσίας
- Να καταγράφουν πληροφορίες που αφορούν στην αποδοχή του νέου εντομοκτόνου από τους δυνητικούς χρήστες
- Να καταγραφούν παρενέργειες στους χρήστες
- Να καταγραφούν επιπλέον παρατηρήσεις στους οργανισμούς – μη στόχους

Οι βιοδοκιμές

Για την συγκεκριμένη βιοδοκιμή πρέπει να επιλεγούν 25-30 εστίες σαν επαναλήψεις και άλλες τόσες θα αποτελέσουν το μάρτυρα. Στην περίπτωση μεγάλων

εστιών πραγματοποιείται κατάτμηση. Η πρώτη μέτρηση λαμβάνεται μετά από 48 ώρες και οι επόμενες είναι εβδομαδιαίες. Η αποτελεσματικότητα εκτιμάται με τον ίδιο μαθηματικό τύπο που ίσχυε στις δοκιμές πεδίου μικρής κλίμακας.

Η επίδραση στους οργανισμούς – μη στόχους

Ξεχωριστά πειράματα πρέπει να γίνουν για να διαπιστωθεί η επίδραση της ουσίας στους οργανισμούς – μη στόχους. Ωστόσο μπορούν να γίνουν μετρήσεις αφορούν στις επιδράσεις της ουσίας σε ψάρια που τρέφονται με προνύμφες κουνουπιών, Ναϊάδες εφημερόπτερων και οδοντογναθων, σαλιγκάρια, γαρίδες κωπήποδα, κολεόπτερα και ετερόπτερα.

ΜΕΡΟΣ Β:
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΟΙ ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ

1. ΣΚΟΠΟΣ ΤΟΥ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ

Σκοπός του πειράματος είναι ο έλεγχος της αποτελεσματικότητας αιθέριου ελαίου βασιλικού διαφόρων συγκεντρώσεων στην αντιμετώπιση των προνυμφών κουνουπιών.

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

2.1. Η ΣΥΛΛΟΓΗ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν:

- Ψυγείο
- Σακούλες

Η Συλλογή των προνυμφών πραγματοποιήθηκε στο χώρο το Εργαστηρίου υπολειμμάτων του ΤΕΙ Κρήτης. Η διαδικασία συλλογής προνυμφών ήταν η εξής: με ένα αυτοσχέδιο δειγματολήπτη γινόταν η λήψη προνυμφών οι οποίες τοποθετούταν σε διάφανες σακούλες και στη συνέχεια μεταφέρθηκαν στο Εντομοτροφείο του Εργαστηρίου Εντομολογίας.

Στη συνέχεια έγινε καταμέτρηση των προνυμφών και η διαδικασία επαναλήφθηκε μέχρι τη συμπλήρωση 2000 προνυμφών που απαιτήθηκαν για τις ανάγκες του πειράματος. Μέρος των δειγμάτων διατηρήθηκαν χωρίς επεμβάσεις για να ληφθούν ενήλικα για ταυτοποίηση.

2.2. ΟΙ ΔΟΚΙΜΕΣ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

2.2.1. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

- Πιπέτα με δυνατότητα μέτρησης 100-1000 μl
- Πιπέτες γυάλινες 1ml
- Δοχεία 250 ml
- Σήτα για τα δοχεία
- Φύλλα καταγραφών
- Ογκομετρικός κύλινδρος 1 λίτρου

Οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν βάση του Πρωτοκόλλου του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας. Αρχικά παρασκευάστηκε στοκ διάλυμα 1% σε αιθανόλη. Ως διαλύτης λόγω της φύσης της ουσίας επιλέχθηκε χάριν ευκολίας η αιθανόλη. Έτσι 5

ml αιθέριου ελαίου Βασιλικού διαλύθηκε σε 995 ml αιθανόλης και παρασκευάστηκαν 1000 ml στοκ διαλύματος.

Πριν τη βιοδοκιμή πραγματοποιήθηκαν δύο πρόχειροι έλεγχοι συγκεντρώσεων (Προπαρασκευαστικά Πειράματα) του αιθέριου ελαίου Βασιλικού για να διαπιστωθεί η δράση του και να προσδιοριστούν οι συγκεντρώσεις που θα χρησιμοποιηθούν για τη βιοδοκιμή.

Για τον έλεγχο κάθε πιθανής συγκέντρωσης έγιναν 3 επαναλήψεις (3 δοχεία) με 25 προνύμφες τρίτου σταδίου το κάθε ένα. Στη συνέχεια παρασκευάστηκαν οι προς εξέταση συγκεντρώσεις ξεκινώντας από τη μικρότερη. Σε έναν ογκομετρικό κύλινδρο τοποθετήθηκε η απαιτούμενη ποσότητα της ουσίας μαζί με αποχλωριωμένο νερό έτσι ώστε να παρασκευάστηκε το διάλυμα της συγκεκριμένης συγκέντρωσης (μετρούμενο σε ppm). Και για τις τρεις επαναλήψεις το υπό δοκιμή διάλυμα φτιάχτηκε όλο μία φορά (σύνολο 1000 ml για τα τρία δοχεία). Σε ένα από τα τρία δοχεία τοποθετήθηκε 300 ml από το τελικό διάλυμα το οποίο αντιστοιχούσε σε 7 cm βάθος (περίπου) για να κινηθούν οι προνύμφες. Τρία δοχεία περιείχαν μόνο αποχλωριωμένο νερό και αποτελούν το μάρτυρα (Control). Από τις τρεις επαναλήψεις για την κάθε μεταχείριση εξήχθη ο μέσος όρος.



3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1.ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑ 1

Πριν από τη πειραματική διαδικασία πραγματοποιήθηκαν 2 δοκιμές (προπαρασκευαστικά πειράματα) έτσι ώστε να αποφασιστεί το εύρος των

συγκεντρώσεων που θα χρησιμοποιηθεί στη πειραματική διαδικασία. Στον πίνακα 1 φαίνονται οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν για την πρώτη δοκιμή.

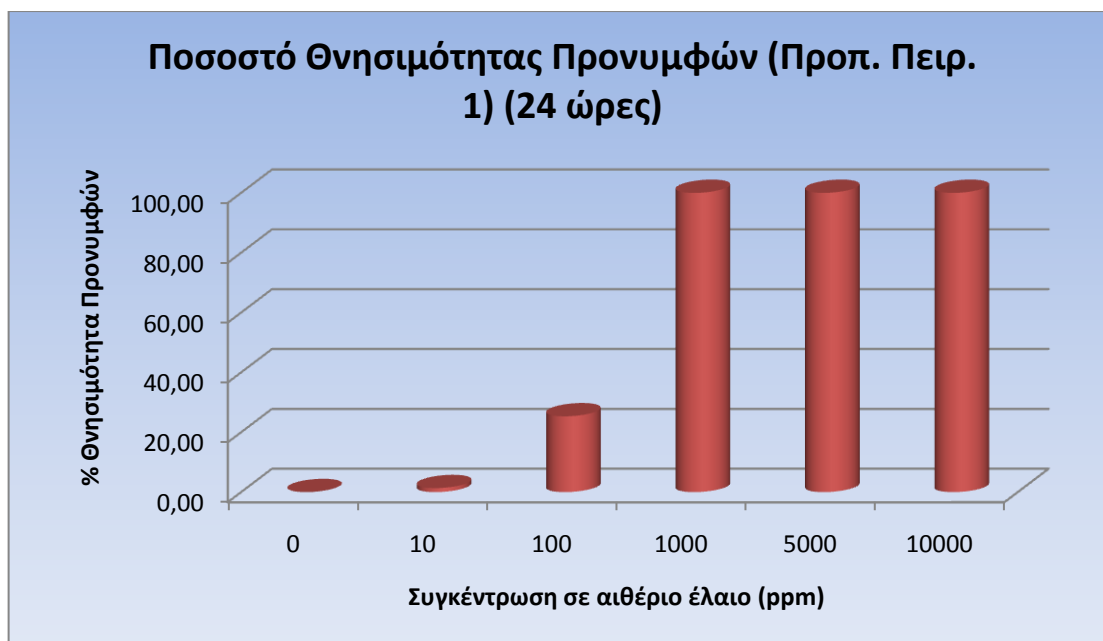
Πίνακας1: Οι ποσότητες από το stock διάλυμα που έπρεπε να ληφθούν για να παρασκευαστούν οι τελικές συγκεντρώσεις στα δοχεία (βάθος υγρού 7 cm περίπου 0,3 lt ανά δοχείο)

Συγκέντρωση (ppm)	Ποσότητα αιθέριου ελαίου που αντιστοιχεί (ml)	Ποσότητα από το stock διάλυμα που πρέπει να ληφθεί (ml)
10	0,0001	0,01
100	0,001	0,1
1000	0,01	1
5000	0,05	5
10000	0,1	10

Αποτελέσματα

Πίνακας 2: Προπαρασκευαστικό Πείραμα 1 (24 ώρες)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	Ζωντανές προνύμφες μετά από 24 ώρες στα τρία δοχεία				Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
	1	2	3	AVG		
0	25	25	25	25,00	0	0,00
10	24	25	25	24,67	1	1,33
100	18	19	19	18,67	19	25,33
1.000	0	0	0	0,00	75	100,00
5.000	0	0	0	0,00	75	100,00
10.000	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 1: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) κατά το προπαρασκευαστικό Πείραμα 1. Μέτρηση στις 24 ώρες.

Από τον Πίνακα 2 και το Γράφημα 1 φαίνεται ότι σε συγκέντρωση 10 ppm παρατηρείται θνησιμότητα 1,33% δηλαδή μόνο μία νεκρή προνύμφη. Χαμηλά ήταν και τα ποσοστά θνησιμότητας στα 100 ppm με 25,33%. Αντιθέτως στα 1000, 5000 και 10.000 ppm οι προνύμφες έχουν πεθάνει όλες.

Μετά τη δοκιμή αποφασίστηκε ότι πρέπει να ακολουθήσει και δεύτερο προπαρασκευαστικό πείραμα για να αποφασιστεί και να γίνει η βιοδοκιμή με όσο το δυνατόν μικρότερο εύρος συγκεντρώσεων. Το εύρος των συγκεντρώσεων που έπρεπε να χρησιμοποιηθούν για τη βιοδοκιμή είναι 100-1000 ppm και ήταν οι εξής: 10, 100, 500, 750 και 1000 ppm. Οι επεμβάσεις με 10 και 100 ppm επαναλήφθηκαν για να ελεγχθεί και η επαναληψιμότητα του πειράματος.

3.2.ΠΡΟΠΑΡΑΣΚΕΥΑΣΤΙΚΟ ΠΕΙΡΑΜΑ 2

Στο πίνακα 3 φαίνονται οι ποσότητες από το stock διάλυμα που έπρεπε να ληφθούν για να παρασκευαστούν οι τελικές συγκεντρώσεις στα δοχεία. Χρησιμοποιήθηκε και εδώ η ίδια διαδικασία με το προπαρασκευαστικό πείραμα 1.

Πίνακας3: Οι ποσότητες από το stock διάλυμα που έπρεπε να ληφθούν για να παρασκευαστούν οι τελικές συγκεντρώσεις στα δοχεία (βάθος υγρού 7 cm περίπου 0,3 λίτρα ανά δοχείο)

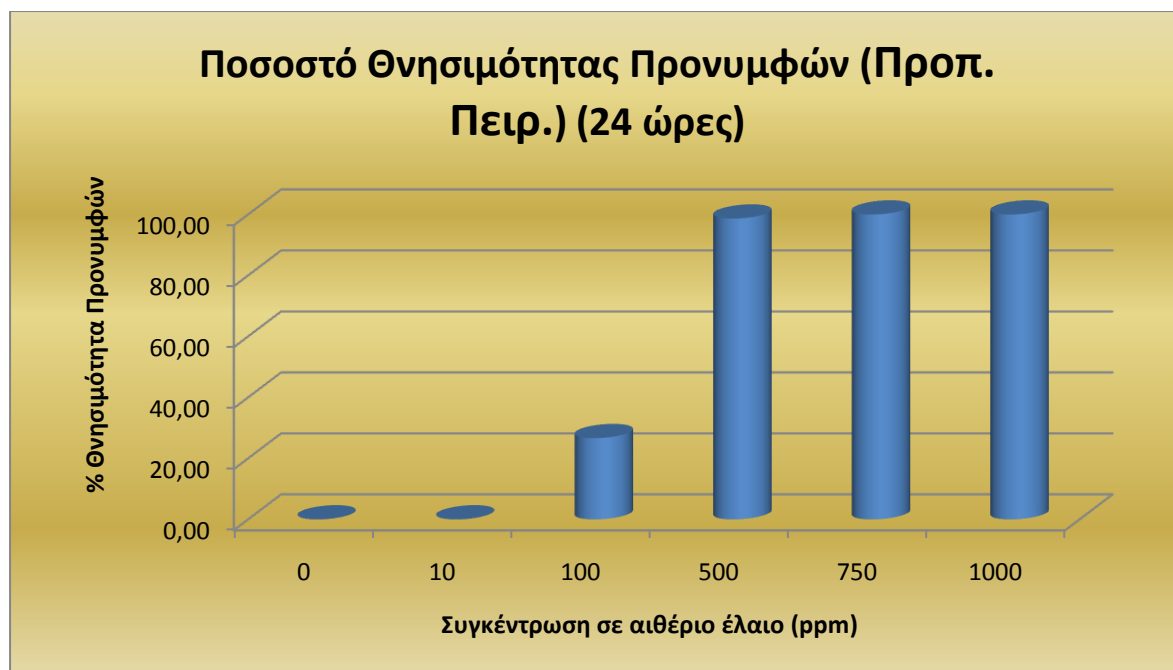
Συγκέντρωση (ppm)	Ποσότητα αιθέριου ελαίου που αντιστοιχεί (ml)	Ποσότητα από το stock διάλυμα που πρέπει να ληφθεί (ml)
0	0	0
10	0,0001	0,01
100	0,001	0,1
500	0,005	0,5
750	0,0075	0,75
1. 000	0,01	1

Αποτελέσματα

Όπως φαίνεται από τον πίνακα 4 και το γράφημα 2, το ποσοστό θνησιμότητας στα 100 ppm ήταν 26, 67 %, ενώ στα 500 ppm ήταν 98, 67 %. Συγκεντρώσεις 750 και 1000 ppm είχαν ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 100 % του πληθυσμού. Από τα παραπάνω φαίνεται ότι το εύρος των συγκεντρώσεων για την πειραματική διαδικασία έπρεπε να είναι από 10 έως 750 ppm.

Πίνακας 4: Προπαρασκευαστικό Πείραμα 2 (24 ώρες)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	Ζωντανές προνύμφες μετά από 24 ώρες στα τρία δοχεία				Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
	1	2	3	AVG		
0	25	25	25	25,00	0	0,00
10	25	25	25	25,00	0	0,00
100	17	20	18	18,33	20	26,67
500	1	0	0	0,33	74	98,67
750	0	0	0	0,00	75	100,00
1. 000	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 2: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) κατά το προπαρασκευαστικό Πείραμα 2. Μέτρηση στις 24 ώρες.

3.3.ΒΙΟΔΟΚΙΜΗ 1

Βάση των παραπάνω δύο δοκιμών ξεκίνησε η διαδικασία των βιοδοκιμών με τις συγκεντρώσεις 0, 10, 100, 200, 300, 500, 750 ppm. Οι πρώτες μετρήσεις πάρθηκαν στις 6 ώρες και στη συνέχεια λαμβάνονταν μετρήσεις κάθε 24 ώρες. Οι μετρήσεις τελείωσαν μόλις πέθαναν οι τελευταίες προνύμφες. Η Ποσότητα στοκ που λήφθηκε καθώς και η ποσότητα αιθέριου ελαίου που αντιστοιχεί φαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 5: Οι ποσότητες από το stock διάλυμα που έπρεπε να ληφθούν για να παρασκευαστούν οι τελικές συγκεντρώσεις στα δοχεία (βάθος υγρού 7 cm περίπου 0,3 λίτρα ανά δοχείο)

Συγκέντρωση (ppm)	Ποσότητα αιθέριου ελαίου που αντιστοιχεί (ml)	Ποσότητα από το stock διάλυμα που πρέπει να ληφθεί (ml)
0	0	0
10	0,0001	0,01
50	0,0005	0,05
100	0,001	0,1

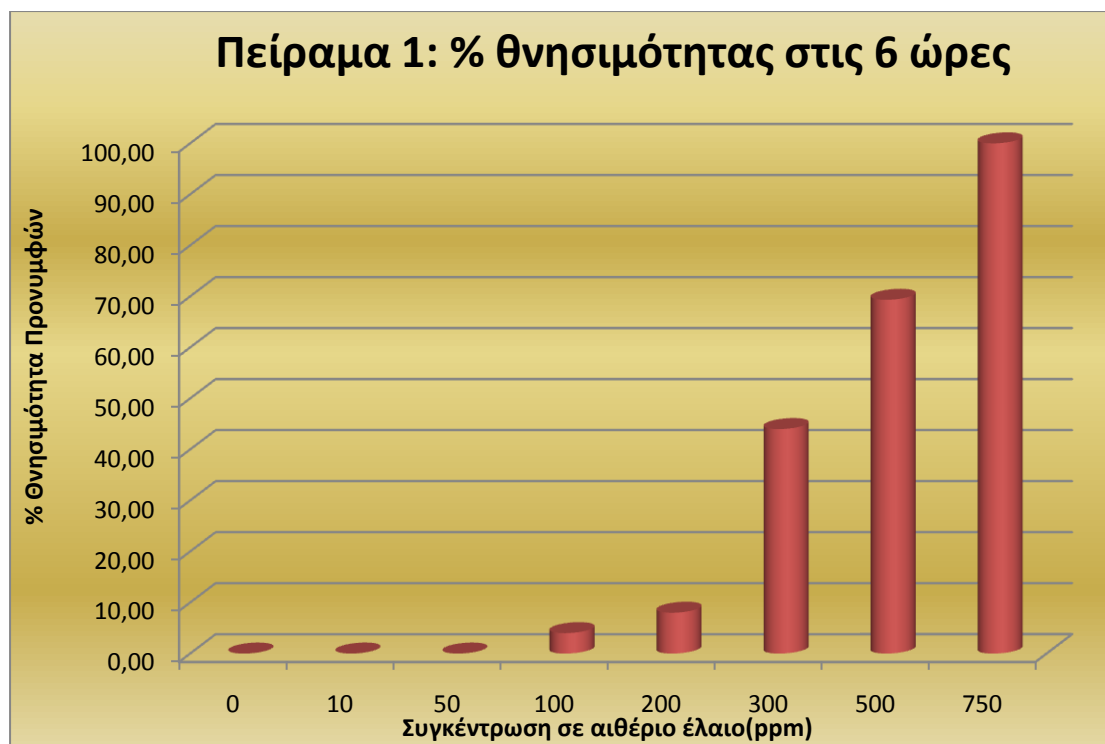
200	0,002	0,2
300	0,003	0,3
500	0,005	0,5
750	0,0075	0,75

3.3.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 6 ΩΡΕΣ

Τα αποτελέσματα στη θνησιμότητα των προνυμφών στις διάφορες συγκεντρώσεις φαίνονται στον πίνακα που ακολουθεί.

Πίνακας 6: Μετρήσεις ζωντανών προνυμφών στις 6 ώρες (τρία δοχεία)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	1	2	3	AVG	Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
0	25	25	25	25,00	0	0,00
10	25	25	25	25,00	0	0,00
50	25	25	25	25,00	0	0,00
100	24	24	24	24,00	3	4,00
200	22	23	24	23,00	6	8,00
300	14	11	17	14,00	33	44,00
500	7	6	10	7,67	52	69,33
750	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 3: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) Πείραμα 1. Μέτρηση στις 6 ώρες.

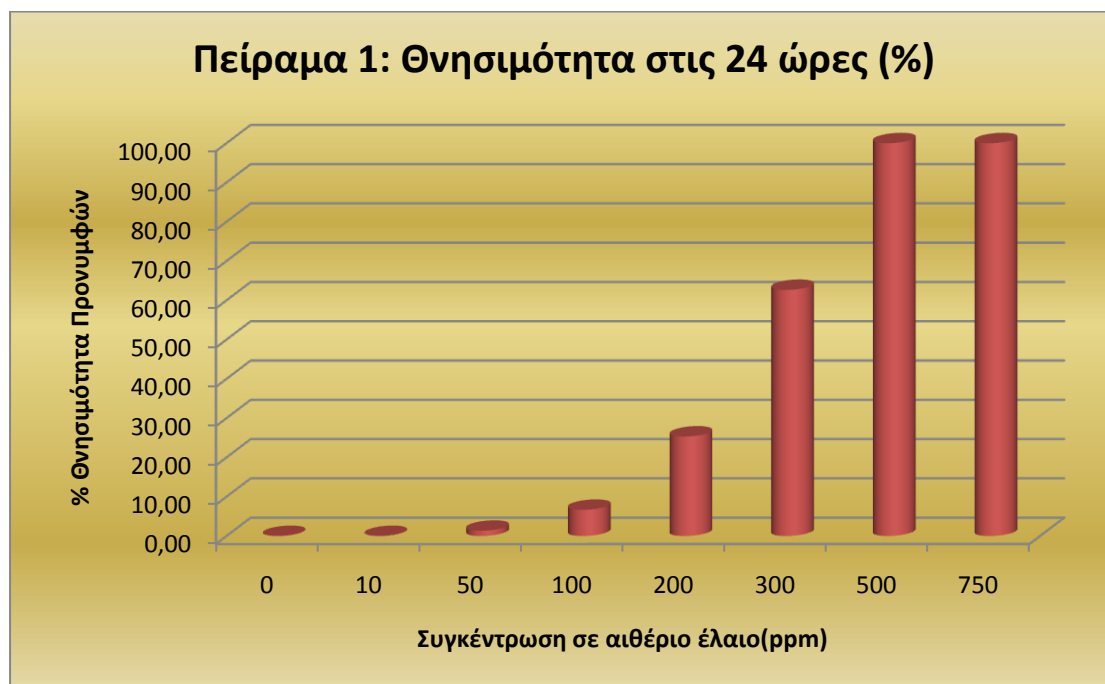
Από τον Πίνακα 6 και το Γράφημα 3 φαίνεται ότι συγκεντρώσεις αιθέριου ελαίου 10 και 50 ppm είχαν ως αποτέλεσμα να μην θανατωθεί καμία προνύμφη. Θανάτωση προνυμφών παρατηρείται από τις συγκεντρώσεις 100 ppm και πάνω με ποσοστά θνησιμότητας 4% στα 100 ppm, 8% στα 200 ppm. Συγκέντρωση αιθέριου ελαίου 300 ppm είχε ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 44% των προνυμφών. Πολύ καλά αποτελέσματα λήφθηκαν με συγκεντρώσεις 500 και 700 ppm με ποσοστά θνησιμότητας 69, 33 και 100% αντίστοιχα

3.3.2.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 24 ΩΡΕΣ

Πίνακας 7: Μετρήσεις ζωντανών προνυμφών στις 24 ώρες (τρία δοχεία)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	1	2	3	AVG	Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
0	25	25	25	25,00	0	0,00
10	25	25	25	25,00	0	0,00
50	25	24	25	24,67	1	1,33
100	23	24	23	23,33	5	6,67

200	18	21	17	18,67	19	25,33
300	8	8	12	9,33	47	62,67
500	0	0	0	0,00	75	100,00
750	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 4: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) Πείραμα 1. Μέτρηση στις 24 ώρες.

Όπως φαίνεται από το πίνακα 7 και το γράφημα 4 μετά από 24 ώρες παρατηρείται ο % θνησιμότητα σε προνύμφες που είχαν μεταχειρισθεί μέσα σε 10 ppm διαλύματος αιθερίου ελαίου βασιλικού. Στα 50 ppm και στα 100 ppm παρατηρείται θνησιμότητα 1, 33 και 6, 67 αντίστοιχα. Καλύτερα αποτελέσματα φαίνεται να παρουσιάζονται στα 200 ppm (25, 33% θνησιμότητα). Στα 300 ppm η θνησιμότητα που παρουσιάζουν οι προνύμφες ανέρχεται στο 62, 67 %. Συγκεντρώσεις 500 και 750 ppm έχουν ως αποτέλεσμα τη θανάτωση 100 % πληθυσμού.

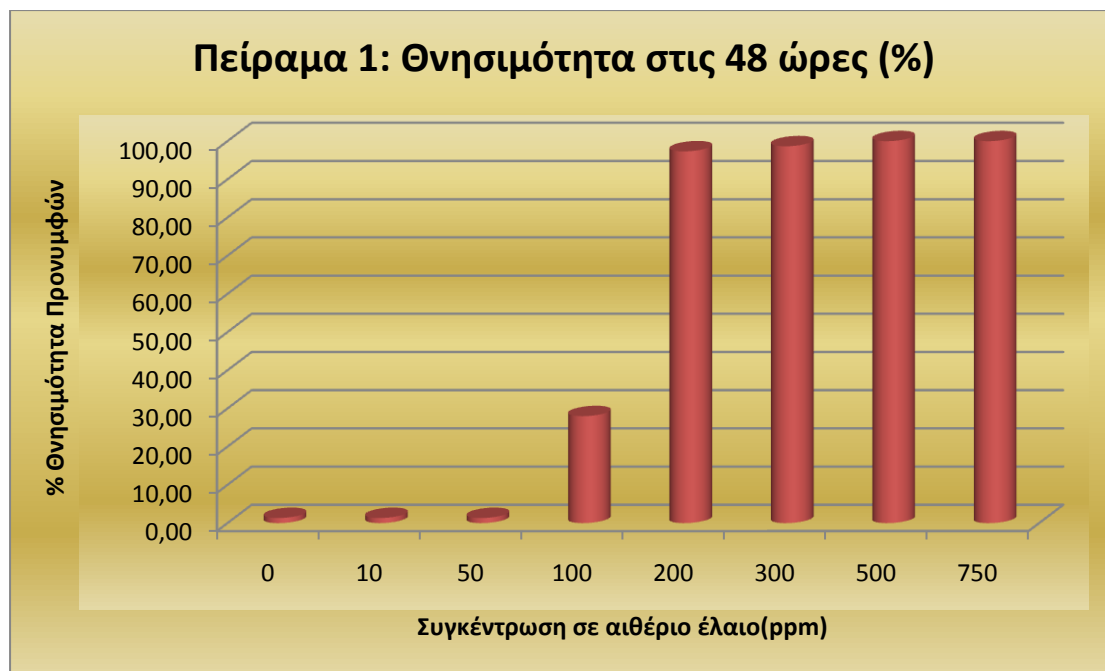
Βάση του πρωτοκόλλου του παγκόσμιου οργανισμού υγείας που χρησιμοποιήθηκε οι μετρήσεις στις 24 ώρες είναι οι καθοριστικές για το πείραμα. Στις 24 ώρες αναζητούνται οι συγκεντρώσεις αιθερίου ελαίου βασιλικού που θα έχουν ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 50 % του πληθυσμού, του 90 % του πληθυσμού και του 99 % του πληθυσμού.

Δεδομένου του γεγονότος ότι η θνησιμότητα των προνυμφών δεν υπήρξε στα παραπάνω όρια αποφασίστηκε ότι απαιτείται και δεύτερη βιοδοκιμή για να βρεθεί.

3.3.3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 48 ΩΡΕΣ

Πίνακας 8: Μετρήσεις ζωντανών προνυμφών στις 48 ώρες (τρία δοχεία)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	1	2	3	AVG	Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
0	25	24	25	24,67	1	1,33
10	25	24	25	24,67	1	1,33
50	25	24	25	24,67	1	1,33
100	15	20	19	18,00	21	28,00
200	0	1	1	0,67	73	97,33
300	1	0	0	0,33	74	98,67
500	0	0	0	0,00	75	100,00
750	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 5: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) Πείραμα 1. Μέτρηση στις 48 ώρες.

Από το πίνακα 8 και το γράφημα 5 φαίνεται ότι σε μετρήσεις μετά από 48 ώρες παρατηρείται θνησιμότητα 28% σε προνύμφες των 3 δοχείων που περιείχαν τις συγκεντρώσεις 100 ppm, 97, 33 στα 200 ppm, 98, 67 στα 200 ppm και 100 % θνησιμότητα στα 500 και 750 ppm.

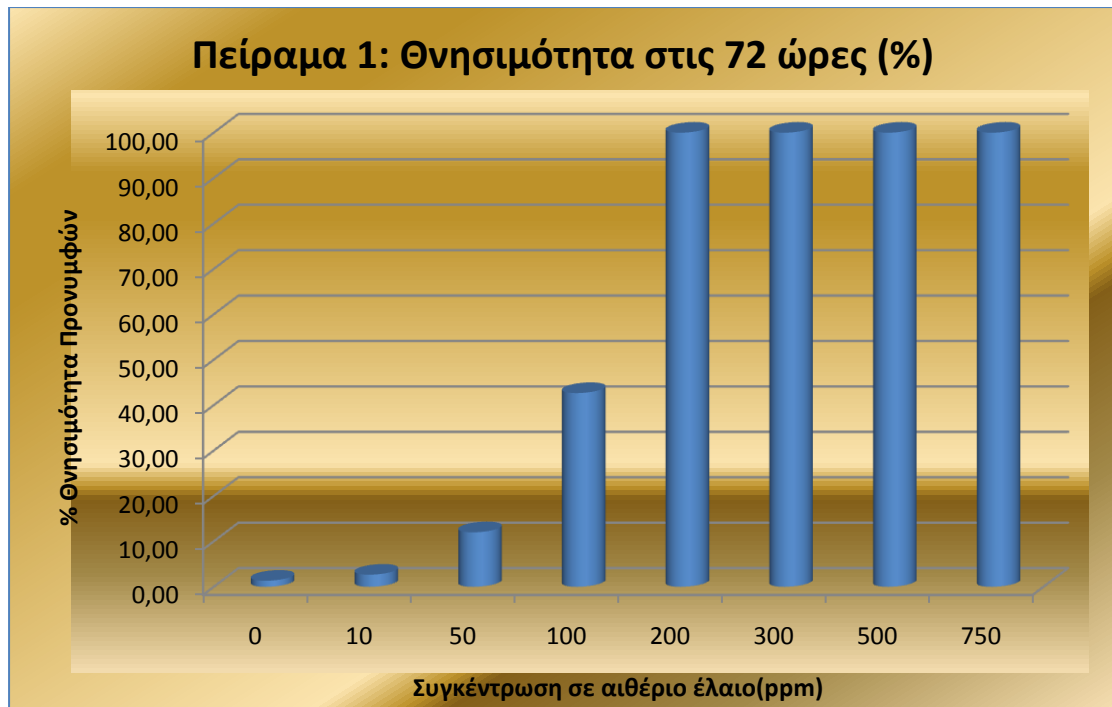
Πολύ μεγάλη διαφορά στη θνησιμότητα παρατηρήθηκε μεταξύ 100 και 200 ppm.

Η θνησιμότητα στο μάρτυρα ήταν 1, 33 %(<5%) επομένως τα αποτελέσματα δεν χρειάστηκαν διόρθωση.

3.3.4.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 72 ΩΡΕΣ

Πίνακας 9: Μετρήσεις ζωντανών προνυμφών στις 72 ώρες (τρία δοχεία)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	1	2	3	AVG	Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
0	25	24	25	24,67	1	1,33
10	25	24	24	24,33	2	2,67
50	22	20	24	22,00	9	12,00
100	13	12	18	14,33	32	42,67
200	0	0	0	0,00	75	100,00
300	0	0	0	0,00	75	100,00
500	0	0	0	0,00	75	100,00
750	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 6: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) Πείραμα 1. Μέτρηση στις 72 ώρες.

Η θνησιμότητα στο μάρτυρα ήταν 1,33 %(<5%) επομένως τα αποτελέσματα δεν χρειάστηκαν διόρθωση. Από το γράφημα 6 και το πίνακα 9 φαίνεται ότι στις 72 ώρες παρατηρήθηκε 100% θνησιμότητα στις προνύμφες σε διαλύματα πάνω από 200 ppm. Συγκέντρωση 100 ppm είχε ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 42,67% των προνυμφών.

3.3.5.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 96 ΩΡΕΣ

Πίνακας 10: Μετρήσεις ζωντανών προνυμφών στις 96 ώρες (τρία δοχεία)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	1	2	3	AVG	Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
0	25	24	25	24,67	1	1,33
10	24	24	24	24,00	3	4,00
50	20	20	19	19,67	16	21,33
100	0	0	0	0,00	75	100,00

200	0	0	0	0,00	75	100,00
300	0	0	0	0,00	75	100,00
500	0	0	0	0,00	75	100,00
750	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 7: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) Πείραμα 1. Μέτρηση στις 96 ώρες.

Η θνησιμότητα στο μάρτυρα ήταν 1, 33 %(<5%) επομένως τα αποτελέσματα δεν χρειάστηκαν διόρθωση. Από το γράφημα 7 και το πίνακα 10 στις μετρήσεις που λήφθηκαν μετά από 76 ώρες συγκεντρώσεις πάνω από 100 ppm είχαν ως αποτέλεσμα τη θανάτωση όλων των προνυμφών, Συγκέντρωση 50 ppm αιθερίου ελαίου βασιλικού είχε ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 21, 33 του πληθυσμού.

3.3.6.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 120 ΩΡΕΣ

Πίνακας 11: Μετρήσεις ζωντανών προνυμφών στις 120 ώρες (τρία δοχεία)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	1	2	3	AVG	Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
0	24	24	25	24,33	2	2,67
10	20	20	21	20,33	14	18,67
50	18	19	15	17,33	23	30,67
100	0	0	0	0,00	75	100,00
200	0	0	0	0,00	75	100,00
300	0	0	0	0,00	75	100,00
500	0	0	0	0,00	75	100,00
750	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 8: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) Πείραμα 1. Μέτρηση στις 120 ώρες.

Παρά το γεγονός ότι το πρωτόκολλο δεν προβλέπει μετρήσεις στις 120 ώρες το πείραμα συνεχίστηκε. Σε συγκέντρωση 50 ppm θανατώθηκε το 30,67% του

πληθυσμού. Η θνησιμότητα στο μάρτυρα ήταν 1, 33 %(<5%) επομένως τα αποτελέσματα δεν χρειάστηκαν διόρθωση. Τέλος παρά το γεγονός ότι είχαν περάσει 120 ώρες από την τοποθέτηση στα δοχεία δεν παρατηρήθηκαν οι νυμφώσεις. Γεγονός που οφείλεται σε δύο λόγους:α) Στην επιλογή των προνυμφών η οποία έγινε έτσι ώστε να αποκλείουν οι προνύμφες λίγο πριν το στάδιο της νύμφωσης και β) οι χαμηλές θερμοκρασίες της εποχής οι οποίες είχαν ως αποτέλεσμα την επιμήκυνση του βιολογικού κύκλου του κουνουπιού.

3.4.ΒΙΟΔΟΚΙΜΗ 2

Βάσει των αποτελεσμάτων που παρήχθησαν από τις μετρήσεις 24 ώρες από το πείραμα 1 αποφασίστηκε ότι για το δεύτερο πείραμα οι συγκεντρώσεις που θα μελετηθούν είναι 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550 ppm(πίνακας 12).

Πίνακας 12: Οι ποσότητες από το stock διάλυμα που έπρεπε να ληφθούν για να παρασκευαστούν οι τελικές συγκεντρώσεις στα δοχεία (βάθος υγρού 7 cm περίπου 0,3 λίτρα ανά δοχείο)

Συγκέντρωση (ppm)	Ποσότητα αιθέριου ελαίου που αντιστοιχεί (ml)	Ποσότητα από το stock διάλυμα που πρέπει να ληφθεί (ml)
200	0,002	0,2
250	0,0025	0,25
300	0,003	0,3
350	0,0035	0,35
400	0,004	0,4
450	0,0045	0,45
500	0,005	0,5
550	0,0055	0,55

3.4.1.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 6 ΩΡΕΣ

Πίνακας 13: Μετρήσεις ζωντανών προνυμφών στις 6 ώρες (τρία δοχεία)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	1	2	3	AVG	Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
0	25	25	25	25	0	0
200	24	22	25	23,67	4	5,33
250	25	19	20	21,33	11	14,67
300	16	12	20	16,00	27	36,00

350	17	19	18	18,00	21	28,00
400	14	11	17	14,00	33	44,00
450	12	14	13	13,00	36	48,00
500	10	10	3	7,67	52	69,33
550	10	11	10	10,33	44	58,67



Γράφημα 9: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) Πείραμα 2. Μέτρηση στις 6 ώρες.

Όπως φαίνεται από το γράφημα 9 και το πίνακα 13 σε μετρήσεις που έγιναν σε 6 ώρες συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο 200 rpm είχε ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 5, 33 % του πληθυσμού. Οι συγκεντρώσεις 250, 300, 350 είχαν ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 14, 67, 36, 28, 44%. Συγκέντρωση 450 rpm είχε ως αποτέλεσμα τη θανάτωση το 48% του πληθυσμού. Συγκεντρώσεις 500 και 550 rpm είχαν ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 69, 33 και του 58, 67%. Παρατηρείται στα 350 rpm και στα 550 rpm ποσοστά θνησιμότητας μικρότερα από τις αμέσως χαμηλότερες συγκεντρώσεις.

3.4.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 24 ΩΡΕΣ

Πίνακας 14: Μετρήσεις ζωντανών προνυμφών στις 24 ώρες (τρία δοχεία)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	1	2	3	AVG	Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
0	25	25	25	25	0	0
200	19	19	19	19,00	18	24,00
250	18	19	16	17,67	22	29,33
300	6	13	11	10,00	45	60,00
350	7	6	7	6,67	55	73,33
400	4	2	1	2,33	68	90,67
450	0	2	0	0,67	73	97,33
500	1	0	0	0,33	74	98,67
550	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 10: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) Πείραμα 2. Μέτρηση στις 24 ώρες.

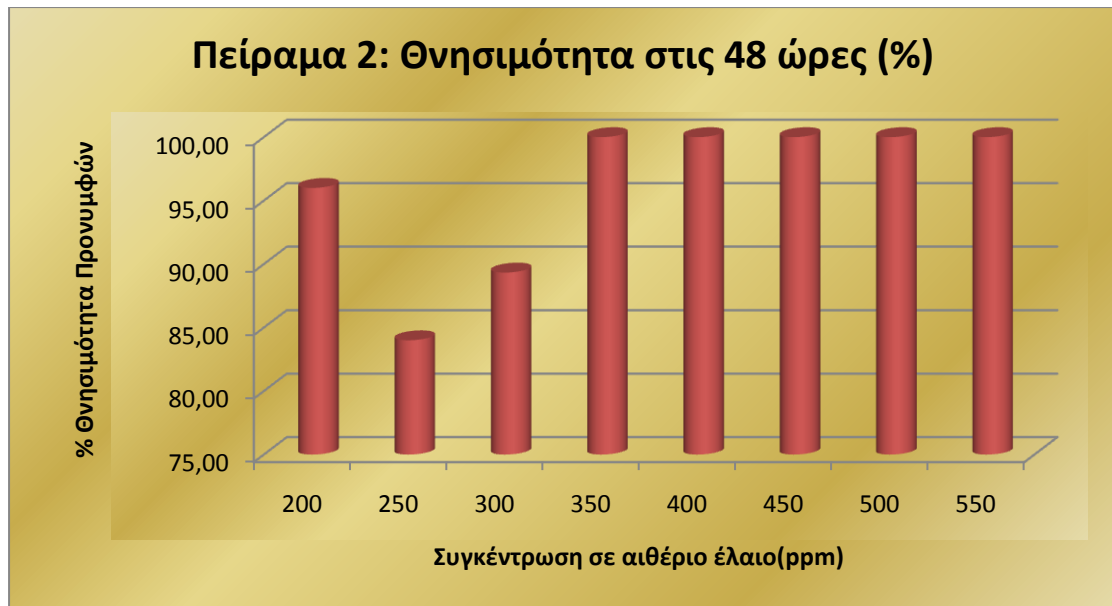
Από το πίνακα 14 και το γράφημα 10 παρατηρείται ότι η συγκέντρωση 200 ppm αιθέριου έλαιου βασιλικού έχει ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 24% του πληθυσμού, συγκέντρωση 250 ppm τη θανάτωση του 29,33% του πληθυσμού ενώ στη συγκέντρωση 300 ppm τη θανάτωση του 60% του πληθυσμού. Από τα δύο παραπάνω φαίνεται ότι η συγκέντρωση αιθερίου ελαίου βασιλικού για να θανατωθεί το 50% του πληθυσμού (LC_{50}) είναι μεταξύ 250 και 300 ppm. Συγκέντρωση 350 ppm

είχε ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 73, 33% του πληθυσμού. Η συγκέντρωση 400 ppm σε αιθέριο έλαιο είχε ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 90,67% του πληθυσμού. Άρα το LC₉₀ εντοπίζεται σε συγκέντρωση αιθερίου ελαίου λίγο κάτω από 400 ppm. Συγκεντρώσεις 450 και 500 ppm είχαν ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 97, 33% και του 98, 67% αντίστοιχα. Το LC₉₉ εντοπίζεται σε συγκέντρωση αιθερίου ελαίου λίγο παραπάνω από 500 ppm. Συγκέντρωση αιθερίου ελαίου 550 ppm είχε ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 100% του πληθυσμού.

3.4.3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΣΤΙΣ 48 ΩΡΕΣ

Πίνακας 15: Μετρήσεις ζωντανών προνυμφών στις 48 ώρες (τρία δοχεία)

Συγκέντρωση σε αιθέριο έλαιο(ppm)	1	2	3	AVG	Νεκρές Προνύμφες (TOTAL)	Θνησιμότητα (%)
0	25	25	25	25	0	0
200	2	1	0	1,00	72	96,00
250	2	4	6	4,00	63	84,00
300	1	3	4	2,67	67	89,33
350	0	0	0	0,00	75	100,00
400	0	0	0	0,00	75	100,00
450	0	0	0	0,00	75	100,00
500	0	0	0	0,00	75	100,00
550	0	0	0	0,00	75	100,00



Γράφημα 11: Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών (%) Πείραμα 2. Μέτρηση στις 48 ώρες.

Από το πίνακα 15 και το γράφημα 11 προκύπτει ότι συγκέντρωση πάνω από 350 ppm είχε ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 100% των προνυμφών. Συγκεντρώσεις 200, 250 και 300 ppm είχαν ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του 96, του 84 και του 89, 33% του πληθυσμού.

4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Αφού πάρθηκαν οι τελικές συγκεντρώσεις για το εύρος των ppm που θα χρησιμοποιηθούν, με το να γίνουν δύο δοκιμές. Η πρώτη δοκιμή κυμαίνεται από 10 - 10.000(10, 100, 1.000, 5.000, 10.000) ppm που από το πίνακα 2 φαίνεται ότι από τη συγκέντρωση 1.000 ppm και κάτω η θνησιμότητα είναι 100%. Άρα η δεύτερη δοκιμή γίνεται στο εύρος των 10 με 1.000 ppm(10, 100, 500, 750, 1.000) έτσι ώστε η βιοδοκιμή να γίνει σε μικρότερο εύρος. Στο πίνακα 4 παρατηρείται ότι κάτω από τη συγκέντρωση 750 ppm η θνησιμότητα είναι 100%, έτσι οι συγκεντρώσεις που θα χρησιμοποιηθούν για τη βιοδοκιμή είναι από 10-750 ppm (10, 50, 100, 200, 300, 500, 750).

Στο πίνακα 6 παρατηρείται ότι τα ποσοστά θνησιμότητας τις πρώτες 6 ώρες μέχρι τα 200 ppm είναι μηδενικά, ενώ αντίστοιχα από εκεί και πάνω έχουν πάρει ανοδική πορεία μέχρι που στα 750 ppm φτάνουν το 100%. Στα 300 ppm το ποσοστό είναι πολύ κοντά στη μέση με ποσοστό 44 % ενώ στα 500 ppm το ξεπέρασε με 69, 33%. Στις 24 ώρες παρατηρείται ένα ποσοστό 25, 33% στα 200 ppm, ενώ στα 300 ppm 62, 67%, ένα αρκετά καλό ποσοστό, ενώ αυτή τη φορά η ολοκληρωμένη θανάτωση των προνυμφών εμφανίζεται από τα 500 ppm και εξίσου και στα 750 ppm.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- Κεφαλούδης Χ. και Κολιόπουλος Γ. (2012). Τα Κουνούπια και η Αντιμετώπισή τους. Εκπαιδευτικό Υλικό Κέντρου ελέγχου και πρόληψης Νοσημάτων. 25 σελ.
- Παρασκευόπουλος Γ (2013). Παρούσα Κατάσταση στο Χώρο των Εντομοκτονιών - Μυοκτονιών – Απολυμάνσεων στον Αστικό Χώρο στην Ελλάδα. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Μεταπτυχιακή Ερευνητική Διατριβή. Αθήνα Φεβρουάριος 2013
- Τιγκιλής Γ., (2007).Μελέτη Οικοσυστήματος Λίμνης Κουρνά Χανίων με Έμφαση στο Πλαγκτόν και την Ιχθυοπανίδα. Διδακτορική Διατριβή Πανεπιστήμιο Κρήτης, Τμήμα Βιολογίας, 282 σελ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

- Hargreaves LL, Jarvis B, Rawlinson AP, Wood JM (1975) The Antimicrobial Effects of Spices, Herbs and Extracts from These and Other Food Plants. Scientific and Technical Survey No 88. The British Food Manufacturing Industries Research Association.
- Firenzuoli F., Jaitak V., Gyorgyi Horvath G., Bassolé IH., Setzer W., and Gori L. (2014) Essential Oils: New Perspectives in Human Health and Wellness. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 72 p
- Anna Rita Bilia, Clizia Guccione, Benedetta Isacchi, Chiara Righeschi, Fabio Firenzuoli, and Maria Camilla Bergonzi, “Essential Oils Loaded in Nanosystems: A Developing Strategy for a Successful Therapeutic Approach, ” Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, vol. 2014, Article ID 651593, 14 pages, 2014. doi:10. 1155/2014/651593
- Kumar A., Ateeque A., Farooqi Ab.ad A, Sushil K., Fatima Sh., Srikant Sh. (2001) Πατέντα με τίτλο: Acyclic monoterpenes as anti-sprouting agents for potato tubers Διαθέσιμο On line: <http://www.google.com.ar/patents/WO2001072129A1?cl=en> (αναδίφηση 10 Ιουλίου 2014)
- Giatriopoulos A.K., Michaelakis A.N., Koliopoulos G.Th. and Pontikakos C.M. (2012). Records of *Aedes albopictus* and *Aedes cretinus* (Diptera: Culicidae) in Greece from 2009 to 2011 Hellenic Plant Protection Journal 5: 49-56, 2012

Colpitts T., Conway M., Montgomery R. and Fikrig E. (2012) West Nile Virus: Biology, Transmission, and Human Infection. Clin. Microbiol. Rev. 2012, 25(4):635.

Olsen L., Knepper R. (1989). Mosquito Control: A Manual for Commercial Pesticide Applicators. Michigan State University 60p

ΠΗΓΕΣ ΑΠΟ ΤΟ ΔΙΑΔΙΚΤΥΟ

http://mosquito.ifas.ufl.edu/Mosquito_Biology.htm (αναδίφηση 10 Ιουλίου 2014)

<http://www.mosquitoes.org/LifeCycle.html> (αναδίφηση 20 Ιουλίου 2014)

<http://www.naha.org/explore-aromatherapy/about-aromatherapy/what-are-essential-oils/> (αναδίφηση 10 Ιουλίου 2014)

<http://www.cdc.gov/malaria/about/biology/mosquitoes/>

<http://www.mosquitoes.org/Aedes.html>

http://www.wrbu.org/SpeciesPages_non-ANO/non-ANO_A-hab/CXgel_hab.html

World Health Organization (2005) Guidelines for Laboratory and Field Testing of Mosquito Larvicides. Διαθεσιμο on line:

http://whqlibdoc.who.int/hq/2005/WHO_CDS_WHOPEP_GCDPP_2005.13.pdf

<http://www.explorecrete.com/crete-west/GR-georgiopolis-istoria.html>

http://www.pthes.gov.gr/data/diak_prokir/2014/diak572a.pdf

<https://diavgeia.gov.gr/doc/BEATΘ-ΞΕ0>

<http://www.essentialoils.co.za/history-essential-oils.htm> (αναδίφηση 10 Ιουλίου 2014)

ΠΗΓΕΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ:

http://www.conops.gr/wp-content/uploads/map_greece.jpg

http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/southern_house_mosquito.htm

<http://www.theguardian.com/environment/2013/aug/28/crook-county-durham-mosquito-larvae-expressions>

http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/asian_tiger.htm

http://influentialpoints.com/Gallery/Mosquitoes_and_Biting_Midges.htm

http://medent.usyd.edu.au/arbovirus/mosquit/photos/mansonia_uniformis_pupa.jpg