

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)  
ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

**ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ  
ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ CULICIDAE**



ΚΕΧΑΓΙΑ ΝΙΚΟΛΕΤΤΑ

*Αμαλιάδα Μάρτιος*

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)  
ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ  
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ  
ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ  
ΤΜΗΜΑ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ  
ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ CULICIDAE**

ΚΕΧΑΓΙΑ ΝΙΚΟΛΕΤΤΑ

Επιβλέπων Καθηγητής: Δρ. ΚΑΡΑΝΑΣΤΑΣΗ ΕΙΡΗΝΗ  
Επίκουρος Καθηγήτρια

Αμαλιάδα, Μάρτιος 2014

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή εκπονήθηκε στα Εργαστήρια Γεωργικής Εντομολογίας και Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω τους εξής:

Την Διεύθυνση του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου που μου παρείχε την δυνατότητα να εκπονήσω τη πτυχιακή μου εργασία στο Ινστιτούτο, καθώς επίσης και για τη διάθεση όλων των απαραίτητων υλικών και χώρων για την πραγματοποίηση του πρακτικού μέρους.

Την Επ. Καθ. Καραναστάση Ειρήνη του, Τ.Ε.Ι δυτικής Ελλάδος για την ανάληψη παρακολούθησης της πτυχιακής μου μελέτης, καθώς και για τις εύστοχες υποδείξεις του και συμβουλές για τη συγγραφή και την τελική παρουσίαση της εργασίας αυτής.

Ευχαριστώ θερμά τον Δρ. Μιχαηλάκη Αντώνη, Ερευνητή του Εργαστηρίου Γ. Εντομολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου για τις πολύτιμες συμβουλές του και το σχεδιασμό των βιοδοκιμών.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Υποψήφιο Διδάκτορα Γιατρόπουλο Αθανάσιο, Γεωπόνο M.Sc. του εργαστηρίου Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για την καθοδήγηση και παρακολούθηση της πτυχιακής μου μελέτης σε όλα τα στάδια και την σημαντική συμβολή του στην εκπόνησή της.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης τον Καθ. Μόσχο Πολυσιού από το Εργαστήριο Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και την ερευνητική του ομάδα με επικεφαλής τον Επίκ. Καθ. του τμήματος Αγροτικής Ανάπτυξης στο Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Αθανάσιο Κυμπάρη, για την προμήθεια των συστατικών που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές.

Μέρος της παρούσας διπλωματικής εργασίας εκπονήθηκε στα πλαίσια του ευρωπαϊκού προγράμματος Life+ - Life Conops με συντονιστή τον Δρ. Μιχαηλάκη Αντώνη.

## Περιεχόμενα

1.1. Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ .....	10
1.2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ – ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ .....	13
1.2.1. ΩΟ .....	15
1.2.2. ΠΡΟΝΥΜΦΗ.....	16
1.2.3. ΝΥΜΦΗ.....	17
1.2.4. ΑΚΜΑΙΟ .....	18
1.3. ΒΙΟΛΟΓΙΑ-ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ <i>Aedes albopictus</i> .....	22
1.3.1 ΕΞΑΠΑΛΩΣΗ ΤΟΥ <i>Aedes albopictus</i> .....	23
1.3.2 ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ.....	24
2.1. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ .....	26
2.1.1. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΣΤΙΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ .....	26
2.1.2. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ.....	27
2.1.3. ΧΗΜΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ.....	28
2.2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΑΚΜΑΙΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ.....	28
2.2.1. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΙ ΨΕΚΑΣΜΟΙ.....	28
2.2.2. ΨΕΚΑΣΜΟΙ ΑΝΟΙΚΤΩΝ ΧΩΡΩΝ.....	29
2.2.3. ΚΑΠΝΙΣΜΟΙ ΕΣΩΤΕΡΙΚΩΝ ΧΩΡΩΝ .....	29
2.3. ΑΤΟΜΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ .....	30
3.1. ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ.....	31
3.2. ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ.....	32
3.3. ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ .....	33
3.4. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ .....	35
3.5. ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ .....	37
3.6. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ .....	37
3.7. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΣΤΑ ΕΝΤΟΜΑ.....	38
4.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ .....	40
4.2 ΕΚΤΡΟΦΗ ΤΟΥ <i>Aedes albopictus</i> .....	40
4.3 ΒΙΟΔΟΚΗΜΕΣ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΣΤΙΣ ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ ΤΟΥ <i>Ae. albopictus</i> . .....	43
4.3.1 ΧΗΜΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ .....	43
4.4 ΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΤΟΥ <i>Ae. albopictus</i> .....	43

<b>4.4.1 ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ.....</b>	<b>44</b>
<b>4.4.2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΛΟΜΕΝΩΝ .....</b>	<b>46</b>
<b>5 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....</b>	<b>48</b>
<b>ΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΤΟΥ <i>AE. ALBOPICTUS</i></b> <b>.....</b>	<b>48</b>
<b>6 ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....</b>	<b>54</b>
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....</b>	<b>55</b>

**ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ**

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα Δίπτερα αποτελούν μια σημαντική τάξη εντόμων, τόσο ως προς τον αριθμό των ειδών που περιλαμβάνουν, όσο και ως προς τη γεωργική και υγειονομική σημασία που παρουσιάζουν τα είδη αυτά. Από υγειονομική άποψη πολλά είναι τα είδη που προκαλούν προβλήματα στους ανθρώπους και τα ζώα είτε άμεσα (νύξη, μύζηση αίματος, κ.α.) είτε έμμεσα (μετάδοση παθογόνων μικροοργανισμών και παρασίτων), επιφέροντας σημαντικές οικονομικές επιπτώσεις σε τουριστικές, αστικές και αγροτικές περιοχές ιδιαίτερα όταν βρίσκονται σε μεγάλους πληθυσμούς (Εμμανουήλ, 1999)










Τα Δίπτερα ταξινομικά διαιρούνται σε δύο μεγάλες υποτάξεις τα Nematocera και τα Brachycera. Η ονομασία των υποτάξεων οφείλεται στην κατασκευή και μορφολογία των κεραιών. Τα Brachycera, ανάλογα με τον τρόπο ανοίγματος του νυμφικού περιβλήματος κατά την έξοδο του ακμαίου, χωρίζονται σε δύο αθροίσματα τα Cyclorrhapha και στα Orthorrhapha (ΠΙΝΑΚΑΣ Ε.1.). Στο μεν πρώτο, το νυμφικό περίβλημα ανοίγει κυκλικά στο άνω μέρος (ανήκουν οικογένειες με μεγάλο υγειονομικό ενδιαφέρον, όπως Muscidae, Glossinidae, Calliphoridae, Oestridae, κ.α.) και στο δεύτερο δημιουργώντας μια ορθή σχισμή κατά το μήκος του περιβλήματος, σχήματος T (οικογένειες, όπως Tabanidae, Asilidae, κ.α.) (Εμμανουήλ, 1999).

Σύμφωνα με τον Εμμανουήλ (1999) για την οριοθέτηση του προβλήματος από πρακτική πλευρά, σύμφωνα πάντα με την εντομολογική θεώρηση των επιμέρους ταξινομικών κατηγοριών (οικογένειες, γένη, είδη), τα Δίπτερα υγειονομικής σημασίας εντάσσονται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες:

- Τα αιμομυζητικά. Η κατηγορία αυτή αποτελεί πιθανόν την σπουδαιότερη από πλευράς επιπτώσεων στον άνθρωπο και στα αγροτικά ζώα ομάδα εντόμων υγειονομικής σημασίας παγκοσμίως.

Η ζημιά που τα έντομα αυτά προκαλούν αναφέρεται: α) στον πόνο που ο ξενιστής αισθάνεται, με έντονα μερικές φορές αλλεργικά συμπτώματα από την συχνά επαναλαμβανόμενη νύξη του δέρματος, β) στην απώλεια αίματος, τόσο κατά την μύζηση όσο και από τις πληγές που δημιουργούνται μετά τη νύξη, γ) στην μετάδοση σοβαρότατων παθογόνων μικροοργανισμών και παρασίτων, δ) στην ενόχληση και ανησυχία που δημιουργεί η παρουσία τους.

**ΠΙΝΑΚΑΣ Ε.1. Σημαντικότερες οικογένειες Διπτέρων υγειονομικής σημασίας.**

<u>ΤΑΞΗ</u>	<u>ΥΠΟΤΑΞΕΙΣ</u>	<u>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ</u>	
DIPTERA	Nematocera	Culicidae	 <i>Culex pipiens</i>
		Psychodidae	 <i>Phlebotomus sp.</i>
		Simuliidae	 <i>Simulium sp.</i>
		Ceratopogonidae	 <i>Culicoides sp.</i>
	Brachycera	Tabanidae <sup>1</sup>	 <i>Hybomitra sp.</i>
		Muscidae	 <i>Musca domestica</i>
		Glossinidae	 <i>Glossina sp.</i>
		Calliphoridae	 <i>Lucilia sp.</i>
		Oestridae	 <i>Hypoderma sp.</i>

<sup>1</sup> Ανήκει στο άθροισμα *Orthorrhapha*, ενώ οι υπόλοιπες οικογένειες (του πίνακα) που ανήκουν στην υποτάξη *Brachycera*, ανήκουν στο άθροισμα *Cyclorrhapha*.



Στα αιμομυζητικά δίπτερα ανήκουν αρκετές οικογένειες με κοινότερες εκείνες των Culicidae (κουνούπια), Tabanidae (ταβάνια), Muscidae (ορισμένα είδη), και εκείνες που περιλαμβάνουν πολύ μικρά έντομα, γνωστά ως «σκνίπες» (Simuliidae, Ceratopogonidae, Psychodidae, Hippoboscidae) (Εμμανουήλ, 1999).

- Τα προκαλούντα «μυϊάσεις». Με τον όρο «μυϊάση» εννοούμε την προσβολή ζώντων σπονδυλωτών ή/και του ανθρώπου με προνύμφες διπτέρων, οι οποίες για ένα χρονικό διάστημα, μικρό ή μεγάλο τρέφονται από νεκρούς ή ζωντανούς ιστούς, εκκρίματα του σώματος ή προσληφθείσες από τα ζώνα αυτά ζώα τροφές.

Τα είδη που περιλαμβάνονται στην κατηγορία αυτή των διπτέρων μπορεί να συμπεριφέρονται ως υποχρεωτικά παράσιτα (είδη των γενών *Gasterophilus* της οικογένειας Gasterophilidae, *Hypoderma*, *Oestrus* και *Rhinoestrus* της οικογένειας Oestridae, *Cochliomyia*, *Chrysomyia* της οικογένειας Calliphoridae και *Wohlfahrtia* και *Sarcophaga* της οικογένειας Sarcophagidae) ή ως προαιρετικά (είδη του γένους *Sarcophaga* της οικογένειας Sarcophagidae και είδη των γενών *Calliphora* και *Lucillia* της οικογένειας Calliphoridae).

- Τα μη αιμομυζητικά. Στην κατηγορία αυτή είδη με σημαντικό υγειονομικό ενδιαφέρον είναι σχετικώς λίγα και αφορούν σχεδόν αποκλειστικά την οικογένεια Muscidae (*Musca domestica*, η κοινή οικιακή μύγα, κ.α.)

Υπάρχει όμως και ένας σημαντικός αριθμός οικογενειών που περιλαμβάνουν είδη με πολύ μικρό υγειονομικό ενδιαφέρον, αλλά καθίστανται λίγο έως πολύ ενοχλητικά, λόγω των μεγάλων πληθυσμιακών πυκνοτήτων που μπορεί να αναπτύξουν (Drosophilidae, Chloropidae, Piophilidae, Sepsidae, Psychodidae, Chaoboridae, Anisopodidae, Chironomidae, Phoridae, Ephyaridae και Sphaeroceridae) (Εμμανουήλ, 1999).

# ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

## ΤΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ ΚΑΙ Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ

### **1.1. Η υγειονομική σημασία των κουνουπιών**

Τα κουνούπια ανήκουν στην οικογένεια Culicidae, στην υποτάξη Nematocera και στην τάξη Diptera. Η οικογένεια Culicidae διαιρείται σε τρεις υποοικογένειες τις: Toxorhynchitinae, Anophelinae και Culicinae. Στην πρώτη υπάγεται το γένος *Toxorhynchites*, τα είδη του οποίου δεν είναι αιμομυζητικά, οι δε προνύμφες τους, θεωρούνται ωφέλιμες, ως αρπακτικές άλλων προνυμφών Culicidae. Στα Anophelinae υπάγεται το γένος *Anopheles* πολλά είδη, του οποίου μεταδίδουν την ελονοσία στον άνθρωπο. Ενώ στα Culicinae υπάγονται περισσότερα γένη, των οποίων τα πιο ενδιαφέροντα είναι τα *Aedes*, *Culex*, *Culiceta*, *Psorophora* και *Mansonia* με πολυάριθμα είδη, πολλά από τα οποία είναι φορείς σπουδαίων παθογόνων και παρασίτων (ιών, βακτηρίων, κ.α.) του ανθρώπου (Μπέτζιος, 1989; Πελεκάσης, 1994).

Μέχρι σήμερα έχουν καταγραφεί περίπου 3.450 είδη κουνουπιών. Απαραίτητη προϋπόθεση για την ανάπτυξη όλων των ειδών των κουνουπιών είναι η ύπαρξη, έστω και σε μικρή ποσότητα, στάσιμου ή με μικρή ροή νερού. Κουνούπια έχουν βρεθεί στο Κασμίρ σε υψόμετρο 4.650 m μέχρι και σε βάθος 1.250 m, κάτω από την επιφάνεια της θάλασσας, στα ορυχεία χρυσού στη Νότια Ινδία (Μπέτζιος, 1989).

Πολλά είδη κουνουπιών που έχουν τη συνήθεια να μυζούν αίμα από τον άνθρωπο (ανθρωπόφιλα) θεωρούνται σημαντικοί φορείς παθογόνων σοβαρών ασθενειών, όπως της ελονοσίας, του κίτρινου και του δάγγειου πυρετού, των φιλαριάσεων και των εγκεφαλίτιδων. Η ελονοσία μεταδίδεται μόνο από τα ανωφελή κουνούπια, ενώ οι λοιπές ασθένειες μόνο ή κυρίως από τα κοινά (υποοικογένεια Culicinae) (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

**Αρμπολοίμωξη** είναι λοίμωξη που μεταβιβάζεται από ζώα στον άνθρωπο ή μεταξύ ανθρώπων, με αιμομυζητικά αρθρόποδα ως ενδιάμεσους ξενιστές (π.χ. ελονοσία).

**Ενδιάμεσος ξενιστής** μπορεί να είναι ζώο, άνθρωπος ή αρθρόποδο που χρησιμοποιείται ως μέσο μεταφοράς και διασποράς των παθογόνων οργανισμών, χωρίς όμως το παθογόνο να πολλαπλασιάζεται σεξουαλικά.

**Υπόδοχο** είναι ο ξενιστής (ζώο, άνθρωπος, αρθρόποδο) στον οποίο ο παθογόνος οργανισμός διατηρείται επί μακρό χρονικό διάστημα και θεωρείται μολυσματικός (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Η ελονοσία είναι ανθρωπονόσος με μακρόχρονη ιστορία και ανυπολόγιστες αρνητικές επιπτώσεις στην παγκόσμια δημόσια υγεία. Ακόμη και στις αρχές του 21<sup>ου</sup> αιώνα, παρ' όλη την πρόοδο της ιατρικής επιστήμης, η ελονοσία παραμένει μια μάστιγα, που θέτει σε κίνδυνο το 40% του πληθυσμού της γης σε 90 χώρες, με 300-500 εκατομμύρια κλινικές περιπτώσεις και 1,5-2,7 εκατομμύρια θανάτους ετησίως. Μέχρι το 1945, η ελονοσία στην Ελλάδα αποτελούσε τεράστιο πρόβλημα δημόσιας υγείας σε σημείο που να θεωρείται ως η πιο ελονοσιογενής χώρα της Ευρώπης, Βαλκανικής και Μεσογείου (τα περιστατικά της ελονοσίας ετησίως κυμαίνονταν από 1-2 εκατομμύρια, με μέσο όρο 5.000 θανάτους) (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Το αποκλειστικό υποδόχο της ελονοσίας είναι ο άνθρωπος. Μεταδίδεται αποκλειστικά με κουνούπια του γένους *Anopheles*. Από τα 422 είδη του γένους *Anopheles*, 14 είδη και υποείδη έχουν καταγραφεί στην ελληνική επικράτεια. Στην Ελλάδα οι κύριοι ξενιστές των πλασμιδίων της ελονοσίας είναι τα είδη (*An. sacharovi*, *An. maculipennis*, *An. superpictus* και *An. hyrcanus*), από τα οποία το πρώτο θεωρείται το πιο σημαντικό (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Σύμφωνα με την Σαμανίδου-Βογιατζόγλου (2011) οι ιοί που μεταδίδονται από αρθρόποδα είναι γνωστοί ως αρμποϊοί (arthropod-borne viruses). Σύμφωνα με τον ορισμό της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας, οι αρμποϊοί είναι ιοί που διατηρούνται στη φύση κυρίως με βιολογική μετάδοση από αιμομυζητικά αρθρόποδα μεταξύ σπονδυλωτών – ξενιστών. Ορισμένα είδη κουνουπιών είναι ενδιάμεσοι ξενιστές για τη μετάδοση αρμποϊών λοιμώξεων, όπως οι ιοί του κίτρινου και δάγγειου πυρετού, του δυτικού Νείλου και του ιού Sindbis.

Ο ιός του Κίτρινου Πυρετού του γένους *Flarivirus* (οικ. *Flaviridae*) μεταδίδεται με δύο διαφορετικούς κύκλους, τον αστικό και το δασικό. Ο αστικός κύκλος έχει τον άνθρωπο ως υποδόχο και το κουνούπι *Aedes aegypti* ως ενδιάμεσο ξενιστή. Ο δασικός κύκλος έχει υποδόχα πιθήκους και ως ενδιάμεσους ξενιστές κουνούπια, που ανήκουν στα γένη *Aedes*, *Haemagogus* και *Sabethes*. Η γεωγραφική κατανομή του κίτρινου πυρετού περιορίζεται σε χώρες της Αφρικής, όπου μεταδίδεται και με τους δύο κύκλους και της Νότιας Αμερικής, όπου μεταδίδεται σχεδόν αποκλειστικά με το δασικό κύκλο. Η μετάδοση του κίτρινου πυρετού με τις παρούσες συνθήκες στην Ελλάδα δεν είναι δυνατή. Ο μοναδικός ενδιάμεσος ξενιστής της λοίμωξης, το είδος *Aedes aegypti*, φαίνεται ότι απουσιάζει από τις αρχές της δεκαετίας του

‘50, κυρίως ως αποτέλεσμα της ανθελνοσοσιακής εκστρατείας κατά των ανωφελών με DDT<sup>2</sup> (Μπέτζιος, 1989).

Ο ιός του δάγγειου πυρετού του γένους *Flarivirus* έχει υποδόχο τον άνθρωπο και ενδιάμεσους ξενιστές τα είδη κουνουπιών του γένους *Aedes* (*Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. polynesiensis*). Το πλέον σημαντικό είδος με ευρεία γεωγραφική κατανομή και στενή σχέση με το αστικό περιβάλλον και τον άνθρωπο είναι το *Aedes aegypti*. Ο δάγγειος πυρετός θεωρείται η πιο σημαντική αρμποϊκή λοίμωξη του ανθρώπου. Στην Ελλάδα δεν έχει εντοπιστεί για πολλές δεκαετίες, παρ’ ότι στην χώρα μας τα έτη 1927-1928 είχε καταγραφεί μια από τις μεγαλύτερες επιδημίες δάγγειου πυρετού με 650.000 κρούσματα και 1.061 θανάτους (Louis, 2012). Ένα άλλο συγγενές είδος, το *Ae. albopictus*, το οποίο θεωρείται ως ενδιάμεσος ξενιστής του δάγγειου πυρετού έχει εντοπιστεί στην Αλβανία, Ιταλία και Γαλλία τα έτη 1979, 1990 και 1999 αντίστοιχα και πρόσφατα ευρέθηκε και στη χώρα μας στους νομούς Κέρκυρας και Θεσπρωτίας (Samanidou-Voyadjoglou, 2005).

Ο ιός του δυτικού Νείλου ανήκει στο γένος *Flarivirus* με υποδόχα τα πτηνά και ενδιάμεσους ξενιστές τα κουνούπια, κυρίως του γένους *Culex* (Campbell et al. 2002). Τα πτηνά διατηρούν τον ιό στο κυκλοφορικό τους σύστημα για αρκετό χρονικό διάστημα (μέχρι και 100 μέρες) και με τη μετανάστευσή τους θεωρούνται υπεύθυνα για τη διασπορά του. Στην Ελλάδα ο ιός του δυτικού Νείλου έχει επισημανθεί από δύο ορολογικές μελέτες που έγιναν στις δεκαετίες του ‘60 και ‘70 σε διάφορα μέρη της χώρας (Χανιώτης, 2001).

Ο ιός Sindbis, του γένους *Alphavirus* (Togoviridae), ενδημεί στη Μέση Ανατολή, Ευρώπη, Αφρική, Ασία και Αυστραλία, ενώ κλινικές περιπτώσεις που οφείλονται στον ιό έχουν αναφερθεί μόνο για τη Νότια Αφρική και τη Βόρεια Ευρώπη (Becker et al. 2010).

Τα κουνούπια του γένους *Aedes* περιλαμβάνουν είδη τα οποία είναι ενδιάμεσοι ξενιστές της φιλαρίασης και των ιογενών εγκεφαλίτιδων. Ως ενδιάμεσοι ξενιστές της φιλαρίασης λειτουργούν και ορισμένα είδη του γένους *Culex* (Medlock et al. 2012).

Εκτός από τη μετάδοση των ανωτέρων ασθενειών, τα κουνούπια είναι δυνατόν να προκαλέσουν σημαντικές οικονομικές απώλειες, μόνο και μόνο με την ενόχληση που προκαλούν, με αποτέλεσμα την υποβάθμιση τουριστικών, αστικών και αγροτικών περιοχών. Για το λόγο αυτό, σε ορισμένες αναπτυγμένες χώρες (Η.Π.Α., Γερμανία, Γαλλία) έχουν δημιουργηθεί τοπικοί κυρίως οργανισμοί με αποκλειστικό σκοπό την καταπολέμηση των κουνουπιών. Τα τελευταία χρόνια τέτοιοι οργανισμοί έχουν συσταθεί και στην Ελλάδα σε

---

<sup>2</sup> Οργανωχλωριωμένο εντομοκτόνο το οποίο έχει απαγορευτεί στη χώρα μας από το 1972 με τις αριθ. 231978/2018/13-3-1972 και 245468/3168/15-4-1972 αποφάσεις του Υπουργού Γεωργίας.

περιοχές, όπου η ενόχληση από τα κουνούπια είχε φτάσει στα όρια της απόγνωσης. Τέτοιες περιοχές είναι ο κάμπος των Σερρών, η πεδιάδα της Θεσσαλονίκης (στις εκβολές των ποταμών Αξιού, Λουδία και Γαλλικού) και η πεδιάδα του Σπερχειού, στις οποίες υπάρχουν εκτεταμένες εκτάσεις ορυζοκαλλιιεργειών, που προσφέρουν άριστες συνθήκες για την αναπαραγωγή των κουνουπιών, με αποτέλεσμα να παρατηρούνται εξαιρετικά μεγάλοι πληθυσμοί τους θερμούς μήνες του έτους (Σαββοπούλου-Σουλτάνη και συνεργάτες 2011).

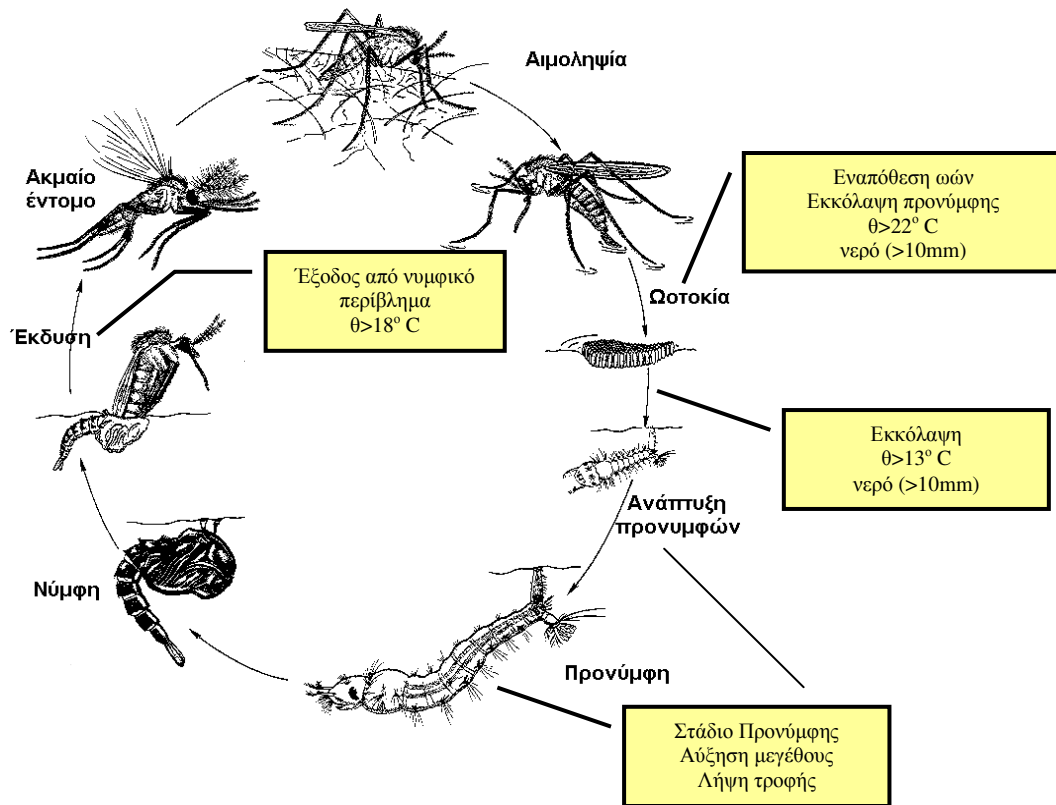
## **1.2. Βιολογία – μορφολογία**

Ο βιολογικός κύκλος του κουνουπιού περιλαμβάνει τα στάδια του ωού, της προνύμφης, της νύμφης και του ακμαίου (ΕΙΚΟΝΑ 1.1.). Για την περιγραφή των μορφολογικών χαρακτηριστικών των βιολογικών σταδίων των κουνουπιών καθώς και για τα χαρακτηριστικά της βιολογίας τους χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία από σχετικές βιβλιογραφικές αναφορές (Μπέτζιος, 1989, Εμμανουήλ, 1999, Σαββοπούλου-Σουλτάνη, 1999, Becker *et al.* 2010, Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011, Κολιόπουλος 2011).

Τα κουνούπια για την ανάπτυξη τους χρειάζονται υδάτινο περιβάλλον. Κατάλληλα οικοσυστήματα για την ανάπτυξη των κουνουπιών είναι οι λίμνες, τα έλη, οι βάλτοι, οι ορυζώνες, τα τμήματα ποταμών και ρυακιών, οι κοιλότητες των βράχων, των δένδρων και του εδάφους που διατηρούν μικρές ποσότητες νερού. Άλλα σημεία ανάπτυξης είναι οι βόθροι και τα φρεάτια σε πόλεις και χωριά, οι δεξαμενές, οι ποτίστρες κατοικίδιων και παραγωγικών ζώων, τα μεταλλικά και τα χάρτινα κουτάκια που διατηρούν μικρή ποσότητα νερού, οι γλάστρες, κ.λ.π. (ΕΙΚΟΝΑ 1.2.).

Τα κουνούπια ανάλογα με το είδος παρουσιάζουν αρκετές διαφορές τόσο στο είδος των εστιών ανάπτυξης των ατελών σταδίων, όσο και στην προτίμηση των ξενιστών για τη λήψη αίματος και τις θέσεις διημέρευσης των τέλειων εντόμων. Έτσι, ανάλογα με το είδος των εστιών ανάπτυξης των ατελών σταδίων, διακρίνουμε είδη γλυκών, υφάλμυρων, αλατούχων, στάσιμων, ψυχρών και θερμών νερών.

Ανάλογα με το είδος του ξενιστή που προτιμούν για την αιμοληψία τους, διακρίνουμε είδη ανθρωπόφιλα (είδη με κύριους ξενιστές τους ανθρώπους), ζωόφιλα (κυρίως θηλαστικά), ορνιθόφιλα (πτηνά), ερπετόφιλα (ερπετά), κ.λ.π.



**Εικόνα 1.1.** Βιολογικός κύκλος κουνουπιού.



**ΕΙΚΟΝΑ 1.2.** Πιθανές εστίες ανάπτυξης ατελών σταδίων κουνουπιών.

Με βάση τα σημεία όπου αναζητούν τον ξενιστή τους τα διακρίνουμε σε οικοδίατα

(προτιμούν τα σπίτια για αναζήτηση ξενιστή) ή αγροδίαιτα (τα συναντάμε στην ύπαιθρο), σε ενδόφιλα και εξώφιλα (προτιμούν εσωτερικούς ή εξωτερικούς χώρους, αντίστοιχα, για την ανάπαυσή τους μετά την αιμοληψία ή κατά την διάρκεια της ημέρας). Τέλος, ανάλογα με το μέγεθος του χώρου που χρειάζονται για την πτήση και τη σύζευξη διακρίνονται σε στενόγαμα και ευρύγαμα και με βάση το χρόνο δραστηριοποίησης τους σε νυκτόβια και ημερόβια είδη.

### **1.2.1. Ωό**

Τα ωά των κουνουπιών είναι πολύμορφα και μικροσκοπικά (έως 1 mm). Κατά τη στιγμή της εναπόθεσης τα ωά είναι λευκά ή ανοιχτόχρωμα, αργότερα γίνονται σκοτεινόχρωμα ή μελανά.

Τα είδη του γένους *Anopheles* εναποθέτουν τα ωά τους ένα – ένα στην επιφάνεια του νερού, κάθε ωό έχει ειδικούς σάκους με αέρα στις πλευρές του (τους πλωτήρες), οι οποίοι τα βοηθούν να επιπλέουν. Τα ωά των κουνουπιών του γένους *Culex* και σε ορισμένα άλλα γένη (*Culiseta*, *Mansonia*, κ.α.) είναι ενωμένα σε ομάδες και ονομάζονται «σχεδίες» (egg rafts). Άλλα είδη του γένους *Mansonia* εναποθέτουν τα ωά τους κατά ομάδες κάτω από την υδρόβια βλάστηση. Τα ωά στα γένη *Aedes* και *Psorophora* δεν φέρουν πλωτήρες και συχνά τοποθετούνται στην άκρη υδάτινων συλλογών ή σε πολύ υγρές περιοχές λίγο πέρα από την επιφάνεια του νερού. Από τα ωά αυτά, οι προνύμφες, εκκολάπτονται όταν κατακλυστούν με νερό (ΕΙΚΟΝΑ 1.3.).



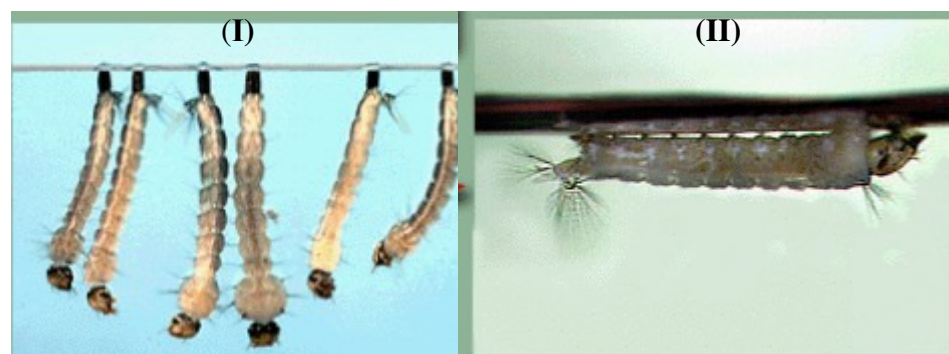
**ΕΙΚΟΝΑ 1.3.** Ωά από διάφορα είδη κουνουπιών (I) με πλωτήρες, (II) ένα-ένα εκτός νερού και (III) σε σχεδία ή egg raft.

### 1.2.2. Προνύμφη

Τα ωά των Culicidae συχνά δίδουν προνύμφες εντός 48 ωρών. Οι προνύμφες είναι πάντα υδρόβιες, παρουσιάζουν γρήγορη κίνηση με χαρακτηριστικό στριφογύρισμα της κοιλιάς. Ενδέχεται όμως να κινηθούν αργά εμπρός με την κεφαλή, χρησιμοποιώντας σαν έλικα τις στοματικές ψήκτρες. Οι ίδιες ψήκτρες είναι που οδηγούν το νερό στην στοματική κοιλότητα, προκειμένου οι προνύμφες να τραφούν με άλγη, πρωτόζωα και σωματίδια οργανικής ύλης. Οι προνύμφες είναι το μοναδικό στάδιο στο νερό που τρέφεται και αυξάνεται σε μέγεθος.

Οι προνύμφες όλων των γενών εκτός του γένους *Anopheles* φέρουν στο 8<sup>ο</sup> κοιλιακό τμήμα ένα αναπνευστικό σιφώνιο από το οποίο και αναπνέουν. Λόγω της ύπαρξης αυτού του σιφωνίου στο σώμα της, η προνύμφη σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια του νερού. Στα είδη του γένους *Anopheles*, όπου το σιφώνιο δεν υπάρχει, το σώμα της προνύμφης παίρνει παράλληλη θέση με την επιφάνεια του νερού (**ΕΙΚΟΝΑ 1.4.**). Τα κουνούπια που ανήκουν στα γένη *Mansonia* και *Coquelllettidia* έχουν σιφώνια με οξύ άκρο, που παρέχουν σ' αυτά την ικανότητα να διατρυπούν τις ρίζες ή τους βλαστούς των υδρόβιων φυτών, από τις οποίες εφοδιάζονται με το αναγκαίο οξυγόνο.

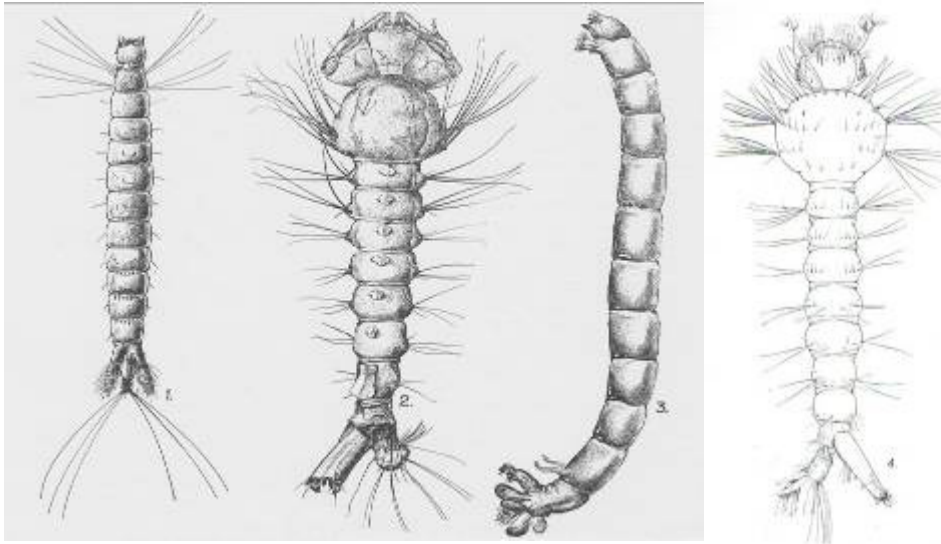
Το προνυμφικό στάδιο (4 ηλικίες) ανάλογα με το είδος, τη θερμοκρασία του νερού, την ποσότητα και ποιότητα της διαθέσιμης τροφής διαρκεί περίπου 7-10 ημέρες, όπου πραγματοποιείται η απόρριψη του εξωτερικού περιβλήματος (έκδυση) και η μεταμόρφωσή της σε νύμφη.



**ΕΙΚΟΝΑ 1.4.** Προνύμφες κουνουπιών (I) Το σώμα της προνύμφης σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια του νερού (*Culex* ή *Aedes*) και (II) Το σώμα της προνύμφης είναι παράλληλο με την επιφάνεια του νερού (*Anopheles*).



Τα χαρακτηριστικά που ξεχωρίζουν τις προνύμφες των κουνουπιών απ' όλες τις άλλες υδρόβιες προνύμφες άλλων εντόμων είναι η έλλειψη ποδιών (άποδες) και το ότι ο σφαιροειδής τους θώρακας είναι πλατύτερος από το κεφάλι (ΕΙΚΟΝΑ 1.5).

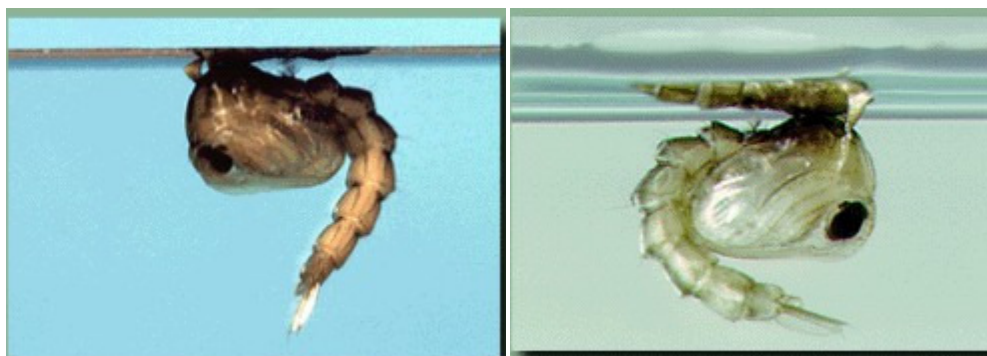


**ΕΙΚΟΝΑ 1.5.** Υδρόβιες προνύμφες άλλων Διπτέρων: (1) Οικογένεια Dixidae, (2) Οικογένεια Chaoboridae, (3) Οικογένεια Chironomidae και (4) Οικογένεια Culicidae.

### **1.2.3. Νύμφη**

Οι νύμφες είναι χαρακτηριστικά κυρτές (μοιάζουν με κόμμα) και ζουν και αυτές μέσα στο νερό. Επίσης, ένα χαρακτηριστικό τους γνώρισμα είναι ότι κινούνται αρκετά ζωηρά, ενώ όταν ενοχληθούν εκτελούν πλήρη αναστροφή.

Κατά το μεγαλύτερο διάστημα παραμένουν στην επιφάνεια του νερού αναπνέοντας με ένα ζεύγος αναπνευστικών χοανοειδών εξαρτημάτων, που βρίσκονται στο άνω μέρος του κεφαλοθώρακα. Στα είδη του γένους *Mansonia* η πρόσληψη του οξυγόνου γίνεται από υδρόβια φυτά (όπως και στο προνυμφικό στάδιο), επί των οποίων προσαρμόζουν τα καταλλήλως διαμορφωμένα αναπνευστικά εξαρτήματα και όχι από την επιφάνεια του νερού (ΕΙΚΟΝΑ 1.6).



(I)

(II)

**EIKONA 1.6.** Νύμφες κουνουπιών: (I) του γένους *Culex* και (II) του γένους *Anopheles*.

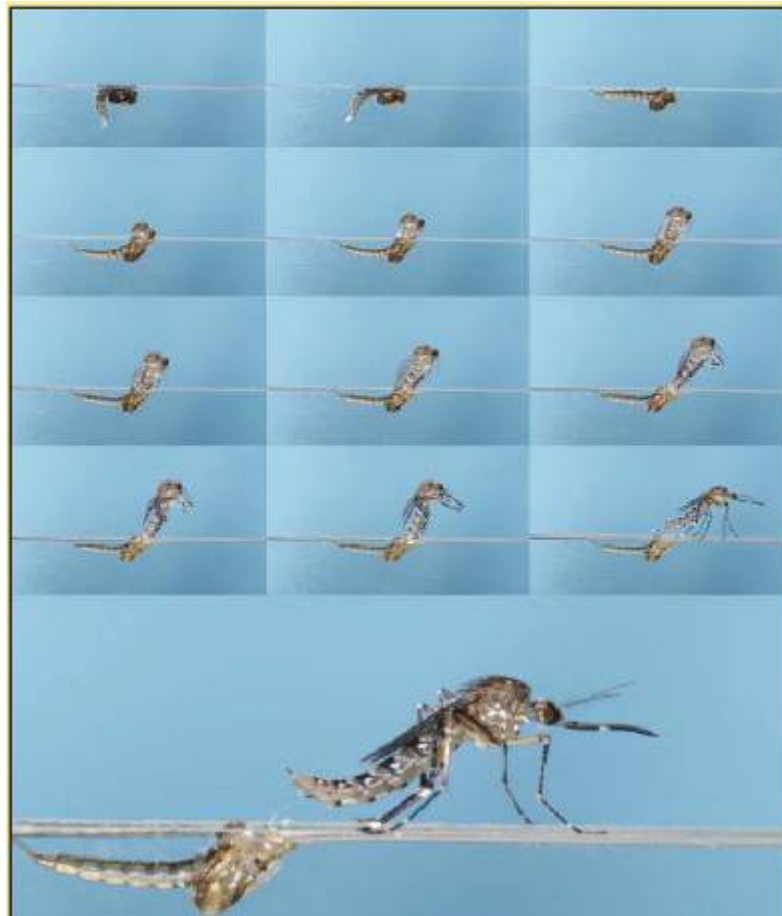
---

Η διάρκεια του νυμφικού σταδίου είναι 1-3 ημέρες, αλλά στο σύντομο αυτό χρονικό διάστημα γίνονται σημαντικές αλλαγές στο εσωτερικό τους με πλήρη αποδόμηση των προνυμφικών ιστών και αναδόμηση του ακμαίου ατόμου (EIKONA 1.7.)

#### **1.2.4. Ακμαίο**

Τα τέλεια έντομα είναι σχετικώς μικρά (μήκος 3-6 mm σπανίως έως 9 mm), με σώμα λεπτό και μακριά πόδια. Η κοιλιά είναι μακριά και λεπτή, οι πτέρυγες λεπτές, διαφανείς με χαρακτηριστική νεύρωση και με λείπια στα νεύρα και στην περιφέρεια, η οποία φέρει σμήριγγες που σχηματίζουν «κροσσό».

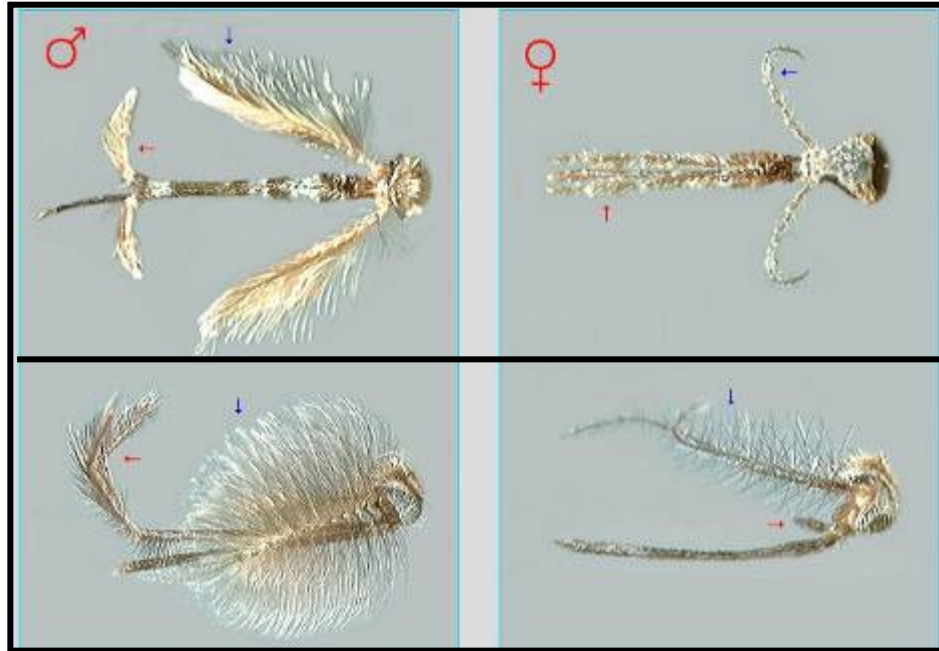
Οι κεραίες στα αρσενικά είναι περισσότερο πετεροειδείς (φουντωτές), απ' ότι τα στα θηλυκά. Οι οφθαλμοί είναι καλά ανεπτυγμένοι. Τα τέλεια άτομα ειδών του γένους *Anopheles* είναι σχετικώς μεγάλου μεγέθους, το σώμα τους σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια που κάθονται, έχουν κυκλικό θυρεό και πολύ κυρτή προβοσκίδα με περίπου ισομήκεις γναθικές με αυτή προσακτρίδες και στα δύο φύλλα.



**ΕΙΚΟΝΑ 1.7:** Η διαδικασία έκδυσης του ακμαίου κουνουπιού. Τα ενήλικα άτομα εξέρχονται πάνω στην επιφάνεια του νερού, σπάζοντας σε καθορισμένο ασθενές σημείο το νυμφικό περίβλημα.

---

Στα περισσότερα είδη των κοινών κουνουπιών οι προσακτρίδες των θηλυκών ατόμων έχουν μήκος μικρότερο από το μισό του μήκους της προβοσκίδας, αντίθετα στο αρσενικό τα μήκη αυτά είναι περίπου ίδια (ΕΙΚΟΝΑ 1.8.). Ο θυρεός είναι τρίλοβος και το σώμα τους φέρεται παράλληλα με την επιφάνεια στην οποία κάθεται.



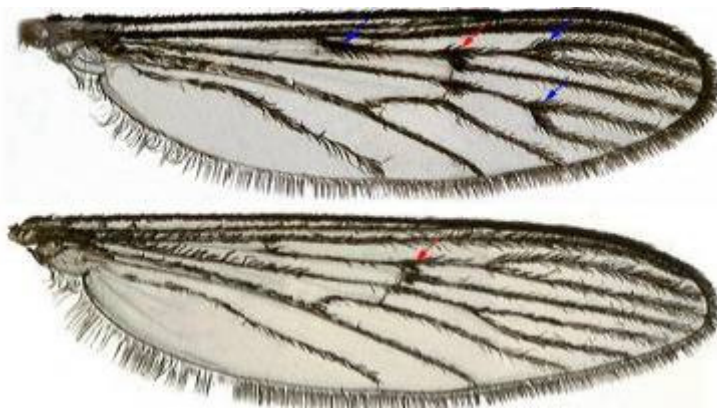
**ΕΙΚΟΝΑ 1.8.** Διαχωρισμός αρσενικού και θηλυκού κουνουπιού: του γένους *Anopheles* (επάνω) και του γένους *Culex* (κάτω).

Τα στοματικά μέρη του θηλυκού είναι νύσσοντος – αίματος μυζητικού τύπου, έχουν τη μορφή μακριάς προβοσκίδας στα πλάγια της οποίας υπάρχουν οι γναθικές προσακτρίδες. Μόνο τα θηλυκά είναι αιμομυζητικά, αφού το αίμα τους είναι απαραίτητο για την ωρίμανση των ωών και συνήθως προηγείται μια τουλάχιστον αιμοληψία πριν από κάθε ωοτοκία.

Η ποσότητα του αίματος που απομυζά ένα θηλυκό κουνούπι κυμαίνεται συνήθως από 2-5 mg. Το κουνούπι του κίτρινου πυρετού (*Ae. aegypti*) είναι ικανό να πάρει 4 mg, πολλά ανωφελή ικανοποιούνται με 1-2,5 mg, ενώ ορισμένα άλλα έχουν χωρητικότητα για 6-10 mg (*Culiseta annulata*, *Culex quinquefasciatus*, *Aedes sollicitans*).

Αμφότερα, θηλυκά και αρσενικά, για τις διάφορες δραστηριότητες που επιτελούν (πτήση, σύζευξη, ωοτοκία, κ.λ.π.) έχουν ανάγκη σακχαρούχων ουσιών ως πηγή ενέργειας. Τέτοιες ουσίες επιζητούν και βρίσκουν στο νέκταρ των λουλουδιών, στις εκκρίσεις των δένδρων και στα φύλλα των φυτών, στα ώριμα φρούτα και στις εκκρίσεις ορισμένων εντόμων (αφίδες).

Τα είδη των γενών *Anopheles* και *Culex* μετά από μία τελευταία λήψη αίματος διαχειμάζουν ως γονιμοποιημένα θηλυκά σε προφυλαγμένα και θερμά σημεία (σπήλαια, εσωτερικό κατοικιών, στάβλοι, τούνελ, κ.α.). Την επόμενη άνοιξη, με την άνοδο της θερμοκρασίας δραστηριοποιούνται και μετά από μία λήψη αίματος πραγματοποιούν την πρώτη ωοτοκία. Τα περισσότερα είδη του γένους *Aedes* και *Psorophora* διαχειμάζουν ως ωά, υπάρχουν και περιπτώσεις, όπου στο γένος *Mansonia* η διαχείμαση γίνεται στο προνυμφικό στάδιο.



**ΕΙΚΟΝΑ 1.9.** Πτέρυγα κουνουπιού. Το 3<sup>ο</sup> νεύρο της πτέρυγας (κόκκινο βέλος) ανάμεσα σε δύο διακλαδιζόμενα (μπλε βέλος).

Τα κουνούπια είναι ικανά να αναπτύξουν πολύ μεγάλες πληθυσμιακές πυκνότητες. Ένα θηλυκό και ανάλογα με το είδος μπορεί να γεννήσει την πρώτη φορά από 50 έως 500 ωά περίπου. Στις επόμενες γενεές, οι οποίες ενδέχεται να φτάσουν και τις 10, γεννά μικρότερο αριθμό ωών. Εάν θεωρηθεί ότι κάθε φορά γεννά 200 ωά από τα οποία τα 100 θα αναπτυχθούν σε θηλυκά και ότι το χρονικό διάστημα ωό – τέλειο άτομο είναι περίπου 2 βδομάδες, σε 5 γενιές θα αναπτυχθούν 20 εκατομμύρια έντομα. Γίνεται συνεπώς αντιληπτό οι μεγάλες πληθυσμιακές πυκνότητες που αναπτύσσονται, εάν αντί του ενός θηλυκού εντόμου υπολογίσει κανείς ότι σε μια περιοχή υπάρχουν χιλιάδες θηλυκά.

Τα χαρακτηριστικά που ξεχωρίζουν τα τέλεια των κουνουπιών από τα τέλεια των άλλων Δίπτερων, είναι ο συνδυασμός μεγάλης προβοσκίδας, λεπιών στα νεύρα των πτερύγων και χαρακτηριστική διάταξη των νεύρων, όπου στην κορυφή των φτερών καταλήγει ένα απλό νεύρο (3<sup>ο</sup> επίμηκες) ανάμεσα σε δύο διακλαδισμένα το 2<sup>ο</sup> και το 4<sup>ο</sup> (ΕΙΚΟΝΑ 1.9).

### **1.3. Βιολογία-μορφολογία του *Aedes albopictus***

Το *Ae. albopictus* είναι ένα μάλλον μικρό σε μέγεθος κουνούπι με μέγεθος περίπου στα 5,5 εκατοστά. Είναι ένα ιδιαίτερα ενοχλητικό είδος κουνουπιού αν και αρχικά ήταν δασικό είδος εξαιτίας της ραγδαίας εξάπλωσής του πλέον χαρακτηρίζεται και ως αστικό είδος. Πέρα απ' τον άνθρωπο τρέφεται και με αίμα πτηνών και θηλαστικών (Hawley, 1988).

Το θηλυκό κουνούπι τίγρης (**εικόνα 1.10**) γεννά περίπου 42-88 ωά σε ομάδες μετά από κάθε αιμοληψία ενώ κατά τη διάρκεια της ζωής του γεννά περίπου 300-350 ωά. Τα ωά προσκολλώνται σε τοιχώματα εστιών όπως μικρά δοχεία που συγκρατούν νερό, βάζα, βαρέλια, δεξαμενές, κοιλότητες δένδρων και πολύ συχνά σε παλιά ελαστικά αυτοκινήτων και έχουν μεγάλη ανθεκτικότητα στην ξηρασία. Επίσης η διαχείμαση γίνεται στο στάδιο του ωού, έτσι όταν οι εστίες αυτές ξαναπλημμυρίσουν και οι συνθήκες είναι κατάλληλες αρχίζει πάλι η εμβρυογένεση και τα ωά εξελίσσονται κανονικά. Το μήκος των προνυμφών φτάνει περίπου τα 8mm και το στάδιο της προνύμφης ανάλογα με την διαθεσιμότητα της τροφής διαρκεί 5-10 μέρες και της νύμφης 2-3 μέρες. Ενώ τα θηλυκά που προκύπτουν είναι έτοιμα να ζευγαρώσουν σε 2-3 μέρες. (Estrada-Franco and Craig 1995, Giatropoulos et al. 2012c)



**Εικόνα 1.10 Εμφάνιση ακμαίου θηλυκού *Ae. albopictus* μετά τη λήψη αίματος.**

### 1.3.1 Εξάπλωση του *Aedes albopictus*

Κατά τους Κολιόπουλος και συνεργάτες (2008) το *Ae. albopictus* είχε καταγραφεί στα δάση της ΝΑ Ασίας, κυρίως στην Ινδονησία, Φιλιππίνες, Μαλαισία και Σιγκαπούρη. Η εξάπλωσή του έγινε προς Μαδαγασκάρη, Νέα Γουινέα, Κίνα και Ιαπωνία. Το 1972 εντοπίστηκε στα λιμάνια της βόρειας Αμερικής χωρίς να προξενήσει ιδιαίτερη ανησυχία έως το 1985 που εντοπίστηκε ένα μεγάλος πληθυσμός στο Χιούστον του Τέξας και σε πολύ λίγα χρόνια σε αρκετές πολιτείες των Η.Π.Α.

Αποδείχτηκε πως το εμπόριο μεταχειρισμένων ελαστικών ήταν η αιτία εξάπλωσής του είδους στην Αμερικάνικη ήπειρο, καθώς τα ελαστικά είναι άριστη θέση για την εναπόθεση των αυγών του *Ae. Albopictus*, έτσι το εμπόριο των ελαστικών είχε ως συνέπεια την μεταφορά των ωών, που είναι πολύ ανθεκτικά στην ξηρασία, σε νέους τόπους αλλά και σε νέες ηπείρους. Αξίζει να σημειωθεί ότι μόνο κατά την περίοδο 1988-1995 η Ιαπωνία εξήγαγε πάνω από 49.000.000 μεταχειρισμένα ελαστικά σε 137 χώρες του κόσμου (Enserink 2008).

Παράλληλα με τις Ηνωμένες Πολιτείες το *Aedes albopictus* εντοπίστηκε και σε άλλες χώρες της ίδιας ηπείρου όπως η Βραζιλία, τα νησιά της Καραϊβικής, το Μεξικό, η Γουατεμάλα, η Κούβα, η Βολιβία, το Ελ Σαλβαδόρ, την Κολομβία, την Αργεντινή. Παράλληλα έκανε την εμφάνισή του και στην Αφρικανική ήπειρο όπου η παρουσία του έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές χώρες (Benedict *et al.* 2007, I.S.S.G., 2011).

Στην Ευρώπη εντοπίστηκε για πρώτη φορά το 1979 στις ακτές της βόρειας Αλβανίας. Στην συνέχεια το κουνούπι τίγρης εντοπίστηκε στην Ιταλία, στην Γαλλία, στο Βέλγιο, στο Μαυροβούνιο, στην Ελβετία, στην Ισπανία, στην Κροατία, στην Σλοβενία και στην Κροατία, έχει επίσης επιβεβαιωθεί η παρουσία του στο Ισραήλ, το Λίβανο και την Συρία (Romi 1995, E.C.D.C. 2009).

Στην Ελλάδα το *Aedes albopictus* εντοπίστηκε σχετικά πρόσφατα σε σχέση με την υπόλοιπη ευρώπη. Συγκεκριμένα εντοπίστηκε το 2004 στην Κέρκυρα και την Θεσπρωτία. Επίσης, ένας αριθμός ατόμων του είδους αυτού βρέθηκε στην περιοχή του προμαχώνα Σερρών (Samanidou-Voyadjoglou *et al.* 2005). Το μήνα Αύγουστο του 2008 ακμαία άτομα και προνύμφες εντοπίστηκαν από την ομάδα του Εργαστηρίου Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου στον Αστακό Αιτωλοακαρνανίας αλλά και στην Αθήνα ακμαία άτομα και των δύο φύλλων εντοπίστηκαν στην περιοχή της Ριζούπολης (πλησίον του Β' νεκροταφείου και του ρέματος Ποδονύφτη) καθώς και του Βοτανικού (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο). Δείγματα και απ' τις τρεις περιοχές (εικόνα 1.11) αναγνωρίστηκαν τόσο απ' το Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του

Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου όσο και απ' το Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Αμέσως μετά την επιβεβαίωση του είδους ξεκίνησε έρευνα για να διαπιστωθεί κατά πόσο οι πληθυσμοί που εντοπίστηκαν στην Αθήνα έχουν εγκατασταθεί και αναπαράγονται στις συγκεκριμένες περιοχές (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008, Giatropoulos *et al.* 2012a).

Τα επόμενα 3 έτη (2009-2011) πολυάριθμα δείγματα κουνουπιών από την Αττική και την Ελλάδα γενικότερα εστάλησαν στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο προς αναγνώριση και παροχή σχετικών πληροφοριών, ως αποτέλεσμα της όχλησης των κατοίκων ορισμένων περιοχών καθώς και της ανησυχίας που προκλήθηκε από την παρουσία και υγειονομική σημασία του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού. (Giatropoulos *et al.* 2012c). Η προκαταρκτική έρευνα έδειξε ότι τουλάχιστον στην περιοχή της Ριζούπολης τα δείγματα προέρχονται από σταθερά αναπαραγόμενο πληθυσμό (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008).



**ΕΙΚΟΝΑ 1.11** Δείγμα *Aedes albopictus* που συλλέχθηκε απ' την περιοχή της Αθήνας

---

### **1.3.2 Υγειονομική σημασία**

Η υγειονομική σημασία του *Aedes albopictus* είναι μεγάλη διότι είναι δυνητικός φορέας πολλών σοβαρών για τον άνθρωπο ασθενειών που μπορεί να οδηγήσουν ακόμα και στον θάνατο. Επίσης το γεγονός ότι οι ασθένειες αυτές εμφανίζονται με την μορφή επιδημιών ή πανδημιών, αποτελεί έναν επιπλέον παράγοντα κινδύνου, ιδιαίτερα για πληθυσμούς με



χαμηλά επίπεδα ανοσίας στα συγκεκριμένα παθογόνα, όπως συμβαίνει με τον πληθυσμό της χώρας μας (Gratz, 2004).

Το *Ae. albopictus* μπορεί να μεταδώσει πολλές σοβαρές ασθένειες, οι σοβαρότερες από αυτές όμως είναι ο δάγκειος και ο δάγκειος αιμορραγικός πυρετός, που προσβάλλουν κάθε χρόνο πάνω από 20 εκατομμύρια ανθρώπους σε Ασία, Αφρική και Αμερική. Ειδικά για τον δάγκειο πυρετό το *Ae. albopictus* είναι πολύ ικανός φορέας και των τεσσάρων σεροτύπων του ιού τον οποίο μεταδίδει με ευκολία στον άνθρωπο. Στις περιοχές καταγωγής του το *Ae. Albopictus* έχει διαδραματίσει επανειλημμένως πρωταγωνιστικό ρόλο στην εξάπλωση επιδημιών του δάγκειου και δάγκειου αιμορραγικού πυρετού. Επίσης είναι κατηγορείται για την μετάδοση 22 τουλάχιστον αρμοϊών και άλλων παθογόνων. Παθογόνα για τα οποία έχει αποδειχθεί ότι είναι φορέας στη φύση, είναι οι αρμοϊοί Chikungunya, ο ιός της Ιαπωνικής Εγκεφαλίτιδας (Japanese Encephalitis), ιός του Δυτικού Νείλου (West Nile Virus), La Crosse virus, St. Louis Encephalitis, Eastern Equine Encephalomyelitis, Western Equine Encephalomyelitis, Potisi virus, ο κίτρινος πυρετός (Yellow Fever), το βακτήριο *Wolbachia* και οι νηματώδεις των φιλαριώσεων, *Dirofi laria immitis* και *Dirofi laria repens*. Εκτός των παραπάνω έχει αποδειχθεί ότι, στο εργαστήριο τουλάχιστον, μπορεί να μεταδώσει και αρκετούς ακόμη αρμοϊούς (Sindbis, Keystone, Tensaw, Cache Valley, Mayaro, Oropouche και Potosi) (Pampiglione and Rivasi 2001, Gratz, 2004, Medlock *et al.* 2012) .

Επίσης, η ισχυρή ανθρωποφιλία που επιδεικνύει το είδος αυτό προκαλεί σοβαρά προβλήματα ενόχλησης με αποτέλεσμα να χρειάζονται ιδιαίτερα μέτρα καταπολέμησης του στις περιοχές που έχει εγκατασταθεί. Η ενόχληση γενικά από τα κουνούπια αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα των κατοίκων πολλών περιοχών της χώρας μας. Η χώρα μας μάλιστα κατέχει ένα αρνητικό πρωτείο σχετικά με το Δάγκειο Πυρετό καθώς το 1927-1928 συνέβη μια από τις καταστροφικότερες επιδημίες στη σύγχρονη ιστορία της Ευρώπης με περισσότερους από 100.000 διαπιστωμένους ασθενείς (κατά άλλους 1.000.000) και 1.553 θανάτους, περισσότεροι από τους οποίους στην Αθήνα και τη Θεσσαλονίκη. Ως υπεύθυνο είδος κουνουπιού για την εμφάνιση και εξάπλωση της επιδημίας αυτής θεωρήθηκε τότε το *Aedes aegypti* (Louis, 2012). Αλλά και οι γειτονικές μας χώρες έχουν υποφέρει πολύ από επιδημίες ασθενειών που μεταδίδονται από κουνούπια όπως το *Ae. albopictus*. Χαρακτηριστικά παραδείγματα και μάλιστα των πολύ τελευταίων ετών είναι η επιδημία του ιού του Δυτικού Νείλου στην Ρουμανία το 1996 (393 εργαστηριακά διαγνωσμένες περιπτώσεις και 17 θάνατοι) και η επιδημία του ιού Chikungunya στην Ιταλία (με 151 περιπτώσεις και έναν νεκρό) μόλις το 2006. (Rezza *et al.* 2007, Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008)

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

### ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

Σήμερα, η αντιμετώπιση των κουνουπιών βασίζεται σε συνδυασμό μέτρων, που συμβάλλουν παράλληλα προς το τελικό αποτέλεσμα και όχι στην εφαρμογή μιας μόνο μεθόδου καταπολέμησης. Γενικά, η αντιμετώπιση των κουνουπιών, θα πρέπει να στηρίζεται κατά κύριο λόγο στην καταπολέμηση ή τον περιορισμό των προνυμφών και συμπληρωματικά να γίνεται καταπολέμηση των τελείων εντόμων, όταν αυτό απαιτείται από τις συνθήκες (Κολιόπουλος 2011).

Είναι γνωστό ότι οι εστίες ανάπτυξης των κουνουπιών (έλη, χαντάκια, στάσιμα νερά) συμβαίνει συχνά να είναι οικοσυστήματα μικρής ή μεγάλης οικολογικής αξίας ή να βρίσκονται πολύ κοντά σε κατοικημένες περιοχές. Για το λόγο αυτό θα πρέπει πάντα να γίνεται προσεκτικός χειρισμός της κατάστασης και η καταπολέμηση να βασίζεται σε συνδυασμό μέτρων και όχι στην εφαρμογή μιας μόνο μεθόδου καταπολέμησης (Κολιόπουλος 2011).

Η καταπολέμηση των κουνουπιών θα πρέπει να στηρίζεται κατά κύριο λόγο στην καταπολέμηση των προνυμφών και συμπληρωματικά μόνο να γίνεται καταπολέμηση των τελείων εντόμων, όταν αυτό απαιτείται από τις συνθήκες (Κολιόπουλος 2011).

Στοιχεία για την καταπολέμηση των προνυμφών και των ακμαίων των κουνουπιών αντλήθηκαν από τη σχετική βιβλιογραφία (Μπέτζιος, 1989, Εμμανουήλ, 1999 Σαββοπούλου-Σουλτάνη, 1999, W.H.O. 1999, Ζιώγας και Μαρκόγλου 2007, Becker *et al.* 2010, Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011, Κολιόπουλος 2011) και περιγράφονται αναλυτικά παρακάτω.

#### **2.1. Καταπολέμηση των προνυμφών**

##### **2.1.1. Περιορισμός των εστιών ανάπτυξης**

Ο περιορισμός των εστιών ανάπτυξης των κουνουπιών είναι ένα από τα σημαντικότερα μέτρα καταπολέμησής τους. Η καταστροφή των εστιών μειώνει την ευχέρεια πολλαπλασιασμού τους και επομένως μειώνει την πυκνότητά τους. Αν και οι εστίες ανάπτυξης των ατελών σταδίων των κουνουπιών διαφέρουν από είδος σε είδος, μπορούμε γενικά να πούμε ότι για τα είδη που αναπτύσσονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις νερών, όπως ποτάμια και αρδευτικά ή αποστραγγιστικά χαντάκια, τα ώα, οι προνύμφες και οι νύμφες των κουνουπιών συγκεντρώνονται συνήθως στις όχθες όπου υπάρχει βλάστηση και η κίνηση του νερού είναι

αργή. Ο καθαρισμός των εστιών αυτών από τη βλάστηση, όταν αυτό είναι δυνατό, διευκολύνει την κίνηση του νερού που παρασύρει τα ωά και τις προνύμφες.

Εάν το πρόβλημα είναι μεγάλο θα πρέπει να εξεταστεί η δυνατότητα αποστράγγισης ορισμένων εκτάσεων, ενώ μικρές κοιλότητες του εδάφους θα μπορούσαν να επιχωματωθούν. Εκτός όμως από την πιο πάνω περίπτωση θα πρέπει να έχουμε υπόψη ότι και μικρές συγκεντρώσεις νερού αποτελούν συχνά σημαντικές εστίες ανάπτυξης κουνουπιών, ιδίως των κοινών. Τέτοιες εστίες είναι το νερό που συγκεντρώνεται σε βαρέλια ή άλλα δοχεία, σε στέρνες ή ανοικτές δεξαμενές, κάτω από σχάρες συλλογής νερών, σε παλιά ελαστικά αυτοκινήτων και άλλες εστίες που συχνά συμβαίνει να βρίσκονται μέσα στις αστικές περιοχές.

Η καταστροφή, απομάκρυνση ή κάλυψη των εστιών αυτών μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην αντιμετώπιση ορισμένων ειδών κουνουπιών, περιορίζοντας τις εστίες αναπαραγωγής τους. Επίσης οι δεξαμενές νερού που χρησιμοποιούνται για πυρασφάλεια θα μπορούσαν να σκεπαστούν καλά, ώστε να είναι αδύνατη η πρόσβαση των κουνουπιών στο νερό.

### **2.1.2. Βιολογική καταπολέμηση**

Η βιολογική καταπολέμηση των προνυμφών των κουνουπιών γίνεται με εμπλουτισμό των εστιών ανάπτυξής τους με διάφορα είδη προνυμφοφάγων ψαριών, κυρίως από τα οποία είναι το είδος *Gambusia affinis* και με σκευάσματα του παθογόνου βακίλου *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (B.t.i.) ή του *Bacillus sphaericus* (B.s.).

Εντομοκτόνα βιολογικής προέλευσης, με βάση το B.t.i. και το B.s., χρησιμοποιούνται σε πολλές χώρες με επιτυχία για τη μείωση του πληθυσμού των προνυμφών των κουνουπιών.

Το *Gambusia affinis* είναι ένα μικρό ψάρι της οικογένειας Poeciliidae, μήκους 4-6 cm το θηλυκό και 2-3 cm το αρσενικό. Τα ψάρια αυτά είναι ζωοτόκα, πολλαπλασιάζονται γρήγορα και προσαρμόζονται εύκολα σε όλα τα κλίματα και σε νερά διαφορετικής σύνθεσης. Έχουν εισαχθεί στην Ελλάδα από το 1927 και έχουν εγκλιματιστεί επιτυχώς σε όλες σχεδόν τις περιοχές της Χώρας μας. Τα προνυμφοφάγα ψάρια του γένους *Gambusia* τρέφονται με φυτικές και ζωικές ουσίες που βρίσκονται στο νερό, αλλά έχουν ιδιαίτερη προτίμηση στις προνύμφες όλων γενικά των κουνουπιών. Τα *Gambusia* κινούνται στην επιφάνεια του νερού και καταβροχθίζουν πολύ μεγάλο αριθμό προνυμφών. Υπολογίζεται ότι ένα ψάρι μπορεί να καταβροχθίσει 150-200 προνύμφες την ημέρα. Για να δράσει ικανοποιητικά το *Gambusia*, πρέπει η εστία να μην έχει πολύ πυκνή βλάστηση, γιατί τότε παρεμποδίζεται η κίνησή του.

Κατά το παρελθόν, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για την καταπολέμηση των κουνουπιών και ειδικότερα των ανωφελών που είναι υπεύθυνα για τη μετάδοση της ελονοσίας, όπου σε αρκετές περιπτώσεις έδωσαν άριστα αποτελέσματα, περιορίζοντας την πυκνότητα των κουνουπιών σε ανεκτά επίπεδα.

### **2.1.3. Χημική καταπολέμηση**

Η χρήση βιοκτόνων είναι αποτελεσματικό μέτρο και δίνει άμεσα αποτελέσματα, αλλά θα πρέπει πάντα να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη η χρήση για την οποία προορίζεται το νερό των εστιών. Σε εστίες που υπάρχουν ψάρια θα πρέπει να εφαρμοστεί η χαμηλότερη δυνατή δόση, ιδίως όταν ψεκάζουμε με πυρεθρινοειδή, τα οποία είναι ιδιαίτερα τοξικά για τα ψάρια.

Για να είναι αποτελεσματικοί οι ψεκασμοί πρέπει οι ψεκαζόμενες εστίες να έχουν μικρή βλάστηση, ενώ για την επιτυχία κάθε προγράμματος αντιμετώπισης κουνουπιών δεν πρέπει να υποβαθμίζεται η σημασία του επίκαιρου των επεμβάσεων. Η ημερομηνία πραγματοποίησης του πρώτου ψεκασμού καθορίζεται, κυρίως από τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής και του συγκεκριμένου έτους. Για το λόγο αυτό θα πρέπει από νωρίς την άνοιξη να γίνεται διερεύνηση των εστιών ανάπτυξης, για να διαπιστωθεί εάν υπάρχουν προνύμφες κουνουπιών και μόνο τότε να πραγματοποιούνται οι ψεκασμοί.

Η εφαρμογή των βιοκτόνων από εδάφους με μηχανοκίνητο ψεκαστήρα υψηλής πίεσεως δίνει συνήθως καλύτερα αποτελέσματα, γιατί αυτός ο τρόπος εφαρμογής παρέχει την ευχέρεια κατεύθυνσης του εντομοκτόνου στα επιθυμητά σημεία και επιπλέον, λόγω της υψηλής πίεσεως, το ψεκαστικό διάλυμα φθάνει πιο εύκολα στο νερό και αποφεύγεται έτσι η απώλεια από την επικάλυψη μεγάλου μέρους του διαλύματος επάνω στα φυτά.

## **2.2. Καταπολέμηση ακμαίων κουνουπιών**

Όπως έχει αναφερθεί τα κουνούπια, ανάλογα με το είδος, παρουσιάζουν αρκετές διαφορές ως προς την προτίμηση των ξενιστών και τις θέσεις διημέρευσης των τελείων εντόμων. Η καταπολέμηση των ακμαίων κουνουπιών θα πρέπει να εφαρμόζεται ως συμπλήρωμα της καταπολέμησης των προνυμφών, όταν το πρόβλημα είναι ιδιαίτερα οξύ και οι συνθήκες το επιβάλλουν.

### **2.2.1. Υπολειμματικοί ψεκασμοί**

Για τη σωστή αντιμετώπιση του προβλήματος θα πρέπει να διενεργηθούν υπολειμματικοί ψεκασμοί σε όλους τους χώρους που διημερεύουν τα τέλεια έντομα. Οι ψεκασμοί αυτοί πρέπει να προηγηθούν των επεμβάσεων κατά των προνυμφών και να επαναληφθούν το φθινόπωρο, όταν τα τέλεια άτομα ετοιμάζονται να διαχειμάσουν. Αυτό θα περιορίσει στο ελάχιστο τον αριθμό των ατόμων που θα δραστηριοποιηθούν την επόμενη άνοιξη. Ένας ενδιάμεσος ψεκασμός τον Ιούνιο θα πρέπει να γίνει μόνο όταν υπάρχει πολύ έντονο πρόβλημα.

Οι υπολειμματικοί ψεκασμοί κατευθύνονται σε εξωτερικές επιφάνειες κτιρίων, σε εσωτερικούς τοίχους καλά αεριζόμενων κτισμάτων, στους παρακείμενους θάμνους ή στα αγριόχορτα (σε ακτίνα 30-45 μέτρων και μέχρι το ύψος του ενός μέτρου) καθώς και γύρω από τις εστίες αναπαραγωγής των κουνουπιών.

### **2.2.2. Ψεκασμοί ανοικτών χώρων**

Στην περίπτωση που το πρόβλημα είναι πολύ μεγάλο θα μπορούσαν, να γίνουν ψεκασμοί ανοικτού χώρου στα μέρη που έχουμε μεγάλες συγκεντρώσεις κουνουπιών. Οι ψεκασμοί αυτοί γίνονται με φορητούς ή μηχανοκίνητους ψεκαστήρες και διακρίνονται σε ψεκασμούς ψυχρού αερολύματος ή θερμού ατμού (η διαφορά των δύο βρίσκεται στον τρόπο, με τον οποίο δημιουργούνται τα σταγονίδια). Στις περιπτώσεις αυτές οι ψεκασμοί επαναλαμβάνονται κάθε 7-10 ημέρες, ανάλογα με την πυκνότητα των εντόμων.

Είναι ευνόητο, ότι η εφαρμογή των εντομοκτόνων θα πρέπει να γίνεται από ειδικά εκπαιδευμένο προσωπικό και ότι πάντα θα τηρούνται πιστά οι οδηγίες χρήσεως του συγκεκριμένου σκευάσματος, ενώ θα λαμβάνονται όλες οι προφυλάξεις που αναγράφονται στην ετικέτα.

### **2.2.3. Καπνισμοί εσωτερικών χώρων**

Γίνεται με διάχυση στον αέρα πτητικών βιοκτόνων και έχει ως αποτέλεσμα την απόθεση περισσότερο παρά τη θανάτωση των κουνουπιών.

Για τον καπνισμό χρησιμοποιούνται πτητικά βιοκτόνα, όπως φυσικές πυρεθρίνες και συνθετικά πυρεθροειδή, σε τρεις κυρίως μορφές σκευασμάτων: καπνογόνες σπείρες, ηλεκτροθερμενόμενα πλακίδια και υγρά.

Η δραστική ουσία απελευθερώνεται έπειτα από θέρμανση και η διάρκεια δράσης τους διαρκεί όσο η καύση τους, δηλαδή 6-8 ώρες.

### **2.3. Ατομική προστασία**

Η χρησιμοποίηση των διαφόρων μέσων ατομικής προστασίας αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη της έντασης της όχλησης, ενώ η μείωση της εφαρμογής τους αποτελεί δείκτη αποτελεσματικότητας των προγραμμάτων καταπολέμησης κουνουπιών. Η ατομική προστασία επιτυγχάνεται είτε με μηχανική προστασία του χώρου διαβίωσης (λεπτά πλέγματα σε πόρτες και παράθυρα, κουνουπιέρες κ.λ.π.), είτε με τη χρήση απωθητικών ουσιών.

Τα πιο κοινά μέσα που χρησιμοποιούν σήμερα οι άνθρωποι για να προστατεύονται από τα κουνούπια σε υπαίθριους χώρους είναι τα εντομοαπωθητικά που εφαρμόζονται απευθείας πάνω στο δέρμα και τα σπιράλ.



**ΕΙΚΟΝΑ 2.1.** Τα απωθητικά ρεύματος, το DEET και το εντομοαπωθητικό τύπου σπιράλ αποτελούν μερικές από τις πιο γνωστές μεθόδους μείωσης της όχλησης των κουνουπιών. Ο καπνός του τελευταίου ενοχοποιείται για την παραγωγή υψηλών συγκεντρώσεων πτητικών οργανικών ενώσεων, όπως π.χ. το βενζόλιο, ένα νευροτοξικό αλλά καρκινογόνο συστατικό, το οποίο έχει επίδραση στο μυελό των οστών μετά από μακροχρόνια έκθεση.

Τα περισσότερα εντομοαπωθητικά επάλειψης που χρησιμοποιούνται σήμερα περιέχουν μία συνθετική ουσία, που είναι ευρέως γνωστή με το όνομα DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide). Η ουσία αυτή είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική, αποτρέποντας τα τσιμπήματα από μια πληθώρα εντόμων όπως κουνούπια, μύγες, ψύλλοι και τσιμπούρια. Τα εντομοαπωθητικά τύπου σπιράλ («φιδάκια») περιέχουν εντομοκτόνα από πυρεθρίνες σε ποσοστό 0,3-0,4% κατά βάρος, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά τους είναι ουσίες που έχουν την ιδιότητα να καίγονται αργά και χωρίς φλόγα δημιουργώντας καπνό. Παρά το γεγονός ότι οι φυτικές πυρεθρίνες είναι σχετικά μη τοξικές για τον άνθρωπο, οι επιπτώσεις στην ανθρώπινη

υγεία από τη καύση των υπολοίπων συστατικών (>99% του προϊόντος), δεν έχουν ακόμα διευκρινιστεί (ΕΙΚΟΝΑ 2.1.)

## Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο Τ Ρ Ι Τ Ο

### Α Ι Θ Ε Ρ Ι Α Ε Λ Α Ι Α

#### 3.1. Γενικά περί αιθέριων ελαίων

Σύμφωνα με τον Σαρλή (1994) όλα τα φυτά που περιέχουν αιθέρια έλαια ονομάζονται αρωματικά ενώ πολλά από αυτά θεωρούνται και φαρμακευτικά. Η παραγωγή αιθέριων ελαίων έχει εντοπιστεί σε περίπου 2.000 φυτικά είδη που ανήκουν σε περίπου 60 διαφορετικές οικογένειες φυτών, όπως οι οικογένειες Compositae, Labiatae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, κ.ά.

Τα αιθέρια έλαια είναι οργανικές πτητικές χημικές ενώσεις σε υγρή μορφή, με ελαιώδη εμφάνιση και διαφορετική χημική σύσταση κάθε φορά. Δεδομένου ότι οι ενώσεις αυτές είναι ισχυρά πτητικές, τα μόριά τους εξατμίζονται εύκολα και διασκορπίζονται στον ατμοσφαιρικό αέρα. Μέσω του αέρα έρχονται σε επαφή με τα όργανα όσφρησης, τα οποία και διεγείρουν, δίνοντας με τον τρόπο αυτό, στα διάφορα φυτά τη χαρακτηριστική τους μυρωδιά που πολλές φορές αντιστοιχεί στο συγκεκριμένο είδος του φυτού.

Το ισχυρότερο πλεονέκτημα που διαθέτουν εκτός από την ισχυρή δραστικότητα εναντίον των εντόμων, είναι η ασφάλεια της χρησιμοποίησής τους για το περιβάλλον και τον άνθρωπο. Παρόλο που η δράση των αιθέριων ελαίων καθώς και των κύριων συστατικών τους θεωρείται νευροτοξική, οι συγκεκριμένες ουσίες δεν έχουν μεγάλη τοξικότητα για τα θηλαστικά. Επίσης ένα εξίσου ισχυρό πλεονέκτημα, είναι ότι δεν εμφανίζεται ανάπτυξη ανθεκτικότητας από τα έντομα όπως στις εντομοκτόνες ουσίες.

Αν και η έρευνα στο θέμα των αιθέριων ελαίων έχει ακόμα πολύ δρόμο να διανύσει μέχρι να μπορούν να δοθούν πειστικές και ολοκληρωμένες απαντήσεις στα ερωτήματα που ανακύπτουν σχετικά με τη δυνατότητα και την αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησής τους στη

φυτοπροστασία, ωστόσο τα πρώτα προϊόντα βασισμένα πάνω σε αιθέρια έλαια άρχισαν να κυκλοφορούν στο εμπόριο και φαίνεται ότι έχουν σημαντική αποτελεσματικότητα (Bakkali *et al.* 2008, Tripathi *et al.* 2009, Adorjan and Buchbauer 2010).

### **3.2. Σύνθεση και βιοσύνθεση των αιθέριων ελαίων**

Τα αιθέρια έλαια είναι πολυσύνθετα μίγματα οργανικών πτητικών ουσιών που η σύνθεσή τους διαφέρει στα διάφορα είδη ή και ποικιλίες φυτών. Τα αιθέρια έλαια απαντώνται συνήθως σε εξωτερικούς ή εσωτερικούς θύλακες (αδένες) που βρίσκονται κυρίως στα πράσινα μέρη του φυτού και στα άνθη και δευτερευόντως σε άλλα όργανα όπως ρίζες, καρπούς και σπέρματα. Βρίσκονται σε μικρές ποσότητες μέσα στο φυτό και σπάνια υπερβαίνουν το 1%, συνήθως κυμαίνονται 0,3-0,7%. Γενικά τα συστατικά των αιθέριων ελαίων χωρίζονται σε δύο μεγάλες ομάδες (Kokkini *et al.* 2004).

➤ Στα **οξυγονούχα**: είναι τα συστατικά στα οποία οφείλεται το χαρακτηριστικό άρωμα των αιθέριων ελαίων, είναι τα εξής:

- Αλκοόλες, όπως γερανιόλη, μινθόλη, ευκαλυπτόλη κ.α.
- Αλδεΐδες, όπως βανιλίνη, κιτράλη, σαφρανάλη κ.α.
- Οξέα- εστέρες, όπως βενζοϊκό οξύ, οξικός γερανυλεστέρας κ.α.
- Φαινόλες, όπως καρβακρόλη, εστραγόλη, ανιθόλη, θυμόλη
- Κετόνες, μενθύνη, καμφορά κ.α.

➤ Στα **μη οξυγονούχα**: στα οποία περιλαμβάνονται τα «άχρηστα» συστατικά των αιθέριων ελαίων, αφού η συμβολή τους στο άρωμα τους είναι μικρή ή μηδαμινή, τα οποία είναι:

- Τερπένια, όπως λεμονένιο, πινένιο, καμφένιο κ.α.

Βιοσύνθεση λέγεται η σύνθεση χημικών ουσιών που γίνεται μέσα στους ζωντανούς οργανισμούς. Ειδικότερα η βιοσύνθεση των αιθέριων ελαίων είναι μια σειρά διαφόρων χημικών αντιδράσεων που γίνονται μέσα στους φυτικούς ιστούς, μέχρι τον τελικό σχηματισμό τους. Επίσης μια διεργασία σε πολλά σημεία παραμένει αδιευκρίνιστη μέχρι και σήμερα παρότι οι επιστήμες της χημείας και βιοχημείας σημείωσαν εξελίξεις, δεν κατόρθωσαν να ρίξουν πλήρες φως στο θαύμα του μηχανισμού της φωτοσυνθέσεως, στη βιοσύνθεση των χρωστικών, των αλκαλοειδών και των αιθέριων ελαίων.

Το αιθέριο έλαιο κάθε φυτού έχει διαφορετική σύνθεση σε κάθε στάδιο αναπτύξεώς του. Έτσι συγκριτικές αναλύσεις αιθέριων ελαίων, που πάρθηκαν στην αρχή και το τέλος της



βλαστικής περιόδου έδειξαν μεγάλες διαφορές στην χημική σύστασή του. Επίσης διαφορές παρατηρούνται και στο αιθέριο έλαιο νεαρών και ώριμων φύλλων του ίδιου φυτού. Τα αιθέρια έλαια μπορεί να περιέχουν 20 έως 60 συστατικά σε αρκετά διαφορετικές συγκεντρώσεις. Συνήθως, όμως χαρακτηρίζονται από 2-3 κύρια συστατικά που βρίσκονται σε αρκετά υψηλότερες συγκεντρώσεις (20-70%) από τα υπόλοιπα που μπορεί να απαντώνται ακόμη και σε ίχνη. Γενικώς, αυτά τα κύρια συστατικά προσδιορίζουν και τη βιολογική δράση των αιθερίων ελαίων. Τα συστατικά των αιθερίων ελαίων ανήκουν σε 2 μεγάλες ομάδες φυτοχημικών ουσιών, βάσει τη βιοσυνθετικής τους προέλευσης. Η ομάδα των τερπενοειδών και η ομάδα που περιλαμβάνει αρωματικές και αλειφατικές ενώσεις (Bakkali *et al.* 2008). Τα συστατικά των αιθερίων ελαίων ανήκουν κατά κύριο λόγο στην ομάδα των τερπενοειδών ενώσεων, και συγκεκριμένα των μονοτερπενίων (monoterpenes) (αλυσίδα με 10 C και μοριακό τύπο  $C_{10}H_{16}$ ), και των σεσκιτερπενίων (sesquiterpenes) (αλυσίδα με 15 C και μοριακό τύπο  $C_{15}H_{24}$ ), και σπανιότερα στις αρωματικές ενώσεις. Τα μονοτερπένια που απαντώνται στα αιθέρια έλαια μπορεί να περιλαμβάνουν τερπένια τα οποία είναι υδρογονάνθρακες ( $\alpha$ -πινένιο), αλκοόλες (μενθόλη, γερανιόλη, λιναλοόλη, τερπινεν-4-όλη,  $\pi$ -μενθαν-3,8-διόλη), αλδεΐδες (κιναμαλδεύδη, κουμιναλδεύδη), κετόνες (θουγιόνη), αιθέρες (1,8-κινεόλη=ευκαλυπτόλη) και λακτόνες (νεπεταλακτόνη) (Regnault-Roger *et al.* 2012). Τα σεσκιτερπένια περιλαμβάνουν τερπένια τα οποία μπορεί να είναι καρβίδια ( $\beta$ -καρνοφυλλένιο, καδινένιο, κουρκουμίνες), αλκοόλες (κεδρόλη, φαρνεσόλη), κετόνες (γερμακρόνη, τουμερόνες), εποξειδία (οξειδίο του καρνοφυλλενίου) κ.α. (Bakkali *et al.* 2008).

### **3.3. Ρόλος των αιθερίων ελαίων**

Ο ρόλος των αιθερίων ελαίων στην φυσιολογία του φυτού δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα. Στα αιθέρια έλαια έχουν αποδοθεί κατά καιρούς οι εξής λειτουργίες (Σαρλής, 1994):

- Το αιθέριο έλαιο δρα απωθητικά και τοξικά για διάφορα έντομα ή παθογόνα σε ορισμένα αρωματικά φυτά.,
- Προστατεύουν τα φυτά από υψηλές θερμοκρασίες, λόγω της εύκολης εξάτμισής τους,
- Το άρωμα των λουλουδιών προσελκύει διάφορα έντομα, γεγονός που συμβάλλει στην καλύτερη γονιμοποίηση των εντομόφιλων φυτών,
- Η παρουσία τους στους μεσοκυττάριους χώρους ελαττώνει τη διαπνοή, καθιστώντας τα φυτά πιο ανθεκτικά στην ξηρασία,
- Δρουν καταλυτικά στο μεταβολισμό των γλυκοζιτών και άλλων ουσιών,

- Αυξάνεται η ταχύτητα κυκλοφορίας των θρεπτικών ουσιών που ρυθμίζουν τον μεταβολισμό των φυτών,
- Πιθανόν να έχουν ορμονική δράση σε διάφορες λειτουργίες των φυτών,
- Προστατεύουν τα φυτά από το ψύχος σχηματίζοντας γύρω τους προστατευτικό νέφος λόγω της εξάτμισής τους.

### **3.4. Παραλαβή των αιθέριων ελαίων**

Τα αιθέρια έλαια παραλαμβάνονται από τα αρωματικά φυτά με διαφόρους μεθόδους. Για την εκλογή της κατάλληλης μεθόδου λαμβάνονται υπόψη τα εξής (Σαρλής, 1994):

- Το είδος και το τμήμα του φυτικού υλικού ( άνθη, βλαστοί, φύλλα, σπέρματα κλπ.).
- Η περιεκτικότητα του φυτού σε αιθέρια έλαια.
- Η αξία (τιμή) του αιθέριου ελαίου.
- Η χημική σύνθεση των διαφόρων συστατικών του αιθερίου ελαίου .
- Διάφοροι άλλοι οικονομικοί κυρίως παράγοντες.

Οι μέθοδοι ωστόσο με τις οποίες λαμβάνονται τα αιθέρια έλαια είναι οι εξής:

#### **1) Απόσταξη:**

Είναι η πιο απλή, οικονομική και ευρύτατα χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων από όλα σχεδόν τα αρωματικά φυτά. Η απόσταξη ανάλογα με τον τρόπο που γίνεται διακρίνεται σε:

- Υδροαπόσταξη ή απόσταξη με νερό:

Το χαρακτηριστικό της απόσταξης αυτής είναι το νερό (ή το νερό και η αιθανόλη) και το φυτικό υλικό που βρίσκονται στον άμβυκα αποστάξεως, έρχονται σε άμεση επαφή μεταξύ τους, γεγονός που διευκολύνει την υδρόλυση των διαφόρων συστατικών του αιθερίου ελαίου και αρκετά συχνά οδηγεί στην υποβάθμιση του τελικού προϊόντος.

- Υδροατμοαπόσταξη ή απόσταξη με νερό και ατμό:

Το είδος αυτό είναι καλύτερο από το προηγούμενο, γιατί το φυτικό υλικό που αποστάζεται στον άμβυκα δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό, αλλά τοποθετείται σε πλέγμα (καλάθι), που βρίσκεται λίγο πιο πάνω από την επιφάνεια του νερού.

- Απόσταξη με υδρατμούς:

Το είδος αυτό, αν και μοιάζει με το προηγούμενο, είναι πιο σύγχρονο και χρησιμοποιείται ευρύτατα από τις βιομηχανίες για μεγάλες κυρίως αποστάξεις. Η διαφορά του από την υδροατμοαπόσταξη είναι ότι δεν υπάρχει νερό στον πυθμένα του άμβυκα για να παραχθεί ατμός. Ο ατμός παράγεται σε ειδικό ατμολέβητα ή ατμογεννήτρια και στη συνέχεια εισάγεται στον άμβυκα όπου υπάρχει το φυτικό υλικό, συνήθως με πίεση μεγαλύτερη από την ατμοσφαιρική.

## **2) Εκχύλιση:**

Η μέθοδος αυτή, χρησιμοποιείται για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων, κυρίως από άνθη ή άλλα φυτικά όργανα που είναι ευπαθή στην απόσταξη. Η εκχύλιση ανάλογα με το εκχυλιστικό μέσο που χρησιμοποιείται διακρίνεται σε:

- Εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες:

Είναι η πιο εύχρηστη μέθοδο και χρησιμοποιείται για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων από άνθη. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται ως πτητικός διαλύτης, πετρελαϊκός αιθέρας καθώς και βενζόλιο, η αιθυλική αλκοόλη κλπ. Το προϊόν που λαμβάνεται κατά την εκχύλιση μετά την αφαίρεση του πτητικού διαλύτη, λέγεται σύγκριμα ή κονκρέτα και περιέχει εκτός από το αιθέριο έλαιο και διάφορες άλλες ουσίες (κήρους, χρωστικές κλπ). Απ' αυτό μετά από ειδική κατεργασία με αλκοόλη, αφαιρούνται οι παραπάνω ουσίες, λαμβάνεται το τελικό προϊόν που είναι το καθαρό αιθέριο έλαιο.

- Εκχύλιση με ψυχρός λίπος:

Είναι απλή και βασίζεται στην ιδιότητα που έχει το λίπος να απορροφά τις πτητικές ουσίες που έρχονται σε επαφή μαζί του. Το λίπος που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι ημίσκληρο και καθαρό, ενώ ως φυτικό υλικό χρησιμοποιούνται άνθη που συνεχίζουν και μετά τη συλλογή τους τη φυσιολογική τους δράση, δηλαδή να παράγουν και να διασκορπίζουν το άρωμά τους. Μετά την εκχύλιση που διαρκεί 24-30 ώρες, η πομάδα (λίπος και αιθέριο έλαιο) κατεργάζεται με αλκοόλη, οπότε αφαιρείται το λίπος και λαμβάνεται καθαρό το αιθέριο έλαιο.

- Εκχύλιση με θερμό λίπος:

Η μέθοδος μοιάζει με την προηγούμενη και εφαρμόζεται για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από άνθη τα οποία δεν συνεχίζουν τη φυσιολογική δράση της παραγωγής και διάχυσης στο περιβάλλον του αρώματός τους. Το λίπος με τα άνθη τοποθετούνται σε δοχεία γύρω

- Εκχύλιση με υδρόφιλους διαλύτες:

Χρησιμοποιούνται υδατοδιαλυτοί διαλύτες (αιθυλενογλυκόλη, προπυλενογλυκόλη) ως εκχυλιστικά μέσα ή σε ανάμειξη με το νερό, για την παραλαβή των περισσότερων συστατικών φυσικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται κυρίως στην κοσμετολογία.

## **3) Μηχανική παραλαβή:**

Χρησιμοποιείται κυρίως για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από καρπούς ή σπέρματα με έκθλιψη. Τα αιθέρια έλαια κατά την αποθήκευση υφίστανται αλλοιώσεις με αποτέλεσμα να καταστρέφεται η ποιότητά τους. Για να διατηρηθούν πρέπει να είναι απαλλαγμένα από ίχνη νερού (αφύγρανση π.χ. με χρήση αλάτων) να φυλάσσονται σε γυάλινα ή ανοξείδωτα δοχεία

σκοτεινού χρώματος ή αδιαφανή, τα δοχεία πρέπει να είναι γεμάτα έτσι ώστε να μην υφίστανται οξειδώσεις και τέλος να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία γύρω στους 0°C.

### **3.5. Διατήρηση των αιθέριων ελαίων**

Τα αιθέρια έλαια κατά την διάρκεια της αποθηκείσεως, εφόσον οι συνθήκες δεν είναι καλές, υφίσταται ορισμένες αλλοιώσεις. Οι κυριότεροι παράγοντες που επιδρούν στην ποιότητα των αιθέριων ελαίων είναι οι εξής (Σαρλής, 1994):

1. Θερμοκρασία αποθηκείσεως: Αυτή πρέπει να βρίσκεται μερικώς βαθμούς από το μηδέν.
2. Φως: Τα αιθέρια έλαια για να προστατευτούν από την επίδραση του φωτός πρέπει να διατηρούνται μέσα σε αδιαφανή δοχεία.
3. Νερό: Τα αιθέρια έλαια πριν από την αποθήκευση υφίσταται αφυδάτωση(ξήρανση). Αυτή γίνεται με μετάγγιση ή με την χρησιμοποίηση ουσιών, όπως θεικού νατρίου, θεικού μαγνησίου κλπ.
4. Αέρας: Για να αποφεύγονται αλλοιώσεις από την επίδραση του αέρα, από τα δοχεία όπου φυλάγονται τα αιθέρια έλαια πρέπει να γεμίζουν τελείως.
5. Δοχεία αποθηκείσεως: Κατάλληλα δοχεία είναι τα γυάλινα ή μεταλλικά από ανοξείδωτο χάλυβα. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται πλαστικά ή ξύλινα δοχεία.

### **3.6. Ποιοτικός έλεγχος**

Μεγάλη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στην ποιότητα του αιθέριου ελαίου που χρησιμοποιείται. Τα αιθέρια έλαια θα πρέπει να προέρχονται μόνο από απόσταξη ή από πίεση, θα πρέπει να αποθηκεύονται σε σωστές συνθήκες και να καταναλώνονται σε ορισμένο χρονικό διάστημα από την στιγμή της παραγωγής τους.

Η ποιότητα των αιθέριων ελαίων εξαρτάται από διάφορες φυσικές σταθερές (ειδικό βάρος, δείκτης διαθλάσεως, στροφική ικανότητα, διαλυτότητα και σημείο ζέσεως) και κυρίως από τη χημική σύστασή τους. Ο προσδιορισμός των συστατικών παλαιότερα γινόταν με διάφορες χημικές αντιδράσεις με τις οποίες τα κατέτασσαν σε ομάδες (εστέρες, αλκοόλες). Οι αντιδράσεις αυτές απαιτούσαν μεγάλες ποσότητες αιθέριων ελαίων και πολύ χρόνο.

Σήμερα χρησιμοποιούνται νέες σύγχρονες μέθοδοι, η πιο γνωστή από τις οποίες είναι η Αέρια - Χρωματογραφία τις περισσότερες φορές σε συνδυασμό με τη φασματομετρία μαζών. Με τη μέθοδο αυτή, η ανάλυση είναι ταχύτατη και ακριβής και χρειάζεται πολύ μικρή ποσότητα (1-10 ml) αιθέριου ελαίου.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των περιεχόμενων δραστικών συστατικών δεν διαφέρει από την ανάλυση άλλων φαρμακευτικών ουσιών και γίνεται Αέρια Χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) ή Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ή και συνδυασμός των παραπάνω μεθόδων με τη φασματομετρία μαζών (Mass Spectrometry, MS). Ενώ δρόγες με σύνθετη χημική σύσταση ελέγχονται με βιολογικές μεθόδους, όπως οι RIA (Radio Immuno Assay) και ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) (McMurry, 2008).

### **3.7. Επιδράσεις των αιθέριων ελαίων στα έντομα**

Μία από τις σημαντικότερες ιδιότητες των αιθέριων ελαίων είναι η ικανότητα τους να δρουν υπό μορφή ατμών στα διάφορα έντομα. Τα αιθέρια έλαια πέραν από την τοξικότητα των ατμών τους εκδηλώνουν και τοξική δράση επαφής και στομάχου για ένα μεγάλο αριθμό ειδών εντόμων. Πέρα από την άμεση τοξικότητα που προκαλούν τα αιθέρια έλαια στα έντομα έχουν και μια πλειάδα άλλων σημαντικών βιολογικών επιδράσεων. Στις σημαντικές επιδράσεις συγκαταλέγονται η απωθητικότητα, η αποτροπή βρώσης και ωστοκίας. Επίσης έχει παρατηρηθεί σε αρκετές περιπτώσεις ρυθμιστική της ανάπτυξης καθώς και στειρωτική δράση. Ο μηχανισμός της εντομοκτόνου δράσης των αιθέριων ελαίων παραμένει σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστος. Λαμβάνοντας υπόψη την ακολουθία των συμπτωμάτων που εμφανίζουν τα έντομα από τη στιγμή της επίδρασης κάποιου αιθέριου ελαίου μέχρι τη θανάτωσή τους, διάφοροι ερευνητές συγκλίνουν στην άποψη ότι πρόκειται κυρίως για νευροτοξική δράση (Isman, 2000, Papachristos and Stamopoulos 2002, Papachristos *et al.* 2004, Isman, 2006, Regnault-Roger *et al.* 2012).

Αν και η έρευνα στο θέμα των αιθέριων ελαίων έχει ακόμα πολύ δρόμο να διανύσει μέχρι να μπορούν να δοθούν πειστικές και ολοκληρωμένες απαντήσεις στα ερωτήματα που ανακύπτουν σχετικά με τη δυνατότητα και την αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησής τους στη φυτοπροστασία, ωστόσο τα πρώτα προϊόντα βασισμένα πάνω σε αιθέρια έλαια άρχισαν να κυκλοφορούν στο εμπόριο και φαίνεται ότι έχουν σημαντική αποτελεσματικότητα.

## ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

### 4.1 Σκοπός της μελέτης

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών 3<sup>ου</sup>- 4<sup>ου</sup> σταδίου του Ασιατικού κουνουπιού τίγρης (*Ae. albopictus*), των παρακάτω 31 συστατικών/τερπενίων αιθέριων ελαίων: terpinyl acetate,  $\alpha$ -terpinene, S-perillyl alcohol, Neryl acetate, Citronellyl acetate, Guaiacol, Anisole, 4-Allylanisole, 1-S-Verbenone, R-(-)- $\alpha$ -phellandrene, limonene oxide, Eugenol, (-)-linalool, E-anethol,  $\beta$ -citronelene, (+)-2-Carene, (+)-3-Carene, p-cresol, (-)-terpinen-4-ol, Thymoquinone,  $\beta$ -caryophyllene, eucalyptol, Nerol, eugenyl acetate, (+)- $\alpha$ -terpineol, (+)-Isopulegone, (-)-Isopulegone, Geraniol, Citronellol, R-(-)-methyl acetate, (+)-p-menthane-1, (+)-trans-p-menthane-2 και (+)-Camphor.

### 4.2 Εκτροφή του *Aedes albopictus*

Η διατήρηση της εκτροφής του *Ae. albopictus* για τις ανάγκες των πειραμάτων της παρούσας διατριβής λάμβανε χώρα εντός κλιματιζόμενου δωματίου (3 x 3m), σε θερμοκρασία 25±2 °C, σχετική υγρασία 80-90% και φωτοπερίοδο 16Φ:8Σ, σε χώρο (εντομοτροφείο) του εργαστηρίου Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μ.Φ.Ι. Η μέθοδος εκτροφής του *Ae. albopictus* βασίστηκε στις μεθόδους που περιγράφονται από τους Gerberg (1970) και Gerberg *et al.* (1993). Ο αρχικός πληθυσμός προήλθε από ωά τα οποία είχαν συλλεχθεί με παγίδες ωθοεσίας τον Μάιο του 2011 από τοποθεσίες της περιοχής Ριζούπολης στην Αθήνα, όπου και δραστηριοποιούνταν το *Ae. albopictus* (Giatropoulos *et al.* 2012a). Η εκτροφή ξεκίνησε με ενήλικα άτομα του *Ae. albopictus* που προέκυψαν μετά την εμφάνιση εκείνων των ωών στο νερό και την ανάπτυξη των προνυμφών/νυμφών.

Τα ενήλικα κουνούπια διατηρούνταν εντός ξύλινων κλωβών, διαστάσεων 33x33x33 cm, με τις ακμές ξύλινες και τις 3 πλευρές τους καλυμμένες με λεπτή σήτα. Στο εμπρός μέρος ο κλωβός έχει τζάμι για την εύκολη εποπτεία των εντόμων ενώ στο πίσω μέρος υπήρχε κατασκευή με υφασμάτινο «μανίκι» που επέτρεπε την είσοδο του χεριού του παρατηρητή καθώς και την εισαγωγή και εξαγωγή υλικών, αποτρέποντας όμως την απόδραση των εντόμων (εικόνα 4.2.4). Οι χειρισμοί των ενηλίκων εντόμων στο εντομοτροφείο, γίνονταν συνήθως με απλό αναρροφητήρα (aspirator) (εικόνα 4.2.1).

Τα ενήλικα κουνούπια, για την επιβίωσή τους, τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%, το οποίο τοποθετούνταν μέσα στον κάθε κλωβό, σε ένα μικρό γυάλινο δοχείο,

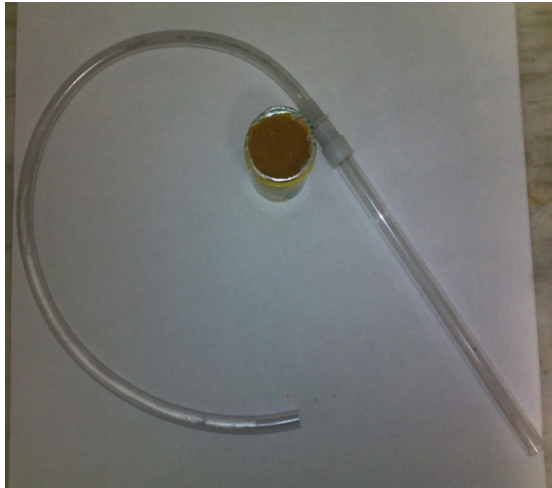


χωρητικότητας 100 ml, μαζί με μια κατασκευή από διηθητικό χαρτί και βαμβάκι (σαν φιτίλι), για την ευκολότερη λήψη του διαλύματος από τα έντομα. Τα ζαχαρούχα διαλύματα αντικαθίσταντο με καινούρια μία φορά την εβδομάδα. Στα θηλυκά κουνούπια παρέχονταν γεύμα αίματος κάθε 15 ημέρες περίπου προκειμένου να ωστοκήσουν. Η αιμοληψία των κουνουπιών γινόταν από το βραχίονα του υπ. Διδάκτορα Α. Γιατρόπουλου με την είσοδο του χεριού, έχοντας τον καρπό καλυμμένο με γάντι, εντός του κλωβού για περίπου 10-15 λεπτά έως ότου πραγματοποιηθεί επαρκής αριθμός τσιμπημάτων.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα ωά του *Ae. albopictus* προσκολλώνται στα βρεγμένα τοιχώματα και άλλες επιφάνειες που είναι βυθισμένες εντός της εστίας του νερού.

Για τις ανάγκες της εκτροφής, εντός των κλωβών, τοποθετούνταν 3-4 πλαστικά λευκά δοχεία χωρητικότητας 250 ml που συμπληρώνονταν περίπου με 100 ml νερό. Ως υποστρώμα ωστοκίας εντός των δοχείων υπήρχε λευκό διηθητικό χαρτί από φίλτρο του καφέ όπου τα ωά προσκολλούνταν από τα θηλυκά κουνούπια πάνω από την επιφάνεια του νερού. Τα υποστρώματα με τα προσκολλημένα ωά αφήνονταν εντός του κλωβού για μερικές ημέρες (4-5) προκειμένου να συμπληρωθεί η εμβρυονική ανάπτυξη και να είναι έτοιμα να εκκολαφθούν.

Τα υποστρώματα ωστοκίας (διηθητικά χαρτιά) που έφεραν προσκολλημένα ωά του *Ae. albopictus* εμβαπτιζόνταν σε νερό βρύσης μέσα σε λεκάνες εμαγιέ (**εικόνα 4.2.2**), διαμέτρου 35 εκ. και βάθους 10 εκ., οι οποίες καλύπτονταν με λεπτό τούλι. Για την εκκόλαψη των ωών και την ανάπτυξη των προνυμφών εντός των λεκανών, προστίθετο επαρκής ποσότητα κατάλληλης ψαροτροφής (JBL Novo Tom 10% Artemia) σε τακτά χρονικά διαστήματα. Έτσι, σε κάθε λεκάνη (**εικόνα 4.2.3**) αναπτύσσονταν περίπου 400 προνύμφες με χορήγηση άφθονης τροφής (*ad libitum*) έως και την έξοδο των ενηλίκων κουνουπιών. Τα ενήλικα κουνούπια συλλέγονταν με αναρροφητήρα και οδηγούνταν στον κλωβό εκτροφής για τη συνέχιση του βιολογικού κύκλου του εντόμου



**Εικόνα 4.2.1 Αναρροφητήρας για τον χειρισμό των ακμαίων κουνουπιών στο εντομοτροφείο**



**Εικόνα 4.2.2 Λεκάνη εμβάπτισης διηθητικού χαρτιού με προσκολλημένα ωά *Ae. albopictus***



**Εικόνα 4.2.3 Πληθυσμός προνυμφών του *Ae. Albopictus* σε λεκάνη και ψαροτροφή**

---



Εικόνα 4.2.4 Κλωβός διατήρησης ακμαίων ατόμων *Aedes albopictus*

### **4.3 Βιοδοκιμές τοξικής δράσης συστατικών αιθερίων ελαίων στις προνύμφες του *Ae. albopictus***

#### **4.3.1 Χημικά συστατικά**

Τα δραστικά συστατικά των αιθερίων ελαίων που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές διατέθηκαν από την εταιρεία Sigma-Aldrich (Steinheim, Γερμανίας) και είχαν καθαρότητα > 97%.

### **4.4 Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus***

#### 4.4.1 Διενέργεια βιοδοκιμών

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στα Εργαστήρια Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων και Γεωργικής Εντομολογίας, του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, σε εσωτερικό χώρο κατάλληλο για την πραγματοποίηση βιοδοκιμών, απαλλαγμένο από βιοκτόνα, χωρίς ρεύματα αέρα με σταθερή θερμοκρασία και φωτοπερίοδο μακριά από τις ηλιακές ακτίνες. Οι συνθήκες πραγματοποίησης των βιοδοκιμών ήταν: θερμοκρασία  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , φωτοπερίοδο 16Φ:8Σ και σχετική υγρασία 80%.

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε ήταν αυτή που προτείνει ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ.) για τον έλεγχο της ευαισθησίας ή της ανθεκτικότητας των προνυμφών των κουνουπιών, στα διάφορα εντομοκτόνα, με μικρές τροποποιήσεις (W.H.O. 1981, 2005).

Οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε πλαστικά δοχεία (ποτήρια) χωρητικότητας 200 ml, εντός των οποίων η ποσότητα του υδατικού διαλύματος με την αντίστοιχη δόση του συστατικού (διαλυμένα σε DMSO) ήταν 100 ml (εικόνα 4.4.1.1). Από το κάθε συστατικό παρασκευαζόταν ένα μητρικό διάλυμα (stock solution) σε οργανικό διαλύτη dimethyl sulfoxide (DMSO) περιεκτικότητας 10% β/ο (w/v) εντός φιαλιδίου (vial). Εντός των δοχείων βιοδοκιμών τοποθετούνταν 20 προνύμφες του *Ae. albopictus* από την εργαστηριακή εκτροφή, ανεπτυγμένες 3<sup>ου</sup> ή νεαρές 4<sup>ου</sup> σταδίου, σε υδατικό διάλυμα 100 ml με περιεκτικότητα σε DMSO 2% ο/ο (v/v), δηλαδή 98 ml νερό + 2 ml DMSO. Η προσθήκη του DMSO στο νερό σε περιεκτικότητα 2% ο/ο συντέλούσε στην καλύτερη διάλυση των ουσιών. Μετά την τοποθέτηση των 20 προνυμφών στο υδατικό διάλυμα σε DMSO, ακολουθούσε η προσθήκη των επιθυμητών δόσεων από το μητρικό διάλυμα των ουσιών σε DMSO. Η προσθήκη της ποσότητας της ουσίας που απαιτούνταν για τη δημιουργία της εκάστοτε επιθυμητής δόσης γινόταν στην επιφάνεια του νερού με τη χρήση πιπέτας και ακολουθούσε ανάδευση για 30" με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου για την ομογενοποίηση του τελικού διαλύματος.

Επειδή με τις βιοδοκιμές μελετήθηκε η μεταβολή της θνησιμότητας σε σχέση με τη μεταβολή της δόσεως, εφαρμόστηκε σειρά δόσεων (τουλάχιστον 4) που έδιναν θνησιμότητες πάνω από 0% και κάτω από 100%. Κάθε συγκέντρωση δοκιμάστηκε τέσσερις φορές (4 επαναλήψεις) ενώ σε κάθε βιοδοκιμή υπήρχε και επέμβαση μόνο με 98 ml νερό + 2 ml DMSO ως ανέκαστος μάρτυρας (control).

Η τοξική δράση των συστατικών προσδιορίστηκε με την καταγραφή της θνησιμότητας των προνυμφών στις 24 ώρες. Κατά το διάστημα αυτό των 24 ωρών δεν χορηγήθηκε τροφή στις προνύμφες. Σύμφωνα με τη μέθοδο του Π.Ο.Υ. (W.H.O. 2005), που ακολουθήθηκε, στις

νεκρές προνύμφες υπολογίζονται και αυτές που έχουν έντονη απόκλιση από τη φυσιολογική συμπεριφορά όπως σπασμούς ή αδυναμία απομάκρυνσης όταν ενοχληθούν στην άκρη του σιφωνίου τους με τη μύτη μιας βελόνας, οι προνύμφες που αδυνατούν να κολυμπήσουν ως την επιφάνεια για να αναπνεύσουν και οι προνύμφες που δεν παρουσιάζουν την χαρακτηριστική αντίδραση βύθισής τους στο νερό όταν εκείνο διαταράσσεται (εικόνα 4.4.1.3).

Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* των παρακάτω 31 συστατικών/τερπενίων: terpinyl acetate,  $\alpha$ -terpinene, S-perillyl alcohol, Neryl acetate, Citronellyl acetate, Guaiacol, Anisole, 4-Allylanisole, 1-S-Verbenone, R(-)- $\alpha$ -phellandrene, limonene oxide, Eugenol, (-)-linalool, E-anethol,  $\beta$ -citronelene, (+)-2-Carene, (+)-3-Carene, p-cresol, (-)-terpinen-4-ol, Thymoquinone,  $\beta$ -caryophyllene, eucalyptol, Nerol, eugenyl acetate, (+)- $\alpha$ -terpineol, (+)-Isopulegone, (-)-Isopulegone, Geraniol, Citronellol, R(-)-methyl acetate, (+)-p-menthane-1, (+)-trans-p-menthane-2 και (+)-Camphor.

Διευκρινίζεται ότι για τις ουσίες (+)-Isopulegone, (-)-Isopulegone διενεργήθηκαν βιοδοκιμές και με τα 2 διαθέσιμα ισομερή της ουσίας.

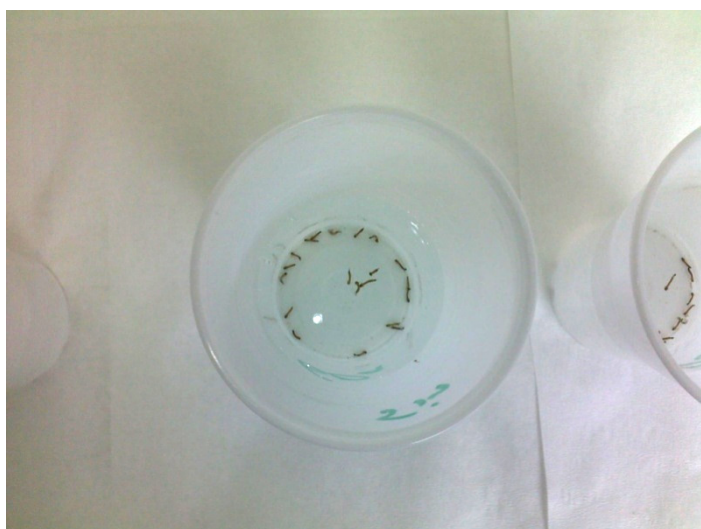


**Εικόνα 4.4.1.1 Βιοδοκιμή τοξικής δράσης συστατικών/τερπενίων εναντίον του *Ae. albopictus* σε πλαστικά ποτήρια, εντός δωματίου ελεγχόμενων συνθηκών.**



**Εικόνα 4.4.1.2 Υλικά διεξαγωγής βιοδοκιμών προνυμφοκτονίας: πιπέτες, λαβίδα, tips κ.α.**

---



**Εικόνα 4.4.1.3 Νεκρές προνύμφες του *Ae. albopictus* μετά από 24 ώρες έκθεσης σε υψηλή δόση**

---

#### **4.4.2. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων**

Τα δεδομένα της θνησιμότητας των προνυμφών στις 24 ώρες για κάθε δόση αιθέριου ελαίου ή συστατικού, δηλαδή η συνολική θνησιμότητα για κάθε δοκιμαζόμενη συγκέντρωση στο υδατικό διάλυμα (δόση) εκφρασμένη σε mg ουσίας ανά 1 λίτρο υδατικού διαλύματος (ή ppm), επεξεργάστηκαν με την Probit ανάλυση. Με την Probit ανάλυση η σιγμοειδής καμπύλη της θνησιμότητας μετατρέπεται σε ευθεία μετά από μετατροπή των ποσοστών θνησιμότητας σε Probit μονάδες και των δόσεων σε  $\log_{10}$ . Από την Probit ανάλυση υπολογίστηκαν οι τιμές των  $LC_{50}$  (Lethal concentration<sub>50</sub> - η συγκέντρωση στην οποία θανατώνεται το 50% του πληθυσμού) και  $LC_{90}$  (η συγκέντρωση στην οποία θανατώνεται το 90% του πληθυσμού), τα

όρια εμπιστοσύνης (Confidential limits – CL) για κάθε τιμή  $LC_{50}$  ή  $LC_{90}$  για επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha=0,05$ , καθώς επίσης και η κλίσεις των ευθειών (slopes) (Finney 1971). Η στατιστική επεξεργασία δεδομένων της θνησιμότητας των προνυμφών με την Probit analysis έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

## Κ Ε Φ Α Λ Α Ι Ο Π Ε Μ Π Τ Ο

### Αποτελέσματα

#### Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus*

Η τοξική δράση των τριαντατριών (33) συστατικών αιθερίων ελαίων/ τερπενίων εναντίον των προνυμφών 3<sup>ου</sup> – 4<sup>ου</sup> σταδίου του *Ae. albopictus*, παρουσιάζεται στον παρακάτω **πίνακα 7.1**. Η βιολογική δράση του συνόλου των τερπενίων, επί των προνυμφών του *Ae. albopictus*, με την εφαρμογή τους στο νερό, ήταν δοσο-εξαρτημένη, δηλαδή η αύξηση των δόσεων προκαλούσε αυξημένη θνησιμότητα στις προνύμφες των κουνουπιών.

Μεταξύ των τερπενίων που δοκιμάστηκαν, την υψηλότερη προνυμφοκτόνο δράση εμφάνισαν τα E-Anethol και thymoquinone. με αρκετά χαμηλές τιμές LC<sub>50</sub> = 27,1 και 25.55 mg/ lt, αντίστοιχα, οι οποίες μάλιστα δεν διέφεραν στατιστικά. Στα **Διαγράμματα 1 και 2** εμφανίζεται η διαγραμματική απεικόνιση, με την Probit ανάλυση, της γραμμικής σχέσης των δόσεων των ουσιών E- Anethol και Thymoquinone (μετά από μετατροπή σε log<sub>10</sub>) και του % θνησιμότητας των προνυμφών του *Ae. albopictus* (μετά από μετατροπή σε Probit μονάδες) μετά από 24 ώρες ώρες έκθεσης στις ουσίες.

Σημαντική προνυμφοκτόνο δράση σημείωσαν, επίσης, τα τερπένια citronellol, R(-)-α-phellandrene Citronellyl acetate, Neryl acetate, terpinyl acetate, R(-)-methyl acetate, (+)-p-menthane-1, (+)-trans-p-menthane-2 και 4-Allylanisole με τιμές LC<sub>50</sub> που κυμαίνονταν από 34,4 έως 49,9 mg/lt (< 50 mg/lt). Η δράση των συστατικών Anisole, limonene oxide, β-citronelene, (+)-2-Carene, (+)-3-Carene, Nerol και Geraniol ήταν ασθενέστερη αλλά ικανοποιητική με τις τιμές LC<sub>50</sub> να κυμαίνονται από 57,2 έως 82,5 mg/ lt. Τα υπόλοιπα συστατικά εμφάνισαν φτωχή έως καθόλου τοξική δράση, καθώς για τη θνησιμότητα του 50% των προνυμφών απαιτήθηκαν δόσεις μεγαλύτερες από 100 ή και 200 mg/ lt.

.

.



Πίνακας 7.1. LC<sub>50</sub> και LC<sub>90</sub> τιμές για τα 33 συστατικά αιθερίων ελαίων/τερπενίων εναντίον προνυμφών 3<sup>ov</sup>–4<sup>ov</sup> σταδίου του *Ae. albopictus*.

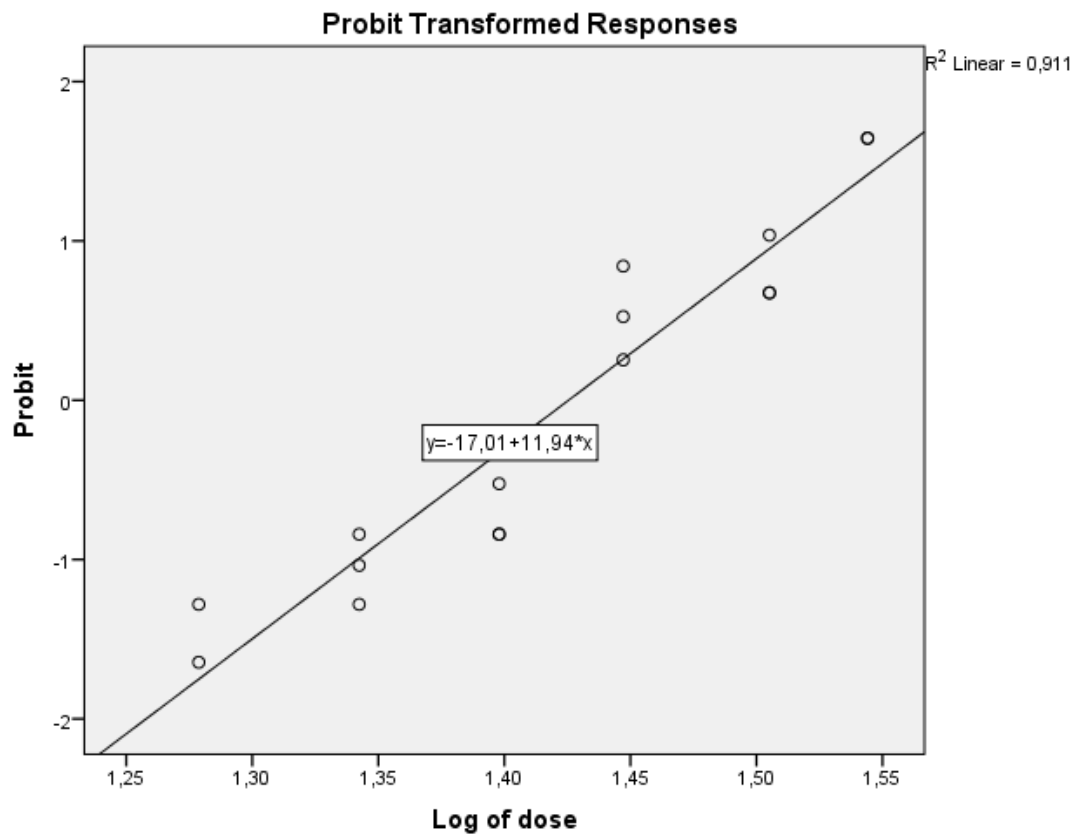
A/α	Συστατικό/ Τερπένιο	Κλίση ευθείας (±T.Σ.)	LC <sub>50</sub> (95% O.E.) <sup>α</sup>	LC <sub>90</sub> (95% O.E.) <sup>α</sup>	X <sup>2β</sup>	B.E.
1	terpinyl acetate	4,971±0,51	<b>40,54</b> (37,21-43,84)	<b>73,39</b> (65,64-85,61)	10,232	13
2	α-terpinene	8,995±1,14	<b>107,12</b> (98,93-118,07)	<b>148,71</b> (130,93-196,51)	21,121 <sup>β</sup>	10
3	S-perillyl alcohol	4,510±0,62	<b>119,07</b> (107,27-129,13)	<b>229,05</b> (201,21-282,61)	15,335	13
4	Neryl acetate	4,268±0,47	<b>43,12</b> (38,86-48,04)	<b>86,09</b> (73,31-108,54)	14,736	10
5	Citronellyl acetate	4,441±0,48	<b>40,03</b> (33,57-48,35)	<b>77,80</b> (61,28-121,63)	21,831 <sup>β</sup>	10
6	Guaiacol	4,500±0,57	<b>166,80</b> (151,50-182,95)	<b>321,35</b> (276,88-404,57)	17,234	10
7	Anisole	3,067±0,38	<b>61,46</b> (55,13-68,47)	<b>160,87</b> (130,25-224,57)	16,242	16
8	4-Allylanisole	10,980±1,14	<b>49,87</b> (44,93-54,16)	<b>65,25</b> (59,59-75,69)	24,354 <sup>β</sup>	10
9	1-S-Verbenone	17,890±2,26	<b>373,53</b> (351,87-399,57)	<b>440,52</b> (408,54-548,37)	36,799 <sup>β</sup>	10
10	R-(-)-α-phellandrene	5,671±0,72	<b>35,77</b> (29,32-40,70)	<b>60,18</b> (51,91-79,21)	20,133 <sup>β</sup>	10
11	limonene oxide	3,873±0,52	<b>60,73</b> (49,17-76,27)	<b>130,09</b> (96,13-282,21)	25,498 <sup>β</sup>	10

12	Eugenol	4,7710,53	<b>102,99</b> (81,16-130,00)	<b>191,17</b> (145,59-435,50)	90,936 <sup>β</sup>	16
13	(-)-linalool	11,246±1,1	<b>169,64</b> (157,74-184,24)	<b>220,54</b> (199,39-268,13)	40,791 <sup>β</sup>	13
14	E-anethol	12,792±1,1	<b>27,01</b> (26,23-27,81)	<b>34,02</b> (32,59-35,99)	18,083	16
15	β-citronelene	9,638±0,97	<b>74,07</b> (67,70-80,48)	<b>100,61</b> (90,89-120,15)	32,648 <sup>β</sup>	13
16	(+)-2-Carene	4,802±0,53	<b>72,13</b> (61,03-83,14)	<b>133,36</b> (109,57-198,99)	35,504 <sup>β</sup>	13
17	(+)-3-Carene	7,028±0,80	<b>57,23</b> (54,01-60,69)	<b>87,09</b> (79,29-100,06)	15,120	13
18	p-cresol	6,935±0,82	<b>192,03</b> (182,33-202,84)	<b>293,89</b> (266,75-340,79)	14,562	13
19	(-)-terpinen-4-ol	9,558±1,18	<b>240,19</b> (230,11-251,92)	<b>327,07</b> (302,54-369,18)	9,764	10
20	Thymoquinone	5,405±0,65	<b>25,55</b> (23,67-27,82)	<b>44,11</b> (38,46-54,44)	7,490	10
21	β-caryophyllene	14,052±1,42	<b>259,05</b> (252,45-266,30)	<b>319,58</b> (305,51-340,67)	20,600	16
22	eucalyptol	25,408±2,94	<b>355,56</b> (342,20-374,96)	<b>399,35</b> (377,72-460,04)	35,061 <sup>β</sup>	10
23	Nerol	5,359±0,56	<b>73,94</b> (68,33-79,42)	<b>128,24</b> (115,67-148,12)	13,974	13

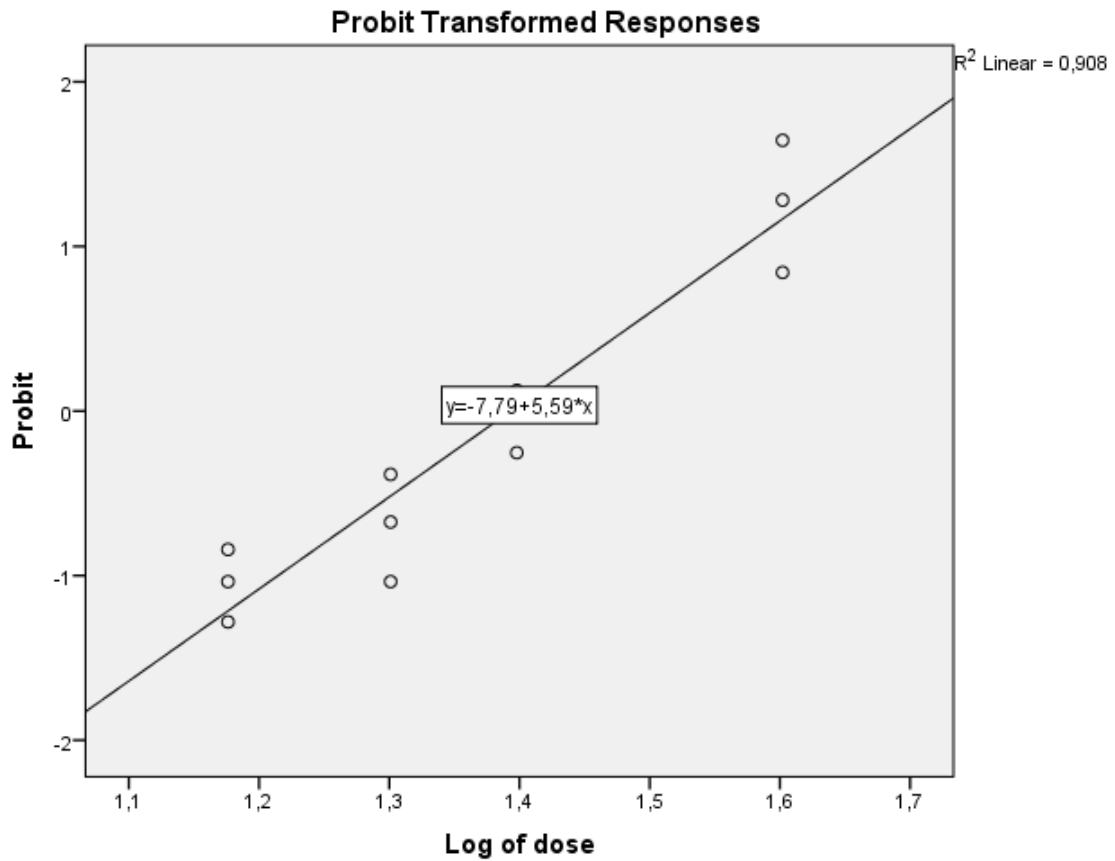
24	eugenyl acetate	11,331±1,2	<b>134,22</b> (129,36-139,16)	<b>174,14</b> (164,91-188,13)	6,586	13
25	(+)- $\alpha$ -terpineol	6,019±0,58	<b>315,96</b> (282,73-360,89)	<b>515,90</b> (430,00-761,35)	75,249 <sup><i>β</i></sup>	19
26	(+)-Isopulegone	9,996±1,11	<b>177,70</b> (166,74-188,84)	<b>238,73</b> (218,45-281,28)	26,475 <sup><i>β</i></sup>	13
27	(-)-Isopulegone	7,564±1	<b>155,51</b> (146,99-164,08)	<b>229,71</b> (209,99-264,92)	2,580	10
28	Geraniol	5,265±0,62	<b>82,53</b> (76,84-88,59)	<b>144,56</b> (128,08-173,52)	16,856	13
29	Citronellol	3,882±0,45	<b>34,38</b> (30,71-38,50)	<b>73,51</b> (61,82-94,93)	1,725	10
30	R(-)-methyl acetate	5,281±0,54	<b>47,21</b> (43,32-50,89)	<b>82,54</b> (74,77-94,42)	21,516	13
31	(+)-p-menthane-1	4,562±0,48	<b>47,73</b> (38,73-57,76)	<b>91,14</b> (71,74-152,74)	46,759 <sup><i>β</i></sup>	13
32	(+)-trans-p-menthane-2	8,797±0,91	<b>46,63</b> (43,31-50,14)	<b>65,22</b> (58,93-78,01)	27,664 <sup><i>β</i></sup>	13
33	(+)-Camphor	29,214±3,28	<b>463,64</b> (456,71-470,70)	<b>512,92</b> (501,40-530,13)	8,469	10

<sup>*a*</sup> Οι τιμές LC εκφράζονται σε mg/ lt και υπάρχει μεταξύ τους στατιστικώς σημαντική διαφορά όταν τα όρια εμπιστοσύνης (O.E.) για επίπεδο σημαντικότητας  $\alpha = 0,05$  (95%) δεν επικαλύπτονται.

<sup>*β*</sup> Από τη στιγμή που η καλή προσαρμογή των δοκιμών είναι σημαντική ( $P < 0,05$ ), ένας ετερογενής παράγοντας χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των ορίων εμπιστοσύνης (O.E.).



**Διάγραμμα 1.** Διαγραμματική απεικόνιση, με την Probit ανάλυση, της γραμμικής σχέσης των δόσεων του τερπενίου E-Anethol (μετά από μετατροπή σε log10) και του % θνησιμότητας των προνυμφών του *Ae. albopictus* (μετά από μετατροπή σε Probit μονάδες) μετά από 24 ώρες.



**Διάγραμμα 2. Διαγραμματική απεικόνιση, με την Probit ανάλυση, της γραμμικής σχέσης των δόσεων του τερπενίου Thymoquinone (μετά από μετατροπή σε log10) και του % θνησιμότητας των προνυμφών του *Ae. albopictus* (μετά από μετατροπή σε Probit μονάδες) μετά από 24 ώρες.**

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

### Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* των παρακάτω τριαντατριών (33) συστατικών αιθέριων ελαίων/τερπενίων: terpinyl acetate, α-terpinene, S-perillyl alcohol, Neryl acetate, Citronellyl acetate, Guaiacol, Anisole, 4-Allylanisole, 1-S-Verbenone, R-(-)-α-phellandrene, limonene oxide, Eugenol, (-)-linalool, E-anethol, β-citronelene, (+)-2-Carene, (+)-3-Carene, p-cresol, (-)-terpinen-4-ol, Thymoquinone, β-caryophyllene, eucalyptol, Nerol, eugenyl acetate, (+)-α-terpineol, (+)-Isopulegone, (-)-Isopulegone, Geraniol, Citronellol, R-(-)-methyl acetate, (+)-p-menthane-1, (+)-trans-p-menthane-2 και (+)-Camphor.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα τερπένια E-Anethol και thymoquinone εμφάνισαν την ισχυρότερη προνυμφοκτόνος δράση. Επιπλέον, για ορισμένα τερπένια όπως τα citronellol, R-(-)-α-phellandrene Citronellyl acetate, Neryl acetate, terpinyl acetate, R-(-)-methyl acetate, (+)-p-menthane-1, (+)-trans-p-menthane-2, 4-Allylanisole Anisole, limonene oxide, β-citronelene, (+)-2-Carene, (+)-3-Carene, Nerol και Geraniol διαπιστώθηκε ότι η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* κυμάνθηκε από ικανοποιητική έως πολύ καλή.

Συνεπώς, τα παραπάνω συστατικά αιθερίων ελαίων / τερπένια θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση των προνυμφών του Ασιατικού κουνουπιού τίγρης. Τέλος, απαιτείται περαιτέρω έρευνα σε θέματα που αφορούν στην τυποποίηση των τερπενίων για την βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητά τους και τη διερεύνηση της τοξικότητάς τους για την ασφάλεια του χρήστη.

## **Βιβλιογραφία**

- Adams R. P. 2007.** Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy, 4th Edition; Allured Publishing Corp.: Carol Stream, Illinois.
- Adorjan B. and G. Buchbauer. 2010.** Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25: 407-426.
- Amer A. and H. Mehlhorn. 2006.** Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research*, 99: 466-472.
- Anees A. M. 2008.** Larvicidal activity of *Ocimum sanctum* Linn. (Labiatae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Parasitology Research*, 103: 1451-1453.
- Ansari M. A., P. Vasudevan, M. Tandon and R. K. Razdan. 2000.** Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresource Technology*, 71: 267–271.
- Bakkali F., S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. 2008.** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- Barnard D. R. 1999.** Repellency of essential oils to mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 36(5): 625-629.
- Becker N., D. Petric, M. Zgomba, C. Boase, M. Madon, C. Dahl and A. Kaiser. 2010.** Mosquitoes and Their Control. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Second edition, 577 pp.
- Benedict M. Q., R. S. Levine, W. A. Hawley and L. P. Lounibos. 2007.** Spread of the Tiger: Global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-Borne And Zoonotic Diseases*, 7(1): 76-85.
- Boulogne I., P. Petit, H. Ozier-Lafontaine, L. Desfontaines and G. Loranger-Merciris. 2012.** Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, DOI 10.1007/s10311-012-0359-1.
- Campbell, G.L.; Marfin, A.A.; Lanciotti, R.S.; Gubler, D.J.** West Nile Virus. *Lancet Infect. Dis.* 2002, 2, 519-529
- Cavalcanti E. S. B., S. M. d. Morais, M. A. A. Lima and E. W. P. Santana. 2004.** Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 99(5): 541-544.
- Cetin H. and A. Yanikoglu. 2006.** A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *Journal of Vector Ecology*, 31(1): 118-122.

- Choi W.-S., B.-S. Park, S.-K. Ku and S.-E. Lee. 2002.** Repellent activities of essential oils and monoterpenes against *Culex pipiens fallens*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18(4): 348-351.
- Coleman R. E., L. L. Robert, L. W. Roberts, J. A. Glass, D. C. Seeley, A. Laughinghouse, P. Perkins and R. A. Wirtz. 1993.** Laboratory evaluation of repellents against four anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae) and two phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, 30: 499-502.
- Conti B., A. Canale, A. Bertoli, F. Gozzini and L. Pistelli. 2010.** Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 107: 1455–1461.
- Conti B., G. Benelli, G. Flamini, P. L. Cioni, R. Profeti, L. Ceccarini, M. Macchia and A. Canale. 2012a.** Larvicidal and repellent activity of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) essential oil against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 110: 2013-2021.
- Conti B., G. Benelli, M. Leonardi, F. U. Afifi, C. Cervelli, R. Profeti, L. Pistelli and A. Canale. 2012b.** Repellent effect of *Salvia dorisiana*, *S. longifolia*, and *S. sclarea* (Lamiaceae) essential oils against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, DOI: 10.1007/s00436-012-2837-6.
- Drapeau J., C. Fröhler, D. Touraud, U. Kröckel, M. Geier, A. Rosea and W. Kunzb. 2009.** Repellent studies with *Aedes aegypti* mosquitoes and human olfactory tests on 19 essential oils from Corsica, France. *Flavour and Fragrance Journal*, 24: 160-169.
- E.C.D.C. 2009.** Development of *Aedes albopictus* risk maps. European Center of Disease Control, Technical report at Stockholm, May 2009.
- Enserink M. 2008.** A Mosquito Goes Global. *Science*, 320: 864-866
- Estrada-Franco J. G. and G. B. Craig. 1995.** Biology, disease relationships and control of *Aedes albopictus*. Pan American health organization (World Health Organization) Technical Paper 1995: 49.
- Finney D. 1971.** Probit Analysis. 3rd edn. London: Cambridge University Press.
- Gbolade A. A. and G. B. Lockwood. 2008.** Toxicity of *Ocimum sanctum* L. essential oil to *Aedes aegypti* Larvae and its chemical composition. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 11(2): 148-153.
- Gerberg E. J. 1970.** Manual for mosquito rearing and experimental techniques. *American Mosquito Control Association. Inc. AMCA Bulletin No.5, 109 pp.*



- Gerberg E. J., D. R. Barnard and R. A. Ward. 1993.** Manual for mosquito rearing and experimental techniques. *American Mosquito Control Association*, 5: 1-2.
- Giatropoulos A., A. Michaelakis, G. Koliopoulos and C. M. Pontikakos .2012c.** Records of *Aedes albopictus* and *Aedes cretinus* (Diptera: Culicidae) in Greece from 2009 to 2011 *Hellenic Plant Protection Journal*, 5(2): 49-56.
- Giatropoulos A., D. P. Papachristos, A. Kimbaris, G. Koliopoulos, M. G. Polissiou, N. Emmanouel and A. Michaelakis. 2012b.** Evaluation of bioefficacy of three *Citrus* essential oils against the dengue vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in correlation to their components enantiomeric distribution. *Parasitology Research*, 111(6): 2253-2263.
- Giatropoulos A., D. Pitarokili, F. Papaioannou, D. P. Papachristos, G. Koliopoulos, N. Emmanouel, O. Tzakou and A. Michaelakis. 2013.** Essential oil composition, adult repellency and larvicidal activity of eight Cupressaceae species from Greece against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 112 (3): 1113-1123.
- Giatropoulos A., N. Emmanouel, G. Koliopoulos and A. Michaelakis. 2012a.** A study on distribution and seasonal abundance of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population in Athens, Greece. *Journal of Medical Entomology*, 49(2): 262-269.
- Govere J. M. and D. V. Durrheim. 2006.** In: *Insect Repellents: Principles Methods, and Use.* Debboun M, Frances SP, Strickman D, editor. Boca Raton Florida: CRC Press; 2006. Techniques for evaluating repellents.
- Govindarajan M., R. Sivakumar, M. Rajeswari and K. Yogalakshmi. 2012.** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. *Parasitology Research*, 110: 2023-2032.
- Gratz N. G. 2004.** Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Medical and Veterinary Entomology* 18: 215-227.
- Hatamneia A. A., M. Khayami, A. Mahmoudzadeh, S. H. Sarghein and M. Heidarih. 2008.** Comparative anatomical studies of some genera of Lamiaceae family in West Azarbaijan in Iran. *Botany Research Journal*, 1(3): 63-67.
- Hawley W. A. 1988.** The biology of *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 4 (suppl. 1): 1-40.
- I.S.S.G. 2011.** Invasive Species Specialist Group. 100 of the World's Worst Invasive Alien Species: A selection from the Global Invasive Species Database. Retrieved online from: <http://www.issg.org/database/species/search.asp?st=100ss> (last visit 30/11/2011).
- Isman M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608.

- Isman M. B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
- Kalaivani K., S. Senthil-Nathan and A. G. Murugesan. 2011.** Biological activity of selected Lamiaceae and Zingiberaceae plant essential oils against the dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, DOI: 10.1007/s00436-011-2623-x.
- Koc S., E. Oz and H. Cetin. 2012.** Repellent activities of some Labiatae plant essential oils against the saltmarsh mosquito *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 110(2005-2209).
- Kokkini S., E. Hanlidou and R. Karousou. 2004.** Clinal variation of *Mentha pulegium* essential oils along the climatic gradient of Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 16: 588-593.
- Koliopoulos G., D. Pitarokili, E. Kioulos, A. Michaelakis and O. Tzakou. 2010.** Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology Research*, 107: 327-335.
- Kumar S., N. Wahab and R. Warikoo. 2011.** Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: 85-88.
- Louis C. 2012.** Daily newspaper view of Dengue fever epidemic, Athens, Greece, 1927–1931. *Emerging Infectious Diseases*, 18(1): 78-82.
- Maia M. F. and S. J. Moore. 2011.** Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malaria Journal*, 10(suppl.1): 1-15.
- Manimaran A., M. M. J. J. Cruz, C. Muthu, S. Vincent and S. Ignacimuthu. 2012.** Larvicidal and knockdown effects of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say, *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles stephensi* (Liston). *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3: 855-862.
- Mathew J. and J. E. Thoppil. 2011.** Chemical composition and mosquito larvicidal activities of *Salvia* essential oils. *Pharmaceutical Biology*, 49(5): 456-463.
- McMurry J. 2008.** Organic Chemistry. Seventh edition, Brooks/Coll, Thomson Learning, Inc. United States of America. pp. 1225
- Medlock J. M., K. M. Hansford, F. Schaffner, V. Versteirt, G. Hendrickx, H. Zeller and W. V. Bortel. 2012.** A review of the invasive mosquitoes in Europe: Ecology, public health risks, and control options. *Vector-Borne And Zoonotic Diseases*, 12: 1-13.

- Michaelakis A., D. Papachristos, A. Kimbaris and M. Polissiou. 2011.** Larvicidal evaluation of three *Mentha* species essential oils and their isolated major components against the West Nile virus mosquito. *Hellenic Plant Protection Journal*, 4: 35-43.
- Michaelakis A., S. A. Theotokatos, G. Koliopoulos and N. G. Chorianopoulos. 2007.** Essential oils of *Satureja* species: Insecticidal effect on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 12: 2567-2578.
- Naghbi F., M. Mosaddegh, S. M. Motamed and A. Ghorbani. 2005.** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 63-79.
- Nerio L. S., J. Olivero-Verbel and E. Stashenko. 2010.** Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101: 372-378.
- Oshaghi M. A., R. Ghalandari, H. Vatandoost, M. Shayeghi, M. Kamali-nejad, H. Tourabi-Khaledi, M. Abolhassani and M. Hashemzadeh. 2003.** Repellent effect of extracts and essential oils of *Citrus limon* (Rutaceae) and *Melissa officinalis* (Labiatae) against main malaria vector, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Iranian Journal of Public Health*, 32(4): 47-52.
- Pampiglione S. and F. Rivasi. 2001.** Dirofilariasis. In the encyclopedia of arthropodtransmitted infections, M. W. Service [ed.]. CABI Publishing, Eastbourne, UK, pp. 143-150.
- Papachristos D. P. and D. C. Stamopoulos. 2002.** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38: 117-128.
- Papachristos D. P. and D. C. Stamopoulos. 2004.** Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 40: 517-525.
- Park B.-S., W.-S. Choi, J.-H. Kim, K.-H. Kim and S.-E. Lee. 2005.** Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(1): 80-83.
- Pavela R. 2009.** Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Industrial Crops and Products*, 30: 311-315.
- Pavela R., N. Vrchotová and J. Tříška. 2009.** Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) *Parasitology Research*, 105(1365-1370).

- Phasomkusolsil S. and M. Soonwera. 2010.** Insect repellent activity of medicinal plant oils against *Aedes aegypti* (linn.), *Anopheles minimus* (theobald) and *Culex quinquefasciatus* say based on protection time and biting rate. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 41(4): 831-840.
- Pitarokili D., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A. Giatropoulos and O. Tzakou. 2011a.** Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek *Thymus* essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. *Parasitology Research*, 109(2): 425-430.
- Pitarokili D., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A. Giatropoulos and O. Tzakou. 2011b.** Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek *Thymus* essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. *Parasitology Research*, 109: 425-430.
- Prajapati V., A. K. Tripathi, K. K. Aggarwal and S. P. S. Khanuja. 2005.** Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology*, 96: 1749-1757.
- Radwan M. A., S. R. El-Zemity, S. A. Mohamed and S. M. Sherby. 2008.** Larvicidal activity of some essential oils, monoterpenoids and their corresponding N-methyl carbamate derivatives against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 28(2): 61-68.
- Rajamma A. J., S. Dubey, S. B. Sateesha, S. N. Tiwari and S. K. Ghosh. 2011.** Comparative larvicidal activity of different species of *Ocimum* against *Culex Quinquefasciatus*. *Natural Product Research*, 25(20): 1916-1922.
- Regnault-Roger C., C. Vincent and J. T. Arnason. 2012.** Essential oils in insect control: Low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57: 405-424.
- Rezza G., L. Nicoletti, R. Angelini, R. Romi, A. C. Finarelli, M. Panning, P. Cordioli, C. Fortuna, S. Boros, F. Magurano, G. Silvi, P. Angelini, M. Dottori, M. G. Ciufolini, G. C. Majori and A. Cassone. 2007.** Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *The Lancet* 370: 1840–46.
- Samanidou-Voyadjoglou A., E. Patsoula, G. Spanakos and N. C. Vakalis. 2005.** Confirmation of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in Greece. *European Mosquito Bulletin*, 19: 10-11.
- Romi R. 1995.** History and updating on the spread of *Aedes albopictus* in Italy. *Parassitologia*, 37: 99–103.
- SPSS. 2004.** SPSS 14 for Windows users guide. SPSS Inc., Chicago, IL.

- Sritabutra D., M. Soonwera, S. Waltanachanobon and S. Pongjai. 2011.** Evaluation of herbal essential oil as repellents against *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles dirus* Peyton & Harrion. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: s124-s128.
- Sukumar K., M. J. Perich and L. R. Boobar. 1991.** Botanical derivatives in mosquito control: A review. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 7(2): 210-237.
- Tawatsin A., P. Asavadachanukorn, U. Thavaral, P. Wongsinkongman, J. Bansidhi, T. Boonruad, P. Chavalittumrong, N. Soonthornchareonnon, N. Komalamisra and M. S. Mulla. 2006.** Repellency of essential oils extracted from plants in Thailand against four mosquito vectors(Diptera: Culicidae) and oviposition deterrent effects against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 37(5): 915-931.
- Tawatsin A., S. D.Wratten, R. R. Scott, U. Thavara and Y. Techadamrongsin. 2001.** Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *Journal of Vector Ecology*, 26(1): 76-82.
- Trabousli A. F., K. Taoubi, S. EI-Haj, J. Bessiere and S. Rammal. 2002.** Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera : Culicidae). *Pest Management Science*, 58: 491-495.
- Tripathi A. K., S. Upadhyay, M. Bhuiyan and P. R. Bhattacharya. 2009.** A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 1(5): 52-63.
- Trongtokit Y., Y. Rongsriyam, N. Komalamisra and C. Apiwathnasorn. 2005.** Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy Research*, 19: 303-309.
- W.H.O. 1981.** Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides VBC/81.807. World Health Organization, Geneva.
- W.H.O. 2005.** Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides World Health Organization (WHO) communicable disease control, prevention and eradication WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES). Geneva, Switzerland. p 1-41.
- Yang P. and Y. Ma. 2005.** Repellent effect of plant essential oils against *Aedes albopictus*. *Journal of Vector Ecology*, 30(2): 231-234.
- Zhu J., X. Zeng, Yanma, T. Liu, K. Qian, Y. Han, S. Xue, B. Tucker, G. Schultz, J. Coats, W. Rowley and A. Zhang. 2006.** Adult repellency and larvicidal activity of five plant essential oils against mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(3): 515-522.

**W.H.O. 1999.** Prevention and control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever - Comprehensive guidelines. World Health Organization Regional Publication. WHO/SEARO, New Delhi. SEARO No. 29, 134 pp.

**Εμμανουήλ, Ν.Γ. 1999.** Δίπτερα υγειονομικής σημασίας. Αναγνώριση, βιολογία, οικονομική σημασία, αντιμετώπιση. *Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών*. 91 σελ.

**Κολιόπουλος Γ., Ι. Λύτρα, Α. Μιχαηλάκης, Η. Κιούλος, Α. Γιατρόπουλος και Ν. Εμμανουήλ (2008).** Το «Ασιατικό Κουνούπι Τίγρης». Πρώτη εμφάνιση του *Aedes albopictus* (Skuse) στην Αθήνα. *Γεωργία - Κτηνοτροφία, Τεύχος 9*.

**Κολιόπουλος Γ. Θ. 2011.** Συμβολή στη μελέτη της παρουσίας, εξάπλωσης, βιολογίας και καταπολέμησης, του *Aedes cretinus* Edws. και άλλων ανθρωπόφιλων Culicidae, στο Νομό Αττικής. Διδακτορική διατριβή (PhD Thesis). Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. 386 σελ.

**Μπέτζιος, Χ.Β. 1989.** Αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας. Μορφολογία, βιολογία, οικολογία, υγειονομική σημασία, καταπολέμηση. 260 σελ.

**Πελεκάσης, Κ.Ε.Δ. 1994.** Μαθήματα γεωργικής εντομολογίας. *Τόμος Α* . Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. 357 σελ.

**Σαμανίδου-Βογιατζόγλου Α. 2011.** Τα Κουνούπια της Ελλάδας, Μορφολογία, Βιολογία, Δημόσια υγεία, Κλείδες προσδιορισμού, Αντιμετώπιση. Εκδόσεις ΑγροΤύπος Α.Ε., 112 σελ.

**Σαββοπούλου-Σουλτάνη Μ. 1999.** Έντομα και άλλα αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη. 153 σελ.

**Σαββοπούλου-Σουλτάνη Μ., Σ. Ανδρεάδης and Χ. Σουλτάνη-Ζουρουλίδη. 2011.** Έντομα & άλλα αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας. Βιολογία, οικολογία, αντιμετώπιση. Θεσσαλονίκη, 441 σελ.

**Σαρλής Γ. Π. 1994.** Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα, 112 σελ.

**Ζιώγας Β. και Α. Μαρκόγλου. 2007.** Γεωργική Φαρμακολογία. Βιοχημεία, Μηχανισμοί Δράσης και Χρήσεις των Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων. Ελληνική Έκδοση, Αθήνα. σελ. 836.