

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)
ΜΕΣΟΛΟΓΓΙΟΥ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΑΝΘΟΚΟΜΙΑΣ ΚΑΙ ΘΕΡΜΟΚΗΠΙΑΚΩΝ
ΚΑΛΛΙΕΡΓΙΩΝ

ΜΕΛΕΤΗ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΦΥΣΙΚΗΣ
ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ ΟΥΣΙΩΝ ΣΕ ΕΝΤΟΜΑ

Πτυχιακή εργασία
της σπουδάστριας

ΜΑΤΙΝΑ ΚΕΦΑΛΑ

ΜΕΣΟΛΟΓΓΙ 2010



ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή εκπονήθηκε στα Εργαστήρια Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας 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 θεωρητικού μέρους.

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 κ. Κολιόπουλο Γεώργιο, Γεωπόνο του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου και υπεύθυνο του Εργαστηρίου Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, για την καθοδήγηση και για παρακολούθηση της πτυχιακής μου μελέτης σε όλα τα στάδια.. Τον κ. Στάθη Ιωάννη, τεχνικό βοηθό του εργαστηρίου, που μου εμπιστεύτηκε την εκτροφή των κουνουπιών *Culex pipiens* biotype *molestus* και μου παραχώρησε το εντομολογικό υλικό που χρειάστηκε για τη διεξαγωγή των πειραμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την κ. Αλίκη Τζίμα για την ανάληψη επίβλεψης της πτυχιακής μου μελέτης, καθώς και για τις εύστοχες υποδείξεις και συμβουλές για τη συγγραφή και την τελική παρουσίαση της εργασίας αυτής.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	Π
ΕΙΣΑΓΩΓΗ	1
1.1.ΤΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ ΚΑΙ Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ.....	4
1.1.1.. Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ	4
1.1.2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ - ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ.....	7
1.1.2.1. Ωό	9
1.1.2.2. Προνύμφη.....	10
1.1.2.3. Νύμφη.....	11
1.1.2.4. Ακμαίο	13
1.2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ	17
1.2.1. Καταπολέμηση των προνυμφών	17
1.2.1.1. Περιορισμός των εστιών ανάπτυξης	17
1.2.1.2. Βιολογική καταπολέμηση	18
1.2.1.3. Χημική καταπολέμηση	19
1.2.2. Καταπολέμηση ακμαίων κουνουπιών.....	19
1.2.2.1. Υπολειμματικοί ψεκασμοί	20
1.2.2.2. Ψεκασμοί ανοικτών χώρων.....	20
1.2.2.3. Καπνισμοί εσωτερικών χώρων	20
1.2.3. Ατομική προστασία	21
1.2.4 ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ.....	22
1.2.4.1 Σύνθεση και Βιοσύνθεση των αιθέριων ελαίων.....	23
1.2.4.2 Ρόλος των αιθέριων ελαίων	24
1.2.4.3 Παραλαβή των αιθέριων ελαίων	24
1) Απόσταξη:.....	25
2) Εκχύλιση:	25
3) Μηχανική παραλαβή:.....	26
1.2.4.4 Διατήρηση των αιθέριων ελαίων	27
1.2.4.5 Ποιοτικός έλεγχος.....	27
1.2.4.6 Επίδρασεις των αιθέριων ελαίων στα έντομα	28
1.2.4.7. Φυτά του είδους Thymus	29
1.3. ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ.....	31
1.3.1. Γενικές πληροφορίες.....	31
1.3.2. Διαπίστωση και επιπτώσεις του φαινομένου της ανθεκτικότητας.....	32
1.3.3. Αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας.....	34
1.3.3.1. Μέτρα για την αποφυγή ή καθυστέρηση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας.....	35
1.3.3.2. Μέτρα για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας που έχει ήδη αναπτυχθεί	35
ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	36
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	37
2.1. ΕΚΤΡΟΦΗ	37
2.1.1. Ωα.....	37
2.1.2. Προνύμφες.....	37
2.1.3. Νυμφες.....	38
2.1.4. Ακμαία.....	38
2. 2. ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ	39
2.3. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ	40
2.3.1. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης	40
2.3.2 Βιοδοκιμές Απωθητικότητας.....	41
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	44
3.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ	44
3.2.ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΑΠΩΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	45
ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	48
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	51

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.).

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>Ceratopogon sp.</i>
	Brachycera	Tabanidae ¹	 <i>Hybomitra sp.</i>
		Muscidae	 <i>Musca domestica</i>
		Glossinidae	 <i>Glossina sp.</i>
		Calliphoridae	 <i>Calliphora sp.</i>
		Oestridae	 <i>Hypoderma sp.</i>

Στα αιμομυζητικά δίπτερα ανήκουν αρκετές οικογένειες με κοινότερες εκείνες των Culicidae (κουνούπια), Tabanidae (ταβάνια), Muscidae (ορισμένα είδη), και

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

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 ζώων 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 σχετικά 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*).

1.1. ΤΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ ΚΑΙ Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ

1.1.1.. Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

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.

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).

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.

Η ελονοσία είναι ανθρωπονόσος με μακρόχρονη ιστορία και ανυπολόγιστες αρνητικές επιπτώσεις στην παγκόσμια δημόσια υγεία. Ακόμη και στις αρχές του 21^{ου} 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).

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.

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. *Flaviriridae*) 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 ανθελονοσιακής εκστρατείας κατά των ανωφελών με DDT².

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. 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 (Βογιατζόγλου – Σαμανίδου, 2005).

Ο ιός του δυτικού Νείλου ανήκει στο γένος *Flarivirus* με υποδόχα τα πτηνά και ενδιάμεσους ξενιστές τα κουνούπια, κυρίως του γένους *Culex* (Dauphin 2004). 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

² 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.

που οφείλονται στον ιό έχουν αναφερθεί μόνο για τη Νότια Αφρική και τη Βόρεια Ευρώπη.

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*.

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 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.

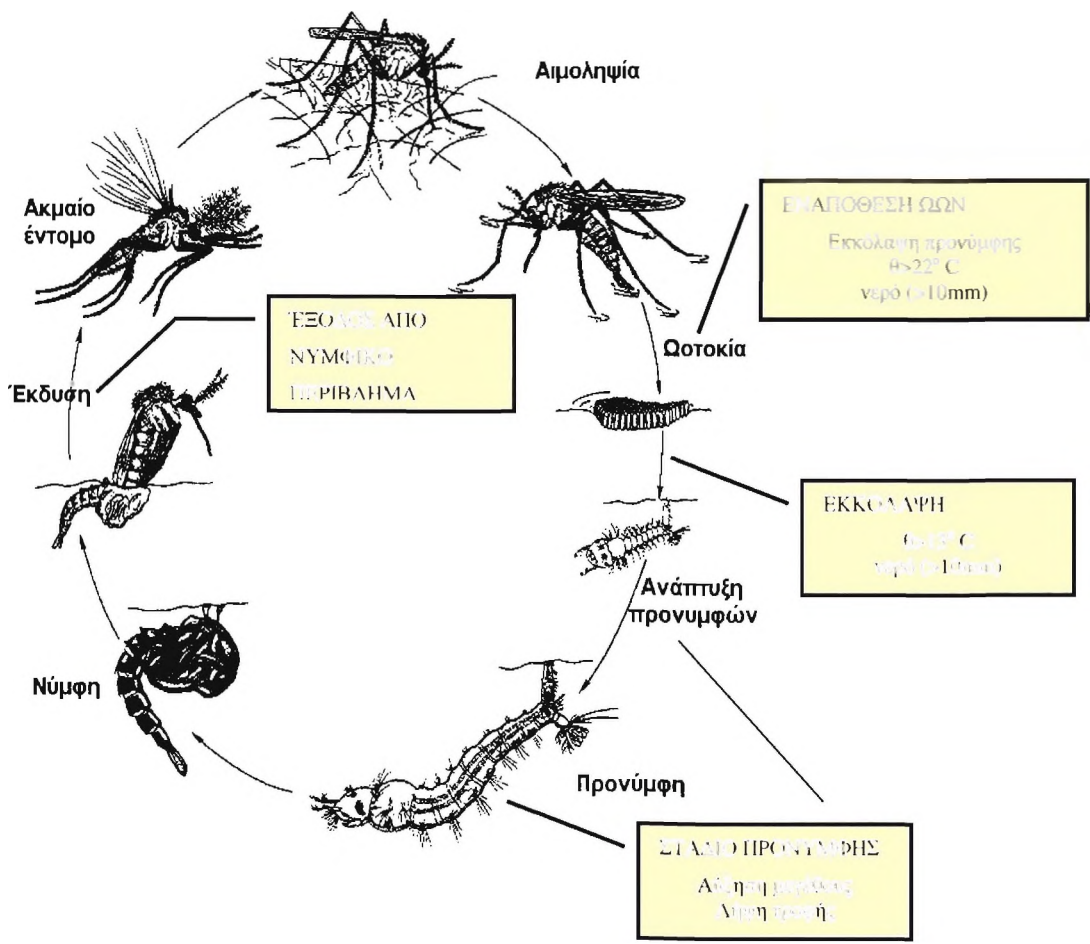
1.1.2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ - ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

Ο βιολογικός κύκλος του κουνουπιού περιλαμβάνει τα στάδια του ωού, της προνύμφης, της νύμφης και του ακμαίου (ΕΙΚΟΝΑ 1.1.). Το καθένα από τα οποία περιγράφεται παρακάτω.

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), ορνιθοφιλα (πτηνά), ερπετόφιλα (ερπετά), κ.λ.π.



ΕΙΚΟΝΑ 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 οικοδίαιτα (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 . 1 . 2 . 1 . Ω ό

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 ωά 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.

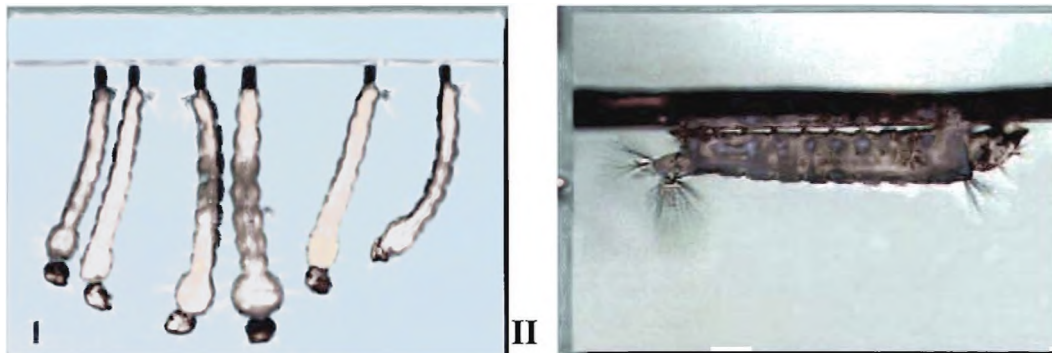
1.1.2.2. Προνύμφη

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^ο 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 *Coquellittidia* 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.



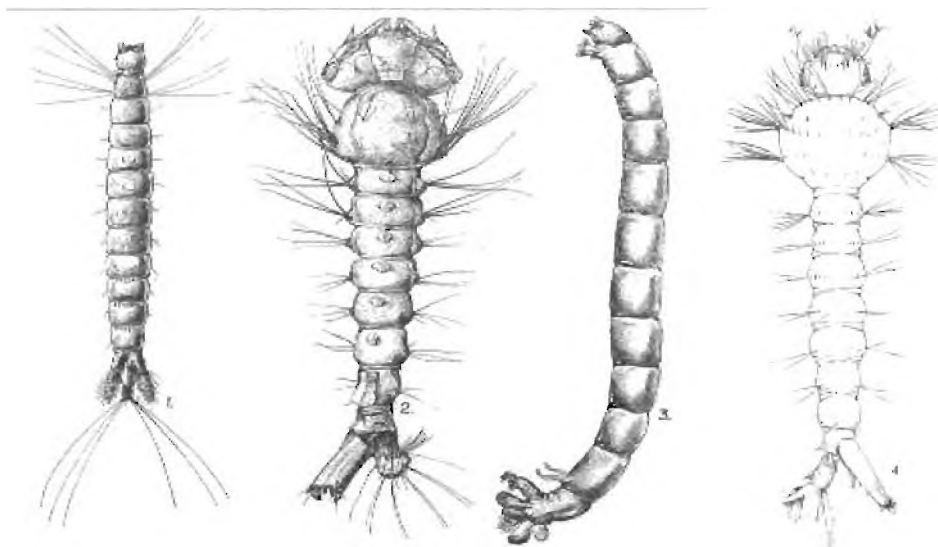
ΕΙΚΟΝΑ 1.4. Προνύμφες κουνουπιών (I) Το σώμα της προνύμφης σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια του νερού (*Culex* ή *Aedes*) και (II) Το σώμα της προνύμφης είναι παράλληλο με την επιφάνεια του νερού (*Anopheles*).

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.**).

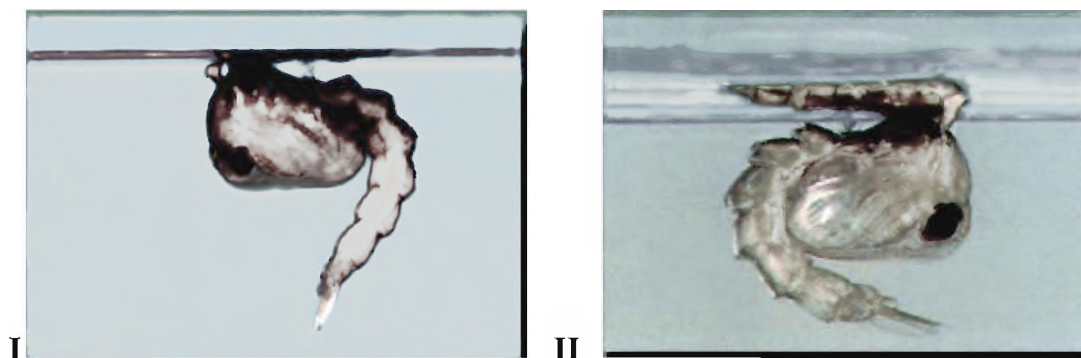
1 . 1 . 2 . 3 . Νύμφη

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.**).



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



ΕΙΚΟΝΑ 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 (ΕΙΚΟΝΑ 1.7.).

1.1.2.4. Α κ μ α ί ο

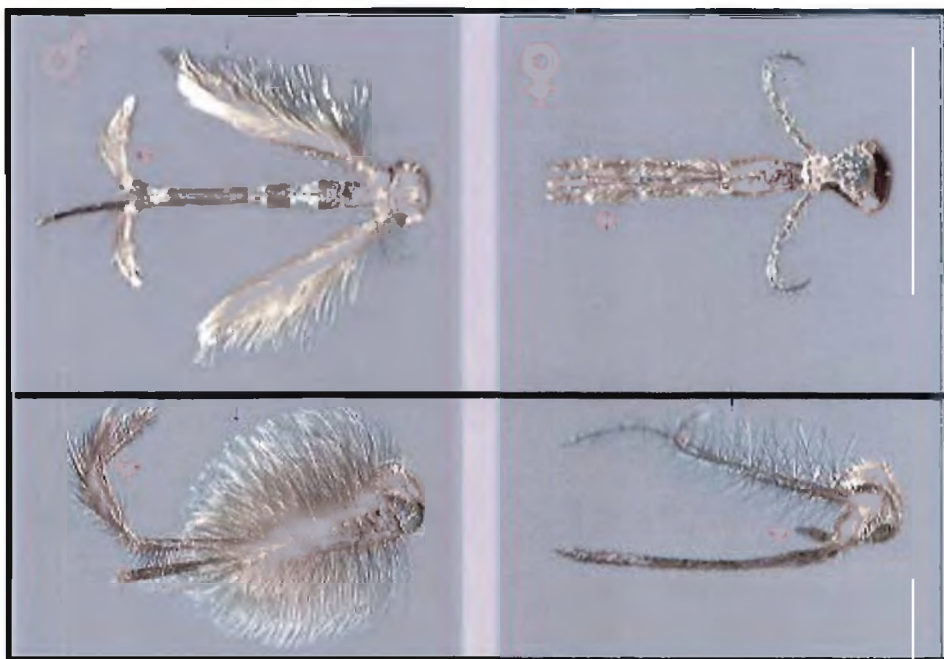
Τα τέλεια έντομα είναι σχετικώς μικρά (μήκος 3-6 mm σπανίως έως 9 mm), με σώμα λεπτό και μακριά πόδια. Η κοιλιά είναι μακριά και λεπτή, οι πτέρυγες λεπτές, διαφανείς με χαρακτηριστική νεύρωση και με λέπια στα νεύρα και στην περιφέρεια, η οποία φέρει σμήριγγες που σχηματίζουν «κροσσό». Οι κεραίες στα αρσενικά είναι περισσότερο πτεροειδείς (φουντωτές), απ' ό τι τα στα θηλυκά. Οι οφθαλμοί είναι καλά ανεπτυγμένοι.



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.

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. 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 μόρια 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^ο 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^ο επίμηκες)
ανάμεσα σε δύο διακλαδισμένα το 2^ο και το 4^ο (ΕΙΚΟΝΑ 1.9).

1.2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

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.

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 (Μιχαηλάκης, 2006).

1.2.1. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ

1.2.1.1. 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 ωά, 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.

1.2.1.2. Βιολογική καταπολέμηση

Η βιολογική καταπολέμηση των προνυμφών των κουνουπιών γίνεται με εμπλουτισμό των εστιών ανάπτυξής τους με διάφορα είδη προνυμφοφάγων ψαριών, κυριότερο 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 (Becker, 2003).

1.2.1.3. 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 (Becker, 2003).

1.2.2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΑΚΜΑΙΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

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.

1.2.2.1. 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.

1.2.2.2. 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.

1.2.2.3. 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.

1.2.3. ΑΤΟΜΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ

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.)

1.2.4 ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

Όλα τα φυτά που περιέχουν αιθέρια έλαια ονομάζονται αρωματικά. Τα αρωματικά φυτά είναι και φαρμακευτικά, τα φαρμακευτικά όμως δεν είναι όλα αρωματικά. Η παραγωγή αιθέριων ελαίων έχει εντοπιστεί σε περίπου 2.000 φυτικά είδη που ανήκουν σε 60 οικογένειες όπως οι: *Compositae*, *Labiatae*, *Lauraceae*, *Myrtaceae*, *Pinaceae*, κλπ.

Τα αιθέρια έλαια είναι οργανικές πτητικές χημικές ενώσεις σε υγρή μορφή, με ελαιώδη εμφάνιση και διαφορετική χημική σύσταση κάθε φορά. Δεδομένου ότι είναι πτητικές, τα μόρια τους εξατμίζονται εύκολα και διασκορπίζόμενα στον ατμοσφαιρικό αέρα, που έρχονται σε επαφή με τα όργανα όσφρησης, τα οποία και διεγείρουν. Δίνοντας έτσι, με τον τρόπο αυτό, στα διάφορα φυτά συγκεκριμένες φαρμακευτικές ιδιότητες και τη χαρακτηριστική τους μυρωδιά που αντιστοιχεί στο είδος του φυτού.

Το ισχυρότερο πλεονέκτημα που διαθέτουν εκτός από την ισχυρή δραστηριότητα 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 αποτελεσματικότητά τους στη φυτοπροστασία, ωστόσο τα

πρώτα προϊόντα βασισμένα πάνω σε αιθέρια έλαια άρχισαν να κυκλοφορούν στο εμπόριο και φαίνεται ότι έχουν σημαντική αποτελεσματικότητα.

1.2.4.1 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.

➤ 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.

1.2.4.2 Ρόλος των αιθέριων ελαίων

Ο ρόλος των αιθέριων ελαίων στην φυσιολογία του φυτού δεν έχει διευκρινιστεί ακόμα. Στα αιθέρια έλαια έχουν αποδοθεί κατά καιρούς οι εξής λειτουργίες:

- Το αιθέριο έλαιο δρα αποθητικά 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.

1.2.4.3 Παραλαβή των αιθέριων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια παραλαμβάνονται από τα αρωματικά φυτά με διάφορους μεθόδους. Για την εκλογή της κατάλληλης μεθόδου λαμβάνονται υπόψη τα εξής:

- 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.

1.2.4.4 Διατήρηση των αιθέριων ελαίων

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

1. Θερμοκρασία αποθηκεύσεως: 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 θειικού νατρίου, θειικού 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 αποθηκεύσεως: Κατάλληλα δοχεία είναι τα γυάλινα ή μεταλλικά από ανοξείδωτο χάλυβα. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται πλαστικά ή ξύλινα δοχεία.

1.2.4.5 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).

1.2.4.6 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 ωοτοκίας. Επίσης έχει παρατηρηθεί σε αρκετές περιπτώσεις ρυθμιστική της ανάπτυξης καθώς και στερωτική 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.

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.

1.2.4.7. Φυτά του είδους *Thymus*

Το *Thymus vulgaris* (θυμάρι) της οικογένειας *Lamiaceae* είναι ένα σημαντικό μελισσοκομικό φυτό της χώρας μας. Έχει φύλλα στενά και μικρά (8-12 χιλιοστά) άμισχα, αντίθετα ωοειδή, χρώματος πράσινου έως γκρίζου. Τα άνθη του είναι μικρά ρόδινα ή ερυθροϊώδη ή λευκά, σε πυκνές κεφαλοειδείς ταξιανθίες. Το γένος *Thymus* εκτός από το κοινό θυμάρι αριθμεί 120 είδη. Στην Ελλάδα υπάρχουν 40. Κυριότερα *Thymus capitatus*, *Thymus serpyllum*, *Thymus citriodorus*. Είναι αγγειόσπερμο, δικότυλο φυτό και είναι θάμνος μικρού ύψους (έως 30 εκατοστά), με όρθιους βλαστούς, εξαιρετικά ανθεκτικός, με πολύ ευχάριστο άρωμα.

Ευδοκίμει σε περιοχές θερμές και ψυχρές. Αναπτύσσεται καλά σε ξηρικές εκτάσεις, ενώ σε ποτιστικές δίνει μεγαλύτερη παραγωγή. Αναπτύσσεται σε περιοχές ηλιόλουστες έως μερικά σκιαζόμενες. Καλύτερη ανάπτυξη σε περιοχές 400-500 m. Σε ποικιλία εδαφών με pH από 4,5-8. Καλύτερο pH ανάπτυξης το 6,3.

Καλύτερη απόδοση δίνει σε ασβεστούχα με καλή αποστράγγιση και πλούσια σε οργανική ουσία εδάφη. Πολλαπλασιάζεται με σπόρο ή με παραφυάδες. Η συγκομιδή γίνεται μετά το δεύτερο έτος και η συλλογή όταν ο φυτό είναι σε πλήρη άνθηση με χορτοκοπτικό.

Είναι πολύ καλό μελισσοτροφικό φυτό. Χρησιμοποιείται στη βιομηχανία τροφίμων τόσο η ξηρή δρόγη όσο και το αιθέριο έλαιο για καλύτερο άρωμα, γεύση και εμφάνιση. Χρησιμοποιείται επίσης ως ισχυρό αντιοξειδωτικό στα τρόφιμα, στην φαρμακευτική. Το αιθέριο έλαιό του χρησιμοποιείται κυρίως για την αντιμικροβιακή, αντιμηκυτιακή καθώς και την καρδιοτονοτική του δράση. Παραδοσιακά χρησιμοποιείται για αναπνευστικά προβλήματα, γαστρίτιδα, βρογχίτιδα, άσθμα, λαρυγγίτιδα, στην αρωματοποιία, στην παρασκευή οδοντόπαστας (θεωρείται το καλύτερο για την υγιεινή του στόματος) στην ομοιοπαθητική, στην αρωματοθεραπεία και φυσικά ως ρόφημα.

Η περιεκτικότητα σε αιθέριο έλαιο κυμαίνεται από 1-3%. Η διαδικασία που παίρνεται το αιθέριο έλαιο είναι η αέρια απόσταξη (steam distillation). Η ποιότητα και η ποσότητα του αιθερίου ελαίου εξαρτάται από το αρχικό φυτικό υλικό, το στάδιο ωριμότητας στο οποίο γίνεται η συλλογή, το περιβάλλον και τη διαδικασία απόσταξης. Τα κύρια συστατικά του αιθερίου ελαίου είναι thymol, *p*-cymene, *γ*-terpinene, linalol και myrcene.

Το αιθέριο έλαιο διακρίνεται σε τρεις κύριες ομάδες:

- το «thymol oil» που έχει 42-60% φαινόλες με κύριο συστατικό τη θυμόλη,
- το «origanum oil» το οποίο περιέχει 63-74% φαινόλες με κύριο συστατικό την καρβακρόλη και το
- «Lemon thyme oil» το οποίο περιέχει την κιτράλη (Πηγή: <http://el.wikipedia.org/>, <http://aromaticplantkilkis.blogspot.com>).

1.3. ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

1.3.1. ΓΕΝΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα που προκύπτουν από τη χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων και των βιοκτόνων είναι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας των καταπολεμούμενων οργανισμών στις ουσίες που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπισή τους. Η ανθεκτικότητα αναπτύσσεται σ' όλους τους ζωικούς οργανισμούς, κυρίως όμως εμφανίζεται πιο έντονα στα έντομα και τα ακάρεα (γεωργικής ή υγειονομικής σημασίας) (Μιχαηλάκης, 2006).

Θα πρέπει να διευκρινιστεί ότι στη συνέχεια θα χρησιμοποιείται ο όρος "παρασιτοκτόνα" για να εκφράσει όλες τις ουσίες ή τα προϊόντα που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των αρθροπόδων γεωργικής ή υγειονομικής σημασίας, είτε αυτά θεωρούνται "φυτοπροστατευτικά προϊόντα", όπως ορίζονται από την οδηγία 91/414/EEC της Ευρωπαϊκής Ένωσης, είτε ονομάζονται "βιοκτόνα" βάσει της οδηγίας 98/8/EC.

Η πρώτη περίπτωση ανθεκτικότητας διαπιστώθηκε το 1905 στο San Jose, ενώ έως το 1945 που άρχισε και η εφαρμογή των νέων συνθετικών εντομοκτόνων, είχε διαπιστωθεί ανθεκτικότητα σε 12 περίπου είδη εντόμων και ακάρεων (κυρίως σε αρσενικούχες και κυανιούχες ενώσεις). Σήμερα, περιπτώσεις ανθεκτικότητας έχουν αναφερθεί σε όλες σχεδόν τις ομάδες εντομοκτόνων (κυκλοδιένια, καρβαμιδικά, οργανοφωσφορικά, πυρεθρινοειδή και στο *Bacillus thuringiensis*) μετά από 2 μέχρι 20 έτη εφαρμογής τους.

Τα έντομα υγειονομικής σημασίας ήταν από τα πρώτα στα οποία διαπιστώθηκε η ανθεκτικότητα και δημιούργησε σοβαρά προβλήματα κυρίως με την ανθεκτικότητα της οικιακής μύγας και ορισμένων ειδών κουνουπιών στο οργανοχλωριωμένο εκλεκτικό εντομοκτόνο DDT κατά τη δεκαετία του '50 στη Σουηδία, τη Γερμανία, τις Η.Π.Α. και σε χώρες του τρίτου κόσμου. Ο ρυθμός αύξησης των ειδών είναι υψηλός, συγκεκριμένα από 2 είδη που ήταν το 1946 αυξήθηκε σε 150 το 1980 και 198 το 1990. Από τα 198 αυτά είδη τα 114 είναι είδη κουνουπιών.

Τα στοιχεία αυτά αφορούν είδη στα οποία η ανθεκτικότητα έχει αποδειχθεί πειραματικά, έπειτα από σχετική έρευνα και ως εκ τούτου

θεωρείται βέβαιο ότι στην πραγματικότητα τα είδη που έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα είναι πολύ περισσότερα από τα καταγεγραμμένα.

Ανθεκτικότητα (resistance) ονομάζεται η ικανότητα ορισμένων ατόμων ενός πληθυσμού κάποιου είδους εντόμου, να αντέχει (να επιζεί) σε δόσεις μιας τοξικής ουσίας, οι οποίες είναι θανατηφόρες για την πλειονότητα των ατόμων ενός κανονικού πληθυσμού του ίδιου είδους.

Όταν αναφέρεται ότι ένα είδος έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα σε ένα ή περισσότερα παρασιτοκτόνα ή ομάδες παρασιτοκτόνων, δεν σημαίνει ότι όλοι οι πληθυσμοί του είδους αυτού έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα, αλλά ότι το φαινόμενο έχει διαπιστωθεί τουλάχιστον σε ένα πληθυσμό του είδους, σε κάποια περιοχή της γης. Η ανάπτυξη όμως ανθεκτικότητας σε έναν πληθυσμό, φανερώνει ότι υπάρχουν οι προϋποθέσεις για την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας και σε άλλους πληθυσμούς του ίδιου είδους, γεγονός το οποίο και συμβαίνει κατά κανόνα, όπως αποδεικνύουν σχετικά στοιχεία.

1.3.2. ΔΙΑΠΙΣΤΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Όταν εφαρμόζουμε ένα παρασιτοκτόνο για την καταπολέμηση ενός πληθυσμού κάποιου αρthropόδου, παρατηρούμε ότι η αύξηση της δόσης μέχρι ένα ορισμένο σημείο δεν προκαλεί θνησιμότητα στα άτομα του πληθυσμού. Από το σημείο αυτό και πέρα, κάθε αύξηση της δόσης προκαλεί προοδευτική αύξηση της θνησιμότητας μεταξύ των ατόμων του πληθυσμού έως ότου φτάσει στο επίπεδο του 100%.

Οι οριακές τιμές των δόσεων που προσδιορίζουν το εύρος μέσα στο οποίο εμφανίζεται η τοξική επίδραση συγκεκριμένου παρασιτοκτόνου στα άτομα του πληθυσμού (ανάλογα με τον τρόπο εφαρμογής του), είναι ως ένα σημείο σταθερές για όλους τους πληθυσμούς του είδους. Το εύρος αυτό ονομάζεται επίπεδο ευαισθησίας του είδους στο παρασιτοκτόνο. Βέβαια, παρουσιάζεται κάποια διακύμανση ανάλογα με τη φυλή, την ηλικία των ατόμων, την τροφική τους κατάσταση, τις κλιματολογικές συνθήκες ή και άλλους παράγοντες.

Όταν σε μετρήσεις ευαισθησίας σε κάποιο παρασιτοκτόνο, διαφόρων γενεών ενός αρthropόδου, εμφανίζεται μετατόπιση του επιπέδου ευαισθησίας

σε υψηλότερες δόσεις ή παρατηρείται αλλαγή του εύρους ευαισθησίας, τότε λέμε ότι έχουμε ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο συγκεκριμένο πληθυσμό.

Η ανθεκτικότητα θεωρείται μέτρια όταν η LD₅₀ (η θανατηφόρος δόση για το 50% ενός πληθυσμού) ή η LD₉₅ (η θανατηφόρος δόση για το 95% ενός πληθυσμού) της τοξικής ουσίας για τον ανθεκτικό πληθυσμό είναι 5-10 μεγαλύτερη από εκείνη του ευαίσθητου (μη ανθεκτικού) πληθυσμού ενώ θεωρείται ισχυρή ή μεγάλη όταν η LD₅₀ ή η LD₉₅ είναι μεγαλύτερη 10-100 φορές.

Στην πράξη συνήθως η ανθεκτικότητα γίνεται αντιληπτή όταν το 10% του πληθυσμού είναι πλέον ανθεκτικό και τις περισσότερες φορές εκδηλώνεται με την ανάγκη χρησιμοποίησης όλο και μεγαλύτερων δόσεων, για να πετύχουμε στην καταπολέμηση το ίδιο με πριν αποτέλεσμα.

Οι δυσμενείς επιπτώσεις από την ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε ένα πληθυσμό αρθροπόδων που θέλουμε να καταπολεμήσουμε είναι:

➤ Οι τοξικολογικές επιπτώσεις, δηλαδή η αύξηση των υπολειμμάτων των παρασιτοκτόνων στα γεωργικά προϊόντα και οι κίνδυνοι δηλητηριάσεων ως συνέπεια της αύξησης των δόσεων και του αριθμού των επεμβάσεων για την αντιμετώπιση των εχθρών των καλλιεργειών.

➤ Οι οικολογικές επιπτώσεις, που είναι επακόλουθο της ρύπανσης του περιβάλλοντος με μεγαλύτερα ποσά τοξικών ουσιών καθώς και τον αυξημένο κίνδυνο μείωσης του πληθυσμού των ωφέλιμων ειδών, ως αποτέλεσμα και πάλι της εφαρμογής υψηλότερων δόσεων και περισσότερων επεμβάσεων.

➤ Ανάγκη εξεύρεσης νέων μεθόδων καταπολέμησης οι οποίες συνήθως απαιτούν ειδική εκπαίδευση των ενδιαφερομένων, επιφέρουν αλλαγές στο είδος και τον τύπο των καλλιεργειών ή ακόμη αλλάζουν και τον τύπο της οικονομικής δραστηριότητας (γεωργικής, τουριστικής) μιας περιοχής.

➤ Οικονομικές επιπτώσεις οι οποίες είναι φυσικό επακόλουθο τόσο των υπόλοιπων επιπτώσεων όσο και της ανάγκης για περισσότερη έρευνα για την ανακάλυψη νέων μέσων και μεθόδων καταπολέμησης.

Ενδεικτικά σημειώνουμε ότι, ενώ το 1956 η πιθανότητα ανακάλυψης ενός νέου παρασιτοκτόνου ήταν 1:5000 εξεταζόμενες ουσίες, με κόστος των σχετικών ερευνών 1,2 εκατομμύρια δολάρια, το 1975 τα αντίστοιχα ποσά ήταν 1:15000 και το κόστος 13 εκατομμύρια δολάρια και το 1990 η πιθανότητα

ήταν μικρότερη από 1:25000, απαιτούνται 7 περίπου χρόνια μελετών πριν εμφανιστεί το νέο παρασιτοκτόνο στην αγορά και το συνολικό κόστος πλησιάζει τα 50 εκατομμύρια δολάρια.

Αποτέλεσμα του γεγονότος αυτού είναι οι εταιρείες παραγωγής φυτοπροστατευτικών προϊόντων να διστάζουν πια να επενδύσουν στην ανάπτυξη νέων παρασιτοκτόνων και διαγράφεται έτσι στον ορίζοντα ο κίνδυνος μείωσης του οπλοστασίου μας εναντίον των εχθρών των καλλιεργειών και των αρθροπόδων υγειονομικής σημασίας.

1.3.3. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Για την αντιμετώπιση του προβλήματος της ανθεκτικότητας έχει μεγάλη σημασία η ανίχνευσή της στον πληθυσμό του αρθροπόδου που θέλουμε να καταπολεμήσουμε σε όσο το δυνατό πρώιμο στάδιο. Αυτό έχει μεγάλη αξία για να καταστεί δυνατή η έγκαιρη λήψη των απαραίτητων μέτρων για την αποφυγή της παραπέρα ανάπτυξής της.

Παράλληλα θα πρέπει να είμαστε προσεκτικοί και να μην αποδίδουμε σε ανάπτυξη ανθεκτικότητας κάθε αποτυχία καταπολέμησης ή κάθε έξαρση του πληθυσμού των ανεπιθύμητων αρθροπόδων που μπορεί να συμβεί μετά από μια εφαρμογή παρασιτοκτόνου. Η αποτυχία στην καταπολέμηση μπορεί να οφείλεται σε άσχετους λόγους, όπως σκεύασμα κακής ποιότητας, λανθασμένος υπολογισμός της δόσης, κακή εφαρμογή, κ.λ.π.

Για την αντιμετώπιση αυτής της κατάστασης πρέπει να εξετάσουμε τα μέτρα που μπορούμε ή επιβάλλεται να πάρουμε για να αποφύγουμε, να καθυστερήσουμε ή να αντιμετωπίσουμε την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας³.

³ Για την πρόληψη ή τον περιορισμό φαινομένων ανθεκτικότητας στα νέα μόρια, έχει ιδιαίτερη σημασία η εκτίμηση του κινδύνου ανάπτυξης ανθεκτικότητας πριν τη χορήγηση έγκρισης κυκλοφορίας τους και η επιβολή σχετικών περιορισμών στη χρήση τους, καθώς και η τακτική παρακολούθηση των αγρών (monitoring) για έγκαιρη διάγνωση τυχόν ανθεκτικών πληθυσμών και η άμεση εφαρμογή των κατάλληλων στρατηγικών για την αντιμετώπιση του προβλήματος. Τα μέτρα αυτά προβλέπονται και από την ισχύουσα σήμερα και στη Χώρα μας κοινοτική νομοθεσία (Οδ. 91/414/ΕΟΚ).

1.3.3.1. Μέτρα για την αποφυγή ή καθυστέρηση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας

Τα μέτρα αυτά έχουν σκοπό να διατηρήσουν τα γονίδια ευαισθησίας που υπάρχουν σε ένα πληθυσμό, μέσα σε κάποια όρια που θα επιτρέπουν τη συνέχιση της χρησιμοποίησης χημικών παρασιτοκτόνων της ίδιας ομάδας.

Τέτοια μέτρα είναι:

- Μείωση του αριθμού των επεμβάσεων με χημικά παρασιτοκτόνα.
- Αποφυγή εφαρμογής παρασιτοκτόνων σε μεγάλες εκτάσεις.
- Χρησιμοποίηση παρασιτοκτόνων με μικρή υπολειμματική ενέργεια.
- Οι δόσεις να είναι οι χαμηλότερες δυνατές (οπωσδήποτε κάτω από το LD₁₀₀ του ευαίσθητου πληθυσμού).
- Εναλλαγή παρασιτοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης ή/και χρησιμοποίηση μειγμάτων παρασιτοκτόνων.
- Να προτιμούνται ακμαιοκτόνα σκευάσματα παρά προνυμφοκτόνα.
- Προστασία και ενίσχυση των φυσικών εχθρών.

1.3.3.2. Μέτρα για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας που έχει ήδη αναπτυχθεί

Τα κυριότερα που εφαρμόζονται είναι:

- Χρησιμοποίηση παρασιτοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης.
- Χρησιμοποίηση συνεργιστικών ουσιών για να αυξήσουμε την αποτελεσματικότητα των χρησιμοποιούμενων δραστικών ουσιών.
- Χρησιμοποίηση διαφορετικής μεθόδου καταπολέμησης, εκτός της χημικής, εφόσον βέβαια υπάρχει για το συγκεκριμένο είδος.
- Αν η ανθεκτικότητα είναι ακόμη σε χαμηλά επίπεδα, μπορούμε να εφαρμόσουμε αρκετά υψηλότερες δόσεις παρασιτοκτόνου, ώστε να υπερνικηθούν οι αμυντικοί μηχανισμοί του αρθρόποδου και να θανατωθούν τα "εν δυνάμει" ανθεκτικά άτομα.
- Εφαρμόζοντας πολλαπλή επίθεση με μείγματα ουσιών ή εναλλαγή παρασιτοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης. (γράψε αναφορές – πηγή από όπου πήρες αυτές τις πληροφορίες).

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Τα κουνούπια εκτός από τη μετάδοση ασθενειών είναι δυνατόν να προκαλέσουν σημαντικές οικονομικές απώλειες, εξαιτίας της ενόχληση που προκαλούν, με αποτέλεσμα τη σημαντική υποβάθμιση τουριστικών, αστικών και αγροτικών περιοχών.

Η αλόγιστη χρήση χημικών σκευασμάτων έχει ως αποτέλεσμα τη ρύπανση του περιβάλλοντος αλλά και την καταστροφή ωφέλιμων οργανισμών. Επιπλέον λόγω υψηλής τοξικότητας, σε συνδυασμό με τη μη ασφαλή χρήση τους, μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα στη δημόσια υγεία.

Τα αιθέρια έλαια παρουσιάζουν τα εξής πλεονεκτήματα έναντι των χρησιμοποιούμενων μεθόδων:

- Υψηλή εκλεκτικότητα
- Λόγω της χαμηλής τοξικότητας δεν ρυπαίνουν το περιβάλλον και δεν υπάρχει κίνδυνος υπολειμμάτων
- Εξειδικευμένη δράση και επομένως δεν καταστρέφουν ωφέλιμα είδη
- Περιορισμός της χρήσης εντομοκτόνων και μείωση των επιπτώσεων τους στο περιβάλλον
- Καλύτερη προστασία της δημόσιας υγείας

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης διερευνήθηκε η δυνατότητα εφαρμογής των αιθέριων ελαίων που προέρχονται από είδη του γένους *Thymus* για την αντιμετώπιση του κοινού κουνουπιού (*Culex pipiens* biotype *molestus*). Για το σκοπό αυτό επιλέχθηκε η μελέτη δύο διαφορετικών μεθόδων με απώτερο σκοπό την προστασία των ανθρώπων από τα κουνούπια. Αναλυτικότερα, μελετήθηκε:

1. Η τοξικότητα των αιθερίων ελαίων που παράγουν φυτά του γένους *Thymus* (*Thymus teucrioides* και *Thymus leucospermus*) σε προνύμφες κουνουπιών του είδους *Culex pipiens* biotype *molestus* σε σχέση με την ουσία *p-cymene*, κύριο συστατικό των αιθέριων ελαίων.
2. Η απωθητικότητα των αιθέριων ελαίων που παράγουν τα συγκεκριμένα φυτά έναντι ακμαίων κουνουπιών του είδους *Culex pipiens* biotype *molestus*.

ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1. ΕΚΤΡΟΦΗ

Τα κουνούπια διατηρούνται σε συνθήκες και περιβάλλον που ενδείκνυται για την καλύτερη ανάπτυξή τους. Η θερμοκρασία του χώρου είναι 23 ± 2 °C, η φωτοπερίοδος 17L:7D και η σχετική υγρασία $75\pm 5\%$. Οι συνθήκες αυτές διατηρούνται στα επίπεδα που προαναφέρθηκαν καθ' όλη την διάρκεια του έτους.

Η διαδικασία της εκτροφής ανά στάδιο περιγράφεται συνοπτικά στη συνέχεια.

2.1.1. ΩΑ

Τα ωά των κουνουπιών του είδους *Cx. pipiens* τοποθετούνται σε λεκάνες διαμέτρου 28 cm με λίγη τροφή για να εκκολαφθούν και να εμφανιστούν οι νέες προνύμφες. Η επώαση των ωών διαρκεί 2–3 ημέρες.

2.1.2. ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ

Η εκτροφή των προνυμφών γίνεται σε εμαγιέ λεκάνες διαμέτρου 28 cm και ανοικτού χρώματος για την εύκολη διάκρισή τους (ΕΙΚΟΝΑ 4.1.).



Εικόνα 4.1. Λεκάνες εκτροφής προνυμφών κουνουπιών.

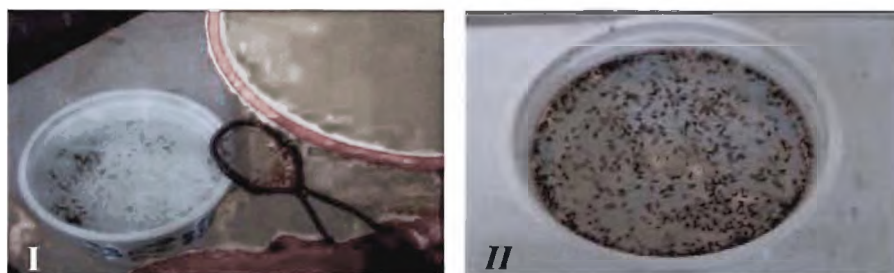
Η τροφή που τους παρέχεται για την σωστή ανάπτυξή τους είναι αποξηραμένο ψωμί και ζύμη ώστε να εξασφαλίζονται οι απαραίτητες

ποσότητες σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και μέταλλα (Bentley, 1989). Η χορήγηση τροφής στις προνύμφες γίνεται κάθε μέρα.

Ο χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωση του προνυμφικού σταδίου κυμαίνεται από 7-10 μέρες, ανάλογα με τις συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας και τη διαθεσιμότητα τροφής.

2.1.3. ΝΥΜΦΕΣ

Όταν ολοκληρωθεί το προνυμφικό στάδιο, οι προνύμφες μεταμορφώνονται σε νύμφες. Οι νύμφες συλλέγονται με ειδικούς συλλέκτες από τις λεκάνες εκτροφής σε πλαστικά κύπελλα διαμέτρου 8 cm (ΕΙΚΟΝΑ 5.2.) και τοποθετούνται στους κλωβούς για το τελικό στάδιο της αλλαγής τους σε τέλεια έντομα, που είναι το πιο σημαντικό και το πιο δύσκολο για όλα τα κουνούπια (ΕΙΚΟΝΑ 5.3.). Η συχνότητα συλλογής νυμφών είναι κάθε δύο ημέρες. Το νυμφικό στάδιο διαρκεί περίπου 3 – 4 ημέρες.



ΕΙΚΟΝΑ 4.2. Συλλογή νυμφών από τη λεκάνη εκτροφής και (II) τοποθέτηση αυτών σε πλαστικό κύπελλο.

2.1.4. ΑΚΜΑΙΑ

Τα ακμαία τρέφονται με διάλυμα νερού και ζάχαρης, το οποίο τοποθετείται μέσα στον κάθε κλωβό σε ένα μικρό γυάλινο δοχείο μαζί με μια κατασκευή σαν φιτίλι από διηθητικό χαρτί και βαμβάκι, για την ευκολότερη λήψη του διαλύματος από τα έντομα (ΕΙΚΟΝΑ 4.3.). Δύο τέτοια διαλύματα είναι τοποθετημένα στον κλωβό και αντικαθιστώνται από καινούρια κάθε 4 μέρες.

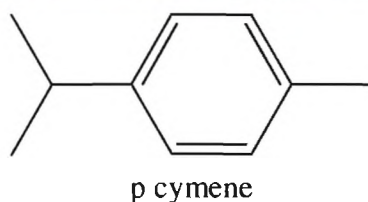
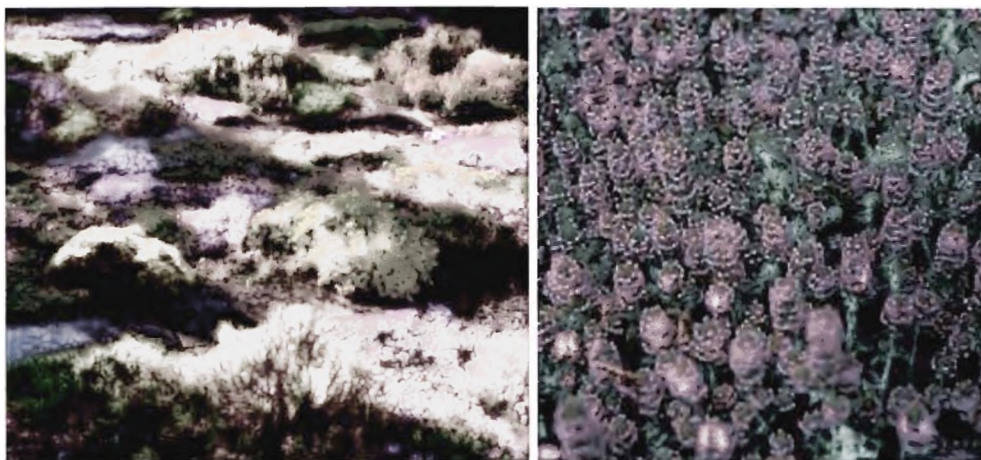


ΕΙΚΟΝΑ 4.3. (I) Κλωβός εκτροφής ακμαίων και τοποθέτησης νυμφών και (II) Διάλυμα νερού και ζάχαρης για την τροφή των ακμαίων μέσα στον κλωβό.

2. 2. ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

Τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη ελήφθησαν από φυτά του γένους *Thymus* (*Thymus teucrioides* και *Thymus leucospermus*) από την κ. Δανάη Πιταροκοίλη (Φαρμακευτική Σχολή Αθηνών). Μετά την παραλαβή τους αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία 4° C έως ότου χρησιμοποιηθούν. Η μεταφορά τους στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο έγινε τη μέρα της βιοδοκιμής με τη βοήθεια πάγου.

Όπως αναφέρθη προηγουμένως το *p-cymene* είναι ένα από τα κυριότερα συστατικά των φυτών του συγκεκριμένου γένους. Στα συγκεκριμένα φυτά η ένωση αυτή βρίσκονταν σε μεγαλύτερο ποσοστό έναντι των υπολοίπων ενώσεων. Για το λόγο αυτό και επιλέχθηκε να αξιολογηθεί στις βιοδοκιμές που σχεδιάστηκαν.



Εικόνα 5.1. Εικόνες από φυτά του γένους *Thymus* και χημική δομή της ένωσης *p*-cymene

2.3. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ

2.3.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ

Οι προνύμφες του είδους *Cx. p. molestus* που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές προέρχονταν από τις εκτροφές που διατηρούνται στο εργαστήριο. Οι βιοδοκιμές έγιναν σε χώρο που θεωρείται κατάλληλος για την εκτέλεση των βιοδοκιμών, αφού είναι απαλλαγμένος από βιοκτόνα, χωρίς ρεύματα αέρα και απότομες αλλαγές θερμοκρασίας ενώ η θέση εκτελέσεως των βιοδοκιμών δεν βρισκόταν κάτω από την άμεση επίδραση των ηλιακών ακτινών. Όλα τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα είχαν πλυθεί δύο φορές και ξεπλυθεί πολύ καλά ώστε να μην υπάρχουν υπολείμματα απορρυπαντικού και στην συνέχεια ξεπλύθηκαν με ακετόνη τουλάχιστον τρεις φορές. Τέλος, πριν από τη χρησιμοποίησή τους τοποθετήθηκαν σε κλίβανο.

Επειδή με τις βιοδοκιμές μελετούμε τη μεταβολή της θνησιμότητας σε σχέση με τη μεταβολή της δόσεως, εφαρμόσαμε μια σειρά δόσεων που να μας

δίνουν θνησιμότητες που κυμαίνονται από 0% έως 100%. Παράλληλα με τις βιοδοκιμές των προνυμφοκτόνων χρησιμοποιήθηκαν και μάρτυρες (99% αποχλωριωμένο νερό βρύσης με 2% DMSO).

Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων έγινε εικοσιτετράωρη καταγραφή της θνησιμότητας (24h). Για κάθε εφαρμογή υπολογίστηκε το ποσοστό θνησιμότητας και με τη βοήθεια στατιστικού πακέτου υπολογίστηκαν οι δείκτες LC_{50} και LC_{90} για τις 24 ώρες. Όπου ο δείκτης LC_{50} και LC_{90} είναι η θανατηφόρα ή αποτελεσματική συγκέντρωση που επιδρά στο 50% και στο 90% αντίστοιχα του πληθυσμού. Όσο μικρότερος είναι ο δείκτης LC_{50} τόσο πιο τοξικό είναι το δείγμα. Τα αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές αναμείχθηκαν με DMSO σε συγκέντρωση 10% βάρος κατ' όγκο (w/v).

Οι βιοδοκιμές βασίστηκαν στη μέθοδο που προτείνει η Παγκόσμια οργάνωση Υγείας (WHO, 1981) που περιγράφεται στο WHO/VBC/81.807 με κάποιες τροποποιήσεις ή παραδοχές.

Σε γυάλινα ποτήρια ζέσεως χωρητικότητας 250 ml περίπου τοποθετούμε 198 ml αποχλωριωμένου νερού και 2 ml DMSO (1% o/o). Σε κάθε ποτήρι τοποθετούμε 20 προνύμφες κουνουπιών, ανεπτυγμένες τρίτου ή νεαρές τέταρτου σταδίου. Στην συνέχεια ρίχνουμε την αντίστοιχη δόση του βιοκτόνου σε ml, όπου για κάθε δόση γίνονται πέντε επαναλήψεις. Μετά από 24 ώρες παίρνουμε τις μετρήσεις της θνησιμότητας των κουνουπιών ώστε να υπολογιστούν οι δείκτες LC_{50} και LC_{90} για τα αιθέρια έλαια.

2.3.2 ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΑΠΩΘΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

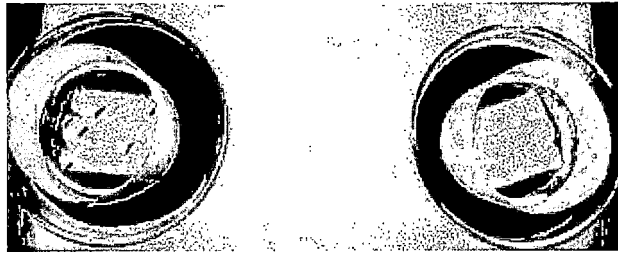
Η βιοδοκιμή απωθητικότητας βασίστηκε στη μέθοδο που περιγράφει ο καθ. Leal (Syed and Leal, 2008: Μέθοδος Sugar-Feeding Behavioral Bioassay).

Η δοκιμή εκτελέστηκε σε κλουβιά διαστάσεων 30X30X30 cm, κατασκευασμένα από αλουμινένιους και πλαστικούς συνδέσμους, καλυμένους με σκούρο πράσινο συρματόπλεγμα (BioQuip). Ένα λευκό φύλλο φελιζόλ (30X30 cm) τοποθετήθηκε στο κάτω μέρος του κλωβού καλύπτοντας ολόκληρη την βάση. Δυο μαύροι χάρτινοι κύκλοι (διαμέτρου 10 cm), χαραγμένοι από ένα χοντρό, τραχύ και μη αντανάκλαστικό μαύρο φύλλο

χαρτιού, ήταν τοποθετημένα πάνω στο φελιζόλ και είχαν απόσταση μεταξύ τους 10 cm. Δυο μεγάλα γυάλινα τρυβλία (100X15 mm) ήταν τοποθετημένα στο πάνω μέρος των μαύρων κύκλων (βλέπε **Εικόνα 6.1**). Μικρότερα γυάλινα τρυβλία (60X115 mm) ήταν γεμισμένα με τρία ρολά διηθητικού χαρτιού με υδρόφιλο βαμβάκι εμποτισμένα με 8 ml διαλύματος σακχαρόζης 10% συγκέντρωσης και τοποθετήθηκαν εντός των μεγαλύτερων τρυβλίων. Η υπό εξέταση ένωση ή το αιθέριο έλαιο τοποθετούνταν σε χάρτινους κυλίνδρους (διαμέτρου 6,1 cm, ύψους 4,5 cm) φτιαγμένους από χαρτί χρωματογραφίας Whatman που τοποθετούνταν γύρω από τα μικρότερα τρυβλία. Αναλυτικότερα, 200 μl διαλύματος της υπό εξέτασης ουσίας, συγκέντρωσης 100 μg/μl σε δίχλωρομεθάνιο (DCM), τοποθετούνταν στην πάνω περίμετρο (ύψους 10mm) του διηθητικού χαρτιού δημιουργώντας με τον τρόπο αυτό έναν δακτύλιο από την εμποτισμένη ουσία δόσης περίπου 1mg/cm². Η δόση αυτή είναι όμοια με εκείνη που συνήθως χρησιμοποιείτε για δοκιμές αποτελεσματικότητας των απωθητικών σκευασμάτων.

Πριν την τοποθέτηση των εμποτισμένων κυλίνδρων αφήνονταν να εξατμιστεί ο διαλύτης και μετά χρησιμοποιούνταν στην πειραματική διαδικασία. Κάθε εμποτισμένος κύλινδρος μεταφέρονταν με ξεχωριστά ζευγάρια χειρουργικής λαβίδας, για να αποφευχθεί η έμμεση μόλυνση. Οι δοκιμές (διαλύτης εναντίον διαλύτη, ή διαλύτης εναντίον της υπό εξέταση ουσίας) διεξήχθησαν μεταξύ 6.30-8.30 μμ. Πενήντα με ογδόντα ενήλικα κουνούπια, ηλικίας 5 έως 15 ημερών, χρησιμοποιήθηκαν ανά δοκιμή. Τρεις ημέρες πριν τις δοκιμές αφαιρέθηκε το η τροφή από τα ενήλικα κουνούπια (διάλυμα σακχαρόζης 10%). Οι παρατηρήσεις ξεκίνησαν σχεδόν αμέσως μετά την τοποθέτηση των τρυβλίων εντός του κλωβού και ο συνολικός αριθμός ενηλίκων που προσγειώθηκαν στην πηγή ζάχαρης, μετρήθηκαν για συνολικό

χρόνο δέκα λεπτών. Κατά την διάρκεια των παρατηρήσεων της συμπεριφοράς διακρίναμε ότι σχεδόν όλα τα κουνούπια τράφηκαν αν και ένας μικρός αριθμός (2%) πέταξε πριν τον κορεσμό. Έτσι, ο συνολικός αριθμός των κουνουπιών που προσγειώθηκαν μπορεί να συμπεριλαμβάνει και ένα μικρό ποσοστό ενηλίκων που τελικά επέστρεψε για περαιτέρω τροφή.



**Εικόνα 6.1. Πειραματική διάταξη για τη μελέτη αποθητικότητας
διαφόρων ουσιών**

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ

Στο εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο σχεδιάσθηκαν και εκτελέστηκαν μια σειρά πειραμάτων με σκοπό την αξιολόγηση των αποσταγμένων μας αιθέριων ελαίων από τα διάφορα είδη του γένους *Thymus* ως προνυμφοκτόνα κουνουπιών. Για το σκοπό, αυτό επιλέχθηκαν διάφορες αναλογίες προκειμένου να επιβεβαιωθεί η υπόθεση αυτή. Προκειμένου να καθοριστεί η τοξικότητα των αιθερίων ελαίων που παράγουν φυτά του γένους *Thymus*, πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές όπως περιγράφεται στην παράγραφο 5.2. και υπολογίστηκαν οι δείκτες LC₅₀ και LC₉₀ (βλέπε παράγραφο 5.1). Τα αποτελέσματα του πειράματος παρουσιάζονται στον Πίνακα 1.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Τιμές LC₅₀ και LC₉₀ των αιθέριων ελαίων φυτών του είδους *Thymus leucospermus*, *Thymus teucrioides* και της ένωσης *p-cymene* ως βιοκτόνων για τα κουνούπια του γένους *Cx. p. molestus*. Ελήφθη υπόψη η ολική θνησιμότητα 24 ώρες μετά την εφαρμογή των ουσιών .

Αιθέρια έλαια/ενώσεις	LC ₅₀ (95% c.I.) ^a	LC ₉₀ (95% c.I.) ^a	Slope (±SE)
<i>Thymus leucospermus</i>	34.26 (31.35-37.39)	69.19 (60.99-81.48)	4.19±0.35
<i>Thymus teucrioides</i>	23.17 (19.28-26.96)	53.71 (43.69-75.38)	3.51±0.38 ^b
<i>p-cymene</i>	18,45 (16.88-19,81)	28.53 (26.12-32.47)	6.76±0.64 ^b

^a LC τιμές εκφράζονται σε mg/L και θεωρούνται σημαντικά διαφορετικές όταν για το 95% δεν υπάρχει αλληλοεπικάλυψη.

^b Από την στιγμή που η καλή προσαρμογή των δοκιμών είναι σημαντική (P<0.15), ένας ετερογενής παράγοντας χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των ορίων εμπιστοσύνης (c.I.)

Από τα αποτελέσματα φαίνεται ότι μεταξύ των δύο αιθέριων ελαίων του γένους *Thymus* το αιθέριο έλαιο που προέρχεται από φυτό του είδους *T. teucrioides* εμφανίζει στατιστικά σημαντικά μεγαλύτερη τοξική δράση (με την τιμή LC₅₀ να κυμαίνεται από 19.28 έως 26.96% και την τιμή LC₉₀ από 43.69 έως 75.38%) έναντι του είδους *T. leucospermus* (με την τιμή LC₅₀ να κυμαίνεται από 31.35- έως 37.39% και την τιμή LC₉₀ από 60.99 έως 81.48%). Η

τοξικότητα της ένωσης *p*-cymene είναι πολύ μεγαλύτερη (με την τιμή LC₅₀ να κυμαίνεται από 16.88 έως 19,81% και την τιμή LC₉₀ από 26.12 έως 32.47%) από τα αιθέρια έλαια των ειδών *T. teucroides* και *T. leucospermus* στα οποία απαντάται. Ωστόσο δεν διαφέρει στατιστικά με την τοξικότητα που παρουσιάζουν αιθέρια ελαία του είδους *T. teucroides*.

3.2. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΑΠΩΘΗΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

Για την αξιολόγηση των αποσταγμένων αιθέριων ελαίων από τα φυτά *T. teucroides* και *T. leucospermus* και της ένωσης *p*-cymene ως προς την απωθητικότητά τους σε ακμαία κουνουπιών του είδους *Cx. p. molestus* πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.3.2. Για την καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων απωθητικότητας χρειάστηκε να χρησιμοποιήσουμε ως θετικό μάρτυρα δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται ευρέως στο εμπόριο στα διάφορα σκευάσματα απωθητικότητας. Οι ενώσεις αυτές μας παραχωρήθηκαν σε καθαρή μορφή (analytical standards) από την εταιρεία Bayer CropScience. Οι ενώσεις αυτές είναι οι N,N-diethyl-m-toluamide (Deet) και Picaridin (Icaridin).

Τα αποτελέσματα τόσο για τους θετικούς μάρτυρες (standard for comparison) όσο και για τις υπό εξέταση ουσίες (testing material) συγκεντρώνονται στον Πίνακα 2 καθώς και στο Διάγραμμα 1.

Η απωθητικότητα για κάθε ουσία υπολογίστηκε με βάση τον παρακάτω τύπο:

Ποσοστό Απωθητικότητας (Percent repellency, ER percentage)

$$ER(\%) = [(N_c - N_t) / (N_c + N_t)] * 100 (\%)$$

όπου ER = Ποσοστό Απωθητικότητας

N_c = ο αριθμός των ακμαίων που προσγειώθηκαν στο τρυβλίο-μάρτυρα

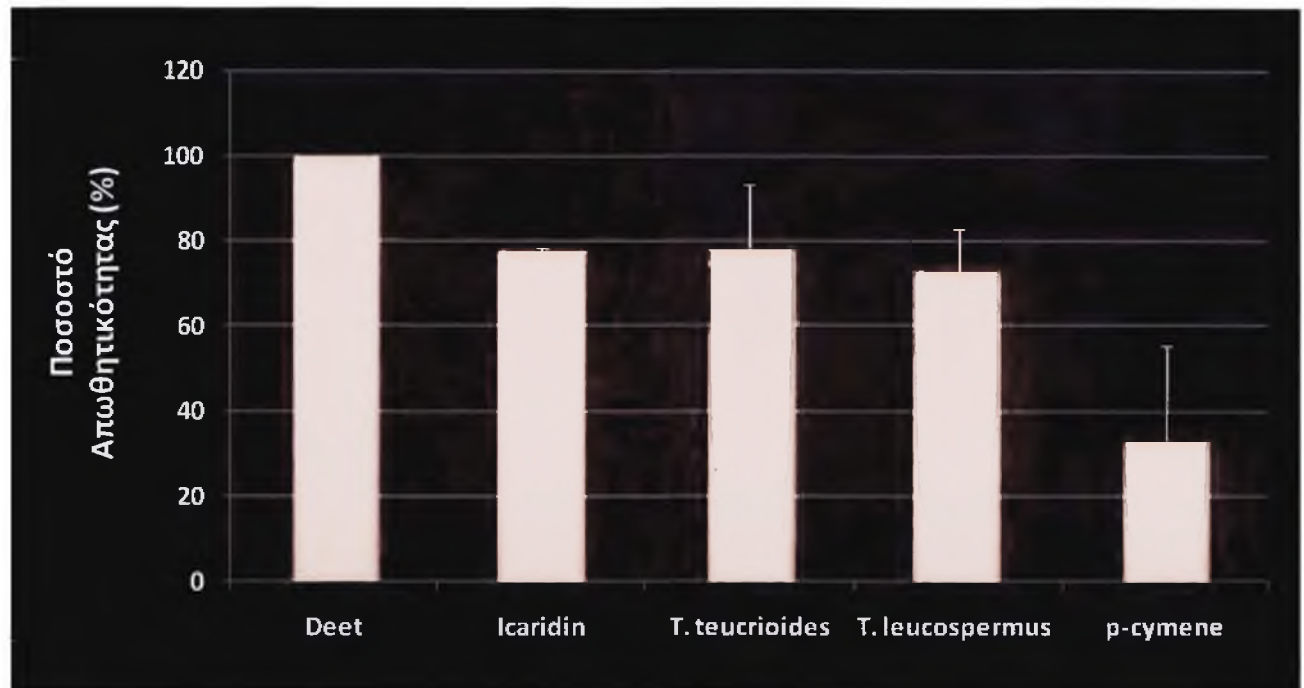
και

Nt = ο αριθμός των ακμαίων που προσγειώθηκαν στο τρυβλίο με την
υπό εξέταση ουσία

**Πίνακας 2. Απωθητική δράση των υπό εξέταση ουσιών έναντι ακμαίων
κουνουπιών *Cx. p. biotype molestus*.**

Ένωση/αιθέριο έλαιο	Δόση (mg/cm ²)	Ποσοστό Απωθητικότητας (%) ^a (mean±SE)
Deet	1	100±0 ^a
Icaridin	1	77.8±0.85 ^b
<i>Thymus leucospermus</i>	1	78.06±15.4 ^b
<i>Thymus teucrioides</i>	1	72.9±10.06 ^b
<i>p</i> -cymene	1	33.02±22.65 ^c

^a Διαφορετικά γράμματα στις ανωτέρω μέσες τιμές για κάθε στήλη δείχνουν σημαντικές
διαφορές μεταξύ των επεμβάσεων του πειράματος (Mann–Whitney U-test: P = 0.05)



Διάγραμμα 1. Σχηματική απεικόνιση της απωθητικής δράσης των υπό εξέταση
ουσιών έναντι ακμαίων κουνουπιών *Cx. p. biotype molestus*.

Από τα αποτελέσματα γίνεται αντιληπτό ότι τα αιθέρια έλαια των φυτών
T. teucrioides και *T. leucospermus* παρουσίασαν στατιστικά σημαντικά
χαμηλότερη απωθητική δράση συγκριτικά με την δραστική ουσία Deet.

Συγκρίνοντας όμως τα υπό εξέταση αιθέρια έλαια με την άλλη δραστική ένωση Icaridin, παρατηρούμε ότι εμφανίζουν παρόμοια αποθητική δράση. Τέλος η ένωση *p*-cymene παρουσίασε την μικρότερη αποθητική δράση, συγκριτικά με τις υπό εξέταση ουσίες.

ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στο παρελθόν, εκχυλίσματα φυτών έχουν προσφέρει πολλές ευεργετικές εφαρμογές που κυμαίνονται από φαρμακευτικά προϊόντα έως και εντομοκτόνα. Οτι πιο πολλά υποσχόμενες βοτανικές οικογένειες θεωρούνται οι *Meliaceae*, *Rutaceae*, *Asteraceae*, *Annonaceae*, *Labiatae*, *Aristolochiaceae* και *Malvaceae* (Regnault-Roger 1997). Μερικές από αυτές τις ομάδες χαρακτηρίζονται ως αρωματικά φυτά. Σε μια από τις πρώτες εργασίες σχετικά με τη χρήση φυτικών εκχυλισμάτων ενάντια σε προνύμφες κουνουπιών (Campbell et.al, 1933) διαπιστώθηκε ότι φυτικά αλκαλοειδή όπως η νικοτίνη, anabesine, methylanabesine και lupinine, που προέρχονται από το ρώσικο ζιζάνιο *Anabasis aphylla*, θανάτωσαν προνύμφες των *Culex pipiens*, *Culex territans* και *Culex quinquefasciatus*. Σε μια ακόλουθη μελέτη, παρατηρήθηκε ότι τα εκχυλίσματα από φρούτα του *Phellodendron amurense* προκάλεσαν προνυμφοκτόνα αποτελέσματα σε κουνούπια (Haller, 1940). Σε πιο πρόσφατες εργασίες αναφέρεται ότι εκχυλίσματα μεθανόλης από σπόρους διαφόρων φυτικών (*Abrus precatorius*, *Solanum suratense*, *Solanum trilobatum*, *Calophyllum inophyllum*) παρουσίασαν σημαντική προνυμφοκτόνα δράση αλλά επίσης επέδρασαν στην ανάπτυξη ρυθμιστικών δραστηριοτήτων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις (Pushpalatha και Muthukrishnan 1999, Muthukrishnan et al. 1997). Επίσης κλάσματα οξικού αιθυλεστέρα από σπόρους και φύλλα *C. inophyllum* επέδρασαν στην γονιμότητα των τριών ειδών κουνουπιών *Aedes aegypti*, *Anopheles stephensi* και *C. quinquefasciatus* (Muthukrishnan και Pushpalatha 2001).

Στα πλαίσια της παρούσας μελέτης διερευνήθηκε η δυνατότητα εφαρμογής των αιθέριων ελαίων που προέρχονται από είδη του γένους *Thymus* για την αντιμετώπιση του κοινού κουνουπιού *Culex pipiens* biotype *molestus*. Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας, μας έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια που προέρχονται και από τα δύο είδη του γένους *Thymus* που μελετήθηκαν παρουσίασαν ικανοποιητική προνυμφοκτόνο δράση, ωστόσο ήταν και στις δύο περιπτώσεις χαμηλότερη συγκριτικά με την δράση του δρώντος συστατικού *p*-κυμένιο (*p*-cymene). Η φυσική αρωματική οργανική ένωση *p*-cymene έχει αναφερθεί ότι αποτελεί συστατικό ορισμένων αιθέριων ελαίων. Μεταξύ των δύο αιθερίων ελαίων που εξετάστηκαν, τα αιθέρια έλαια του είδους *Thymus teucrioides* ήταν πιο δραστικά καθώς παρουσίασαν μικρότερη LC50 (μέση θανατηφόρο συγκέντρωση) σε σχέση με το είδος *Thymus leucospermus*. Το γεγονός αυτό πιθανότατα οφείλεται στη διαφορετική χημική σύσταση που εμφανίζουν τα δύο αιθέρια έλαια. Η κυριότερη διαφορά τους στη σύστασή τους είναι ότι το *teucrioides* περιέχει

μεγαλύτερη ποσότητα στην ένωση *p-cymene*. Συνεπώς φαίνεται ότι φυτά ίδιου γένους εμφανίζουν διαφορετική χημική σύσταση ακόμα και στα ποσοστά των κυρίων συστατικών τους (πχ *p-cymene*). Ωστόσο πιθανόν η διαφορετική τοξικότητα έναντι προνυμφών κουνουπιού μεταξύ φυτών του ίδιου γένους, να οφείλεται και άλλους παράγοντες, που δεν διερευνήθηκαν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

Οι Corbet et al. (2000) πρότειναν ότι συμβατικά προνυμφοκτόνα επηρεάζουν τις προνύμφες κουνουπιών με ένα ή και περισσότερους μηχανισμούς: λόγω φυσικής απόφραξης της τραχείας, λόγω τοξικότητας, ειδικά στην περίπτωση πτητικών συστατικών αλλά και λόγω αλληλεπίδρασης με την επιφάνεια των προνυμφών (interference with surface forces). Στα προνυμφοκτόνα περιλαμβάνονται επίσης βιοεντομοκτόνα όπως οι *Bacillus thuringiensis* και *Bacillus sphaericus*, ο αναστολέας ανάπτυξης εντόμων Methoprene και το οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο temephos. Ορυκτέλαια και άλλα υλικά σχηματίζουν μια λεπτή μεμβράνη στην επιφάνεια του νερού, προκαλεί πνιγμό τόσο σε προνύμφες όσο και σε πούπες κουνουπιών. Επειδή τα κουνούπια χρειάζονται υδάτινο περιβάλλον για να αναπαραχθούν, οι μέθοδοι πρόληψης μπορεί να περιλαμβάνουν τον έλεγχο της στάθμης του νερού σε λίμνες, έλη, τάφρους ή άλλους χώρους αναπαραγωγής των κουνουπιών, για την εξάλειψη εστιών αναπαραγωγής (eliminating small breeding sites).

Η εφαρμογή προνυμφοκτόνων περιλαμβάνει την χρήση χημικών σε υδροβιότοπους (habitat) με σκοπό την εξάλειψη κουνουπιών πριν την ενηλικίωση (pre-adult mosquitoes). Η χρήση προνυμφοκτόνων μπορεί να μειώσει την συνολική χρήση των φυτοφαρμάκων σε ένα πρόγραμμα αντιμετώπισης (control programme) με τη μείωση ή την εξάλειψη της ανάγκης για ψεκασμούς με χημικά από εδάφους ή αεροψεκασμούς για την αντιμετώπιση των ενηλίκων κουνουπιών. Η εφαρμογή εύκολα αποικοδομήσιμων φυτικών ενώσεων θεωρείται ως μία από τις ασφαλέστερες μεθόδους ελέγχου των επιβλαβών εντόμων και των φορέων (Alkofahi et al. 1989). Ορισμένα αιθέρια έλαια και τα συστατικά τους παρουσιάζουν τόσο προνυμφοκτόνα, όσο και απωθητική δράση. Εκχύλισμα *Ocimum basilicum* έχει παρουσιάσει προνυμφοκτόνα δράση ενώ πτητικά έλαια συμπεριλαμβανομένων καμφοράς, κινεόλης, ευγενόλης, λιμονένιο, και θυμόλης δρούν απωθητικά ενάντια σε κουνούπια (Chokechajaroenporn et al., 1994).

Στα πλαίσια της παρούσας εκτός από την προνυμφοκτόνο δράση αιθερίων ελαίων από φυτά του γένους *Thymus* μελετήθηκε η απωθητικότητά τους έναντι ακμαίων κουνουπιών του είδους *Culex pipiens* biotype *molestus*, συγκριτικά με δραστικές ουσίες σκευασμάτων που κυκλοφορούν στο εμπόριο.

Από τα αποτελέσματα γίνεται αντιληπτό ότι τα υπό εξέταση αιθέρια έλαια δεν έδειξαν την ίδια αποτελεσματική δράση με τη δραστική ουσία εμπορικού σκευάσματος Deet. Συγκρίνοντας τα όμως με τα αποτελέσματα της δραστικής ουσίας εμπορικού σκευάσματος Icaridin, παρατηρούμε ότι εμφανίζουν παρόμοια δράση. Το γεγονός αυτό μας δείχνει ότι αν και δεν είχαν 100% απωθητική δράση μπορούν εν δυνάμει να χρησιμοποιηθούν ως απωθητικά και να προστατεύσουν τον άνθρωπο από τσιμπήματα κουνουπιών. Τέλος η ένωση *p-cymene* δεν έδειξε καμία σημαντική απωθητική δράση.

Τα αποτελέσματα που ελήφθησαν, αν και ενθαρρυντικά, αφορούν σε προκαταρκτικές μελέτες και πιο συγκεκριμένα σε εργαστηριακά πειράματα. Χρειάζεται να γίνουν περαιτέρω μελέτες, προκειμένου να διαπιστώσουμε αν μπορεί να γίνει εφικτή η χρήση τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Διεθνής βιβλιογραφία

- Alkofahi A, Rupperecht JK, Anderson JE, Mclaughlin JL, Mikolajczak KL, Scott BA (1989) Search for new pesticides from higher plants. In: Arnason JT, Philogene PJR, Morand P (eds) Insecticides of plant origin. American Chemical Society, Washington, DC, pp 25–43
- Amer, A. and Mehlhorn, H. 2006. Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae) *Parasitology Research*. 99: 466–472.
- Amer, A. and Mehlhorn, H. 2006. Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitology Research*. 99: 478–490.
- Becker, N.; Petric, D.; Zgomba, M.; Boase, C.; Dahl, C.; Lane, J.; Kaiser, A. *Mosquitoes and their control*; Kluwer Academic/Plenum Publishers: New York, 2003.
- Bentley, M.D., and Day, J.F. 1989. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Annu. Rev. Entomol.* 34:401–421.
- Campbell FL, Sullivan WW, Smith LN (1933) The relative toxicity of nicotine, anabasine, methyl anabasine and lupinine for culicine mosquito larvae. *J Econ Entomol* 26:500–509.
- Chokechaijaroenporn O, Bunyapraphatsara N, Kongchensin S (1994) Mosquito repellent activities of *Ocimum* volatile oils. *Phytomedicine* 1:135–139
- Corbet SA, Tiley C, Moorhouse T, Giam C, Pursglove S, Raby J, Rich M (2000) Surface films as mosquito larvicides: partitioning the mode of action. *Entomol Exp Appl* 94:295–307.
- Dauphin, G.; Zientara, S.; Zeller, H.; Murgue, B. 2004. West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis.* 27: 343–355.
- Haller HL (1940) Insecticidal properties of the fruit of *Phellodendron* spp. *J Econ Entomol* 33:941–947.

- Muthukrishnan J, Pushpalatha E (2001) Effects of plant extracts on fecundity and fertility of mosquitoes. *J Appl Entomol* 125:31–35
- Muthukrishnan J, Pushpalatha E, Kasthuribai A (1997) Biological effects of four plant extracts on *Culex quinquefasciatus* Say larval stages. *Insect Sci Appl* 17:389–394
- Pushpalatha E, Muthukrishnan J (1999) Efficacy of two tropical plant extracts for the control of mosquitoes. *J Appl Entomol*, 123:369–373.
- Regnault-Roger C (1997) The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integr Pest Manag Rev* 2:25–34.
- Syed, Z. and Leal W. S. 2008. Mosquitoes smell and avoid the insect repellent DEET. *PNAS*. 105:13598–13603.
- WHO. *Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides*. Vol. WHO/VBC/81.807; World Health Organization: Geneva, 1981.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Βογιατζόγλου-Σαμανιδου, Α.; Πατσούλα, Ε.; Σπανάκος, Γ.; Βακάλης, Ν. *Εισαγόμενα είδη κουνουπιών (Diptera: Culicidae) στην Ελλάδα. Δονητικές επιπτώσεις στη Δημόσια Υγεία. 11ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο*. Καρδίτσα 11-14 Οκτωβρίου 2005.
- Εμμανουήλ, Ν.Γ. 1999. *Δίπτερα υγειονομικής σημασίας. Αναγνώριση, βιολογία, οικονομική σημασία, αντιμετώπιση*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. 91 σελ.
- Μιχαηλάκης, Α. 2006. *Σύνθεση και χαρακτηρισμός βιοδραστικών φυσικών προϊόντων με εφαρμογή στη γεωργία*. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- 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.

- Χανιώτης, Ν.Β. 2001. *Αρθρόποδα και δημόσια υγεία. Λοιμώξεις, αλλεργίες, εξωπαρασιτισμός*; Εκδόσεις Zymel: Αθήνα

Internet

- <http://aromaticplantkilkis.blogspot.com/2010/03/lamiaceae-thymus-vulgaris.html>
- <http://el.wikipedia.org/wiki/%CE%98%CF%85%CE%BC%CE%AC%CF%81%CE%B9>