



ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ

Συμβολή στη μελέτη της παρουσίας, εξάπλωσης, βιολογίας
και καταπολέμησης, του *Aedes cretinus* Edws.
και άλλων ανθρωπόφιλων Culicidae,
στο Νομό Αττικής

Γεώργιος Θ. Κολιόπουλος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Αθήνα 2011

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ**

ΓΕΩΡΓΙΟΣ Θ. ΚΟΛΙΟΠΟΥΛΟΣ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Συμβολή στη μελέτη
της παρουσίας, εξάπλωσης, βιολογίας και καταπολέμησης,
του *Aedes cretinus* Edws. και άλλων ανθρωπόφιλων Culicidae,
στο Νομό Αττικής

Συμβουλευτική Επιτροπή:

Νικόλαος Εμμανουήλ, Επιβλέπων Καθηγητής

Κωνσταντίνος Μπουχέλος, Καθηγητής

Ματθίλδη Σαββοπούλου-Σουλτάνη, Καθηγήτρια

Εξεταστική Επιτροπή:

Δημήτριος Κωβαίος, Καθηγητής

Γεώργιος Παπαδούλης, Επίκ. Καθηγητής

Γεώργιος Μπρούφας, Επίκ. Καθηγητής

Νικόλαος Κουλούσης, Επίκ. Καθηγητής

στην Έλλη και τον Σπύρο

«Η έγκριση της διδακτορικής διατριβής από το Γενικό Τμήμα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλώνει αποδοχή των γνωμών του συγγραφέα»

Νόμος 5343/1932, άρθρο 202 §2

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή είναι αποτέλεσμα μακράς και δύσκολης προσπάθειας η οποία όμως δεν θα μπορούσε να πραγματοποιηθεί χωρίς τη συνδρομή και υποστήριξη πολλών ανθρώπων στους οποίους νιώθω την ανάγκη να εκφράσω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη.

Πρωτίστως θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα Καθηγητή μου, Νικόλαο Εμμανουήλ, Καθηγητή στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας, του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών γιατί από την πρώτη στιγμή στήριξε την επιθυμία μου για εκπόνηση διατριβής στο συγκεκριμένο επιστημονικό πεδίο ενώ με τις γνώσεις και την εμπειρία που διαθέτει μου ανέθεσε κατάλληλο θέμα διατριβής ώστε τα αποτελέσματα να έχουν υψηλή επιστημονική αξία αλλά και να είναι ζωτικού ενδιαφέροντος για την επιστημονική κοινότητα της χώρας μας. Παράλληλα μου παρείχε πολύτιμη καθοδήγηση στον σχεδιασμό των μελετών και τη διεξαγωγή των πειραμάτων, ουσιαστικές συμβουλές σε επιστημονικά και μη θέματα, αμέριστη συμπαράσταση και προθυμία να με υποστηρίξει στις δυσκολίες που κατά περιόδους αντιμετώπιζα.

Επίσης, οφείλω να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής της παρούσας διατριβής, τον Καθηγητή Κωνσταντίνο Μπουχέλο του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και την Καθηγήτρια Ματθίλδη Σαββοπούλου–Σουλτάνη του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, για τις παρατηρήσεις τους και τις εποικοδομητικές συμβουλές τους οι οποίες συνετέλεσαν καθοριστικά στη βελτίωση της ποιότητας της διατριβής.

Θερμές ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στα υπόλοιπα μέλη της επταμελούς εξεταστικής επιτροπής, τον Καθηγητή Δημήτριο Κωβαίο του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, τον Επίκουρο Καθηγητή Γεώργιο Παπαδούλη του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, τον Επίκουρο Καθηγητή Γεώργιο Μπρούφα του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης και τον Επίκουρο Καθηγητή Νικόλαο Κουλούση του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης την υπομονή που επέδειξαν και την κατανόηση για τα περιορισμένα χρονικά περιθώρια καθώς και για τις πολύτιμες υποδείξεις τους.

Ευγνωμοσύνη οφείλω και στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, στο οποίο εργάζομαι διότι μέσω της Διοικητικής του Επιτροπής μου έδωσε τη δυνατότητα να πραγματοποιήσω το έργο αυτό και μου παρείχε τα μέσα και τον εργαστηριακό εξοπλισμό που χωρίς αυτά θα ήταν αδύνατη η πραγματοποίηση οποιαδήποτε σχετικής μελέτης. Σε συνέχεια αυτών, ευχαριστώ και όλους τους μέχρι τώρα προϊσταμένους μου για την υποστήριξη και τη βοήθεια που μου παρείχαν όποτε τη χρειάστηκα.

Θερμές ευχαριστίες ανήκουν και σε όλους τους συναδέλφους, συνεργάτες και προπαντός καλούς μου φίλους από το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο και ιδιαιτέρως στους Ιωάννη Στάθη, Αθανάσιο Ζούνο, Αντώνη Μιχαηλάκη, Ηλία Κιούλο και Αθανάσιο Γιατρόπουλο για την πολύτιμη βοήθειά τους σε επιστημονικά και πρακτικά θέματα καθώς και για το ευχάριστο και αποδοτικό κλίμα εργασίας που διαμόρφωσαν. Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον Δρ. Αντώνη Μιχαηλάκη, γιατί εκτός των παραπάνω συνέβαλλε σημαντικά στην πραγματοποίηση της μελέτης των αιθέριων ελαίων τόσο με τις ειδικές

γνώσεις του στην χημεία όσο και με την εξασφάλιση των απαραίτητων ποσοτήτων αιθέριων ελαίων για τις βιοδοκιμές.

Ευχαριστώ επίσης τον Δρ. Βύρων Χανιώτη και την αείμνηστη Δρ. Άννα Σαμανίδου για τις εξειδικευμένες γνώσεις που μου μετέδωσαν στις κατά περιόδους συνεργασίες μας και την σημαντικότατη βοήθειά τους όποτε τη χρειάστηκα, ενώ φυσικά ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω και στους Dr Yvonne Linton και Dr Ralph Harbach, από το National History Museum, του Λονδίνου που μου έδωσαν τη δυνατότητα και τη χρηματοδότηση να πραγματοποιήσω μέρος της διατριβής μου στα ειδικά εξοπλισμένα εργαστήρια του National History Museum και να αποκομίσω σημαντικά οφέλη από τις εξειδικευμένες γνώσεις που μου παρείχαν.

Παράλληλα με όλους τους παραπάνω θα ήθελα να εκφράσω ειλικρινείς ευχαριστίες και στους προσωπικούς μου φίλους και συγγενείς που αν και δεν σχετίζονται άμεσα με το επιστημονικό πεδίο της απασχόλησής μου συνέβαλαν και αυτοί με τον τρόπο τους προσφέροντάς μου την ειλικρινή και αμέριστη συμπαράστασή τους. Ιδιαίτερα, θέλω να ευχαριστήσω θερμά τους γονείς μου και τα αδέλφια μου, για την ανιδιοτελή αγάπη τους αλλά και την ηθική στήριξη και την πρακτική βοήθεια που μου παρείχαν ποικιλοτρόπως όλα αυτά τα χρόνια.

Τέλος, ίσως το μεγαλύτερο ευχαριστώ ανήκει στη σύντροφο της ζωής μου Αναστασία Βενιεράκη, η οποία μου παρείχε την απαιτούμενη γαλήνη και ασφάλεια, μου συμπαραστάθηκε σε αναρίθμητες περιπτώσεις, με βοήθησε σε πολλά πρακτικά θέματα και με εμψύχωνε σε όλες τις δύσκολες στιγμές. Χωρίς τη βοήθειά της δεν θα ήταν δυνατή η ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής. Παράλληλα μου χάρισε μια υπέροχη οικογένεια και δύο καταπληκτικά παιδιά τα οποία αποτέλεσαν και τη «δύναμή μου» για τα τελευταία τουλάχιστον χρόνια και στα οποία αφιερώνω το παρόν πόνημα.

Σας ευχαριστώ όλους από τα βάθη της καρδιάς μου.

Γεώργιος Θ. Κολιόπουλος

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards (Diptera: Culicidae) είναι ένα είδος κουνουπιού που περιγράφηκε για πρώτη φορά το 1921, από δείγματα προερχόμενα από την Κρήτη αλλά μέχρι πρόσφατα ελάχιστα στοιχεία ήταν γνωστά για την εξάπλωση και τη βιολογία του. Ο εντοπισμός του είδους αυτού για πρώτη φορά στην ηπειρωτική Ελλάδα και συγκεκριμένα στην Αττική το 1997, οδήγησε στην εκτενέστερη μελέτη της παρουσίας και εξάπλωσης του συγκεκριμένου είδους αλλά και την καταγραφή της πανίδας των Culicidae στο Ν. Αττικής.

Η παρουσία, η εξάπλωση και η εποχιακή εμφάνιση των πληθυσμών του *Ae. cretinus* πραγματοποιήθηκε με την εγκατάσταση και παρακολούθηση 75 παγίδων ωοθεσίας, σε αντιπροσωπευτικές περιοχές του Ν. Αττικής. Η παρουσία ωών κουνουπιών στις παγίδες αυτές καταγράφονταν σε εβδομαδιαία βάση για 3 συνεχή έτη (2000-2002). Το μόνο είδος του γένους *Aedes (Stegomyia)* που εντοπίστηκε στην Αττική την συγκεκριμένη χρονική περίοδο ήταν το *Ae. cretinus*, με σημαντικούς πληθυσμούς σε όλες τις γεωγραφικές ζώνες του Νομού. Η περίοδος που δραστηριοποιείται το συγκεκριμένο είδος είναι από τα μέσα της άνοιξης έως το τέλος του Οκτωβρίου ενώ σύμφωνα με τις εναποθέσεις ωών που καταγράφηκαν οι πληθυσμοί του είναι υψηλότεροι κατά το καλοκαίρι και στην αρχή του φθινοπώρου.

Παράλληλα, το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα, διενεργήθηκαν δειγματοληψίες προνυμφών κουνουπιών από πιθανές εστίες ανάπτυξής τους καθώς και συλλήψεις ακμαίων κουνουπιών από σημεία ανάπτυσής τους ή με τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα». Από τις δειγματοληψίες αυτές εντοπίστηκαν 18 είδη κουνουπιών από 6 διαφορετικά γένη, ορισμένα από τα οποία παρουσιάζουν ιδιαίτερη υγειονομική σημασία καθώς είναι δυνητικοί φορείς σοβαρών ασθενειών όπως η ελονοσία και ο ιός του Δυτικού Νείλου.

Καθώς ελάχιστα είναι γνωστά σχετικά με τη βιολογία του *Ae. cretinus*, ορισμένα από τα βασικά στοιχεία βιολογίας του είδους αυτού μελετήθηκαν σε συνθήκες εργαστηρίου. Αυτά είναι το αναπαραγωγικό δυναμικό του με βάση των αριθμών των ωών που μπορεί να ωοτοκήσει κάθε θηλυκό, η θητησιμότητα που παρατηρείται σε κάθε βιολογικό στάδιο ανάπτυξης, η χρονική διάρκεια του κάθε σταδίου καθώς και η μακροβιότητα των τελείων.

Για ταχύ και ασφαλή διαχωρισμό δειγμάτων του *Ae. cretinus* από τα συγγενή και μορφολογικά παρόμοια είδη *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* αναπτύχθηκε μέθοδος βασισμένη σε μοριακές τεχνικές κατά την οποία αλληλουχήθηκε συντηρημένη περιοχή του γενώματός του και πραγματοποιήθηκε μέθοδος ανάλυσης του Πολυμορφισμού Μήκους των Θραυσμάτων DNA μετά από πέψη με Περιοριστικά ένζυμα (RFLPs).

Επίσης, πραγματοποιήθηκε η πρώτη περιγραφή των ωών του *Ae. cretinus*, με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου και έγινε σύγκρισή τους με τα ωά συγγενών ειδών.

Τέλος, σχετικά με την αντιμετώπιση των κουνουπιών πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές για την αποτελεσματικότητα ή την ανίχνευση πιθανής ανθεκτικότητας των εγκεκριμένων στη χώρα μας βιοκτόνων εναντίον προνυμφών σημαντικών ειδών κουνουπιών του Νομού Αττικής ενώ επιπλέον μελετήθηκε στο εργαστήριο, η εντομοκτόνος δράση 13 αιθέριων ελαίων από ελληνικά φυτά των οικογενειών Rutaceae, Apiaceae και Alliaceae, εναντίον προνυμφών του κοινού είδους κουνουπιού *Culex pipiens* biotype *molestus*, με αξιόλογα αποτελέσματα.

ABSTRACT

The purpose of this thesis is the contribution to knowledge of the presence, distribution, biology and control of *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards 1921 (Diptera: Culicidae) in the district of Attica. Furthermore, a survey of other anthropophilic mosquito species was taken on the same area.

The presence, the distribution and the seasonal abundance of *Ae. cretinus* were studied by a network of 75 oviposition traps, established in 5 geographic areas of Attica, representing different ecological environments. The eggs laid in the ovitraps have been monitored for 3 years (2000-2002) by weekly surveys. The identification of the species of the collected eggs revealed that *Ae. cretinus* was the only *Stegomyia* species active in that area in the aforementioned period. Populations of the species were breeding continuously from mid-spring until the end of October. A high oviposition activity recorded during summer and the beginning of autumn. The percentage of the positive ovitraps indicated ubiquitous distribution throughout the area.

The species composition of mosquito fauna in Attica was investigated by adult collections from resting sites or during human biting and larval samplings conducted in potential natural or artificial mosquito breeding sites. Eighteen different species in six different genera were recorded totally some of them are of great medical importance as they are known to be vectors of serious diseases such as malaria and West Nile virus.

Since very little was known of the biology of *Ae. cretinus* some of its life history components were studied in the laboratory such as egg production in each gonotrophic cycle, the mean time of the larval and pupal development and life expectancy of the adults.

Molecular characterization of *Ae. cretinus*, is also presented. The ITS2 region of *Ae. cretinus* was analyzed and compared with the two other closely related dengue vectors *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. A PCR-RFLP assay is proposed to differentiate the three species. The proposed assay will be a useful tool for the detection and effective monitoring of *Aedes (Stegomyia)* species in Greece and other Mediterranean countries.

As contribution to knowledge of the systematics of *Ae. cretinus* the eggs of this species were examined with the electron microscope and described for the first time. Comparison of the certain characters that could possibly differentiate the eggs of the 3 *Stegomyia* species present in Europe, is also provided.

Finally, concerning the control of mosquitoes, larval bioassays carried out in the laboratory in order to evaluate the efficacy or determine a possible resistance of the commercial biocides registered and commonly used in Greece, against important mosquito species present in Attica. Furthermore essential oils derived from plants native or cultivated in Greece, evaluated for first time, as potential insecticidal agents against mosquito larvae. Thirteen essential oils from plants belonging to the families of Rutaceae, Apiacea and Alliacea were tested under laboratory conditions against larvae of the common mosquito species *Culex pipiens* biotype *molestus*, with promising results.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Εισαγωγή	1
ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	7
Κεφάλαιο 1. Γενικά στοιχεία για τα κουνούπια.....	9
1.1. Ταξινόμηση	9
1.2. Βιολογικός κύκλος - Μορφολογία - Βιολογία.....	12
1.2.1. Τέλειον	13
1.2.1.1. Διάκριση από συγγενή δίπτερα	15
1.2.1.2. Κεφαλή τέλειων κουνουπιών	16
1.2.1.3. Θώρακας τέλειων κουνουπιών	19
1.2.1.4. Κοιλία τέλειων κουνουπιών	22
1.2.1.5. Διάκριση ανωφελών και κοινών τέλειων κουνουπιών	24
1.2.1.6. Βιολογία τελείου.....	25
1.2.1.6.1. Γονιμοποίηση	26
1.2.1.6.2. Διατροφή – Αναζήτηση ξενιστή.....	27
1.2.1.6.3. Διαβίωση τέλειων - Ωτοκία	30
1.2.2. Ωοθεσία κουνουπιών και στάδιο ωού	31
1.2.2.1. Επιλογή της θέσης ωοθεσίας.....	33
1.2.2.2. Εκκόλαψη.....	35
1.2.3. Προνύμφη (larva)	37
1.2.3.1. Διάκριση από συγγενή δίπτερα	37
1.2.3.2. Μορφολογία προνύμφης.....	38
1.2.3.2.1. Κεφαλή	40
1.2.3.2.2. Θώρακας.....	41
1.2.3.2.2. Κοιλία	41
1.2.3.3. Διάκριση των προνυμφών κοινών και ανωφελών κουνουπιών.....	43
1.2.3.4. Βιολογία προνύμφης.....	44
1.2.3.5. Εστίες ανάπτυξης προνυμφών	46
1.2.4. Νύμφη (pupa)	50
1.2.4.1. Βιολογία νύμφης.....	53
1.2.4.2. Έκδυση του τελείου.....	53
1.3. Η υγειονομική σημασία των κουνουπιών.....	55
1.3.1. Γενικά.....	55
1.3.1.1. Ελονοσία.....	56
1.3.1.2. Ιός του Δυτικού Νείλου (West Nile virus)	60
1.3.1.3. Δάγκειος πυρετός	75
1.3.1.4. Κίτρινος πυρετός	82
1.3.1.5. Άλλες αρμποϊώσεις.....	83
1.3.1.6. Φιλαριάσεις	86

1.3.2. Το πρόβλημα των κουνουπιών στην Ελλάδα.....	88
1.4. Η αντιμετώπιση των κουνουπιών	94
1.4.1. Γενικά στοιχεία.....	94
1.4.2. Αντιμετώπιση των προνυμφών των κουνουπιών	94
1.4.2.1. Περιορισμός των εστιών ανάπτυξης.....	94
1.4.2.2. Αντιμετώπιση με βιολογικά μέσα.....	96
1.4.2.3. Χημική αντιμετώπιση προνυμφών	98
1.4.3. Αντιμετώπιση των τέλειων κουνουπιών.....	100
1.4.3.1. Μηχανικά μέσα.....	100
1.4.3.2. Αντιμετώπιση με βιολογικά μέσα.....	100
1.4.3.3. Χημική αντιμετώπιση τέλειων κουνουπιών	101
1.4.3.3.1. Υπολειμματικοί ψεκασμοί.....	101
1.4.3.3.2. Ψεκασμοί χώρων	101
1.4.3.3.3. Καπνισμοί εσωτερικών ή εξωτερικών χώρων	102
1.4.3.3.4. Ατομική προστασία	102
1.4.4. Το πρόβλημα της ανθεκτικότητας.....	102
1.4.5. Η αντιμετώπιση του προβλήματος των κουνουπιών στην Ελλάδα.....	106
1.4.6. Προτάσεις για ολοκληρωμένη διαχείριση του προβλήματος.....	107
Κεφάλαιο 2. Σκοπός της διατριβής.....	111
2.1. Εισαγωγή	111
2.2. Το είδος <i>Aedes (Stegomyia) cretinus</i> Edwards 1921	112
2.3. <i>Aedes cretinus</i> και συγγενή είδη.....	114
2.3.1. <i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i> (Skuse 1895)	115
2.3.2. <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i> (Linnaeus 1762)	119
2.4. Αντικείμενο και διάρθρωση της διατριβής.....	121
ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	123
Κεφάλαιο 3. Συμβολή στη μελέτη της παρουσίας και εξάπλωσης του <i>Aedes cretinus</i> και άλλων ειδών κουνουπιών, στην Αττική	125
3.1. Γενικά	125
3.2. Προκαταρκτική έρευνα	126
3.3. Υλικά και μέθοδοι	126
3.3.1. Περιοχές κάλυψης της έρευνας	128
3.3.1.1. Περιοχή Μαραθώνα – Σχοινιά	132
3.3.2. Μέθοδοι δειγματοληψιών.....	135
3.3.2.1. Παγίδες ωοθεσίας	135
3.3.2.2. Έλεγχος των πιθανών εστιών ανάπτυξης προνυμφών.....	142
3.3.2.3. Έλεγχος σημείων ανάπτυξης τέλειων	149
3.3.2.4. Συλλήψεις με τη μέθοδο του «ανθρώπινου δολώματος»	151
3.4. Αποτελέσματα	153

3.4.1. Αποτελέσματα παρατηρήσεων από τις παγίδες ωθεσίας.....	153
3.4.2. Αποτελέσματα των υπολοίπων μεθόδων δειγματοληψιών.....	176
3.4.2.1. Είδη δειγματοληψιών και εστίες που εξετάστηκαν	176
3.4.2.2. Είδη κουνουπιών που καταγράφηκαν	183
3.4.2.2.1. Αποτελέσματα δειγματοληψιών περιοχής Μαραθώνα – Σχοινιά....	190
3.4.2.2.1. Αποτελέσματα από τις υπόλοιπες περιοχές του Νομού Αττικής....	200
3.4.2.3. Παρουσίαση των ειδών κουνουπιών	203
3.4.2.3.1. <i>Anopheles (Anopheles) algeriensis</i> Theobald 1903.....	203
3.4.2.3.2. <i>Anopheles (Anopheles) claviger</i> s.s. (Meigen) 1804	205
3.4.2.3.3. <i>Anopheles (Anopheles) maculipennis</i> s.s. Meigen 1818.....	207
3.4.2.3.4. <i>Anopheles (Anopheles) sacharovi</i> Favre 1903	208
3.4.2.3.5. <i>Aedes (Stegomyia) cretinus</i> Edwards 1921.....	210
3.4.2.3.6. <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) caspius</i> (Pallas) 1771.....	212
3.4.2.3.7. <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) detritus</i> (Haliday) 1833	214
3.4.2.3.8. <i>Ochlerotatus (Ochlerotatus) zammitii</i> (Theobald) 1903	216
3.4.2.3.9. <i>Culex (Maillotia) hortensis</i> Ficalbi 1889.....	218
3.4.2.3.10. <i>Culex (Barraudius) modestus</i> Ficalbi 1889	219
3.4.2.3.11. <i>Culex (Culex) pipiens</i> Linnaeus 1758.....	221
3.4.2.3.12. <i>Culex (Barraudius) pusillus</i> Macquart 1850	224
3.4.2.3.13. <i>Culex (Neoculex) territans</i> Walker 1856.....	225
3.4.2.3.14. <i>Culex (Culex) theileri</i> Theobald 1903	226
3.4.2.3.15. <i>Culiseta (Culiseta) annulata</i> (Schrank) 1776	228
3.4.2.3.16. <i>Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata</i> (Macquart) 1838.....	230
3.4.2.3.17. <i>Culiseta (Culiseta) subochrea</i> (Edwards) 1921.....	232
3.4.2.3.18. <i>Uranotaenia (Pseudoficalbia) unguiculata</i> Edwards 1913	234
3.5. Συζήτηση - Συμπεράσματα	236
3.5.1. Μετεωρολογικά στοιχεία.....	237
3.5.2. Συζήτηση σχετικά με την παρουσία του <i>Ae. cretinus</i>	240
3.5.3. Συζήτηση σχετικά με την παρουσία άλλων ειδών κουνουπιών	243
3.5.4. Προτάσεις.....	247
Κεφάλαιο 4. Συμβολή στη μελέτη της βιολογίας του <i>Aedes cretinus</i>	249
4.1. Εισαγωγή	249
4.2. Εργαστηριακή εκτροφή του <i>Ae. cretinus</i>	250
4.2.1. Συνθήκες εκτροφής	251
4.2.2. Ωά - Προνύμφες	251
4.2.3. Νύμφες - Τέλεια	252
4.3. Μελέτη βασικών στοιχείων βιολογίας του <i>Ae. cretinus</i>	254
4.3.1. Υλικά και μέθοδοι	254
4.3.2. Αποτελέσματα	256
4.3.2.1. Παραγωγή ωών – Αναπαραγωγικό δυναμικό.....	256
4.3.2.2. Θνησιμότητα κάθε σταδίου	258

4.3.2.3. Διάρκεια ανάπτυξης κάθε σταδίου	259
4.3.2.4. Μακροβιότητα των τέλειων.....	262
4.4. Συζήτηση - Συμπεράσματα	262
4.4.1. Σύνοψη των αποτελεσμάτων περί της βιολογίας του <i>Ae. cretinus</i>	267
Κεφάλαιο 5. Συμβολή στη συστηματική του <i>Aedes cretinus</i>	269
5.1. Εισαγωγή.....	269
5.2. Ταυτοποίηση του <i>Ae. cretinus</i> με μοριακές τεχνικές	275
5.2.1. Τι είναι η ενδοριβοσωματική περιοχή του DNA και η σημασία της	275
5.2.2. Υλικά και Μέθοδοι.....	277
5.2.2.1. Δειγματοληψία και συντήρηση δειγμάτων.....	277
5.2.2.2. Μοριακές τεχνικές.....	278
5.2.2.3. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR)	282
5.2.3. Αποτελέσματα:	285
5.2.3.1. Τεχνική PCR.....	285
5.2.3.2. Ανάλυση του Πολυμορφισμού Μήκους των Θραυσμάτων DNA μετά από πέψη με Περιοριστικά ένζυμα (RFLPs).....	289
5.2.3.3. Οι θέσεις περιορισμού <i>Alu I</i> AG/CT στις ακολουθίες που αναλύθηκαν	291
5.2.4. Συζήτηση – Συμπεράσματα.....	292
5.3. Περιγραφή του ωού του <i>Ae. cretinus</i> και σύγκριση με ωά συγγενών ειδών	294
5.3.1. Υλικά και μέθοδοι	295
5.3.2. Αποτελέσματα	295
5.3.3. Συζήτηση - Συμπεράσματα	302
Κεφάλαιο 6. Συμβολή στην αντιμετώπιση των κουνουπιών	303
6.1. Εισαγωγή	303
6.2. Βιοδοκιμές με εγκεκριμένα στην Ελλάδα βιοκτόνα.....	304
6.2.1. Υλικά και μέθοδοι	304
6.2.1.1. Βιοκτόνα που δοκιμάστηκαν	304
6.2.1.2. Είδη κουνουπιών που χρησιμοποιήθηκαν	309
6.2.1.3. Μέθοδος βιοδοκιμών	311
6.2.1.4. Στατιστική ανάλυση	315
6.2.2. Αποτελέσματα	315
6.3. Βιοδοκιμές αιθέριων ελαίων ελληνικών φυτών εναντίον των προνυμφών των κουνουπιών.....	321
6.3.1. Γενικά στοιχεία για τα αιθέρια έλαια	321
6.3.1.1. Βιοσύνθεση των αιθέριων ελαίων	323
6.3.1.2. Ο ρόλος των αιθέριων ελαίων	324
6.3.1.3. Παραλαβή των αιθέριων ελαίων	324
6.3.1.3.1. Απόσταξη	325
6.3.1.3.2. Εκχύλιση.....	325
6.3.1.3.3. Μηχανική παραλαβή	326

6.3.1.4. Διατήρηση των αιθέριων ελαίων.....	326
6.3.1.5. Ποιοτικός έλεγχος	327
6.3.2. Υλικά και μέθοδοι	327
6.3.2.1. Αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν	327
6.3.2.1.1. Αιθέρια έλαια από φυτά της οικογένειας Rutaceae	327
6.3.2.1.2. Αιθέρια έλαια από φυτά της οικογένειας Apiaceae	329
6.3.2.1.3. Αιθέρια έλαια από φυτά της οικογένειας Alliaceae	332
6.3.2.2. Απομόνωση των αιθέριων ελαίων	333
6.3.2.3. Χημική ανάλυση των αιθέριων ελαίων	333
6.3.2.2. Είδος κουνουπιών που χρησιμοποιήθηκε.....	338
6.3.2.3. Μέθοδος βιοδοκιμών.....	339
6.3.3. Αποτελέσματα βιοδοκιμών με αιθέρια έλαια	339
6.4. Συζήτηση - Συμπεράσματα	341
6.4.1. Συμπεράσματα από τη μελέτη των εγκεκριμένων σκευασμάτων	341
6.4.2. Συμπεράσματα από τη μελέτη των αιθέριων ελαίων	342
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ	345
Παράρτημα Α. Έντυπα δειγματοληψιών	347
Παράρτημα Β. Πηγές των εικόνων του κειμένου	349
Παράρτημα Γ. Βιβλιογραφία	353

(Λαογρ.)—Κατά τάς παραδόσεις τοῦ ἑλληνικοῦ λαοῦ εἰς τοὺς κώνωπας ὀφείλεται ὁ ἄφανισμὸς τοῦ γένους τῶν Ἑλλήνων. Κατά παράδοσιν, ἐξ Αἰτωλίας οἱ Ἑλλῆνες, ἐπικατάρατοι γενόμενοι, διότι ἐπεχείρησαν νὰ κτίσωσι κάστρον φθάνον μέχρι τοῦ οὐρανοῦ, ἀπέθησκον ἀνθρόοι. Προγινώσκοντες δὲ τὸν θάνατόν των, κατεσκεύαζον οἱ Ἅιδιοι τὸν τάφον των καὶ παραλαμβάνοντες μεθ' ἔαυτῶν ἀπαραίτητά τινα ἀγγεῖα εἰσήρχοντο εἰς αὐτόν. Κατ' ἄλλην παράδοσιν, οἱ κώνωπες οὗτοι ἡσαν φοβεροί, σιδηρόδρυγοι, διὰ ν' ἀποφύγωσι δ' αὐτοὺς οἱ Ἑλλῆνες κατεσκεύαζον πίθους μεγάλους, ἐντὸς τῶν δποίων ἐθάπτοντο. Ο μύθος οὗτος περὶ τῶν θανατηφόρων ἰδιοτήτων τῶν κωνώπων φαίνεται ὅτι μετεφέρθη ἐκ τῶν περὶ ἐλεφάντων παραδόσεων, ἢ τῶν δποίων καὶ ἄλλα στοιχεῖα ἀπεδόθησαν εἰς τοὺς Ἑλλῆνες. Κατὰ τὰς παραδόσεις ταύτας, αἵτινες ἀνατρέχουσιν εἰς τὴν ἀρχαιότητα, εὑρίσκουσι δὲ ἀπήχησιν καὶ εἰς τοὺς Αἰσωπείους μύθους, οἱ κώνωπες, εἰσερχόμενοι εἰς τὰ ὅντα τῶν ἐλεφάντων προκαλούσιν ἀφεύκτως τὸν θάνατόν των, τούτου δ' ἔνεκα οὗτοι κινοῦσι διαρκῶς τὰ ὅντα. Ή προέλευσις τοῦ μύθου προφανῶς είνε αἰτιολογική.

ΒΙΒΛΙΟΓΡ. — Πολίτου, *Παραδόσεις* (ἀρ. 92) καὶ αἱ ἀντίστοιχοι σημειώσεις.—Σ. Π. Κυριακίδου, *Ἑλλῆνες - Γίγαντες* (ἐν Ἡμερολ. Μεγάλης Ἑλλάδος, 1926).

Εισαγωγή

Η σχέση του ανθρώπου με τα κουνούπια είναι τόσο παλιά όσο και η ιστορία του ανθρώπινου είδους πάνω στη γη. Η ανθρωπότητα έχει υποφέρει πάρα πολύ από τα συγκεκριμένα έντομα, είτε λόγω της ενόχλησης από τα τσιμπήματά τους, είτε κυρίως από τις ασθένειες που μεταδίδουν και οι οποίες έχουν κοστίσει αμέτρητες ανθρώπινες ζωές ενώ οι οικονομικές επιπτώσεις είναι ανυπολόγιστες. Ήδη, στα πρώτα κείμενα γραπτού λόγου (6.000-5.500 π.Χ.) υπάρχουν αναφορές για θανάτους που προκαλούνται από υψηλό πυρετό, δηλαδή ένα από τα κύρια συμπτώματα της ελονοσίας. Παρόμοιες αναφορές γίνονται και στις Ινδικές Βέδες, τα αρχαιότερα και τα μεγαλύτερα θρησκευτικά κείμενα της Ινδίας, του 1.600 π.Χ. αλλά και στην Π. Διαθήκη όπου συναντάμε και μέτρα προστασίας από κουνούπια "αφείλε το κουνόπιον από των στύλων", δηλαδή "έβγαλε την κουνουπιέρα από τους στύλους" (Ιουδήθ 13.9).

Στην Αρχαία Ελλάδα, η πρώτη βιβλιογραφική αναφορά ενός πυρετού που εμφανίζεται το φθινόπωρο, αναφέρεται στην Ιλιάδα (800 ή 900 π.Χ.), όπου γίνεται μνεία για ένα θανάσιμο πυρετό που πλήττει τους πολεμιστές. Φυσικά δεν μπορούμε να είμαστε σίγουροι ότι πρόκειται για ελονοσία, αλλά πολύ συχνά η ασθένεια αυτή αναφέρεται σε διάφορα συγγράμματα ως «πυρετός που οδηγεί στο θάνατο» και εμφανίζεται τη θερμή περίοδο του έτους. Μεταγενέστερα κείμενα επιβεβαιώνουν ότι η ασθένεια αυτή είχε πλήξει τη ζωή των αρχαίων Ελλήνων ενώ ο Ιπποκράτης (460-377 π.Χ.) ήταν ο πρώτος που περιέγραψε λεπτομερώς τα συμπτώματα ενός τεταρταίου πυρετού που πλήττει τους ανθρώπους και μάλιστα τα συνέδεσε με συγκεκριμένη εποχή του χρόνου και με το μέρος όπου ζούσαν οι

ασθενείς. Αλλά και άλλοι συγγραφείς, όπως ο Πραξαγόρας, δίνουν παρόμοιες περιγραφές, γεγονός που καταδεικνύει την εξάπλωση της ελονοσίας στην Αρχαία Ελλάδα. Η σχέση της ασθενείας με τα στάσιμα νερά (συνήθεις χώροι αναπαραγωγής των κουνουπιών φορέων της ελονοσίας) οδήγησαν τους Έλληνες και τους Ρωμαίους να ξεκινήσουν προγράμματα αποξήρανσης ελών από τον 4^ο αιώνα μ.Χ. Η ενέργεια αυτή αποτελεί και την πρώτη οργανωμένη προσπάθεια αντιμετώπισης της ελονοσίας (Reiter 2001).

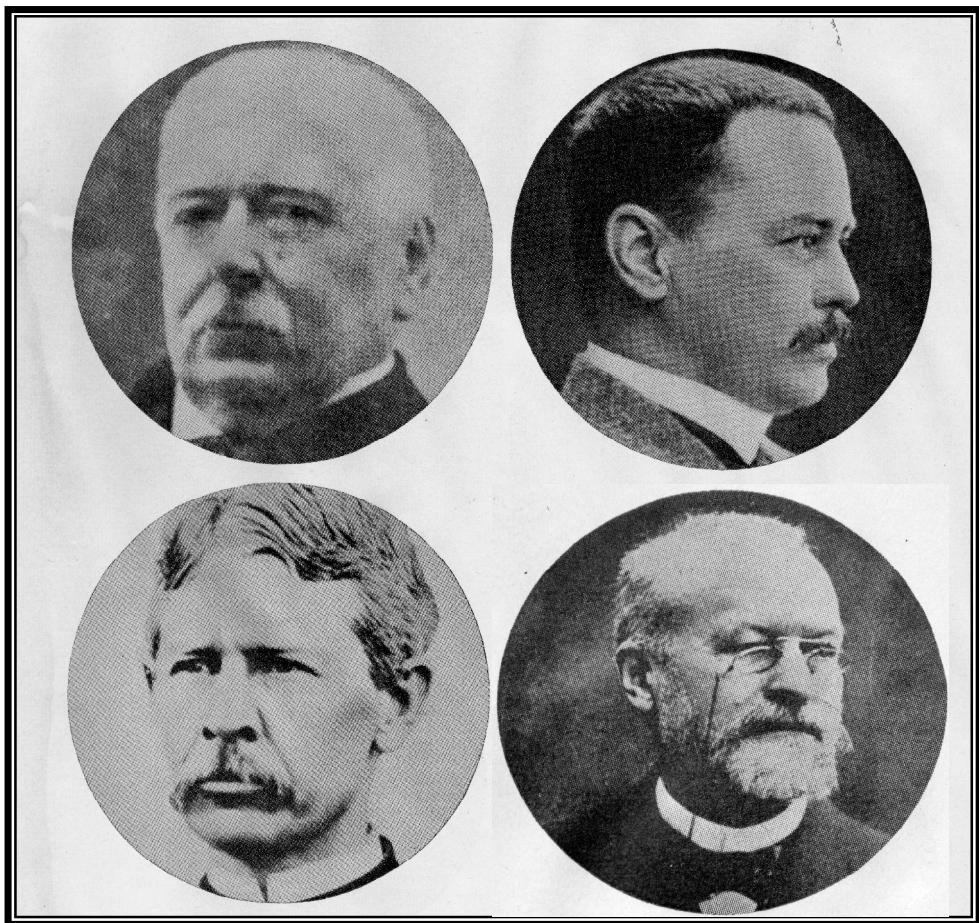
Ο ρόλος βέβαια των κουνουπιών, όπως και άλλων αρθροπόδων, στη μετάδοση ασθενειών στους ανθρώπους δεν ήταν εύκολο να γίνει αντιληπτός παρά το γεγονός ότι από πολύ νωρίς υπήρχαν αρκετές αναφορές και σχετικές υποψίες. Ήδη από τον 16^ο αιώνα ο Mercurialis (1530-1607), ένας Ιταλός γιατρός της εποχής, παρατήρησε ότι οι μύγες, με κάποιο αδιευκρίνιστο τρόπο, είναι υπεύθυνες για την εξάπλωση πολλών ασθενειών.

Παρόλα αυτά χρειάστηκε να περάσουν πολλά χρόνια ακόμη μέχρι να διατυπωθούν οι πρώτες καλά τεκμηριωμένες θεωρίες και γενικά η επιστήμη καθυστέρησε σημαντικά έως ότου συνειδητοποιήσει τη σημασία των κουνουπιών και των αρθροπόδων γενικότερα, στη δημόσια υγεία και να ασχοληθεί σοβαρά με το θέμα αυτό.

Από τις πρώτες αναφορές για το ρόλο των κουνουπιών στη δημόσια υγεία είναι αυτές των Dr. L.-D. Beauperthuy (1854) και Dr. J.C. Nott (1848), σχετικά με τη μετάδοση της ασθένειας του κίτρινου πυρετού από τα έντομα αυτά (Agramonte 1908, Matheson 1950, Downs 1974). Ο Beauperthuy υποστήριξε ότι τα κουνούπια μεταφέρουν την ασθένεια αυτή από την οργανική ύλη που βρίσκεται σε αποσύνθεση και την εισάγουν στο ανθρώπινο σώμα με τα τσιμπήματά τους. Η σημασία όμως της άποψης αυτής, βρίσκεται στο γεγονός ότι διατυπώθηκε πριν από την ανακάλυψη των παθογόνων βακτηρίων, από τον Pasteur το 1857.

Πάντως, γενικά μέχρι τότε, τα κουνούπια αντιμετωπίζονταν μόνο ως ενοχλητικά έντομα. Ο άνθρωπος που έδωσε πραγματική ώθηση στην ιατρική εντομολογία, είναι ο Dr. Patrick Manson (Εικόνα 1). Το 1866, ο νεαρός τότε γιατρός Dr. Manson, προικισμένος με φαντασία και απεριόριστη ενέργεια, άφησε την πατρίδα του, την Αγγλία και ξεκίνησε το ιστορικό του έργο, αρχικά στη Φορμόζα και αργότερα (1871) στο Amoy της Κίνας. Μελέτησε οτιδήποτε συνάντησε στο δρόμο του καταφέρνοντας, με αξιοσημείωτη ευρηματικότητα, να ερμηνεύσει παλαιά και να επιλύσει νέα επιστημονικά προβλήματα. Ανάμεσα στις πολλές ανακαλύψεις που έκανε, βρήκε και ότι η φιλαρίαση, που ήταν ασθένεια πολύ διαδεδομένη στον πληθυσμό της Κίνας και εμφανιζόταν με περιοδικότητα, μεταδίδεται από τα κουνούπια. Το 1879 δημοσίευσε την πρώτη μονογραφία για το οικιακό κουνούπι των τροπικών περιοχών *Culex fatigans* (νεότερη ονομασία *Culex quinquefasciatus*), που διατελούσε το ρόλο του ενδιάμεσου ξενιστή στην ανάπτυξη του παρασίτου της φιλαρίασης (Manson 1879).

Το 1893 και αφού ο Manson είχε επιστρέψει στο Λονδίνο, ανέπτυξε τη θεωρία ότι τα κουνούπια είναι υπεύθυνα για τη μετάδοση της ελονοσίας. Αν και ποτέ δεν είχε την ευκαιρία να αποδείξει στην πράξη τη θεωρία του, οι ιδέες του εντυπωσίασαν βαθιά ένα νεαρό τότε Βρετανό χειρουργό, τον Dr. Ronald Ross (Εικόνα 1), που λίγο αργότερα, έκανε την ιστορική ανακάλυψη πάνω στο θέμα αυτό (Ross 1899, Matheson 1950).



Εικόνα 1. Οι σημαντικότερες προσωπικότητες στην ιστορία της ιατρικής εντομολογίας.

Επάνω αριστερά: **Sir Patrick Manson** (1844-1922), ανακάλυψε το ρόλο των κουνουπιών στη μετάδοση της φιλαρίασης και ανέπτυξε τη θεωρεία ότι τα κουνούπια είναι φορείς της ελονοσίας.

Επάνω δεξιά: **Sir Ronald Ross** (1857-1932), απέδειξε ότι τα κουνούπια είναι φορείς της ελονοσίας και έθεσε τις αρχές για την αντιμετώπιση της ασθένειας αυτής.

Κάτω αριστερά: **Major Walter Reed** (1851-1902), επιβεβαίωσε τη θεωρεία του Finlay ότι τα κουνούπια του είδους *Aedes aegypti* είναι φορείς του κίτρινου πυρετού και έκανε έτσι δυνατή την αντιμετώπιση της ασθένειας.

Κάτω δεξιά: **C.L.A. Laveran** (1845-1922), ανακάλυψε το παράσιτο της ελονοσίας το 1880.

Το αξιοσημείωτο και ταυτόχρονα παράδοξο είναι ότι σήμερα, περισσότερο από έναν αιώνα μετά την ανακάλυψη του Ross και παρά την τεράστια ανάπτυξη της επιστήμης αλλά και της έρευνας στο συγκεκριμένο τομέα, τα κουνούπια συνεχίζουν να θεωρούνται ως ο μεγαλύτερος εχθρός του ανθρώπινου είδους. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ.), περισσότερο από το μισό του πληθυσμού της γης διαβιεί υπό τον αυξημένο κίνδυνο να μολυνθεί με κάποια από τις ασθένειες που μεταδίδουν τα έντομα αυτά ενώ επίσης σύμφωνα με τα στοιχεία του Π.Ο.Υ., εκατοντάδες εκατομμύρια άνθρωποι μολύνονται κάθε χρόνο με τα παθογόνα αυτά ενώ εκατομμύρια άνθρωποι τελικά πεθαίνουν (WHO 2009a, 2009b, 2010). Τα σύγχρονα μεγάλα προβλήματα της ανθρωπότητας όπως η γρίπη των πουλερικών, η σπογκώδης εγκεφαλοπάθεια, το SARS, η γρίπη των χοίρων, η νέα γρίπη

H1N1 κ.ά., παρά τη «δημοσιότητα» που κατά περιόδους έχουν γνωρίσει, υπολείπονται κατά πολύ ως προς τη σημασία και τις επιπτώσεις σε σχέση με αυτή των κουνουπιών στην παγκόσμια υγεία.

Ένα άλλο επίσης παράδοξο, ελληνικό αυτή τη φορά, είναι ότι παρά το γεγονός ότι διεθνώς τα κουνούπια είναι ίσως τα περισσότερο μελετημένα έντομα, εντούτοις η ελληνική βιβλιογραφία αριθμεί γενικά λίγα δημοσιευμένα επιστημονικά άρθρα ή βιβλία, σίγουρα πολύ λιγότερα από όσα θα δικαιολογούσε η σημασία των εντόμων αυτών για τη χώρα μας.

Για να είμαστε βέβαια ακριβείς θα πρέπει να επισημάνουμε ότι η κατάσταση αυτή δεν ήταν πάντα το ίδιο απογοητευτική. Σημαντική ανάπτυξη της μελέτης των εντόμων αυτών στη χώρα μας παρατηρήθηκε τόσο κατά το μεσοπόλεμο όσο και μεταπολεμικά έως τη δεκαετία του '60 (βλέπε και σχετική ανασκόπηση της βιβλιογραφίας στο κεφ. 1.3.). Στη συνέχεια όμως υπήρξε πολύ μεγάλο κενό αφού για μια περίοδο τεσσάρων περίπου δεκαετιών, ουσιαστικά δεν πραγματοποιήθηκαν αξιόλογες μελέτες στην Ελλάδα και μόνο σχετικά πρόσφατα παρατηρείται κάποια κινητικότητα των ελλήνων επιστημόνων, για τη μελέτη του προβλήματος των κουνουπιών. Παρά το γεγονός ότι την τελευταία δεκαετία το γενικότερο ενδιαφέρον για τα έντομα αυτά και την αντιμετώπισή τους έχει αναθερμανθεί εντούτοις οι Έλληνες επιστήμονες που εργάζονται στον τομέα αυτό αριθμούν ελάχιστα μέλη και κατά συνέπεια το έργο που παράγουν είναι αναπόφευκτα περιορισμένο.

Ενδεικτικό των παραπάνω είναι και η απουσία εξειδικευμένων ελληνικών βιβλίων που να ασχολούνται ειδικά με το θέμα των κουνουπιών, εκτός βεβαίως των εκλαϊκευμένων άρθρων, που κατά καιρούς δημοσιεύονται στον τύπο ή σε περιοδικά ποικίλης ύλης. Τα μόνα ελληνικά συγγράμματα τα οποία αν και αναφέρονται γενικότερα στα αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας, περιέχουν επιστημονικά τεκμηριωμένες πληροφορίες για τα κουνούπια και το πρόβλημα της καταπολέμησή τους, είναι τα ακόλουθα:

- α) **Μπέτζιον, Β.Χ.**, με τίτλο «Αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας», το οποίο εκδόθηκε το 1989 αλλά έχει εξαντληθεί από τα βιβλιοπωλεία και δεν πρόκειται να επανακυλοφορήσει αφού ο συγγραφέας δεν βρίσκεται πια εν ζωή (Μπέτζιος 1989).
- β) **Εμμανουήλ, Ν.Γ.**, με τίτλο «Δίπτερα υγειονομικής σημασίας», από τις εκδόσεις του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, το οποίο διανέμεται στους μεταπτυχιακούς φοιτητές της σχετικής ειδικότητας, στο Γ.Π.Α. (Εμμανουήλ 1999).
- γ) **Σαββοπούλου-Σουλτάνη, Μ.**, με τίτλο «Έντομα και άλλα αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας», από τις εκδόσεις του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, επίσης για τους φοιτητές του σχετικού μαθήματος επιλογής, του Τμήματος Γεωπονίας, του Α.Π.Θ. (Σαββοπούλου-Σουλτάνη 1999).
- δ) **Χανιώτη, Β.Ν.**, με τίτλο «Αρθρόποδα και δημόσια υγεία», από τις εκδόσεις Zymel. Το βιβλίο αυτό δίνει το κύριο βάρος του στην ιατρική πλευρά του θέματος ενώ δυστυχώς έχει και αυτό εξαντληθεί (Χανιώτης 2001).

Για τη σωστή όμως αντιμετώπιση του προβλήματος των κουνουπιών γενικά, αλλά και ειδικά για την Ελλάδα, δεν αρκεί η απλή εφαρμογή προγραμμάτων καταπολέμησης δανεισμένων από άλλες χώρες αλλά θα πρέπει, οι όποιες σχετικές ενέργειες πάντα να ξεκινούν από την καλή γνώση της βιολογίας και οικολογίας των συγκεκριμένων ειδών και να λαμβάνουν υπόψη τις ιδιαίτερες συνθήκες της χώρας μας ή των συγκεκριμένων περιοχών

της. Η σωστή αναγνώριση των διαφόρων ειδών είναι μεγάλης σημασίας στη μελέτη των εντόμων αυτών ενώ η σπουδαιότητα ενός είδους κουνουπιού ως ικανός φορέας ασθενειών ή ως είδος που προκαλεί σημαντική ενόχληση, καθορίζεται κυρίως από τα φυσιολογικά του χαρακτηριστικά, όπως η αναπαραγωγική του συμπεριφορά, η ικανότητα διασποράς του, ο τρόπος αναζήτησης ζενιστή αλλά και η συμπεριφορά του κατά την αιμοληψία.

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 1.

Γενικά στοιχεία για τα
κουνούπια

ταξινόμηση, μορφολογία,
βιολογία, υγειονομική σημασία,
αντιμετώπιση

Κεφάλαιο 2.

Σκοπός της Διατριβής

«Καλώ δ' ἐντομα ὄσα ἔχει
κατά το σώμα εντομάς, ἡ εν
τοις υπτίοις ἡ εν τούτοις τε
και τοις πρανέστιν»

(Αριστοτέλους, Περί τα ζώα
ιστοριών 1,1,7)

Κεφάλαιο 1. Γενικά στοιχεία για τα κουνούπια

1.1. Ταξινόμηση

Με τη κοινή ονομασία «κουνούπια» ονομάζουμε τα έντομα της Οικογένειας Culicidae της Τάξης των Διπτέρων (Diptera), της ομοταξίας (Κλάσης) των Εντόμων (Insecta).

Τα Δίπτερα είναι μια από τις μεγαλύτερες τάξεις εντόμων, σε αριθμό ειδών και αναμφισβήτητα είναι η σημαντικότερη Τάξη από υγειονομική άποψη. Το κύριο μορφολογικό χαρακτηριστικό των διπτέρων, στο οποίο οφείλουν και το όνομά τους, είναι η παρουσία ενός μόνο ζεύγους μεμβρανωδών πτερύγων, στο μεσοθώρακα. Το δεύτερο ζεύγος πτερύγων έχει μετατραπεί, κατά τη διαδικασία της εξέλιξης, σε ένα ζεύγος ροπαλοειδών οργάνων, γνωστά ως «αλτήρες». Η Τάξη των διπτέρων διαιρείται σε δυο Υποτάξεις, στα Βραχύκερα (Brachycera) που περιλαμβάνει 110 περίπου Οικογένειες και στα Νηματόκερα (Nematocera) με 26 Οικογένειες.

Τα Νηματόκερα, στα οποία ανήκουν και τα Culicidae, οφείλουν το όνομά τους στις νηματοειδείς κεραίες που διαθέτουν και ανάλογα με τις διάφορες συστηματικές προσεγγίσεις, χωρίζονται σε τέσσερις έως επτά διαφορετικές διαιρέσεις ή υπο-υποτάξεις (divisions or infraorders) (Becker *et al.* 2003). Σύμφωνα με τις νεότερες προσεγγίσεις (Saether 2000), τα κουνούπια ανήκουν στην υπο-Υποτάξη Culicomorpha και μάλιστα στην Υπεροικογένεια Culicoidea. Άλλα μέλη της υπεροικογενείας αυτής είναι τα δίπτερα των οικογενειών Chaoboridae (μονόφυλα με τα Culicidae [monophyly]), Corethrellidae, Dixidae, Simuliidae, Chironomidae και Ceratopogonidae. Αξίζει να σημειωθεί ότι, εκτός από Culicidae, μεγάλο υγειονομικό ενδιαφέρον παρουσιάζουν επίσης και τα Simuliidae και τα Ceratopogonidae καθώς τα έντομα αυτά διαθέτουν στοματικά μόρια κατάλληλα για μύζηση αίματος και μπορούν να μεταδώσουν σοβαρές ασθένειες στον άνθρωπο και τα ζώα.

Θα πρέπει εδώ να σημειωθεί, ότι η Συστηματική των εντόμων γενικότερα αλλά και των κουνουπιών ειδικότερα, παρουσιάζει πολλές δυσκολίες και θεωρείται μια διαδικασία δυναμική που συχνά επιφέρει αλλαγές στην ονοματολογία και ανακατατάξεις στην ταξινόμηση των ειδών (Blackman 1995). Ο Linnaeus, ο θεμελιωτής της σύγχρονης συστηματικής και εμπνευστής της διώνυμης ονοματολογίας των ειδών (γένος, είδος), στη 10^η έκδοση του έργου του “Systema Naturae”, που εκδόθηκε το 1758, αναφέρει 6 είδη κουνουπιών, όλα υπό το γένος *Culex*, από τη λατινική ονομασία του εντόμου. Σήμερα βέβαια από τα 6 αυτά είδη αναγνωρίζουμε ως «πραγματικά» κουνούπια μόνο τα δύο, καθώς ο

Linnaeus συμπεριέλαβε στο γένος *Culex* και άλλα συγγενή αιμομυζητικά δίπτερα. Επίσης, ενώ είχε γνώση των ατελών σταδίων, δεν αναγνώρισε το φυλετικό διμορφισμό των κουνουπιών και περιέγραψε τα αρσενικά και τα θηλυκά ως ξεχωριστά είδη (Barr 1986). Βέβαια, την εποχή εκείνη, δεν απέδιδαν ιδιαίτερη σημασία στα κουνούπια αφού θεωρούνταν μόνο ως ενοχλητικά έντομα λόγω των τσιμπημάτων τους. Μετά όμως από τις ανακαλύψεις του Manson και του Ross, το 1879 και 1899 αντίστοιχα, για το ρόλο των κουνουπιών στη μετάδοση ασθενειών στον άνθρωπο, τα κουνούπια απέκτησαν πρωταγωνιστικό ρόλο στην επιστήμη της εντομολογίας. Η πρώτη οργανωμένη καταγραφή της γνώσης για το έντομο αυτό έγινε από τον F.V. Theobald (1868-1930), με την έκδοση του πεντάτομου έργου του "Monograph of the Culicidae of the World", από το 1901-1910 (Barr 1986).

Αρχικά, όπως ήταν άλλωστε φυσικό, η ταξινόμηση των κουνουπιών βασίστηκε στα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους. Από τις αρχές όμως της δεκαετίας του '20, διάφορα στοιχεία, όπως το φαινόμενο της παρουσίας ανωφελών κουνουπιών χωρίς την αντίστοιχα αναμενόμενη παρουσία της ελονοσίας (anophelism without malaria), οδήγησε τους μελετητές στο να ασχοληθούν προσεκτικότερα με το θέμα. Οι de Buck *et al.* (1934) διαπίστωσαν ότι στην Ολλανδία υπήρχαν δύο «πληθυσμοί» *Anopheles*, οι οποίοι δεν διέφεραν μεταξύ τους μορφολογικά αλλά είχαν διαφορετικές διατροφικές συνήθειες, διαφορετικές συνήθειες σύζευξης και εστίες ανάπτυξης των προνυμφών τους ενώ μόνο ο ένας από τους δύο «πληθυσμούς» τρεφόταν από τον άνθρωπο και σχετιζόταν με τη μετάδοση της ελονοσίας. Η διασταύρωση ατόμων από τους δύο πληθυσμούς έδινε υβριδικά ωά τα οποία όμως είτε δεν εκκολάπτονταν, είτε εκκολάπτονταν αλλά οι προνύμφες πέθαιναν πολύ σύντομα. Η μόνη μορφολογική διαφορά ήταν το ελαφρά στατιστικώς διαφορετικό μέγεθος και για αυτό οι πληθυσμοί ονομάστηκαν "long winged" και "short winged". Η μελέτη αυτή όμως απέδειξε ότι η ταξινόμηση των κουνουπιών μόνο με βάση τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τους είναι ανεπαρκής και θα πρέπει να συμπληρώνεται με τα στοιχεία της βιολογίας του κάθε είδους.

Η ανάπτυξη επίσης και άλλων μεθόδων, όπως οι βιοχημικές μέθοδοι ανάλυσης με ηλεκτροφόρηση πρωτεΐνών ή ενζύμων βοήθησαν σημαντικά στην επίλυση πολλών προβλημάτων ενώ η σχετικά πρόσφατη μεγάλη ανάπτυξη της μοριακής βιολογίας και της γενετικής έχει δώσει πολύτιμες απαντήσεις και αναμένεται να διευκρινίσει στο μέλλον πολλά ακόμη σχετικά θέματα (Barr 1986, Cockburn 1994, Munstermann 1995).

Ως αποτέλεσμα των παραπάνω, πολλά είδη κουνουπιών εμφανίζονται στη βιβλιογραφία με πολυάριθμα συνώνυμα (πχ. το είδος *Culex pipiens*) ενώ πολλά είδη κατατάσσονται σε συμπλέγματα ειδών (species complex), σε υποείδη ή σε διαφορετικές φυλές, βιοτύπους ή πληθυσμούς του ίδιου είδους σύμφωνα με γενετικά, φυσιολογικά ή ηθολογικά κριτήρια. Σήμερα αναγνωρίζονται επίσημα 3.517 διαφορετικά είδη κουνουπιών παγκοσμίως (Harbach and Howard 2007, Becker *et al.* 2010).

Σχετικά με την Οικογένεια Culicidae, οι μέχρι πρόσφατα κατατάξεις τη διαχώριζαν σε τρεις Υποοικογένειες, την Anophelinae, Culicinae και Toxorhynchitinae (Harbach and Knight 1977). Σύμφωνα όμως με τη νεότερη ταξινόμηση των Culicidae από τους Harbach και Kitching (1998), η Toxorhynchitinae αποτελεί φυλή ή ομάδα (tribal rank) της Υποοικογένειας Culicinae, την Toxorhynchitini. Τα Toxorhynchitini, με το μοναδικό τους γένος *Toxorhynchites*, δεν παρουσιάζουν υγειονομικό ενδιαφέρον καθώς δεν περιλαμβάνουν

αιμομυζητικά είδη ενώ επιπλέον οι προνύμφες τους θεωρούνται ωφέλιμες καθώς είναι αρπακτικές και τρέφονται με προνύμφες άλλων κουνουπιών (Chapman *et al.* 1972, Steffan and Evenhuis 1985). Τα *Toxorhynchites* spp., είναι κυρίως είδη των τροπικών περιοχών και δεν απαντώνται στη χώρα μας (Steffan and Evenhuis 1985, Samanidou-Voyadjoglou and Darsie Jr 1993a, 1993b).

Σύμφωνα με τους Knight και Stone (1977) και μετά από τις αλλαγές του Reinert (2000), η Υποοικογένεια Anophelinae περιλαμβάνει δύο γένη κουνουπιών τα *Anopheles* και *Chagasia* ενώ η Υποοικογένεια Culicinae περιλαμβάνει 37 γένη (μαζί με το γένος *Toxorhynchites*) και 130 περίπου υπογένη.

Στην ελληνική γλώσσα, για τα κουνούπια της Υποοικογένειας Anophelinae έχει επικρατήσει η κοινή ονομασία «ανωφελή» ενώ με τον όρο «κοινά» ονομάζονται τα κουνούπια της Υποοικογένειας Culicinae (Μπέτζιος 1989, Εμμανουήλ 1999, Σαββοπούλου-Σουλτάνη 1999, Χανιώτης 2001).

Ενδιαφέρον επίσης παρουσιάζει και η «διαμάχη» που έχει ξεσπάσει, από παλιά (Belkin 1962), στους ειδικούς εντομολογικούς κύκλους, σχετικά με την ονοματολογία του αθροίσματος γενών κουνουπιών Aedini (Subfamily Culicinae, Tribe Aedini), (Zavortink 1990).

Μέχρι σχετικά πρόσφατα, είχε γίνει αποδεκτό ότι όλα τα είδη του αθροίσματος αυτού ανήκαν στο γένος *Aedes* Meigen, 1818. Το 2000 όμως ο Reinert, διαιρεσε το παραπάνω γένος σε δύο γένη με βάση τα «σταθερά πρωτεύοντα χαρακτηριστικά» των γεννητικών οργάνων των αρσενικών και θηλυκών κουνουπιών αλλά και άλλα χαρακτηριστικά των γεννητικών τους οργάνων καθώς και χαρακτηριστικά των νυμφών και των προνυμφών 4^{ης} ηλικίας. Τα γένη αυτά ήταν το γένος *Aedes* Meigen, 1818 και το γένος *Ochlerotatus* Lynch Arribalizaga, 1891, (Reinert 2000). Στη συνέχεια, οι Reinert *et al.* (2004), αφού εξέτασαν και άλλα μορφολογικά χαρακτηριστικά των ωών, των προνυμφών, των νυμφών και των τέλειων κουνουπιών (συνολικά 172 χαρακτηριστικά) κατέταξαν στο άθροισμα Aedini και άλλα γένη. Αυτό επέφερε μεγάλες ανακατατάξεις στην ταξινόμηση και πολλά πολύ γνωστά είδη, όπως για παράδειγμα τα *Aedes aegypti* και *Aedes albopictus*, άλλαξαν όνομα και έγιναν *Stegomyia aegypti* και *Stegomyia albopicta* αντίστοιχα. Επίσης, πολλά είδη τα τοποθέτησαν στο καθεστώς της αβέβαιης ταξινομικής θέσης (*insertae sedis*) μέχρι να μελετηθούν ξανά και να οριστικοποιηθεί η ονομασία τους (Reinert and Harbach 2005).

Οπως ήταν αναμενόμενο, οι μεγάλες αυτές ανακατατάξεις σχολιάστηκαν άλλοτε ευμενώς αλλά και πολλές φορές δυσμενώς, από τους διαφόρους ειδικούς επιστήμονες (Black 2004, Savage and Strickman 2004, Savage 2005, Polaszek 2006) καθώς και τους εκδότες σχετικών επιστημονικών περιοδικών (Higgs 2005, JME Editors 2005, Weaver 2005) ενώ παράλληλα ξεκίνησαν εκτενείς συζητήσεις και ζωηρές διαμάχες για την αναγκαιότητα αυτών των ανακατατάξεων αλλά και των προβλημάτων που συνεπάγονται (πχ. βλέπε απόψεις στο ανοικτό forum του διαδικτύου: <http://wrbu.si.edu/forums/>). Οι περισσότεροι βέβαια συμφωνούν ότι χρειάζεται περισσότερη έρευνα επί του θέματος και ενδεχομένως μελέτη με τη βοήθεια της μοριακής βιολογίας ενώ ένα αρκετό χρονικό διάστημα επών, είναι απαραίτητο μέχρι να υπάρξει όσο είναι δυνατό συμφωνία στις απόψεις και να ληφθούν ψύχραιμες αποφάσεις από τους ειδικούς συστηματικούς (<http://wrbu.si.edu/forums/>, 2/7/2005).

Για τους παραπάνω λόγους και καθώς το θέμα της ονοματολογίας των Aedini παραμένει ακόμη ανοικτό, στην παρούσα μελέτη έχει ακολουθηθεί η ονοματολογία των Aedini όπως ήταν διαμορφωμένη, πριν από το επίμαχο άρθρο των Reinert *et al.* (2004). Αυτή μάλιστα είναι και η θέση του MOTAX group (Mosquito Taxonomists group), της European SOVE (Society for Vector Ecology), με το από 28/2/2005 Technical Note που εξέδωσε.

Στην παρούσα διατριβή, για την ονοματολογία των γενών των κουνουπιών, όπου αυτά δεν αναγράφονται ολογράφως, ακολουθήθηκε η συντομογραφική γραφή των δύο γραμμάτων, όπως έχει καθιερωθεί, ειδικά για τα έντομα αυτά (Reinert 1975, 1982, 2001). Η γραφή αυτή έχει υιοθετηθεί από όλους τους ειδικούς επιστήμονες και έχει επικρατήσει στην παρουσίαση των άρθρων από όλα τα ειδικά επιστημονικά περιοδικά του χώρου ή των σχετικών συγγραμμάτων.

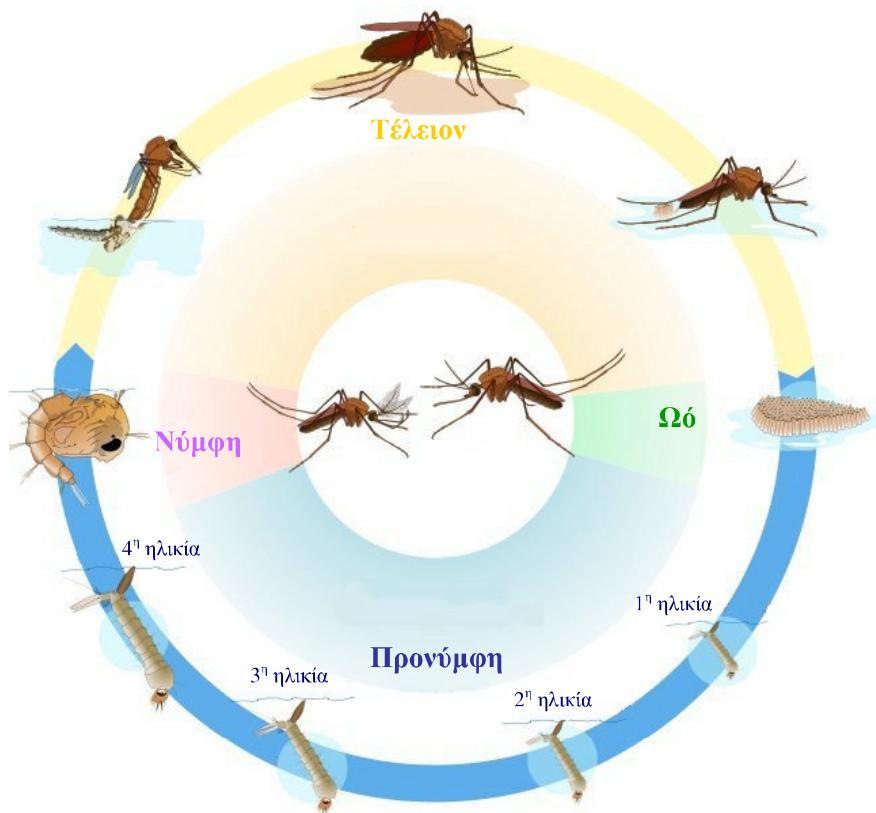
Επίσης, για την απόδοση των διαφόρων εντομολογικών όρων στα ελληνικά χρησιμοποιήθηκαν τα συγγράμματα των N. Γ. Εμμανουήλ (1999), M. Σαββοπούλου-Σουλτάνη (1999), B. Μπέτζιου (1989), M. E. Τζανακάκη (1980, 1995), και K. E.Δ. Πελεκάση (1981, 1986).

Τέλος, οι πηγές των εικόνων που χρησιμοποιήθηκαν αναφέρονται αναλυτικά στο Παράρτημα B.

1.2. Βιολογικός κύκλος - Μορφολογία - Βιολογία

Τα κουνούπια όπως έχει ήδη αναφερθεί ανήκουν στην Τάξη των διπτέρων (Diptera) και ως εκ τούτου είναι έντομα ολομετάβολα, δηλαδή ο βιολογικός τους κύκλος ολοκληρώνεται σε διαδοχικά στάδια που χαρακτηρίζονται από πλήρη μεταμόρφωση και ως εκ τούτου, η βιολογία του εντόμου διαφέρει σημαντικά από στάδιο σε στάδιο.

Το θηλυκό έντομο μετά τη γονιμοποίηση από το αρσενικό, την αιμοληψία και την ωρίμαση των ωών μέσα στη ωθήκη αποθέτει τα ωά του σε κατάλληλη για το είδος υδάτινη εστία. Τα ωά μετά από κάποιο χρόνο εκκολάπτονται σε προνύμφες (Larvae) εντός του ύδατος της εστίας. Οι προνύμφες αφού συμπληρώσουν την ανάπτυξή τους και μετά από τέσσερις εκδύσεις (ηλικίες), μεταμορφώνονται σε νύμφες (Pupae) και αυτές μετά από κάποιο χρονικό διάστημα μεταμορφώνονται σε τέλεια αρσενικά ή θηλυκά κουνούπια. Σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα και πριν απομακρυνθούν από τις εστίες ανάπτυξής τους τα θηλυκά γονιμοποιούνται από τα αρσενικά και ο κύκλος επαναλαμβάνεται.



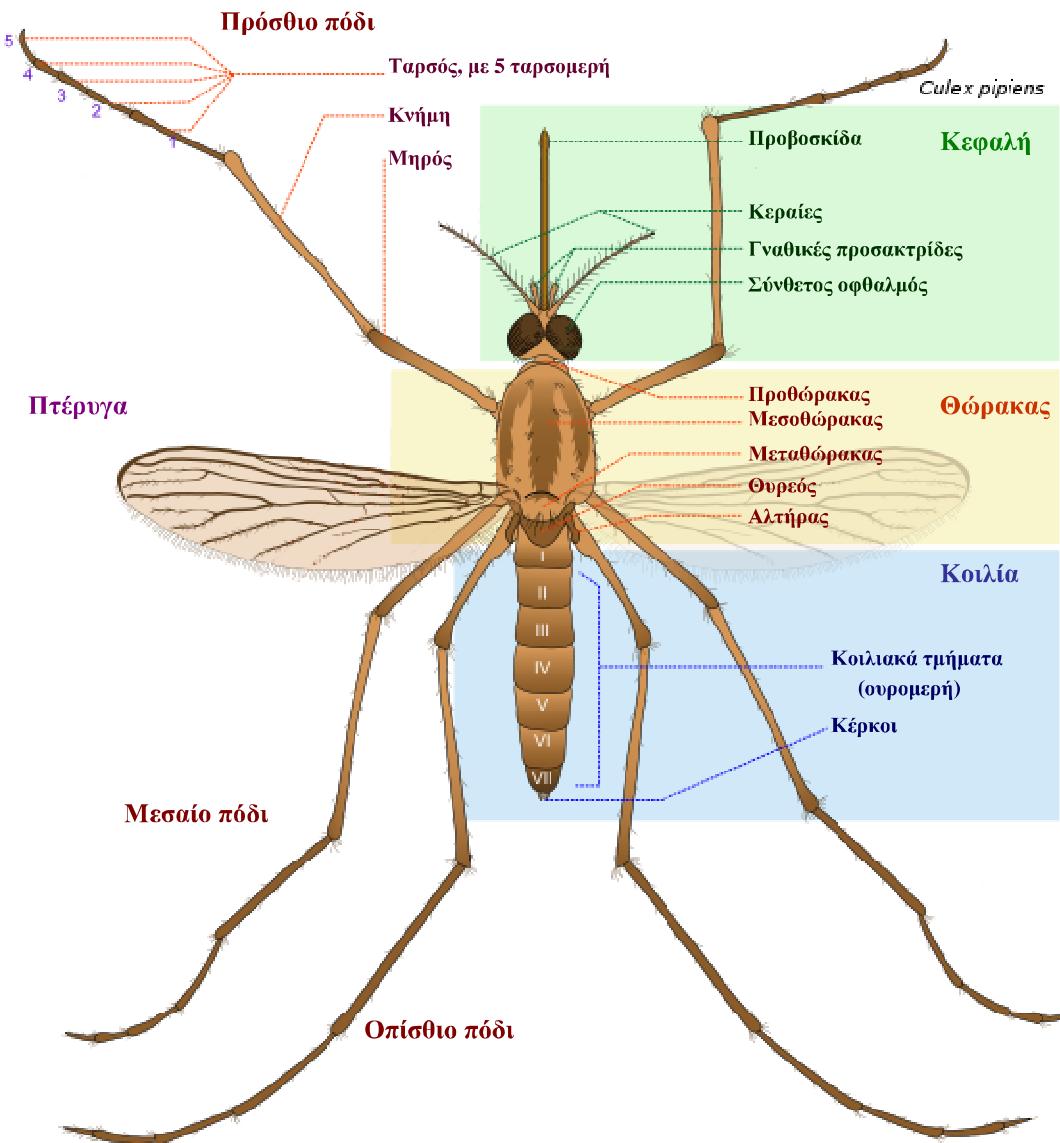
Εικόνα 1.1. Απεικόνιση του βιολογικού κύκλου των κουνουπιών.

Ο βιολογικός κύκλος των κουνουπιών ολοκληρώνεται σε διάστημα 2-4 εβδομάδων, ανάλογα με το είδος και τις επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες. Για την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου χρειάζεται απαραίτητως η παρουσία υδάτινου περιβάλλοντος αφού η εκκόλαψη των ωών γίνεται πάντα στο νερό ενώ τα στάδια της προνύμφης και της νύμφης είναι αποκλειστικά υδρόβια.

1.2.1. Τέλειον

Τα τέλεια κουνούπια είναι πτερωτά έντομα, με λεπτό σώμα και μακριά λεπτά πόδια και μέτριο μέγεθος (3-6 χιλιοστών), με εξαίρεση τροπικά είδη του γένους *Toxorhynchites*, τα οποία έχουν μήκος σώματος έως 19 mm και όνοιγμα πτερύγων έως 24 mm.

Το σώμα των κουνουπιών διαιρείται σε τρία κύρια μέρη: την κεφαλή, το θώρακα και την κοιλία.



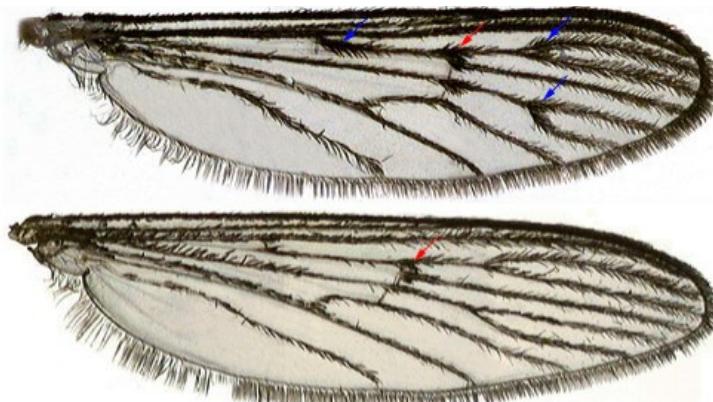
Εικόνα 1.2. Μέρη σώματος και εξωτερική μορφολογία τέλειου κουνουπιού.

Μεταξύ των δύο φύλων παρατηρούνται μικρές μορφολογικές και βιολογικές διαφορές, οι οποίες επισημαίνονται στη συνέχεια, ενώ παρατηρείται και μικρή διαφορά μεγέθους, με τα αρσενικά κουνούπια να είναι σχετικά μικρότερα από τα αντίστοιχα θηλυκά του ίδιου είδους.

1.2.1.1. Διάκριση από συγγενή δίπτερα

Τα τέλεια κουνούπια διαφέρουν από όλα τα άλλα έντομα καθώς και από τα δίπτερα των συγγενών οικογενειών της Υποτάξης Νηματόκερα (Nematocera), επειδή φέρουν τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

- α) διαθέτουν καλά αναπτυγμένη μακριά προβοσκίδα (στοματικά μόρια) που είναι πάντοτε μεγαλύτερη του θώρακα και εξέχει προς τα εμπρός από την κεφαλή, μαζί με τις γναθικές προσακτρίδες,
- β) ολόκληρο το σώμα τους (κεφαλή, θώρακας, πτέρυγες, κοιλία και πόδια) καλύπτεται από τρίχες και λέπια των οποίων η ποσότητα και ο χρωματισμός καθορίζεται γενετικά και χαρακτηρίζει το κάθε είδος,
- (γ) φέρουν χαρακτηριστική διάταξη των νεύρων στις πτέρυγές τους, καθώς στην κορυφή της κάθε πτέρυγας καταλήγει ένα απλό νεύρο (3° επίμηκες) ανάμεσα σε δύο διακλαδισμένα, το 2° και το 4° (Εικόνα 1.3.).



Εικόνα 1.3. Πτέρυγες κουνουπιών όπου διακρίνεται η διάταξη των νεύρων που χαρακτηρίζει τα μέλη της Οικογένειας Culicidae (το 3° νεύρο της πτέρυγας [κόκκινο βέλος] βρίσκεται ανάμεσα σε δύο διακλαδισμένα νεύρα [μπλε βέλη]).

Είδη, τα οποία μορφολογικά θυμίζουν τα κουνούπια και συχνά συγχέονται με αυτά, είναι διάφορα είδη διπτέρων, κυρίως των οικογενειών Tipulidae και Chironomidae. Τα είδη αυτά όμως δεν διαθέτουν μακριά προβοσκίδα και ως εκ τούτου δεν τσιμπούν (non-biting midges).

Σχετικά με τις πτέρυγες, την ίδια διακλάδωση των νεύρων διαθέτουν και τα είδη των οικογενειών Dixidae και Chaoboridae, με τη διαφορά ότι αυτά έχουν λέπια μόνο στην περιφέρεια των πτερύγων ενώ τα Culicidae έχουν λέπια και στα νεύρα. Οι Οικογένειες Dixidae και Chaoboridae, δεν παρουσιάζουν επίσης κανένα υγειονομικό ενδιαφέρον γιατί τα στοματικά τους μόρια είναι κοντά και ακατάλληλα να μιζούν αίμα ή να τσιμπούν. Σε σπάνιες όμως περιπτώσεις, μπορεί να γίνουν ενοχλητικά όταν εμφανίζονται εποχιακώς, σε μεγάλη πυκνότητα.

1.2.1.2. Κεφαλή τέλειων κουνουπιών

Η κεφαλή των τέλειων κουνουπιών φέρει ένα ζεύγος μεγάλων σύνθετων οφθαλμών, ένα ζεύγος κεραιών και τα στοματικά μόρια.



(α)



(β)



(γ)

Εικόνα 1.4. (α) Λεπτομέρεια κεφαλής τέλειου θηλυκού κοινού κουνουπιού, (β) κεφαλή τέλειου θηλυκού κοινού κουνουπιού, (γ) κεφαλή τέλειου αρσενικού κουνουπιού.

Οι οφθαλμοί στα κουνούπια είναι καλά αναπτυγμένοι και καταλαμβάνουν το μεγαλύτερο μέρος της κεφαλής. Σε αντίθεση με τα περισσότερα έντομα στα οποία συνήθως συναντάμε συνύπαρξη σύνθετων και απλών οφθαλμών, στα κουνούπια υπάρχει μόνο ένα ζεύγος σύνθετων οφθαλμών (compound eyes) ενώ οι απλοί οφθαλμοί (ocelli) απουσιάζουν.

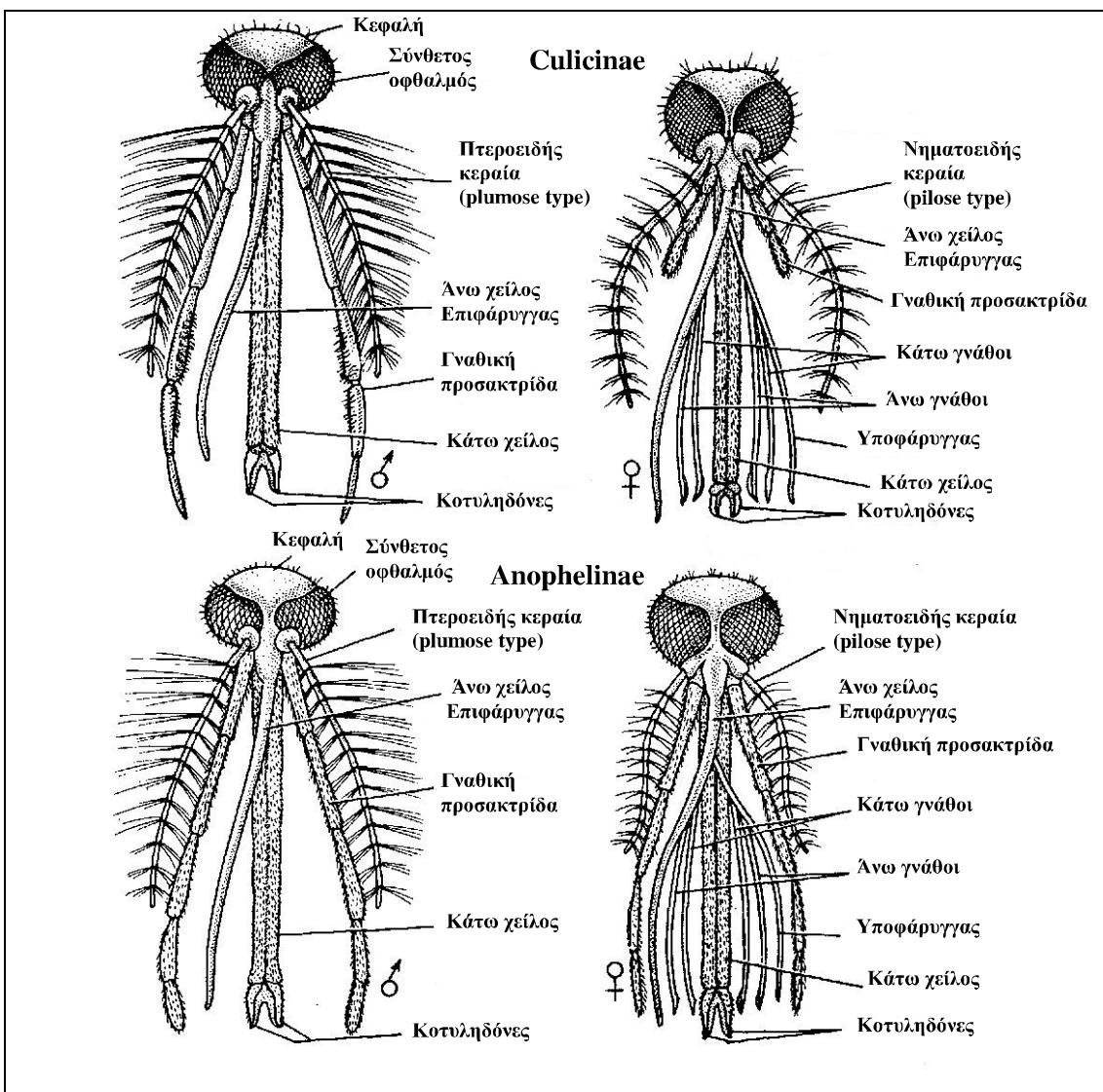
Η δομή και η ικανότητα των σύνθετων οφθαλμών είναι τέτοια, ώστε το κουνούπι κατά την πτήση του να μπορεί να δει ταυτόχρονα προς όλες τις κατευθύνσεις γύρω από το σώμα του. Τα κουνούπια μπορούν να ξεχωρίσουν μέχρι και 200-300 ξεχωριστές εικόνες το δευτερόλεπτο, με αποτέλεσμα να μπορούν να αναλύουν με επιτυχία την εικόνα ενός τοπίου που αλλάζει γρήγορα κατά την πτήση.

Οι **κεραίες** των κουνουπιών είναι το σημαντικότερο αισθητήριο όργανο αφής, όσφρησης και σε ορισμένες περιπτώσεις ακοής. Είναι καλά αναπτυγμένες και αποτελούνται από 15 τμήματα.

Το τμήμα της κεραίας που βρίσκεται προς τη βάση, δηλαδή το 1^ο τμήμα, ονομάζεται σκήπος ή σκάπος (scapus), έχει σχήμα κολάρου και καλύπτεται πίσω ένα δεύτερο σφαιρικό τμήμα, τον ποδίσκο (pedicel). Στα αρσενικά κουνούπια ο ποδίσκος φιλοξενεί ένα εξελιγμένο αισθητήριο όργανο, το όργανο Johnston (Johnston's organ), που λαμβάνει μηχανικά και ηχητικά μηνύματα. Με το όργανο αυτό, τα αρσενικά μπορούν να αντιληφθούν τη συχνότητα του ήχου που παράγει η πτέρυγα του θηλυκού, όταν πάλλεται κατά την πτήση. Τα υπόλοιπα 13 τμήματα αποτελούν το μαστίγιο, το οποίο είναι το ελεύθερο τμήμα της κεραίας

(flagellum). Καθένα από αυτά τα τμήματα του μαστιγίου (annuli ή flagellomeres) χαρακτηρίζονται από πλήρη απουσία εσωτερικών μυών.

Στα θηλυκά, οι κεραίες είναι νηματοειδείς και αποτελούνται από μικρές τρίχες (σμήριγγες) (pilose type antenna) που φύονται κυκλικά σε κάθε άρθρο ενώ στα αρσενικά οι κεραίες φέρουν μεγάλες τρίχες που τους προσδίδει πτεροειδή μορφή (plumose type antenna). Από τη μορφολογία των κεραιών είναι εύκολο να διακρίνουμε τα θηλυκά από τα αρσενικά κουνούπια.

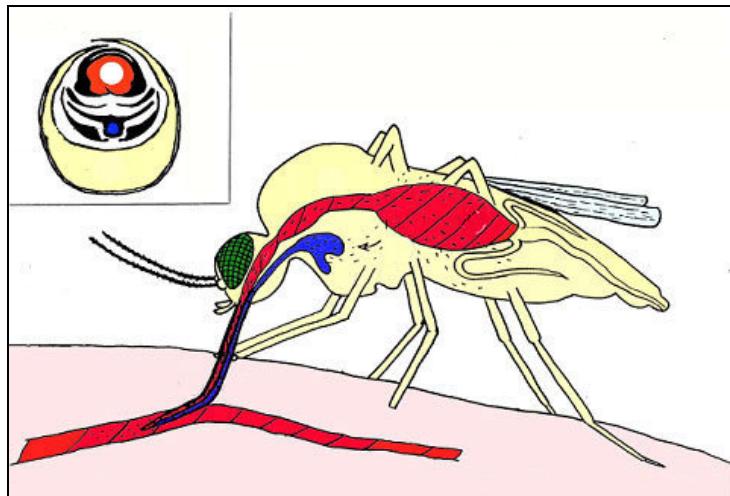


Εικόνα 1.5. Μορφολογικοί χαρακτήρες για τη διάκριση αρσενικών (αριστερά) και θηλυκών (δεξιά) κουνουπιών, καθώς και των υποοικογενειών Culicinae (επάνω) και Anophelinae (κάτω).

Ακριβώς κάτω από τις κεραίες υπάρχουν τα **στοματικά μόρια**. Τα στοματικά μόρια των τέλειων κουνουπιών είναι νύσσοντος-μυζητικού τύπου (piercing-sucking type) και σχηματίζουν προβοσκίδα που είναι το όργανο, με τη βοήθεια του οποίου τα κουνούπια τρέφονται. Η προβοσκίδα αποτελείται από έξι λεπτά τμήματα που μοιάζουν με "στυλέτα". Τα

τμήματα αυτά είναι το άνω χείλος και ο επιφάρυγγας (labroepipharynx), ένα ζεύγος άνω γνάθων ή πρόσθιων γνάθων (mandibles), ο υποφάρυγγας (hypopharynx) και ένα ζεύγος κάτω γνάθων ή οπίσθιων γνάθων (maxillae laciniae) (Εικόνα 1.5.). Όλα αυτά τα όργανα βρίσκονται τοποθετημένα μέσα σε μια "προστατευτική θήκη" που σχηματίζεται από το κάτω χείλος (labium ή prementum), και είναι ορατά μόνο κατά τη στιγμή που το θηλυκό κουνουόπι τσιμπάει και το κάτω χείλος αναδιπλώνεται προς τα πίσω (Εικόνα 1.14.).

Οι άνω και κάτω γνάθοι είναι το κύριο διατρητικό όργανο των κουνουοπιών και χρησιμεύουν για να σχίζουν την επιδερμίδα του ξενιστή. Ειδικά οι κάτω γνάθοι φέρουν μυτερές άκρες που είναι οδοντωτές και δυνατότερες από τις άνω γνάθους και είναι ικανές στο να ανοίγουν κατάλληλη οπή στο δέρμα. Κατά τη μύζηση αίματος, τα κουνούπια εγχέουν σάλιο στο σώμα του ξενιστή, το οποίο περιέχει αντιαιμοστατικά ένζυμα, τα οποία προκαλούν αιμάτωμα στο σημείο της διάτρησης και διευκολύνουν τη λήψη του αίματος. Επίσης, το σάλιο περιέχει αναισθητικές ουσίες, αντίστοιχες της ουσίας «hirudin» που παράγουν οι βδέλλες, οι οποίες ελαττώνουν τις αμυντικές αντιδράσεις του ξενιστή (Parker and Mant 1979).



Εικόνα 1.6. Μηχανισμός αιμοληψίας και εισαγωγής σιέλου στο σώμα του ξενιστή (η πορεία της σιέλου είναι με μπλε χρώμα). Άνω αριστερά απεικονίζεται σχηματικά η εγκάρσια τομή της προβοσκίδας.

Η μύζηση του αίματος γίνεται μέσω του αγωγού που σχηματίζει ο επιφάρυγγας με το άνω χείλος μαζί με τις άνω και κάτω γνάθους, και αποτελούν το κύριο όργανο μεταφοράς τροφής (τροφικός αγωγός).

Στα αρσενικά κουνούπια, τόσο οι άνω γνάθοι όσο και οι κάτω γνάθοι είναι πιο μικρές σε μέγεθος ή απουσιάζουν εντελώς, με αποτέλεσμα τα αρσενικά να μην διαθέτουν την ικανότητα διάτρησης του δέρματος. Αυτός είναι και ο λόγος που η διατροφή των αρσενικών περιορίζεται στο νέκταρ και άλλους φυτικούς χυμούς, που απλά αντλούν με τη βοήθεια της

προβοσκίδας τους. Κατά συνέπεια η "αδυναμία" αυτή των αρσενικών είναι και ο λόγος που αποκλείει τη μετάδοση (με βιολογικό τρόπο) ασθενειών από το φύλο αυτό.

Οι γναθικές προσακτρίδες είναι και αυτές σημαντικά αισθητήρια όργανα για τα κουνουόπια. Αποτελούνται από πέντε τμήματα τα οποία είναι πολύ εμφανή και στα δύο φύλα του γένους *Anopheles*, καθώς και στα αρσενικά των περισσοτέρων άλλων γενών. Τα θηλυκά των άλλων γενών (εκτός από τα *Anopheles*) συνήθως έχουν τα βασικά (πρώτα) τμήματα ατροφικά με αποτέλεσμα να εμφανίζονται σαν να διαθέτουν λιγότερα άρθρα. Οι προσακτρίδες των κοινών θηλυκών κουνουπιών είναι, σε μήκος, μικρότερες από το μισό της προβοσκίδας. Μόνο στα είδη των ανωφελών κουνουπιών (εκτός του γένους *Bironella*) οι προσακτρίδες είναι του ιδίου μήκους με την προβοσκίδα. Σε όλα σχεδόν τα αρσενικά κουνουόπια οι προσακτρίδες είναι ίσες ή και μακρύτερες από την προβοσκίδα (Εικόνα 1.5.).

1.2.1.3. Θώρακας τέλειων κουνουπιών

Ο θώρακας των τέλειων κουνουπιών αποτελείται από τρία μέρη τα οποία από εμπρός προς τα πίσω είναι τα εξής: ο προθώρακας (prothorax), ο μεσοθώρακας (mesothorax) και ο μεταθώρακας (metathorax). Ο μεσοθώρακας είναι το κυριότερο και μεγαλύτερο τμήμα του θώρακα ενώ ο προθώρακας και ο μεταθώρακας αρκούνται απλώς στο να φέρουν τα εμπρόσθια και οπίσθια πόδια αντίστοιχα.

Τα κυριότερα όργανα και τμήματα που είναι εμφανή στο θώρακα των κουνουπιών είναι οι πτέρυγες, τα πόδια, οι αλτήρες (halteres), ο θυρεός (scutellum), το μεσόνωτο (scutum) και οι αναπνευστικές οπές ή αναπνευστικά τρήματα. Επίσης, η ράχη του θώρακα και τα πλευρά του καλύπτονται με λέπια, τα οποία στα διάφορα είδη έχουν διαφορετικά χρώματα ή διάταξη και αποτελούν διαγνωστικούς χαρακτήρες για ορισμένα είδη.

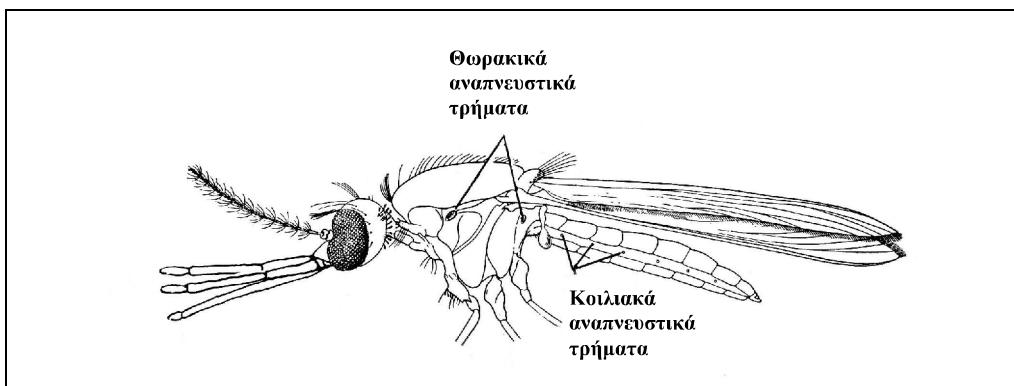
Τα λέπια είναι επίπεδες διαφοροποιημένες σμήριγγες που συχνά έχουν ραβδωτή επιφάνεια και περιέχουν χρωστικές ουσίες που δημιουργούν οπτικά εφέ δίνοντας χαρακτηριστικό χρωματισμό σε μερικά είδη κουνουπιών. Σε είδη που βρίσκονται συνήθως σε τροπικά κλίματα συναντώνται και λαμπερές αποχρώσεις των λεπίων όπως μεταλλική μπλε, πράσινη και ιώδης. Οι διάφοροι συνδυασμοί των λεπίων αυτών δημιουργούν συγκεκριμένα χαρακτηριστικά σχέδια, όπως δακτυλίους (rings) στα πόδια, λωρίδες (stripes) στο ραχιαίο τμήμα του μεσοθώρακα (μεσόνωτο, scutum) και ταινίες στους κοιλιακούς σκληρίτες. Οι κοιλιακοί σκληρίτες και το στέρνο καλύπτονται με πυκνά λέπια στην Υποοικογένεια Culicinae, ενώ τόσο οι κοιλιακοί (terga) όσο και οι ραχιαίοι (sterna) σκληρίτες στερούνται σχεδόν πλήρως λεπίων στην Υποοικογένεια Anophelinae.

Το μεσόνωτο (scutum), είναι η ράχη του θώρακα του τέλειου κουνουπιού και φέρει στοιχεία ή σχέδια σημαντικά για την αναγνώριση των διαφόρων ειδών. Μπορεί να είναι εξ' ολοκλήρου καλυμμένο με λέπια ή να έχει μόνο σε κάποιες περιοχές του, ανάλογα με το είδος.



Εικόνα 1.7. Διάφοροι τύποι μεσόνωτου τέλειων κουνουπιών.

Τα θωρακικά **αναπνευστικά τρήματα** είναι δύο ζεύγη αναπνευστικών οπών που βρίσκονται στην πλευρική όψη του θώρακα και χρησιμεύουν στην πρόσληψη οξυγόνου από το έντομο. Το πρώτο ζεύγος φέρεται στο μεσοθώρακα και ονομάζεται μεσοθωρακικό τρήμα (mesothoracic spiracle) και το άλλο στο μεταθώρακα και ονομάζεται μεταθωρακικό τρήμα (metathoracic spiracle) (Εικόνα 1.8.).



Εικόνα 1.8. Αναπνευστικά τρήματα στο σώμα του τέλειου κουνουπιού.

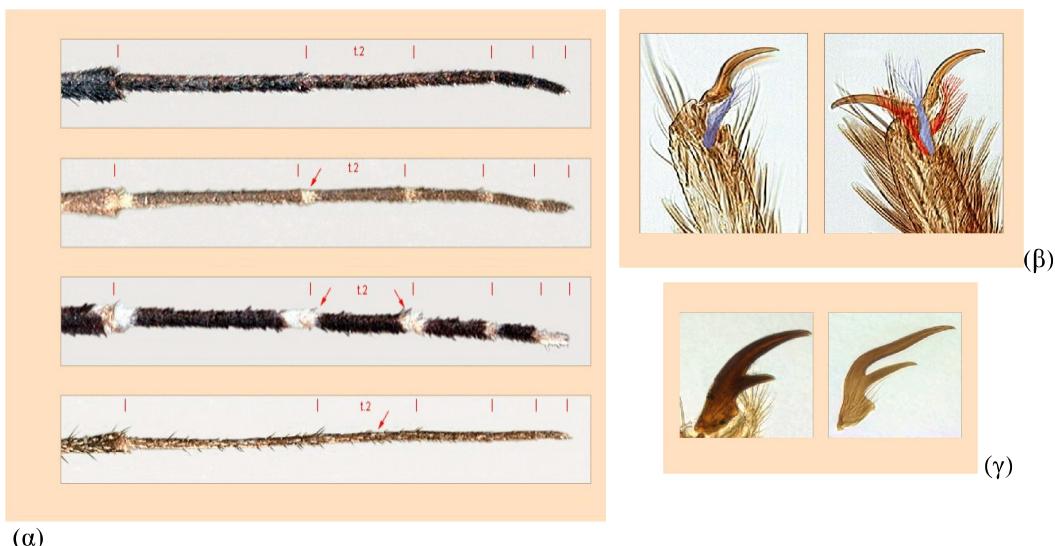
Τα κουνούπια φέρουν ένα ζεύγος καλά αναπτυγμένων και λειτουργικών μεμβρανωδών **πτερύγων**, οι οποίες φέρονται στο μεσοθώρακα. Οι πτέρυγες αποτελούν ένα πολύ σημαντικό στοιχείο για την αναγνώριση και ταξινόμηση των διαφόρων ειδών, καθώς τα νεύρα που φέρουν και οι διακλαδώσεις τους είναι πολύ χαρακτηριστικές και δεν απαντώνται σε κανένα άλλο είδος εντόμων (με εξαίρεση τα είδη των οικογενειών Dixidae και Chaoboridae, όπως έχει ήδη αναφερθεί, σελ. 13). Οι πτέρυγες των κουνουπιών διατρέχονται από 6 κύρια οριζόντια νεύρα, τα οποία χρησιμεύουν για τη στήριξη της πτέρυγας, και από τα οποία τα 3 νεύρα διακλαδίζονται περαιτέρω όπως φαίνεται στην Εικόνα 1.3. Επίσης εκτός των οριζόντιων νεύρων, υπάρχουν και 6 κάθετα σε αυτά νεύρα που τα τέμνουν σε διάφορα σημεία.

Σχεδόν όλα τα νεύρα στις πτέρυγες των κουνουπιών, καλύπτονται με λέπια εκτός από τα κάθετα νεύρα, τα οποία δεν φέρουν λέπια με εξαίρεση τα κουνούπια του γένους *Culiseta*. Επίσης, λέπια εν είδει «κροσσού», φύονται και κατά μήκος της οπίσθιας παρυφής της πτέρυγας. Ο αριθμός των λεπίων στις πτέρυγες και ο χρωματισμός τους καθορίζεται γενετικά και αποτελεί κύριο χαρακτηριστικό για την ταξινόμηση των διαφόρων ειδών.

Όπως ισχύει γενικά για τα δίπτερα έτσι και στα κουνούπια το δεύτερο ζεύγος πτερύγων έχει μετεξελιχτεί σε δύο ροπαλοειδή όργανα, τους **αλτήρες** (halteres). Οι αλτήρες αποτελούν γυροσκοπικό όργανο, του οποίου ο κύριος ρόλος εστιάζεται στο να διατηρεί την ισορροπία του εντόμου κατά τη διάρκεια της πτήσης.

Τα κουνούπια φέρουν τρία ζεύγη μακριών και λεπτών **ποδιών**, τα οποία φέρονται, από ένα σε κάθε θωρακικό τμήμα. Όταν αναφερόμαστε σε αυτά χρησιμοποιούμε τις λέξεις πρόσθια (fore), μεσαία (mid) και οπίσθια (hind) πόδια, αντίστοιχα με το μέρος του θώρακα στο οποίο βρίσκονται. Κάθε πόδι αποτελείται τυπικά από έξι τμήματα, το ισχίο (coxa), τον τροχαντήρα (trochanter), το μηρό (femur), την κνήμη (tibia), τον ταρσό (tarsus) και τον πρόταρσο (pretarsus) που από πολλούς θεωρείται το τελευταίο τμήμα του ταρσού (Εικόνα 1.2).

Έκτος από τον πρόταρσο, τα υπόλοιπα πέντε μέρη καλύπτονται σχεδόν εξ' ολοκλήρου με λέπια ποικίλων αποχρώσεων, ο συνδυασμός των οποίων είναι δυνατό να δώσει χαρακτηριστικές επιμήκεις γραμμές, δακτυλίους ή άλλα σχέδια, τα οποία αποτελούν διαγνωστικούς χαρακτήρες για την ταυτοποίηση των διαφόρων ειδών (Εικόνα 1.9α.).

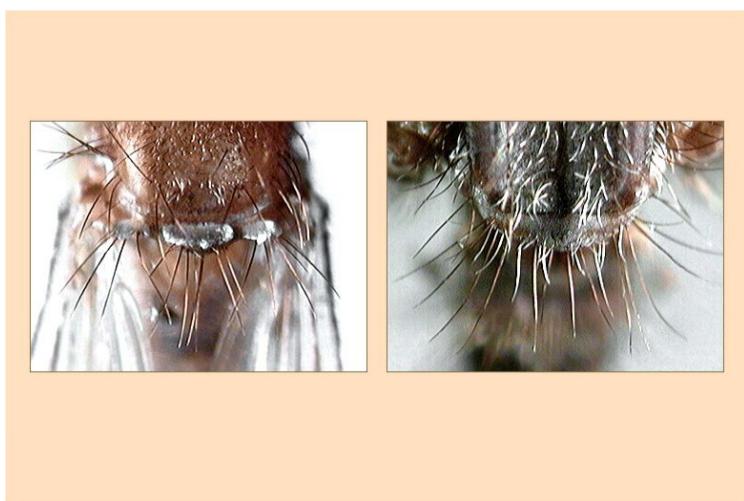


Εικόνα 1.9. α) διάφοροι τύποι ταρσών κουνουπιών, β) πρόταρσοι με τα εξαρτήματά τους, εμπόδιο (μπλε χρώμα), προσκολλητικοί λοβοί (κόκκινο χρώμα) και απλοί όνυχες, γ) οδοντωτοί όνυχες.

Ο ταρσός διαιρείται σε πέντε μέρη, τα ταρσομερή (tarsomeres), που χαρακτηρίζονται από απουσία εσωτερικών μυών. Στο 5^ο ταρσομερές ενώνεται ο πρόταρσος, ο οποίος αποτελείται από ένα ζεύγος ονύχων (claws ή ungules), ένα ζεύγος χνουδωτών σχηματισμών κάτω από κάθε όνυχα, τους προσκολλητικούς λοβούς (setose pulvilli) (δεν υφίστανται

πάντοτε) και ένα μεσαίο τριχοειδή σχηματισμό το ενδοπόδιο ή εμπόδιο (empodium). Το σχήμα των ονύχων των ποδιών, καθώς και το εάν είναι απλά ή φέρουν επιπλέον δόντι, αποτελούν σημαντικά ταξινομικά χαρακτηριστικά, για ορισμένα είδη (Εικόνα 1.9β,γ).

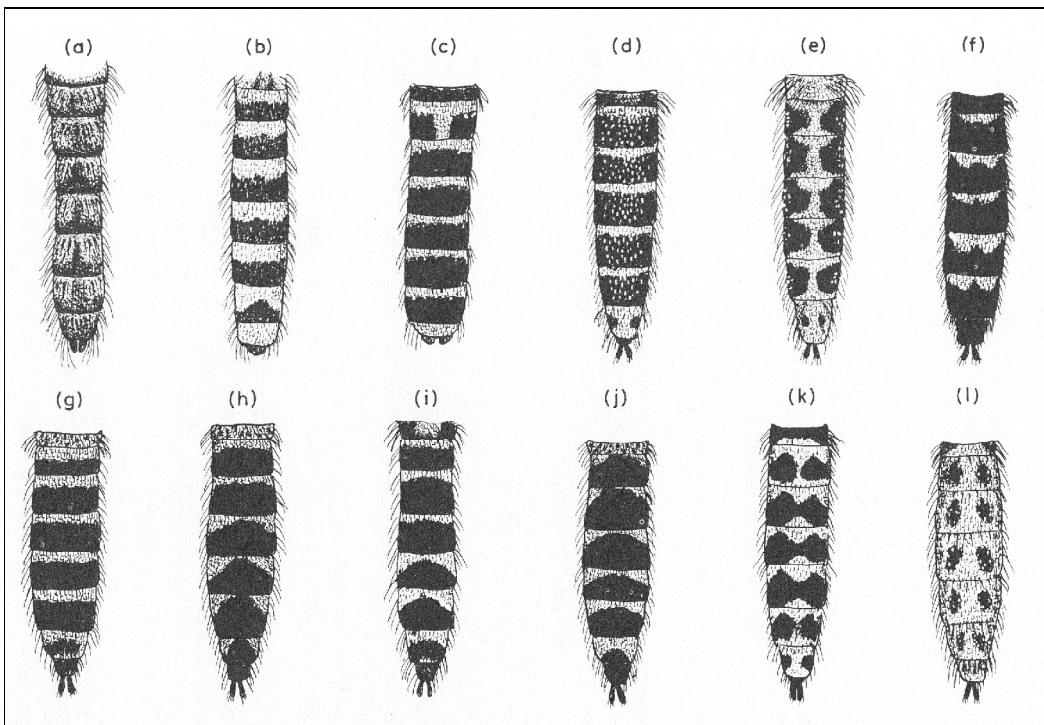
Τέλος, ο **Θυρεός** (scutellum) είναι το οπίσθιο τμήμα του μεταθώρακα και το σχήμα του αποτελεί χρήσιμο διαγνωστικό χαρακτηριστικό για τη διάκριση των ανωφελών από τα κοινά κουνουόπια. Στα ανωφελή φαίνεται ως ένας ενιαίος σκληρίτης, επάνω στον οποίο υπάρχουν από τη μία έως την άλλη άκρη του ομοιόμορφα κατανεμημένες σμήριγγες, ενώ στα κοινά κουνουόπια εμφανίζεται με τρεις λοβούς, όπου ο κάθε λοβός έχει από μία δέσμη σμηρίγγων (Εικόνα 1.10.).



Εικόνα 1.10. Θυρεός κοινών (αριστερά) και ανωφελών (δεξιά) κουνουπιών.

1.2.1.4. Κοιλία τέλειων κουνουπιών

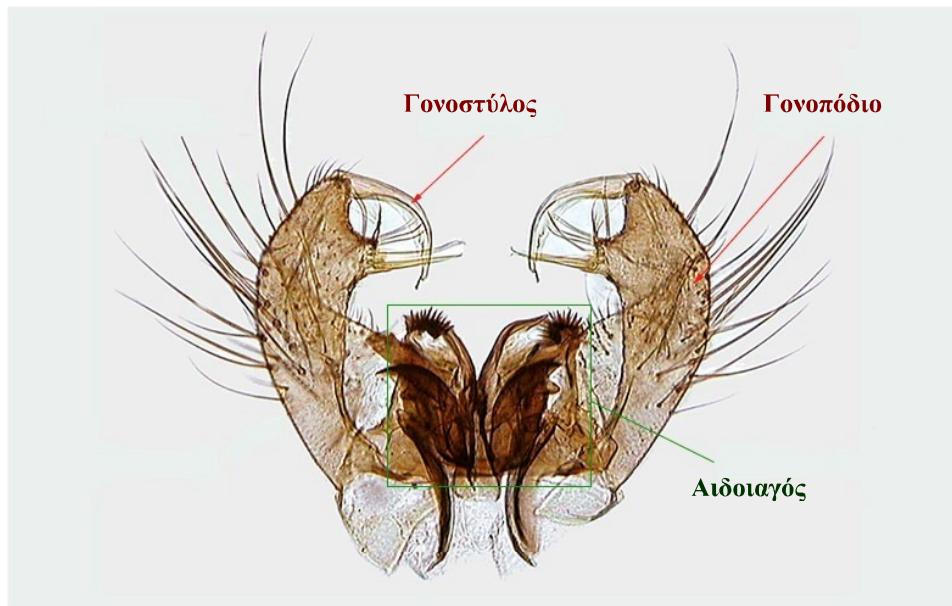
Η **κοιλία** (abdomen) των κουνουπιών είναι το οπίσθιο μέρος του σώματος και απαρτίζεται από 11 τμήματα που ονομάζονται ουρομερή ή μεταμερή (εξαρτήματα του οπίσθιου άκρου). Τα τμήματα αυτά μοιάζουν μεταξύ τους σε σχήμα, εκτός από τα δύο τελευταία ουρομερή, το 9° και 10° , τα οποία εισέρχονται τηλεσκοπικά στο 8° ουρομερές και έχουν εξελιχθεί σε εξωτερικά βιοηθητικά γεννητικά όργανα, που ονομάζονται κέρκοι (cerci). Κάθε ουρομερές αποτελείται από ένα ραχιαίο τεργίτη (tergum) και ένα κοιλιακό στερνίτη (sternum), που συνδέονται μεταξύ τους και στα πλευρά με ελαστικές μεμβράνες. Η ελαστικότητα των περιοχών αυτών, επιτρέπει στην κοιλία να ανδάνει σε όγκο όταν είναι γεμάτη με τροφή ή ώριμα ωά. Στην πλευρική όψη κάθε ουρομερούς υπάρχει ένα αναπνευστικό τρήμα (Εικόνα 1.8.).



Εικόνα 1.11. Διάφοροι τύποι κοιλίας θηλυκών κουνουπιών.

Τα κυριότερα εξαρτήματα που βρίσκονται στην κοιλιακή χώρα έχουν αναπαραγωγική χρησιμότητα και αποτελούν τα εξωτερικά γεννητικά όργανα (genitalia) των κουνουπιών. Ο γεννητικός οπλισμός του αρσενικού, ονομάζεται υποπύγιο (hypopygium) και βρίσκεται στο 9^ο κοιλιακό τμήμα. Συνίσταται από τα φαλλικά και περιφαλλικά όργανα και χρησιμεύει στο ζευγάρωμα.

Ο γεννητικός οπλισμός του αρσενικού αποτελείται τυπικά από δύο λαβίδες, τους γονοστύλους (gonostylus) που βοηθούν στη σύλληψη και συγκράτηση του θηλυκού κατά τη σύζευξη και από τον αιδοιαγό (aedeagus) που βρίσκεται μεταξύ των γονοστύλων. Ο αιδοιαγός αποτελείται από το φαλλό (phallus) και ένα ζευγάρι "παραμερών" (parameres), που φύονται στα πλάγια της βάσης του φαλλού και χρησιμοποιούνται για τη σύλληψη και συγκράτηση του γεννητικού οπλισμού του θηλυκού κατά τη σύζευξη. Ο γεννητικός οπλισμός του αρσενικού είναι, ως προς τη μορφή του, χαρακτηριστικός του κάθε είδους και χρησιμοποιείται από τους συστηματικούς για την ταξινόμηση και τον προσδιορισμό των γενών και ειδών, στην περίπτωση που τα εξωτερικά μορφολογικά χαρακτηριστικά των θηλυκών δεν εξασφαλίζουν με βεβαιότητα τον προσδιορισμό του είδους.



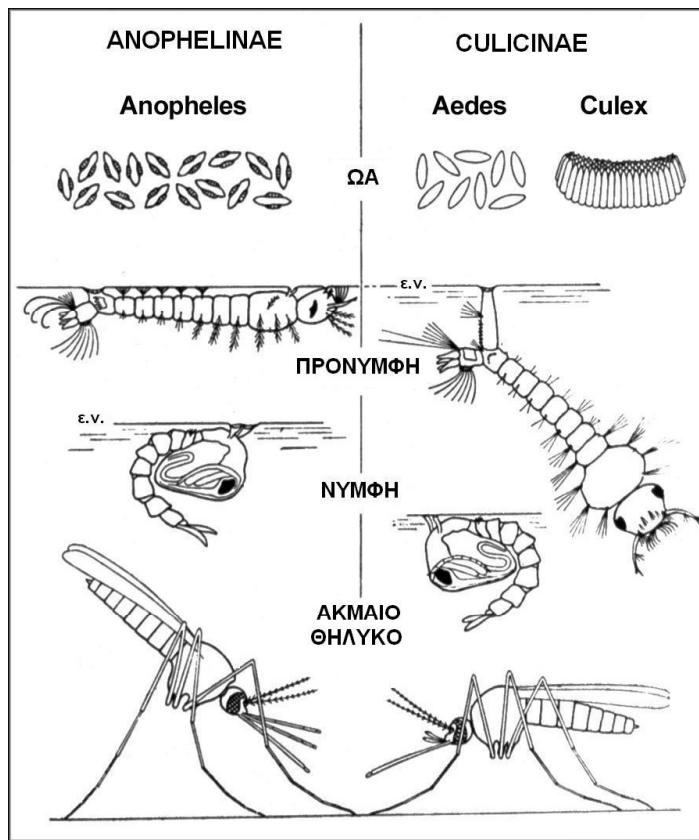
Εικόνα 1. 12. Υποπόγιο αρσενικού κουνουπιού με τον γεννητικό οπλισμό του.

Στα θηλυκά κουνούπια ο γεννητικός οπλισμός βρίσκεται στο 8^ο και 9^ο κοιλιακά τμήματα και χρησιμεύει στη σύζευξη καθώς και στην εναπόθεση των ωών κατά την ωτοκία. Τα θηλυκά κουνούπια δεν διαθέτουν ειδικόν ωθέτη και το ρόλο αυτό διαδραματίζουν τα ακραία κοιλιακά τμήματα.

1.2.1.5. Διάκριση ανωφελών και κοινών τέλειων κουνουπιών

Τα τέλεια άτομα ειδών του γένους *Anopheles* μπορούν να διακριθούν σχετικά εύκολα από τα υπόλοιπα είδη κουνουπιών της Υποοικογένειας Culicinae από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά.

- α) Στα ανωφελή οι χειλικές προσακτρίδες και των δύο φύλων είναι μακριές όσο και η προβοσκίδα τους ενώ στα κοινά αυτό ισχύει μόνο για τα αρσενικά. Στα θηλυκά είναι μικρότερες και συνήθως έχουν μήκος μικρότερο από το μισό του μήκους της προβοσκίδας (Εικόνα 1.5.).
- β) Το πίσω μέρος του θώρακα (θυρεός) των ανωφελών είναι κυκλικός ενώ των κοινών κουνουπιών ο θυρεός είναι τρίλοβος με τρίχες σε κάθε λοβό (Εικόνα 1.10.).
- γ) Το σώμα των ανωφελών όταν αναπαύονται σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια στην οποία κάθονται ενώ στα κοινά το σώμα διατηρείται σχεδόν παράλληλο με την επιφάνεια (Εικόνα 1.13.).
- δ) Η πλειονότητα των κοινών κουνουπιών δεν φέρει κηλίδες στις πτέρυγες.



Εικόνα 1.13. Χαρακτήρες για την εύκολη διάκριση κοινών και ανωφελών κουνουπιών σε όλα τα στάδια του βιολογικού τους κύκλου.

1.2.1.6. Βιολογία τέλειον

Τα κουνούπια μπορούν με βεβαιότητα να θεωρηθούν ως υπόδειγμα προσαρμοστικότητας ανώτερου οργανισμού σε μεγάλη ποικιλία οικοσυστημάτων. Για παράδειγμα, τα κουνούπια των εύκρατων περιοχών έχουν διαμορφώσει τρόπους ώστε να επιβιώνουν στους ψυχρούς χειμώνες ενώ το ίδιο ισχύει και για τους παθογόνους οργανισμούς που μεταφέρουν. Αντίστοιχα στις τροπικές χώρες, τα κουνούπια καταφέρνουν να επιβιώσουν με επιτυχία κατά τη διάρκεια των ξηρασιών, που σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να διαρκέσουν και χρόνια. Γενικά μπορεί να υποστηριχθεί ότι τα κουνούπια έχουν αποκήσει σχεδόν ολόκληρο τον πλανήτη εκτός από τις πολύ μεγάλες ερήμους και περιοχές όπως η Ανταρκτική που είναι μονίμως παγωμένες (Knight and Stone 1977, Becker *et al.* 2003).

Ανάλογα με το είδος τα κουνούπια παρουσιάζουν αρκετές διαφορές τόσο ως προς το είδος των εστιών ανάπτυξης των ατελών τους σταδίων, όσο και ως προς τις προτιμήσεις ξενιστών για τη λήψη αίματος αλλά και τις θέσεις ανάπτυξης ή διημέρευσης των τέλειων ατόμων.

Ανάλογα με το είδος του ξενιστή που προτιμούν για την αιμοληψία τους, διακρίνουμε είδη ζωόφιλα ή ζωοδίαιτα (προτιμούν κυρίως θηλαστικά ως ξενιστές), ορνιθόφιλα (πτηνά),

ερπετόφιλα (ερπετά) αλλά και πολυφάγα είδη τα οποία δεν περιορίζονται σε συγκεκριμένη μόνο κατηγορία σπονδυλωτών ζενιστών για να καλύψουν τις ανάγκες τους σε αίμα. Από το σύνολο των ειδών μόνον ένας μικρός συγκριτικά αριθμός ειδών κουνουπιών τρέφεται και από τον άνθρωπο, όταν μπορεί να έχει τη δυνατότητα αυτή. Τα είδη αυτά θεωρούνται ανθρωπόφιλα ή ανθρωποδίαιτα και είναι εν δυνάμει υπεύθυνα για τη μετάδοση ασθενειών στον άνθρωπο (Μπέτζιος 1989, Εμμανουήλ 1999, Σαββιοπούλου-Σουλτάνη 1999).

Με βάση τους χώρους στους οποίους τα κουνουπιά αναζητούν το ζενιστή τους τα διακρίνουμε σε αυτά που εισέρχονται με ευκολία στα σπίτια και λέγονται οικοδίαιτα ή ενδοφαγικά (endophagic) και τα αγροδίαιτα ή εξωφαγικά (exophagic) τα οποία συναντάμε κυρίως στην ύπαιθρο. Ανάλογα με τις θέσεις που προτιμούν για την ανάπτασή τους μετά την αιμοληψία ή κατά τη διάρκεια της ημέρας, διακρίνονται σε ενδόφιλα ή ενδοφιλικά (endophilic) και εξώφιλα ή εξωφιλικά (exophilic) είδη (προτιμούν εσωτερικούς ή εξωτερικούς χώρους αντίστοιχα). Υπάρχουν επίσης είδη που διασπείρονται σε μεγάλη ακτίνα γύρω από τις εστίες ανάπτυξής τους ενώ αλλά μπορούν να πετάξουν μόνο σε μικρές αποστάσεις για την ανεύρεση ζενιστή. Τέλος, ανάλογα με το μέγεθος του χώρου που χρειάζονται για την πτήση κατά τη σύζευξη διακρίνονται σε στενόγαμα και ευρύγαμα ενώ με βάση τις ώρες κατά τις οποίες δραστηριοποιούνται σε γυκτόβια και ημερόβια είδη (Μπέτζιος 1989, Εμμανουήλ 1999, Σαββιοπούλου-Σουλτάνη 1999).

Η γνώση των στοιχείων αυτών έχει πολύ μεγάλη αξία τόσο για την υγειονομική σημασία του κάθε είδους, αφού καθορίζουν την ικανότητα μετάδοσης πολλών ασθενειών, όσο και για το σχεδιασμό της κατάλληλης στρατηγικής για την επιτυχή αντιμετώπισή τους.

1.2.1.6.1. Γονιμοποίηση

Η γονιμοποίηση των θηλυκών κουνουπιών γίνεται συνήθως σε πολύ σύντομο χρονικό διάστημα μετά την έκδυσή τους από τη νύμφη και πολλές φορές λαμβάνει χώρα σε σμηνουργίες. Τα αρσενικά σχηματίζουν σμήνη από μερικά έως αρκετές εκατοντάδες ή και χιλιάδες άτομα και στα σμήνη αυτά εισέρχονται τα έτοιμα προς γονιμοποίηση θηλυκά κουνουπιά. Οι σμηνουργίες λαμβάνουν χώρα κυρίως τις βραδινές ώρες ή το πρωί και έχουν συνήθως τη μορφή νέφους εντόμων που αιωρείται και τα αρσενικά να επιδίδονται σε ένα είδος «γαμήλιου χορού» πετώντας μπρος-πίσω και πάνω-κάτω. Ο εντοπισμός από τα αρσενικά των θηλυκών που εισέρχονται στη σμηνουργία γίνεται κυρίως από τον ίχο που παράγουν κατά τη πτήση τους ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορεί να παίζει ρόλο και κάποια φερομόνη (Clements 1963, McIver 1980, Becker *et al.* 2003).

Ο χρόνος και η τοποθεσία που επιλέγεται για τη σμηνουργία διαφέρει ανάλογα με το είδος. Γενικά διακρίνουμε τα ευρύγαμα είδη στα οποία η γονιμοποίηση απαιτεί σμηνουργία και τα στενόγαμα για τα οποία η σμηνουργία δεν είναι απαραίτητη.

Συνήθως το αρσενικό και το θηλυκό ζευγαρώνουν πρόσωπο με πρόσωπο και πετούν έξω από το σμήνος. Κατά τη σύζευξη το αρσενικό αποθέτει ικανή ποσότητα σπέρματος στο θηλυκό το οποίο αποθηκεύεται στην σπερματοθήκη του. Συνήθως απαιτείται λιγότερο από μισό λεπτό για να αποθέσει το αρσενικό τα σπερματοζωάριά του στο γεννητικό άνοιγμα του θηλυκού ενώ στη συνέχεια, τα σπερματοζωάρια κινούνται προς τις σπερματοθήκες.

Τα αρσενικά κατά τη σύζευξη εναποθέτουν στα θηλυκά μια ουσία από ειδικούς αδένες τους, γνωστή ως matrone, η οποία μετά από την πρώτη σύζευξη καθιστά τα θηλυκά μη επιδεκτικά για σύζευξη για το υπόλοιπο της ζωής τους. Τα θηλυκά όμως έχουν ήδη αποθηκεύσει στις σπερματοθήκες τους ικανοποιητική ποσότητα σπέρματος για να γονιμοποιήσουν μεγάλο αριθμό ωαρίων χωρίς να χρειάζεται νέα σύζευξη (Clements 1963, Becker *et al.* 2010).

Σε αντίθεση με τα θηλυκά, τα αρσενικά κουνούπια μπορούν να συζευχτούν πολλές φορές κατά τη διάρκεια της ζωής τους.

1.2.1.6.2. Διατροφή – Αναζήτηση ξενιστή

Τόσο τα θηλυκά όσο και τα αρσενικά κουνούπια έχουν ανάγκη τροφής από υδατάνθρακες, ως πηγή ενέργειας για τις διάφορες δραστηριότητες που επιτελούν (πτήση, σύζευξη, ωοτοκία, κλπ.). Τέτοια τροφή επιζητούν και βρίσκουν υπό μορφή σακχαρούχων χυμών στο νέκταρ των ανθέων, στα μελιτώματα διαφόρων δένδρων ή τα φύλλα των φυτών, στα ώριμα φρούτα ακόμη και στις εκκρίσεις ορισμένων εντόμων όπως για παράδειγμα τις μελιτώδεις εκκρίσεις από τις αφίδες (Briegel and Kaiser 1973).

Τα αρσενικά κουνούπια τρέφονται αποκλειστικά με τους σακχαρούχους χυμούς ενώ τα θηλυκά μετά τη γονιμοποίηση απομακρύνονται προκειμένου να αναζητήσουν κατάλληλο ξενιστή για να μυζήσουν αίμα (Jepson and Healy 1988). Όπως έχει αναφερθεί τα νύσσοντος-μυζητικού τύπου (piercing and sucking type) στοματικά μόρια που έχουν αναπτύξει τα θηλυκά κουνούπια τους δίνουν τη δυνατότητα να διατρυπούν το δέρμα και να μυζούν αίμα από διάφορους ξενιστές (Magnarelli 1979, Clements 1992). Στα περισσότερα είδη η λήψη αίματος και κυρίως οι πρωτεΐνες που αυτό περιέχει είναι απαραίτητα για να ολοκληρωθεί η ωογένεση. Υπάρχουν όμως και ορισμένα είδη που ονομάζονται αυτόγονα ή αυτογενή (autogenous), όπως το *Culex pipiens* βιότυπος *molestus* και το *Culiseta subochrea*, τα οποία μπορούν και να παράξουν την πρώτη ομάδα ωάρων χωρίς να προηγηθεί λήψη αίματος (Snow 1990, Becker *et al.* 2003).

Η αναζήτηση κατάλληλου ξενιστή είναι αρκετά πολύπλοκη διαδικασία και περιλαμβάνει επεξεργασία διαφόρων οσφρητικών, οπτικών και θερμικών ερεθισμάτων.

Το κάθε είδος κουνουπιού έχει δική του μέθοδο εξεύρεσης ξενιστή αλλά γενικά μπορούμε να αναγνωρίσουμε σε τρεις κατηγορίες κουνουπιών ως προς την μέθοδο αναζήτησης ξενιστή (Sutcliffe 1987, Sutcliffe 1994, Becker *et al.* 2003).

- α) Τα είδη τα οποία πετούν χωρίς συγκεκριμένη κατεύθυνση αναζητώντας τυχαία το ξενιστή τους.
- β) Τα είδη που κατευθύνονται σε κάποια συγκεκριμένη κατεύθυνση ως αποτέλεσμα γενικότερων ερεθισμάτων που λαμβάνουν από την περιοχή αυτή (πχ. ύπαρξη φωτισμού).
- γ) Τα είδη που πηγαίνουν κατευθείαν σε κάποιον συγκεκριμένο ξενιστή, αφού τον έχουν εντοπίσει προηγούμενως στο γειτονικό τους περιβάλλον, με τα αισθητήρια που διαθέτουν.

Ανάλογα με την ακτίνα διασποράς τους και τις αποστάσεις που διανύουν προκειμένου τα θηλυκά να βρουν τον κατάλληλο ξενιστή, διακρίνουμε τα είδη σε διάφορες κατηγορίες (Clarke 1943, Provost 1953, Bidlingmayer 1971, Bidlingmayer *et al.* 1974, Bidlingmayer 1975, 1985).

- i) Αυτά τα οποία παραμένουν κοντά στις εστίες ανάπτυξής τους και δεν πετούν σε μεγάλες αποστάσεις, όπως για παράδειγμα το *Culex pipiens*, το οποίο συνήθως δεν απομακρύνεται περισσότερο από 500 μέτρα από το σημείο που έγινε η ανάπτυξη της προνύμφης.
- ii) Αυτά που διασπείρονται σε μέτριες αποστάσεις (έως περίπου 1600 μέτρα) από τις εστίες ανάπτυξής τους ή τα σημεία που αναπαύονται (π.χ. *Ochlerotatus rusticus* και *Aedes cinereus*) (Nielsen 1957).
- iii) Αυτά που μεταναστεύουν σε σχετικά μεγάλες αποστάσεις για να αναζητήσουν ξενιστή και κάνουν την αντίστροφη πορεία όταν πρόκειται να εναποθέσουν τα ωά τους. Ο Clarke (1943) κατέγραψε διασπορά μαρκαρισμένων θηλυκών του είδους *Aedes vexans* σε απόσταση 22 χιλιομέτρων ενώ οι Gjullin και Stage (1950) και ο Mohrig (1969), για το ίδιο είδος, κατέγραψαν διασπορά σε αποστάσεις μέχρι και 48 χιλιομέτρων.

Είδη που έχουν την τάση για μακρινές πτήσεις συνήθως δεν πετούν προς συγκεκριμένη κατεύθυνση αλλά ακολουθούν δύο τύπους συμπεριφοράς (Provost 1953). Ο πρώτος τύπος είναι η παθητική μετανάστευση (passive migration), που στην ουσία είναι ο παρασυρμός των εντόμων από τον αέρα. Για να γίνει αυτό τα κουνούπια ανεβαίνουν ψηλά, σχηματίζοντας σμήνη, και χρησιμοποιώντας τα ρεύματα του αέρα, παρασύρονται σε μεγάλες αποστάσεις. Με αυτό τον τρόπο είναι δυνατό να εμφανιστούν ξαφνικά μεγάλοι πληθυσμοί κουνουπιών πολύ μακριά από τις εστίες ανάπτυξής τους. Ο Bidlingmayer (1985) αναφέρει ότι αυτό συμβαίνει σε μικρό χρονικό διάστημα από την εμφάνιση των ενηλίκων.

Εκτός από τη παθητική μετανάστευση υπάρχει και η ενεργητική μετανάστευση (active dispersal ή appetitive flight) όπου η διασπορά γίνεται εκούσια προς διάφορες κατευθύνσεις. Κατά τη διάρκεια της μετανάστευσης αυτού του τύπου τα θηλυκά πετούν αντίθετα προς την πνοή τού ανέμου, όταν φυσικά η ταχύτητα του ανέμου είναι μικρότερη από την ταχύτητα πτήσης τους, περίπου 1m/sec (Bidlingmayer and Evans 1987), με σκοπό να μεγιστοποιήσουν τις πιθανότητες να αντιληφθούν τα διάφορα ερεθίσματα που θα τους φανερώσουν υποψήφιους ξενιστές. Τα είδη που αναπτύσσονται σε εκτεταμένες ανοιχτές εστίες συνήθως έχουν και την ικανότητα για ταχύτατες και δυνατές πτήσεις ενώ τα είδη που προτιμούν δασώδεις τοποθεσίες χαρακτηρίζονται ως μέτριας πτητικής ικανότητας. Τέλος τα είδη που συνήθως συναντάμε σε αστικές κατοικημένες περιοχές χαρακτηρίζονται από αδύναμες πτήσεις, ικανές για κοντινές μόνο αποστάσεις (Gillies and Wilkes 1972, Bidlingmayer 1975).

Σε μελέτες πεδίου, σχετικές με τη διασπορά των κουνουπιών καθ' ύψος, παρατηρήθηκε για είδη που ανήκουν στα γένη *Aedes* και *Ochlerotatus*, μεγαλύτερη συχνότητα σε συλλήψεις θηλυκών σε ύψος μέχρι και τέσσερα μέτρα από το έδαφος ενώ αντιθέτως, σε ύψος 10 μέτρων από το έδαφος, συλλέχθηκαν κυρίως κουνούπια του είδους *Culex pipiens*, σε ποσοστό 99,2 %. Το γεγονός αυτό έρχεται σε συμφωνία με τον χαρακτηρισμό των ειδών *Cx. pipiens* και *Culiseta morsitans* ως «օρνιθόφιλα» κουνούπια, αφού πετώντας και σε ύψος έχουν

πλεονέκτημα και σχετική ευκολία στο να αναζητούν πτηνά ακόμη και ψηλά στα δένδρα, ενώ αντιθέτως τα είδη των γενών *Aedes* και *Ochlerotatus*, τα οποία προτιμούν θηλαστικά, κυριαρχούν στα πιο χαμηλά επίπεδα (Becker *et al.* 2003).

Επίσης, η διασπορά των κουνουπιών επηρεάζεται από την αφθονία ή την έλλειψη του κατάλληλου ξενιστή σε μια περιοχή καθώς και τη θερμοκρασία, την υγρασία, την ένταση φωτισμού, την ταχύτητα και την κατεύθυνση των ανέμων και φυσικά από τη συνολική φυσιολογική κατάσταση των θηλυκών. Για παράδειγμα, τα περισσότερα είδη των γενών *Aedes* και *Ochlerotatus* μεταναστεύουν κατά τη διάρκεια του σούρουπου καθώς τότε παρατηρείται πτώση της θερμοκρασίας και αύξηση της υγρασίας. Επίσης, τις βραδιές με σεληνόφως τα κουνούπια εμφανίζονται συνήθως πιο ενεργητικά (Bidlingmayer 1964).

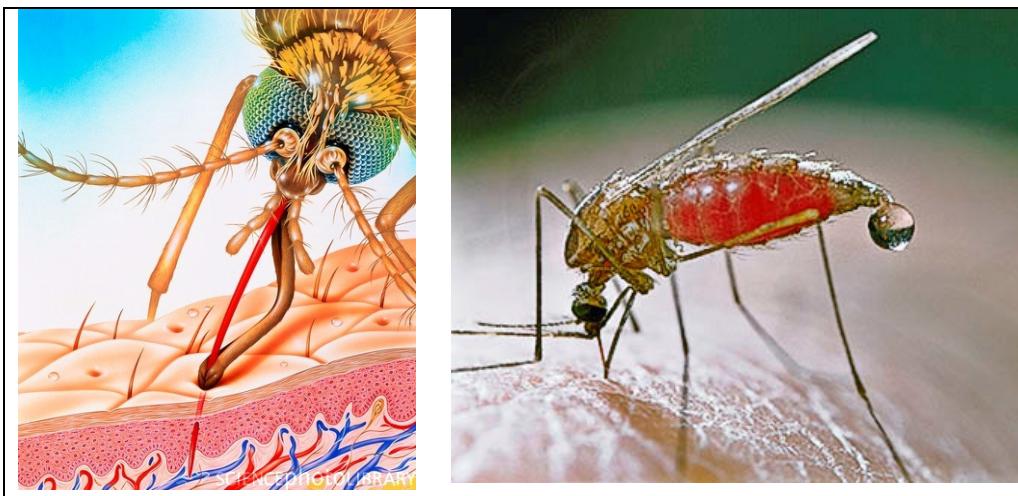
Για να εντοπίσουν τα θηλυκά κουνούπια κάποιο συγκεκριμένο ξενιστή θα πρέπει να λάβουν διάφορα ερεθίσματα από το υποψήφιο «θύμα». Για το λόγο αυτό τα θηλυκά διαθέτουν πολλούς οσφρητικούς υποδοχείς, κυρίως στις κεραίες τους, με τους οποίους αναγνωρίζουν συγκεκριμένες χημικές ενώσεις (πτητικά χημικά μόρια) ή διάφορες πτητικές ουσίες. Οι κυριότερες χημικές ουσίες που προσελκύουν ένα θηλυκό κουνούπι σε κάποιο υποψήφιο ξενιστή είναι το διοξείδιο του άνθρακα, το γαλακτικό οξύ, η οκτενόλη, η ακετόνη, η βουτανόνη και διάφορες φαινολικές ενώσεις (Gillies 1980, Becker *et al.* 2003).

Το διοξείδιο του άνθρακα θεωρείται το κυριότερο από τα στοιχεία που εντοπίζουν τα αισθητήρια όργανα στις προσακτρίδες (palps) των θηλυκών. Ο Kellogg (1970), αναφέρει ότι έχουν την ικανότητα να αντιλαμβάνονται μικρές αλλαγές στην πυκνότητα του στοιχείου αυτού στην ατμόσφαιρα, ίσες με 0,01%.

Σημαντικό ρόλο πολλές φορές παίζει και η όραση με την οποία ακόμα και υπό συνθήκες χαμηλού φωτισμού μπορούν να διακρίνουν εύκολα το περίγραμμα του ξενιστή, να αντιληφθούν τις κινήσεις του αλλά και το χρώμα και την αντίθεση που δημιουργεί με τον περιβάλλοντα χώρο. Τα χρώματα που γενικώς ελκύουν τα κουνούπια είναι το μπλε, το μαύρο και το κόκκινο ενώ τα λιγότερο ελκυστικά είναι το λευκό και το κίτρινο (Lehane 1991).

Επίσης, σε κοντινές αποστάσεις σημαντικό ρόλο παίζει και η θερμότητα που εκπέμπει το σώμα του ξενιστή καθώς τα κουνούπια μπορούν με ευκολία να ανιχνεύσουν θερμοκρασιακές διαφορές της τάξης του 0,2 °C (Lehane 1991).

Όταν το θηλυκό κουνούπι προσγειωθεί επάνω σε έναν υποψήφιο ξενιστή εξετάζει την επιδερμίδα του πριν τη τρυπήσει ώστε να βρει το κατάλληλο σημείο εισόδου της προβοσκίδας. Το πάχος και η θερμοκρασία της επιδερμίδας είναι καθοριστικά στοιχεία καθώς η επιφανειακή θερμοκρασία συνδέεται άμεσα από τον αριθμό των αιμοφόρων αγγείων κάτω από αυτή (Davis and Sokolove 1975). Όταν εντοπίσει το κατάλληλο σημείο τρυπά την επιδερμίδα και από το άνοιγμα εισχωρούν τα μέρη της προβοσκίδας που αποτελούν τον τροφικό αγωγό ενώ το κάτω χείλος (labium) κάμπτεται σταδιακά προς τα πίσω καθώς η προβοσκίδα εισχωρεί βαθύτερα κάτω από την επιφάνεια (Εικόνα 1.14.).



Εικόνα 1.14. Θηλυκά κουνούπια κατά τη στιγμή της αιμοληψίας.

Όπως έχει αναφερθεί, για να καταστεί δυνατή η μώζηση του αίματος μετά από την εισχώρηση της προβοσκίδας στον ξενιστή, το θηλυκό εκχύει σάλιο μέσω του σιελοφόρου αγωγού, το οποίο περιέχει αντιπηκτικές του αίματος ουσίες, οι οποίες είναι υπεύθυνες και για τους ερεθισμούς του δέρματος που συνήθως παρατηρούνται μετά τα τσιμπήματα των κουνουπιών.

Το αίμα που μπορεί να μυζήσει ένα θηλυκό κουνούπι μπορεί ξεπεράσει έως και τρεις φορές το βάρος του σώματός του ενώ η ποσότητα μπορεί να διαφέρει από είδος σε είδος. Πολλά ανωφελή κουνούπια ικανοποιούνται με 1-2,5 mg αίματος ενώ ορισμένα μεγαλύτερα σε μέγεθος είδη, έχουν χωρητικότητα για ποσότητα αίματος έως 6-10 mg (*Culiseta annulata*, *Culex quinquefasciatus*, *Ochlerotatus cantans*) (Nayar and Sauerman 1975).

1.2.1.6.3. Διαβίωση τέλειων - Ωτοκία

Αφού ολοκληρωθεί η ωογένεση μετά από τη λήψη αίματος, κάθε θηλυκό, ανάλογα με το είδος, αποθέτει τα ωά που είναι ώριμα και είναι πάλι έτοιμο να αναζητήσει νέο ξενιστή, για τη λήψη νέας ποσότητας αίματος και την παραγωγή δεύτερης ομάδας ωών. Ανάλογα με τις συνθήκες του περιβάλλοντος και τη διαθεσιμότητα ξενιστή, η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνεται αρκετές φορές, χωρίς να είναι απαραίτητη δεύτερη γονιμοποίηση.

Η διάρκεια ζωής των ενήλικων κουνουπιών εξαρτάται κατά πολύ από τις συνθήκες του περιβάλλοντος όπως η θερμοκρασία και η φωτοπερίοδος. Τα αρσενικά γενικά ζουν λίγες μόνο ημέρες, κατά τις οποίες συνήθως γονιμοποιούν αρκετά θηλυκά χωρίς να απομακρύνονται από την εστία ανάπτυξης των προνυμφών.

Τα θηλυκά κουνούπια ζουν περίπου για τρεις ως τέσσερις εβδομάδες αν και τα θηλυκά ορισμένων ειδών, κυρίως των γενών *Anopheles*, *Culex*, *Culiseta* και *Uranotaenia*, μπορούν να επιζήσουν ακόμη και για μερικούς μήνες καθώς διαχειμάζουν στο στάδιο αυτό. Τα γονιμοποιημένα θηλυκά που πρόκειται να διαχειμάσουν, συνήθως βρίσκουν καταφύγιο σε προφυλαγμένα σημεία με σχετικά σταθερή θερμοκρασία όπως σπήλαια, εσωτερικό κατοικιών, υπόγεια, κελάρια, στάβλους, τούνελ και τρύπες στο έδαφος.

Την επόμενη άνοιξη, με την άνοδο της θερμοκρασίας δραστηριοποιούνται και μετά από μια τουλάχιστον λήψη αίματος, πραγματοποιούν την πρώτη ωοτοκία.

1.2.2. Ωοτοκία κουνουπιών και στάδιο ωού

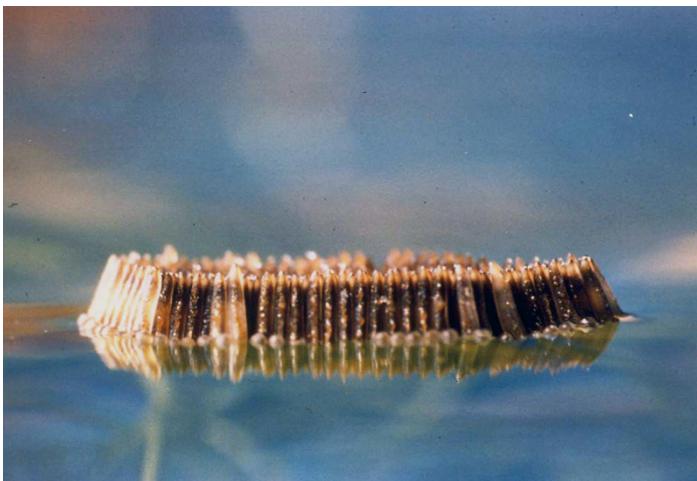
Τα θηλυκά κουνούπια, μετά τη γονιμοποίησή τους από τα αρσενικά, τη λήψη αίματος και την ωρίμαση των ωών μέσα στο σώμα τους αποθέτουν τα ωά τους σε κατάλληλη για το κάθε είδος υδάτινη εστία. Ο αριθμός των ωών ποικίλει ανάλογα με το είδος και συνήθως κυμαίνεται από 50 έως 500, ωά τα οποία αποθέτονται 2-4 ημέρες μετά από το πρώτο γεύμα αίματος. Μετά την πρώτη ωοτοκία μπορεί να ακολουθήσουν και άλλες ωοτοκίες, οι οποίες μπορεί να φτάσουν και τις 10, συνήθως με μικρότερο αριθμό ωών. Γενικά, τα θηλυκά κουνούπια ωοτοκούν κατά μέσο όρο 4-6 φορές κατά τη διάρκεια της ζωής τους.



Εικόνα 1.15. Θηλυκό κουνούπι του γένους *Culex* κατά τη στιγμή της ωοθεσίας.

Τα ωά των κουνουπιών έχουν ωοειδές σχήμα, μήκος περίπου 0,5 mm έως το πολύ 1 mm και αρχικά όταν εναποτίθενται είναι μαλακά με λευκό χρώμα (Εικόνα 1.15.). Σύντομα όμως μετά την επαφή τους με την ατμόσφαιρα, σε διάστημα 2 περίπου ωρών, γίνονται σκληρύτερα και αποκτούν σκούρο καστανό ή μαύρο χρώμα (Εικόνα 1.16,α). Σε κάθε ωό διακρίνομε το σώμα, τη ραχιαία και την κοιλιακή επιφάνεια, τους πόλους ενώ ορισμένα όπως τα ωά των ανωφελών διαθέτουν και άλλα εξαρτήματα όπως οι πλωτήρες ή αεροθάλαμοι που βρίσκονται στο μέσο της πλάγιας επιφάνειας του ωού (Εικόνα 1.16,β). Το μέγεθος και η μορφολογία των ωών μπορεί να διαφέρει σημαντικά από είδος σε είδος και συχνά αποτελούν πολύτιμους διαγνωστικούς χαρακτήρες για τον προσδιορισμό του γένους ή και του είδους (πχ. τα ωά των ανωφελών φέρουν χαρακτηριστικά στύγματα ή ραβδώσεις στην επιφάνειά τους).

Τα ωά των κουνουπιών του γένους *Orthopodomyia* διατρέχονται από μια «δαντέλα» στην περιφέρειά τους, ενώ των γενών *Mansonia* ή *Coquillettidia* εναποθέτονται κατά ομάδες, στερεωμένα σε υδρόβια φυτά.



(α)



(β)



(γ)



(δ)

Εικόνα 1.16. Ωά κουνουπιών (α) *Culex* sp., (β) *Anopheles* sp., (γ) *Aedes* sp., (δ) *Mansonia* sp.

Τα διάφορα είδη κουνουπιών μπορεί να διαφέρουν σημαντικά, τόσο ως προς τη συμπεριφορά και τον τρόπο εναπόθεσης των ωών τους όσο και ως προς τη βιολογία των ωών τους και συγκεκριμένα κατά πόσο τα ωά τους θα εκκολαφθούν σχετικά σύντομα ή θα περάσουν από περίοδο "ύπνωσης" (dormancy), ή περίοδο διάπαυσης (diapause) (Barr 1958).

Στην πρώτη κατηγορία, όπου τα ωά εκκολάπτονται συνήθως αμέσως μετά από την εμβρυική ανάπτυξη, η οποία συνήθως διαρκεί μερικές ημέρες, ανήκουν κουνούπια του γένους *Anopheles*, τα οποία εναποθέτουν τα ωά τους ένα-ένα στην επιφάνεια του υδάτινου φορέα καθώς και κουνούπια των γενών *Culex*, *Uranotaenia*, *Coquillettidia*, *Orthopodomyia* και ορισμένα του γένους *Culiseta*, τα οποία εναποθέτουν τα ωά τους κατά σωρούς, συνήθως κολλημένα μεταξύ τους σε κατασκευές που ονομάζονται «σχεδίες ωών» (egg rafts) και οι οποίες επιπλέουν στην επιφάνεια του νερού (Εικόνα 1.16,α). Η μια επιφάνεια του ωού είναι υδρόφιλη ενώ η άλλη είναι υδρόφιβη. Αποτέλεσμα αυτού είναι ότι η σχεδία ωών να έρχεται σε επαφή με την επιφάνεια του νερού πάντα με συγκεκριμένη πλευρά (Becker *et al.* 2003).

Τέλος, τα κουνούπια των γενών *Mansonia* ή *Coquillettidia* είναι εφοδιασμένα με ειδικά τερματικά νήματα με τα οποία προσκολλώνται στην υδρόβια βλάστηση και τους επιτρέπουν να είναι βυθισμένα κάτω από την επιφάνεια του νερού (Εικόνα 1.16,δ).

Τα είδη της παραπάνω κατηγορίας συμπληρώνουν περισσότερες από μια γενεές κάθε χρόνο, πάντοτε σε συνάρτηση με την εποχή του έτους και τη θερμοκρασία, η οποία είναι ο κυριότερος αβιοτικός παράγοντας που επηρεάζει την εμβρυογένεση και την ταχύτητα εξέλιξης των ωών. Για το είδος *Cx. pipiens*, οι προνύμφες εκκολάπτονται σε μια ημέρα μετά την εναπόθεση των ωών, όταν η θερμοκρασία είναι 30 °C ενώ σε θερμοκρασίες 20 °C και 10 °C απαιτούνται 3 και 10 ημέρες αντίστοιχα. Σε θερμοκρασία 4 °C ή χαμηλότερη, η εμβρυογένεση των ωών του είδους αυτού δεν μπορεί να ολοκληρωθεί.

Στη δεύτερη κατηγορία, όπου τα ωά δεν θα εκκολαφθούν αμέσως, ανήκουν κυρίως τα κουνούπια των γενών *Aedes* και *Ochlerotatus* καθώς και είδη του γένους *Culiseta* (υπογένος *Culicella*). Τα είδη αυτά εναποθέτουν τα ωά τους ένα-ένα, όχι απευθείας στο νερό, αλλά σε υγρά και λασπώδη σημεία, τα οποία προστατεύονται από ενδεχόμενη ξηρασία μέχρι να ολοκληρωθεί η εμβρυογένεσή τους (Clements 1992). Εναλλακτικά, ορισμένα είδη των γενών *Aedes* και *Ochlerotatus* προσκολλούν τα ωά τους στα τοιχώματα της εστίας που επιλέγουν ή σε άλλα υλικά γύρω ή έξω από τις εστίες ή στην παρακείμενη υδρόβια βλάστηση σε σημεία που θα κατακλυντούν κάποια στιγμή από το νερό. Πολλά είδη μάλιστα των παραπάνω γενών διαχειμάζουν στο στάδιο του ωού.

1.2.2.1. Επιλογή της θέσης ωοθεσίας

Ένα σημαντικό έργο της ζωής των γονιμοποιημένων θηλυκών κουνουπιών είναι η επιλογή του κατάλληλου σημείου για την εναπόθεση των ωών του και την ασφαλή ανάπτυξη των προνυμφών που θα προέλθουν από αυτά. Για να πραγματοποιηθεί αυτό, το θηλυκό άτομο αναπτύσσει ιδιαίτερη συμπεριφορά χάρη στην οποία ανακαλύπτει πιθανά σημεία ωοθεσίας και τα αξιολογεί ως προς την καταλληλότητά τους.

Η επιλογή της κατάλληλης θέσης είναι αποτέλεσμα της αλληλεπίδρασης πολλών ενδογενών και εξωγενών παραγόντων, όπως η φυσική κατάσταση του εντόμου και οι περιβαλλοντικές συνθήκες ενώ σημαντικότατο ρόλο παίζουν και οι καλά αναπτυγμένες αισθήσεις του και κυρίως η όραση και η αφή με τις οποίες τα θηλυκά κουνούπια ελέγχουν τα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της κάθε πιθανής εστίας (Bentley and Day 1989, Klowden 1995).

Σε γενικές γραμμές οι προϋποθέσεις που πρέπει να πληρεί μια εστία για να είναι κατάλληλη για την εναπόθεση των ωών από τα θηλυκά κουνούπια είναι:

(α) Το υπόστρωμα πάνω στο οποίο θα γεννηθούν τα ωά θα πρέπει να είναι αρκετά υγρό κατά τη στιγμή της εναπόθεσης προκειμένου να εξασφαλιστεί ότι τα νεογεννηθέντα ωά, που είναι πολύ ευαίσθητα σε οποιαδήποτε απώλεια νερού, δεν θα αφυδατωθούν μέχρι τουλάχιστον να σκληρύνει η επιδερμίδα τους (χορίον).

(β) Θα πρέπει το νερό της εστίας να διατηρηθεί για ικανό χρονικό διάστημα ή να υπάρξει μια επόμενη και ικανοποιητική πλημμύρα της εστίας ώστε τα ωά που έχουν γεννηθεί,

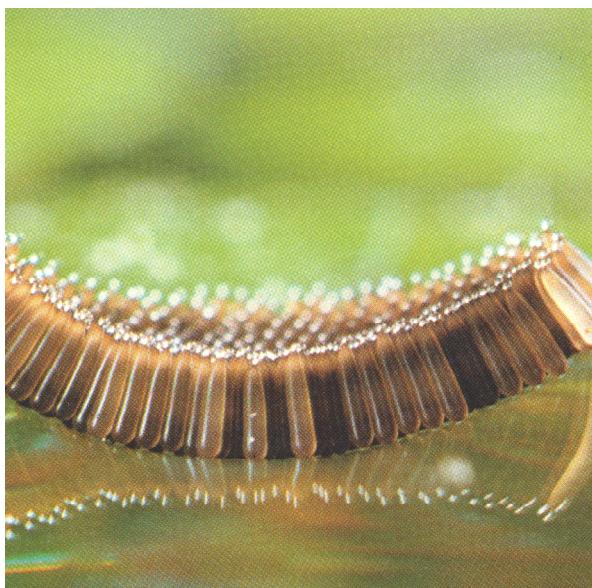
να εκκολαφθούν και τα ανώριμα στάδια να συμπληρώσουν επιτυχώς την ανάπτυξή τους μέχρι την εμφάνιση του τέλειου.

(γ) η υδατική εστία θα πρέπει να έχει όσο το δυνατό λιγότερα αρπακτικά, ώστε να εξασφαλιστεί ότι οι προνύμφες όταν εκκολαφθούν δεν θα αποτελέσουν λεία των φυσικών τους εχθρών.

(δ) η ύπαρξη οργανικού υλικού στο νερό διαδραματίζει σημαντικό ρόλο καθώς αποτελεί και την κύρια πηγή τροφής των προνυμφών.

Πολλά είδη κουνουπιών επηρεάζονται ως προς την επιλογή της θέσεως ωοτοκίας τους από κάποια χημική διέγερση ενώ σε ορισμένα είδη επιδρούν χημικοί παράγοντες οι οποίοι είναι αποτέλεσμα προγενέστερης ή ταυτόχρονης παρουσίας προνυμφών, νυμφών ή ωών κουνουπιών στη συγκεκριμένη θέση ωοθεσίας (Bentley and Day 1989).

Είναι γνωστό ότι τα ωά ορισμένων ειδών κουνουπιών των γενών *Culex*, *Culiseta* και *Uranotaenia*, τα οποία αποθέτουν τα ωά τους σε μορφή σχεδίας, φέρουν μικροσταγονίδια μιας φερομόνης ωοθεσίας (oviposition pheromone) (Εικόνα 1.17). Η φερομόνη αυτή είναι φερομόνη συναθροίσεως και δρα ως «υποκινητής» για να εναποθέσουν στην ίδια εστία τα ωά τους και άλλα θηλυκά του ιδίου είδους (Starratt and Osgood 1972, 1973, Laurence and Pickett 1985) ή και ακόμη και διαφορετικού είδους από το ίδιο σύμπλεγμα ειδών (species complex) (Clements 1999, Michaelakis *et al.* 2005, Michaelakis *et al.* 2006).



Εικόνα 1.17. Σχεδία ωών κουνουπιών του γένους *Culex*. Στο άνω άκρο του κάθε ωού διακρίνεται το σταγονίδιο το οποίο περιέχει τη φερομόνη ωοθεσίας.

Αν και υπάρχουν ακόμη πολλά αναπάντητα ερωτήματα, η επιλογή του κατάλληλου υδάτινου φορέα, φαίνεται να επηρεάζεται από παράγοντες όπως η ποιότητα του νερού, η

ηλιοφάνεια, η παρουσία άλλων ωών, η επάρκεια τροφής, η τοπική χλωρίδα. η ύπαρξη φυσικών και άλλων κινδύνων όπως οι ανταγωνιστικοί οργανισμοί κλπ. (Becker *et al.* 2003).

Έχει βρεθεί επίσης, ότι το νερό στο οποίο έχουν ήδη αναπτυχθεί προνύμφες κουνουπιών (Gjullin *et al.* 1965) ή περιέχει διάφορα εκχυλίσματα από οργανικά υλικά όπως άχυρο ή χλοοτάπητα προτιμάται από τα έτοιμα προς ωτοκία θηλυκά κουνούπια (Millar *et al.* 1992). Είδη που επιλέγουν να ωτοκούν σε υδάτινες εστίες με ευτροφισμό, όπως τα *Culex pipiens*, *Cx. quinquefasciatus* και *Cx. restuans*, είναι πιθανόν να προτιμούν αυτές τις εστίες λόγω των πτητικών μικροβιακών υποπροϊόντων που δημιουργούνται στα νερά των εστιών αυτών (Ikeshoji *et al.* 1975, Millar *et al.* 1992). Προφανώς, πτητικές ουσίες όπως η αμμωνία, το μεθάνιο και το διοξείδιο του άνθρακα, οι οποίες απελευθερώνονται κατά την αποσύνθεση της οργανικής ύλης, είναι ελκυστικές για τα κουνούπια και αποτελούν μήνυμα για τα ώριμα προς ωτοκία θηλυκά ότι ένα τέτοιο περιβάλλον αποτελεί ιδανική εστία για την ανάπτυξη των προνυμφών τους (Becker 1989).

Οι Sandra και Kline (1995) επίσης απέδειξαν ότι οι οργανικές ουσίες 3-μεθυλινδόλη και 4-αιθυλφαινόλη προσελκύουν κουνούπια του είδους *Aedes albopictus* ενώ επίσης για το συγκεκριμένο είδος σημαντικό ρόλο παίζει ακόμη και το χρώμα της θέσης ωθεσίας. Τα τέλεια θηλυκά ανταποκρίνονται περισσότερο στα μήκη κύματος του μπλε ορατού φάσματος φωτός και έλκονται συνήθως από σκούρα αντικείμενα για την επιλογή της θέσης ωτοκίας (Williams 1962, McDaniel *et al.* 1976, Hilburn *et al.* 1983, Isoe *et al.* 1995, Bellini *et al.* 1996).

Για τα είδη του γένους *Coquillettidia* απαιτείται η αναγνώριση συγκεκριμένων υδρόβιων φυτών εντός του υδάτινου φορέα, καθώς οι προνύμφες και οι νύμφες του γένους αυτού λαμβάνουν οξυγόνο με την εισαγωγή του ειδικά τροποποιημένου σιφωνίου, που διαθέτουν, τρυπώντας τους ιστούς των συγκεκριμένων φυτών, κάτω από την επιφάνεια του νερού, και αναπνέοντας διαμέσου των αεραγωγών των φυτών.

1.2.2.2. Εκκόλαψη

Όπως έχει προαναφερθεί, τα ωά των κουνουπιών που ανήκουν στα υπογένη που δεν περνούν περίοδο "ύπνωσης" ή διάπαυσης, εκκολάπτονται σχεδόν αμέσως μετά την ολοκλήρωση της εμβρυικής τους ανάπτυξης, ενώ τα ωά των υπογενών *Aedes* και *Ochlerotatus* έχουν αναπτύξει έναν πολυσύνθετο μηχανισμό που ρυθμίζει την διαδικασία της εκκόλαψης. Ο μηχανισμός αυτός αποτελεί προφύλαξη από τις μεγάλες αβιοτικές διακυμάνσεις που πιθανόν να επικρατούν στις παροδικές υδάτινες συλλογές καθώς και στο μικροπεριβάλλον της περιοχής στην οποία τα είδη αυτά διαβιούν (Beach 1978, Becker 1989).

Απαραίτητη προϋπόθεση για την επιτυχή ανάπτυξη των διαφόρων κουνουπιών είναι η εκκόλαψη των ωών να συμπίπτει χρονικά με τις ιδανικές για αυτά συνθήκες επιβίωσης. Για να επιτευχθεί αυτό η εκκόλαψη μπορεί να καθυστερήσει χρονικά ενώ έχει παρατηρηθεί ότι ωά κουνουπιών σε διάπαυση μπορεί να αντέξουν σε θερμοκρασίες πολύ πιο κάτω από το σημείο πήξης του νερού (Brust and Costello 1969).

Οι σημαντικότεροι περιβαλλοντικοί παράγοντες που επηρεάζουν καθοριστικά τη χρονική στιγμή της εκκόλαψης είναι η ποσότητα του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό των εστιών και η θερμοκρασία του νερού.

Έτσι τα ωά εκκολάπτονται συνήθως μόνο όταν τα νερά της εστίας γίνουν αβαθή και στάσιμα και η περιεκτικότητά τους σε διαλυμένο οξυγόνο, λόγω της αποσύνθεσης της οργανικής ύλης από ορισμένους μικροοργανισμούς, αρχίζει να μειώνεται. Αυτό εξασφαλίζει ότι δεν θα διατρέξουν τον κίνδυνο να παρασυρθούν από τα ορμητικά νερά ενώ η αποσύνθεση της οργανικής ύλης είναι ένα στοιχείο το οποίο δηλώνει ότι υπάρχει επάρκεια τροφής στην εστία. Επιπλέον τα αβαθή στάσιμα νερά δεν αποτελούν ιδανικό χώρο ανάπτυξης για πολλούς από τους άλλους υδρόβιους οργανισμούς, όπως τα ψάρια, τα οποία δρουν ανταγωνιστικά με τις προνύμφες των κουνουπιών.

Η θερμοκρασία παίζει καθοριστικό ρόλο καθώς η πιθανή πρόωρη εκκόλαψη των ωών, κατά την διάρκεια ψυχρού καιρού, θα καθυστερούσε σημαντικά την ανάπτυξη των προνυμφών και νυμφών τους και θα τις καθιστούσε περισσότερο ευάλωτες σε πιθανούς κινδύνους (Becker *et al.* 2003).

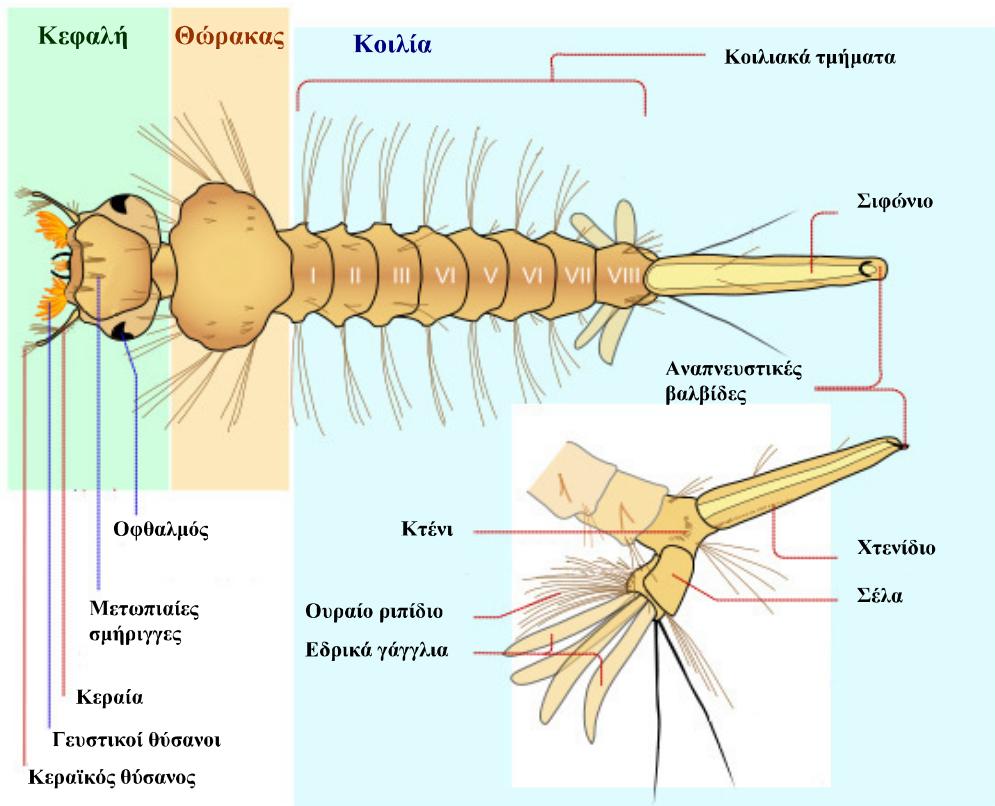
Ένα ακόμη σημαντικό χαρακτηριστικό των ωών, για τα είδη που διαχειμάζουν στο στάδιο αυτό, είναι ότι εκκολάπτονται σταδιακά, γεγονός το οποίο προστατεύει τα συγκεκριμένα είδη από φυσικές καταστροφές ή άλλους φυσικούς παράγοντες οι οποίοι θα μπορούσαν να εξολοθρεύσουν τις πρώτες γενεές. Σε πείραμα που έγινε σε έδαφος το οποίο περιείχε ωά του είδους *Aedes vexans*, σε θερμοκρασία 25 °C και μετά από τέσσερις φάσεις πλημμυρίδας και ξηρασίας, καταμετρήθηκαν τα ακόλουθα ποσοστά εκκόλαψεως (Becker 1989):

- | | | |
|----------------------------|-------------------|-----|
| 1 ^η πλημμυρίδα: | ποσοστό εκκόλαψης | 57% |
| 2 ^η πλημμυρίδα: | ποσοστό εκκόλαψης | 10% |
| 3 ^η πλημμυρίδα: | ποσοστό εκκόλαψης | 25% |
| 4 ^η πλημμυρίδα: | ποσοστό εκκόλαψης | 8% |

Η συμπεριφορά αυτή διασφαλίζει την επιβίωση των ειδών που αναπτύσσονται σε παροδικές συλλογές νερού. Είναι αξιοσημείωτο ότι τα μη εκκολαφθέντα ωά έχουν την δυνατότητα να διατηρηθούν αναλλοίωτα έως και για τέσσερα έτη, για ορισμένα είδη (Horsfall *et al.* 1973).

1.2.3. Προνύμφη (larva)

Οι προνύμφες των κουνουπιών είναι σκωληκόμορφες και στερούνται βαδιστικών εξαρτημάτων. Είναι αποκλειστικά υδρόβιες αλλά προσλαμβάνουν το οξυγόνο που χρειάζονται από τον ατμοσφαιρικό αέρα. Το σώμα τους χωρίζεται σε τρία κύρια μέρη: α) την κεφαλή, β) το θώρακα και γ) την κοιλία.

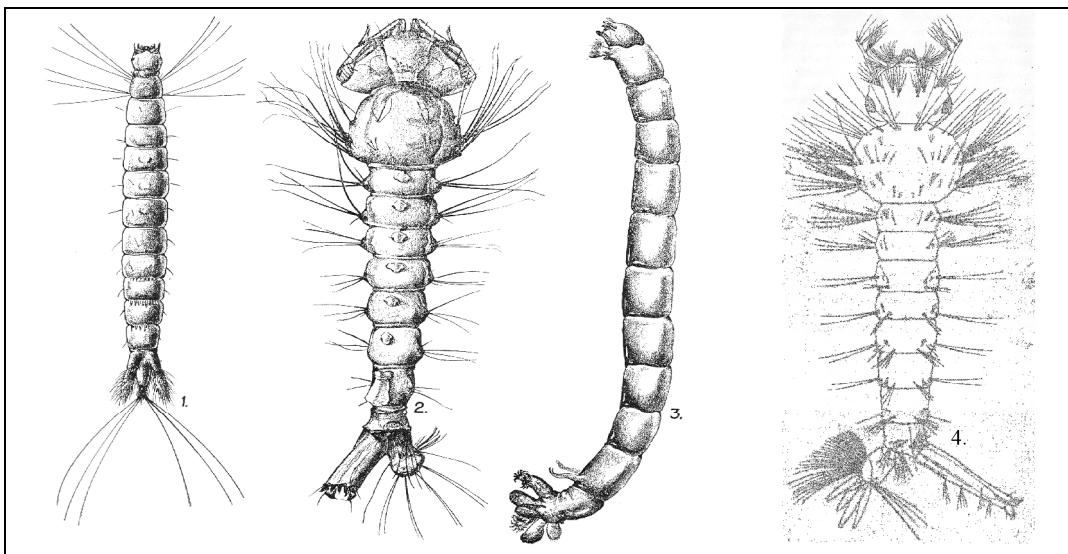


Εικόνα 1.18. Εξωτερικά βασικά μορφολογικά χαρακτηριστικά προνύμφης κοινού κουνουπιού.

1.2.3.1. Διάκριση από συγγενή δίπτερα

Η διάκριση των προνυμφών των κουνουπιών από τις υδρόβιες προνύμφες άλλων δίπτερων γίνεται σχετικά εύκολα, με την παρατήρηση ενός συνδυασμού χαρακτηριστικών όπως:

- α) την έλλειψη βαδιστικών εξαρτημάτων στο θώρακα,
- β) ο θώρακας είναι πλατύτερος από τα άλλα δύο μέρη του σώματος της προνύμφης,
- γ) είναι αισθητή η παρουσία των γενυτικών θυσάνων (palatal brushes) στην κεφαλή (εξαιρέσεις μπορεί να παρατηρούνται μόνο μεταξύ των σαρκοφάγων ειδών του γένους *Toxorhynchites*),
- δ) φέρουν αναπνευστικό σωλήνα ή σιφώνιο (siphon) το οποίο βρίσκεται στο VIII κοιλιακό τμήμα και χαρακτηρίζει τις προνύμφες όλων των γενών κουνουπιών, εκτός από τα *Anopheles*,
- ε) οι προνύμφες των κουνουπιών εμφανίζουν χαρακτηριστική κίνηση μέσα στο νερό.



Εικόνα 1.19. Υδρόβιες προνύμφες συγγενών διπτέρων: (1) Οικογένεια Dixidae, (2) Οικογένεια Chaoboridae, (3) Οικογένεια Chironomidae και (4) Οικογένεια Culicidae.

Οι προνύμφες οι οποίες μορφολογικά μοιάζουν περισσότερο με αυτές των κουνουπιών και συχνά συγχέονται, είναι οι προνύμφες των διπτέρων της Οικογένειας Chaoboridae. Ξεχωρίζουν από αυτές των κουνουπιών από τη μεγάλη κεφαλή που είναι ίση ή φαρδύτερη του θώρακα και από τις μακριές τους κεραίες με τις οποίες συλλαμβάνουν την τροφή τους. Στα κουνούπια οι κεραίες είναι σημαντικά μικρότερες και δεν συμμετέχουν στη διαδικασία λήψης της τροφής. Τα Chaoboridae επίσης, διαθέτουν δύο κύστεις με αέρα, μια στο θώρακα και μια στο έβδομο κοιλιακό τμήμα οι οποίες ρυθμίζουν την πλευστότητα και επιτρέπουν στις προνύμφες να κολυμπούν σε διάφορα βάθη και σε οριζόντια θέση. Τα όργανα αυτά φαίνονται εύκολα καθώς παίρνουν ασημί χρώμα λόγω του αέρα που περιέχουν. Οι προνύμφες των κουνουπιών δεν διαθέτουν παρόμοια όργανα ρύθμισης της πλευστότητας.

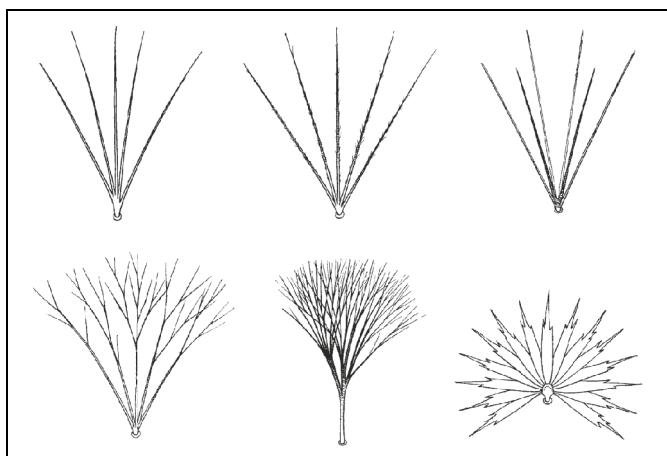
1.2.3.2. Μορφολογία προνύμφης

Οι προνύμφες είναι το μοναδικό στάδιο του κουνουπιού που αυξάνεται σε μέγεθος. Έχουν 4 περιόδους ανάπτυξης που ονομάζονται ηλικίες και σε κάθε ηλικία η προνύμφη είναι μεγαλύτερη σε μέγεθος από την προηγούμενη. Η αύξηση σε μέγεθος γίνεται μετά από την έκδυση κατά την οποία αποβάλλεται το εξωτερικό περίβλημα της προνύμφης. Κατά τη διάρκεια αυτής της ανάπτυξης, παρόλο που η βασική σκελετική δομή των προνυμφών είναι η ίδια, κάποια διαγνωστικά χαρακτηριστικά μπορεί να αλλάξουν, όπως για παράδειγμα το μέγεθος της κεφαλικής κάψας, ο αριθμός των οδοντώσεων των χτενιδίων (pecten teeth) καθώς και ο αριθμός των διακλαδώσεων ορισμένων σμηρίγγων. Για τους παραπάνω λόγους η ταυτοποίηση των προνυμφών βασίζεται, κατά κύριο λόγο, σε δείγματα τα οποία βρίσκονται στην τελευταία φάση (4^η ηλικία), όπου όλοι οι χαρακτήρες είναι πλήρως ανεπτυγμένοι και ευδιάκριτοι (Becker *et al.* 2003). Το μέγεθος των προνυμφών ποικίλει από 1 mm έως και 20 mm αναλόγως του είδους και της ηλικίας της προνύμφης.



Εικόνα 1.20. Προνύμφη ανωφελούς κουνουπιού (αριστερά) και κοινού κουνουπιού (δεξιά).

Ολόκληρο το σώμα των προνυμφών φέρει 222 ζεύγη σμηρίγγων (setae) (Harbach and Knight 1980, Forattini 1996), των οποίων η διάταξη ονομάζεται χαιτοταξία (chaetotaxy). Οι σμήριγγες αυτές είναι διαφόρων τύπων, από πολύ απλές έως ποικιλοτρόπως διακλαδιζόμενες, και αποτελούν σημαντικότατο χαρακτήρα για την ταξινόμηση και ταυτοποίηση των ειδών. Οι προνύμφες του γένους *Anopheles* φέρουν επίσης και ειδικές σμήριγγες, τις φοινικοειδείς ή παλαμοειδείς σμήριγγες (palmette setae), που βρίσκονται στα κοιλιακά τμήματα (II-VII) (Εικόνα 1. 21.). Ο σπουδαιότερος ρόλος των φοινικοειδών αυτών σμηρίγγων είναι να κρατούν το σώμα των προνυμφών παράλληλο με την επιφάνεια του νερού καθώς αυτές τρέφονται ή αναπαύονται (Becker *et al.* 2003).



Εικόνα 1. 21. Διάφοροι τύποι σμηρίγγων προνυμφών κουνουπιών.
Κάτω δεξιά απεικονίζεται η φοινικοειδής σμήριγγα.

1.2.3.2.1. Κεφαλή

Η κεφαλή των προνυμφών των κουνουπιών είναι μια σκληρή χιτινισμένη κάψα που φέρει ένα ζεύγος μεγάλων σύνθετων οφθαλμών, τρία οματίδια, ένα ζεύγος κεραιών και τα στοματικά μόρια.

Παρά το γεγονός ότι η κεφαλή των προνυμφών στις δύο μεγάλες Υποοικογένειες των κουνουπιών, Anophelinae και Culicinae, μοιάζει σε πολλά μορφολογικά στοιχεία, είναι με την πρώτη ματιά ευδιάκριτη η διαφορά στο σχήμα τους. Στα περισσότερα είδη της Υποοικογένειας Culicinae, η κεφαλή είναι σημαντικά πλατύτερη σε σχέση με το μήκος της, ενώ στην Υποοικογένεια Anophelinae η κεφαλή έχει μεγαλύτερο μήκος από το πλάτος της.



Εικόνα 1.22. Κεφαλές προνυμφών κουνουπιών: ανωφελούς (αριστερά) και κοινού (δεξιά).

Το ζεύγος των κεραιών, που βρίσκεται στην κεφαλή, χρησιμεύει ως αισθητήριο όργανο. Σε κάποια είδη, οι κεραίες είναι μικρότερες σε μήκος από την κεφαλή και ελαφρώς κυρτές προς τα μέσα ενώ σε άλλα είδη είναι εξίσου μακριές με την κεφαλή ή και μακρύτερες. Κάθε κεραία φέρει έξι σμήριγγες οι οποίες αριθμούνται από το 1-A μέχρι το 6-A (το γράμμα *A* είναι το αρχικό της λέξης *Antenna*). Η θέση όπου βρίσκεται η σμήριγγα 1-A αλλά και το σχήμα της, αποτελούν σημαντικούς διαγνωστικούς χαρακτήρες ταξινόμησης των διαφόρων ειδών. Το στέλεχος της κάθε κεραίας (shaft) μπορεί να είναι λείο ή να καλύπτεται με πυκνά ή αραιά ακανθίδια (spines ή spicules).

Στην κεφαλή βρίσκονται επίσης 18 συμμετρικά ζεύγη σμηρίγγων τα οποία αριθμούνται από το 0-C μέχρι το 17-C. Το γράμμα C χρησιμοποιείται για να καθορίσει ότι οι σμήριγγες βρίσκονται στο Caput (κεφαλή). Δύο ακόμη σμήριγγες οι οποίες καταγράφονται με τον κωδικό C-18 και C-19 βρίσκονται στον αυχενικό σκληρίτη (cervical sclerite). Τα περισσότερα από αυτά τα ζεύγη σμηρίγγων αποτελούν σημαντικά διαγνωστικά χαρακτηριστικά (Harbach and Knight 1980).

Τα κύρια στοματικά μόρια, των προνυμφών περιλαμβάνουν τις άνω και κάτω γνάθους με τις γναθικές ψήκτρες (maxillary brushes), τις πλευρικές πλάκες (lateral plates) και τις πλαϊνές γευστικές ψήκτρες (lateral palatal brush). Όλα τα όργανα αυτά είναι διαμορφωμένα κατάλληλα ώστε να φίλτραρουν τα μικροσκοπικά οργανικά σωματίδια από το νερό και να τα οδηγούν στη στοματική κοιλότητα (Harbach and Knight 1980).

1.2.3.2.2. Θώρακας

Είναι το πιο ευδιάκριτο μέρος των προνυμφών. Όπως στα ενήλικα άτομα έτσι και στις προνύμφες, ο θώρακας αποτελείται από τρία τμήματα, τον προθώρακα, το μεσοθώρακα και το μεταθώρακα, τα οποία όμως είναι σε πλήρη σύμφυση και δεν ξεχωρίζουν μεταξύ τους, αλλά μπορούν να διακριθούν μόνο από τις σμήριγγες που φέρουν.

Τα συμμετρικά ζεύγη σμήριγγων που υπάρχουν στο θώρακα αριθμούνται από 0-P έως 14-P στο προθώρακα, 1-M έως 14-M στο μεσοθώρακα και 1-T έως 13-T στο μεταθώρακα. Πολλά από αυτά τα 42 ζεύγη σμήριγγων μπορεί να είναι χρήσιμα για την ταυτοποίηση των διαφόρων ειδών προνυμφών αλλά μόνο οι σμήριγγες 1-P μέχρι 3-P χρησιμοποιούνται συνήθως, γιατί σε άλλα μέρη του σώματος των προνυμφών, όπως στην κεφαλή και τα τελευταία κοιλιακά τμήματα, υπάρχουν άλλοι πιο ευδιάκριτοι χαρακτήρες (Becker *et al.* 2003).

1.2.3.2.2. Κοιλία

Η κοιλία των προνυμφών αποτελείται από 10 τμήματα που συμβολίζονται με τα πρώτα 10 αντίστοιχα λατινικά γράμματα (I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, X). Τα πρώτα 7 τμήματα μοιάζουν μεταξύ τους ενώ τα υπόλοιπα 3 διαφέρουν παντελώς. Όλα (εκτός του τμήματος IX) φέρουν σμήριγγες οι οποίες αριθμούνται (π.χ. 2-I δηλαδή η σμήριγγα με αριθμό 2 η οποία βρίσκεται στο I κοιλιακό τμήμα ή 3-V ή 4-VIII κλπ.).

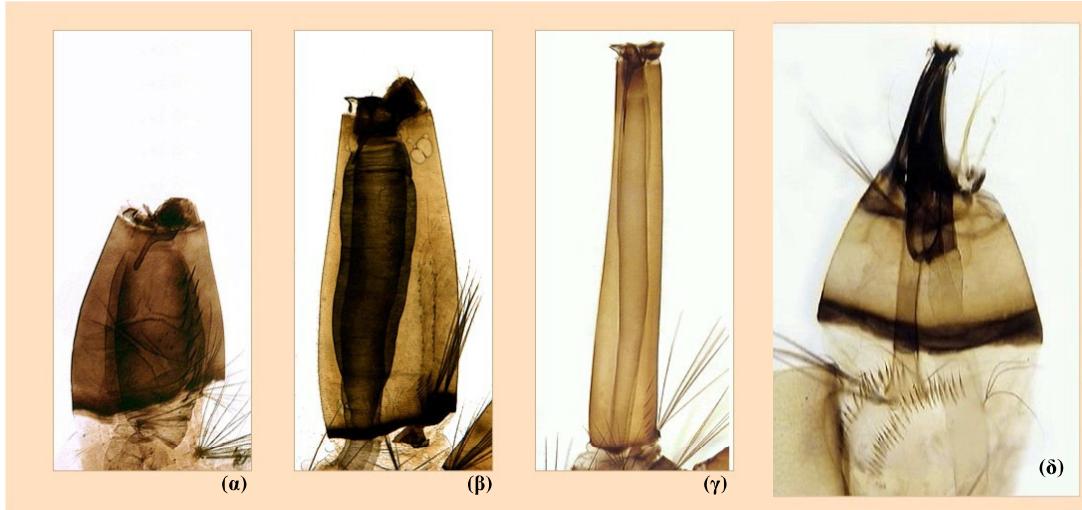
Τα κοιλιακά τμήματα I-VII, αποτελούνται από σκληρίτες οι οποίοι ενώνονται μεταξύ τους με μεμβρανώδες υλικό για να έχουν ευελιξία. Το πρώτο τμήμα (I) φέρει 13 ζεύγη σμήριγγων, ενώ τα τμήματα από II μέχρι VII φέρουν από 15 ζεύγη σμήριγγων. Οι περισσότερες από αυτές τις σμήριγγες χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση των διαφόρων ειδών.

Το VIII κοιλιακό τμήμα, είναι εντελώς διαφορετικό από τα προηγούμενα και φέρει τα μόνα λειτουργικά εξωτερικά ανοίγματα του μεταπνευστικού αναπνευστικού συστήματος, τα αναπνευστικά τρήματα (spiracles). Στην Υποοικογένεια Culicinae τα αναπνευστικά τρήματα είναι τοποθετημένα στην άκρη ενός μακρού σωληνωτού και κυλινδρικού οργάνου, το οποίο ονομάζεται σιφώνιο (siphon). Στην Υποοικογένεια Anophelinae, το σιφώνιο δεν υπάρχει και τα αναπνευστικά τρήματα είναι τοποθετημένα απευθείας επάνω στο αντίστοιχο κοιλιακό τμήμα.

Σε κάθε πλευρά του VIII κοιλιακού τμήματος (Υποοικογένεια Culicinae) βρίσκεται και ένας αριθμός από οδοντώσεις ή δόντια (scales). Ολόκληρο το σύστημα αποτελεί το κτένι (comb), οπότε έχουμε δύο κτένια, ένα μπροστά και ένα πίσω. Ο αριθμός των οδοντώσεων που φέρει το κτένι διαφέρει σημαντικά ανάμεσα στα είδη. Αριθμητικά ποικίλει από 5-7 μέχρι 100, τα οποία μπορεί να βρίσκονται τοποθετημένα σε μια γραμμή, δύο γραμμές ή σε κάποιο ακαθόριστο σχήμα, και χρησιμοποιείται ως διαγνωστικό χαρακτηριστικό. Στο είδος *Uranotaenia unguiculata*, είναι τοποθετημένα σε μία σκληρή πλάκα (comb plate). Κάθε δόντι φέρει άκανθες (spines) περιφερειακά οι οποίες μπορεί να διαφέρουν σε σχήμα και μέγεθος από δόντι σε δόντι (στο ίδιο άτομο) και σίγουρα διαφέρουν μεταξύ των προνυμφών των

διαφορετικών ειδών. Το σχήμα των "αγκαθιών" μπορεί να μελετηθεί ικανοποιητικά μόνο με τη βοήθεια μικροσκοπίου, υπό μεγάλη μεγέθυνση. Στις προνύμφες των ανωφελών δεν υπάρχει παρόμοια κατασκευή.

Το σιφώνιο αποτελεί ένα από τα πιο χρήσιμα διαγνωστικά στοιχεία, καθώς το σχήμα και οι αναλογίες του ποικίλλουν από είδος σε είδος. Πολύ συχνά, ο λόγος μεταξύ του μήκους και του εύρους της βάσης του (siphonal index) χρησιμοποιείται για την ταξινόμηση των διαφόρων ειδών (Gutsevich *et al.* 1974, Forattini 1996). Ο δείκτης αυτός μπορεί να ποικίλει από < 2 σε ορισμένα είδη, όπως το *Ochlerotatus mariae* ενώ σε άλλα είδη εμφανίζεται να είναι > 7 όπως για παράδειγμα στο *Culex hortensis*.



Εικόνα 1.23. Τύποι σιφωνίων προνυμφών κουνουπιών.

Στο σιφώνιο υπάρχουν δύο σειρές από ανθεκτικά σκληρά "δόντια" (pecten teeth). Κάθε σειρά, η οποία μπορεί να αποτελείται από 5-6 έως 12-15 "δόντια", είναι γνωστή ως χτενίδιο (pecten). Κάθε "δόντι" συνήθως έχει 1-4 άκανθες αλλά ο αριθμός αυτός είναι πολύ μεγαλύτερος σε κάποια είδη. Συνήθως όλα τα δόντια είναι ισοκατανεμημένα αν και σε κάποια είδη τα απομακρυσμένα δόντια εμφανίζονται με άνισα διαστήματα το ένα από το άλλο. Από τα ευρωπαϊκά είδη κουνουπιών, τα δόντια απονισάζουν μόνο στα είδη του γένους *Coquillettidia* και στο είδος *Orthopodomyia pulcripalpis*. Στα είδη των ανωφελών, όπου απονισάζει το σιφώνιο, τα χτενίδια είναι τοποθετημένα κάτω από τα αναπνευστικά τρήματα και αποτελούνται από εναλλασσόμενα μικρά και μεγάλα δόντια, τα οποία είναι τοποθετημένα επάνω σε ένα τριγωνικό σκληρίτη (pecten plate). Το σιφώνιο και η αναπνευστική πλάκα (spiracular plate) φέρουν 13 ζεύγη από σμήριγγες οι οποίες αριθμούνται από το 1-S μέχρι 13-S (Darsie Jr and Ward 1981).

Στη βάση του σιφωνίου υπάρχουν δύο μικρές ακίδες όπου προσφύνονται οι μύες που καθιστούν δυνατή την κίνηση του σιφωνίου (siphonal acus). Σε όλα τα είδη του υπογένους

Stegomyia (όπως το *Aedes cretinus* και *Aedes albopictus*), οι μύες αυτοί απουσιάζουν ενώ στο είδος *Aedes vittatus* είναι πολύ αμυδροί.

Τα κουνούπια που ανήκουν στα γένη *Mansonia* και *Coquillettidia* έχουν σιφώνια με οξύ και πριονωτό άκρο, που παρέχουν σ' αυτά την ικανότητα να διατρυπούν τις ρίζες ή τους βλαστούς συγκεκριμένων υδρόβιων φυτών, και να εφοδιάζονται με το αναγκαίο οξυγόνο μέσω του αερεγχύματός τους (Εικόνα 1.23.).

Το IX κοιλιακό τμήμα δεν υπάρχει ως ξεχωριστό μορφολογικό χαρακτηριστικό και δεν έχει καμία ταξινομική αξία. Είναι υποτυπώδες και έχει συγχωνευτεί μερικώς με τα κοιλιακά τμήματα VIII και X. Τα απομεινάρια του, στα περισσότερα είδη, είναι ορατά σαν ένας δακτύλιος στη βάση του X τμήματος, ενώ σε κάποια είδη όπως το *Uranotaenia unguiculata*, έχει εξαφανιστεί εντελώς (Becker *et al.* 2003).

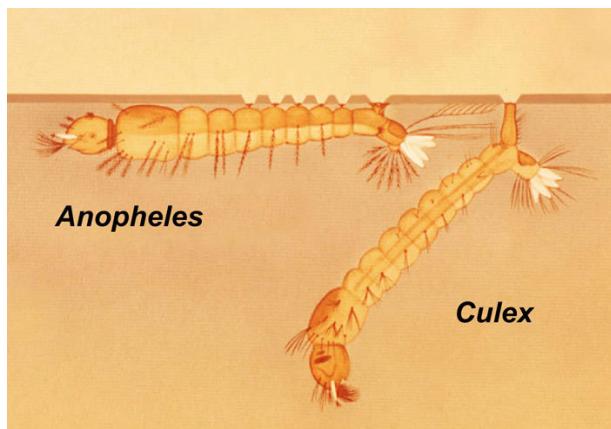
Το X κοιλιακό τμήμα, είναι το τελευταίο τμήμα και το στενότερο από τα υπόλοιπα. Σχηματίζει γωνία με το VIII τμήμα και φέρει 4 ζεύγη από σμήριγγες οι οποίες αριθμούνται από το 1-X μέχρι το 4-X. Έχει μια σκληρή κυρτή πλάκα που ονομάζεται "σέλα" (saddle). Σε ορισμένα είδη η πλάκα αυτή περικλείει το X τμήμα μέχρι τα πλάγια ενώ σε άλλα είδη περικλείει ολόκληρο το X τμήμα. Το X τμήμα τελειώνει με δύο ζεύγη ευλύγιστων εδρικών θηλών (anal papillae), οι οποίες ρυθμίζουν την οσμωτική πίεση (osmoregulation). Οι θηλές αυτές διαφέρουν σε σχήμα και μέγεθος από είδος σε είδος και μπορεί να είναι χρήσιμες για την ταυτοποίηση των ειδών.

1.2.3.3. Διάκριση των προνυμφών κοινών και ανωφελών κουνουπιών

Οι προνύμφες των διαφόρων ειδών κουνουπιών διαφέρουν αρκετά μεταξύ τους με τις μεγαλύτερες διαφορές να παρατηρούνται μεταξύ των ανωφελών (Anophelinae) και κοινών κουνουπιών (Culicinae).

Οι διαφορές μεταξύ των προνυμφών των κοινών και των ανωφελών κουνουπιών, που επιτρέπουν την εύκολη διάκρισή τους, είναι οι ακόλουθες:

- α) Οι προνύμφες των κοινών κουνουπιών φέρουν αναπνευστικό σιφώνιο στο 8^ο κοιλιακό τμήμα (VIII) ενώ τα ανωφελή δεν διαθέτουν τέτοια κατασκευή και η αναπνοή τους γίνεται μέσω αναπνευστικών τρημάτων.
- β) Η στάση του σώματος των ανωφελών μέσα στο νερό όταν αναπαύονται ή αναπνέουν είναι παράλληλη προς την επιφάνεια του νερού ενώ των κοινών σχηματίζει γωνία.
- γ) Τα ανωφελή την ώρα που τρέφονται γυρίζουν το κεφάλι τους κατά 180°, δηλαδή η κάτω επιφάνεια έρχεται επάνω ενώ στα κοινά δεν παρατηρείται κάτι παρόμοιο.

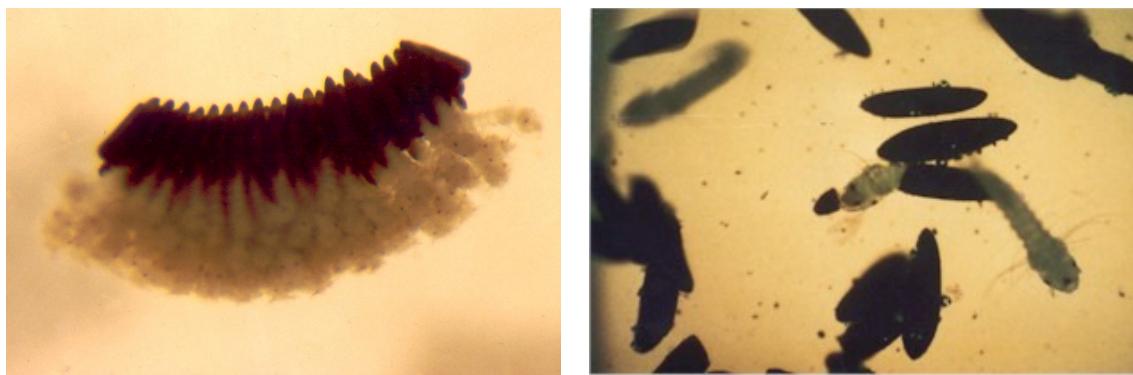


Εικόνα 1.24. Προνύμφες κουνουπιών *Anopheles* sp. και *Culex* sp., με τη χαρακτηριστική στάση που διατηρούν μέσα στο νερό.

1.2.3.4. Βιολογία προνύμφης

Οι προνύμφες των κουνουπιών συνήθως εξέρχονται από τα ωά εντός 48 περίπου ωρών, αν και το διάστημα αυτό μπορεί να ποικίλει ανάλογα με το είδος. Οπως ανεφέρθη και παραπάνω υπάρχει μια μεγάλη κατηγορία κουνουπιών των οποίων τα ωά μετά τη γέννησή τους εισέρχονται σε διάπαυση. Στις περιπτώσεις αυτές η χρονική στιγμή που θα καθορίσει την έναρξη της διαδικασίας της εκκόλαψης (hatching) εξαρτάται από πολλούς παράγοντες (Gillett 1955, Telford 1963, Becker 1989).

Κατά την εκκόλαψη η προνύμφη διαρρηγγίνει την επιφάνεια του ωού στο σημείο του ενός πόλου, με τη βοήθεια ειδικής άκανθας (hatching spine) που βρίσκεται στην κορυφή της κεφαλή της και διαφεύγει μέσα στο νερό (Εικόνα 1.25.).



Εικόνα 1.25. Προνύμφες κουνουπιών του γένους *Culex* (αριστερά) και του γένους *Aedes* (δεξιά) κατά τη στιγμή της εκκόλαψης.

Οι μικροσκοπικές προνύμφες όταν εκκολάπτονται από τα ωά είναι άμεσα ικανές να κολυμπούν και να καταδύονται με ευκολία στην υδάτινη μάζα.

Η συνολική διάρκεια του σταδίου της προνύμφης εξαρτάται από το είδος του κουνουπιού και τη θερμοκρασία του νερού, που αποτελεί τον πιο καθοριστικό παράγοντα για την ανάπτυξη των προνυμφών. Τα περισσότερα είδη ολοκληρώνουν το προνυμφικό στάδιο 6 έως 10 ημέρες ύστερα από την εκκόλαψη, σε θερμοκρασίες μεταξύ 25 °C και 30 °C, ενώ ορισμένα ψυχρόφιλα είδη, όπως το *Ochlerotatus rusticus* και το *Culiseta morsitans*, μπορούν να αναπτυχθούν επιτυχώς σε θερμοκρασίες γύρω στους 10 °C, ενώ αδυνατούν να ολοκληρώσουν τον κύκλο τους σε θερμοκρασίες άνω των 25 °C. Άλλοι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη των προνυμφών είναι η επάρκεια και ποιότητα τροφής, η φωτοπεριόδος, η ποιότητα του νερού, η πυκνότητα των προνυμφών σε μια εστία κ.ά.

Οι προνύμφες ορισμένων κουνουπιών που διαχειμάζουν στο στάδιο της προνύμφης μπορούν να επιβιώσουν σε εξαιρετικά δύσκολες συνθήκες όπως για παράδειγμα να αντέξουν για ημέρες ολόκληρες κάτω από την παγωμένη επιφάνεια του νερού. Στις περιπτώσεις αυτές λαμβάνουν το οξυγόνο που χρειάζονται είτε κατευθείαν από το αυξημένο διαλυμένο οξυγόνο του κρύου νερού είτε από φυσαλίδες αέρα που έχουν φυλακιστεί κάτω από την επιφάνεια του πάγου. Στις προνύμφες αυτές ο μεταβολισμός μειώνεται κατά πολύ στη διάρκεια της ψυχρής περιόδου και η ανάπτυξη της προνύμφης ουσιαστικά αναστέλλεται. Τέτοια είδη κουνουπιών είναι τα *Oc. rusticus* και *Cs. morsitans*, των οποίων οι προνύμφες που εκκολάπτονται το φθινόπωρο διαχειμάζουν στη 2^η ή 3^η προνυμφική ηλικία. Άλλα είδη όπως τα *Anopheles claviger*, *Anopheles plumbeus* και *Orthopodomyia pulchripalpis* διαχειμάζουν ως προνύμφες σε προφυλαγμένα μέρη που δεν παγώνουν εύκολα όπως μικρές λίμνες και κοιλότητες δένδρων. Η διαχείμαση αυτών γίνεται συνήθως όταν οι προνύμφες είναι 3^{ης} ή 4^{ης} ηλικίας. Άλλα είδη που διαχειμάζουν ως προνύμφες είναι τα *Coquillettidia richiardii* και το *Culex pipiens* με τους δύο βιοτύπους του, το *Cx. pipiens* biotype *pipiens* και *Cx. pipiens* biotype *molestus*.

Τις προνύμφες τις συναντάμε κυρίως σε ομάδες, δηλαδή έχουν την συνήθεια να συναθροίζονται, χαρακτηριστικό το οποίο μάλλον τους προσφέρει προστασία. Τρέφονται, αδιακρίτως και χωρίς ιδιαίτερες προτιμήσεις, με ασπόνδυλους μικροοργανισμούς, άλγη, πρωτόζωα, οργανική ουσία σε αποσύνθεση ή άλλα οργανικά σωματίδια, όταν η διάμετρος των σωματιδίων είναι συνήθως μικρότερη των 50 μμ.

Ορισμένα είδη τρέφονται φιλτράροντας το νερό με τη βοήθεια των γναθικών τους ψηκτρών ενώ άλλα είδη συμμετέχουν ενεργά στη λήψη της τροφής αποκόπτοντας, κατατεμαχίζοντας ή ξύνοντας τμήματα από άλγη και μικροοργανισμούς ακόμη και από τμήματα φυτών και νεκρά ασπόνδυλα. Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι προνύμφες των γενών *Culex*, *Coquillettidia* και εν μέρει των γενών *Aedes*, *Ochlerotatus* και *Culiseta* (υπογένος *Culiseta*) ενώ στη δεύτερη κατηγορία ανήκουν τα περισσότερα των ειδών από τα γένη *Aedes* και *Ochlerotatus* καθώς και είδη του γένους *Anopheles* τα οποία τρέφονται από τη μικροβιακή στρώση της επιφάνειας του νερού. Τέλος, υπάρχουν και αρπακτικές προνύμφες, όπως για παράδειγμα τα είδη του γένους *Toxorhynchites* καθώς και συγκεκριμένα είδη των γενών *Aedes*, *Psorophora* και *Culex* τα οποία τρέφονται (εξωπαρασιτικά) με άλλα

είδη εντόμων και κυρίως με προνύμφες άλλων ειδών κουνουπιών. Τέτοια είδη δεν συναντάμε στην Ελλάδα ή ακόμη και στην Ευρώπη (Becker *et al.* 2003).

Εάν για οποιοδήποτε λόγο προκληθεί αναταραχή στην υδάτινη εστία όπου βρίσκονται οι προνύμφες, αυτές καταδύονται για μικρή ή μέτρια χρονική περίοδο, για να αναδυθούν ξανά αργότερα, με σκοπό να αναπνεύσουν. Καταδύονται με το λύγισμα της κοιλίας και την κίνησή της προς τα πίσω ενώ όταν η προνύμφη επιστρέφει στην επιφάνεια του νερού, κολυμπά προς τα πίσω έως ότου έρχεται η κοιλία σε επαφή με την επιφάνεια. Οι κινήσεις που κάνουν κατά την κατάδυση ή την ανάδυση είναι πολύ χαρακτηριστικές, σε σύγκριση με τις κινήσεις των προνυμφών από άλλες οικογένειες εντόμων. Επίσης οι προνύμφες των κουνουπιών μπορούν να κινηθούν αργά και προς τα εμπρός χρησιμοποιώντας τις γναθικές ψήκτρες σαν έλικα.

Όταν οι προνύμφες αφήνουν την επιφάνεια του νερού οι λοβοί των αναπνευστικών τρημάτων αποσύρονται και τα τρήματα κλείνουν. Ένας αδένας δίπλα στα αναπνευστικά τρήματα των προνυμφών εκκρίνει υδρόφοβες ουσίες για να αποφευχθεί η εισροή του νερού στο αναπνευστικό σύστημα. Υπό ορισμένες προϋποθέσεις, έχει παρατηρηθεί ότι μπορεί να χρησιμοποιήσουν το οξυγόνο (το ίδιο και οι νύμφες) που βρίσκεται εγκλωβισμένο μέσα σε φυσαλίδες και να μείνουν βυθισμένες στο νερό έως και 30 λεπτά (Snow 1990).

Το ερέθισμα που ρυθμίζει τη μεταμόρφωση της προνύμφης σε νύμφη, την κατάλληλη στιγμή, καθορίζεται από τα επίπεδα δύο ορμονών, της ορμόνης νεότητας (juvenile hormone) και της ορμόνης εκδύσεως (ecdysone hormone) (Becker 1989).

1.2.3.5. Εστίες ανάπτυξης προνυμφών

Το νερό είναι απαραίτητο για τη ζωή και την ανάπτυξη τόσο των προνυμφών και των νυμφών των κουνουπιών. Οι εστίες ανάπτυξης των προνυμφών παρουσιάζουν πολύ μεγάλη ποικιλία ως προς την ποιότητα και ποσότητα του νερού που περιέχουν ή το είδος της βλάστησης. Τα κουνούπια πρακτικά μπορούν να αναπτυχθούν στο σύνολο σχεδόν των υδάτινων οικοσυστημάτων που υπάρχουν στον πλανήτη. Οι διάφορες εστίες είναι συνήθως τυπικές για τα διάφορα είδη κουνουπιών.

Συνηθισμένες εστίες ανάπτυξης των προνυμφών των κουνουπιών, είναι τα έλη, τα παρόχθια τμήματα των ποταμών και λιμνών, τα αρδευτικά και αποστραγγιστικά κανάλια, οι ορυζοκαλλιέργειες, οι κοιλότητες των παραθαλάσσιων βράχων, οι ανοιχτές αποχετεύσεις, οι φυσικές ή τεχνητές δεξαμενές νερού αλλά και οι κάθε είδους και έκτασης συλλογές νερού στο οικιακό και περιοικιακό περιβάλλον. Αξιζει να σημειωθεί ότι για κάποια είδη πολλές φορές αρκεί μια πολύ μικρή συλλογή νερού που θα διατηρηθεί για μερικές ημέρες για να παραχθεί μια νέα γενεά κουνουπιών. Τέτοιες εστίες μπορεί να είναι τα εγκαταλελειμένα ελαστικά, οικιακά σκεύη, δοχεία νερού, κουβαδάκια ή άλλα παιχνίδια, άδεια δοχεία από κονσέρβες, κοιλότητες και τρύπες στο έδαφος, κοιλότητες στους κορμούς των δένδρων, πιατάκια γλαστρών και πληθώρα ακόμη σημείων που μπορούν να συγκρατήσουν νερό για λίγες ημέρες.

Εκτός από την έκταση της εστίας και την ποσότητα του νερού τα διάφορα είδη κουνουπιών επιλέγουν τα σημεία που θα ωοτοκήσουν και με βάση άλλα χαρακτηριστικά όπως το εάν οι εστίες είναι μόνιμες ή προσωρινές, εάν διαθέτουν καθαρό νερό ή νερό με πλούσιο οργανικό φορτίο, γλυκό, υφάλμυρο ή και έντονα αλατούχο νερό, στάσιμο ή σε κίνηση, ψυχρό ή θερμό, νερό εκτεθειμένο στον ήλιο ή σε σκιά κτλ.



Εικόνα 1.26. Τυπικές μόνιμες φυσικές εστίες ανάπτυξης κουνουπιών στη χώρα μας.



Εικόνα 1.27. Τυπικές προσωρινές φυσικές εστίες ανάπτυξης κουνουπιών στη χώρα μας.



Εικόνα 1.28. Εστίες ανάπτυξης κουνουπιών ως αποτέλεσμα ανθρωπογενών παρεμβάσεων στη φύση.



Εικόνα 1.29. Εστίες ανάπτυξης κουνουπιών ως αποτέλεσμα της αγροτικής δραστηριότητας.



Εικόνα 1.30. Μεγάλες εστίες ανάπτυξης κουνουπιών σε αστικές περιοχές.



Εικόνα 1.31. Μικρής έκτασης αλλά σημαντικές εστίες ανάπτυξης κουνουπιών εντός των αστικών περιοχών.

1.2.4. Νύμφη (pupa)

Όταν οι προνύμφες συμπληρώσουν την ανάπτυξή τους αποβάλλουν το τελευταίο προνυμφικό έκδυμα και γίνονται νύμφες. Οι νύμφες των κουνουπιών είναι και αυτές υδρόβιες, διαφέρουν όμως σημαντικά από τις προνύμφες στο σχήμα και τη μορφή. Γενικά οι νύμφες των κουνουπιών μοιάζουν μεταξύ τους στα διάφορα είδη και έχουν χαρακτηριστικό σχήμα «κόμματος».

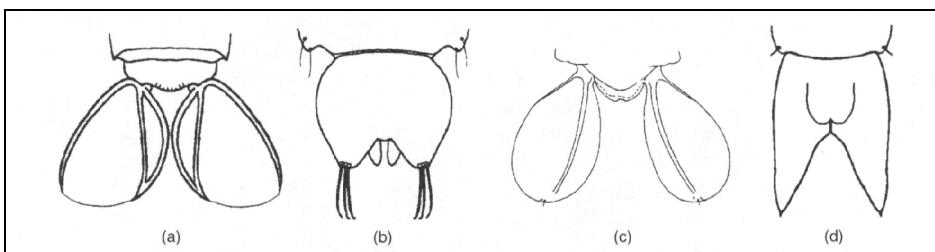


Εικόνα 1.32. Νύμφη κουνουπιού.

Το σώμα τους διαιρείται σε δύο μέρη. Το πρόσθιο τμήμα είναι το μεγαλύτερο από τα δύο τμήματα και αποτελείται από την κεφαλή και το θώρακα ενωμένα (κεφαλοθώρακας). Το τμήμα αυτό φέρει ένα ζεύγος αναπνευστικών χοανοειδών εξαρτημάτων, τις αναπνευστικές σάλπιγγες (trumpets), με τις οποίες αναπνέουν ατμοσφαιρικό αέρα. Το δεύτερο τμήμα είναι η κοιλία, η οποία αποτελείται από 9 επιμέρους τμήματα. Στο 9^o και τελευταίο κοιλιακό τμήμα υπάρχει ένα ζεύγος τελικών προσαρτημάτων που μοιάζουν με κουπιά (terminal paddles) και χρησιμεύουν για την κίνηση της νύμφης μέσα στο νερό.

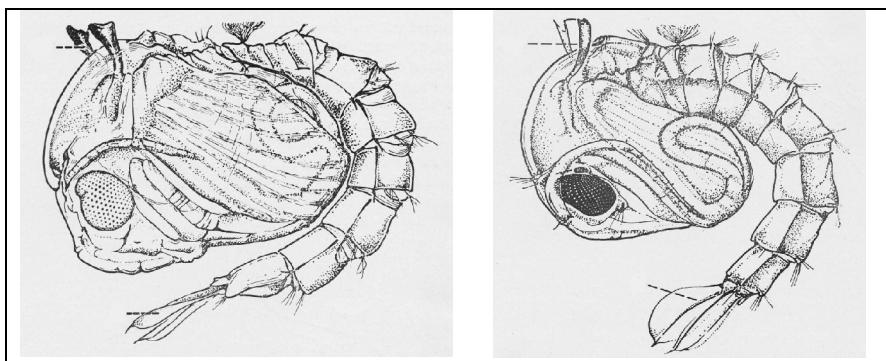
Όλα τα κοιλιακά τμήματα φέρουν σμήριγγες οι οποίες μαζί με τα άλλα εξωτερικά μορφολογικά χαρακτηριστικά χρησιμεύουν στην ταξινόμηση των νυμφών. Παρόλα αυτά οι νύμφες σπάνια χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση των ειδών γιατί είναι συγκριτικά πιο εύκολο να γίνει η ταξινόμηση στο ενήλικο ή το προνυμφικό στάδιο.

Οι νύμφες των διπτέρων των οικογενειών *Chaoboridae*, *Dixidae* και *Chironomidae* μοιάζουν αρκετά με τις νύμφες των κουνουπιών αλλά ξεχωρίζουν από το διαφορετικό σχήμα του τέλους της κοιλίας τους (Εικόνα 1.33.).



Εικόνα 1.33. Τελικά τμήματα κοιλίας νυμφών συγγενών διπτέρων: a) οικ. *Chaoboridae*, b) οικ. *Chironomidae*, c) οικ. *Culicidae*, και d) οικ. *Dixidae*.

Στις νύμφες της Υποοικογένειας *Anophelinae*, οι αναπνευστικές σάλπιγγες είναι μικρότερες και πλατύτερες (flap-like appearance) από αυτές των κοινών κουνουπιών (Υποοικογένεια *Culicinae*) και φέρουν βαθύ επίμηκες χώρισμα. Επιπλέον η βάση τους είναι ευλύγιστη και τους επιτρέπει εύκολη κίνηση και προσαρμογή στην επιφάνεια του νερού (Εικόνα 1.34.).



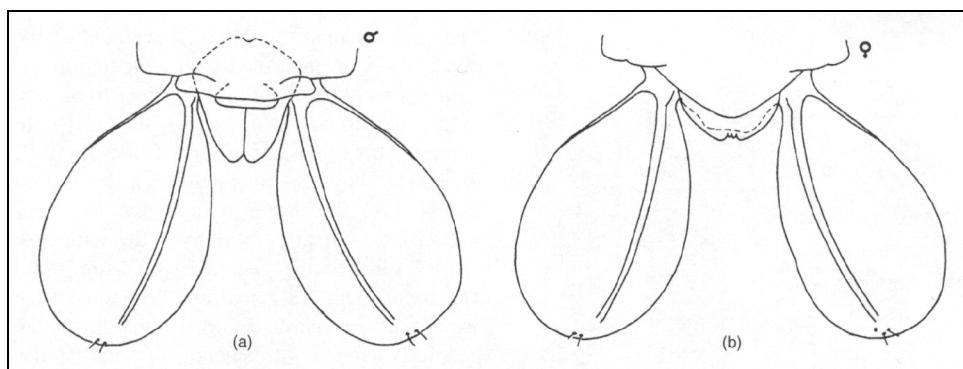
Εικόνα 1.34. Νύμφες, ανωφελούς (αριστερά) και κοινού (δεξιά) κουνουπιού.

Στα είδη του γένους *Mansonia* και *Coquillettidia* οι αναπνευστικές σάλπιγγες έχουν διαμορφωθεί κατάλληλα ώστε να διατρυπούν και να εισχωρούν στους ιστούς των υδρόβιων φυτών κάτω από την επιφάνεια του νερού και να προσλαμβάνουν από εκεί το απαραίτητο οξυγόνο (όπως και στο προνυμφικό στάδιο), χωρίς να χρειάζεται να ανέλθουν στην επιφάνεια. (Εικόνα 1.35.).



Εικόνα 1.35. Νύμφη κουνουπιού του γένους *Coquillettidia*, προσαρτημένη σε φυτικό ιστό.

Οι νύμφες που θα δώσουν αρσενικά τέλεια έντομα είναι γενικά μικρότερες από τις αντίστοιχες των θηλυκών κουνουπιών ενώ η ύπαρξη ή όχι του γεννητικού λοβού (genital lobe), δηλαδή μιας θήκης που περικλείει τα ανεπτυγμένα γεννητικά όργανα, στην άκρη της κοιλίας, ξεχωρίζει τα δύο φύλα στο στάδιο αυτό. Στα αρσενικά ο λοβός αυτός είναι σχετικά μεγάλος, κωνικός και διαιρείται πολύ εμφανώς σε δύο μέρη από μια σχισμή που εκτείνεται μέχρι και τη βάση του. Στα θηλυκά ο λοβός αυτός είναι μικρότερος, δεν είναι κωνικού σχήματος και η σχισμή που υπάρχει δεν τον υποδιαιρεί σε δύο μέρη (Εικόνα 1.36.).



Εικόνα 1.36. Διάκριση αρσενικών (αριστερά) και θηλυκών (δεξιά) νυμφών κουνουπιών.

1.2.4.1. Βιολογία νύμφης

Η νύμφη είναι το τελευταίο υδρόβιο στάδιο του βιολογικού κύκλου του κουνουπιού και συνήθως ολοκληρώνεται σε 2-3 ημέρες. Παρόλα αυτά, η ολοκλήρωση μπορεί να παραταθεί για αρκετές ακόμη ημέρες, ανάλογα με τη θερμοκρασία του νερού ή το είδος του κουνουπιού. Κατά το διάστημα αυτό γίνεται η μεταμόρφωση σε ενήλικο έντομο.

Παρά το γεγονός ότι το μεγαλύτερο διάστημα παραμένουν στην επιφάνεια του νερού για να αναπνέουν, οι νύμφες των κουνουπιών είναι γενικά πολύ κινητικές και όταν ενοχληθούν βυθίζονται με ζωηρή χαρακτηριστική κίνηση, εκτελώντας πλήρη αναστροφή.

Σε αντίθεση με τις προνύμφες που πρέπει να κολυμπήσουν ενεργά προς την επιφάνεια του νερού, οι νύμφες αναδύνονται παθητικά πίσω στην επιφάνεια μετά από κάθε κατάδυση.

Στα περισσότερα είδη κουνουπιών οι νύμφες είναι σχετικά ανθεκτικές στην αφυδάτωση και μπορούν να δώσουν τέλεια έντομα ακόμη και εάν δεν έχουν χώρο για να κινηθούν ή βρεθούν εκτός του νερού ή ξεραθούν οι υδάτινες εστίες που τις φιλοξενούν.

Φυσικά οι νύμφες δεν τρέφονται και γι' αυτό ο βίος τους είναι σύντομος.

1.2.4.2. Έξοδος του τέλειου

Όταν το τέλειο έντομο σχηματιστεί πλήρως εντός του νυμφικού περιβλήματος, η νύμφη λαμβάνει χαρακτηριστική οριζόντια στάση και αρχίζει να εισπνέει μεγάλη ποσότητα αέρα. Αυτό έχει ως συνέπεια την αύξηση της πίεσης στο εσωτερικό της με αποτέλεσμα να προκαλείται ένα σκίσιμο στη μέση του νυμφικού κεφαλοθωρακικού τμήματος. Από το άνοιγμα αυτό ξεπροβάλλει σιγά-σιγά το τέλειον (Εικόνα 1.37).

Οι κινήσεις του τέλειου κατά την έκδυση, είναι ιδιαίτερα προσεκτικές ώστε να αποφευχθεί η πτώση του στο νερό καθώς τα άκρα του είναι ακόμη προσκολλημένα στο έκδυμα (exuvium) της νύμφης. Παρόλα αυτά το αναδυόμενο τέλειο άτομο είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο σε πολλούς εξωγενείς παράγοντες, όπως οι ισχυροί άνεμοι και κάθε φορά κατά τη διεργασία αυτή ένα σχετικά μεγάλο ποσοστό τέλειων κουνουπιών χάνεται από πνιγμό. Όταν το τέλειο έντομο απελευθερωθεί πλήρως από το νυμφικό περίβλημα, στέκεται για αρκετή ώρα στην επιφάνεια του νερού για να τεντωθούν τα πόδια και οι πτέρυγές του, με αύξηση της πίεσης της αιμολέμφου. Παράλληλα, ο μαλακός αρχικά δερματοσκελετός του σκληραίνει και τότε είναι σε θέση να πετάξει. Εντούτοις απαιτείται επιπρόσθετος χρόνος, 1 ή $1\frac{1}{2}$ ημέρες, για τα αρσενικά και τα θηλυκά αντιστοίχως, ώστε να προσαρμόσουν πλήρως όλον το μεταβολισμό τους, στις νέες συνθήκες (Gillett 1983).



Εικόνα 1.37. Έκδυση τέλειου κουνουπιού από τη νύμφη.

Υπάρχει επίσης, σημαντική διαφορά στην αναπαραγωγική ωρίμαση μεταξύ των θηλυκών και των αρσενικών κουνουπιών κατά την ώρα της έκδυσής τους. Τα αρσενικά δεν είναι σεξουαλικώς ώριμα πριν περάσουν 24 ώρες περίπου, και αυτό γιατί χρειάζεται να γίνει μια περιστροφή 180° στο υποπύγιο (hypopygium), δηλαδή τα εξωτερικά γεννητικά τους όργανα. Αυτός είναι και ο λόγος που σε ένα συγκεκριμένο πληθυσμό παρατηρείται πρώτα η εμφάνιση των αρσενικών κατά 1-2 ημέρες πριν από τα θηλυκά ώστε να συμπίπτει η σεξουαλική ωριμότητα των δύο φύλων καθώς τα θηλυκά είναι ώριμα αμέσως μετά την εμφάνισή τους. Η διαδικασία αυτή φαίνεται ότι ρυθμίζεται κυρίως με την μείωση της διάρκειας του προνυμφικού σταδίου των αρσενικών. Έτσι ενδεχομένως, δικαιολογείται και το γεγονός ότι οι αρσενικές προνύμφες και τα αρσενικά ενήλικα είναι μικρότερα σε μέγεθος από τα θηλυκά του ιδίου είδους (Becker *et al.* 2003).

1.3. Η υγειονομική σημασία των κουνουπιών

1.3.1. Γενικά

Τα κουνούπια, έχουν χαρακτηριστεί ως «τα έντομα με τη σπουδαιότερη Ιατρική σημασία» και σε σύγκριση με τα υπόλοιπα, είδη αρθροπόδων έχουν εισπράξει διεθνώς, τη μεγαλύτερη προσοχή από ερευνητές ή επιστήμονες διαφόρων κλάδων.

Η μεγάλη τους σημασία έγκειται στο γεγονός ότι είναι φορείς και βιολογικοί μεταβιβαστές (vectors) μερικών από τις πιο επικίνδυνες ασθένειες που προσβάλλουν τον άνθρωπο, όπως η ελονοσία, ο κίτρινος πυρετός, ο δάγκειος πυρετός, ο ιός του Δυτικού Νείλου, εγκεφαλίτιδες και φιλαριάσεις καθώς και μεγάλου αριθμού άλλων αρμποϊώσεων.

Περισσότεροι από το μισό πληθυσμό της υφηλίου ζουν με τον κίνδυνο πιθανής προσβολής από τις ασθένειες αυτές, ενώ τα στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (Π.Ο.Υ.) δείχνουν ότι εκατοντάδες εκατομμύρια άνθρωποι νοσούν κάθε χρόνο εξαιτίας των κουνουπιών και εκατομμύρια από αυτούς πεθαίνουν (WHO 2009a).

Οι ασθένειες αυτές δεν κατανέμονται σε όλο τον κόσμο ομοιόμορφα, αλλά έχουν μεγαλύτερη εξάπλωση σε χώρες με θερμό ή τροπικό κλίμα, όπως οι χώρες της Αφρικής, της Νοτιο-Ανατολικής Ασίας και της Κεντρικής και Νοτίου Αμερικής.

Τα τελευταία χρόνια όμως παρατηρείται σημαντική επέκταση των πληθυσμών κουνουπιών και των μεταδιδόμενων με τα κουνούπια ασθενειών, κάτι που αποδίδεται συνήθως στο παγκόσμιο φαινόμενο της αύξησης της θερμοκρασίας και των μεγάλων κλιματικών αλλαγών γενικότερα καθώς επίσης στο σύγχρονο εμπόριο αλλά και την τάση για μετακίνηση μεγάλου μέρους του πληθυσμού (Gubler 1998a, Brower 2001). Συνέπεια αυτού φαίνεται να είναι και το γεγονός ότι σήμερα, οι τρείς περισσότερο διαδεδομένες αρμποϊώσεις παγκοσμίως (ο Δάγκειος πυρετός, η ελονοσία και ο ιός του Δυτικού Νείλου) είναι ασθένειες που μεταδίδονται από τα κουνούπια (Wilder-Smith *et al.* 2009).

Το πρόβλημα είναι σοβαρό ακόμη και για τις πιο αναπτυγμένες περιοχές του πλανήτη όπως είναι η Ευρώπη και οι Η.Π.Α. (Zgomba and Petric 2008).

Επίσης, εκτός από τη μετάδοση ασθενειών, τα κουνούπια προκαλούν σημαντική ενόχληση με την παρουσία τους και μόνο, δυσχεραίνοντας τη διαβίωση των κατοίκων, δημιουργώντας ερεθισμούς, κνησμό, δερματίτιδες και αλλεργίες στα ευαίσθητα άτομα και προκαλώντας σημαντικές οικονομικές και κοινωνικές επιπτώσεις στις περιοχές που αναπτύσσουν μεγάλους πληθυσμούς.

Στη συνέχεια του κεφαλαίου αυτού θα αναφερθούμε σε μερικές από τις σημαντικότερες ασθένειες που μεταδίδονται από τα κουνούπια. Πριν γίνει αυτό όμως είναι σκόπιμο να γίνει μια σύντομη παρουσίαση και αποσαφήνιση των κυριότερων όρων που χρησιμοποιούνται (Χανιώτης 2001). Αναλυτικότερα:

Αρμπολοίμωξη (arthropod-borne infection) είναι λοίμωξη που μεταβιβάζεται από τα σπονδυλωτά ζώα στον άνθρωπο ή μεταξύ ανθρώπων, με αιμομυζητικά αρθρόποδα, ως ενδιάμεσους ξενιστές, των οποίων ο ρόλος στην εξέλιξη και διασπορά του παρασίτου είναι σημαντικός (π.χ. ελονοσία).

Ενδιάμεσος ξενιστής, θεωρείται κάθε 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 ή αρθρόποδο) στον οποίο ο παθογόνος οργανισμός διατηρείται επί μακρό χρονικό διάστημα και θεωρείται μολυσματικός.

Αρμποϊοί ονομάζονται όλοι οι ιοί που προσβάλλουν τα σπονδυλωτά και το κοινό χαρακτηριστικό ότι η μεταβίβαση γίνεται με κάποιο αρθρόποδο ξενιστή (vector). Πρόκειται για ομάδα ιών που σχηματίστηκε με βάση οικολογικά και επιδημιολογικά κριτήρια. Η επιμολογία του όρου αρμποϊός φανερώνει την ερμηνεία του, καθώς αποτελεί σύντμηση των αγγλικών λέξεων **arthropod borne virus = arbovirus**.

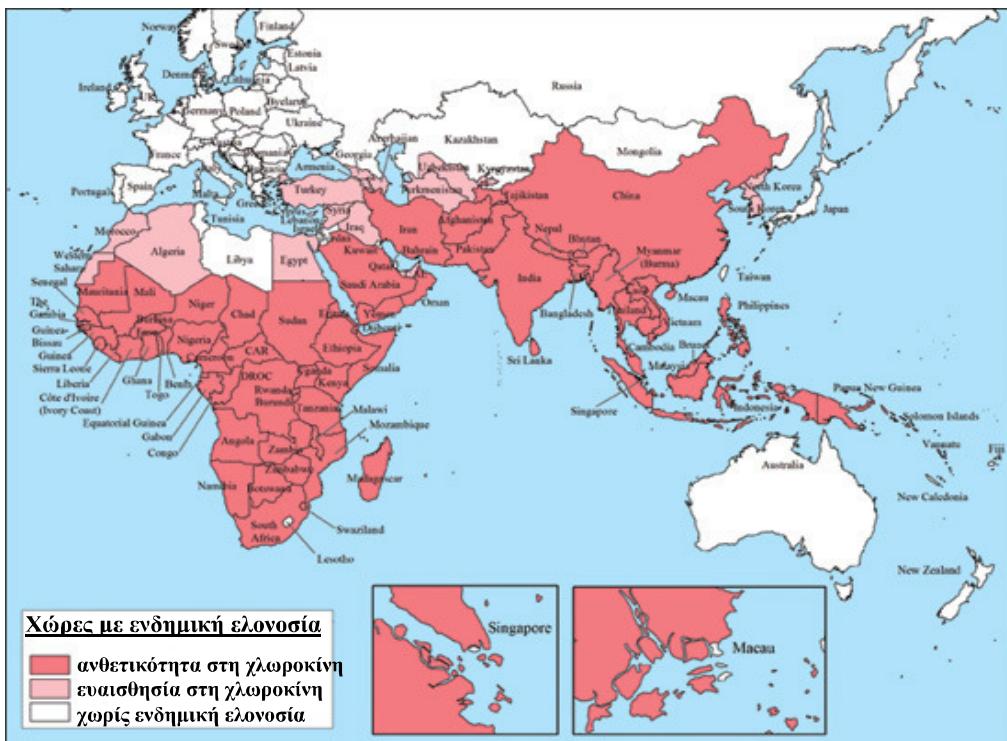
Ο ορισμός του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας για τους αρμποϊούς, ο οποίος καθιερώθηκε και χρησιμοποιείται ευρέως στη διεθνή βιβλιογραφία καθώς και στο «Διεθνή Κατάλογο των Αρμποϊών» από το 1967 και μετά, είναι ο ακόλουθος: «Αρμποϊοί είναι ιοί που διατηρούνται στη φύση ως επί το πλείστον ή σε εκτεταμένο βαθμό μέσω βιολογικής μεταφοράς μεταξύ εναίσθητων σπονδυλωτών ξενιστών δια μέσου αιματοφάγων αρθροπόδων, πολλαπλασιάζονται και προκαλούν ιαιμία στα σπονδυλωτά, πολλαπλασιάζονται στους ιστούς των αρθροπόδων και μεταδίδονται σε νέα σπονδυλωτά με νύγματα αρθροπόδων μετά από μία περίοδο εξωγενούς επώασης» (Aitken *et al.* 1975).

Όπως γίνεται φανερό από τον παραπάνω ορισμό, οι αρμποϊοί μεταδίδονται μεταξύ σπονδυλωτών και ασπόνδυλων ξενιστών αποκλειστικά μέσω βιολογικής μεταφοράς. Συνεπώς, δεν περιλαμβάνονται οι ιοί που μέσω της μηχανικής μεταφοράς από αρθρόποδα μιούνται σπονδυλωτά, όπως είναι για παράδειγμα ο ιός της μυξωμάτωσης που είναι διαδεδομένος στα κουνέλια και μεταδίδεται στην Αγγλία με τους ψύλλους των κουνελιών (*Spilopsyllus cuniculi*) και στην Αυστραλία με κουνούπια (Kettle 1995).

Οι κυριότερες κατηγορίες αρθροπόδων που εμπλέκονται στη μετάδοση των αρμποϊώσεων είναι τα κουνούπια (οικ. Culicidae), οι φλεβοτόμοι (*Phlebotomus* spp.) και οι κρότωνες (οικ. Ixodidae και Argasidae). Έχουν βρεθεί περίπου 100 μεταδιδόμενοι με κουνούπια ιοί οι οποίοι μιούνται τους ανθρώπους και 40 ιοί που μιούνται, μέσω των εντόμων αυτών, τα ζώα (WHO 2004).

1.3.1.1. Ελονοσία

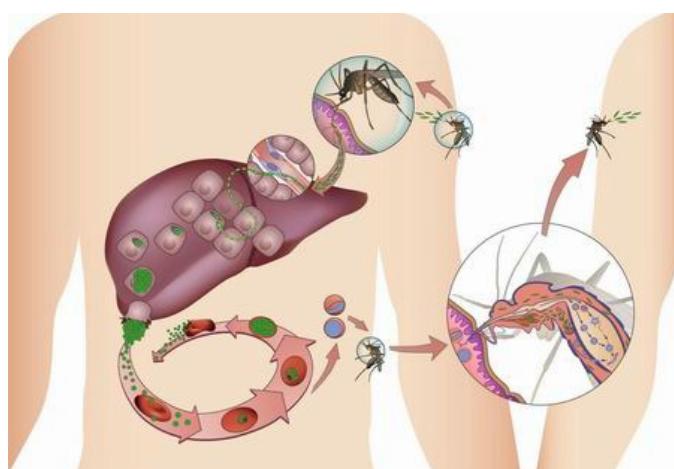
Η ελονοσία του ανθρώπου είναι ίσως η σημαντικότερη ασθένεια, παγκοσμίως και μεταδίδεται αποκλειστικά από ορισμένα είδη κουνουπιών του γένους *Anopheles*. Έχει επιπτώσεις σε περισσότερες από 100 τροπικές χώρες και φέρει σε κίνδυνο περισσότερο από το 40% του παγκόσμιου πληθυσμού. Περίπου 300 εκατομμύρια άνθρωποι θεωρούνται ότι είναι μιούνται με κάποιο από τα παράσιτα της ελονοσίας, από τους οποίους το 90% ζουν στην τροπική Αφρική. Στην Αφρική, η ασθένεια αυτή είναι πιθανώς υπεύθυνη για τουλάχιστον 500.000 έως και 1,2 εκατομμύρια θανάτους ετησίως, κυρίως μεταξύ παιδιών μικρότερων της ηλικίας των πέντε ετών.



Εικόνα 1.38. Οι περιοχές της Αφρικής και Ασίας που εμφανίζουν ενδημικά κρούσματα ελονοσίας. Από τις περιοχές αυτές θεωρείται πιθανή η επανεισαγωγή της ελονοσίας και στην Ευρώπη.

Ο αιτιολογικός παράγων της ελονοσίας για τον άνθρωπο είναι τα πρωτόζωα παράσιτα, του γένους *Plasmodium* (Οικογένεια: Plasmodidae, Τάξη: Sporozoa, Φύλο: Apicomplexa, Βασίλειο: Protista). Το γένος αυτό περιλαμβάνει περισσότερα από 100 είδη, αλλά μόνο τα τέσσερα από αυτά μολύνουν τον άνθρωπο: *Plasmodium vivax*, *P. falciparum*, *P. malariae* και *P. ovale*.

Ο βιολογικός κύκλος του πλασμαδίου ολοκληρώνεται σε δύο ξενιστές, τον σπονδυλωτό (άνθρωπος) και τον ασπόνδυλο (κουνούπι). Στον άνθρωπο η φάση του παρασίτου είναι μονογονική (asexual), γνωστή ως σχιζογονία (schizogony), ενώ στο κουνούπι είναι αμφιγονική (sexual), γνωστή ως σπορογονία (sporogony).

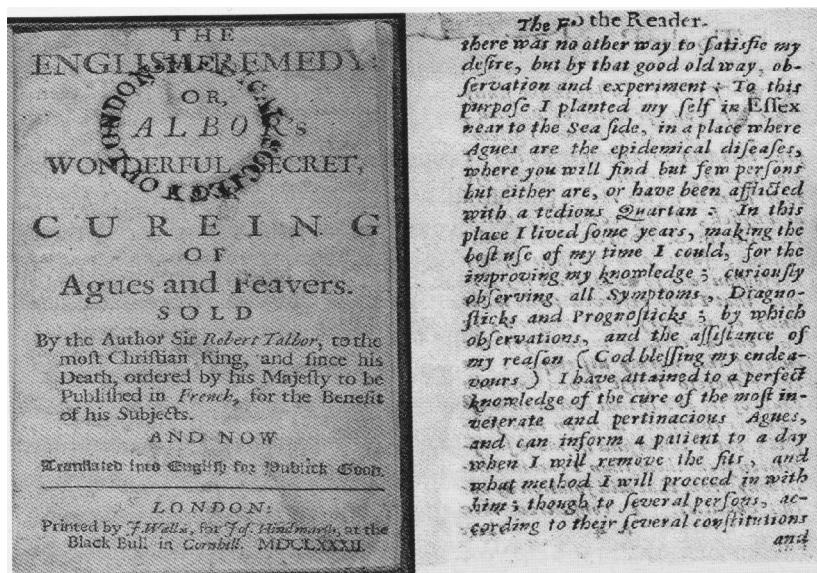


Εικόνα 1.39. Κύκλος μετάδοσης της ελονοσίας.

Αποκλειστικό υπόδοχο της ελονοσίας στη φύση είναι ο άνθρωπος. Δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι τα πλασμώδια που μολύνουν άλλα είδη ζώων (πίθηκοι, χιμπαντζήδες, γορίλες κ.α.) είναι μολυσματικά και για τον άνθρωπο. Μοναδικός ενδιάμεσος ζενιστής είναι τα κουνούπια του γένους *Anopheles*. Από τα περίπου 422 είδη που ανήκουν στο γένος αυτό μόνο ορισμένα είναι ικανοί φορείς της ελονοσίας. Για την Ελλάδα είναι κυρίως τα είδη *Anopheles sacharovi*, *An. maculipennis*, *An. superpictus* και *An. hyrcanus* (Samanidou-Voyadjoglou and Vakalis 2006).

Εκτός από το τσίμπημα από μολυσμένο ανωφελές κουνούπι η ελονοσία μπορεί να μεταδοθεί επίσης και με άλλους τρόπους, όπως είναι η μετάγγιση μολυσμένου αίματος, η χρήση μολυσμένων συρίγγων ή μέσω του πλακούντα. Οι τελευταίοι όμως μηχανισμοί προκαλούν αποκλειστικά την ερυθροκυτταρική από μετάγγιση ελονοσία, γεγονός που διευκολύνει την εξάλειψή της.

Η ιστορία της ελονοσίας (*malaria*) χρονολογείται από το 1500 π.Χ. όπως προκύπτει από αναφορές τυπικών συμπτωμάτων της νόσου που περιγράφονται στους πάπυρους της αρχαίας Αιγύπτου και τη συσχέτισή τους με τις πλημμύρες του ποταμού Νείλου. Γύρω στο 400 π.Χ. ο Ιπποκράτης αναγνώρισε κάποιες μορφές της και αυτό που πίστευαν τότε ήταν ότι η ελονοσία είχε σχέση με τα έλη (όπου οφείλεται και το όνομά της) και την αποσύνθεση της νεκρής οργανικής ύλης.



Εικόνα 1.40. Εξώφυλλο και η εισαγωγή της αγγλικής έκδοσης του «Υπέροχου Μυστικού» του Robert Talbor, για τη θεραπεία της θέρμης και των πυρετών (1682). Ο R. Talbor πούλησε το μυστικό της θεραπείας της ελονοσίας στο βασιλιά Λουδοβίκο τον 14^ο για 2.000 γκινές, με τον όρο ότι δεν θα δημοσιευθεί μέχρι το θάνατό του.

Στην Ευρώπη, η ελονοσία αποτελούσε μεγάλη απειλή για τις ανθρώπινες ζωές μέχρι το πρώτο μισό του 20ού αιώνα. Είναι γνωστό για παράδειγμα ότι ο Ναπολέων έχασε μεγάλο αριθμό στρατιωτών, λόγω της ελονοσίας, όταν εισέβαλε στην ανώτερη κοιλάδα του Ρήγου,

στη Γερμανία. Πριν από τον 2^ο παγκόσμιο πόλεμο, η ελονοσία ήταν διαδεδομένη σε όλη σχεδόν την Ευρώπη με τις νότιες περιοχές της να υποφέρουν περισσότερο.

Αργότερα, οι επιδημίες της ελονοσίας περιορίστηκαν κυρίως σε ορισμένες παράκτιες περιοχές της Ευρώπης, όπως στη Νότια Σουηδία και Νότια Φινλανδία, τη Δανία, τις Κάτω Χώρες, το Βέλγιο, τη Γερμανία και τη Βόρεια Γαλλία. Αυτό οφειλόταν κυρίως στη μείωση των φυσικών βιοτόπων αναπαραγωγής των κουνουπιών, μέσω των βελτιωμένων γεωργικών τεχνικών, τη βελτίωση των συνθηκών ζωής και τις καλύτερες συνθήκες υγιεινής. Σημαντικό ρόλο επίσης διαδραμάτισαν οι εκστρατείες εκρίζωσης της ελονοσίας, με την εφαρμογή των υπολειμματικών εντομοκτόνων και τη χορήγηση των νέων ανθελονοσιακών φαρμάκων.

Η Ελλάδα έχει πληρώσει βαρύτατο φόρο στην ασθένεια αυτή, κατά τη διάρκεια των αιώνων και μέχρι σχετικά πρόσφατα. Όπως αναφέρει ο Ισαακίδης για τη δεκαετία του '30 (Ισαακίδης 1941), σε μια Ελλάδα με πληθυσμό 7.000.000 ανθρώπων, οι θάνατοι από την ελονοσία ανέρχονται σε 5.000 ετησίως και τα κρούσματα υπολογίζονται σε 1.000.000. Οι ημεραργίες λόγω αδυναμίας του παραγωγικού πληθυσμού να εργαστεί υπολογίζονται σε 5.000.000 ημέρες, αξίας 250.000.000 δραχμών (της εποχής), η δε αξία των καταναλισκομένων 30 τόνων κινίνης ήταν 75.500.000 δραχμές ενώ οι υπόλοιπες δαπάνες περιθάλψεως υπολογίζονται σε 135.000.000 δραχμές. Επιπλέον οι ελονοσούντες είχαν σημαντικά μειωμένη απόδοση στην εργασία τους και ήταν ευπαθέστεροι σε άλλες ασθένειες. Όταν ο Sir Ronald Ross, ο οποίος πρώτος απέδειξε ότι τα κουνουόπια είναι φορείς της ελονοσίας, μετακλήθηκε από την Εταιρεία της Λίμνης Κωπαΐδας για να επισκεφτεί την συγκεκριμένη περιφέρεια το 1906, έγραψε στην έκθεσή του "Malaria in Greece. Proposals for antimalarial measures": «Παρήλθον έτη πολλά, αφ' ότου ο Βύρων εθνούσαε την ζωήν του υπέρ της Ελλάδος. Τας συμφοράς αυτής απέδιδεν εις την απώλειαν της ελευθερίας της. Μήπως όμως αυτία τούτων είναι άλλος εχθρός φοβερότερος των Τούρκων; Βλέπων εις τα χωρία τα απυχή αυτά παιδία, κλίνω να πιστεύω μάλλον το δεύτερον.» (απόσπασμα από το: «Η ελονοσία εν Ελλάδι και τα πεπραγμένα του Συλλόγου προς Περιστολήν των Ελωδών Νόσων», 1907, σελ. 82).

Μέχρι το 1945 η ελονοσία στην Ελλάδα αποτελούσε τεράστιο πρόβλημα δημόσιας υγείας σε σημείο που να θεωρείται ως η πιο ελονοσιογενής χώρα της Ευρώπης αλλά και οιλόκληρης της Μεσογείου (Λιβαδάς και Σφάγγος 1940a, 1940b, Λιβαδάς 1955).

Το 1930 ιδρύεται η Υγειονομική Σχολή Αθηνών και η αντιμετώπιση της ελονοσίας τέθηκε ως ο πρωταρχικός σκοπός της Σχολής που με την εκτέλεση κλινικών, επιδημιολογικών και εντομολογικών ερευνών πραγματοποίησε αξιόλογο έργο (Λιβαδάς 1950, 1954, Belios 1959, Λιβαδάς 1959). Επίσης με την εφαρμογή αρχικώς του DDT και αργότερα και άλλων σκευασμάτων η ελονοσία τέθηκε υπό έλεγχο και στα μέσα της δεκαετίας του '70, η ελονοσία θεωρήθηκε ότι εκριζώθηκε από τη χώρα μας (Μπελιός 1977, 1982).

Τις δεκαετίες επίσης του '60 και '70 η ελονοσία θεωρήθηκε ότι εκριζώθηκε και από όλες σχεδόν τις Ευρωπαϊκές χώρες (με εξαίρεση την Τουρκία) και από τότε τα κρούσματα που αναφέρονται είναι σχεδόν αποκλειστικά από εισαγόμενες περιπτώσεις, όπου δηλαδή η μετάδοση είχε λάβει χώρα σε άλλο μέρος, εκτός Ευρώπης.

Τα τελευταία όμως χρόνια, τόσο παγκοσμίως όσο και στην Ευρώπη, η ελονοσία επανεμφανίζεται σε περιοχές από τις οποίες είχε εξαλειφτεί (Gratz 2001, Checchi *et al.* 2006).

Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας, τα κρούσματα από την ελονοσία για το έτος 2008 υπολογίζονται σε 243 εκατομμύρια ενώ οι θάνατοι στους 863.000. Το 85 % των θανάτων αφορούσαν σε παιδιά κάτω των 5 ετών (WHO 2009b).

Για την Ευρώπη χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα της Ισπανίας όπου το 2010 καταγράφηκε πάλι αυτόχθονο κρούσμα ελονοσίας κάτι που είχε να διαπιστωθεί από το 1961 (Santa-Olalla Peralta *et al.* 2010). Εκτός της Ισπανίας, αυτόχθονα κρούσματα ελονοσίας έχουν καταγραφεί από το 2008, και σε άλλες 6 επίσης χώρες της Ευρώπης, το Αζερμαϊτζάν, τη Γεωργία, το Κυργιζστάν, το Τατζικιστάν, την Τουρκία και το Ουζμπεκιστάν (WHO 2010).

Τα τελευταία δύο χρόνια, αυτόχθονα κρούσματα έχουν καταγραφεί και στην Ελλάδα, στην περιοχή της Λακωνίας, στην Ανατολική Αττική (Μαραθώνας) και τη Θήβα (στοιχεία ΚΕΕΛΠΙΝΟ).

Το γεγονός αυτό θα πρέπει να μας ανησυχεί ιδιαίτερα καθώς τα είδη των ανωφελών που μπορούν να μεταδώσουν την ελονοσία, αναπτύσσονται σε πολλές περιοχές της χώρας μας και μάλιστα σε μεγάλη πυκνότητα.

1.3.1.2. Ιός του Δυτικού Νείλου (West Nile virus)

Ο ιός του Δυτικού Νείλου ανήκει στην Οικογένεια Flaviviridae, γένος *Flavivirus* και υπάγεται στην αντιγονική ομάδα B, των αρμποϊών. Πήρε το όνομά του γιατί απομονώθηκε για πρώτη φορά από το αίμα μιας γυναικας με εμπύρετη νόσο στην περιοχή του Δυτικού Νείλου, στην Ουγκάντα το 1937 (Smithburn *et al.* 1940, WHO 2004). Στη συνέχεια απομονώθηκε και από ασθενείς, πτηνά και κουνούπια στην Αίγυπτο, στις αρχές της δεκαετίας του 1950 (Melnick *et al.* 1951, Taylor *et al.* 1956). Ο ιός αναγνωρίστηκε ως το αίτιο σοβαρών μηνιγγοεγκεφαλίτιδων, σε ηλικιωμένους ασθενείς, κατά τη διάρκεια επιδημίας στο Ισραήλ, το 1957 (Medical Net 2004). Στα άλογα παρατηρήθηκε η νόσος για πρώτη φορά στην Αίγυπτο και τη Γαλλία, στις αρχές της δεκαετίας του 1960 (Medical Net 2004).

Το 1999 ο ιός εισέβαλε στη Βόρεια Αμερική και από τότε εξαπλώθηκε σε όλη τη χώρα, για να φτάσει στη δυτική ακτή το 2002 (WHO 2004).

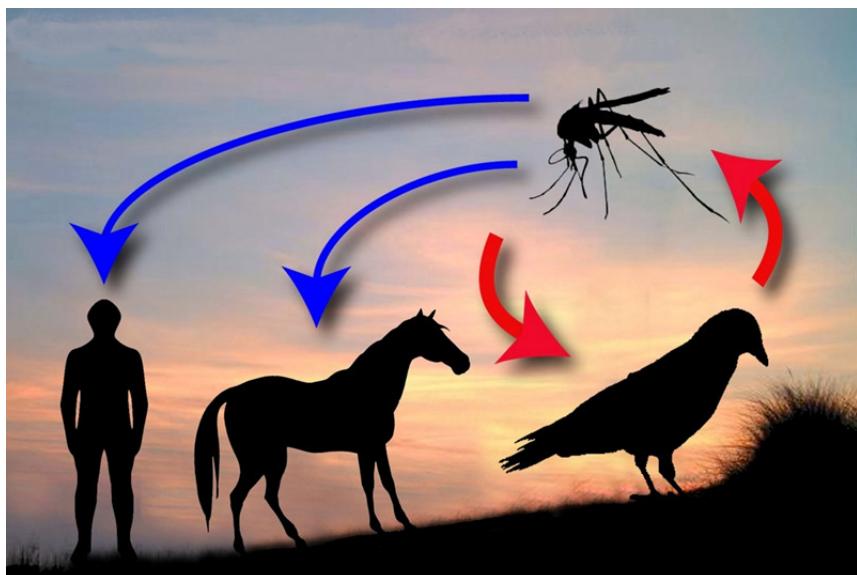
1.3.1.2.1. Αρθρόποδα φορείς

Οι κύριοι φορείς του ιού είναι κουνούπια που τρέφονται ως επί το πλείστον με αίμα πτηνών. Έχει απομονωθεί από 43 είδη κουνουπιών, με επικρατέστερο το γένος *Culex*. Στην Ευρώπη κύριοι φορείς είναι τα *Culex pipiens*, *Culex modestus* και *Coquillettidia richiardii* (Hubálek and Halouzka 1999). Επιτυχής μετάδοση πειραματικά έχει περιγραφεί και στα *Culiseta longiareolata*, *Culex tritaeniorhynchus* και *Aedes albopictus* (Hurlbut 1956, Karabatsos 1985). Τα μολυσμένα κουνούπια φέρουν τον ιό στους σιελογόνους αδένες τους 10-15 ημέρες μετά το γεύμα τους, σε μολυσμένο ξενιστή (πτηνό) (Medical Net 2004). Διωθητική (transovarian) μετάδοση του ιού έχει παρατηρηθεί στα *Cx. tritaeniorhynchus*, *Aedes aegypti* και *Ae. albopictus*, αν και σε πολύ χαμηλά επίπεδα (Baqar *et al.* 1993, Hubálek

and Halouzka 1999). Ο ιός έχει απομονωθεί και από άλλα αιματοφάγα αρθρόποδα, όπως από κρότωνες (*Dermacentor marginatus* και *Ixodes ricinus* σε Μολδαβία και Ουγγαρία, *Ornithodoros capensis* στο Αζερμπαϊτζάν και τον Καύκασο, *Hyalomma marginatum* στο Δέλτα του Βόλγα στη Ρωσία) (Hurlbut 1956, Karabatsos 1985, WHO 2004). Είναι πιθανό οι κρότωνες να διαδραματίζουν κάποιο ρόλο στη διατήρηση του ιού στις ενδημικές περιοχές, αλλά κατά πάσα πιθανότητα δεν αποτελούν σημαντικούς φορείς κατά τη διάρκεια επιδημικών εξάρσεων (WHO 2004).

1.3.1.2.2. Σπονδυλωτά φορείς

Οι κύριοι ξενιστές του ιού του Δυτικού Νείλου είναι τα άγρια πτηνά. Έχει απομονωθεί από τουλάχιστον 138 διαφορετικά είδη υδρόβιων και χερσαίων πτηνών (Hurlbut 1956, Taylor *et al.* 1956, Karabatsos 1985). Τα μολυσμένα πτηνά, 1-4 ημέρες μετά την έκθεση, εμφανίζουν νυψηλή και μακράς διάρκειας ιαιμία (viremia) αλλά στη συνέχεια αποκτούν ανοσία εφ' όρου ζωής (Taylor *et al.* 1956, Hubálek and Halouzka 1999). Ο ιός παραμένει στα όργανα των μολυσμένων πτηνών, όπως οι πάπιες και τα περιστέρια για 20-100 ημέρες (Hubálek and Halouzka 1999). Τα αποδημητικά πτηνά αποτελούν συχνά μέσο διάδοσης του ιού και εισαγωγής του σε εύκρατες περιοχές της Ευρώπης και της Ασίας (Hannoun *et al.* 1972, Hubálek and Halouzka 1999).



Εικόνα 1.41. Ο συνήθης κύκλος μετάδοσης του ιού του Δυτικού Νείλου.

Ο ιός έχει απομονωθεί και από διάφορα θηλαστικά, όπως αρουραίους, χάμστερ, νυχτερίδες, καμήλες, βοοειδή, άλογα, σκύλους και φυσικά ανθρώπους. Τα θηλαστικά αποτελούν περιστασιακούς κρίκους στην αλυσίδα διατήρησης του ιού στη φύση. Μόνο σε άλογα και ορισμένα είδη πιθήκων (λεμούριοι) παρατηρείται μέτρια ιαιμία και ενδέχεται τα

ζώα αυτά να παιζουν κάποιο ρόλο στη διατήρηση της κυκλοφορίας του ιού σε τοπικό επίπεδο. Επίσης ορισμένα είδη βατράχων (*Rana ridibunda*) μπορούν να φιλοξενήσουν τον ιό, από τα οποία είναι δυνατό να τραφούν κουνούπια όπως τα *Cx. pipiens* (Hubálek and Halouzka 1999).

1.3.1.2.3. Κύκλοι μετάδοσης

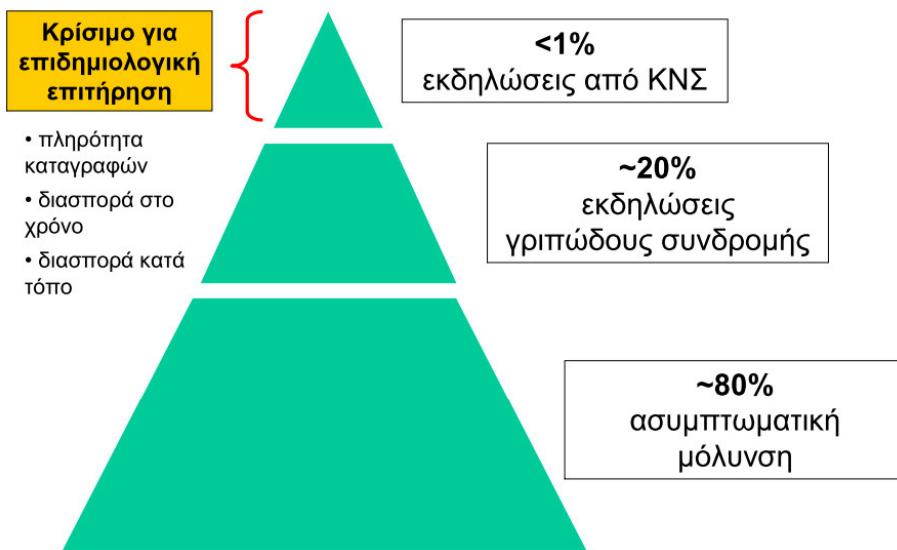
Βασικός κύκλος μετάδοσης του ιού είναι αυτός που απαντάται σε υδάτινα κυρίως οικοσυστήματα (δέλτα ποταμών, πλημμυρισμένες κοιλάδες κτλ.) και περιλαμβάνει πτηνά και κουνούπια. Σε ορισμένες ξηρές και θερμές περιοχές όπου δεν υπάρχουν κουνούπια, οι μαλακοί και σκληροί κρότωνες μπορούν να λειτουργήσουν ως «υποκατάστατοι» φορείς. Υπό προϋποθέσεις μπορεί να υπάρξει ακόμη και ο κύκλος βάτραχος – κουνούπι (Hubálek and Halouzka 1999).

Στην Ευρώπη η κυκλοφορία του ιού του Δυτικού Νείλου περιορίζεται σε δύο βασικούς κύκλους και οικοσυστήματα: τον εξωανθρώπινο (αγροτικό, δασικό) κύκλο με άγρια, συνήθως υδρόβια πτηνά και ορνιθόφιλα κουνούπια, και τον συνανθρώπινο (αστικό) κύκλο με ήμερα ή κατοικίδια πτηνά και κουνούπια που τρέφονται τόσο σε πτηνά όσο και στον άνθρωπο, κυρίως *Cx. pipiens* βιότυπος *molestus*. Ο πρώτος κύκλος συμβαίνει συνήθως σε υδάτινα οικοσυστήματα εύκρατων περιοχών και ενεργοποιείται όταν αυξάνεται η κυκλοφορία του ιού, εξαιτίας αβιοτικών (καιρικές συνθήκες) και βιοτικών παραγόντων (αύξηση των πληθυσμών των κουνουπιών και των ευπαθών πτηνών-ξενιστών). Ο επικρατών κύκλος είναι ο αγροτικός, αν και ο αστικός κύκλος μετάδοσης επικράτησε σε ορισμένες από τις επιδημίες, όπως σε αυτή στο Βουκουρέστι (Ρουμανία) το 1996 – 1997 (Tsai *et al.* 1998). Στην Ευρώπη φαίνεται ότι ο αγροτικός κύκλος μετάδοσης εναλλάσσεται με τον αστικό κύκλο (Hubálek and Halouzka 1999, Hubálek 2000).

Υπάρχουν στοιχεία που καταδεικνύουν ότι η μετάδοση του ιού είναι δυνατό να γίνει μέσω μεταγγίσεων, μεταμοσχεύσεων, με την εγκυμοσύνη (κάθετη ή ενδομήτρια μετάδοση), με το θηλασμό, καθώς και με εργαστηριακή μόλυνση.

1.3.1.2.4. Συμπτωματολογία στον άνθρωπο

Η συντριπτική πλειοψηφία (99%) των ατόμων που θα τσιμπηθούν από κουνούπι μολυσμένο με τον ιό του Δυτικού Νείλου δεν θα μολυνθεί με τον ιό. Από αυτούς που θα μολυνθούν περίπου το 80% θα είναι ασυμπτωματικοί ή θα εμφανίσουν την υποκλινική μορφή της νόσου. Άτομα άνω των 50 ετών έχουν περισσότερες πιθανότητες να εκδηλώσουν σοβαρά συμπτώματα (Deubel *et al.* 2001, Deubel and Zeller 2001). Ακόμα και σε περιόδους επιδημικών εξάρσεων, η πιθανότητα ενός κατοίκου της περιοχής να εκδηλώσει συμπτώματα της νόσου μετά από μόλυνση με τον ιό είναι 1 κάθε 140 – 300 άτομα.



Εικόνα 1. 42. Συχνότητα εκδηλώσεων λοίμωξης από τον ιό του Δυτικού Νείλου από το σύνολο των ατόμων που θα μολυνθούν από τον ιό.

Τα συμπτώματα της νόσου περιλαμβάνουν εμπύρετο γριπποειδή σύνδρομο οξείας έναρξης (η περίοδος επώασης υπολογίζεται στις 3-14 ημέρες, κατά μέσο όρο 3-6) με τα εξής συνοδά σημεία και εκδηλώσεις: μέτριο ή υψηλό πυρετό (διάρκειας 3-5 ημερών, σπάνια διφασικός, ενίστε με ρίγη), κεφαλαλγία (συνήθως μετωπιαία), πονόλαιμο, σκελετικά άλγη, μυαλγίες, αρθραλγίες, εύκολη κόπωση, επιπεφυκίτιδα, οπισθοβολβικά άλγη, κηλιδοβλατιδώδες ή ροδόχροο εξάνθημα (στο 50% κατά προσέγγιση των περιπτώσεων, εξαπλώνεται από τον κορμό στα άκρα και την κεφαλή), λεμφαδενοπάθεια, ανορεξία, ναυτία, κοιλιακά άλγη, διάρροια, συμπτώματα από το αναπνευστικό σύστημα (Hubálek and Halouzka 1999, Deubel and Zeller 2001).

Περιστασιακά (<15% των περιπτώσεων), εμφανίζονται σοβαρές επιπλοκές όπως: οξεία ασηπτική μηνιγγίτιδα ή εγκεφαλίτιδα (με συνοδά συμπτώματα αυχενική δυσκαμψία, εμέτους, σύγχυση, διαταραχές της συνείδησης, διαταραχές όρασης, υπνηλία, τρόμο των άκρων, παθολογικά αντανακλαστικά, σπασμοί, πάρεση, κώμα), μυελίτιδα, ηπατοσπληνομεγαλία, ηπατίτιδα, παγκρεατίτιδα και μυοκαρδίτιδα (Hubálek and Halouzka 1999, Deubel and Zeller 2001).

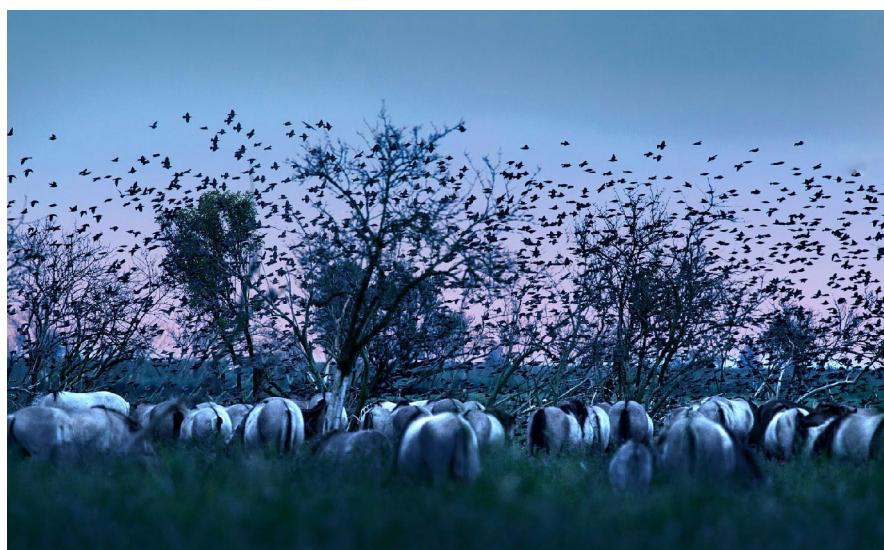
Τα εργαστηριακά ευρήματα περιλαμβάνουν μικρή αύξηση της ταχύτητας καθίζησης των ερυθρών αιμοσφαιρίων και ήπια λευκοκυττάρωση. Το εγκεφαλονωτιαίο υγρό σε ασθενείς με νευρολογική συμπτωματολογία είναι διαυγές με μέτρια πλειοκυττάρωση και αυξημένη πρωτεΐνη. Ο ιός μπορεί να απομονωθεί από το αίμα μέχρι 10 ημέρες μετά τη μόλυνση σε ανοσοεπαρκείς πυρετικούς ασθενείς και μέχρι 22 έως 28 ημέρες σε ανοσοκατεσταλμένους. Η αιχμή της ιαιμίας παρατηρείται 4 με 8 ημέρες μετά τη μόλυνση (Hubálek and Halouzka 1999, Deubel and Zeller 2001).

Η ανάρρωση είναι πλήρης, λιγότερο γρήγορη στους ενήλικες σε σχέση με τα παιδιά, συχνά συνοδευόμενη με παρατεινόμενης διάρκειας μυαλγίες και αδυναμία. Οι περισσότερες

θανατηφόρες περιπτώσεις έχουν καταγραφεί σε ασθενείς ηλικίας άνω των 50 ετών (Hubálek and Halouzka 1999, Deubel and Zeller 2001).

1.3.1.2.4. Συμπτωματολογία στα υπόλοιπα σπονδυλωτά

Στα άλογα η νόσος εκδηλώνεται με πυρετό, εγκεφαλομυελίτιδα και η θνητότητα είναι μέτρια έως υψηλή (κατά μέσο όρο 40%). Επιπλέον, η νόσος εκδηλώνεται σε πρόβατα, ενώ σε χοίρους, σκύλους, λαγούς και αρουραίους παραμένει ασυπτωματική (Hubálek and Halouzka 1999, Deubel and Zeller 2001, McLean *et al.* 2002).



Εικόνα 1.43. Τα άλογα και τα πτηνά είναι από τους πλέον ευπαθείς ξενιστές του ιού του Δυτικού Νείλου.

Τα πτηνά συνήθως δεν εκδηλώνουν συμπτώματα όταν μολυνθούν με τον ιό. Σε ορισμένες περιπτώσεις όμως έχουν παρατηρηθεί εγκεφαλίτιδες και θάνατοι σε πτηνά κυρίως κορακοειδή (Taylor *et al.* 1956, Hubálek and Halouzka 1999, Deubel and Zeller 2001, Seidowski *et al.* 2010).

Στην Αμερική από το 1999 έως το 2005 είχαν εντοπιστεί και καταγραφεί περισσότερα από 85.000 νεκρά πτηνά, εκ των οποίων το 80% αφορά κορακοειδή. Συνολικά ο ιός ευθύνεται για το θάνατο 225 διαφορετικών ειδών πουλιών συμπεριλαμβανομένων και περιστεριών, γλάρων, ερωδιών, αλκυόνων, πελεκάνων, σπουργιτών, κύκνων, γαλοπούλων, αηδονιών και δρυοκολαπτών. Ο ιός προσέβαλε επίσης και δεκάδες εξωτικά είδη σε περίπου 100 ζωολογικούς κήπους των Η.Π.Α., σκοτώνοντας επίσης φώκιες, φλαμίνγκος και πιγκουίνους, ενώ οι εκτροφείς αλιγατόρων έχασαν περισσότερα από 200 ζώα (Weiss 2002).

1.3.1.2.5. Εργαστηριακή διάγνωση

Η κλινική διάγνωση λοίμωξης από τον ιό του Δυτικού Νείλου επιβεβαιώνεται εργαστηριακά με αναζήτηση αντισωμάτων IgM σε αίμα ή εγκεφαλονωτιαίο υγρό με ELISA, καθώς και με τη δοκιμασία εξουδετέρωσης των πλακών σε κυτταροκαλλιέργειες. Η

αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) επίσης προσφέρει πολύ καλά αποτελέσματα (Lanciotti *et al.* 2000, Medical Net 2004).

1.3.1.2.6. Θεραπεία

Η θεραπεία της νόσου είναι συμπτωματική και υποστηρικτική. Νοσηλεία απαιτείται μόνο στις περιπτώσεις εμφάνισης σοβαρών εκδηλώσεων. Συνιστάται η αποφυγή του ακετυλοσαλικιλικού οξέος (ασπιρίνης) λόγω του κινδύνου εμφάνισης συνδρόμου Reye, ιδιαίτερα σε παιδιά (Medical Net 2004).

1.3.1.2.7. Πρόληψη

Οπως και για τις υπόλοιπες νόσους που μεταδίδονται με κουνουόπια, η πρόληψη περιλαμβάνει μέτρα ατομικής προστασίας για την αποφυγή των τσιμπημάτων κουνουπιών, κατάλληλη διαχείριση του οικιακού περιβάλλοντος και ολοκληρωμένα προγράμματα καταπολέμησης κουνουπιών.

Εμβόλιο για τη νόσο δεν υπάρχει. Πρόσφατα κυκλοφόρησε εμβόλιο εναντίον του ιού για τα άλογα, όμως η αποτελεσματικότητά του παραμένει άγνωστη (Medical Net 2004). Επίσης στις Η.Π.Α. δοκιμάζεται σε πειραματόζωα ένα εμβόλιο που αποτελεί υβρίδιο γενετικού υλικού προερχόμενου από τους ιούς του Δυτικού Νείλου και δάγκειου πυρετού.

Δεδομένης της πιθανότητας μετάδοσης του ιού με μεταγγίσεις, απαιτείται έλεγχος του αίματος και των προϊόντων του για το συγκεκριμένο ιό. Χαρακτηριστική της παγκόσμιας ανησυχίας για τη μετάδοση της νόσου μέσω των μεταγγίσεων αποτελεί η ειδική σύσταση που εκδόθηκε στις αρχές του καλοκαιριού του 2003, η οποία απαγόρευε την αιμοδοσία σε άτομα που ταξίδεψαν στις Η.Π.Α. τον τελευταίο μήνα.

1.3.1.2.8. Επιδημιολογία – παγκόσμια κατάσταση

Ο ιός του Δυτικού Νείλου αποτελεί τον πιο διαδεδομένο από τους φλαβιιούς, με γεωγραφική διασπορά στην Αφρική, την Ασία (κυρίως Μέση Ανατολή), τη Νότια και Κεντρική Ευρώπη και από το 1999 και στην Αμερική (Hubálek and Halouzka 1999, Wilmot 1999, Hubálek 2000, Komar 2000, WHO 2004, Hubálek 2008, Zgomba and Petric 2008). Προκαλεί σποραδικά κρούσματα και επιδημίες σε ανθρώπους και άλογα.

Εκατοντάδες κρούσματα πυρετού του Δυτικού Νείλου σε ανθρώπους έχουν αναφερθεί στο Ισραήλ και τη Νότιο Αφρική. Η μεγαλύτερη επιδημία στην αφρικανική ήπειρο, με 3.000 περίπου κλινικές περιπτώσεις, ενέκυψε σε μία άνυδρη περιοχή του Cape Province στη Νότιο Αφρική μετά από ισχυρές βροχοπτώσεις το 1974. Φορέας ήταν το είδος κουνουπιού *Culex univittatus*. Το 1994 στην Αλγερία περιγράφηκε επιδημία με 50 περίπου ασθενείς, εκ των οποίων 8 απεβίωσαν. Το 2000 στο Ισραήλ εκδηλώθηκε επιδημία με 120 περιπτώσεις εκ των οποίων 10 θανατηφόρες (Medical Net 2004). Περιστατικά και περιορισμένης έκτασης επιδημίες, τόσο σε ανθρώπους όσο και σε άλογα, έχουν αναφερθεί σε μεγάλο αριθμό χωρών της Αφρικής, της Ασίας και της Ευρώπης (Hubálek and Halouzka 1999, Kortekaas *et al.* 2010).

Στην Αμερική, ο ιός εμφανίστηκε στην πόλη της Νέας Υόρκης το 1999 (Campbell *et al.* 2002). Για την είσοδο του ιού στη χώρα ενοχοποιήθηκε ασθενής ταξιδιώτης που ήρθε αεροπορικώς από ενδημική χώρα (Medical Net 2004). Επιπλέον είναι πιθανή η εισαγωγή του ιού μέσω του ασιατικής καταγωγής του εξωτικού είδους κουνουπιού *Ochlerotatus japonicus*, το οποίο μεταφέρθηκε στις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, το 1998 μέσω των διεθνούς εμπορίου χρησιμοποιημένων ελαστικών και έκτοτε εγκαταστάθηκε και διαδόθηκε ευρέως (WHO 2004). Τη χρονιά εκείνη, καταγράφηκαν 3.389 περιπτώσεις ιού του Δυτικού Νείλου, εκ των οποίων 2.354 (69%) ήταν μηνιγγοεγκεφαλίτιδες (WHO 2004).

Στη συνέχεια καταγράφηκε ταχύτατη εξάπλωση του ιού του Δυτικού Νείλου στις Η.Π.Α.. Οι εκτιμήσεις των αρμοδίων αρχών είναι ότι από το 1999 και μετά ενδέχεται να έχουν εκτεθεί στον ίο περισσότεροι από 400.000 άνθρωποι.

Πίνακας 1.1. Κρούσματα ιού του Δυτικού Νείλου, σε ανθρώπους, στις Η.Π.Α., σύμφωνα με τα στοιχεία των Centers for Disease Control and Prevention (CDC, 28/12/2010).

Έτος	Πολιτείες με κρούσματα	Σύνολο κρούσμάτων σε ανθρώπους	Θάνατοι ανθρώπων
1999	1	62	7
2000	3	21	2
2001	10	66	10
2002	40	4.156	284
2003	46	9.862	264
2004	41	2.539	100
2005	44	3.000	119
2006	44	4.269	177
2007	44	3.630	124
2008	47	1.356	44
2009	38	720	32
2010	37	981	45
Σύνολο		30.662	1.208

Περιστατικά αναφέρονται επίσης και σε επτά τουλάχιστον διοικητικές περιφέρειες του Καναδά.

Σχετικά με τη διαχείμαση του ιού σε εύκρατα κλίματα, όπως στην Ευρώπη, υπάρχουν δύο θεωρίες. Η πρώτη αφορά στη διωοθηκική μετάδοση του ιού σε κάποια κουνούπια του γένους *Culex* και η δεύτερη αφορά στην επανεισαγωγή του ιού, ανά τακτά χρονικά διαστήματα, από μολυσμένα αποδημητικά πτηνά, που επιστρέφουν από τροπικές ή ημιτροπικές περιοχές. Επίσης είναι δυνατό να συμβαίνει και ο συνδυασμός των δύο παραπάνω μηχανισμών (Hubálek and Halouzka 1999, Hubálek 2000, 2008).

1.3.1.2.9. Ο ιός του Δυτικού Νείλου στην Ευρώπη

Η παρουσία του ιού του Δυτικού Νείλου στην Ευρώπη είναι έντονη και περιλαμβάνει σποραδικά κρούσματα και επιδημίες σε ανθρώπους και άλογα, καθώς και ανεύρεση αντισωμάτων σε ανθρώπους, λοιπά σπονδυλωτά και κουνούπια, γεγονός που αποδεικνύει έμμεσα την παρουσία του ιού (Han *et al.* 1999, Dauphin *et al.* 2004, Granwehr *et al.* 2004) (Εικόνα 1.44.).



Εικόνα 1.44. Γεωγραφική διασπορά του ιού του Δυτικού Νείλου στην Ευρώπη: οι μαύροι κύκλοι δείχνουν τις περιοχές όπου ο ιός απομονώθηκε από κουνούπια ή σπονδυλωτά, τα μαύρα τετράγωνα δείχνουν τις περιοχές με εργαστηριακά επιβεβαιωμένα κρούσματα σε ανθρώπους ή άλογα, ενώ οι λευκοί κύκλοι και οι πλάγιες διακεκομμένες γραμμές δείχνουν την παρουσία ειδικών αντισωμάτων (Hubálek and Halouzka 1999).

Σχετικά με την παραπάνω εικόνα θα πρέπει να σημειωθεί ότι δεν περιλαμβάνει τα κρούσματα που καταγράφηκαν στην Ελλάδα, κατά το 2010, για τα οποία γίνεται αναφορά παρακάτω.

Για την εισαγωγή του ιού στην Ευρώπη ευθύνονται κατά πάσα πιθανότητα, τα αποδημητικά πτηνά και κυρίως αυτά που προέρχονται από την Αφρική, το Ισραήλ ή την Αίγυπτο (WHO 2004).

Η πρώτη καταγεγραμμένη παρουσία του ιού στην ευρωπαϊκή ήπειρο είναι το 1958, όταν ανιχνεύτηκαν αντισώματα του ιού σε δύο άτομα από την Αλβανία (Bardos *et al.* 1959). Η πρώτη απομόνωση του ιού στην Ευρώπη καταγράφηκε το 1963 από ασθενείς και κουνούπια στην περιοχή του Δέλτα του Ροδανού στη Γαλλία, καθώς και από ασθενείς και κρότωνες του είδους *Hyalomma marginatum*, στην περιοχή του Δέλτα του ποταμού Βόλγα, στη Ρωσία. Στη συνέχεια ο ιός απομονώθηκε διαδοχικά στην Πορτογαλία, Σλοβακία,

Μολδαβία, Ουκρανία, Ουγγαρία, Ρουμανία, Τσεχία και Ιταλία (Hubálek and Halouzka 1999, Krisztalovics *et al.* 2008, Platonov *et al.* 2008).

Οι επιπτώσεις του ιού του Δυτικού Νείλου, στην Ευρώπη είναι κατά μεγάλο μέρος άγνωστες. Στη δεκαετία του 1960, καταγράφηκαν περιπτώσεις στη Νότια Γαλλία, τη Νότια Ρωσία (1962 – 1964), την Ισπανία και τη Νοτιοδυτική Ρουμανία. Στις δεκαετίες 1970, 1980 και 1990 καταγράφηκαν κρούσματα στη Λευκορωσία, τη Δυτική Ουκρανία, τη Νοτιοανατολική Ρουμανία (1996 – 1997), την Τσεχία (1997), την Ουγγαρία και την Ιταλία (1998) (Han *et al.* 1999, Murgue *et al.* 2001, Krisztalovics *et al.* 2008) (Πίνακας 1.2.). Η νόσος στην Ευρώπη εμφανίζεται κατά την περίοδο όπου η δραστηριότητα των κουνουπιών-φορέων είναι μέγιστη, δηλαδή την περίοδο από τον Ιούλιο έως τον Οκτώβριο, με περίοδο αιχμής τους μήνες Αύγουστο και Σεπτέμβριο (Hubálek and Halouzka 1999). Υπάρχουν ενδείξεις ότι επιδημικές εξάρσεις παρατηρούνται συχνά όταν μετά από διαδοχικά ξηρά καλοκαίρια ακολουθεί ένα καλοκαίρι με πολλές βροχοπτώσεις.

Πίνακας 1.2. Ο ιός του Δυτικού Νείλου στην Ευρώπη (Bardos *et al.* 1959, Koptopoulos and Papadopoulos 1980, Antoniadis *et al.* 1990, Eltari *et al.* 1993, Tsai *et al.* 1998, Hubálek and Halouzka 1999, Cernescu *et al.* 2000, Murgue *et al.* 2001, WHO 2004, Krisztalovics *et al.* 2008, Platonov *et al.* 2008).

Χώρα	Χρονολογία	Είδη στα οποία εντοπίστηκε ο ιός
Αλβανία	1958	Άνθρωποι, κατοικίδια ζώα
Αυστρία	1964 – 1977 1988	Άνθρωποι, άγρια θηλαστικά, κατοικίδια ζώα, ερπετά Άνθρωποι
Βοσνία	Δεκαετία 1980	Άνθρωποι
Βουλγαρία	1960 – 1970 1978	Άνθρωποι, υδρόβια πτηνά, κατοικίδια ζώα Κουνούπια (ανίχνευση του ιού)
Γαλλία	1962 1962 – 1965 1975 – 1980 2001 2003	Άνθρωποι (10 βαριές περιπτώσεις) και άλογα (50 περιπτώσεις εγκεφαλίτιδας) Άνθρωποι (13 περιπτώσεις), άγρια πτηνά, κουνούπια Άνθρωποι, άλογα Άνθρωποι, άλογα Άνθρωποι
Ελλάδα	1970 – 1978 1980 - 1981	Άνθρωποι, πτηνά, κατοικίδια ζώα, κουνέλια Άνθρωποι
Ισπανία	Δεκαετία 1960 1979 1980 1998	Άνθρωποι Άνθρωποι (επιδημία γριπποειδούς συνδρόμου), τρωκτικά Άνθρωποι Άνθρωποι
Ιταλία	1966 – 1969	Άνθρωποι, αποδημητικά πτηνά, κατοικίδια θηλαστικά, κοτόπουλα, κατσίκες, τρωκτικά

	1981 1998	Τρωκτικά Άλογα (14 περιπτώσεις, 2 θανατηφόρες)
Κροατία	1978 - 1980	Άνθρωποι
Λευκορωσία	1972 – 1973 1977	Άγρια πτηνά Άνθρωποι
Μολδαβία	δεκαετία 1970	Άνθρωποι, κουνούπια, κρότωνες (Dermacentor marginatus και Ixodes ricinus)
Ουγγαρία	δεκαετία 1970 1984 2008	Άνθρωποι, βοοειδή, τρωκτικά Άνθρωποι Άνθρωποι
Ουκρανία	δεκαετία 1970 1985 1998	Άνθρωποι (4 περιπτώσεις), πτηνά, κουνούπια Άνθρωποι (38 περιπτώσεις, 16 με εγκεφαλίτιδα) Άνθρωποι
Πολωνία	1996	Σπουργίτια
Πορτογαλία	1967 – 1970 1973 1976 - 1980	Άνθρωποι, κουνούπια, άγρια πτηνά, άλογα, βοοειδή, πρόβατα Άνθρωποι Άνθρωποι
Ρουμανία	1966 – 1970 1975 1980 – 1995 1996 1997	Άνθρωποι, κουνούπια Άνθρωποι Άνθρωποι Άνθρωποι Άνθρωποι, άγρια πτηνά, κατοικίδια & άγρια θηλαστικά, σκύλοι
Ρωσία	1963 – 1968 1981 – 1986 1989 1991 1999	Άνθρωποι (>10 περιπτώσεις), υδρόβια πτηνά, κουνούπια, κρότωνες Άνθρωποι Άνθρωποι Άνθρωποι Άνθρωποι
Σερβία	δεκαετία 1970	Άνθρωποι
Σλοβακία	1970 – 1973	Άνθρωποι, αποδημητικά πτηνά, βοοειδή, σκύλοι, πρόβατα, περιστέρια, κουνούπια
Τσεχία	1978 1985 1990 1997	Κατοικίδια ζώα, λαγοί Υδρόβια πτηνά Κορμοράνοι Άνθρωποι (5 περιπτώσεις), κουνούπια

Τα κυριότερα είδη αρθροπόδων που επιβεβαιώθηκαν ως φορείς του ιού του Δυτικού Νείλου στην Ευρώπη φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα 1.3.

Πίνακας 1.3. Είδη αρθροπόδων - φορέων του ιού του Δυτικού Νείλου στην Ευρώπη (WHO 2004).

Χώρα	Είδη
Βουλγαρία	<i>Mansonia uniformis</i>
Γαλλία	<i>Culex modestus, Culex pipiens</i>
Ουκρανία	<i>Anopheles maculipennis</i>
Πορτογαλία	<i>Anopheles maculipennis</i>
Ρουμανία	<i>Culex pipiens</i>
Ρωσία	<i>Aedes vexans, Culex modestus, Culex univittatus, Dermacentor marginatus, Ixodes ricinus</i> (κρότωνες)
Σλοβακία	<i>Aedes cantans</i>
Τσεχία	<i>Aedes cinereus, Aedes vexans, Culex pipiens</i>

1.3.1.2.10. Ο ιός του Δυτικού Νείλου στην Ελλάδα και τις γειτονικές χώρες

Οι περιπτώσεις του ιού του Δυτικού Νείλου σε ανθρώπους και άλλα σπονδυλωτά στις Βαλκανικές χώρες περιγράφονται στον Πίνακα 1.2. Επιπλέον, η νόσος έχει αναφερθεί στην Κύπρο, ενώ αντισώματα έχουν ανιχνευτεί σε ανθρώπους και από την Τουρκία.

Η επιδημία του ιού το 1996-1997 στο Βουκουρέστι της Ρουμανίας και τα νοτιανατολικά περίχωρα της πόλης αυτής, αποτελεί τη μεγαλύτερη επιδημία από αρμποϊό που ενέκυψε στην Ευρώπη, μετά την επιδημία που προκλήθηκε από τον αρμποϊό Sindbis, στη βόρεια Ευρώπη τη δεκαετία του 1980. Αποτέλεσε την απόδειξη ότι ορισμένες ιώσεις που μεταδίδονται με κουνούπια μπορούν να προκύψουν σε μεγάλη κλίμακα ακόμα και σε εύκρατα κλίματα (Hubálek and Halouzka 1999, Hubálek 2000, 2008). Οροεπιδημιολογικές έρευνες καταδεικνύουν ότι η δραστηριότητα του ιού στη Νότια Ρουμανία ξεκίνησε τη δεκαετία του 1960 ή και νωρίτερα (WHO 2004). Στην επιδημία του 1996-1997, καταγράφηκαν 500 κλινικές περιπτώσεις (Tsai *et al.* 1998) (κατά άλλους συγγραφείς 767 (WHO 2004)) και η θνησιμότητα πλησίασε το 10% (Tsai *et al.* 1998, WHO 2004). Συγκεκριμένα, το 1996 (κυρίως Αύγουστος – Οκτώβριος) καταγράφηκαν 453 κλινικές περιπτώσεις, 393 εκ των οποίων εμφάνισαν νευρολογικά σύνδρομα (40% μηνιγγίτιδα, 44% μηνιγγοεγκεφαλίτιδα, 16% εγκεφαλίτιδα (Koptopoulos and Papadopoulos 1980)), με 9% θνησιμότητα και 14 περιπτώσεις το 1997, εκ των οποίων 2 θανατηφόρες. Το 1997 επίσης ο ιός απομονώθηκε από διάφορα θηλαστικά, άγρια και κατοικίδια (κυρίως σκύλους) και από άγρια πτηνά (Tsai *et al.* 1998, Hubálek and Halouzka 1999, WHO 2004). Ορισμένοι συγγραφείς εκτιμούν ότι περίπου 70.000 άτομα (εύρος 43.000 – 96.000) προσβλήθηκαν από τον ιό κατά τη διάρκεια της επιδημίας, εκ των οποίων το 0,5% εκδήλωσε εγκεφαλίτιδα

(WHO 2004). Μετά την έκρηξη της επιδημίας εγκαταστάθηκε σύστημα επιδημιολογικής επιτήρησης στη Ρουμανία και τα επόμενα χρόνια ανιχνεύτηκαν τα εξής περιστατικά: 5 περιπτώσεις το 1998, 7 περιπτώσεις το 1999 και 13 περιπτώσεις το 2000 (Cernescu *et al.* 2000). Κατά την περίοδο 1997-2000, 62% των κρουσμάτων εμφάνισε νευρολογικά σύνδρομα και η θνησιμότητα ανήλθε στο 13% (WHO 2004). Ο ίδιος απομονώθηκε από το είδος κουνουπιού *Culex pipiens*, το οποίο αποτέλεσε κατά πάσα πιθανότητα τον κύριο, αν όχι το μοναδικό, φορέα, ιδιαίτερα στις αστικές περιοχές (Tsai *et al.* 1998, WHO 2004). Αναδρομική δειγματοληψία από πτηνά που ζούσαν κοντά στις περιοχές όπου συσσωρεύτηκαν πολλά κλινικά περιστατικά ασθενών κατά τα έτη 1997-2000, έδειξαν ποσοστά οροεπικράτησης 7,8% έως 29% (WHO 2004). Φυλογενετικές αναλύσεις που ακολούθησαν, απέδειξαν ότι η εισαγωγή του ιού στη Ρουμανία λίγο πριν από το ξέσπασμα της μεγάλης επιδημίας πραγματοποιήθηκε μέσω αποδημητικών πτηνών, τα οποία μετακινήθηκαν από την υποσαχάρια ζώνη της Αφρικής, στη Βόρεια Αφρική και από εκεί στη Νότια Ευρώπη (WHO 2004).

Σχετικά με την Ελλάδα, ο ίδιος του πυρετού του Δυτικού Νείλου παρουσιάζει εκτός των άλλων και εξαιρετικό ιστορικό ενδιαφέρον. Σύγχρονοι Αμερικανοί και άλλοι επιδημιολόγοι υποστηρίζουν ότι ο Μέγας Αλέξανδρος ίσως δεν πέθανε από δηλητηρίαση, τυφοειδή πυρετό ή γρίπη, όπως έχουν προτείνει οι ιστορικοί, αλλά από τον ίο του πυρετού του Δυτικού Νείλου (Εικόνα 1.45.). Οι ερευνητές βασίζονται σε ένα απόσπασμα του Πλουτάρχου, που αναφέρει ότι ο Μέγας Αλέξανδρος είδε έξω από τα τείχη της Βαβυλώνας, λίγες εβδομάδες πριν το θάνατό του το 328 π. Χ., ένα σμήνος από άρρωστα κοράκια, να τσιμπούν το ένα το άλλο και να πέφτουν νεκρά στο έδαφος. Όπως έχει αναφερθεί τα κοράκια ανήκουν στα πτηνά που είναι ιδιαίτερα ευπαθή στη συγκεκριμένη νόσο. Ο ισχυρισμός αυτός ελέγχθηκε καταχωρώντας τα συμπτώματα του Μεγάλου Αλεξάνδρου (συμπτώματα από το αναπνευστικό σύστημα, ηπατική δυσλειτουργία, εξάνθημα) και την εμφάνιση των κορακιών σε ένα διαγνωστικό πρόγραμμα που ονομάζεται GIDEON (Παγκόσμιο Δίκτυο Λοιμωδών Νοσημάτων και Επιδημιολογίας), το οποίο και επιβεβαίωσε την προσβολή από τον ίο (Marr and Calisher 2003, Chunca 2004, Galli *et al.* 2004, Marr and Calisher 2004, Oldach *et al.* 2004).



Εικόνα 1.45. Ο Μέγας Αλέξανδρος ήταν πιθανώς ένα από τα θύματα του ιού του Δυτικού Νείλου.

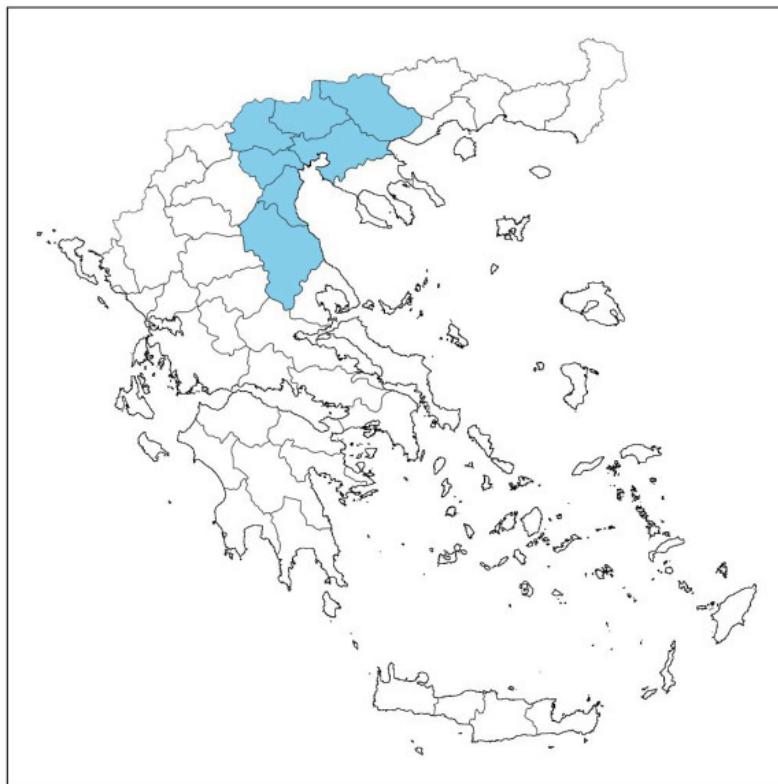
Μέσω της ανίχνευσης των ειδικών αντισωμάτων, διάφορες οροεπιδημιολογικές έρευνες στην Ελλάδα, είχαν αποδείξει την παρουσία του ιού και στη χώρα μας. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας μάλιστα καταχωρεί τη χώρα μας στον κατάλογο των ευρωπαϊκών χωρών που είναι ενδημικές στον ιό (WHO 2004). Όπως φαίνεται και στον Πίνακα 1.2., για την Ελλάδα, την περίοδο 1970-1978, αντισώματα έναντι του ιού ανιχνεύτηκαν σε ανθρώπους, κατοικίδια ζώα, κουνέλια και πτηνά (Koptopoulos and Papadopoulos 1980, Antoniadis *et al.* 1990, Hubálek and Halouzka 1999, WHO 2004), καθώς και την περίοδο 1980-1981, σε ανθρώπους (WHO 2004). Τα στοιχεία αυτά καταγράφηκαν στα πλαίσια προγραμμάτων οροεπιδημιολογικών ερευνών, για τη διαπίστωση της δραστηριότητας του ιού, στην Ευρωπαϊκή ήπειρο.

Η αναδρομική οροεπιδημιολογική μελέτη των Theiler και συνεργατών, που διενεργήθηκε το 1958 και δημοσιεύτηκε το 1960, είχε ως σκοπό τη διερεύνηση του αιτίου της επιδημίας της Αθήνας το 1927-1928, και συγκεκριμένα κατά πόσο επρόκειτο για τον ιό του δάγκειου πυρετού ή τον ιό του Δυτικού Νείλου ή και τους δύο ιούς. Τα αποτελέσματα των εξετάσεων, που διεξήχθησαν σε δείγματα ορού 56 ατόμων, που κατοικούσαν στην Αθήνα την περίοδο της επιδημίας, κατέδειξαν την παρουσία αντιαντισωμάτων του ιού του Δυτικού Νείλου, σε τίτλους όμως τόσο χαμηλούς που δεν δικαιολογούσαν την παρουσία του ιού του Δυτικού Νείλου στη μεγάλη εκείνη επιδημία (Theiler *et al.* 1960).

Σε συνέχεια των ερευνών αυτών, οι Αντωνιάδης και συνεργάτες σε αναδρομική οροεπιδημιολογική μελέτη που δημοσιεύτηκε το 1990 και διενεργήθηκε τα προηγούμενα έτη (Antoniadis *et al.* 1990), διερεύνησαν την παρουσία αντισωμάτων για τον ιό του Δυτικού Νείλου με δοκιμασία αναστολής της αιμοσυγκόλησης (HI), σε ομάδες ατόμων γεννημένων πριν και μετά το 1928. Τα αποτελέσματα κατέδειξαν την παρουσία των ειδικών αντισωμάτων σε ποσοστό 22,6 % των ατόμων που ήταν γεννημένοι έως το 1928 και 21,7 % εκείνων που γεννήθηκαν μετά το 1928, αποδεικνύοντας ότι η επιδημία του 1927-1928, δεν επηρέασε την παρουσία του ιού του Δυτικού Νείλου στην Ελλάδα.

Στην ίδια μελέτη, διερευνήθηκε η παρουσία αντισωμάτων έναντι διαφόρων αρμποϊών σε δείγματα του ελληνικού πληθυνσμού, χρησιμοποιώντας έμμεσο ανοσοφθορισμό (IFA) και την τεχνική PRN (plaque reduction neutralization). Τα δείγματα αίματος συλλέχθηκαν από υγιείς αγρότες, κτηνοτρόφους και υλοτόμους. Τα αποτελέσματα των εξετάσεων σχετικά με την παρουσία του ιού του Δυτικού Νείλου, που έγιναν με PRN, έδειξαν ότι στα 245 δείγματα που ελέγχθηκαν, τα 3 βρέθηκαν οροθετικά, δηλαδή ποσοστό περίπου 1,2 % (Antoniadis *et al.* 1990).

Όλα αυτά τα στοιχεία όμως αποκτούν διαφορετική σημασία μετά την μεγάλη επιδημία του ιού του Δυτικού Νείλου, στην Βόρεια και Κεντρική Ελλάδα κατά το καλοκαίρι του 2010 (Papa *et al.* 2010a, Papa *et al.* 2010b).

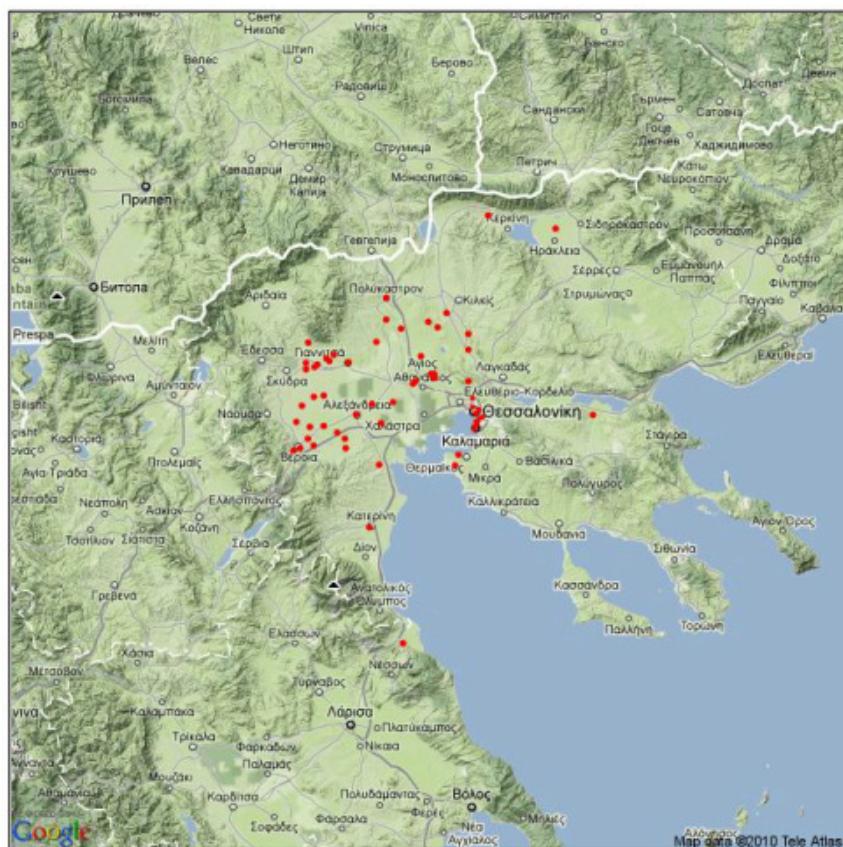


Εικόνα 1.46. Νομοί της Ελλάδος που είχαν εμφανίσει εργαστηριακά διαπιστωμένα κρούσματα του ιού του Δυτικού Νείλου, έως 17/8/2010 (πηγή: ΚΕΕΛΠΝΟ)

Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στους παραπάνω Νομούς Ημαθίας, Κιλκίς, Πέλλας, Πιερίας, Θεσσαλονίκης, Σερρών και Λάρισας, με εργαστηριακά διαπιστωμένα κρούσματα του ιού του Δυτικού Νείλου, προστέθηκε αργότερα (Σεπτέμβριος 2010) και ο Νόμος Αιτωλοακαρνανίας.

Η διασπορά των κρουσμάτων μέχρι την 17^η Αυγούστου 2010 παρουσιάζεται στην Εικόνα 1.47.

Σύμφωνα με τα επίσημα στοιχεία του Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ.), του Υπουργείου Υγείας και Κοινωνικής Αλληλεγγύης, η Ελλάδα εμφάνισε μια από τις μεγαλύτερες για την Ευρωπαϊκή ήπειρο, επιδημίες από τον ιό του Δυτικού Νείλου με τουλάχιστον 261 εργαστηριακά διαπιστωμένα κρούσματα και 34 θανάτους. Αναλυτικά, η κατάσταση μέχρι την 28^η Οκτωβρίου 2010 παρουσιάζεται στον Πίνακα 1.4.



Εικόνα 1.47. Η διασπορά των κρουσμάτων μέχρι την 17/8/2010 παρουσιάζεται στην παρακάτω εικόνα (πηγή: ΚΕΕΛΠΝΟ).

Πίνακας 1.4. Αριθμός κρουσμάτων στην Ελλάδα, με εργαστηριακή διάγνωση της λοίμωξης από τον ιό του Δυτικού Νείλου, για το έτος 2010, έως 28/10/2010 (πηγή: ΚΕΕΛΠΝΟ, 2/11/2010).

	Αριθμός ασθενών με προσβολή κεντρικού νευρικού συστήματος ^[2]	Αριθμός ασθενών χωρίς προσβολή κεντρικού νευρικού συστήματος	Σύνολο ασθενών	Αριθμός θανάτων ^[3]
Κρούσματα που διαγνώστηκαν εργαστηριακά και θάνατοι που συνέβησαν στις 22 - 28/10/2010 ^[1]	0	0	0	2*
ΣΥΝΟΛΟ ΚΡΟΥΣΜΑΤΩΝ (εργαστηριακή διάγνωση έως 28/10/2010)	191	70	261	34

[1] Αφορά ασθενείς που διαγνώστηκαν εργαστηριακά τις ημερομηνίες αυτές, αλλά η νόσος και η νοσηλεία στο νοσοκομείο κατά κανόνα είχαν ξεκινήσει από προηγούμενες ημέρες. Αφορά, επίσης, θανάτους που συνέβησαν τις ημερομηνίες αυτές.

[2] Πρόκειται κυρίως για εκδηλώσεις εγκεφαλίτιδας ή άσηπης μηνιγγίτιδας.

[3] Περιλαμβάνονται και στη στήλη «Σύνολο ασθενών».

*Αφορά υπερήλικες με υποκείμενα νοσήματα.

Σημειώνεται ότι, έως τις 10:00 πμ, της 29^{ης} Οκτωβρίου 2010, από τους ασθενείς με διαπιστωμένη λοίμωξη από τον ίο του Δυτικού Νείλου, 213 ασθενείς είχαν λάβει εξιτήριο από το νοσοκομείο και 3 νοσηλεύονταν ακόμη, από τους οποίους οι 2 σε Μονάδα Εντατικής Θεραπείας (ΜΕΘ). Ένδεκα από τους ασθενείς δεν έχουν νοσηλευτεί σε νοσοκομείο (πηγή: ΚΕΕΛΠΙΝΟ, 2/11/2010).

Αναλυτικά στοιχεία, τόσο για την επιδημία και την εξάπλωσή της, όσο και για την αποτελεσματικότητα των μέτρων που ελήφθησαν από την πολιτεία για την καταστολή της δεν είναι διαθέσιμα μέχρι στιγμής. Όμως, και μόνο του από τον απολογισμό των καταγεγραμμένων κρουσμάτων και θανάτων, τοποθετεί την χώρα μας, ίσως στη δεινότερη θέση σε σχέση με τις υπόλοιπες Ευρωπαϊκές χώρες ως προς την επικινδυνότητα για εμφάνιση και εξάπλωση ασθενειών που μεταδίδονται από τα αρθρόποδα και ειδικά από τα κουνουόπια καθώς εκτός των άλλων είναι γνωστό ότι πολλές περιοχές της Ελλάδος υποφέρουν από μεγάλους πληθυσμούς κουνουπιών και μάλιστα από είδη τα οποία είναι γνωστοί φορείς του συγκεκριμένου ιού. Τέτοια είδη για την χώρα μας είναι τα *Culex pipiens*, *Culex modestus*, *Culex univittatus*, *Anopheles maculipennis*, *Aedes vexans*, *Aedes cantans* καθώς και οι κρότωνες του είδους *Ixodes ricinus*.

Η φετινή επιδημία θα πρέπει να προβληματίσει την πολιτεία και τους αρμόδιους φορείς και να αποτελέσει το έναυσμα για εντονότερη δραστηριοποίησή τους προς την κατεύθυνση της αποτελεσματικότερης διαχείρισης του προβλήματος των κουνουπιών στην Ελλάδα, μέσω άμως προσεκτικότερων και αυστηρά επιστημονικών μεθόδων προσέγγισης (Reiter 2010a, Zeller *et al.* 2010).

1.3.1.3. Δάγκειος πυρετός

Ο ιός του δάγκειου πυρετού υπάγεται και αυτός στους φλαβιιούς (Οικογένεια Flaviviridae, γένος *Flavivirus*) όπως και ο ιός του Δυτικού Νείλου.

Υπάρχουν 4 διαφορετικοί ορότυποι του ιού του δάγκειου πυρετού: DEN-1, DEN-2, DEN-3 και DEN-4. Η μόλυνση με κάθε έναν από τους τύπους αυτούς παρέχει ανοσία μόνο για τον ομόλογο τύπο και για το λόγο αυτό είναι δυνατό ένα άτομο να εμφανίσει πολλαπλές προσβολές με τον ίο του δάγκειου. Αξιοσημείωτο είναι επίσης το γεγονός ότι καθένας από τους οροτύπους μπορεί να προκαλέσει επιδημία (Gubler 1998b, WHO 1999).

1.3.1.3.1. Ιστορική αναδρομή

Σχετικά με την ιστορία της νόσου, επιδημίες δάγκειου φαίνεται ότι έχουν συμβεί τους τελευταίους τρεις αιώνες σε τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές του πλανήτη. Η πρώτη επιδημία δάγκειου καταγράφηκε το 1635 στις Γαλλικές Δυτικές Ινδίες, αν και μια επιδημία με τα χαρακτηριστικά του δάγκειου πυρετού περιγράφηκε στην Κίνα το 992 μ.Χ. (WHO 1999). Ο δάγκειος πυρετός ως κλινική οντότητα αγνώστου αιτιολογίας και νόσος μεταδιδόμενη με τα κουνουόπια περιγράφηκε πρώτη φορά από τον Graham το 1902 και επιβεβαιώθηκε το 1907 από τους Ashburn και Craig (Matheson 1950). Το 1926 ο Siler και

συνεργάτες, καθώς και λίγα χρόνια αργότερα (1930-1931) ο Simmons και συνεργάτες απέδειξαν ότι τουλάχιστον δύο είδη κουνουπιών, τα *Aedes aegypti* και *Aedes albopictus* ενέχονται στη μετάδοση της νόσου (Matheson 1950).

1.3.1.3.2. Κύκλος μετάδοσης

Ο ιός του δάγκειου πυρετού μεταδίδεται με κουνούπια του γένους *Aedes* (υπογένος *Stegomyia*), κυρίως με τα είδη *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*, καθώς και με τα *Ae. scutellaris* και *Ae. polynesiensis* (Kettle 1995, WHO 1999). Τα κουνούπια αποκτούν τον ιό κατά τη διάρκεια γεύματος από ασθενή σε φάση ιαιμίας. Μετά την πάροδο 7-12 ημερών, μολύνονται οι σιελογόνοι αδένες του κουνουπιού και το έντομο είναι σε θέση να μεταδώσει τον ιό σε νέα άτομα, καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του. Διωθηκική μετάδοση του ιού στις επόμενες γενιές έχει αποδειχθεί ότι είναι δυνατό να συμβεί αν και εμφανίζεται σπάνια (WHO 1999). Ο ιός κυκλοφορεί στο αίμα των ανθρώπων που μολύνονται (φάση ιαιμίας) λίγο πριν την έναρξη των συμπτωμάτων μέχρι 5 ημέρες μετά, κατά μέσο όρο. Η περίοδος από το μολυσματικό τσίμπημα έως την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων ποικίλει μεταξύ 3 έως 14 ημερών (κατά μέσο όρο 1 εβδομάδα) (WHO 1999). Εκτός από αυτόν το βασικό κύκλο που γίνεται μεταξύ ανθρώπων με κουνούπια αστικών περιοχών, έχει αναφερθεί και ένας δευτερεύων κύκλος στη ζούγκλα της Μαλαισίας, με τον οποίο ο ιός μεταδίδεται μεταξύ πρωτευόντων (ανθρώπων, πιθήκων) με δασικά είδη κουνουπιών *Aedes (Finlaya) niveus* (Kettle 1995, WHO 1999). Από το 1931 εξάλλου έχει βρεθεί ότι οι πίθηκοι των ειδών *Macacus fuscatus* και *M. philippinensis* μολύνονται από τον ιό χωρίς να νοσούν (Matheson 1950).

1.3.1.3.3. Κλινική εικόνα

Η νόσος είναι δυνατό να υπάρξει ασυμπτωματικά ή να εκδηλωθεί με ένα από τα παρακάτω κλινικά σύνδρομα:

α) **Δάγκειος πυρετός:** Οξεία εμπύρετη νόσος διάρκειας 2-7 ημερών (μέση διάρκεια 6 ημέρες), που χαρακτηρίζεται με 2 ή περισσότερες από τις ακόλουθες εκδηλώσεις: κεφαλαλγία, μιωαλγίες, αρθραλγίες, ανορεξία, ναυτία, έμετοι, λεμφαδενοπάθεια, κηλιδοβλατιδώδες ή οστρακιοειδές εξάνθημα, κνησμό, αιμορραγική διάθεση, λευκοπενία με σχετική λεμφοκυττάρωση, επηρεασμένα ηπατικά ένζυμα. Η νόσος είναι συνήθως αυτοϊώμενη μέσα σε 2-7 ημέρες και σχεδόν πάντα δεν απαιτεί νοσηλεία (WHO 1999, Chalupa *et al.* 2003).

β) **Δάγκειος αιμορραγικός πυρετός (DHF – dengue haemorrhagic fever):** Περιγράφηκε για πρώτη φορά στη Μανίλα, Φιλιππίνες το 1953-1954, όπου η επιδημία προκάλεσε τη νόσηση 150.000 – 200.000 ανθρώπων (Kettle 1995, WHO 1999), αν και αναδρομικές οροεπιδημιολογικές μελέτες και περιγραφές προηγούμενων επιδημιών μαρτυρούν την εμφάνισή του σε προηγούμενες επιδημίες, συμπεριλαμβανομένης της επιδημίας της Αθήνας το 1928 (WHO 1999).

Σύμφωνα με τον ορισμό του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, ο δάγκειος αιμορραγικός πυρετός περιλαμβάνει τα ακόλουθα (WHO 2001b):

- Πυρετός ή ιστορικό πρόσφατου πυρετού διάρκειας 2-7 ημερών.
- Θρομβοπενία (< 100.000/cc αιμοπετάλια).
- Τουλάχιστον μια από τις παρακάτω αιμορραγικές εκδηλώσεις: πετέχειες εικυνμώσεις, πορφύρα, αιματέμεση, μέλαινες κενώσεις, άλλη ανοιχτή αιμορραγία.
- Τουλάχιστον μια από τις ακόλουθες εκδηλώσεις διαφυγής πλάσματος εξαιτίας αυξημένης αγγειακής διαπερατότητας: >20% αύξηση μέσου αιματοκρίτη για την αντίστοιχη ηλικία και φύλο, >20% πτώση του αιματοκρίτη μετά από αποκατάσταση του όγκου, πλευρικά διυδρώματα και εξιδρώματα ή ασκίτης ή υποπρωτεΐναιμία.

Η πιθανότητα εμφάνισης DHF είναι περίπου 0,2% κατά τη διάρκεια της πρώτης λοίμωξης και αυξάνει στο δεκαπλάσιο σε μόλυνση με δεύτερο ορότυπο του ιού του δάγκειου. Η θνησιμότητα του DHF κυμαίνεται μεταξύ 1 - 15%. Η βαριά αυτή μορφή της νόσου πλήγτει κυρίως άτομα κάτω των 15 ετών (WHO 2000).

γ) **Σύνδρομο δάγκειου με καταπληξία (DSS – dengue shock syndrome):** Περιλαμβάνει όλα τα παραπάνω 4 κριτήρια του DHF και επιπλέον:

- Στοιχεία κυκλοφορικής καταπληξίας (ταχύς αδύναμος σφυγμός με στενή διαφορά αρτηριακής πίεσης <20 mmHg).
- Ψυχρό κολλώδες δέρμα ή ανησυχία, με υπόταση.

Καταπληξία τελικού σταδίου και θάνατος επέρχεται μέσα σε 12-24 ώρες (WHO 2001b). Παρουσιάζει την υψηλότερη θνησιμότητα που κυμαίνεται στο 10-40 % των περιπτώσεων ενώ η θνησιμότητα είναι ιδιαίτερα υψηλή σε δευτερογενείς προσβολές δάγκειου πυρετού, όπου προφανώς υπεισέρχονται ανοσολογικοί παθογενετικοί μηχανισμοί (Kettle 1995).

1.3.1.3.4. Εργαστηριακή διάγνωση

Ο ιός του δάγκειου πυρετού, όπως και οι υπόλοιποι φλαβιοί, μπορούν να απομονωθούν από το αίμα ή άλλα υγρά και ιστούς των νοσούντων κατά την οξεία φάση της νόσου. Έχουν αναπτυχθεί διάφορα συστήματα κυτταροκαλλιεργειών (KK) για την απομόνωσή του, όπως καλλιέργειες κουνουπιών του γένους *Aedes* (Kettle 1995).

Η ορολογική διάγνωση επιτυγχάνεται κυρίως με δοκιμασίες ανοσοϊστοχημείας, ανοσοφθορισμού και ELISA (WHO 2001b). Η ορολογική πιστοποίηση πρόσφατης νόσου στηρίζεται στη διαπίστωση ανύψωσης του τίτλου των αντισωμάτων ή την ανεύρεση IgM αντισωμάτων. Για τον ίδιο σκοπό χρησιμοποιείται επίσης η αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR) (WHO 2001b).

1.3.1.3.5 Θεραπεία

Η θεραπεία είναι συμπτωματική και περιλαμβάνει την ενδοφλέβια χορήγηση υγρών, ηπαρίνης, μεταγγίσεις αίματος κ.ά. Το ακετυλοσαλικιλικό οξύ (ασπιρίνη) αντενδείκνυται λόγω πιθανής αιμορραγικής διάθεσης (WHO 2001b).

1.3.1.3.6. Πρόληψη

Δεν υπάρχει εμβόλιο που να προστατεύει από τη νόσο, παρόλο που βρίσκονται σε εξέλιξη ερευνητικές προσπάθειες στην Ταϊλάνδη για την παρασκευή εμβολίου που θα είναι αποτελεσματικό έναντι και των 4 τύπων του ιού, ώστε να αποφεύγεται ο κίνδυνος του DHF (WHO 2000, 2001b). Η πρόληψη κατευθύνεται προς το παρόν στον έλεγχο των κουνουπιών-φορέων, μέσω εκτεταμένων προγραμμάτων καταπολέμησης, σε συνδυασμό με τη χρήση μέτρων ατομικής προστασίας (WHO 2001b).

1.3.1.3.7. Επιδημιολογία – παγκόσμια κατάσταση

Υπολογίζεται ότι τα ετήσια κρούσματα δάγκειου πυρετού στις τροπικές χώρες ανέρχονται σε 100 εκατομμύρια. Ο δάγκειος εμφανίζεται σε περισσότερες από 100 χώρες ενώ εκτός από τα μεμονωμένα κρούσματα υπάρχει και η υψηλή πιθανότητα πρόκλησης επιδημιών, ακόμα και πανδημιών. Οι επιδημίες που προκαλεί είναι συνήθως κυκλικές (WHO 1999). Κάθε χρόνο, 500.000 ασθενείς, 90% εκ των οποίων κάτω από την ηλικία των 15 ετών, νοσηλεύονται με τις βαριές μορφές του κλινικού συνδρόμου DHF/DSS (WHO 2001b). Θεωρείται ενδημική νόσος σε 102 χώρες: 20 στην Αφρική, 42 στην Αμερική, 7 στην Νοτιοανατολική Ασία, 29 στο Δυτικό Ειρηνικό και 4 στην Ανατολική Μεσόγειο (WHO 1999).

Σύμφωνα με στοιχεία του Π.Ο.Υ., το 2001 το 69% από τα κρούσματα δάγκειου που καταγράφηκαν παγκοσμίως είχαν ιστορικό πρόσφατου ταξιδιού σε ενδημικές χώρες, και από αυτά η πλειοψηφία αφορούσε τις εξής χώρες: Ταϊλάνδη, Ινδία, Μαλαισία, Ινδονησία, και Σρι Λάνκα (Pinazo *et al.* 2008). Τα τελευταία έτη αποτελεί σοβαρότερο κίνδυνο στη Νοτιοανατολική Ασία και στη Λατινική Αμερική. Συμβαίνει συχνότερα κατά τη διάρκεια των θερμών και υγρών εποχών και η μετάδοσή του είναι μεγαλύτερη στις αστικές περιοχές, συμπεριλαμβανόμενων και των κέντρων των πόλεων.

Από υγειονομική άποψη, ο δάγκειος πυρετός αποτελεί ιδιαίτερα σημαντική νόσο λόγω της δραματικής αύξησης του αριθμού περιπτώσεων και της γεωγραφικής του διασποράς τα τελευταία 30 χρόνια (WHO 2000). Απειλεί πλέον το 40% του πληθυσμού της γης (2,5 δις άνθρωποι). Ο δάγκειος αιμορραγικός πυρετός αποτελεί πρωταρχική αιτία παιδικής θνησιμότητας σε πολλές ασιατικές χώρες. Τα αίτια της αύξησης αυτής της απειλής αποδίδονται κυρίως στην ανεξέλεγκτη πληθυσμιακή έκρηξη και τη συσσώρευση πληθυσμού σε πόλεις με ανεπαρκές δίκτυο ύδρευσης, με συνέπεια την αύξηση των κουνουπιών που αναπτύσσονται στις αυτοσχέδιες συλλογές νερού που προορίζονται για οικιακή χρήση. Επιπλέον, η διάδοση του ιού και των κουνουπιών-φορέων μέσω των ταξιδιών και του εμπορίου (ιδιαίτερα εξαιτίας της διάδοσης του *Ae. albopictus* ως αποτέλεσμα του διεθνούς εμπορίου μεταχειρισμένων ελαστικών), καθώς και η αποτυχία πολλών προγραμμάτων ελέγχου των εντόμων συνέβαλαν προς την κατεύθυνση αυτή (WHO 2000).

Με σκοπό τη βελτίωση της επιδημιολογικής επιτήρησης σε παγκόσμιο επίπεδο και την εύκολη πρόσβαση σε στατιστικά στοιχεία που αφορούν το δάγκειο, ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ.) έχει δημιουργήσει το «Δίκτυο για το Δάγκειο» (DengueNet),

ένα διαδικτυακό τόπο (η ηλεκτρονική διεύθυνση είναι: www.who.int/DengueNet.com) με στοιχεία για το δάγκειο πυρετό από το 1955 και μετέπειτα. Όπως φαίνεται και από τα στοιχεία του Π.Ο.Υ., τα έτη 1981, 1998 και 2002 παρατηρήθηκε έξαρση της νόσου, που οφείλεται στο ξέσπασμα σοβαρών επιδημιών, όπως αυτής στην Κούβα το 1981, όπου σημειώθηκαν 300.000 περιπτώσεις δάγκειου πυρετού, 10.000 περιπτώσεις DHF και 158 θάνατοι.

Από το 1995, ο Π.Ο.Υ. ανέλαβε την πρωτοβουλία συντονισμένης δράσης για την αντιμετώπιση της έξαρσης του δάγκειου. Η παγκόσμια στρατηγική της αντιμετώπισης περιλαμβάνει διάφορα βήματα που συνοφίζονται στους εξής βασικούς στόχους: έλεγχος του πληθυσμού των κουνουπιών με κρατικές και διακρατικές δράσεις, υγειονομική διαχείριση περιβάλλοντος, παθητική και ενεργητική επιδημιολογική επιτήρηση, ετοιμότητα για την έγκαιρη διαπίστωση και την αντιμετώπιση επιδημιών, ενημέρωση των πληθυσμών και επιμόρφωση των επαγγελματιών υγείας, έρευνα για την ανεύρεση αποτελεσματικότερων τρόπων ελέγχου των εντόμων και αποτελεσματική αντιμετώπιση των κρουσμάτων (WHO 1999).

Εκτός από την πρόσφατη ανησυχία πάντως, επιδημίες δάγκειου είχαν απασχολήσει συχνά την ανθρωπότητα και στο παρελθόν, καθ' όλη τη διάρκεια του 20^ο αιώνα. Αναφέρεται ότι επιδημίες δάγκειου και τριήμερου πυρετού δημιούργησαν σημαντικά προβλήματα στις αμερικανικές ένοπλες δυνάμεις κατά τη διάρκεια του Β' Παγκοσμίου Πολέμου στην Αφρική, όταν χιλιάδες στρατιώτες αρρώστησαν και απομακρύνθηκαν προσωρινά από το πεδίο της μάχης σε μια χρονική συγκυρία κρίσιμη για την έκβαση του πολέμου (Sabin 1952). Έχουν επίσης καταγραφεί μεγάλες επιδημίες όπως αυτή στο Κάιρο της Αιγύπτου το 1937 (2594 περιπτώσεις, 50 θανατηφόρες), στην Τύνιδα το 1945, στη Βηρυτό το 1945 καθώς και επιδημία στο Ajmer City, Rajasthan στην Ινδία το 1969 που επηρέασε το 34% του συνολικού πληθυσμού (Kettle 1995). Το κόστος μιας μόνο επιδημίας δάγκειου στο Πουέρτο Ρίκο το 1977, υπολογίστηκε στα 15 εκατομμύρια δολάρια, τόσο σε άμεσο κόστος όσο και ως προς τις έμμεσες συνέπειες στην οικονομία (Kettle 1995).

1.3.1.3.8. Ο δάγκειος πυρετός στην Ευρώπη

Στην Ευρώπη, η εξαφάνιση του ιού οφείλεται κυρίως στη σχεδόν καθολική χρήση των δικτύων ύδρευσης, γεγονός που συνέβαλε στην εξαφάνιση δοχείων και βαρελιών που χρησιμοποιούνταν για την αποθήκευση νερού για οικιακή χρήση καθώς και την εξαφάνιση του κύριου φορέα του ιού για την Ευρώπη, του *Aedes aegypti*.

Σε αντίθεση όμως με το *Ae. aegypti* δεν ισχύει το ίδιο και για το *Aedes albopictus*, το οποίο έχει εισβάλλει στην Ευρωπαϊκή ήπειρο και έχει εγκατασταθεί με επιτυχία σε πολλές περιοχές της. Συνεπώς το ενδεχόμενο επανεμφάνισης του δάγκειου θεωρείται πιθανό και απαιτείται αυξημένη επαγρύπνηση των υπηρεσιών δημόσιας υγείας. Εξάλλου, ο ιός του δάγκειου συχνά εισάγεται στην Ευρώπη από ταξιδιώτες που επιστρέφουν από χώρες ενδημικές στον ιό. Εάν ένας τέτοιος ασθενής στη φάση της ιαμίας τσιμπηθεί από κουνούπι *Ae. albopictus* είναι δυνατό να ξεκινήσει μια νέα επιδημία σε κάποια περιοχή της Ευρώπης (WHO 1999, Reiter 2010b).

Ως τραγική επιβεβαίωση των παραπάνω, αυτόχθονα κρούσματα δάγκειου πυρετού εμφανίστηκαν στη Γαλλία πρόσφατα (το 2010) και αποδόθηκαν στην εξάπλωση του *Ae. albopictus* στη χώρα αυτή (La Ruche *et al.* 2010), ενώ επίσης κρούσματα του ίδιου ιού καταγράφηκαν και στην Κροατία (Schmidt-Chanasit *et al.* 2010).

1.3.1.3.9. Ο δάγκειος πυρετός στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα όλα τα κρούσματα δάγκειου πυρετού πλέον είναι εισαγόμενα. Η εμφάνιση όμως και στη χώρα μας του *Aedes albopictus*, καθώς και η παραπάνω περίπτωση της Γαλλίας επιβάλλουν την επαγρύπνηση και τη λήψη προληπτικών μέτρων (Vazeille *et al.* 1999, Zgomba and Petric 2008).

Εξάλλου η χώρα μας είχε το θλιβερό προνόμιο να έχει τη μεγαλύτερη επιδημία δάγκειου πυρετού, στην Ευρωπαϊκή ήπειρο, κατά το παρελθόν.

Συγκεκριμένα, μια μεγάλη επιδημία έλαβε χώρα στην Αθήνα και τον Πειραιά το 1928, με μεγάλο αριθμό περιστατικών, πολλών εκ των οποίων βαριά άρρωστοι ενώ καταγράφηκαν και 1.533 θάνατοι (Cardamatis 1929). Ο δάγκειος πυρετός έκανε για πρώτη φορά την εμφάνισή του στην ελληνική πρωτεύουσα στο τέλος του καλοκαιριού και στην αρχή του φθινοπώρου του 1927. Φορέας του ιού ήταν κατά πάσα πιθανότητα το είδος *Ae. aegypti*, το οποίο επικρατούσε στην περιοχή εκείνη την περίοδο (Theiler *et al.* 1960). Ως απαρχή της επιδημίας θεωρήθηκε η νόσηση μιας οικογένειας από τη Συρία, τα μέλη της οποίας, προσβεβλημένα από δάγκειο, ήρθαν στην Ελλάδα μέσω της Βηρυτού και νοσηλεύτηκαν σε νοσοκομείο της Αθήνας. Το ξέσπασμα της επιδημίας το 1927 ήταν ήπιο και καθόλου ανησυχητικό, για το λόγο αυτό τα περιστατικά δεν αναφέρθηκαν στις ελληνικές αρχές δημόσιας υγείας. Συνεπώς δεν υπάρχουν διαθέσιμα στατιστικά στοιχεία για να περιγράψουν το μέγεθος και τη γεωγραφική έκταση αυτής της πρώτης επιδημίας. Παρά το συνηθισμένα κρύο καιρό της Αθήνας κατά τη διάρκεια του χειμώνα 1927-1928, μικρός αριθμός νέων περιστατικών δάγκειου αναφέρθηκαν τόσο κατά το χειμώνα όσο και την επόμενη άνοιξη (Cardamatis 1929, Papaevangelou and Halstead 1977).

Η κατάσταση παρέμεινε σχετικά ήπια μέχρι τον Αύγουστο του 1928, οπότε η επιδημία κυριολεκτικά έλαβε διαστάσεις πανδημίας. Τον Αύγουστο και τον Σεπτέμβριο του 1928, κατεγράφησαν 650.000 περιστατικά στην Αθήνα και τον Πειραιά, όταν ο συνολικός πληθυσμός των πόλεων αυτών εκείνη την περίοδο ήταν 704.247 κάτοικοι (452.919 κάτοικοι στην Αθήνα και 251.328 στον Πειραιά). Όσον αφορά τους 1.061 θανάτους (Copanaris 1928) που αποδόθηκαν στο δάγκειο εκείνη την περίοδο, συνέβησαν σε όλες τις ηλικιακές ομάδες, με τα μεγαλύτερα ποσοστά να σημειώνονται μεταξύ των ηλικιωμένων. Συγκεκριμένα 1% του πληθυσμού άνω των 60 ετών απεβίωσε κατά τη διάρκεια της επιδημίας. Λεπτομέρειες σχετικά με την κατανομή των θανάτων ανά ηλικιακή ομάδα περιγράφονται στον Πίνακα 1.5.

Πίνακας 1.5. Θνησιμότητα δάγκειου πυρετού ανά ηλικία στην Αθήνα και τον Πειραιά, Αύγουστος - Σεπτέμβριος 1928 (Copanaris 1928, Papaevangelou and Halstead 1977).

Ηλικιακή ομάδα (έτη)	Αριθμός θανάτων	Θνησιμότητα /100.000
0 - <1	64	> 106,3
1 – 4	27	
5 – 9	7	10,0
10 – 14	2	3,0
15 – 19	23	29,6
20 – 24	17	27,7
25 – 29	20	34,5
30 – 39	59	69,5
40 – 49	84	117,3
50 – 59	127	194,1
60 +	631*	1.015,9
Σύνολο θανάτων		1.061

* Αριθμός θανάτων ανά ηλικιακή ομάδα: 60-69 (201), 70-79 (233), 80-89 (154), 90+ (43)

Υπολογίζεται ότι το σύνολο των περιπτώσεων δάγκειου πυρετού σε όλη τη διάρκεια της επιδημίας 1927-1928 πλησίασε το ένα εκατομμύριο. Η διάγνωση φυσικά στηριζόταν μόνο σε κλινικές παρατηρήσεις (Theiler *et al.* 1960).

Οι Theiler και συνεργάτες, το 1958 μελέτησαν 56 δείγματα ορού από άτομα που κατοικούσαν στην Αθήνα την περίοδο της επιδημίας με σκοπό να αποδείξουν το αίτιο της επιδημίας. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρξε μόλυνση με τον ίο του Δυτικού Νείλου όπως αρχικά υπέθεσαν οι συγκεκριμένοι ερευνητές, και επιβεβαιώθηκε η παρουσία αντισωμάτων για τον ορότυπο DEN-1 στο 70% των δείγματος (Theiler *et al.* 1960).

Σχετικά με τις κοινωνικές επιπτώσεις της επιδημίας, μέχρι το Σεπτέμβρη του 1928 η Αθήνα βρισκόταν, σύμφωνα με περιγραφές της εποχής, σε «κατάσταση πολιορκίας». Παρουσιάστηκε έλλειψη προμηθειών σε τρόφιμα, οι υπάλληλοι στον ιδιωτικό και δημόσιο τομέα δεν πήγαιναν στην εργασία τους, τα φαρμακεία παρέμεναν κλειστά, τα θέατρα ανέβαλαν επ' αόριστον τις πρεμιέρες και τις παραστάσεις τους και γενικά η ζωή της πρωτεύουσας είχε σταματήσει. Ακόμα και ο Πρωθυπουργός της χώρας Ελευθέριος Βενιζέλος, προσεβλήθη από τη νόσο. Η πόλη επέστρεψε στους κανονικούς της ρυθμούς το Νοέμβριο του 1928, ενώ το τελευταίο θανατηφόρο κρούσμα δάγκειου πυρετού καταγράφηκε το 1930.

Τα αίτια της αναπάντεχα γρήγορης και μεγάλης εξάπλωσης της επιδημίας εντοπίζονται στις άθλιες συνθήκες υγιεινής που επικρατούσαν εκείνη την περίοδο στην ελληνική πρωτεύουσα. Ο πληθυσμός υπέφερε συστηματικά από υποσιτισμό και διάφορες μεταδιδόμενες ασθένειες. Το 1/5 των συνολικών θανάτων οφειλόταν στη φυματίωση, το 1/6 του πληθυσμού υπέφερε από ελονοσία, πολλά αφροδίσια νοσήματα ήταν ευρέως

διαδεδομένα και 3 στις 4 οικογένειες κατοικούσαν σε ένα μόνο δωμάτιο. Οι εφημερίδες της εποχής περιέγραφαν τις τριτοκοσμικές συνθήκες υγιεινής, αν και πολλές πληροφορίες λογοκρίνονταν, προφανώς για να αποφευχθεί ο πανικός και η πολιτική αστάθεια. Ακόμα και βασικές υπηρεσίες και παροχές δημόσιας υγείας δεν ήταν διαθέσιμες, όπως δίκτυο ύδρευσης και σύστημα αποχέτευσης.

Παρά τις καταστροφικές συνέπειες της επιδημίας σε ανθρώπινο δυναμικό και την κοινωνική ζωή, η προσπάθεια αντιμετώπισής της αποτέλεσε την απαρχή για την επανάσταση που σημειώθηκε έκτοτε στο χώρο της Δημόσιας Υγείας. Για την αντιμετώπιση του δάγκειου, διεξήχθησαν πειράματα στο Ινστιτούτο Παστέρ και στο Νοσοκομείο Ευαγγελισμός, τα οποία κατέδειξαν ότι κουνούπια που τρέφονται από μολυσμένα άτομα είναι σε θέση να μεταδώσουν τη νόσο μία εβδομάδα αργότερα και παραμένουν μολυσματικά επί ένα μήνα. Παράλληλα διερευνήθηκε η επιδημία με σκοπό τον εντοπισμό της αρχικής εστίας που όπως αποδείχθηκε ήταν η οικογένεια των Συρίων που αναφέρθηκε παραπάνω. Από τότε οι αρχές του τόπου μαζί με διεθνή βιοήθεια οδηγήθηκαν στην αναδιοργάνωση των ελληνικών υγειονομικών αρχών. Εκπαιδεύτηκε προσωπικό, ιδρύθηκε η Υγειονομική Σχολή το 1929, το έργο της οποίας έκτοτε υπήρξε ιδιαίτερα σημαντικό, συνεισφέροντας στον αγώνα για την εκρίζωση της ελονοσίας και τη βελτίωση του επιπέδου υγείας του πληθυσμού.

Η σταδιακή βελτίωση των συνθηκών υγιεινής και κυρίως η εγκατάσταση δικτύων ύδρευσης που οδήγησε στον περιορισμό της χρήσης δοχείων για αποθήκευση νερού, οδήγησαν στην εξαφάνιση του ιού του δάγκειου πυρετού από τη χώρα μας, όπως άλλωστε έγινε και στην υπόλοιπη Ευρώπη. Συμπληρωματικό ρόλο έπαιξε και ο ανθελονοσιακός αγώνας που ακολούθησε τις επόμενες δεκαετίες, δεδομένου ότι τα κουνούπια του γένους *Aedes* είναι εναίσθητα στο εντομοκτόνο DDT που χρησιμοποιήθηκε για ψεκασμούς την περίοδο 1946 – 1949 (Livadas 1958).

1.3.1.4. Κίτρινος πυρετός

Ο ιός του Κίτρινου Πυρετού, ανήκει στο γένος *Flavivirus* (οικ. Flaviviridae) και μεταδίδεται με δύο διαφορετικούς κύκλους, τον αστικό (urban) και το δασικό (sylvan). Στον αστικό κύκλο ο άνθρωπος συμμετέχει ως υπόδοχο και το κουνούπι του είδους *Aedes aegypti* ως ενδιάμεσος ξενιστής. Ο δασικός κύκλος έχει υποδόχους πιθήκους και άλλα πρωτεύοντα, ενώ ως ενδιάμεσους ξενιστές έχει κουνούπια των γενών *Aedes*, *Haemagogus* και *Sabethes* (Monath *et al.* 1990, Monath 2001).

Η εξάπλωση του Κίτρινου Πυρετού σήμερα περιορίζεται σε ορισμένες χώρες της Νότιας Αμερικής και στην Αφρική όπου μεταδίδεται και με τους δύο κύκλους και ενδημεί σε 33 χώρες. Ο μεγαλύτερος αριθμός κρουσμάτων καταγράφηκε στη Νιγηρία όπου κατά τη περίοδο 1984-1993 εντοπίστηκαν περισσότερα από 20.000 κρούσματα σε ανθρώπους και 4.000 περίπου θάνατοι. Στην Κένυα ο Κίτρινος Πυρετός, εκδηλώθηκε μέσω του δασικού κύκλου, μετά από απουσία 50 χρόνων, αναγκάζοντας τις υγειονομικές αρχές της χώρας να προχωρήσουν σε εμβολιασμό ενός εκατομμυρίου κατοίκων στις περιοχές υψηλού κινδύνου (Vainio and Cutts 1998).

Στη Νότια Αμερική, ο Κίτρινος Πυρετός μεταδίδεται σχεδόν αποκλειστικά με το δασικό κύκλο και οι χώρες στις οποίες έχουν καταγραφεί κρούσματα είναι η Βολιβία, η Βραζιλία, η Κολομβία, ο Ισημερινός και το Περού. Η πλειονότητα των περιπτώσεων αυτών άνηκε στον ανδρικό πληθυσμό που ζούσε ή εργαζόταν στα τροπικά δάση.

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας εκτιμά ότι οι επίσημα καταγεγραμμένοι αριθμοί κρουσμάτων αντιπροσωπεύουν ένα μικρό μόνο ποσοστό του συνόλου, το οποίο υπολογίζεται έως και 200.000 κρούσματα ετησίως (Vainio and Cutts 1998).

Για την Ελλάδα μέχρι πρόσφατα, η μετάδοση του Κίτρινου Πυρετού, με τις παρούσες συνθήκες δεν ήταν δυνατή καθώς ο σημαντικότερος ίσως ενδιάμεσος ξενιστής της λοίμωξης, το είδος *Ae. aegypti*, δεν έχει καταγραφεί τα τελευταία 60 περίπου χρόνια, αν και παλαιότερα ενδημούσε στη χώρα μας. Όμως, με την πρόσφατη είσοδο και εγκατάσταση ενός άλλου ικανού φορέα του ιού, του *Aedes albopictus*, στην Ελλάδα, ο κίνδυνος εμφάνισης του ιού του Κίτρινου Πυρετού, στην Ελλάδα ή την Ευρώπη είναι πλέον ορατός (Shroyer 1986, Hawley 1988, Gratz 1999, 2004, Reiter 2010b). Επιπλέον, πάντα είναι πιθανή και η επανεγκατάσταση του *Ae. aegypti*, καθώς η χώρα μας διαθέτει τις κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας (7-38 °C) και βιοτόπων, για κάτι τέτοιο. Χαρακτηριστικό παράδειγμα πιθανής επανεγκατάστασης είναι η Ολλανδία στην οποία πρόσφατα εντοπίστηκαν πληθυσμοί του *Ae. aegypti* (Enserink 2010).

Η μετάδοση του Κίτρινου Πυρετού γίνεται αποκλειστικά μέσω κουνουπιών που έχουν πρωτύτερα μολυνθεί με τον ιό. Η επώαση του ιού στον άνθρωπο κυμαίνεται από 3 έως 6 ημέρες, προκαλώντας στις περισσότερες περιπτώσεις ήπια σχετικά λοίμωξη, που μοιάζει με τη γρίπη, ως προς τα συμπτώματα και τη διάρκεια. Ποσοστό της τάξης του 15% των περιπτώσεων εξελίσσεται σε σοβαρή νόσο με πυρετό, μυαλγία, ναυτία, εμετό στο αρχικό στάδιο, ενώ στο τελικό στάδιο ίκτερο, αιματέμεση (αποβολή αίματος με εμετό), κώμα και θάνατο στις μισές περιπτώσεις του σταδίου αυτού.

Η διάγνωσή του βασίζεται στην απομόνωση του ιού από αίμα ή ιστό του ασθενούς. Η ορολογική διάγνωση συνίσταται στην ανίχνευση των IgM αντισωμάτων τα οποία εμφανίζονται μια εβδομάδα μετά τη λοίμωξη. Θεραπευτική αγωγή δεν υπάρχει απλά συνίσταται η συγχρή παρακολούθηση των υγρών, των ηλεκτρολυτών και της θερμοκρασίας του ασθενούς κατά τη διάρκεια της οξείας φάσης. Το πλέον αποτελεσματικό μέτρο είναι η πρόληψη με εμβολιασμό. Το εμβόλιο αυτό όμως δεν συνιστάται για νήπια μικρότερα των 9 μηνών, για γυναίκες στο στάδιο εγκυμοσύνης και για άτομα αλλεργικά στα αυγά.

1.3.1.5. Άλλες αρμποϊώσεις

Εκτός από του παραπάνω φλαβιούς, δηλαδή τον ιό του Δυτικού Νείλου, τον Δάγκειο και ιό του Κίτρινου Πυρετού, τα κουνούπια είναι υπεύθυνα και για τη μετάδοση και άλλων αρμποϊών στην περιοχή της Ευρώπης, αλλά και στην Ελλάδα (Papadopoulos 1980, Mitchell 1995, Hubálek and Halouzka 1996, Lundström 1999, Becker *et al.* 2010).

Για την Ελλάδα, σε διάφορες έρευνες, όπως σε αναδρομική οροεπιδημιολογική μελέτη που είχε ως σκοπό τη διερεύνηση του αιτίου της μεγάλης επιδημίας της Αθήνας το 1928,

μελετήθηκαν δείγματα αίματος από οιμάδες ατόμων γεννημένων πριν και μετά τη χρονολογία της επιδημίας, εκτός του αντικειμενικού σκοπού της έρευνας να αναδείξει τον ιό του δάγκειου ως αίτιο, καταγράφηκαν σημαντικές πληροφορίες για την παρουσία και την επίπτωση άλλων ιών στη χώρα μας (Theiler *et al.* 1960). Αν και σε μικρά ποσοστά εντοπίστηκαν αντισώματα των ιών Sindbis και Tahyna που μεταδίδονται με τα κουνούπια. Για τον Sindbis, τα ποσοστά οροθετικότητας ήταν ιδιαίτερα χαμηλά, δηλαδή 0% για τα άτομα που γεννήθηκαν πριν το 1928 και 0,9% για εκείνα που γεννήθηκαν μετά το 1928 ενώ για τον ιό Tahyna τα αντίστοιχα αποτελέσματα ήταν 1,3% και 0,9% αντίστοιχα (Antoniadis *et al.* 1990).

Στη μεγάλη οροεπιδημιολογική έρευνα του Αντωνιάδη και συνεργατών, που πραγματοποιήθηκε στα τέλη της δεκαετίας του 1980 και δημοσιεύτηκε το 1990, ελήφθησαν δείγματα αίματος από υγιή αγροτικό ελληνικό πληθυσμό (αγρότες, κτηνοτρόφους, ψλοτόμους) και ανιχνεύτηκε η παρουσία αντισωμάτων έναντι αρμποϊών με ορολογικές μεθόδους (ανοσοφθορισμό IFA και PRN). Από τα αποτελέσματα βρέθηκε ότι από σύνολο 227 ατόμων που εξετάστηκαν τα 22 άτομα (ποσοστό 9,6%) βρέθηκαν θετικά ως προς τον ιό Tahyna, ενώ από τον ίδιο αριθμό υγειών ατόμων βρέθηκαν θετικά και 10 άτομα (ποσοστό 4,4%) από τον ιό Inkoo. Επίσης, βρέθηκαν και 3 περιπτώσεις με θετικά αντισώματα (σε σύνολο 227) του ιού Snowshoe hare virus, δηλαδή σε ποσοστό 1,3% (Antoniadis *et al.* 1990).

Ο ιός Tahyna, ανήκει στην Οικογένεια Bonyaviridae και στην Ευρώπη απομονώθηκε για πρώτη φορά το 1958, στη Σλοβακία (Bardos and Danielova 1959). Έχει αναφερθεί σε διάφορες χώρες της κεντρικής κυρίως Ευρώπης, συμπεριλαμβανομένων των γειτονικών μας χωρών, Κροατία και Σερβία (Lundström 1999, WHO 2004). Μεταδίδεται με κουνούπια των γενών *Aedes* και *Ochlerotatus* και κυρίως με το *Ae. vexans* καθώς και τα *Oc. caspius*, *Oc. dorsalis*, *Oc. cantans* και *Oc. annulipes*, τα οποία απαντώνται σε σημαντικούς πληθυσμούς και στη χώρα μας (Zgomba and Petric 2008, Becker *et al.* 2010). Προκαλεί συμπτώματα γριπποειδούς συνδρόμου, μηνιγγοεγκεφαλίτιδα και άτυπη πνευμονία (WHO 2004).

Ο ιός Sindbis, είναι μέλος του γένους *Alphavirus* (οικ. Togaviridae), ενδημεί στη Μέση Ανατολή, Ευρώπη, Αφρική, Ασία και Αυστραλία, ενώ κλινικές περιπτώσεις έχουν αναφερθεί μόνο για τη νότια Αφρική και βόρεια Ευρώπη (Becker *et al.* 2010).

Ο ιός αυτός απομονώθηκε για πρώτη φορά σε κρότωνες στη Σικελία το 1975. Αργότερα έγιναν απομονώσεις και από κουνούπια στη Σουηδία, Ρωσία και Νορβηγία και συγκεκριμένα από τα είδη *Culiseta morsitans*, *Culex torrentium* και *Ochlerotatus cinereus*. Επίσης, στους ικανούς φορείς του ιού περιλαμβάνεται και το είδος *Aedes albopictus*.

Τα υπόδοχα του ιού φαίνεται να ποικίλουν αφού έχει απομονωθεί από μυοξό (hamster), βάτραχο, βοοειδή, πρόβατα όπως και άλλα κατοικίδια ζώα. Στην Ευρώπη έχει απομονωθεί από πτηνά του γένους *Turdus* (τσίχλες, κοτσύφια) και άλλα της Τάξης Passeriformes (στρουθιόμορφα). Η λοίμωξη που προκαλεί είναι σχετικά ήπιας μορφής με συμπτώματα πυρετού, εξανθήματα και αρθραλγία κυρίως στο οξύ στάδιο. Η σωστή διάγνωση της νόσου βασίζεται στα κλινικά συμπτώματα και στην αύξηση των ειδικών αντισωμάτων σε δύο διαδοχικά δείγματα ορών στο οξύ στάδιο και στη φάση της ανάρρωσης. Δυστυχώς τη δυνατότητα αυτή την έχουν πολύ λίγα εργαστήρια.

Ο **ιός Inkoo** ανήκει στην Οικογένεια Bunyaviridae και είναι διαδεδομένος στη βόρεια Ευρώπη, με αναφορές από Νορβηγία, Σουηδία, Φιλανδία, Εσθονία και την Ρωσία (Zgomba and Petric 2008). Μεταδίδεται με κουνούπια και στην Ευρώπη έχει απομονωθεί από *Ochlerotatus communis*, *Oc. punctor* και *Oc. hexadontus*. Από αυτά τα δύο πρώτα απαντώνται και στην Ελλάδα (WHO 2004, Zgomba and Petric 2008).

Σχετικά, με τον ιό **Snowshoe hare virus**, μέλος επίσης της οικογενείας Bunyaviridae, δεν υπάρχουν αναφορές για παρουσία του στην Ευρώπη, εκτός από αυτή των Αντωνιάδη και συνεργατών (Antoniadis *et al.* 1990). Ο ιός αυτός είναι διαδεδομένος σε περιοχές των Βορειοδυτικών Η.Π.Α., της Αλάσκας και του Καναδά. Μεταδίδεται με κουνούπια κυρίως των γενών *Aedes* και *Ochlerotatus*, αλλά μπορεί να μεταδοθεί και από είδη του γένους *Culiseta* και *Culex* (Becker *et al.* 2010).

Εκτός από τους παραπάνω αρμποϊούς, οι οποίοι μέσω οροθετικών δειγμάτων, έχουν κάνει την εμφάνισή τους και στην Ελλάδα, υπάρχουν και άλλοι ιοί που έχουν εντοπιστεί στην Ευρώπη και σύμφωνα με τους ειδικούς θα μπορούσαν εύκολα να εμφανιστούν και σε νέες περιοχές, όπως η χώρα μας. Οι σπουδαιότεροι από αυτούς είναι ο ιός Chikungunya και ο Rift Valley fever (Zgomba and Petric 2008).

Ο **ιός Chikungunya** ή πυρετός Chikungunya (Chikungunya Fever), είναι μέλος του γένους *Alphavirus* (οικ. Togaviridae) και δημιουργεί μια ιογενή λοίμωξη που ανήκει στην κατηγορία των αιμορραγικών πυρετών. Chikungunya σημαίνει στα σουαχίλι “αυτός που βαδίζει σκυφτός”, και ο συγκεκριμένος ιός πήρε την ονομασία του από τον τρόπο με τον οποίο περπατούν οι πάσχοντες, οι οποίοι πονούν φοβερά στις αρθρώσεις (ECDC 2007b).

Στο φυσικό περιβάλλον του ιού στην Αφρική, μεταδίδεται κυρίως από κουνούπια του γένους *Aedes*, κυρίως *Aedes aegypti* και *Aedes albopictus*, τα οποία στις περιοχές αυτές συνήθως μοιλύνονται από τον ιό καθώς τρέφονται από άγρια πρωτεύοντα. Όμως ο ιός μπορεί να προσβάλει και άλλα είδη θηλαστικών συμπεριλαμβανόμενου και του ανθρώπου (Mangiafico 1971, Zgomba and Petric 2008).

Η πρώτη επιδημία στον κόσμο σημειώθηκε στην Τανζανία το 1952, αν και η πρώτη φορά που καταγράφηκε επιδημία του ιού που αποδόθηκε στο *Ae. albopictus*, ήταν το 1779 στην Ινδονησία (WHO 2008). Το 2005-2007 ξέσπασε σημαντική επιδημία του ιού σε νησιά του Ινδικού Ωκεανού ενώ το 2007 μια μικρότερη επιδημία ξέσπασε στη γειτονική μας Ιταλία, στην περιοχή της Ραβένα, με 200 περίπου επιβεβαιωμένα κρούσματα και ένα νεκρό (ECDC 2007a, Rezza *et al.* 2007). Για την επιδημία αυτή, υπεύθυνο θεωρήθηκε το *Ae. albopictus* το οποίο έχει εγκατασταθεί σε πολλές περιοχές της χώρας αυτής (Zgomba and Petric 2008). Πειραματικά δεδομένα από ποσοστά μόλυνσης δείχνουν ότι το *Ae. albopictus* (25-48% ποσοστό μόλυνσης), ίσως να είναι καλύτερος διαβιβαστής του συγκεκριμένου ιού από ότι ο *Aedes aegypti* (0-18%) (Turell *et al.* 1992). Λόγω της εξάπλωσης του *Ae. albopictus* στην Ευρώπη, η ανησυχία για συχνή εμφάνιση επιδημιών, όπως αυτή του Chikungunya, και σε άλλες χώρες είναι μεγάλη από τους ειδικούς επιστήμονες (Sambri *et al.* 2008, Vazeille *et al.* 2008).

Τέλος και ο ιός των πυρετού του Rift Valley, θεωρείται, επίσης ως μια μεγάλη απειλή για την Ευρώπη (Chevalier *et al.* 2010). Μέχρι το 2000, ο ιός αυτός ήταν περιορισμένος στην

Αφρική. Από τότε όμως και μετέπειτα επέδειξε μια αξιοσημείωτη επεκτατικότητα, εισβάλλοντας στη Σαουδική Αραβία και την Υεμένη, και προκαλώντας μεγάλες επιδημίες. Συγκεκριμένα, το 2001, στη Σαουδική Αραβία καταγράφηκαν τουλάχιστον 882 επιβεβαιωμένα κρούσματα και 124 θάνατοι, ενώ στην Υεμένη 1087 κρούσματα και 121 θάνατοι (Shoemaker *et al.* 2002, Balkhy and Memish 2003). Απομονώσεις του ιού έχουν γίνει από τα είδη κουνουπιών *Aedes vexans* και *Culex tritaeniorhynchus*, τα οποία απαντώνται και στην χώρα μας και ως εκ τούτου ο κίνδυνος για διασπορά της ασθένειας αυτής είναι προφανής (Zgomba and Petric 2008, Chevalier *et al.* 2010).

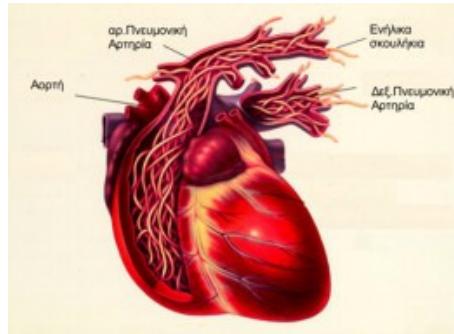
1.3.1.6. Φιλαριάσεις

Στην Ευρώπη, οι φιλαριάσεις που μεταδίδονται από τα κουνούπια, δεν έχουν σχεδόν καμία υγειονομική σημασία για τον άνθρωπο, καθώς οι περιπτώσεις αυτές περιορίζονται στις τροπικές περιοχές. Οι νηματώδεις που προκαλούν τη λυμφατική φιλαρίαση του ανθρώπου, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* και *Brugia timori*, δεν απαντώνται στην Ευρώπη, ενώ τα *Dirofilaria immitis* και *D. repens* που προκαλούν διροφιλαριάσεις στους σκύλους, τις γάτες και κάποια άλλα θηλαστικά, δεν ωριμάζουν στο κυκλοφορικό σύστημα των ανθρώπων, με αποτέλεσμα αυτοί να μην εμφανίζουν κανένα σύμπτωμα ή σε σπάνιες σχετικά περιπτώσεις μπορεί να δημιουργήσουν διάφορες κλινικές εκδηλώσεις ανάλογα με την εντόπισή τους (υποδόρια, οφθαλμική ή πνευμονική) (Pampiglione and Rivasi 2001).

Σχετικά με τη διροφιλαρίαση του σκύλου (dog heartworm disease), η ασθένεια είναι γνωστή από πολύ παλιά στην Αμερική, την Ιαπωνία και την Αυστραλία αλλά απαντάται και στην Ελλάδα σε σημαντικό ποσοστό. Το παράσιτο, *Dirofilaria immitis*, έχει εντοπιστεί στο αίμα του 4-10% των σκύλων της Μακεδονίας και Θράκης και στο 0,7 % των ζώων στην Αττική. Διροφιλάριες έχουν βρεθεί και σε άλλα ζώα, μεταξύ των οποίων γάτες, άλογα και άλλα μεγάλα θηλαστικά, αλλά ο σκύλος θεωρείται ότι είναι το πλέον ευαίσθητο ζώο στη μόλυνση.

Τα κουνούπια που είναι φορείς του νηματώδη της διροφιλαρίασης του σκύλου, ανήκουν στα γένη *Culex*, *Aedes* και *Anopheles* (Chellapah and Chellapah Jr 1968, Suenaga 1972, Konishi 1989, Cancrini *et al.* 1992, Cancrini *et al.* 1995, Cancrini *et al.* 2003). Τα παράσιτα που έχουν φθάσει στην μολύνουσα μορφή, μεταφέρονται στην προβοσκίδα του κουνουπιού, και από εκεί στο δέρμα του σκύλου κατά τη διάρκεια του τσιμπήματος. Από το δέρμα, μέσω του σημείου που έγινε το τσίμπημα, μεταφέρονται στον υποδόριο ιστό όπου εγκαθίστανται για τις επόμενες 67-80 ημέρες. Στο διάστημα αυτό το παράσιτο αναπτύσσεται και φτάνει σε μήκος τα τέσσερα εκατοστά. Το στάδιο αυτό τελειώνει με την είσοδο του παρασίτου στην κυκλοφορία του αίματος και την μεταφορά του στις πνευμονικές αρτηρίες. Εκεί ολοκληρώνεται ταχύτατα η ανάπτυξη και τα παράσιτα, σε ελάχιστο χρόνο, φτάνουν στις τελικές τους διαστάσεις που είναι 28 εκατοστά για το θηλυκό και 16 εκατοστά για το αρσενικό.

Τα ενήλικα παράσιτα βρίσκονται στις πνευμονικές αρτηρίες και τον δεξιό κόλπο και δεξιά κοιλία της καρδιάς του πάσχοντος ζώου.



Εικόνα 1.48. Σχηματική απεικόνιση νηματωδών του γένους *Dirofilaria* στην καρδιά ζώου.

Τα θηλυκά παράσιτα είναι γενετικά ώριμα στην ηλικία των 100 ημερών και παράγουν νέες μικροφιλάριες στην ηλικία των έξι περίπου μηνών. Οι μικροφιλάριες μπορούν να κυκλοφορούν στο αίμα του προσβεβλημένου ζώου μέχρι και δύο χρόνια, χωρίς όμως να προκαλούν συμπτώματα, μέχρι να καταποθούν από κάποιο κουνούπι που θα χρησιμεύσει ως ενδιάμεσος ξενιστής για την ολοκλήρωση της ανάπτυξής τους.

Η προσβολή από τη διροφιλάρια προκαλεί δυσλειτουργία στην κυκλοφορία του αίματος της καρδιάς, των πνευμόνων και των νεφρών του ζώου. Τα βασικά συμπτώματα, είναι βήχας, εύκολη κόπωση, δύσπνοια, οιδήματα και παρουσιάζονται 120 – 270 ημέρες μετά από την μόλυνση του σκύλου.

Κατά την εξέταση από τον κτηνίατρο διαπιστώνεται και διάταση του δεξιού κόλπου και της δεξιάς κοιλίας της καρδιάς, διόγκωση του ίπατος, ασκίτης κ.λ.π. Η διάγνωση στηρίζεται στα κλινικά συμπτώματα, αλλά κυρίως σε ειδικές εργαστηριακές εξετάσεις.

Η θεραπεία της διροφιλαρίασης στους σκύλους, είναι αρκετά πολύπλοκη και με αρκετούς κινδύνους για το πάσχον ζώο. Γίνεται από τον κτηνίατρο με χορήγηση ειδικών ενέσιμων φαρμάκων και με παράλληλη χορήγηση από το στόμα. Σημαντικότερη είναι η πρόληψη της νόσου με την χορήγηση κάθε μήνα ειδικών αντιπαρασιτικών σκευασμάτων (Lapage 1956, Pampiglione and Rivasi 2001, Χαραλαμπίδης 2001).

1.3.2. Το πρόβλημα των κουνουπιών στην Ελλάδα

Οι πρώτες προσπάθειες για την καταγραφή των ειδών των κουνουπιών που ενδημούν στη χώρα μας ξεκίνησαν από Έλληνες και ξένους ερευνητές στις αρχές του προηγούμενου αιώνα. Αφορμή για την έναρξη των ενδιαφέροντος σχετικά με τα κουνούπια της Ελλάδας στάθηκε το γεγονός ότι κατά τις πολεμικές επιχειρήσεις στη Μακεδονία, στον Α' Παγκόσμιο Πόλεμο, τα συμμαχικά στρατεύματα πλήττονταν από την ελονοσία, η οποία εκείνη την εποχή μάστιζε τη χώρα (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 1997).

Παρά το γεγονός ότι δεν στάθηκε δυνατό από τον γράφοντα να εντοπιστούν όλα τα πλήρη άρθρα των πρώτων αυτών εργασιών, εντούτοις κρίνεται σκόπιμο να παρατεθούν οι βιβλιογραφικές αυτές αναφορές τόσο για ιστορικούς λόγους όσο και γιατί από το τίτλο τους και μόνο μπορούν να εξαχθούν χρήσιμες πληροφορίες και στοιχεία. Έτσι, μέχρι το 1950 είχαν πραγματοποιηθεί περισσότερες από 60 εργασίες που αφορούν στα κουνούπια της Ελλάδος, οι οποίες συγκεκριμένα, με σειρά παλαιότητας, είναι οι ακόλουθες:

1. **Καρδαμάτης, Ι.Π. 1907.** Τινά περί των εν Ελλάδι κωνώπων. Τα πεπραγμένα του Συλλόγου προς περιστολήν των ελωδών νόσων. Έτος Α' και Β', 169 σελ.
2. **Καρδαμάτης, Ι.Π. 1908.** Πραγματεία περί ελειογενών νόσων. Αθήναι.
3. **Cardamatis, J.P. 1909.** Sanitary measures and malaria epidemics in Athens. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 3: 375-378.
4. **Balfour, A. 1916.** The medical entomology of Salonica. Edited by The Wellcome Bureau of Scientific Research, London. 20 pp.
5. **Niclot, A. 1917.** L'anophelisme Macedonien dans ses rapports avec le paludisme au cours 1916. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* 10: 323-328.
6. **Cot, and Hovasse. 1917.** Quelques remarques sur les anophelines en Macédoine. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* 10: 890.
7. **Waterston, J. 1918.** Entomological research on the mosquitoes of Macedonia. *Bulletin of Entomological Research* 9: 1-12.
8. **Joyeux, C.H. 1918.** Note sur les Culicides de Macédoine. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* 11: 530-547.
9. **Joyeux, C.H. 1920.** Culicides recoltes par la mission antipaludique de l'Armee d'Orient en 1918. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* 13: 117-126.
10. **Waterston, J. 1921.** Malaria in Macedonia 1915-1919. Parts I. Entomological observations on mosquitoes in Macedonia. *Journal of the Royal Army Medical Corps* 13: 121-137.
11. **Wenyon, C.M. 1921.** The incidence and aetiology of malaria in Macedonia. *Journal of the Royal Army Medical Corps* 37.
12. **Waterston, J. 1922a.** Entomological observation on mosquitoes in Macedonia. *Journal of the Royal Army Medical Corps* 37: 34.
13. **Waterston, J. 1922b.** Malaria in Macedonia 1915-1919. Part V: Entomological observations on mosquitoes in Macedonia. *Journal of the Royal Army Medical Corps* 38: 334-349.
14. **Langeron, M. 1923.** Moustiques captures en Crète. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparee* 1: 108-109.

15. **Καρδαμάτης, Ι.Π. 1925.** Η ελονοσία. Ελληνική Ιατρική Βιβλιοθήκη. Εκδοτικός οίκος Δημητράκου.
16. **Stankovic, S. 1926.** Zur Kennthis von *Anopheles superpictus* in Mazedonien. *Arch. Schiffs-u. Tropenhyg.* **30:** 104-112.
17. **Russel, H. 1927.** Notes on the reaction of the breeding places of Anophelines in Macedonia. *Bulletin of Entomological Research* **18:** 155-158.
18. **Σάββας, Κ. 1928.** Η ελονοσία εν Ελλάδι και τα πεπραγμένα του Συλλόγου περιστολής των ελαδών νόσων. Τόμος Ε'.
19. **Guelmino, D. 1928.** Beitrag zum studium der biologie der anophelen in Macedonien. *Arch. Schiffs-u. Tropenhyg.* **32:** 87-91.
20. **Copanaris, P. 1928.** L' epidemie de dengue en Grece au cours de l' ete 1928. *Office Intern. d' Hygiene Pub. Bull.* **20:** 1590.
21. **Cardamatis, J.P. 1929.** La dengue en Grece. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* **22:** 272-292.
22. **Ekblom, T. 1929.** Some observations on *Stegomyia fasciata* during a visit to Greece in the autumn of 1928. *Acta Medica Scandinavica* **70:** 505-518.
23. **Λιβαδάς, Γ.Α. 1930.** Περί της παρουσίας ενός νέου είδους ανωφελών κωνώπων. *Ελληνική Ιατρική* **3.**
24. **Παπαδάκης, Α.Μ. 1930.** Ο εντομολογικός δείκτης της πόλεως Θεσσαλονίκης εν έτει 1929 και επιδημιολογικά τινά συμπεράσματα. *Ελληνική Ιατρική* **5.**
25. **Καρδαμάτης, Ι.Π. 1931.** Αι νεώτεραι έρευναι επί των εν Αθήναις κοινών και ανωφελών κωνώπων. *Ελληνική Ιατρική*: 3131.
26. **Λιβαδάς, Γ.Α. 1931a.** Το πείραμα της Πρεβέζης και τα εξ αυτού συναγόμενα συμπεράσματα. *Πρακτικός Ιατρός*. Φεβρουάριος 1931.
27. **Λιβαδάς, Γ.Α. 1931b.** Περί των εν Ηπείρω, Άρτη, Κέκυρα, Λευκάδι και Ξηρομέρω υπαρχόντων ειδών ανωφελών κωνώπων. *Πρακτικός Ιατρός*. Γ' Ανθελονοσιακός Τομεύς. Μάρτιος 1931.
28. **Cardamatis, J.P. 1931.** Les especes de moustiques en Grece et tout particulierment d'Athenes. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* **24:** 122-131.
29. **Μουτούσης, Κ. 1932.** Ανωφελισμός και ελονοσία εν Ελλάδι. *Πρακτικά Ιατρικής Εταιρείας Αθηνών*.
30. **Πανταζής, Γ. 1932.** Η πανίς των κωνωπιδών της Ελλάδος. *Πρακτικά Ακαδημίας Αθηνών* **7:** 170-176.
31. **Shannon, R.C. 1933.** An Algerian anopheline found in Greece. *Rivista di Malariologia* **12:** 521-522.
32. **Belios, G.D. 1933.** L' histoire du paludism en Grèce depuis l' antiquité jusqu' à la découverte de Laveran. edited by, Jouve, Paris.
33. **Moutousis, K. 1933.** Recherches sur l'Anophelism et la paludism en Grèce. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* **31.**
34. **Παπαδάκης, Α.Μ. 1934a.** Τα είδη των ανωφελών κωνώπων της νήσου Κρήτης. Γεωγραφική κατανομή και βιολογία αυτών. *Ιατρικαὶ Αθῆναι* **34:** 514-523.
35. **Παπαδάκης, Α.Μ. 1934b.** Τα είδη των ανωφελών κωνώπων της νήσου Κρήτης. Γεωγραφική κατανομή και βιολογία αυτών. Διδακτορική Διατριβή Πανεπιστημίου Αθηνών, edited by, Αθήνα. 44 σελ.

36. **Balfour, M.C. 1935.** Μελέται επί της ελονοσίας εν Ελλάδι. Έκτασις της ελονοσίας κατά τα έτη 1930-1933. *Ιατρικαὶ Αθήναι* **74**: 351-359.
37. **Balfour, M.C., and Rice J.B. 1935.** The malaria infection rate in nature and in the laboratory of certain species of anopheles of East Macedonia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **3**.
38. **Balfour, M.C., Λιβαδάς Γ.Α. και Δήμησσας Κ. 1935.** Έρευναι επί της ελονοσίας εν Ελλάδι κατά τα έτη 1930-1934. *Ελληνική Ιατρική* **9**.
39. **Balfour, M.C., και Λιβαδάς Γ.Α. 1935.** Πειραματική δοκιμασία της δια του πρασίνου των Παρισίων αντιπρονυμφικής μεθόδου εν Ελλάδι επί μιαν πενταετίαν (1930-1934). Εις *Πρακτικά Ιατρικού Συνεδρίου Θεσσαλονίκης* 1935, σελ. 39-65.
40. **Barber, M.A. 1935a.** Malaria studies in Greece. The malaria infection rate in nature and in the laboratory of certain species of *Anopheles* of east Macedonia. *Annals of Tropical Medicine* **29**: 329-348.
41. **Barber, M.A. 1935b.** Malaria studies in Greece. A method of detecting the eggs of *Anopheles* in breeding places and some of its applications. *Rivista di Malariologia* **14**: 3-6 (146-149).
42. **Barber, M.A., and Rice J.B. 1935a.** The relation of housing to malaria in certain villages of East Macedonia. *American Journal of Hygiene* **3**.
43. **Barber, M.A., and Rice J.B. 1935b.** The malaria infection rate in nature and in the laboratory of certain species of anopheles of East Macedonia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **3**.
44. **Λοράνδος, Ν. 1935.** Η επιδημία της Δραπετσώνας και Κοκκινιάς (Δάγγειος, 3ήμερος). *Ιατρικαὶ Αθήναι* **80**: 457-464.
45. **Shannon, R.C. 1935.** Malaria studies in Greece. The reaction of anophelines mosquitoes to certain microclimatic factors. *American Journal of Tropical Medicine* **15**: 67-81.
46. **Balfour, M.C. 1936.** Some features of malaria in Greece and experience with its control. *Rivista di Malariologia* **15**: 114-131.
47. **Barber, M.A., Rice J.B. and Valaoras, V. 1936.** Decline of malaria in a region of East Macedonia owing to diminished rainfall. *American Journal of Hygiene* **2**.
48. **Rice, J.B., and Barber M.A. 1937.** The varieties of *Anopheles maculipennis* in a region of Greek Macedonia. *Bulletin of Entomological Research* **28**: 489-497.
49. **Παπαδάκης, Α.Μ. 1937.** Πενταετείς παρατηρήσεις επί της γεωγραφικής κατανομής των μεταδιδόντων την ελονοσίαν ανωφελικών ειδών εν Ελλάδι. *Ιατρικαὶ Αθήναι* **119**.
50. **Καρακασσώνης, Γ. 1937.** Το πρόβλημα των μικρών παρακτίων ελών. *Αρχεία Υγιεινής* **2**.
51. **Λιβαδάς, Γ.Α. 1937.** Το πρόβλημα της ελονοσίας εν Ελλάδι και γενικαί αρχαί περί του τρόπου της αντιμετωπίσεως αυτού. Εισήγησις ενώπιον του Ανωτάτου Υγειονομικού Συμβουλίου. *Αρχεία Υγιεινής* **1**.
52. **Λιβαδάς, Γ.Α. 1937.** Η οργάνωσις του ανθελονοσιακού αγώνος εν Ηπείρω. Εισήγησις ενώπιον του Ανωτάτου Υγειονομικού Συμβουλίου. *Αρχεία Υγιεινής* **5**.
53. **Shannon, R.C., and Hadjinicolaou J. 1937.** Greek Culicidae which breed in tree-holes. *Acta Instituti et Musei Zoologici Universitatis Atheniensis* **8**: 173-178.
54. **Shannon, R.C., and Papadakis A. 1937.** Some comparative rearing experiments with Greek anophelines. *Acta Instituti et Musei Zoologici Universitatis Atheniensis* **1**: 179-192.

55. Stephanides, T. 1937. The mosquitoes of the island of Corfu, Greece. *Bulletin of Entomological Research* **28**: 405-407.
56. Stephanides, T. 1938. The mosquitoes of the island of Corfu, Greece (continued from Stephanides, 1937). *Bulletin of Entomological Research* **29**: 251.
57. Hadjinicolaou, J. 1938. Observations on *Anopheles marteri*. *Rivista di Malariologia* **17**: 44-50.
58. Λιβαδάς, Γ.Α. και Σφάγγος Ι. 1940a. Η ελονοσία εν Ελλάδι. Τόμος Α'. Εκδ. οίκος Πυρσός, Αθήνα. 248 σελ.
59. Λιβαδάς, Γ.Α. και Σφάγγος Ι. 1940b. Η ελονοσία εν Ελλάδι. Τόμος Β'. Εκδ. οίκος Πυρσός, Αθήνα. 303 σελ.
60. Livadas, G.A., and Sphangos J.C. 1940-1. Malaria in Greece (1930-1940). Athens.
61. Shannon, R.C., and Hadjinicolaou J. 1941. Egg production of Greek anophelines in nature. *Journal of Economic Entomology* **34**: 300-305.
62. Weyer, F. 1942. Beitrag zur Stechmunken fauna von Macedonien. *Westthrazien. Deutsche Tropenmedizinische Zeitschrift* **46**: 249-275, 284-293.
63. Eichler, W. 1944. Anopheles beobachtungen in Griechenland. *Deutsche Tropenmedizinische Zeitschrift* **48**: 261-272.
64. Λιβαδάς, Γ.Α. 1950. Αραίωσις και εξαφάνισις των επιπολαζόντων εν Αττική ανωφελικών ειδών συνεπεία του εφαρμοσθέντος ανθελονοσιακού προγράμματος (1946-1949). *Ελληνική Ιατρική* **19**: 206-217.

Με βάση τους τίτλους των παραπάνω μελετών, όσες έχουν βρεθεί από τον γράφοντα αλλά και από το σχολιασμό πολλών αναφορών από τους Σακελλαρίου & Lane (1977) και αργότερα από τους Samanidou-Voyadjoglou & Darsie Jr (1993a) και Σαμανίδου-Βογιατζόγλου (1997) μπορούν να εξαχθούν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Με βάση τα κοινωνικά και οικονομικά δεδομένα της εποχής ο αριθμός των εργασιών αλλά και η ποιότητα του παραγόμενου έργου είναι αξιοσημείωτα. Θα πρέπει βέβαια να αναφερθεί ότι μεγάλο μέρος του έργου αυτού διεκπεραιώθηκε από ξένους μελετητές, που εργάστηκαν μόνοι τους ή σε συνεργασία με τους Έλληνες.
- Όλες σχεδόν οι πρωτότυπες μελέτες που αναφέρονται στα είδη των κουνουπιών της χώρας μας πραγματοποιήθηκαν κατά το διάστημα μεταξύ του Α' και μέχρι το τέλος του Β' Παγκοσμίου Πολέμου.
- Πολλές από τις μελέτες αφορούν στα κουνούπια μιας συγκεκριμένης γεωγραφικής περιοχής όπως η Μακεδονία ή η Κρήτη, και λιγότερες είναι αυτές που αναφέρονται γενικά στα κουνούπια της Ελλάδος.
- Με βάση τα διάφορα στοιχεία και κυρίως τη μελέτη του Πανταζή (1932), στην Ελλάδα την περίοδο εκείνη είχε διαπιστωθεί η παρουσία 38 ειδών κουνουπιών.
- Για τα κουνούπια της Αττικής υπάρχουν μόνο οι αναφορές του Λιβαδά και του Καρδαμάτη (Cardamatis 1931, Καρδαμάτης 1931, Λιβαδάς 1950), οι οποίοι θωρούνται από τους πρωτεργάτες του ανθελονοσιακού αγώνα στην Ελλάδα και μια μικρότερη του Λοράνδου (1935).

- Όπως ήταν φυσικό, για τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο, οι περισσότερες μελέτες εστιάζουν το ενδιαφέρον τους στην παρουσία των ανωφελών και κυρίως των ειδών που ήταν σημαντικοί φορείς των πλασμαδίων της ελονοσίας.
- Σε καμία από τις παραπάνω εργασίες αυτές δεν αναφέρεται η παρουσία του *Aedes cretinus*.

Μετά το τέλος του Β' Παγκοσμίου Πολέμου και παρά τη σημαντική σε όγκο και ποιότητα, για τα δεδομένα της εποχής, παραγωγή ερευνητικού έργου η εντομολογική έρευνα για τα κουνούπια της Ελλάδος σταμάτησε σχεδόν τελείως για αρκετές δεκαετίες, με ελάχιστες μόνο εξαιρέσεις (Σακελλαρίου and Lane 1977). Κατά την περίοδο αυτή βέβαια δόθηκε βάρος στον ανθελονοσιακό αγώνα και γενικά στην καταπολέμηση των κουνουπιών στις περιοχές της χώρας που μαστίζονταν από την ελονοσία. Ως αποτέλεσμα των προσπαθειών αυτών, όπως έχει αναφερθεί, η ελονοσία εκριζώθηκε από τη χώρα μας στις αρχές της δεκαετίας του 1970. Από την περίοδο αυτή υπάρχουν ελάχιστες αλλά σημαντικές εργασίες που αφορούν στην καταπολέμηση των κουνουπιών αλλά και τα προβλήματα που δημιούργησε η εκτεταμένη χρήση των πρώτων συνθετικών εντομοκτόνων όπως η ανθεκτικότητα (Hadjinicolaou 1948, Belios 1954, Hadjinicolaou 1954, Livadas 1955, Belios and Fameliaris 1956, Χατζηνικολάου 1957, Livadas 1958, Hadjinicolaou and Betzios 1973b, 1973a).

Μετά την εκρίζωση της ελονοσίας η αδράνεια που υπήρχε σχετικά με τη μελέτη της παρουσίας των κουνουπιών επεκτάθηκε και στο θέμα της καταπολέμησής τους σχεδόν μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του 1990. Από την περίοδο αυτή και μετέπειτα υπήρξε μια σχετικά σημαντική δραστηριότητα κυρίως ως αποτέλεσμα της αύξησης των πληθυσμών των κουνουπιών σε πολλές περιοχές, την αναζωπύρωση του παγκόσμιου ενδιαφέροντος για τις ασθένειες που μεταδίδονται από τα έντομα αυτά αλλά και την κατάσταση της χώρας μας ως σημείου εισόδου και παραμονής πολλών οικονομικών μεταναστών από χώρες στις οποίες ενδημούν σημαντικές ασθένειες.

Σήμερα, από τα 3.517 είδη κουνουπιών που υπάρχουν παγκοσμίως (Becker *et al.* 2010), τα 60 είδη έχουν εντοπιστεί και στη χώρα μας, τα οποία ανήκουν σε 8 διαφορετικά γένη (Samanidou-Voyadoglou and Darsie Jr 1993a, 1993b, Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 1997, Samanidou-Voyadoglou 1998, Ramsdale and Snow 1999, Kaiser *et al.* 2001, Samanidou-Voyadoglou and Harbach 2003, Samanidou-Voyadoglou *et al.* 2005).

Απαραίτητη προϋπόθεση για την εμφάνιση σε μία περιοχή, επιδημίας από ασθένειες όπως αυτές που αναφέρθηκαν στο οικείο κεφάλαιο, είναι η παρουσία τουλάχιστον ενός μολυσμένου ατόμου καθώς και η ύπαρξη επαρκούς πληθυσμού των κατάλληλων ειδών κουνουπιών που είναι ξενιστές του συγκεκριμένου λοιμογόνου μικροοργανισμού.

Η χώρα μας, λόγω των συνδυασμού της ποικιλομορφίας του τοπίου και των κατάλληλων συνθηκών που διαθέτει, ευνοεί την ανάπτυξη μεγάλου αριθμού κουνουπιών, ιδίως τους θερινούς μήνες του έτους. Από τα 60 είδη που έχουν καταγραφεί στην Ελλάδα, πολλά είναι δυνητικοί φορείς πολλών σοβαρών ασθενειών όπως της ελονοσίας, του δάγκειου πυρετού, του κίτρινου πυρετού, φιλαριάσεων, του ιού του Δυτικού Νείλου και αρκετών άλλων αρμποϊώσεων που προσβάλουν ανθρώπους και ζώα.

Όπως έχει ήδη αναπτυχθεί παραπάνω, πολλές από τις ασθένειες θεωρούνται σοβαρές και είναι δυνατό να οδηγήσουν ακόμη και στο θάνατο ενώ η θεραπεία τους είναι γενικά δύσκολη και επίπονη. Επιπλέον, το γεγονός ότι ο πληθυσμός της Ελλάδος διαθέτει μικρά επίπεδα ανοσίας στις ασθένειες αυτές και σε συνδυασμό με το γεγονός ότι πολλές ασθένειες εμφανίζονται συχνά με τη μορφή επιδημιών ή και πανδημιών, είναι αρκετό για να αντιληφθεί κανείς την επικινδυνότητα της κατάστασης και τη σημασία της σωστής διαχείρισης του προβλήματος των κουνουπιών.

Το γεγονός ότι πολλές από τις ασθένειες που προαναφέρθηκαν ενώ υπήρχαν στο παρελθόν, δεν εμφανίζονται πλέον στη χώρα μας, δεν πρέπει να μας καθησυχάζει διότι πάντα υπάρχει ο κίνδυνος επανεισαγωγής τους καθώς τα τελευταία χρόνια παρατηρείται διεθνώς αναζωπύρωση ή εξάπλωση των υπαρχόντων σε μια περιοχή ασθενειών αλλά και εισαγωγή νέων ασθενειών ή/και νέων ειδών κουνουπιών.

Όπως επισημαίνει ο καθηγητής Μικροβιολογίας, στην Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας, καθ. Αλκ. Βατόπουλος, «η αύξηση της θερμοκρασίας αναμένεται να οδηγήσει σε διεύρυνση του χώρου όπου επιπολάζονται νοσήματα των τροπικών περιοχών - περιμένουμε αυτά να κάνουν την εμφάνισή τους βορειότερα και πιθανώς και στη χώρα μας». (από άρθρο στην εφημερίδα BHMA (SCIENCE/ΥΓΕΙΑ), Κυριακή 14/5/2006, σελ 8(58)-9(59)).

Στην αύξηση της ανησυχίας για τη δημόσια υγεία της χώρας μας, από τροπικές ασθένειες μεταδιδόμενες από τα κουνούπια, συντελεί και ο μεγάλος αριθμός αλλοδαπών που χωρίς προηγούμενη ιατρική εξέταση, ζουν και εργάζονται στην Ελλάδα και οι οποίοι συχνά προέρχονται από χώρες στις οποίες ενδημούν τέτοιες ασθένειες (Πακιστάν, Φιλιππίνες, Αφρικανικές χώρες, κλπ). Επιπλέον, κάθε χρόνο χιλιάδες τουρίστες, από όλα τα μέρη του κόσμου, μας επισκέπτονται, ιδίως τους καλοκαιρινούς μήνες, που είναι και οι μήνες έντονης δραστηριότητας των κουνουπιών. Τέλος, δεν πρέπει να περνά απαρατήρητο το γεγονός ότι η χώρα μας συνορεύει με χώρες, των οποίων το βιοτικό επίπεδο είναι χαμηλό ή εμφανίζουν έντονες εσωτερικές αναταραχές και στις οποίες τα μέτρα υγιεινής συχνά παραμελούνται.

Όλοι αυτοί οι παράγοντες εγκυμονούν σοβαρούς κινδύνους για το παρόν και το μέλλον της δημόσιας υγείας της χώρας μας και καθιστούν αναγκαία τόσο την επιδημιολογική επιτήρηση όσο και την εντομολογική μελέτη και παρακολούθηση των πληθυσμών των εντόμων φορέων που στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι τα κουνούπια.

Εκτός από την πιθανότητα μετάδοσης ασθενειών, η όχληση επίσης που προκαλούν τα κουνουπιά αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα των κατοίκων πολλών περιοχών της χώρας μας. Σε πολλές, αγροτικές κυρίως, περιοχές η παραμονή και η εργασία εκτός των οικιών είναι σχεδόν αδύνατη, ιδιαίτερα τους θερινούς μήνες, ενώ πολλές παραθαλάσσιες ή παραλίμνιες περιοχές σχεδόν ερημώνουν την καλοκαιρινή περίοδο. Οι επιπτώσεις της κατάστασης αυτής στην οικονομία των περιοχών είναι αρνητικές, ενώ η παραπέρα γεωργική και τουριστική ανάπτυξή τους είναι αδύνατη εάν προηγουμένως δεν επιλυθεί το πρόβλημα αυτό.

1.4. Η αντιμετώπιση των κουνουπιών

1.4.1. Γενικά στοιχεία

Η συστηματική αντιμετώπιση των κουνουπιών άρχισε να εφαρμόζεται, τόσο διεθνώς όσο και στην Ελλάδα, από τις αρχές του 20^{ου} αιώνα, όταν έγινε γνωστός ο ρόλος των εντόμων αυτών στη μετάδοση της ελονοσίας. Τα μέτρα εκείνη την εποχή περιελάμβαναν κυρίως αποξηράνσεις μεγάλων ελαδών εκτάσεων, σε περιοχές με υψηλό δείκτη νοσηρότητας ενώ για την καταπολέμηση των προνυμφών, χρησιμοποιήθηκε αρχικά το «Πράσινο των Παρισίων» (Paris Green), το μόνο τότε γνωστό χημικό εντομοκτόνο, το οποίο ήταν ένα διπλό άλας αρσενικώδους και οξεικού χαλκού. Παράλληλα με το βιοκτόνο αυτό, διαδεδομένη ήταν και η μέθοδος της πετρελαίωσης των ελών ή των άλλων εστιών, ώστε να καταστούν αφιλόξενες για την ανάπτυξη των προνυμφών κουνουπιών, καθώς το πετρέλαιο απλώνεται στην επιφάνεια του νερού σχηματίζοντας ένα συνεχόμενο στρώμα με αποτέλεσμα οι προνύμφες των κουνουπιών να μην μπορούν να το διαπεράσουν, για να αναπνεύσουν (Λιβαδάς και Σφάγγος 1940a, 1940b).

Μετά την ανακάλυψη των συνθετικών εντομοκτόνων, όπως το DDT (ανακαλύφθηκε το 1939) και τα παράγωγά του, η καταπολέμηση των κουνουπιών βασίστηκε σχεδόν αποκλειστικά στην εφαρμογή των πρώτων αυτών χημικών εντομοκτόνων. Όμως, παρά τη σημαντική μείωση του πληθυσμού των κουνουπιών, η υπερβολική και αλόγιστη χρήση των εντομοκτόνων αυτών σε συνδυασμό με τις ελλιπείς γνώσεις εκείνης της εποχής, είχαν ως αποτέλεσμα την πρόκληση σοβαρών επιπτώσεων στο περιβάλλον καθώς και σε οργανισμούς που δεν αποτελούσαν στόχο.

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 τέλειων εντόμων, όταν αυτό απαιτείται από τις συνθήκες.

Σημείωση: Για τη συγγραφή του παρόντος κεφαλαίου χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία από πληθώρα βιβλιογραφίας, τα κυριότερα από τα οποία ήταν των Εμμανουήλ (1999), Σαββοπούλου-Σουλτάνη (1999), Μπέτζιου (1989), Becker *et al.* (2003), Chavasse and Yap (1997), Rozendaal (1997) καθώς και του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO 1996) κ.ά.

1.4.2. Αντιμετώπιση των προνυμφών των κουνουπιών

1.4.2.1. Περιορισμός των εστιών ανάπτυξης

Ο περιορισμός των εστιών ανάπτυξης των κουνουπιών είναι ένα από τα σημαντικότερα μέτρα διαχείρισής τους καθώς η καταστροφή των εστιών μειώνει την ευχέρεια πολλαπλασιασμού τους και επομένως μειώνει την πυκνότητά τους. Αν και τα έργα

περιορισμού των εστιών ανάπτυξης προνυμφών δεν δίνουν άμεση ή οριστική λύση στο πρόβλημα των κουνουπιών μιας περιοχής, εάν εφαρμοστούν σωστά και παράλληλα με τις άλλες μεθόδους βελτιώνουν σημαντικά την κατάσταση και γι' αυτό θα πρέπει να θεωρούνται ως έργα κοινής ωφέλειας, από τους φορείς της Τοπικής Αυτοδιοίκησης (Δήμους, Νομαρχίες ή Περιφέρειες) και γενικότερα από την πολιτεία και να χρηματοδοτούνται επαρκώς.

Είναι γνωστό ότι οι εστίες ανάπτυξης των ατελών σταδίων των κουνουπιών διαφέρουν από είδος σε είδος, αλλά γενικά ισχύει ότι για τα είδη που αναπτύσσονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις νερών, όπως λίμνες, έλη, ποτάμια και αρδευτικά ή αποστραγγιστικά κανάλια, 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 και τα ατελή στάδια των κουνουπιών.

Εάν η έκταση του προβλήματος είναι μεγάλη θα πρέπει να εξεταστεί η δυνατότητα αποστράγγισης ορισμένων εκτάσεων, ενώ μικρές κοιλότητες του εδάφους συχνά είναι σκόπιμο να επιχωματωθούν.

Εκτός των παραπάνω, άλλες ενέργειες που μπορούν να συντελέσουν αποτελεσματικά στον περιορισμό της ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών σε μια περιοχή είναι οι ακόλουθες:

- Τα δοχεία αποθήκευσης νερού να είναι ερμητικά κλεισμένα.
- Το νερό να αδειάζει όταν δεν χρειάζεται πλέον και τα δοχεία φύλαξης του να αποθηκεύονται αναποδογυρισμένα.
- Οι υδρορροές να καθαρίζονται τακτικά ώστε το νερό της βροχής να ρέει απρόσκοπτα.
- Το νερό στα ανθοδοχεία αλλά και στα δοχεία από όπου πίνουν νερό τα ζώα θα πρέπει να αλλάζει εάν είναι δυνατό καθημερινά και τα δοχεία να ξεπλένονται.
- Αντικείμενα που μπορούν να κρατήσουν νερό βροχής ή ποτίσματος, όπως για παράδειγμα τα άδεια κουτιά από κονσέρβες ή αναψυκτικά, παλιά ελαστικά αυτοκινήτων κλπ., να καταστρέφονται πριν πεταχτούν.
- Τα άχρηστα αντικείμενα να μη πετιούνται σε ανοικτούς χώρους μέσα ή γύρω στις κατοικημένες περιοχές.
- Οι βόθροι να είναι ερμητικά κλεισμένοι και ο αγωγός εξαερισμού να καλύπτεται με λεπτή μεταλλική σήτα.
- Οι υπόνομοι και γενικά τα συστήματα αποχέτευσης, στα σημεία που διαθέτουν σχάρες απορροής λυμάτων, πρέπει να καθαρίζονται τακτικά από τα σκουπίδια, ώστε το νερό να φεύγει απρόσκοπτα.
- Τα συστήματα ύδρευσης και αποχέτευσης να ελέγχονται τακτικά και να επισκευάζονται τυχόν διαρροές.
- Το νερό στις κολυμβητικές δεξαμενές πρέπει να ανανεώνεται και να χλωριώνεται τακτικά ενώ πρέπει να αδειάζουν όταν δε χρησιμοποιούνται για μεγάλο διάστημα.
- Γύρω από τα πηγάδια (που πρέπει πάντα να είναι ερμητικά καλυμμένα), τις δεξαμενές, τις στέρνες, κλπ, δεν πρέπει να λιμνάζει νερό.
- Να αποφεύγεται η υπερχείλιση των δεξαμενών και των αρδευτικών καναλιών.

Η εφαρμογή των παραπάνω μπορεί να συμβάλλει σημαντικά στην αντιμετώπιση ορισμένων ειδών κουνουπιών, και γι' αυτό τα μέτρα αυτά θα πρέπει να γίνονται συχνά αντικείμενο της ενημέρωσης του κοινού από τους φορείς που είναι υπεύθυνοι για την οργάνωση και υλοποίηση των προγραμμάτων αντιμετώπισης κουνουπιών σε μια περιοχή.

1.4.2.2. Αντιμετώπιση με βιολογικά μέσα

Η βιολογική αντιμετώπιση των κουνουπιών γενικά βασίζεται στη χρησιμοποίηση οργανισμών, οι οποίοι δρουν είτε ως αρπακτικά, είτε ως παθογόνα σε κάποιο από τα στάδια των κουνουπιών, συνήθως στα ατελή. Η μέθοδος αυτή παρουσιάζει σημαντικά πλεονεκτήματα έναντι της χημικής, διότι οι οργανισμοί που χρησιμοποιούνται είναι αρκετά εκλεκτικοί και συνεπώς σχετικά ακίνδυνοι και φίλικοι προς το περιβάλλον.

Σχετικά με τις προνύμφες των κουνουπιών, έχει διαπιστωθεί η αποτελεσματική δράση ενός σχετικά μεγάλου αριθμού παθογόνων για τα κουνούπια μικροοργανισμών ενώ για πολλούς από αυτούς έχουν γίνει και εξακολουθούν να γίνονται διεθνώς πολλές προσπάθειες για την παραγωγή και εκμετάλλευσή τους σε ευρεία κλίμακα. Μεταξύ των περισσότερα υποσχόμενων οργανισμών είναι τα πρωτόζωα *Nozema vavraia* και *Thelohamia* spp., οι μύκητες των γενών *Coelomomyces*, *Culicinomyces* και το είδος *Lagenidium giganteum*, καθώς και ο έλμινθας *Romanomermis culicivorax*, του οποίου έχει επιτευχθεί και η βιομηχανοποιημένη μαζική παραγωγή. Για την ώρα όμως, καμία από τις προσπάθειες αυτές δεν έχει χρησιμοποιηθεί σε εμπορικό επίπεδο.

Τα μόνα φυσικά παθογόνα που έχουν αποδώσει και σε εμπορική κλίμακα είναι σκευάσματα των παθογόνων βακίλων *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* [serotype H-14] (B.t.i.) και του *Bacillus sphaericus* (B.s.).

Σχετικά με το B.t.i., εντομοκτόνο ρόλο διαδραματίζουν τα σπόρια του βακίλου και όχι ο ζωντανός βάκιλος. Τα σπόρια παράγουν τοξίνες οι οποίες όταν καταναλωθούν προκαλούν βλάβη στο πεπτικό σύστημα των προνυμφών των κουνουπιών ενώ είναι αβλαβείς για άλλους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένου και του ανθρώπου. Για να είναι όμως αποτελεσματικό ένα σκεύασμα B.t.i., θα πρέπει να χρησιμοποιείται όταν οι προνύμφες που υπάρχουν στο υδάτινο μέσο είναι ως και αρχής 4^{ης} ηλικίας, γιατί μπορεί να δράσει μόνο στα στάδια που καταναλώνουν μεγάλες ποσότητες τροφής. Επίσης, δεν ανακυκλώνεται στο περιβάλλον και γι' αυτό απαιτούνται επανειλημμένες εφαρμογές. Παρόμοιες ιδιότητες έχει και ο *Bacillus sphaericus*, ο οποίος έχει το πλεονέκτημα ότι ανακυκλώνεται σε κάποιο βαθμό στο περιβάλλον, έχει όμως εμφανίσει ανθεκτικότητα σε ορισμένα είδη και η χρήση του απαιτεί προσοχή.

Εντομοκτόνα βιολογικής προέλευσης, με βάση το B.t.i. και το B.s., χρησιμοποιούνται σε πολλές χώρες και με σημαντική επιτυχία για τη μείωση του πληθυσμού των προνυμφών των κουνουπιών. Στη χώρα μας, μέχρι στιγμής (2010), κυκλοφορεί μόνο ένα εγκεκριμένο σκεύασμα B.t.i. ενώ δεν κυκλοφορεί κανένα σκεύασμα B.s. καθώς καμία εταιρεία δεν έχει αιτηθεί σχετική έγκριση κυκλοφορίας.

Γενικά τα βιολογικά σκευάσματα, παρά το γεγονός ότι θεωρούνται περισσότερο ασφαλή για το περιβάλλον, παρουσιάζουν ορισμένα μειονεκτήματα που περιορίζουν σημαντικά τη χρήση τους. Τα μειονεκτήματα αυτά είναι συνήθως το υψηλότερο κόστος (λόγω του τρόπου παρασκευής τους), η μικρή υπολειμματική τους διάρκεια, το γεγονός ότι η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται σε σημαντικό βαθμό από τις συνθήκες περιβάλλοντος και τέλος η υψηλή εξειδίκευση του προσωπικού που θα τα εφαρμόσει.

Επίσης, για την αντιμετώπιση των κουνουπιών, έχει καταγραφεί και η μοναδική στην ιστορία, περίπτωση επιτυχούς εφαρμογής ανώτερου ζωικού οργανισμού (ψαριών) για την καταπολέμηση αρθροπόδου και συγκεκριμένα των προνυμφών των κουνουπιών. Αυτό επετεύχθη, στο παρελθόν με τον εμπλουτισμό των εστιών ανάπτυξης των προνυμφών των κουνουπιών, με διάφορα είδη προνυμφοφάγων ψαριών, κυριότερο από τα οποία είναι το είδος *Gambusia affinis*.

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.



Εικόνα 1.49. Η παρουσία του *Gambusia affinis* είναι και στις ημέρες μας διαδεδομένη στις περισσότερες φυσικές υδάτινες εστίες στις περισσότερες περιοχές της Ελλάδος.

Τα ψάρια αυτά 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 από διάφορες φυτικής ή ζωικής προέλευσης τροφές, που βρίσκονται μέσα στο νερό, αλλά δείχνουν ιδιαίτερη προτίμηση στις προνύμφες όλων γενικά των κουνουπιών. Τα *Gambusia* κινούνται κοντά στην επιφάνεια του νερού και θηρεύουν με ευκολία τις προνύμφες των κουνουπιών που θα συναντήσουν. Υπολογίζεται ότι κάθε ψάρι μπορεί να καταβροχθίσει 150-200 προνύμφες την ημέρα. Για να δράσει όμως ικανοποιητικά το *Gambusia*, πρέπει η εστία να μην έχει πολύ πυκνή βλάστηση προκειμένου να μην 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, δίνοντας σε αρκετές περιπτώσεις πολύ καλά αποτελέσματα. περιορίζοντας την πυκνότητα των κουνουπιών σε ανεκτά επίπεδα.

Σήμερα, η χρήση τους δεν ενθαρρύνεται καθώς έχει αποδειχθεί ότι επιφέρουν οικολογικές ανατροπές στη πανίδα των ψαριών μιας περιοχής και γι' αυτό προτείνεται η μελέτη και χρήση των ιθαγενών ειδών ψαριών κάθε περιοχής (Webb and Joss 1997, Leyse *et al.* 2004, Lowe *et al.* 2004).

Σχετικά με τα ιθαγενή ψάρια της χώρας μας που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ενδεχομένως για τη βιολογική καταπολέμηση των προνυμφών των κουνουπιών αξίζει να αναφερθεί το είδος *Pelasgus marathonicus* που εντοπίσαμε κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης στην περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά και για το οποίο γίνεται ειδική αναφορά στο κεφάλαιο 3.

1.4.2.3. Χημική αντιμετώπιση προνυμφών

Η χημική αντιμετώπιση των προνυμφών των κουνουπιών (καθώς και των τέλειων) βασίζεται στη χρησιμοποίηση βιοκτόνων, δηλαδή χημικών τοξικών ουσιών, που παρεμβαίνουν στις φυσιολογικές λειτουργίες του εντόμου και επιφέρουν τελικά το θάνατο. Η χρήση των εντομοκτόνων, σε σύγκριση με τις άλλες μεθόδους, έχει το πλεονέκτημα ότι εξασφαλίζει γρήγορη κάλυψη μεγάλων εκτάσεων με άμεσο αποτέλεσμα και χαμηλό κόστος. Παρουσιάζει όμως και σοβαρά μειονεκτήματα, όπως η ρύπανση του περιβάλλοντος, η είσοδος επικίνδυνων ουσιών στην τροφική αλυσίδα και οι αρνητικές επιδράσεις στη ζωή άλλων οργανισμών που δεν αποτελούν στόχο.

Οι κίνδυνοι από τις παρενέργειες των βιοκτόνων μπορούν να περιορισθούν σημαντικά, όταν η χρήση τους γίνεται μετά από εξειδικευμένες μελέτες που καθορίζουν την κατάλληλη εποχή επέμβασης (αρχή βιολογικού κύκλου), μόνο στις εστίες που μετά από έλεγχο διαπιστώνεται πρόβλημα, και όταν χρησιμοποιείται η ελάχιστη δυνατή δόση που δίνει όμως το επιθυμητό αποτέλεσμα. Επίσης, θα πρέπει πάντα να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη η οικολογική σημασία κάθε εστίας ανάπτυξης κουνουπιών καθώς και η χρήση για την οποία προορίζεται το νερό των συγκεκριμένων εστιών.

Σε εστίες που υπάρχουν ψάρια, θα πρέπει να εφαρμόζεται η χαμηλότερη δυνατή δόση, ιδίως όταν ψεκάζονται με βιοκτόνα όπως τα πυρεθρινοειδή, τα οποία είναι ιδιαίτερα τοξικά για τους οργανισμούς αυτούς.

Για να είναι αποτελεσματικοί οι ψεκασμοί πρέπει οι ψεκαζόμενες εστίες να έχουν σχετικά περιορισμένη 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 σε μεγάλο βαθμό από τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής και του συγκεκριμένου έτους. Για το λόγο αυτό θα πρέπει από νωρίς την άνοιξη να γίνεται διερεύνηση των πιθανών εστιών ανάπτυξης κουνουπιών, προκειμένου να διαπιστωθεί η παρουσία προνυμφών κουνουπιών, εάν αυτές ανήκουν σε είδη υγειονομικής σημασίας, και να εκτιμηθούν οι πληθυσμοί του κάθε είδους. Τότε μόνο, εφόσον

εξεταστούν τα στοιχεία αυτά, θα πρέπει να λαμβάνεται η απόφαση για πραγματοποίηση ψεκασμών με βιοκτόνα.

Βιοκτόνα κατάλληλα για την καταπολέμηση των προνυμφών των κουνουπιών, με έγκριση κυκλοφορίας στη χώρα μας, είναι αυτά που περιέχουν ένα από τα ακόλουθα δρώντα συστατικά: diflubenzuron, pyriproxyfen, spinosad, s-methoprene και B.t.i. (*Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*).

Από τις παραπάνω δραστικές, το B.t.i. θεωρείται βιολογικό σκεύασμα, το spinosad φυσικής προέλευσης και τα υπόλοιπα τρία ανήκουν στην κατηγορία των ρυθμιστών ανάπτυξης εντόμων (Insect Growth Regulators, IGRs).

Σχετικά με τους ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων, η χρήση τους ενθαρρύνεται διεθνώς τα τελευταία χρόνια καθώς θεωρούνται περισσότερο ασφαλή για το περιβάλλον και τους άλλους οργανισμούς. Τα βιοκτόνα αυτά παρεμποδίζουν τη φυσιολογική διαδικασία εξέλιξης των εντόμων, είτε επηρεάζοντας το ενδοκρινικό σύστημά τους που ελέγχει τη διαδικασία της μεταμόρφωσης, είτε παρεμποδίζοντας τη βιοσύνθεση της χιτίνης.

Στην πρώτη κατηγορία ανήκουν οι ορμόνες νεότητας που ρυθμίζουν την προνυμφική ανάπτυξη και οι ορμόνες που ρυθμίζουν την έκδυση και την παραγωγή χιτίνης (εκδυσόνη). Οι ουσίες αυτές είναι εκλεκτικές και δρουν αποκλειστικά στο κατάλληλο προνυμφικό στάδιο. Τα σκευάσματα της πρώτης κατηγορίας παρατείνουν το προνυμφικό στάδιο, το έντομο δεν γίνεται ποτέ τέλειο και επέρχεται τελικά ο θάνατος.

Τα σκευάσματα της δεύτερης κατηγορίας, αναστέλλουν την παραγωγή της χιτίνης, η οποία είναι απαραίτητη στη δημιουργία του εξωσκελετού του εντόμου, προκαλώντας το θάνατό του πριν το έντομο φτάσει στο αναπαραγωγικό στάδιο.

Η εφαρμογή των βιοκτόνων της κατηγορίας των ρυθμιστών ανάπτυξης, για να είναι αποτελεσματική απαιτεί συνεχή παρακολούθηση της βιολογίας και οικολογίας των υπό αντιμετώπιση ειδών που συνεπάγεται κατάλληλα οργανωμένα εργαστήρια και εξειδικευμένο προσωπικό, ώστε να εφαρμόζονται την κατάλληλη εποχή και στο κατάλληλο στάδιο του εντόμου.

Η εφαρμογή των βιοκτόνων από εδάφους με μηχανοκίνητο ψεκαστήρα υψηλής πιέσεως δίνει συνήθως καλύτερα αποτελέσματα, γιατί συγκεκριμένος τρόπος εφαρμογής παρέχει την ευχέρεια κατεύθυνσης του εντομοκτόνου στα επιθυμητά σημεία και επιπλέον, λόγω της υψηλής πιέσεως, το ψεκαστικό διάλυμα φθάνει πιο εύκολα στο νερό και αποφεύγεται έτσι η απώλεια από την παρακράτηση μεγάλου μέρους του βιοκτόνου από το φύλλωμα των φυτών.

Σε ορισμένες περιπτώσεις και για περιοχές με εκτεταμένες εστίες ανάπτυξης κουνουπιών, είναι δυνατό να γίνει και εφαρμογή βιοκτόνων από αέρος, κυρίως με ελικόπτερα ή ειδικά αεροπλάνα χαμηλής πτήσης. Εντούτοις η μέθοδος αυτή θα πρέπει να χρησιμοποιείται, με περίσκεψη και μόνο όταν οι εναλλακτικοί τρόποι εφαρμογής των βιοκτόνων δεν μπορούν να εφαρμοστούν. Η Ευρωπαϊκή Ένωση καθώς και πολλές άλλες αναπτυγμένες χώρες έχουν πλέον περιορίσει ή και απαγορεύσει τους ψεκασμούς από αέρος καθώς εγκυμονούν σημαντικούς κινδύνους για τη δημόσια υγεία και το περιβάλλον.

1.4.3. Αντιμετώπιση των τέλειων κουνουπιών

Η αντιμετώπιση των τέλειων κουνουπιών θα πρέπει να εφαρμόζεται ως συμπληρωματική ενέργεια στην καταπολέμηση των προνυμφών, όταν το πρόβλημα είναι ιδιαίτερα οξύ ή όταν το επιβάλλουν συγκεκριμένες συνθήκες, όπως η εμφάνιση επιδημιών οφειλομένων στα κουνούπια.

1.4.3.1. Μηχανικά μέσα

Η διαχείριση των τέλειων κουνουπιών με μηχανικά μέσα δεν έχει στόχο τη μείωση των πληθυσμών τους αλλά κυρίως την προστασία συγκεκριμένων χώρων διαβίωσης του ανθρώπου ή των ζώων από την παρουσία και τις επιθέσεις των εντόμων αυτών.

Η τοποθέτηση λεπτών πλεγμάτων (σήτες), σε πόρτες και παράθυρα και η χρησιμοποίηση κουνουπιέρας βοηθούν συνήθως αρκετά αποτελεσματικά στην προστασία των σπιτών από την είσοδο των κουνουπιών και την εξασφάλιση ικανοποιητικού επιπέδου προστασίας κατά τη διάρκεια του ύπνου.

Επίσης, θεωρητικά τουλάχιστον, βοηθητικά των άλλων προσπαθειών θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν διάφορες παγίδες μαζικής σύλληψης τέλειων κουνουπιών. Οι παγίδες αυτές, σύμφωνα πάντα με τους κατασκευαστές τους, μπορούν να συλλάβουν και να θανατώσουν σημαντικό αριθμό κουνουπιών που περιφέρονται ή ψάχνουν για ξενιστή στους χώρους διαβίωσης των ανθρώπων ή γύρω από αυτούς. Συνήθως χρησιμοποιούν ως ελκυστικό το CO₂ ή κάποια άλλη χημική ένωση ενώ μπορεί να διαθέτουν και μια πηγή υπεριώδους ή κανονικού φωτός. Η αποτελεσματικότητα όμως πολλών από τις παγίδες αυτές, δεν έχει ελεγχθεί πάντα με επιστημονικά κριτήρια και ως εκ τούτου χρειάζεται ιδιαίτερη προσοχή προκειμένου να αποφευχθούν άσκοπες ή αμφιβόλου αποτελεσματικότητας δαπάνες.

Τέλος, παρά τον σημαντικό αριθμό συσκευών που κυκλοφορούν στο εμπόριο και υπόσχονται απώθηση των τέλειων κουνουπιών με τη βοήθεια υπερήχων, κάτι τέτοιο δεν έχει αποδειχθεί πειραματικά και επομένως οι συσκευές αυτές δεν αναμένεται να προσφέρουν ουσιαστικό αποτέλεσμα.

1.4.3.2. Αντιμετώπιση με βιολογικά μέσα

Στους φυσικούς εχθρούς των τέλειων κουνουπιών έχουν καταγραφεί πολλά ζώα, από αρπακτικά αρθρόποδα (αράχνες, Odonata κλπ.) έως αμφίβια (πχ. βάτραχοι), ερπετά (πχ. κάποια είδη σαυρών), πτηνά (πχ. χελιδόνια) και θηλαστικά (πχ. νυχτερίδες). Κανένας όμως από τους φυσικούς εχθρούς δεν θεωρείται ότι μπορεί να προσφέρει αξιόλογη συνεισφορά στην αντιμετώπιση των εντόμων αυτών σε πρακτικό επίπεδο και επομένως δεν έχουν ποτέ χρησιμοποιηθεί σε ευρεία κλίμακα. Καλό είναι όμως στα προγράμματα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης να λαμβάνεται υπόψη η παρουσία τους και να προστατεύονται κατά τις εφαρμογές.

1.4.3.3. Χημική αντιμετώπιση τέλειων κουνουπιών

1.4.3.3.1. Υπολειμματικοί ψεκασμοί

Για να είναι αποτελεσματική η εφαρμογή τους οι υπολειμματικοί ψεκασμοί θα πρέπει να διενεργηθούν σε όλους τους χώρους που διημερεύουν τα τέλεια κουνουπιά. Οι ψεκασμοί αυτοί πρέπει να προηγούνται των επεμβάσεων κατά των προνυμφών και να επαναλαμβάνονται το φθινόπωρο, όταν τα τέλεια άτομα ετοιμάζονται να διαχειμάσουν. Αυτό θα περιορίσει στο ελάχιστο τον αριθμό των ατόμων που θα δραστηριοποιηθούν την επόμενη άνοιξη. Ενδιάμεσοι ψεκασμοί, κατά τη θερινή περίοδο, θα πρέπει να γίνονται μόνο όταν υπάρχει πολύ έντονο πρόβλημα όχλησης ή έκτακτες συνθήκες, όπως η εμφάνιση επιδημιών.

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.

Τα βιοκτόνα που είναι κατάλληλα για εφαρμογή υπολειμματικών ψεκασμών και διαθέτουν έγκριση κυκλοφορίας στη χώρα μας, είναι αυτά που περιέχουν ένα από τα ακόλουθα δρώντα συστατικά: deltamethrin, permethrin, diazinon, cyfluthrin, lambda-cyhalothrin, alpha-cypermethrin, cyphenothrin και bifenthrin.

1.4.3.3.2. Ψεκασμοί χώρων

Στην περίπτωση που το πρόβλημα είναι πολύ μεγάλο θα μπορούσαν, να εφαρμοστούν ψεκασμοί ανοικτού χώρου στα μέρη που παρατηρούνται μεγάλες συγκεντρώσεις τέλειων κουνουπιών. Οι ψεκασμοί αυτοί γίνονται με φορητούς ή μηχανοκίνητους ψεκαστήρες και διακρίνονται σε ψεκασμούς ψυχρού αερολύματος ή θερμού ατμού. Η διαφορά των δύο αυτών ειδών βρίσκεται στον τρόπο με τον οποίο δημιουργούνται τα σταγονίδια του ψεκαστικού νέφους. 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.

Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν και τα βιοκτόνα τύπου αερολύματος (aerosols) που προορίζονται για την απαλλαγή του εσωτερικού των οικιών από κουνουπιά ή άλλα ενοχλητικά έντομα. Τα βιοκτόνα αυτά ψεκάζονται στον αέρα, και προορίζονται για ερασιτεχνική χρήση, γι' αυτό είναι διαθέσιμα προς πώληση ακόμη και από τα καταστήματα τροφίμων (πχ. super markets).

1.4.3.3.3. Καπνισμοί εσωτερικών ή εξωτερικών χώρων

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή γίνεται διάχυση στον αέρα πτητικών βιοκτόνων η οποία έχει ως αποτέλεσμα περισσότερο την απώθηση παρά τη θανάτωση των κουνουπιών.

Για τον καπνισμό χρησιμοποιούνται πτητικά βιοκτόνα, όπως φυσικές πυρεθρίνες και συνθετικά πυρεθροειδή, σε τρεις κυρίως μορφές σκευασμάτων: α) καπνογόνες σπείρες, β) ηλεκτροθερμενόμενα πλακίδια και γ) υγρά εντομοαπωθητικά χώρου. Οι καπνογόνες σπείρες χρησιμοποιούνται συνήθως σε εξωτερικούς χώρους ενώ τα ηλεκτροθερμενόμενα πλακίδια και τα υγρά χρησιμοποιούνται κυρίως σε εσωτερικούς χώρους. Η δραστική ουσία απελευθερώνεται έπειτα από θέρμανση και η δράση τους διαρκεί όσο η καύση τους, δηλαδή 6-8 ώρες.

Στη χώρα μας κυκλοφορούν τουλάχιστον 66 εμπορικά σκευάσματα αυτής της κατηγορίας.

Επίσης, στο εμπόριο κυκλοφορούν αρκετά σκευάσματα και σε διάφορες μορφές, με βάση τη σιτρονέλα, όπως για παράδειγμα αρωματικά κεριά, τα οποία όμως δεν έχουν ελεγχθεί από τις αρμόδιες υπηρεσίες του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων και ως εκ τούτου η αποτελεσματικότητά τους καθώς και η ασφάλειά τους δεν είναι εγγυημένη.

1.4.3.3.4. Ατομική προστασία

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα βιοκτόνα που εφαρμόζονται απευθείας επάνω στο γυμνό δέρμα ή στα ρούχα και στόχο έχουν να προστατεύσουν το άτομο από τα τσιμπήματα των κουνουπιών ή άλλων αιμομυζητικών αρθροπόδων όπως αιμομυζητικές μύγες, σκνίπες, ψύλλοι, τσιμπούρια κλπ. Ο ρόλος τους είναι απωθητικός και δεν θανατώνουν τα έντομα.

Οι δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται σε αυτά τα βιοκτόνα είναι συνήθως το DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide), το icaridin και το ethyl butyl acetyl aminopropionate, ενώ χρησιμοποιούνται και σκευάσματα με απωθητικά φυτικής προέλευσης όπως η σιτρονέλα με το πρόβλημα όμως, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ότι δεν έχουν ελεγχθεί από τις αρμόδιες αρχές.

1.4.4. Το πρόβλημα της ανθεκτικότητας

Ένα θέμα στο οποίο θα πρέπει πάντα να δίνεται ιδιαίτερη προσοχή, όταν εφαρμόζεται ένα πρόγραμμα αντιμετώπισης κουνουπιών με χημικά μέσα, είναι η αποφυγή ανάπτυξης ανθεκτικότητας των καταπολεμούμενων ειδών στις ουσίες που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπισή τους.

Ανθεκτικότητα (resistance) ονομάζεται η ανάπτυξη της ικανότητας σε ένα πληθυσμό ατόμων ενός είδους, η οποία τους επιτρέπει να ανέχονται δόσεις μιας τοξικής ουσίας, οι οποίες θα ήσαν θανατηφόρες για την πλειονότητα των ατόμων ενός κανονικού (ευαίσθητου) πληθυσμού του ίδιου είδους.

Η ανθεκτικότητα αναπτύσσεται σε όλους τους ζωικούς οργανισμούς, κυρίως όμως εμφανίζεται πιο έντονα σε μικροβιακούς οργανισμούς καθώς και στα έντομα και τα ακάρεα, γεωργικής ή υγειονομικής σημασίας.

Η πρώτη περίπτωση ανθεκτικότητας σε έντομα, διαπιστώθηκε το 1905 στο San Jose, ενώ έως το 1945 που άρχισε και η εφαρμογή των πρώτων συνθετικών εντομοκτόνων, είχε διαπιστωθεί ήδη ανθεκτικότητα σε 12 περίπου είδη εντόμων και ακάρεων (κυρίως στις αρσενικούχες και κυανιούχες ενώσεις). Σήμερα, περιπτώσεις ανθεκτικότητας έχουν αναφερθεί σε όλες σχεδόν τις ομάδες εντομοκτόνων (κυκλοδιένια, καρβαμιδικά, οργανοφωσφορικά, πυρεθρινοειδή καθώς και στο *Bacillus thuringiensis*), σε διάστημα από 2 έως 20 χρόνια εφαρμογής τους ενώ μέχρι το 2000 είχαν αναφερθεί περισσότερα από 500 είδη αρθροπόδων με ανθεκτικούς πληθυσμούς σε κάποιο βιοκτόνο. Μάλιστα από τα είδη αυτά, 12 θεωρούνται ωφέλιμα, δηλαδή δεν αποτελούσαν στόχο των χημικών καταπολεμήσεων (Hemingway and Ranson 2000, Hemingway *et al.* 2002).

Τα έντομα υγειονομικής σημασίας ήταν από τα πρώτα στα οποία διαπιστώθηκε η ανθεκτικότητα και δημιούργησε σοβαρά προβλήματα κυρίως με την ανθεκτικότητα της οικιακής μύγας (*Musca domestica*) και ορισμένων ειδών κουνουπιών, στο οργανοχλωριωμένο εντομοκτόνο DDT, κατά τη δεκαετία του '50, στη Σουηδία, τη Γερμανία, τις Η.Π.Α. και σε αρκετές χώρες του αναπτυσσόμενου κόσμου. Έκτοτε, ο αριθμός των ειδών των ανθεκτικών εντόμων υγειονομικής σημασίας αυξήθηκε πολύ γρήγορα και συγκεκριμένα από 2 είδη που είχαν καταγραφεί το 1946, έφτασαν τα 150 είδη το 1980 και τα 198 είδη το 1990. Από τα 198 αυτά είδη, τα 114 ήταν είδη κουνουπιών (Georghiou and Saito 1983, Georghiou and Lagunes-Tejeda 1991). Σήμερα, σύμφωνα με τη βάση δεδομένων για τα ανθεκτικά είδη αρθροπόδων (Arthropod Pesticide Resistance Database), του Πανεπιστημίου του Michigan, των Η.Π.Α. και του Insecticide Resistance Action Committee (IRAC), έχει διαπιστωθεί ανθεκτικότητα σε 117 είδη κουνουπιών από τα οποία, 63 είδη είναι του γένους *Anopheles*, 25 είδη είναι του γένους *Culex*, 21 του γένους *Aedes/Ochlerotatus* και 8 είδη από τα υπόλοιπα γένη 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.

Οταν αναφέρεται ότι ένα είδος έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα σε ένα ή περισσότερα βιοκτόνα ή ομάδες βιοκτόνων, 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.

Στην Ελλάδα, οι πρώτες αναφορές για ύπαρξη ανθεκτικότητας σε κουνούπια γίνονται από πολύ ενωρίς και αφορούν σε ανθεκτικότητα ειδών ανωφελών στα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα DDT και dieledrin (Belios 1954, Livadas 1955, Λιβαδάς 1955, Belios and Familiaris 1956, Παπαδάκης 1956). Έκτοτε, όμως οι αναφορές είναι σχετικά ελάχιστες και

μάλλον αποσπασματικές (Hadjinicolaou and Betzios 1972, Betzios 1977, Georghiou 1995, Ioannidis *et al.* 2001), με αποτέλεσμα σήμερα να μην υπάρχει μια ολοκληρωμένη εικόνα της κατάστασης των πληθυσμών των κουνουπιών της χώρας μας, σχετικά με την ανθεκτικότητα παρά το γεγονός ότι κάθε χρόνο εφαρμόζονται ψεκασμοί με χημικά βιοκτόνα σε μεγάλη κλίμακα.

Τα είδη για τα οποία έχει επιβεβαιωθεί ανθεκτικότητα στη χώρα μας σε κάποιο βιοκτόνο είναι μόνο τα *Anopheles maculipennis*, *An. sacharovi* και *Culex pipiens*. Εντούτοις άλλα είδη που απαντώνται στην Ελλάδα και για τα οποία έχει αναφερθεί ανθεκτικότητα διεθνώς είναι τα *Anopheles atroparvus*, *An. hyrcanus*, *An. melanoon*, *An. messeae*, *An. superpictus*, *Aedes vexans*, *Ae. albopictus*, *Ochlerotatus cantans*, *Oc. caspius*, *Oc. detritus*, *Oc. dorsalis* και *Culex pusillus*. Όπως έχει αναφερθεί, η ύπαρξη ανθεκτικότητας σε έναν πληθυσμό, φανερώνει ότι υπάρχουν οι προϋποθέσεις για την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας και σε άλλους πληθυσμούς του ίδιου είδους και γ' αυτό θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη μέριμνα για τον έλεγχο πιθανής ανάπτυξης ανθεκτικότητας και για τα παραπάνω είδη κουνουπιών.

Η ανθεκτικότητα των εντόμων σε κάποιο ή κάποια εντομοκτόνα οφείλεται στην επιλογή των καταλλήλων γονιδίων από ένα πληθυσμό, τα οποία μπορούν να ενεργοποιήσουν μηχανισμούς με τους οποίους τα έντομα δεν προσλαμβάνουν ή μεταβολίζουν τα εντομοκτόνα αυτά και έτσι δεν επηρεάζεται ο οργανισμός τους από την τοξική δράση τους.

Τα άτομα με γονίδια ανθεκτικότητας είναι πολύ σπάνια στο φυσικό πληθυσμό ενός εντόμου. Επειδή όμως είναι τα μόνα που επιβιώνουν ύστερα από έκθεση στα συγκεκριμένα βιοκτόνα, αρχίζουν να αποτελούν προοδευτικά μεγαλύτερο μέρος του συνολικού πληθυσμού, ενώ παράλληλα, τα ευαίσθητα άτομα του πληθυσμού προοδευτικά ελαττώνονται. Η ανθεκτικότητα δηλαδή είναι αποτέλεσμα της πίεσης επιλογής που ασκούν τα βιοκτόνα σε ένα φυσικό πληθυσμό μέσω της εκτεταμένης και επαναλαμβανόμενης χρήσης τους.

Το πρόβλημα της ανθεκτικότητας θα ήταν εύκολο να αντιμετωπιστεί στην πράξη με την αντικατάσταση του βιοκτόνου από ένα άλλο, αν δεν υπήρχε το φαινόμενο της "πολυδύναμης" και της "πολλαπλής" ανθεκτικότητας.

Πολυδύναμη ή έμμεση ή διασταυρούμενη ανθεκτικότητα (cross-resistance), ονομάζεται το φαινόμενο της ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε δύο ή περισσότερες δραστικές ουσίες, που συνήθως έχουν τον ίδιο τρόπο δράσης, ως αποτέλεσμα της έκθεσης του πληθυσμού σε μια μόνο από αυτές. Αυτό οφείλεται στην επιλογή του βιοχημικού ή φυσιολογικού μηχανισμού ανθεκτικότητας, ο οποίος παρεμποδίζει τη δράση μιας ολόκληρης ομάδας συγγενών ουσιών που συνήθως, έχουν τον ίδιο τρόπο δράσης. Οι ομάδες εντομοκτόνων στις οποίες συνήθως εμφανίζεται η πολυδύναμη ανθεκτικότητα είναι οι χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες (DDT, κ.α.), τα κυκλοδιένια (dieldrin, aldrin, BHC, κ.α.), τα οργανοφωσφορικά, τα καρβαμιδικά και τα πυρεθροειδή.

Η πολλαπλή ανθεκτικότητα (multiple-resistance), δεν θα πρέπει να συγχέεται με την πολυδύναμη καθώς είναι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε δύο ή περισσότερες δραστικές ουσίες με διαφορετικό τρόπο δράσης, ως αποτέλεσμα της ταυτόχρονης ή διαδοχικής έκθεσης του πληθυσμού στις ουσίες αυτές και της επιλογής των ιδιαίτερων για την κάθε ουσία μηχανισμών ανθεκτικότητας.

Οι δυσμενείς επιπτώσεις από την ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε ένα πληθυσμό κουνουπιών ή άλλου εντόμου που πρόκειται να καταπολεμηθεί είναι:

1. Οι τοξικολογικές επιπτώσεις, δηλαδή η αύξηση των υπολειμμάτων των βιοκτόνων στα νερά ή τα γεωργικά προϊόντα και οι κίνδυνοι δηλητηριάσεων ως συνέπεια της αύξησης των δόσεων και του αριθμού των επεμβάσεων για την αντιμετώπιση των καταπολεμούμενων εντόμων.
2. 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.
3. Η έλλειψη αποτελεσματικών χημικών μέσων αντιμετώπισης του εχθρού και η ανάγκη εξεύρεσης νέων μεθόδων καταπολέμησης οι οποίες συνήθως απαιτούν ειδική εκπαίδευση των ενδιαφερομένων.
4. 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 καθώς και χρησιμοποίησης νέων εξελιγμένων (και συνήθως πιο ακριβών) βιοκτόνων.

Η γνώση της ύπαρξης ανθεκτικότητας σε ένα πληθυσμό κουνουπιών στα εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμησή τους, αποτελεί βασική προϋπόθεση για την επιτυχία των προγραμμάτων αντιμετώπισης. Η ύπαρξη εντόμων με υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας μπορεί να καθιστά άσκοπη και περιβαλλοντικά επιζήμια τη συνέχιση ψεκασμών με κάποιο συγκεκριμένο σκεύασμα και επιβεβλημένη την αλλαγή στρατηγικής αντιμετώπισης.

Επίσης, ακόμη και στην περίπτωση που δεν έχει διαπιστωθεί ανθεκτικότητα, θα πρέπει πάντα να λαμβάνονται μέτρα και για την αποφυγή ανάπτυξης ανθεκτικότητας στο μέλλον. Τα μέτρα αυτά έχουν σκοπό τη διατήρηση των γονιδίων ευαισθησίας που υπάρχουν σε ένα φυσικό πληθυσμό ή με άλλα λόγια τη διατήρηση του επιπέδου ευαισθησίας ενός πληθυσμού, μέσα σε κάποια άρια που θα επιτρέπουν τη συνέχιση της χρήσης των βιοκτόνων της ίδιας ομάδας, στα προγράμματα αντιμετώπισης των κουνουπιών, στη συγκεκριμένη περιοχή. Τέτοια μέτρα είναι:

1. Μείωση του αριθμού των επεμβάσεων με χημικά βιοκτόνα.
2. Αποφυγή εφαρμογής του ίδιου βιοκτόνου σε μεγάλες εκτάσεις και επανειλημμένα..
3. Χρησιμοποίηση βιοκτόνων με μικρή υπολειμματική διάρκεια.
4. Η εφαρμογή των χαμηλότερων δυνατών δόσεων που είναι αποτελεσματικές.
5. Εναλλαγή ή διαδοχή βιοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης.
6. Προστασία και ενίσχυση των φυσικών εχθρών.
7. Εφαρμογή εναλλακτικών, μη χημικών μεθόδων καταπολέμησης (μηχανικών, βιολογικών κτλ) όπου είναι εφικτό.

Τέλος, παράλληλα με το κάθε πρόγραμμα αντιμετώπισης κουνουπιών που εφαρμόζεται θα πρέπει να διεξάγονται βιοδοκιμές ελέγχου για πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας,

τουλάχιστον για τα βιοκτόνα που χρησιμοποιούνται. Οι δοκιμές αυτές θα πρέπει να διενεργούνται από φορέα ανεξάρτητο με αυτόν που εκτελεί το πρόγραμμα ψεκασμών.

1.4.5. Η αντιμετώπιση του προβλήματος των κουνουπιών στην Ελλάδα

Η αντιμετώπιση του προβλήματος των κουνουπιών στην Ελλάδα, αφού σημείωσε μια πολύ σημαντική επιτυχία, αυτή της εκριζώσεως της ελονοσίας (έστω και με προβλήματα όπως αυτό της ανάπτυξης ανθεκτικότητας), άρχισε, από τα τέλη της δεκαετίας του '60, να παραμελείται σε πολύ μεγάλο βαθμό για τα επόμενα περίπου 30 χρόνια.

Το γεγονός αυτό, εκτός του ότι σε πολλές περιοχές της χώρας μας δημιούργησε ανυπόφορες καταστάσεις από πλευράς όχλησης, είχε και άλλες συνέπειες, πιθανώς σημαντικότερες καθώς με την αναστολή της λειτουργίας των σταθμών επιδημιολογικής επιτήρησης και εντομολογικής έρευνας για τα κουνούπια, που είχαν συσταθεί από τη δεκαετία του '30, χάθηκε όλη εκείνη η πολύτιμη γνώση και εμπειρία που είχε αποκτηθεί έως τότε.

Η έλλειψη αυτής της γνώσης είχε άμεσο αντίκτυπο στα προγράμματα μεγάλης κλίμακας για την αντιμετώπιση των κουνουπιών που άρχισαν να εφαρμόζονται, στη Βόρεια και Κεντρική Ελλάδα στο τέλος της δεκαετίας του '90. Τα προγράμματα αυτά ξεκίνησαν να εφαρμόζονται χωρίς να βασίζονται σε προϋπάρχοντα δεδομένα ή σχετικά στοιχεία και ως εκ τούτου η επιτυχία τους απείχε κατά πολύ από το επιθυμητό αποτέλεσμα.

Αργότερα, η κατάσταση βελτιώθηκε κάπως, καθώς οι φορείς υλοποίησης των προγραμμάτων άρχισαν να αποκτούν μια σχετική εμπειρία ενώ παράλληλα εξοπλίστηκαν με σύγχρονα μέσα χαρτογράφησης, δειγματοληψιών και ψεκασμών.

Σήμερα, έργα καταπολέμησης κουνουπιών σε μεγάλη κλίμακα, εφαρμόζονται σε 15 τουλάχιστον από τις 54 Νομαρχίες της Ελλάδος ενώ με βάση τις εκτάσεις οι οποίες καλύπτονται η Ελλάδα θεωρείται ότι υλοποιεί το μεγαλύτερο έργο αντιμετώπισης κουνουπιών στα Βαλκάνια και ένα από τα μεγαλύτερα στην Ευρώπη.

Όπως είναι αναμενόμενο, ο κύριος όγκος των επεμβάσεων εφαρμόζεται στους ορυζώνες. Υπολογίζεται ότι η Ελλάδα έχει συνολικά 250.000 στρέμματα ορυζώνων (στοιχεία του 2005, καθώς οι εκτάσεις μεταβάλλονται ελαφρώς από έτος σε έτος), από τα οποία έως και τα 230.000 στρ. ψεκάζονται (συνήθως 180.000 - 200.000 στρ.).

Επίσης, εκτός από τους ορυζώνες ψεκάζονται και περίπου 90.000 - 100.000 στρ. φυσικών οικοσυστημάτων και υγροτόπων, κυρίως ελωδών εκτάσεων ή παραλίμνιων περιοχών, που ως γνωστό είναι και αυτά υπεύθυνα για ένα σημαντικό μέρος του προβλήματος των κουνουπιών στις γειτονικές περιοχές.

Το κόστος των προγραμμάτων αντιμετώπισης είναι συχνά πολύ υψηλό και ανέρχεται σε εκατομμύρια ευρώ κάθε χρόνο, όπως για παράδειγμα το πρόγραμμα στην ευρύτερη περιοχή της Θεσσαλονίκης, που υπολογίζεται γύρω στα 2-3 εκατ. ευρώ ετησίως.

Η διαχείριση των προγραμμάτων γίνεται από τους ίδιους τους Δήμους ή τις Νομαρχίες ή πολύ συχνά από τις Αναπτυξιακές Εταιρείες που διαθέτουν οι αντίστοιχοι νομοί. Η υλοποίηση των προγραμμάτων συνήθως γίνεται από ιδιωτικές εταιρείες, με ανάθεση έργου

με εξαίρεση τις προσπάθειες που έχουν γίνει από ορισμένους νομούς οι οποίοι έχουν συστήσει Μη Κερδοσκοπικές Εταιρείες Κοινής Ωφέλειας, με σημαντικότερο παράδειγμα αυτό του Νομαρχιακού Κέντρου Καταπολέμησης Κουνουπιών, του Νομού Σερρών.

Παρά το γεγονός όμως ότι τα προγράμματα που υλοποιούνται καλύπτουν σημαντικό μέρος της χώρας και το κόστος τους είναι ιδιαίτερα υψηλό, τα αποτελέσματα των προσπαθειών αυτών δεν είναι συνήθως τα αναμενόμενα.

Η πλειονότητα των κατοίκων που ζει και εργάζεται στις περιοχές αυτές συνεχίζει να δαπανά κάθε χρόνο σημαντικά ποσά για την προμήθεια βιοκτόνων οικιακής χρήσης και εντομοαπωθητικών ενώ η τουριστική και γενικότερα η οικονομική ανάπτυξη των περιοχών αυτών συνεχίζει να υφίσταται σημαντικό πλήγμα από την έντονη παρουσία των κουνουπιών, ιδίως κατά τους θερινούς μήνες. Τα στατιστικά στοιχεία μάλιστα δείχνουν συνεχή αύξηση της κατανάλωσης βιοκτόνων και εντομοαπωθητικών.

Ενδεικτικό της σημαντικής απόκλισης των προγραμμάτων αυτών από το επιθυμητό αποτέλεσμα θα πρέπει να θεωρηθεί και το γεγονός ότι παρά τις προσπάθειες που έχουν γίνει για περισσότερα από 10 χρόνια εντούτοις κατά το διάστημα των τελευταίων πέντε ετών έχουν εισαχθεί και εγκατασταθεί στη χώρα μας τουλάχιστον δύο νέα είδη κουνουπιών, επικίνδυνων από υγειονομική άποψη, το *Aedes albopictus* και *Culex tritaeniorhynchus*. Επιπλέον έχουν εμφανιστεί και αυτόχθονα κρούσματα σοβαρών ασθενειών που μεταδίδονται από τα κουνούπια, όπως κρούσματα ελονοσίας και ιού του Δυτικού Νείλου. Μάλιστα η τελευταία ασθένεια σημείωσε στη χώρα μας, το 2010, μια από τις μεγαλύτερες επιδημίες που έχουν καταγραφεί σε αναπτυγμένες χώρες, με 261 διαπιστωμένα κρούσματα και 34 νεκρούς (στοιχεία ΚΕΕΛΠΝΟ).

Με βάση τα στοιχεία αυτά θεωρούμε ότι το έργο της διαχείρισης των κουνουπιών στην χώρα μας θα πρέπει να προσεχθεί ιδιαιτέρως και άμεσα από την πολιτεία και τους αρμόδιους φορείς της, και ενδεχομένως να αναθεωρηθεί, τόσο ως προς τη μελέτη και επιστημονική προσέγγιση του προβλήματος όσο και ως προς την αναδιάρθρωση του τρόπου ανάθεσης και υλοποίησης των προγραμμάτων αντιμετώπισης των κουνουπιών.

1.4.6. Προτάσεις για ολοκληρωμένη διαχείριση του προβλήματος

Ένα πρόγραμμα ολοκληρωμένης διαχείρισης των κουνουπιών (integrated mosquito management), το οποίο θα συντελούσε στην ελαχιστοποίηση της πιθανότητας μετάδοσης ασθενειών και ταυτόχρονα τη μείωση της ενόχλησης σε ανεκτά επίπεδα, θα πρέπει να συνδυάζει όλες τις διαθέσιμες μεθόδους αντιμετώπισης. Σε αυτές συγκαταλέγονται οι περιβαλλοντικές παρεμβάσεις, οι μέθοδοι βιολογικής καταπολέμησης καθώς και η ορθή και αποτελεσματική χρήση των κατάλληλων βιοκτόνων.

Η προσέγγιση αυτή αποτελεί τη σύγχρονη τάση και φιλοσοφία για την αντιμετώπιση των εντόμων στο πλαίσιο μιας ολοκληρωμένης αντιμετώπισης (IPM) και εφαρμόζεται πλέον από όλες τις αναπτυγμένες και οικολογικά ευασθητοποιημένες χώρες του πλανήτη, ενώ ειδικά στην περίπτωση των κουνουπιών θεωρείται επιτακτική καθώς είναι γνωστό ότι οι εστίες ανάπτυξης των κουνουπιών (λίμνες, έλη, υδάτινες επιφάνειες) είναι συχνά

οικοσυστήματα μεγάλης οικολογικής σημασίας και επιπλέον οι πληθυσμοί των κουνουπιών συχνά δραστηριοποιούνται κοντά ή μέσα σε κατοικημένες περιοχές.

Η μελέτη και συγκέντρωση των εντομολογικών στοιχείων των πληθυσμών των κουνουπιών μιας περιοχής, που αφορούν στη βιολογία τους και την οικολογία τους καθώς και διάφορα κοινωνικοοικονομικά δεδομένα της συγκεκριμένης περιοχής είναι μερικά από τα βασικά στοιχεία τα οποία κάθε υπεύθυνος για τη λήψη αποφάσεων, θα πρέπει να λαμβάνει υπόψη και φυσικά να μεριμνά για τη συγκέντρωσή τους. Τα σημαντικότερα από τα στοιχεία αυτά είναι τα ακόλουθα:

1. Καταγραφή των ειδών των κουνουπιών της κάθε περιοχής και μελέτη της εποχικής διακύμανσης των πληθυσμών τους.
2. Χαρτογράφηση των εστιών ανάπτυξης των προνυμφών των κουνουπιών και καταγραφή της παρουσίας και της διακύμανσης των πληθυσμών τους ανά είδος και εστία, καθόλη τη διάρκεια του έτους.
3. Μελέτη της υγειονομικής σημασίας, των διατροφικών προτιμήσεων και συνηθειών καθώς και της όχλησης που προκαλεί το κάθε είδος κουνουπιού, τόσο στους ανθρώπους όσο και στα παραγωγικά ζώα της κάθε περιοχής.
4. Μελέτη της ευαισθησίας των συγκεκριμένων πληθυσμών κουνουπιών στα διάφορα προνυμφοκτόνα ή ακμαιοκτόνα που πρόκειται να χρησιμοποιηθούν και ανίχνευση πιθανής ανάπτυξης ανθεκτικότητας από τα χρησιμοποιούμενα βιοκτόνα.
5. Καταγραφή των συνηθειών των κατοίκων, όπως η εργασία στο ύπαιθρο ή κοντά σε έλη ή άλλες εστίες ανάπτυξης κουνουπιών για εκτίμηση της επικινδυνότητας ως προς τις ασθένειες και τον καθορισμό των προτεραιοτήτων.
6. Μελέτη των οικολογικά σημαντικών περιοχών και διασφάλιση της προστασίας του περιβάλλοντος και των οργανισμών μη στόχων από τις επεμβάσεις που θα πραγματοποιηθούν.
7. Κατάρτιση μηχανισμού ελέγχου και αξιολόγησης των προγραμμάτων. Ο φορέας που θα πραγματοποιεί τον έλεγχο και την αποτελεσματικότητα των επεμβάσεων θα πρέπει να είναι διαφορετικός από τον φορέα υλοποίησης των ψεκασμών ή άλλων επεμβάσεων. Οι διαπιστώσεις θεωρούνται πολύτιμες για την ανάδειξη των αδυναμιών των προγραμμάτων και τη μελλοντική βελτίωσή τους.
8. Υπολογισμός των διαθέσιμων οικονομικών πόρων και εξασφάλιση της έγκαιρης χρηματοδότησης των προγραμμάτων. Παράλληλα θα πρέπει να διασφαλίζεται και η σταθερότητα χρηματοδότησης του προγράμματος από έτος σε έτος.
9. Εκπαίδευση και επιτήρηση του προσωπικού που θα αναλάβει το κάθε έργο αλλά και εκστρατεία ενημέρωσης του κοινού, για αποφυγή παραπληροφόρησης αλλά και τις δυνατότητες της δικής του συμβολής στην επιτυχία της συνολικής προσπάθειας.
10. Ενημέρωση και εξοπλισμό των υγειονομικών υπηρεσιών για την έγκαιρη διάγνωση και θεραπεία πιθανών περιστατικών νοσημάτων μεταδιδόμενων με κουνούπια και την αποφυγή εξάπλωσης επιδημιών.

Τέλος, αξίζει να δοθεί έμφαση στη ανάγκη για μελέτη και έρευνα με σκοπό την ανάπτυξη νέων μεθόδων ή εναλλακτικών στρατηγικών αντιμετώπισης των κουνουπιών που χρησιμοποιούν τη βιοτεχνολογία και είναι φιλικότερες προς το περιβάλλον ενώ παράλληλα

μπορούν να προσφέρουν σημαντική βοήθεια στο πρόβλημα του περιορισμού του φαινομένου της ανθεκτικότητας.

Μία από αυτές τις μεθόδους είναι και η στρατηγική της «Προσέλκυσης και Εξολόθρευσης» (“Attract and Kill”). Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή γίνεται χρήση κατάλληλων σημειοχημικών ουσιών με σκοπό την προσέλκυση των εντόμων στο σημείο που βρίσκεται εφαρμοσμένο το εντομοκτόνο. Οι σημειοχημικές ουσίες είναι ουσίες που παράγονται από τους ίδιους τους οργανισμούς για την επικοινωνία ατόμων που ανήκουν στο ίδιο ή σε διαφορετικά είδη και ονομάζονται αντίστοιχα φερομόνες και αλληλοχημικά. Το κυριότερο πλεονέκτημα των παραπάνω ενώσεων είναι η ελαχιστοποίηση της χρήσης χημικών σκευασμάτων καθώς και της έκθεσης σε αυτά οργανισμών που δεν αποτελούν στόχο. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα (που αναλόγως την περίπτωση μπορεί να είναι και μειονέκτημα) είναι η μεγάλη εξειδίκευση ως προς τον οργανισμό-στόχο ακόμη και σε επίπεδο είδους (Mori 2000, Stetter and Folker 2000).

Σήμερα, η συνεργασία επιστήμης και τεχνολογίας έχει δώσει ώθηση στην έρευνα και στην παραγωγή φερομονών ή άλλων ουσιών για το χειρισμό εντόμων όπως τα κουνούπια, παρέχοντας ταυτόχρονα λύσεις βέλτιστης σχέσης κόστους/απόδοσης, οι οποίες δεν ήταν εφικτές στο παρελθόν.

Μια σχετική μέθοδος έχει αναπτυχθεί μέσα από συνεργασία του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. Δημόκριτος και του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για την αντιμετώπιση του κοινού οικιακού κουνουπιού *Culex pipiens* και ενδεχομένως και άλλων ειδών του ίδιου συμπλέγματος (species complex) (Couladouros and Mihou 1999, Mihou 2001, Michaelakis *et al.* 2005, Michaelakis *et al.* 2007, Kioulos *et al.* 2007-2008).

Η μέθοδος βασίζεται στην προσέλκυση των ώριμων προς ωτοκία κουνουπιών του γένους *Culex* σε προκαθορισμένο χώρο ωτοκίας. Η προσέλκυση γίνεται με τη χρήση μικροενκαψυλωμένης φερομόνης ωθεσίας με μικροκάψουλες πολυουρίας τύπου oil-in-water. Οι μικροκάψουλες πολυουρίας τύπου oil-in-water ανήκουν στη κατηγορία των Συστημάτων Ελεγχόμενης Αποδέσμευσης (Control Release Systems-CRSs) και η παρασκευή τους επιτυγχάνεται με τη μέθοδο του διεπιφανειακού πολυμερισμού.

Η μέθοδος αυτή, εφόσον δοκιμαστεί και σε πειράματα υπαίθρου, θα μπορούσε να έχει αξιόλογες εφαρμογές, όπως τον έλεγχο της παρουσίας, την εκτίμηση των πληθυσμών, καθώς και την εποχική διακύμανση ειδών όπως το *Culex pipiens* που είναι αποδεδειγμένα φορείς επικίνδυνων ασθενειών, όπως ο ιός του Δυτικού Νείλου.

Επιπλέον η μέθοδος θα μπορούσε να εφαρμοστεί και για την καταπολέμηση των ειδών αυτών καθώς μετά την προσέλκυση των θηλυκών κουνουπιών για να ωτοκήσουν σε συγκεκριμένη εστία νερού μπορεί να επιτευχθεί εύκολα και η θανάτωση των απογόνων τους, στο στάδιο της προνύμφης. Αυτό μπορεί να γίνει με την εφαρμογή οποιουδήποτε σχεδόν εμπορικά διαθέσιμου προνυμφοκτόνου. Χαρακτηριστικό της μεθόδου αυτής είναι το γεγονός ότι η τελική ποσότητα βιοκτόνου που απαιτείται είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με την αντίστοιχη της κλασικής χημικής καταπολέμησης καθώς γίνεται περιορισμένη και τοπική χρήση των βιοκτόνων, μόνο στους προκαθορισμένους χώρους ωτοκίας των κουνουπιών.

«Βασική έρευνα είναι
εκείνη η έρευνα η
οποία δεν κατέστη
ακόμη εφαρμοσμένη»

George Porter (1967),
Νόμπελ χημείας

Κεφάλαιο 2. Σκοπός της διατριβής

2.1. Εισαγωγή

Την άνοιξη του 1997 στις εγκαταστάσεις του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, στην Κηφισιά, και έπειτα από επανειλημμένα παράπονα των εργαζομένων στο Ινστιτούτο για σημαντική ενόχληση από ένα «ριγέ» κουνούπι κατά τη διάρκεια της ημέρας, εντοπίστηκε ένα είδος κουνουπιού που προξένησε ενδιαφέρον. Κατ' αρχήν το έντομο αυτό διέφερε μορφολογικά από όλα τα μέχρι τότε συνηθισμένα είδη κουνουπιών της χώρας μας ενώ η συμπεριφορά του (ημερόβιο και αρκετά επιθετικό στον άνθρωπο) μας παρακίνησε να ασχοληθούμε άμεσα με το συγκεκριμένο θέμα.

Τα πρώτα δείγματα εντόμων εξετάστηκαν από τον γράφοντα, στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, με βάση τη διεθνή βιβλιογραφία, καθώς οι μόνες διαθέσιμες τότε κλείδες προσδιορισμού για ελληνικά είδη κουνουπιών ήταν αυτές του B. Μπέτζιου (1989), οι οποίες όμως δεν συμπειλάμβαναν κάποιο είδος, που να ταιριάζει στα χαρακτηριστικά των συγκεκριμένων δειγμάτων. Παράλληλα, και με προτροπή του επιβλέποντα καθηγητή της παρούσας διατριβής Δρ. N. Εμμανουήλ, δείγματα του συγκεκριμένου είδους εστάλησαν στην Δρ. Άννα Σαμανίδου-Βογιατζόγλου, επιμελήτρια του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Τροπικών Νόσων, του Τμήματος Παρασιτολογίας, της Εθνικής Σχολής Δημόσιας Υγείας, η οποία διέθετε σημαντική πείρα στην αναγνώριση των ειδών των κουνουπιών της Ελλάδας.

Το είδος που ταυτοποιήθηκε από την εργαστηριακή εξέταση, των πρώτων αυτών δειγμάτων προνυμφών και τέλειων, ήταν το *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards (Diptera: Culicidae). Εντούτοις, η περιορισμένη εμπειρία μας για το συγκεκριμένο είδος καθώς και η μεγάλη μορφολογική του ομοιότητα με το «επικίνδυνο» εξωτικό είδος κουνουπιού *Aedes albopictus*, το οποίο μόλις πριν λίγα χρόνια είχε εντοπιστεί για πρώτη φορά και στην Ευρώπη, μας υποχρέωσε να επιβεβαιώσουμε τη συστηματική ταυτοποίησή μας και από άλλους ειδικούς. Έτσι δείγματα εστάλησαν στο International Center for Public Health Research, University of South Carolina για να εξεταστούν από τον Prof. Richard Darsie Jr., ειδικό συστηματικό και με εμπειρία στα είδη κουνουπιών της Ελλάδος (Samanidou-

Voyadjoglou and Darsie Jr 1993b, 1993a), ο οποίος επιβεβαίωσε ότι τα συγκεκριμένα δείγματα ανήκαν όντως στο είδος *Aedes cretinus*.



Εικόνα 2.1. Φωτογραφία από τα πρώτα δείγματα του *Ae. cretinus* που εντοπίστηκαν στην Αττική το 1997.

Η μελέτη της ελληνικής και διεθνούς βιβλιογραφία που πραγματοποιήθηκε με αφορμή την πρώτη καταγραφή του *Ae. cretinus* στην Αττική και αφορούσε τόσο στο συγκεκριμένο είδος κουνουπιού καθώς και σε δύο ακόμη συγγενή του είδη κατέδειξε την ανάγκη πραγματοποίησης εκτενέστερης μελέτης πεδίου στην περιοχή της Αττικής καθώς και μελετών σε συνθήκες εργαστηρίου και καθόρισαν σε μεγάλο βαθμό τον σκοπό και τη δομή της παρούσας διατριβής. Τα κυριότερα από τα βιβλιογραφικά αυτά στοιχεία δίδονται στη συνέχεια.

2.2. Το είδος *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards 1921

Το *Aedes cretinus* περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Edwards (1921) ο οποίος μελέτησε δύο δείγματα του είδους προερχόμενα από την Κρήτη. Στην Κρητική καταγωγή του οφείλει άλλωστε και το όνομα «*cretinus*» σύμφωνα με τη Snow (2001).

Ο Edwards αναφέρει ότι για το *Ae. cretinus* γνωρίζει την ύπαρξη μόνο δύο δειγμάτων τέλειων εντόμων του συγκεκριμένου είδους. Το πρώτο δείγμα ανήκε αρχικά στη συλλογή του Herr Lichtwardt, η οποία αργότερα σύμφωνα με τον Mattingly (1954) προσαρτήθηκε στη συλλογή του Μουσείου Berlin-Dahlem. Το συγκεκριμένο δείγμα ήταν ένα τέλειον θηλυκό άτομο το οποίο ο Lichtwardt είχε συλλέξει στην Κρήτη και το είχε ταξινομήσει με τα στοιχεία: “Creta. v. O. *Culex calopus*, Mg.”. Το δεύτερο δείγμα που εξέτασε ο Edwards ήταν επίσης ένα θηλυκό άτομο που ανήκε στη συλλογή του Μουσείου της Βουδαπέστης και είχε συλλεχθεί το 1906, επίσης στην Κρήτη, από τον Amari αλλά σύμφωνα με τον Edwards ήταν σε αρκετά κακή κατάσταση.

Ο Edwards εντάσσει το είδος αυτό στο υπογένος *Stegomyia*, αναφέρει ότι έχει πολλές ομοιότητες και συγγένεια με το είδος *Ae. albopictus* Skuse και θεωρεί το *Ae. cretinus* ως το αντίστοιχο είδος του *Ae. albopictus* για την περιοχή της Μεσογείου.

Ο Mattingly το 1954 (Mattingly 1954) επαναπεριέγραψε το είδος από 7 παλιά και σχετικά ατελή δείγματα τέλειων κουνουπιών. Από τα δείγματα αυτά, το ένα προέρχονταν από την Κρήτη και ήταν το δείγμα του Lichtwardt (το οποίο είχε εξετάσει και ο Edwards) ενώ τα υπόλοιπα είχαν συλλεχθεί από τον Rhoudkhadze στις ακτές της Μαύρης Θάλασσας, στη Γεωργία, της πρώην Σοβιετικής Ένωσης. Τα συγκεκριμένα δείγματα είχαν παραχωρηθεί στο Μουσείο Φυσικής Ιστορίας του Λονδίνου από το Hamburg Tropical Institute και στα οποία είχε δοθεί το όνομα *Aedes lindtropi* Shingarev το οποίο σήμερα θεωρείται συνώνυμο του *Ae. cretinus*. Στα παραπάνω δείγματα περιλαμβάνονταν επίσης και ένα μικρό σε μέγεθος, αρσενικό άτομο προερχόμενο από τη Γεωργία, το οποίο είχε εξεταστεί επίσης παλαιότερα και από τον Martini (1931).

Για τα ατελή στάδια, ο Mattingly (1954) αναφέρει ότι οι νύμφες του είδους δεν είναι γνωστές ενώ για τις προνύμφες παραπέμπει στην περιγραφή του Montschadsky (1936, 1951) αλλά σημειώνει ότι ο συγγραφέας φαίνεται ότι περιέγραψε τις προνύμφες βασιζόμενος αποκλειστικά στην περιγραφή του Seguy (1924) ο οποίος είχε περιγράψει την προνύμφη του *Aedes delta*.

Η αμέσως επόμενη χρονολογικά βιβλιογραφική αναφορά στο *Ae. cretinus* γίνεται 20 χρόνια αργότερα, από τους Gutsevich *et al.* (1974) οι οποίοι όμως δεν προσθέτουν νεώτερα στοιχεία για το είδος ενώ αναφέρουν ότι το συγκεκριμένο είδος το γνωρίζουν μόνο από δείγματα που προέρχονταν από το Sukhumί της Γεωργίας και είχαν συλλεχθεί το 1939.

Στοιχεία από νεότερα δείγματα του είδους αναφέρονται μόλις το 1982, από τον Lane (1982), ο οποίος εξέτασε δύο δείγματα θηλυκών τέλειων εντόμων από την Antalya της Τουρκίας, εκ των οποίων το ένα μόνο ήταν σε σχετικά καλή κατάσταση. Με βάση τα συγκεκριμένα δείγματα διόρθωσε κατά κάποιο τρόπο, ανακρίβεις που υπήρχαν στις περιγραφές των Edwards (1921) και Mattingly (1954), οι οποίοι όπως αναφέρθηκε βασίστηκαν σε κακής κατάστασης δείγματα. Επίσης ο Lane αναφέρει ότι θεωρεί ως δείγματα του είδους αυτού και τα δύο «παρόξενα» δείγματα του 1949 που είχε εξετάσει παλαιότερα χωρίς να κατορθώσει τότε να τα ταυτοποιήσει και προέρχονταν από την Λευκωσία της Κύπρου.

Την ταξινόμηση του είδους με βιοχημικές μεθόδους και την επιβεβαίωση της πολύ στενής συγγένειάς του με το «αδελφό» όπως αναφέρει είδος *Ae. albopictus* επέτυχε η Taafe Gaunt, το 1997 (Taafe Gaunt 1997). Παρόλα αυτά η περιγραφή της νύμφης του *Ae. cretinus* έγινε μόλις το 1999 από τον Darsie (1999) ενώ εάν εξαιρέσουμε τις μάλλον ανακρίβεις παλιότερες περιγραφές της προνύμφης του Montschadsky (1936, 1951) η περιγραφή της προνύμφης δίνεται μόλις το 2003 από τους Becker *et al.* (2003).

Τέλος, σύμφωνα με τη μέχρι τώρα γνωστή διεθνή βιβλιογραφία δεν έχει πραγματοποιηθεί η περιγραφή του ωού του *Ae. cretinus*.

2.3. *Aedes cretinus* και συγγενή είδη

Ο Edwards (1921) αναφέρει το *Ae. cretinus* ως είδος της Παλαιοαρκτικής ζώνης και το κατατάσσει στο υπογένος *Stegomyia* μαζί με τα *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse), *Aedes (Stegomyia) argenteus* (Poiret) (*Stegomyia fasciata*) και *Aedes (Stegomyia) vittatus* (Bigot). Θα πρέπει βέβαια να σημειωθεί ότι στην Παλαιοαρκτική ζώνη, όπως την περιγράφει, περίλαμβάνεται η Ευρώπη, η Βόρεια Αφρική ως την Τροπική ζώνη, τα νησιά του Ατλαντικού, η Μικρά Ασία, η τότε Βόρειος Αραβία μαζί με την περιοχή του Περσικού Κόλπου, η Βόρεια Ασία μέχρι τα Ιμαλάια, η Βόρεια Κίνα και η Ιαπωνία.

Από την αρχή ο Edwards (1932) κατέταξε το είδος στο άθροισμα (group) ειδών κουνουπιών C (Group C), δηλαδή στο άθροισμα *scutellaris* (*scutellaris* group). Αργότερα οι Knight and Hurlbut (1949) διαίρεσαν το παραπάνω άθροισμα ειδών στα υποάθροισματα *scutellaris*, *albopictus* και *mediopunctatus* και τοποθέτησαν το *Ae. cretinus* στο υποάθροισμα *albopictus* μαζί με 9 ακόμη είδη.

Η συγγένεια αλλά και η μεγάλη μορφολογική ομοιότητα του *Ae. cretinus* με το *Ae. albopictus* έχει εντοπιστεί από όλους σχεδόν τους συστηματικούς εντομολόγους. Παρά το γεγονός ότι δεν έχει μέχρι στιγμής αποδειχθεί η ανάμιξη του συγκεκριμένου είδους στη μετάδοση ασθενειών και δεν έχουν γίνει ειδικές μελέτες για την ικανότητα του *Ae. cretinus* ως πιθανού φορέα ασθενειών, εντούτοις και μόνο η κατάταξή του στο υπογένος *Stegomyia* θα πρέπει να μας ανησυχεί ιδιαίτερα, αφού το *Stegomyia* θεωρείται ως ένα από τα πιο σημαντικά υπογένη κουνουπιών από υγειονομική άποψη, με είδη που είναι διαπιστωμένοι φορείς πολλών παθογόνων και παρασίτων του ανθρώπου (Becker *et al.* 2003).

Άλλα συγγενή είδη που απαντώνται ή θα μπορούσαν να απαντώνται στην Ελλάδα και παρουσιάζουν μορφολογικές και οικολογικές ομοιότητες είναι τα είδη *Ae. albopictus* και *Aedes aegypti*. Η σημασία διεθνώς αλλά και για τη χώρα μας ειδικότερα των δύο αυτών συγγενών ειδών κουνουπιών διαμόρφωσαν σε σημαντικό βαθμό τους στόχους της παρούσας διατριβής.



Εικόνα 2.2. Τέλεια θηλυκά κουνούπια του είδους *Ae. aegypti* (αριστερά) και *Ae. albopictus* (δεξιά).

2.3.1. *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse 1895)

Αναμφίβολα, το *Aedes albopictus*, είναι τις τελευταίες δύο δεκαετίες το πιο πολυσυζητημένο διεθνώς είδος κουνουπιού. Με την παρουσία και εξάπλωσή του ανά την υφήλιο ασχολήθηκαν και ασχολούνται εκτός από τους ειδικούς επιστήμονες, πλήθος άλλων ειδικοτήτων καθώς και απλών πολιτών, σε όλο σχεδόν τον κόσμο. Αυτό βέβαια δεν οφείλεται μόνο στην εντυπωσιακή κοινή ονομασία του, “Asian Tiger Mosquito”, δηλαδή «Ασιατικό Κουνούπι Τίγρης», ή οποία δόθηκε, το 1993, από την Entomological Society of America (ESA Newsletter Vol. 16, No.8, Αύγουστος 1993), αλλά οφείλεται κυρίως στα υπόλοιπα βιολογικά και οικολογικά χαρακτηριστικά του καθώς και στην υγειονομική σημασία του.

Το *Ae. albopictus* από ένα δασικό και όχι ιδιαίτερα σημαντικό από υγειονομική άποψη είδος της ΝΑ Ασίας, κατάφερε μέσα σε λίγες δεκαετίες να αποτελεί σήμερα ένα από τα πλέον «επικίνδυνα» και ταυτόχρονα «επικηρυγμένα» είδη κουνουπιών, για ολόκληρο το Δυτικό ημισφαίριο (Hawley 1988, Estrada and Craig 1995, Mitchell 1995, Lundström 1999, Gratz 2004, Benedict *et al.* 2007, Pinazo Delgado *et al.* 2008).

Ο λόγος που το κατέστησε το είδος αυτό τόσο σημαντικό δεν ήταν άλλος από την εκπληκτική ικανότητα που ανέπτυξε τα τελευταία 20 περίπου χρόνια να εξαπλώνεται με ευκολία σε νέα γεωγραφικά μήκη και πλάτη, μακριά από τον αρχικό τόπο παρουσίας του και να εγκαθίσταται με επιτυχία σε νέους βιοτόπους, αρκετά έως πολύ διαφορετικούς από τον αρχικό βιότοπο διαβίωσής του (Reiter and Sprenger 1987, Lounibos 2002, Benedict *et al.* 2007). Το *Ae. albopictus* ήταν αρχικά είδος του οποίου οι προνύμφες αναπτύσσονταν σε κοιλότητες δένδρων (φυτοτέλματα) και κυρίως τις εστίες που σχηματίζονται στα κομμένα μπαμπού. Είχε καταγραφεί στα δάση της ΝΑ Ασίας, κυρίως στην Ινδονησία, Μαλαισία, Φιλιππίνες και Σιγκαπούρη. Η εξάπλωσή του έφτανε νοτιοανατολικά έως τη Νέα Γουινέα, δυτικά έως τα νησιά του Ινδικού Ωκεανού και τη Μαδαγασκάρη, βόρεια στην Κίνα έως το ύψος του Πεκίνου, στην Κορέα έως το ύψος της Σεούλ και στην Ιαπωνία έως την πόλη Sendai (Huang 1972, Colless 1973, Hawley 1988).

Η εξάπλωσή του στον υπόλοιπο κόσμο ξεκίνησε μάλλον από ανατολικά πηγαίνοντας αρχικά στη Χαβάη (Bonnet and Worcester 1946) και αρκετά αργότερα στα νησιά Σολομώντα και Σάντα Κρουζ (Elliot 1980) ενώ στη συνέχεια εγκαταστάθηκε στα νησιά Φίτζι και σε άλλα νησιά του νότιου Ειρηνικού ωκεανού (Pashley and Pashley 1983, Laille *et al.* 1990, Kay *et al.* 1995).

Αν και η εισαγωγή του στα λιμάνια της Βόρειας Αμερικής είχε εντοπιστεί από το 1972 (Eads 1972) εντόυτοις η παρουσία του δεν ανησύχησε τους ειδικούς επιστήμονες έως το 1985 που εντοπίστηκε ένας αρκετά μεγάλος και αναπαραγόμενος πληθυσμός του είδους αυτού στα ηπειρωτικά των Ηνωμένων Πολιτειών και συγκεκριμένα στο Χιούστον του Τέξας (Sprenger and Wuithiranyagool 1986). Σε πολύ λίγα χρόνια το *Ae. albopictus* εντοπίστηκε και σε πολλές ακόμη Πολιτείες των Η.Π.Α. (κυρίως τις N.A. πολιτείες) (Reiter and Darsie Jr 1984, Craven *et al.* 1988, Hawley *et al.* 1989, Francy *et al.* 1990, O'Meara *et al.* 1992, Womack 1993, Niebylski and Craig Jr 1994, Crans *et al.* 1996, O'Meara *et al.* 1997, Moore 1999, Madon *et al.* 2002).

Το εμπόριο των μεταχειρισμένων ελαστικών θεωρείται ως ο κύριος τρόπος διασποράς του είδους στην Αμερικανική ήπειρο (Hawley *et al.* 1987, Craven *et al.* 1988). Το *Ae. albopictus* κανονικά είναι ένα μη μεταναστευτικό κουνούπι με ακτίνα πτήσης μικρότερη από 500 μέτρα. Όμως, τα παλιά ελαστικά όπως αποδείχθηκε, αποτελούν μία από τις κυριότερες εστίες απόθεσης ωών του είδους αυτού και στη συνέχεια, το εμπόριο των ελαστικών αυτών είχε ως συνέπεια τη μεταφορά των ωών (που είναι αρκετά ανθεκτικά στην αφυδάτωση) σε νέους τόπους ακόμη και ηπείρους (Reiter and Sprenger 1987, Craven *et al.* 1988, Grist 1993, Reiter 1998).

Παράλληλα με τις Ηνωμένες Πολιτείες της Αμερικής, το *Ae. albopictus* εντοπίστηκε και σε άλλες χώρες της ίδιας ηπείρου όπως η Βραζιλία (1986) (Forrattini 1986), σε νησιά της Καραϊβικής όπως η Δομινικανή Δημοκρατία (1993), και τα νησιά Μπαρμπάντος (1993) (Pena 1993, Reiter 1998), το Μεξικό (1993) (Ibanez-Bernal and Martinez-Campos 1994), τη Γουατεμάλα (1995) (Ogata and Samayoa 1996), τη Κούβα (1995) (Broche and Borja 1999), την Ονδούρα (1995) (Benedict *et al.* 2007), το Ελ Σαλβαδόρ (1995) (Benedict *et al.* 2007), τη Βολιβία (1997) (Benedict *et al.* 2007), τους νήσους Cayman (1997) (Lounibos *et al.* 2003), την Αργεντινή (1998) (Rossi *et al.* 1999), την Κολομβία (1998) (Vélez *et al.* 1998), την Παραγουάνη (1998) (Benedict *et al.* 2007), τον Παναμά (2002) (Benedict *et al.* 2007) και τη Νικαράγουα (2003) (Lugo Edel *et al.* 2005). Παράλληλα έκανε την εμφάνισή του και στην Αφρικανική Ήπειρο όπου η παρουσία του έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές χώρες (Cornel and Hunt 1991, Jupp and Kemp 1992, Savage *et al.* 1992, Fontenille and Toto 2001, Toto *et al.* 2003).

Επίσης έχει βρεθεί σε λιμάνια, της Νέας Ζηλανδίας, της Βόρειας Αυστραλίας και τις πολιτείες της Queensland αλλά μέχρι στιγμής φαίνεται ότι δεν έχει εγκατασταθεί στις χώρες αυτές (Roiz *et al.* 2008).

Φυσικά, από την πορεία εξάπλωσης του *Ae. albopictus* δεν εξαιρέθηκε η Ευρώπη. Στην Ευρώπη το προαναφερθέν είδος εντοπίστηκε πρώτα στις ακτές της Βόρειας Αλβανίας, στην περιοχή της πόλης Laç το 1979 (Adhami and Murati 1987) ενώ μετέπειτα έρευνες έδειξαν ότι το είδος είχε εγκατασταθεί επίσης με επιτυχία σε πολλές ακόμη περιοχές της χώρας αυτής (Adhami and Reiter 1998). Σύμφωνα με μαρτυρίες πολιτών μάλιστα η παρουσία του είδους αυτού στην Αλβανία πρέπει να ξεκίνησε από το 1974.

Στη συνέχεια, το *Ae. albopictus* εντοπίστηκε στην Ιταλία, αρχικά στην περιοχή της Γένοβας, το Σεπτέμβριο του 1990 (Sabatini *et al.* 1990) και μετά στην Πάδοβα το 1991 (Dalla Pozza and Majori 1992) ενώ έως σήμερα έχει αναπτύξει σταθερούς πληθυσμούς στις περισσότερες περιοχές της συγκεκριμένης χώρας, με εξαίρεση τις βορειοδυτικές περιοχές των Άλπεων και καθιστώντας την Ιταλία ως την περισσότερο «πληγείσα» Ευρωπαϊκή χώρα (Della Torre *et al.* 1992, Dalla Pozza *et al.* 1994, Knudsen 1995, Mitchell 1995, Romi 1995, Knudsen *et al.* 1996, Romi *et al.* 1999, ECDC 2009).

Μετά την Ιταλία σειρά είχε η Γαλλία (1999) (Schaffner and Said 1999, Schaffner and Karch 2000, Schaffner *et al.* 2001) και ακολούθησαν το Βέλγιο (2000) (Schaffner *et al.* 2004), το Μαυροβούνιο (2001) (Petric *et al.* 2001), η Ελβετία (2003) (Flacio *et al.* 2004), η Ισπανία (2004) (Aranda *et al.* 2006, Roiz *et al.* 2006) καθώς και η Κροατία (2004) (Klobucar *et al.* 2006a, Klobucar *et al.* 2006b), η Βοσνία-Ερζεγοβίνη (2005) και η Σλοβενία (2005)

(Petric *et al.* 2006) και η Ολλανδία (Scholte *et al.* 2006). Από τις υπόλοιπες Μεσογειακές χώρες η παρουσία του έχει επιβεβαιωθεί επίσης στο Ισραήλ (2003) (Bear 2003), το Λίβανο και τη Συρία (Haddad *et al.* 2007).

Παρά το γεγονός ότι οι πρώτοι πληθυσμοί του *Ae. albopictus* τόσο στην Αλβανία (Adhami and Reiter 1998) όσο και στην Ιταλία (Dalla Pozza *et al.* 1994) εντοπίστηκαν κοντά σε μεγάλους σωρούς μεταχειρισμένων ελαστικών εντούτοις έχει αποδειχθεί ότι η είσοδος του είδους αυτού στην Ευρώπη έχει γίνει και με άλλους τρόπους όπως για παράδειγμα με εμπορευματοκιβώτια (containers) που περιείχαν έπιπλα και άλλα εμπορεύματα καθώς και με το εμπόριο καλλωπιστικών φυτών του είδους *Dracaena sanderiana* (lucky bamboos) στην Ολλανδία (Scholte *et al.* 2006). Επίσης, με βάση διάφορες φυσικές παραμέτρους όπως οι μέσες θερμοκρασίες και το ύψος των βροχοπτώσεων είναι αναμενόμενη η εισαγωγή και εγκατάσταση του είδους αυτού και σε άλλες περιοχές της Ευρώπης, κυρίως προς τα ανατολικά όπως στην Τουρκία αλλά και τις υπόλοιπες χώρες των Βαλκανίων (Mitchell 1995, Knudsen *et al.* 1996).

Το *Ae. albopictus* έχει επίσης εντοπιστεί και στην Ελλάδα, με πρώτη εμφάνιση στην Κέρκυρα και τη Θεσπρωτία (Samanidou-Voyadjoglou *et al.* 2005). Οι περιοχές πρώτης εμφάνισης δεν είναι τυχαίες, αφού το είδος αυτό ενδημούσε ήδη στην Αλβανία από το 1979 (Adhami and Reiter 1998) και στην Ιταλία από το 1990 (Sabatini *et al.* 1990, Dalla Pozza and Majori 1992, Dalla Pozza *et al.* 1994) και συνεπώς εικάζεται ότι εισήχθη στην χώρα μας μέσω της θαλάσσιας συγκοινωνίας με τις γειτονικές αυτές χώρες.

Η παρουσία του *Ae. albopictus* έχει ήδη επιβεβαιωθεί στη Βόρεια Ελλάδα (Voutsina and Karagiannidis 2007) και από δείγματα που έχουν αποσταλεί προς το Μ.Φ.Ι. καθώς και από το 2008 πληθυσμοί του εντοπίστηκαν στον Αστακό Αιτωλοακαρνανίας και στην Αθήνα στην περιοχή της Ριζούπολης και στο Βοτανικό (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008). Οι πληθυσμοί μάλιστα που βρέθηκαν και η μελέτη της παρουσίας του που ακολούθησε τα επόμενα έτη έδειξαν την ύπαρξη σταθερά αναπαραγόμενων πληθυσμών του είδους αυτού στην Αθήνα καθώς και τάσεις εξάπλωσης (Γιατρόπουλος και συνεργάτες 2009).

Από υγειονομική άποψη το *Ae. albopictus* έχει πολύ μεγάλη σημασία καθώς είναι ικανός φορέας διαφόρων σοβαρών για τον άνθρωπο ασθενειών με σημαντικότερες ίσως το δάγκειο και δάγκειο αιμορραγικό πυρετό, ασθένειες που προσβάλλουν κάθε χρόνο εκατομμύρια ανθρώπους σε Ασία, Αφρική και Αμερική (βλ. κεφάλαιο 1.3.1.3). Το *Ae. albopictus* μαζί με το *Ae. aegypti* έχει αποδειχθεί ότι είναι οι σημαντικότεροι φορείς των ασθενειών αυτών (Mitchell 1995, Lundström 1999, Pinazo Delgado *et al.* 2008).

Ειδικά για το δάγκειο πυρετό είναι πολύ ικανός φορέας και των τεσσάρων οροτύπων του ιού και το μεταδίδει με ευκολία στον άνθρωπο ενώ εργαστηριακά τουλάχιστον έχει αποδειχθεί και η μετάδοση από έντομο σε έντομο μέσω της σεξουαλικής επαφής ή από το έντομο στους απογόνους του μέσω των ωάν του (Rudnick and Chan 1965, Rosen *et al.* 1978, Rosen *et al.* 1983, Rosen 1987a, 1987b, Chen *et al.* 1993, Kow *et al.* 2001). Στις περιοχές καταγωγής του, το *Ae. albopictus* έχει διαδραματίσει επανειλημμένως πρωταγωνιστικό ρόλο στην εξάπλωση επιδημιών του δάγκειου και δάγκειου αιμορραγικού πυρετού (Sabin 1952, Hammon *et al.* 1960, Russell *et al.* 1968, Russell *et al.* 1969, Jumali *et al.* 1979, Metselaar *et al.* 1980, Calisher *et al.* 1981). Θα πρέπει να σημειωθεί ότι την ικανότητα αυτή μετάδοσης

του ιού του δάγκειου πυρετού τη διατήρησε και μετά την εγκατάστασή του στο δυτικό ημισφαίριο (Mitchell *et al.* 1987, Vazeille-Falcoz *et al.* 1999).

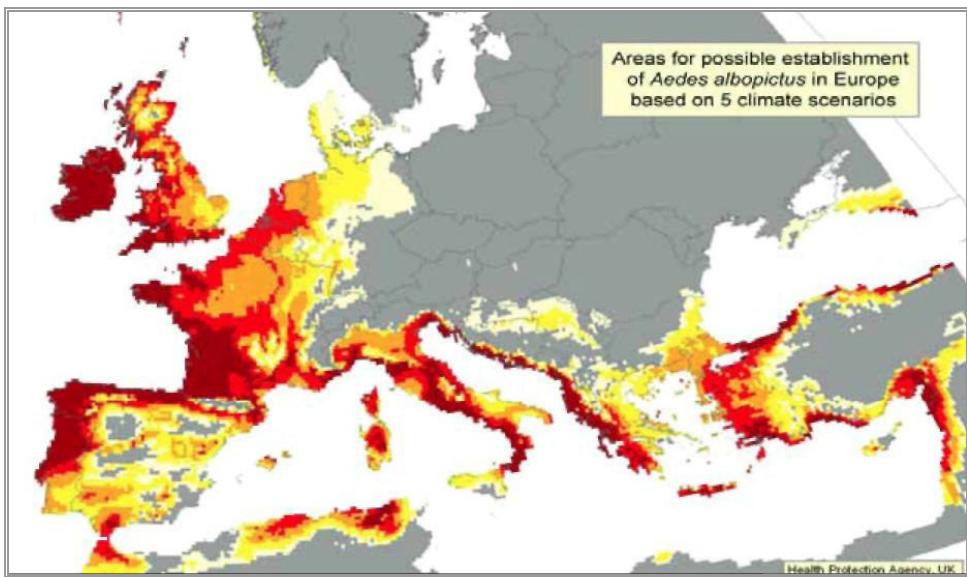
Εκτός από τον δάγκειο πυρετό το *Ae. albopictus* έχει κατηγορηθεί και για τη δυνατότητα μετάδοσης και άλλων 22 τουλάχιστον αρμποϊών και άλλων παθογόνων. Μάλιστα το είδος αυτό διαθέτει αξιοσημείωτη βιοηθολογική ελαστικότητα που του επιτρέπει να μεταδίδει ασθένειες αυτόχθονες των νέων περιοχών που εγκαθίσταται (Shroyer 1986, Mitchell 1991, Gratz 2004).

Ασθένειες για τις οποίες έχει αποδειχθεί ότι είναι φορέας των παθογόνων που τις προκαλούν είναι: ο αρμποϊός Chikungunya, από τον οποίο μάλιστα, το 2007, εκδηλώθηκε επιδημία στη γειτονική μας Ιταλία, με 200 περίπου επιβεβαιωμένα κρούσματα και ένα νεκρό και αποκλειστικό υπεύθυνο φορέα το *Ae. albopictus* (Mangiafico 1971, Parola *et al.* 2006, ECDC 2007, Rezza *et al.* 2007), η Ιαπωνική Εγκεφαλίτιδα [Japanese Encephalitis] (Huang 1957, Mitchell *et al.* 1992, Mitchell *et al.* 1993, Xu 1998), ο ιός του Δυτικού Νείλου [West Nile Virus] (Holick *et al.* 2002), ο La Crosse virus, η St. Louis Encephalitis, η Eastern Equine Encephalomyelitis (CDC 1992, Mitchell *et al.* 1992), η Western Equine Encephalomyelitis, ο Potisi virus, ο ιός του Κίτρονου Πυρετού [Yellow Fever] (Bellini 2001), το βακτήριο *Wolbachia* (Armbruster *et al.* 2003) και φιλαριάσεις που προκαλούνται από τους νηματώδεις *Dirofilaria immitis* (Chellapah and Chellapah Jr 1968, Suenaga 1972, Konishi 1989) και *Dirofilaria repens* (Cancrini *et al.* 1995, Cancrini *et al.* 2003). Εκτός των παραπάνω έχει αποδειχθεί ότι, στο εργαστήριο τουλάχιστον, μπορεί να μεταδώσει και αρκετούς ακόμη αρμποϊύς (Sindbis, Keystone, Tensaw, Cache Valley, Mayaro, Oropouche και Potosi) (Shroyer 1986, Hawley 1988, Mitchell 1991, Smith and Francy 1991, Dohm *et al.* 1995).

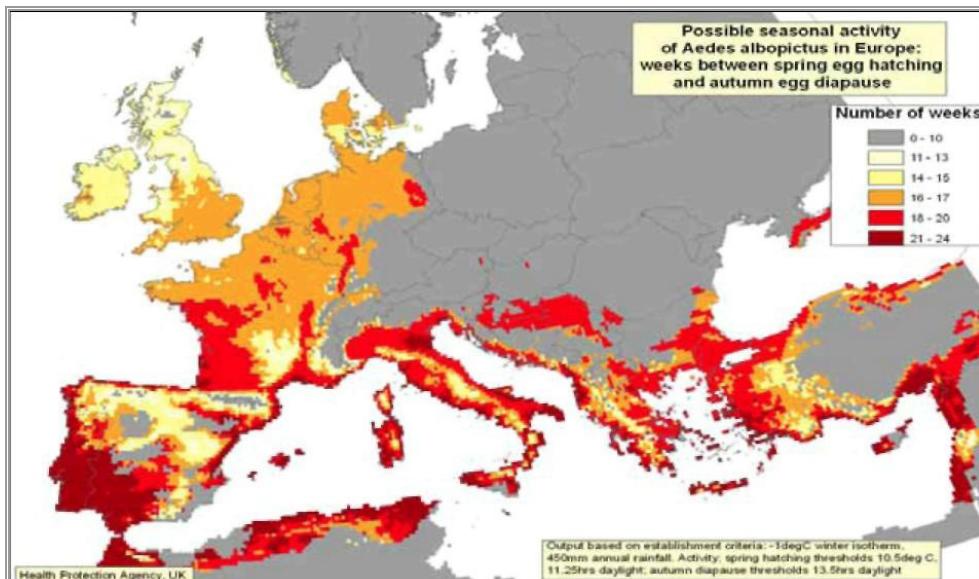
Επίσης η ισχυρή ανθρωποφιλία του προκαλεί σοβαρά προβλήματα ενόχλησης απαιτώντας ιδιαίτερα μέτρα καταπολέμησής του στις περιοχές που έχει εγκατασταθεί.

Ο κίνδυνος της εμφάνισης και μετάδοσης σοβαρών ασθενειών μετά την εγκατάσταση του *Ae. albopictus* στην Ευρώπη είναι προφανής και έχει απασχολήσει επανειλημμένως τους ειδικούς επιστήμονες και τις υγειονομικές αρχές των Ευρωπαϊκών χωρών (Cancrini *et al.* 1992, Rebora *et al.* 1993, Rodhain 1993, Ward and Burgess 1993, Estrada and Craig 1995, Knudsen 1995, Mitchell 1995, Gratz 2004, Benedict *et al.* 2007).

Σύμφωνα με το European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC), οι προβλέψεις για την εγκατάσταση του *Ae. albopictus* σε διάφορες χώρες της Ευρώπης, αλλά και σε περιοχές της Ελλάδος ειδικότερα, είναι εξαιρετικά δυσοίωνες. Ενδεικτικά παραθέτουμε δύο από τους χάρτες επικινδυνότητας που έχουν καταρτιστεί με βάση τα στοιχεία της βιολογίας του είδους αυτού, την τάση εξάπλωσης και τα εδαφοκλιματικά δεδομένα διαφόρων περιοχών της Ευρώπης (Medlock *et al.* 2006, ECDC 2009).



Εικόνα 2.3. Περιοχές πιθανής αποίκισης του *Ae. albopictus* στην Ευρώπη βασισμένη σε πέντε (5) κλιματικά σενάρια. Σενάριο 1 (ανοιχτό κίτρινο) = 450 mm ετήσια βροχόπτωση, Σενάριο 2 (κίτρινο) = 500 mm, Σενάριο 3 (πορτοκαλί) = 600 mm, Σενάριο 4 (κόκκινο) = 700 mm και Σενάριο 5 (καφέ) = 800 mm ετήσια βροχόπτωση.



Εικόνα 2.4. Πιθανή εποχιακή δραστηριότητα του *Ae. albopictus* στην Ευρώπη. Τα διάφορα χρώματα αντιπροσωπεύουν το σύνολο των εβδομάδων που το έντομο είναι δραστήριο μεταξύ της πρώτης εκκόλαψης των ωών την άνοιξη μέχρι και τη διαύπαση των ωών το φθινόπωρο.

2.3.2. *Aedes (Stegomyia) aegypti* (Linnaeus 1762)

Το τρίτο είδος των υπογένους *Stegomyia* που έχει καταγραφεί στην Ευρώπη είναι το *Aedes aegypti* (Christophers 1960). Σύμφωνα με τον Mattingly (1957) το *Ae. aegypti*

κατάγεται από την Αφρική και πιθανώς όπως και το *Ae. albopictus* εξαπλώθηκε σε ολόκληρο τον κόσμο μετά από αλλαγή του τρόπου διαβίωσής του και κατάλληλη προσαρμογή του ώστε να μπορεί να αναπτύσσεται σε ανθρωπογενείς εστίες όπως δοχεία και δεξαμενές νερού. Σήμερα είναι ευρέως διαδεδομένο και απαντάται στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές καθώς και στις θερμές περιοχές της εύκρατης ζώνης και στα δύο ημισφαίρια (Becker *et al.* 2003). Όπως και στο *Ae. albopictus* το εμπόριο μεταχειρισμένων ελαστικών έχει βοηθήσει στη διασπορά και επανεισαγωγή του είδους αυτού σε νέες χώρες και περιοχές (Haverfield and Hoffman 1966, Groot 1980).

Από υγειονομική άποψη είναι ο σημαντικότερος φορέας του κίτρινου πυρετού καθώς και άλλων αρμποϊών ενώ μαζί με το *Ae. albopictus* είναι οι κύριοι φορείς παγκοσμίως του δάγκειου και δάγκειου αιμορραγικού πυρετού (Hammon *et al.* 1960, Rudnick 1967, Halstead 1980, Rosen *et al.* 1983, Mitchell 1995, Lundström 1999).

Σύμφωνα με την παλαιότερη βιβλιογραφία το είδος αυτό ήταν ευρέως διαδεδομένο στην Ελλάδα (Joyeux 1918, Waterston 1918), (Ekblom 1929) (ως *Stegomyia fasciata* Fabricius), (Cardamatis 1931) (ως *Culex elegans* Ficalbi), (Pandazis 1932) (ως *Aedes argenteus* Poiret), (Shannon and Papadakis 1937, Weyer 1942). Θεωρείται υπεύθυνο για την έξαρση και εξάπλωση της μεγάλης επιδημίας του δάγκειου πυρετού το 1927-1928 η οποία ήταν και η μεγαλύτερη επιδημία της ασθένειας που καταγράφηκε ποτέ στην Ευρώπη, με περισσότερους από 100.000 διαπιστωμένους ασθενείς και 1.553 θανάτους (Theiler *et al.* 1960, Papaevangelou and Halstead 1977, Papadopoulos 1980). Εντούτοις, λόγω της βελτίωσης των συνθηκών διαβίωσης, με την κατασκευή κλειστών δικτύων ύδρευσης αλλά και πιθανώς ως αποτέλεσμα της εφαρμογής του «Προγράμματος για την Εκρίζωση της Ελονοσίας» που τη δεκαετία του 1950 και το οποίο αποδεκάτισε μεγάλους πληθυσμούς κουνουπιών, το συγκεκριμένο είδος φαίνεται να έχει εξαφανιστεί από την Ελλάδα εδώ και πολλά χρόνια (Livadas 1958, Samanidou-Voyadjoglou and Darsie Jr 1993b).

Εντούτοις πάντα υπάρχει η σχετική ανησυχία αφού όπως και στην περίπτωση του *Ae. albopictus* μπορεί να μεταφερθεί στη χώρα μας από άλλες περιοχές ενώ η παλαιότερη παρουσία του στην Ελλάδα υποδηλώνει ότι η χώρα μας διαθέτει τις κατάλληλες συνθήκες για την εγκατάσταση και ανάπτυξη του είδους αυτού. Επιπλέον, ενδεικτικό της δυναμικής του είδους αποτελεί και το γεγονός ότι πρόσφατα εντοπίστηκαν πληθυσμοί του *Ae. aegypti* στην Ολλανδία μετά από πολλές δεκαετίες απουσίας του (Enserink 2010).

Σημείωση: Σύμφωνα με κάποιες από τις νεώτερες ταξινομικές προσεγγίσεις από τους Reinert *et al.* (2004) τα είδη *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* και *Aedes cretinus* θα πρέπει να μετονομαστούν σε *Stegomyia aegypti*, *Stegomyia albopicta* και *Stegomyia cretina* αντίστοιχα. Για τους λόγους όμως που αναφέρθηκαν στο κεφάλαιο 1., προτιμήθηκε στην παρούσα εργασία να μην ακολουθηθεί η νέα αυτή ονοματολογία καθώς υπάρχουν σοβαρές αντιρρήσεις για την αλλαγή αυτή από πολλούς ειδικούς επιστήμονες, με αποτέλεσμα να μην έχει υιοθετηθεί ακόμη από τους σχετικούς επιστημονικούς κύκλους και τους εκδότες των ειδικών επιστημονικών περιοδικών και βιβλίων.

2.4. Αντικείμενο και διάρθρωση της διατριβής

Παρά την πληθώρα εργασιών που έχουν γίνει για τα κουνούπια γενικά αλλά και ειδικότερα για τα κουνούπια της Ευρώπης, το είδος *Ae. cretinus* έχει μελετηθεί ελάχιστα παρότι οι αναφορές για την παρουσία του στη χώρα μας είναι αρκετά παλιές ενώ ταυτόχρονα η όγληση που προκαλεί στις περιοχές που διαβιεί δεν περνά απαρατήρητη. Καθώς μάλιστα δεν είναι γνωστό σχεδόν τίποτε για την υγειονομική του σημασία και επειδή έχει μεγάλη μορφολογική ομοιότητα με το επικίνδυνο από υγειονομική άποψη είδος *Ae. albopictus*, είναι φανερή η ανάγκη μελέτης του τόσο ως προς την παρουσία και εξάπλωσή του, όσο ως προς τη βιολογία του, την οικολογία, τη συστηματική του και τη συμπεριφορά του στα βιοκτόνα.

Ένας λοιπόν από τους κύριους σκοπούς της παρούσας διατριβής ήταν η συμβολή στη μελέτη του σχετικά «άγνωστου» είδους κουνουπιού, *Ae. cretinus*. Επιπλέον μελετήθηκαν στοιχεία που αφορούν την παρουσία, την εξάπλωση και την οικολογία και άλλων ειδών κουνουπιών στο Νομό Αττικής, με έμφαση στα ανθρωπόφιλα είδη ενώ παράλληλα ερευνήθηκε η πιθανή εισαγωγή ή παρουσία του *Ae. albopictus* ή/και του *Ae. aegypti* κατά το διάστημα 2000-2003, στην περιοχή μελέτης. Τέλος, η παρούσα διατριβή συμβάλλει στη μελέτη και άλλων σχετικών με τα κουνούπια θεμάτων, όπως η ανάπτυξη μοριακής τεχνικής διάκρισης του *Ae. cretinus* από τα συγγενή είδη, η περιγραφή για πρώτη φορά του ωού του συγκεκριμένου είδους καθώς και στη μελέτη παλαιών και νέων ουσιών που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση του *Ae. cretinus* και γενικότερα των κουνουπιών.

Η μελέτη είναι διαρθρωμένη σε δύο μέρη και 6 συνολικά κεφάλαια.

Το πρώτο μέρος είναι το Γενικό Μέρος, το οποίο αποτελείται από δύο κεφάλαια, τα **Κεφάλαια 1 και 2**.

Στο **1^ο Κεφάλαιο** παρουσιάστηκαν γενικά στοιχεία για τα κουνούπια, τη μορφολογία τους, τη βιολογία τους, την υγειονομική ή άλλη σημασία τους και την αντιμετώπισή τους. Σε κάθε επιμέρους ενότητα δόθηκε έμφαση για την κατάσταση που επικρατεί στη χώρα μας και εντοπίστηκαν τα προβλήματα που ενδεχομένως θα πρέπει να μας απασχολήσουν στο μέλλον.

Το **2^ο Κεφάλαιο** είναι το παρών κεφάλαιο σχετικά με το σκοπό της διατριβής και τα στοιχεία που οδήγησαν στη συγκρότησή του.

Το δεύτερο μέρος είναι το Ειδικό Μέρος και περιλαμβάνει τα ακόλουθα τέσσερα κεφάλαια:

Κεφάλαιο 3: Συμβολή στη μελέτη της παρουσίας και εξάπλωσης του *Ae. cretinus* στην Αττική. Στο κεφάλαιο αυτό δίνονται επίσης στοιχεία για την παρουσία και εξάπλωση και άλλων ειδών κουνουπιών, εκτός του *Ae. cretinus*, που εντοπίστηκαν στο Νομό Αττικής και τα κύρια μορφολογικά χαρακτηριστικά του κάθε είδους που μπορούν να το διαχωρίσουν από τα υπόλοιπα καθώς και την υγειονομική τους σημασία με βάση τη βιβλιογραφία.

Κεφάλαιο 4: Συμβολή στη μελέτη της βιολογίας του *Ae. cretinus*. Στο κεφάλαιο αυτό μελετώνται ορισμένα βασικά βιολογικά χαρακτηριστικά του *Ae. cretinus*, υπό

συνθήκες εργαστηρίου, τα οποία αναμένεται να βοηθήσουν στην κατανόηση της βιολογίας του είδους αυτού και της δυναμικής των πληθυσμών του.

Κεφάλαιο 5: Συμβολή στη μελέτη της συστηματικής του *Ae. cretinus*. Το κεφάλαιο αυτό χωρίζεται σε δύο ανεξάρτητα τμήματα. Στο πρώτο τμήμα περιγράφεται η τεχνική που αναπτύχθηκε, με τη βοήθεια της μοριακής βιολογίας, για την εύκολη και γρήγορη διάκριση του είδους αυτού από τα συγγενή και μορφολογικά παρόμοια είδη *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti*. Στο δεύτερο τμήμα του κεφαλαίου αυτού πραγματοποιείται η πρώτη περιγραφή των ωών του *Ae. cretinus*, με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου και γίνεται σύγκρισή τους με τα ωά συγγενών ειδών.

Κεφάλαιο 6: Συμβολή στη μελέτη της αντιμετώπισης του *Ae. cretinus* και των κουνουπιών γενικότερα. Το κεφάλαιο αυτό αποτελείται επίσης από δύο τμήματα. Το πρώτο αφορά στη μελέτη της ευαισθησίας ή ανθεκτικότητας του *Ae. cretinus* στα βιοκτόνα που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των προνυμφών των κουνουπιών στην Ελλάδα και το δεύτερο στην πρώτη δοκιμή ορισμένων αιθέριων ελαίων ελληνικών φυτών ως πιθανά προνυμφοκτόνα κουνουπιών.

ΕΙΔΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κεφάλαιο 3.

Συμβολή στη μελέτη της παρουσίας και εξάπλωσης του *Aedes cretinus* και άλλων ειδών κουνουπιών, στην Αττική

Κεφάλαιο 4.

Συμβολή στη μελέτη της βιολογίας του *Aedes cretinus*

Κεφάλαιο 5.

Συμβολή στη μελέτη της συστηματικής του *Aedes cretinus*

Κεφάλαιο 6.

Συμβολή στη μελέτη της αντιμετώπισης του *Aedes cretinus* και των κουνουπιών γενικότερα

«Πόλεμος μεν ουν προς ἄλληλα τοις
ζώοις εστίν, ὅσα τους αυτούς τε
κατέχει τόπους και από των αυτών
ποιείται την ζωήν»

(Αριστοτέλους, Περί τα ζώα ιστοριών 9,1)

Κεφάλαιο 3. Συμβολή στη μελέτη της παρουσίας και εξάπλωσης του *Aedes cretinus* και άλλων ειδών κουνουπιών, στην Αττική

3.1. Γενικά

Οπως έχει ήδη αναφερθεί το *Aedes cretinus* μέχρι σχετικά πρόσφατα είχε εντοπιστεί στην Ελλάδα μόνο στην περιοχή της Κρήτης και μόνο από τρεις ερευνητές: Edwards (1921), Mattingly (1954) και Munstermann, ο οποίος σύμφωνα με τους Taafe Gaunt *et al.* (2004) εντόπισε το 1994 προνύμφες του είδους αυτού, σε κοιλότητες δένδρων βελανιδιάς, στο Φόδελε του νομού Χανίων.

Στην υπόλοιπη Ελλάδα η παρουσία του δεν είχε καταγραφεί μέχρι πρόσφατα, αν και την τελευταία δεκαετία υπάρχουν ενδείξεις ή και αποδείξεις ότι υπάρχουν πληθυσμοί του σε όλες σχεδόν τις περιφέρειες της χώρας μας (προσωπικές παρατηρήσεις και δείγματα που έχουν σταλεί προς το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο).

Ελάχιστα στοιχεία επίσης είναι γνωστά και για την βιοοικολογία του συγκεκριμένου είδους. Οι Gutsevich *et al.* (1974) αναφέρουν ότι τα τέλεια νύσσουν τον άνθρωπο ενώ οι προνύμφες τους έχουν βρεθεί σε κοιλότητες δένδρων μαζί με τις προνύμφες των *Anopheles plumbeus*, *Aedes (Ochlerotatus) geniculatus* και *Orthopodomyia pulchripalpis*.

Η συγγένεια επίσης του είδους αυτού με τα δύο είδη μεγάλης υγειονομικής σημασίας *Aedes albopictus* και *Aedes aegypti* είναι ένας από τους κυρίους λόγους πραγματοποίησης της παρούσας μελέτης. Η παρουσία του λοιπόν μπορεί να συνδεθεί άμεσα ή έμμεσα και με τα είδη αυτά αφού μοιράζονται τον ίδιο βιοχώρο και πιθανώς εμφανίζουν φαινόμενα ανταγωνισμού στην περίπτωση που συνυπάρχουν.

3.2. Προκαταρκτική έρευνα

Πριν την εφαρμογή της έρευνας για την παρουσία του *Ae. cretinus* στο νομό Αττικής πραγματοποιήθηκε διετής προκαταρκτική έρευνα στην συγκεκριμένη περιοχή. Ο λόγος για τον οποίο κρίθηκε αυτό απαραίτητο ήταν η απουσία οποιασδήποτε σχετικής εμπειρίας ή πρόσφατης εντομολογικής έρευνας για την πανίδα κουνουπιών του Νομού Αττικής. Ειδικότερα, σκοπός της προκαταρκτικής έρευνας ήταν:

- Να επιβεβαιωθεί ότι το συγκεκριμένο είδος κουνουπιού υπάρχει στην περιοχή σε μόνιμους πληθυσμούς και η εύρεσή του δεν ήταν αποτέλεσμα τυχαίας εμφάνισης ή πρόσκαιρης εισαγωγής του από άλλες περιοχές.
- Να καθοριστούν οι περιοχές και τα σημεία ελέγχου των πληθυσμών που θα μελετηθούν με συστηματικότερο τρόπο στην κύρια έρευνα.
- Να καθοριστούν οι κατάλληλοι μέθοδοι για τη μελέτη των πληθυσμών του είδους αυτού και να επιλεγούν τα συγκεκριμένα μέσα και οι παράμετροι δειγματοληψίας και μελέτης. Τέτοιου είδους στοιχεία είναι ο αριθμός των παγίδων ωθεσίας που θα χρησιμοποιηθούν, οι θέσεις που θα τοποθετηθούν οι παγίδες, η συχνότητα ελέγχου των παγίδων κλπ.
- Να εξασφαλιστεί το απαραίτητο βιολογικό υλικό για τις εργαστηριακές μελέτες.
- Να γίνει μια πρώτη εκτίμηση της ηθολογίας και οικολογίας του είδους ώστε να καταστεί δυνατό εάν χρειαστεί να επιλεγούν τα ορθότερα μέσα και μέθοδοι για την αντιμετώπισή του και τον έλεγχο των πληθυσμών του, καθώς οι αναφορές που συνόδευναν τα δείγματα που στέλνονταν προς το Μ.Φ.Ι. για αναγνώριση το περιέγραφαν ως ένα εξαιρετικά επιθετικό ανθρωπόφιλο είδος και συχνά ζητούνταν πληροφορίες αντιμετώπισης.

3.3. Υλικά και μέθοδοι

Η διερεύνηση της παρουσίας του *Ae. cretinus* στο Νομό Αττικής βασίστηκε στον έλεγχο της παρουσίας των ατελών σταδίων καθώς και των τέλειων ατόμων του συγκεκριμένου είδους, με κατάλληλες δειγματοληπτικές μεθόδους, σε αντιπροσωπευτικά σημεία, της ευρύτερης περιοχής του εν λόγω νομού.

Η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας για το *Ae. cretinus* (κεφ. 2.) καθώς και η μεγάλη φυλογενετική συγγένεια του είδους αυτού με τα είδη *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* παρείχαν ισχυρές ενδείξεις ότι οι εστίες που προτιμά το *Ae. cretinus*, για να εναποθέσει τα ωά του και για να αναπτυχθούν οι προνύμφες του, είναι οι κοιλότητες των δένδρων καθώς και διάφορες άλλες σχετικά μικρές συλλογές γλυκού νερού. Η υπόθεση αυτή, η οποία θα έπρεπε βέβαια να αποδειχθεί, αποτέλεσε χρήσιμο σημείο αφετηρίας για το σχεδιασμό και την οργάνωση της μελέτης σχετικά με την παρουσία και εξάπλωση του είδους αυτού.

Οπως είναι γενικά γνωστό τα κουνούπια εναποθέτουν τα ωά τους, είτε κατευθείαν στην επιφάνεια του νερού (πχ. *Anopheles* spp., *Culex* spp., *Culiseta* spp.), είτε τα προσκολλούν στα τοιχώματα της εστίας στις οποίες πρόκειται να αναπτυχθούν οι προνύμφες τους ή σε άλλο υπόστρωμα όπως η αναδυόμενη από το νερό βλάστηση ή άλλα υλικά όπως κοιμάτια ξύλου, πέτρες κλπ. (είδη του γένους *Aedes* και *Ochlerotatus*).

Σύμφωνα με τη διεθνή βιβλιογραφία η ενδεδειγμένη και περισσότερο αποτελεσματική μέθοδος μελέτης της παρουσίας και εξάπλωσης των ειδών κουνουπιών που επιλέγουν να ωοτοκήσουν σε μικρές συγκεντρώσεις νερού, όπως τα είδη *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti*, είναι η τοποθέτηση και παρακολούθηση παγίδων ωθεσίας (oviposition traps) (Horsfall 1956, Fay and Perry 1965, Fay and Eliason 1966, Tanner 1969, Thaggard and Eliason 1969, Furlow and Young 1970, Ritchie 1984, Kitron *et al.* 1989, Service 1992, Moore *et al.* 1993, Service 1993, Rawlins *et al.* 1998, Strickman 2001, WHO 2003). Η μέθοδος αυτή θεωρείται αξιόπιστη ακόμη και όταν οι πληθυσμοί του σχετικού είδους σε μια περιοχή είναι μικροί (Jakob and Bevier 1969) καθώς και στις περιπτώσεις που δεν είναι εύκολο να εντοπιστούν οι φυσικές εστίες ανάπτυξης των προνυμφών (Fay and Eliason 1966). Επιπλέον, υπολογίζεται ότι με τις παγίδες ωθεσίας, ένας ερευνητής μπορεί να καλύψει στον ίδιο χρόνο 3 έως 5 φορές μεγαλύτερη περιοχή σε σχέση με τη συνηθισμένη μέθοδο ελέγχου των εστιών ανάπτυξης των κουνουπιών, για την παρουσία προνυμφών, ενώ το αντίστοιχο κόστος είναι έως και 75% χαμηλότερο (Fay and Eliason 1966) σε σχέση με τις υπόλοιπες μεθόδους δειγματοληψίας.

Σύμφωνα με τη συγκεκριμένη μέθοδο, προσφέρεται τεχνητά στα κουνούπια κατάλληλο υπόστρωμα και ευνοϊκές συνθήκες μικροπεριβάλλοντος ώστε να εναποθέσουν τα ωά τους σε συγκεκριμένα σημεία. Με τη μέθοδο αυτή, η παρουσία ενός είδους σε μια περιοχή, επιβεβαιώνεται έμμεσα από την παρακολούθηση και καταγραφή των ωών που εναποθέτουν τα θηλυκά κουνούπια στα τεχνητά αυτά υποστρώματα ωθεσίας.

Για τη μελέτη της παρουσίας του *Ae. cretinus* στην Αττική, χρησιμοποιήθηκε μεγάλος αριθμός παγίδων ωθεσίας, κατανευμένος στην υπό μελέτη περιοχή και γινόταν παρακολούθηση των παγίδων αυτών σε τακτά χρονικά διαστήματα, για τρία συνεχόμενα έτη.

Παρόλα αυτά, επειδή όπως αναφέρθηκε, τα στοιχεία για τη συμπεριφορά και τις συνήθειες του *Ae. cretinus* στη φύση ήταν ελλιπή, παράλληλα με την τοποθέτηση παγίδων ωθεσίας πραγματοποιήθηκαν και δειγματοληψίες με άλλες μεθόδους ελέγχου και καταγραφής της παρουσίας των ειδών κουνουπιών μιας περιοχής. Συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε συστηματικός έλεγχος πιθανών εστιών ανάπτυξης κουνουπιών για την παρουσία ατελών σταδίων τους ενώ παράλληλα έγιναν και συλλογές τέλειων κουνουπιών από τα σημεία διημέρευσής τους καθώς και με τη μέθοδο προσέλκυσής τους και σύλληψης με «ανθρώπινο δόλωμα» (human bait collections).

Παγίδες σύλληψης τέλειων κουνουπιών δεν χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη, παρά μόνο στην προκαταρκτική έρευνα. Οι κυριότεροι λόγοι για τους οποίους δεν επιλέχθηκε κάτι τέτοιο ήταν οι ακόλουθοι:

Οι παγίδες σύλληψης τέλειων κατά κανόνα δεν συλλαμβάνουν ειδη όπως τα *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti*, που δραστηριοποιούνται κατά τη διάρκεια της ημέρας ή για το διάστημα που υπάρχει ακόμη φως στο περιβάλλον (Bidlingmayer 1985, Reinert 1989,

Service 1993, Rubio-Palis 1996, Strickman 2001) ενώ έχει αποδειχθεί ότι ακόμη και για είδη όπως το *Culex pipiens*, που κατά κανόνα συλλαμβάνονται στις παγίδες τέλειων, η παρουσία τους και οι διακυμάνσεις των πληθυσμών τους μπορούν να ελεγχθούν εξίσου ικανοποιητικά με τη χρήση μόνο των παγίδων ωθεσίας (Leiser and Beier 1982). Επιπλέον η αποτελεσματικότητα των παγίδων σύλληψης τέλειων επηρεάζεται σημαντικά από τις κλιματικές συνθήκες ή άλλους παράγοντες όπως η ένταση του ανέμου, η θερμοκρασία, η βροχή, η φάση της σελήνης και η ύπαρξη τεχνητού φωτός από διάφορες άλλες πηγές (Moore *et al.* 1993, Strickman 2001). Επίσης, η καταμέτρηση, αναγνώριση και ταξινόμηση των εντόμων που συλλαμβάνονται στις παγίδες αυτές είναι συνήθως επίπονη και χρονοβόρος διαδικασία καθώς οι παγίδες συλλαμβάνονται, εκτός των κουνουπιών, και μεγάλο αριθμό άλλων εντόμων ενώ παράλληλα σημαντικό μειονέκτημα θα πρέπει να θεωρηθεί και το υψηλό κόστος προμήθειας και λειτουργίας τους αφού όλες σχεδόν λειτουργούν με ηλεκτρικό ρεύμα, είτε από μόνιμη παροχή ρεύματος (δύσκολο να βρεθεί στο ύπαιθρο), είτε από ισχυρές μπαταρίες, επαναφορτιζόμενες ή μη, οι οποίες όμως είναι συνήθως ογκώδεις, βαριές στη μεταφορά, κοστίζουν αρκετά και συχνά αποτελούν λόγο κλοπής ή καταστροφής των παγίδων. Παράλληλα, σημαντικές τεχνικές δυσκολίες έχει η προμήθεια, μεταφορά και εφαρμογή ελκυστικών όπως το CO₂, είτε από ξηρό πάγο είτε από φιάλη με πεπιεσμένο αέριο.

3.3.1. Περιοχές κάλυψης της έρευνας

Για την οργάνωση της έρευνας για την παρουσία του *Aedes cretinus* στην Αττική ο νομός χωρίστηκε σε 5 γεωγραφικές ζώνες μελέτης. Οι ζώνες αυτές ήταν:

1. Η ευρύτερη περιοχή του Κέντρου της Αθήνας
2. Τα Βόρεια Προάστια της Αθήνας
3. Η παραλιακή ζώνη του Σαρωνικού
4. Η Ανατολική Αττική
5. Οι Δυτικές συνοικίες της Αθήνας

Οι παραπάνω ζώνες επιλέχθηκαν με γνώμονα τη γεωγραφική τους θέση στο νομό αλλά και σε συνδυασμό με ορισμένα κύρια κλιματικά ή οικολογικά χαρακτηριστικά τους. Συγκεκριμένα:

1. Το Ευρύτερο Κέντρο της Αθήνας περιλαμβάνει την περισσότερο πυκνοκατοικημένη περιοχή της Αττικής, με αμιγώς αστικό περιβάλλον και σχετικά πολύ μικρή κάλυψη από πράσινο.
2. Τα Βόρεια Προάστια θεωρούνται αστική ζώνη με αυξημένο ποσοστό πρασίνου αλλά και σχετικά ψυχρότερο κλίμα.
3. Η Παραλιακή ζώνη του Σαρωνικού κόλπου περιλαμβάνει περιοχές όπου το κλίμα θεωρείται σχετικά ηπιότερο από την υπόλοιπη Αττική, λόγω της γειτνίασης με τη θάλασσα.

4. Η Ανατολική Αττική είναι η μόνη από τις ζώνες με σημαντική αγροτική δραστηριότητα ενώ επίσης μπορεί να θεωρηθεί απομονωμένη γεωγραφικά από το υπόλοιπο λεκανοπέδιο καθώς μεταξύ τους παρεμβάλλονται το Πεντελικό όρος και ο Υμηττός.
5. Οι Δυτικές Συνοικίες της Αθήνας περιλαμβάνουν πυκνοκατοικημένες συνοικίες με σχετικά μικρό ποσοστό κάλυψης από πράσινο αλλά επειδή γειτνιάζουν με τους πρόποδες της Πάρνηθας και του όρους Αιγάλεω, οι συνθήκες που δημιουργούνται ενδεχομένως επηρεάζουν του πληθυσμούς των κουνουπιών.

Στη μελέτη δεν συμπεριλήφθηκαν περιοχές που δεν ήταν κατοικημένες ή δεν παρουσίαζαν αξιόλογη ανθρώπινη δραστηριότητα. Επίσης για πρακτικούς λόγους δεν συμπεριλήφθησαν περιοχές βορειότερα του Μαραθώνα, δυτικότερα του Πειραιά και οι περιοχές νοτιότερα του Δήμου Βουλιαγμένης.

Από κάθε γεωγραφική ζώνη που μελετήθηκε επιλέχθηκαν αντιπροσωπευτικές περιοχές μελέτης οι οποίες περιελάμβαναν τα σημαντικότερα για τα κουνούπια οικοσυστήματα. Τα σημεία αυτά απείχαν μεταξύ τους 500 – 2000 μέτρα ή και περισσότερο και ήταν διάσπαρτα σε κάθε περιοχή ώστε να μην είναι πιθανή η επικάλυψη των ακτίνων διασποράς των ειδών κουνουπιών που συνήθως απαντώνται σε αστικές περιοχές. Όλες οι περιοχές μελέτης που επιλέχθηκαν ήταν, για πρακτικούς λόγους, σχετικά εύκολα προσβάσιμες και διέθεταν σημεία κατάλληλα για την τοποθέτηση των παγίδων ωθεσίας. Στην επιλογή τους συνέβαλλαν σημαντικά τα στοιχεία και η εμπειρία που αποκτήθηκαν από την προκαταρκτική έρευνα.

Οι Γεωγραφικές Ζώνες και οι Περιοχές μελέτης ανά γεωγραφική ζώνη ήταν:

1. Αθήνα (ευρύτερη περιοχή κέντρου)

- Εθνικός Κήπος (διαθέτει ποικιλία φυτών και μικρογραφία οικοσυστημάτων όπως μικρές λίμνες, αρδευτικά κανάλια, ζωολογικό κήπο ιλπ.)
- Γουδή - Αμπελόκηποι (καθαρά αστική περιοχή με πολυκατοικίες, χωρίς σημαντικό ποσοστό πρασίνου ενώ διατρέχεται και από δίκτυο συλλογής ομβρίων υδάτων)
- Παλαιό Ψυχικό (περιοχή με πολλές μονοκατοικίες και κήπους)
- Γκύζη - Πεδίον Άρεως (πνεύμονας πρασίνου σε πυκνοκατοικημένη περιοχή)
- Ηλιούπολη (αστική περιοχή μετρίως πυκνοκατοικημένη και σχετικά σημαντικό ποσοστό πρασίνου)

2. Βόρεια Προάστια

- Κηφισιά - Περιοχή Μ.Φ.Ι. (περιοχή με κατοικίες που διαθέτουν κήπους αλλά και εμπορική δραστηριότητα όπως η ύπαρξη Βουλκανιζατέρ με παλαιά ελαστικά)
- Περιοχή Ολυμπιακού Σταδίου (περιοχή με κατοικίες αλλά και αρκετά ακάλυπτα οικόπεδα καθώς και ρέματα που υπήρχαν κατά την περίοδο της μελέτης)

- Ρέμα Χαλανδρίου (ρέμα που διατρέχει αστική περιοχή καθώς και σημαντικό ποσοστό πρασίνου)
- Μαρούσι – Άλσος Συγγρού (μεγάλη έκταση με πράσινο)
- Εκάλη - Διόνυσος (περιοχή αραιοκατοικημένη, με σημαντικό πράσινο, στους πρόποδες της Πεντέλης)

3. Παραλιακή ζώνη Σαρωνικού

- Δέλτα Φαλήρου (στην περιοχή υπάρχουν οι εγκαταστάσεις του Σταδίου Ειρήνης & Φιλίας, η μαρίνα Φλοίσβου και οι εκβολές του Κηφισού)
- Αγ. Κοσμάς (αθλητικές εγκαταστάσεις με αρδευόμενους χλοοτάπητες)
- Γλυφάδα (κατοικίες κοντά στη θάλασσα και μαρίνα)
- Καβούρι (πευκόφυτες παραλίες και αραιή δόμηση)
- Βουλιαγμένη και Λίμνη Βουλιαγμένης (αστική περιοχή αλλά και ύπαρξη λίμνης με γλυκό νερό)

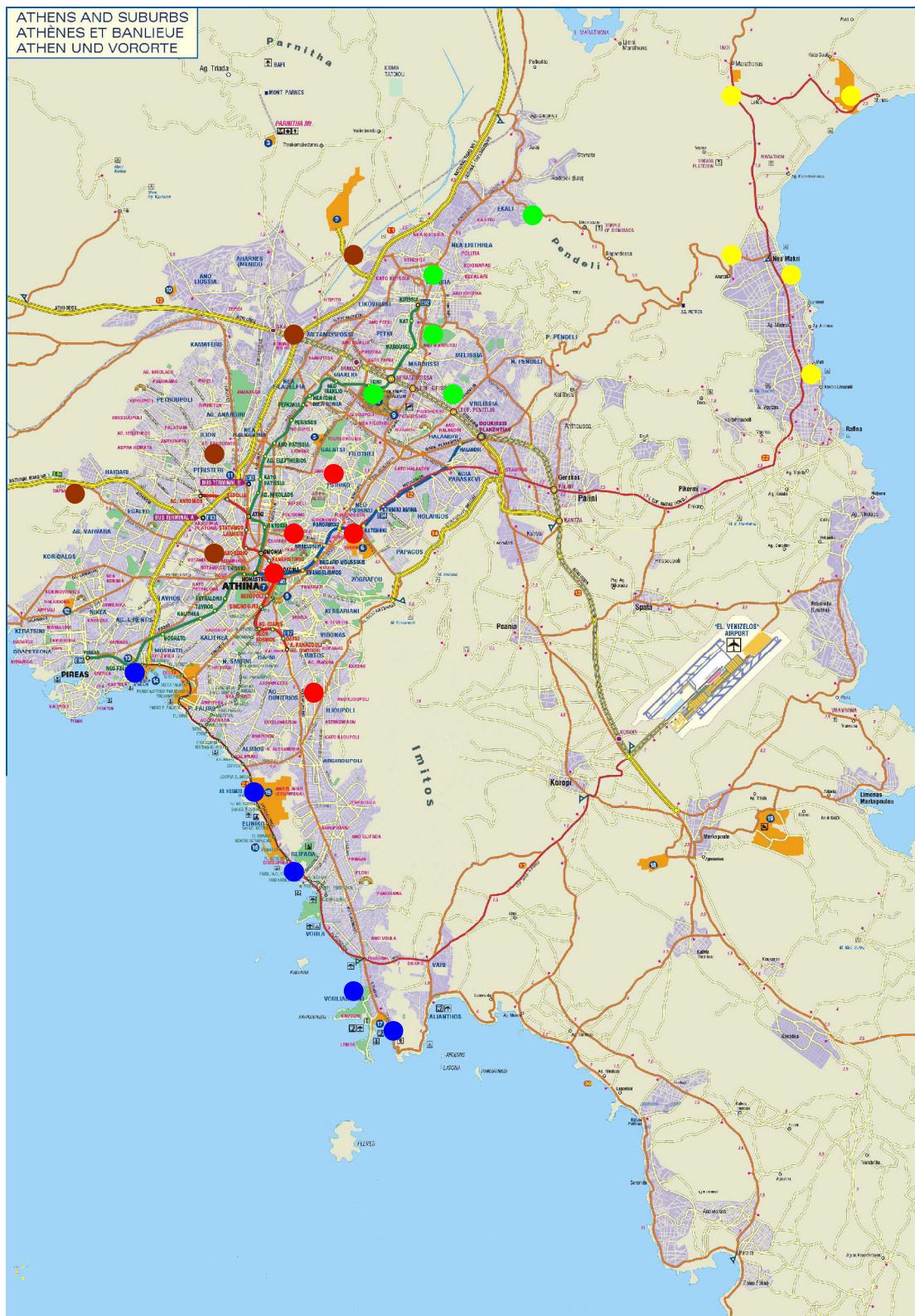
4. Ανατολική Αττική

- Μαραθώνας (περιοχή με έντονη γεωργική δραστηριότητα)
- Σχοινιάς (περιοχή με έλος αλλά και παράκτιο δάσος)
- Νέα Μάκρη (αστική παραθαλάσσια περιοχή)
- Πρόποδες Πεντέλης (περιοχή με υψόμετρο και στους πρόποδες εξοχικές κατοικίες μέσα σε δασικές εκτάσεις)
- Μάτι- Ζούμπερι (εξοχικές κατοικίες σε πευκόφυτη περιοχή κοντά στη θάλασσα)

5. Δυτικές Συνοικίες

- Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών (περιοχή που διαθέτη ακάλυπτους χώρους με πράσινο αλλά γενικότερα βρίσκεται σε σχετικά υποβαθμισμένη «βιομηχανική» περιοχή)
- Δαφνί (βοτανικός κήπος και γενικότερη περιοχή με πράσινο στα όρια της Αθήνας)
- Περιστέρι (αστική πυκνοκατοικημένη περιοχή)
- Μεταμόρφωση (αστική περιοχή στους πρόποδες της Πάρνηθας αλλά και με έντονη βιομηχανική δραστηριότητα)
- Ρέμα Χελιδονούς (ρέμα στους πρόποδες της Πάρνηθας που διατρέχει περιοχές με έντονη φυτοκάλυψη)

Οι παραπάνω περιοχές μελέτης παρουσιάζονται με διαφορετικά χρώματα ανά γεωγραφική ζώνη, στον παρακάτω χάρτη (Εικόνα 3.1.).



Εικόνα 3.1. Περιοχές μελέτης του Νομού Αττικής, ανά γεωγραφική ζώνη, στις οποίες επιλέχθηκε να τοποθετηθούν οι παγίδες ωστοκίας για την μελέτη της παρουσίας του *Ae. cretinus*.

1. Γεωγραφική ζώνη ευρύτερης περιοχής του κέντρου της Αθήνας (κόκκινο χρώμα)
2. Γεωγραφική ζώνη Βορείων Προαστίων της Αθήνας (πράσινο χρώμα)
3. Γεωγραφική ζώνη της Παραλιακής ζώνης του Σαρωνικού (μπλε χρώμα)
4. Γεωγραφική ζώνη της Ανατολικής Αττικής (κίτρινο χρώμα)
5. Γεωγραφική ζώνη των Δυτικών Συνοικιών της Αθήνας (καστανό χρώμα)

Όπως προκύπτει από τα παραπάνω, επιλέχθηκαν συνολικά 25 περιοχές μελέτης. Σε όλες τις περιοχές αυτές τοποθετήθηκαν παγίδες ωοθεσίας ενώ σε πολλές από αυτές χρησιμοποιήθηκαν και άλλες μέθοδοι δειγματοληψιών όπως δειγματοληψίες σε υδατοσυλλογές, συλλήψεις τέλειων κουνουπιών από τα σημεία ανάπτυσης και συλλήψεις τέλειων κουνουπιών με τη μέθοδο του «ανθρώπινου δολώματος».

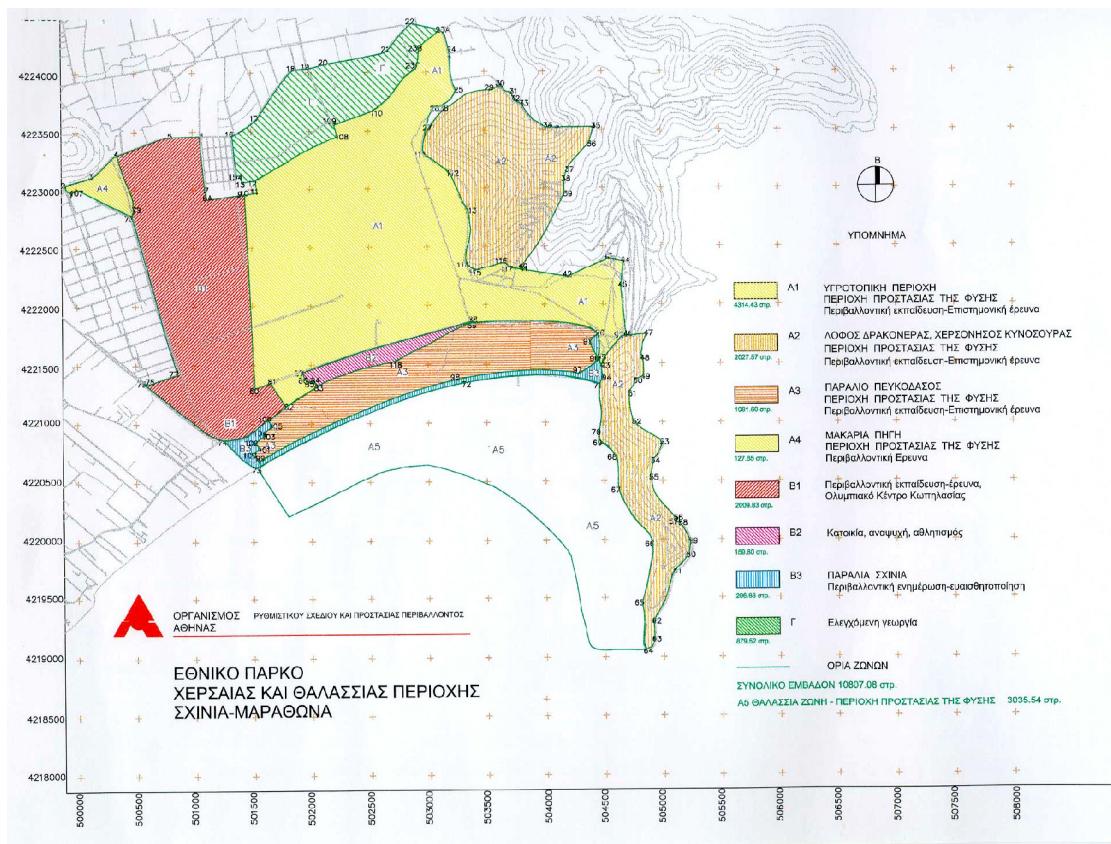
3.3.1.1. Περιοχή Μαραθώνα – Σχοινιά

Όπως έχει αναφερθεί και πιο πάνω, δύο από τις Περιοχές μελέτης της Γεωγραφικής Ζώνης της Ανατολικής Αττικής είναι οι περιοχές του Μαραθώνα και του Σχοινιά. Η ύπαρξη μεγάλου αριθμού και εκτεταμένων εστιών ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών στις περιοχές αυτές τις καθιστούν ιδιαιτέρως σημαντικές για την ανάπτυξη υψηλών πληθυσμών κουνουπιών κατά τους θερμούς μήνες καθώς και των επιπτώσεων της παρουσίας των εντόμων αυτών στην ευρύτερη περιοχή του Νομού Αττικής.

Ως εκ τούτου θεωρήθηκε σκόπιμο, στα πλαίσια της παρούσας διατριβής, να δοθεί ιδιαίτερο βάρος στη μελέτη της πανίδας των κουνουπιών της ευρύτερης περιοχής Μαραθώνα – Σχοινιά με μεγαλύτερο αριθμό δειγματοληψιών και εκτενέστερη καταγραφή της εποχικής εμφάνισης των ειδών σε συνδυασμό με τις εστίες στις οποίες τα είδη αυτά αναπτύσσονται.

Η περιοχή Μαραθώνα – Σχοινιά βρίσκεται εκτός του λεκανοπεδίου της Αθήνας, στο Β.Α. τμήμα της Αττικής, σε απόσταση 45χλμ. από την Αθήνα. Περιλαμβάνει το δάσος του Σχοινιά - Μαραθώνα το οποίο καταλαμβάνει την παραλιακή ζώνη της περιοχής, μήκους 3 χιλιομέτρων και πλάτους 450 μέτρων περίπου ενώ βόρεια και ανατολικά του δάσους εκτείνεται το έλος του Μαραθώνα και πέρα από το έλος υπάρχουν καλλιέργειες και λοιφοειδείς ασβεστολιθικοί σχηματισμοί, καλυπτόμενοι από θάμνους και φρύγανα. Στην περιοχή υπάρχουν μεγάλοι οικισμοί όπως το Κάτω Σούλι και ο Μαραθώνας, περιοχές με τουριστική δραστηριότητα όπως η παραλία του Σχοινιά και πολλές αγροτικές εκμεταλλεύσεις. Μέχρι την κατασκευή του κωπηλατοδρομίου και των άλλων ολυμπιακών εγκαταστάσεων οι χρήσεις γης της περιοχής ήταν περίπου ως εξής: υγρότοποι 3.100 km², δομημένη περιοχή 8.000 km², αγροτικές καλλιέργειες 38.800 km² και δάση ή ημιφυσικές περιοχές 7.500 km² (Σενή *et al.* 2004).

Το 2000, με το 22-6/3-7-2007 Προεδρικό Διάταγμα (ΦΕΚ 395 Δ 2000), χαρακτηρίστηκαν οι θαλάσσιες και χερσαίες περιοχές του Σχοινιά, ως Εθνικού Πάρκου και καθορίστηκαν οι ζώνες και οι επιτρεπόμενες δραστηριότητες. Η περιοχή ανήκει στο δίκτυο Natura 2000, με κωδικό αριθμό GR 3000003, με συνολικά 19 τύπους ενδιαιτημάτων, 115 είδη πτηνών με δυνητική ποικιλότητα 215 ειδών ενώ υπάρχουν απειλούμενα είδη ψαριών γλυκού νερού, αμφιβίων και ερπετών.



Εικόνα 3.2. Περιοχές Εθνικού Πάρκου Σχοινιά ανά είδος χρήσης της γης.

Εκτός από το έλος, η περιοχή διαθέτει και άλλες σημαντικές εστίες αναπαραγωγής κουνουπιών, όπως για παράδειγμα τη Μακαρία πηγή, γνωστή από τα αρχαία χρόνια, η οποία αποτελείται από δύο λιμνοπηγές όπου το νερό αναβλύζει από τον πυθμένα καθ' όλο το χρόνο, σε σημαντικές ποσότητες. Το νερό της πηγής, δια μέσου καναλιών, διασχίζει μεγάλο μέρος της περιοχής (σήμερα τροφοδοτεί και το κωπηλατοδρόμιο), ενώ η περίσσειά του, πάλι με κανάλια, διοχετεύεται στο έλος. Αποτέλεσμα της κατασκευής αυτής είναι η αποτροπή, σε μεγάλο βαθμό, της φυσικής αποξήρανσης του έλους κατά τους θερινούς μήνες και η διατήρηση έτσι του υγροτόπου του πάρκου του Σχοινιά.

Το έλος διασχίζεται από αγροτικούς χωματόδρομους και κανάλια, ορισμένα εκ των οποίων εξυπηρετούν την άρδευση εκτεταμένων καλλιεργειών με κηπευτικά, ενώ άλλα είναι αποστραγγιστικά και καταλήγουν στη θάλασσα. Πολλά από τα τελευταία, λόγω έλλειψης συντήρησης, πλημμυρίζουν και το νερό διοχετεύεται στο έλος. Στην περιοχή επίσης υπάρχει σχετικά αναπτυγμένη κτηνοτροφία (κυρίως πρόβατα) τα οποία στεγάζονται σε στάβλους που συχνά κατασκευάζονται παραπλεύρως των οικιών ακόμη και εντός των οικισμών.

Ένας άλλος σημαντικότατος παράγοντας που κάνει τόσο σημαντική την περιοχή είναι το γεγονός ότι στις γεωργοκτηνοτροφικές δραστηριότητες της περιοχής, απασχολείται μεγάλος αριθμός αλλοδαπών εργατών, κυρίως από το Πακιστάν ή τις γειτονικές του χώρες στις οποίες όμως ενδημούν σοβαρές ασθένειες που μεταδίδονται από τα κουνούπια. Επιπλέον, οι συγκεκριμένοι εργάτες ζουν και εργάζονται στην περιοχή υπό σημαντικά υποβαθμισμένες συνθήκες διαβίωσης και υγιεινής καθώς πολλοί από αυτούς στερούνται

άδειας παραμονής στη χώρα και επομένως δεν έχουν πρόσβαση σε βασικές ανέσεις ή αξιόλογη ιατρική φροντίδα.

Στην ευρύτερη περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά υπάρχουν διάφοροι τύποι εστιών ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών οι οποίες μεταβάλλονται ως προς το μέγεθος και την ποσότητα νερού κατά τη διάρκεια του έτους. Μια γενική άποψη μεγάλου τμήματος από το έλος Σχοινιά σε περίοδο που υπάρχει σημαντική ποσότητα νερού στις εστίες φαίνεται στην παρακάτω αεροφωτογραφία (Εικόνα 3.3.).



Εικόνα 3.3. Γενική άποψη του έλους Σχοινιά από αεροφωτογραφία.

Οι δειγματοληψίες γίνονταν είτε σε προκαθορισμένα σημεία ελέγχου από όλους τους πιθανούς τύπους εστιών ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών είτε σε τυχαία σημεία, συνήθως των εποχιακών εστιών, που δημιουργούνταν μετά από βροχοπτώσεις ή άλλες αιτίες (πχ. υπερχελωτική καναλιών). Παράλληλα γίνονταν και συλλογές τέλειων από στάβλους ή άλλα κτίσματα καθώς και συλλογές με τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα» ή τα κουνούπια που συλλαμβάνονταν τη στιγμή που επιτίθονταν για να τραφούν, κατά τη διάρκεια των επισκέψεων.

3.3.2. Μέθοδοι δειγματοληψιών

3.3.2.1. Παγίδες ωοθεσίας

Η μέθοδος ελέγχου της παρουσίας ορισμένων ειδών κουνουπιών με παγίδες ωοθεσίας βασίζεται στη συνήθεια των ειδών αυτών να εναποθέτουν τα ωά τους σε σημεία που θα υποστούν προσωρινή κατάκλιση. Στη φύση, τέτοια σημεία είναι συνήθως τα τοιχώματα των δοχείων ή κοιλοτήτων που συγκεντρώνουν νερό, υπολείμματα φυτών και συσσωρευμένα άλγη στις εστίες ανάπτυξης προνυμφών, συγκεντρώσεις φύλλων, στελέχη φυτών ή κλαδίσκοι αλλά και στα τοιχώματα ρωγμών που σχηματίζονται στον πυθμένα εστιών όταν αυτές αποξηραίνονται ή ακόμη και σε τρύπες που ανοίγουν άλλα ζώα. Για τα κουνούπια του γένους *Aedes* όπως και ορισμένων άλλων γενών (πχ. *Ochlerotatus* spp.) τα ωά είναι το μοναδικό στάδιο κατά το οποίο τα έντομα είναι ακίνητα. Για τα ειδή αυτά, τα ωά βρίσκονται σε συγκεκριμένα σημεία, δίπλα στις εστίες ανάπτυξης των προνυμφών τους, για σημαντικό χρονικό διάστημα (τα κουνούπια αυτά συνήθως διαχειμάζουν ως ωά), ενώ τα υπόλοιπα στάδια του βιολογικού τους κύκλου κινούνται και διασπείρονται εύκολα τόσο στο νερό (προνύμφες, νύμφες) όσο και στον αέρα (τέλεια).

Η μέθοδος μελέτης, με τη χρήση παγίδων ωοθεσίας, που εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη είναι αυτή που περιγράφεται αναλυτικά από τους Pratt & Jakob (1967) και Service (1993), με μικρές τροποποιήσεις. Αναλυτικά η μέθοδος ήταν η ακόλουθη:



Εικόνα 3.4. Φωτογραφία και σχηματική απεικόνιση παγίδας ωοθεσίας.

Οι παγίδες ωοθεσίας αποτελούνται από ένα σύστημα δύο μερών: α) Ένα δοχείο με νερό που έχει το ρόλο πιθανής εστίας ανάπτυξης των προνυμφών του είδους κουνουπιού που

πρόκειται να μελετηθεί και β) ένα κομμάτι ξύλου ή άλλου κατάλληλου υλικού, ως υπόστρωμα προσκόλλησης των ωάν του κουνουπιού που θα επιλέξει να εναποθέσει τα ωά του στην τεχνητή αυτή εστία.

Στην περίπτωσή μας, ως δοχεία νερού χρησιμοποιήθηκαν δοχεία μαύρου χρώματος από PVC, τα οποία κατασκευάστηκαν ειδικά για το σκοπό αυτό από βιοτεχνία κατασκευής γλαστρών. Τα δοχεία αυτά είχαν σχήμα μικρής γλάστρας, ελαφρώς κωνικής, χωρίς τρύπες στον πυθμένα, χωρητικότητας περίπου ενός λίτρου, με ύψος 12,5 cm, εσωτερική διάμετρο ανοίγματος 12 cm και διάμετρο βάσης 10 cm (Εικόνα 3.4.). Τα πλαστικά αυτά δοχεία σε σχήμα γλάστρας επιλέχθηκαν γιατί συγκέντρωναν πολλά πλεονεκτήματα σε σύγκριση με αντίστοιχα δοχεία από άλλα υλικά που είχαν κατά καιρούς χρησιμοποιηθεί ως παγίδες ωθεσίας. Συγκεκριμένα, έχουν σχετικά χαμηλό κόστος, μεγάλη ανθεκτικότητα, μικρό βάρος και ευκολία στη μεταφορά τους ενώ κατά την αποθήκευση καταλαμβάνουν σχετικά μικρό όγκο αφού μπορεί να τοποθετηθεί το ένα εντός του άλλου. Επιπλέον τα μαύρα πλαστικά δοχεία είναι αποδεκτά και από εντομολογική άποψη καθώς οι Kloter *et al.* (1983) απέδειξαν ότι είναι εξίσου αποτελεσματικά με τα βαμμένα μαύρα γυάλινα δοχεία που χρησιμοποίησαν οι Pratt & Jakob (1967) ενώ σύμφωνα με τους Bellini *et al.* (1996) τα πλαστικά δοχεία φαίνονται να είναι περισσότερο «ευαίσθητα» στην ανίχνευση ακόμα και πληθυσμών που βρίσκονται σε μικρές πυκνότητες σε μια περιοχή.

Προκειμένου να χρησιμοποιηθούν τα δοχεία αυτά γεμίζονταν με νερό, κατά το ήμισυ περίπου του όγκου τους (περίπου με 500-600 ml νερό) και στη συνέχεια, εντός τους σχετικά κάθετα με μια μικρή κλίση (Εικόνα 3.4.), τοποθετούνταν ένα ξύλινο γλωσσοπίεστρο ως υπόστρωμα για την προσκόλληση των ωάν των κουνουπιών. Για το σκοπό αυτό, στην παρούσα μελέτη, χρησιμοποιήθηκαν κοινά ιατρικά γλωσσοπίεστρα, μήκους 15 cm και πλάτους 1,8 cm. Προκειμένου να είναι δυνατή η εύκολη και στερεή προσκόλληση των ωών στην επιφάνεια ωθεσίας, τα γλωσσοπίεστρα «χαράσσονταν» και από τις δύο όψεις με χοντρό γυαλόχαρτο, όπως προτείνεται και από τους Ballard *et al.* (1987).

Το παραπάνω σύστημα (μαύρο γλαστράκι με γλωσσοπίεστρο) δοκιμάστηκε αρχικά στο Εργαστήριο και στο ύπαιθρο, με προκαταρκτικά πειράματα και εμφάνισε πολύ καλή αποτελεσματικότητα στην προσέλκυση έτοιμων προς ωοτοκία θηλυκών κουνουπιών, του είδους *Ae. cretinus* ενώ τα γλωσσοπίεστρα αποδείχθηκε ότι παρέχουν την απαιτούμενη καλή και στέρεα συγκράτηση των ωών ώστε να είναι δυνατή η μεταφορά και μελέτη τους στο Εργαστήριο.

Η τοποθέτηση των παγίδων ωθεσίας σε κάθε μια από τις περιοχές μελέτης έγινε κατόπιν σχεδιασμού, αρχικά στο χάρτη και ακολούθως μετά από επιτόπια έρευνα και αναγνώριση του χώρου, ώστε να διαπιστωθεί η καταλληλότητα μιας περιοχής και να βρεθούν οι ακριβείς θέσεις τοποθέτησης των παγίδων. Οι θέσεις αυτές παρέμεναν ίδιες σε όλη τη διάρκεια της έρευνας και για τα τρία έτη που αντή διήρκεσε. Η κάθε περιοχή δέθετε σχετικά ομοιόμορφο τύπο οικοσυστήματος και οι παγίδες σε μια περιοχή τοποθετούνταν συνήθως σε αποστάσεις 20-200 μέτρων μεταξύ τους.

Ο αριθμός των παγίδων ωθεσίας που πρέπει να τοποθετηθεί σε κάποια περιοχή μπορεί να διαφέρει και πάντα είναι ένα θέμα που απασχολεί τους ερευνητές κατά το σχεδιασμό των σχετικών μελετών. Για τη μελέτη της παρουσίας του είδους *Aedes triseriatus*, ενός είδους που

απαντάται σε αστικές αλλά και αγροτικές περιοχές των Η.Π.Α. και αναπαράγεται επίσης σε μικρές εστίες νερού (κοιλότητες δένδρων, τεχνητά δοχεία νερού, παλιά ελαστικά κλπ.), οι Hanson *et al.* (1988) χρησιμοποίησαν 2 παγίδες ωθεσίας ανά 1 Km² ενώ οι Beehler & DeFoliart (1990) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι οι 3 παγίδες ανά εκτάριο (10 στρέμματα) είναι επαρκείς για την αξιόπιστη εξακρίβωση της παρουσίας και καταγραφής των πληθυσμών του είδους αυτού σε ένα οικοσύστημα. Για τη μελέτη της παρουσίας του *Ae. albopictus* στην Ρώμη, της Ιταλίας οι Toma *et al.* (2003) χρησιμοποίησαν 1 παγίδα ανά 1,4 Km² ενώ οι Roiz *et al.* (2008) στη Βαρκελώνη, της Ισπανίας τοποθέτησαν 1 παγίδα ανά 0,41 Km².

Στην παρούσα εργασία, λαμβάνοντας υπόψη και τις προκαταρκτικές μελέτες, αποφασίστηκε να τοποθετηθούν 3 παγίδες ωθεσίας σε κάθε περιοχή μελέτης, σε αντιπροσωπευτικά σημεία του συγκεκριμένου οικοσυστήματος. Ο αριθμός των 3 επαναλήψεων συμφωνεί και με τις οδηγίες του Strickman (2001) για δειγματοληψίες με σκοπό την έρευνα της παρουσίας ειδών κουνουπιών σε κάποιο οικοσύστημα.

Συνολικά στο νομό Αττικής τοποθετήθηκαν 75 παγίδες ωθεσίας.

Τα σημεία τοποθέτησης των παγίδων επιλέχθηκαν βάσει συγκεκριμένων κριτηρίων. Έτσι οι παγίδες τοποθετούνταν σε σταθερά σημεία στο έδαφος, μερικώς ή πλήρως σκιαζόμενα, ώστε να αποφεύγεται η άμεση έκθεσή τους στις ηλιακές ακτίνες. Προτιμήθηκαν οι θέσεις στις οποίες είχαν περισσότερες πιθανότητες να γίνουν αντιληπτές από τα κουνούπια, όπως οι θέσεις κοντά ή δίπλα στις πιθανές φυσικές εστίες ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών ή κοντά σε σημεία που θεωρούνται προτιμώμενα για την ανάπτυξη και διημέρευση των τέλειων κουνουπιών. Μέριμνα λαμβανόταν και για την προστασία των παγίδων από κλοπές, βανδαλισμούς ή καταστροφές από άλλες αιτίες (π.χ. ζώα) και για αυτό επιλέγονταν συνήθως απόμερα σημεία ή προστατευμένα σημεία εντός περιφραγμένων χώρων, μετά από συνεννόηση και την άδεια των ιδιοκτητών. Παρόλα αυτά πολλές φορές οι παγίδες βρίσκονταν αναποδογυρισμένες από διάφορες αιτίες, με αποτέλεσμα την απώλεια του νερού από το εσωτερικό τους ενώ άλλες φορές απουσίαζε και το γλωσσοπίεστρο. Ορισμένες φορές συνέβη ακόμη και ολική καταστροφή των παγίδων ή απώλεια. Σε αρκετές από τις παραπάνω περιπτώσεις κρίθηκε αναγκαία η εγκατάλευψη μιας θέσης τοποθέτησης παγίδας και η μεταφορά της σε νέο σημείο στην ίδια πάντα περιοχή. Για πρακτικούς λόγους, τα αποτελέσματα από τις νέες παγίδες που μπήκαν προς αντικατάσταση των «προβληματικών» και συνήθως βρίσκονταν σε μικρή απόσταση από τις αρχικές, θεωρήθηκαν ότι αφορούν την ίδια παγίδα και υπολογίζονται μαζί στους συγκεντρωτικούς πίνακες που παραθέτονται στην ανάλυση των αποτελεσμάτων.

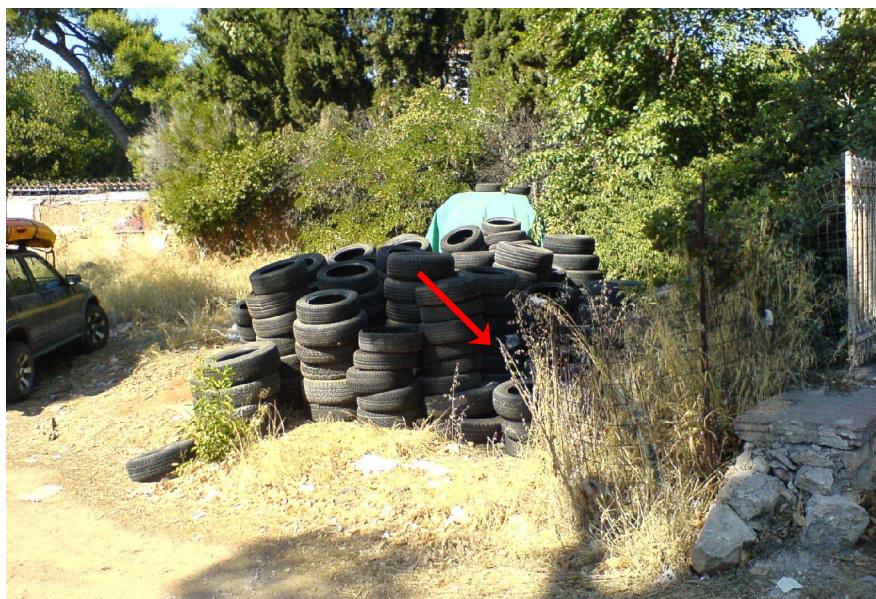
Τοποθέτηση παγίδων ωθεσίας σε διάφορα ύψη από το έδαφος δεν κρίθηκε αναγκαία καθώς είναι γνωστό ότι, εάν υπάρχει δυνατότητα επιλογής, τα περισσότερα είδη κουνουπιών που γεννούν σε μικρές τεχνητές εστίες ή κοιλότητες δένδρων, προτιμούν να γεννούν στις εστίες που βρίσκονται πλησιέστερα στο έδαφος (Aziz and Hayes 1987, Service 1993) και μόνο όταν δεν υπάρχουν κατάλληλες εστίες γεννούν ψηλότερα σε κοιλότητες δένδρων και τις μασχάλες των φύλλων των επιφύτων, κυρίως στα τροπικά οικοσυστήματα. Ειδικά για τα συγγενή με το *Ae. cretinus* είδη (*Ae. albopictus* και *Ae. aegypti*), έχει αποδειχθεί ότι δεν γεννούν σε σημεία που βρίσκονται ψηλότερα από ύψη 1,5-3 μέτρα από το έδαφος (Schreiber *et al.* 1988, Chadee 1991, Morris and Robinson 1994).

Για κάθε περιοχή μελέτης υπήρχε ειδικό έντυπο καταγραφής των σημείων τοποθέτησης των παγίδων ωθεσίας ώστε να είναι εύκολος ο εντοπισμός κάθε παγίδας ανά πάσα στιγμή. Ένα υπόδειγμα του εντύπου καταγραφής των παγίδων είχε ως εξής:

Πίνακας 3.1. Υπόδειγμα εντύπου καταγραφής των παγίδων ωθεσίας.

ΕΝΤΥΠΟ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΣΗΜΕΙΩΝ ΤΟΠΟΘΕΤΗΣΗΣ ΠΑΓΙΔΩΝ ΩΘΕΣΙΑΣ			
Ζώνη: <u>Βόρεια Προάστια</u> Περιοχή: <u>Κηφισιά (περιοχή Μ.Φ.Ι.)</u> Κωδικός Περιοχής: <u>2-1</u>			
Κωδικός παγίδας	Διεύθυνση	Ακριβής θέση παγίδας	Ημερομηνία τοποθέτησης
2-1A	Εκάλης 2	Δ. Στη γωνία του κήπου, δίπλα στο φράκτη προς την οδό Στ. Δέλτα	15/2/2000
2-1B	Εκάλης 7	Α. Πίσω από τα θερμοκήπια, δίπλα στο φράκτη προς την οδό Αιγίνης	15/2/2000
2-1Γ	Κηφισίας 303	Δ. Αυλή φύλαξης παλαιών ελαστικών του διπλανού Βουλκανιζατέρ (βλ. φωτογραφία)	15/2/2000

Όπως είναι φυσικό, κάθε θέση παγίδας διέθετε μοναδική κωδική αρίθμηση. Οι ενδείξεις «Α» και «Δ» στην περιγραφή της θέσης της παγίδας υποδηλώνουν την κατεύθυνση, αριστερά (Α) ή δεξιά (Δ) από την είσοδο προς την οποία έχει τοποθετηθεί η παγίδα καθώς εισερχόμαστε στο συγκεκριμένο χώρο. Σε πολλές περιπτώσεις η φόρμα καταγραφής συνοδευόταν και από ένα πρόχειρο σχέδιο ή φωτογραφία για τη διευκόλυνση της εύρεσης των παγίδων (Εικόνα 3.5.).



Εικόνα 3.5. Παράδειγμα σημείωσης θέσης παγίδας ωθεσίας (κωδικός 2-1Γ).

Οι παγίδες ωοθεσίας ελέγχονταν σε εβδομαδιαία βάση καθόλη τη διάρκεια του έτους, για τα έτη 2000, 2001 και 2002. Πιο συγκεκριμένα δειγματοληψίες λαμβάνονταν από τις παγίδες κάθε επτά ημέρες, για το διάστημα από αρχές Μαρτίου έως και τις αρχές Δεκεμβρίου. Ειδικά για το διάστημα από τον Δεκέμβριο έως τον Μάρτιο του επόμενου έτους και εφόσον δεν είχαν καταγραφεί δειγματοληψίες για δύο συνεχόμενες εβδομάδες, οι δειγματοληψίες πραγματοποιούνταν κάθε 15 ημέρες.

Έχει αποδειχθεί (Fay and Eliason 1966, Ritchie 1984, Chadee and Corbet 1987) ότι είναι άσκοπο να γίνονται δειγματοληψίες στις παγίδες ωοθεσίας συχνότερα από διαστήματα των 5 ημερών ενώ τα διαστήματα ελέγχου μεγαλύτερα των 7 ημερών αυξάνουν τον κίνδυνο της απώλειας ενός ποσοστού των ωών λόγω της παρουσίας αρπακτικών εντόμων ή της εκκόλαψης τους που μπορεί να οδηγήσει και στην παραγωγή τέλειων κουνουπιών (Frank and Lynn 1982).

Ο αριθμός των παρατηρήσεων που πραγματοποιούνταν κάθε έτος κατά το διάστημα από 1 Μαρτίου έως 10 περίπου Δεκεμβρίου ήταν περίπου $39 \text{ εβδομάδες} \times 75 \text{ παγίδες} = 2.925$ παρατηρήσεις. Στον αριθμό αυτό των παρατηρήσεων θα πρέπει να προστεθούν οι ανά δεκαπενθήμερο παρατηρήσεις που πραγματοποιούνταν το διάστημα από 10 περίπου Δεκεμβρίου έως 1 Μαρτίου του επόμενου έτους (όπως έχει αναφερθεί οι παρατηρήσεις έπιαναν να είναι εβδομαδιαίες όταν από τον Δεκέμβριο και πέρα, σε δύο συνεχόμενες παρατηρήσεις, δεν παρατηρούνταν ωοθεσίες).

Εάν προστεθούν επομένως στις 2.925 παρατηρήσεις και οι ανά δεκαπενθήμερο χειμωνιάτικες παρατηρήσεις κάθε έτους οι συνολικές παρατηρήσεις ήταν περίπου $2.925 + 450 = 3.375$ συνολικά παρατηρήσεις.

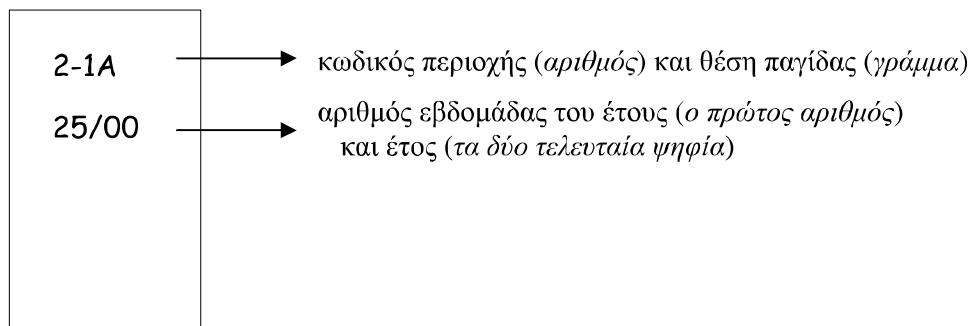
Εάν υπολογίσουμε και για τα 3 έτη που διήρκησαν οι δειγματοληψίες τότε έχουμε συνολικά 10.125 παρατηρήσεις από ελέγχους παγίδων ωοθεσίας.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι για ένα διάστημα 5 εβδομάδων, από τα μέσα Οκτωβρίου 2001 έως τα μέσα Νοεμβρίου 2001 δεν πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες και σχετικές παρατηρήσεις, λόγω απουσίας του γράφοντος στο εξωτερικό, για εκπαιδευτικούς λόγους. Το διάστημα αυτό αντιστοιχεί σε 375 χαμένες δειγματοληψίες ενώ επιπλέον από το σύνολο των παγίδων που ελέγχθηκαν υπήρχε και ένα μικρός σχετικά αριθμός γλωσσοπίεστρων που είχαν αφαιρεθεί από τις παγίδες ή ολόκληρη η παγίδα είχε χαθεί ή καταστραφεί.

Σε κάθε έλεγχο των παγίδων αφαιρούταν το γλωσσοπίεστρο και τοποθετούταν ξεχωριστά σε διαφανές πλαστικό σακουλάκι, για μεταφορά και μετέπειτα εξέταση στο Εργαστήριο. Οι πλαστικές σακούλες χρησιμοποιήθηκαν για να αποφεύγεται η αποξήρανση καθώς και η καταστροφή ή απώλεια των ωών λόγω της επαφής των γλωσσοπίεστρων μεταξύ τους. Επίσης ήταν εύκολη η καταμέτρηση όλων των ωών ακόμη και αυτών που είχαν αποκολληθεί από τα ξυλάκια κατά τη μεταφορά γιατί παρέμεναν εντός του πλαστικού σάκου που ήταν διαφανής.

Κάθε γλωσσοπίεστρο αντιπροσώπευε μια παρατήρηση και για το λόγο αυτό έφερε επάνω του δύο συγκεκριμένους κωδικούς (Εικόνα 3.6.): Ο πρώτος κωδικός ήταν ο αντιπροσωπευτικός αριθμός της συγκεκριμένης περιοχής, συνοδευόμενος από ένα γράμμα

που υποδηλώνει την ακριβή τοποθεσία της παγίδας (σε κάθε περιοχή τοποθετούνται συνήθως 3 παγίδες που είχαν και το ρόλο των επαναλήψεων). Ο δεύτερος κωδικός υποδηλώνει την εβδομάδα του έτους που έγινε η τοποθέτηση του γλωσσοπίεστρου και το έτος στο οποίο έγινε η συγκεκριμένη παρατήρηση. Στις περιπτώσεις που είχαμε αντικατάσταση κάποιας παγίδας με μια άλλη, σε διαφορετική θέση αλλά στην ίδια περιοχή, άλλαζε και το γράμμα που υποδηλώνει το ακριβές σημείο τοποθέτησης της παγίδας.



Εικόνα 3.6. Παράδειγμα αρίθμησης υποστρωμάτων ωθεσίας για τις εβδομαδιαίες δειγματοληψίες.

Έτσι για παράδειγμα ένα δείγμα με τους κωδικούς της παραπάνω εικόνας σημαίνει ότι η παγίδα ωθεσίας είχε τοποθετηθεί στην περιοχή μελέτης «2-1» και στη θέση «Α» της περιοχής αυτής καθώς επίσης και ότι η μέτρηση αφορά στην «25^η» εβδομάδα του έτους «2000», δηλαδή το διάστημα 19-25 Ιουνίου 2000.

Μετά την αφαίρεση του γλωσσοπίεστρου η παγίδα ελεγχόταν για πιθανή παρουσία ωών κουνουπιών στην επιφάνεια του νερού ή προνυμφών κουνουπιών και στις θετικές περιπτώσεις αυτά συλλέγονταν για περαιτέρω εξέταση στο Εργαστήριο. Τέλος οι παγίδες καθαρίζονταν από συσσωρευμένες βρωμιές, οργανική ουσία, φύλλα ή στελέχη φυτών ώστε η ωθεσία των κουνουπιών να περιορίζεται όσο είναι δυνατό επάνω στο γλωσσοπίεστρο.

Πίνακας 3.2. Παράδειγμα εντύπου ελέγχου των παγίδων ωθεσίας.

ΕΝΤΥΠΟ ΕΛΕΓΧΟΥ ΠΑΓΙΔΩΝ ΩΘΕΣΙΑΣ							
Ημερομηνία ελέγχου:							
Κωδικός παγίδας	Συλλογή υποστρώματος	Το υπό-στρωμα λείπει	Η παγίδα λείπει	Παγίδα			Άλλες παρατηρήσεις
				Αναποδογυρισμένη	Άδεια	Υπερχειλισμένη	
2-1A, 25/00		✓		✓			
2-1B, 25/00	✓						Τέλειο εντός της παγίδας
2-1Γ, 25/00	✓						Προνύμφες εντός της παγίδας

Παράλληλα γινόταν καταγραφή γενικότερων παρατηρήσεων για την κατάσταση της παγίδας, του σημείου τοποθέτησής της, την ύπαρξη οποιουδήποτε προβλήματος κλπ. Ένα τυπικό έντυπο ελέγχου των παγίδων ωθεσίας στο πεδίο είχε την παραπάνω μορφή, του Πίνακα 3.2.

Στη συνέχεια η παγίδα προετοιμαζόταν για την επόμενη εβδομάδα παρατηρήσεων, ανανεώνοντας το νερό της παγίδας μετά από καθαρισμό του δοχείου και τοποθέτηση νέου υποστρώματος (γλωσσοπίεστρου) με αναγραφόμενους τους νέους κωδικούς αριθμούς.

Τα μαύρα πλαστικά δοχεία νερού, που χρησίμευναν ως τεχνητές εστίες, παρέμεναν ίδια για μια περίοδο και αντικαθιστούνταν με νέα στην αρχή της κάθε περιόδου, κυρίως με το σκεπτικό ότι από τα συσσωρευμένα άλατα στα τοιχώματα της παγίδας που προέρχονταν από την εξάτμιση των νερών της προηγούμενης χρονιάς θα μπορούσαν να επηρεαστούν οι φυσικοχημικές ιδιότητες του νερού.

Τα γλωσσοπίεστρα εξετάζονταν προσεκτικά στο Εργαστήριο, με τη βοήθεια στερεοσκοπίου και γίνονταν καταμέτρηση των ωών που είχαν εναποθέσει επάνω τους τα κουνούπια. Το 10 % περίπου από τα γλωσσοπίεστρα κάθε περιοχής που έφεραν ωά χρησιμοποιούνταν για περαιτέρω έρευνα, όπως την επιβεβαίωση της υπόθεσης ότι πρόκειται μόνο για το είδος *Ae. cretinus* καθώς και μελέτες για τη βιωσιμότητα των ωών, της εκκολαψιμότητάς τους, της βιωσιμότητας των προνυμφών αλλά και τον εμπλουτισμό των εκτροφών που χρησίμευναν για βιοδοκιμές.

Για το σκοπό αυτό, τα συγκεκριμένα γλωσσοπίεστρα τοποθετούνταν σε λευκά πλαστικά δοχεία που περιείχαν νερό μέχρι το ύψος των ωών, προκειμένου να γίνει η εκκόλαψη των προνυμφών. Οι προνύμφες που λαμβάνονταν από αυτή τη διαδικασία εκτρέφονταν σύμφωνα με τη συνήθη τεχνική εκτροφής προνυμφών κουνουπιών του εργαστηρίου (βλ. κεφάλαιο 4.2.).

Ένα μικρό ποσοστό των προνυμφών 4^{ης} ηλικίας θανατώθηκαν και διατηρήθηκαν σε αιθανόλη 80%, για μελλοντική χρήση (αναγνώριση ή μοριακές τεχνικές). Οι υπόλοιπες προνύμφες διατηρήθηκαν μέχρι να νυμφωθούν και τα τέλεια που προήλθαν από τις νύμφες αυτές αναγνωρίστηκαν σε επίπεδο είδους.

Η αναγνώριση των κουνουπιών που συλλέχθηκαν στις διάφορες δειγματοληψίες της παρούσας μελέτης πραγματοποιήθηκε από τον συγγραφέα με τη βοήθεια των διαθέσιμων κλειδών προσδιορισμού για τα κουνούπια της χώρας μας (Μπέτζιος 1989, Darsie Jr and Samanidou-Voyadjoglou 1997, Samanidou-Voyadjoglou and Harbach 2001, Becker *et al.* 2003).

Η επιβεβαίωση της ταυτοποίησης κάθε είδους πραγματοποιήθηκε από άλλους ειδικούς στην αναγνώριση των κουνουπιών επιστήμονες, στους οποίους εστάλησαν αντιπροσωπευτικά δείγματα από τις διάφορες δειγματοληψίες. Οι ειδικοί που συνέβαλλαν στο έργο της αναγνώρισης των δειγμάτων ήταν η Δρ. Α. Σαμανίδου-Βογιατζόγλου (Εθνική Σχολή Δημόσιας Υγείας, της Αθήνας), ο Dr. R.F. Darsie Jr. (International Center for Public Health Research, University of South Carolina, των Η.Π.Α.), και οι Dr. R. Harbach και Dr. Y-M. Linton (National History Museum, του Λονδίνου).

Επεξεργασία των αποτελεσμάτων

Τα αποτέλεσματα από τις παγίδες ωοθεσίας αλλά και όλα τα υπόλοιπα στοιχεία που συγκεντρώθηκαν κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης επεξεργάστηκαν με τη βοήθεια του προγράμματος Microsoft Excel, από το οποίο δημιουργήθηκαν και τα σχετικά διαγράμματα, ενώ η περαιτέρω στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του προγράμματος SPSS, 9.0.0., για ηλεκτρονικό υπολογιστή.

3.3.2.2. Έλεγχος των πιθανών εστιών ανάπτυξης προνυμφών

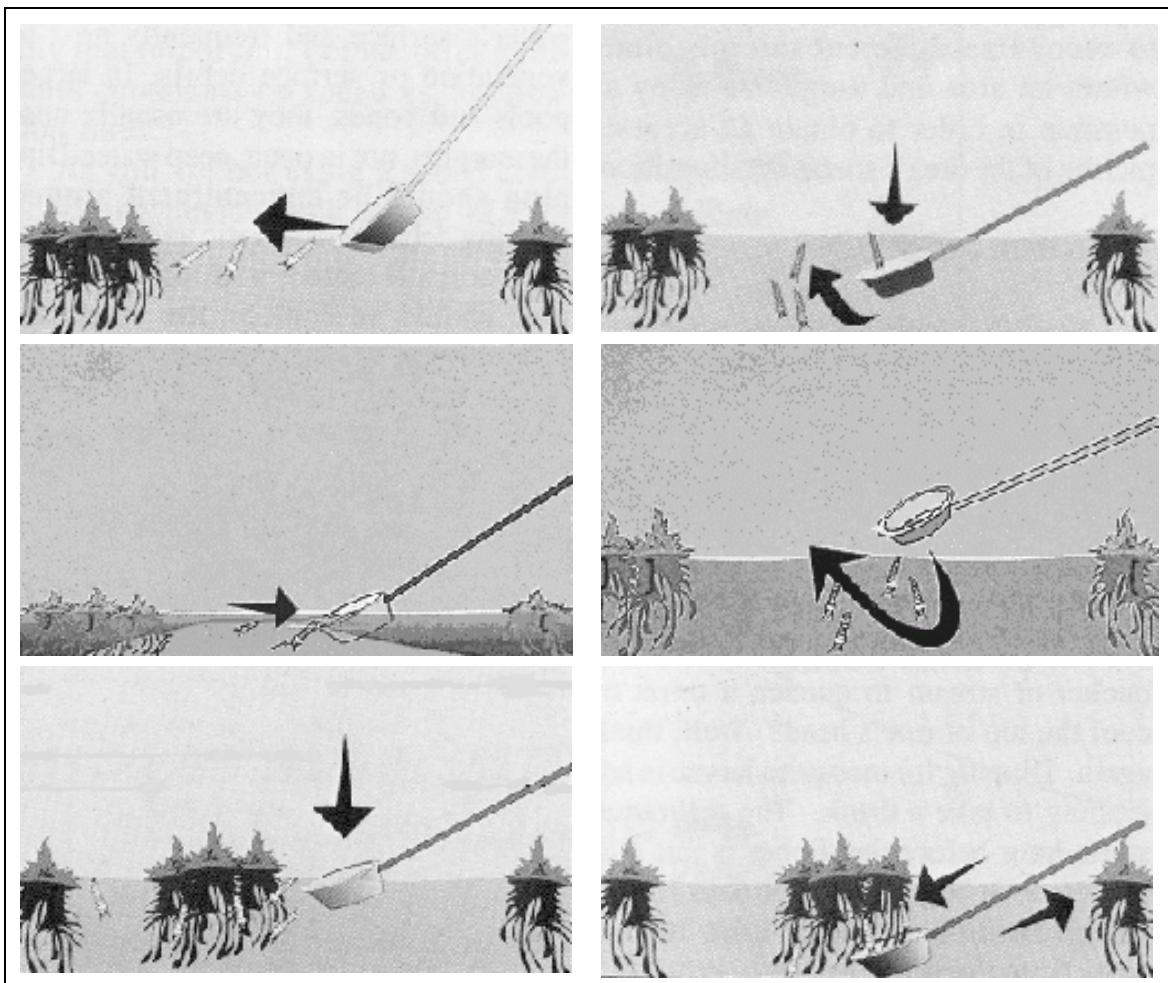
Η συλλογή προνυμφών κουνουπιών από τις εστίες ανάπτυξης τους είναι μια από τις παλαιότερες και περισσότερο διαδεδομένες μεθόδους έρευνας της παρουσίας κουνουπιών ή και της ύπαρξης συγκεκριμένων ειδών σε μια περιοχή.

Κατά τη διάρκεια των ετών 2000-2002 πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε πιθανές εστίες ανάπτυξης προνυμφών, τόσο συγκεκριμένων εστιών σε σταθερά χρονικά διαστήματα όσο και τυχαίες δειγματοληψίες. Οι λόγοι για τους οποίους επιλέχθηκε να συγκεντρωθούν τα στοιχεία αυτά είναι αφενός η σχεδόν παντελής έλλειψη σύγχρονων στοιχείων για την πανίδα κουνουπιών της Αττικής και των εστιών που μπορεί να αναπτύσσονται τα είδη αυτά καθώς και το γεγονός ότι τα συγκεκριμένα στοιχεία είναι τα πρωταρχικά στοιχεία τα οποία θα πρέπει να συγκεντρώνονται προκειμένου να είναι δυνατή η κατάρτιση ενός αποτελεσματικού προγράμματος αντιμετώπισης κουνουπιών σε μια περιοχή με μεγάλη ποικιλομορφία, όπως είναι η Αττική.

Οι δειγματοληψίες σε συγκεκριμένες εστίες αφορούσαν εστίες που επιλέχθηκαν κυρίως μετά από την προκαταρκτική έρευνα, παρουσίαζαν αξιόλογη δραστηριότητα όσον αφορά στα κουνούπια και οι συλλογές προνυμφών γινόταν κάθε 15 ημέρες, καθ' όλη την περίοδο δραστηριοποίησης των κουνουπιών. Η συχνότητα, ανά δεκαπενθήμερο, για τις δειγματοληψίες προνυμφών, φαίνεται ότι είναι ικανοποιητική για παρόμοιες μελέτες παρουσίας ειδών κουνουπιών (Zaim 1987, Andreadis 1988).

Οι τυχαίες δειγματοληψίες πραγματοποιήθηκαν κυρίως σε προσωρινές ή εποχικές εστίες ή εστίες που μετά την προκαταρκτική μελέτη κρίθηκαν ως δευτερευούσης σημασίας. Οι παρατηρήσεις σε αυτές τις εστίες δεν είχαν συνήθως κανονική περιοδικότητα δηλαδή δεν γινόταν έλεγχος σε συγκεκριμένα χρονικά διαστήματα αλλά συνήθως μετά τον τυχαίο εντοπισμό τους και την εκτίμηση για πιθανή παρουσία προνυμφών. Επίσης, καθώς η παρούσα έρευνα είχε ως κύριο στόχο τη μελέτη του είδους *Ae. cretinus*, δόθηκε βαρύτητα στον έλεγχο των πιθανών εστιών ανάπτυξης του συγκεκριμένου είδους ενώ οι υπόλοιπες εστίες ελέγχονταν μόνο περιστασιακά, με τον παραπάνω «τυχαίο» τρόπο. Έτσι για παράδειγμα, δεν δόθηκε έμφαση σε εστίες με υφάλμυρα ή αλμυρά νερά.

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε κατά τις δειγματοληψίες είναι αυτή που περιγράφεται αναλυτικά από τους Service (1993) και O'Malley (1989, 1995), με μικρές τροποποιήσεις.



Εικόνα 3.7. Τρόποι συλλογής προνυμφών με προνυμφοσυλλέκτη ανάλογα με το είδος της εστίας και τη θέση των προνυμφών σε αυτή.

Για τις δειγματοληψίες χρησιμοποιήθηκε ο τυπικός προνυμφοσυλλέκτης, της εταιρείας Clarke (διαμέτρου 11 cm, ύψους 5 cm και χωρητικότητας περίπου 250 ml), ο οποίος μπορεί να προσαρμοστεί στο άκρο τηλεσκοπικού κονταριού ώστε να επιτρέπεται η συλλογή δειγμάτων από απόσταση έως και 2,5 μέτρα περίπου (Εικόνα 3.8.).



Εικόνα 3.8. Ο προνυμφοσυλλέκτης που χρησιμοποιήθηκε στην πλειοψηφία των δειγματοληψιών.

Η σύλληψη των προνυμφών με τον προνυμφοσυλλέκτη επιτυγχανόταν μετά από γρήγορες βυθίσεις του, με μία κίνηση, εν είδει «ξαφρίσματος», σε κατάλληλα σημεία της εστίας, έχοντας αποφύγει όσο είναι δυνατό να κάνουμε αισθητή την παρουσία μας, σκύβοντας ή διαταράσσοντας το νερό της εστίας. Μεταξύ των δειγματοληψιών στο ίδιο σημείο μεσολαβούσε διάστημα 2-3 λεπτών ώστε να δοθεί χρόνος να αναδυθούν ξανά οι προνύμφες που είχαν ενοχληθεί και καταδυθεί μετά την πρώτη προσπάθεια. Στις περιπτώσεις που υπήρχε πυκνή βλάστηση στην επιφάνεια του νερού, αυτή παραμερίζονταν και αφού παρέρχονταν ικανός χρόνος για να ηρεμήσει το νερό της εστίας (3-5 λεπτά) γίνονταν οι εμβαπτίσεις του προνυμφοσυλλέκτη (Εικόνα 3.7.).

Σε μικρές εστίες χρησιμοποιήθηκαν διάφορες παραλλαγές του προνυμφοσυλλέκτη, (πχ μια βαθιά μαγειρική κουτάλα ή το τρυπητό «κουταλάκι» συλλογής νυμφών που χρησιμοποιείται στην εκτροφή) καθώς και διάφοροι τύποι απλών αντλιών ή εργαλείων κατάλληλων για την αναρρόφηση του νερού και των προνυμφών από τις εστίες αυτές. Από τους προνυμφοσυλλέκτες τύπου αντλίας περισσότερο χρήσιμη αποδείχθηκε η συσκευή που χρησιμοποιήθηκε αρχικά από τους Kruger & Pinger (1981) η οποία κυκλοφορεί στο εμπόριο κυρίως για χρήση στη μαγειρική (turkey baster) (αριστερά στην Εικόνα 3.9.).



Εικόνα 3.9. Υλικά για τη διαλογή και μεταφορά των προνυμφών ή νυμφών κουνουπιών που συλλαμβάνονται από τις δειγματοληψίες.

Ανάλογα βέβαια με το είδος και το μέγεθος της εστίας, γίνονταν συνήθως συλλογές από 10 τυχαία σημεία. Σε περιπτώσεις που οι εστίες δεν ήταν ομοιόμορφες και οι προνύμφες βρίσκονταν σε μικρούς αριθμούς (0-2 προνύμφες ανά εμβάπτιση προνυμφοσυλλέκτη) οι εμβαπτίσεις ήταν περισσότερες αλλά πάντα πολλαπλάσια του 10 (πχ. 20, 30 κλπ.). Στόχος ήταν να συγκεντρωθούν περίπου 100 προνύμφες ή νύμφες από κάθε εστία εφόσον βέβαια οι συνθήκες και οι πληθυσμοί των προνυμφών στην εστία το επέτρεπαν. Ο αριθμός των 100 προνυμφών θεωρείται αρκετός για τον εντοπισμό των ειδών που υπάρχουν σε μια εστία (Moore *et al.* 1990) και επιπλέον περιορίζουν τον κίνδυνο να χαθεί μια παρατήρηση κατά την μεταφορά των δειγμάτων στο Εργαστήριο καθώς συνήθως τότε παρατηρείται καταστροφή ή θησιμότητα ενός ποσοστού των προνυμφών.

Στην περίπτωση που μετά τις 5 πρώτες εμβαπτίσεις δεν είχαμε σύλληψη προνύμφης τότε η δειγματοληψία διακοπτόταν και η εστία σημειωνόταν ως «κενή προνυμφών».

Οι προνύμφες που συλλαμβάνονταν με τον προνυμφοσυλλέκτη, συλλέγονταν με τη βοήθεια πιπέτας και τοποθετούνταν σε γυάλινα ή πλαστικά βάζα με πώμα που έκλεινε στεγανά για τη μεταφορά τους στο Εργαστήριο. Για το λόγο αυτό επίσης χρησιμοποιήθηκαν και ειδικά πλαστικά σακουλάκια δειγμάτων χωρητικότητας 100-150 ml ("Whirl-Pak" plastic bags). Τα σακουλάκια αυτά έχουν το πλεονέκτημα ότι διευκολύνουν στη μεταφορά τους καθώς έχουν μικρό βάρος και όγκο ενώ κλείνουν εύκολα και αεροστεγώς (Εικόνα 3.10.).

Κατά τη συλλογή δινόταν προσοχή στην αποφυγή τραυματισμού των προνυμφών και στη συλλογή ικανής ποσότητας νερού από την εστία μαζί με οργανική ύλη και μικροστοιχεία ώστε να εξασφαλιστεί το κατάλληλο περιβάλλον και η τροφή των προνυμφών στο Εργαστήριο μέχρι να συμπληρώσουν την ανάπτυξή τους και να εξέλθουν τα τέλεια.

Η μεταφορά στο Εργαστήριο γίνονταν συνήθως με μικρά φορητά ψυγεία από φελιζόλ όπου με τη βοήθεια παγοκυστών εξασφαλίζονταν ψυχρό περιβάλλον κατάλληλο για τη σχετική αδρανοποίηση των προνυμφών και την αποφυγή του θανάτου τους λόγω υπερθέρμανσης.



Εικόνα 3.10. Σακουλάκια τύπου Whirl-Pak για τη μεταφορά των δειγμάτων.

Μετά το τέλος της συλλογής των προνυμφών από κάποια εστία λαμβάνονται μετρήσεις για τη θερμοκρασία του νερού της εστίας ενώ προσδιοριζόταν και το pH του νερού με τη βοήθεια pHμετρικών ταινιών.

Κάθε δείγμα συνοδευόταν από ειδικό «έντυπο συλλογής», που συμπληρωνόταν επί τόπου και αποτελούσε σημείο αναφοράς στη συνέχεια για τη δειγματοληψία γενικά αλλά και για κάθε ξεχωριστό δείγμα που συλλέχθηκε. Το έντυπο που χρησιμοποιήθηκε βασίστηκε στα αντίστοιχα έντυπα Faran *et al.* (1984) μετά από τροποποίηση και προσαρμογή για τις ελληνικές συνθήκες (βλ. σχετικό έντυπο στο παράρτημα Α'). Το έντυπο είναι με τέτοιο τρόπο δομημένο ώστε να συμπληρώνεται εύκολα με σχετικά μικρή προσπάθεια κατά τη στιγμή της συλλογής. Συγκεκριμένα, περιλαμβάνει τα κυριότερα στοιχεία που μπορεί να διαθέτει μια εστία ή που πρέπει να συμπληρωθούν κατά τη δειγματοληψία ώστε να απαιτεί μόνο την υπογράμμιση του συγκεκριμένου κάθε φορά στοιχείου.

Για κάθε δειγματοληψία συμπληρωνόταν διαφορετικό έντυπο ακόμη και όταν δύο εστίες ήταν κοντά η μια στην άλλη αλλά παρουσίαζαν έστω και μικρές ποιοτικές διαφορές. Φυσικά, διαφορετικό έντυπο συμπληρωνόταν για δειγματοληψίες από την ίδια εστία αλλά σε διαφορετικές χρονικές στιγμές.

Ατομικές εκτροφές (individual rearings)

Για την καλύτερη αναγνώριση των ειδών προτιμήθηκε η διαδικασία των «ατομικών εκτροφών» (individual rearings). Η διαδικασία αυτή διευκολύνει την αναγνώριση των ειδών καθώς δίνει τη δυνατότητα να έχουμε από το ίδιο άτομο τόσο τα εκδύματα της προνύμφης και της νύμφης όσο και το τέλειο που εκδύθηκε. Καθώς, σε πολλά είδη κουνουπιών, υπάρχει δυσκολία αναγνώρισης του είδους από ένα μόνο στάδιο (προνύμφη, νύμφη ή τέλειο) η ύπαρξη δειγμάτων και από τα τρία στάδια διευκολύνει σημαντικά το έργο της ταυτοποίησης των ειδών.

Για τις ατομικές εκτροφές χρησιμοποιήθηκαν ειδικά ατομικά πλαστικά φιαλίδια (Εικόνα 3.11.). Σε κάθε φιαλίδιο τοποθετούνταν μία μόνο προνύμφη (ή νύμφη) η οποία εκτρέφονταν ατομικά μέχρι να παραχθεί το τέλειο έντομο. Το εξώδερμα της προνύμφης 4^{ης} ηλικίας συλλέγονταν με προσοχή και διατηρούταν μαζί με το εξώδερμα της νύμφης, σε

ξεχωριστό φιαλίδιο, σε διάλυμα αλκοόλης 80%, φέροντας τον ίδιο κωδικό με τον αριθμό του τελείου και φυσικά τον κωδικό του εντύπου συλλογής.



Εικόνα 3.11. Ατομικές εκτροφές κουνουπιών από τις δειγματοληψίες προνυμφών. Στα μικρά φιαλίδια που διακρίνονται φυλάσσονται τα εξωδέρματα της αντίστοιχης προνύμφης και νύμφης.

Δινόταν προσοχή ώστε από κάθε συλλογή να υπάρξουν αρκετές ατομικές εκτροφές για να διασφαλίζεται ότι θα βρεθούν τέλεια από όλα τα είδη που συλλέχθηκαν σε κάθε δειγματοληψία αλλά και ότι από το κάθε είδος θα υπάρχουν 5 τουλάχιστον άτομα κάθε φύλου. Τα τέλεια διατηρούνταν περίπου 12-24 ώρες πριν θανατωθούν, ώστε να έχουν σταθεροποιηθεί όλοι οι διαγνωστικοί χαρακτήρες τους, όπως το χρώμα. Η μέθοδος αυτή παρέχει δείγματα σε καλή κατάσταση για αναγνώριση αλλά και για τη διατήρησή τους ως δειγμάτων αναφοράς. Τα δείγματα των τέλειων εντόμων συνοδεύονται από ετικέτα που αναγράφονταν το είδος και ο κωδικός της δειγματοληψίας από την οποία προήλθε.

Οι υπόλοιπες προνύμφες ή νύμφες από κάθε δειγματοληψία συνήθως εκτρέφονταν μαζικά σε μια λεκάνη και οι νύμφες συλλέγονταν και τοποθετούνταν σε κλωβό. Στη συνέχεια τα τέλεια θανατώνονταν και τα δείγματα αφού καταμετρούνταν ανά είδος αποθηκεύονταν σε τριβλία για πιθανή μελλοντική χρήση.

Σε ορισμένες περιπτώσεις, όταν οι προνύμφες κάποιου δείγματος ήταν πολύ λίγες ή σε κακή κατάσταση ή δεν ήταν δυνατή η εκτροφή τους για την παραγωγή τελείων, οι προνύμφες θανατώνονταν με εμβάπτισή τους σε ζεστό νερό θερμοκρασίας 50-60 °C (Lane 1974) και διατηρούνταν σε αλκοόλη 80% για αναγνώριση ή χρήση σε μοριακές τεχνικές.

Η αναγνώριση των ειδών γινόταν κυρίως στο στάδιο του τελείου αλλά πολλές φορές χρειάστηκε να γίνει και επιβεβαίωση της αναγνώρισης από το εξώδερμα της προνύμφης 4^{ης} ηλικίας, που είχε φυλαχθεί από την ατομική εκτροφή του συγκεκριμένου δείγματος.

Επεξεργασία των αποτελεσμάτων

Αν και η συλλογή προνυμφών κουνουπιών από τις εστίες ανάπτυξής τους είναι μια από τις παλαιότερες και περισσότερο διαδεδομένες μεθόδους ελέγχου της παρουσίας κουνουπιών ή της ύπαρξης συγκεκριμένων ειδών σε μια περιοχή εντούτοις ο υπολογισμός με σχετική ακρίβεια του πληθυσμού των κουνουπιών και των διακυμάνσεών του σε μια εστία ή του πληθυσμού των κουνουπιών σε μια περιοχή δεν είναι πάντα εφικτός (Service 1993).

Ένα από τα κύρια προβλήματα είναι το διαφορετικό μέγεθος των εστιών κάτι που γίνεται περισσότερο πολύπλοκο λόγω της εύκολης αυξομείωσης του μεγέθους της κάθε εστίας ως αποτέλεσμα διαφόρων παραγόντων όπως οι βροχοπτώσεις (αύξηση μεγέθους εστίας και όγκου νερού) ή η εξάτμιση (μείωση μεγέθους εστίας και όγκου νερού). Οι λόγοι αυτοί κάνουν δύσκολη την εύρεση και εφαρμογή τυποποιημένης τεχνικής δειγματοληψίας που να μπορεί να εφαρμοστεί σε όλες τις περιπτώσεις. Έτσι για παράδειγμα, εάν σε δύο εστίες, όμοιας συνολικής επιφάνειας νερού, υπάρχει ο ίδιος αριθμός προνυμφών κουνουπιών, αυτό μπορεί να μην γίνει αντιληπτό εάν η μια εστία είναι βαθύτερη και περιέχει μεγαλύτερο όγκο νερού καθώς οι περισσότερες μέθοδοι δειγματοληψίας θα εμφανίσουν μεγαλύτερο αριθμό προνυμφών στην εστία με τη λιγότερη ποσότητα νερού, ως αποτέλεσμα της μεγαλύτερης πυκνότητας των προνυμφών και όχι του πραγματικού αριθμού προνυμφών που υπάρχουν.

Άλλοι παράγοντες, όπως η ανομοιόμορφη κατανομή των προνυμφών σε μια εστία, λόγω διαφορών στο μικροπεριβάλλον της ίδιας εστίας (σκίαση, στασιμότητα των νερών, υδρόβια βλάστηση κλπ.) αυξάνουν επιπλέον τη δυσκολία εξαγωγής ασφαλών συμπερασμάτων (WHO 1975, Andis and Meek 1984, Sandoski *et al.* 1987, Tidwell *et al.* 1990, Service 1993).

Διάφοροι ερευνητές έχουν κατά καιρούς διατυπώσει τύπους υπολογισμού των πληθυσμών των κουνουπιών με βάση τα αποτελέσματα των δειγματοληψιών στις εστίες ανάπτυξης των κουνουπιών. Τα στοιχεία που συνήθως λαμβάνουν υπόψη είναι ο αριθμός των προνυμφών σε κάθε δειγματοληψία, ο όγκος του νερού της εστίας, ο αριθμός των εμβαπτίσεων του προνυμφοσυλλέκτη και η χωρητικότητα του προνυμφοσυλλέκτη (Hagstrom 1971, Service 1993). Παρόλα αυτά, οι μαθηματικές αυτές προσεγγίσεις, σπάνια δίνουν στατιστικά όμοια αποτελέσματα όταν χρησιμοποιηθούν από άλλους ερευνητές, υπό διαφορετικές συνθήκες (Taylor 1961, Croset *et al.* 1976, Downing 1986, Sawyer 1989, Service 1993). Οι μόνες περιπτώσεις που τα αποτελέσματα τέτοιων υπολογισμών δίνουν σχετικά αξιόπιστα αποτελέσματα είναι στις περιπτώσεις που έχουμε ομοιόμορφες εστίες ανάπτυξης κουνουπιών, όπως είναι οι ορυζώνες (Mackey and Hoy 1978, Mogi 1978, Chambers *et al.* 1979, Andis *et al.* 1983, Stewart and Schaefer 1983, Andis and Meek 1984, McLaughlin *et al.* 1987, Sandoski *et al.* 1987). Δυστυχώς, στην περιοχή που διεξήχθη η παρούσα μελέτη αλλά και γενικότερα στο νομό Αττικής, οι εστίες ανάπτυξης προνυμφών

κουνουπιών, στην συντριπτική τους πλειοψηφία, δεν είναι ομοιόμορφες ως προς τη δομή και τα ποιοτικά χαρακτηριστικά τους (βάθος νερού, βλάστηση, σκίαση κλπ.).

Ως αποτέλεσμα των παραπάνω, ο έλεγχος των εστιών ανάπτυξης των κουνουπιών χρησιμοποιείται κυρίως για τη διατίστωση της παρουσίας κουνουπιών και τον προσδιορισμό των ειδών που δραστηριοποιούνται σε μια περιοχή και μόνο σε πολύ μικρό βαθμό, όταν οι συνθήκες το επιτρέπουν, χρησιμοποιείται για εκτιμήσεις πληθυσμών και της διακύμανσής τους (Service 1993). Παρόλα αυτά, ο έλεγχος των εστιών είναι σημαντικότατο κομμάτι οποιουδήποτε προγράμματος αντιμετώπισης κουνουπιών σε μια περιοχή καθώς προσφέρει τις περισσότερες από τις αναγκαίες πληροφορίες που χρειάζονται για να ληφθεί η κατάλληλη απόφαση και να εφαρμοστεί η σωστή μέθοδος προνυμφοκτονίας.

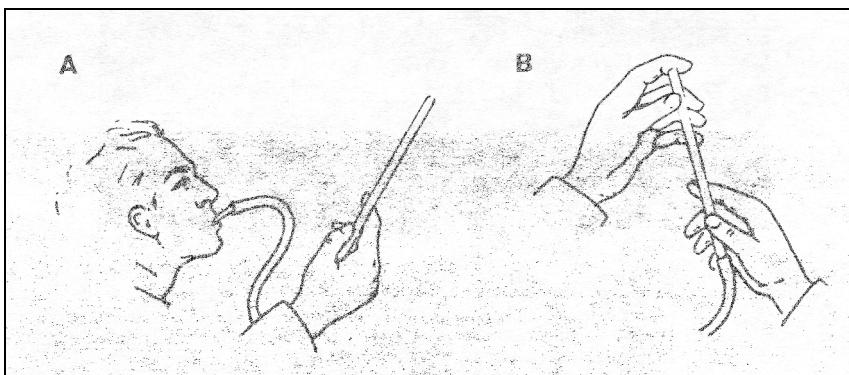
3.3.2.3. Έλεγχος σημείων ανάπτυξης τέλειων

Καθώς τα κουνούπια περνούν το μεγαλύτερο μέρος της ζωής τους αναπαυόμενα, σε προστατευμένα φυσικά ή τεχνητά σημεία, οι δειγματοληψίες τέλειων από τα σημεία αυτά προσφέρουν συχνά καλύτερη και αντιπροσωπευτικότερη εικόνα της παρουσίας τους σε μια περιοχή σε σύγκριση με άλλες μεθόδους δειγματοληψίας (Service 1993). Επίσης, η μέθοδος αυτή (adult resting population sampling) είναι από τις λίγες που μπορεί να μας εξασφαλίσει θηλυκά ζωντανά κουνούπια που έχουν ήδη τραφεί με αίμα, από τα οποία μπορούμε σχετικά εύκολα να πάρουμε ωά και κατά συνέπεια απογόνους. Επιπλέον, η μέθοδος είναι η μόνη που προσφέρεται για δειγματοληψίες κατά τους ψυχρούς μήνες του έτους, όταν πρόκειται για είδη που διαχειμάζουν ως τέλεια θηλυκά, καθώς κατά το διάστημα αυτό τα συγκεκριμένα είδη κουνουπιών δεν είναι πολύ κινητικά (επομένως δεν συλλαμβάνονται σε παγίδες), συνήθως δεν τρέφονται (δεν συλλαμβάνονται με τη μέθοδο του ζωντανού δολώματος) και δεν ωτοκούν (δεν υπάρχουν ωά ή προνύμφες στα σημεία ανάπτυξης τους) (Sulaiman and Service 1983, Service 1993).

Οι συλλογές τέλειων κουνουπιών πραγματοποιήθηκαν κυρίως από τα σημεία ανάπτυξης ή διημέρευσης των εντόμων αυτών. Τέτοια σημεία ήταν διάφοροι στεγασμένοι ή μερικώς στεγασμένοι εξωτερικοί χώροι, υπόστεγα, γκαράζ, στάνες, σπιτάκια κατοικίδιων ζώων, η βλάστηση κυρίως κοντά στις εστίες ανάπτυξης των προνυμφών καθώς επίσης και εσωτερικοί χώροι οικιών, στάβλων και άλλων κτισμάτων.

Η συλλογή των τέλειων κουνουπιών από τα σημεία αυτά γινόταν συνήθως με τη βοήθεια απλής ειδικής αναρροφητικής συσκευής (aspirator) ή με μηχανικό αναρροφητήρα (WHO 1992a, 1992b).

Ο απλός αναρροφητικός σωλήνας συλλήψεως τέλειων κουνουπιών (aspirator), που προτείνεται και παρέχεται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO 1975, 1995b, 2001a), αποτελείται από διαφανή σωλήνα πλεξιγκλάς (ή και γυάλινο), διαμέτρου 1 cm και μήκους 30 cm, ο οποίος στο ένα άκρο του έχει προσαρμοσμένο πλαστικό εύκαμπτο σωλήνα μήκους 1 μέτρου. Μεταξύ του γυάλινου και του εύκαμπτου πλαστικού σωλήνα παρεμβάλλεται λεπτή σήτα, ώστε τα αναρροφώμενα κουνούπια να παραμένουν μέσα στο γυάλινο σωλήνα ενώ στο ελεύθερο άκρο φέρει επιστόμιο (Εικόνα 3.12.).



Εικόνα 3.12. Απλός αναρροφητικός σωλήνας συλλήψεως τέλειων κουνουπιών.

Σε ορισμένες περιπτώσεις χρησιμοποιήθηκε και μηχανικός ηλεκτροκίνητος αναρροφητήρας ο οποίος λειτουργεί με μπαταρίες (Εικόνα 3.13.).



Εικόνα 3.13. Μηχανικός αναρροφητήρας συλλήψεως τέλειων κουνουπιών.

Παράλληλα με τη χρήση των αναρροφητήρων έγιναν και συλλήψεις κουνουπιών με μικρή απόχη. Η απόχη χρησιμοποιήθηκε κυρίως σε ανοιχτές περιοχές κοντά στις εστίες ανάπτυξης προνυμφών για τη συλλογή τέλειων που συνήθως αναπαύονται στην παρακείμενη βλάστηση ή εξώφιλων ειδών που δεν εισέρχονται μέσα σε κτίρια. Μελέτες έχουν δείξει, ότι σε πολλές περιπτώσεις, η απόχη μπορεί να προσφέρει σημαντικά καλύτερη αποτελεσματικότητα στις συλλήψεις σε σύγκριση με τους αναρροφητήρες (Rahman and Menon 1975, Bidlingmayer 1985).

Για τον εντοπισμό των κουνουπιών που συνήθως καταφεύγουν στα περισσότερο σκοτεινά και απόμερα σημεία των οικιών και των στάβλων χρησιμοποιήθηκε και ένας ηλεκτρικός φακός τσέπης.

Στις περισσότερες περιπτώσεις οι συλλογές πραγματοποιήθηκαν κατά τις απογευματινές ώρες, λίγο πριν το σούρουπο, καθώς το διάστημα αυτό θεωρείται μαζί με το διάστημα, ενωρίς το πρωί, καταλληλότερο για συλλήψεις τέλειων από τα σημεία διημέρευσής τους (Lowe and Bailey 1979, Service 1993).

Τα συλληφθέντα έντομα μεταφέρονταν σε αυτοσχέδιους μικρούς «κλωβούς» αποτελούμενους από ποτήρια μιας χρήσης, από φελιζόλ, στο άνοιγμα των οποίων είχε στερεωθεί τούλι. Στο τούλι, είχε ανοιχθεί μικρή οπή, για να περνά ο αναρροφητήρας, η οποία κλείνονταν με ένα τεμάχιο βαμβακιού και από πάνω τοποθετούνταν δεύτερο τούλι (χωρίς τρύπα) για να αποτραπεί πιθανή απόδραση των εντόμων. Για τη διατήρηση της καλής κατάστασης των δειγμάτων κατά τη μεταφορά, τοποθετούνταν πάνω στο τούλι και ένα τεμάχιο υγρού βαμβακιού για να προσφέρει την απαραίτητη υγρασία στα έντομα. Στις περιπτώσεις που τα δείγματα έπρεπε να διατηρηθούν ζωντανά για σχετικά μεγάλο χρονικό διάστημα, το βαμβάκι εμποτίζονταν σε διάλυμα ζαχαρόνερου.

Η θανάτωση των εντόμων γίνονταν συνήθως στο Εργαστήριο και στη συνέχεια ακολουθούσε η αναγνώριση των ειδών.

Τα έντομα αναισθητοποιούνταν και θανατώνονταν σε σωλήνα θανατώσεως (killing tube) με οξικό αιθυλεστέρα ή χλωροφόρμιο. Σε ορισμένες περιπτώσεις η θανάτωση έγινε με παραμονή των εντόμων για ικανό χρόνο στην κατάψυξη. Τα νεκρά έντομα ταξινομούνταν κατά είδος και φύλο ενώ σημειώνονταν και ο αριθμός των θηλυκών από κάθε συλλογή που περιείχαν αίμα στην κοιλία τους.

3.3.2.4. Συλλήψεις με τη μέθοδο του «ανθρώπινου δολώματος»

Η μέθοδος της προσέλκυσης και σύλληψης τέλειων κουνουπιών με «ανθρώπινο δόλωμα» (human bait collections) θεωρείται ως μια από τις περισσότερο σημαντικές μεθόδους για τον έλεγχο της παρουσίας πολλών ανθρωπόφιλων ειδών κουνουπιών που τρέφονται και κατά τη διάρκεια της ημέρας, όπως τα *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* και *Ae. cterinus*, ιδίως μάλιστα όταν η μέθοδος συνδυάζεται και με τις παγίδες ωθεσίας (Slaff *et al.* 1983, Moore *et al.* 1993, Service 1993).

Παρά το γεγονός ότι και σε αυτή τη μέθοδο υπεισέρχονται δειγματοληπτικά σφάλματα όπως οι διαφορές στην ελκυστικότητα από άνθρωπο σε άνθρωπο, οι ιδιαίτερες συνήθειες του κάθε είδους κουνουπιού κ.ά. (Service 1977, Schmidt 1989) εντούτοις αυτά δεν θεωρούνται τόσο σημαντικά, όσο αυτά των άλλων μεθόδων σύλληψης (Service 1991, 1993). Η μέθοδος αυτή μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες για τα συγκεκριμένα είδη που δημιουργούν τα προβλήματα όχλησης σε μια περιοχή, τις συνήθειες των ειδών αυτών αλλά και την αποτελεσματικότητα των μέτρων καταπολέμησης που έχουν ληφθεί στη συγκεκριμένη περιοχή (Morris and Clanton 1988, Read *et al.* 1994). Επιπλέον τα στοιχεία που συγκεντρώνονται με τη μέθοδο αυτή μπορεί να αποβούν πολύ χρήσιμα όταν χρειαστεί να

μελετηθεί σε μια περιοχή η επιδημιολογία κάποιας ασθένειας που μεταδίδεται από τα κουνούπια ή άλλα αιμομυζητικά έντομα (WHO 1975, Dye 1992).

Η μέθοδος που εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη βασίστηκε στην τεχνική που περιγράφεται από τον Service (1993) και τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO 1992a, 1992b) σύμφωνα με την οποία ένας ξενιστής χρησιμοποιείται ως δόλωμα για να προσελκύσει τα κουνούπια, και στη συνέχεια να τα συλλάβει κατά τη διάρκεια της προσπάθειάς τους να τραφούν από αυτόν.

Οι δειγματοληψίες γίνονταν κάθε 7 ήμερες, για κάθε γεωγραφική ζώνη, αλλά κάθε φορά μπορούσε να πραγματοποιηθεί σε μια μόνο από τις περιοχές της συγκεκριμένης γεωγραφικής ζώνης, συνήθως μετά το τέλος των δειγματοληψιών των παγίδων ωθεσίας στην αντίστοιχη περιοχή. Για την αντιπροσωπευτικότερη κάλυψη μιας συγκεκριμένης γεωγραφικής ζώνης γινόταν εβδομαδιαία κυκλική εναλλαγή των περιοχών μέσα σε μια γεωγραφική ζώνη με αποτέλεσμα η δειγματοληψία σε κάθε μια περιοχή να επαναλαμβάνεται μετά από διάστημα 5 περίπου εβδομάδων.

Οι συλλήψεις τέλειων κουνουπιών με τη μέθοδο της προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα» πραγματοποιούνταν κάθε χρόνο κατά το διάστημα που οι πληθυσμοί και η κινητικότητα των κουνουπιών ήταν αυξημένες, όπως συμβαίνει στο διάστημα από αρχές Ιουνίου έως αρχές Οκτωβρίου. Οι συλλήψεις είχαν διάρκεια 15 λεπτών της ώρας και χρονικά πραγματοποιούνταν λίγο πριν, κατά τη διάρκεια ή λίγο μετά τη δύση του ηλίου (συνήθως το διάστημα μεταξύ 18:00-22:00, κατά την καλοκαιρινή περίοδο) που θεωρείται και το καταλληλότερο χρονικό διάστημα για τέτοιους είδους δειγματοληψίες (Service 1993). Σε ορισμένες περιπτώσεις, που ο ρυθμός των προσγειώσεων και των τσιμπημάτων ήταν πολύ μεγάλος, ο χρόνος παραμονής του παρατηρητή μειώθηκε στα 10 ή και στα 5 λεπτά για να περιοριστεί κάπως η ενόχληση του ξενιστή-δειγματολήπτη.

Κατά το χρονικό διάστημα των δειγματοληψιών, ο ξενιστής καθόταν όρθιος και σχετικά ακίνητος, σε εξωτερικό χώρο, έχοντας ακάλυπτες τις κνήμες του καθώς σχετικές μελέτες για το είδος *Ae. albopictus* έχουν αποδείξει ότι σε έναν όρθιο άνθρωπο το σημείο στο οποίο προτιμούν να προσγειώνονται τα θηλυκά κουνούπια είναι τα πόδια του (Shirai *et al.* 2002).

Ο παρατηρητής συνέλεγε με τη βοήθεια αναρροφητήρα (σε ορισμένες περιπτώσεις και με τη συνδρομή ενός φακού τσέπης) όλα τα κουνούπια που προσγειώνονταν στις ακάλυπτες κνήμες του. Μετά το πέρας του διαστήματος των 15 λεπτών τα συλληφθέντα κουνούπια μεταφέρονταν στο Εργαστήριο σε μικρούς κλωβούς (ποτήρια μιας χρήσης από φελιζόλ) όπως και στην προηγούμενη περίπτωση.

Για κάθε δειγματοληψία καταγράφονταν η τοποθεσία, η χρονική στιγμή και η διάρκεια των συλλήψεων καθώς και η θερμοκρασία αέρα και μια γενική εκτίμηση της έντασης του ανέμου.

3.4. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα των δειγματοληψιών και των παρατηρήσεων σχετικά με την παρουσία, εξάπλωση και οικολογία του *Aedes cretinus* καθώς και των άλλων ειδών κουνουπιών που εντοπίστηκαν στο Νομό Αττικής, παρουσιάζονται αναλυτικά στη συνέχεια, ανάλογα με τη μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε.

3.4.1. Αποτελέσματα παρατηρήσεων από τις παγίδες ωοθεσίας

Όπως αποδείχθηκε από τις δειγματοληπτικές εκκολάψεις ωών που πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο, όλα τα ωά που βρέθηκαν στερεωμένα στα γλωσσοπίεστρα των παγίδων ωοθεσίας ανήκαν αποκλειστικά στο είδος *Ae. cretinus*.

Θα πρέπει να σημειωθεί βέβαια, ότι στο νερό των παγίδων ωοθεσίας συχνά εντοπίστηκαν προνύμφες ή σχεδίες ωών και από άλλα είδη κουνουπιών. Τα αποτελέσματα αυτών των παρατηρήσεων παρουσιάζονται στο επόμενο κεφάλαιο που αφορά γενικότερα στις δειγματοληψίες προνυμφών κουνουπιών.

Συνεπώς, ο πραγματικός συνολικός αριθμός γλωσσοπίεστρων που εξετάστηκαν στο Εργαστήριο για την παρουσία ή όχι ωών κουνουπιών κατά τη διάρκεια της τριετούς αυτής μελέτης ήταν 9.728 γλωσσοπίεστρα.

Ως ωοθεσία ή θετική παγίδα, ορίζεται η ωοτοκία ενός τουλάχιστον ωού στο υπόστρωμα της παγίδας ωοθεσίας (γλωσσοπίεστρο) κατά την περίοδο (συνήθως μια εβδομάδα) που η παγίδα ήταν τοποθετημένη στο σημείο δειγματοληψίας μιας συγκεκριμένης περιοχής.

Για κάθε περιοχή μελέτης υπολογίστηκε ο μέσος αριθμός ωών των τριών παγίδων που ελέγχθηκαν στη συγκεκριμένη περιοχή κάθε εβδομάδα, ενώ και για κάθε γεωγραφική ζώνη υπολογίστηκε ο μέσος όρος των ωών κάθε εβδομάδας και από τις 5 περιοχές μελέτης της συγκεκριμένης γεωγραφικής ζώνης.

Στους πίνακες που ακολουθούν παρουσιάζονται συγκεντρωτικά τα στοιχεία για τις διάφορες περιοχές μελέτης από κάθε γεωγραφική ζώνη που αφορούν α) τον αριθμό των παγίδων στις οποίες, κατά τη δειγματοληψία, υπήρχε το υπόστρωμα – γλωσσοπίεστρο προς εξέταση (έστω και χωρίς ωά), β) τον αριθμό των θετικών παγίδων, δηλαδή παγίδων των οποίων το υπόστρωμα έφερε έστω και ένα ωό κουνουπιού και γ) τον συνολικό αριθμό των ωών που καταμετρήθηκαν στα υποστρώματα που εξετάστηκαν.

Πίνακας 3.3. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων για τις περιοχές μελέτης στην ευρύτερη περιοχή του Κέντρου της Αθήνας (Γεωγραφική Ζώνη 1).

Περιοχές	2000	2001	2002	ΣΥΝΟΛΟ
Αριθμός παγίδων με υπόστρωμα				
1.1. Εθνικός κήπος	139	120	135	394
1.2. Γουδή - Αμπελόκηποι	137	117	133	387
1.3. Παλαιό Ψυχικό	138	118	132	388
1.4. Γκύζη – Πεδίον Άρεως	139	119	133	391
1.5. Ηλιούπολη	138	122	134	394
ΣΥΝΟΛΟ	691	596	667	1954
Αριθμός θετικών παγίδων				
1.1. Εθνικός κήπος	98	71	97	266
1.2. Γουδή - Αμπελόκηποι	91	75	81	247
1.3. Παλαιό Ψυχικό	92	81	77	250
1.4. Γκύζη – Πεδίον Άρεως	85	76	78	239
1.5. Ηλιούπολη	78	73	72	223
ΣΥΝΟΛΟ	444	376	405	1225
Αριθμός ωών				
1.1. Εθνικός κήπος	3.238	3.569	5.408	12.215
1.2. Γουδή - Αμπελόκηποι	3.421	4.395	4.109	11.925
1.3. Παλαιό Ψυχικό	3.673	4.705	4.359	12.737
1.4. Γκύζη – Πεδίον Άρεως	4.133	4.917	4.320	13.370
1.5. Ηλιούπολη	4.224	4.758	4.077	13.059
ΣΥΝΟΛΟ	18.689	22.344	22.273	63.306

Πίνακας 3.4. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων για τις περιοχές μελέτης στα Βόρεια Προάστια Αθηνών (Γεωγραφική Ζώνη 2).

Περιοχές	2000	2001	2002	ΣΥΝΟΛΟ
Αριθμός παγίδων με υπόστρωμα				
2.1. Κηφισιά (ΜΦΙ)	137	118	132	387
2.2. Ολυμπιακό Στάδιο	136	119	136	391
2.3. Ρέμα Χαλανδρίου	135	119	135	389
2.4. Μαρούσι	134	121	134	389
2.5. Εκάλη - Διόνυσος	137	120	134	391
ΣΥΝΟΛΟ	679	597	671	1947
Αριθμός θετικών παγίδων				
2.1. Κηφισιά (ΜΦΙ)	72	61	68	201
2.2. Ολυμπιακό Στάδιο	70	65	73	208
2.3. Ρέμα Χαλανδρίου	74	63	74	211
2.4. Μαρούσι	71	64	68	203
2.5. Εκάλη - Διόνυσος	67	61	61	189
ΣΥΝΟΛΟ	354	314	344	1012
Αριθμός ωών				
2.1. Κηφισιά (ΜΦΙ)	3.842	4.300	4.383	12.525
2.2. Ολυμπιακό Στάδιο	3.822	4.532	4.688	13.042
2.3. Ρέμα Χαλανδρίου	3.423	3.996	4.488	11.907
2.4. Μαρούσι	3.824	4.280	4.229	12.333
2.5. Εκάλη - Διόνυσος	3.376	4.200	2.801	10.377
ΣΥΝΟΛΟ	18.287	21.308	20.589	60.184

Πίνακας 3.5. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων για τις περιοχές μελέτης της Παραλιακής Ζώνης του Σαρωνικού (Γεωγραφική Ζώνη 3).

Περιοχές	2000	2001	2002	ΣΥΝΟΛΟ
Αριθμός παγίδων με υπόστρωμα				
3.1. Δέλτα Φαλήρου	134	119	134	387
3.2. Αγ. Κοσμάς	132	120	134	386
3.3. Γλυφάδα	137	118	134	389
3.4. Καβούρι	138	120	135	393
3.5. Βουλιαγμένη	135	122	132	389
ΣΥΝΟΛΟ	676	599	669	1944
Αριθμός θετικών παγίδων				
3.1. Δέλτα Φαλήρου	68	71	73	212
3.2. Αγ. Κοσμάς	74	74	75	223
3.3. Γλυφάδα	80	67	75	222
3.4. Καβούρι	79	71	76	226
3.5. Βουλιαγμένη	7	19	1	27
ΣΥΝΟΛΟ	308	302	300	910
Αριθμός ωών				
3.1. Δέλτα Φαλήρου	3.717	3.736	3.735	11.188
3.2. Αγ. Κοσμάς	3.897	4.034	3.489	11.420
3.3. Γλυφάδα	3.957	3.874	4.147	11.978
3.4. Καβούρι	3.404	3.596	4.238	11.238
3.5. Βουλιαγμένη	69	274	4	347
ΣΥΝΟΛΟ	15.044	15.514	15.613	46.171

Πίνακας 3.6. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων για τις περιοχές μελέτης στην Ανατολική Αττική (Γεωγραφική Ζώνη 4).

Περιοχές	2000	2001	2002	ΣΥΝΟΛΟ
Αριθμός παγίδων με υπόστρωμα				
4.1. Μαραθώνας	134	120	135	389
4.2. Σχοινιάς	134	120	130	384
4.3. Νέα Μάκρη	135	122	136	393
4.4. Πρόποδες Πεντέλης	136	119	132	387
4.5. Μάτι - Ζούμπερι	137	119	135	391
ΣΥΝΟΛΟ	676	600	668	1944
Αριθμός θετικών παγίδων				
4.1. Μαραθώνας	80	68	77	225
4.2. Σχοινιάς	70	70	79	219
4.3. Νέα Μάκρη	85	76	82	243
4.4. Πρόποδες Πεντέλης	73	71	77	221
4.5. Μάτι - Ζούμπερι	94	78	80	252
ΣΥΝΟΛΟ	402	363	395	1160
Αριθμός ωών				
4.1. Μαραθώνας	3.405	4.002	4.213	11.620
4.2. Σχοινιάς	3.417	4.792	5.145	13.354
4.3. Νέα Μάκρη	4.767	4.660	4.837	14.264
4.4. Πρόποδες Πεντέλης	3.814	4.578	4.272	12.664
4.5. Μάτι - Ζούμπερι	4.859	4.454	4.535	13.848
ΣΥΝΟΛΟ	20.262	22.486	23.002	65.750

Πίνακας 3.7. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων για τις περιοχές μελέτης στις Δυτικές Συνοικίες της Αθήνας (Γεωγραφική Ζώνη 5).

Περιοχές	2000	2001	2002	ΣΥΝΟΛΟ
Αριθμός παγίδων με υπόστρωμα				
5.1. Γεωπονικό Πανεπ. Αθ.	136	121	135	392
5.2. Δαφνί	137	120	131	388
5.3. Περιστέρι	137	122	133	392
5.4. Μεταμόρφωση	133	119	135	387
5.5. Ρέμα Χελιδονούς	134	116	130	380
ΣΥΝΟΛΟ	677	598	664	1939
Αριθμός θετικών παγίδων				
5.1. Γεωπονικό Πανεπ. Αθ.	75	69	76	220
5.2. Δαφνί	82	75	75	232
5.3. Περιστέρι	73	71	69	213
5.4. Μεταμόρφωση	66	64	70	200
5.5. Ρέμα Χελιδονούς	68	65	67	200
ΣΥΝΟΛΟ	364	344	357	1065
Αριθμός ωών				
5.1. Γεωπονικό Πανεπ. Αθ.	4.145	3.752	3.787	11.684
5.2. Δαφνί	2.647	3.638	3.026	9.311
5.3. Περιστέρι	3.062	3.722	3.612	10.396
5.4. Μεταμόρφωση	3.349	3.700	3.692	10.741
5.5. Ρέμα Χελιδονούς	3.709	4.520	3.835	12.064
ΣΥΝΟΛΟ	16.912	19.332	17.952	54.196

Σύμφωνα με τα στοιχεία των παραπάνω πινάκων, από ένα σύνολο 9.728 δειγματοληψιών σε παγίδες που περιείχαν το υπόστρωμα ωοθεσίας (γλωσσοπίεστρα), βρέθηκαν 5.372 θετικές παγίδες, από τις οποίες καταμετρήθηκαν συνολικά 289.607 ωά κουνουπιών.

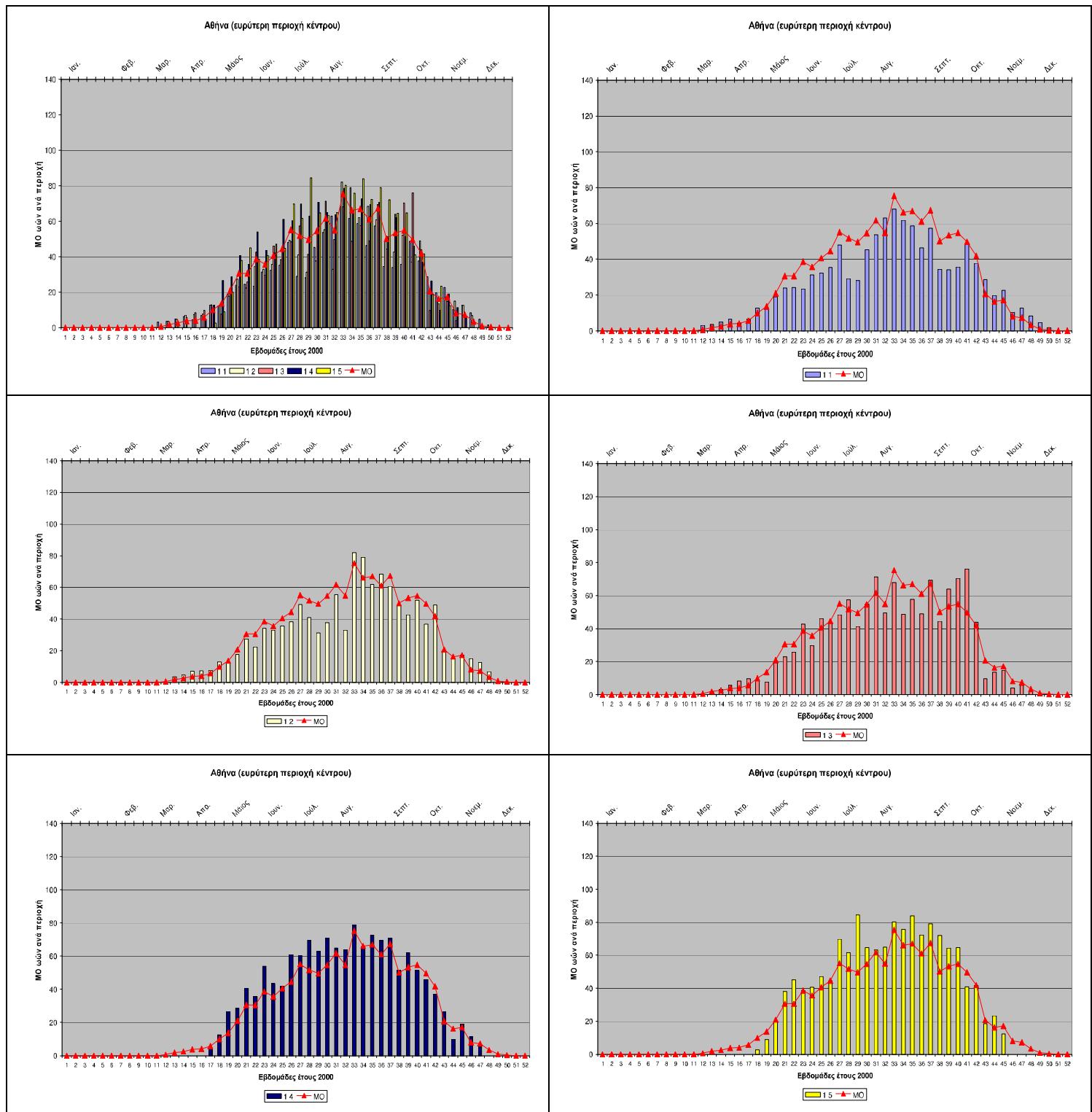
Τα συνολικά στοιχεία από τις Γεωγραφικές Ζώνες παρουσιάζονται κατ' έτος και συνολικά, στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 3.8. Συνοπτικός πίνακας αποτελεσμάτων συνολικά για τις πέντε Γεωγραφικές Ζώνες του Νομού Αττικής που μελετήθηκαν.

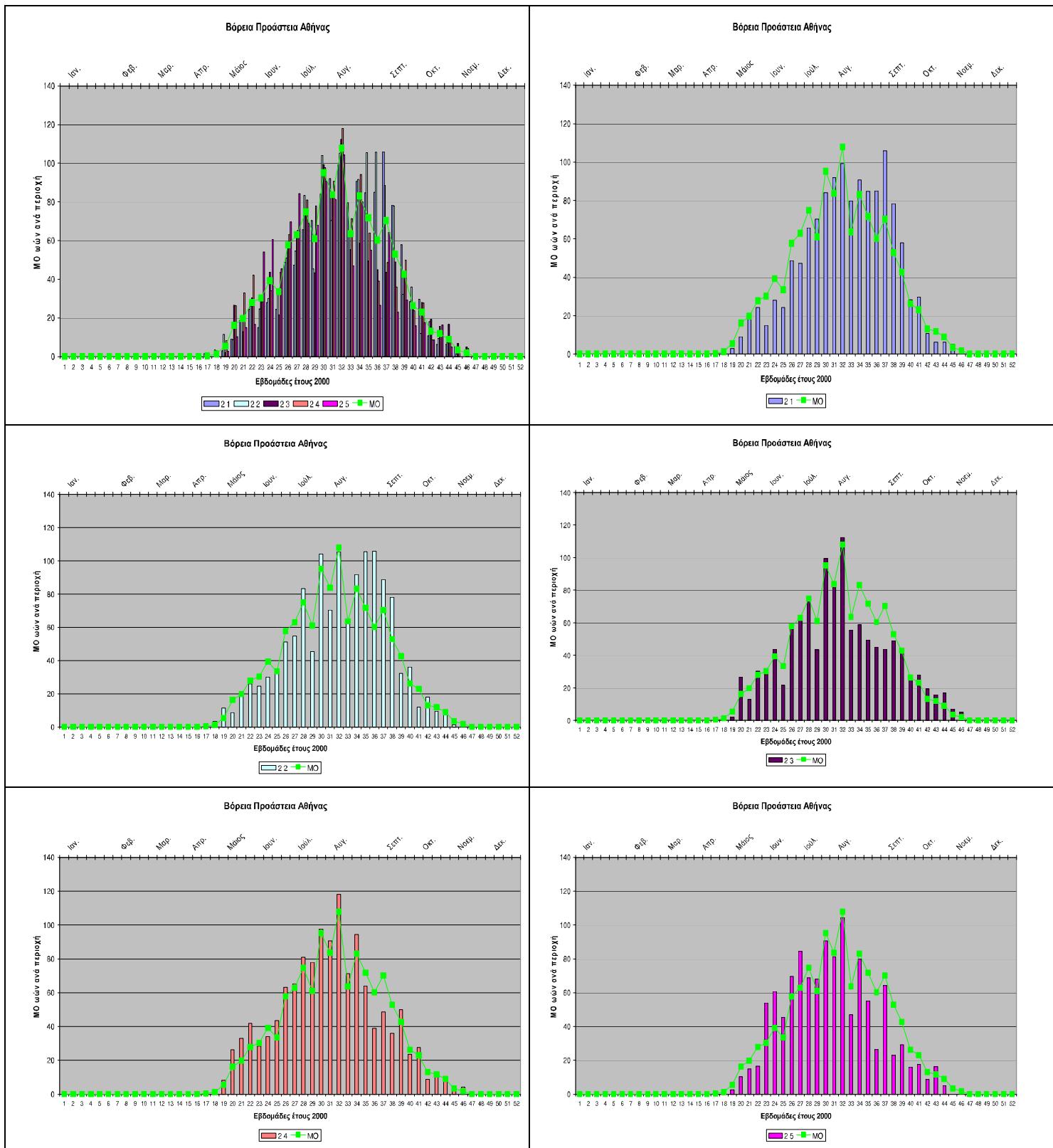
Γεωγραφικές Ζώνες	2000	2001	2002	ΣΥΝΟΛΟ
Αριθμός παγίδων με υπόστρωμα				
1. Περιοχή Κέντρου Αθήνας	691	596	667	1954
2. Βόρεια Προάστια	679	597	671	1947
3. Παρ. Ζώνη Σαρωνικού	676	599	669	1944
4. Ανατολική Αττική	676	600	668	1944
5. Δυτικές Συνοικίες	677	598	664	1939
ΣΥΝΟΛΟ	3399	2990	3339	9728
Αριθμός θετικών παγίδων				
1. Περιοχή Κέντρου Αθήνας	444	376	405	1225
2. Βόρεια Προάστια	354	314	344	1012
3. Παρ. Ζώνη Σαρωνικού	308	302	300	910
4. Ανατολική Αττική	402	363	395	1160
5. Δυτικές Συνοικίες	364	344	357	1065
ΣΥΝΟΛΟ	1872	1699	1801	5372
Αριθμός ωών				
1. Περιοχή Κέντρου Αθήνας	18.689	22.344	22.273	63.306
2. Βόρεια Προάστια	18.287	21.308	20.589	60.184
3. Παρ. Ζώνη Σαρωνικού	15.044	15.514	15.613	46.171
4. Ανατολική Αττική	20.262	22.486	23.002	65.750
5. Δυτικές Συνοικίες	16.912	19.332	17.952	54.196
ΣΥΝΟΛΟ	89.194	100.984	99.429	289.607

Τα αποτελέσματα αυτά παρουσιάζονται διαγραμματικά στις παρακάτω Εικόνες (Εικόνα 3.14. έως Εικόνα 3.28). Σε κάθε εικόνα απεικονίζονται έξι γραφήματα. Το πρώτο γράφημα επάνω αριστερά κάθε εικόνας παριστάνει το συνολικό αποτέλεσμα από τις πέντε περιοχές της συγκεκριμένης γεωγραφικής ζώνης και για την συγκεκριμένη χρονιά που αναφέρεται. Τα υπόλοιπα πέντε γραφήματα δείχνουν τα αποτελέσματα της κάθε περιοχής ξεχωριστά.

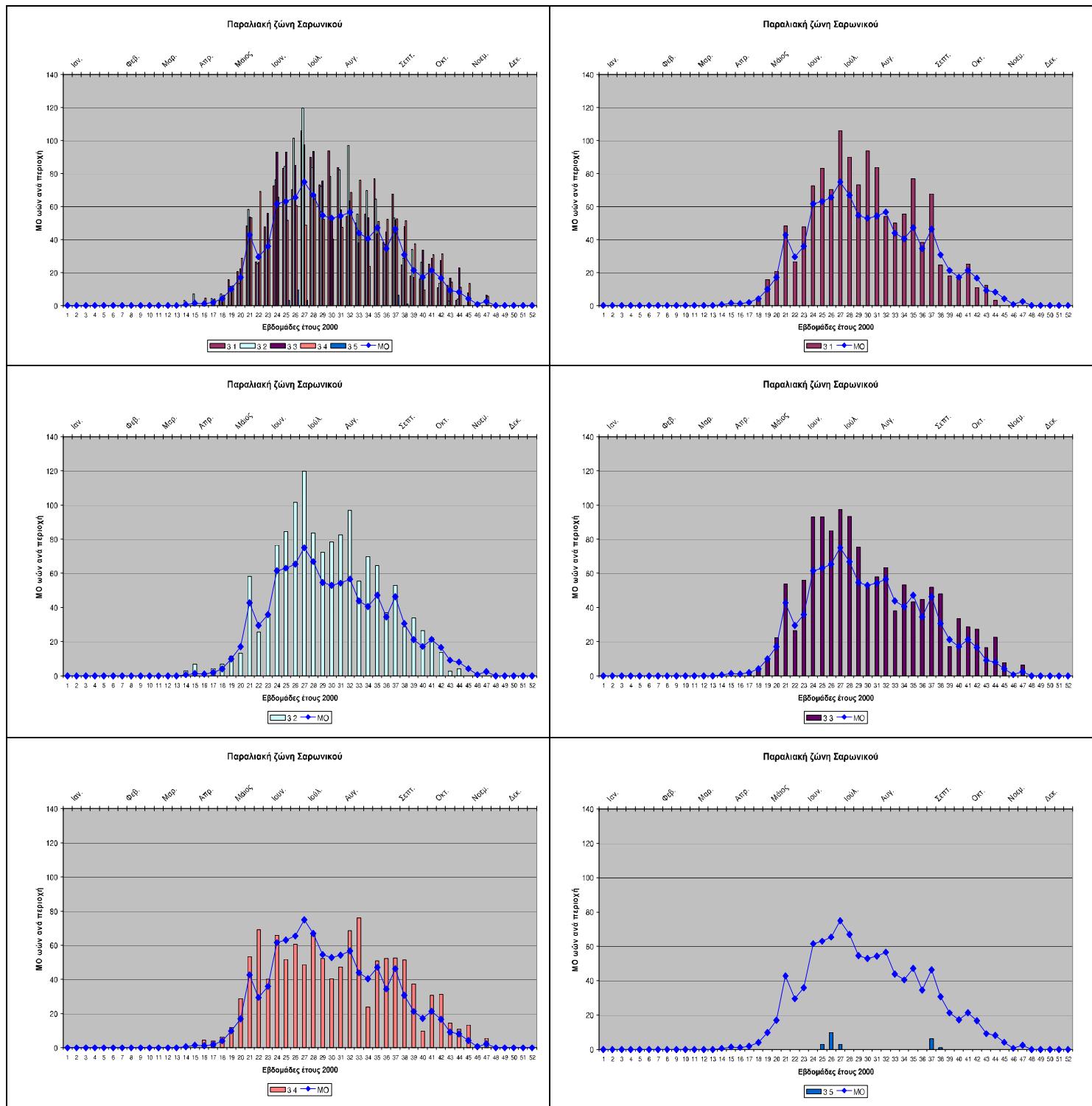
Κάθε στήλη αναπαριστά το μέσο όρο των ωών από 3 παγίδες. Η συνεχόμενη έντονη γραμμή που υπάρχει η ίδια και στα έξι γραφήματα της κάθε εικόνας αφορά στο συνολικό μέσο όρο όλων των ωών της συγκεκριμένης γεωγραφικής ζώνης (δηλαδή ο μέσος όρος από τις 5 περιοχές) για το συγκεκριμένο έτος και τοποθετήθηκε για σύγκριση της εικόνας κάθε περιοχής με την συνολική εικόνα της αντίστοιχης γεωγραφικής ζώνης.



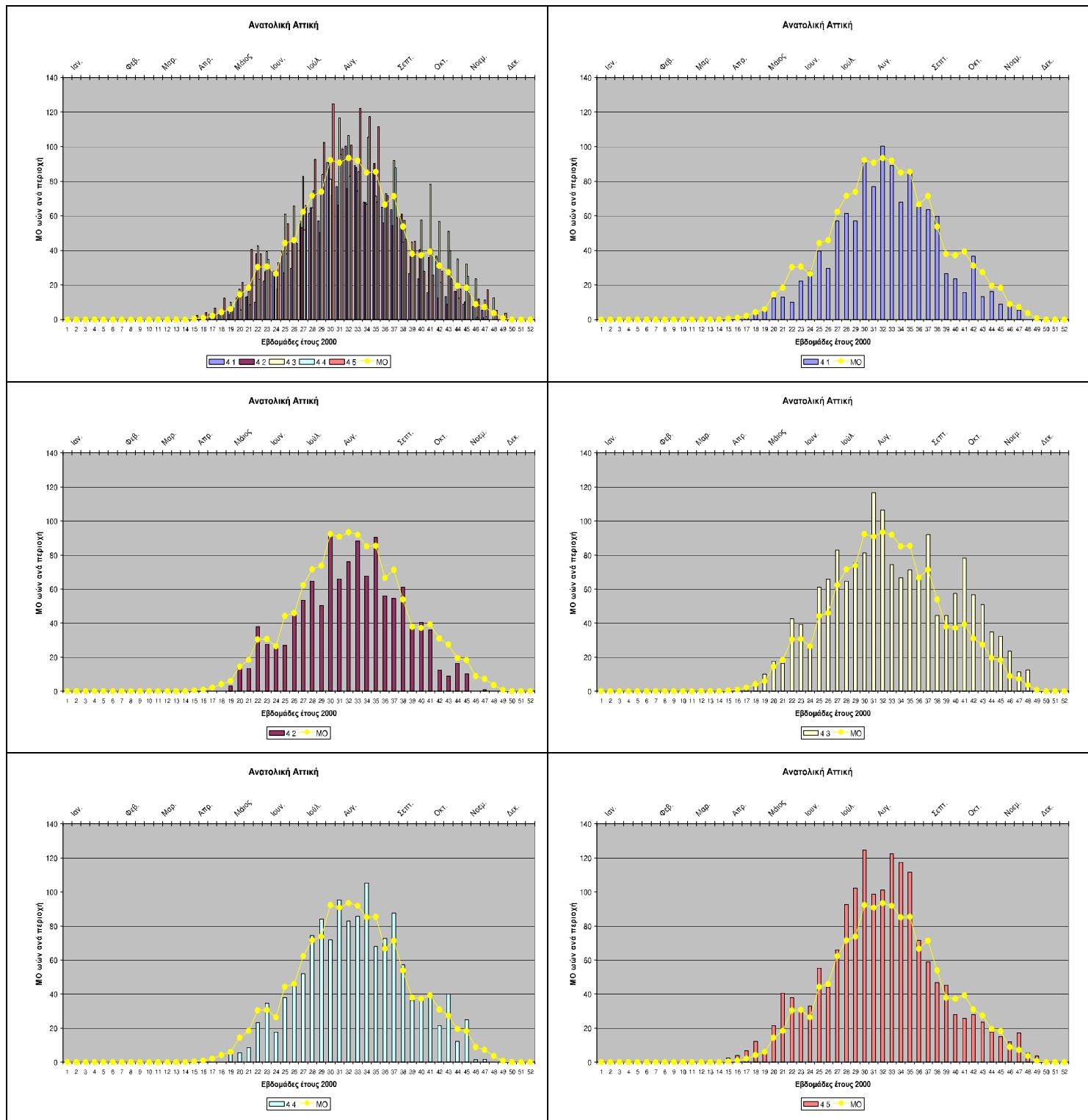
Εικόνα 3.14. Δειγματοληψίες έτους 2000. ΜΟ ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης της ευρύτερης περιοχής του Κέντρου της Αθήνας (Γεωγραφική Ζώνη 1) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



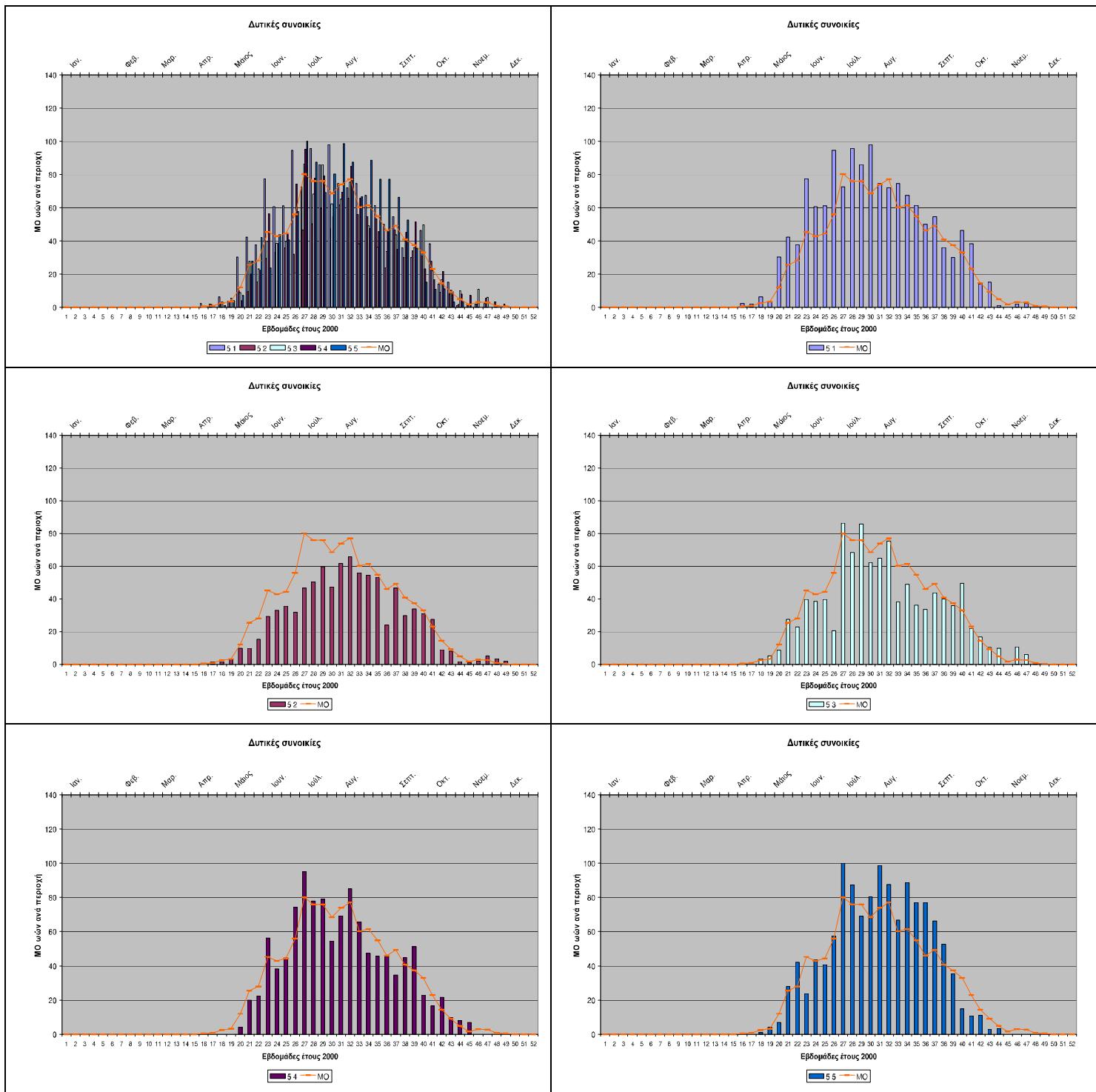
Εικόνα 3.15. Δειγματοληψίες έτους 2000. MO ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης των Βορείων Προαστίων (Γεωγραφική Ζώνη 2) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



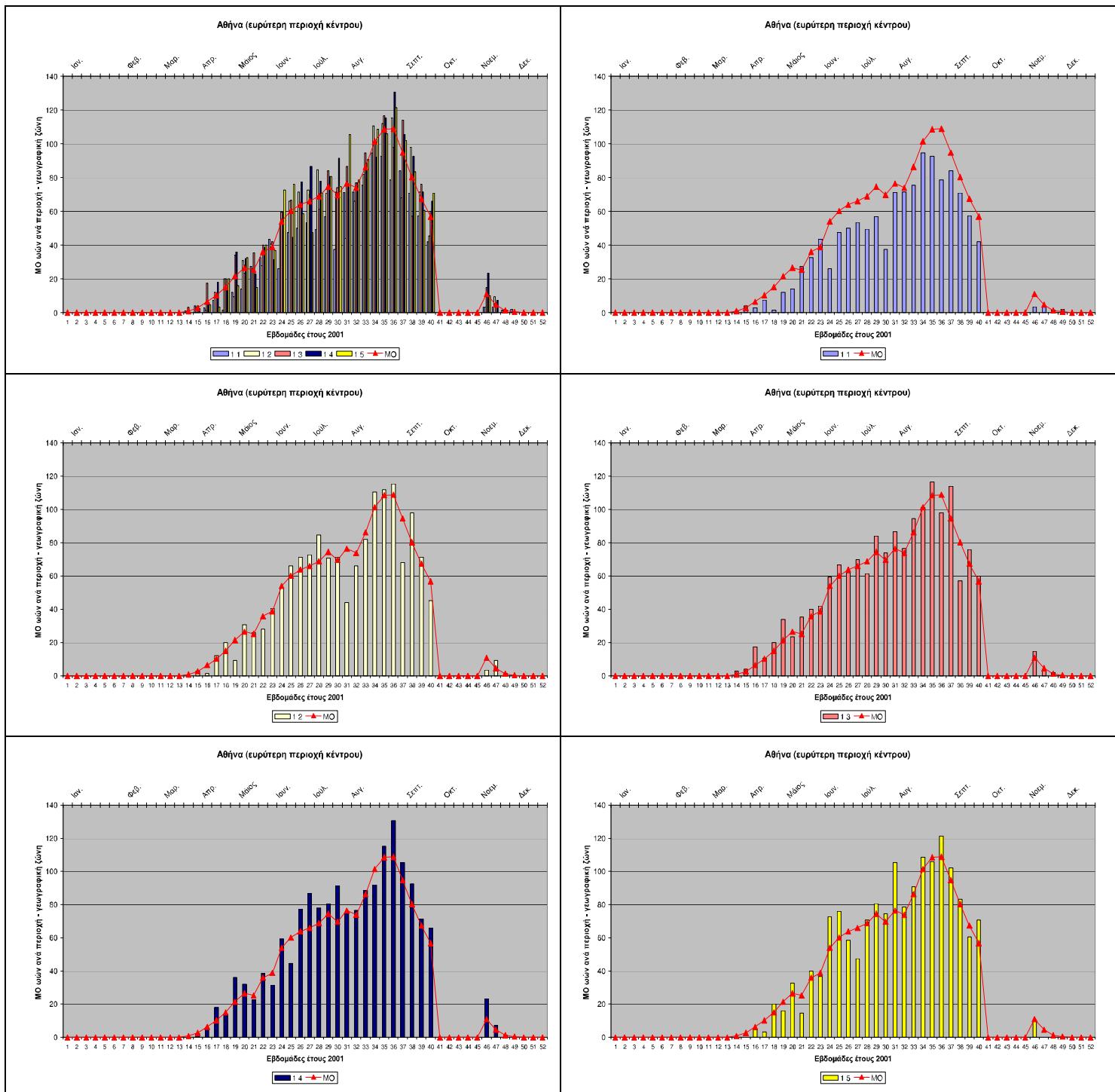
Εικόνα 3.16. Δειγματοληψίες έτους 2000. ΜΟ ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης της Παραλιακής Ζώνης του Σαρωνικού (Γεωγραφική Ζώνη 3) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



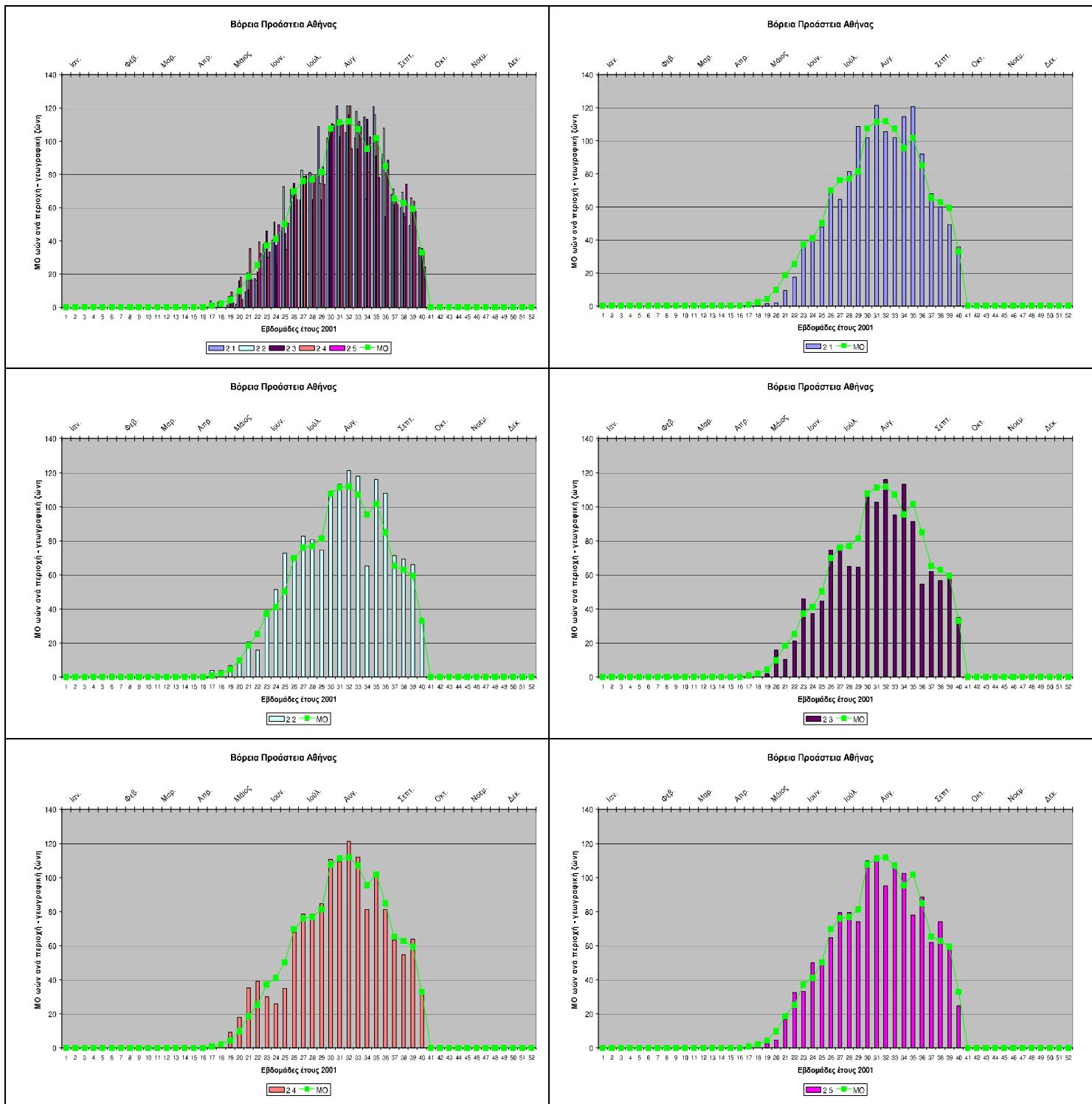
Εικόνα 3.17. Δειγματοληψίες έτους 2000. ΜΟ ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης της Ανατολικής Αττικής (Γεωγραφική Ζώνη 4) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



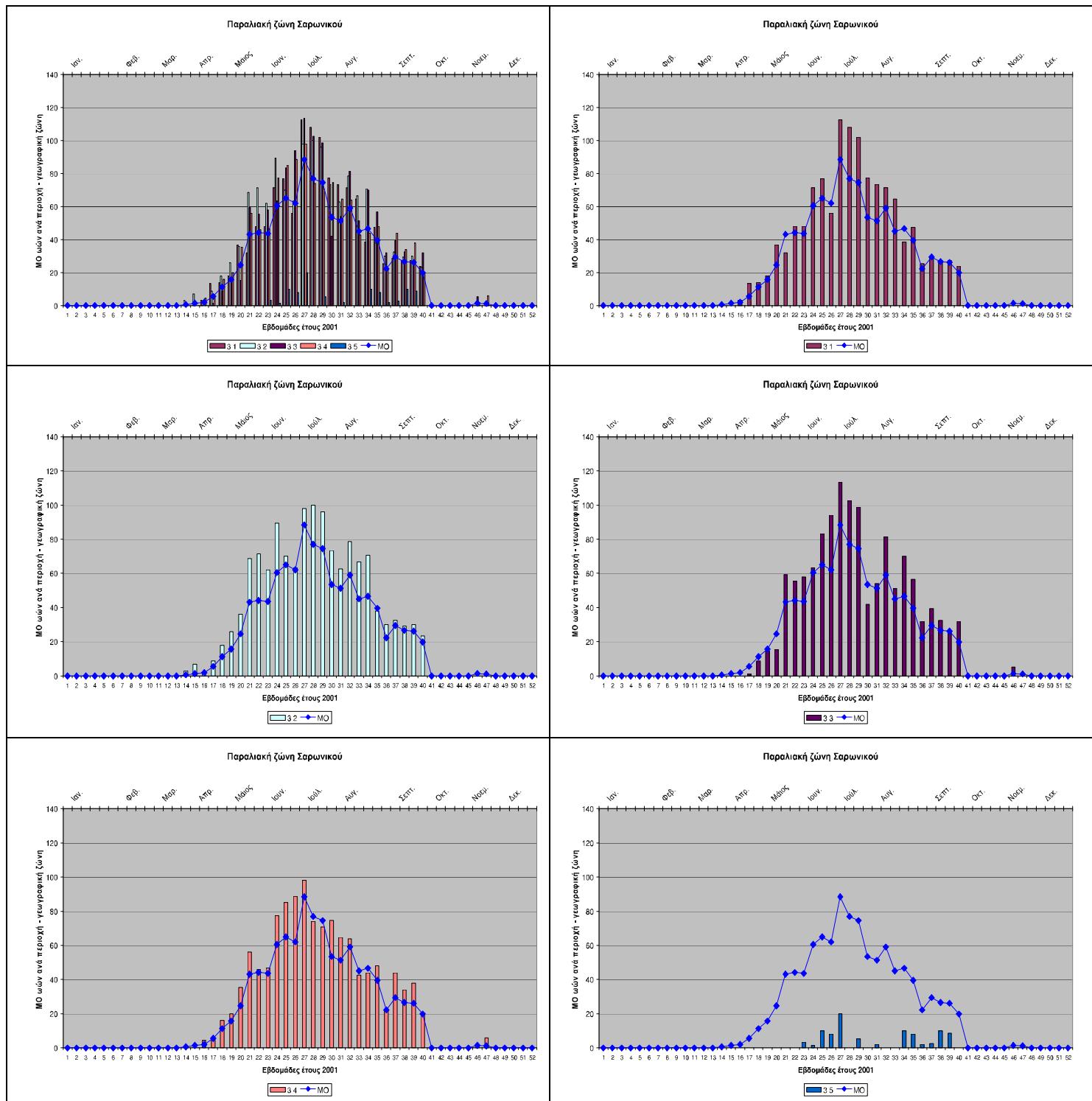
Εικόνα 3.18. Δειγματοληψίες έτους 2000. MO ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης των Δυτικών Συνοικιών της Αθήνας (Γεωγραφική Ζώνη 5) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



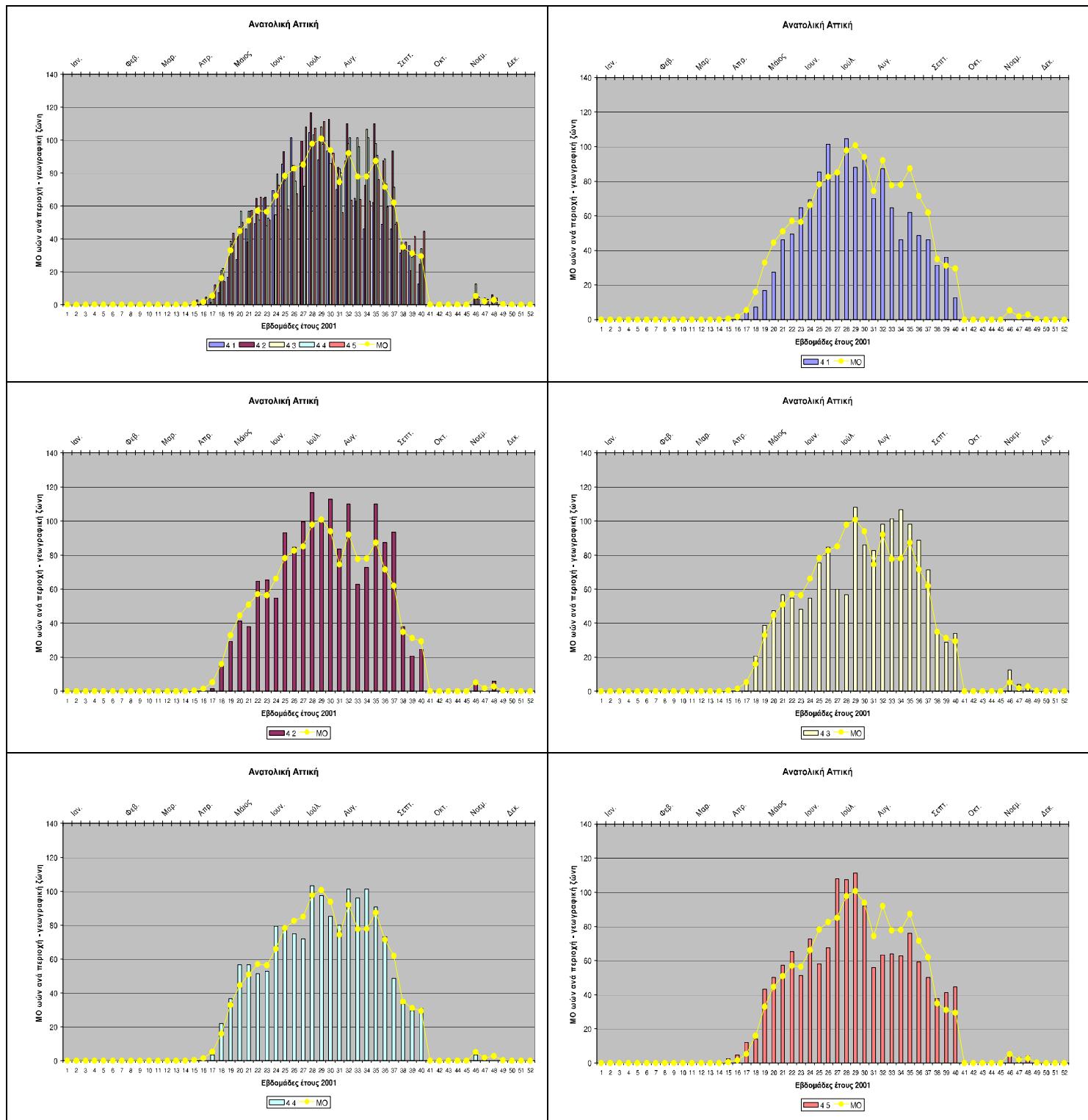
Εικόνα 3.19. Δειγματοληγίες έτους 2001. MO ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης της ευρύτερης περιοχής του Κέντρου της Αθήνας (Γεωγραφική Ζώνη 1) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



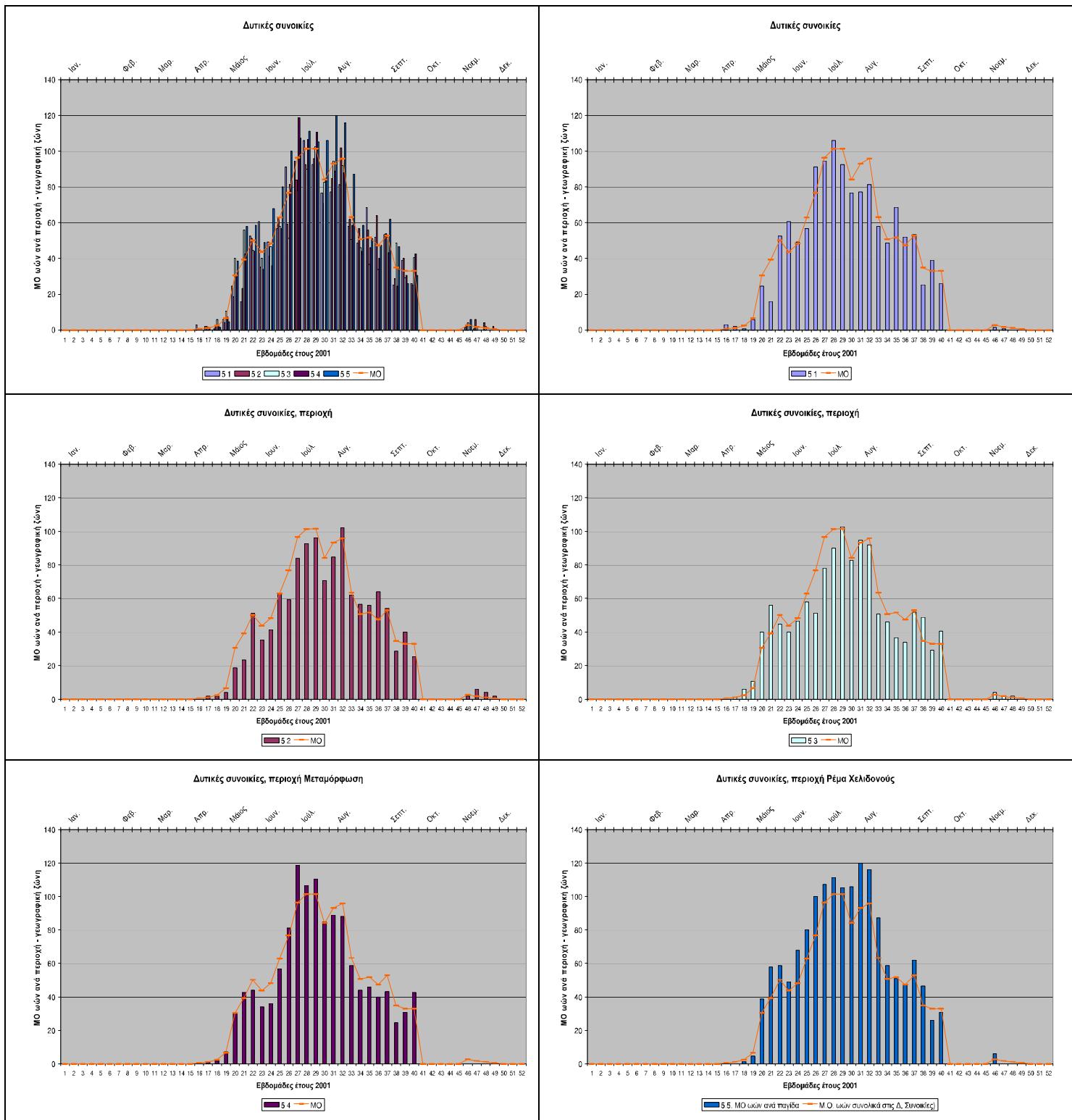
Εικόνα 3.20. Δειγματοληψίες έτους 2001. MO ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης των Βορείων Προαστίων (Γεωγραφική Ζώνη 2) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



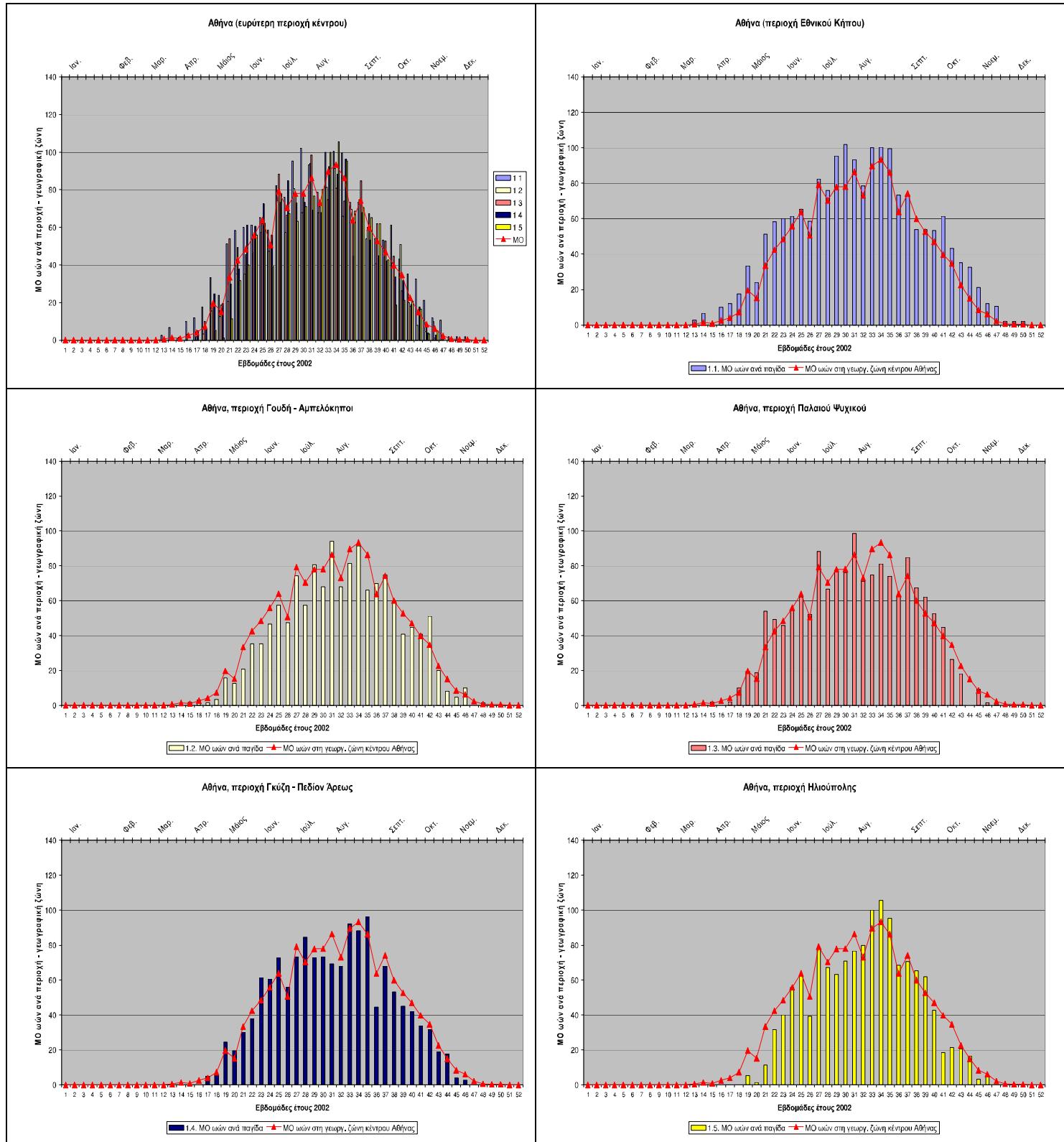
Εικόνα 3.21. Δειγματοληψίες έτους 2001. ΜΟ ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης της Παραλιακής Ζώνης του Σαρωνικού (Γεωγραφική Ζώνη 3) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



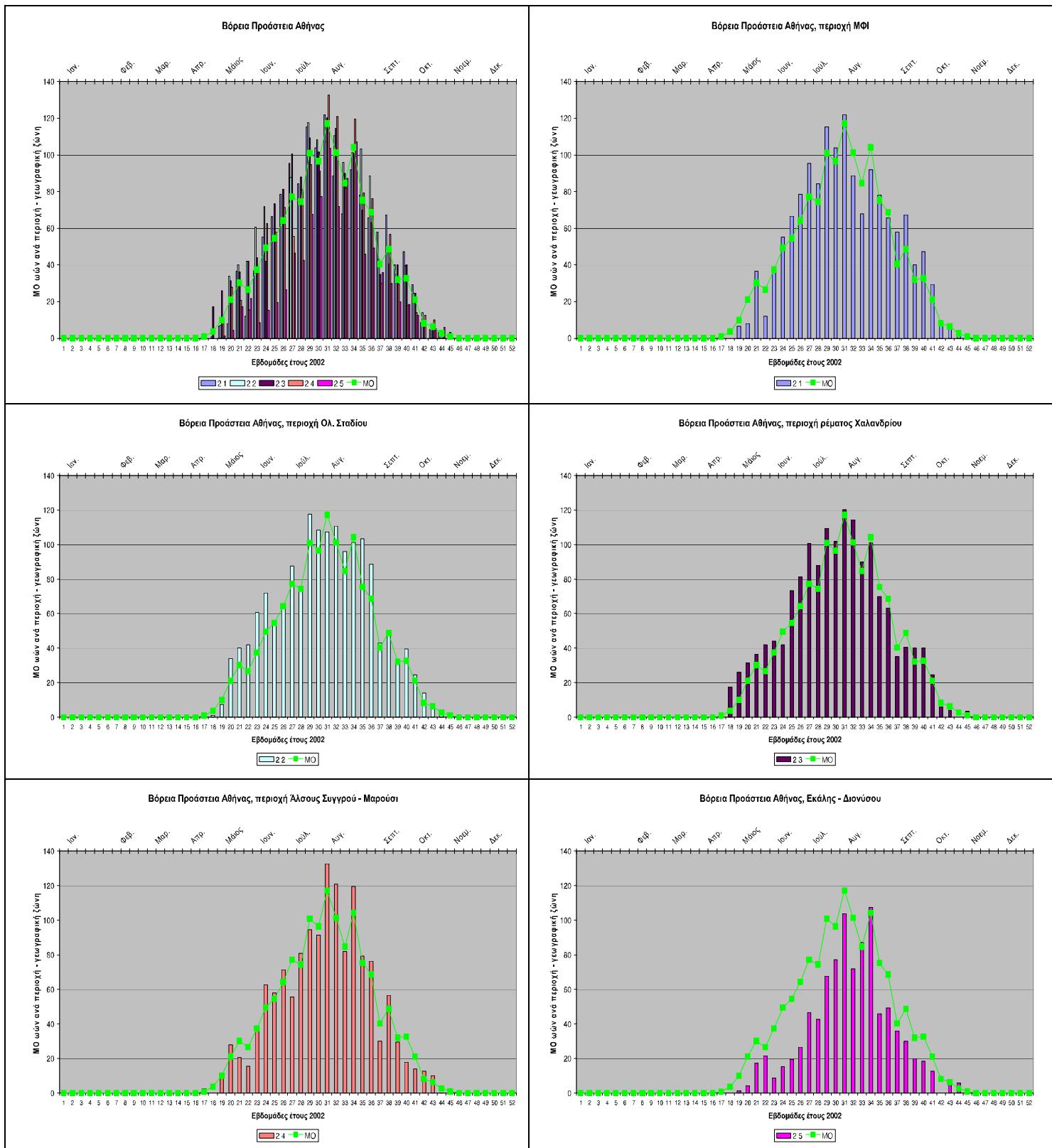
Εικόνα 3.22. Δειγματοληψίες έτους 2001. MO ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης της Ανατολικής Αττικής (Γεωγραφική Ζώνη 4) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



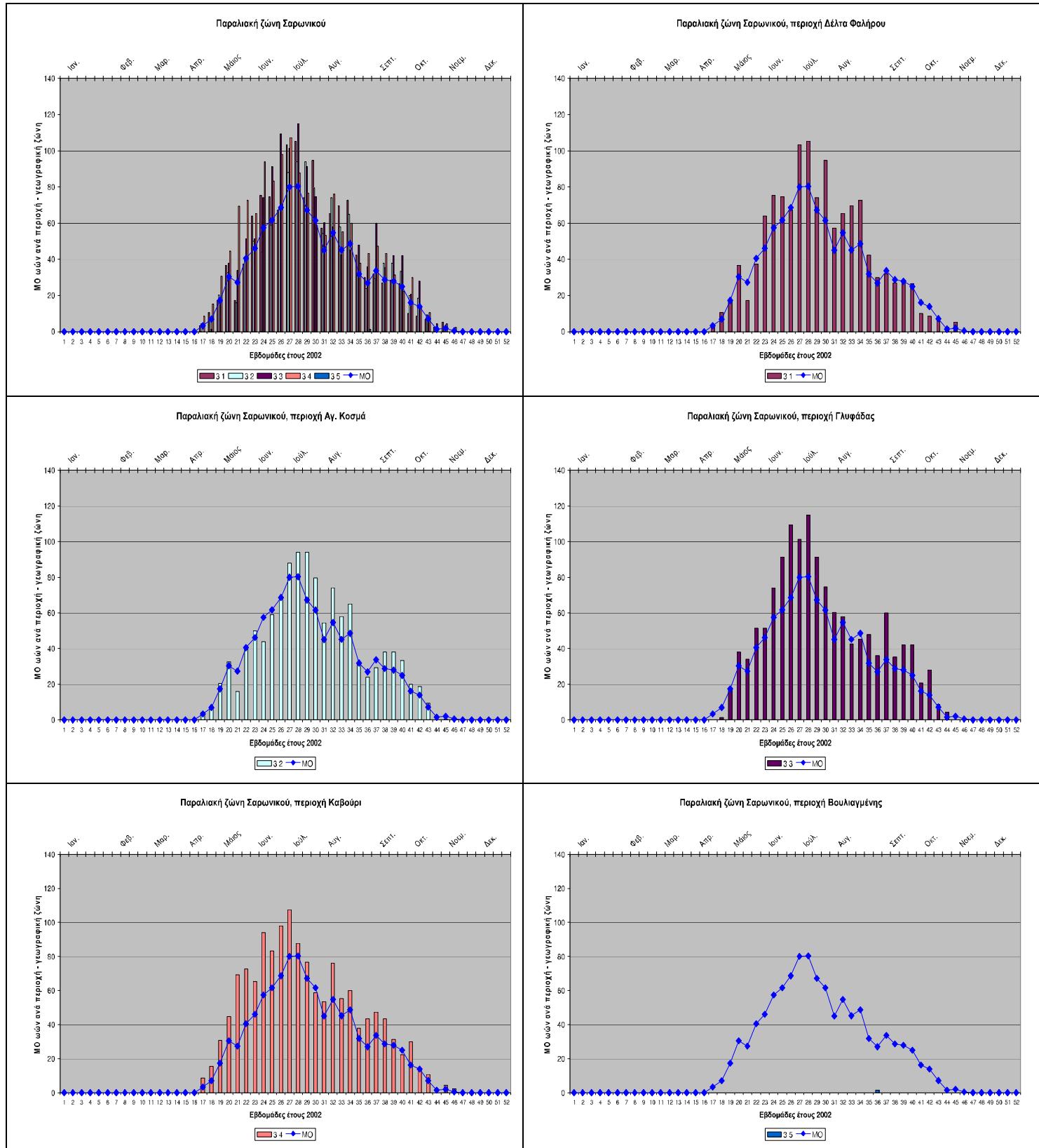
Εικόνα 3.23. Δειγματοληψίες έτους 2001. MO ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης των Δυτικών Συνοικιών της Αθήνας (Γεωγραφική Ζώνη 5) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



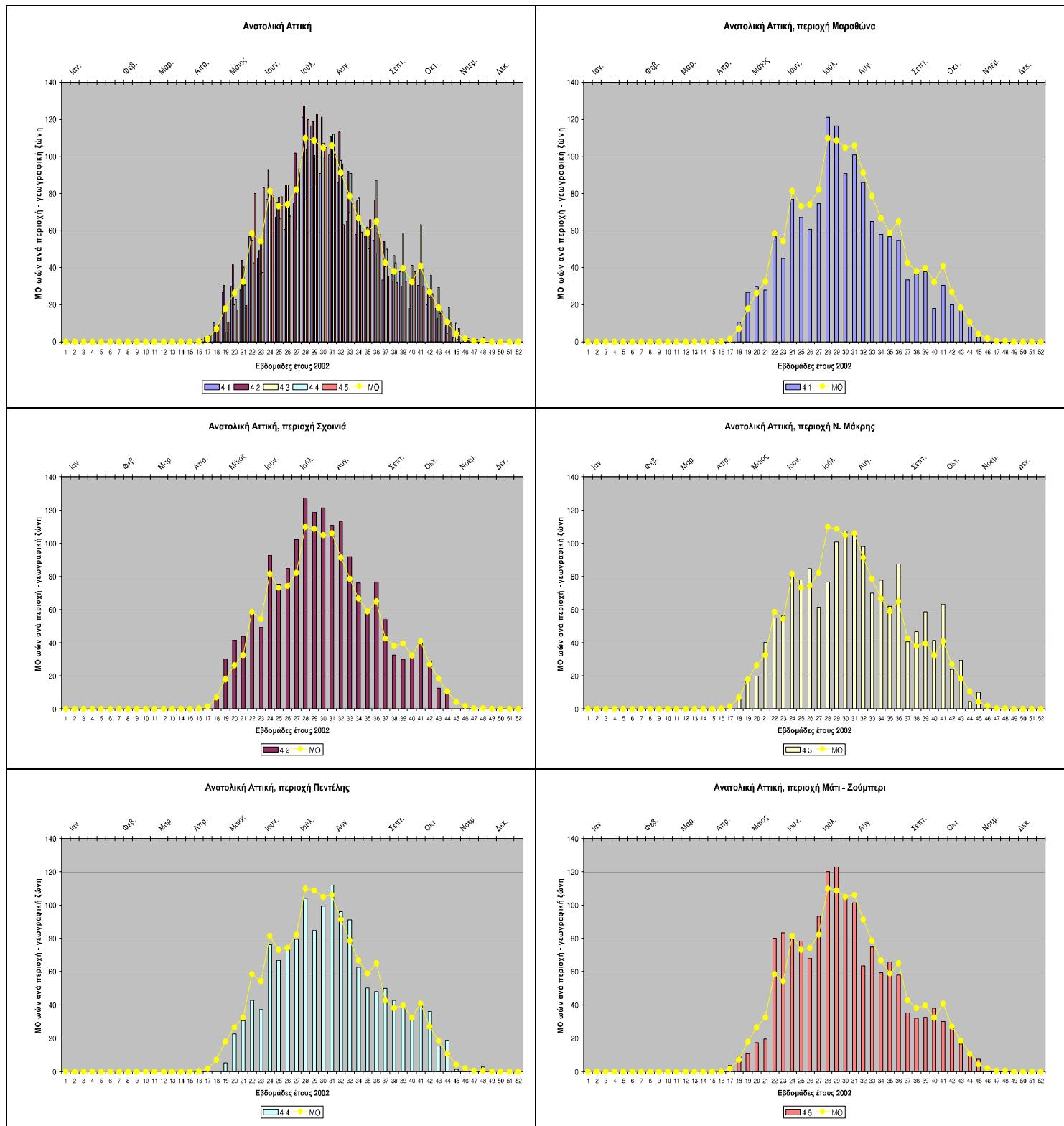
Εικόνα 3.24. Δειγματοληγίες έτους 2002. MO ωών συνολικά για τις περιοχές μελέτης της ευρύτερης περιοχής του Κέντρου της Αθήνας (Γεωγραφική Ζώνη 1) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



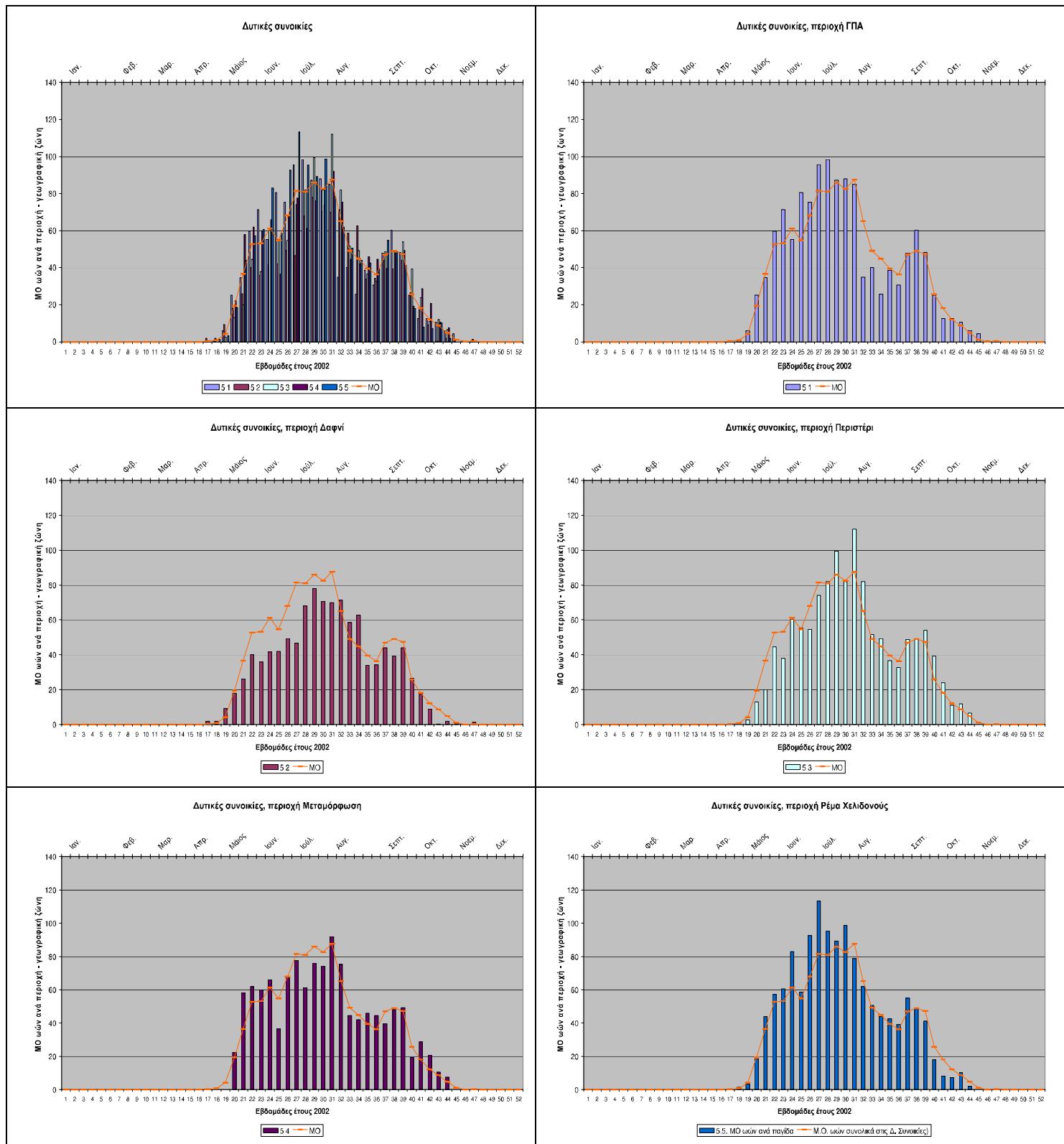
Εικόνα 3.25. Δειγματοληγίες έτους 2002. MO ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης των Βορείων Προαστίων (Γεωγραφική Ζώνη 2) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



Εικόνα 3.26. Δειγματοληψίες έτους 2002. ΜΟ ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης της Παραλιακής Ζώνης του Σαρωνικού (Γεωγραφική Ζώνη 3) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



Εικόνα 3.27. Δειγματοληψίες έτους 2002. MO ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης της Ανατολικής Αττικής (Γεωγραφική Ζώνη 4) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.



Εικόνα 3.28. Δειγματοληγίες έτους 2002. ΜΟ ωάν συνολικά για τις περιοχές μελέτης των Δυτικών Συνοικιών της Αθήνας (Γεωγραφική Ζώνη 5) και αποτελέσματα για κάθε περιοχή χωριστά.

Όπως φαίνεται από τους παραπάνω Πίνακες (Πίνακας 3.3. έως Πίνακας 3.8.) καθώς και από τα σχετικά διαγράμματα των Εικόνων 3.14. έως και 3.28. η παρουσία του είδους *Ae. cretinus* καταγράφηκε σε όλες τις περιοχές μελέτης και στα 3 έτη δειγματοληψιών με σταθερά αναπαραγόμενους πληθυσμούς, με εξαίρεση την περιοχή της Βουλιαγμένης στην παραλιακή ζώνη του Σαρωνικού. Στη συγκεκριμένη περιοχή το είδος καταγράφονταν σποραδικά και σε πολύ μικρούς πληθυσμούς σύμφωνα πάντα με τους αριθμούς των ωών που συλλέχθηκαν.

Η μεγάλη διασπορά και οι πληθυσμοί του *Ae. cretinus* σε όλες τις γεωγραφικές ζώνες του Νομού Αττικής που μελετήθηκαν επιβεβαιώνει σε μεγάλο ποσοστό ότι το είδος διαβιούσε στην περιοχή επί πολλά χρόνια και δεν είναι αποτέλεσμα τυχαίας εισαγωγής απόμονων ή εγκατάστασης κατά τα τελευταία έτη.

Οι πρώτες εναποθέσεις κάθε έτος καταγράφηκαν στην περιοχή του κέντρου της Αθήνας και ήταν το διάστημα 20-25 Μαρτίου (12^η εβδομάδα), για το έτος 2000 (Εικόνα 3.14.), το διάστημα 2-7 Απριλίου (14^η εβδομάδα) για το 2001 (Εικόνα 3.19.) και το διάστημα 25-30 Μαρτίου (13^η εβδομάδα) για το 2002 (Εικόνα 3.24.). Όπως είναι φυσικό οι πρώτες συλλήψεις έγιναν σε περιορισμένο αριθμό παγίδων και γενικά πρόκειται για πολύ μικρό αριθμό ωών. Χαρακτηριστικό επίσης των ωών αυτών είναι ότι μόνο σε μικρό ποσοστό έγινε δυνατή η εκκόλαψη τους στο Εργαστήριο.

Αντίστοιχα, οι τελευταίες συλλήψεις κάθε έτους έγιναν στο διάστημα 4-9 Δεκεμβρίου (49^η εβδομάδα) για το έτος 2000 (Εικόνες 3.14., 3.17. και 3.18.), το διάστημα 3-8 Δεκεμβρίου (49^η εβδομάδα) για το 2001 (Εικόνα 3.23.) και 9-14 Δεκεμβρίου (50^η εβδομάδα) για το 2002 (Εικόνα 3.24.).

Σε γενικές γραμμές το ποσοστό των θετικών παγίδων, δηλαδή των παγίδων που έφεραν ωά κουνουπιών στο υπόστρωμα ωοθεσίας, αύξανε ομαλά και από τα μέσα περίπου του Μαΐου οι ωοθεσίες ήταν συνεχείς. Οι υψηλότερες τιμές των ωοθεσιών καταγράφηκαν το διάστημα από Ιούλιο έως Σεπτέμβριο αν και παρατηρούνται μικρές διαφοροποιήσεις από έτος σε έτος.

Η πυκνότητα του πληθυσμού όπως φαίνεται στα σχετικά διαγράμματα (Εικόνες 3.14. έως και 3.28.), αυξάνονταν ιδιαίτερα κατά τους θερμούς μήνες και κυρίως το διάστημα Ιούνιο έως Σεπτέμβριο, και σε αρκετές περιοχές, η πυκνότητα του πληθυσμού ξεπερνούσε τα 100 ωά ανά παγίδα.

Συμπερασματικά, με βάση τα στοιχεία των δειγματοληψιών από τις παγίδες ωοθεσίας μπορούμε να συμπεράνουμε ότι το *Ae. cretinus* διατηρεί μόνιμα εγκαταστημένους πληθυσμούς στο Νομό Αττικής και η παρουσία του είναι εμφανής σε όλες τις γεωγραφικές ζώνες του Νομού. Από τις παρατηρήσεις μάλιστα φαίνεται ότι οι πληθυσμοί του είναι σχετικά ομοιόμορφα κατανευμημένοι στην υπό μελέτη περιοχή, με εξαίρεση ίσως την περιοχή της Βουλιαγμένης, στη νοτιοδυτική παράλια ζώνη όπου γενικά το *Ae. cretinus* δεν εντοπίζονταν σε αξιόλογους πληθυσμούς.

Κατά τη διάρκεια του έτους το *Ae. cretinus* είναι δραστήριο τουλάχιστον για 9 μήνες κάθε χρόνο ενώ η δραστηριότητα των θηλυκών για ωοτοκία αρχίζει την άνοιξη (συνήθως τον Απρίλιο), φτάνει στο απόγειο το καλοκαίρι ή και νωρίς το φθινόπωρο και σταματά κατά τα τέλη Οκτώβρη ή αρχές Νοέμβρη. Φυσικά οι καιρικές συνθήκες και ειδικά οι βροχοπτώσεις

και η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσουν το χρονοδιάγραμμα αυτό, αλλά σε μικρό όμως βαθμό.

Σημαντικές διαφορές ως προς την παρουσία και τους πληθυσμούς από έτος σε έτος για τα 3 χρόνια της μελέτης δεν φαίνονται να υπάρχουν παρά το γεγονός ότι τουλάχιστον από πλευράς βροχοπτώσεων υπήρχαν σημαντικές διαφοροποιήσεις, από σχετικά ξηρή χρονιά το 2000 έως αρκετά υγρή το 2002. Σαφής μείωση των ωοτοκιών στις παγίδες είχαμε και όταν παρατηρούνταν αισθητή πτώση των θερμοκρασιών.

3.4.2. Αποτελέσματα των υπολοίπων μεθόδων δειγματοληψιών

3.4.2.1. Είδη δειγματοληψιών και εστίες που εξετάστηκαν

Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3.3., στην ευρύτερη περιοχή μελέτης πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες κουνουπιών και με άλλες μεθόδους εκτός από την παρακολούθηση του δικτύου παγίδων ωθεσίας. Ο σκοπός ήταν πρωτίστως η καταγραφή, εκτός του *Ae. cretinus*, κατά το δυνατό των περισσότερων ειδών κουνουπιών που δραστηριοποιούνται στην Αττική και κατά δεύτερο λόγο η συγκέντρωση στοιχείων που αφορούν στις προτιμώμενες εστίες ανάπτυξης των ειδών αυτών, την περίοδο του έτους κατά την οποία δραστηριοποιούνται, και σε μικρότερο βαθμό τους σχετικούς πληθυσμούς ή την αφθονία ατόμων κάποιου είδους και αξιολόγηση της ανθρωποφιλίας τους.

Έτσι, κατά τη διάρκεια των ετών 2000 έως και 2002, πραγματοποιήθηκαν:

- α) Δειγματοληψίες προνυμφών κουνουπιών από πιθανές εστίες ανάπτυξής τους.
- β) Συλλήψεις τέλειων κουνουπιών από τα σημεία ανάπτυξής τους.
- γ) Συλλήψεις τέλειων κουνουπιών με τη μέθοδο του «ανθρώπινου δολώματος».

Κατά τη διάρκεια της μελέτης πραγματοποιήθηκαν περισσότερες από 550 δειγματοληψίες, σε περισσότερες από 90 διαφορετικές εστίες ανάπτυξης προνυμφών. Ο αριθμός βέβαια των υδάτινων συλλογών που ελέγχθηκαν για παρουσία προνυμφών είναι πολύ μεγαλύτερος αλλά τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται αφορούν μόνο σε εστίες στις οποίες έστω και μια φορά εντοπίστηκαν προνύμφες κουνουπιών.

Επίσης, στο κεφάλαιο αυτό αναφέρονται και οι παρατηρήσεις από προνύμφες κουνουπιών ή σχεδίες ωών που εντοπίστηκαν μέσα στις παγίδες ωθεσίας, κατά τις σχετικές επισκοπήσεις. Τα αποτελέσματα των παρατηρήσεων αυτών έχουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς αφορούν στα είδη κουνουπιών που μοιράζονται το ίδιο ενδιαίτημα με το είδος *Ae. cretinus*.

Οι εστίες που ελέγχθηκαν και εμφάνισαν έστω και μια φορά προνύμφες κουνουπιών, μπορούν να ομαδοποιηθούν στις παρακάτω κατηγορίες:

A) **Μεγάλες φυσικές εστίες ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών.** Οι συγκεκριμένες εστίες στην πλειοψηφία τους βρίσκονται εκτός του αστικού περιβάλλοντος και ανάλογα με τον τύπο τους είναι:

- **Έλη ή Βάλτοι:** Είναι κυρίως η μεγάλης έκτασης περιοχή του Εθνικού πάρκου του Σχοινιά, με βάθος νερού 5-35 εκατοστά, στα σημεία που εντοπίστηκαν προνύμφες κουνουπιών. Πολύ μικρότερης έκτασης ελώδεις εκτάσεις εντοπίστηκαν και στην περιοχή της Βραυρώνας και στο Πόρτο Ράφτη. Σε όλα σχεδόν υπάρχει σημαντική παρουσία υδροχαρών φυτών (Εικόνα 3.29.).
- **Υφάλμυρα παράκτια έλη:** Τυπική τέτοια εστία από όπου λαμβάνονταν παρατηρήσεις ήταν ο Αλμυρόβαλτος και το Στόμι στην άκρη του πάρκου Σχοινιά, δίπλα στη χερσόνησο της Κυνοσούρας. Χαρακτηριστικό της εστίας είναι ότι το θαλασσινό νερό εισχωρεί με ευκολία στο χερσαίο τμήμα (Εικόνα 3.30.).
- **Χαντάκια - Τάφροι - Κανάλια:** Υπάρχουν διάσπαρτες εστίες σε όλη την αγροτική περιοχή της Ανατολικής Αττικής γενικότερα. Συνήθως έχουν λασπώδη ή αμμώδη πυθμένα και σε ορισμένες περιπτώσεις έντονη βλάστηση ενώ το βάθος νερού κυμαίνεται συνήθως από 2,5 έως 10 εκατοστά. Τις ξηρές περιόδους συνήθως αποξηραίνονται για μεγάλο χρονικό διάστημα (Εικόνα 3.31.).
- **Ρυάκια - Ρέματα - Μικρά ποτάμια:** Βάθος νερού 10-40 εκατοστά συνήθως με απότομα πρανή και αναδυόμενη βλάστηση στις όχθες. Σε πολλές περιπτώσεις, ιδίως του Μαραθώνα – Σχοινιά υπήρχε παρουσία ψαριών, κυρίως του γένους *Gambusia* (Εικόνα 3.32.).
- **Μεγάλες μόνιμες λιμνούλες ή δεξαμενές:** Συνήθως βαθιές εστίες με απότομα πρανή και αναδυόμενη βλάστηση στις όχθες και παρουσία ψαριών καθώς και βατράχων. Τυπική εστία αυτής της κατηγορίας είναι η Μακαρία Πηγή και η διπλανή της λίμνη (Εικόνα 3.33.).
- **Ρηγές εφήμερες υδατοσυλλογές:** Το βάθος του νερού συνήθως δεν ξεπερνά τα 2,5-10 εκατοστά ενώ η κάλυψη με βλάστηση είναι σε ποσοστό λιγότερο από το 10%. Δεν συναντώνται ψάρια αλλά σε μερικές περιπτώσεις υπήρχε παρουσία βατράχων όταν η έκτασή τους ήταν 5-10 μέτρα σε διάμετρο. Τις ξηρές περιόδους χωρίς βροχές αποξηραίνονται (Εικόνα 3.34.).
- **Υδατοσυλλογές με πλούσιο οργανικό φορτίο:** Συνήθως βρίσκονται δίπλα ή κοντά σε κτηνοτροφικές εγκαταστάσεις, στάνες ή άλλες γεωργικές εκμεταλλεύσεις στην Ανατολική Αττική αλλά και σε άλλα σημεία όπως της Δυτικής Αθήνας. Το βάθος νερού είναι περίπου 5-10 εκατοστά και πολλές φορές είναι σε ακάλυπτο έδαφος χωρίς ιδιαίτερη βλάστηση (Εικόνα 3.35.).



Εικόνα 3.29. Ελώδεις εστίες ανάπτυξης κουνουπιών στην ευρύτερη περιοχή του Σχοινιά.



Εικόνα 3.30. Υφάλμυρα παράκτια έλη, που τροφοδοτούνται με θαλασσινό νερό, στο Σχοινιά.



Εικόνα 3.31. Κανάλι και απόληξη αποστραγγιστικού αγωγού στην περιοχή της Ανατολικής Αττικής.



Εικόνα 3.32. Φυσικά ρέματα ή μικροί ποταμοί της Αττικής στις παρυφές των οποίων (όπου η ροή του νερού είναι αργή) αναπτύσσονται προνύμφες κουνουπιών.



Εικόνα 3.33. Φυσικές λίμνες στην Αττική με αξιόλογη παραγωγή πληθυσμών κουνουπιών. Στην αριστερή εικόνα απεικονίζεται η λίμνη της Βουλιαγμένης και στη δεξιά η λίμνη που σχηματίζεται από τη Μακαρία Πηγή.



Εικόνα 3.34. Εφήμερες υδατοσυλλογές οι οποίες σχηματίζονται από τα νερά της βροχής.



Εικόνα 3.35. Υδατοσυλλογές με πλούσιο οργανικό φορτίο.

B. **Εστίες ανάπτυξης κουνουπιών μέσα σε κατοικημένες περιοχές.** Οι εστίες αυτές μπορεί να είναι τεχνητές ή φυσικές και περιλαμβάνουν στην ουσία κάθε μόνιμη ή ημιμόνιμη συγκέντρωση νερού. Ενδεικτικά, οι συχνότερες μικρές σε έκταση εστίες που συναντάμε στην Αττική μπορούν να ενταχθούν στις ακόλουθες κατηγορίες:

- Ρέματα και ανοιχτά κανάλια.
- Αποχετεύσεις ομβρίων υδάτων.
- Ανοιχτοί βόθροι και ανοικτά κανάλια διοχέτευσης λημμάτων.
- Δοχεία μεταφοράς ή φύλαξης νερού (κουβάδες – δεξαμενές).
- Πισίνες που δεν συντηρούνται, σιντριβάνια και διακοσμητικές λιμνούλες.
- Διαρροές από αρδευτικά συστήματα δημόσιων ή ιδιωτικών κήπων.
- Δοχεία με μεγάλο άνοιγμα (καροτσάκια, ανοίγματα στο έδαφος, λεκάνες πλυσίματος, βάρκες, βαρέλια).
- Δοχεία με στενό άνοιγμα (κονσερβοκούτια, βάζα, αγγεία, ανθοδοχεία, μπουκάλια).
- Διάφορα αντικείμενα που συγκρατούν νερό (πιατάκια γλαστρών, πλαστικά ποτήρια, σωλήνες κλπ.).
- Παλιά ελαστικά αυτοκινήτων.
- Φυσικές κοιλότητες δένδρων.
- Ποτίστρες ζώων.
- Πηγάδια.



Εικόνα 3.36. Σημαντικές εστίες ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών που απαντώνται σε αστικές περιοχές του Νομού Αττικής.

Ο έλεγχος των πιθανών εστιών κουνουπιών στις διάφορες γεωγραφικές ζώνες μελέτης, διενεργούνταν περίπου κάθε 15 ημέρες, για αντιπροσωπευτικές εστίες από τις παραπάνω κατηγορίες εστιών. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι οι δειγματοληψίες στις εστίες ανάπτυξης κουνουπιών επηρεάζονται σημαντικά από τη μεταβολή στο ύψος του νερού και της γενικότερης κατάστασης των εστιών, κατά τη διάρκεια του έτους. Αυτό είναι περισσότερο έντονο σε μια περιοχή με μεγάλη ποικιλία εστιών όπως η Αττική όπου ανάλογα με την περίοδο του έτους και τις καιρικές συνθήκες που επικρατούν τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο, πολλές από τις εστίες εξαφανίζονται ενώ νέες μπορεί να δημιουργηθούν πχ. μετά από έντονη βροχόπτωση ή να ανακαλυφθούν νέες εστίες σε άλλα σημεία.

Όπως ειπώθηκε σκοπός της συγκεκριμένης εργασίας ήταν κυρίως ο εντοπισμός των διαφόρων ειδών κουνουπιών στις διαφορετικές εστίες και όχι η εξαντλητική μελέτη κάποιων συγκεκριμένων τύπων εστιών.

Σχετικά με τις συλλογές τέλειων κουνουπιών από τα σημεία ανάπτυξής τους πραγματοποιήθηκαν έρευνες και συλλήψεις σε διαφόρους τύπους «κλασικών» σημείων διημέρευσης τέλειων κουνουπιών, όπως σε στάβλους, πτηνοτροφεία, σπιτάκια κατοικίδιων ζώων, στο άνοιγμα φρεατίων ή δεξαμενών, σε άλλα φυσικά καταφύγια καθώς και στη βλάστηση δίπλα στις εστίες ανάπτυξης προνυμφών.

Και σε αυτή την περίπτωση οι δειγματοληψίες πραγματοποιούνταν κάθε 15 περίπου ημέρες αλλά θα πρέπει να σημειωθεί ότι οι συλλογές συμπληρώνονταν και με τυχαίες συλλογές από οικίες, κοινόχρηστες τουαλέτες και άλλα σημεία που μπορεί να φιλοξενούν περιστασιακά τέλεια κουνούπια.

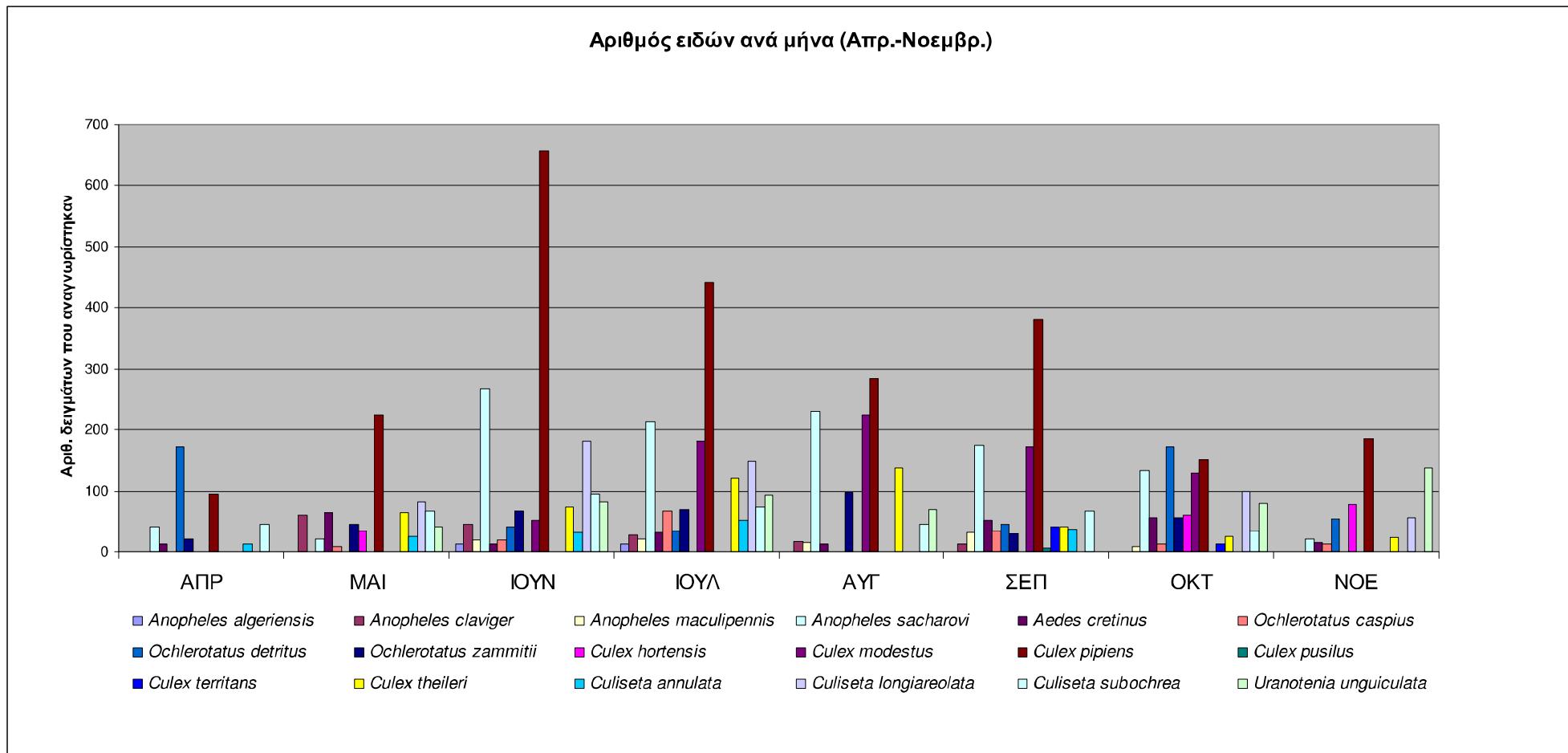
Τέλος, όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3.3., οι δειγματοληψίες με τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα» πραγματοποιούνταν κάθε 7 ήμερες, για κάθε γεωγραφική ζώνη, με κυκλική εναλλαγή των 5 περιοχών της συγκεκριμένης γεωγραφικής ζώνης.

3.4.2.2. Είδη κουνουπιών που καταγράφηκαν

Κατά τη διάρκεια της μελέτης εξετάστηκαν περισσότερα από 8.262 δείγματα τέλειων κουνουπιών, τα οποία συλλέχθηκαν, από διάφορα σημεία του Νομού Αττικής, με τις διάφορες μεθόδους δειγματοληψίας που χρησιμοποιήθηκαν. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, σε ορισμένες περιπτώσεις η αναγνώριση των ειδών γινόταν από ή και από την εξέταση της προνύμφης. Από τα συνολικά δείγματα που εξετάστηκαν, αναγνωρίστηκαν 18 διαφορετικά είδη κουνουπιών, από 6 διαφορετικά γένη, της οικογένειας Culicidae (*Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, *Ochlerotatus*, *Culiseta* και *Uranotaenia*). Συγκεκριμένα, τα είδη των κουνουπιών που εντοπίστηκαν ήταν τα ακόλουθα:

1. *Anopheles algeriensis*
2. *Anopheles claviger*
3. *Anopheles maculipennis*
4. *Anopheles sacharovi*
5. *Aedes cretinus*
6. *Ochlerotatus caspius*
7. *Ochlerotatus detritus*
8. *Ochlerotatus zammittii*
9. *Culex hortensis*
10. *Culex modestus*
11. *Culex pipiens*
12. *Culex pusillus*
13. *Culex territans*
14. *Culex theileri*
15. *Culiseta annulata*
16. *Culiseta longiareolata*
17. *Culiseta subochrea*
18. *Uranotaenia unguiculata*

Στην Εικόνα 3.37. φαίνονται οι απόλυτοι αριθμοί ατόμων για κάθε είδος, που συλλέχθηκε από τις περιοχές δειγματοληψιών και στα τρία χρόνια που διήρκεσε η μελέτη, με κάποια από τις μεθόδους που εφαρμόστηκαν, δηλαδή είτε από συλλογή προνυμφών από τις εστίες ανάπτυξής τους, είτε συλλογή τέλειων από σημεία ανάπτυξης ή τέλος συλλογής τέλειων με τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα». Τα αποτελέσματα παρουσιάζονται ξεχωριστά ανά μήνα αλλά για να είναι ευανάγνωστο το διάγραμμα γίνεται παρουσίαση των σχετικών αποτελεσμάτων μόνο για το διάστημα από τον Απρίλιο έως και τον Νοέμβριο καθώς τους υπόλοιπους μήνες γενικά οι συλλήψεις ήταν ελάχιστες. Πληροφορίες για τις συλλήψεις και την εμφάνιση κάποιου είδους στο διάστημα από τον Δεκέμβριο έως τον Μάρτιο της επόμενης χρονιάς δίνονται στο επόμενο κεφάλαιο όπου γίνεται αναφορά για το κάθε είδος ξεχωριστά.



Εικόνα 3.37. Αριθμός ατόμων από το κάθε είδος κουνουπιού που συλλέχθηκε ανά μήνα για το διάστημα Απρίλιο έως Νοέμβριο.

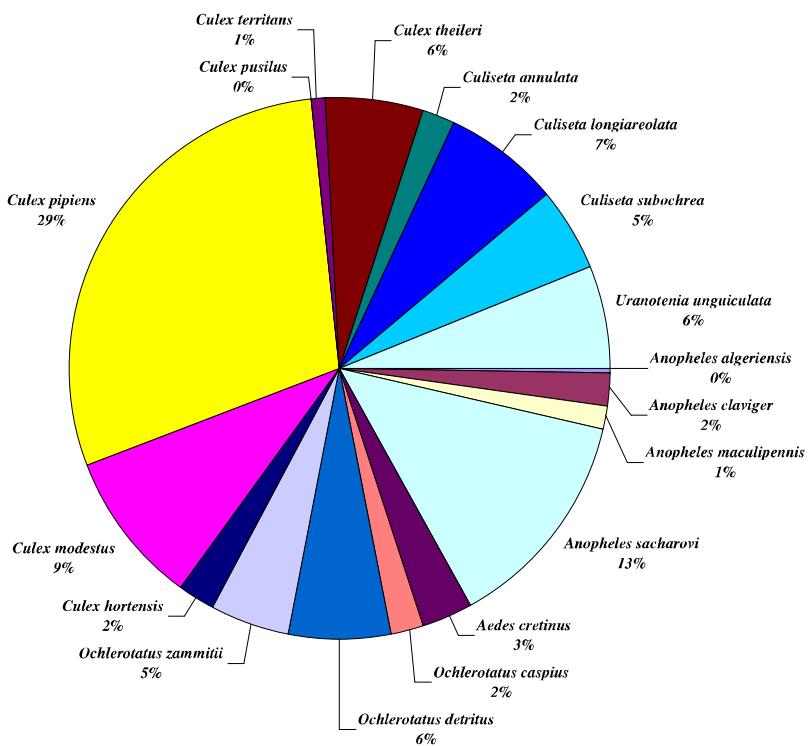
Πίνακας 3.9. Είδη κουνουπιών που εντοπίστηκαν στο Νομό Αττικής και σημεία συλλογής τους.

Είδος	Έλη - Βάλτοι	Παρύκτες υφάλμυρες γεστίες	Χαντάκια, Κανύλλα,	Ρέματα	Μόνημες λιμνούλες, δεξημενές κλπ	Φρέστα, Πηγάδια	Εποχικές υδατοσυλλογές	Εστίες με οργανικό φορτίο	Λοχία με μεγάλο ανούρια	Λοχία με στενό ανούρια	Φυσικές κοιλότητες βράχων-δένδρων	Συλλογές από Στρέβλους - πτηνοτροφεία	Συλλογές από ουκίες και άλλα κτίσματα	Συλλογές από Human bait	
<i>Anopheles algeriensis</i>			✓												
<i>Anopheles claviger</i>			✓	✓			✓								
<i>Anopheles maculipennis</i>	✓		✓					✓				✓	✓		
<i>Anopheles sacharovi</i>	✓		✓				✓				✓	✓	✓		
<i>Aedes cretinus</i>								✓	✓	✓	✓				✓
<i>Ochlerotatus caspius</i>		✓	✓				✓						✓	✓	
<i>Ochlerotatus detritus</i>	✓	✓	✓				✓							✓	
<i>Ochlerotatus zammittii</i>		✓													✓
<i>Culex hortensis</i>	✓		✓	✓			✓	✓							
<i>Culex modestus</i>	✓		✓	✓			✓	✓					✓	✓	
<i>Culex pipiens</i>	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓	✓	
<i>Culex pusillus</i>		✓													
<i>Culex territans</i>	✓		✓	✓			✓	✓		✓					
<i>Culex theileri</i>	✓		✓	✓			✓	✓							
<i>Culiseta annulata</i>	✓		✓				✓	✓							✓
<i>Culiseta longiareolata</i>	✓		✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓				
<i>Culiseta subochrea</i>	✓		✓				✓	✓	✓						
<i>Uranotaenia unguiculata</i>	✓		✓	✓											

Στον παραπάνω Πίνακα 3.9. παρουσιάζονται οι εστίες από όπου συλλέχθηκαν οι προνύμφες του κάθε είδους ή η τοποθεσία από όπου συλλέχθηκαν τα τέλεια κουνούπια.

Τα ποσοστά των δειγμάτων που αντιστοιχούν σε κάθε είδος επί του συνόλου των δειγμάτων κουνουπιών που συλλέχθηκαν δίνονται στην παρακάτω Εικόνα 3.38.

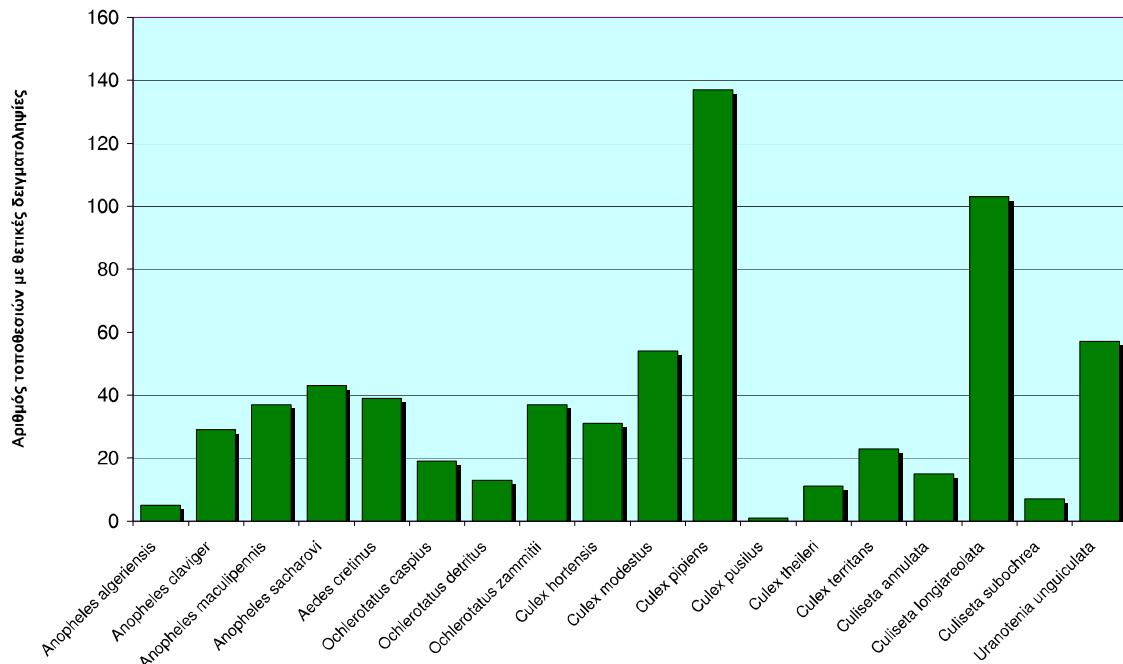
Σχετική συχνότητα (%) εμφάνισης κάθε είδους



Εικόνα 3.38. Ποσοστό % των δειγμάτων που αντιστοιχεί σε κάθε είδος επί του συνόλου των δειγμάτων κουνουπιών που συλλέχθηκαν με όλες τις μεθόδους (εκτός των παγίδων ωοθεσίας) κατά τη διάρκεια της μελέτης.

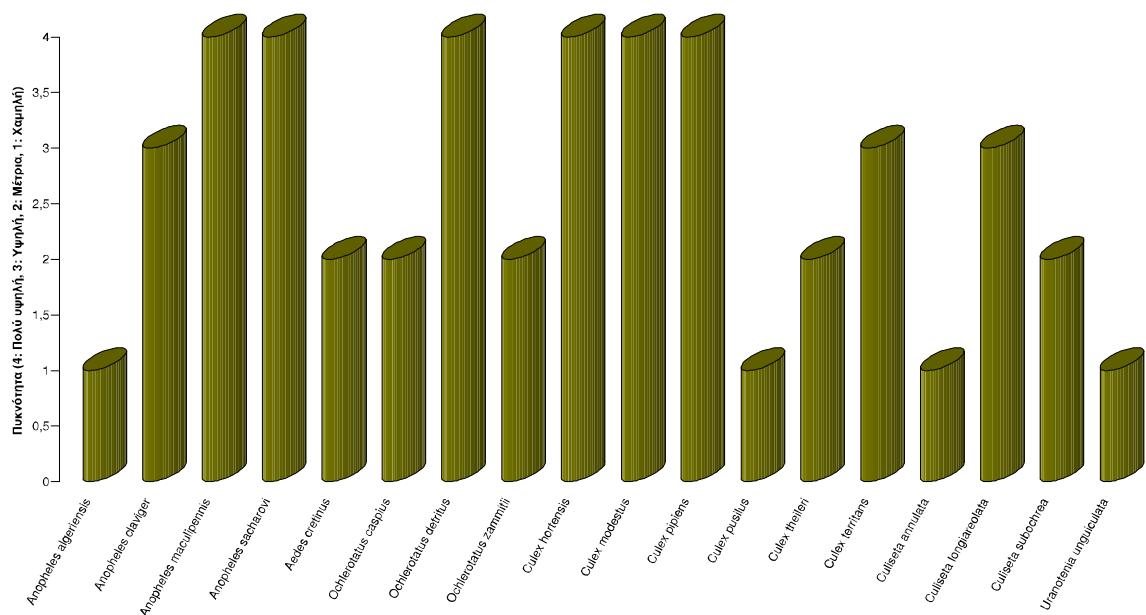
Στις επιθεωρήσεις των πιθανών εστιών ανάπτυξης κουνουπιών για παρουσία προνυμφών καθώς και στις συλλήψεις τέλειων παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές τόσο ως προς την παρουσία των ειδών που εντοπίστηκαν όσο και ως προς τους σχετικούς πληθυσμούς τους. Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα, το είδος κουνουπιού που συλλέχθηκε σε μεγαλύτερους απόλυτους αριθμούς αλλά και ως το μεγαλύτερο ποσοστό επί του συνόλου, ήταν το *Culex pipiens* του οποίου η παρουσία είναι εμφανής καθ' όλους τους μήνες του έτους (ακόμη και κατά τους χειμερινούς μήνες πραγματοποιήθηκαν συλλήψεις του συγκεκριμένου είδους).

Στην Εικόνα 3.39. παρουσιάζεται διαγραμματικά η συχνότητα εμφάνισης κάθε είδους στο σύνολο των τοποθεσιών που ελέγχθηκαν και εντοπίστηκε τουλάχιστον ένα δείγμα κουνουπιού. Και στην περίπτωση αυτή το *Cx. pipiens* ήταν το είδος που συλλέχθηκε στις περισσότερες δειγματοληψίες, δηλαδή εντοπίστηκε στις περισσότερες εστίες ανάπτυξης κουνουπιών από κάθε άλλο είδος.



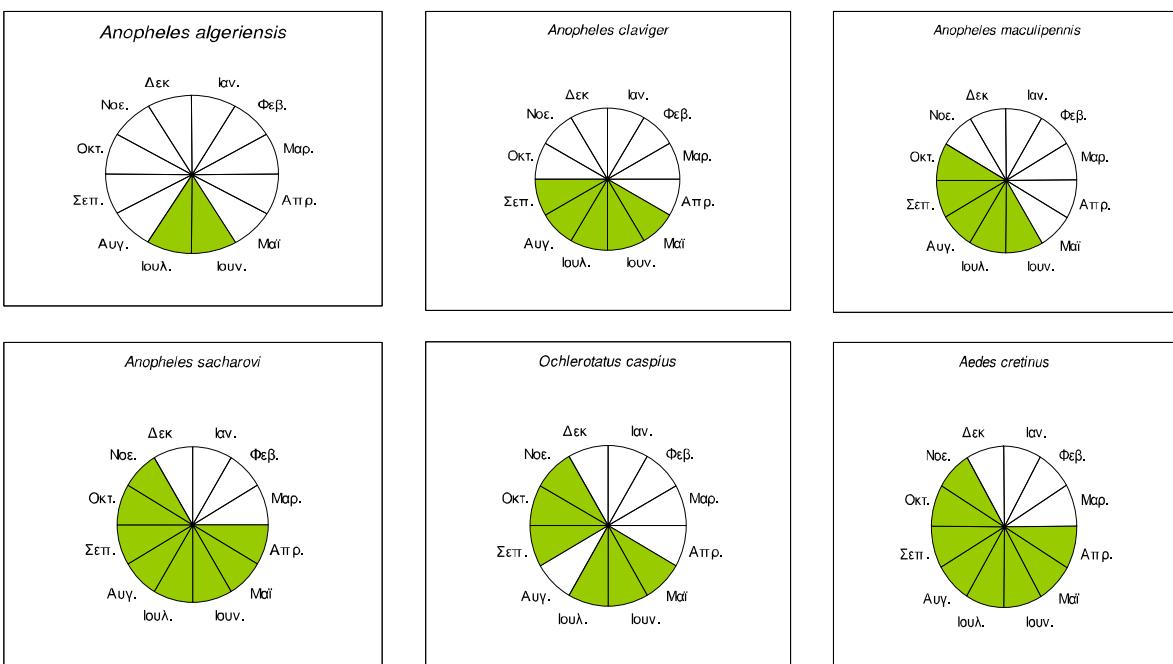
Εικόνα 3.39. Συχνότητα εμφάνισης κάθε είδους στο σύνολο των τοποθεσιών που ελέγχθηκαν και στις οποίες εντοπίστηκε τουλάχιστον ένα δείγμα κουνουπιού, σε όλη τη διάρκεια της μελέτης.

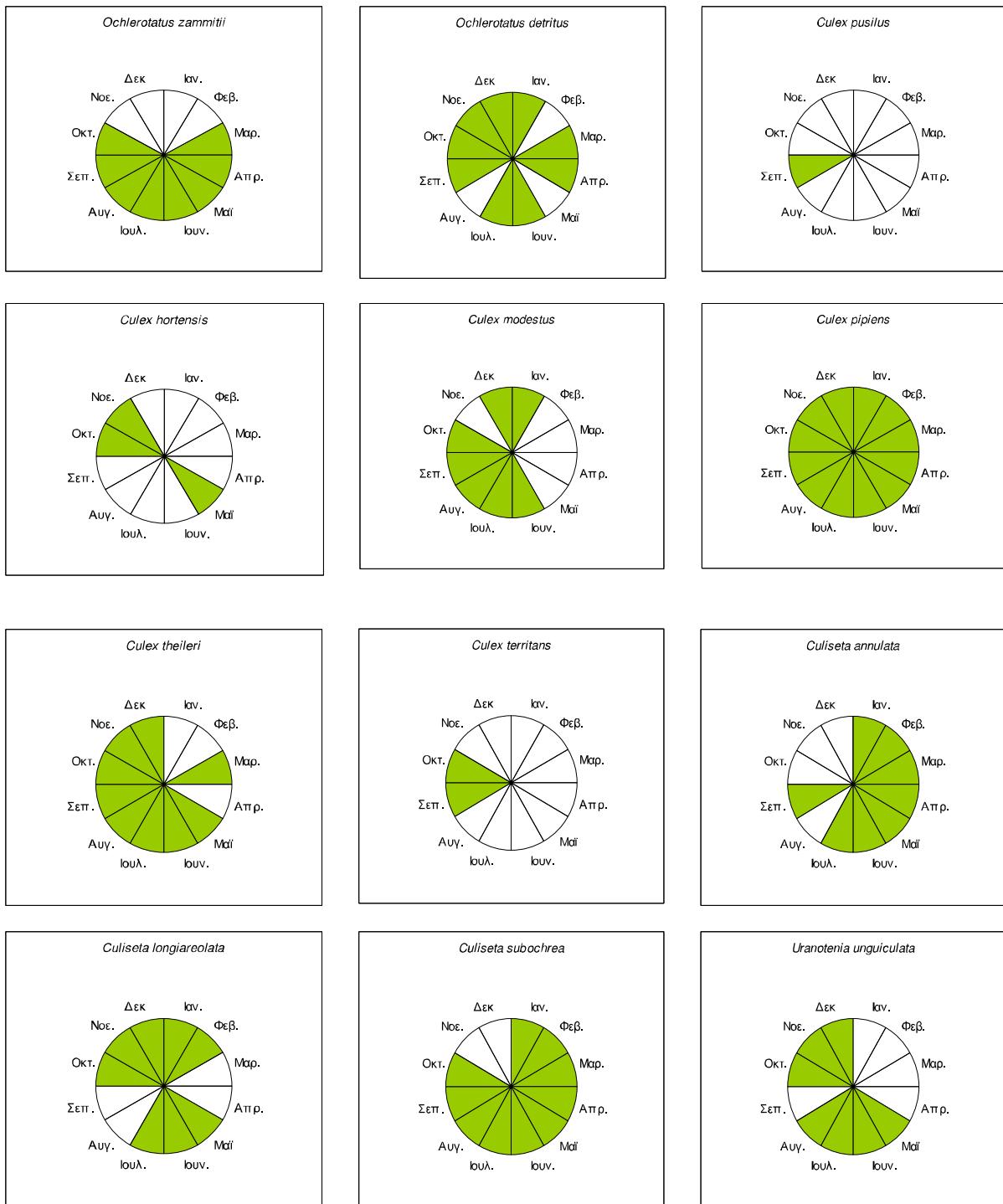
Στην Εικόνα 3.40. φαίνεται η πυκνότητα πληθυσμού κάθε είδους στις εστίες που αυτό εντοπίστηκε. Οι διαβαθμίσεις της πυκνότητας που χρησιμοποιήθηκαν για την κατασκευή του διαγράμματος αυτού είναι: Πολύ υψηλή - Υψηλή - Μέτρια και Χαμηλή. Οι διαβαθμίσεις αυτές αφορούν στον αριθμό των ατόμων κάθε είδους σε σχέση με τον συνολικό αριθμό κουνουπιών που εντοπίστηκαν σε κάθε συγκεκριμένη δειγματοληψία. Όπως είναι φυσικό η πυκνότητα του πληθυσμού κάποιου είδους σε μια εστία δεν προκύπτει μόνο από τους απόλυτους αριθμούς των προνυμφών που συλλέχθηκαν αλλά σε μεγάλο βαθμό προέρχεται και από την εκτίμηση του δειγματολήπτη από την εικόνα που σχηματίζει κατά τη στιγμή της δειγματοληψίας.



Εικόνα 3.40. Πυκνότητα πληθυσμού κάθε είδους στις εστίες που αυτό εντοπίστηκε (4: Πολύ υψηλή, 3: Υψηλή, 2: Μέτρια, 1: Χαμηλή).

Τέλος, στην Εικόνα 3.41. παρουσιάζεται η εποχή (μήνας του έτους) στην οποία έγινε έστω και μια σύλληψη προνυμφών ή συλλογή τελείου και μας δείχνει το διάστημα του έτους κατά το οποίο τα συγκεκριμένα είδη καταγράφηκαν είτε ως προνύμφες ή ως τέλεια.





Εικόνα 3.41. Εποχιακή εμφάνιση κάθε είδους στο Νομό Αττικής, με βάση τις δειγματοληψίες.

Στη συνέχεια, για τους λόγους που περιγράφονται στο κεφάλαιο 3.3.1.1., γίνεται παρουσίαση των αποτελεσμάτων ειδικά για την ευρύτερη περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά ενώ τα αποτελέσματα που αφορούν στις υπόλοιπες περιοχές μελέτης παρουσιάζονται συγκεντρωτικά σε επόμενο ξεχωριστό κεφάλαιο.

3.4.2.2.1. Αποτελέσματα δειγματοληψιών περιοχής Μαραθώνα – Σχοινιά

Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, στην ευρύτερη περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά εντοπίστηκε μεγάλος αριθμός από διαφορετικούς τύπους εστιών ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών (Εικόνα 3.3.).

Η μεγαλύτερη σε έκταση εστία αποτελεί το έλος του Σχοινιά το οποίο μπορεί να διακριθεί στο κύριο έλος όπου το νερό είναι γλυκό και στις ελώδεις περιοχές με υφάλμυρο ή αλμυρό νερό λόγω της εισχώρησης του νερού της θάλασσας. Επίσης άλλος σημαντικός τύπος εστιών της περιοχής είναι τα κανάλια που διατρέχουν την περιοχή και διαθέτουν άλλες φορές λιγοστή και άλλες πλούσια βλάστηση. Σημαντικές εστίες σχηματίζονται επίσης και εποχιακά από πλημμύρες είτε από την υπερχείλιση των καναλιών ή του έλους. Τέλος, υπάρχει και πληθώρα τεχνητών εστιών όπως για παράδειγμα τεχνητές δεξαμενές και αβαθή πηγάδια, το νερό των οποίων προέρχεται κυρίως από τις βροχοπτώσεις.

Κατά το διάστημα διεξαγωγής της μελέτης και για τα τρία έτη, καταγράφηκαν στην περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά, 16 είδη κουνουπιών από τα 18 συνολικά είδη που διαπιστώθηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης, στο Νομό Αττικής. Τα είδη τα οποία εντοπίστηκαν στο Νομό Αττικής αλλά δεν βρέθηκαν κατά τις δειγματοληψίες των εστιών στην ευρύτερη περιοχή του Μαραθώνα, ήταν τα *Aedes cretinus* και *Ochlerotatus zammitii*. Εντούτοις, για το πρώτο είδος, παρότι προνύμφες του δεν εντοπίστηκαν σε φυσικές εστίες, ωά του είδους συλλαμβάνονταν σε σημαντικούς αριθμούς στις παγίδες ωθεσίας, κυρίως κοντά σε κατοικημένες περιοχές. Αυτό υποδηλώνει ότι το συγκεκριμένο δραστηριοποιείται στην περιοχή και επομένως θα πρέπει να συμπεριληφθεί στην πανίδα κουνουπιών της περιοχής.

Στην περιοχή, οι πρώτες σημαντικές συλλήψεις κατά τη διάρκεια του έτους, γίνονταν περίπου στα τέλη του μήνα Μάρτιου, όπου σε σχετικά υψηλούς αριθμούς συλλαμβάνονταν το είδος *Ochlerotatus detritus* (Εικόνα 3.42.). Επίσης, το ίδιο διάστημα εντοπίζονταν δύο ακόμη είδη, τα είδη *Culex theileri* και *Culiseta annulata*, σε πολύ μικρούς όμως αριθμούς.



Εικόνα 3.42. Τυπικές εστίες ανάπτυξης προνυμφών του είδους *Oc. detritus* στο νότιο και νοτιανατολικό τμήμα του έλους Σχοινιά.

Μεγαλύτερη ποικιλία ειδών εντοπίζονταν περίπου τον Μάιο, με ορισμένα είδη να απαντώνται σε μεγάλους πληθυσμούς, σε ορισμένους τύπους εστιών. Την εποχή αυτή, όλες οι εστίες ήταν πλημμυρισμένες και καταλάμβαναν μεγάλες συνεχόμενες εκτάσεις. Από όλα τα είδη, το είδος *Culex pipiens* παρουσίαζε τη μεγαλύτερη συχνότητα και εντοπίζονταν σε εξαιρετικά μεγάλους αριθμούς στις εποχικές πλημμύρες, στο κυρίως έλος αλλά και σε άλλα σημεία στην ευρύτερη περιοχή (Εικόνα 3.43. και Εικόνα 3.44.). Η συχνότητά του ήταν περιορισμένη στα κανάλια, όπου, αντίθετα, η συχνότητα του *Anopheles claviger* ήταν πολύ μεγάλη.



Εικόνα 3.43. Μικρές σε έκταση εστίες αλλά με σημαντικούς πληθυσμούς προνυμφών του είδους *Cx. pipiens*.

Στις εκτάσεις που είχαν πλημμυρίσει από την υπερχείλιση των καναλιών επικρατούσαν δύο είδη κουνουπιών, τα *Cs. annulata* και *Culiseta subochrea*. Στις πλημμυρισμένες εστίες που δημιουργούνταν από την υπερχείλιση του έλους, εκτός από το *Cx. pipiens*, βρίσκονταν επίσης, σε μικρότερη συχνότητα και τα είδη *Culex hortensis*, *Culex theileri*, *Culiseta longiareolata* και *Anopheles sacharovi*.

Στα κανάλια κατά τον Μάιο, το είδος που βρισκόταν σε αφθονία ήταν το *An. claviger* (Εικόνα 3.44.). Το επόμενο σε συχνότητα είδος, με αρκετά μικρότερους πληθυσμούς όμως ήταν το *Cx. pipiens*. Άλλα είδη που βρέθηκαν στα σημεία αυτά κατά τον ίδιο μήνα ήταν το *An. sacharovi*, *Cx. theileri*, *Cs. annulata* και *Cs. subochrea*.

Τον Μάιο, σε όλα σχεδόν τα σημεία του κυρίως έλους, η παρουσία των προνυμφών του είδους *Cx. pipiens* ήταν εξαιρετικά μεγάλη. Η μεγαλύτερη πυκνότητα προνυμφών του είδους αυτού παρατηρούνταν κυρίως στα σημεία όπου υπήρχαν πεταμένα αντικείμενα, ανάμεσα στα οποία δημιουργούνταν περιορισμένες συλλογές με στάσιμο νερό, και ιδιαίτερο μικροκλίμα, όπου και η θερμοκρασία του νερού ήταν σαφώς αυξημένη λόγω της ηλιακής ακτινοβολίας (Εικόνα 3.44.). Σε πολύ χαμηλή συχνότητα βρέθηκαν και τα είδη *An. sacharovi*, *Culex hortensis*, *Cx. theileri*, *Cs. annulata*, *Cs. subochrea*, *Ochlerotatus caspius* και *Uranotaenia unguiculata*.



Εικόνα 3.44. Εστίες προνυμφών των ειδών *An. claviger* (αριστερά) και *Cx. pipiens* (δεξιά).

Σε ορισμένα αβαθή πηγάδια ή δεξαμενές, που περιείχαν κάποια ποσότητα νερού κυρίως από βροχοπτώσεις, εντοπίζονταν σε πολύ μεγάλη πυκνότητα προνύμφες των ειδών *Cx. pipiens* και *Cs. longiareolata*, ενώ σπανιότερα βρίσκονταν προνύμφες *Cs. annulata* και *Cs. subochrea*.

Τον Ιούνιο, το συχνότερο είδος σε όλη την περιοχή ήταν και πάλι το *Cx. pipiens* και μάλιστα, η πυκνότητά του κατά τον μήνα αυτό ήταν η μεγαλύτερη σε σχέση με τους άλλους μήνες. Οι εποχικές εστίες από υπερχειλίσεις ή πλημμύρες είχαν περιοριστεί σημαντικά την περίοδο αυτή και πλέον δεν παρουσίαζαν αξιόλογο πρόβλημα κουνουπιών (Εικόνα 3.45.). Επίσης, την περίοδο αυτή αποξηραίνονται και οι περισσότερες αβαθείς κοιλότητες ή επιφανειακά πηγάδια, με αποτέλεσμα να είναι πολύ μικρή και η συγχότητα των ειδών που αναπτύσσονταν σε αυτές τις εστίες, δηλαδή των *Cx. pipiens*, *Cs. annulata* και *Cs. subochrea*.



Εικόνα 3.45. Άποψη της ίδιας εστίας όπως ήταν κατά τα μέσα της άνοιξης και η οποία αποτελούσε σημαντικό βιότοπο του *Cx. pipiens* (αριστερά) και όπως διαμορφώθηκε το ίδιο καλοκαίρι (δεξιά) αποστραγγισμένη.

Στα κανάλια, των οποίων η στάθμη των περισσοτέρων κατεβαίνει αρκετά τον Ιούνιο, από όλα τα είδη που συλλαμβάνονταν τον Μάιο συνήθως εξακολουθούσε να υπάρχει μόνο το *An. claviger*, αλλά σε πολύ μικρότερη συχνότητα (Εικόνα 3.46.).



Εικόνα 3.46. Κανάλι της Μακαρίας πηγής (αριστερά) και άποψη της λίμνης της Μακαρίας πηγής (δεξιά) κατά τον Ιούνιο, μετά την υποχώρηση του μεγαλύτερου μέρους των υδάτων, αποτελώντας βιότοπο μικρού σχετικά αριθμού προνυμφών του είδους *An. claviger*.

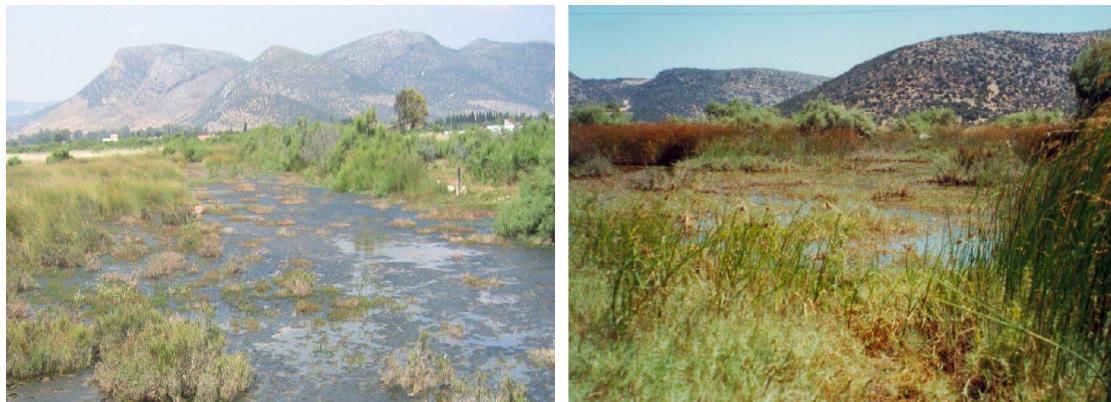
Όταν υποχωρούσε η στάθμη των υδάτων γενικά στο έλος καθώς και στα κανάλια με τα οποία επικοινωνεί, παρατηρούνταν μετακίνηση των προνυμφοφάγων ψαριών (κυρίως του γένους *Gambusia*) και συγκέντρωσή τους στα κανάλια, όπου προφανώς συντελούσαν σημαντικά και στη μείωση των προνυμφών των κουνουπιών στις εστίες αυτές.



Εικόνα 3.47. Απόψεις του κεντρικού τμήματος του έλους κατά το καλοκαίρι, όταν τα περισσότερα ύδατα έχουν υποχωρήσει αλλά τα εναπομείναντα αποτελούν ιδανικό βιότοπο για τα είδη *Cx. pipiens*, *An. sacharovi* και *Cx. modestus*.

Στις συλλογές νερού που συνέχιζαν να υφίστανται τον Ιούνιο επικρατούσε και πάλι το *Cx. pipiens* σε πολύ μεγάλη πυκνότητα, ενώ παρατηρήθηκε και σημαντική αύξηση, σε σχέση με τον προηγούμενο μήνα, τον *An. sacharovi* (Εικόνα 3.47.). Άλλα είδη που συλλαμβάνονταν στο έλος κατά τον Ιούνιο ήσαν τα *Cx. theileri*, *Cs. annulata* και *Ur. unguiculata*.

Τον Ιούλιο, εστίες στην περιοχή αποτελούσαν κυρίως τα κανάλια καθώς και το κυρίως τμήμα του έλους, το οποίο όμως είχε αποξηρανθεί σε πολλά σημεία (Εικόνα 3.48.). Στις συλλογές αυτές σημαντική ήταν η αύξηση της συχνότητας του *An. sacharovi* καθώς και του *Cx. modestus*, ενώ η συχνότητα του *Cx. pipiens* είχε ελαττωθεί σημαντικά. Αύξηση παρουσίασαν ακόμη οι συχνότητες των *Cx. theileri* και *Ur. unguiculata*, ενώ σπάνια συλλαμβάνονταν τα είδη *Cs. annulata* και *Cs. subochrea*. Κάποιες χρονιές (κυρίως 2002) παρατηρήθηκαν στο έλος και τα είδη *Oc. caspius* και *Oc. detritus*.



Εικόνα 3.48. Εστίες του έλους κατά τον Ιούλιο με σημαντική παρουσία προνυμφών *An. sacharovi* και *Cx. modestus*.

Τα κανάλια κατά τον Ιούλιο παρουσίαζαν μείωση της στάθμης του νερού αλλά η παρόχθια πυκνή βλάστηση από καλάμια δυσχέραινε πολύ την πρόσβαση για δειγματοληψίες. Στα σημεία όπου ήταν δυνατή η προσέγγιση, καταγράφηκε σημαντική μείωση του πληθυσμού του *An. claviger* συγκριτικά με τους προηγούμενους μήνες ενώ αυξημένη ήταν η συχνότητα συλλήψεων του είδους *An. sacharovi* (Εικόνα 3.49.). Μεγάλοι αριθμοί *An. sacharovi* εντοπίστηκαν επίσης και στη λίμνη της Μακαρίας πηγής.

Στις παραπάνω εστίες κατά την περίοδο αυτή, η συχνότητα του *Cx. pipiens* ήταν αισθητά μειωμένη ενώ ορισμένα κανάλια, στα οποία ο πληθυσμός των προνυμφοφάγων ψαριών ήταν μεγάλος, δεν φιλοξενούσαν καθόλου κουνούπια.



Εικόνα 3.49. Εστίες σε κανάλια κατά τον Ιούλιο όπου συλλέγονταν σημαντικός *An. sacharovi*.

Τον Αύγουστο, γενικά παρατηρήθηκε αυξομείωση της στάθμης του νερού στα κανάλια και στο έλος, ιδίως το 2002 όπου καταγράφηκε αξιόλογο ποσό καλοκαιρινών βροχοπτώσεων.



Εικόνα 3.50. Εστίες του κεντρικού τμήματος του έλους κατά τον Αύγουστο όπου παρατηρήθηκαν σημαντικοί πληθυσμοί των ειδών *An. sacharovi* και *Cx. modestus*.

Στις υδατοσυλλογές του έλους παρατηρήθηκαν μεταβολές ως προς τη σύνθεση και την πυκνότητα των πληθυσμών των διαφόρων ειδών. Το είδος *An. sacharovi* εξακολουθούσε να υπάρχει σε μεγάλη πυκνότητα σε ολόκληρο το έλος ενώ σταθερές αλλά πιο χαμηλές ήταν οι συχνότητες των *Cx. theileri* και *Ur. unguiculata*. Σημαντική ελάττωση στους πληθυσμούς του παρουσίασε το *Cx. pipiens*, ενώ αντίθετα, ο πληθυσμός του *Cx. modestus* ανήλθε σε πολύ υψηλά επίπεδα (Εικόνα 3.50.).

Στα κανάλια αυτή την εποχή ήταν χαρακτηριστική η περαιτέρω αύξηση της συχνότητας του *An. sacharovi*, το οποίο αντικατέστησε ολοκληρωτικά το *An. claviger* στις εστίες αυτές. Στις ίδιες εστίες συλλαμβάνονταν επίσης, αλλά σε πολύ μικρή συχνότητα, τα *Cx. pipiens* και *Ur. unguiculata*.

Τα αποτελέσματα των δειγματοληψιών κατά τον Σεπτέμβριο έδειξαν μία περαιτέρω αύξηση του *An. sacharovi* σε ορισμένα σημεία των καναλιών, το οποίο αποτελούσε και το μοναδικό είδος μαζί με το *Cx. pipiens*, του οποίου όμως η παρουσία περιορίζονταν σε πολύ λίγες θέσεις και σε μέτρια πυκνότητα.

Στο κύριο μέρος του έλους, επικρατούσαν τα είδη *An. sacharovi*, *Cx. modestus* και *Cx. pipiens* με το τελευταίο να εμφανίζει ανοδική τάση. Η συχνότητα του πρώτου είδους ήταν περίπου ίδια όπως τους προηγούμενους μήνες, ενώ του *Cx. modestus* ήταν μειωμένη. Άλλα είδη που συλλέχθηκαν μαζί με τα προηγούμενα είδη αλλά σε μικρότερη συχνότητα ήταν τα *Cx. theilieri* και *Ur. unguiculata*. Το Σεπτέμβριο άρχιζε να εμφανίζεται επίσης και πάλι το *Oc. detritus* ιδίως σε πολλές εστίες του υφάλμυρου παράκτιου έλους (Εικόνα 3.51.).



Εικόνα 3.51. Εστίες του *An. sacharovi* και *Oc. detritus* στο υφάλμυρο παράκτιο έλος κοντά στην παραλία του Σχοινιά.

Στις αρχές Οκτωβρίου η ανάπτυξη των περισσοτέρων ειδών των κουνουπιών εξακολουθούσε να είναι πολύ μεγάλη, τόσο στο έλος όσο και στα κανάλια. Σε διάφορα σημεία δειγματοληψίας του έλους συλλέχθηκαν σε πολύ μεγάλους αριθμούς τα είδη *An. sacharovi*, *Cx. modestus*, *Cx. pipiens*, *Cx. theilieri* και *Ur. unguiculata*, ενώ σε χαμηλότερους αριθμούς βρέθηκαν τα *Cs. longiareolata* και *Oc. caspius*. Το είδος *Oc. detritus* εντοπίστηκε σε υψηλούς αριθμούς κυρίως στα σημεία του έλους με υφάλμυρο νερό που βρίσκονται κοντά στην παραλία του Σχοινιά, δίπλα στη θάλασσα. Την περίοδο αυτή εμφανίζεται επίσης και πάλι το είδος *Cx. hortensis*, το οποίο είχε σχεδόν εξαφανιστεί τους προηγούμενους μήνες.

Προς το τέλος του ίδιου μήνα η πυκνότητα του *An. sacharovi* είχε μειωθεί αισθητά στα σημεία δειγματοληψίας του έλους, ενώ αρκετός αριθμός προνυμφών του είδους αυτού υπήρχε ακόμη στα κανάλια. Από τα είδη των κοινών κουνουπιών, τα *Cx. pipiens* και *Ur. unguiculata* αναπτύσσονταν ακόμη σε μεγάλη πυκνότητα στο έλος.

Το Νοέμβριο η στάθμη του νερού στο έλος και τα κανάλια συνήθως είχε ανέβει σημαντικά, κυρίως προς το τέλος του μήνα. Στις παραθαλάσσιες εστίες του έλους μόνο οι προνύμφες του είδους *Oc. detritus* συλλέχθηκαν σε μεγάλους αριθμούς. Οι πληθυσμοί του

An. sacharovi είναι μικροί. Πολύ μειωμένος ήταν και ο αριθμός των υπολοίπων ειδών, τα οποία μάλιστα ευρίσκονται συγκεντρωμένα στα προσήλια σημεία των εστιών (Εικόνα 3.52.).



Εικόνα 3.52. Εστίες του *An. sacharovi* και *Oc. detritus* στο υφάλμυρο παράκτιο έλος κοντά στην παραλία του Σχοινιά.

Το Δεκέμβριο η στάθμη του νερού εξακολουθούσε να είναι υψηλή στα περισσότερα σημεία του έλους (Εικόνα 3.53.). Η συχνότητα του *Oc. detritus* παρέμενε σταθερά υψηλή στα διάφορα σημεία του έλους, ενώ από τα υπόλοιπα είδη υπερτερούσαν τα *Cx. pipiens* και *Cs. subochrea*. Στα κανάλια η στάθμη του νερού ήταν επίσης υψηλή και δεν βρέθηκαν καθόλου προνύμφες. Προνύμφες ανωφελών κουνουπιών δεν εντοπίσθηκαν το μήνα αυτό, ούτε στο έλος ούτε στα κανάλια.



Εικόνα 3.53. Εστίες του κυρίου έλους με σημαντική ποσότητα υδάτων κατά το Δεκέμβριο.

Τον Ιανουάριο, κυρίως λόγω έντονων βροχοπτώσεων, όλη η έκταση είναι πλημμυρισμένη και πολλοί από τους χωματόδρομους που συνδέουν τμήματα του έλους έχουν καλυφθεί με νερό. Πλημμυρισμένα επίσης ήταν και τα κανάλια, στα οποία η πρόσβαση ήταν πάρα πολύ δύσκολη (Εικόνα 3.54.). Στις πλημμύρες αυτές το είδος που επικρατούσε ήταν πάλι το *Oc. detritus*, με δεύτερο σε συχνότητα το *Cs. subochrea*. Εντοπίστηκαν ακόμη

προνύμφες *Cx. pipiens* αλλά ήταν σχετικά λιγοστές, κυρίως σε δοχεία με νερό που χρησιμοποιούν οι κτηνοτρόφοι της περιοχής για το πότισμα των ζώων.



Εικόνα 3.54. Πλημμυρισμένοι δρόμοι και κανάλια κατά τους χειμερινούς μήνες στην περιοχή Μαραθώνα - Σχοινιά.

Τον Φεβρουάριο πλημμυρίζουν ακόμη και σχετικά κεντρικοί δρόμοι (Εικόνα 3.54.). Παρατηρήθηκαν άφθονες προνύμφες του είδους *Oc. detritus* ακόμη και από συγκεντρώσεις νερού σε πλημμυρισμένη άσφαλτο. Η στάθμη του νερού σε όλα τα κανάλια ήταν πολύ υψηλή και δεν ήταν δυνατή η πρόσβαση για έλεγχο.



Εικόνα 3.55. Εγκαταλειμμένη οικία στο νότιο τμήμα του έλους, η οποία αποτελούσε σημείο ανάπτυξης ή δημέρευσης μεγάλου αριθμού τέλειων κουνουπιών διαφόρων ειδών.

Σχετικά με τις δειγματοληψίες τέλειων πολλά κουνούπια εντοπίζονταν σε οικήματα της γύρω περιοχής κατά τους μήνες Ιούλιο, Αύγουστο και Σεπτέμβριο. Οι περισσότερες συλλήψεις και σε σημαντικούς πληθυσμούς ήταν από ανωφελή κουνούπια του είδους *An.*

sacharovi, καθώς και κοινά κουνούπια των ειδών *Cx. pipiens* και *Cx. modestus*, σε πολύ μικρότερη όμως πυκνότητα. Η Εικόνα 3.55. δείχνει εγκαταλειμμένη οικία στο νότιο τμήμα του έλους, όπου αναπαύονταν ή διημέρευαν μεγάλοι πληθυσμοί τέλειων κουνουπιών ενώ ο ανοικτός υπόγειος χώρος της οικίας αυτής πλημμύριζε από το νερό του έλους, και σχεδόν πάντα υπήρχαν μεγάλοι πληθυσμοί προνυμφών, ανωφελών και κοινών κουνουπιών κυρίως των ειδών *An. sacharovi*, *Cx. pipiens*, *Ur. unguiculata*, κ.ά.

Τα κουνούπια τα οποία επιτίθεντο κατά την ώρα των δειγματοληψιών στις εστίες του έλους (κυρίως απογευματινές ώρες), ήταν κυρίως του είδους *Cx. modestus*. Από τις πρώτες βραδινές ώρες έντονη και αρκετά ενοχλητική ήταν η παρουσία των ανωφελών του είδους *An. sacharovi*, αλλά και κοινών του είδους *Cx. modestus*.

Το διάστημα από τον Νοέμβριο έως και τον Μάρτιο δεν είχαμε συλλήψεις τέλειων κουνουπιών με τη μέθοδο «ανθρώπινου δολώματος».

Τέλος, σχετικά με την παρουσία φυσικών εχθρών των κουνουπιών, παρατηρήθηκε ποικιλία υδροβιών αρπακτικών εντόμων (π.χ. Odonata, Hydrophyllidae, Belostomatidae κλπ) σε πολλές από τις εστίες της περιοχής Μαραθώνα – Σχοινιά, ενώ αξιοσημείωτη ήταν και η παρουσία ψαριών του γένους *Gambusia* και μάλιστα σε ορισμένες περιπτώσεις σε αφθονία (Εικόνα 3.56.). Εντοπίστηκαν επίσης και πληθυσμοί του σχετικά σπάνιου, αυτόχθονου είδους ψαριού *Pelasgus marathonicus*. Η παρουσία όλων αυτών των οργανισμών πιθανώς εξηγεί και σε μεγάλο βαθμό το γεγονός ότι οι προνύμφες κουνουπιών απουσίαζαν σχεδόν εντελώς από πολλές φαινομενικά κατάλληλες εστίες ανάπτυξής τους.



Εικόνα 3.56. Φυσικοί εχθροί των προνυμφών των κουνουπιών που εντοπίστηκαν σε εστίες της περιοχής Μαραθώνα – Σχοινιά. Αριστερά εικονίζονται νύμφες Odonata και δεξιά ψαράκια του γένους *Gambusia*.

3.4.2.2.1. Αποτελέσματα από τις υπόλοιπες περιοχές του Νομού Αττικής

Οι υπόλοιπες γεωγραφικές ζώνες που μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, παρότι παρουσιάζουν ενδεχομένως σημαντικές διαφορές ως προς διάφορους χαρακτήρες τους όπως η πυκνότητα των κατοικιών, το ποσοστό κάλυψης με πράσινο ή και τις κλιματικές συνθήκες, εντούτοις εμφάνισαν παρόμοια εικόνα σε ότι αφορά τα είδη και τους πληθυσμούς των κουνουπιών που συλλέχτηκαν.

Σε όλες τις περιοχές εκτός του Μαραθώνα – Σχοινιά, επισημάνθηκαν εστίες ανάπτυξης κουνουπιών, όπως παραθαλάσσιες συγκεντρώσεις και ρυάκια που καταλήγουν στη θάλασσα, καθώς και αρκετές οικιακές και περιοικιακές εστίες. Στους τακτικούς ελέγχους που πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης εντοπίστηκαν σε πολλές περιπτώσεις προνύμφες κουνουπιών στις εστίες αυτές ενώ μαζί και με τις άλλες μεθόδους σύλληψης τέλειων κουνουπιών εντοπίστηκαν συνολικά 9 είδη κουνουπιών.

Από τα είδη που εντοπίστηκαν τα *Ae. cretinus*, *Cx. pipiens* και *Cs. longiareolata* ήταν τα περισσότερο διαδεδομένα και βρέθηκαν στην πλειονότητα των περιοχών μελέτης από κάθε γεωγραφική ζώνη του Νομού Αττικής. Σε πολλές επίσης από τις εστίες που ερευνήθηκαν εντοπίζονταν κατά περιόδους μικροί αριθμοί των *Cx. hortensis*, *Cx. theileri*, και *Cx. territans*. Εντοπίστηκαν επίσης και δύο είδη ανωφελών, τα *An. maculipennis* και *An. claviger*. Μικρός σχετικά αριθμός *An. claviger* εντοπίστηκε επίσης και σε εστίες στο Πόρτο Ράφτη.

Το μόνο είδος του γένους *Ochlerotatus* που εντοπίστηκε ήταν το είδος *Oc. zammittii*, το οποίο βρέθηκε αποκλειστικά σε κοιλότητες παραθαλασσίων βράχων, πλημμυρισμένες με θαλασσινό νερό (περιοχή Βουλιαγμένης). Κανένα άλλο είδος κουνουπιού της Αττικής δεν έχει εντοπιστεί σε τέτοιο είδος βιοτόπου.

Πολλές δειγματοληψίες προνυμφών αφορούσαν σε προνύμφες που βρέθηκαν μέσα στο νερό των παγίδων ωθεσίας οι οποίες είχαν τοποθετηθεί για την παρακολούθηση του *Ae. cretinus*. Τα είδη που εντοπίστηκαν μέσα στις παγίδες αυτές ήταν τα *Cx. pipiens* και *Cs. longiareolata*. Στις περιπτώσεις που βρέθηκαν σχεδίες ωών η συχνότητα ήταν 1-2 σχεδίες ανά παγίδα, ανά εβδομαδιαία παρατήρηση.

Από πλευράς ανθρωποφιλίας, τα είδη που δημιουργούσαν προβλήματα όχλησης ήταν κυρίως τα είδη *Ae. cretinus*, *Oc. zammittii* και *Cx. pipiens*. Τα ανθρωπόφιλα είδη συλλαμβάνονταν συχνά και στις δειγματοληψίες με τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα». Στην περιοχή της Αθήνας τα είδη που συλλαμβάνονταν συνήθως με αυτή τη μέθοδο ήταν τα *Ae. cretinus*, *Oc. zammittii* και *Cx. pipiens*. Το γεγονός ότι τα συγκεκριμένα είδη είναι αυτά που δημιουργούν τα συχνότερα πρόβλημα όχλησης στους κατοίκους του λεκανοπεδίου επιβεβαιώνεται και από τα δείγματα που εστάλησαν καθώς και τις αναφορές των πολιτών προς το Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου για όλο το διάστημα που διήρκεσε η μελέτη.

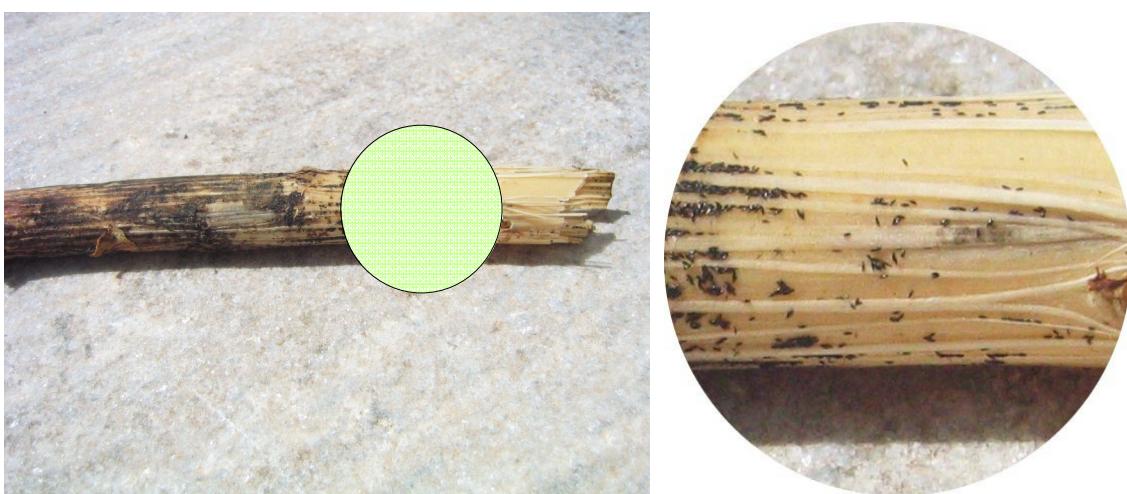
Περιορισμένες συλλήψεις πραγματοποιήθηκαν και από οικίες ή άλλα κοινόχρηστα κτίρια. Τα είδη που συγκεντρώθηκαν από αυτές τις δειγματοληψίες εντός του λεκανοπεδίου Αττικής ήταν σχεδόν αποκλειστικά *Cx. pipiens* αν και σε ελάχιστες περιπτώσεις, μάλλον

τυχαία έγιναν συλλήψεις τέλειων *Ae. cretinus* που όμως εμφανώς δεν χρησιμοποιούσαν τους χώρους αυτούς για διημέρευση.

Ειδικά για το *Ae. cretinus*, εστίες στο ύπαιθρο με προνύμφες του είδους αυτού βρέθηκαν σε λίγες σχετικά περιπτώσεις σε σύγκριση με τις εστίες που περιείχαν προνύμφες των *Cx. pipiens* και *Cs. longiareolata*. Συγκεκριμένα εντοπίστηκαν 41 διαφορετικές εστίες ανάπτυξης προνυμφών *Ae. cretinus*, οι οποίες μπορούν να ομαδοποιηθούν στις ακόλουθες κατηγορίες: σωροί από παλιά ελαστικά αυτοκινήτων (3), βαρέλια ή μεγάλα δοχεία φύλαξης νερού (4), σιφώνια σε βεράντες, κάτω από τη σχάρα (2), πιατάκια ή δοχεία συλλογής νερού κάτω από γλάστρες (10), ανθοδοχεία σε κοιμητήρια (7), κουβαδάκια, κύπελλα ή παιχνίδια που συγκρατούν νερό (6), μικρές συλλογές νερού στο έδαφος (3), φρεάτια όμβριων υδάτων δίπλα στο δρόμο (3) καθώς και 2 περιπτώσεις σε κοιλότητες δένδρων (φυτοτέλματα), ελιάς (*Olea* sp.) και πλατάνου (*Platanus* sp.) (Εικόνα 3.57. και Εικόνα 3.58).



Εικόνα 3.57. Εστίες ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών του είδους *Ae. cretinus* σε κοιμητήριο (αριστερά) καθώς και κοιλότητα δένδρου (δεξιά).



Εικόνα 3.58. Στέλεχος φυτού (αριστερή εικόνα και λεπτομέρεια της) που φέρει ωά *Ae. cretinus*, η οποία εντοπίστηκε σε φυσική εστία ανάπτυξης προνυμφών του είδους και συγκεκριμένα σε ανθοδοχείο, σε κοιμητήριο.

Κοινά χαρακτηριστικά όλων των παραπάνω εστιών ήταν η περιορισμένη έκταση της εστίας, το μικρό ύψος νερού (0,5 ως το πολύ 7-8 εκατοστά), με καθαρό νερό ή με μέτριο οργανικό φορτίο καθώς και το γεγονός ότι οι εστίες πάντοτε βρίσκονταν σε σκιερά μέρη, μακριά από την ηλιακή ακτινοβολία. Ενδιαφέρον είναι και το γεγονός ότι προνύμφες *Ae. cretinus* εντοπίστηκαν ακόμη και σε εστίες επάνω σε γυμνό έδαφος, οι οποίες είχαν σχηματιστεί από διαρροές του δικτύου ύδρευσης ή αποχέτευσης (εξάλλου το πρώτο δείγμα προνυμφών του είδους βρέθηκε σε τέτοιου είδους εστία, έξω από το παρασκευαστήριο του Εργαστηρίου της Μυκητολογίας, στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο).

Όπως ήταν ίσως αναμενόμενο με βάση τη βιβλιογραφία, προνύμφες του *Ae. cretinus* δεν εντοπίστηκαν σε καμία από τις δειγματοληψίες σε ανοιχτές εκτεταμένες εστίες νερού ενώ επίσης το είδος αυτό σπανίζει στις αγροτικές περιοχές με εκτεταμένες εκτάσεις και μικρό ποσοστό βλάστησης. Επίσης οι προνύμφες του δεν εντοπίστηκαν ποτέ σε εστίες που περιείχαν νερά βαρέως ρυπασμένα από μεγάλη ποσότητα οργανικής ουσίας ή άλλων χημικών παραγόντων (λάδια, απορρυπαντικά, βιουρκόνερα κλπ).

Σημαντικός αριθμός δειγμάτων τέλειων συγκεντρώθηκαν από τις δειγματοληψίες σε εξωτερικούς χώρους με ή χωρίς τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα». Μεγάλοι αριθμοί τέλειων εντόμων του είδους, οι οποίοι συνήθως εύκολα συλλαμβάνονταν με τον αναρριφητήρα τέλειων κουνουπιών, βρέθηκαν σε κήπους στην περιοχή της Κηφισιάς, της Νέας Μάκρης, σε ρέματα όπως το ρέμα Χαλανδρίου και το ρέμα Χελιδονούς, καθώς και σε πολλά κοιμητήρια της ευρύτερης περιοχής των Αθηνών.

Επίσης, σύμφωνα με προσωπικές παρατηρήσεις, το *Ae. cretinus* εισέρχεται με ευκολία στα σπίτια αλλά σπάνια παραμένει ή αναπαύεται σε εσωτερικούς χώρους. Νύσσει κυρίως την ημέρα, κατά προτίμηση το σούρουπο αλλά και νωρίς το πρωί τις ζεστές ημέρες. Η όχληση που προκαλεί είναι έντονη και αυτός είναι ο λόγος που πολλά δείγματα (με αντίστοιχα παράπονα) φθάνουν κάθε χρόνο στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Αρκετές φορές η αντίδραση ευαισθησίας που δημιουργείται στο δέρμα των θυμάτων είναι εμφανής προκαλώντας ερύθημα, κνησμό ή και εξανθήματα. Τα ευαίσθητα άτομα (μικρά παιδιά) και κυρίως όσοι δεν έχουν εθιστεί στα νύγματά του μπορεί να παρουσιάσουν εξαιρετικά έντονα συμπτώματα που να χρήζουν ακόμη και ιατρικής φροντίδας.

3.4.2.3. Παρουσίαση των ειδών κουνουπιών

Στη συνέχεια ακολουθεί σύντομη παρουσίαση του κάθε είδους κουνουπιού που εντοπίστηκε κατά τη διάρκεια της συγκεκριμένης μελέτης. Για κάθε είδος παρατίθενται στοιχεία από τη μορφολογία τους, με έμφαση σε εκείνα τα χαρακτηριστικά που τα διαφοροποιούν από τα υπόλοιπα είδη κουνουπιών που εντοπίστηκαν στην περιοχή, ώστε να είναι δυνατή η σχετικά εύκολη αναγνώριση του κάθε είδους σε συνήθεις περιπτώσεις. Οπωσδήποτε βέβαια σε περιπτώσεις λεπτομερών καταγραφών των ειδών η προσφυγή στις κατάλληλες διχοτομικές κλείδες κρίνεται επιβεβλημένη.

Εκτός από τα κύρια μορφολογικά χαρακτηριστικά παρατίθενται στοιχεία από τη βιολογία και υγειονομική σημασία του κάθε είδους, τα οποία έχουν συλλεχθεί από διάφορες βιβλιογραφικές πηγές (Edwards 1921, Horsfall 1955, Παπαδάκης 1956, Μπέτζιος 1989, Εμμανουήλ 1999, Schaffner *et al.* 2001, Becker *et al.* 2003 κ.ά.) και θεωρούμε ότι θα μπορούσαν να φανούν χρήσιμα σε περίπτωση λήψης αποφάσεων σχετικά με την αντιμετώπιση κάθε είδους.

Τέλος αναφέρονται στοιχεία και παρατηρήσεις για το κάθε είδος που αποκομίστηκαν κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, σχετικά με την παρουσία τους στον Νομό Αττικής, την περίοδο του έτους που δραστηριοποιούνται καθώς και τις εστίες ανάπτυξης των προνυμφών τους. Τα περισσότερα από αυτά τα στοιχεία έχουν αναφερθεί και στους αντίστοιχους συγκεντρωτικούς πίνακες και τα διαγράμματα και συγκεκριμένα στον Πίνακα 3.9. και τις Εικόνες 3.37. έως 3.41.

3.4.2.3.1. *Anopheles (Anopheles) algeriensis* Theobald 1903

Τέλειο άτομο: Το *An. algeriensis* διαφέρει μορφολογικά από όλα τα υπόλοιπα ευρωπαϊκά είδη του υπογένους των *Anophelinae* από τις πτέρυγές του οι οποίες δεν φέρουν σκουρόχρωμες ή ανοιχτόχρωμες κηλίδες και από το θώρακα, ο οποίος είναι χωρίς ανοιχτόχρωμα λέπια στη νωτιαία περιοχή, αλλά έχει λέπια έντονου κόκκινο-καστανού χρώματος. Τα πόδια έχουν ομοιόμορφο σκούρο καστανό χρώμα, όπως και η προβοσκίδα.



Εικόνα 3.59. Κεφαλή και πτέρυγα *An. algeriensis*.

Προνύμφη: Η κεραία της προνύμφης είναι ελαφρώς κυρτή, με σκούρο χρώμα και ομοιόμορφη σε όλη την εσωτερική επιφάνειά της. Η σμήριγγα της κεραίας (Α1) είναι κοντή και ακανθωτή, με 5-6 διακλαδώσεις κοντά στη βάση της κεραίας. Οι σμήριγγες 5-7 C στην κεφαλή είναι μακριές με πολλές διακλαδώσεις. Η σμήριγγα 3-C στην κεφαλή είναι μονή ή αποτελείται από 2-3 διακλαδώσεις. Ένας ασφαλής διαγνωστικός χαρακτήρας για τη διάκριση των προνυμφών του *An. algeriensis* από εκείνες του *An. claviger* είναι το σχέδιο των σκοτεινών κηλίδων στην κεφαλή τους. Στο *An. algeriensis* υπάρχουν τουλάχιστον τρεις εγκάρσιες σκοτεινές-χρωματιστές ζώνες ενώ η κεφαλή του *An. claviger* έχει σκουρόχρωμες κηλίδες, χωρίς όμως να σχηματίζονται ευδιάκριτες ζώνες.



Εικόνα 3.60. Κεφαλή προνύμφης *An. algeriensis*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες συχνά αναπτύσσονται σε σκιασμένες μόνιμες εστίες γλυκού νερού, όπως χαντάκια, κανάλια ή μικρές λίμνες που σχηματίζονται από πλημμύρες ή στα φρεάτια με πλούσια βλάστηση και πλούσιο οργανικό φορτίο. Περιστασιακά παρατηρούνται σε μεγάλους αριθμούς και σε υφάλμυρα νερά. Οι προνύμφες και τα τέλεια άτομα έχουν βρεθεί και σε περιοχές με πάγο κατά τους χειμερινούς μήνες.

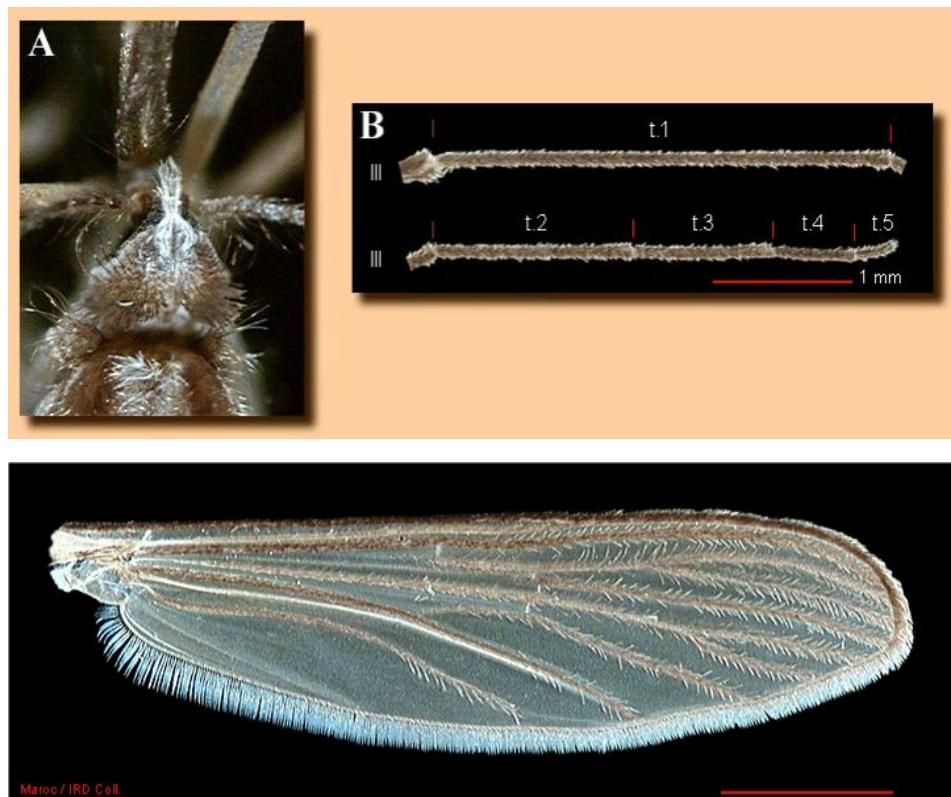
Εμφανίζεται νωρίς το καλοκαίρι και διαχειμάζει στο στάδιο της προνύμφης, αλλά σε θερμότερες περιοχές, κατά τους χειμερινούς μήνες, συνυπάρχουν τόσο προνύμφες όσο και τέλεια έντομα. Το *An. algeriensis* θεωρείται εξώφιλο είδος, που διημερεύει στην πυκνή βλάστηση και την αυγή ή το σούρουπο επιτίθεται εύκολα στους ζενιστές του, που είναι ο άνθρωπος και τα ζώα. Τα τέλεια του *An. algeriensis* σπάνια εισέρχονται στα σπίτια ή τους χώρους που διαμένουν τα ζώα.

Αν και εύκολα μπορεί να μολυνθεί εργαστηριακά με το πλασμώδιο της ελονοσίας εντούτοις θεωρείται δευτερεύων ξενιστής της ελονοσίας, επειδή είναι εξώφιλο και ζωόφιλο είδος και σπάνια επιτίθεται στον άνθρωπο.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης προνύμφες του συγκεκριμένου είδους εντοπίστηκαν κατά τους μήνες Ιούνιο και Ιούλιο, σε μικρούς πληθυσμούς, στην περιοχή του Μαραθώνα, κυρίως στη Μακαρία πηγή ανάμεσα σε πλούσια βλάστηση από καλάμια και άλλα υδροχαρή φυτά (Εικόνα 3.46.).

3.4.2.3.2. *Anopheles (Anopheles) claviger* s.s. (Meigen) 1804

Τέλειο άτομο: Το *An. claviger* s.s. χαρακτηρίζεται από ανοιχτόχρωμο μετωπικό λοφίο και από πολύ στενά ανοιχτόχρωμα τριχοειδή λέπια στη μεσαία περιοχή του θώρακα. Επίσης το τελευταίο τμήμα της προβοσκίδας δεν είναι ανοιχτόχρωμο, αλλά είναι ομοιόμορφο με την προβοσκίδα. Τα πλευρικά μέρη του θώρακα έχουν καστανό ή ανοικτό καστανό χρωματισμό.



Εικόνα 3.61. Κεφαλή, πόδι και πτέρυγα *An. claviger*.

Οι πτέρυγες έχουν ομοιόμορφα διάσπαρτα λέπια, χωρίς ευδιάκριτες κηλίδες από σκουρότερα λέπια στις διακλαδώσεις. Τα πόδια έχουν σκούρο καστανό χρώμα με μερικές ανοιχτόχρωμες κλίμακες. Το τμήμα 5 της προσακτρίδας είναι μεγαλύτερο από το 0,5 του μήκους του 4^{ου} τμήματος. Στα παλαιά και ξηρά δείγματα που έχουν δυσδιάκριτο χρωματισμό, το διαφορετικό μήκος των προσακτρίδων μπορεί να βοηθήσει περισσότερο στην ταυτοποίηση του είδους.

Προνύμφη: Οι σμήριγγες 5-7 στην κεφαλή είναι μακριές με πολλές διακλαδώσεις. Η σμήριγγα της κεραίας (A1) είναι κοντή και ακανθωτή, με 4-7 διακλαδώσεις, και βρίσκεται κοντά στη βάση της κεραίας. Η σμήριγγα 3-C στην κεφαλή είναι μονή ή αποτελείται από 2-3 διακλαδώσεις. Η κεφαλή έχει σκουρόχρωμες κηλίδες, χωρίς να σχηματίζονται ευδιάκριτες ζώνες. Η σμήριγγα 1-P, που βρίσκεται στον προθώρακα, είναι καλά αναπτυγμένη με 3-4 διακλαδώσεις, σε αντίθεση με άλλα είδη που είναι δυνατή και θυσανώδης.



Εικόνα 3.62. Κεφαλή προνύμφης *An. claviger*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες του *An. claviger* απαντώνται κατά τη διάρκεια των θερινών μηνών έως και τα τέλη του φθινοπώρου. Αναπτύσσονται σε ευρεία ποικιλία βιότοπων, αλλά παρουσιάζουν προτίμηση στα καθαρά σκιασμένα νερά, όπως στα κανάλια και στις λίμνες με βλάστηση, σε σημεία που βρίσκονται κάτω από δέντρα καθώς και μεταξύ των καλαμιών στις άκρες των λιμνών. Συχνά στους ίδιους βιοτόπους απαντώνται και οι προνύμφες των *An. maculipennis*, *Cx. impudicus*, *Cx. theileri* και *Cs. annulata*. Επίσης, μπορεί να βρεθούν σε πηγάδια ή δοχεία νερού.

Τα θηλυκά δεν τοποθετούν τα ωά τους στην επιφάνεια του νερού, όπως τα υπόλοιπα ανωφελή (υποικογένεια Anophelinae), αλλά στο υγρό έδαφος. Διαχειμάζουν ως προνύμφες 3^{ης} ή 4^{ης} ηλικίας, σε νερά που δεν παγώνουν τελείως και η ανάπτυξή τους δεν σταματά, αλλά είναι πολύ αργή κατά τη διάρκεια του χειμώνα. Οι προνύμφες είναι πολύ ευαίσθητες, και με την παραμικρή ενόχληση κατεβαίνουν στον πυθμένα της εστίας.

Τα τέλεια θηλυκά δεν μπαίνουν εύκολα στα σπίτια ή στους στάβλους, αλλά βρίσκονται στην ύπαιθρο. Είναι ζωόφιλο είδος και οι ξενιστές του είναι μεγάλα κατοικίδια ζώα. Είναι δυνητικός φορέας της ελονοσίας αν και λόγω της ζωοφιλίας του δεν θεωρείται μεγάλης υγειονομικής σημασίας για τη χώρα μας.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν σε εστίες της ευρύτερης περιοχής Μαραθώνα, κατά το διάστημα από τον Μάιο έως και τον Αύγουστο. Οι εστίες στις οποίες βρέθηκαν οι προνύμφες ήταν κυρίως κανάλια όπου παρουσιάζει έξαρση στους πληθυσμούς του αρχές του καλοκαιριού (Εικόνα 3.44. και Εικόνα 3.46.). Επίσης βρέθηκε και σε εποχιακά πλημμυρισμένες εστίες καθώς και φρεάτια με ύψος νερού 1-40 εκατοστά. Συχνά βρίσκονταν στις ίδιες εστίες μαζί με το *An. sacharovi* μέχρι αργά το Σεπτέμβριο. Επίσης το *An. claviger* εντοπίστηκε και εντός του λεκανοπεδίου της Αθήνας, σε σχετικά λίγες εστίες, κυρίως ρέματα, αλλά σε σχετικά υψηλούς πληθυσμούς κατά τον Ιούλιο και Αύγουστο.

3.4.2.3.3. *Anopheles (Anopheles) maculipennis* s.s. Meigen 1818

Τέλειο άτομο: Το χρώμα του τέλειου εντόμου είναι σκοτεινό ή καστανό, αν και γενικά εμφανίζει μεγάλη παραλλακτικότητα ως προς το χρώμα και το μέγεθος. Οι πτέρυγες είναι σχετικά ανοιχτόχρωμες και φέρουν εμφανείς σκούρες κηλίδες στις διακλαδώσεις. Στην κορυφή της πτέρυγας υπάρχει μια ομάδα ανοιχτόχρωμων λεπιών. Η προβοσκίδα έχει σκούρο καστανό χρώμα, και όλα τα τμήματα της προβοσκίδας έχουν το ίδιο χρώμα. Επίσης οι κεραίες και τα πόδια έχουν σκούρο καστανό χρώμα. Το μετωπικό λοφίο είναι ανοιχτόχρωμο και ο θώρακας έχει ανοιχτόχρωμα γκρίζα λέπια στην μεσαία γραμμή. Τα πλευρικά μέρη του θώρακα έχουν καστανό χρώμα. Ο θυρεός έχει σκούρο καστανό χρώμα με λεπτές χρυσές κλίμακες. Η κοιλία έχει καστανό ή πολύ σκούρο καστανό χρώμα με χρυσοκαστανές κάθετες ραβδώσεις.



Εικόνα 3.63. Πτέρυγα του *An. maculipennis*.

Προνύμφη: Οι σμήριγγες 5-7 στην κεφαλή είναι μακριές με πολλές διακλαδώσεις. Η σμήριγγα της κεραίας (A1) είναι μικρή και ακανθωτή, με 4-6 διακλαδώσεις, και βρίσκεται κοντά στο μέσο της κεραίας. Σε αντίθεση με τα προηγούμενα είδη η σμήριγγα 3-C στην κεφαλή μοιάζει με δέντρο. Η σμήριγγα 2-C στην κεφαλή είναι μονή ή με μικρές διακλαδώσεις.



Εικόνα 3. 64. Κεφαλή προνύμφης του *An. maculipennis*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες απαντώνται κυρίως στα κρύα, καθαρά και χωρίς βλάστηση νερά, περιοχών που βρίσκονται σε υψόμετρο, αλλά μπορούν επίσης να βρεθούν και σε πεδιάδες καθώς και σε παράκτιες ζώνες. Τυπικές εστίες ανάπτυξης είναι οι προστατευμένες περιοχές σε ρέματα, όχθες ποταμών ή ρεμάτων, ανοικτές υδάτινες εκτάσεις όπως πλημμυρισμένοι αγροί αλλά και τεχνητές δεξαμενές ή και μικρές υδάτινες συλλογές χωρίς βλάστηση καθώς και σε νερά με πλούσιο οργανικό φορτίο, όπου απαντάται μαζί με το *Cx. pipiens*. Είναι ενδόφιλο είδος και την ημέρα αναπαύεται συνήθως σε στάβλους και κατοικίες ενώ διαχειμάζει ως τέλειο έντομο συχνά μέσα σε εγκαταλειμμένα κτίρια. Η ακτίνα διασποράς του από της εστίες ανάπτυξης προνυμφών, εάν υπάρχει ανάγκη για εξεύρεση τροφής, θεωρείται ότι είναι περίπου 2 χιλιόμετρα.

Τα τέλεια θηλυκά άτομα γενικά δεν προτιμούν τον άνθρωπο ως ξενιστή. Είναι έντονα ζωοδίαιτο είδος, με κάποια ιδιαίτερη προτίμηση στα βοοειδή αλλά και στους χοίρους και τα κοτόπουλα. Σε περίπτωση όμως έλλειψης σχετικών ξενιστών νύσσει περιστασιακά και ανθρώπους.

Είναι δυνητικός φορέας της ελονοσίας και παρά τη ζωοφιλία του, στο παρελθόν έχει θεωρηθεί σημαντικός παράγων για τη μετάδοση της ασθένειας αυτής, σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας. Επίσης θεωρείται και ικανός φορέας του ιού του Δυτικού Νείλου.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν σε εστίες της ευρύτερης περιοχής Μαραθώνα, σε κανάλια και έλη από τον Ιούνιο έως και τις αρχές Οκτωβρίου, με μέγιστο τον Ιούλιο. Τα νερά των εστιών στις οποίες βρέθηκε ήταν συνήθως στάσιμα, συχνά με οριζόντια υδρόβια βλάστηση αλλά και χωρίς βλάστηση και το ύψος του νερού κυμαίνονταν από 5-40 εκατοστά. Μέσα στο λεκανοπέδιο της Αθήνας εντοπίστηκε σε σχετικά λίγες εστίες αλλά σε σημαντικούς πληθυσμούς προνυμφών κατά τον Ιούλιο και Αύγουστο. Τέλεια του είδους συλλέχθηκαν αρκετές φορές από τοίχους στάβλων κυρίως στην περιοχή του Μαραθώνα αλλά και της Δυτικής Αθήνας στους πρόποδες της Πάρνηθας.

3.4.2.3.4. *Anopheles (Anopheles) sacharovi* Favre 1903

Τέλειο άτομο: Χαρακτηρίζεται από ανοιχτόχρωμο μετωπικό λοφίο και από θώρακα με ανοιχτόχρωμα λέπια στη μεσαία περιοχή. Οι πτέρυγες φέρουν κηλίδες από σκουρόχρωμα λέπια, στις διακλαδώσεις των νεύρων. Η κορυφή της πτέρυγας έχει το ίδιο χρώμα με το υπόλοιπο τμήμα, σε αντίθεση με το *An. maculipennis* στο οποίο είναι ανοιχτόχρωμη. Ο θυρεός έχει ανοιχτό καστανό χρώμα, χωρίς τις λεπτές χρυσές κλιμακωτές ραβδώσεις.



Εικόνα 3.65. Πτέρυγα του *An. sacharovi*.

Προνύμφη: Η σμήριγγα της κεραίας (Α1) είναι μικρή και ακανθωτή, με 4-6 διακλαδώσεις που βρίσκονται στο μέσο της κεραίας. Οι σμήριγγες 5-7 C της κεφαλής είναι μακριές με πολλές διακλαδώσεις. Και σε αυτό το είδος η σμήριγγα 3-C της κεφαλής είναι δενδροειδής. Η σμήριγγα 2-C της κεφαλής είναι μονή ή με μικρές διακλαδώσεις προς την κορυφή.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες αρέσκονται γενικά σε θερμά νερά γι' αυτό απαντώνται γενικά σε αβαθείς εκτεταμένες εστίες, εκτεθειμένες στον ήλιο, οι οποίες συνήθως έχουν άφθονη βλάστηση. Επίσης αναπτύσσονται και σε υφάλμυρα νερά, όπως παράκτια έλη, στις λιμνοθάλασσες καθώς και στα κοντινά ρέματα ή στις άκρες των δρόμων. Οι προνύμφες δεν είναι πολύ κινητικές και σπάνια εγκαταλείπουν την επιφάνεια του νερού, σε αντίθεση για παράδειγμα με αυτές του *An. claviger*.

Διαχειμάζουν ως τέλεια έντομα, συνήθως σε καταλύματα ζώων. Τα τέλεια θηλυκά εμφανίζονται κατά τη διάρκεια της ημέρας κυρίως στους στάβλους και στις οικίες ενώ το βράδυ απομακρύνονται. Περιστασιακά μπορεί να βρεθούν να διημερεύουν στην ύπαιθρο, σε κοιλότητες δέντρων, κάτω από γέφυρες ή σε κοιλότητες βράχων. Για την αναζήτηση αίματος τα θηλυκά μπορούν να εξαπλωθούν έως και 3,5 χλμ. μακριά από τις εστίες ανάπτυξης των προνυμφών τους.

Συλλογές τέλειων του είδους αυτού έγιναν και από υπόστεγα ή εγκαταλειμμένα κτίρια όπου συνήθως τα κουνούπια αναπαύονταν στην οροφή ή στα ψηλότερα σημεία των τοίχων αλλά πάντα σε σημεία χωρίς έντονο φωτισμό.

Είναι έντονα ανθρωπόφιλο είδος και θεωρείται ο κυριότερος φορέας της ελονοσίας, από όλα τα είδη του *An. maculipennis* complex για τις Μεσογειακές χώρες και φυσικά για την Ελλάδα.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν σε εστίες της ευρύτερης περιοχής Μαραθώνα, σε κανάλια, έλη και άλλες πλημμυρισμένες εστίες από τον Απρίλιο έως σχεδόν και τον Νοέμβριο, με μέγιστο του πληθυσμού τους να συλλαμβάνεται από τον Ιούλιο έως τα μέσα Αυγούστου. Τα νερά των εστιών στις οποίες εντοπίστηκαν προνύμφες περιείχαν συνήθως μέτρια και όχι πυκνή βλάστηση κάθετη ή οριζόντια (Εικόνα 3.48. έως Εικόνα 3.52.). Σε έλη και κανάλια στην περιοχή του Μαραθώνα βρέθηκε μαζί με το *Cx. modestus*, *Cx. theileri* και *Ur. unguiculata* (Εικόνα 3.47.).

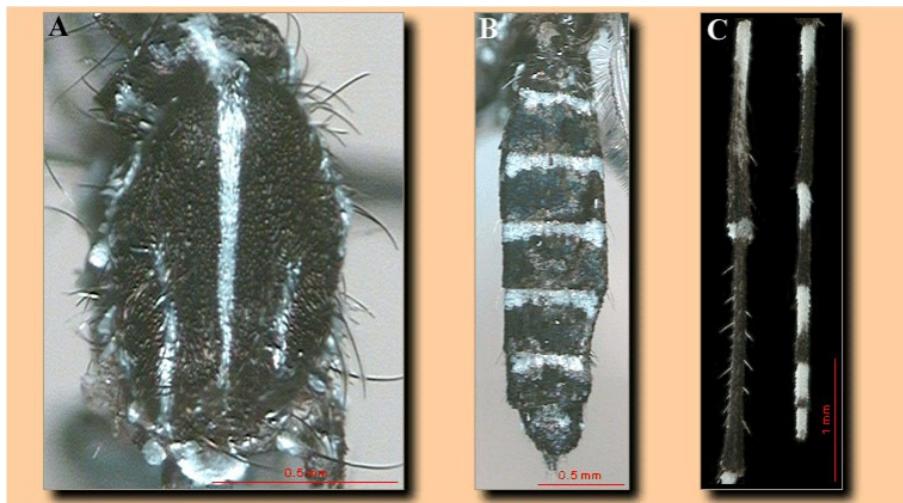
Η μεγάλη πυκνότητα του πληθυσμού του *An. sacharovi*, στην περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά, σε συνδυασμό με την παραμονή στην περιοχή σημαντικού αριθμού αλλοδαπών εργατών από ασιατικές χώρες, αυξάνει σημαντικά τον κίνδυνο για μία ενδεχόμενη επιδημία ελονοσίας στη συγκεκριμένη περιοχή (το 2010 διαπιστώθηκε κρούσμα αυτόχθονης μετάδοσης ελονοσίας, στο Μαραθώνα, μετά από 20 και πλέον έτη).

3.4.2.3.5. *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards 1921

Τέλειο άτομο: Το *Ae. cretinus* ξεχωρίζει εύκολα από τα υπόλοιπα κουνούπια (με εξαίρεση το είδος *Ae. albopictus*) κυρίως από τα σχέδια των λεπιών σε διάφορα μέρη του σώματος και κυρίως στο επιθωράκιο (scutum). Συγκεκριμένα τα τέλεια του είδους αυτού είναι μαύρα κουνούπια με ανοιχτόχρωμα λέπια (scales) στο θώρακα και αργυρόχρωμα-λευκά λέπια στην κοιλία. Επίσης έχουν φαρδείς δακτυλίους στη βάση των ταρσομερών των οπίσθιων ποδών και ανοιχτόχρωμες πλήρεις (χωρίς χαραγή) λωρίδες, στα κοιλιακά τμήματα.

Σε σχέση με το *Ae. albopictus* που όπως ειπώθηκε βρέθηκε σχετικά πρόσφατα και στην Αττική το *Ae. cretinus* διαθέτει στο επιθωράκιο, εκτός από την κεντρική γραμμή και άλλες δύο ευδιάκριτες στενές γραμμές από ανοιχτόχρωμα λέπια. Στα πλευρά του θώρακα στο ύψος της προεξοχής της βάσης της πτέρυγας, τα ανοιχτόχρωμα λέπια σχηματίζουν σχεδόν συνεχή γραμμή σε αντίθεση με το *Ae. albopictus* στο οποίο η γραμμή αυτή είναι διακεκομμένη.

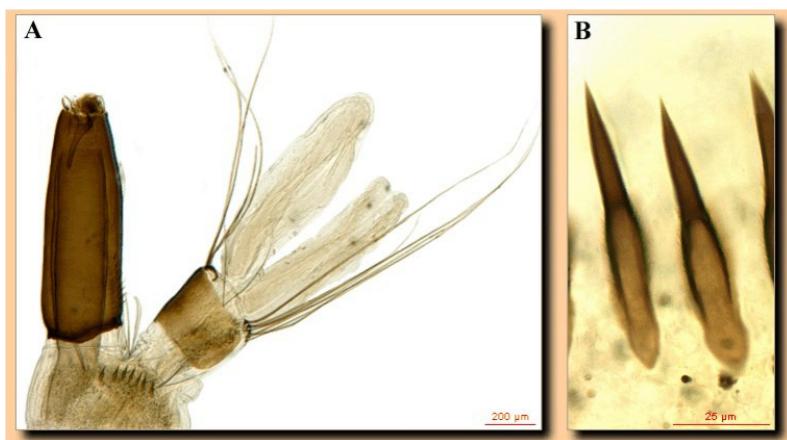
Τέλος ένα άλλο σημαντικό διαγνωστικό χαρακτηριστικό μεταξύ των δύο αυτών ειδών είναι ότι το *Ae. cretinus* φέρει όνυχες με όδοντα στη βάση τους, στα πρόσθια και μεσαία πόδια των θηλυκών ενώ το *Ae. albopictus* φέρει απλούς όνυχες σε όλα τα πόδια.



Εικόνα 3.66. Θώρακας, κοιλία και πόδι *Ae. cretinus*.

Προνύμφη:

Στις προνύμφες 4^{ης} ηλικίας τα *Ae. cretinus* και *Ae. albopictus* έχουν ασθενείς (όχι ισχυρές) πλευρικές ακίδες (weak lateral spicules) στις οδοντώσεις του κτενίου και διαφέρουν μεταξύ τους γιατί όλες οι 4-X σμήριγγες είναι μονήρεις στο *Ae. albopictus*, ενώ είναι διακλαδισμένες στο *Ae. cretinus*.



Εικόνα 3.67. Σιφώνιο και άκανθες κτενίου προνύμφης *Ae. cretinus*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Όπως έχει αναφερθεί και σε προηγούμενα κεφάλαια, μέχρι την πραγματοποίηση της παρούσας μελέτης, ελάχιστα ήταν γνωστά για τη βιολογία του είδους αυτού.

Σχετικά με την υγειονομική σημασία του όπως έχει αναφερθεί δεν υπάρχουν σχεδόν καθόλου στοιχεία εκτός από το γεγονός ότι είναι ανθρωπόφιλο και επιθετικό κουνούπι που νύσσει και κατά τη διάρκεια της ημέρας, συνήθως το σούρουπο και κυρίως εκτός των οικιών.

Παρατηρήσεις: Όπως προέκυψε από τις παρατηρήσεις μας με τη βοήθεια των παγίδων ωιθεσίας, κατά τη διάρκεια του έτους η δραστηριότητα για ωοτοκία των θηλυκών του *Ae. cretinus* αρχίζει την άνοιξη (συνήθως τον Απρίλιο), φτάνει στο απόγειο το καλοκαίρι ή/και νωρίς το φθινόπωρο και στις περισσότερες περιοχές σταματά κατά τα τέλη Οκτωβρίου ή αρχές Νοεμβρίου. Φυσικά οι διάφορες καιρικές συνθήκες και ειδικά οι βροχοπτώσεις και η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσουν, ελαφρά όμως, αυτό το χρονοδιάγραμμα.

Το *Ae. cretinus* χρησιμοποιεί αξιοσημείωτα πολλές και διαφορετικές εστίες για την ωιθεσία και την ανάπτυξη των προνυμφών του. Στο ύπαιθρο, οι προνύμφες του εντοπίστηκαν σε διάφορες εστίες μικρών συγκεντρώσεων νερού, τεχνητές ή φυσικές, όπως λεκάνες, παλιά ελαστικά, κουβαδάκια και πιάτα για τη συλλογή υδάτων από γλάστρες, σε βεράντες και κήπους καθώς και σε ανθοδοχεία σε κοιμητήρια (Εικόνα 3.57.). Επίσης βρέθηκαν εστίες ακόμη και στο έδαφος που είχαν σχηματιστεί από διαρροές του δικτύου ύδρευσης ή αποχέτευσης ή κάτω από σχάρες συλλογής ομβρίων υδάτων.

Κοινά χαρακτηριστικά όλων των παραπάνω εστιών ήταν η περιορισμένη έκταση, το μικρό ύψος νερού (0,5 ως το πολύ 7-8 εκατοστά), το καθαρό νερό ή το μέτριο οργανικό φορτίο καθώς και το γεγονός ότι οι εστίες πάντοτε βρίσκονταν σε σκιερά μέρη, μακριά από την ηλιακή ακτινοβολία. Επίσης, ελάχιστες φορές, εντοπίστηκαν προνύμφες και σε κοιλότητες δένδρων (φυτοτέλματα) αλλά θα πρέπει να διευκρινιστεί όμως ότι ο συγκεκριμένος τύπος εστιών γενικά σπανίζει στην περιοχή του Νομού Αττικής και ως εκ τούτου είναι αναμενόμενο τα είδη που προτιμούν αυτές τις εστίες, είτε να μην εμφανίζονται στην Αττική ή να αναπτύσσονται σε μικρές συλλογές νερού.

Σημαντικοί αριθμοί τέλειων του είδους αυτού συγκεντρώθηκαν από τις δειγματοληψίες σε εξωτερικούς χώρους με ή χωρίς της μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα». Μεγάλοι αριθμοί τέλειων βρέθηκαν σε κήπους, ρέματα καθώς και σε Κοιμητήρια της ευρύτερης περιοχής των Αθηνών.

Επίσης σύμφωνα με παρατηρήσεις μας το *Ae. cretinus* μπαίνει με ευκολία στα σπίτια αλλά σπάνια παραμένει ή αναπαύεται σε εσωτερικούς χώρους. Νύσσει κυρίως την ημέρα, κατά προτίμηση το σούρουπο αλλά και νωρίς το πρωί τις ζεστές ημέρες. Η όχληση που προκαλεί είναι έντονη και πολλές φορές οι αντίδραση ευαίσθησίας στο δέρμα των θυμάτων είναι εμφανής προκαλώντας κοκκινίλες, φαγούρα ή και εξανθήματα. Τα ευαίσθητα άτομα (μικρά παιδιά) και κυρίως όσοι δεν έχουν εθιστεί στα νύγματά του μπορεί να παρουσιάσουν εξαιρετικά έντονα συμπτώματα που να χρήζουν ακόμη και ιατρική φροντίδα.

3.4.2.3.6. *Ochlerotatus (Ochlerotatus) caspius* (Pallas) 1771

Τέλειο άτομο: Χαρακτηριστικό γνώρισμα του είδους αυτού είναι ότι ο θώρακας διαθέτει χρυσά λέπια, με στενές κεντρικές ταινίες στη ράχη από ανοιχτόχρωμα λέπια. Επίσης η βάση του πλευρικού νεύρου της πτέρυγας (costa) έχει σκούρα λέπια, όπως και το κερκιδικό νεύρο (R) που έχει σκούρα και λίγα ανοιχτόχρωμα λέπια.

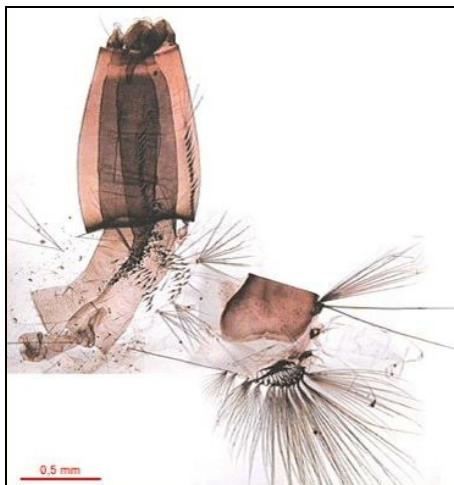


Εικόνα 3.68. Θώρακας, κοιλία και ταρσός *Oc. caspius*.

Το κοιλιακό τμήμα έχει μεσαίες ανοιχτόχρωμες γραμμές, σαν τρίγωνα, αν και μερικές φορές οι γραμμές αυτές δεν είναι ευδιάκριτες γιατί η περιοχή είναι γεμάτη από λευκά λέπια. Τα ταρσομερή του πίσω ποδιού φέρουν ανοιχτόχρωμους δακτυλίους.

Στην παραπάνω εικόνα φαίνονται οι χαρακτηριστικές ανοιχτόχρωμες γραμμές του είδους αυτού, της κοιλίας, που μοιάζουν με τρίγωνα. Οι σχηματισμοί αυτοί της κοιλίας διαφέρουν σημαντικά από αντίστοιχα κοιλιακά τμήματα άλλων ειδών.

Προνύμφη: Η προνύμφη χαρακτηρίζεται από την παρουσία σιφωνίου, το οποίο έχει χτενίδιο με ομαλό διάστημα μεταξύ των δοντιών και λεπταίνει ελαφρώς στο ακραίο τμήμα. Η σιφωνική τούφα (1-S) έχει 5-10 διακλαδώσεις που εκτείνονται λίγο μετά από την μέση του σιφωνίου. Η κεραία είναι ακανθωτή και η σμήριγγα της (A1) είναι διακλαδισμένη με 8-9 διακλαδώσεις, και βρίσκεται στο μέσο της κεραίας. Στο τελευταίο κοιλιακό τμήμα υπάρχει ένα κτένι με μιντερά λέπια, τα οποία είναι λιγότερα από 35 σε αριθμό.



Εικόνα 3.69. Σιφώνιο προνύμφης του *Oc. caspius*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Είναι είδος των παράλιων ελωδών εκτάσεων. Οι προνύμφες εμφανίζονται στα ανοικτά ή σκιασμένα νερά που διαθέτουν σχετικά λίγη βλάστηση και λασπώδη πυθμένα. Έχουν τον ίδιο βιότοπο με πολλά άλλα είδη κουνουπιών, όπως: *An. maculipennis* s.s., *Oc. detritus*, *Cx. pipiens*, *Cx. theileri*, *Cx. impudicus* και *Cs. annulata*.

Διαχειμάζει στο στάδιο του ωού και η εμφάνιση των πρώτων προνυμφών εξαρτάται από το γεωγραφικό πλάτος. Στην περιοχή του Σχοινιά, όπου παρατηρήθηκαν και οι μεγαλύτεροι πληθυσμοί του είδους οι πρώτες συλλήψεις του είδους πραγματοποιήθηκαν τον Μάιο ενώ η παρουσία του συνεχίζονταν καθόλη τη θερμή περίοδο. Μπορεί να δημιουργήσει πολλές γενεές το χρόνο αλλά, εάν οι συνθήκες στις εστίες ανάπτυξης δεν είναι ευνοϊκές παράγει μόνο μία γενεά.

Γενικά, θεωρείται αγροδίαιτο είδος όπου όμως εύκολα νύσσει ανθρώπους και ζώα, τόσο την ημέρα όσο και τη νύχτα, αλλά συνήθως είναι πιο δραστήριο κατά το σούρουπο. Όταν εμφανίζονται υψηλοί πληθυσμοί του είδους, εισέρχονται στα σπίτια καθώς και στους στάβλους ή υπόστεγα βοοειδών ενώ για αναζήτηση αίματος μπορεί να διασπαρεί και σε αποστάσεις μέχρι και 10 χιλιόμετρα από τις εστίες ανάπτυξης των προνυμφών του (έχουν αναφερθεί αποστάσεις έως και 40 χιλιόμετρα).

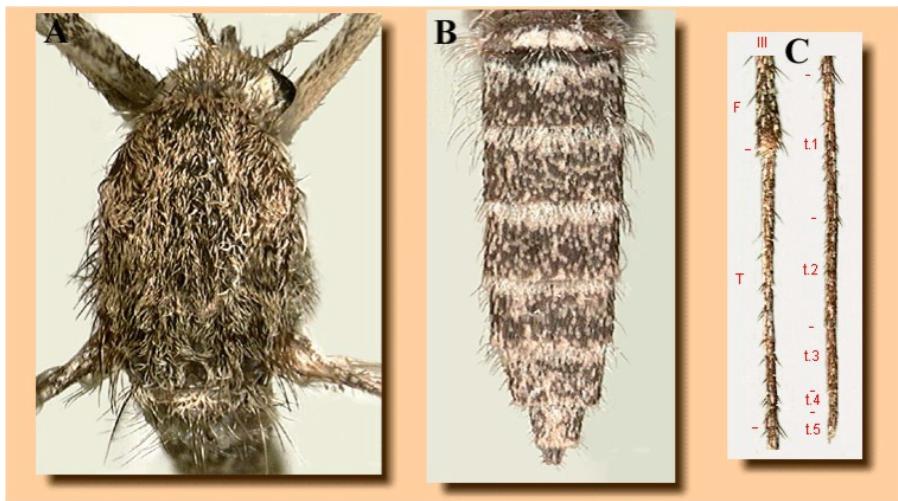
Ως προς την υγειονομική του σημασία, έχουν αναφερθεί απομονώσεις από φυσικούς πληθυσμούς του είδους αυτού διαφόρων παθογόνων όπως ο ιός του Δυτικού Νείλου, ο ιός Tahyna και το βακτήριο *Francisella tularensis* που προκαλεί τουλαραιμία.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν σε παραθαλάσσιες εστίες της περιοχής Σχοινιά κυρίως με υφάλμυρα νερά αλλά κάποιες φορές και σε γλυκά νερά σε εστίες που σχηματίστηκαν από τη βροχή ή την υπερχελιστή κανολιών. Τα νερά των εστιών στις οποίες βρέθηκε ήταν συνήθως στάσιμα ή με πολύ αργή κίνηση, με λασπώδη ή αμμώδη πυθμένα και ύψος νερού 2-30 εκατοστά. Το διάστημα κατά το οποίο εμφανίζονταν οι προνύμφες στις παραπάνω εστίες ήταν κατά τους μήνες Μάιο, Ιούνιο και Ιούλιο καθώς και το φθινόπωρο από τον Σεπτέμβριο έως και τον Νοέμβριο.

Πρόκειται για πολύ επιθετικό είδος κουνουπιού που νύσσει ακόμη και κατά τη διάρκεια της ημέρας. Τέλεια του είδους συλλέχθηκαν αρκετές φορές και σε σημαντικούς αριθμούς, με τη μέθοδο του «ανθρώπινου δολώματος» στην περιοχή του Σχοινιά – Μαραθώνα, ακόμη και κοντά σε κατοικημένες περιοχές, ενώ τέλεια επίσης συλλέχθηκαν και από το εσωτερικό οικιών.

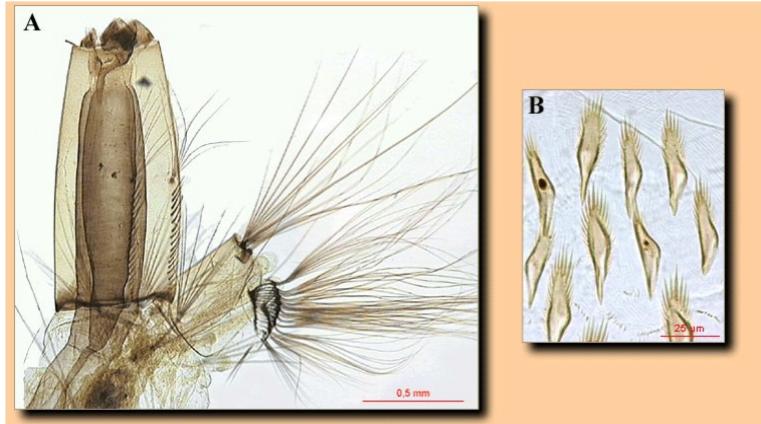
3.4.2.3.7. *Ochlerotatus (Ochlerotatus) detritus* (Haliday) 1833

Τέλειο άτομο: Χαρακτηριστικό γνώρισμα του είδους αυτού είναι ότι τα μπροστινά μέρη του φτερού είναι επιπασμένα με ανοιχτόχρωμα λέπια. Επίσης, τα κοιλιακά τμήματα και κυρίως τα τελευταία, έχουν σκούρα και ανοιχτόχρωμα λέπια. Οι βασικές ταινίες στα κοιλιακά τμήματα, που σχηματίζονται από ανοιχτόχρωμα λέπια, έχουν το ίδιο μέγεθος και μπορεί να είναι κάπως στενές, ποτέ όμως δεν διακόπτονται από άλλα λέπια ή τμήματα της κοιλίας. Τα πλευρικά τμήματα της κοιλίας έχουν κηλίδες από σκωτεινόχρωμα κιτρινωπά ή λευκά λέπια. Οι κέρκοι είναι μακριοί σχετικά και ορατοί. Οι ταρσοί δεν έχουν ανοιχτόχρωμους δακτυλίους.



Εικόνα 3.70. Θώρακας, κοιλία και πόδι *Oc. detritus*.

Προνύμφη: Στις προνύμφες χαρακτηριστική είναι η παρουσία σιφωνίου, το οποίο λεπταίνει ελαφρώς από τη μέση και πέρα, και έχει χτενίδιο που φέρει δόντια με ομαλό διάστημα μεταξύ τους. Η σιφωνική τούφα (1-S) παρεμβάλλεται στη μέση του σιφωνίου και αποτελείται από 6-10 διακλαδώσεις. Η κεραία είναι κοντή και ακανθωτή και η σμήριγγα της (A1) αποτελείται από 5-8 διακλαδώσεις. Στο τελευταίο κοιλιακό τμήμα υπάρχει ένα κτένι με μυτερά λέπια, τα οποία είναι περισσότερα από 40, συνήθως 45-60.



Εικόνα 3.71. Σιφώνιο προνύμφης και άκανθες κτενίου του *Oc. detritus*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Είναι χαρακτηριστικό είδος των υφάλμυρων και αλμυρών νερών και μόνο περιστασιακά μπορεί να αναπτυχθεί σε γλυκό νερό. Συνήθεις εστίες ανάπτυξης των προνυμφών του είναι τα παράκτια έλη και τα υφάλμυρα νερά στις εκβολές ποταμών. Ορισμένες φορές οι προνύμφες βρίσκονται και σε προσωρινές υδατοσυλλογές, στα αποστραγγιστικά κανάλια, σε τάφρους ή άλλα στάσιμα νερά με σχετικά αραιή βλάστηση. Πολλές φορές οι προνύμφες του *Oc. detritus*, βρίσκονται μαζί με τις προνύμφες του *Oc. caspius*.

Διαχειμάζει στο στάδιο του ωού και δραστηριοποιείται το διάστημα από Μάιο μέχρι Σεπτέμβριο, αναπτύσσοντας μεγάλους πληθυσμούς και συμπληρώνοντας μέχρι τρεις γενεές το έτος.

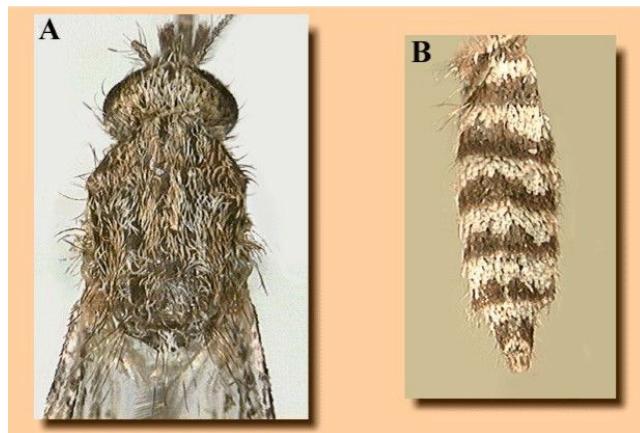
Είναι χαρακτηριστικά εξώφιλο είδος και τα θηλυκά επιτίθενται εύκολα σε ανθρώπους ακόμη και κατά τη διάρκεια της ημέρας. Γενικά όμως είναι πιο δραστήρια το σούρουπο όπου συχνά επιδεικνύουν έντονα επιθετική συμπεριφορά και έχουν επίμονο τσίμπημα. Έχουν μεγάλη ακτίνα διασποράς (έως και 20 χιλιόμετρα) και συχνά μπορούν να επισκεφθούν για αναζήτηση τροφή κατοικημένες περιοχές που βρίσκονται μακριά από τις εστίες ανάπτυξής τους. Εκτός από την όχληση, είναι δυνητικός φορέας και αρκετών αρμποϊών.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της μελέτη μας, προνύμφες του *Oc. detritus* συλλέχθηκαν στην περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά σε κανάλια, έλη και πλημμυρισμένες εστίες με εποχιακά, στάσιμα γλυκά ή υφάλμυρα νερά, ακόμη και σε εστίες με θαλασσινό νερό (Εικόνα 3.42. και Εικόνες 3.51. έως 3.54.). Είναι το πρώτο είδος που εμφανίζεται στην περιοχή μετά το χειμώνα ενώ μεγάλοι πληθυσμοί του παρατηρήθηκαν νωρίς την άνοιξη (Μάρτιο, Απρίλιο) προκαλώντας εξαιρετική όχληση στις γύρω περιοχές. Επίσης λίγες προνύμφες εντοπίστηκαν και τον Ιούνιο και Ιούλιο ενώ έκαναν ξανά την εμφάνισή τους και από τον Σεπτέμβριο έως και τον Ιανουάριο.

Μαζί με το *Oc. caspius* είναι τα δύο περισσότερο ενοχλητικά κουνουπια της Ανατολικής Αττικής και συλλέγονταν σε μεγάλους πληθυσμούς και με τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα». Χαρακτηριστικό είναι ότι σε περιόδους υψηλών πληθυσμών ήταν πρακτικά αδύνατο να διατηρηθεί ο χρόνος των 15 λεπτών που είχε καθοριστεί ως διάστημα συλλογής των κουνουπιών σύμφωνα με την παραπάνω μέθοδο δειγματοληψίας.

3.4.2.3.8. *Ochlerotatus (Ochlerotatus) zammitii* (Theobald) 1903

Τέλειο άτομο: Το είδος αυτό διαφέρει από το *Oc. caspius* στο διάκοσμο του θώρακα, τα μαύρα λέπια στα πόδια και την απουσία της ανοιχτόχρωμης λωρίδας κατά μήκος της κοιλίας. Ο θώρακας του *Oc. zammitii* είναι καλυμμένος σε μεγάλο βαθμό με καστανά και χρυσά λέπια στην απόχρωση όμως της σκουριάς. Σε μερικές περιπτώσεις μπορεί να υπάρχουν και λευκόχρωμα λέπια που να σχηματίζουν ακαθόριστα σχέδια.



Εικόνα 3.72. Θώρακας και κοιλία *Oc. zammitii*.

Προνύμφη: Οι κεραίες στην κεφαλή της προνύμφης είναι κοντότερες από το μήκος της κεφαλής. Το σιφώνιο είναι κοντό και σχετικά παχύ ενώ λεπταίνε ελαφρά προς το άκρο. Τα εδρικά γάγγλια είναι πολύ κοντά ως προς το μήκος τους και σχεδόν σφαιρικά.



Εικόνα 3.73. Σιφώνιο προνύμφης και άκανθες κτενίου του *Oc. zammitii*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες του *Oc. zammitii* βρίσκονται αποκλειστικά σε αλμυρό νερό, σε εστίες που σχηματίζονται στα παραθαλάσσια βράχια, και γεμίζουν με νερό από τα κύματα.

Πέρα από την όχληση, δεν είναι γνωστό εάν μπορεί να μεταδώσει κάποια ασθένεια στον άνθρωπο αλλά έχει αναφερθεί ότι μεταδίδει την ελονοσία των πτηνών (*Plasmodium relictum*).

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της μελέτης η παρουσία του ήταν πολύ έντονη σε παραθαλάσσιες περιοχές όπως το Καβούρι και η Βουλιαγμένη (ιδίως στα λιμανάκια της Βουλιαγμένης) και εμφανίζεται από τον Μάρτιο μέχρι και τον Οκτώβριο. Είναι πολύ επιθετικό είδος, νύσσει είτε την ημέρα είτε τη νύχτα και προκαλεί έντονη ενόχληση στους ανθρώπους των περιοχών όπου αναπτύσσεται.

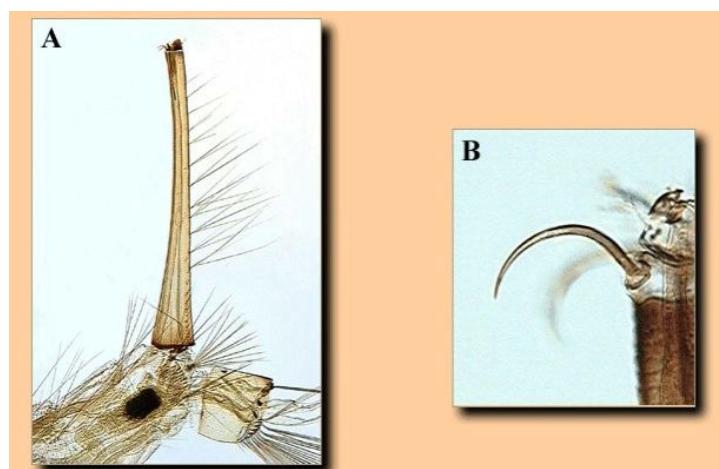
3.4.2.3.9. *Culex (Maillotia) hortensis* Ficalbi 1889

Τέλειο άτομο: Χαρακτηριστικό γνώρισμα του είδους αυτού είναι ότι στην μεταπνευστική και προπτερυγική περιοχή υπάρχουν λέπια. Επίσης οι λευκές ταινίες των κοιλιακών τεργιτών έχουν κατεύθυνση από την βάση (κοιλία) προς την κορυφή (κεφαλή), σε αντίθεση με τα περισσότερα κουνούπια που έχουν αντίθετη κατεύθυνση. Είναι ένα κουνούπι γενικά με πολλά λέπια στο σώμα του. Οι πτέρυγες έχουν γκριζωπό χρώμα χωρίς κηλίδες. Οι ταρσοί έχουν σκούρο χρώμα με μερικά άσπρα λέπια.



Εικόνα 3.74. Τέλειο θηλυκό *Cx. hortensis*.

Προνύμφη: Στο 10^ο κοιλιακό τμήμα υπάρχει ένας ή περισσότεροι θύσανοι εκτός της σχάρας. Το σιφώνιο είναι μακρύ και διαθέτει 2 ή περισσότερες σμήριγγες. Η σμήριγγα 3-P στον θώρακα έχει μεγαλύτερο μήκος από το ½ του μήκους της 1-P. Η κεραία είναι ακανθωτή και η σμήριγγα της (A1) αποτελείται από 10 διακλαδώσεις.



Εικόνα 3.75. Σιφώνιο προνύμφης *Cx. hortensis* και λεπτομέρεια του άκρου του.

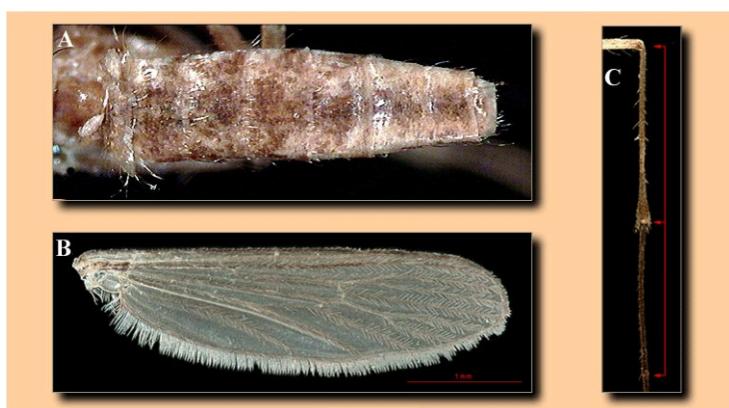
Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες αναπτύσσονται συνήθως σε εστίες με καθαρό γλυκό νερό και αραιή βλάστηση, αλλά μπορεί να βρεθούν και σε μικρές λίμνες, αχρησιμοποίητα φρεάτια ή σε δοχεία σε αυλές ή κήπους.

Διαχειμάζουν στο στάδιο του τέλειου θηλυκού και την ημέρα παραμένουν σε σκοτεινά σημεία όπως στάβλοι αλλά ποτέ δεν παρατηρούνται μέσα στα σπίτια. Τα θηλυκά συνήθως δεν νύσσουν ανθρώπους.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν στο τέλος της άνοιξης (Μάιο) αλλά και αργά το φθινόπωρο (Οκτώβριο, Νοέμβριο). Οι προνύμφες του βρέθηκαν σε έλη, ρέματα και αρδευτικά κανάλια με πλούσια βλάστηση, στην περιοχή του Μαραθώνα αλλά και σε μικρούς αριθμούς και εντός του λεκανοπεδίου, σε ρέματα καθώς και σε αρκετές άλλες εστίες κοντά ή μέσα σε κατοικημένες περιοχές. Άλλα είδη κουνουπιών που συλλέχθηκαν στις ίδιες εστίες μαζί με το *Cx. hortensis* ήταν τα *An. maculipennis*, *An. algeriensis* και *Cx. territans*.

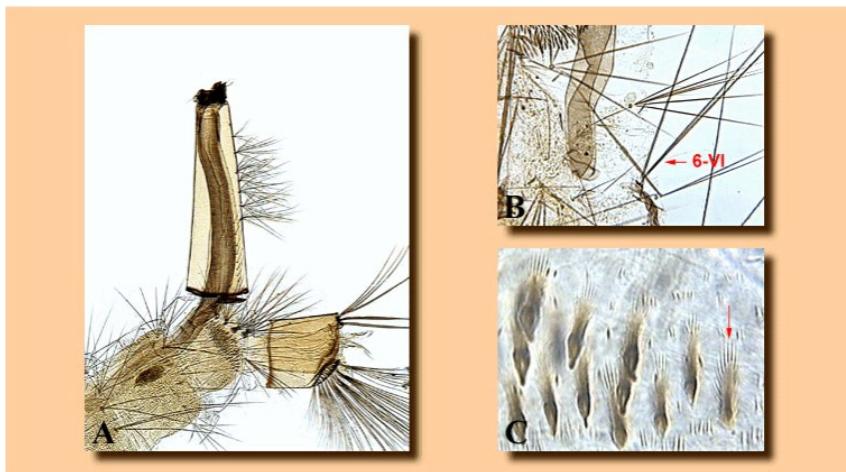
3.4.2.3.10. *Culex (Barraudius) modestus* Ficalbi 1889

Τέλειο άτομο: Η προβοσκίδα του θηλυκού έχει σκούρο καστανό χρώμα και είναι πιο ανοιχτόχρωμη στη μέση. Είναι ελαφρώς διογκωμένη στην κορυφή και σε μήκος είναι κοντότερη από τον μπροστινό μηρό. Η κεφαλή καλύπτεται από καφετιές ή κιτρινωπές σμήριγγες. Οι κοιλιακοί τεργίτες σχηματίζουν τρίγωνα στις πλευρικές επιφάνειες, χωρίς ευδιάκριτες ταινίες στην κοιλία, αλλά με μπαλώματα προς το τέλος της. Οι ταρσοί του δεν φέρουν δακτυλίους.



Εικόνα 3.76. Κοιλία, πτέρυγα και τμήμα ταρσού του *Cx. modestus*.

Προνύμφη: Στο σιφώνιο όλες οι σμήριγγες βρίσκονται σε σχηματισμό ζικ-ζακ. Όλοι οι θύσανοι βρίσκονται πάνω στη σχάρα και όχι εκτός αυτής. Το σιφώνιο είναι μακρύ και οι 2 τελευταίες του σμήριγγες (στην κορυφή) είναι πιο κοντές από το πλάτος του, στο σημείο ένωσής τους. Η σμήριγγα της κεραίας (A1) βρίσκεται προς την κορυφή της, και αποτελείται από 15-25 διακλαδώσεις. Το κτένι στο τελευταίο κοιλιακό τμήμα αποτελείται από 50 ή περισσότερες άκανθες, οι οποίες στρογγυλεύουν λίγο πολύ στην κορυφή. Η σμήριγγα 1-X είναι μικρή με 2-3 διακλαδώσεις.



Εικόνα 3.77. Σιφώνιο προνύμφης, λεπτομέρεια του 6^{ου} κοιλιακού τμήματος και άκανθες κτενίου του *Cx. modestus*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες παρουσιάζουν προτίμηση σε ρηχούς ηλιοφάτιστους βιότοπους και απαντώνται συχνά σε πλημμυρισμένα λιβάδια, στα κανάλια άρδευσης και στις κοίτες των ποταμών. Άλλες τοποθεσίες ανάπτυξης των προνυμφών μπορεί να είναι διάφορα κοιλώματα του εδάφους με νερό, βάλτοι ή έλη με πλούσια βλάστηση και γλυκό ή ελαφρά υφάλμυρο νερό. Οι προνύμφες αναπτύσσονται πολλές φορές μαζί με αυτές των Anophelinae.

Συνήθως, δεν μπαίνουν σε σπίτια, αλλά εύκολα νύσσουν ανθρώπους στο ύπαιθρο, συχνά την ημέρα και σε μέρη που είναι εκτεθειμένα στον ήλιο και στους ανέμους. Επειδή τα τέλεια εμφανίζονται από τις αρχές Ιουλίου αλλά και μέχρι το τέλος Σεπτεμβρίου, προκαλούν σοβαρή ενόχληση σε ορισμένες περιοχές, ιδιαίτερα αργά το καλοκαίρι και το φθινόπωρο όπου τα τέλεια των *Aedes* και *Ochlerotatus* έχουν εξαφανιστεί. Η ακτίνα διασποράς του από της εστίες ανάπτυξης προνυμφών, εάν υπάρχει ανάγκη για εξεύρεση τροφής, θεωρείται ότι είναι περίπου 800 μέτρα.

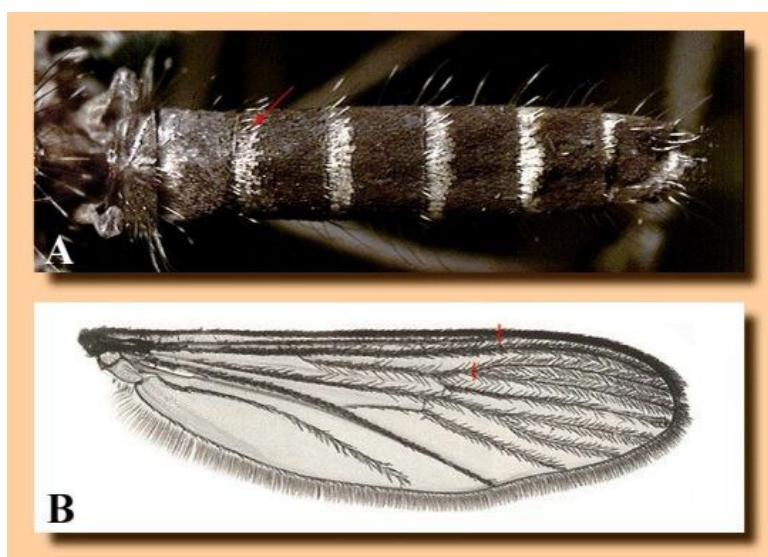
Ως προς την υγειονομική του σημασία αξίζει να αναφερθεί ότι είναι φορέας των ιών Tahyna και Lednice ενώ έχει επίσης αναφερθεί και ως δυνητικός ξενιστής του ιού του Δυτικού Νείλου και της διροφιλάριας του σκύλου *Dirofilaria* sp. Επίσης, φυσικοί πληθυσμοί του έχουν βρεθεί μολυσμένοι με το βακτήριο *Francisella tularensis*, της τουλαραιμίας.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν, σε έλη αλλά και ανοιχτές πλημμυρισμένες αγροτικές εκτάσεις και αρδευτικά κανάλια στην περιοχή του Μαραθώνα. Οι εστίες αυτές περιείχαν γλυκό ή ελαφρά υφάλμυρο νερό και βρίσκονταν σε πλήρη έκθεση στον ήλιο αλλά διέθεταν επίσης και πλούσια βλάστηση (Εικόνες 3.47., 3.48. και 3.50.). Σε έλη και κανάλια στη περιοχή του Μαραθώνα βρέθηκε μαζί με το *An. sacharovi*, *Cx. theileri* και *Ur. unguiculata*. Επίσης στην περιοχή της Αθήνας βρέθηκε σε ρέματα μαζί με προνύμφες του *Ur. unguiculata*.

Η ανάπτυξή του σε όλο το έλος του Μαραθώνα – Σχοινιά ήταν εξαιρετικά μεγάλη όλο το καλοκαίρι και εξακολουθούσε έως και τον Οκτώβριο ενώ λίγες σε αριθμό προνύμφες εντοπίστηκαν και τον Δεκέμβριο και Ιανουάριο. Τέλος ήταν από τα είδη που επιτίθονταν συχνά κατά τις ώρες της συλλογής προνυμφών ενώ συλλέγονταν και με τη μέθοδο της προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα».

3.4.2.3.11. *Culex (Culex) pipiens* Linnaeus 1758

Τέλειο άτομο: Είναι μεσαίου μεγέθους κουνούπι, με κιτρινοκαστανό χρώμα. Χαρακτηριστικό του είναι η απουσία σημαντικών αναγνωριστικών χαρακτηριστικών και ο έντονος πολυμορφισμός του. Οι κεραίες και οι ταρσοί έχουν ομοιόμορφο καστανό χρώμα. Στην κοιλία υπάρχουν κιτρινωπές βασικές ζώνες οι οποίες όμως λόγω της παρουσίας πλευρικών κοιλιακών σκουρόχρωμων λεπιών, συχνά εμφανίζονται ως κηλίδες.

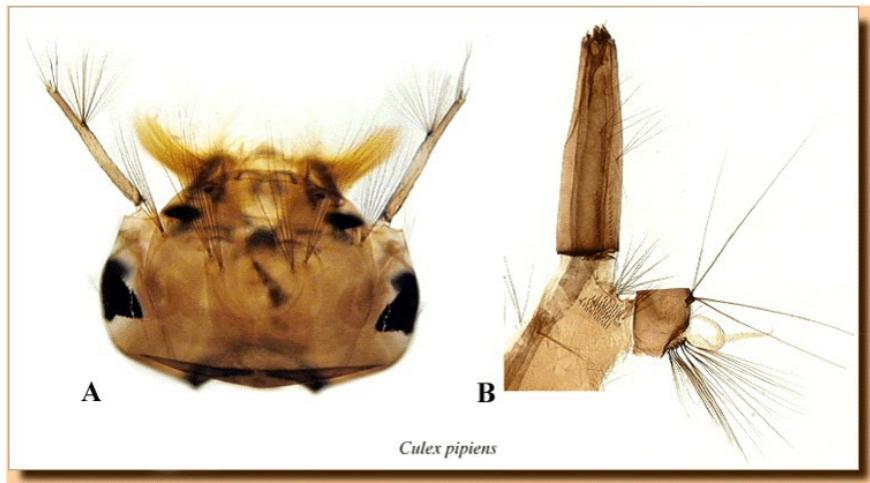


Εικόνα 3.78. Κοιλία και πτέρυγα *Cx. pipiens*.

Προνύμφη: Στο 10^ο κοιλιακό τμήμα όλοι οι θύσανοι βρίσκονται πάνω στη σχάρα. Το σιφώνιο έχει 2 πλαγιοκοιλιακές γραμμές, που αποτελούνται από 1-3 σμήριγγες έξω από την γραμμή.

Το σιφώνιο είναι λεπτό, ομοιόμορφα λεπτυνσμένο προς την κορυφή, ο θύσανος του σιφωνίου (1-S) αποτελείται από 4 σμήριγγες και είναι μεγαλύτερος από τη διάμετρο του σιφωνίου.

Το κτένι αποτελείται από 40 μυτερές άκανθες. Η σμήριγγα 1-X είναι μονή και ποτέ διπλή ή τριπλή. Η σμήριγγα 5-C της κεφαλής αποτελείται από 4-8 διακλαδώσεις.



Εικόνα 3.79. Κεφαλή και σιφώνιο προνύμφης *Cx. pipiens*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες εμφανίζονται σχεδόν σε κάθε είδους τεχνητές ή φυσικές συγκεντρώσεις νερού, μικρές ή μεγάλες, με καθαρά ή και πολύ ρυπασμένα νερά. Αντέχουν ακόμη και σε νερά με μικρή ποσότητα άλατος. Οι πρώτες προνύμφες συχνά εμφανίζονται συγχρόνως με εκείνες των ανωφελών ειδών και συμπληρώνουν την ανάπτυξή τους εντός μιας ή μερικών εβδομάδων, ανάλογα με τη θερμοκρασία περιβάλλοντος. Μπορεί να αναπαραχθεί με πολλές γενεές κάθε χρόνο και διαχειμάζει ως θηλυκό. Η ακτίνα διασποράς του από τις εστίες ανάπτυξής του, για αναζήτηση τροφής, συνήθως δεν ξεπερνά τα 500-800 μέτρα.

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι το *Cx. pipiens* αντιπροσωπεύει ένα σύμπλεγμα ειδών κουνουπιών (mosquito species complex) από το οποίο στην Ελλάδα απαντώνται δύο βιότυποί του (biotypes). Το *Cx. pipiens* biotype *pipiens* και το *Cx. pipiens* biotype *molestus* (Becker *et al.* 2003). Μεταξύ των δύο βιότυπων δεν έχουν ανευρεθεί γενετικές διαφορές και για το λόγο αυτό το *Cx. p. molestus* δεν θεωρείται ξεχωριστό υποείδος από το *Cx. p. pipiens* (Bourgouet *et al.*, 1998). Για τη διάκριση των *Cx. p. pipiens* και *Cx. p. molestus* δεν έχουν βρεθεί αξιόπιστοι μορφολογικοί χαρακτήρες αλλά οι δύο βιότυποι παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές ως προς τη βιολογία και οικολογία τους.

Συγκεκριμένα ο βιότυπος *molestus* προτιμά γενικά υπόγεια σημεία για την ωθεσία και αναπαραγωγή των προνυμφών (πχ. κελάρια, σκεπασμένα αποχετευτικά δίκτυα, ακόμη και βόθρους), είναι αυτόγονο είδος (δηλαδή, δεν είναι απαραίτητη η αιμοληψία για να δώσει την πρώτη ωτοκία), είναι στενόγαμο είδος (δηλαδή η σύζευξη μπορεί να γίνει και σε περιορισμένο χώρο - και γι' αυτό είναι εύκολη η εργαστηριακή εκτροφή του σε κλωβούς),

είναι ομοδύναμο είδος (δεν διαχειμάζει) και τέλος είναι ανθρωπόφιλο (προτιμά να τρέφεται με αίμα θηλαστικών και κατά συνέπεια ανθρώπου). Επίσης, επειδή είναι το κατ' εξοχήν είδος που συναντάμε πιο συχνά μέσα στα σπίτια ονομάζεται και «οικιακό κουνούπι».

Ο βιότυπος *pipiens*, σε αντίθεση με τον προηγούμενο βιότυπο, προτιμά χερσαία μέρη για εναπόθεση σχεδίων ωάνων και ανάπτυξη προνυμφών (υπαίθριους χώρους συγκέντρωσης νερού), δεν είναι αυτόγονο (δηλαδή είναι απαραίτητη η λήψη αίματος για την πρώτη ωοτοκία), είναι ευρύγαμο (δεν μπορεί να ζευγαρώσει σε καθορισμένους χώρους), είναι ετεροδύναμο (μπορεί να διαχειμάσει) και τέλος είναι κυρίως ορνιθόφιλο (προτιμά τα τρέφεται κυρίως από πτηνά).

Από τους δύο βιότυπους του *Cx. pipiens* μεγαλύτερη υγειονομική σημασία για τον άνθρωπο παρουσιάζει το *Cx. pipiens* biotype *molestus*, κυρίως λόγω της ανθρωποφιλίας του. Η σχεδόν αδύνατη όμως διάκριση των δύο βιοτύπων, ακόμη και με μοριακές τεχνικές, δεν επιτρέπει τη διαφορετική αντιμετώπιση των δύο βιοτύπων ως προς τη σημασία τους και την αντιμετώπισή τους.

Έτσι γενικά το σύμπλεγμα *Cx. pipiens* κατέχει παγκοσμίως σημαντικό ρόλο λόγω της ανθρωποφιλίας και της παγκόσμιας διασποράς του όσο και της ικανότητάς του στη μετάδοση σημαντικών αρμποϊών και άλλων ασθενειών (Lundström 1999). Μία από τις σημαντικότερες ασθένειες από τις οποίες μπορεί να μεταδώσει και θεωρείται πρωταρχικής σημασίας φορέας είναι ο ιός του Δυτικού Νείλου ο οποίος εμφάνισε επιδημία και στη χώρα μας το 2010 (βλ. κεφάλαιο 1.3.1.2.). Άλλοι σημαντικοί αμποϊοί που μπορεί να μεταδώσει είναι οι ιοί *Sindbis*, *Rift Valley* και *Tahyna* που προσβάλλουν τον άνθρωπο και τα κατοικίδια ζώα, καθώς και τη φιλαρίαση του σκύλου (*Dirofilaria immitis*) που τυχαία μπορεί να προσβάλλει και τον άνθρωπο.

Παρατηρήσεις: Στην Ελλάδα είναι το πιο διαδεδομένο είδος κουνουπιού που εμφανίζεται στις αστικές περιοχές και κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης ήταν το είδος που συλλέχθηκε από όλους τους τύπους εστιών, σε όλες τις γεωγραφικές ζώνες και στους μεγαλύτερους πληθυσμούς από κάθε άλλο είδος. Η πυκνότητά του ήταν υπερβολικά μεγάλη στις εστίες από εποχικές πλημμύρες που αφθονούσαν κατά τον Μάιο στη περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά, αλλά εξακολουθούσε όμως να αναπτύσσεται σε μεγάλους πληθυσμούς και κατά τους επόμενους μήνες, σε πολλά σημεία του έλουν. Επίσης, ήταν το κατεξοχήν είδος που γεννούσε σχεδίες ωάνων, εντός των παγίδων ωοθεσίας που είχαν τοποθετηθεί για την παρακολούθηση του είδους *Ae. cretinus*.

Η εποχή εμφάνισής του στην Αττική ήταν κυρίως από τον Μάιο έως τα τέλη Οκτωβρίου ή αρχές Νοεμβρίου. Επίσης τέλεια του είδους συλλέχθηκαν από μεγάλο αριθμό οικιών, αποθηκών, στάβλων, ορνιθοτροφείων και άλλων κτισμάτων. Επιπλέον τέλεια άτομα του είδους συλλέχθηκαν με τη μέθοδο της προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα» και για πολλές περιοχές της Αττικής είναι από τα πλέον οχληρά είδη κατά τους θερμούς μήνες. Αξίζει να σημειωθεί ότι τέλεια θηλυκά συλλαμβάνονταν, σε μικρούς φυσικά αριθμούς, ακόμη και κατά τη διάρκεια του χειμώνα.

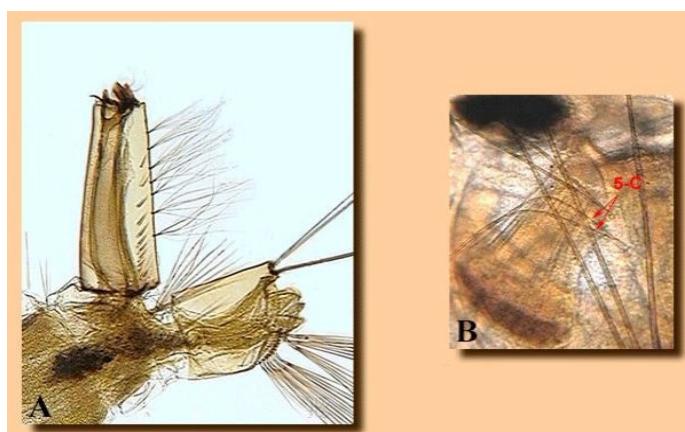
3.4.2.3.12. *Culex (Barraudius) pusillus* Macquart 1850

Τέλειο άτομο: Μπορεί να διακριθεί πολύ εύκολα από το *Cx. modestus* από το συνήθως σκοτεινότερο χρωματισμό του και από τα καθαρά άσπρα μπαλώματα στους κοιλιακούς τεργίτες. Οι κοιλιακοί τεργίτες δεν εμφανίζουν ανοιχτόχρωμα τρίγωνα στις πλευρικές επιφάνειες. Η προβοσκίδα είναι μικρότερη από τον μπροστινό μηρό. Έχει καστανό χρώμα σε όλο το σώμα. Η προβοσκίδα έχει ομοιόμορφο καστανό χρώμα και είναι ελαφρώς διογκωμένη στην κορυφή. Τα ταρσομερή έχουν καστανό χρώμα με ευδιάκριτους ανοιχτόχρωμους δακτυλίους.



Εικόνα 3.80. Κοιλία, πτέρυγα και τμήμα ταρσού του *Cx. pusillus*.

Προνύμφη: Το σιφώνιο της προνύμφης είναι κοντό, με 2 σμήριγγες προς την κορυφή, οι οποίες έχουν το ίδιο πλάτος με το σιφώνιο στο σημείο ένωσής τους. Το σώμα είναι σχεδόν διαφανές, υποκίτρινο έως πράσινο, η κεφαλή και το σιφώνιο είναι ελαφρώς χρωματισμένα. Η σμήριγγα της κεραίας (A1) βρίσκεται λίγο κάτω από το μέσο της, και αποτελείται από 15-27 διακλαδώσεις. Και εδώ το χτένι αποτελείται από 50 ή περισσότερες στρογγυλεμένες άκανθες. Η σμήριγγα 1-X είναι κοντή με 1-2 διακλαδώσεις. Όλοι οι θύσανοι βρίσκονται πάνω στη σχάρα.



Εικόνα 3.81. Σιφώνιο προνύμφης και λεπτομέρεια του *Cx. pusillus*.

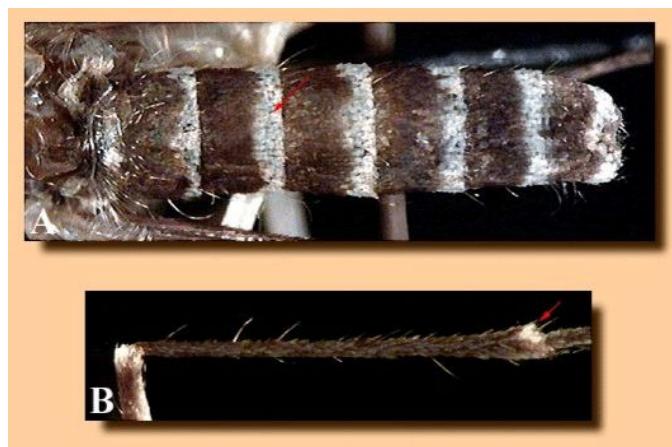
Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Είναι γενικά είδος των αλμυρών νερών. Οι προνύμφες αναπτύσσονται σε λιμνοθάλασσες ή στάσιμα νερά, με ή χωρίς βλάστηση αλλά σπάνια σε γλυκό νερό. Βρίσκεται συχνά στις ίδιες εστίες με το *Oc. caspius*. Η παρουσία του είναι συνήθως αργά στην περίοδο ανάπτυξης κουνουπιών μεταξύ Σεπτεμβρίου και Νοεμβρίου.

Τα τέλεια θηλυκά εμφανίζονται στην ύπαιθρο και ποτέ στα σπίτια ή στους στάβλους και πιθανώς, δεν τρέφεται με ανθρώπινο αίμα.

Παρατηρήσεις: Στην περιοχή μελέτης βρέθηκε μόνο μια φορά (7 άτομα) στην περιοχή του υφάλμυρου έλους Σχοινιά, το Σεπτέμβριο του 2002. Η διάδοσή του δεν φαίνεται να είναι μεγάλη.

3.4.2.3.13. *Culex (Neoculex) territans* Walker 1856

Τέλειο άτομο: Το είδος αυτό χαρακτηρίζεται από εμφανείς ανοιχτόχρωμες ταινίες στους κοιλιακούς τεργίτες, χωρίς να διακόπτονται από άλλα σκουρόχρωμα λέπια. Οι ταινίες στην κοιλία έχουν κατεύθυνση από την βάση προς την κορυφή. Στην προπνευστική και μεταπνευστική περιοχή του θώρακα δεν υπάρχουν λέπια. Ο θώρακας έχει ανοικτό καστανό χρώμα και η προβοσκίδα, οι ταρσοί και τα φτερά έχουν σκούρο καστανό χρώμα.



Εικόνα 3.82. Κοιλία και τμήμα ταρσού του *Cx. territans*.

Προνύμφη: Η σμήριγγα 3-P είναι μακριά και αποτελείται από 2 ή περισσότερες διακλαδώσεις. Η σμήριγγα της κεραίας (A1) έχει 25-32 διακλαδώσεις και βρίσκεται προς την κορυφή της. Το κτένι έχει 50 ή περισσότερες στρογγυλεμένες άκανθες. Το σιφώνιο είναι μακρύ και λεπτό και λεπτένει προς την κορυφή. Ο θύσανος του σιφωνίου αποτελείται από 4-6 διακλαδώσεις. Η σμήριγγα 1-X είναι συνήθως διπλή.



Εικόνα 3.83. Σιφώνιο προνύμφης *Cx. territans*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προτιμώμενοι βιότοποι των προνυμφών είναι οι λίμνες, τα έλη, οι άκρες των λιμνών και κατά μήκος των ρεμάτων με αργή ροή νερού και πυκνή βλάστηση αλλά σπάνια απαντώνται σε πολύ βρώμικο νερό. Οι προνύμφες προτιμούν ψυχρότερα νερά σε σκιερές περιοχές και συχνά βρίσκονται μαζί με εκείνες των *An. maculipennis s.l.*, και *An. claviger*.

Τα τέλεια θηλυκά επανεμφανίζονται μετά από τη διαχείμαση νωρίς την άνοιξη και οι πρώτες προνύμφες εμφανίζονται στα τέλη Απριλίου ή στις αρχές Μαΐου μέχρι τον Σεπτέμβριο. Ο πληθυσμός τους φτάνει στο μέγιστο αργά το καλοκαίρι.

Δεν είναι γνωστό αν νύσσουν τον άνθρωπο, αλλά είναι γνωστό ότι τρέφονται κυρίως σε αμφίβια, ιδιαίτερα σε βατράχους του γένους *Rana* sp., ερπετά και πτηνά.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν σε έλη, ρέματα και αρδευτικά κανάλια με πλούσια βλάστηση, στην περιοχή του Μαραθώνα αλλά και σε μικρούς αριθμούς και εντός του λεκανοπεδίου, σε ρέματα καθώς και σε αρκετές άλλες εστίες κοντά ή μέσα σε κατοικημένες περιοχές. Οι προνύμφες βρέθηκαν κυρίως το φθινόπωρο δηλαδή τον Σεπτέμβριο έως τις αρχές Οκτωβρίου. Άλλα είδη κουνουπιών που συλλέχθηκαν στις ίδιες εστίες μαζί με το *Cx. territans* ήταν τα *An. maculipennis*, *An. algeriensis* και *Cx. hortensis*. Επίσης, το *Cx. territans* ήταν ένα από τα είδη του οποίου οι προνύμφες εντοπίστηκαν, σε περιορισμένους όμως αριθμούς, εντός των παγίδων ωοθεσίας που είχαν τοποθετηθεί για την παρακολούθηση του είδους *Ae. cretinus*.

3.4.2.3.14. *Culex (Culex) theileri* Theobald 1903

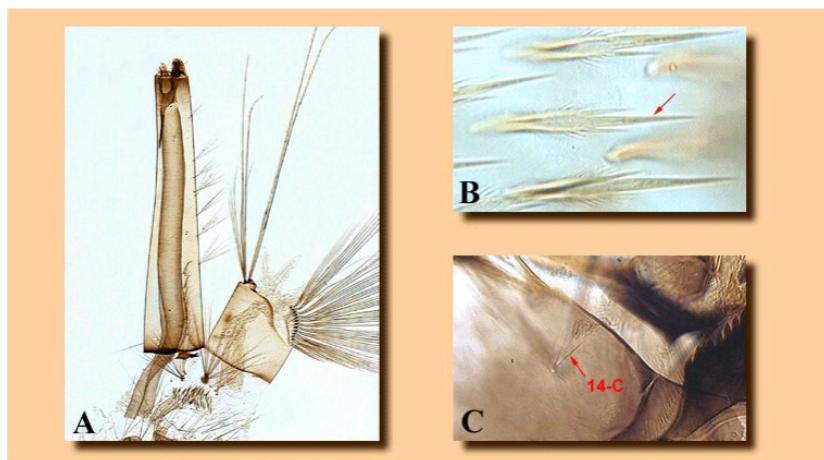
Τέλειο άτομο: Είναι σχετικά μεγάλο σε μέγεθος κουνούπι, με καστανό γενικό χρωματισμό. Το πιο εντυπωσιακό χαρακτηριστικό και σημαντικό διαγνωστικό γνώρισμα είναι η παρουσία μίας διαμήκους λευκής λωρίδας στην επιφάνεια όλων των μηρών και των κνημών κατά μήκους ολόκληρου του μήκους τους, ιδιαίτερα στα πρόσθια και μεσαία πόδια. Οι ταρσοί δεν φέρουν δακτυλίους και τα φτερά έχουν σκούρα λέπια. Η προβοσκίδα είναι πολύ μακριά, μεγαλύτερη από τον μπροστινό μηρό, και έχει καστανό χρώμα με λίγα ανοιχτόχρωμα λέπια

στη μέση, τα οποία δεν σχηματίζουν ένα ευδιάκριτο δακτυλίδι. Η κοιλία έχει γενικά σκούρο χρώμα.



Εικόνα 3.84. Κοιλία και τμήμα ταρσού του *Cx. theileri*.

Προνύμφη: Η σμήριγγα 1-C της κεφαλής είναι συνήθως λεπτή, όχι πιο χοντρή από τις σμήριγγες 5 και 6 C. Η σμήριγγα 7-I είναι εμφανώς πιο κοντή από την 6-I και συνήθως διπλή. Η σμήριγγα της κεραίας (A1) αποτελείται από πολλές διακλαδώσεις, συνήθως 30. Το κτένι αποτελείται από 12-44 άκανθες, οι οποίες έχουν χαρακτηριστική μορφή. Κάθε μεμονωμένο άκανθι έχει μία ισχυρή μεσαία σπονδυλική στήλη-μύτη με ή χωρίς πλευρικές σειρές των μικρότερων σπονδυλικών στηλών-μυτών. Η σμήριγγα 1-X αποτελείται από 1-3 διακλαδώσεις.



Εικόνα 3.85. Σιφώνιο προνύμφης, άκανθες κτενίου και λεπτομέρεια κεφαλής του *Cx. theileri*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες εμφανίζονται την άνοιξη σε πλημμυρισμένα λιβάδια, σε στάσιμα ή αργά κινούμενα νερά, σε βάλτους, πλημμυρισμένους αγρούς, ορυζώνες, αλλά συχνά επίσης και σε τεχνητά δοχεία καθώς και σε πολύ ρυπασμένα νερά. Οι προνύμφες αναπτύσσονται συνήθως σε γλυκό νερό, που μπορεί να φέρει και βαρύ οργανικό φορτίο αλλά ορισμένες φορές και σε υφάλμυρα νερά (Εικόνα 3.48.). Οι προνύμφες του *Cx. theileri* συχνά απαντώνται μαζί με εκείνες των *An. algeriensis*, *An. claviger*, *An. maculipennis s.s.*, *Oc. caspius*, *Oc. detritus*, *Cx. modestus*, *Cx. pipiens*, *Cx. hortensis*, *Cx. impudicus*, *Cs. annulata* και *Ur. unguiculata*.

Τα τέλεια θηλυκά θεωρούνται κυρίως ζωόφιλα, αλλά μπορεί να νύξουν και τους ανθρώπους, στα σπίτια ή στο ύπαιθρο.

Είναι γνωστό ότι μπορεί να μεταδώσει τον ιό του πυρετού Rift Valley και τη διροφιλάρια του σκύλου ενώ από φυσικούς πληθυσμούς του είδους έχουν απομονωθεί και οι ιοί του Δυτικού Νείλου και Sindbis.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν, σε έλη και πλημμυρισμένες εκτάσεις στη περιοχή του Μαραθώνα με χαμηλή αλλά σταθερή συχνότητα, αλλά βρέθηκε και εντός του λεκανοπεδίου Αθηνών. Στα έλη της περιοχής του Μαραθώνα συχνά συνυπήρχε με τα *An. sacharovi*, *Cx. modestus* και *Ur. unguiculata*. Γενικά προνύμφες του είδους εντοπίστηκαν σε μια μεγάλη περίοδο του έτους από τον Μάιο έως και τον Δεκέμβριο.

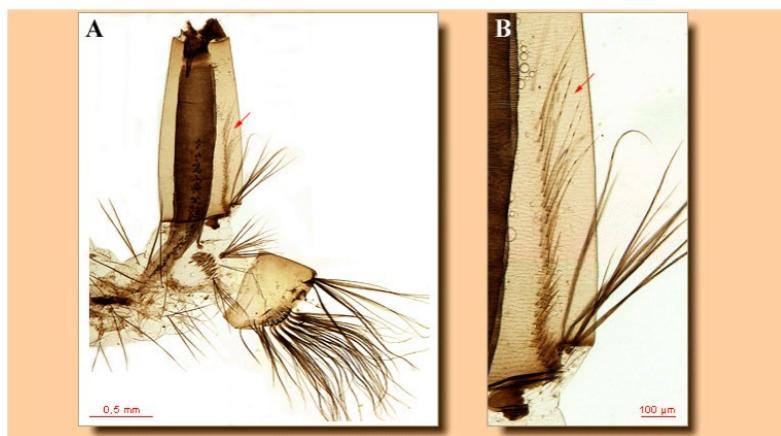
3.4.2.3.15. *Culiseta (Culiseta) annulata* (Schrank) 1776

Τέλειο άτομο: Είναι σχετικά μεγάλου μεγέθους και σκούρου χρώματος κουνούπι. Έχει ανοιχτόχρωμες ταινίες στα κοιλιακά μεταμερή και στα δύο πρώτα από αυτά έχει μία κάθετη ταινία από λευκά λέπια. Το Cubitus anterior νεύρο (CuA) έχει σκούρα λέπια. Οι ταρσοί έχουν λευκά λέπια, τα οποία σχηματίζουν δακτυλίους. Το ανώτερο ακραίο νεύρο του φτερού (costa) είναι πασπαλισμένο με λευκά λέπια. Ο αυχένας και το προεπίστερνο είναι γυμνά χωρίς λέπια. Οι πτέρυγες έχουν ανοιχτόχρωμα λέπια στο μπροστινό τους τμήμα. Το μετάμερο έχει μικρές κηλίδες από λέπια.



Εικόνα 3.86. Θώρακας, κοιλία και πόδι *Cs. annulata*.

Προνύμφη: Χαρακτηριστικό του είδους αυτού είναι ότι η απόσταση μεταξύ των δύο σμηρίγγων 4-C της κεφαλής είναι ίση ή μεγαλύτερη από αυτή μεταξύ των δύο 5-C. Επίσης η σμήριγγα 6-C έχει λιγότερες από 4 διακλαδώσεις, από τις οποίες η μία είναι πιο ισχυρή και πιο μακριά σε σχέση με τις υπόλοιπες. Οι άκανθες που υπάρχουν στο σιφώνιο είναι μυτερές και μοιάζουν σαν μακριές και λεπτές τρίχες. Η σμήριγγα της κεραίας (A1) έχει 10-15 διακλαδώσεις και βρίσκεται προς την κορυφή της. Το κτένι έχει 35-50 στρογγυλεμένες άκανθες. Το σιφώνιο λεπταίνει κάπως προς την κορυφή και ο θύσανός του (1-S) έχει 9-10 διακλαδώσεις. Η σμήριγγα 1-X είναι κοντή και αποτελείται από 3 διακλαδώσεις.



Εικόνα 3.87. Σιφώνιο προνύμφης *Cs. annulata* και λεπτομέρειά του.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες μπορούν να βρεθούν σε λιμνούλες με στάσιμα νερά, σε τάφρους, χαντάκια και γούρνες με νερό καθώς και σε άλλες τεχνητές εστίες

όπως ντεπόζιτα, δοχεία, εμπορευματοκιβώτια ή βαρέλια που συλλέγουν το νερό της βροχής. Στα τεχνητά δοχεία βρίσκονται μαζί με τις προνύμφες του *Cx. pipiens* και *Cs. longiareolata* ενώ στις φυσικές εστίες οι προνύμφες απαντώνται συχνά μαζί με εκείνες των *Cs. subochrea* και *Cs. morsitans*.

Οι προνύμφες συνήθως εμφανίζονται από νωρίς την άνοιξη. Ο πληθυσμός αυξάνεται τους καλοκαιρινούς μήνες και φθάνει στη μεγαλύτερη τιμή του τον Σεπτέμβριο. Η ακτίνα διασποράς του από τις εστίες ανάπτυξης προνυμφών, εάν υπάρχει ανάγκη για εξεύρεση τροφής, θεωρείται ότι είναι περίπου 800 μέτρα.

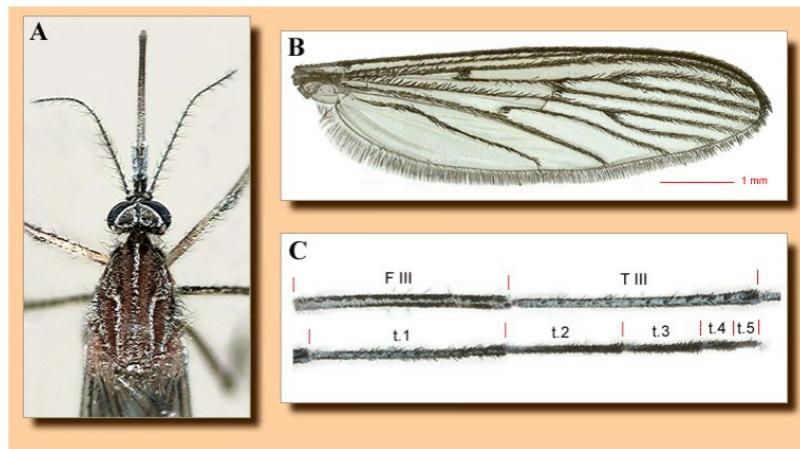
Μπορεί να ολοκληρώσει μία έως τρεις γενεές το χρόνο. Διαχειμάζουν ως τέλεια, σε κελάρια ή πατάρια οικιών καθώς και σε καταλύματα οικόσιτων ζώων, όπου μπορεί να γίνουν πολύ ενοχλητικά το χειμώνα, όταν ανεβαίνει η θερμοκρασία και η υγρασία. Όταν ο χειμώνας είναι ήπιος μπορεί να διαχειμάσουν και ως προνύμφες.

Τα τέλεια θηλυκά επιτίθενται εύκολα σε ανθρώπους και ζώα κατά τη διάρκεια της ημέρας, αλλά το καλοκαίρι επιδεικνύουν και νυκτόβια συμπεριφορά με αποτέλεσμα συχνά να εισέρχονται σε σπίτια και στάβλους, για να τραφούν με αίμα ανθρώπων ή οικόσιτων ζώων.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν, σε γενικά χαμηλούς πληθυσμούς, στην περιοχή του Μαραθώνα, στα έλη και τα κανάλια που τα διασχίζουν, σε πλημμυρισμένες εκτάσεις με μικρή βλάστηση καθώς και σε πηγάδια (Εικόνα 3.42 και Εικόνα 3.44.). Η περίοδος του έτους στην οποία έκαναν την εμφάνισή τους ήταν αρκετά ενωρίς την άνοιξη και το καλοκαίρι (Μάρτιος έως Ιούλιος) όπου τότε μπορούν να εμφανίσουν υψηλούς πληθυσμούς, για μια σύντομη όμως περίοδο. Επίσης, λίγες προνύμφες βρέθηκαν και τον Σεπτέμβριο καθώς και το χειμώνα (Ιανουάριο και Φεβρουάριο). Τέλος, λίγα τέλεια άτομα του είδους αυτού συλλέχθηκαν από την περιοχή του Μαραθώνα και με τη μέθοδο του «ανθρώπινου δολώματος».

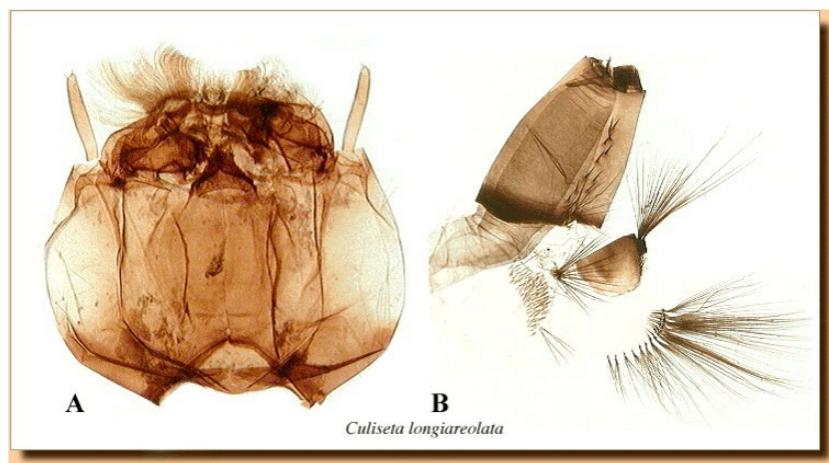
3.4.2.3.16. *Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata* (Macquart) 1838

Τέλειο άτομο: Το είδος αυτό μπορεί εύκολα να διακριθεί από όλα τα άλλα είδη του γένους *Culiseta* από τις ευδιάκριτες διαμήκεις λευκές λωρίδες στον θώρακα, οι οποίες έχουν το σχήμα λύρας. Το ανώτερο ακραίο νεύρο του φτερού (costa) είναι ολοκληρωτικά καλυμμένο με ανοιχτόχρωμα λέπια, χωρίς να διακόπτεται από σκουρόχρωμα λέπια. Ο μηρός και η κνήμη έχουν ταινίες ή βούλες από άσπρα λέπια. Επίσης η περιοχή του αυχένα περιέχει λευκά λέπια. Το μετάμερο έχει βούλες από ανοιχτόχρωμα λέπια. Η προβοσκίδα έχει σκούρο καστανό χρώμα.



Εικόνα 3.88. Θώρακας, πτέρυγα και πόδι *Cs. longiareolata*.

Προνύμφη: Το σιφώνιο είναι κωνικό στη μορφή και διαθέτει χτενίδιο, που αποτελείται από 7-13 άκανθες, τα οποία φτάνουν μέχρι την κορυφή του σιφωνίου. Οι άκανθες αυτές είναι μικρές σε μέγεθος και δεν μοιάζουν σαν λεπτές τρίχες. Ο θύσανος του σιφωνίου (1-S) αποτελείται από 10-15 διακλαδώσεις. Η κεραία είναι κοντή και η σμήριγγα της (A1) βρίσκεται κοντά στην κορυφή της και αποτελείται από 2 διακλαδώσεις, σπάνια από 1 ή 3. Το κτένιο παρουσιάζει μεγάλη ποικιλία, όσον αφορά στον αριθμό των ακάνθων του, που μπορεί να ποικίλουν από 40 έως 75.



Εικόνα 3.89. Κεφαλή και σιφώνιο προνύμφης *Cs. longiareolata*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες μπορούν να βρεθούν σε μεγάλη ποικιλία ανθρωπογενών ή φυσικών εστιών, στάσιμου ή με μικρή κίνηση νερού, με ή χωρίς βλάστηση κυρίως εκτεθειμένες στον ήλιο καθώς και σε κοιλότητες βράχων, σε ξύλινα εμπορευματοκιβώτια, σε βαρέλια, τσιμεντένιες στέρνες και πηγάδια. Οι προνύμφες αντέχουν μέχρι μια ελαφριά αλατότητα και σε νερά με υψηλό βαθμό οργανικού φορτίου και συχνά βρίσκονται με αυτές του *Cx. pipiens*. Οι προνύμφες μένουν σχεδόν συνεχώς στην επιφάνεια

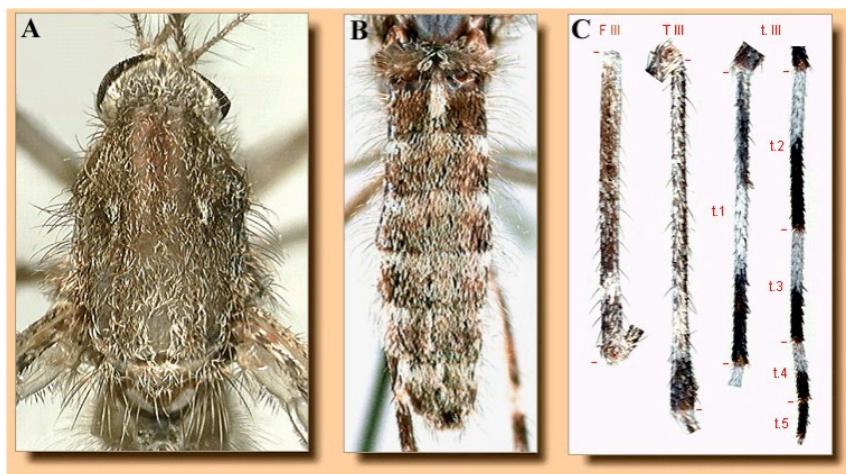
της εστίας γι' αυτό και εντοπίζονται εύκολα στις επιθεωρήσεις των εστιών. Αντιθέτως οι νύμφες μπορούν να μένουν αδρανείς στον πυθμένα της εστίας για μακρό διάστημα. Διαχειμάζουν στο στάδιο της προνύμφης αλλά σε θερμά κλίματα τα τέλεια μπορούν να εμφανιστούν από τον Φεβρουάριο μέχρι και τον Νοέμβριο.

Τα τέλεια θηλυκά θεωρούνται ζωόφιλα, και σπάνια νύσσουν ανθρώπους, κυρίως στο ύπαιθρο καθώς δεν εισέρχονται εύκολα στα σπίτια. Θεωρούνται σημαντικοί φορείς παρασίτων του αίματος των πτηνών.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης αποδείχθηκε το πιο διαδεδομένο είδος κουνουπιού, μετά το *Cx. pipiens* για τις αστικές περιοχές. Συλλέχθηκε από όλους τους τύπους τεχνητών εστιών, σε όλες τις γεωγραφικές ζώνες του Νομού Αττικής. Επίσης, αξίζει να αναφερθεί ότι το *Cs. longiareolata* ήταν ένα από τα είδη κουνουπιών του οποίου οι προνύμφες εντοπίζονταν, σε σταθερή βάση, εντός των παγίδων ωθεσίας που είχαν τοποθετηθεί για την παρακολούθηση του είδους *Ae. cretinus*. Επειδή το είδος αυτό διαχειμάζει και ως προνύμφη η περίοδος κατά την οποία εντοπίστηκαν προνύμφες του ήταν αρκετά μεγάλη. Συγκεκριμένα προνύμφες του εντοπίστηκαν κατά τον Ιανουάριο και Φεβρουάριο, το διάστημα από τον Μάιο ως και τον Ιούλιο καθώς και από τον Οκτώβριο έως τον Δεκέμβριο.

3.4.2.3.17. *Culiseta (Culiseta) subochrea* (Edwards) 1921

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Είναι συνήθως μεγάλου μεγέθους ανοιχτόχρωμο κουνούπι. Τα τελευταία κοιλιακά μεταμερή έχουν διάσπαρτα ανοιχτόχρωμα λέπια. Επίσης στις πτέρυγες το CuA έχει ανοιχτόχρωμα λέπια ενώ το ανώτερο ακραίο νεύρο του φτερού έχει λευκά λέπια. Ο συχένας και το προεπίστερνο είναι γυμνά. Οι πτέρυγες έχουν ανοιχτόχρωμα λέπια στο μπροστινό τμήμα τους και το μετάμερο έχει βούλες από λέπια. Επίσης διαθέτει τις πιο ευδιάκριτες λευκές ταινίες στα κοιλιακά μεταμερή.



Εικόνα 3.90. Θώρακας, πτέρυγα και πόδι *Cs. subochrea*.

Προνύμφη: Σε αυτό το είδος η απόσταση μεταξύ των δύο σμηρίγγων 4-C της κεφαλής είναι πολύ μικρότερη από αυτή μεταξύ των 5-C. Η σμήριγγα 6-C έχει λιγότερες από 4 διακλαδώσεις, η μία από τις οποίες είναι πιο ισχυρή και πιο μακριά από τις υπόλοιπες. Οι άκανθες του σιφωνίου είναι μυτερές και μοιάζουν σαν λεπτές και μακριές τρίχες.



Εικόνα 3.91. Σιφώνιο προνύμφης του *Cs. subochrea* και λεπτομέρειά του.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες εμφανίζονται σε ανοιχτές επιφάνειες νερών, λιμνούλες σε χαντάκια και τάφρους καθώς και στις δεξαμενές των κήπων. Εμφανίζουν επίσης αξιοσημείωτη προτίμηση για εστίες υφάλμυρου νερού.

Εμφανίζει μάλλον πολλές γενεές τον χρόνο και διαχειμάζει στο στάδιο του ενήλικου θηλυκού ή της προνύμφης όπως το *Cs. annulata*. Η ακτίνα διασποράς του από τις εστίες ανάπτυξης προνυμφών, εάν υπάρχει ανάγκη για εξεύρεση τροφής, θεωρείται ότι είναι περίπου 800 μέτρα.

Τα τέλεια θηλυκά θεωρούνται εξώφιλα και τρέφονται κυρίως από οικόσιτα ζώα αλλά έχει αναφερθεί να νύσσουν και τον άνθρωπο, κατά τη διάρκεια της μέρας και κυρίως στο ύπαιθρο μακριά από κατοικίες.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν, στη περιοχή του Μαραθώνα, σε κανάλια, έλη, πλημμυρισμένες εκτάσεις καθώς και σε πηγάδια (Εικόνες 3.44. και 3.48.). Όπως και το *Cs. annulata* μπορούν να εμφανιστούν σε υψηλούς πληθυσμούς για μια σύντομη περίοδο νωρίς το καλοκαίρι (Μάιος έως Ιούλιος). Επειδή όμως και αυτό το είδος διαχειμάζει ως προνύμφη, κατά τις δειγματοληψίες μας, εντοπίστηκαν προνύμφες του καθ' όλη σχεδόν τη διάρκεια του έτους εκτός τους μήνες Νοέμβριο και Δεκέμβριο.

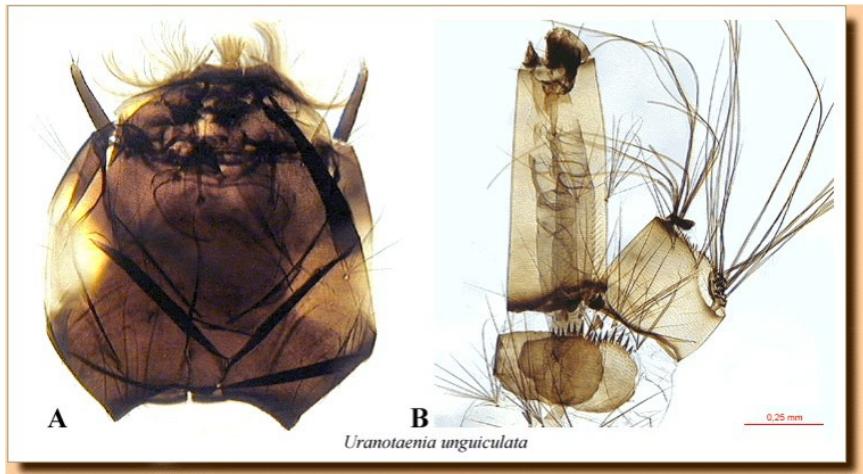
3.4.2.3.18. *Uranotaenia (Pseudoficalbia) unguiculata* Edwards 1913

Τέλειο άτομο: Ένα αρκετά μικρό σε μέγεθος κουνούπι, σκούρου γενικότερα χρώματος που φέρει χαρακτηριστικές ευδιάκριτες λευκές ταινίες κατά μήκος του θώρακα, της κεφαλής και των ποδιών. Το κύτταρο R2 της πτέρυγας είναι μικρότερο από το μισό του μήκους του νεύρου R2+3 και η απόληξη του νεύρου A βρίσκεται πριν από την τομή των νεύρων Mcu και CuA. Οι γναθικές προσακτρίδες είναι μικρότερες ή ίσες από το μισό της προβοσκίδας. Ο θυρεός είναι τρίλοβος με σμήριγγες σε τρεις ευδιάκριτες ομάδες. Το άκρο της κοιλίας είναι αμβλύ. Η προβοσκίδα έχει σκούρο χρώμα με μπαλώματα από λευκά λέπια και ελαφρώς διογκωμένη στην κορυφή.



Εικόνα 3.92. Τέλειο θηλυκό *Ur. unguiculata*.

Προνύμφη: Χαρακτηριστικό της προνύμφης είναι ότι τα λέπια στο κτένι, που βρίσκεται στο 8^ο κοιλιακό τμήμα, είναι προσκολλημένα σε κτενιδιοφόρο πλάκα. Οι προνύμφες είναι μικρές με σκοτεινές και κοντές κεραίες. Το αναπνευστικό σιφώνιο είναι παρόν, έχει χτενίδιο και η κορυφή του είναι ομαλή και αμβλεία. Είναι σχεδόν κωνικό και ελαφρώς εκλεπτυσμένο στην κορυφή. Η σιφωνική τούφα σμηρίγγων βρίσκεται κοντά στη μέση του σιφωνίου και αποτελείται από 7-12 διακλαδώσεις. Οι κεραίες είναι μικρές και χωρίς άκανθες.



Εικόνα 3.93. Κεφαλή και σιφώνιο προνύμφης *Ur. unguiculata*.

Βιολογία – Υγειονομική σημασία: Οι προνύμφες βρίσκονται στις λίμνες και στα κανάλια με στάσιμο ή με μικρή ροή νερό και συνήθως πλούσια βλάστηση. Προτιμούν γλυκό νερό και μόνο περιστασιακά βρίσκονται σε νερό με μικρή αλατότητα. Συχνά απαντώνται μαζί με τις προνύμφες άλλων ειδών των *An. sacharovi*, *Cx. pipiens*, *Cx. modestus* και *Cx. theileri*. Οι προνύμφες απαντώνται από τον Μάιο μέχρι τις αρχές Οκτωβρίου, με κορύφωση τον Αύγουστο. Οι πληθυσμοί των τέλειων φθάνουν στο μέγιστο συνήθως αργά το καλοκαίρι.

Τα θηλυκά προτιμούν το αίμα ποικιλοθέρμων ζώων και σπάνια τρέφονται με αίμα ανθρώπων και θηλαστικών, αν και έχει αναφερθεί ότι μπορούν να το κάνουν.

Παρατηρήσεις: Κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν σε μέτριους εως σημαντικούς πληθυσμούς, σε κανάλια, έλη και εποχιακά πλημμυρισμένες εκτάσεις στη περιοχή του Μαραθώνα αλλά και σε αρκετές περιπτώσεις σε ρέματα εντός του λεκανοπεδίου καθώς και σε άλλους τύπους εστιών φυσικών εστιών (Εικόνες 3.47. και 3.48.). Συχνά βρέθηκε μαζί με προνύμφες του *Cx. pipiens* σε διάφορες εστίες και σε ρέματα μαζί με το *Cx. modestus*. Σε έλη και κανάλια στην περιοχή του Μαραθώνα βρέθηκε μαζί με τα *An. sacharovi*, *Cx. modestus* και *Cx. theileri*. Η περίοδος εμφάνισης των προνυμφών του ήταν από τον Μάιο έως και τον Αύγουστο καθώς και από τον Οκτώβριο έως τον Δεκέμβριο.

3.5. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν η διερεύνηση της παρουσίας του *Ae. cretinus* σε αντιροσωπευτικές περιοχές της Αττικής με την εγκατάσταση ενός δικτύου παγίδων ωιθεσίας και η μελέτη της εποχικής δραστηριότητας του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού. Επιπλέον, πραγματοποιήθηκε γενικότερη καταγραφή των τύπων των δυνητικών εστιών ανάπτυξης προνυμφών κουνουπιών της περιοχής του Νομού Αττικής και μελέτη της παρουσίας των ειδών που αναπτύσσονται σε κάθε τύπο εστίας. Από τα στοιχεία αυτά καθώς και τα στοιχεία από τη μέχρι τώρα γνωστή υγειονομική τους σημασία θα μπορεί να γίνει η αξιολόγηση των κινδύνων που συνεπάγεται η παρουσία ορισμένων ειδών και στο μέλλον θα βοηθήσει στην υποβολή προτάσεων για την επιτυχή κατάστρωση και εφαρμογή ολοκληρωμένου προγράμματος διαχείρισης του πληθυσμού των κουνουπιών, που θα αποβλέπει στη μείωση και διατήρηση τους σε ανεκτά επίπεδα, με σύγχρονες μεθόδους, φιλικές προς το περιβάλλον και τη Δημόσια Υγεία.

Σχετικά με τις περιοχές του Νομού Αττικής, οι οποίες μελετήθηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης, είναι γνωστό ότι υπήρχαν σημαντικές διαφορές σε πολλά από τα οικολογικά χαρακτηριστικά τους. Εξάλλου, αυτό ήταν και ένας από τους κύριους παράγοντες επιλογής τους.

Έτσι, υπήρχαν διαφορές ως προς τη γεωγραφική τους θέση μέσα στο νομό, τα «μικροκλιματικά» τους χαρακτηριστικά, το είδος των φυσικών εστιών που υπάρχουν ή σχηματίζονται εποχιακά, το υψόμετρο, το ποσοστό κάλυψης από βλάστηση, το είδος των φυτών που υπάρχουν στην κάθε περιοχή, τον τύπο και το είδος των εδάφους, την πυκνότητα των κατοικιών, τις κύριες ασχολίες των ανθρώπων καθώς και την ύπαρξη πιθανών ξενιστών, ανθρώπων ή ζώων.

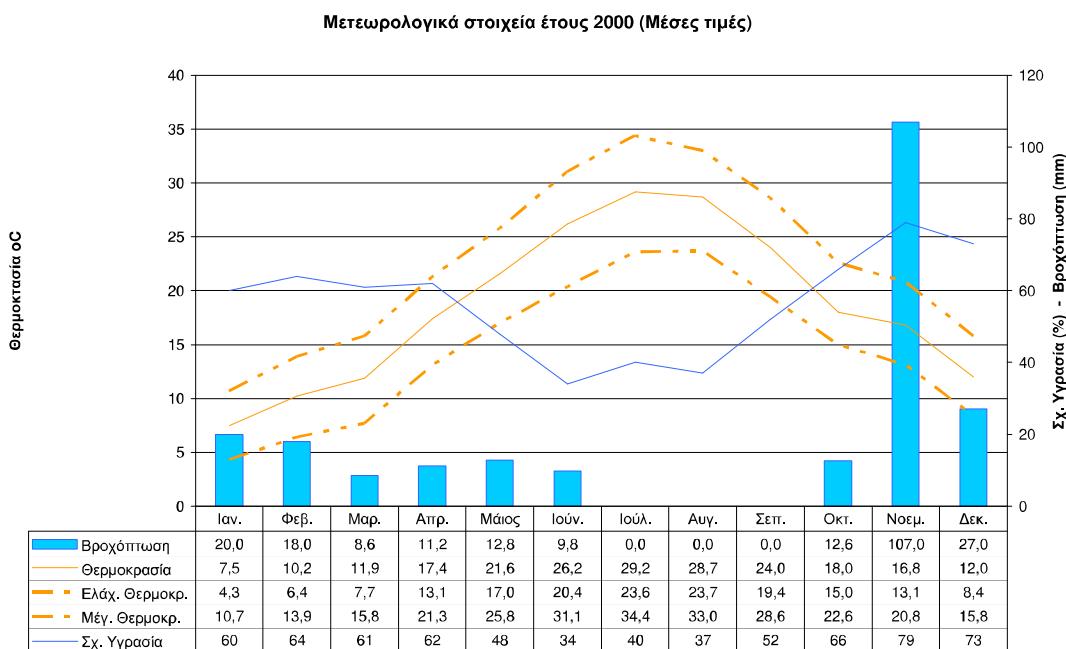
Τα χαρακτηριστικά του τοπίου μιας περιοχής και οι διάφοροι μετεωρολογικοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν σε σημαντικό βαθμό το είδος και τους πληθυσμούς των κουνουπιών που αναπτύσσονται σε αυτή (Bidlingmayer 1985). Είναι επίσης γνωστό ότι, όπως όλα τα βιολογικά φαινόμενα, οι παραπάνω παράγοντες είναι ολληλένδετοι και η αλλαγή ή τροποποίηση ενός ή περισσοτέρων από αυτούς μπορεί να επιφέρει δραματικές αλλαγές στα είδη, την παρουσία και τους πληθυσμούς των κουνουπιών κάθε περιοχής.

Αόγω ακριβώς της διασύνδεσης των παραγόντων είναι πολύ δύσκολο να χρησιμοποιήσει κανείς ένα μόνο κριτήριο για να ερμηνεύσει και να προβλέψει τους πληθυσμούς κουνουπιών αλλά και την ικανότητα μετάδοσης των ασθενειών που ενδεχομένως μεταδίδονται σε μια μεγάλη περιοχή όπως είναι και ο νομός Αττικής. Συνήθως αυτό είναι εφικτό μόνο μετά από μακροχρόνιες μελέτες σε μια περιοχή (5-20 έτη) και μόνο μετά από κατάλληλη επεξεργασία αλλά και τη διασύνδεση των εντομολογικών ευρημάτων με άλλα στοιχεία όπως τα μετεωρολογικά δεδομένα ή άλλα οικολογικά στοιχεία (Moore *et al.* 1993).

3.5.1. Μετεωρολογικά στοιχεία

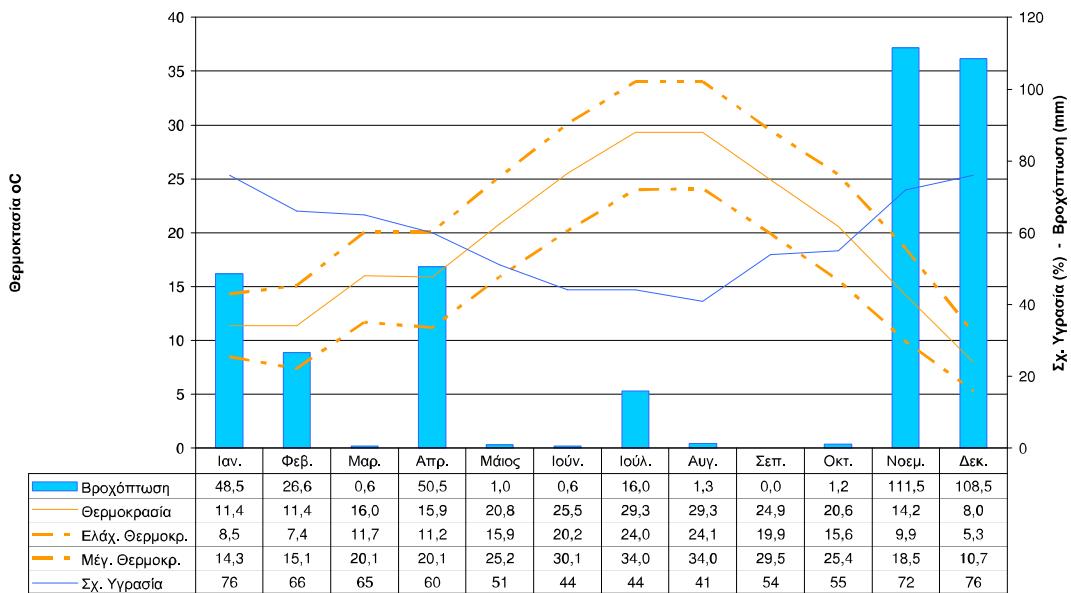
Η επίδραση των διαφόρων μετεωρολογικών στοιχείων όπως η θερμοκρασία, η υγρασία και η βροχόπτωση στην διακύμανση των πληθυσμών πολλών εντόμων, όπως των κουνουπιών, αλλά και την πιθανότητα εμφάνισης και μετάδοσης των ασθενειών που μπορούν να μεταδώσουν είναι μεγάλη και αναφέρεται από πολλούς συγγραφείς στη διεθνή βιβλιογραφία (Hutchins *et al.* 1988, McManus 1988, Showers *et al.* 1989, Moore *et al.* 1993, Thomson and Connor 2000).

Τα σημαντικότερα μετεωρολογικά στοιχεία του Νομού Αττικής, για την τριετία 2000-2002, που πραγματοποιήθηκαν όλες οι περιγραφείσες στη μελέτη δειγματοληψίες, παρουσιάζονται συνοπτικά στις παρακάτω εικόνες. Τα στοιχεία αυτά προέρχονται από τις καταγραφές του μετεωρολογικού σταθμού του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.



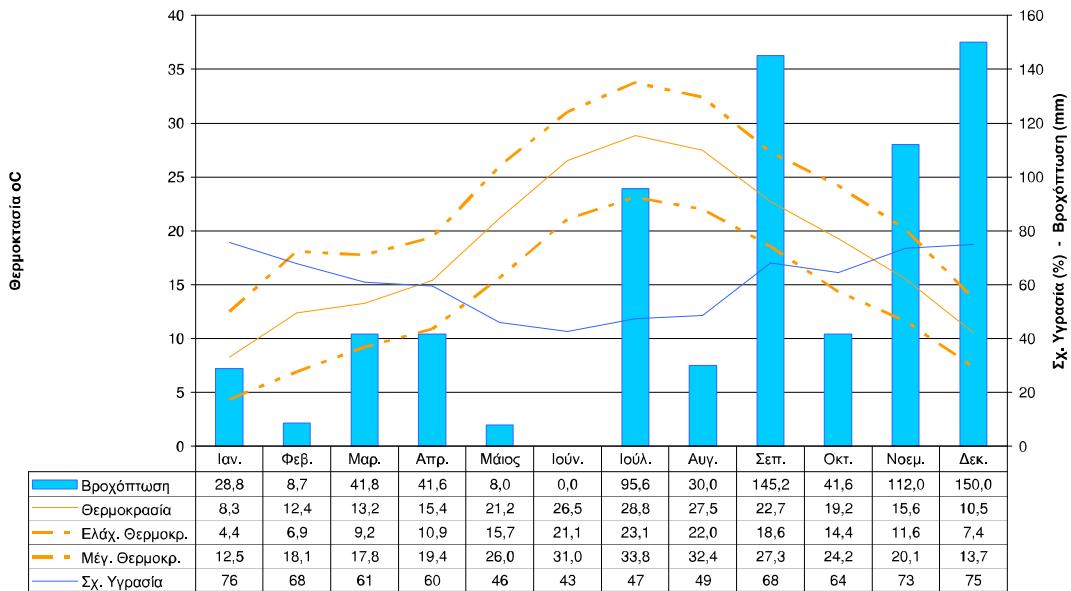
Εικόνα 3.94. Διαγραμματική απεικόνιση βασικών μετεωρολογικών στοιχείων έτους 2000.

Μετεωρολογικά στοιχεία έτους 2001 (Μέσες τιμές)



Εικόνα 3.95. Διαγραμματική απεικόνιση βασικών μετεωρολογικών στοιχείων έτους 2001.

Μετεωρολογικά στοιχεία έτους 2002 (Μέσες τιμές)



Εικόνα 3.96. Διαγραμματική απεικόνιση βασικών μετεωρολογικών στοιχείων έτους 2002.

Από την εικόνα των παραπάνω διαγραμμάτων καθώς και τα στοιχεία των σχετικών πινάκων γίνεται αμέσως φανερό ότι η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία κυμάνθηκε σε παρόμοια επίπεδα στα τρία έτη της μελέτης ενώ αντιθέτως παρατηρήθηκαν και πολύ μεγάλες διαφοροποιήσεις από έτος σε έτος, ως προς της βροχόπτωσης. Οι μεγάλες διαφορές

εντοπίζονται τόσο ως προς το συνολικό ετήσιο ύψος βροχόπτωσης όσο και ως προς την κατανομή των βροχοπτώσεων κατά τη διάρκεια του κάθε έτους.

Συγκεκριμένα το 2000 ήταν μια ξηρή χρονιά, με συνολικό ετήσιο ύψος βροχόπτωσης μόλις 227,5 χιλιοστά με το μισό περίπου αυτής της συνολικής βροχόπτωσης να καταγράφεται σε ένα μόνο μήνα, τον Νοέμβριο. Οι βροχές κατά τη διάρκεια του υπόλοιπου έτους (εκτός Νοέμβρη) ήταν γενικά πολύ λίγες και αξίζει να σημειωθεί ότι κατά τη θερμή περίοδο, τους μήνες Ιούλιο, Αύγουστο και Σεπτέμβριο δεν έβρεξε κυριολεκτικά καθόλου.

Την επόμενη χρονιά, το 2001 το συνολικό ετήσιο ύψος βροχόπτωσης ήταν 366,3 χιλιοστά με τα $\frac{2}{3}$ περίπου της ετήσιας βροχόπτωσης (220 χιλιοστά) να καταγράφονται σε δύο μόνο μήνες, τον Νοέμβριο και τον Δεκέμβριο. Για τη χρονιά αυτή αξίζει να σημειωθεί ότι για μεγάλο διάστημα κατά τη θερμή περίοδο επικράτησε ξηρασία, με τις μόνες άξιες λόγου βροχοπτώσεις να παρατηρούνται τον Ιούλιο (16 χιλιοστά) ενώ για 6 μήνες, τους μήνες Μάρτιο, Μάιο, Ιούνιο, Ιούλιο, Αύγουστο, Σεπτέμβριο και Οκτώβριο το ύψος βροχής που έπεσε ήταν από 0 έως 1,3 χιλιοστά.

Τέλος, το 2002 είχαμε μια υγρή χρονιά με συνολικό ετήσιο ύψος βροχόπτωσης 703,3 χιλιοστά. Σημαντικές βροχοπτώσεις παρατηρήθηκαν ακόμη και τους μήνες Ιούλιο, Αύγουστο και Σεπτέμβριο ενώ ο μόνος μήνας κατά τον οποίο δεν έβρεξε καθόλου ήταν ο Ιούνιος.

Σχετικά με τη θερμοκρασία δεν παρατηρήθηκαν μεγάλες αποκλίσεις από έτος σε έτος για το διάστημα πραγματοποίησης της παρούσας μελέτης, αλλά εάν λάβουμε υπόψη τον ακόλουθο πίνακα, παρατηρούμε ότι περίπου από το 1976, αλλά σταθερά από το 1984 και μετά, στην Αθήνα, καταγράφονται σαφώς αυξημένες τιμές της μέγιστης θερμοκρασίας κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού σε σχέση με τους μέσους όρους των προηγούμενων ετών.



Εικόνα 3.97. Μεταβολές των μέσων καλοκαιρινών θερμοκρασιών, στην Αθήνα, από το 1955 έως το 2007.

3.5.2. Συζήτηση σχετικά με την παρουσία του *Ae. cretinus*

Ένας από του κύριους στόχους της μελέτης που περιγράφεται στο κεφάλαιο αυτό αλλά και της διατριβής γενικότερα είναι η συμβολή στην απόκτηση στοιχείων που να αφορούν στην παρουσία και εξάπλωση του είδους *Ae. cretinus* στο Νομό Αττικής. Για το λόγο αυτό κατά την παρούσα μελέτη έγινε παρακολούθηση παγίδων ωθεσίας, που όπως αναφέρθηκε στο οικείο κεφάλαιο, είναι οι καταλληλότερες για τη μελέτη ειδών όπως το συγκεκριμένο είδος κουνουπιού ενώ επίσης πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες σε πιθανές φυσικές εστίες ανάπτυξης προνυμφών του καθώς και συλλήψεις τέλειων με διάφορες τεχνικές.

Σχετικά με τη χρήση των παγίδων ωθεσίας ισχύει ότι θεωρητικά τουλάχιστον, τις περισσότερες και πιο ολοκληρωμένες πληροφορίες για τη μελέτη ενός πληθυσμού εντόμων, σε κάποια περιοχή, προσφέρει η τοποθέτηση και παρακολούθηση όμοιων παγίδων, σε σταθερές αποστάσεις, σύμφωνα με κάποιο σχέδιο που χωρίζει ολόκληρη την περιοχή μελέτης σε ισομεγέθη τμήματα με σχετικά ομοιόμορφα χαρακτηριστικά. Στην περίπτωσή μας, αυτό δεν ήταν εφικτό για πολλούς λόγους και κυρίως γιατί η περιοχή μελέτης (νομός Αττικής) είναι πολύ μεγάλης έκτασης, με ανομοιόμορφη δομή ως προς τα χαρακτηριστικά της ενώ επιπλέον τα διαθέσιμα μέσα (κυρίως τα έμψυχα) ήταν περιορισμένα.

Αλλά ακόμη και για την περίπτωση που ένα τέτοιο δίκτυο παγίδων θα μπορούσε να στηθεί και να παρακολουθείται, ειδικά για έντομα όπως τα κουνουπια ισχύει ότι η ανάπτυξη ενός μοντέλου πρόγνωσης της παρουσίας κουνουπιών απαιτεί επισταμένες μετρήσεις πληθυσμών για πολλά χρόνια, (πχ. 19 - 24 έτη) (Washino and Thomas 1985, Service 1993).

Επίσης, ισχύει ότι η εκτίμηση του πληθυσμού των κουνουπιών με τη βοήθεια των παγίδων ωθεσίας καθώς και η σύγκριση των πληθυσμών από δύο διαφορετικές περιοχές δεν είναι σκόπιμο να γίνεται μέσω των παρατηρήσεων από τις παγίδες ωθεσίας (Service 1993). Μια θετική παγίδα ωθεσίας, είναι αδιαμφισβήτητος δείκτης ότι έστω και πρόσκαιρα, ένα συγκεκριμένο είδος απαντάται στην περιοχή και συμπληρώνει τουλάχιστον ένα μέρος του βιολογικού του κύκλου. Από την άλλη πλευρά βέβαια μια αρνητική παγίδα δεν αποδεικνύει την απουσία του είδους από την περιοχή ενώ επίσης ισχύει ότι οι παγίδες που δείχνουν την ωθεσία δεν συσχετίζονται κατ' ανάγκη με τον αριθμό των ατόμων του είδους που υπάρχουν στην περιοχή. Αυτό οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι η εναπόθεση ωών σε κάποια παγίδα ωθεσίας δεν εξαρτάται μόνο από το μέγεθος του πληθυσμού αλλά και από το αριθμό των εναλλακτικών φυσικών εστιών που είναι διαθέσιμες για ωθεσία (Hanson *et al.* 1988).

Παρά τα παραπάνω όμως η χρήση παγίδων ωθεσίας εξακολουθεί να είναι η καλύτερη μέθοδος δειγματοληψίας για κουνουπιά όπως το *Ae. cretinus* και η εφαρμογή της μας παρείχε πολύτιμες πληροφορίες. Σύμφωνα με τους Kitron *et al.* (1989) μόνο η χρήση τέτοιων παγίδων επιτρέπει την εξασφάλιση τόσο μεγάλου όγκου πληροφοριών σε σχετικά λίγο χρονικό διάστημα. Η μέθοδος αυτή δειγματοληψίας, αν και δεν είναι ασφαλής για την ποσοτική εκτίμηση των πληθυσμών ενός είδους κουνουπιού σε μια περιοχή, εντούτοις παρέχει σημαντικά στοιχεία για την παρουσία του είδους, την εποχιακή του εμφάνιση καθώς και την εξέλιξη της αναπαραγωγικής του δραστηριότητας. Επιπλέον, στην περίπτωσή μας, τα στοιχεία από τις παρατηρήσεις των παγίδων ωθεσίας συμπληρώθηκαν και με τα δεδομένα από δειγματοληψίες προνυμφών σε φυσικές εστίες καθώς και στοιχεία από τις συλλήψεις τέλειων κουνουπιών.

Συγκεντρώνοντας τα αποτελέσματα από όλες τις μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν, σε δύτι αφορά στη μελέτη του είδους *Ae. cretinus* μπορούμε να καταλήξουμε στα συμπεράσματα που ακολουθούν.

Το *Ae. cretinus* είναι ένα είδος κουνουπιού, το οποίο σύμφωνα και με την παλαιότερη βιβλιογραφία, είναι ιθαγενές της Ελλάδος. Εν τούτοις η εμφάνισή του στην περιοχή του Νομού Αττικής δεν αναφέρεται μέχρι σχετικά πρόσφατα (Samanidou-Voyadjoglou and Koliopoulos 1998).

Από τα λίγα στοιχεία που έχουμε στη διάθεσή μας, αλλά και από το γεγονός ότι δεν υπήρχαν σχετικές αναφορές για το είδος αυτό στην Αττική μπορούμε να συμπεράνουμε ότι το *Ae. cretinus* δεν ήταν πάντα, σε τέτοιο βαθμό τουλάχιστον, διαδεδομένο στην περιοχή αυτή. Αντιθέτως η παρουσία του τα τελευταία χρόνια ίσως να είναι αποτέλεσμα της γενικότερης αύξησης της θερμοκρασίας στην Αθήνα όπως καταγράφηκε και απεικονίζεται εμφανέστατα στην Εικόνα 3.97. Το γεγονός αυτό ίσως να ευνόησε την εξάπλωση και εγκατάσταση του είδους αυτού στο Νομό Αττικής καθώς οι παλιότερες αναφορές για την Ελλάδα ήταν μόνο από νοτιότερες και συνεπώς θερμότερες περιοχές (πχ. Κρήτη).

Οπως προέκυψε από τις παρατηρήσεις μας, το *Ae. cretinus* διατηρεί μόνιμα εγκαταστημένους πληθυσμούς στο Νομό Αττικής και η παρουσία του είναι εμφανής σε όλες τις γεωγραφικές ζώνες του Νομού. Από τις παρατηρήσεις μάλιστα φαίνεται ότι οι πληθυσμοί του είναι σχετικά ομοιόμορφα κατανεμημένοι στην περιοχή, με εξαίρεση ίσως την περιοχή της Βουλιαγμένης, στη νοτιοδυτική παράλια ζώνη.

Κατά τη διάρκεια του έτους το *Ae. cretinus* είναι δραστήριο τουλάχιστον επί 9 μήνες κάθε χρόνο. Η δραστηριότητα των θηλυκών για ωτοκία αρχίζει την άνοιξη (συνήθως τον Απρίλιο), φτάνει στο απόγειο το καλοκαίρι ή/και νωρίς το φθινόπωρο και σταματά στις περισσότερες περιοχές κατά τα τέλη Οκτώβρη ή αρχές Νοέμβρη. Φυσικά οι διάφορες καιρικές συνθήκες και ειδικά οι βροχοπτώσεις και η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσουν το χρονοδιάγραμμα αυτό, αλλά σε μικρό όμως βαθμό.

Σημαντικές διαφορές ως προς την παρουσία και τους πληθυσμούς από έτος σε έτος για τα τρία χρόνια της μελέτης δεν φαίνονται να υπάρχουν παρά το γεγονός ότι τουλάχιστον από πλευράς βροχοπτώσεων υπήρχαν σημαντικές διαφοροποιήσεις, από ξηρή χρονιά (2000) έως υγρή (2003). Βέβαια σύμφωνα με τους Hanson *et al.* (1988) οι βροχοπτώσεις μπορεί να επηρεάζουν θετικά τους πληθυσμούς των κουνουπιών που γεννούν σε μικρές εστίες νερού αλλά αυτό να μην αποτυπώνεται στις μετρήσεις από τις παγίδες καθώς μετά από βροχές τα κουνούπια έχουν περισσότερες διαθέσιμες εστίες για να εναποθέσουν τα ωά τους.

Επίσης η παρουσία του *Ae. cretinus* σε σχετικά σταθερούς πληθυσμούς, παρά τη διαφοροποίηση του ύψους βροχόπτωσης, από έτος σε έτος, κατά τη διάρκεια της μελέτης, μπορεί να οφείλεται στο ότι η παρουσία του είδους αυτού πιθανώς εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό και από άλλους παράγοντες, σταθερούς για μια περιοχή στην οποία έχει εγκατασταθεί, όπως ενδεχομένως είναι η φωτοπερίοδος. Κάτι ανάλογο παρατηρήθηκε και για το *Ae. albopictus* στη Ρώμη (Toma *et al.* 2003).

Σαφή μείωση των ωτοκιών στις παγίδες είχαμε και όταν έπεφταν οι θερμοκρασίες.

Ένα άλλο στοιχείο των αποτελεσμάτων των παγίδων ωθεσίας ήταν ότι ενώ αρκετές παγίδες είχαν πολύ υψηλό αριθμό ωών, άλλες ή ακόμη και οι ίδιες σε μεταγενέστερη

δειγματοληψία εμφάνιζαν μικρότερο αριθμό ωών. Δεν είμαστε σε θέση να δώσουμε μια σίγουρη απάντηση σχετικά με το ποιος είναι ο λόγος που συμβαίνει αυτό. Όσως μερικές παγίδες είναι περισσότερο ελκυστικές για τα θηλυκά από άλλες παγίδες στην ίδια περιοχή ή μπορεί να οφείλεται στο μικροκλίμα της θέσης της κάθε παγίδας, όπως η σκίαση, ο περιβάλλοντας χώρος και η φυτοκάλυψη. Επίσης, μπορεί να οφείλεται και σε τυχαία πρόσκαιρα γεγονότα, όπως για παράδειγμα ψεκασμοί με εντομοκτόνα σε παρακείμενους κήπους. Πάντως το γεγονός αυτό είναι και η αιτία της δυσκολίας διασύνδεσης του καταγραφέντων ωών στις παγίδες ωθεσίας με αβιοτικούς παράγοντες ή πολλές από τις μεταβλητές του περιβάλλοντος (Beier *et al.* 1982, Beehler and DeFoliart 1990).

Το *Ae. cretinus* χρησιμοποιεί αξιοσημείωτα πολλές και διαφορετικές εστίες για την ωθεσία και την ανάπτυξη των προνυμφών του. Στο ύπαιθρο, οι προνύμφες του είδους αυτού εντοπίστηκαν σε διάφορες εστίες μικρών συγκεντρώσεων νερού, τεχνητές ή φυσικές, όπως λεκάνες, παλιά ελαστικά, κουβαδάκια και πιάτα για τη συλλογή υδάτων από γλάστρες, σε βεράντες και κήπους καθώς και σε ανθοδοχεία σε κοιμητήρια. Επίσης βρέθηκαν εστίες ακόμη και στο έδαφος που είχαν σχηματιστεί από διαρροές του δικτύου ύδρευσης ή αποχέτευσης ή κάτω από σχάρες συλλογής όμβριων υδάτων.

Κοινά χαρακτηριστικά όλων των παραπάνω εστιών ήταν η περιορισμένη έκταση, το μικρό ύψος νερού (0,5 ως το πολύ 7-8 εκατοστά), το καθαρό νερό ή το μέτριο οργανικό φορτίο καθώς και το γεγονός ότι οι εστίες πάντοτε βρίσκονταν σε σκιερά μέρη, προστατευμένα από την άμεση ηλιακή ακτινοβολία. Επίσης, ελάχιστες φορές, εντοπίστηκαν προνύμφες και σε κοιλότητες δένδρων, εληάς (*Olea* sp.) και πλατάνου (*Platanus* sp.), αλλά θα πρέπει να διευκρινιστεί όμως ότι ο συγκεκριμένος τύπος εστιών (φυτοτέλματα) γενικά σπανίζει στην περιοχή του Νομού Αττικής και ως εκ τούτου είναι αναμενόμενο τα είδη που προτιμούν αυτές τις εστίες, είτε να μην εμφανίζονται στην Αττική ή να αναπτύσσονται σε άλλες μικρές συλλογές νερού.

Μάλλον θα πρέπει να συμπεράνουμε ότι γενικά το *Ae. cretinus* εκμεταλλεύεται μεγάλη ποικιλία από τις υπάρχουσες μικρές συγκεντρώσεις νερού για πιθανές εστίες αλλά ακριβώς λόγω της πληθώρας και της ποικιλομορφίας τους ίσως είναι και ο λόγος που γενικά εντοπίζονται λίγες φυσικές εστίες του είδους.

Όπως ήταν ίσως αναμενόμενο το *Ae. cretinus* δεν βρέθηκε ποτέ σε ανοιχτές εκτεταμένες εστίες νερού ενώ ακόμη και στις αγροτικές περιοχές με εκτεταμένες εκτάσεις και μικρό ποσοστό βλάστησης το είδος αυτό σπανίζει. Επίσης οι προνύμφες του δεν εντοπίστηκαν ποτέ σε εστίες που περιείχαν νερά βαρέως ρυπασμένα από μεγάλη ποσότητα οργανικής ουσίας ή άλλων χημικών παραγόντων (λάδια, απορρυπαντικά, βουρκόνερα κλπ).

Σημαντικοί αριθμοί τέλειων του είδους αυτού συγκεντρώθηκαν από τις δειγματοληψίες σε εξωτερικούς χώρους με ή χωρίς τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα». Μεγάλοι αριθμοί τέλειων βρέθηκαν σε κήπους, ρέματα καθώς και σε κοιμητήρια της ευρύτερης περιοχής των Αθηνών.

Επίσης σύμφωνα με παρατηρήσεις μας το *Ae. cretinus* μπαίνει με ευκολία στα σπίτια αλλά σπάνια παραμένει ή αναπαύεται σε εσωτερικούς χώρους. Νύσσει κυρίως την ημέρα, κατά προτίμηση το σούρουπο αλλά και νωρίς το πρωί τις ζεστές ημέρες. Η όχληση που

προκαλεί είναι έντονη και πολλές φορές οι αντίδραση ευαισθησίας στο δέρμα των θυμάτων είναι εμφανής προκαλώντας κοκκινίλες, φαγούρα ή και εξανθήματα.

Ένα άλλο σημαντικό στοιχείο που αποκομίσθηκε από την συγκεκριμένη έρευνα είναι ότι η μελέτη για την παρουσία του *Ae. cretinus* απέδειξε ταυτόχρονα και την απουσία του είδους *Ae. albopictus* (ασιατικό κουνούπι τίγρης) όπως και του *Ae. aegypti*. Κατά το διάστημα επομένως πραγματοποίησης της παρούσας μελέτης και επειδή αυτή διήρκησε για τρία ολόκληρα χρόνια μπορούμε να είμαστε σίγουροι ότι η εισαγωγή του *Ae. albopictus* έγινε μεταγενέστερα και επομένως η εγκατάσταση και εξάπλωση του είδους αυτού μπορεί να προσδιοριστεί με σχετική ακρίβεια. Η χρονική στιγμή εμφάνισης ενός είδους είναι κεφαλαιώδους σημασίας για τη μελέτη και αντιμετώπιση ειδών μεγάλης υγειονομικής σημασίας όπως το *Ae. albopictus*, σε μια περιοχή.

Φυσικά κρίνεται σκόπιμο τα στοιχεία της παρουσίας και εξάπλωσης του *Ae. cretinus* να συμπληρωθούν και με άλλες παρατηρήσεις και από άλλες περιοχές. Ένας ακόμη λόγος που συνηγορεί σε αυτό είναι ότι όπως είναι γνωστό από το 2008 (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008), εντοπίστηκε στην Αττική το σχετικά πρόσφατα νεοεισαχθέν στην Ελλάδα είδος *Ae. albopictus* και το οποίο σύμφωνα με τα μέχρι τώρα γνωστά δεδομένα έχει παρόμοια μορφολογία, βιολογία και οικολογία με το *Ae. cretinus* (εκτενής αναφορά στο *Ae. albopictus* έχει γίνει στο Κεφάλαιο 2.).

Η παρουσία λοιπόν του *Ae. albopictus* στην Αττική, η μεγάλη του σημασία στη μετάδοση σοβαρών ασθενειών και η αδιαμφισβήτητη στενή σχέση του με το *Ae. cretinus*, αφού μοιράζονται το ίδιο ακριβώς ενδιαίτημα καθώς και τις ίδιες εστίες ανάπτυξης των ατελών σταδίων τους είναι σημαντικός λόγος για συνέχιση της σχετικής εντομολογικής έρευνας, σε μεγαλύτερη κλίμακα και με περισσότερα μέσα ώστε να είναι δυνατή η κατάστρωση σχεδίου αντιμετώπισης του ενός ή και των δύο αυτών ειδών.

3.5.3. Συζήτηση σχετικά με την παρουσία άλλων ειδών κουνουπιών

Σύμφωνα με τα μέχρι τώρα γνωστά στοιχεία τα είδη των κουνουπιών που απαντώνται σήμερα στην Ελλάδα είναι περίπου 60 (βλέπε Κεφάλαιο 1.). Από τα είδη αυτά, με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, τα 18 είδη έχουν εντοπιστεί με βεβαιότητα και στον Νομό Αττικής, που ως γνωστό συγκεντρώνει σχεδόν το μισό πληθυσμό της Ελλάδας.

Όπως ήταν αναμενόμενο το μεγαλύτερο αριθμό ειδών απέδωσε ο έλεγχος των εστιών ανάπτυξης προνυμφών των κουνουπιών και οι δειγματοληψίες ατελών σταδίων αλλά πολύτιμες πληροφορίες αποκτήθηκαν επίσης και από τις συλλήψεις τέλειων είτε από τα σημεία ανάπτυξής τους, είτε με τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα».

Η σημασία της κάθε μεθόδου είναι μεγάλη και οι πληροφορίες που αποκομίζονται είναι συμπληρωματικές. Έτσι ο έλεγχος των εστιών εκτός του ότι συνήθως παρέχει και τις περισσότερες πληροφορίες σχετικά με τα διάφορα είδη κουνουπιών που δραστηριοποιούνται στις γύρω περιοχές δίνει επιπλέον και συγκεκριμένες πληροφορίες για τα σημεία (υδάτινες εστίες) στα οποία θα μπορούσε να εφαρμοστεί η προνυμφοκτονία ή άλλη μέθοδος καταπολέμησης ή περιορισμού των προνυμφών των κουνουπιών.

Οι δειγματοληψίες των τέλειων από τα σημεία ανάπαυσής τους δίνουν στοιχεία για την κινητικότητα των διαφόρων ειδών, τη χρονική στιγμή εμφάνισης κάθε είδους καθώς και πολύτιμα στοιχεία για τα σημεία που θα μπορούσε να εφαρμοστεί η ακμαιοκτονία, με υπολειμματικούς ψεκασμούς ή εκνεφώσεις, εάν αυτό κριθεί σκόπιμο κατά τη διάρκεια ενός προγράμματος αντιμετώπισης κουνουπιών ή σε περιόδους έκτακτων συνθηκών λόγω εμφάνισης επιδημιών. Επίσης μας δίνει στοιχεία για τα σημεία διαχείμασης των ειδών που διαχειμάζουν ως τέλεια, κάτι που είναι πολύτιμο καθώς βασική αρχή μιας επιτυχούς αντιμετώπισης κουνουπιών είναι η μείωση του πληθυσμού των διαχειμαζόντων ατόμων πριν αντά ωστοκήσουν για να δώσουν την πρώτη γενεά, την επόμενη άνοιξη.

Τέλος, με τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα» συλλαμβάνονται μόνο τέλεια θηλυκά άτομα που αναζητούν πηγή αίματος και επομένως δίνουν πληροφορίες για τα είδη που δημιουργούν τα περισσότερα προβλήματα όχλησης και φυσικά τους δυνητικούς φορείς ασθενειών. Σημαντικό ζητούμενο ενός ορθολογικά σχεδιασμένου προγράμματος αντιμετώπισης κουνουπιών είναι να εστιάζεται κυρίως στα είδη που δημιουργούν σημαντική όχληση ή είναι λόγω της ανθρωποφιλίας τους δυνητικά επικίνδυνα για τη μετάδοση ασθενειών. Αντιθέτως, είναι επιβλαβές για το περιβάλλον, τη διατήρηση της οικολογικής ισορροπίας καθώς και για τη δημόσια υγεία όταν η καταπολέμηση των κουνουπιών στρέφεται αδιακρίτως εναντίον των κουνουπιών ακόμη και για είδη που δεν παρουσιάζουν κανένα υγειονομικό ενδιαφέρον.

Φυσικά, όταν αναφερόμαστε σε έντομα όπως τα κουνούπια η ανάλυση των στοιχείων και η διεξαγωγή ακριβών συμπερασμάτων από τις παραπάνω δειγματοληπτικούς μεθόδους παρουσιάζει σημαντικούς περιορισμούς και δυσκολίες.

Σύμφωνα με τον Service (1993) θεωρείται ανέφικτο να γίνουν ακριβείς υπολογισμοί πληθυσμών ή άλλοι συσχετισμοί από τις συλλήψεις τέλειων σε οικίες δυτικού τύπου ή αστικές και ημιαστικές περιοχές αναπτυγμένων κρατών. Ο κύριος λόγος είναι η μεγάλη παραλλακτικότητα ως προς τη μορφή, το μέγεθος και τις συνθήκες που επικρατούν στις οικίες των αναπτυγμένων κρατών, σε αντίθεση με τις μικρές, ομοιόμορφες και συνήθως σκοτεινές οικίες των χωριών και αγροτικών περιοχών στις αναπτυσσόμενες χώρες. Για το λόγο αυτό δεν έχουν αναπτυχθεί και σχετικά μαθηματικά μοντέλα, εκτός ελαχίστων περιπτώσεων, όπως για παράδειγμα η ανάλυση του Nedelman (1983) που όμως εφαρμόστηκε σε ελάχιστες περιοχές, όπως η βόρεια Νιγηρία και με σχετική μόνο επιτυχία. Στην αδυναμία γενικά της ανάλυσης σε βάθος τέτοιων αποτελεσμάτων και της εξαγωγής συγκεκριμένων συμπερασμάτων καταλήγει και ο Bidlingmayer (1985).

Σχετικά με τις συλλήψεις με τη μέθοδο προσέλκυσης με «ανθρώπινο δόλωμα» διάφοροι ερευνητές έχουν επιχειρήσει να δώσουν τον ποσοτικό και ποιοτικό ορισμό της όχλησης (Read *et al.* 1994).

Ενδεικτικά αναφέρεται ότι ο Headlee (1932) θεωρεί ότι ρυθμοί επίθεσης (attack rates = bites per time unit) μεγαλύτεροι από ένα κουνούπι ανά 15 λεπτά μέχρι ένα σύνολο 3 νυγμάτων κουνουπιών τη νύχτα αποτελούν «πυκνότητα ικανή ώστε να θεωρείται πρόβλημα από τους κατοίκους» ενώ μελέτη από τους John *et al.* (1987) σε κατοίκους του Τέξας έδειξε ότι οι κάτοικοι θεωρούν ότι δεν υπάρχει πρόβλημα κουνουπιών όταν τα νύγματα περιορίζονται στα 2 την ώρα, κατά τη νύχτα ενώ το πρόβλημα θεωρείται «μέτριο» όταν τα

νύγματα κυμαίνονται περίπου στα 5 την ώρα την νύχτα και «σοβαρό» όταν υπερβαίνουν τα 11 την ώρα κατά τη νύχτα.

Οι Morris and Clanton (1988) υπολόγισαν ότι ένας μέσος όρος μιας επίθεσης κουνουπιού ανά 30 λεπτά αντιστοιχούσε σε «μικρό» έως «μέτριο» πρόβλημα όχλησης από τα κουνούπια μιας περιοχής ενώ μια επίθεση ανά 12 λεπτά αντιστοιχούσε στο «μέτριο» πρόβλημα και μια επίθεση ανά ένα λεπτό στο «μεγάλο» πρόβλημα».

Σε μελέτες επίσης με αθροιστική έκθεση στα νύγματα των κουνουπιών η όχληση μπορεί να εκτιμάται διαφορετικά από άνθρωπο σε άνθρωπο. Έτσι οι Robinson and Atkins (1983) μετά από εκτεταμένη έρευνα με ειδικά σχεδιασμένα ερωτηματολόγια υπολόγισαν ότι το 13% του πληθυσμού θεωρεί «σημαντικό πρόβλημα κουνουπιών» το ένα νύγμα κουνουπιού ανά νύχτα, το 15% του πληθυσμού θεωρεί «σημαντικό πρόβλημα κουνουπιών» τα δύο νύγματα κουνουπιών ανά νύχτα, το 32% του πληθυσμού τα 4 νύγματα ανά νύχτα και μόνο ένα 6% του πληθυσμού δεν θεωρεί «σημαντικό πρόβλημα κουνουπιών» τα 10 νύγματα ανά νύχτα (υπάρχει και 1% που δεν θεωρεί πρόβλημα ούτε τα 15 νύγματα ανά νύχτα).

Οι Sjogren *et al.* (1977) συγκρίνοντας τα αποτελέσματα μιας τηλεφωνικής έρευνας σε κατοίκους της περιοχής με τα αποτελέσματα των παρατηρήσεων με «ανθρώπινο δόλωμα» υπελόγισε ότι ο μέσος αριθμός νυγμάτων που θεωρεί τους κατοίκους να κλειστούν στα σπίτια τους το βράδυ ήταν 3 τσιμπήματα κουνουπιών στον παρατηρητή. Παρόμοια αποτελέσματα έδειξε και η μελέτη των Read *et al.* (1994) η οποία καταλήγει ότι 3 ή περισσότερα νύγματα ανά 5 λεπτά ωθούν την πλειονότητα των κατοίκων να μειώσουν τις δραστηριότητες εκτός σπιτιού ή να χρησιμοποιήσουν απωθητικά περιγράφοντας το πρόβλημα των κουνουπιών ως μεγαλύτερο του «μετρίου». Στα 11 ή περισσότερα νύγματα ανά πεντάλεπτο οι κάτοικοι ωθούνται στο να εγκαταλείψουν τις εξωτερικές δραστηριότητες περιγράφοντας την κατάσταση ως «κακή» και χρησιμοποιούν εντομοαπωθητικά σκευάσματα.

Με βάση τα στοιχεία των παραπάνω μελετών και δεδομένου ότι η δειγματοληψία με τη μέθοδο του «ανθρώπινου δολώματος» διαρκεί δεκαπέντε λεπτά της ώρας, μπορούμε να πούμε με ασφάλεια ότι στις περιπτώσεις που συλλέχθηκαν έστω και μια φορά κουνούπια με τη μέθοδο αυτή υπάρχει σημαντικό πρόβλημα όχλησης κουνουπιών από κάποιο ανθρωπόφιλο είδος. Αξίζει να αναφερθεί ότι, έστω και μικρός αριθμός συλλήψεων, πραγματοποιήθηκε σε μια ή περισσότερες περιοχές μελέτης από όλες τις αντιπροσωπευτικές γεωγραφικές ζώνες, του Νομού Αττικής, που μελετήθηκαν. Ως εκ τούτου όλη η Αττική μπορεί να θεωρηθεί ότι διαθέτει διαπιστωμένο πρόβλημα όχλησης από τα κουνούπια για συγκεκριμένες τουλάχιστον περιόδους κατά τους θερμούς μήνες του έτους. Ειδικά για την περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά το πρόβλημα μπορεί να χαρακτηρισθεί έως «πολύ έντονο» και να διαρκεί έως και επτά μήνες κάθε έτος (Απρίλιο έως Οκτώβριο).

Τα είδη που εντοπίστηκαν στην Αττική γενικά με τη μέθοδο του «ανθρώπινου δολώματος» και επομένως δημιουργούν τα σημαντικότερα προβλήματα όχλησης είναι τα *An. sacharovi*, *Ae. cretinus*, *Oc. detritus*, *Oc. caspius*, *Oc. zammitii*, *Cx. modestus*, *Cx. pipiens* και *Cs. annulata*. Τα περισσότερα από αυτά τα είδη δραστηριοποιούνται στην Ανατολική Αττική ενώ μέσα στο λεκανοπέδιο των Αθηνών το κύριο πρόβλημα όχλησης προέρχεται από το *Cx. pipiens* και σε δεύτερο λόγο από το *Ae. cretinus*. Σε ορισμένες παραθαλάσσιες περιοχές προς τα Νότια και Δυτικά του νομού έντονο πρόβλημα όχλησης δημιουργεί και το *Oc. zammitii*

που αναπαράγεται αποκλειστικά σε εστίες παράκτιων βράχων που γεμίζουν με θαλασσινό νερό.

Από τα είδη που εντοπίστηκαν στο Νομό Αττικής, σημαντικότερη από υγειονομική άποψη θεωρείται η παρουσία των ειδών *Anopheles* spp. και του *Cx. pipiens*. Τα είδη *An. sacharovi* και *An. maculipennis* που εντοπίστηκαν στην ευρύτερη περιοχή του Μαραθώνα – Σχοινιά αλλά και εντός του λεκανοπεδίου Αθηνών (*An. maculipennis*) θεωρούνται κύριοι ξενιστές των πλασμαδίων της ελονοσίας του ανθρώπου για την Ελλάδα (Παπαδάκης 1956, Μπέτζιος 1989), ενώ το *Cx. pipiens* είναι φορέας σημαντικών αρμποϊώσεων, όπως ο ίδιος του Δυτικού Νείλου καθώς και άλλων παθογόνων του ανθρώπου και των ζώων. Σε αυτά θα πρέπει να προστεθεί και η σημασία της εύρεσης δύο ακόμα νεοεισαχθέντων ειδών κουνουπιών τα τελευταία χρόνια, του *Ae. albopictus* και του *Culex tritaeniorhynchus* με μεγάλη υγειονομική σημασία το καθένα (Samanidou and Harbach 2003, Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008).

Εάν συνυπολογίσει κανείς το γεγονός ότι στην Αττική, διαβιεί και εργάζεται μεγάλος αριθμός μεταναστών, πολλοί από τους οποίους προέρχονται από χώρες της Ασίας ή της Αφρικής στις οποίες ενδημούν ασθένειες που μεταδίδονται με τα κουνούπια, αντιλαμβάνεται εύκολα ότι η Αττική βρίσκεται υπό συνεχές καθεστώς κινδύνου, λόγω των πληθυσμών των κουνουπιών που φιλοξενεί. Αναλογιζόμενοι μάλιστα την εμφάνιση κατά το 2010 αυτόχθονου κρούσματος ελονοσίας στην περιοχή του Μαραθώνα καθώς και την σημαντική επιδημία από τον ίδιο του Δυτικού Νείλου στη Βόρεια και Κεντρική Ελλάδα εύκολα γίνεται αντιληπτό ότι ο κίνδυνος επανεγκατάστασης της ελονοσίας και της εκτεταμένης μετάδοσης τροπικών νοσημάτων στην ευρύτερη περιοχή του Νομού Αττικής εξακολουθεί να υφίσταται και ίσως τώρα είναι μεγαλύτερος.

Ένα άλλο θέμα που θα πρέπει να αναφερθεί και χρήζει περαιτέρω μελέτης είναι το θέμα των θηρευτών των προνυμφών κουνουπιών, στις εστίες ανάπτυξής τους. Δεν ήταν λίγες οι φορές που δεν εντοπίζονταν καθόλου προνύμφες κουνουπιών σε φαινομενικά πολύ κατάλληλες εστίες ανάπτυξής τους ενώ ήταν εμφανής η παρουσία ψαριών αλλά και αρπακτικών αρθροπόδων κυρίως των τάξεων Odonata, Ephemeroptera, Heteroptera και Coleoptera.

Εντυπωσιακή σε πολλές εστίες της ευρύτερης περιοχής του Μαραθώνα – Σχοινιά είναι η παρουσία ψαριών του γένους *Gambusia* τα οποία είναι γνωστά για τη προνυμφοφάγο δράση τους ενώ αξίζει να αναφερθεί και η παρουσία ενός ακόμη είδους ψαριού το οποίο ενδεχομένως μπορεί να παίξει σημαντικό ρόλο στη βιολογική καταπολέμηση των κουνουπιών της περιοχής.

Το είδος αυτό είναι το *Pelasgus marathonicus* (Vinciguerra, 1921), παλαιότερη ονομασία (*Pseudophoxinus stymphalicus* υποείδος *marathonicus*) (κοινώς γνωστό και ως αττικόψαρο) (Kottelat and Freyhof 2007). Άτομα του είδους εντοπίστηκαν από τον γράφοντα σε κανάλια της περιοχής Μαραθώνα – Σχοινιά, κοντά στη θέση που σήμερα βρίσκεται το κωπηλατοδρόμιο και αφού συλλέχθηκαν δείγματα τα οποία αναγνωρίστηκαν αρχικά από την ιχθυολόγο κα Π. Αναστασιάδου, του Εργαστηρίου Τοξικολογικού Ελέγχου, του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου (Μ.Φ.Ι.) και στη συνέχεια η ταυτοποίηση επιβεβαιώθηκε από

τον Δρ. Ι. Λεονάρδο, αναπληρωτή καθηγητή στο Τμήμα Βιολογικών Εφαρμογών και Τεχνολογιών, του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων.



Εικόνα 3.98. Τέλειο θηλυκό ψαράκι του είδους *Pelasgus marathonicus*.

Μια μικρή αποικία του είδους διατηρήθηκε και διατηρείται έως σήμερα, στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, καθώς και στο Εργαστηρίο Τοξικολογικού Ελέγχου, του Μ.Φ.Ι. Ακόμη, σε προκαταρκτικά πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο καταγράφηκε η πολύ καλή θηρευτική τους ικανότητα, εναντίον προνυμφών κουνουπιών, εφάμιλλη με αυτή των ψαριών του είδους *Gambusia affinis*.

Η σημασία του είδους αυτού έγκειται στο γεγονός ότι είναι ένα καθαρά Ελληνικό είδος ψαριού, ιθαγενές της περιοχής και μάλιστα κατατάσσεται στα «τρωτά – κινδυνεύοντα» με εξαφάνιση (Economidis 1995, Καρανδεινός και Παράσχη 1992, Λεγάκης και Μαραγκού 2009), σε αντίθεση με τα ψάρια του γένους *Gambusia* τα οποία είναι εξωτικά είδη και θεωρείται ότι κυριαρχούν επί των ιθαγενών ειδών, εκτοπίζοντάς τα από τους βιότοπους στους οποίους εξαπλώνονται (Webb and Joss 1997, Leyse *et al.* 2004, Lowe *et al.* 2004).

3.5.4. Προτάσεις

Για την μελέτη της παρουσίας των διαφόρων ειδών κουνουπιών σε μια περιοχή, την κατανόηση της συμπεριφοράς τους καθώς και την ουσιαστική ανάλυση της δυναμικής των πληθυσμών τους υπεισέρχονται πολλοί παράγοντες, τόσο κλιματολογικοί όσο γεωγραφικοί ή και ανθρώπινοι. Επίσης, όπως έχει ήδη αναφερθεί για να είναι δυνατή η εφαρμογή μοντέλων

για προβλέψεις της ετήσιας διακύμανσης των πληθυσμών τους ή για την αποτελεσματική, ασφαλή από οικολογική άποψη και για τη δημόσια υγεία και με το μικρότερο δυνατό κόστος εφαρμογή προγραμμάτων αντιμετώπισης, είναι απαραίτητη η απόκτηση στοιχείων που μόνο μακροχρόνιες συστηματικές μελέτες μπορούν να εξασφαλίσουν.

Η συμβολή της παρούσας μελέτης στη συλλογή πολύτιμων πληροφοριών, τόσο για το *Ae. cretinus* όσο και για τα υπόλοιπα είδη κουνουπιών που εντοπίστηκαν, προκειμένου να μπορούν να χρησιμοποιηθούν στη λήψη αποφάσεων για την κατάστρωση του κατάλληλου σχεδίου αντιμετώπισης των κουνουπιών στο Νομό Αττικής θα πρέπει να συνεχιστεί σε συστηματική βάση και να ενισχυθεί με συμπληρωματικές εντομολογικές μελέτες για την παρουσία και δυναμική των πληθυσμών των κουνουπιών της περιοχής. Αυτό θα πρέπει να γίνεται και για όλες τις άλλες περιοχές της Ελλάδας που έχουν σημαντικό πρόβλημα κουνουπιών προκειμένου να συλλεχθούν όλες οι κατάλληλες πληροφορίες και τα στοιχεία για την εφαρμογή των κατάλληλων προγραμμάτων διαχείρισης κουνουπιών. Επίσης μόνο έτσι δίνεται η δυνατότητα για έγκαιρη και σωστή παρέμβαση για την αντιμετώπιση τυχόν έκτακτων κινδύνων της δημόσιας υγείας ή επιδημιών για τις οποίες ευθύνονται τα κουνούπια.

Η αναγκαιότητα εφαρμογής ενός συνεχούς προγράμματος παρακολούθησης των πληθυσμών των διαφόρων ειδών κουνουπιών γίνεται περισσότερο επιβεβλημένη μετά την ανίχνευση τα τελευταία χρόνια στην Ελλάδα, νέων επικίνδυνων από υγειονομική άποψη ειδών κουνουπιών καθώς και την επανεμφάνιση παλαιών ασθενειών ή εισαγωγή νέων που μπορούν να εμφανιστούν ακόμη και με τη μορφή επιδημιών.

Οι μελέτες αυτές θα πρέπει να διενεργούνται από ανεξάρτητο δημόσιο φορέα και όχι από τους εργολάβους που διενεργούν ψεκασμούς ή πραγματοποιούν τα οποιαδήποτε προγράμματα αντιμετώπισης κουνουπιών, ώστε αφενός μεν να κατευθύνουν σωστά τους εργολάβους αυτούς και αφετέρου να ελέγχουν αμερόληπτα την αποτελεσματικότητα των μεθόδων καταπολέμησης που εφαρμόζονται.

Παράλληλα θα πρέπει να ξεκινήσει πρόγραμμα συνεχούς ενημέρωσης του πληθυσμού, ιδιαίτερα των κατοίκων των προβληματικών περιοχών, ώστε αφενός να μην προάγουν με τις διάφορες εργασίες ή τις συνήθειές τους την αναπαραγωγή των κουνουπιών και αφετέρου να μην δημιουργούνται φαινόμενα πανικού ή λανθασμένης πληροφόρησης.

Τέλος, για τις εκτεταμένες εστίες της Ανατολικής Αττικής θα πρέπει να δοθεί έμφαση στην προστασία και μελέτη των θηρευτών των προνυμφών των κουνουπιών και ιδίως στα ιθαγενή προνυμφοφάγα ψάρια του είδους *Pelasgus marathonicus*.

«Ο μελετητής της φύσεως παρίσταται μάρτυς ανά πάσαν στιγμήν του εξοντωτικού αγώνος ο οποίος διεξάγεται μεταξύ των ζώντων οργανισμών δια την επιβίωσιν αυτών, αγώνος ανηλεούς από της γεννήσεως μέχρι του θανάτου αυτών.»

Αντ. Παπαδάκης, Ιατρός Παρασιτολόγος
(Παπαδάκης 1956).

Κεφάλαιο 4. Συμβολή στη μελέτη της βιολογίας του *Aedes cretinus*

4.1. Εισαγωγή

Η μελέτη της βιολογίας των διαφόρων ειδών εντόμων, και ιδιαίτερα των ειδών με μεγάλη υγειονομική ή οικονομική σημασία, όπως τα κουνούπια, θεωρείται κεφαλαιώδους σημασίας καθώς παρέχει όλες τις απαραίτητες πληροφορίες για την κατανόηση της δυναμικής των πληθυσμών ορισμένου είδους ανάλογα με τις κλιματικές ή άλλες συνθήκες καθώς και για να καταστεί δυνατή η πρόβλεψη της συμπεριφοράς του ή και των προβλημάτων που το κάθε είδος μπορεί να δημιουργήσει (Morris and Miller 1954).

Ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για τη μελέτη της βιολογίας καθώς και της δυναμικής των πληθυσμών ενός είδους εντόμου είναι οι βιολογικοί πίνακες ή πίνακες ζωής (life-tables). Με τον όρο αυτό εννοούμε, μια συνοπτική εικόνα, με στατιστικά στοιχεία, της βιολογίας ή συγκεκριμένων βιολογικών παραμέτρων ενός είδους ή πληθυσμού. Η σημασία των βιολογικών πινάκων στην εντομολογία έχει αναγνωριστεί από πολύ νωρίς (Deevey Jr. 1947, Morris and Miller 1954) ενώ ακόμη και σήμερα συνεχίζει να αποτελεί σημαντικό εργαλείο στη μελέτη των εντόμων και ιδίως των κουνουπιών (Okogun 2005, Afrane *et al.* 2007, Hashim *et al.* 2008, Olayemi and Ande 2009).

Σχετικά με το είδος *Aedes cretinus*, όπως έχει αναφερθεί, ελάχιστα στοιχεία είναι γνωστά για τη βιολογία του. Από τους παλιότερους συγγραφείς, μόνο οι Gutsevich *et al.* (1974) αναφέρουν ότι τα τέλεια του είδους αυτού νύσσουν τον άνθρωπο καθώς και ότι οι προνύμφες τους έχουν βρεθεί σε κοιλότητες δένδρων (tree hole mosquito). Ακόμη και πολύ σύγχρονα συγγράμματα, στις αναφορές τους για το είδος αυτό, επισημαίνουν την έλλειψη στοιχείων για τη βιολογία του (Becker *et al.* 2010).

Για το λόγο αυτό, στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε, σε συνθήκες εργαστηρίου, η μελέτη βασικών βιολογικών χαρακτηριστικών του *Ae. cretinus* τα οποία θα μπορούσαν να

καλύψουν, σε κάποιο ποσοστό, το κενό στη γνώση της βιολογίας του είδους αυτού. Είναι γνωστό ότι οι βιολογικοί παράμετροι, που μελετούνται υπό ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες, παρέχουν σημαντικές πληροφορίες για το μέγιστο γενετικό δυναμικό των διαφόρων βιολογικών χαρακτηριστικών ενός είδους και αποτελούν τη βάση της κατανόησης της βιολογίας του στο φυσικό περιβάλλον (Reisen and Mahmood 1980, Mahmood 1997).

Επίσης, από τα στοιχεία αυτά θα μπορούν να εξαχθούν πολύτιμες πληροφορίες για τη βιωσιμότητα και την αναπαραγωγική ικανότητα του συγκεκριμένου είδους και κατά συνέπεια να συμβάλλουν στην οργάνωση και εφαρμογή αποτελεσματικών προγραμμάτων αντιμετώπισής του.

Τα στοιχεία βιολογίας τα οποία μελετήθηκαν στην παρούσα μελέτη και υπό τις συγκεκριμένες εργαστηριακές συνθήκες, είναι το αναπαραγωγικό δυναμικό του *Ae. cretinus* με βάση των αριθμών που μπορεί να γεννήσει κάθε θηλυκό, τη θνησιμότητα που παρατηρείται σε κάθε βιολογικό στάδιο ανάπτυξης, τη χρονική διάρκεια του κάθε σταδίου καθώς και την μακροβιότητα των τελείων.

Για την πραγματοποίηση των παραπάνω στόχων χρησιμοποιήθηκαν διάφορες μέθοδοι, οι οποίοι περιγράφονται στη συνέχεια του κεφαλαίου. Ένα όμως από τα πρώτα θέματα που έπρεπε να επιλυθεί, πριν από τον πειραματισμό για τη μελέτη οποιουδήποτε βιολογικού χαρακτηριστικού, ήταν η εκτροφή του συγκεκριμένου είδους εντόμου στο Εργαστήριο και μάλιστα με εφαρμογή τυποποιημένης μεθόδου.

4.2. Εργαστηριακή εκτροφή του *Ae. cretinus*

Η μέθοδος εκτροφής του *Ae. cretinus* στο Εργαστήριο βασίστηκε στις μεθόδους που περιγράφονται από τον Gerberg (1970) καθώς και στοιχεία από τους Belkin *et al.* (1965) και Trembley (1955). Από τη σχετική βιβλιογραφία χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία κυρίως που αφορούν την εκτροφή συγγενικών ειδών όπως τα *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* ενώ σίγουρα βοήθησε και η εμπειρία που υπάρχει για το συγκεκριμένο θέμα καθώς, στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου διατηρείται εργαστηριακή εκτροφή του *Culex pipiens* biotype *molestus*, για περισσότερες από 3 δεκαετίες.

Για τη συγκεκριμένη εκτροφή του *Ae. cretinus*, με σκοπό τη μελέτη των βιολογικών χαρακτηριστικών του είδους αλλά και την παραγωγή ικανού και όμοιας ηλικίας αριθμού εντόμων για χρήση τους σε βιοδοκιμές, χρησιμοποιήθηκε αποικία ηλικίας ενός περίπου έτους, που προέρχονταν από συλλογή της γεωγραφικής ζώνης των Βορείων Προαστίων, και συγκεκριμένα από την περιοχή του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου (βλέπε θέσεις δειγματοληψίας στο κεφάλαιο 3.3.1.). Ο λόγος που προτιμήθηκε η αποικία αυτή ήταν, εκτός των άλλων, ότι η περιοχή προέλευσης των εντόμων και η περιοχή εγκατάστασης του εντομοτροφείου συνέπιπταν και επομένως δεν υπήρχε ανησυχία για εισαγωγή νέου είδους ή φυλής του είδους στο φυσικό οικοσύστημα των Βορείων Προαστίων, σε πιθανή απόδραση των εντόμων από τους κλωβούς εκτροφής ή κατά τη διάρκεια των χειρισμών τους.

Επιπλέον, η συγκεκριμένη φυλή του *Ae. cretinus*, αποδείχθηκε, από τα προκαταρκτικά πειράματα, ότι έχει εγκλιματιστεί ικανοποιητικά στις συνθήκες του εργαστηρίου και μπορεί να αναπαραχθεί με επιτυχία σε κλωστούς διαστάσεων 33x33x33 εκατοστών.

Η τυποποιημένη μέθοδος που εφαρμόστηκε για την εκτροφή του είχε ως εξής:

4.2.1. Συνθήκες εκτροφής

Η διατήρηση και ανάπτυξη της εκτροφής γινόταν καθ' όλη τη διάρκεια του έτους καθώς οι συνθήκες ήταν ελεγχόμενες και σχετικά σταθερές και γενικά ενδείκνυνται για την καλύτερη ανάπτυξη των κουνουπιών. Συγκεκριμένα η εκτροφή πραγματοποιούνταν εντός κλιματιζόμενου δωματίου με θερμοκρασία 25 ± 2 °C, σχετική υγρασία 75 ± 5 % και φωτοπερίοδο 17 ώρες φως και 7 ώρες σκοτάδι.

4.2.2. Ωά - Προνύμφες

Όπως έχει αναφερθεί τα ωά των κουνουπιών του είδους *Ae. cretinus* προσκολλώνται σε σταθερές επιφάνειες. Στην προκειμένη περίπτωση, για τις ανάγκες της εκτροφής τα ωά λαμβάνονταν προσκολλημένα σε ξύλινα υποστρώματα (γλωσσοπίεστρα με τραχιά επιφάνεια). Τα υποστρώματα αυτά τοποθετούνται σε λεκάνες εμαγιέ, διαμέτρου 28 εκατοστών, με λίγο νερό που να καλύπτει εν μέρει τα ωά και μικρή ποσότητα τροφής, προκειμένου τα ωά να εκκολαφθούν και να εξέλθουν οι νεαρές προνύμφες. Το νερό που χρησιμοποιούνταν για την εκτροφή, ήταν νερό βρύσης, το οποίο είχε συλλεχθεί τουλάχιστον 48 ώρες νωρίτερα και διατηρούνταν σε μεγάλα δοχεία σκεπασμένα με τούλι, προκειμένου να αποχλωριωθεί πλήρως. Το χρώμα των λεκανών εκτροφής είναι ανοιχτού χρώματος (υπόλευκο) ώστε να είναι δυνατή η εύκολη διάκριση ακόμη και των μικρών προνυμφών.



Εικόνα 4.1. Λεκάνες εκτροφής προνυμφών κουνουπιών στο εντομοτροφείο.

Όταν εμφανιστούν οι προνύμφες 1^{ης} ηλικίας, οι πληθυσμοί αραιώνονται και τοποθετούνται σε νέες καθαρές λεκάνες, κατά ομάδες των 100 περίπου προνυμφών. Οι προνύμφες τρέφονται με μίγμα τροφής που αποτελούνταν από 2 μέρη τροφής για νεογέννητα

ψάρια (Tetramin[®], Baby Fish Food) και ένα μέρος μαγιάς μπύρας (BioNatural[®], Superzyme powder). Η χορήγηση της τροφής γινόταν κάθε μέρα και η παρεχόμενη ποσότητα υπολογίστηκε ώστε να υπερκαλύπτει τις ανάγκες ανάπτυξης των προνυμφών σε θρεπτικά στοιχεία (παροχή τροφής *ad libitum*). Υπολογίζεται ότι απαιτούνται 300-400 mg τροφής, για τη διατροφή 100 περίπου προνυμφών καθ' όλη τη διάρκεια της ανάπτυξης τους.

4.2.3. Νύμφες - Τέλεια

Όταν ολοκληρωθεί το προνυμφικό στάδιο και εμφανιστούν οι νύμφες, αυτές συλλέγονται με ειδικούς συλλέκτες και τοποθετούνται σε πλαστικά κύπελλα διαμέτρου 8 cm, τα οποία περιείχαν επίσης αποχλωριωμένο νερό (Εικόνα 4.2.). Ο έλεγχος για την ύπαρξη νυμφών και η συλλογή τους γίνονταν καθημερινά.



Εικόνα 4.2. Συλλογή νυμφών από τις λεκάνες εκτροφής προνυμφών.

Στη συνέχεια, τα κύπελλα με τις νύμφες τοποθετούνταν στους κλωβούς για το τελικό στάδιο της εξέλιξης τους σε τέλεια έντομα. Οι κλωβοί που χρησιμοποιήθηκαν ήταν διαστάσεων 33 x 33 x 33 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.

Οι χειρισμοί των τελείων εντόμων στο εντομοτροφείο, είτε για εκτροφή είτε για τις βιοδοκιμές, γίνονταν συνήθως με απλό ή μηχανικό αναρροφητήρα (aspirator) όπως και στις περιπτώσεις των δειγματοληψιών (κεφ. 3).



Εικόνα 4.3. Κλωβοί εκτροφής κουνουπιών.

Τα τέλεια κουνούπια, για την επιβίωσή τους, τρέφονται 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 (Εικόνα 4.3.). Τα ζαχαρούχα διαλύματα αντικαθίσταντο με καινούρια δύο φορές την εβδομάδα.

Στα τέλεια θηλυκά κουνούπια παρεχόταν γεύμα αίματος, μια φορά την εβδομάδα, προκειμένου να ωτοκήσουν. Καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης των βιολογικών χαρακτηριστικών του *Ae. cretinus* η αιμοληψία των κουνουπιών γίνονταν από το χέρι του μελετητή. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων για τη μελέτη της αποτελεσματικότητας των βιοκτόνων, για τη διάθεση της απαιτούμενης ποσότητας αίματος, χρησιμοποιήθηκε μικρό πτηνό (ορτύκι), ώστε να είναι δυνατή η εξασφάλιση μεγάλου αριθμού απογόνων, ικανών να χρησιμοποιηθούν στις σχετικές βιοδοκιμές. Οι αιμοληψίες των θηλυκών γίνονταν συνήθως απογευματινές ώρες και είχαν διάρκεια 15 λεπτά. Όπως έγινε αντιληπτό και από προκαταρκτικά πειράματα, τα ενήλικα θηλυκά του *Ae. cretinus* φαίνεται ότι είχαν προσαρμοστεί ικανοποιητικά στο συγκεκριμένο τρόπο λήψης τροφής και τα περισσότερα διαθέσιμα θηλυκά γέμιζαν επαρκώς το στομάχι τους με αίμα κατά τη διάρκεια της αιμοληψίας.

Σε κάθε κλωβό με τέλεια υπήρχε και κύπελλο με αποχλωριωμένο νερό και κατάλληλο υπόστρωμα ωτοκίας (ξύλινα γλωσσοπίεστρα με τραχιά επιφάνεια) για να ωοποθέσουν τα θηλυκά κουνούπια. Η συλλογή των υποστρωμάτων με τα ωά και η αντικατάσταση των κυπέλλων γινόταν κάθε μέρα και τα αντίστοιχα υποστρώματα ωτοκίας χρησιμοποιούντο είτε για ανανέωση της εκτροφής είτε για άλλους σκοπούς.

4.3. Μελέτη βασικών στοιχείων βιολογίας του *Ae. cretinus*

Η μελέτη των βασικών στοιχείων της βιολογίας του *Ae. cretinus* πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο με μεθόδους που βασίστηκαν στις αντίστοιχες μεθόδους που συνήθως εφαρμόζονται, για τη μελέτη στο Εργαστήριο, αντίστοιχων βιολογικών χαρακτηριστικών, σε άλλα είδη κουνουπιών (Hacker 1972, Freeman 1976, Soekiman *et al.* 1984, Kasule 1986, Mahmood 1997, Kamimura *et al.* 2002).

Η μεθοδολογία που ακολουθήθηκε στην παρούσα μελέτη περιγράφεται στη συνέχεια:

4.3.1. Υλικά και μέθοδοι

Για τη μελέτη των βασικών βιολογικών χαρακτηριστικών του *Ae. cretinus* χρησιμοποιήθηκαν άτομα από την εργαστηριακή εκτροφή του είδους, στο Μ.Φ.Ι. Η επιλογή ατόμων από εκτροφή, σε σύγκριση με άτομα που θα μπορούσαν να συλλεχθούν από άγριους πληθυσμούς του είδους, έγινε με σκοπό να εξασφαλιστεί η μεγαλύτερη δυνατή ομοιομορφία των εντόμων που θα χρησιμοποιηθούν τόσο ως προς την ηλικία όσο και ως προς τη φυσική τους κατάσταση και θρέψη.

Επίσης, τα σχετικά πειράματα πραγματοποιήθηκαν κατά τη διάρκεια δύο ετών (2003 και 2004) και μόνο στις περιόδους μεταξύ του Μαΐου έως τα τέλη Σεπτεμβρίου όπου και οι φυσικοί πληθυσμοί των εντόμων ήταν σε πλήρη δραστηριότητα.

Η συγκεκριμένη διαδικασία που ακολουθήθηκε ήταν η ακόλουθη:

Από την εργαστηριακή εκτροφή του *Ae. cretinus*, σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφηκε παραπάνω, τοποθετήθηκαν νέες νύμφες, σε καλή κατάσταση, εντός καθαρών κλωβών, διαστάσεων 33x33x33 εκατοστών. Οι συνθήκες, καθόλη τη διάρκεια των συγκεκριμένων μελετών ήταν σταθερές και ίδιες με αυτές της συνηθισμένης εκτροφής, δηλαδή θερμοκρασία 25 ± 2 °C, σχετική υγρασία 75 ± 5 % και φωτοπερίοδος 17:7 ώρες φως : σκοτάδι.

Πέντε περίπου ημέρες μετά την πρώτη έξοδο τελείων *Ae. cretinus*, στους νέους αυτούς κλωβούς (δηλαδή τα τέλεια ήταν 3-5 ημερών) και αφού είχαν πραγματοποιηθεί οι συζεύξεις μεταξύ των δύο φύλων, δόθηκε η ευκαιρία στα θηλυκά να τραφούν με αίμα. Μετά από αιμοληψία 20 περίπου λεπτών, 3 θηλυκά τέλεια άτομα *Ae. cretinus*, τα οποία εμφανώς είχαν τραφεί με μεγάλη ποσότητα αίματος, απομακρύνθηκαν από τον κλωβό με τη βοήθεια αναρροφητήρα και τοποθετήθηκαν σε νέους καθαρούς κλωβούς, δόμοις με τον κλωβό της εκτροφής (δηλ. διαστάσεων 33x33x33 εκατοστών). Σε κάθε κλωβό τοποθετήθηκε ένα μόνο θηλυκό άτομο.

Συνολικά, κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, χρησιμοποιήθηκαν 15 θηλυκά κουνούπια *Ae. cretinus*, καθώς η παραπάνω διαδικασία επαναλήφθηκε σε 5 διαφορετικές χρονικές περιόδους. Η κάθε μια από τις πέντε αυτές επαναλήψεις άρχιζε μετά το τέλος της διαδικασίας που θα περιγραφεί στη συνέχεια για κάθε παρτίδα των τριών αρχικών θηλυκών ατόμων. Οι λόγοι που επέβαλαν αυτό το χειρισμό ήταν πρακτικοί και κυρίως είχαν να κάνουν με την έλλειψη εργαστηριακού χώρου και υλικών όπως οι κλωβοί εκτροφής.

Τα αποτελέσματα όμως παρουσιάζονται συνολικά για όλες τις επαναλήψεις, δηλαδή και για τα 15 θηλυκά άτομα που χρησιμοποιήθηκαν.

Σε κάθε ατομικό κλωβό, που περιείχε ένα θηλυκό κουνούπι, που είχε τραφεί επαρκώς με αίμα, παρέχονταν υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%, με τη μέθοδο που περιγράφεται στην εκτροφή του είδους, για λήψη τροφής *ad libitum*, ενώ στη μία γωνία του κλωβού τοποθετούνταν ένα δοχείο με νερό και υπόστρωμα ωθεσίας. Το δοχείο ήταν γυάλινο βάζο, καλυμμένο εξωτερικά με μαύρο πλαστικό, που περιείχε μέχρι τη μέση αποχλωριωμένο νερό (περίπου 100 ml) και το υπόστρωμα ωθεσίας ήταν γλωσσοπίεστρα με τραχιά επιφάνεια, μετά από τρίψιμο με γυαλόχαρτο, όπως γίνονταν και με τα γλωσσοπίεστρα των παγίδων ωθεσίας.

Το σύστημα αυτό, μαύρο βάζο με νερό και γλωσσοπίεστρο θεωρήθηκε ότι προσομοιάζει καλύτερα τις φυσικές εστίες ανάπτυξης προνυμφών του *Ae. cretinus*.

Κάθε δύο ημέρες συλλέγονταν τα βάζα και τα υποστρώματα ωθεσίας και αντικαθίσταντο από νέα. Από κάθε βάζο καταμετρούνταν τα ωά που είχαν εναποτεθεί στο γλωσσοπίεστρο καθώς και τα ωά που ενδεχομένως είχαν κολληθεί στην εσωτερική επιφάνεια των γυάλινων βάζων, αφού προηγουμένως είχε αφαιρεθεί η μαύρη εξωτερική επικάλυψη. Επίσης, το νερό από κάθε βάζο συλλεγόταν ξεχωριστά και ελέγχονταν για ώα ή και προνύμφες που πιθανώς είχαν εκκολαφθεί.

Στα συγκεκριμένα θηλυκά δινόταν η δυνατότητα δύο φορές την εβδομάδα για λήψη νέου αίματος και ως εκ τούτου τα ωά που καταγράφηκαν αφορούν σε πολλούς γονοτροφικούς κύκλους.

Το σύνολο των ωών που λαμβάνονταν από κάθε θηλυκό τοποθετούνταν αμέσως σε ξεχωριστές λεκάνες με μικρή ποσότητα αποχλωριωμένου νερού προκειμένου να εκκολαφθούν. Ομοίως τα βάζα που περιείχαν ωά στο εσωτερικό τους γεμίζονταν με νερό μέχρι του σημείου των ωών και παρακολουθούνταν ως προς τις εκκολάψεις των ωών. Σε καμία από τις περιπτώσεις δεν γίνονταν προσπάθεια αποκόλλησης των ωών από το υπόστρωμα ωθεσίας για να μην προκληθεί τραυματισμός των ωών. Επίσης οι λεκάνες και τα βάζα με ωά προς εκκόλαψη καλύπτονταν στο άνοιγμά τους με τούλι προκειμένου να αποφευχθεί οποιαδήποτε πιθανή επαφή με κουνούπια, του ιδίου ή άλλου είδους, που ενδεχομένως είχαν αποδράσει από τους κλωβούς εκτροφής που διατηρούνταν το ίδιο διάστημα στο εντομοτροφείο.

Σε κάθε λεκάνη προσθέτονταν μικρή ποσότητα τροφής προνυμφών, όπως αυτή που περιγράφεται παραπάνω για την εκτροφή των προνυμφών. Οι προνύμφες που προέκυπταν από τα ωά στο εσωτερικό των βάζων προσθέτονταν και αυτές στις αντίστοιχες λεκάνες με τις προνύμφες της ίδιας ωτοκοίας.

Τα υποστρώματα με τα ωά παρέμεναν στο νερό για εκκόλαψη για μια εβδομάδα. Στη συνέχεια απομακρύνονταν και καταμετρούνταν στο στερεοσκόπιο ο αριθμός των εκκολαφθέντων ωών και ο αριθμός των ωών που δεν έφεραν σημάδια εκκόλαψης.

Μετά την πρώτη έκδυση των προνυμφών, όπου οι προνύμφες ήταν πλέον εύκολα ορατές και η φυσική τους κατάσταση επέτρεπε κάποιους ελαφρούς χειρισμούς, οι προνύμφες αραιώνονταν σε ξεχωριστές λεκάνες σε παρτίδες των 20 περίπου ατόμων ώστε να είναι ευκολότερη η παρατήρησή τους.

Σε κάθε λεκάνη λαμβάνονταν παρατηρήσεις κάθε μέρα και καταγράφονταν οι εκδύσεις, δηλαδή ο αριθμός των προνυμφών που άλλαζαν ηλικία καθώς και η φυσική θνησιμότητα των προνυμφών σε κάθε ηλικία. Επίσης καταγραφόταν η χρονική στιγμή εμφάνισης των νυμφών και ακολούθως με την εμφάνιση των τελείων, το ποσοστό της νυμφικής θνησιμότητας και των επιτυχημένων εκδύσεων, καθώς και η αναλογία φύλου των παραγόμενων αρσενικών και θηλυκών ατόμων.

Όλα τα τέλεια που ελήφθησαν από κάθε αρχική παρτίδα των τριών θηλυκών κουνουπιών τοποθετούνταν σε ένα νέο καθαρό κλωβό όπου τους παρέχονταν τροφή *ad libitum* (διαλόγματος ζάχαρης 10%, με τη μέθοδο που περιγράφεται στην εκτροφή του είδους), ενώ τα θηλυκά είχαν τη δυνατότητα λήψης αίματος από το χέρι του εθελοντή, δύο φορές την εβδομάδα. Στα τέλεια αυτά γίνονταν παρατηρήσεις ως προς τη φυσική θνησιμότητα καθώς και την ημερομηνία της έναρξης νέων ωτοκιών.

4.3.2. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα από τις παραπάνω παρατηρήσεις παρουσιάζονται ομαδοποιημένα στις ακόλουθες κατηγορίες.

4.3.2.1. Παραγωγή ωών – Αναπαραγωγικό δυναμικό

Ως αναπαραγωγικό δυναμικό (fecundity) ορίζεται ο συνολικός αριθμός ωών που παράγονται από κάθε γονιμοποιημένο θηλυκό κατά τη διάρκεια της ζωής του.

Ως γονοτροφικός κύκλος ορίζεται το διάστημα μεταξύ δύο ωτοκιών (Hawley 1988, Σαββοπούλου-Σουλτάνη 1999) ενώ ως κύκλος ωτοκίας ή ωτοκία, όπως αναφέρεται στο παρακάτω διάστημα είναι ο αριθμός των ωών που γεννιούνται μετά το τέλος κάθε γονοτροφικού κύκλου.

Στην πράξη, για το *Ae. cretinus* η κάθε ωτοκία (με την παραπάνω έννοια) μπορεί να ελάμβανε χώρα κατά τη διάρκεια 3 ημερών με το μεγαλύτερο ποσοστό ωών να εναποτίθεται κατά τη δεύτερη ημέρα, μετά την έναρξη της ωτοκίας. Επίσης πρακτικά οι ωτοκίες μεταξύ τους διαχωρίζονται εφόσον μεσολαβούσε διάστημα τουλάχιστον 2 ημερών χωρίς την παραγωγή κανενός ωού.

Στο σημείο αυτό πρέπει να αναφερθεί ότι, όπως αποδείχθηκε από προκαταρκτικά πειράματα, καθώς και από την εργαστηριακή εκτροφή του είδους, το *Ae. cretinus* δεν μπορεί να γεννήσει αυτόγονα ωά, δηλαδή η λήψη γεύματος με αίμα είναι απαραίτητη για την ωτοκία.

Τα αποτελέσματα των ωτοκιών για το καθένα από τα 15 θηλυκά *Aedes cretinus* που χρησιμοποιήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη δίνονται στον παρακάτω Πίνακα 4.1.

Πίνακας 4.1. Ωά που παρήχθησαν από κάθε τέλειον θηλυκό που χρησιμοποιήθηκε.

Αριθμός επαναλήψεων	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Σύνολο	ΜΟ ± SE
1 ^η ωοτοκία	42	81	51	32	64	68	70	77	48	29	12	60	28	74	46	782	52,1 ± 5,3
2 ^η ωοτοκία	71	66	53	78	86	46	89	37	59	19	76	71	46	116	23	936	62,4 ± 6,7
3 ^η ωοτοκία	49	51	32	77	33	61	49	30	87	9	46	37	40	38	91	730	48,7 ± 5,8
4 ^η ωοτοκία	37	73	83	43	20	92	73	33	37	0	42	36	31	7	40	647	43,1 ± 6,8
5 ^η ωοτοκία	16	34	32	41	39	36	34	39	3	0	7	26	12	26	0	345	23,0 ± 3,9
6 ^η ωοτοκία	3	4	0	0	9	18	9	6	24		9	17	0	6	19	124	8,3 ± 2,1
7 ^η ωοτοκία	0	11	0	7	0	4	10	0	4			5		0	9	50	3,3 ± 1,2
Σύνολο	218	320	251	278	251	325	334	222	262	57	192	252	157	267	228	3.614	240,9 ±18,1

Από τα στοιχεία αυτά μπορούμε να σχηματίσουμε μια σχετικά καλή εικόνα για το αναπαραγωγικό δυναμικό του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού. Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα και για τις συγκεκριμένες εργαστηριακές συνθήκες, παρατηρούμε ότι το σύνολο των ωών που γεννήθηκε από κάθε θηλυκό της μελέτης κατά τη διάρκεια της ζωής του, κυμάνθηκε από 57 ωά έως το μέγιστο των 334 ωών. Ο μέσος συνολικός αριθμός ωών για κάθε θηλυκό ήταν 240,9 ωά στο σύνολο των 7 ωοτοκιών που καταγράφηκαν.

Τα περισσότερα ωά εναποτίθενται στις 3 πρώτες ωοτοκίες. Συγκεκριμένα στις πρώτες ωοτοκίες εναποτέθηκαν συνολικά 2.448 ωά που αντιστοιχούν σε ποσοστό στο 67,74% του συνόλου των ωών. Όσο μεγαλύτερος είναι ο αριθμός του γονοτροφικού κύκλου, ή με άλλα λόγια όσο γερνά το έντομο, τόσο μειώνεται ο αριθμός των ωών που παράγεται σε κάθε ωοτοκία. Ο αριθμός των ωών στο τέλος του 5^{ου} γονοτροφικού κύκλου είναι τουλάχιστον 50% μικρότερος από τον αντίστοιχο του 1^{ου} γονοτροφικού κύκλου. Επίσης, σύμφωνα με προκαταρκτικές παρατηρήσεις, τα ωά των τελευταίων ωοτοκιών είναι μάλλον χειρότερης ποιότητας, όσον αφορά στη μορφολογία τους (μεγάλο ποσοστό ωών χωρίς περιεχόμενο) καθώς και στην εκκολαψιμότητά τους ή του ποσοστού επιβίωσης των νεοεκκολαφθεισών προνυμφών.

Ο αριθμός των ωών που εναπόθεσε κάθε θηλυκό *Ae. cretinus*, με κάθε ωοτοκία, για τις τρεις πρώτες ωοτοκίες, υπολογίστηκε και ήταν μέσο όρο 54,4 ωά ανά ωοτοκία, με τυπικό σφάλμα ± 3,48 (SE).

4.3.2.2. Θνησιμότητα κάθε σταδίου

Ο συνολικός αριθμός των ωών που γεννήθηκαν από τα 15 θηλυκά κουνούπια *Ae. cretinus* που χρησιμοποιήθηκαν αρχικά ήταν 3.614 ωά και αφορούν στα ωά που παρήχθησαν από όλους τους γονοτροφικούς κύκλους, όπως δίνονται αναλυτικά στον προηγούμενο Πίνακα 4.1.

Για τη μελέτη όμως των υπόλοιπων βιολογικών παραμέτρων, δηλαδή τη βιωσιμότητα ή αντιστοίχως τη θνησιμότητα κάθε σταδίου του εντόμου καθώς και των άλλων βιολογικών χαρακτηριστικών που περιγράφονται στη συνέχεια του κεφαλαίου, χρησιμοποιήθηκαν μόνο τα ωά που παράχθηκαν κατά τους 3 πρώτους κύκλους ωοτοκίας. Αυτό έγινε γιατί για έντομα όπως τα κουνούπια, τα ωά των πρώτων γονοτροφικών κύκλων θεωρούνται ότι είναι αυτά που αντιπροσωπεύουν καλύτερα το δυναμικό του είδους. Αυτό αποδείχθηκε και στην περίπτωση του *Ae. cretinus* καθώς προκαταρκτικά πειράματα και παρατηρήσεις από την εργαστηριακή εκτροφή του είδους έδειξαν ότι τα ωά των υπολοίπων γονοτροφικών κύκλων (4^{ου} έως 7^{ου} γονοτροφικού κύκλου) εμφανίζουν εξαιρετικά χαμηλή ζωτικότητα, ακανόνιστη εκκολαψιμότητα και φυσικά δεν παράγονται από όλα τα θηλυκά άτομα.

Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 2.448 ωά από τις 3 πρώτες ωοτοκίες, των 15 θηλυκών που μελετήθηκαν αρχικά. Τα αποτελέσματα της μελέτης της βιολογικής εξέλιξης των ωών αυτών, σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφηκε στο κεφάλαιο 4.3.1., παρουσιάζονται συνοπτικά στον Πίνακα 4.2.

Η συνολική πραγματική θνησιμότητα ανάπτυξης (real development mortality) ήταν 27,9 %. Η υψηλότερη θνησιμότητα παρατηρήθηκε κατά τη διάρκεια του προνυμφικού σταδίου και ανήλθε στο 13,3 % της συνολικής θνησιμότητας. Η θνησιμότητα των προνυμφών θα πρέπει να αποδοθεί κυρίως σε ενδογενείς παράγοντες καθώς οι συνθήκες εκτροφής, η φροντίδα και η διαθεσιμότητα τροφής ήταν ιδιαίτερα προσεγμένες.

Τελικά το 72,1% των ωών έδωσε βιώσιμα τέλεια από τα οποία η αναλογία φύλου ήταν 52,18% αρσενικά άτομα και 47,82 % θηλυκά.

Πίνακας 4.2. Πίνακας της επιβίωσης (accumulated life table) για το *Ae. cretinus*, για το κάθε στάδιο ανάπτυξης, βασισμένος στην βιολογική εξέλιξη των ωών από 15 τέλεια θηλυκά άτομα.

Στάδιο	Παράγων Θνησιμότητας	Αριθμός ζωντανών στην αρχή του κάθε σταδίου	Αριθμός νεκρών κατά τη διάρκεια του κάθε σταδίου	Θνησιμότητα κάθε σταδίου
Ωά	Αποτυχία εκκόλαψης Σύνολο	2448	249	10,17 %
Προνύμφες ($L_1 + L_2$)	Ενδογενείς παράγοντες Σύνολο	2199	193	8,78 %
Προνύμφες ($L_3 + L_4$)	Ενδογενείς παράγοντες Σύνολο	2006	99	4,94 %
Νύμφες	Ενδογενείς παράγοντες Σύνολο	1907	58	3,04 %
Τέλεια Αρσενικά Θηλυκά	Πνιγμός κατά την έκδυση Πνιγμός κατά την έκδυση Σύνολο	1849	33 51	4,54 %
Τέλεια (που εκδύθηκαν επιτυχώς) Αρσενικά Θηλυκά		1765 (72,1%) 921 844		

4.3.2.3. Διάρκεια ανάπτυξης κάθε σταδίου

Τα αποτελέσματα που σχετίζονται με τη διάρκεια ανάπτυξης κάθε σταδίου του *Ae. cretinus* παρουσιάζονται συνοπτικά στην Εικόνα 4.4. και αφορούν στους μέσους όρους των παρατηρήσεων είτε για τα 15 αρχικά θηλυκά είτε για το σύνολο των ωών, προνυμφών, νυμφών ή τελείων που παρήχθησαν από τα συγκεκριμένα θηλυκά άτομα και μελετήθηκαν σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφεται στο σχετικό υποκεφάλαιο των υλικών και μεθόδων.

Τα μόνα στοιχεία που συμπεριλήφθησαν από άλλες παρατηρήσεις είναι το χρονικό διάστημα που μεσολαβεί από την έκδυση των τελείων θηλυκών μέχρι τη δυνατότητα λήψης του πρώτου γεύματος με αίμα (preovipositional stage). Το διάστημα αυτό υπολογίστηκε με

βάση τα στοιχεία από τη διαρκή εκτροφή του συγκεκριμένου είδους στο Εργαστήριο και διαπιστώθηκε ότι κυμαίνεται από 2,5 έως 6 ημέρες περίπου.

Το διάστημα από τη λήψη του πρώτου γεύματος με αίμα έως την εναπόθεση των πρώτων ωών (ovulation period) κυμάνθηκε από 3 έως 6 ημέρες με μέσο όρο $4,33 \pm 0,25$ (SE).

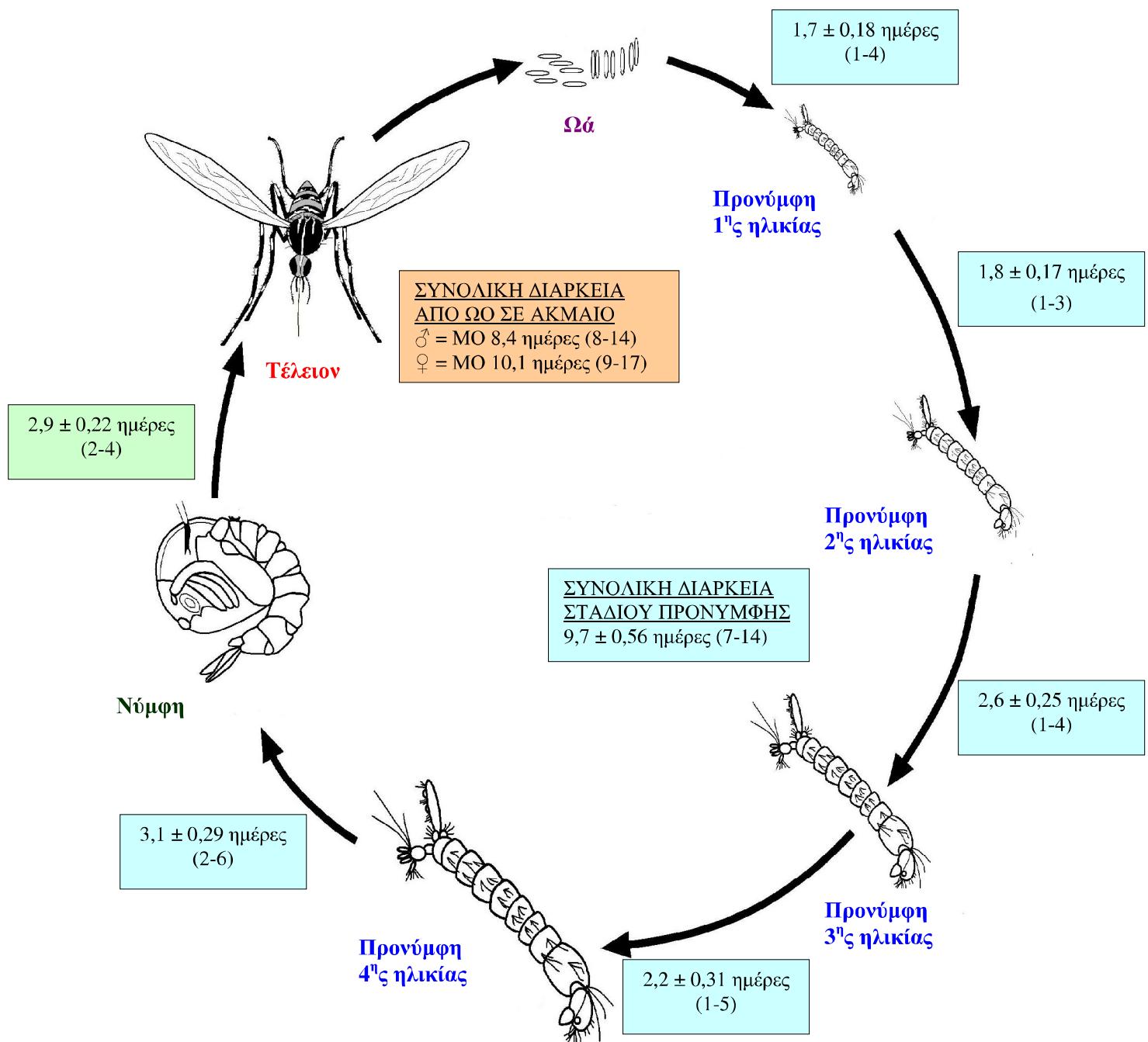
Με την εναπόθεση των πρώτων αυτών ωών περατώνεται και ο πρώτος γονοτροφικός κύκλος. Στη συνέχεια αρχίζει ο δεύτερος γονοτροφικός κύκλος που αντιστοιχεί στο διάστημα που μεσολαβεί από τον πρώτο κύκλο ωοτοκίας μέχρι την πραγματοποίηση του δεύτερου κύκλου ωοτοκίας ή της 2nd ωοτοκίας. Το διάστημα αυτό κυμάνθηκε από 4 έως 7 ημέρες με μέσο όρο $5,73 \pm 0,21$ (SE).

Αντίστοιχα ο 3rd γονοτροφικός κύκλος κυμάνθηκε από 4 έως 7 ημέρες με μέσο όρο $5,27 \pm 0,27$ (SE) και ο 4th γονοτροφικός κύκλος κυμάνθηκε από 5 έως 8 ημέρες με μέσο όρο $6,23 \pm 0,28$ (SE).

Με βάση τα αποτελέσματα των παρατηρήσεων προκύπτει ότι τα ωά άρχισαν να εκκολάπτονται από την πρώτη ημέρα μετά την ωοτοκία ενώ το μεγαλύτερο ποσοστό των εκκολάψεων παρατηρήθηκε τη δεύτερη ημέρα. Η διάρκεια της κάθε προνυμφικής ηλικίας ήταν 2 ημέρες περίπου για την πρώτη ηλικία, 2,5 ημέρες για τη δεύτερη ηλικία, λίγο περισσότερο από 2 ημέρες για την τρίτη ηλικία και 3 ημέρες για την τέταρτη ηλικία της προνύμφης. Ο χρόνος παραμονής στο νυμφικό στάδιο ήταν περίπου 3 ημέρες.

Ο συνολικός χρόνος που απαιτείται, υπό τις συγκεκριμένες συνθήκες, για την ανάπτυξη από το ωό έως την εμφάνιση των τελείων ήταν 8,4 ημέρες για τα αρσενικά άτομα και 10 ημέρες περίπου για τα θηλυκά.

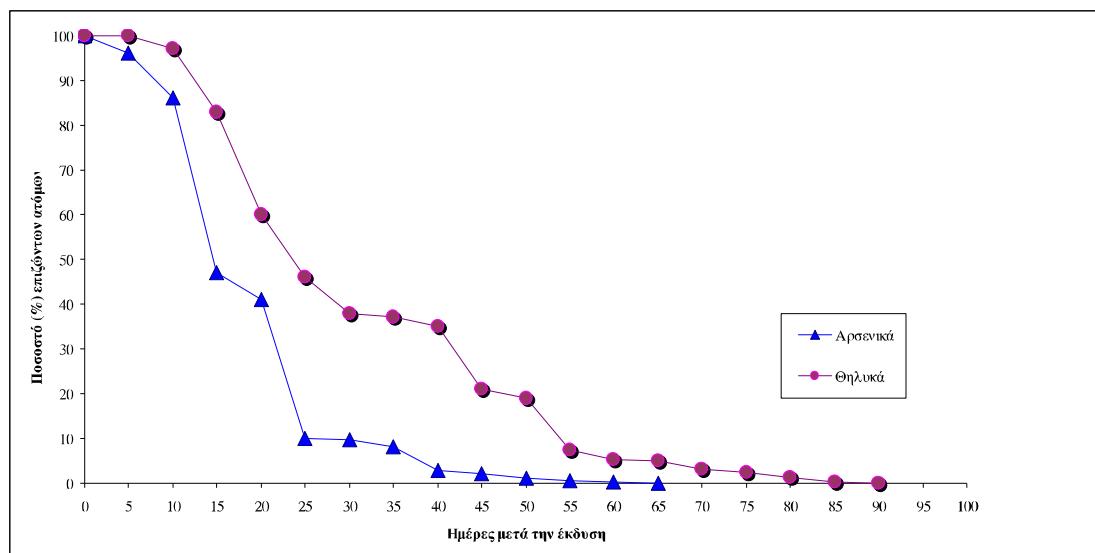
Με βάση τα παραπάνω στοιχεία μπορούμε να υπολογίσουμε, με σχετικά απλουστευμένες διαδικασίες, το μέσο χρόνο της κάθε γενεάς, υπό τις συγκεκριμένες βέβαια εργαστηριακές συνθήκες. Αυτός προκύπτει από το άθροισμα των ημερών που χρειάζεται να παραχθεί το τέλειο άτομο από το ωό (στην περίπτωσή μας 10,1 ημέρες) συν το διάστημα που μεσολαβεί από την έκδυση των τελείων θηλυκών μέχρι τη δυνατότητα λήψης του πρώτου γεύματος με αίμα (περίπου 4 ημέρες) συν το διάστημα από τη λήψη του πρώτου γεύματος με αίμα έως την εναπόθεση των πρώτων ωών (στην περίπτωσή μας 4,33 ημέρες). Σύμφωνα λοιπόν με τις παρατηρήσεις μας ο μέσος χρόνος συμπλήρωσης μιας γενεάς για το *Ae. cretinus* είναι 18,43 ημέρες.



Εικόνα 4.4. Χρονική διάρκεια κάθε σταδίου ανάπτυξης του *Ae. cretinus* σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης μας

4.3.2.4. Μακροβιότητα των τελείων

Εκτός από τις παραπάνω μετρήσεις ελήφθησαν παρατηρήσεις και για τη μακροβιότητα των τελείων. Τα αποτελέσματα για τα αρσενικά και θηλυκά άτομα ομαδοποιήθηκαν κατά πενθήμερα διαστήματα και παρουσιάζονται διαγραμματικά στην Εικόνα 4.5.



Εικόνα 4.5. Διαγραμματική απεικόνιση της μακροβιότητας των τελείων του *Aedes cretinus* σε συνθήκες εργαστηρίου.

Σύμφωνα με τις παρατηρήσεις μας, και για τις συγκεκριμένες συνθήκες διατήρησης των εντόμων, τα θηλυκά ζουν σημαντικά περισσότερο από τα αρσενικά. Το 90 % των αρσενικών τελείων είχαν πεθάνει ώρις την 25^η ημέρα από την εμφάνισή τους ενώ στα θηλυκά το ποσοστό των ζωντανών να πέφτει κάτω από το 10 % μόνο μετά από την 50^η ημέρα. Η μέγιστη διάρκεια ζωής που καταγράφηκε για αρσενικό άτομο *Ae. cretinus* ήταν 62 ημέρες ενώ η αντίστοιχη μέγιστη διάρκεια ζωής τελείου θηλυκού που καταγράφηκε ήταν 89 ημέρες.

4.4. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Αν και η μελέτη βασίστηκε σε μετρήσεις βιολογικών παραμέτρων στο Εργαστήριο και υπό ιδανικές συνθήκες περιβάλλοντος και φροντίδας, τα αποτελέσματα της δυναμικής των βιολογικών χαρακτηριστικών μπορούν να διαφανούν με αρκετή καθαρότητα. Ο λόγος που επιλέχτηκε η συγκεκριμένη προσέγγιση για τη μελέτη της βιολογίας του *Ae. cretinus* ήταν το γεγονός ότι για το συγκεκριμένο είδος έλειπαν σχεδόν παντελώς από τη διεθνή βιβλιογραφία, ακόμη και τα απλούστερα στοιχεία των βιολογικών χαρακτηριστικών. Σε αντίθετη περίπτωση, ο πειραματισμός στη φύση θα έδινε μάλλον ελλιπή ή αντικρουόμενα

αποτελέσματα καθώς ήταν ανέφικτο να ελεγχθούν οι συνθήκες που ενδεχομένως επηρεάζουν την ανάπτυξη και βιολογία του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού, όπως για παράδειγμα η επάρκεια τροφής στις εστίες ανάπτυξης των προνυμφών του, ο ανταγωνισμός μεταξύ των προνυμφών των διαφόρων ειδών κουνουπιών, ο συνωστισμός των προνυμφών στις εστίες ανάπτυξής τους ή οι κλιματικές συνθήκες που επικρατούν κάθε φορά.

Οι βιολογικοί παράμετροι που υπολογίστηκαν από τη συγκεκριμένη μελέτη η οποία πραγματοποιήθηκε υπό εργαστηριακές συνθήκες, θα πρέπει να θεωρηθούν ότι βρίσκονται πλησιέστερα στο μέγιστο δυναμικό του *Ae. cretinus* σχετικά με την αύξηση του πληθυσμού του είδους, που μπορεί να επιτευχθεί από κάθε γονιμοποιημένο και σε καλή κατάσταση θηλυκό.

Έτσι, σε θεωρητικό βέβαια επίπεδο, σύμφωνα με τα στοιχεία μας για το *Ae. cretinus*, κάθε θηλυκό που έχει καταφέρει να γονιμοποιηθεί και να λάβει γεύμα αίματος έχει τη δυνατότητα να γεννήσει έως 163,2 ωά, στις πρώτες 3 ωοτοκίες, από τα οποία θα μπορέσουν να παραχθούν τελικά 56,3 περίπου βιώσιμα θηλυκά άτομα, ικανά για να αναπαραχθούν. Καθένα από τα θηλυκά αυτά θα μπορεί, θεωρητικά πάλι, να δώσει με τη σειρά του 163,2 ωά (σε τρείς ωοτοκίες) με αποτέλεσμα να παραχθούν 9.139,2 ωά και στην επόμενη γενεά να εμφανιστούν 3.152,8 νέα θηλυκά. Φαίνεται λοιπόν ότι το συγκεκριμένο είδος έχει μάλλον υψηλή αναπαραγωγική ικανότητα και μπορεί εύκολα να δώσει υψηλούς πληθυσμούς κουνουπιών, εάν βρει τις κατάλληλες συνθήκες.

Εάν αναλογιστούμε επίσης ότι ο μέσος χρόνος της κάθε γενεάς που υπολογίστηκε από τη μελέτη μας είναι 18,5 περίπου ημέρες και το γεγονός ότι λόγω των θερμοκρασιών που παρατηρούνται στην Αττική κατά το διάστημα από τον Μάιο έως τον Σεπτέμβριο, μπορούμε εύκολα να υπολογίσουμε ότι το *Ae. cretinus* μπορεί να συμπληρώσει 9 ή και 10 γενεές κάθε χρόνο. Σε αυτό συνηγορούν και τα αποτελέσματα της μελέτης για την παρουσία του είδους στο Νομό Αττικής αφού η παρουσία του για όλο το διάστημα των θερμών μηνών ήταν σημαντική.

Η γρήγορη αύξηση των πληθυσμών του *Ae. cretinus* ειδικά αλλά και γενικότερα άλλων ειδών κουνουπιών είναι και ο κύριος λόγος που πολλές από τις προσπάθειες αντιμετώπισης κάποιου είδους κουνουπιού αποτυγχάνουν στην πράξη, αφού λίγα μόνο θηλυκά μπορούν να αναπληρώσουν σχετικά εύκολα τις όποιες απώλειες από τα μέτρα καταπολέμησης. Επίσης αυτός είναι και ο λόγος που τα προγράμματα αντιμετώπισης κουνουπιών, ιδίως όταν βασίζονται μόνο στην καταπολέμηση με βιοκτόνα, θα πρέπει να επαναλαμβάνονται κάθε χρόνο καθώς στην πράξη ποτέ δεν είναι δυνατό να εξαλειφθεί όλος ο πληθυσμός κάποιου είδους κουνουπιού από μια περιοχή. Η παραμικρή χαλαρότητα ή αστοχία στην εφαρμογή των προγραμμάτων έχει ως αποτέλεσμα την επιβίωση έστω και λίγων ατόμων τα οποία την επόμενη χρονιά θα μπορέσουν να δημιουργήσουν εύκολα υψηλούς πληθυσμούς κουνουπιών.

Σε σχέση με τα συγγενή είδη *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* δεν κατέστη δυνατή η συγκριτική μελέτη των βιολογικών τους χαρακτηριστικών, κατά την παρούσα εργασία καθώς τα συγκεκριμένα είδη δεν είχαν εντοπιστεί στη χώρα μας κατά τη χρονική στιγμή εκτέλεσης των πειραμάτων και ως εκ τούτου δεν υπήρχαν διαθέσιμα άτομα από το κάθε είδος.

Με βάση όμως τα στοιχεία από τη διεθνή βιβλιογραφία επιχειρείται μια προσπάθεια για τη συγκριση βασικών βιολογικών παραμέτρων. Οι μελέτες που χρησιμοποιήθηκαν για το

σκοπό αυτό και οι τιμές που παρουσιάζονται παρακάτω αντικατοπτρίζουν του μέσους όρους από πειραματικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο και υπό συνθήκες ίδιες ή παρόμοιες με τις συνθήκες πραγματοποίησης της παρούσας μελέτης.

Έτσι σχετικά με το αναπαραγωγικό δυναμικό των τριών ειδών, στον Πίνακα 4.1. καταγράφονται στοιχεία από τον αριθμό ωών ανά θηλυκό του κάθε είδους, από διάφορες σχετικές μελέτες.

Πίνακας 4.3. Μέσοι ώροι ωών ανά θηλυκό άτομο που καταμετρήθηκαν στο τέλος του κάθε γονοτροφικού κύκλου για τα είδη *Ae. cretinus*, *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti*.

Είδος κουνουπιού & βιβλιογραφική αναφορά	Μ.Ο. ωών ανά θηλυκό στο τέλος κάθε γονοτροφικού κύκλου			
	1 _{ος} κύκλος	2 _{ος} κύκλος	3 _{ος} κύκλος	4 _{ος} κύκλος
<i>Aedes cretinus</i> (στοιχεία παρούσας μελέτης)	52,1	62,4	48,7	43,1
<i>Aedes albopictus</i> (Soekiman <i>et al.</i> 1984) (Delatte <i>et al.</i> 2009) από άρθρο ανασκόπησης (Beng-Chuan <i>et al.</i> 1972) (Galliard 1958) (Matsuzawa and Kitahara 1966) (del Rosario 1963) (Gubler and Bhattacharya 1971)	57,5 68,6 30-50 80 46 (6-124) 58,9	70,9 74,3 53,7		
<i>Aedes aegypti</i> (Soekiman <i>et al.</i> 1984)	66,2			

Από τον παραπάνω πίνακα μπορούμε να διαπιστώσουμε ότι τουλάχιστον για το είδος *Ae. albopictus*, για το οποίο διαθέτουμε και τα περισσότερα δεδομένα, υπάρχει σημαντική διακύμανση του αριθμού ωών που έχει καταγραφεί από τους διάφορους ερευνητές, ανά θηλυκό κατά τον πρώτο κύκλο ωοτοκίας. Σύμφωνα με τις τιμές του πίνακα, φαίνεται ότι γενικά, το *Ae. cretinus* γεννά λιγότερα ωά σε σχέση με τα άλλα δύο είδη κουνουπιών, ανά κύκλο ωοτοκίας.

Από τον Πίνακα 4.2. προκύπτει ότι το ποσοστό των ωών του *Ae. cretinus* που δεν εκκολάφθηκε ήταν 10,17%. Το ποσοστό αυτό θεωρείται μάλλον μικρό αλλά είναι σχεδόν ίσο με το αντίστοιχο ποσοστό που κατέγραψε ο Chan (1971) για το *Ae. albopictus* και ήταν 9,9%.

Επομένως επιβεβαιώνεται και για το *Ae. cretinus* η παρατήρηση ότι γενικά τα ωά των *Aedes* spp. εμφανίζουν υψηλά ποσοστά εκκολαψιμότητας (Southwood *et al.* 1972).

Σύμφωνα με τον Hawley (1988), στο Εργαστήριο, ένα μόνο θηλυκό *Ae. albopictus* μπορεί να γεννήσει έως 950 ωά κατά τη διάρκεια της ζωής του ενώ ο μέσος όρος των ωών κατά τη διάρκεια της ζωής τους είναι 300-345 ωά. Κατά τη διάρκεια της μελέτης μας ο μέγιστος αριθμός ωών που καταγράφηκε από ένα θηλυκό *Ae. cretinus* κατά τη διάρκεια της ζωής του ήταν 334 ωά ενώ ο μέσος όρος ήταν 240,9 ωά.

Σχετικά με τη διάρκεια ανάπτυξης κάθε σταδίου, οι τιμές σε ημέρες, που έχουν καταγραφεί από διαφόρους ερευνητές, παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.4.

Πίνακας 4.4. Χρονικό διάστημα σε ημέρες που διαρκεί το κάθε στάδιο στην ανάπτυξη των τριών ειδών κουνουπιών που έχει καταγραφεί σε διάφορες μελέτες.

Είδος κουνουπιού & βιβλιογραφική αναφορά	Διάστημα έως την εκκόλαψη των ωών	Διάρκεια προνυμφ. σταδίου	Διάρκεια νυμφικού σταδίου	Διάρκεια προνυμφ. + νυμφικού σταδίου	Διάρκεια από ωά σε τέλειο
<i>Aedes cretinus</i> (στοιχεία παρούσας μελέτης)	1,7	9,7	3,1	12,8	♂ 8,4 ♀ 10,1
<i>Aedes albopictus</i> (Soekiman <i>et al.</i> 1984) (Delatte <i>et al.</i> 2009) (Kamimura <i>et al.</i> 2002) φυλή A φυλή B φυλή Γ	4,5	9,20 7,8 ♂ 7,33 ♀ 7,9 ♂ 7,5 ♀ 8,87 ♂ 7,84 ♀ 8,2	1,45 2,7 ♂ 2,67 ♀ 2,62 ♂ 3,12 ♀ 2,87 ♂ 2,47 ♀ 2,5	10,65 14,9 ♂ 10,0 ♀ 10,52 ♂ 10,62 ♀ 11,74 ♂ 10,31 ♀ 10,70	♂ 12,11 ♀ 12,9
από άρθρο ανασκόπησης (Hawley 1988) (Tseng and Wu 1951) (Hien 1975a) (del Rosario 1963) (Udaka 1959) (Hien 1975b)	2 4 3-4 8 9	7	1	9	
από άρθρο ανασκόπησης (Beng-Chuan <i>et al.</i> 1972) (Tseng and Wu 1951) (Ishii <i>et al.</i> 1954)	2 1-2	8 2-3	2 2-3	10 8-14	12-13

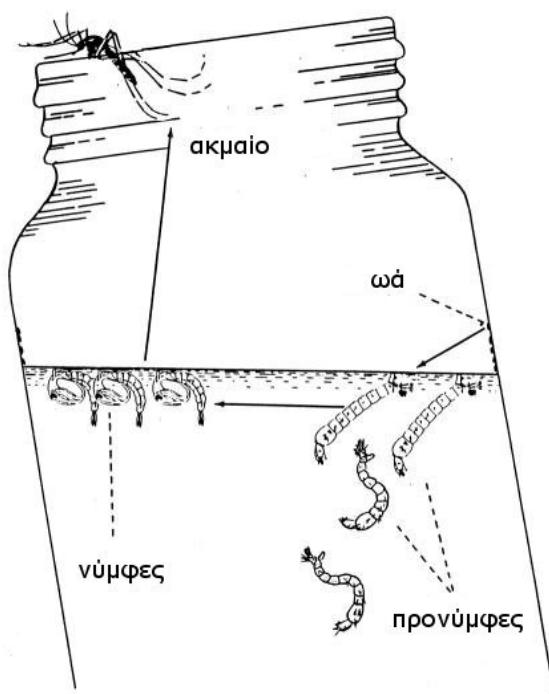
(Halcrow 1955)			2-3		8,5-14
(del Rosario 1963)	5	7	2,5	9,5	14
από άρθρο ανασκόπησης (Estrada and Craig 1995)					
(Galliard and Golvan 1957)					10
(Hien 1975b)	3	9			14
(Xavier <i>et al.</i> 1991)		4-9			
(Sheng and Wu 1951)	2				
(Matsuzawa and Kitahara 1966)					13,7
<i>Aedes aegypti</i>					
(Soekiman <i>et al.</i> 1984)		7,62	1,63	9,25	♂ 10,86 ♀ 10,91
(Kamimura <i>et al.</i> 2002) φυλή A		♂ 8,03 ♀ 7,95	♂ 2,2 ♀ 2,43	♂ 10,23 ♀ 10,38	
φυλή B		♂ 7,82 ♀ 8,36	♂ 2,36 ♀ 2,41	♂ 10,18 ♀ 10,77	
φυλή Γ		♂ 9,0 ♀ 9,5	♂ 2,56 ♀ 2,31	♂ 11,56 ♀ 11,81	

Σχετικά με τα στοιχεία της βιβλιογραφίας που παρουσιάζονται στον παραπάνω πίνακα θα πρέπει να επισημανθεί ότι οι τιμές που δίνονται για το διάστημα που μεσολαβεί από την γέννηση των ωών έως την εκκόλαψή τους, δεν είναι εύκολα συγκρίσιμες. Αυτό συμβαίνει γιατί οι διάφοροι ερευνητές έχουν υπολογίσει το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα εφαρμόζοντας διαφορετικούς χειρισμούς των ωών, όπως για παράδειγμα τη μερική ξήρανση των ωών πριν την εμβάπτισή τους σε νερό προκειμένου αυτά να εκκολαφθούν.

Από τα υπόλοιπα στοιχεία όμως, και κυρίως τις τιμές για τη διάρκεια ανάπτυξης της προνύμφης και νύμφης του κάθε είδους, το *Ae. cretinus* εμφανίζει σε όλες τις περιπτώσεις μεγαλύτερους χρόνους ανάπτυξης, που σημαίνει με απλά λόγια ότι η παρουσία νερού στην εστία και οι κατάλληλες συνθήκες ανάπτυξης θα πρέπει να διατηρούνται 1-3 ημέρες περισσότερο από τα υπόλοιπα δύο είδη. Όπως είναι φυσικό, αυτό του προσδίνει ένα συγκριτικό μειονέκτημα σε περίπτωση που θα χρειαστεί να μοιραστεί τον ίδιο βιοχώρο ανάπτυξης προνυμφών (εστίες νερού) με τα είδη *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* και λαμβάνουν χώρα φαινόμενα ανταγωνισμού μεταξύ των ειδών αυτών.

4.4.1. Σύνοψη των αποτελεσμάτων περί της βιολογίας του *Ae. cretinus*

Εάν συνοψίσουμε τα στοιχεία από τη μελέτη των παραπάνω βιολογικών χαρακτηριστικών του *Ae. cretinus* στο Εργαστήριο και τα συμπληρώσουμε με άλλες παρατηρήσεις μας από την εκτροφή του είδους στο Εργαστήριο καθώς και παρατηρήσεις μας από τη μελέτη του είδους στο πεδίο, μπορούμε να περιγράψουμε τη βιολογία του είδους αυτού ως εξής:



Εικόνα 4.6. Σχηματική αναπαράσταση των σταδίων ανάπτυξης του *Ae. cretinus* σε μια τυπική εστία ανάπτυξης των προνυμφών του.

Τα ωά του *Ae. cretinus* προσκολλώνται στα τοιχώματα εστιών μικρών συγκεντρώσεων νερού ή σε στέρεα υλικά που επιπλέουν ή απλώς υπάρχουν στις εστίες αυτές. Η εκκόλαψη των ωών πραγματοποιείται εντός 1,5-2 ημερών (σε θερμοκρασίες γύρω στους 25 °C) και η ανάπτυξη της προνύμφης διαρκεί περίπου 10 ημέρες. Από τις νύμφες που θα παραχθούν θα εκδυθούν τα τέλεια εντός 3 ημερών περίπου.

Τα αρσενικά γενικά εξέρχονται πρώτα ενώ τα θηλυκά ακολουθούν με καθυστέρηση 1-2 ημερών.

Τα τέλεια του είδους *Ae. cretinus*, όταν εξέλθουν από το περίβλημα της νύμφης, είναι σχεδόν αμέσως έτοιμα για πτήση. Στη συνέχεια ακολουθούν οι συζεύξεις των φύλων οι οποίες πραγματοποιούνται εντός των πρώτων ωρών από την εμφάνιση των τελείων. Τα

θηλυκά άτομα θα πρέπει να λάβουν τουλάχιστον ένα γεύμα αίματος πριν ωοτοκήσουν. Για να είναι ικανά να λάβουν το πρώτο γεύμα αίματος θα πρέπει να περάσει ένα διάστημα 2,5-6 περίπου ημερών ενώ από τη στιγμή που θα τραφούν με αίμα θα χρειαστούν 4-5 ακόμη ημέρες πριν γεννήσουν τα πρώτα ωά.

Ο αριθμός των ωών της πρώτης ωοτοκίας είναι περίπου 56 ωά ανά γόνιμο θηλυκό.

Μετά την πρώτη ωοτοκία είναι δυνατό να ακολουθήσουν και άλλοι γονοτροφικοί κύκλοι (έως 7) εφόσον βέβαια εξασφαλίζεται και διαθεσιμότητα αίματος. Η δεύτερη ωοτοκία συνήθως γίνεται 4-7 ημέρες μετά την πρώτη και ο αριθμός των ωών που γεννώνται είναι περίπου ίδιος ή ελαφρά αυξημένος σε σχέση με την πρώτη ωοτοκία. Ο αριθμός των ωών ανά ωοτοκία πέφτει αισθητά μετά τον τέταρτο γονοτροφικό κύκλο.

Στη φύση, η αναζήτηση αίματος από τα θηλυκά γίνεται κατά τη διάρκεια της ημέρας και κυρίως τις απογευματινές ώρες ή το σούρουπο. Είναι επιθετικά και εντόνως ανθρωπόφιλα. Τα θηλυκά πετούν σχετικά κοντά στο έδαφος και προτιμούν να νύσσουν τους ανθρώπους στα γυμνά μέρη των ποδιών. Μπορούν όμως εύκολα να νύξουν και σε άλλα σημεία του σώματος ενώ έχουν καταγραφεί περιπτώσεις που επισκέπτονται βεράντες σε υψηλούς ορόφους πολυκατοικιών. Δεν μπαίνουν εύκολα στα σπίτια για αναζήτηση ξενιστή αλλά εάν χρειαστεί μπορούν να το κάνουν. Επίσης δεν αναπαύονται εύκολα στο εσωτερικό οικιών.

Τρέφεται με ευκολία τόσο από πτηνά (στο Εργαστήριο έχουν δοκιμαστεί κοτόπουλα και ορτύκια) αλλά και από θηλαστικά και φυσικά από άνθρωπο. Πολλές φορές η αντίδραση εναισθησίας στο δέρμα των θυμάτων είναι έντονη προκαλώντας κοκκινίλες ή και εξανθήματα. Τα ευαίσθητα άτομα (μικρά παιδιά) και κυρίως όσοι δεν εθιστεί στα νύγματά τους μπορεί να παρουσιάσουν εξαιρετικά έντονα συμπτώματα που να χρειαστούν ακόμη και ιατρική φροντίδα (προσωπικές παρατηρήσεις).

Η διάρκεια ζωής των τελείων είναι περίπου 25 ημέρες για τα αρσενικά και διπλάσια σχεδόν για τα θηλυκά. Σε συνθήκες εργαστηρίου μπορούν να εμφανίσουν σημαντική μακροβιότητα που φτάνει στους 2 μήνες για τα αρσενικά και στους 3 μήνες για τα θηλυκά. Βέβαια, υπενθυμίζεται ότι τα εργαστηριακά πειράματα που αφορούν στη μακροβιότητα των τελείων, δίνουν πληροφορίες σχετικές με τις φυσιολογικές αντοχές του είδους αλλά απεικονίζουν μόνο μια γενική εικόνα για τη μέγιστη χρονική διάρκεια που ένα τέλειον αναμένεται να επιζήσει στη φύση (Hawley 1988).

Με βάση τη μελέτη του είδους στο πεδίο, εκτιμάται ότι για τις συνθήκες του Νομού Αττικής, το είδος αυτό διαχειμάζει στο στάδιο του ωού. Τα ωά μπορούν να αντέξουν σημαντικό βαθμό αφυδάτωσης.

«Εφαρμοσμένη έρευνα δεν μπορεί να υπάρχει σε κενό βασικής έρευνας»

Κων/νος Στεφανής, Καθηγητής
Πρόεδρος Ακαδημίας Αθηνών
(Στεφανής 2006)

Κεφάλαιο 5. Συμβολή στη συστηματική του *Aedes cretinus*

5.1. Εισαγωγή

Όπως έχει ήδη αναφερθεί διεξοδικά στα Κεφάλαια 1.1. και 2.2., όλοι οι ειδικοί στη συστηματική των κουνουπιών που έχουν ασχοληθεί με το είδος *Ae. cretinus*, έχουν καταλήξει στη μεγάλη συγγένεια του είδους αυτού με τα είδη *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* (Edwards 1921, 1932, Knight and Hurlbut 1949, Taafe Gaunt 1997, Reinert *et al.* 2004). Επιπλέον, η φυλογενετική αυτή συγγένεια συνοδεύεται και από μεγάλη μορφολογική ομοιότητα, κυρίως μεταξύ των ειδών *Ae. cretinus* και *Ae. albopictus* αλλά και σε μεγάλο βαθμό και του *Ae. aegypti*. Η δυσκολία στην αναγνώριση και τη διάκριση των τριών αυτών ειδών έχει απασχολήσει επανηλημένως πολλούς ειδικούς συστηματικούς ιδίως στην προσπάθειά τους να καταρτίσουν κλείδες προσδιορισμού που να περιλαμβάνουν τα σχετικά είδη (Edwards 1921, Darsie Jr and Samanidou-Voyadjoglou 1997, Darsie Jr 1999, Samanidou-Voyadjoglou and Harbach 2001, Becker *et al.* 2003). Σύμφωνα με αυτούς τους επιστήμονες τα κυριότερα μορφολογικά χαρακτηριστικά βάσει των οποίων μπορεί να διακριθούν τα είδη αυτά, από τα υπόλοιπα κουνούπια αλλά και μεταξύ τους, είναι τα ακόλουθα:

Τέλεια έντομα

Τα τρία είδη ξεχωρίζουν από τα υπόλοιπα κουνούπια κυρίως από τα σχέδια των λεπίων σε διάφορα μέρη του σώματος και κυρίως στο μεσόνωτο (scutum). Συγκεκριμένα όλα διαθέτουν:

- ανοιχτόχρωμα λέπια (scales) στο θώρακα και αργυρόχρωμα-λευκά λέπια στην κοιλία.
- έχουν πλατείς λευκούς δακτυλίους στη βάση των ταρσομερών των οπίσθιων ποδιών,
- έχουν ανοιχτόχρωμες πλήρεις (χωρίς χαραγή) λωρίδες, στα κοιλιακά τους τμήματα (terga).



mccann

Εικόνα 5.1. Τέλειον θηλυκό κουνούπι του είδους *Ae. albopictus* με τα χαρακτηριστικά αργυρόχρωμα λευκά σχέδια, στο σώμα και τα πόδια.

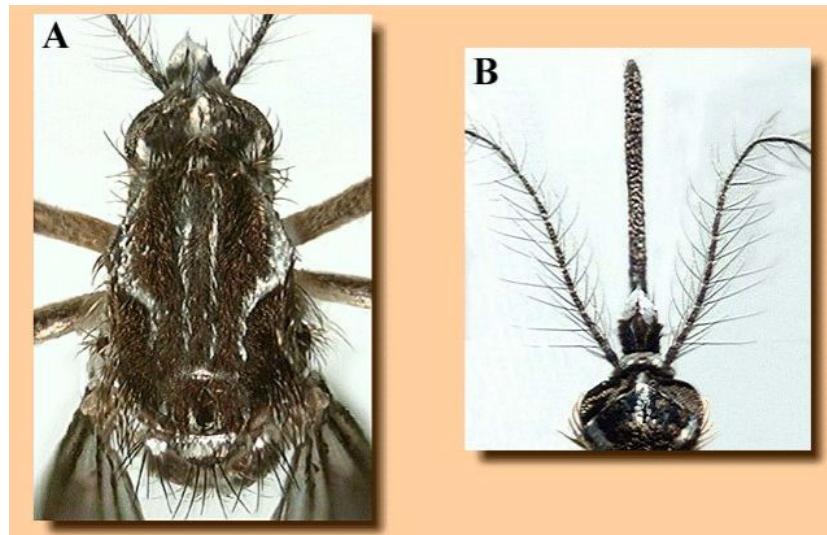


Εικόνα 5.2. Τέλειον θηλυκό κουνούπι του είδους *Ae. aegypti* με το χαρακτηριστικό σχέδιο του θώρακα.

Το *Ae. aegypti* ξεχωρίζει από τα άλλα δύο συγγενή είδη γιατί:

- φέρει στο επιθωράκιο ένα πολύ χαρακτηριστικό σχέδιο «λύρας» από λευκά λέπια ενώ τα *Ae. cretinus* και *Ae. albopictus* έχουν λευκή διαμήκη γραμμή που διατρέχει το επιθωράκιο στο μέσον του.

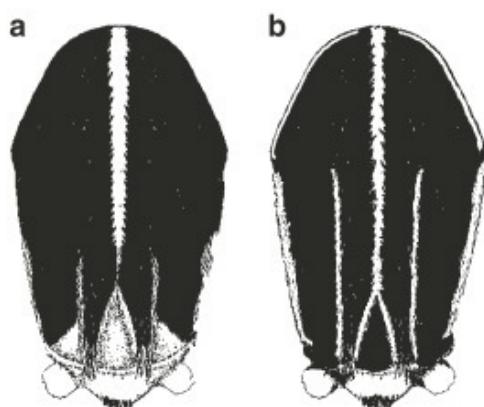
B. έχει λευκά λέπια (scales) πλευρικά του επιστομίου (clypeus) ενώ τα *Ae. cretinus* και *Ae. albopictus* έχουν επιστόμιο γυμνό από λέπια.



Εικόνα 5.3. Οι χαρακτήρες στο θώρακα (σχέδιο λύρας) και την κεφαλή (λευκό επιστόμιο) που διακρίνουν το είδος *Ae. aegypti* από τα *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*.

Τα τέλεια των *Ae. cretinus* και *Ae. albopictus* διακρίνονται μεταξύ τους από τα εξής χαρακτηριστικά:

- Το *Ae. cretinus* φέρει στο επιθωράκιο εκτός από την κεντρική γραμμή και δύο ακόμη ευδιάκριτες στενές γραμμές από ανοιχτόχρωμα λέπια (scales) που φθάνουν μέχρι το μισό μήκος της κεντρικής γραμμής.
- Στο *Ae. albopictus* η κεντρική γραμμή είναι ευδιάκριτη αλλά οι πλευρικές είναι μικρές και δυσδιάκριτες.



Εικόνα 5.4. Επιθωράκιο του *Ae. albopictus* (a) και *Ae. cretinus* (b) με τις χαρακτηριστικές για το κάθε είδος λευκές γραμμές.

Στην πλευρική όψη του θώρακα, το *Ae. albopictus* έχει διακεκομμένα λευκά σχέδια ενώ τα λευκά λέπια στο *Ae. cretinus* δημιουργούν σχέδια που μοιάζουν με συνεχόμενη γραμμή.



Εικόνα 5.5. Πλευρική όψη θώρακα του *Ae. albopictus* (αριστερά) και *Ae. cretinus* (δεξιά).

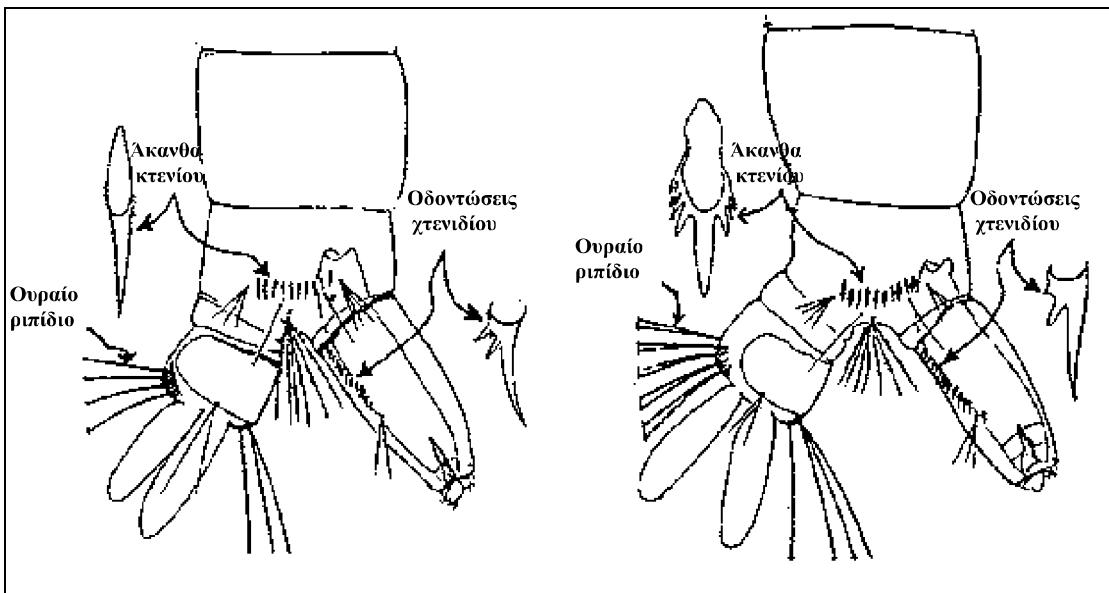
Επίσης τα τέλεια άτομα του *Ae. cretinus* έχουν λέπια στο μετάμερο (metameron) ενώ η αντίστοιχη περιοχή στο *Ae. albopictus* είναι γυμνή.

Τέλος, ένα σημαντικό διαγνωστικό χαρακτηριστικό είναι ότι τα *Ae. aegypti* και *Ae. cretinus* φέρουν όνυχες με οδόντα στη βάση τους, στα μπροστινά και μεσαία πόδια των θηλυκών τους ενώ έχουν απλούς όνυχες μόνο στα οπίσθια πόδια. Αντιθέτως το *Ae. albopictus* φέρει απλούς όνυχες σε όλα τα πόδια.

Προνύμφες 4^{ης} ηλικίας

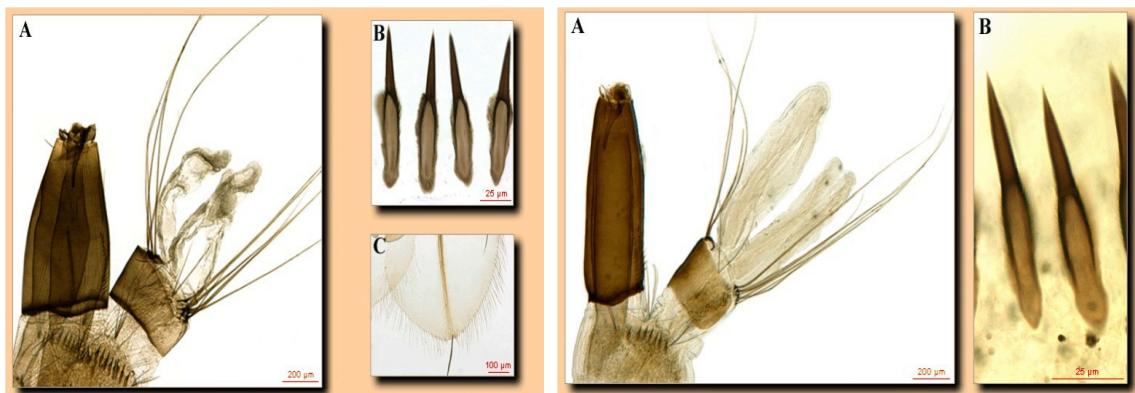
Στις προνύμφες 4^{ης} ηλικίας και τα τρία είδη έχουν τη σμήριγγα 1-A μονήρη, με κεραία χωρίς ακίδες. Η σμήριγγα 4,6-C είναι τοποθετημένη αρκετά μπροστά στην κεφαλική κάψα. Επίσης στο σιφώνιο δεν φέρουν ακίδα.

Το *Ae. aegypti* διαφέρει από τα άλλα δυο είδη στο ότι άκανθες του κτενίου (comb scales) έχουν μεγάλες ακίδες στη μέση ενώ υπάρχει προεξέχουσα ακίδα και στη σμήριγγα 9-12-T.



Εικόνα 5.6. Μορφολογικοί χαρακτήρες της προνύμφης που διακρίνουν το είδος *Ae. aegypti* (δεξιά) από τα *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* (αριστερά).

Τα *Ae. cretinus* και *Ae. albopictus* έχουν ασθενείς πλευρικές ακίδες στις άκανθες του κτενίου ενώ όλες οι σμήριγγες 4-X είναι μονήρεις στο *Ae. albopictus*. Αντιθέτως είναι διακλαδωμένοι στο *Ae. cretinus* (Darsie Jr and Samanidou-Voyadjoglou 1997).



Εικόνα 5.7. Σιφώνια και άκανθες κτενίων προνυμφών του *Ae. albopictus* (αριστερά) και *Ae. cretinus* (δεξιά).

Όπως προκύπτει από τα παραπάνω, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά τα οποία επιτρέπουν την αναγνώριση των τριών αυτών ειδών σε σχέση με τα υπόλοιπα είδη κουνουπιών αλλά κυρίως τη διάκριση το διαχωρισμό μεταξύ τους, είναι σχετικά λίγα και απαιτούν δείγματα καλά συντηρημένα και σε μεγάλο βαθμό ακέραια ενώ το προσωπικό που θα ασχοληθεί με την αναγνώριση θα πρέπει να διαθέτει αρκετά μεγάλη εμπειρία. Στην πράξη

όμως δεν είναι πάντα εύκολη η προμήθεια ικανού αριθμού δειγμάτων σε καλή κατάσταση ενώ σπανίζει και η ύπαρξη ειδικευμένου στην αναγνώριση προσωπικού που θα μπορούσε να συμμετέχει στα προγράμματα παρακολούθησης πληθυσμών κουνουπιών (monitoring).

Επιπλέον, το πρόβλημα της διάκρισης των ειδών αυτών γίνεται μεγαλύτερο καθώς και τα τρία είδη έχουν παρόμοια οικολογικά και ηθολογικά χαρακτηριστικά, αφού όπως έχει ήδη αναφερθεί οι προνύμφες τους αναπτύσσονται σε μικρές συγκεντρώσεις νερού (ανθρωπογενείς ή φυσικές), είναι ανθρωπόφιλα και νύσσουν με ευκολία ακόμη και την ημέρα.

Επομένως, λαμβάνοντας υπόψη και τη μεγάλη υγειονομική τους σημασία, γίνεται φανερό ότι υπάρχει μεγάλη ανάγκη εξεύρεσης και άλλων μεθόδων ταυτοποίησης και διάκρισης των παραπάνω ειδών κουνουπιών, που θα επιτρέπουν τη γρήγορη αλλά και ασφαλή αναγνώρισή τους, σε όλα τα στάδια του βιολογικού τους κύκλου.

Μια πρώτη προσέγγιση στο θέμα έγινε με την ανάπτυξη ανοσοενζυμικής μεθόδου από τους Taafe Gaunt *et al.* (2004). Συγκεκριμένα εντοπίστηκαν συγκεκριμένα ένζυμα και προσδιορίστηκαν οι τοποθεσίες τους (enzyme loci) βάσει των οποίων είναι δυνατός ο διαχωρισμός των ειδών *Ae. cretinus*, *Ae. albopictus* καθώς και ενός ακόμη συγγενούς είδους του *Aedes (Stegomyia) flavopictus* που απαντάται όμως μόνο στην νοτιοανατολική Ασία. Δυστυχώς η μέθοδος αυτή επιτρέπει μεν τον διαχωρισμό των τέλειων του κάθε είδους αλλά αποδείχθηκε αναξιόπιστη για το διαχωρισμό των ατελών σταδίων των ειδών αυτών.

Στην παρούσα εργασία αναπτύχθηκε μια νέα μέθοδος ταυτοποίησης των τριών ειδών βασιζόμενη σε μοριακές τεχνικές ώστε να είναι δυνατή η ταχεία και ταυτόχρονα ασφαλής αναγνώριση του είδους *Ae. cretinus* (καθώς και των δύο συγγενών ειδών) σε οποιοδήποτε στάδιο ανάπτυξής τους, η οποία θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε προγράμματα παρακολούθησης και ελέγχου των κουνουπιών.

Για το λόγο αυτό απομονώθηκε ολικό γενωματικό DNA με στόχο την ενίσχυση της ενδοριβοσωμικής περιοχής 2 (ITS2). Ακολούθησαν οι κατάλληλες μοριακές τεχνικές και για τα τρία Ελληνικά δείγματα που μελετήθηκαν με σκοπό την ανάλυση της νουκλεοτιδικής ακολουθίας του. Τα αποτελέσματα της αλληλούχησης των τμημάτων αυτών συγκρίθηκαν με τις αντίστοιχες περιοχές των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* που είναι διαθέσιμες στην ηλεκτρονική τράπεζα γονιδίων (GenBank). Η σύγκριση των τριών αυτών σημαντικών ειδών-φορέων είχε ως αποτέλεσμα την υπόδειξη ενός γρήγορου, μοριακού τρόπου ταυτοποίησης βασισμένου στην απομόνωση του DNA των υπό εξέταση δειγμάτων και τη χρήση της μεθόδου ανάλυσης του Πολυμορφισμού Μήκους των Θραυσμάτων DNA μετά από πέψη με Περιοριστικά ένζυμα (RFLPs), διευκολύνοντας την ταυτοποίηση και το διαχωρισμό τους σε μελλοντικά προγράμματα ταυτοποίησης και παρακολούθησης φορέων στην Νότια Ευρώπη.

Επίσης πραγματοποιήθηκε και η πρώτη διεθνώς περιγραφή του ωού του *Ae. cretinus*, με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου.

5.2. Ταυτοποίηση του *Ae. cretinus* με μοριακές τεχνικές

5.2.1. Τι είναι η ενδοριβοσωμική περιοχή του DNA και η σημασία της

Τα ριβοσώματα είναι οι μοριακές μηχανές οι οποίες συντονίζουν τη δράση μεταξύ του μεταφορικού RNA (tRNA), του αγγελιοφόρου RNA (mRNA) και των πρωτεΐνων κατά την πολύπλοκη διεργασία της σύνθεσης των πρωτεΐνων.

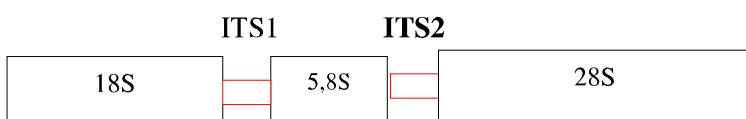
Το ριβόσωμα των προκαρυωτικών οργανισμών είναι ένα σωμάτιο ριβονουκλεο-πρωτεΐνης με συντελεστή καταβύθισης 70S. Το σωμάτιο αυτό μπορεί να διαχωριστεί σε μία μεγάλη υπομονάδα 50S και σε μία μικρή υπομονάδα 30S. Αυτές οι υπομονάδες μπορούν να χωριστούν περαιτέρω στα συστατικά τους μόρια πρωτεΐνων και RNA. Η υπομονάδα 30S περιέχει ένα μόριο 16S ριβοσωμικού RNA (rRNA) και 21 διαφορετικές πρωτεΐνες. Η υπομονάδα 50S περιέχει δύο μόρια RNA, ένα 23S και ένα 5S και 34 διαφορετικές πρωτεΐνες. Τα περίπου είκοσι χιλιάδες ριβοσώματα ενός βακτηριακού κυττάρου αποτελούν σχεδόν το ένα τέταρτο της συνολικής του μάζας.

Το rRNA οπερόνιο μεταγράφεται σε ένα μεταγράφημα προ-rRNA (pre-rRNA) το οποίο περιέχει τα ακόλουθα συστατικά με κατεύθυνση 5' προς 3' ως εξής: 16S, διάστημα, tRNA, διάστημα, 23S, διάστημα, 5S rRNA (Stryer 1995).

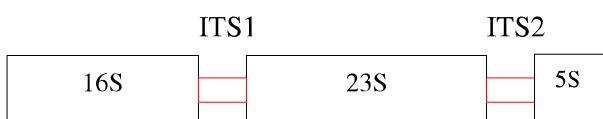
Το οπερόνιο υπάρχει στο γένωμα των προκαρυωτικών οργανισμών σε ένα ή περισσότερα αντίγραφα πχ το *Escherichia coli* έχει επτά αντίγραφα.

Αντιθέτως, στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς υπάρχουν πλήθος rRNA γονιδίων πχ στον άνθρωπο 300–400 rDNA. Το 18S rRNA στους περισσότερους ευκαρυωτικούς οργανισμούς εδράζει στην μικρή υπομονάδα του ριβοσώματος και τα τρία rRNA(the 5S, 5.8S and 28S rRNAs) εμπεριέχονται στην μεγάλη υπομονάδα. Όλα αυτά μεταγράφονται από την RNA πολυμεράση I.

Ευκαρυωτικό κύτταρο



Προκαρυωτικό κύτταρο



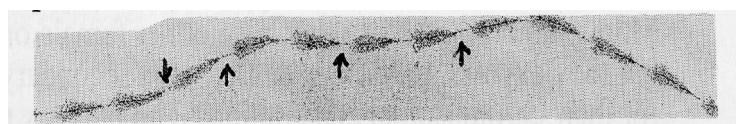
: ITS Ενδοριβοσωμική περοχή

Η μεταγραφή του οπερονίου έχει ως αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός μεταγραφήματος προ-rRNA το οποίο διασπάται σε διαφορετικά rRNA και tRNA μόρια.

Τα τρία μόρια 5,8S, 18S και 28S, είναι πολύ κρίσιμα για την αρχιτεκτονική και λειτουργία των ριβοσωμάτων, διαδραματίζοντας σημαντικό ρόλο στην οργάνωση της δομής τους, παρέχοντας σκαλωσιές για τη σωστή τοποθέτηση και διάταξη των ριβοσωμικών πρωτεΐνων. Ένα χαρακτηριστικό αυτών των μορίων rRNA είναι η αναδίπλωσή τους σε καθορισμένες δομές που περιέχουν πολλές μικρές δίκλωνες περιοχές. Το προφίλ των ζευγών βάσεων στα μόρια αυτά έχει προσδιοριστεί με τη διεξαγωγή πειραμάτων χημικών τροποποιήσεων και πέψεων, καθώς και με σύγκριση των νουκλεοτιδικών αλληλουχιών πολλών ειδών ριβοσωμάτων προκειμένου να ανιχνευθούν χαρακτηριστικά που έχουν διατηρηθεί σταθερά.

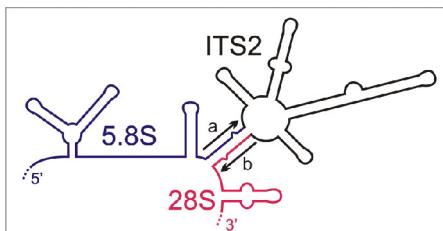
Τα γονίδια rRNA είναι απαραίτητα και ουσιώδη για την επιβίωση όλων των οργανισμών και είναι πολύ συντηρημένα στους προκαρυωτικούς και ευκαριωτικούς οργανισμούς. Συνεπώς, ο χαρακτηρισμός των 16S και 18S rRNA γονιδίων έχει πλέον εδραιωθεί ως πρότυπη μέθοδος προσδιορισμού ειδών, γενών και οικογενειών προκαρυωτικών και ευκαρυωτικών οργανισμών. Αυτό εκφράζεται στην ύπαρξη πολλών πληροφοριών οι οποίες έχουν συγκεντρωθεί στην φυλογενετική ανάλυση των οργανισμών, με τη χρήση αυτού του γονιδίου (Olsen *et al.* 1991). Εν αντιθέσει, συγκριτικά λίγοι προσδιορισμοί νουκλεοτιδικών αλληλουχιών του 28S rRNA έχουν αναφερθεί και το συγκεκριμένο γονίδιο καθώς και το 5,8S δεν έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για φυλογενετικούς σκοπούς. Οι πληροφορίες που αφορούν στον προσδιορισμό των νουκλεοτιδικών αλληλουχιών της ενδοριβοσωμικής περιοχής έχουν γίνει επίσης διαθέσιμες και υποδηλώνουν ότι μπορεί να εμφανίζεται σημαντική διαφοροποίηση μεταξύ των ειδών στο μέγεθος αλλά και στην ακολουθία βάσεων της περιοχής αυτής. Συστηματικές μελέτες της διαφοροποίησης της ενδοριβοσωμικής περιοχής απαιτούν την ενίσχυσή της με τη χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης (PCR) και ως εκ τούτου τη διαθεσιμότητα των συντηρημένων περιοχών στα παράπλευρα γονίδια rRNA, για να χρησιμοποιηθούν στην αναγνώριση των σωστών εκκινητών.

Οι διάκενες αυτές περιοχές (spacer regions) παρουσιάζουν υψηλό βαθμό διαφοροποίησης τόσο στη νουκλεοτιδική τους αλληλουχία, όσο και στο μέγεθος, μεταξύ των ειδών και γενών.



Εικόνα 5.8. Ενδοριβοσωμικές περιοχές (Intergenic Spacers, IGS) ονομάζονται οι ακολουθίες μεταξύ των rRNA γονιδίων, οι οποίες εμφανίζουν πολύ μικρά μεταγραφήματα (ομοιάζουν με μικρά φτερά) αλλά μπορούν να συμβάλλουν στην έναρξη της μεταγραφής του DNA πριν την έναρξη της εμβρυακής μεταγραφής.

Η αξιόπιστη διερεύνηση των περιοχών αυτών καθίσταται δυνατή με τη σωστή αξιοποίηση της τράπεζας πληροφοριών η οποία είναι διαθέσιμη για αυτά τα γονίδια rRNA. Η ανάλυση του ITS2 αποτελεί ένα σημαντικό φυλογενετικό δείκτη. Στο παρελθόν έχει χρησιμοποιηθεί πολύ για την ταξινόμηση των ειδών. Επί του παρόντος, η ευρεία εφαρμογή του είναι προφανής. Αυτή τη στιγμή υπάρχουν διαθέσιμα στη διεθνή βάση δεδομένων 270.000 rRNA αλληλουχίες ITS2 (<http://its2.bioapps.biozentrum.uni-wuerzburg.de>) (Koetschan *et al.* 2010). Η βάση δεδομένων αυτή είναι εξειδικευμένη για τον προσδιορισμό πλήρους μεγέθους και 50.000 τμημάτων ITS2 περιοχών.



Εικόνα 5.9. Δευτεροταγής δομή της ενδοροβισωμικής περιοχής 2 (ITS2) με τα τμήματα της ουράς 28S και 5,8S rRNA. Το τμήμα ITS2 οριοθετεί την περιοχή που οριοθετούν: το τέλος του 5,8S και η αρχή του 28S, που δεικνύεται με τα βέλη (a και b, αντιστοίχως). Τα τμήματα αυτά νιβριδίζουν κατά τη διάρκεια της δημιουργίας του RNA.

5.2.2. Υλικά και Μέθοδοι

5.2.2.1. Δειγματοληψία και συντήρηση δειγμάτων

Ωά του *Ae. cretinus* συλλέχθηκαν από παγίδες ωοτοκίας οι οποίες είχαν τοποθετηθεί στην περιβάλλουσα περιοχή του Μ.Φ.Ι. στην Κηφισιά, το Σεπτέμβριο του 2001.

Τα ωά που συλλέχθηκαν διατηρήθηκαν στο εντομοτροφείο μέχρι την εκκόλαψη τους και την εμφάνιση των προνύμφων. Οι προνύμφες που παρήγθησαν αναπτύχθηκαν με ατομικές εκτροφές έως του σταδίου του τελείου ενώ τα εκδύματα της κάθε προνύμφης και της αντίστοιχης νύμφης (exuviae) διατηρήθηκαν ως αποδεικτικά στοιχεία για την ταυτότητα των τέλειων εντόμων που χρησιμοποιήθηκαν για την απομόνωση χρωμοσωματικού DNA. Τα δείγματα που χρησιμοποιήθηκαν για το σκοπό αυτό ήταν τα GR3-7 (2064), GR3-16 (2068) και GR3-20 (2069). Στις παρενθέσεις αναφέρεται ο (μοναδικός) κωδικός αριθμός με τον οποίο το κάθε ξεχωριστό DNA υπάρχει διαθέσιμο στην τράπεζα DNA κουνουπιών (Mosquito DNA bank) του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας του Λονδίνου (The Natural History Museum, London), όπου επίσης φυλάγονται και τα συγκεκριμένα εκδύματα των προνυμφών και νυμφών.

Σε πολλές περιπτώσεις, κρίθηκε αναγκαίο να διατηρηθούν και τέλεια θηλυκά κουνουόπια που είχαν τραφεί με αίμα με σκοπό την «ατομική εκτροφή απογόνων» (progeny

rearings). Οι εκτροφές αυτές όταν πρόκειται για απογόνους ενός μόνο θηλυκού, αποτελούν πολύτιμο υλικό για τις ταξονομικές μελέτες αλλά και για την ταυτοποίηση ειδών με μοριακές μεθόδους. Επίσης οι εν λόγω εκτροφές χρησιμοποιούνται επιτυχώς για την παραγωγή δειγμάτων αναφοράς καθώς διασφαλίζεται η ύπαρξη του εκδύματος της προνύμφης 4^{ης} ηλικίας από ένα μόνο άτομο καθώς και του εκδύματος της νύμφης αλλά και του αντίστοιχου τελείου.

5.2.2.2. Μοριακές τεχνικές

Το χρωμοσωματικό DNA απομονώθηκε από δείγμα τριών αρσενικών κουνουπιών ακολουθώντας πρωτόκολλο απομόνωσης χρωμοσωματικού DNA με βάση τη χρήση φαινόλης-χλωροφορμίου (Linton *et al.* 2001).

Απομόνωση ολικού γενωματικού DNA από ένα μόνο άτομο κουνουπιού (Linton 1999)

1. Ένα μεμονωμένο άτομο κουνουπιού ομογενοποιείται σε μικρό δοκιμαστικό σωλήνα του 1,5 ml, με τη βοήθεια αποστειρωμένου πλαστικού εμβόλου.
2. Προστίθενται 100 μl διαλύματος εκχύλισης αποτελούμενο από 0,2 M σακχαρόζη, 0,1 M Tris-HCl, 50 mM EDTA και 0,5% SDS.
3. Μεταξύ διαδοχικών εκχυλίσεων τα πλαστικά έμβολα εμβαπτίζονται σε 0,25 mM HCl για την αποφυγή μολύνσεων μεταξύ των δειγμάτων. Στη συνέχεια ξεπλένονται καλά με ddH₂O για την απομάκρυνση των υπολειμμάτων του HCl.
4. Το δείγμα επωάζεται στους 65°C για 10 λεπτά, σε ξηρό θάλαμο.
5. Προστίθενται 24 μl KOAc (pH: 9,0), αναδεύεται και τα δείγματα τοποθετούνται στον πάγο για 10 λεπτά.
6. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 13.000 στροφές ανά λεπτό (στρ./λεπτό) για 10 λεπτά.
7. Μετά από φυγοκέντρηση, το υπερκείμενο τοποθετείται σε νέο σωλήνα προστίθεται 3 μl πυκνού διαλύματος RNάσης, συγκέντρωσης 20 mg/ml και ακολουθεί επώαση στους 37°C για 20 λεπτά.
8. Στη συνέχεια γίνεται καθαρισμός με διάλυμα φαινόλης + χλωροφορμίου + ισοαμυλικής αλκοόλης, 25:24:1 (PCI). Το μίγμα PCI προστίθεται στο σωληνάκι, αναδεύεται καλά και ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 13.000 στροφές ανά λεπτό για 1 λεπτό. Η φαινόλη διευκολύνει την κατακρήμνιση των λιπών και των λιπαρών μεμβρανών και το χλωροφόρμιο δρα στην αποδόμηση των πρωτεΐνών.

9. Το υπερκείμενο μεταφέρεται σε νέο σωλήνα και προστίθεται χλωροφόρμιο και αναδεύεται καλά. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στις 13.000 στροφές ανά λεπτό για 1 λεπτό. Το χλωροφόρμιο απομακρύνει τη φαινόλη.
10. 8 μl από το υπερκείμενο μεταφέρεται σε νέο σωλήνα και προστίθενται 8 μl ισοπροπανόλης. Τα δείγματα τοποθετούνται στους -20°C για 24 ώρες.
11. Ακολουθεί φυγοκέντρηση στους 4°C, ξέπλυμα με 70% αιθανόλη και επαναδιάλυση του τελικού ίζηματος (χρωμοσωματικό DNA) σε διάλυμα TE.

Κατακρήμνιση νουκλεϊκών οξέων

Η καθίζηση των νουκλεοξέων γίνεται, παρουσία μονοκατιόντων, με προσθήκη είτε αιθανόλης είτε ισοπροπανόλης. Η κατακρήμνιση λαμβάνει χώρα στους -20°C (για 2-18 ώρες) ή στους -70°C (για περίπου 30 λεπτά).

Η αιθανόλη χρησιμοποιείται για την κατακρήμνιση μικρών, σε μήκος, νουκλεοξέων. Ο όγκος της αιθανόλης που προστίθεται είναι 2,5 φορές ο όγκος του υδατικού διαλύματος των νουκλεοξέων. Όσον αφορά την ισοπροπανόλη ο παραπάνω όγκος είναι 0,7 φορές του όγκου του υδατικού διαλύματος του DNA.

Η παρουσία μονοκατιόντων πραγματοποιείται με την προσθήκη διαλύματος οξικού νατρίου 3 M, pH:5,2 (σε τελική συγκέντρωση 0,3 M). Εναλλακτικά και ανάλογα με το είδος και το μέγεθος του νουκλεοξέως χρησιμοποιείται διάλυμα 4 M LiCl (τελική συγκέντρωση 0,01 M) ή διάλυμα 10 M οξικού αμμωνίου (τελική συγκέντρωση 2,5 M). Μετά την επώαση των διαλυμάτων σε χαμηλές θερμοκρασίες, ακολουθεί φυγοκέντρηση τους για 10-20 λεπτά στις 15.000 στρ/λεπτό και τοποθέτηση στους -4°C. Το ίζημα ξεπλένεται με 70% αιθανόλη και φυγοκεντρείται όπως παραπάνω, αλλά για 5 λεπτά. Μετά την φυγοκέντρηση το ίζημα των νουκλεοξέων επαναδιαλύεται στον επιθυμητό όγκο ρυθμιστικού διαλύματος TE ή σε διπλά αποσταγμένο νερό.

Προσδιορισμός συγκέντρωσης νουκλεϊκών οξέων

Ο προσδιορισμός της συγκέντρωσης και της καθαρότητας των νουκλεϊνικών οξέων σε υδατικό διάλυμα τους γίνεται φωτομετρικά. Συγκεκριμένα:

- Ποσότητα από το δείγμα (συνήθως 1μl) μεταφέρεται σε σωλήνα eppendorf, όπου αραιώνεται με νερό σε αναλογία 1:100.
- Η αραίωση τοποθετείται σε ειδική κυβέτα χαλαζία και προσδιορίζεται η οπτική πυκνότητα του δείγματος σε μήκη κύματος 240, 260 και 280nm.

Σε υδατικά διαλύματα νουκλεϊκών οξέων χωρίς την παρουσία άλλων προσμίξεων, όπως πρωτεΐνες και πολυσακχαρίδια, η συγκέντρωση των νουκλεϊκών οξέων δίνεται από την παρακάτω εξίσωση:

D x OD₂₆₀ x συντελεστής αραίωσης

Όπου, OD₂₆₀ η οπτική πυκνότητα του δείγματος στα 260 nm.

Το D αποτελεί τη σταθερά που εξαρτάται από το είδος του νουκλεϊκού οξέως που περιέχεται στο δείγμα. Σε καθαρά διαλύματα DNA, η σταθερά D ισούται με 50 mg/ml ενώ στην περίπτωση διαλύματος RNA η σταθερά D ισούται με 40 mg/ml. Τέλος, στην περίπτωση διαλύματος ολιγονουκλεοτιδίων το D ισούται με 30 mg/ml.

Για την εκτίμηση της καθαρότητας ενός δείγματος νουκλεϊνικών οξέων υπολογίζεται ο λόγος OD₂₆₀/OD₂₈₀ και OD₂₄₀/OD₂₆₀. Όταν οι τιμές τους είναι 1,8-2,0 και 0,5 αντίστοιχα τότε το μείγμα θεωρείται ικανοποιητικής καθαρότητας.

Πέψη DNA με τη χρήση ενζύμων (ενδονουκλεασών) περιορισμού

Οι πέψεις των δειγμάτων DNA γίνονται σε τελικό όγκο ο οποίος εξασφαλίζει την πραγματοποίηση των αντιδράσεων. Ο όγκος αυτός καθορίζεται τόσο από την ποσότητα και καθαρότητα του DNA όσο και από τη ποσότητα του ενζύμου περιορισμού το οποίο χρησιμοποιείται κάθε φορά. Συνήθως κυμαίνεται μεταξύ 20 – 100 μl.

Για παράδειγμα, για μία πέψη (τελικού όγκου 30 μl) αναμιγνύονται:

- διάλυμα DNA 1μg (σε νερό ή TE) έως 10 μl
- 10X TA ρυθμιστικό διάλυμα 3 μl
- ένζυμο περιορισμού 1-3 μl (1 μονάδα δραστικότητας / μl)

Η αντίδραση γίνεται επωάζοντας το μίγμα, στην ιδανική θερμοκρασία για τη δράση του ενζύμου περιορισμού (συνήθως 37°C). Η επώαση μπορεί να διαρκέσει από 3 έως 16 ώρες.

Μετά το πέρας της αντίδρασης τα προϊόντα αναλύονται σε πηκτή αγαρόζης.

Πίνακας 5.1. Ενδονουκλεάσες περιορισμού που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Ενδονουκλεάση περιορισμού	Αλληλουχία αναγνωρίσεως	Προέλευση ενζύμου	Βέλτιστη θερμοκρασία δράσης
AluI	...AG:CT... ...TC:GA...	<i>Arthrobacter luteus</i>	37°C
HaeIII	...GC:CC... ...CC:GG...	<i>Haemophilus aegyptius</i>	37°C
/ : ορισμός σημείου πέψεως στην αλληλουχία			

Ηλεκτροφόρηση νουκλεϊκών οξέων σε πηκτή αγαρόζης

1. Ποσότητα αγαρόζης αναμειγνύεται, σε κωνική φιάλη Erlenmeyer, με ορισμένο όγκο διαλύματος ηλεκτροφόρησης TAE. Η απαίτουμενη ποσότητα αγαρόζης καθορίζεται από τα επιθυμητά χαρακτηριστικά της πηκτής όσον αφορά την διαχωριστικότητα των νουκλεοξέων.
2. Η φιάλη με την αγαρόζη και το διάλυμα TAE, θερμαίνεται σταδιακά σε φούρνο μικροκυμάτων έως ότου η αγαρόζη διαλυθεί εντελώς.
3. Η θερμοκρασία του διαλύματος αφήνεται να πέσει έως τους 60°C και αφού προστεθεί διάλυμα βρωμιούχου αιθιδίου (10 mg/ml) σε τελική συγκέντρωση 0,5 µg/ml, αφήνεται να στερεοποιηθεί σε οριζόντια συσκευή ηλεκτροφόρησης. Στη συσκευή προσαρμόζεται η κατάλληλη "χτένα" έτσι ώστε να σχηματιστούν, στην πηκτή, τα βιθρία φόρτωσης.
4. Η "χτένα" απομακρύνεται από την πηκτή. Η συσκευή γεμίζεται με διάλυμα ηλεκτροφόρησης TAE έτσι ώστε η πηκτή να παραμένει βυθισμένη 1-2 mm από την επιφάνεια του.

Πίνακας 5.2. Συγκέντρωση πηκτής αγαρόζης ανάλογα με το επιθυμητό εύρος διαχωρισμού.

Αγαρόζη (%)	Εύρος διαχωρισμού γραμμικών μορίων (kb)
0,3	1,7-70
0,5	0,7-45
0,8	0,4-20
1,0	0,3-10
1,2	0,2-8
1,5	0,2-6
2,0	0,1-5

Τα δείγματα των νουκλεοξέων, αφού αναμιχθούν σε ρυθμιστικό διάλυμα φόρτωσης, τοποθετούνται στις εγκοπές της πηκτής. Στην συνέχεια εφαρμόζεται στα άκρα της πηκτής κατάλληλη τάση.

Ενίσχυση της ενδοριβοσωμικής περιοχής 2 (ITS2)

Η ενίσχυση της ενδοριβοσωμικής περιοχής 2 (ITS2) επιτεύχθηκε με τη χρήση της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης PCR. Χρησιμοποιήθηκαν ως εκκινητές της αντίδρασης οι 5,8SF και 28SR (Collins and Paskewitz 1996), χρησιμοποιώντας την αντίδραση και τις παραμέτρους θερμοκύλησης που περιγράφονται από τους Linton *et al.* (2001). Τα προϊόντα έγιναν ορατά σε πηκτή αγαρόζης 1,5% που περιείχε βρωμιούχο αιθίδιο

και ο καθαρισμός του προϊόντος της PCR επετεύχθη με τη χρήση κολώνας καθαρισμού της εταιρείας (QIAgen Ltd., Sussex, England), σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.

5.2.2.3. Αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (Polymerase Chain Reaction, PCR)

Αρχή της μεθόδου

Η τεχνική της αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) αποτελεί την πλέον εξειδικευμένη και ευαίσθητη μέθοδο ενίσχυσης ακολουθιών DNA και RNA, *in vitro* ή και *in situ* (Mullis *et al.* 1986, Mullis and Faloona 1987). Η βασική αρχή της PCR βασίζεται σε συγκεκριμένα χαρακτηριστικά της αντιγραφής του DNA. Το εκμαγείο του DNA αρχικά αποδιατάσσεται σε θερμοκρασία 94°C σε δύο μονόκλωνες αλυσίδες. Δύο μονόκλωνα ολιγονουκλεοτίδια (εκκινητές), τα οποία καθορίζουν τα σημεία έναρξης της αντιγραφής, υβριδίζονται με το εκμαγείο, ένα με κάθε αλυσίδα. Κατά το σχεδιασμό των εκκινητών θα πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψη τα εξής:

1. Το μέγεθος των εκκινητών πρέπει να είναι τέτοιο (15-30 νουκλεοτίδια) ώστε η θερμοκρασία για τον υβριδισμό τους στο DNA να είναι λογική.
2. Η αλληλουχία του κάθε εκκινητή να είναι μοναδική και να υβριδίζεται σε μια μόνο περιοχή του DNA.
3. Οι εκκινητές δε θα πρέπει να έχουν δευτεροταγή δομή. Στην αντίδραση PCR, όπου χρησιμοποιείται ζεύγος εκκινητών, δε θα πρέπει τα 3'-άκρα τους να είναι συμπληρωματικά.
4. Η σύνθεση των βάσεων των εκκινητών θα πρέπει να είναι περίπου 50% σε GC και 50% σε AT.
5. Ο κάθε εκκινητής θα πρέπει να περιέχει στα άκρα του G ή C.
6. Στην περίπτωση που οι νουκλεοτιδικές ακολουθίες των εκκινητών δεν είναι πλήρως συμπληρωματικές με το DNA η μετάλλαξη ή οι μεταλλάξεις είναι συνήθως στο μέσο του εκκινητή ή τουλάχιστον 12 νουκλεοτίδια από το 3'-άκρο.

Ακολούθως, μια DNA πολυμεράση χρησιμοποιεί ως μήτρα το μονόκλωνο DNA για τη σύνθεση μιας καινούργιας συμπληρωματικής αλυσίδας κατά την κατεύθυνση 5'-3', ξεκινώντας από το τμήμα του μορίου που είναι δίκλωνο. Για τη σύνθεση αυτή απαραίτητη είναι η παρουσία μίγματος νουκλεοτιδίων και ιόντων Mg²⁺. Αρχικά για την PCR χρησιμοποιήθηκε η DNA πολυμεράση του βακτηρίου *Escherichia coli* αλλά το ένζυμο αυτό είναι θερμοευαίσθητο και καταστρέφεται στις θερμοκρασίες εκείνες που απαιτούνται για την αποδιάταξη των δίκλωνων μορίων DNA. Συνήθως χρησιμοποιείται η DNA πολυμεράση, που έχει απομονωθεί από το βακτήριο *Thermus aquaticus*, και έχει άριστη θερμοκρασία δραστηριότητας στους 72°C. Η δραστηριότητα της αναφερόμενης ως *Taq* πολυμεράσης παραμένει σε υψηλά επίπεδα μετά από επανειλημμένη αύξηση της θερμοκρασίας στους 94°C. Οι νεοσυντιθέμενες αλυσίδες μπορεί να επεκτείνονται πέρα από την αλληλουχία

βάσεων που ορίζεται από τον άλλο εκκινητή και, ως εκ τούτου, δημιουργούνται καινούριες θέσεις υβριδισμού των εκκινητών. Στη συνέχεια, οι αρχικές αλυσίδες, καθώς και οι νεοσυντιθέμενες, αφού πρώτα αποδιαταχθούν με θέρμανση στους 94°C, μπορούν να χρησιμεύσουν ξανά ως μήτρες αντιγραφής όπου θα υβριδιστούν οι εκκινητές. Εάν αυτός ο κύκλος επαναληφθεί ν φορές, τότε το τελικό αποτέλεσμα θα είναι η σύνθεση 2^v δίκλωνων μορίων DNA που αποτελούν αντίγραφα της αλληλουχίες ανάμεσα από τους εκκινητές και περιέχουν τις αλληλουχίες των εκκινητών στα άκρα τους. Η εκθετική αυτή συσσώρευση των προϊόντων της αντίδρασης πραγματοποιείται εφόσον δεν υφίστανται περιοριστικοί παράγοντες, όπως η έλλειψη νουκλεοτιδίων και εκκινητών και η παραγωγή παρεμποδιστών της πολυμεράσης. Η εξειδίκευση του προϊόντος εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία υβριδισμού και από την εξειδίκευση των θέσεων υβριδισμού των συγκεκριμένων εκκινητών στη μήτρα του DNA.

Ενίσχυση τμήματος DNA (PCR)

Η αλυσιδωτή αντίδραση της πολυμεράσης (PCR) χρησιμοποιήθηκε για την ενίσχυση τμημάτων DNA απευθείας από το DNA των υπό μελέτη βακτηριακών στελεχών με τη χρήση ειδικά σχεδιασμένων εκκινητών. Η νουκλεοτιδική ακολουθία των εκκινητών αναφέρεται στο κεφάλαιο των αποτελεσμάτων.

Οι ακριβείς συνθήκες πραγματοποιήσεως μιας τυπικής αντίδρασης PCR προσαρμόζονται κάθε φορά στις απαιτήσεις του συγκεκριμένου πειράματος. Συγκεκριμένα, η ποσότητα της μήτρας DNA, που προστίθεται κάθε φορά, εξαρτάται από το είδος του και συγκεκριμένα στην περίπτωση γονιδιωματικού DNA χρησιμοποιείται ποσότητα ίση περίπου με 1µg. Επίσης, η θερμοκρασία υβριδισμού των εκκινητών εξαρτάται κάθε φορά από τη θερμοκρασία τήξεώς τους (Tm).

Μία τυπική αντίδραση PCR πραγματοποιείται ως εξής:

Σε ειδικό σωλήνα eppendorf προστίθενται:

- γονιδιωματικό DNA 1 µg
- εκκινητής ευθείας κατεύθυνσης (Forward) (10 µM) 1 µl
- εκκινητής αντίστροφης κατεύθυνσης Reverse (10 µM) 1 µl
- μίγμα dNTPs (10 mM το καθένα) 1 µl
- **10x PCR ρυθμιστικό διάλυμα** 5 µl
- DMSO 2 µl
- DyNAzyme II DNA πολυμεράση (FINNZYMES)(2 U/µl) 0,5 µl
- ddH₂O έως τελικό όγκο 50 µl

Γενικά, οι συνθήκες πραγματοποίησης της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης είναι:

Αρχική αποδιάταξη	94°C για 2-4 λεπτά	35 κύκλοι
Αποδιάταξη	94°C για 1 λεπτό	
Υβριδισμός εκκινητών	45-65°C για 1 λεπτό	
Επιμήκυνση	72°C για 1 λεπτό/1,3-15kb αναμενόμενου προϊόντος	
Τελική επιμήκυνση	72°C για 5-10 λεπτά	

Απομόνωση προϊόντος ενίσχυσης από PCR (Qiagen kit)

- Σε σωλήνα eppendorf προστίθενται πέντε όγκοι διαλύματος PB για έναν όγκο του δείγματος PCR.
- Το διάλυμα μεταφέρεται σε στήλη QIA quick spin column και φυγοκεντρείται για 1 min στις 13.000 στρ./min.
- Το υγρό απομακρύνεται, η στήλη ξεπλένεται με 0,75 ml διαλύματος PE και φυγοκεντρείται για 1 min.
- Το υγρό απομακρύνεται ξανά και πραγματοποιείται μια επιπλέον φυγοκέντρηση για 1 min.
- Η στήλη μεταφέρεται σε νέο σωλήνα eppendorf και προστίθενται 50 μl ddH₂O.
- Μετά από αναμονή 1 min ακολουθεί φυγοκέντρηση για 1 min.
- Το υγρό που συγκεντρώνεται περιέχει το προς απομόνωση DNA.

Προσδιορισμός νουκλεοτιδικής αλληλουχίας (αλληλούχιση)

Μετά τον καθαρισμό τους, τα προϊόντα χωρίστηκαν σε 1 ng/ μl/ 200 bp προϊόντος. Τα προϊόντα αλληλουχήθηκαν και κατά τις δύο διευθύνσεις χρησιμοποιώντας το Big Dye Terminator Kit (PE Applied Biosystems, Warrington, England) και ακολούθως πραγματοποιήθηκε αυτόματη αλληλούχιση βάσεων με το σύστημα ABI 377 (PE Applied Biosystems).

Ευθυγράμμιση και φυλογενετική ανάλυση

Οι αλληλουχίες αναλύθηκαν και ευθυγράμμιστηκαν χρησιμοποιώντας τα προγράμματα ευθυγράμμισης Lasergene version 7.0, μέθοδος CLUSTAL X (Thompson *et al.* 1997). Η ευθυγράμμιση με τις αλληλουχίες βάσεων που είναι διαθέσιμες στην Διεθνή Τράπεζα γονιδίων (GenBank) πραγματοποιήθηκε με το διαδυκτιακό πρόγραμμα Blastn του National Center for Biotechnology Information (NCBI) (<http://blast.ncbi.nih.gov>). Η διακύμανση των γονιδιακών τμημάτων μεταξύ των ειδών υπολογίστηκε με το πρόγραμμα MEGA version 4.0

(Molecular Evolutionary Genetics Analysis software version 4.0) (Tamura et al. 2007). Η απεικόνιση της εξελικτικής ιστορίας πραγματοποιήθηκε μέσω της αλγόριθμου Neighbor-Joining (Saitou and Nei 1987), (1000 αντίγραφα bootstrap).

Τα τμήματα της ενδοριβοσωμικής περιοχής του *Ae. cretinus* που υποκλωνοποιήθηκαν και αναλύθηκαν στην παρούσα μελέτη είναι καταχωρημένα στην τράπεζα δεδομένων GenBank στους ακόλουθους (κωδικούς) αριθμούς:

Aedes cretinus GR3-20: **AY271353.1**

Aedes cretinus GR3-16 : **AY271352.1**

Aedes cretinus GR3-7 : **AY271351.1**

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΔΙΑΛΥΜΑΤΩΝ

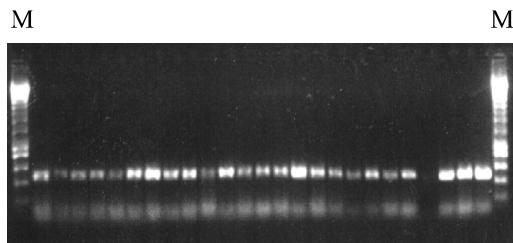
ΤΑΕ διάλυμα ηλεκτροφόρησης 50X	24,2% (w/v) Tris, 57,1 ml/lt CH ₃ COOH, 100 ml/lt 0,5 M EDTA
Διάλυμα φόρτωσης DNA	0,25% μπλέ της βρωμοφαινόλης, 0,25% κυανό του ξυλενίου, 40% (w/v) γλυκερόλη
TE ρυθμιστικό διάλυμα	10 mM Tris, 1 mM EDTA, pH:8
10xTA ρυθμιστικό διάλυμα	330 mM Tris-οξικό (pH 7.8), 660 mM COOCHNa, 100 mM οξικό μαγνήσιο, 5mM dithiothreitol (DTT).
10X διάλυμα PCR	100 mM Tris, 500 mM KCl, 15 mM MgCl ₂ , 0,1% Triton-X 100

5.2.3. Αποτελέσματα

Στην εργασία αυτή πραγματοποιείται προσπάθεια μοριακής ταυτοποίησης του *Ae. cretinus*. Οι ακολουθίες των πυρηνικών ενδοριβοσωμικών περιοχών ITS2 rDNA προέκειψαν από τρία άτομα του είδους από όσα δοκιμάστηκαν, προερχόμενα από την Αττική.

5.2.3.1. Τεχνική PCR

Η ενίσχυση του γενωματικού DNA των διαφόρων δειγμάτων *Ae. cretinus* πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με την τεχνική που περιγράφεται παραπάνω και έδωσε προϊόντα μήκους 435 bp συμπεριλαμβανομένων των εκκινητών.



Εικόνα 5.10. Ενίσχυση PCR τμήματος του γονιδίου ITS2 rDNA μεγέθους 435 bp στο ολικό γονιδιωματικό DNA διαφόρων δειγμάτων *Aedes cretinus* (M= μάρτυρας μοριακών μεγέθών HyperLadder/lane, Bioline). Ηλεκροφόρηση σε πηκτή αγαρόζης 1,5%.

Ακολούθησε καθαρισμός του προϊόντος PCR και στη συνέχεια αλληλούχιση, σύμφωνα με τη μέθοδο που περιγράφηκε παραπάνω και στη συνέχεια πραγματοποιήθηκε ευθυγράμμιση των αλληλουχιών με το πρόγραμμα Lasergene version 7.0, μέθοδος CLUSTAL X (Thompson *et al.* 1997).

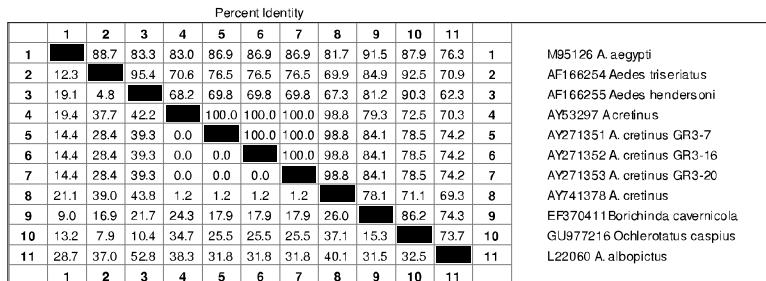
Οι τρεις ακολουθίες έδειξαν πλήρη ομοιογία χωρίς να παρατηρηθούν καθόλου ενδοδιαφορές στη σύσταση των νουκλεοτιδίων και το μήκος των τμημάτων. Τα τμήματα αυτά του *Ae. cretinus* ήταν πλούσια σε περιεκτικότητα κυτοσίνης-γοναδίνης (CG) όπου έφτασε το 52,2% σύμφωνα με την ανάλυση που πραγματοποιήθηκε (24,1% A, 23,7% T, 26,7% C, 25,5% G).

										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16
										AY271353 A. cretinus GR3-20
										Majority
										AY271351 A. cretinus GR3-7
										AY271352 A. cretinus GR3-16

Με σκοπό τη σύγκριση των τμημάτων στόχων των τριών ατόμων κουνουπιών *Ae. cretinus*, επισημάνθηκαν στην Διεθνή Τράπεζα γονιδίων (Genbank) τα ισοδύναμα ITS2 τμήματα των *Ae. albopictus* (L22060; (Kjer *et al.* 1994)) and *Ae. aegypti* (M95126; (Wesson *et al.* 1992)). Τα τμήματα αυτά ήταν 568bp για το *Ae. albopictus* και 374 bp για το *Ae. aegypti*. Η περιεκτικότητα του συνολικού τμήματος ήταν 53,7% CG (23,9% A, 22,4% T, 26,6% C, 27,1% G) για το *Ae. albopictus* και 47,9% CG για το *Ae. aegypti* (25,9% A, 26,2% T, 26,2% C, 21,7% G).

Εικόνα 5.12. Ευθυγράμμιση των τριών ακολουθιών *Ae. cretinus* GR3-20: AY271353.1, *Ae. cretinus* GR3-16: AY271352.1, *Ae. cretinus* GR3-7: AY271351.1 που μελετήθηκαν στην παρούσα εργασία, και *Ae. aegypti* M95126, *Ae. albopictus*, *Aedes triseriatus*, *Aedes hendersoni*, *Ae. cretinus* AY53297 και AY74741378, *Borrichianda cavernicola* και *Oc.*

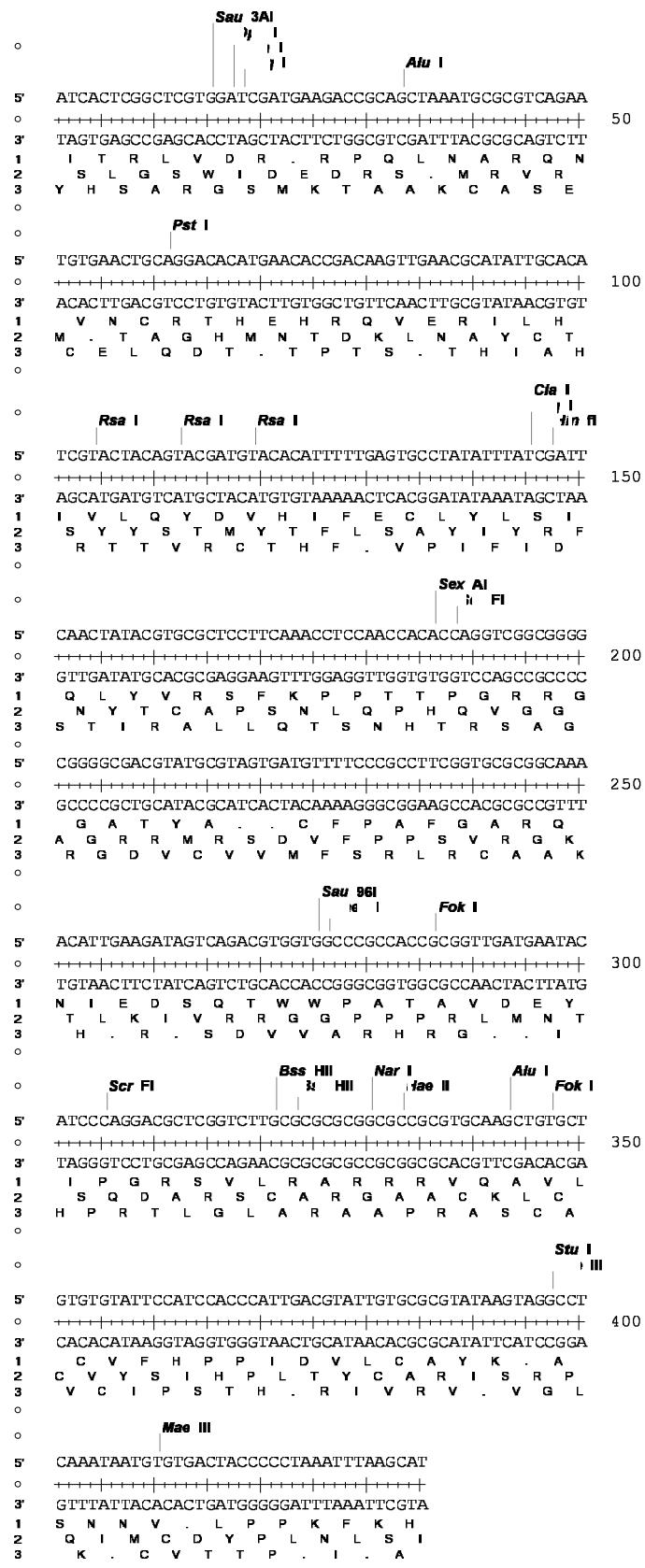
caspius. Είναι φανερό ότι δεν υπάρχουν διαφορές στη νουκλεοτιδική αλληλουχία μεταξύ των τμημάτων ITS2 των ελληνικών στελεχών. Η ευθυγράμμιση πραγματοποιήθηκε με το πρόγραμμα Lasergege 7.0.



Εικόνα 5.13. Διακύμανση της ευθυγράμμισης των ενδοριβοσωματικών περιοχών. Γενετικές αποστάσεις των ακολουθιών που μελετήθηκαν. Ποσοστό ομοιότητας μεταξύ τους και ποσοστό διαφορετικότητας.

5.2.3.2. Ανάλυση του Πολυμορφισμού Μήκους των Θραυσμάτων DNA μετά από πέψη με Περιοριστικά ένζυμα (RFLPs)

Τα τρία διαφορετικά τμήματα των ενδοριβοσωματικών περιοχών των τριών υπό μελέτη ειδών έχουν διαφορετικό μέγεθος όπως προαναφέρθηκε και συγκεκριμένα -568 bp (*Ae. albopictus*), 435 bp (*Ae. cretinus*) και 374 bp (*Ae. aegypti*). Ως εκ τούτου, η διαφορά τους είναι ορατή όταν ηλεκροφορηθούν σε πηκτή αγαρόζης. Παρ όλα αυτά όμως, υπολογίζοντας την πιθανότητα ότι προϊόντα PCR άλλων ειδών του γένους *Aedes* ενδεχομένως να έχουν το ίδιο μήκος, κρίθηκε απαραίτητο να σχεδιαστεί μια επιπλέον μέθοδος που θα διασφαλίζει τον περεταίρω διαχωρισμό μεταξύ των ειδών. Αναζητήθηκαν αλληλουχίες για 113 θέσεις ενζύμων περιορισμού, με σκοπό τον εντοπισμό των ειδών που διαθέτουν το ίδιο περιοριστικό πρότυπο. Το ενζύμιο *Alu I* το οποίο αναγνωρίζει στη νουκλεοτιδική αλληλουχία AG/CT και περιορίζει μεταξύ της γοναδίνης και κυτοσίνης, απομονώθηκε ως ένα μόνο ένζυμο το οποίο δημιουργεί σημαντικώς διαφορετικά τμήματα περιορισμού και επιτρέπει τον καταλληλότερο διαχωρισμό των ειδών. Διαδοχικές πέψεις των ITS2 τμημάτων με το *Alu I*, δίνουν τμήματα 289/246/31 bp (*Ae. albopictus*), 310/91/31 bp (*Ae. cretinus*) και 341/31 bp (*Ae. aegypti*). Το ένζυμο αυτό τέμνει το ITS2 τμήμα του κάθε είδους τουλάχιστον μία φορά, διασφαλίζοντας έτσι ότι η δοκιμή που εφαρμόστηκε έχει ένα ενυπάρχοντα μάρτυρα για τη χρήση της μεθόδου ανάλυσης του Πολυμορφισμού Μήκους των Θραυσμάτων DNA μετά από πέψη με Περιοριστικά ένζυμα (RFLPs).



Εικόνα 5.14. Θέσεις περιορισμού με διάφορα ένζυμα στην ακολουθία του *Ae. cretinus*. Το ένζυμο *Alu*I τέμνει την ακολουθία σε 2 σημεία: στο 34° νουκλεοτίδιο και στο 344° δημιουργώντας 3 τμήματα DNA, (310/91/31 bp). Η κατανομή των ενζύμων στις θέσεις περιορισμού πραγματοποιήθηκαν με το πρόγραμμα Seqbuilder, του Lasergege 7.0.

5.2.3.3. Οι θέσεις περιορισμού *Alu I AG/CT* στις ακολουθίες που αναλύθηκαν

>2064 *Ae. cretinus*

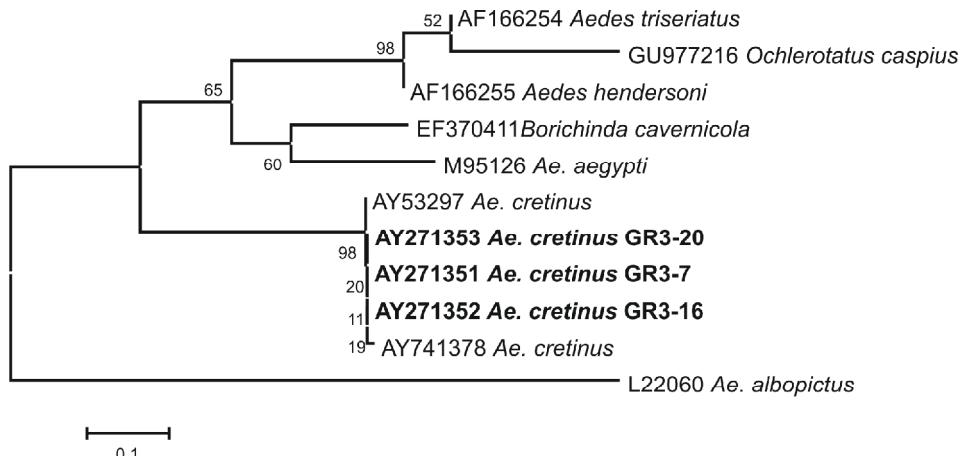
ATCACTCGGCTCGTGGATCGATGAAGACCGC**AGCT**AAATGCGCGTCAGAATGTG
 AACTGCAGGACACATGAACACCCGACAAGTTGAACGCATATTGCACATCGTACTA
 CAGTACGATGTACACATTTGAGTCGCTATATTATCGATTCAACTATACTGCG
 CTCCTTCAAACCTCCAACCACACCCAGGTCGGCGGGCGGGCGACGTATCGTA
 GTGATGTTTCCCGCCTCGGTGCGCGAAAACATTGAAGATAGTCAGACGTGG
 TGGCCGCCACCGCGGGTGATGAATAACATCCCAGGACGCTCGGTCTGCGCGC
 GGCGCCGCGTGCA**AGCT**GTGCTGTGTATTCCATCCACCCATTGACGTATTGTG
 CGCGTATAAGTAGGCCTCAAATAATGTGTGACTACCCCCCTAAATTAAAGCAT*

>L22060 *Ae. albopictus*

ATCACTCGGCTCGTGGATCGATGAAGACCGC**AGCT**AAATGCGCGTCAGAATGTG
 AACTGCAGGACACATGAACACCCGACACGTTGAACGCATATTGCACATCGTACCTC
 CAGTACGATGTACACATTTGAGTCGCTATATTATACATTCAACTATACTGTTG
 CCTCCTCTCGGGGGAGCGTACCGTATGCATAGTGATGTTTCCCGCTTCGGTGC
 GCGGTAAAACATTCAAGATAGTCAGACCGACGGTGGCCGGCGTGCAGTC
 GTCGTGGTTGATGAGTACATCCAAACCGGAGTCTCAGTGGCAGTG**AGCT**TTAGTA
 CCCCCGTGTGAGTTGTGCGGTGCGGTGTCGTGGAATTAGGCGCGTGCACGGGA
 GCGCACGCGCGGCCGGCGGGCTTTCCGACGACACACAAAACACCCGCAAC
 GACGAACCACACGGCAGGGGGAAACAGTCACCTGAACCTCAGTGTGCTCCATC
 ACATCAGCCCAGTCTAGTCGAAGTATATATCAGTAGGCCTCAAATAATGTGTG
 ACTACCCCCCTAAATTAAAGCAT*

>M95126 *Ae. aegypti*

ATCACTCGGCTCGTGGATCGATGAAGACCGC**AGCT**AAATGCGCGTCAGAATGTG
 AACTGCAGGACACATGAACACCCGACACGTTGAACGCATATTGCACATCGTACTAC
 CAGTACGATGTACACATTTGAGTCGCTATATTATCCATTCAACTATACTGCGCC
 GCCCGCGCGTATGCGTAGTGATGTTTCCCGCCTCAGTGCACGGTAAACATTG
 AAGATAGTCAGACGTGGTGTGGTACACACCGCGGGTGTGAAATACATCCACTA
 TGGCGCGCTCGCTCGCCTGTGTGTATTCCATCATTCAACTAACTCCCTATA
 GTAGGCCTCAAATAATGTGTGACTACCCCCCTAAATTAAAGCAT*



Εικόνα 5.15. Εξελικτικές σχέσεις των υπό μελέτη ειδών *Aedes* και ειδών αναφοράς βάσει νουκλεοτιδικής αλληλουχίας του γονιδίου ITS2.

Η απεικόνιση της εξελικτικής ιστορίας πραγματοποιήθηκε μέσω της μεθόδου Neighbor-Joining (Saitou and Nei 1987). Παρουσιάζεται το δέντρο ομοιογίας 1.000 αντιγράφων bootstrap προκειμένου να απεικονισθεί η εξελικτική ιστορία των υπό ανάλυση ταχα. Οι κλάδοι που αντιστοιχούν σε κατανομές οι οποίες αναπαράχθηκαν σε λιγότερα από 50% των αντιγράφων bootstrap έχουν συγχωνευθεί. Δίπλα στους κλάδους παρουσιάζεται το ποσοστό των αντιγράφων των δέντρων στα οποία τα συσχετιζόμενα ταχα συγκροτούν μία ομάδα (Felsenstein 1985). Το δέντρο είναι σχεδιασμένο σε κλίμακα, με τους κλάδους να έχουν τις ίδιες μονάδες με αυτές των αποστάσεων που χρησιμοποιήθηκαν για να προκύψει το φυλογενετικό δέντρο. Οι εξελικτικές αποστάσεις υπολογίστηκαν με τη μέθοδο Maximum Composite Likelihood (Tamura *et al.* 2004) και οι μονάδες αντιπροσωπεύουν τον αριθμό υποκαταστάσεων ανά θέση. Ως outgroup χρησιμοποιήθηκαν τα είδη *Oc. caspius* και *Borichinda cavernicola*. Όλες οι θέσεις που περιείχαν κενά ή απουσίαζαν πληροφορίες δεν υπολογίστηκαν (επιλογή πλήρους απάλειψης). Σύνολο 374 βάσεις. Όλες οι φυλογενετικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με το λογισμικό MEGA4 (Tamura *et al.* 2007).

5.2.4. Συζήτηση – Συμπεράσματα

Στην παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε μοριακή ταυτοποίηση του *Ae. cretinus*. Η σύγκριση των νουκλεοτιδικών αλληλουχιών των ενδοριβοσωμικών περιοχών τους που προέκυψαν από τη μελέτη αυτή με τις αντίστοιχες ακολουθίες του *Ae. aegypti* που επισημάνθηκαν στην Διεθνή Τράπεζα γονιδίων (Genbank), ενισχύουν το μορφολογικό προσδιορισμό τους κατά Edwards (Edwards 1921), που υποστηρίζει ότι πρόκειται για διαφορετικά είδη. Στην Εικόνα 5.15. διακρίνεται εμφανώς ο γενετικός διαχωρισμός των δύο αυτών ειδών με το *Ae. albopictus*. Χρησιμοποιώντας τα δεδομένα της αλληλούχισης των τμημάτων DNA, διαπιστώσαμε μια αποτελεσματική μέθοδο για τη γρήγορη διάκριση των τριών ειδών του υπογένους *Stegomyia* για όλα τα αναπτυξιακά στάδια, που είναι βασισμένη

στην μέθοδο της αλυσιδωτής αντίδρασης της πολυμεράσης PCR σε συνδυασμό με την ανάλυση του Πολυμορφισμού Μήκους των Θραυσμάτων DNA μετά από πέψη με Περιοριστικά ένζυμα (RFLPs).

Η κοινώς αποδεκτή εξελικτική πορεία των πολυγονιδιακών οικογενειών (Zimmer *et al.* 1980), όπως αυτές των ITS2 rDNA μεταξύ των ειδών έχει ως αποτέλεσμα την ευρύτατη χρήση αυτών των ταχέως εξελισσόμενων περιοχών του DNA για την ταυτοποίηση των ειδών στα κουνούπια.

Το εξαιρετικά χαμηλό επίπεδο της ποικιλομορφίας μέσα στην ITS2 περιοχή έχει αποδειχτεί πολύ χρήσιμο και βασικό χαρακτηριστικό για αμφότερες τις δοκιμές ταυτοποίησης, της PCR (Scott *et al.* 1993, Crabtree *et al.* 1995, Cornel *et al.* 1996, Proft *et al.* 1999) και της PCR-RFLP (van Bortel *et al.* 2000, Manonmani *et al.* 2001, Sedaghat *et al.* 2003) έτσι ώστε να διαφοροποιούνται τα μέλη των ομάδων συμπλεγμάτων ειδών κουνουπιών (mosquito species complexes).

Τα πολλαπλά αντίγραφα ανά γένωμα και η ευρέως δημοσιευμένη ομολογία μέσα στο τμήμα αυτό υποδηλώνουν ότι η περιοχή αυτή είναι η κατάλληλη για γρήγορες διαγνωστικές δοκιμές. Πράγματι στη μελέτη αυτή, τα μήκη των ITS2 τμημάτων για τα τρία είδη είναι εμφανώς διαφορετικά μεταξύ τους μετά την ηλεκτροφόρησή τους όντας 568 bp, 435 bp και 374 bp για τα *Ae. albopictus*, *Ae. cretinus* και *Ae. aegypti*, αντίστοιχα.

Η νουκλεοτιδική ακολουθία των πυρηνικών ITS2 τμημάτων των τριών ειδών αναλύθηκαν ηλεκτρονικά με 113 ένζυμα (Κατάλογος της εταιρείας Roche Molecular Biochemicals) ώστε να μπορούμε να προτείνουμε μία απλή δοκιμή, του ενός ενζύμου, η οποία δύναται να παράγει πρότυπα διαγνωστικής των ειδών και να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για το διαχωρισμό μεταξύ των ειδών.

Βασισμένη στη διαθέσιμη νουκλεοτιδική αλληλουχία, η πέψη με το ένζυμο *Alu* I απέδειξε ότι διαφοροποιεί ξεκάθαρα τα είδη σε προϋπολογισμένα *in silico* τμήματα, τα οποία είναι τα: 289/246/31 bp (*Ae. albopictus*), 310/91/31 bp (*Ae. cretinus*) και 341/31 bp (*Ae. aegypti*), αντίστοιχα (Εικόνα 5.14.). Στα δείγματα κουνουπιών που μετά τη σύλληψή τους διατηρήθηκαν σε συνθήκες αφύγρανσης με γέλη σιλικόνης (silica gel), τα ενισχυμένα προϊόντα PCR μπορούν να ανακτηθούν όταν σε ένα μόνο πόδι του εντόμου εφαρμόζεται απευθείας η μέθοδος PCR για την ITS2 περιοχή. Σε ότι αφορά στα προϊόντα της PCR που παρήχθησαν με αυτό τον τρόπο, διαπιστώθηκε ότι είναι επαρκώς καθαρά ώστε να χρησιμοποιηθούν σε διαδοχικές RFLP δοκιμές (Linton *et al.*, αδημοσίευτα στοιχεία).

Στο σημείο αυτό θα πρέπει να αναφερθεί ότι μεταγενέστερα της παρούσας εργασίας πραγματοποιήθηκε παρόμοια εργασία από τους Patsoula *et al.* (2006), με αφορμή την πρώτη καταγραφή του *Ae. albopictus* στην Ελλάδα, συγκρίνοντας τα τρία συγγενή είδη (*Ae. albopictus*, *Ae. cretinus* και *Ae. aegypti*) και καταλήγοντας σε παρόμοια αποτελέσματα.

Και οι δύο μέθοδοι μπορούν να επιτύχουν ταχεία και με ακρίβεια ταυτοποίηση των τριών ειδών κουνουπιών ενώ είναι σχετικά μικρού κόστους για ένα εργαστήριο που διαθέτει το ειδικό εξοπλισμό. Οι μέθοδοι αυτοί μπορούν να χρησιμοποιηθούν στα προγράμματα παρακολούθησης των πληθυσμών των κουνουπιών και κυρίως στα προγράμματα ελέγχου της παρουσίας του *Ae. albopictus* ή επανεισαγωγής του *Ae. aegypti* σε διάφορες περιοχές της χώρας μας.

5.3. Περιγραφή του ωού του *Ae. cretinus* και σύγκριση με ωά συγγενών ειδών

Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3., η πλέον ενδεδειγμένη μέθοδος παρακολούθησης της παρουσίας και της εξάπλωσης του *Ae. cretinus* είναι η τοποθέτηση και παρακολούθηση, σε μια περιοχή, παγίδων ωοθεσίας. Οι παγίδες αυτές στηρίζονται στην αρχή ότι προσφέρουν κατάλληλο σημείο για ωοθεσία στα είδη κουνουπιών που προτιμούν μικρές συλλογές νερού για την ανάπτυξη των προνυμφών τους. Η παρακολούθηση της παρουσίας και των πληθυσμών των κουνουπιών με τη μέθοδο των παγίδων ωοθεσίας γίνεται έμμεσα με την καταγραφή των ωών των κουνουπιών που έχουν εναποτεθεί στο κατάλληλο υπόστρωμα της παγίδας (στην περίπτωσή μας τα ξύλινα γλωσσοπίστρα).

Τέτοιου τύπου μικρές εστίες νερού, χρησιμοποιούν και άλλα είδη κουνουπιών, εκτός από το *Aedes cretinus*, για να αποθέσουν τα ωά τους. Τα κυριότερα είναι τα *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*, των οποίων η πιθανή παρουσία ήταν αντικείμενο της παρούσας μελέτης (σήμερα γνωρίζουμε ότι τα τελευταία χρόνια το *Ae. albopictus* έχει εγκατασταθεί στην Αττική). Τα τρία αυτά είδη κουνουπιών, εκτός του ότι ανήκουν στο ίδιο γένος και διαθέτουν παρόμοια βιολογία, εναποθέτουν με όμοιο τρόπο τα ωά τους, προσκολλώντας τα σε σταθερές επιφάνειες λίγο πάνω από τη στάθμη του νερού. Ως εκ τούτου, αναμένονται να συλλέγονται με τα υποστρώματα ωοθεσίας των σχετικών παγίδων. Μάλιστα, όπως προκύπτει και από σχετικές εικόνες από τη διεθνή βιβλιογραφία ή το διαδίκτυο, το μέγεθος και το σχήμα των ωών όπως και ο τρόπος που στερεώνονται καθώς και η χωροταξική διάταξή τους φαίνονται ίδια και για τα τρία είδη κουνουπιών, με αποτέλεσμα να είναι αδύνατη η διάκρισή τους μακροσκοπικά.

Αυτός είναι και ο λόγος που κατά τη διάρκεια της παρούσας μελέτης, καθιστούσε υποχρεωτική τη δειγματοληπτική εκκόλαψη των ωών στο Εργαστήριο, προκειμένου να διαπιστωθεί το είδος του κουνουπιού που εναπόθετε τα ωά του σε κάθε παγίδα ωοθεσίας. Η εκκόλαψη όμως των ωών και στη συνέχεια η εκτροφή των προνυμφών στο Εργαστήριο για την παραγωγή τέλειων μετά από αρκετές ημέρες, που θα οδηγήσουν στον ασφαλή προσδιορισμό του είδους, είναι μια αρκετά επίπονη, χρονοβόρα και με σχετικό οικονομικό κόστος διαδικασία.

Η πιθανότητα επομένως να βρεθεί ένας ασφαλής τρόπος διάκρισης του *Ae. cretinus* από τα άλλα συγγενή είδη, μέσω των ωών τους μαζί με την ανάγκη για συμβολή στην επιστημονική γνώση της συστηματικής και μορφολογίας του είδους αυτού (καθώς δεν υπάρχει στη διεθνή βιβλιογραφία περιγραφή του ωού του *Ae. cretinus*), ήταν οι δύο κύριοι λόγοι που μας ώθησαν στην πραγματοποίηση της μορφομετρικής μελέτης του ωού του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού.

Τα ωά των *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* έχουν περιγραφεί σε ικανοποιητικό βαθμό από διαφόρους ερευνητές ακόμη και με τη χρήση ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (Sasa *et al.* 1971, Matsuo *et al.* 1972, Moriya *et al.* 1973, Matsuo *et al.* 1974, Linley 1989).

5.3.1. Υλικά και μέθοδοι

Η μορφολογική μελέτη των ωών του *Ae. cretinus* πραγματοποιήθηκε στο Μουσείο Φυσικής Ιστορίας, του Λονδίνου (The Natural History Museum, London), με τη βοήθεια του σύγχρονου ηλεκτρονικού μικροσκοπίου που διαθέτει, κατά το διάστημα προγράμματος μετεκπαίδευσης, το 2001.

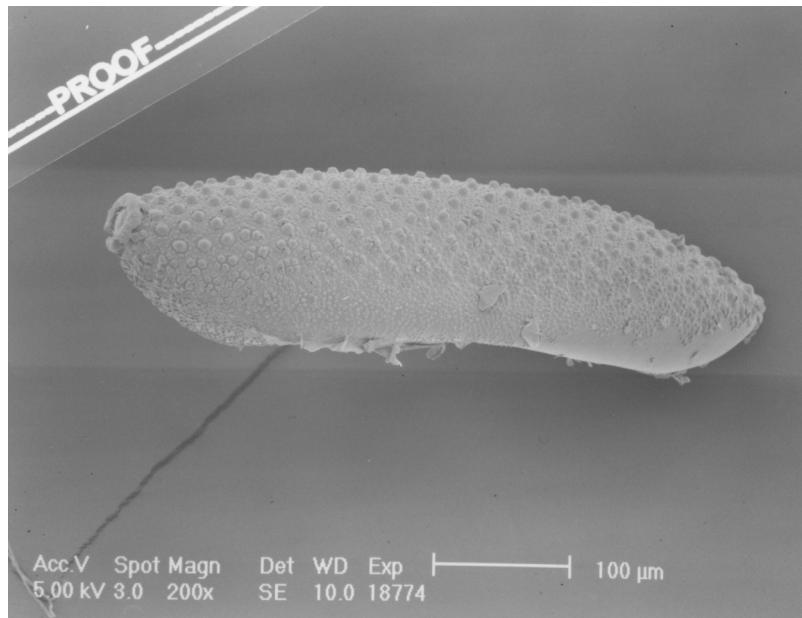
Τα ωά του *Ae. cretinus* που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονταν όλα από εργαστηριακή εκτροφή των είδους στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Όλα τα ωά, αφού αφέθηκαν να στεγνώσουν με φυσικό τρόπο, μετά την ωθεσία και επάνω στο υπόστρωμα ωθεσίας (στην περίπτωσή μας τα γλωσσοπίεστρα), μεταφέρθηκαν υπό αυτή τη μορφή στη Βρετανία, στο Τμήμα Ηλεκτρονικής Μικροσκοπίας, του Μουσείου Φυσικής Ιστορίας, του Λονδίνου. Εκεί τα δείγματα αποκολλήθηκαν με προσοχή από τα γλωσσοπίεστρα και προσκολλήθηκαν με κολλητική ταινία στις ειδικές βάσεις του ηλεκτρονικού μικροσκοπίου. Στη συνέχεια υπέστησαν περαιτέρω αποξήρανση και επιχρυσώθηκαν ώστε να είναι δυνατή η εισαγωγή τους και η εξέτασή τους με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Εξετάστηκαν 10 ωά του *Ae. cretinus*, στα οποία πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις των διαστάσεων τους και των διαφόρων χαρακτηριστικών τους με τη βοήθεια των διαβαθμίσεων στην οθόνη του οργάνου και στη συνέχεια κάποια από αυτά φωτογραφήθηκαν, ολόκληρα ή τμήματά τους.

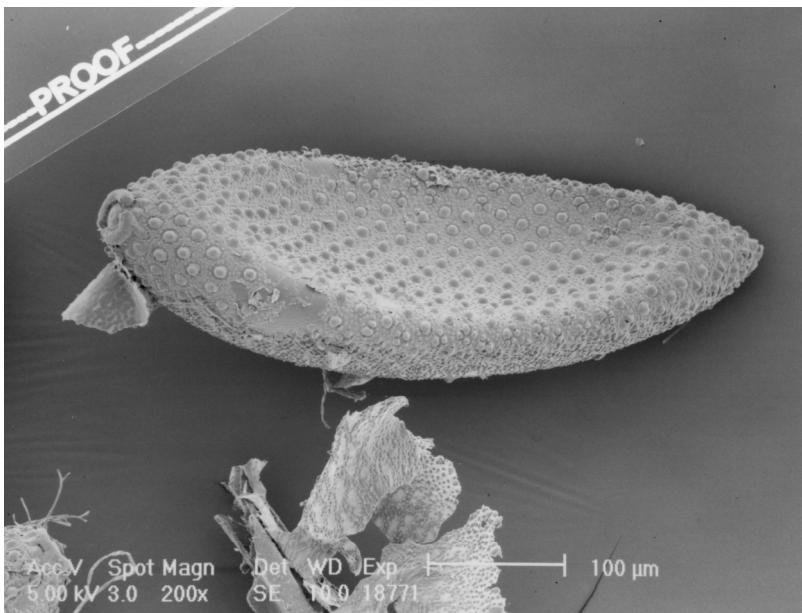
Η πραγματοποίηση της μελέτης αυτής έγινε υπό την καθοδήγηση και τη βοήθεια των ειδικών επί της συστηματικής των κουνουπιών Dr R. E. Harbach και Dr Y.-M. Linton, οι οποίοι εργάζονται στο συγκεκριμένο Ινστιτούτο. Η ονοματολογία των μερών του ωού, που χρησιμοποιήθηκε είναι των Harbach and Knight (1980) ενώ έγινε προσπάθεια απόδοσης ορισμένων όρων στα ελληνικά με τη βοήθεια σχετικών ελληνικών συγγραμμάτων (Παπαδάκης 1956, Πελεκάσης 1981).

5.3.2. Αποτελέσματα

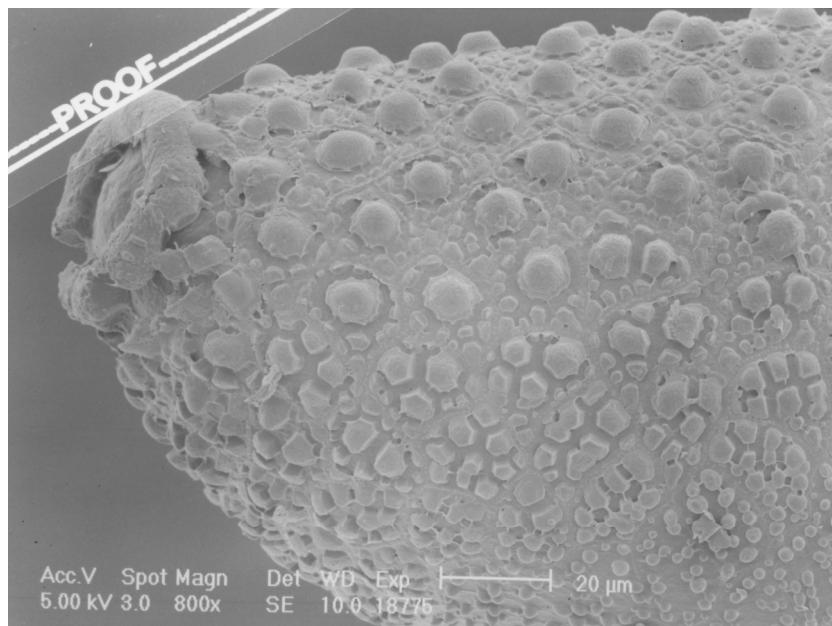
Τα ωά του *Ae. cretinus* καθώς και λεπτομέρειές τους, αποτυπώνονται στις παρακάτω εικόνες οι οποίες ελήφθησαν από το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.



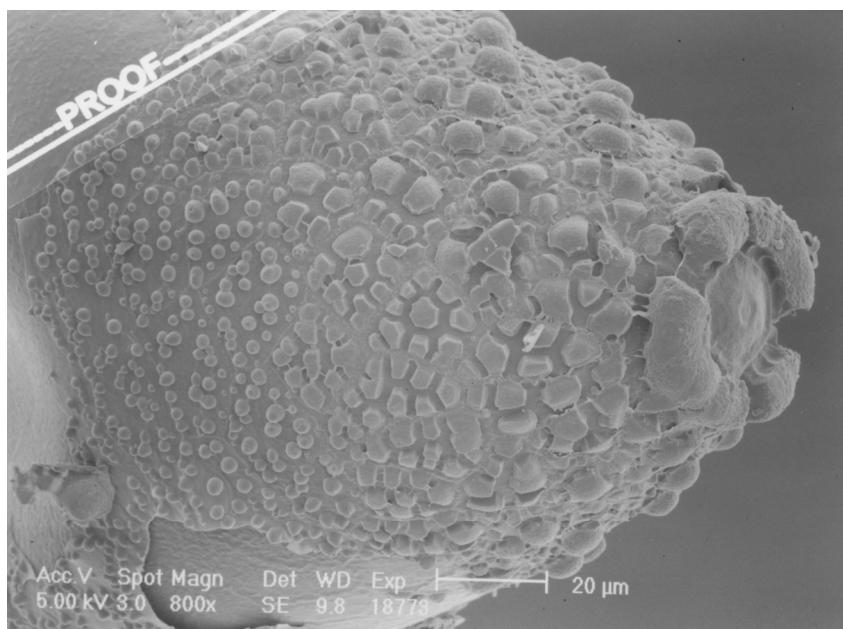
Εικόνα 5.16. Γενική εικόνα ωού του *Ae. cretinus* όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 200x).



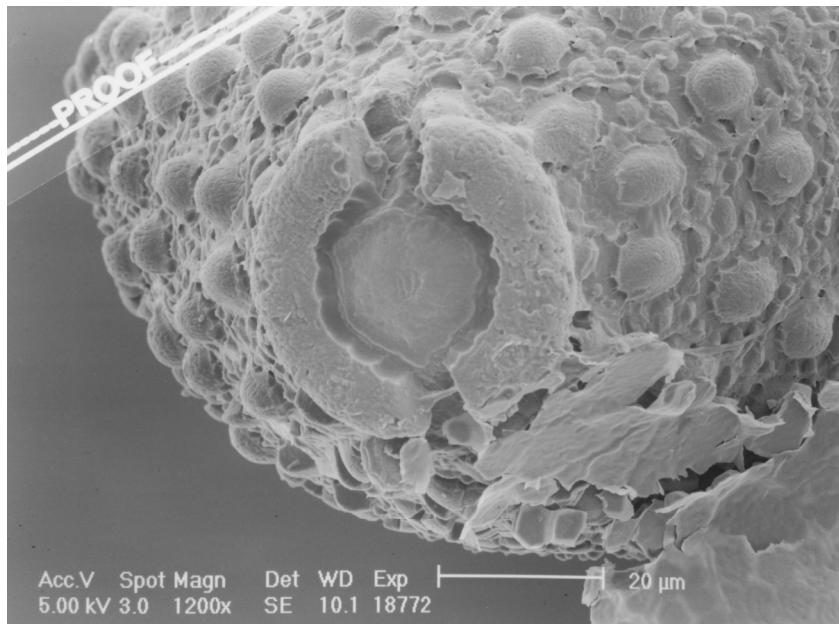
Εικόνα 5.17. Γενική εικόνα ωού που έχει υποστεί αφυδάτωση, του *Ae. cretinus* όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 200x).



Εικόνα 5.18. Λεπτομέρεια ωού του *Ae. cretinus* όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 800x).



Εικόνα 5.19. Λεπτομέρεια ωού του *Ae. cretinus* όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 800x).



Εικόνα 5.20. Λεπτομέρεια ωού (μικροπύλη) του *Ae. cretinus* όπως φαίνεται στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο (μεγέθυνση 1200x).

Τα ωά του *Ae. cretinus* είναι γενικά σκούρου χρώματος, το οποίο στο κοινό στερεοσκόπιο φαίνεται συνήθως ως λαμπερό μαύρο. Είναι ατρακτοειδούς σχήματος, λεπτυνόμενο προς τα άκρα και διογκωμένο στο κέντρο. Εφόσον δεν έχει υποστεί αφυδάτωση το σχήμα παραμένει κανονικό ατρακτοειδές (Εικόνα 5.16.) ενώ στην αντίθετη περίπτωση η επιφάνειά του υποχωρεί από τη μία πλευρά στην περιοχή του κέντρου (Εικόνα 5.17.).

Στο ένα άκρο του φέρει ένα χαρακτηριστικό σχηματισμό, τη μικροπύλη (micropyle), η οποία είναι και η οπή από την οποία περνούν τα σπερματοζωάρια για να γονιμοποιήσουν το ωό. Η μικροπύλη είναι κυκλικού σχήματος και περιβάλλεται από ένα στέμμα ή περιλαίμιο το οποίο συνήθως είναι ασυνεχές, δηλαδή φέρει 2 ή περισσότερες χαραγές (Εικόνα 5.19. και Εικόνα 5.20.).

Το εξωτερικό προστατευτικό περίβλημα του ωού ή εξωτερικό χόριο (chorion) έχει σχετικά τραχεία υφή, η οποία οφείλεται στα χαρακτηριστικά φυμάτια που φέρει σε όλη σχεδόν την έκτασή της (outer chorionic tubercles). Το σχήμα, το μέγεθος και η υφή των φυματίων του εξωτερικού χορίου των ωών των κουνουπιών πολλές φορές αποτελούν σημαντικό διαγνωστικό χαρακτηριστικό για τα διάφορα είδη κουνουπιών.

Στο *Ae. cretinus*, τα φυμάτια του εξωτερικού χορίου έχουν κανονικό ημισφαιρικό σχήμα διατηρώντας όμως ένα εμφανώς καθαρό διάστημα μεταξύ τους. Στη μεγάλη μεγέθυνση (800x) φαίνεται ότι το κάθε μεγάλο ημισφαιρικό φυμάτιο περιβάλλεται από μια σειρά πολύ μικρών εξογκωμάτων ή μικρών ακανόνιστων φυματίων (Εικόνα 5.18.).

Τα μεγάλα ημισφαιρικά φυμάτια αντιστοιχούν ένα σε κάθε κύτταρο του εξωτερικού χόριου του ωού. Οι σχηματισμοί εν είδει κυττάρων του εξωτερικού χόριου του ωού του *Ae. cretinus* έχουν συνήθως σχήμα εξαγώνου ή καμιά φορά και πενταγώνου. Οι σχηματισμοί

αυτοί του εξωτερικού χορίου προς τα áκρα του ωού μπορεί να διαφέρουν σημαντικά ως προς το σχήμα τους ή το σχήμα και μέγεθος των φυματίων και των εξογκωμάτων τους, σε σχέση με την υπόλοιπη επιφάνεια του ωού.

Μετρήσεις των διαστάσεων των ωών καθώς και των διαστάσεων των μεγάλων φυματίων από τους κυτταροειδείς σχηματισμούς του χόριου καθώς και του αριθμού των μικρών εξογκωμάτων γύρω από τα φυμάτια δίνονται στους παρακάτω πίνακες.

Οι μετρήσεις προέρχονται από 10 ωά *Ae. cretinus* και στην περίπτωση των φυματίων και μικρότερων εξογκωμάτων από 20 διαφορετικούς κυτταροειδείς σχηματισμούς που βρίσκονταν περίπου στη μέση της ατράκτου των ωών. Οι μετρήσεις μήκους αφορούν σε μμ. Επίσης, στους ίδιους πίνακες παρουσιάζονται συγκριτικά στοιχεία από αντίστοιχες μετρήσεις ωών των ειδών *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* που προέρχονται από σχετική μελέτη του Linley (1989).

Πίνακας 5.3. Συγκριτική παρουσίαση των διαστάσεων των ωών των ειδών *Ae. cretinus*, *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*.

Είδη	Μήκος ωών (μμ)		Πλάτος ωών (μμ)		Λόγος μήκους/πλάτους	
	ΜΟ ± SE	Εύρος τιμών	ΜΟ ± SE	Εύρος τιμών	ΜΟ ± SE	Εύρος τιμών
<i>Aedes cretinus</i> (n = 10)	641,69 ± 13,02	593,1 - 703,8	181,38 ± 3,22	164,8 - 192,3	3,54 ± 0,03	3,59 - 3,65
<i>Aedes albopictus</i> (n=15) *	609,8 ± 5,9	558,8 - 629,4	192,9 ± 2,4	170,6 - 211,8	3,28 ± 0,04	1,97 - 3,42
<i>Aedes aegypti</i> (n = 15) *	670,2 ± 7,2	617,6 - 711,5	186,3 ± 2,2	170,6 - 200,0	3,61 ± 0,05	3,18 - 3,87

(* στοιχεία από Linley (1989).)

Πίνακας 5.4. Συγκριτική παρουσίαση χαρακτηριστικών του εξωτερικού χορίου των ειδών *Ae. cretinus*, *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*.

Είδη	Διάμετρος μεγάλων φυματίων (μμ)			Αριθμός μικρών εξογκωμάτων		
	n	ΜΟ ± SE	Εύρος τιμών	n	ΜΟ ± SE	Εύρος τιμών
<i>Aedes cretinus</i>	20	8,51 ± 0,16	7,1 - 9,7	20	12,65 ± 0,81	7 - 19
<i>Aedes albopictus</i> *	35	9,3 ± 0,1	8,2 - 10,2	31	20,3 ± 0,8	14 - 31
<i>Aedes aegypti</i> *	40	9,1 ± 0,1	8,2 - 9,8	46	10,8 ± 0,3	6 - 16

(* στοιχεία από Linley (1989).)

Επίσης στις Εικόνα 5.21. και Εικόνα 5.22. απεικονίζονται αντίστοιχες εικόνες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο για τα είδη *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*. Οι εικόνες αυτές προέρχονται επίσης από τη δημοσιευμένη εργασία του Linley (1989).

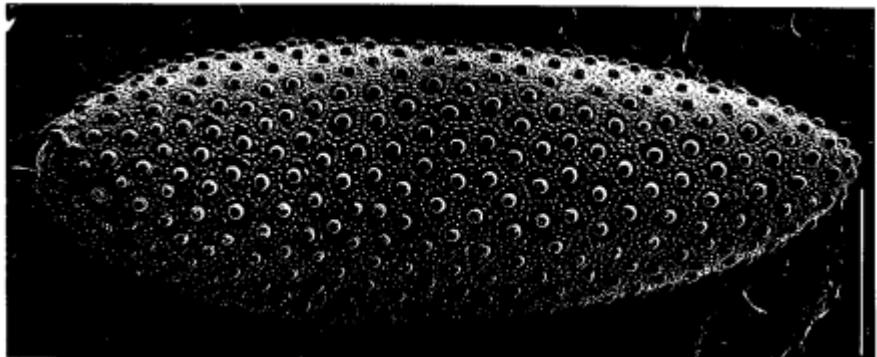


Fig. 1. *Ae. albopictus*. Entire egg. Scale = 100 μ m.

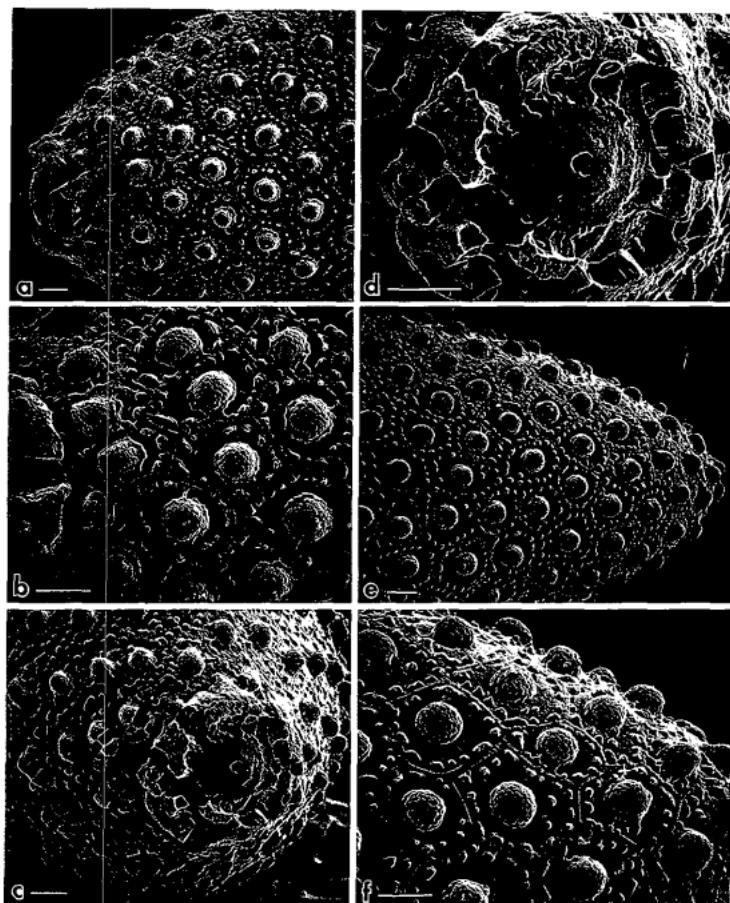


Fig. 3. *Ae. albopictus*. (a) anterior pole, ventral surface; (b) anterior pole, ventral surface, outer chorionic cell detail; (c) top view, anterior pole and micropylar apparatus; (d) top view, detail of micropylar apparatus; (e) posterior pole, ventral surface; (f) posterior pole, ventral surface, outer chorionic cell detail. Scale = 10 μ m.

Εικόνα 5.21. Εικόνες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ωού και λεπτομερειών του, του *Ae. albopictus* (Linley 1989).

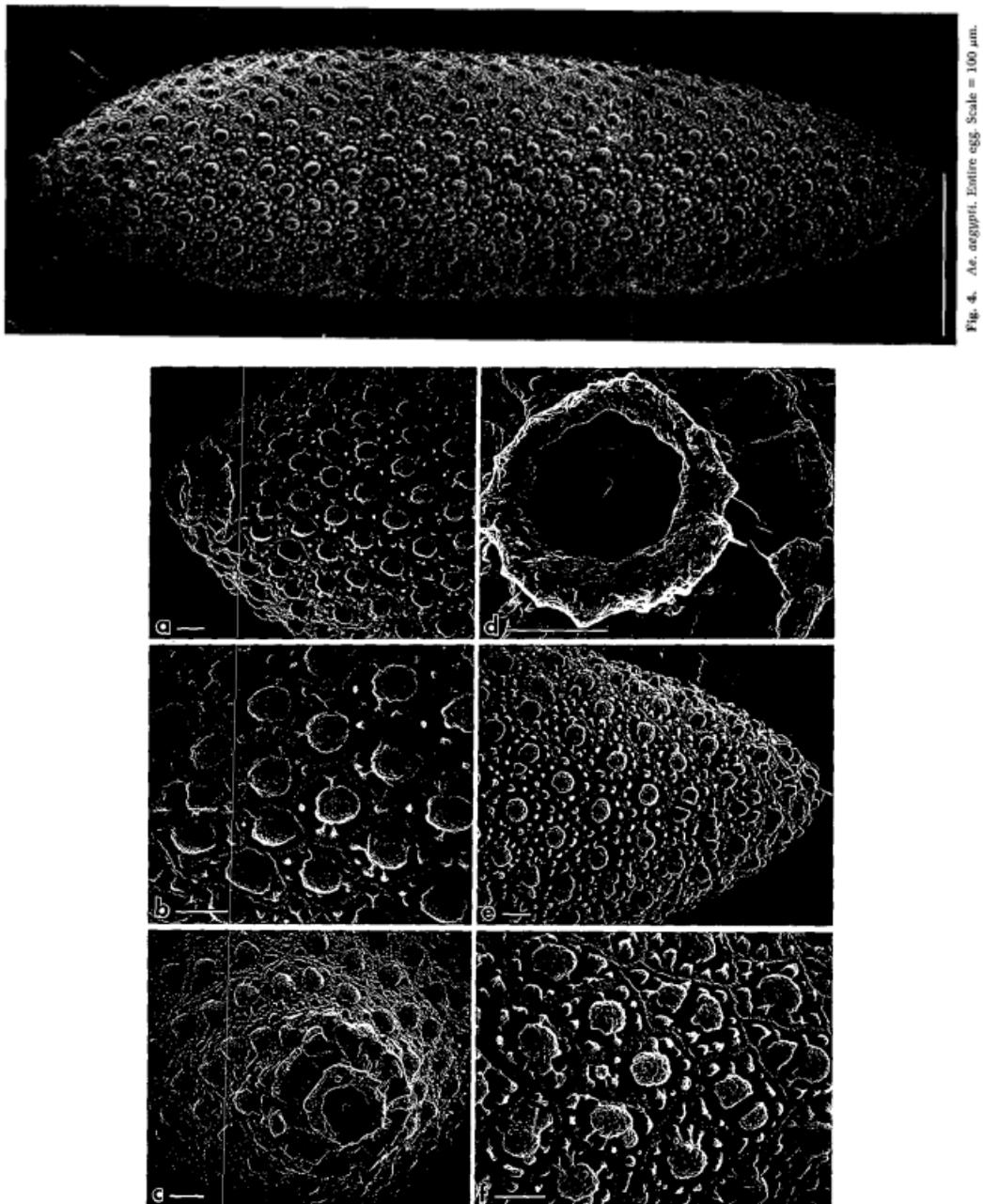


Fig. 6. *Ae. aegypti*. (a) anterior pole, ventral surface; (b) anterior pole, ventral surface, outer chorionic cell detail; (c) top view, anterior pole and micropylar apparatus; (d) top view, detail of micropylar apparatus; (e) posterior pole, ventral surface; (f) posterior pole, ventral surface, outer chorionic cell detail. Scale = 10 μm.

Εικόνα 5.22. Εικόνες από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ωού και λεπτομερειών του, του *Ae. aegypti* (Linley 1989).

Με βάση τις παραπάνω εικόνες διαπιστώνουμε εύκολα ότι μορφολογικά τα ωά του *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* μοιάζουν σε μεγάλο βαθμό με τα ωά του *Ae. cretinus*. Συγκεκριμένα, έχουν επίσης ατρακτοειδές σχήμα, λεπτυνόμενο προς τα άκρα και διογκωμένο στο κέντρο και σύμφωνα με τις περιγραφές είναι και αυτά σκούρου έως μαύρου χρώματος.

Διαθέτουν κυκλική μικροπύλη στο ένα άκρο και η υφή της επιφάνειάς τους είναι τραχεία λόγω της ύπαρξης μεγάλων ημισφαιρικών φυματίων σε κάθε κυτταροειδή

σχηματισμό του εξωτερικού χόριου. Φέρουν επίσης και τα μικρότερα εξογκώματα γύρω από κάθε μεγάλο φυμάτιο, όπως συμβαίνει και στο *Ae. cretinus*.

Με βάση τις μετρήσεις των διαστάσεων των ωών καθώς και των διαστάσεων των μεγάλων φυματίων φαίνεται ότι από πλευράς μεγέθους, το μήκος των ωών του *Ae. albopictus* είναι μικρότερο από το μήκος των ωών του *Ae. cretinus*, ενώ τα ωά του *Ae. aegypti* είναι τα μεγαλύτερα και από τα δύο είδη. Εν τούτοις τα ωά του *Ae. albopictus* είναι σχετικά παχύτερα στο κέντρο τους από ωά των άλλων δύο ειδών και ακολουθούν τα ωά του *Ae. aegypti* και τέλος του *Ae. cretinus* που φαίνεται να έχουν το πιο μακρόστενο σχήμα.

Σχετικά με τα φυμάτια, οι διαστάσεις των μεγάλων φυματίων του *Ae. cretinus* είναι οι μικρότερες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες των φυματίων των άλλων δύο ειδών. Ακολουθούν σε μέγεθος φυματίων τα φυμάτια του *Ae. aegypti* και τέλος του *Ae. albopictus*. Ο αριθμός των μικρότερων φυματίων γύρω από τα μεγάλα, του *Ae. cretinus* είναι ενδιάμεσος σε σχέση με τον αντίστοιχο αριθμό των άλλων δύο ειδών. Το *Ae. albopictus* έχει τα περισσότερα και το *Ae. aegypti* τα λιγότερα.

5.3.3. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Κατά τη διάρκεια της επίσκεψης στο Μουσείο Φυσικής Ιστορίας του Λονδίνου για την πραγματοποίηση της συγκεκριμένης μελέτης των ωών του *Ae. cretinus*, δεν στάθηκε δυνατό να εξασφαλιστούν διαθέσιμα δείγματα ωών των ειδών *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* για να γίνει ταυτόχρονα η εξέτασή τους και η σύγκριση των μορφολογικών χαρακτηριστικών τους. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν στοιχεία από την εργασία του Linley (1989) με το σκεπτικό ότι η συγκεκριμένη εργασία είναι πιο σύγχρονη από τις υπόλοιπες σχετικές δημοσιεύσεις και επιπλέον οι φωτογραφίες των ωών είναι καθαρότερες καθώς έχουν δημιουργηθεί από σχετικά σύγχρονο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Παρά τις διαφορές στους μετρήσιμους χαρακτήρες των ωών που παρατίθενται στους Πίνακες 5.3. και 5.4., καθώς και τις διαφορές που μπορεί κανείς να παρατηρήσει από την εξέταση των φωτογραφιών των ωών η άποψή μας είναι ότι δεν υφίστανται εκείνα τα μοναδικά χαρακτηριστικά στα ωά του *Ae. cretinus* που θα μας επέτρεπαν την ασφαλή ταυτοποίηση των ωών που προέρχονται από τις παγίδες ωιθεσίας, με απλή στερεοσκοπία έστω και αν χρησιμοποιηθούν σύγχρονα όργανα.

Στο συμπέρασμα αυτό καταλήγει κατά κάποιο τρόπο και ο Linley (1989) για τη διάκριση των ειδών *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* αν και προβλέπει ότι στο μέλλον κάτι τέτοιο θα μπορούσε πιθανώς να είναι εφικτό, εφόσον βελτιωθούν επαρκώς τα διαθέσιμα μέσα στερεοσκοπίας.

«Ο άνθρωπος αγωνίζεται κατά των επιβλαβών Εντόμων και η Εντομολογία κατά μέρα μέρος σκοπεί την καταπολέμησην αυτών»

ΚΩΝ/ΝΟΣ ΙΣΑΑΚΙΔΗΣ,
ακαδημαϊκός (Ισαακίδης 1941)

Κεφάλαιο 6. Συμβολή στην αντιμετώπιση των κουνουπιών

6.1. Εισαγωγή

Ένα πρόγραμμα διαχείρισης κουνουπιών σε μια περιοχή, για να έχει επιτυχία θα πρέπει να συνδυάζει γνώσεις και δεδομένα από πολλούς και διαφορετικούς τομείς. Τα δύο σημαντικότερα όμως στοιχεία, τα οποία απαραιτήτως θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την κατάρτιση οποιουδήποτε προγράμματος αντιμετώπισης κουνουπιών είναι: α) τα στοιχεία της εντομολογικής έρευνας, που αφορούν στα είδη των κουνουπιών, τις εστίες ανάπτυξης των προνυμφών τους καθώς και τα υπόλοιπα στοιχεία της βιολογίας τους και της οικολογίας και β) τις μεθόδους και τα μέσα που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην κάθε συγκεκριμένη περίπτωση.

Γενικές αρχές και στοιχεία για τις μεθόδους και τα μέσα που εφαρμόζονται διεθνώς για την αντιμετώπιση των κουνουπιών δίνονται στο Γενικό Μέρος. Στην πράξη όμως, από τις διάφορες μεθόδους και τα μέσα περιορισμού των πληθυσμών των κουνουπιών αυτά που έχουν τη μεγαλύτερη διάδοση παγκοσμίως είναι η εφαρμογή κατάλληλων βιοκτόνων για την καταπολέμηση των προνυμφών τους ή των τέλειων. Κατά συνέπεια, η ενασχόληση με οποιοδήποτε θέμα σχετικά με την αντιμετώπιση κουνουπιών σε μια περιοχή θα πρέπει να περιλαμβάνει και έρευνα πάνω στο αντικείμενο αυτό.

Οι λόγοι είναι πολλοί και έχουν να κάνουν με την εξακρίβωση της αποτελεσματικότητας των διαθέσιμων βιοκτόνων, την έγκαιρη διάγνωση πιθανής ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε κάποιο ή κάποια από τα χρησιμοποιούμενα βιοκτόνα καθώς και για την έρευνα ή μελέτη νέων ουσιών, περισσότερο ασφαλών για τη δημόσια υγεία και φιλικότερων προς το περιβάλλον, οι οποίες θα μπορούσαν κάποια στιγμή να ενταχθούν σε ένα πρόγραμμα διαχείρισης κουνουπιών.

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν ουσίες από τρεις κατηγορίες βιοκτόνων, ως προς την αποτελεσματικότητά τους εναντίον των προνυμφών διαφόρων ειδών κουνουπιών που δραστηριοποιούνται στο Νομό Αττικής. Οι κατηγορίες των βιοκτόνων που εξετάστηκαν ήταν τα χημικά σκευάσματα που έχουν έγκριση κυκλοφορίας στη χώρα μας, τα διαθέσιμα βιολογικά σκευάσματα καθώς και διάφορες ουσίες φυσικής προέλευσης οι οποίες βρίσκονται ακόμη στο στάδιο της έρευνας.

6.2. Βιοδοκιμές με εγκεκριμένα στην Ελλάδα βιοκτόνα

Βασικό στοιχείο για την επιτυχία ενός προγράμματος διαχείρισης κουνουπιών, σε μια περιοχή, είναι η επιλογή του κατάλληλου ή των κατάλληλων βιοκτόνων που θα χρησιμοποιηθούν, για την προνυμφοκτονία ή την ακμαιοκτονία. Οι βιοδοκιμές με τα εγκεκριμένα βιοκτόνα εναντίον των σημαντικών ειδών κουνουπιών μιας περιοχής, έχουν ως στόχο τη διαπίστωση της ικανοποιητικής αποτελεσματικότητας των σκευασμάτων αυτών στα καταπολεμούμενα έντομα, για τις δόσεις που προτείνει ο παρασκευαστής τους. Αυτό έχει μεγάλη σημασία, γιατί ουσιαστικά, τα εγκεκριμένα βιοκτόνα είναι και τα μόνα βιοκτόνα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην πράξη για την καταπολέμηση των κουνουπιών της συγκεκριμένης περιοχής, καθώς η Ελληνική αλλά και η Ευρωπαϊκή νομοθεσία, απαγορεύει την εφαρμογή οποιουδήποτε μη εγκεκριμένου σκευάσματος στο φυσικό ή αγροτικό περιβάλλον.

Επιπλέον οι βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας μας παρέχουν πληροφορίες για πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας στον πληθυσμό κάποιου ή κάποιων από τα είδη, σε συγκεκριμένες δραστικές ουσίες. Το στοιχείο αυτό είναι επίσης σημαντικό για την επιτυχία των προγραμμάτων αντιμετώπισης κουνουπιών ή για την λήψη ειδικών μέτρων περιορισμού του φαινομένου της ανθεκτικότητας.

6.2.1. Υλικά και μέθοδοι

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν όλα τα ευρέως διαδεδομένα βιοκτόνα στη χώρα μας, που προορίζονται για την καταπολέμηση των προνυμφών των κουνουπιών. Οι δραστικές τους ουσίες ανήκουν σε όλες τις σύγχρονες κατηγορίες βιοκτόνων και συγκεκριμένα, στα οργανοφωσφορικά βιοκτόνα, στους ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων και στα βιοκτόνα φυσικής προέλευσης. Επίσης δοκιμάστηκε η αποτελεσματικότητα και βιολογικού σκευάσματος που περιέχει το βάκιλο *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (B.t.i.).

Τα παραπάνω δοκιμάστηκαν εναντίον προνυμφών του *Ae. cretinus* καθώς και άλλων σημαντικών ειδών κουνουπιών που απαντώνται σε σημαντικούς πληθυσμούς στο Νομό Αττικής και τα οποία συλλέχθηκαν από φυσικούς πληθυσμούς τους, στη συγκεκριμένη περιοχή.

6.2.1.1. Βιοκτόνα που δοκιμάστηκαν

Τα βιοκτόνα που δοκιμάστηκαν κατά τη συγκεκριμένη σειρά πειραμάτων ήταν τα ακόλουθα:

Diflubenzuron

Θεωρείται σκεύασμα μεγάλης υπολειμματικής δράσης, η οποία κυμαίνεται από 15-30 ημέρες ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε

εγκαταστάσεις βιολογικών καθαρισμών ξενοδοχείων, εργοστασίων κλπ. καθώς δεν επηρεάζει τους μικροοργανισμούς που είναι απαραίτητοι για τη λειτουργία τους.

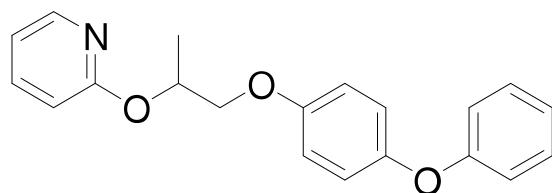


Εικόνα 6.1. Χημική δομή της δραστικής ουσίας diflubenzuron.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Du-Dim 10WP, με μορφή βρέξιμης σκόνης (WP) και περιεκτικότητας 10% diflubenzuron β/β (Chemtura Netherlands B.V.). Η δόση που επιλέχθηκε να εφαρμοστεί ήταν η μικρότερη προτεινόμενη δόση του παρασκευαστή, και αντιστοιχεί σε 1 gr /100L.

Pyriproxyfen

Ανήκει στην κατηγορία των ρυθμιστών ανάπτυξης εντόμων και συγκεκριμένα στην κατηγορία των μιμητών της νεανικής ορμόνης των εντόμων. Εντούτοις, αξιοσημείωτο είναι ότι συντακτικά το μόριό του συγγενεύει περισσότερο με την ομάδα των καρβαμιδικών εντομοκτόνων.



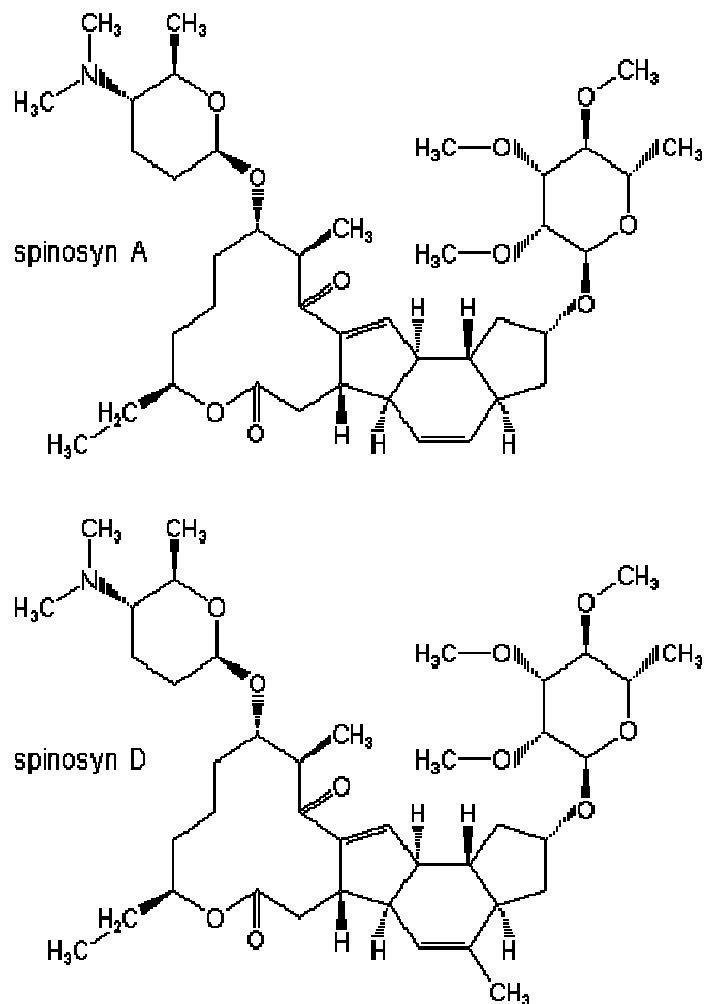
Εικόνα 6. 2. Χημική δομή της δραστικής ουσίας pyriproxyfen.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Sumilarv[®] 0.5G, κοκκώδους μορφής (G), περιεκτικότητας 0,5% pyriproxyfen β/β (Sumitomo Chemical Co. Ltd). Οι δόσεις που επιλέχθηκαν να χρησιμοποιηθούν αντιστοιχούσαν σε 1 Kgr /στρ και 40 gr/m².

Το pyriproxyfen δοκιμάστηκε μόνο εναντίον κουνουπιών του είδους *Cx. pipiens*, από εργαστηριακή εκτροφή (πληθυσμός A) και φυσικούς πληθυσμούς του ιδίου είδους (πληθυσμός B).

Spinosad

Το spinosad είναι ένα σχετικά νέο φυσικής προέλευσης εντομοκτόνο καθώς παράγεται με διαδικασία ζύμωσης από τον ακτινομύκητα του εδάφους *Saccharopolyspora spinosa* Mertz & Yao. Είναι μείγμα δύο τετρακυκλικών μακρολιπιδίων, των spinosyn A και spinosyn D.



Εικόνα 6.3. Χημική δομή των δρώντων συστατικών του Spinosad (spinosyn A και spinosyn D).

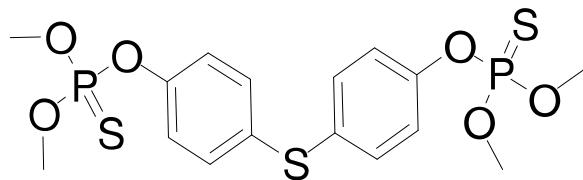
Το spinosad είναι κυρίως εντομοκτόνο στομάχου, αλλά διαθέτει και δράση εξ' επαφής. Είναι ιδιαίτερα δραστικό εναντίον διαφόρων εντόμων των τάξεων των Λεπιδοπτέρων, Διπτέρων και Κολεοπτέρων, καθώς και εναντίον μυρμηγκιών και τερμιτών. Είναι νευροτοξικό και δρα με διαφορετικό μηχανισμό από τα περισσότερα εντομοκτόνα, στοχεύοντας στο νικοτινικό ακετυλοχολινικό υποδοχέα (nicotinic acetylcholine receptor) και κυρίως τον υποδοχέα του γ-αμινο-βουτυρικού οξέως (GABA), στις νευρικές ίνες. Είναι ασταθές και γενικά δεν παρέχει έλεγχο μεγάλης διάρκειας αλλά είναι μετρίως τοξικό στα ψάρια και έχει πολύ χαμηλή τοξικότητα σε πουλιά και θηλαστικά. Θεωρείται ως ένα από τα νέα «βιοορθολογικά» εντομοκτόνα (biorational pesticides) που μπορούν να συμμετέχουν

ασφαλώς στα προγράμματα ολοκληρωμένης καταπολέμησης (Thompson *et al.* 2002, Williams *et al.* 2003, Bond *et al.* 2004, WHO 2007).

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικά σκευάσματα Spinosad και συγκεκριμένα ένα σε μορφή συμπυκνωμένου αιωρήματος (SC), όμοιο με το εμπορικό σκεύασμα Mozkill 120 SC και ένα σε μορφή βρέξιμης σκόνης (WP), με την κωδική ονομασία BAS 320 FBI, και τα δύο της εταιρείας Dow AgroSciences S.A.S. Οι δόσεις που επιλέχθηκαν για να χρησιμοποιηθούν ήταν οι μικρότερες προτεινόμενες δόσεις του παρασκευαστή και αντιστοιχούσαν σε 6,5 ml/στρ. για το SL και 1 ppm δ.ο. για το σκεύασμα σε μορφή WP, αντίστοιχα.

Temephos

Το temephos είναι ένα ετεροκυκλικό οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί για μεγάλο χρονικό διάστημα και περισσότερο από κάθε άλλο σκεύασμα, ως προνυμφοκτόνο, σε προγράμματα αντιμετώπισης κοννουπιών.



Εικόνα 6.4. Χημική δομή της δραστικής ουσίας temephos.

Εξαιτίας της σχετικά χαμηλής τοξικότητάς του στα θηλαστικά ($LD_{50} = 2030 \text{ mg/kg}$) έχει χρησιμοποιηθεί στα περισσότερα υδατικά περιβάλλοντα συμπεριλαμβανομένου και του νερού που προοριζόταν για ανθρώπινη κατανάλωση (Moreau 1988). Όμως σε περιοχές όπου έγινε υπερβολική χρήση του όπως κάποιες αγροτικές περιοχές της Γαλλίας και της Ισπανίας πολλοί πληθυσμοί των καταπολεμούμενων εντόμων εμφάνισαν ανθεκτικότητα στο temephos (Becker *et al.* 2003).

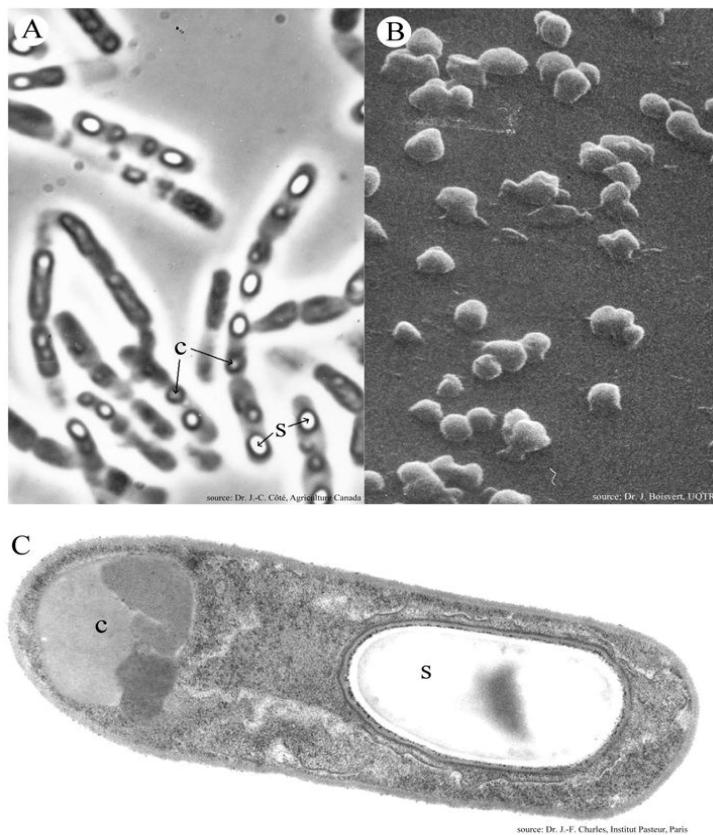
Στο σημείο αυτό θα πρέπει να διευκρινιστεί ότι σήμερα το temephos δεν έχει πλέον έγκριση κυκλοφορίας στη χώρα μας ή σε κάποια άλλη Ευρωπαϊκή χώρα, γιατί η εταιρεία παρασκευής του δεν υποστήριξε τη συγκεκριμένη δραστική για ένταξή της στο Παράρτημα των εγκεκριμένων στην Ευρωπαϊκή Ένωση βιοκτόνων, σύμφωνα με την Οδηγία 98/8/ΕΕ. Εντούτοις περιλαμβάνεται στην παρούσα μελέτη καθώς την εποχή πραγματοποίησης των πειραμάτων ήταν από τα ελάχιστα εγκεκριμένα στη χώρα μας βιοκτόνα, με μεγάλη ιστορία εφαρμογής ενώ ακόμη και σήμερα χρησιμοποιείται σχεδόν σε όλες τις χώρες του κόσμου, εκτός Ευρωπαϊκής Ένωσης. Επιπλέον, επειδή πάντοτε σχεδόν επιδείκνυε άριστη προνυμφοκτόνο δράση χρησιμοποιείται συνήθως στη διεθνή βιβλιογραφία, ως προνυμφοκτόνο αναφοράς.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Abate® 50EC, μορφής γαλακτωματοποιήσιμου διαλύματος της εταιρείας BASF AGRO HELLAS S.A., περιεκτικότητας 50% temephos β/ο. Η δόση που επιλέχθηκε ήταν η μικρότερη προτεινόμενη δόση του παρασκευαστή και αντιστοιχεί σε 15 cm³/στρ.

Bacillus thuringiensis subsp. israelensis (B.t.i.)

Τα βασικά πλεονεκτήματα της χρήσης του B.t.i. στα προγράμματα καταπολέμησης προνυμφών κουνουπιών είναι η εκλεκτικότητα της δράσης του, αποκλειστικά εναντίον των προνυμφών υδρόβιων διπτέρων και η απουσία περιπτώσεων ανάπτυξης ανθεκτικότητας μετά από 20 τουλάχιστον χρόνια ευρείας χρήσης.

Από τους περισσότερους θεωρείται βιολογικό σκεύασμα, αν και η αλήθεια είναι ότι δεν περιέχει ζώντα κύτταρα του βακτηρίου, αλλά νεκρά σπόρια, τα οποία όμως περιέχουν τις ενδοτοξίνες (Cry4A, Cry4B, Cry10A, Cry11A και CytA) οι οποίες ευθύνονται και για την εντομοτοξική του δράση.



Εικόνα 6.5. *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Α, Κ), με σπόρια [s] και παρασπορικά κρυσταλλικά έγκλειστα σωμάτια [c]. Τα σπόρια είναι ανθεκτικές μορφές κυττάρων που δημιουργεί το συγκεκριμένο βακτήριο κατά τη διάρκεια του κύκλου ζωής ώστε να είναι ικανός να επιβιώνει σε δυσμενείς συνθήκες. Κατά τη διάρκεια της σπορίωσης παράγονται ορισμένες πρωτεΐνες, που εναποθέτονται με τη μορφή κρυστάλλων (Β) μέσα στα σπόρια. Στις πρωτεΐνες αυτές οφείλεται και η προνυμφοκτόνος δράση του.

Η χρήση όμως του B.t.i. στις προσπάθειες αντιμετώπισης των κουνουπιών παρουσιάζει και ορισμένα μειονεκτήματα. Συγκεκριμένα είναι σχετικά ευαίσθητο στο φως με αποτέλεσμα η προνυμφοκτόνος δράση του να διαρκεί λίγες μόνο ημέρες (1-2 ημέρες). Για το λόγο αυτό η εφαρμογή του πρέπει να επαναλαμβάνεται σε σχετικά σύντομα χρονικά διαστήματα. Επίσης, δεν έχει δράση στις νύμφες και στις προνύμφες που έχουν σταματήσει να τρέφονται, δηλαδή κατά το διάστημα λίγο πριν ξεκινήσει η μεταμόρφωσή τους σε νύμφες. Το κόστος χρήσης του είναι σχετικά υψηλό και η εφαρμογή του απαιτεί εμπειρία και εξειδικευμένες γνώσεις. Τέλος, συχνά παρουσιάζει μικρότερη αποτελεσματικότητα από την αναμενόμενη καθώς το τελικό προνυμφοκτόνο αποτέλεσμα επηρεάζεται και από άλλους παράγοντες όπως η ποσότητα οργανικής ουσίας στο νερό κλπ.

Στην παρούσα μελέτη χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικά εμπορικά σκευάσματα B.t.i. και συγκεκριμένα τα: Vectobac SL, μορφής διαλυόμενου υγρού (SL) [Bt (serotype H-14), 13,2 g/L (ή 1200 International Toxic Units/mg), Abbot Laboratories, BASF] και Bactimos WP, μορφής βρεξιμης σκόνης (WP) [Bt (serotype H-14), 6000 International Toxic Units/mg)]. Οι δόσεις που επιλέχθηκαν για να χρησιμοποιηθούν ήταν οι μικρότερες προτεινόμενες δόσεις των παρασκευαστών και αντιστοιχούσαν σε 80 ml/στρ. για το SL και 0,6 gr/m² για το σκεύασμα σε μορφή WP, αντίστοιχα.

6.2.1.2. Είδη κουνουπιών που χρησιμοποιήθηκαν

Στις συγκεκριμένες βιοδοκιμές εξετάστηκε η ευαισθησία προνυμφών κουνουπιών από 4 διαφορετικά γένη και συγκεκριμένα τα γένη *Culex*, *Culiseta*, *Aedes* και *Anopheles*.

Τα απαιτούμενα για τις βιοδοκιμές έντομα προέρχονταν από φυσικούς πληθυσμούς κουνουπιών του Νομού Αττικής και σε μία περίπτωση από εργαστηριακή εκτροφή του είδους, στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο (Μ.Φ.Ι.).

Η συλλογή των προνυμφών γίνονταν από φυσικές εστίες του είδους με τη βοήθεια προνυμφοσυλλέκτη, από σημεία που διέθεταν μεγάλους πληθυσμούς. Αμέσως μετά την κάθε βύθιση του προνυμφοσυλλέκτη, διαχωρίζαμε τις προνύμφες των κουνουπιών από τις υπόλοιπες υδρόβιες προνύμφες εντόμων, με απλή επισκόπηση (Service 1993).

Ο προσδιορισμός του είδους, γινόταν στο Εργαστήριο μετά από δειγματοληπτική εξέταση των προνυμφών του δείγματος, με μικροσκόπιο η στρεοσκόπιο και σύμφωνα με τις κλείδες προσδιορισμού των Darsie and Samanidou (1997) και Μπέτζιου (1989). Εφόσον οι προνύμφες προέρχονταν από το ζητούμενο κάθε φορά είδος και ήταν κατάλληλες από φυσιολογικής άποψης, χρησιμοποιούνταν στις αντίστοιχες βιοδοκιμές. Χρησιμοποιήθηκαν μόνο προνύμφες, ανεπτυγμένες 3ης και νεαρές 4ης ηλικίας, οι οποίες ήταν σε καλή κατάσταση και εμφάνιζαν υγιή συμπεριφορά.

Επίσης ένα μικρό ποσοστό των προνυμφών διατηρούνταν στο εντομοτροφείο, μέχρι το στάδιο του τελείου εντόμου, για την τελική επιβεβαίωση της ταυτοποίησης του είδους.

Είδη κουνουπιών που συλλέχθηκαν και χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές καθώς και οι αντίστοιχες περιοχές συλλογής τους ήταν:

- ***Culex pipiens*** (πληθυσμός Α): Τα έντομα αυτά προέρχονται από την εργαστηριακή αποικία του Εργαστηρίου Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, του Μ.Φ.Ι., ηλικίας 35 ετών περίπου και χρησιμοποιήθηκαν επειδή, λόγω της παλαιότητας της αποικίας, τα συγκεκριμένα έντομα θεωρούνται ότι προέρχονται από πληθυσμό ευαίσθητο στα βιοκτόνα (δεν έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα). Αυτό έχει επιβεβαιωθεί και από παλαιότερα πειράματα του εργαστηρίου.
Θα πρέπει να σημειωθεί ότι τα συγκεκριμένα έντομα ανήκουν στο βιότυπο *molestus* του είδους *Cx. pipiens*.
- ***Culex pipiens*** (πληθυσμός Β): Τα έντομα αυτά προέρχονται από φυσικούς πληθυσμούς του είδους στην Αθήνα.
Για τα συγκεκριμένα έντομα δεν ήταν δυνατή η ταυτοποίηση του βιοτύπου, καθώς τα έντομα προέρχονται από φυσικούς πληθυσμούς και όπως έχει αναφερθεί οι δύο βιότυποι, *Cx. pipiens* biotype *molestus* και *Cx. pipiens* biotype *pipens*, δεν διαφέρουν μεταξύ τους μορφολογικά.
- ***Aedes cretinus***: Τα έντομα προέρχονται από φυσικούς πληθυσμούς του είδους στα Βόρεια Προάστια, της Αττικής.
Ειδικά για το *Ae. cretinus*, οι προνύμφες που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές προέρχονται από εκκόλαψη στο Εργαστήριο ωάν από τις παγίδες ωθεσίας και όχι από τη συλλογή προνυμφών από φυσικές εστίες. Ο λόγος είναι ότι αφενός, υπήρχε αφθονία και ομοιομορφία προνυμφών για τις βιοδοκιμές και αφετέρου όπως προαναφέρθηκε οι φυσικές εστίες προνυμφών που εντοπίστηκαν κατά τη διάρκεια της μελέτης ήταν σχετικά λίγες και ο αριθμός των προνυμφών που περιείχαν δεν θα μπορούσε να καλύψει τις ανάγκες του πειραματισμού.
- ***Anopheles maculipennis***: Τα έντομα προέρχονται από φυσικούς πληθυσμούς του είδους στην περιοχή Σχοινιά.
- ***Anopheles claviger***: Τα έντομα προέρχονται από φυσικούς πληθυσμούς του είδους στην περιοχή Σχοινιά.
- ***Culiseta annulata***: Τα έντομα προέρχονται από φυσικούς πληθυσμούς του είδους στην περιοχή του Φαληρικού Δέλτα.
- ***Culiseta longiareolata***: Τα έντομα προέρχονται από φυσικούς πληθυσμούς του είδους στην περιοχή του Φαληρικού Δέλτα.

Οι πληθυσμοί των δύο παραπάνω ειδών του γένους *Anopheles* όπως και αυτές των ειδών του γένους *Culiseta*, χρησιμοποιήθηκαν μαζί στις βιοδοκιμές αφού δεν ήταν δυνατός ο διαχωρισμός των προνυμφών του κάθε είδους, χωρίς να προκληθούν βλάβες στις προνύμφες. Από την ταυτοποίηση των προνυμφών, μετά τις βιοδοκιμές προέκυψε ότι η αναλογία των ατόμων του κάθε είδους ήταν 35:65 για τα είδη *An. maculipennis* : *An. claviger* και 42:58 για τα είδη *Cs. annulata* : *Cs. longiareolata*, αντίστοιχα.

Όπως έχει αναφερθεί οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο αλλά με φυσικούς πληθυσμούς προνυμφών κουνουπιών. Για το λόγο αυτό, οι συγκεκριμένες βιοδοκιμές δεν έγιναν όλες ταυτόχρονα για όλα τα είδη και όλα τα βιοκτόνα αλλά γίνονταν τμηματικά ανάλογα με τη διαθεσιμότητα των προνυμφών των κουνουπιών.

6.2.1.3. Μέθοδος βιοδοκιμών

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, του Μπενακείου 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 $25\pm2^{\circ}\text{C}$, φωτοπερίοδο 14 ωρών φως και 10 ωρών σκοτάδι 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 (WHO 1978, 1981e, 1981c, 1981b, 2005).

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, η πραγματοποίηση των βιοδοκιμών περιλαμβάνει τα ακόλουθα βήματα:

6.2.1.3.1. Απαιτούμενα υλικά

Για την εκτέλεση της βιοδοκιμής απαιτούνται:

- α) Γυάλινα δοχεία χωρητικότητας 100 ml τα οποία δεν παρουσιάζουν καμιά απορρόφηση και μπορούν να χρησιμοποιηθούν πολλές φορές, αρκεί να καθαρίζονται προσεκτικά. Στην περίπτωσή μας τα γυάλινα δοχεία ήταν ποτήρια ζέσεως των 100 ml ή βαζάκια από παιδικές τροφές (π.χ. GERBER). Τα τελευταία είχαν το πλεονέκτημα ότι ήταν πιο ανθεκτικά. Ο αριθμός των δοχείων που απαιτούνται για κάθε εντομοκτόνο και για κάθε επανάληψη είναι ίσος με τον αριθμό των δόσεων συν ένα επιπλέον για το μάρτυρα. Εάν οι επαναλήψεις δεν μπουν την ίδια ημέρα, αλλά μπαίνουν μία κάθε μέρα, τότε ο αριθμός των βάζων είναι αυτός που υπολογίσαμε ενώ αν μπουν όλες την ίδια ημέρα πρέπει να είναι 4πλάσιος ή 5πλάσιος, ανάλογα με το εάν έχουμε 4 ή 5 επαναλήψεις.
- β) Ένας ογκομετρικός κύλινδρος των 100 ml, ή οποιοσδήποτε άλλος κύλινδρος με τον οποίο μπορούμε να μετρήσουμε με ακρίβεια 99 ml νερού.
- γ) Ένα σιφώνιο του 1 ml με το οποίο θα ρίχνουμε το διάλυμα του παρασιτοκτόνου μέσα στα γυάλινα δοχεία.
- δ) Διαλύματα του βιοκτόνου ίσα σε αριθμό με τον αριθμό των δόσεων και με πυκνότητα 100πλάσια από την αντίστοιχη δόση για το κάθε ένα.

- ε) Προνύμφες κουνουπιών, ανεπτυγμένες 3^{ης} ή νεαρές 4^{ης} ηλικίας και σε αριθμό αρκετό να φθάσουν για να τοποθετηθούν 20 προνύμφες σε κάθε γυάλινο δοχείο. Οι προνύμφες πρέπει να είναι ζωηρές, ενώ εκείνες που παρουσιάζουν ανώμαλες κινήσεις ή κάθε είδους άλλες ανωμαλίες απορρίπτονται.
- στ) Νερό αποσταγμένο ή βρόχινο ή από το δίκτυο υδρεύσεως, εφόσον δεν υπάρχουν σ' αυτό προσμίξεις χημικών ουσιών που μπορούν να προκαλέσουν αλλοιώσεις στη χημική σύνθεση των βιοκτόνων ή μεγάλη φυσική θνησιμότητα. Συνήθως το νερό που χρησιμοποιήθηκε στην περίπτωσή μας ήταν νερό βρύσης που είχε συλλεχθεί τουλάχιστον 48 ώρες νωρίτερα και είχε αφεθεί εκτεθειμένο στην ατμόσφαιρα προκειμένου να αποχλωριωθεί. Μερικές φορές είμαστε υποχρεωμένοι να χρησιμοποιήσουμε νερό από τις εστίες αναπτύξεως των προνυμφών, όταν αυτές αναπτύσσονται σε νερό συγκεκριμένης ποιότητας. Η θερμοκρασία του νερού κατά τη διάρκεια της βιοδοκιμής, ήταν 20-30 °C.

ζ) Χώρος κατάλληλος για την εκτέλεση της βιοδοκιμής.

6.2.1.3.2. Καθαριότητα οργάνων και συσκευών

Καθώς η ύπαρξη υπολειμμάτων τοξικών ουσιών στα όργανα και τις συσκευές που χρησιμοποιούμε, μπορεί να αυξήσει τη φυσική θνησιμότητα ή να προκαλέσει απόκλιση στα αποτελέσματα δόθηκε ιδιαίτερη σημασία στην καθαριότητά τους. Για το λόγο αυτό και τα όργανα ήταν από γναλί επειδή μπορούν να καθαριστούν καλύτερα ή ήταν μιας χρήσης.

Τα γυάλινα όργανα (σιφώνια, ογκομετρικές φιάλες, βαζάκια κλπ.) ήταν πλυμένα με ειδικό απορρυπαντικό 2 φορές, είχαν ξεπλυθεί πολύ καλά και είχαν μπει σε κλίβανο για μερικές ώρες. Πριν από τη χρήση τους ξεπλύθηκαν με ακετόνη 3 τουλάχιστον φορές.

6.2.1.3.3. Παρασκευή των διαλυμάτων

Για την εφαρμογή των δόσεων που επιλέχθηκαν από κάθε βιοκτόνο, οι οποίες αντιπροσωπεύουν πολύ μικρές ποσότητες τοξικής ουσίας, ήταν απαραίτητη η παρασκευή διαλυμάτων που θα είχαν μικρότερη συγκέντρωση τοξικής ουσίας από εκείνη των σκευασμάτων των βιοκτόνων.

Για την παρασκευή των διαλυμάτων ελήφθησαν υπόψη οι ακόλουθοι κανόνες:

- α) Η ποσότητα του σκευασμάτος που θα ληφθεί πρέπει να είναι τέτοια που θα μπορεί να μετρηθεί με ακρίβεια.
- β) Ο διαλύτης εκτός του ότι πρέπει να διαλύει καλά την ουσία, δεν πρέπει να προκαλεί τοξικότητα στα έντομα, στις ποσότητες που θα χρησιμοποιηθεί. Στην παρούσα μελέτη ως διαλύτης χρησιμοποιήθηκε αποσταγμένο νερό καθώς υπήρχε κίνδυνος για ορισμένα από τα βιοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν (B.t.i. και spinosad) να

υποστούν σημαντικές αλλιώσεις στη δομή και την αποτελεσματικότητά τους εάν διαλυόντουσαν σε χημικούς διαλύτες όπως η ακετόνη ή η αιθυλική αλκοόλη.

- γ) Η συγκέντρωση της ουσίας στα μητρικά διαλύματα πρέπει να είναι τέτοια ώστε να είναι εύκολη η εφαρμογή των δόσεων με ακρίβεια.
- δ) Από ένα μητρικό διάλυμα είναι δυνατό να παρασκευαστούν πολλές σειρές διαλυμάτων, σε διάφορα χρονικά διαστήματα. Όλες όμως οι σειρές θα πρέπει να έχουν ως ημερομηνία παρασκευής τους την ημερομηνία παρασκευής του μητρικού διαλύματος.
- ε) Ορισμένα από τα μητρικά διαλύματα μπορούν να διατηρηθούν στο ψυγείο (όχι στην κατάψυξη) μόνο εφόσον κάτι τέτοιο είναι αποδεκτό. Έτσι για παράδειγμα, σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, τα οργανοφωσφορικά διαλύματα μπορούν να διατηρηθούν 1-3 μήνες, ενώ τα βιολογικά (B.t.i.) γενικά δεν διατηρούνται επί πολύ.
- στ) Τα διαλύματα που έχουν διατηρηθεί στο ψυγείο, πριν χρησιμοποιηθούν θα πρέπει να αφήνονται να αποκτήσουν τη θερμοκρασία του δωματίου (για να έλθουν στον κανονικό τους όγκο) και να αναταράζονται ισχυρά (για να διαλυθούν οι κρύσταλλοι που τυχόν έχουν σχηματιστεί).
- ζ) Τα εμπορικά σκευάσματα των διαφόρων βιοκτόνων αποθηκεύονται σε δροσερό μέρος και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για όσο χρόνο εγγυάται ο παρασκευαστής τους, ενώ οι χημικά καθαρές ουσίες αποθηκεύονται συνήθως στην κατάψυξη και μπορούν να διατηρηθούν για αρκετά χρόνια.

6.2.1.3.4. Εκτέλεση της βιοδοκιμής

Η διαδικασία εκτέλεσης της βιοδοκιμής με προνύμφες κουνουπιών έχει ως εξής:

- α) Στα καθαρά γυάλινα δοχεία των βιοδοκιμών, μεταγγίζονται 99 ml νερού, αρκετή ώρα πριν από την τοποθέτηση των προνυμφών, ώστε το νερό να αποκτήσει τη θερμοκρασία του χώρου.
- β) Σε κάθε δοχείο τοποθετούνται 20 προνύμφες κουνουπιών, προσέχοντας να μην τραυματιστούν. Οι προνύμφες πρέπει να είναι ζωηρές, ενώ εκείνες που παρουσιάζουν ανωμαλίες ή κάθε είδους μη-φυσιολογική συμπεριφορά απορρίπτονται. Στη συνέχεια αφήνουμε να περάσει λίγος χρόνος για προσαρμοστούν στο νέο περιβάλλον.
- γ) Αφού βεβαιωθούμε ότι οι προνύμφες είναι σε καλή κατάσταση, ρίχνουμε σε κάθε δοχείο 1 ml από το αντίστοιχο διάλυμα βιοκτόνου, που είχε ήδη παρασκευασθεί ώστε να περιέχει την επιθυμητή δόση δραστικής ουσίας και ανακατεύουμε ελαφρά κουνώντας το δοχείο με τέτοιο τρόπο ώστε το περιεχόμενο να αποκτήσει μια περιστροφική κίνηση. Η προσθήκη των διαλυμάτων γίνεται με το ίδιο σιφώνιο, για όλες τις δόσεις του συγκεκριμένου βιοκτόνου, αρχίζοντας από το μάρτυρα, στον

οποίο προσθέτουμε 1 ml διαλύτη (στην περίπτωσή μας αποσταγμένο νερό) και προχωρώντας από τη μικρότερη προς τη μεγαλύτερη δόση.

- δ) Μετά από 24 ώρες γίνεται καταμέτρηση του αριθμού των νεκρών και των ζωντανών προνυμφών ενώ οι τυχόν υπάρχουσες νύμφες, νεκρές ή ζωντανές, δεν λαμβάνονται υπόψη.



Εικόνα 6.6. Βιοδοκιμή με προνύμφες κουνουπιών.

6.2.1.3.5. Καταγραφή και αξιολόγηση των αποτελεσμάτων

Ανάλογα με τον τρόπο που θα γίνει η αξιολόγηση των αποτελεσμάτων, μπορούν να επιλεγούν και διάφοροι τρόποι καταγραφής των αποτελεσμάτων. Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ.) στις κατευθυντήριες οδηγίες του προτείνει συγκεκριμένα στοιχεία τα οποία θα πρέπει να καταγράφονται κατά την πραγματοποίηση βιοδοκιμών (WHO 1981c, 1981e, 1981a, 1981d).

Στην παρούσα μελέτη, τα στοιχεία που καταγράφηκαν για κάθε βιοδοκιμή ήταν τα ακόλουθα:

1. Αύξων αριθμός βιοδοκιμής.
2. Όνομα ερευνητή.
3. Τόπος εκτέλεσης της βιοδοκιμής.
4. Είδος εντόμων που χρησιμοποιήθηκε.

5. Στάδιο (προνύμφη) και ηλικία.
6. Κατάσταση των προνυμφών.
7. Περιοχή και θέσεις συλλογής.
8. Μέθοδος βιοδοκιμής.
9. Βιοκτόνο που δοκιμάστηκε.

Επίσης για κάθε βιοδοκιμή καταγράφηκαν οι επαναλήψεις, οι ημερομηνίες πραγματοποίησης της κάθε δοκιμής, η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία του χώρου καθώς και οι δόσεις και η θνησιμότητα στην κάθε επέμβαση. Επίσης σημειώθηκε και κάθε άλλη πληροφορία που θα μπορούσε να φανεί χρήσιμη στο μέλλον.

Για τον υπολογισμό της θνησιμότητας (%) καταγράφηκαν οι αριθμοί των νεκρών προνυμφών στις 24 και στις 48 ώρες, μετά την τοποθέτηση του βιοκτόνου καθώς και το σύνολο νεκρών και ζωντανών προνυμφών για την κάθε δόση και κάθε επανάληψη. Σύμφωνα με τη μέθοδο του Π.Ο.Υ., που ακολουθήθηκε, στις νεκρές προνύμφες υπολογίζονται και αυτές που έχουν έντονη απόκλιση από τη φυσιολογική συμπεριφορά όπως σπασμούς ή αδυναμία απομάκρυνσης όταν ενοχληθούν ή οι προνύμφες που αδυνατούν να κολυμπήσουν ως την επιφάνεια για να αναπνεύσουν.

Στις περιπτώσεις των ρυθμιστών ανάπτυξης, οι μετρήσεις συνεχίστηκαν καθημερινά μέχρι τη μεταμόρφωση των προνυμφών σε νύμφες και στη συνέχεια σε τέλεια ή το θάνατό τους.

6.2.1.4. Στατιστική ανάλυση

Για κάθε επέμβαση πραγματοποιήθηκαν 5 επαναλήψεις, ενώ σε κάθε σειρά δοκιμών υπήρχαν και 5 επαναλήψεις χωρίς βιοκτόνο, ως μάρτυρες.

Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του κάθε βιοκτόνου έγινε βάσει της θνησιμότητας που καταγράφηκε στις συγκεκριμένες επεμβάσεις του, σε σύγκριση με τη θνησιμότητα στις επεμβάσεις του μάρτυρα. Για να διαπιστωθεί εαν υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά χρησιμοποιήθηκε το κριτήριο του χ^2 βάσει του ποσοστού νεκρών και ζωντανών προνυμφών.

Για την αξιολόγηση των ρυθμιστών ανάπτυξης υπολογίσθηκε και το ποσοστό των προνυμφών που έφτασαν το στάδιο της νύμφης κατά τη διάρκεια των βιοδοκιμών.

6.2.2. Αποτελέσματα

Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών από τις δραστικές ουσίες που δοκιμάστηκαν εναντίον προνυμφών από διάφορα είδη κουνουπιών που δραστηριοποιούνται στο Νομό Αττικής, παρουσιάζονται συνοπτικά στους παρακάτω πίνακες και οι θνησιμότητες δίνονται για τα διαστήματα 24 και 48 ώρες μετά την έναρξη των πειραμάτων. Τα αποτελέσματα διορθώθηκαν με τον τύπο του Abbott (1987).

Στους ίδιους πίνακες παρουσιάζονται, με τη μορφή αστερίσκων και τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης που ακολούθησε.

Συγκεκριμένα: * = στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $P=0,05$

** = στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $P=0,01$

*** = στατιστικά σημαντική διαφορά σε επίπεδο σημαντικότητας $P=0,001$

---- = δεν υπάρχει στατιστικά σημαντική διαφορά

Πίνακας 6.1. Ποσοστά % της θνησιμότητας και αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης στις 24 και 48 ώρες, για προνύμφες κουνουπιών του είδους *Cx. pipiens* biotype *molestus* (Πληθυσμός A, από εργαστηριακή εκτροφή).

Σκεύασμα	24 ώρες				48 ώρες			
	Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με		Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με	
			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)
Mártυρas temephos	99	0	----	***	99	2,02	----	***
	100	100	***	----	100	100	***	----
B.t.i. (WP)	99	100	***	----	99	100	***	----
B.t.i. (SL)	100	96	***	----	100	98	***	----
spinosad (SC)	100	90	***	----	100	91	***	----
spinosad (WP)	91	70,37	***	**	91	84,16	***	----
diflubenzuron	101	0	----	***	101	1,98	----	***
Mártυρas temephos	101	0	----	***	101	1,64	----	***
	100	100	***	----	100	100	***	----
pyriproxyfen (1Kg/στρ.)	101	0	----	***	101	1,64	----	***
pyriproxyfen (40g/m ²)	101	1,64	----	***	101	1,64	----	***

Πίνακας 6.2. Ποσοστά % της θνησιμότητας και αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης στις 24 και 48 ώρες, για προνύμφες κουνουπιών του είδους *Cx. pipiens* (Πληθυσμός B, από φυσικούς πληθυσμούς του είδους).

Σκεύασμα	24 ώρες				48 ώρες			
	Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με		Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με	
			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)
Mártυρas temephos	100	0	----	***	100	1	----	***
	99	100	***	----	99	100	***	----
B.t.i. (WP)	99	100	***	----	99	100	***	----
B.t.i. (SL)	100	90	***	----	100	99	***	----
spinosad (SC)	100	51,90	***	***	100	77,92	***	***
spinosad (WP)	99	58,59	***	***	99	98,99	***	----
diflubenzuron	98	3,06	----	***	98	6,12	***	***
Mártυρas temephos	101	1,64	----	***	101	1,64	----	***
	101	100	***	----	101	100	***	----
pyriproxyfen (1Kg/στρ.)	103	0	----	***	103	1,59	----	***
pyriproxyfen (40g/m ²)	100	0	----	***	100	1,67	----	***

Πίνακας 6.3. Ποσοστά % της θνητικότητας και αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης στις 24 και 48 ώρες, για προνύμφες κουνουπιών του είδους *Ae. cretinus*.

Σκεύασμα	24 ώρες				48 ώρες			
	Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με		Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με	
			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)
Mártυρas temephos	96	5,21	----	***	96	10,42	----	***
B.t.i. (WP)	104	100	***	---	104	100	***	---
B.t.i. (SL)	108	100	***	---	108	100	***	---
spinosad (SC)	79	7,59	----	***	79	83,15	***	---
spinosad (WP)	89	60,67	***	**	89	69,66	***	**
diflubenzuron	94	90,42	***	---	94	97,59	***	***
	89	73,03	***	*	89	100	***	----

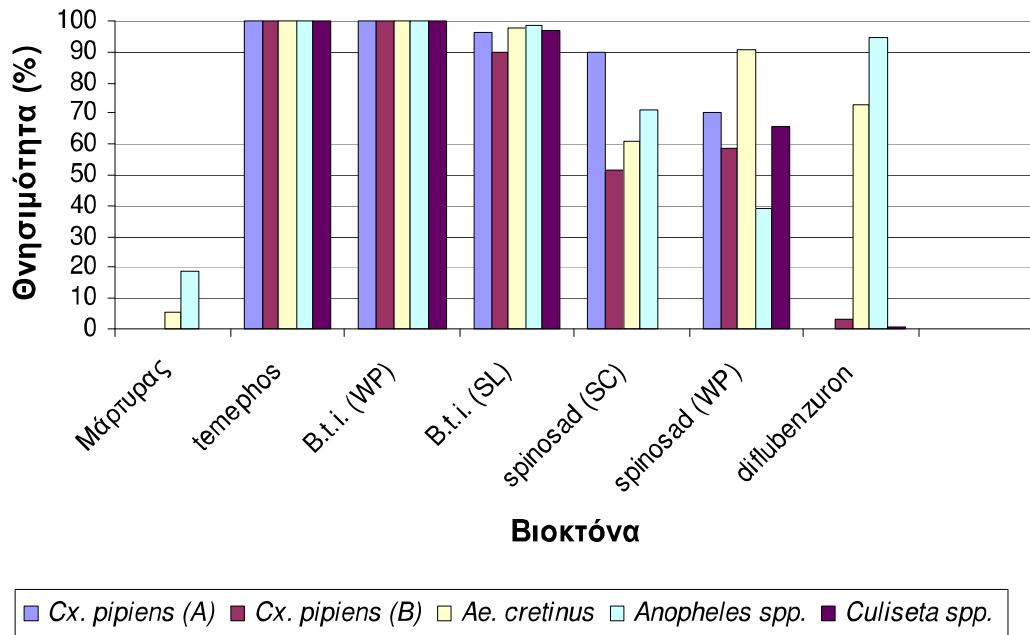
Πίνακας 6.4. Ποσοστά % της θνητικότητας και αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης στις 24 και 48 ώρες, για προνύμφες κουνουπιών των ειδών *An. maculipennis* και *An. claviger* (αναλογία των δύο ειδών επί του συνόλου των προνυμφών 35:65).

Σκεύασμα	24 ώρες				48 ώρες			
	Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με		Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με	
			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)
Mártυρas temephos	105	19,05	----	***	105	28,57	----	***
B.t.i. (WP)	95	100	***	---	95	100	***	---
B.t.i. (SL)	110	100	***	---	110	100	***	---
spinosad (SC)	60	8,33	***	***	60	100	***	---
spinosad (WP)	120	70,83	***	**	120	91,67	***	---
diflubenzuron	90	38,89	----	***	90	98,33	***	***
	95	94,74	***	----	95	100	***	----

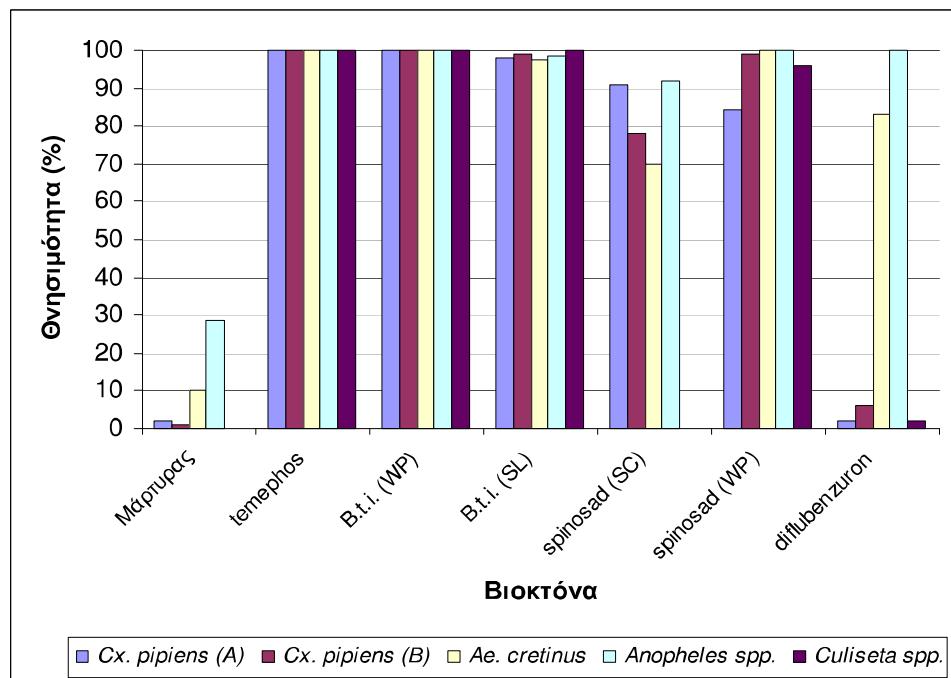
Πίνακας 6.5. Ποσοστά % της θνητικότητας και αποτελέσματα στατιστικής ανάλυσης στις 24 και 48 ώρες, για προνύμφες κουνουπιών των ειδών *Cs. annulata* και *Cs. longiareolata* (αναλογία των δύο ειδών επί του συνόλου των προνυμφών 42:58).

Σκεύασμα	24 ώρες				48 ώρες			
	Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με		Αριθμός προνυμφών	Νεκρές προνύμφες (%)	Στατιστικά σημαντική διαφορά με	
			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)			Μάρτυρα	Σκεύασμα αναφοράς (temephos)
Mártυρas temephos	99	0	----	***	99	0	----	***
B.t.i. (WP)	103	100	***	---	103	100	***	---
B.t.i. (SL)	100	100	***	---	100	100	***	---
spinosad (SC)	99	7,07	**	***	99	2,15	***	---
spinosad (WP)	102	0	----	***	102	0	----	***
diflubenzuron	99	65,66	***	**	99	16,16	***	***
	95	1,05	----	***	95	95,96	***	----

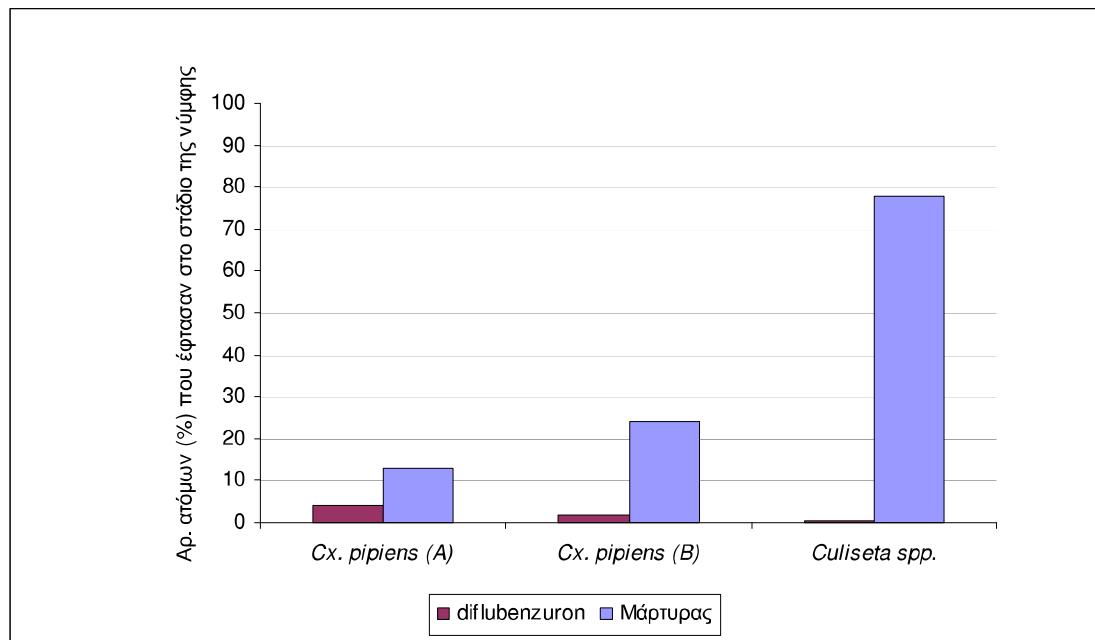
Η γραφική απεικόνιση της αποτελεσματικότητας των βιοκτόνων φαίνεται στις Εικόνα 6.7 και Εικόνα 6.8. ενώ στις Εικόνα 6.9. και Εικόνα 6.10. παρουσιάζεται η αποτελεσματικότητα των ρυθμιστών ανάπτυξης βάσει των ποσοστών νύμφωσης που παρατηρήθηκαν.



Εικόνα 6.7. Αποτελέσματα της θνησιμότητας (%), στις 24 ώρες, για κάθε βιοκτόνο, στα διάφορα είδη κουνουπιών.

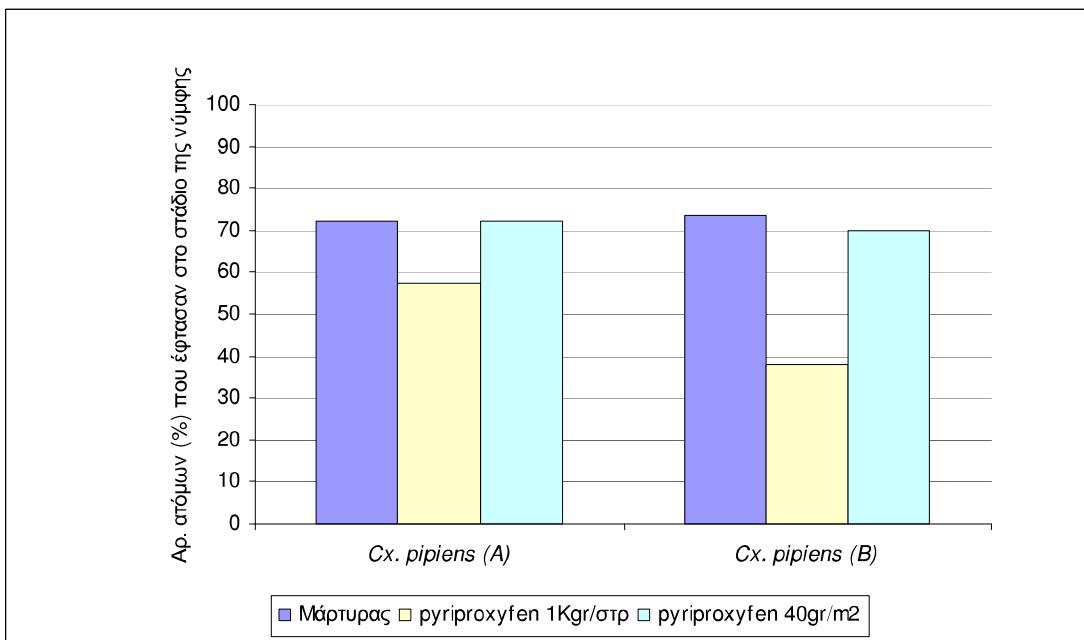


Εικόνα 6.8. Αποτελέσματα της θνησιμότητας (%), στις 48 ώρες, για κάθε βιοκτόνο, στα διάφορα είδη κουνουπιών.



Εικόνα 6.9. Ποσοστά νύμφωσης (%) των προνυμφών που εκτέθηκαν στο diflubenzuron.

Σημείωση: Η στατιστική ανάλυση με το κριτήριο του χ^2 έδειξε ότι για τον πληθυσμό Α του *Cx. pipiens* υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα, σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 ενώ για τον πληθυσμό Β του *Cx. pipiens* και τα *Culiseta* spp. η στατιστικά σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα ήταν σε επίπεδο σημαντικότητας 0,001.



Εικόνα 6.10. Ποσοστά νύμφωσης (%) των προνυμφών που εκτέθηκαν στο pyriproxyfen.

Σημείωση: Η στατιστική ανάλυση με το κριτήριο του χ^2 έδειξε ότι για το pyriproxyfen στη δόση των 1 Kg/στρ, στον πληθυσμό Α του *Cx. pipiens* υπήρχε στατιστικά σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα, σε επίπεδο σημαντικότητας 0,05 ενώ για τον πληθυσμό Β του *Cx. pipiens* η στατιστικά σημαντική διαφορά με τον μάρτυρα ήταν σε επίπεδο σημαντικότητας

0,001. Η σύγκριση του μάρτυρα με το pyriproxyfen στη δόση των 40 g/m² δεν εμφάνισε καμία στατιστικά σημαντική διαφορά.

Είναι σημαντικό όμως να σημειωθεί για το pyriproxyfen (και στις δύο δόσεις) ότι η θνησιμότητα των νυμφών που σχηματίστηκαν ήταν πολύ μεγάλη και ανήλθε στο ποσοστό 98,7-100 % ενώ αντιθέτως η θνησιμότητα των νυμφών του μάρτυρα ήταν μηδαμινή.

Από τα παραπάνω αποτελέσματα προέκυψε ότι τα διάφορα είδη κουνουπιών εμφάνισαν σημαντικές διαφορές ως προς την ευαισθησία τους στα προνυμφοκτόνα σκευάσματα στα οποία εκτέθηκαν. Το γεγονός αυτό καταδεικνύει την ανάγκη για πραγματοποίηση εντομολογικής έρευνας και διεξαγωγής βιοδοκιμών πριν την κατάρτιση και εφαρμογή προγραμμάτων αντιμετώπισης των κουνουπιών σε μια περιοχή. Θα πρέπει δηλαδή να εντοπίζονται τα συγκεκριμένα είδη κουνουπιών που προκαλούν προβλήματα σε μια περιοχή και για αυτά να πραγματοποιούνται βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας με τα διαθέσιμα βιοκτόνα, προκειμένου να εξασφαλίζεται με τον καλύτερο τρόπο η αποτελεσματικότητα των επεμβάσεων.

Οι διαφορές μεταξύ των δύο πληθυσμών του ιδίου είδους που δοκιμάστηκαν ίσως οφείλονται στον διαφορετικό βιότυπο (*moestus* ή *pipiens*) ή στο γεγονός ότι τα έντομα που προέρχονται από εργαστηριακή εκτροφή είναι γενικά περισσότερο ευαίσθητα από αυτά των άγριων πληθυσμών.

Από τα βιοκτόνα που δοκιμάστηκαν, σε όλα τα είδη κουνουπιών, τα υψηλότερα ποσοστά θνησιμότητας εμφάνισε το *temephos* καθώς και τα βιολογικά σκευάσματα του B.t.i. Ικανοποιητική αποτελεσματικότητα παρουσίασαν το spinosad (WP) και ακολούθησαν με επίσης ικανοποιητικά αποτελέσματα το spinosad (SC) και οι ρυθμιστές ανάπτυξης.

Επίσης, οι συγκεκριμένες βιοδοκιμές αν και είχαν ως αντικειμενικό σκοπό τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας των διαθέσιμων στη χώρα μας βιοκτόνων εναντίον προνυμφών των κουνουπιών, παράλληλα θα μπορούν να θεωρηθούν και ως μια δοκιμή για τον έλεγχο πιθανής ανάπτυξης ανθεκτικότητας στους πληθυσμούς των κουνουπιών του Νομού Αττικής. Αυτό πραγματοποιήθηκε έμμεσα, εάν θεωρήσουμε ότι η μικρότερη προτεινόμενη από τον παρασκευαστή δόση κάθε βιοκτόνου, συνιστά και ένα είδος πρακτικά εφαρμόσιμης “διαγνωστικής δόσης”. Έτσι, τα στοιχεία αυτά μπορεί να μην αποτελούν, υπό την αυστηρή έννοια, μελέτη της ανθεκτικότητας του πληθυσμού ενός είδους, σε κάποιο βιοκτόνο (αυτό θα απαιτούσε χρήση καθαρών δραστικών ουσιών και τη χάραξη της καμπύλης ευαισθησίας του κάθε βιοκτόνου, για εξακριβωμένα ευαίσθητους πληθυσμούς του είδους) αλλά στην πράξη, ακόμη και αυτές οι βιοδοκιμές παρέχουν χρήσιμες πληροφορίες και για την ανθεκτικότητα των κουνουπιών της συγκεκριμένης περιοχής. Έτσι, ένας ανθεκτικός πληθυσμός κουνουπιών αναμένεται να εμφανίζει κατά τις βιοδοκιμές μηδαμινή ή πολύ μικρή θνησιμότητα στις μικρότερες από τον παρασκευαστή προτεινόμενες δόσεις καθώς αυτές έχουν καθοριστεί με βάση τη συμπεριφορά των ευαίσθητων πληθυσμών των περισσοτέρων ειδών κουνουπιών.

Από τα παραπάνω προκύπτει ότι όλα τα βιοκτόνα που ελέγχθηκαν κατά την παρούσα μελέτη θα μπορούσαν να ενταχθούν με επιτυχία στα προγράμματα αντιμετώπισης των κουνουπιών στον Νομό Αττικής.

6.3. Βιοδοκιμές αιθέριων ελαίων ελληνικών φυτών εναντίον των προνυμφών των κουνουπιών

Όπως έχει αναφερθεί, στην παρούσα μελέτη εκτός από τα κυκλοφορούντα στη χώρα μας βιοκτόνα δοκιμάστηκαν στο Εργαστήριο, και διάφορες άλλες φυσικής προέλευσης ουσίες, για την ανίχνευση πιθανής αποτελεσματικότητας εναντίον προνυμφών των κουνουπιών. Οι ουσίες αυτές ήταν ως επί το πλείστον αιθέρια έλαια ή εκχυλίσματα ενδημικών της Ελλάδος ειδών φυτών.

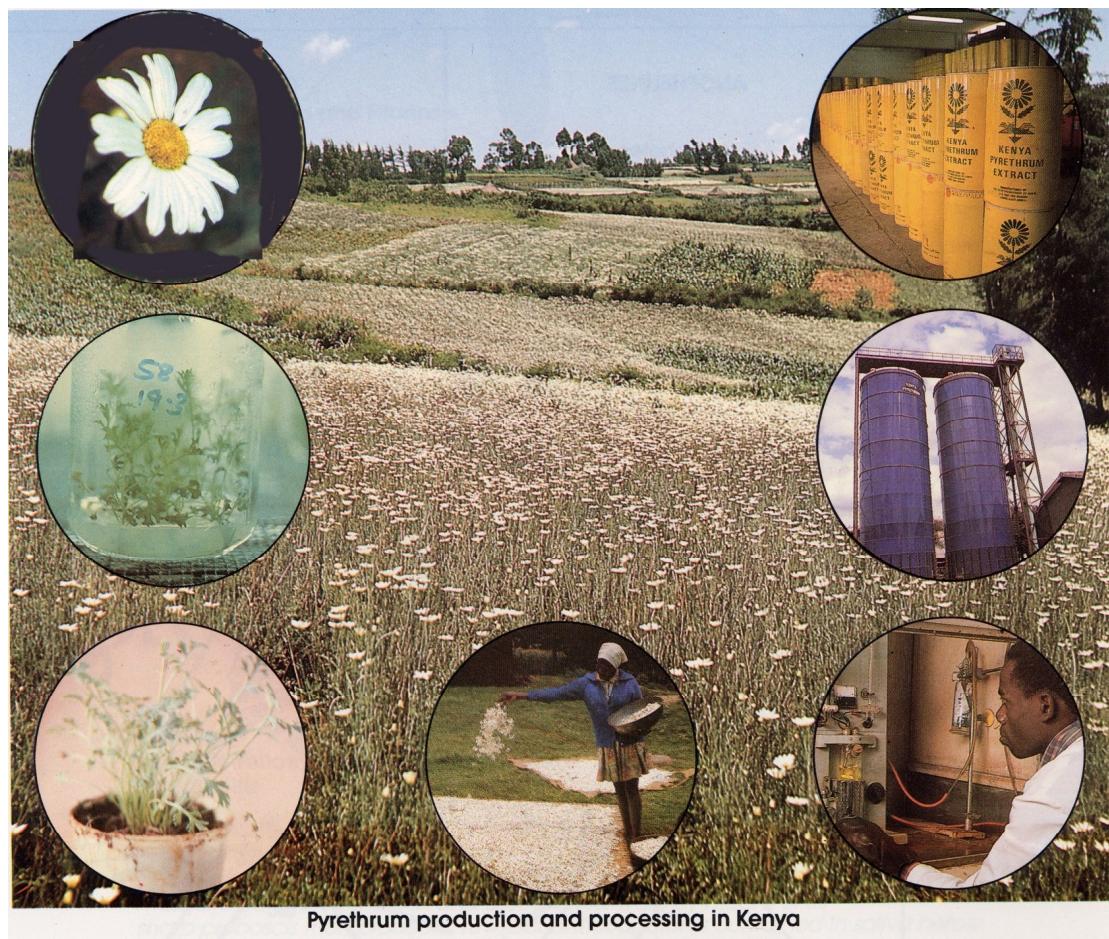
6.3.1. Γενικά στοιχεία για τα αιθέρια έλαια

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, Labiateae, 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.

Επίσης, από τις αρχές τουλάχιστον του προηγούμενου αιώνα έχουν ανακαλυφθεί οι εντομοκτόνες ή απωθητικές ιδιότητες πολλών φυτικών παραγώγων με γνωστότερη ίσως την περίπτωση του πυρέθρου και το οποίο μάλιστα χρησιμοποιείται ακόμη και σήμερα στη φυσική του μορφή (φυσικές πυρεθρίνες) στη σύνθεση διαφόρων σύγχρονων βιοκτόνων.

Οι φυσικές πυρεθρίνες ή φυσικό πύρεθρο είναι εστέρες που παράγονται από εκχύλιση των ανθέων ενός είδους χρυσανθέμου, του *Chrysanthemum cinerariaefolium* (οικ. Compositae). Οι ξηρές ανθικές κεφαλές (ανθοταξίες) του περιέχουν 0,7-3 % και κατά μέσο όρο 1,2 % φυσικές πυρεθρίνες, που είναι μείγμα 4 ή 6 διαφορετικών εντομοκτόνων ουσιών. Ένα τυπικό εκχύλισμα πυρέθρου περιέχει τα ακόλουθα ποσοστά πυρεθρινών, χωρίς να ληφθούν υπόψη οι cis και trans ισομέρειες στα συστατικά των εστέρων αυτών: pyrethrin I (35 %), pyrethrin II (32 %), cinerin I (10 %), cinerin II (14 %), jasmolin I (5 %) και jasmolin II (4 %). Εμφανίζουν πολύ καλή εντομοκτόνη δράση αλλά η παρασκευή τους είναι σχετικά ακριβή και οι παραγόμενες δραστικές ουσίες είναι ασταθείς στην υπεριώδη ακτινοβολία και στη θερμοκρασία. Διαθέτουν όμως χαμηλή τοξικότητα απέναντι στα θηλαστικά και για το λόγο αυτό, χρησιμοποιούνται ακόμη σε αρκετά βιοκτόνα, που προορίζονται κυρίως για εφαρμογή σε εσωτερικούς χώρους.



Εικόνα 6.11. Σύγχρονη καλλιέργεια *C. cinerariaefolium* στην Κένυα για παραγωγή πυρέθρου.

Άλλα φυσικά εντομοκτόνα, όπως η ροτενόνη (παράγεται από τις ρίζες του φυτού *Derris elliptica*), έχουν χρησιμοποιηθεί αρκετά στο παρελθόν ακόμη και στην Ελλάδα αλλά η χρήση τους έχει εκτοπιστεί από τα συνθετικά χημικά εντομοκτόνα.

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες όμως, μετά την εκτεταμένη και πολλές φορές αλόγιστη χρήση συνθετικών χημικών εντομοκτόνων, η οποία συνοδεύτηκε και από προβλήματα σοβαρής επιβάρυνσης του φυσικού περιβάλλοντος καθώς και από την επέκταση του φαινομένου της ανθεκτικότητας, τα φυσικής προέλευσης βιοκτόνα αποτελούν πάλι ενδιαφέρον αντικείμενο για την επιστημονική κοινότητα. Το σημαντικότερο ίσως πλεονέκτημα που διαθέτουν οι ουσίες αυτές, εκτός από την ικανοποιητική δραστικότητα εναντίον των εντόμων, είναι η ασφάλεια της χρησιμοποίησής τους για το περιβάλλον και τον άνθρωπο. Παρά το ότι η δράση των αιθέριων ελαίων, καθώς και των κύριων συστατικών τους, θεωρείται νευροτοξική, οι συγκεκριμένες ουσίες δεν έχουν μεγάλη τοξικότητα για τα θηλαστικά. Επίσης ισχυρό πλεονέκτημα αποτελεί και το γεγονός ότι δεν εμφανίζεται σημαντική ανάπτυξη ανθεκτικότητας από τα έντομα, όπως στις υπόλοιπες εντομοκτόνες ουσίες.

Σήμερα, γνωρίζουμε ότι υπάρχουν περισσότερα από 2.000 είδη φυτών που παράγουν χημικές ενώσεις με εντομοκτόνες ιδιότητες (Macedo *et al.* 1997, El Hag *et al.* 1999,

Rahuman *et al.* 2000, Ratnayake *et al.* 2001, Mongelli *et al.* 2002, Trabousli *et al.* 2002, Yang *et al.* 2002, Jeyabalan *et al.* 2003, Yang *et al.* 2003, Cheng *et al.* 2004, Joseph *et al.* 2004). Περισσότερα από 340 είδη φυτών παράγουν ουσίες των οποίων η δράση τους έχει αποδειχθεί και εναντίον των κουνουπιών (Sukumar *et al.* 1991, Trabousli *et al.* 2002, Amer and Mehlhorn 2006).

Η δράση των διαφόρων αιθέριων ελαίων στα έντομα επεκτείνεται και πέρα από την απλή τοξική τους εντομοκτόνο δράση μέσω επαφής ή του στομάχου καθ' όσον εμφανίζουν και άλλες σημαντικές βιολογικές δράσεις όπως η απωθητικότητα, η ανάσχεση λήψης τροφής και η αποτροπή ωτοκίας (Regnault-Roger 1997, Isman 2000, 2006, Isman and Machial 2006, Regnault-Roger and Philogene 2008). Επίσης, σε αρκετές περιπτώσεις έχει παρατηρηθεί ρυθμιστική της ανάπτυξης των εντόμων καθώς και στειρωτική δράση των αιθέριων ελαίων. 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 (Harwood *et al.* 1990, Papachristos and Stamopoulos 2002, 2004, Petракis *et al.* 2005, Isman *et al.* 2008).

Αποτέλεσμα των παραπάνω είναι ότι, αν και η έρευνα στο θέμα αυτό έχει ακόμα πολύ δρόμο να διανύσει ακόμη, ωστόσο τα πρώτα προϊόντα βασισμένα σε αιθέρια έλαια άρχισαν να κυκλοφορούν στο εμπόριο και φαίνεται ότι έχουν σημαντική αποτελεσματικότητα (πχ. εντομοκτόνα με βάση την αζαδιρακτίνη ή απωθητικά με βάση τη σιτρονέλλα).

6.3.1.1. Βιοσύνθεση των αιθέριων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια είναι πολυσύνθετα μίγματα οργανικών πτητικών ουσιών των οποίων η σύνθεσή τους διαφέρει στα διάφορα είδη ή ακόμη και στις ποικιλίες των φυτών του ιδίου είδους. 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.

A) Στα οξυγονούχα, που είναι και τα συστατικά στα οποία οφείλεται το χαρακτηριστικό άρωμα των αιθέριων ελαίων, τα οποία είναι τα εξής:

- Αλκοόλες, όπως η γερανιόλη, η μινθόλη, η ευκαλυπτόλη κ.α.
- Αλδεϋδες, όπως η βανιλλίνη, η κιτράλη, η σαφρανάλη κ.α.
- Οξέα- εστέρες, όπως το βενζοϊκό οξύ, ο οξικός γερανυλεστέρας κ.α.
- Φαινόλες, όπως η καρβακρόλη, η εστραγόλη, η ανιθόλη, η θυμόλη κ.α.
- Κετόνες, όπως η μενθόνη, η καμφορά κ.α.

B) Στα μη οξυγονούγα, 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 το λιμονένιο, το πινένιο, το καμφένιο κ.α.

Η βιοσύνθεση των αιθέριων ελαίων, είναι μια σειρά διαφόρων χημικών αντιδράσεων που γίνονται μέσα στους φυτικούς ιστούς, μέχρι τον τελικό σχηματισμό τους. Επίσης, η διεργασία της βιοσύνθεσης των αιθέριων ελαίων σε πολλά σημεία παραμένει αδιευκρίνιστη ακόμη και σήμερα, παρά τις αδιαμφισβήτητες προόδους που έχουν επιτευχθεί στη χημεία και τη βιοχημεία.

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 βιαστικής περιόδου έδειξαν μεγάλες διαφορές ως προς τη χημική τους σύσταση. Επίσης διαφορές παρατηρούνται και στο αιθέριο έλαιο νεαρών και ώριμων φύλλων του ίδιου φυτού.

6.3.1.2. Ο ρόλος των αιθέριων ελαίων

Εκτός από τη βιοσύνθεση και ο ρόλος επίσης των αιθέριων ελαίων στη φυσιολογία του φυτού δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως. Στα αιθέρια έλαια έχουν αποδοθεί κατά καιρούς οι ακόλουθες λειτουργίες:

- Το αιθέριο έλαιο δρα απωθητικά και τοξικά για διαφόρους εχθρούς ή παθογόνα σε ορισμένα αρωματικά φυτά.
- Προστατεύουν τα φυτά από υψηλές θερμοκρασίες, λόγω της εύκολης εξάτμισή τους.
- Το άρωμα των ανθέων 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.
- Ανξάνεται η ταχύτητα κυκλοφορίας των θρεπτικών ουσιών που ρυθμίζουν το 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.

6.3.1.3. Παραλαβή των αιθέριων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια παραλαμβάνονται από τα αρωματικά φυτά με διαφόρους μεθόδους. Για την επιλογή 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 οικονομική αξία του αιθέριου ελαίου.

- Η χημική σύνθεση των διαφόρων συστατικών του αιθέριου ελαίου.
- Διάφοροι άλλοι οικονομικοί κυρίως παράγοντες.

Οι μέθοδοι με τις οποίες λαμβάνονται τα αιθέρια έλαια αναλύονται παρακάτω:

6.3.1.3.1. Απόσταξη

Είναι η πιο απλή, οικονομική και ευρύτατα χρησιμοποιούμενη μέθοδος 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: Χαρακτηριστικό της μεθόδου αυτής είναι ότι το νερό (ή το νερό και η αιθανόλη) έρχεται σε άμεση επαφή με το φυτικό υλικό που βρίσκονται στον άμβυκα αποστάξεως, 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 της απόσταξης 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.

6.3.1.3.2. 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 μέθοδος 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 (κηρούς, χρωστικές κλπ). Από αυτό, μετά από ειδική κατεργασία με αλκοόλη, αφαιρούνται οι παραπάνω ουσίες, λαμβάνεται το τελικό προϊόν που είναι το καθαρό αιθέριο έλαιο.

Εκχύλιση με ψυχρό λίπος: Είναι απλή μέθοδος 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 στους 80 °C. Όταν το λίπος κορεσθεί με αιθέριο έλαιο, με ειδική κατεργασία λαμβάνεται το καθαρό αιθέριο έλαιο.

Εκχύλιση με υδρόφιλους διαλύτες: Στη μέθοδο αυτή 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.

6.3.1.3.3. 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.

6.3.1.4. Διατήρηση των αιθέριων ελαίων

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

- **Θερμοκρασία αποθήκευσεως:** Αυτή πρέπει να βρίσκεται μερικούς βαθμούς πάνω από το μηδέν (πχ. θερμοκρασία συντήρησης ψυγείου).
- **Φως:** Τα αιθέρια έλαια για να προστατευτούν από την επίδραση του φωτός πρέπει να διατηρούνται μέσα σε αδιαφανή δοχεία.
- **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.
- **Αέρας:** Για να αποφεύγονται αλλοιώσεις από την επίδραση του αέρα, από τα δοχεία όπου φυλάγονται τα αιθέρια έλαια πρέπει να γεμίζουν τελείως.
- **Δοχεία αποθήκευσεως:** Κατάλληλα δοχεία είναι τα γυάλινα ή μεταλλικά από ανοξείδωτο χάλυβα ενώ δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται πλαστικά ή ξύλινα δοχεία.

6.3.1.5. 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 (Gas Chromatography, GC) τις περισσότερες φορές σε συνδυασμό με τη Φασματομετρία Μαζών (Mass Spectrometry, MS). 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 με Αέρια Χρωματογραφία (GC) ή Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ή και με συνδυασμό των παραπάνω μεθόδων με τη Φασματομετρία Μαζών (MS) ενώ δρόγες με σύνθετη χημική σύσταση ελέγχονται με βιολογικές μεθόδους, όπως οι RIA (Radio Immuno Assay) και ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

6.3.2. Υλικά και μέθοδοι

6.3.2.1. Αιθέρια έλαια που χρησιμοποιήθηκαν

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκαν τα αιθέρια έλαια φυτών από 4 διαφορετικές οικογένειες. Συγκεκριμένα, επιλέχθηκαν αιθέρια έλαια από φυτά των οικογενειών Rutaceae, Apiaceae, Lamiaceae και Alliaceae. Όλα τα είδη είναι ενδημικά της χώρας μας και η επιλογή τους έγινε με δύο βασικά κριτήρια: α) Να υπάρχουν αναφορές στη διεθνή βιβλιογραφία ότι αιθέρια έλαια φυτών της ίδιας οικογένειας διαθέτουν εντομοκτόνο δράση εναντίον των προνυμφών των κουνουπιών, και β) Να μην υπάρχουν βιβλιογραφικές αναφορές για τα συγκεκριμένα γένη, που να αναφέρουν παρόμοια δράση ενάντια στα κουνούπια.

Τα συγκεκριμένα είδη φυτών που χρησιμοποιήθηκαν, από κάθε μια από τις προαναφερθείσες οικογένειες, παρουσιάζονται αναλυτικά στη συνέχεια:

6.3.2.1.1. Αιθέρια έλαια από φυτά της οικογένειας Rutaceae

Τα φυτά της οικογένειας Rutaceae είναι κυρίως γνωστά για τους εδώδιμους καρπούς τους και της αξία τους στην παραγωγή πρώτων υλών για τη μαγειρική, την ζαχαροπλαστική και την αρωματοποιία. Επιπλέον όμως παράγουν ουσίες με εντομοκτόνες ιδιότητες ακόμη

και εναντίον κουνουπιών. Συγκεκριμένα οι Sujatha *et al.* (1988) χρησιμοποιώντας φύλλα, άνθη, ρίζες και καρπούς από φυτά του γένους *Citrus* διαπίστωσαν προνυμφοκτόνο δράση εναντίον κουνουπιών του είδους *Anopheles stephensi*. Ένα χρόνο αργότερα οι Kassit *et al.* (1989) απομόνωσαν το λιμονένιο από τη φλούδα του *Citrus aurantium* και διαπίστωσαν τοξικότητα ενάντια σε προνύμφες κουνουπιών του είδους *Culex quinquefasciatus*. Αργότερα και άλλοι ερευνητές δοκίμασαν αιθέρια έλαια από φυτά της οικογένειας αυτής εναντίον κουνουπιών (Amer and Mehlhorn 2006, Lee 2006).

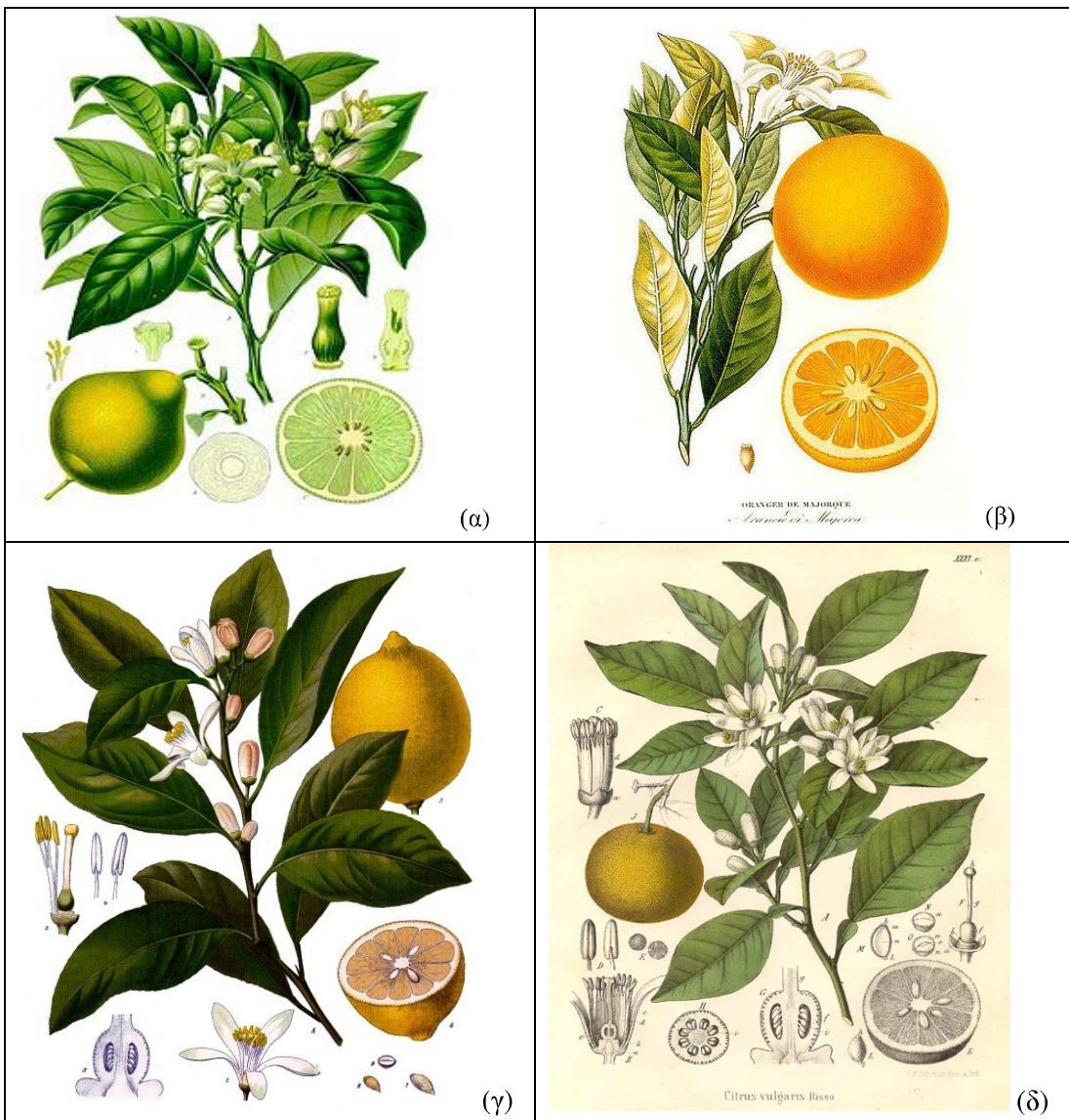
Στην παρούσα μελέτη δοκιμάστηκαν 4 αιθέρια έλαια φυτών της οικογένειας Rutaceae, που προέρχονται από την Ελλάδα και δοκιμάστηκαν για πρώτη φορά διεθνώς ενάντια σε προνύμφες κουνουπιών του είδους *Cx. pipiens* biotype *molestus*. Τα φυτά αυτά κοινά και ευρέως διαδεδομένα στην Ελλάδα και είναι συγκεκριμένα το περγαμόντο (*Citrus aurantium* subsp. *bergamia*, syn. *Citrus bergamia* Risso et Poiteau), η πορτοκαλιά (*Citrus sinensis* L.), η λεμονιά (*Citrus limon* L.) και η νεραντζιά (*Citrus aurantium* L.).

Το περγαμόντο καλλιεργείται εκτός από την Ελλάδα και στην Ιταλία, Τουρκία, Βραζιλία, Αργεντινή και Ακτή Ελεφαντοστού και τα προϊόντα του έχουν ευρεία χρήση στη ζαχαροπλαστική, την ποτοποιία, την αρωματοποιία και τη βιομηχανία καλλυντικών (Modello *et al.* 1998, Kirbaslar *et al.* 2001, Verzera *et al.* 2003, Sawamura *et al.* 2006) (Εικόνα 6.12.).

Τα στοιχεία του κάθε δείγματος από όπου προέρχεται το αντίστοιχο αιθέριο έλαιο δίνονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 6.6. Στοιχεία συλλογής δειγμάτων οικ. Rutaceae.

Είδος φυτού	Συντομογραφία	Βλαστικό στάδιο ή μέρος φυτού	Ημερομηνία συλλογής	Τοποθεσία συλλογής
<i>Citrus aurantium</i> subsp. <i>bergamia</i>	CAB	καρποί	15/01/07	Κεφαλονιά
<i>Citrus sinensis</i>	CS	καρποί	25/01/07	Άρτα
<i>Citrus limon</i>	CL	καρποί	25/01/07	Άρτα
<i>Citrus aurantium</i>	CA	καρποί	25/01/07	Άρτα



Εικόνα 6.12. Φυτά της οικ. Rutaceae, των οποίων τα αιθέρια έλαια δοκιμάστηκαν εναντίον των προνυμφών των κουνουπιών: (α) περγαμόντο, (β) πορτοκαλιά, (γ) λεμονιά και (δ) νεραντζιά.

6.3.2.1.2. Αιθέρια έλαια από φυτά της οικογένειας Apiaceae

Αιθέρια έλαια από διάφορα φυτά της οικογένειας Apiaceae έχουν αποδειχθεί ότι διαθέτουν αξιόλογη δράση εναντίον διαφόρων αρθροπόδων (Regnault-Roger and Hamraoui 1994, Tunc *et al.* 2000, Kim *et al.* 2003, Lee 2004, Miyazawa *et al.* 2004, Tsukamoto *et al.* 2005) μεταξύ αυτών και εναντίον κουνουπιών (Rahuman *et al.* 2000, Prajapati *et al.* 2005, Pitasawa *et al.* 2007).

Οι παραπάνω μελέτες αφορούν σε αιθέρια έλαια από φυτά της οικογένειας Apiaceae που βρίσκονται διαθέσιμα στο εμπόριο και καμία αναφορά δεν υπάρχει για αιθέρια έλαια από

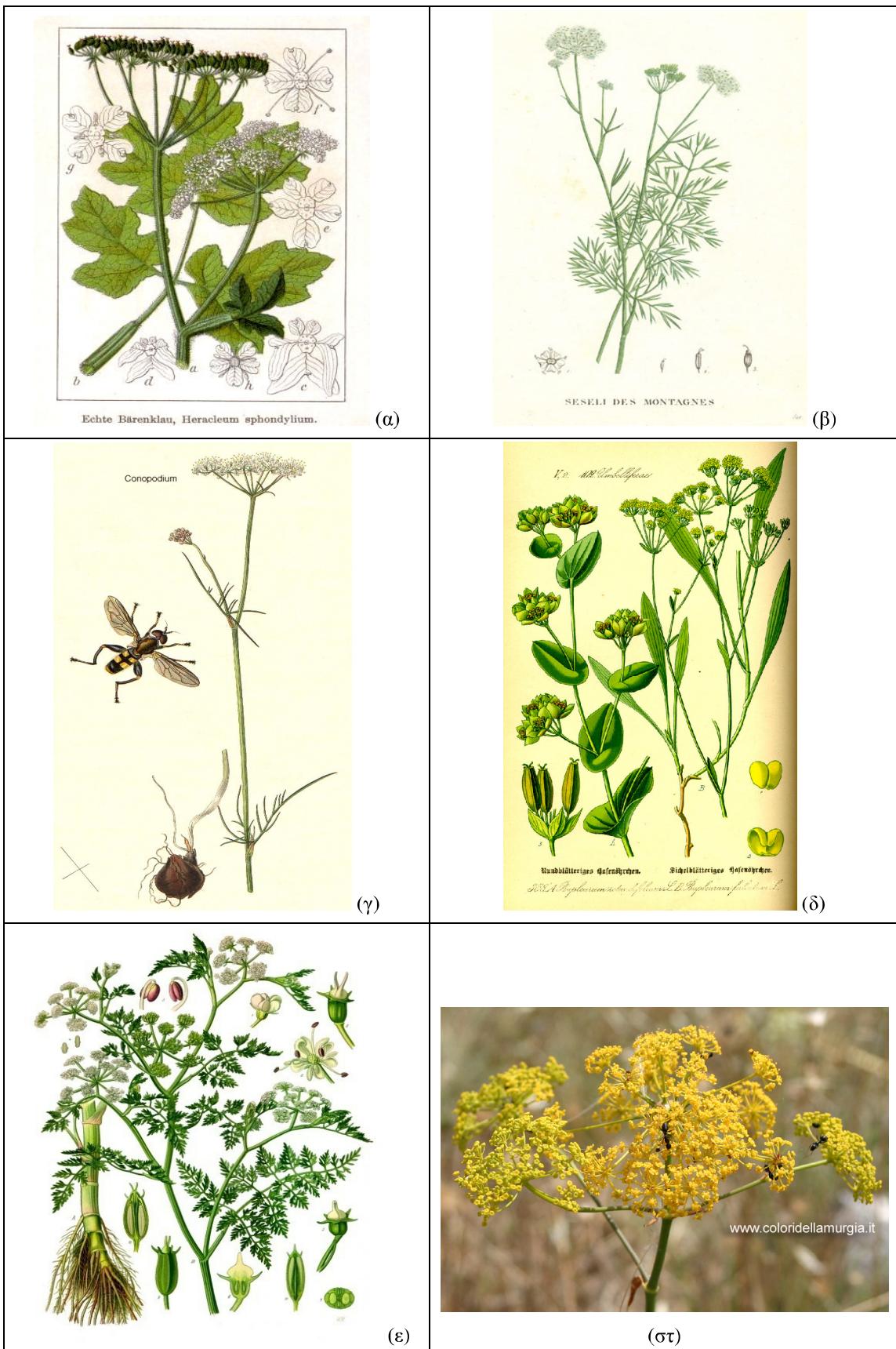
άγρια φυτά. Δεν υπάρχουν αναφορές για αιθέρια έλαια από ενδημικά της Ελλάδος, φυτά της οικογένειας Apiaceae.

Στην παρούσα μελέτη δοκιμάστηκαν 6 αιθέρια έλαια, διαφορετικών φυτών της οικογένειας Apiaceae και συγκεκριμένα της υποοικογενείας Apioideae. Αυτά προέρχονται από δείγματα που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές της Ελλάδος. Τα στοιχεία των δειγμάτων αυτών δίνονται συνοπτικά στον παρακάτω πίνακα.

Πίνακας 6.7. Στοιχεία συλλογής δειγμάτων οικ. Apiaceae.

Eίδος φυτού	Συντομογραφία	Βλαστικό στάδιο ή μέρος φυτού	Ημερομηνία συλλογής	Τοποθεσία συλλογής
<i>Heracleum sphondylium</i> subsp. <i>pyrenaicum</i>	HS	άνθηση	15/07/06	όρος Οίτη
<i>Seseli montanum</i> subsp. <i>tomasinii</i>	SM	άνθηση	23/08/06	όρος Σμόλικας
<i>Conopodium capillifolium</i>	CC	άνθηση	15/07/06	όρος Οίτη
<i>Bupleurum fruticosum</i>	BF	άνθηση	16/06/07	όρος Πάρνωνας
<i>Oenanthe pimpinelloides</i>	OP	άνθηση	16/06/07	όρος Παρνασσός
<i>Eleoselinum asclepium</i>	EA	άνθηση	18/05/07	όρος Πάρνωνας

Τα συγκεκριμένα είδη είναι ενδημικά της Ελλάδας και απαντώνται σε πολλές περιοχές της.



Εικόνα 6.13. Φυτά της οικ. Apiaceae, των οποίων τα αιθέρια έλαια δοκιμάστηκαν εναντίον των προνυμφών των κονυοπιών: (α) *Heracleum sphondylium*, (β) *Seseli montanum*, (γ) *Conopodium* sp., (δ) *Bupleurum fruticosum*, (ε) *Oenanthe* sp. και (στ) *Eleoselinum asclepium*.

6.3.2.1.3. Αιθέρια έλαια από φυτά της οικογένειας Alliaceae

Στην παρούσα μελέτη δοκιμάστηκαν και αιθέρια έλαια του γνωστότερου εκπροσώπου της οικογένειας Alliaceae, του γνωστού σκόρδου (*Allium sativum*). Τα συγκεκριμένα αιθέρια προέρχονταν από τις σκελίδες του φυτού και τα φυτικά δείγματα ελήφθησαν από παραγωγούς του Αγροτικού Συνεταιρισμού Νέας Βύσσας, Θράκης.



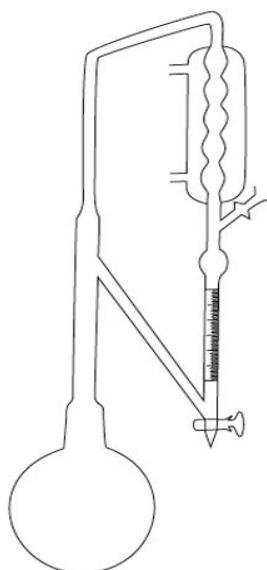
Εικόνα 6.14. *Allium sativum* (κοιν. σκόρδο), αιθέρια έλαια του οποίου δοκιμάστηκαν εναντίον των προνυμφών των κουνουπιών.

Το σκόρδο, από πολύ παλιά διαδραματίζει ιδιαίτερο ρόλο στη διατροφή του ανθρώπου, αλλά και ως φαρμακευτικό φυτό. Ακόμη και σήμερα οι φαρμακευτικές χρήσεις του σκόρδου είναι ευρέως διαδεδομένες και επεκτείνονται (Fenwick and Hanley 1985). Εκτός αυτού, για το σκόρδο έχει αποδειχθεί ότι διαθέτει και σημαντικές εντομοκτόνες ιδιότητες (Ho *et al.* 1996, Callaghan and Thomas 1999) με αποτέλεσμα, παράγωγα και αιθέρια έλαια του σκόρδου να έχουν κατά καιρούς κυκλοφορήσει και στο εμπόριο ως παρασιτοκτόνα. Εντούτοις, τα περισσότερα από αυτά χαρακτηρίζονται από την αστάθεια της αποτελεσματικότητάς τους που πιθανώς οφείλεται στην μεγάλη παραλλακτικότητα της χημικής τους σύνθεσης και των τεχνικών παραλαβής των αιθέριων ελαίων (Block 1992, Prowse *et al.* 2006).

6.3.2.2. Απομόνωση των αιθέριων ελαίων

Η απομόνωση των αιθέριων ελαίων από τα φυτικά τμήματα των παραπάνω φυτών έγινε με απόσταξη. Συγκεκριμένα, τα νωπά νεοσυλλεχθέντα κάθε φορά φυτικά τμήματα, αφού πλύθηκαν επιμελώς και τεμαχίστηκαν, οδηγήθηκαν για απόσταξη για περίπου 3 ώρες, παρουσία 3 λίτρων νερού.

Σε αυτή τη διαδικασία, τα προς απόσταξη φυτά, παραμένουν με νερό στη μονάδα απόσταξης. Το προϊόν που λαμβάνεται από τη διαδικασία αυτή είναι γενικά κατώτερης ποιότητος από εκείνης του προϊόντος που προέρχεται από άλλες βελτιωμένες διαδικασίες. Η ίδια μέθοδος χρησιμοποιείται με τη βοήθεια συσκευής Clevenger (Εικόνα 6. 15.) με την οποία πολλά είδη των αιθέριων ελαίων μπορεί να παραχθούν σε εργαστηριακή κλίμακα.



Εικόνα 6. 15. Συσκευή τύπου Clevenger για υδροαπόσταξη ή απόσταξη με νερό.

Τα αιθέρια έλαια που παρήχθησαν αφυδατώθηκαν με τη βοήθεια άνυδρου θειοκού νατρίου και αποθηκεύτηκαν στους 4 °C. Η υφή τους ήταν σχετικά ελαιώδης και το χρώμα τους κυμαινόταν σε διάφορες αποχρώσεις του κίτρινου.

6.3.2.3. Χημική ανάλυση των αιθέριων ελαίων

Για κάθε αιθέριο έλαιο που χρησιμοποιήθηκε έγινε και χημική ανάλυση για την εύρεση των συστατικών του. Οι χημικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν από τις ακόλουθες ερευνητικές ομάδες:

- Για τα φυτά της οικ. Rutaceae από τον καθ. Π. Μαγιάτη (Φαρμακευτική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών) και την ερευνητική ομάδα του καθ. Μ. Πολυσίου (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών) (Melliou *et al.* 2009, Michaelakis *et al.* 2009).
- Για τα φυτά της οικ. Apiaceae από την ερευνητική ομάδα του καθ. Σ. Χαρούτουνιάν (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών) (Chorianopoulos *et al.* 2004, Evergetis *et al.* 2009).
- Για τα φυτά της οικ. Alliaceae από την ερευνητική ομάδα του καθ. Μ. Πολυσίου (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών) (Kimbaris *et al.* 2009).

Η ανάλυση πραγματοποιήθηκε με χρήση GC και GC/MS και ανιχνεύτηκαν σχεδόν το σύνολο των ουσιών του κάθε αιθέριου ελαίου, σε ποσοστά που κυμαίνονται από 93,9 έως 98,17%. Η σύσταση των κυριοτέρων συστατικών του κάθε αιθέριου ελαίου συνοψίζεται στον Πίνακας 6.8. για την οικ. Rutaceae, στον Πίνακας 6.9. για την οικ. Apiaceae και στον Πίνακας 6.10. για την οικ. Alliaceae. Η σύγκριση των αποτελεσμάτων της φυτοχημικής ανάλυσης έγινε με τη βοήθεια βάσεων δεδομένων για φάσματα μάζας, τη χρήση φυσικών προϊόντων (όπου ήταν διαθέσιμα) αλλά και τη βοήθεια της διεθνούς βιβλιογραφίας (Massada 1976, Adams 1995).

Πίνακας 6.8. Σύσταση των αιθέριων ελαίων της οικ. Rutaceae.

A/A	Συστατικό	GC Εμβαδόν (%)				Προσδιορισμός
		CAB	CS	CL	CA	
1	Λιμονένιο (limonene)	31,66	96,2	74,3	96,7	a, b
2	γ-τερπινένιο (γ-terpinene)	10,32	-	6,4	-	a, b
3	Λιναλοόλη (linalool)	31,76	-	-	-	a, b
4	Οξ. εστέρας λιναλίλης (linalyl acetate)	10,72	-	-	-	a

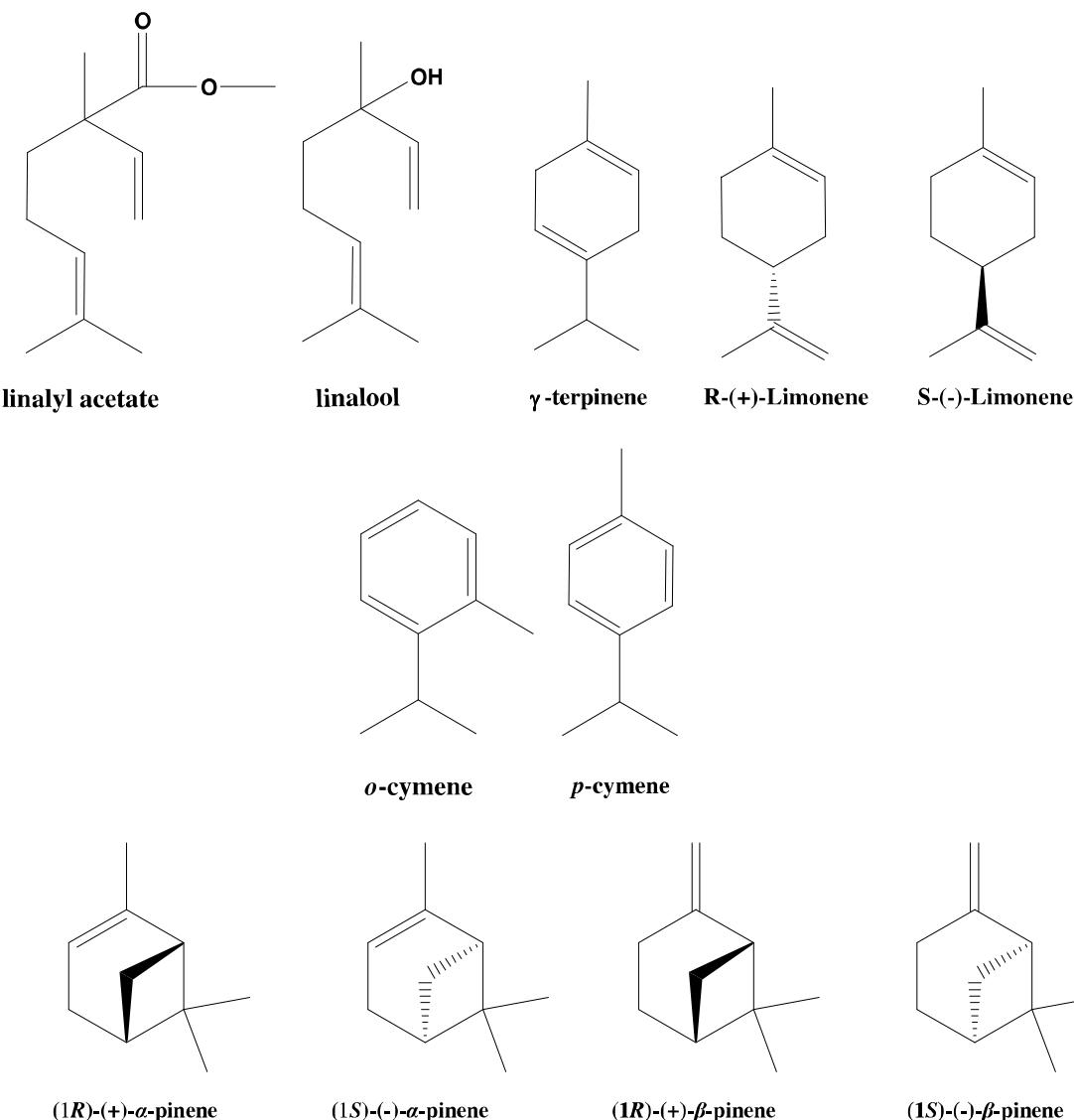
^a Σύγκριση των φασμάτων μάζας με MS βιβλιοθήκες και χρόνους εμφάνισης

^b Σύγκριση με το φυσικό συστατικό

Πίνακας 6.9. Σύσταση των αιθέριων ελαίων της οικ. Apioaceae.

Α/Α	Συστατικό	GC Εμβαδόν (%)						Προσδιορισμός
		HS	SM	CC	EA	OP	BF	
1	άλφα Πινένιο (α -Pinene)	3,49	32,25	37,82	27,41	0,6	37,8	a, b
2	Σαβινένιο (Sabinene)	-	16,97	29,17	35,34	-	-	a, b
3	βήτα Πινένιο (β -Pinene)	4,42	4	-	5,23	6,79	28,55	a, b
4	Μυρκένιο (Myrcene)	1,66	4,94	2,89	5,98	2,7	3,16	a, b
5	πάρα Κυμένιο (p-Cymene)	-	-	4,68	0,06	-	0,05	a, b
6	όρθο Κυμένιο (o-Cymene)	-	-	-	-	17,75	-	a, b
7	Λιμονένιο (limonene)	13,44	-	4,12	-	-	21,67	a, b
8	βήτα Φελλανδρένιο (β -Phellandrene)	-	19,09	-	1,63	-	-	a, b
9	γ -τερπινένιο (γ -terpinene)	-	2,44	-	1,1	43,42	0,47	a, b
10	Οξ. εστέρας Οκτυλίου (Octyl acetate)	17,44	-	-	-	-	-	a, b
11	βήτα Καριοφυλλένιο (β -Caryophyllene)	6,46	0,32	3,27	0,63	0,63	1,33	a, b

^a Σύγκριση των φασμάτων μάζας με MS βιβλιοθήκες και χρόνους εμφάνισης^b Σύγκριση με το φυσικό συστατικό



Εικόνα 6.16. Χημικές δομές των κυριότερων συστατικών των αιθερίων ελαίων που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη.

Ειδικά για το σκόρδο δοκιμάστηκαν συνολικά 3 διαφορετικά αιθέρια έλαια. Έτσι, εκτός από το φυσικό αιθέριο έλαιο που εξάχθηκε από τις σκελίδες του φυτού χρησιμοποιήσαμε και δύο ακόμη «τροποποιημένες» μορφές του συγκεκριμένου ελαίου που παρασκευάστηκαν εργαστηριακά, με σκοπό την επίτευξη υψηλότερης αποτελεσματικότητας.

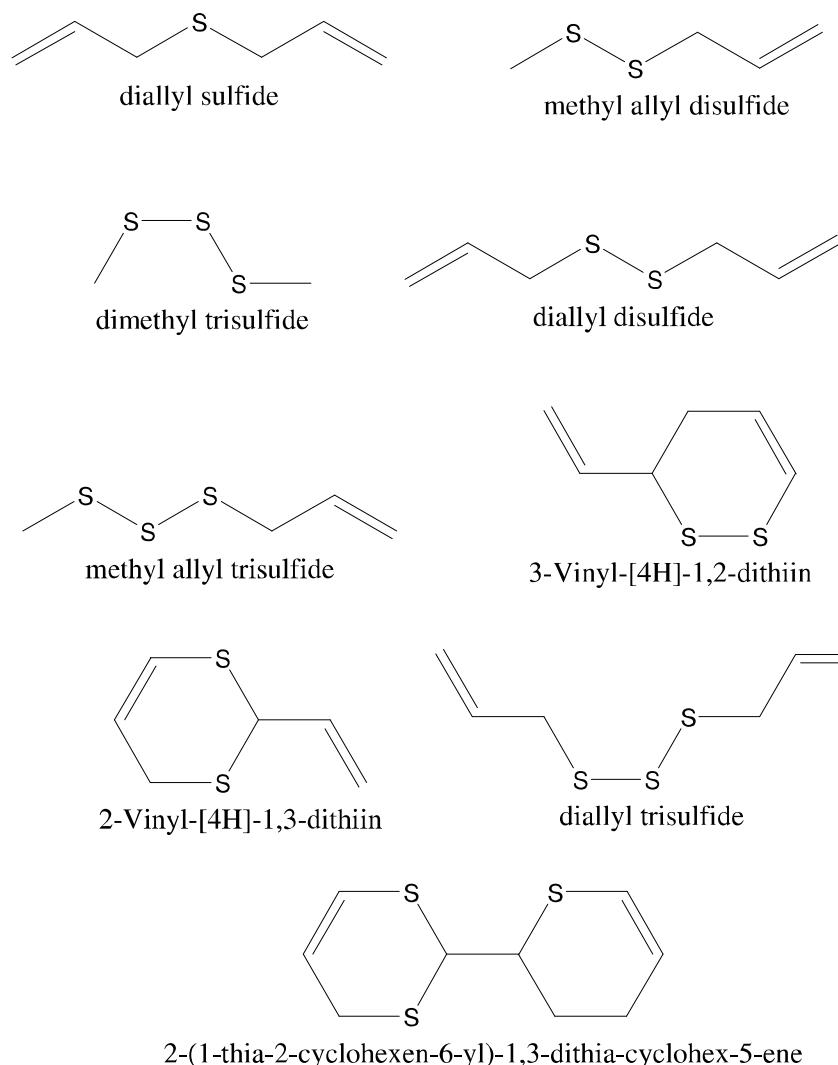
Συγκεκριμένα, σύμφωνα με βιβλιογραφικές αναφορές, που σχετίζονται με τη διερεύνηση της υψηλής τοξικότητας του αιθέριου ελαίου του σκόρδου εναντίον κάποιων εντόμων μεταξύ αυτών και των κουνουπιών, η τοξική δράση αποδίδεται κυρίως σε τρία από τα κυριαρχα συστατικά του ελαίου και συγκεκριμένα στα διάλλυλο μόνο-, δι- και τρισουλφίδια (diallyl mono-, di- και trisulfides) (Ho *et al.* 1996, Callaghan and Thomas 1999, Prowse *et al.* 2006). Από τα συγκεκριμένα σουλφίδια, που αποτελούν μόνο μέρος του συνόλου των θειο-συστατικών του αιθέριου ελαίου του σκόρδου, τα διάλλυλο δι- και

τρισουλφίδια θεωρούνται ως οι κύριες ενώσεις, υπεύθυνες για τη συνολική δράση του αιθέριου ελαίου του σκόρδου.

Έτσι στην παρούσα μελέτη διερευνήσαμε την προνυμφοκτόνο δράση του αιθέριου ελαίου του σκόρδου (*G*) αλλά και δύο ακόμη «τροποποιημένων» αιθέριων ελαίων, εμπλουτισμένων με τα συγκεκριμένα σουλφίδια (Semi-Synthetic Garlic 1, SSG1 και Semi-Synthetic Garlic 2, SSG2). Εκτός των αποτελεσμάτων της προνυμφοκτονίας, η μελέτη αυτή δίνει επίσης τη δυνατότητα της διερεύνησης του ρόλου της δράσης των σουλφιδίων αυτών έναντι των υπολοίπων θειο-ενώσεων του αιθέριου ελαίου.

Πίνακας 6.10. Σύσταση των αιθέριων ελαίων φυσικού σκόρδου (*G*) καθώς και των δύο «εμπλουτισμένων» μορφών του (SSG1 και SSG2).

Α/Α	Συστατικό	GC Εμβαδόν (%)		
		<i>G</i>	SSG1	SSG2
1	diallyl sulfide	-	55,2	4,3
2	methyl allyl disulfide	4,7	2,0	1,1
3	dimethyl trisulfide	10,1	3,9	4,7
4	diallyl disulfide	7,2	2,7	37,4
5	C ₆ H ₁₀ S ₂ ^(α)	0,5	-	0,4
6	C ₆ H ₁₀ S ₂ ^(β)	2,1	0,6	0,5
7	methyl allyl trisulfide	19,8	9,4	10,0
8	3-vinyl-[4H]-1,2-dithiin	11,1	7,4	10,2
9	άγνωστη ουσία	2,4	0,8	1,4
10	2-vinyl-[4H]-1,3-dithiin	13,9	9,3	11,5
11	1,4-dimethyl tetrasulfide	0,9	-	-
12	diallyl trisulfide	16,3	5,1	10,9
13	1,2,3,4-tetrathia-5-methyl cyclohexane	0,5	-	0,4
14	diallyl tetrasulfide	0,7	0,1	0,3
15	2-(1-thia-2-cyclohexen-6-yl)-1,3-dithia-cyclohex-5-ene	4,1	2,6	1,3



Εικόνα 6.17. Χημικές δομές των κυριότερων συστατικών του αιθέριου ελαίου του σκόρδου.

6.3.2.2. Είδος κουνουπιών που χρησιμοποιήθηκε

Για τις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν προνύμφες κουνουπιών του είδους *Cx. pipiens* biotype *molestus*, προερχόμενες από την εργαστηριακή αποικία του είδους που εκτρέφεται στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.

Σε βιοδοκιμές με νέες ουσίες ενδείκνυται η χρήση εντόμων από εργαστηριακές εκτροφές καθώς έτσι μπορούμε να εξασφαλίσουμε μεγάλο αριθμό εντόμων, ίδια ηλικία και ομοιόμορφης καλής κατάστασης.

Η συγκεκριμένη αποικία κουνουπιών διατηρείται στο Μ.Φ.Ι. για περίπου 35 χρόνια και θεωρείται ως πληθυσμός ευαίσθητος στις διάφορες χημικές ομάδες βιοκτόνων (δεν έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα).

6.3.2.3. Μέθοδος βιοδοκιμών

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, του Μπενακείου 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 $25\pm2^{\circ}\text{C}$, φωτοπερίοδο 14 ωρών 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 (WHO 1978, 1981e, 1981c, 1981b, 2005) και περιγράφεται αναλυτικά στο κεφάλαιο 6.2.1.3.

Στη συγκεκριμένη περίπτωση οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε γυάλινα δοχεία ζέσεως των 250ml και σε κάθε ποτήρι ζέσεως τοποθετήθηκαν 20 προνύμφες, 3^{ης}-4^{ης} ηλικίας. Από το κάθε αιθέριο έλαιο παρασκευάζονταν ένα μητρικό διάλυμα σε αιθανόλη περιεκτικότητας 1% ή 10% β/ο. Από το διάλυμα αυτό, παρασκευάστηκαν υδατικά διαλύματα διαφόρων συγκεντρώσεων ανάλογα με την προσδόκιμη δόση. Η προσθήκη της ποσότητας αιθέριου ελαίου που απαιτούνταν για τη δημιουργία της εκάστοτε επιθυμητής δόσης γινόταν στην επιφάνεια του νερού και ακολουθούσε ανάδευση για 30'' με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου.

Επειδή με τις βιοδοκιμές μελετήθηκε η μεταβολή της θνησιμότητας σε σχέση με τη μεταβολή της δόσεως, εφαρμόστηκε σειρά δόσεων που έδιναν θνησιμότητες πάνω από 0% και κάτω από 100%. Κάθε συγκέντρωση δοκιμάσθηκε πέντε φορές (5 επαναλήψεις) ενώ υπήρχαν και ποτήρια ζέσεως τα οποία περιείχαν μόνο νερό και διαλύτη ως μάρτυρες.

Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων έγινε καταγραφή της θνησιμότητας καθημερινά (24, 48 και 72 h). Για κάθε αιθέριο έλαιο υπολογίστηκε το ποσοστό θνησιμότητας και με τη βοήθεια στατιστικού πακέτου υπολογίστηκαν οι δείκτες LC_{50} και LC_{90} για τις 48 ώρες (SPSS 11.0).

6.3.3. Αποτελέσματα βιοδοκιμών με αιθέρια έλαια

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν, υπό εργαστηριακές συνθήκες, 13 διαφορετικά αιθέρια έλαια ενδημικών φυτών της Ελλάδος, ως προς την αποτελεσματικότητά τους εναντίον προνυμφών κουνουπιών του είδους *Cx. pipiens* biotype *molestus*.

Για κάθε αιθέριο έλαιο πραγματοποιήθηκε σειρά βιοδοκιμών με διαφορετικές δόσεις και τα αποτελέσματα της θνησιμότητας των προνυμφών στις 48 ώρες μετά την έναρξη των βιοδοκιμών, συνοψίζονται στον Πίνακας 6.11. Στον πίνακα αυτό αναφέρονται οι τιμές των δεικτών LD_{50} και LD_{90} , όπως υπολογίστηκαν από τη στατιστική επεξεργασία (SPSS 11.0) καθώς και τα όρια εμπιστοσύνης, για το 95% των τιμών που καταγράφηκαν. Δίνεται επίσης και η κλίση της ευθείας που σχηματίζεται από την Probit ανάλυση. Στατιστική διαφορά

μεταξύ δύο διαφορετικών αιθέριων ελαιών υπάρχει όταν τα όρια εμπιστοσύνης των αντίστοιχων τιμών LD₅₀ και LD₉₀ δεν επικαλύπτονται μεταξύ τους.

Πίνακας 6.11. Τιμές των δεικτών LD₅₀ και LD₉₀ για το είδος *Cx. pipiens* biotype *molestus*, στα αιθέρια έλαια των φυτών που δοκιμάστηκαν (οι τιμές αντιστοιχούν σε mg/L).

<i>Eίδος φυτού</i>	<i>LC₅₀ (95% όρια εμπιστοσύνης)</i>	<i>LC₉₀ (95% όρια εμπιστοσύνης)</i>	<i>Κλίση (±SE)</i>
<i>Citrus aurantium</i> subsp. <i>bergamia</i>	106,6 (96,7 – 126,24)	186,66 (149,5 – 289,7)	5,26 ± 0,91
<i>Citrus sinensis</i>	51,5 (48,93 – 54,44)	73,21 (67,22 – 83,08)	8,39 ± 0,66
<i>Citrus limon</i>	30,14 (25,83 – 34,06)	78,58 (65,38 – 104,64)	3,07 ± 0,40
<i>Citrus aurantium</i>	39,81 (29,32 – 47,49)	79,49 (64,42 – 127,0)	4,26 ± 0,48
<i>Heracleum sphondylium</i> subsp. <i>pyrenaicum</i>	77,41 (74,52 – 80,18)	100,11 (95,42 – 106,79)	11,47 ± 1,13
<i>Seseli montanum</i> subsp. <i>tomasinii</i>	86,6 (82,49 – 90,62)	122,97 (114,17 – 137,61)	8,41 ± 1,01
<i>Conopodium capillifolium</i>	68,5 (60,54 – 80,18)	100,79 (89,11 – 128,18)	7,64 ± 0,93
<i>Bupleurum fruticosum</i>	64,68 (61,08 – 67,97)	95,62 (89,08 – 105,71)	7,54 ± 0,82
<i>Oenanthe pimpinelloides</i>	40,26 (37,27 – 42,95)	62,88 (56,99 – 73,62)	6,62 ± 0,92
<i>Eleoselinum asclepium</i>	96,96 (90,81 – 103,21)	149,52 (136,6 – 177,84)	6,81 ± 0,95
<i>Allium sativum</i>	8,01 (7,64 – 8,36)	11,81 (11,08 – 12,87)	7,59 ± 0,69
<i>Allium sativum</i> SSG1	24,27	94,12	2,17 ± 0,97
<i>Allium sativum</i> SSG2	7,05 (6,12 – 7,82)	10,61 (9,40 – 13,14)	7,21 ± 0,65

Σύμφωνα με τα παραπάνω αποτελέσματα, όλα τα αιθέρια έλαια που δοκιμάστηκαν εμφάνισαν μικρή ή μεγάλη αποτελεσματικότητα εναντίον των προνυμφών κουνουπιών στις 48 ώρες από την εφαρμογή των ουσιών. Εμφάνισαν όμως και σημαντικές διαφορές μεταξύ τους που αποτυπώνονται και στις τιμές των αντίστοιχων δεικτών LD₅₀ και LD₉₀. Συγκεκριμένα οι τιμές του δείκτη LD₅₀, κυμάνθηκαν από ~7 mg/L έως ~107 mg/L ενώ ο δείκτης LD₉₀ κυμάνθηκε από ~10,6 mg/L έως ~186 mg/L. Περισσότερο δραστικά και με σημαντική διαφορά από όλα τα υπόλοιπα, αποδείχθηκε το αιθέριο έλαιο του σκόρδου (*A. sativum*) καθώς και οι «εμπλουτισμένες» μορφές του (SSG1 και SSG2). Στη συνέχεια, από πλευράς αποτελεσματικότητας, ακολουθούν, ως γενική κατηγορία, τα αιθέρια έλαια των φυτών του γένους *Citrus* (με εξαίρεση το περγαμόντο) και κατόπιν τα αιθέρια έλαια των φυτών της οικογενείας Apiaceae.

Τη χειρότερη επίδοση εμφάνισε το αιθέριο έλαιο του περγαμόντου *C. aurantium* subsp. *bergamia*. Οι λόγοι στους οποίους οφείλεται η τόσο μεγάλη απόκλιση σε σχέση με άλλα φυτά του ιδίου γένους αλλά και είδους (στο ίδιο είδος ανήκει και η νεραντζιά, *C. aurantium*) δεν είναι εύκολο να διαπιστωθούν. Σημαντικό πάντως ρόλο παίζει ο τρόπος απομόνωσης του αιθέριου ελαίου από το φυτό καθώς νεότερες εργασίες μας με αιθέριο έλαιο περγαμόντου που απομονώθηκε με ψυχρή πίεση αντί για απόσταξη έδωσε τιμές LD₅₀ και LD₉₀, 58,73 mg/L και 99,22 mg/L αντίστοιχα, ενώ διέφερε σημαντικά και ως προς τη χημική του σύνθεση (Melliou *et al.* 2009).

6.4. Συζήτηση - Συμπεράσματα

Η συμβολή της παρούσας μελέτης στην αντιμετώπιση των κουνουπιών έγινε μέσω δύο διαφορετικών προσεγγίσεων. Η μία αφορούσε στην αποτελεσματικότητα των χρησιμοποιούμενων στη χώρα μας βιοκτόνων εναντίον διαφόρων ειδών κουνουπιών που απαντώνται σε μεγάλους πληθυσμούς στο Νομό Αττικής, ενώ η δεύτερη προσέγγιση είχε να κάνει με την αξιολόγηση εντελώς νέων ουσιών, φυσικής προέλευσης ως πιθανά προνυμφοκτόνα κουνουπιών.

Και οι δύο αυτές προσπάθειες απέδωσαν αξιόλογα αποτελέσματα τα οποία μπορούν να συνοψιστούν ως εξής:

6.4.1. Συμπεράσματα από τη μελέτη των εγκεκριμένων σκευασμάτων

Στην παρούσα μελέτη εξετάστηκαν αντιπροσωπευτικά σκευάσματα βιοκτόνων από τις τέσσερις κυριότερες σύγχρονες κατηγορίες βιοκτόνων και συγκεκριμένα, τα οργανοφωσφορικά, τους ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων, τα βιοκτόνα φυσικής προέλευσης και τα βιολογικά σκευάσματα (B.t.i.). Οι προνύμφες των κουνουπιών στις οποίες δοκιμάστηκαν τα παραπάνω εντομοκτόνα ανήκουν σε είδη σημαντικά για την Αττική καθώς αναπτύσσουν τους μεγαλύτερους πληθυσμούς κουνουπιών και έχουν σημαντική υγειονομική σημασία είτε ως φορείς ασθενειών είτε λόγω της όχλησης που προκαλούν.

Από τα πειράματα αποδείχθηκε ότι η ευαισθησία των διαφόρων ειδών στα χρησιμοποιούμενα στη χώρα μας σκευάσματα μπορεί να διαφέρει σημαντικά και ως εκ

τούτου οι πραγματοποίηση βιοδοκιμών αποτελεσματικότητας είναι βασικό στοιχείο για την κατάρτιση προγραμμάτων ολοκληρωμένης αντιμετώπισης των κουνουπιών, μιας συγκεκριμένης περιοχής.

Με την παραπάνω προϋπόθεση, όλα τα βιοκτόνα που δοκιμάστηκαν θα μπορούσαν να ενταχθούν στα προγράμματα αντιμετώπισης των κουνουπιών στο Νομό Αττικής καθώς δεν ανιχνεύθηκαν ενδείξεις ανάπτυξης ανθεκτικότητας στους πληθυσμούς των κουνουπιών στους οποίους δοκιμάστηκαν.

Σχετικά με το *Ae. cretinus*, το οποίο αποτελεί σημαντικό πρόβλημα πολλών περιοχών του Νομού Αττικής, θα πρέπει να σημειωθεί ότι η αποτελεσματικότητα των διαθέσιμων βιοκτόνων εναντίον των προνυμφών του κρίνεται ικανοποιητική. Όμως, η εφαρμογή προνυμφοκτόνων, ιδίως όταν γίνεται σε μεγάλες συγκεντρώσεις νερού όπως γίνεται για τα περισσότερα κουνούπια, δεν αναμένεται να έχει σημαντική επιτυχία για τη μείωση των πληθυσμών του συγκεκριμένου είδους καθώς το *Ae. cretinus* διαφέρει σημαντικά ως προς τη βιολογία και οικολογία γιατί προτιμά μικρές εστίες νερού οι οποίες δεν είναι πάντα εύκολο να εντοπιστούν. Το ίδιο προφανώς ισχύει και για το είδος *Ae. albopictus* το οποίο έκανε σχετικά πρόσφατα την εμφάνισή του στην Αττική.

Για είδη, όπως τα δύο προαναφερόμενα, τα μέτρα αντιμετώπισης θα πρέπει να συνδυάζονται με μεγαλύτερη προσοχή τα αποτελέσματα της εντομολογικής έρευνας (που είναι απαραίτητο να γίνεται) με τη χρήση τόσο προνυμφοκτόνων σκενασμάτων αλλά και ακμαιοκτόνων (πχ. σε σχάρες αποχετευτικών αγωγών ή γύρω από τις οικίες) καθώς και με άλλα μέτρα όπως ο περιορισμός των πιθανών εστιών ανάπτυξής τους.

6.4.2. Συμπεράσματα από τη μελέτη των αιθέριων ελαίων

Η παρούσα μελέτη αποτελεί μία πρώτη προσέγγιση για την πιθανή προνυμφοκτόνο ικανότητα των αιθέριων ελαίων, των συγκεκριμένων Ελληνικών φυτών που χρησιμοποιήθηκαν. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι όλα τα αιθέρια έλαια που δοκιμάστηκαν εμφάνισαν ικανοποιητική δράση εναντίον των προνυμφών κουνουπιών, του είδους *Cx. pipiens* biotype *molestus*. Η αποτελεσματικότητα βέβαια μπορεί να διαφέρει σημαντικά από είδος σε είδος ακόμη και για είδη που ανήκουν στο ίδιο γένος ή/και είδος (πχ. *C. aurantium*).

Τα αιθέρια έλαια του σκόρδου και της τεχνητά «εμπλουτισμένης» μορφής του (SSG2) έδωσαν αναμφισβήτητα τα καλύτερα αποτελέσματα αλλά ενδεχομένως μειονεκτούν σημαντικά έναντι των υπόλοιπων λόγω της έντονης και για πολλούς δυσάρεστης οσμής τους.

Όλα τα φυτά που δοκιμάστηκαν ενδημούν στη χώρα μας ή καλλιεργούνται σε σημαντικές εκτάσεις και ως εκ τούτου θα μπορούσαν εύκολα να αποτελέσουν πρώτη ύλη για την παραγωγή προϊόντων, με αξιόλογες εντομοκτόνες ιδιότητες. Φυσικά θα πρέπει να αναφερθεί ότι απαιτείται ακόμη έρευνα και αρκετή προσπάθεια προκειμένου να καταστεί δυνατή η αξιοποίηση σε οικονομικό επίπεδο, των ουσιών αυτών. Εφόσον κατανοηθούν σε βάθος ορισμένα θέματα για τα συγκεκριμένα αιθέρια έλαια, όπως για παράδειγμα οι μηχανισμοί δράσης τους, ή εντοπιστούν τα συγκεκριμένα συστατικά τα οποία είναι υπεύθυνα

για την εντομοκτόνο ιδιότητά τους και δοκιμαστούν και ενάντια σε άλλα είδη κουνουπιών και σε συνθήκες υπαίθρου θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικά μέσα αντιμετώπισης των κουνουπιών φιλικά προς το περιβάλλον ή ακόμη και να ενταχθούν σε προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης των εντόμων αυτών.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑΤΑ

Παράρτημα Α.

Παράρτημα Β.

Παράρτημα Γ.

Έντυπα δειγματοληψιών

Πηγές των εικόνων

Βιβλιογραφία

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

ΕΝΤΥΠΟ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑΣ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

<u>ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ</u>	Πλησιέστερη πόλη	Ημερομηνία
Χώρα: ΕΛΛΑΣ	Ακριβής τοποθεσία	Ωρα
Νομός	Γεωγραφικό πλάτος/μήκος	Συλλέκτης(ες)
Επαρχία	Υψόμετρο: m	Οργανισμός

ΤΥΠΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ

Προνύμφες/Νύμφες
Τέλεια
Αναπαυόμενο
Σπίτι
Φωλιά ζόουν
Σπηλιά
Κουφάλα δέντρου
Βλάστηση
Άλλη: _____
Τσίμπημα/προσγείωση-
Άνθρωπος
Ζώο : _____
Απόχη
Φωτοπαγίδα: _____
Δολωματική παγίδα
Από σημηνονυγία
Στο φως
Άλλοι: _____

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ

Πυκνό δάσος
Δάσος αειθαλών
Δάσος φυλλοβόλων
Δάσος κωνοφόρων
Θαμνόδες
Φυργανική/Μακία βλάστηση
Λευκόνας/λιβάδι
Νησί¹
Βάλτος
Αλατούχα εδάφη
Παραλία
Δενδρόδεις καλλιέργειες
Καλλιεργούμενος αγρός²
Καλαμιώνας
Αστικό³
Αγροτικό⁴
Άλλο: _____

ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑ

ΠΡΟΝΥΜΦΗΣ
Λίμνη
Νερολακκούβα
Βάλτος
Έλος
Παρυφές ρυακιού
Λακούβα/λίμνη
Πηγή
Χαντάκι/τάφρος
Πηγάδι
Τεχνητή δεξαμενή
Πατημασιά ζόουν
Αυλάκι από τροχούς
Ορυζώνας
Καλαμιώνας
Άλλο: _____

ΝΕΡΟ

Μόνιμο
Προσφορινό
ΚΙΝΗΣΗ ΝΕΡΟΥ
Στάσιμο
Αργή
Μέτρια
Γρήγορη
ΑΔΑΜΥΡΟΤΗΤΑ
Φρέσκο
Γλυφό⁵
ΚΑΘΑΡΟΤΗΤΑ ΝΕΡΟΥ
Καθαρό⁶
Χρωματισμένο⁷
Θούρο⁸
Μολυσμένο⁹

ΕΛΑΦΟΣ

Βουνό¹⁰
Λόφος
Κοιλάδα
Οροπέδιο
Πεδιάδα

ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΙΚΕΣ

ΕΠΕΜΒΑΣΕΙΣ
Έντονες
Μικρές
Αγροτικό¹¹
Βοσκότοπος
Άλσος/φυτεία:
Άλλο: _____

ΦΥΣΙΚΟΙ ΛΕΙΚΤΕΣ

pH
Αγωγιμότητα
Θερμοκρασία (°C)
TDS

ΑΠΟΣΤΑΣΗ ΑΠΟ ΣΠΙΤΙΑ

m

ΑΝΕΜΟΣ

Καθόλου
Ελαφρύς
Μέτριος
Δυνατός

ΠΥΚΝΟΤΗΤΑ ΑΛΓΗΣ

Καρία
Αραίη¹²
Μέτρια
Πυκνή

ΥΔΡΟΒΙΑ ΒΛΑΣΤΗΣΗ

Βυθισμένη
Επιπλέουσα
Αναδυόμενη
Βυθισμένη & επιπλέουσα
Βυθισμένη & αναδυόμενη
Επιπλέουσα & αναδυόμενη
Όλα τα παραπάνω

ΟΥΡΑΝΟΣ

Καθαρός
Μερικώς συννεφιασμένος
Συννεφιασμένος
Ομίχλη
Καταχνιά
Ελαφριά βροχή¹³
Δυνατή βροχή¹⁴

ΥΨΟΣ ΑΠΟ ΤΟ ΕΛΑΦΟΣ

m

ΠΥΘΟΜΕΝΑΣ ΕΣΤΙΑΣ

Λάσπη
Άμμος
Πέτρες - Χαλίκια
Βράχος
Άλλο: _____

ΠΟΣΟΤΗΤΑ ΥΔΡΟΒΙΑΣ

ΒΛΑΣΤΗΣΗΣ
Καθόλου
Ελάχιστη¹⁵
Μέτρια
Πλούσια

ΣΚΙΑ

Καθόλου
Μερική¹⁶
Βαθιά

ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΙΣ:

ΞΕΝΙΣΤΗΣ

Άνθρωπος
Ζώο:

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Α

ΕΝΤΥΠΟ ΚΑΤΑΓΡΑΦΗΣ ΤΩΝ ΕΙΔΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ ΑΠΟ ΜΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

ΑΡΙΘΜΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ				Χώρα: ΕΛΛΑΣ	Νομός:
Αριθμός	Προνύμ φη	Νύμφη	Φύλο	Είδος / Παρατηρήσεις / Σημαιώσεις	
1.					
2.					
3.					
4.					
5.					
6.					
7.					
8.					
9.					
10.					
11.					
12.					
13.					
14.					
15.					
16.					
17.					
18.					
19.					
20.					
21.					
22.					
23.					
24.					
25.					
26.					
27.					
28.					
29.					
30.					
31.					
32.					
33.					
34.					
35.					
36.					
37.					
38.					
39.					
40.					
41.					
42.					
43.					
44.					
45.					
46.					
47.					
48.					
49.					
50.					

Παράρτημα Β. Πηγές των εικόνων του κειμένου

Εικόνα εξωφύλλου: σύνθεση με χρήση εικόνας από παιδικό βιβλίο του Carle (2010).

Εικ. 1.: προσαρμογή εικόνων από Matheson (1950).

Εικ. 1.1.: προσαρμογή εικόνας από το διαδίκτυο (http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Culex_mosquito_life_cycle_en.svg).

Εικ. 1.2.: προσαρμογή εικόνας από το διαδίκτυο (http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Culex_pipiens_diagram_en.svg).

Εικ. 1.3.: από Schaffner *et al.* (2001).

Εικ. 1.4.: από το διαδικτυακό τόπο Corbis, (<http://www.corbis.co.in/zoom.php?Imageuid={0e58e68a-babc-4b14-992f-8e011cf99e4a}>), (<http://www.corbis.co.in/zoom.php?imageuid={6239e986-ba5f-426c-9106-4ef52f0fc8d6}>) και (<http://www.corbis.co.in/zoom.php?imageuid={1f43a6ab-288c-4a75-ae16-aecad4f4b5d1}>).

Εικ. 1.5.: προσαρμογή εικόνας από το διαδίκτυο (<http://www.tutornext.com/external-features-mosquito/8950>).

Εικ. 1.6.: προσαρμογή εικόνας από το διαδίκτυο (<http://www.institutpasteur.nc/spip.php?article80>).

Εικ. 1.7.: προσαρμογή εικόνων από τον διαδικτυακό τόπο: The Walter Reed Biosystematics Unit (WRBU), (<http://www.wrbu.org/>).

Εικ. 1.8.: προσαρμογή από Russel *et al.* (1963).

Εικ. 1.9.: από Schaffner *et al.* (2001).

Εικ. 1.10.: από Schaffner *et al.* (2001).

Εικ. 1.11.: από Busvine (1980).

Εικ. 1.12.: προσαρμογή από Schaffner *et al.* (2001).

Εικ. 1.13.: προσαρμογή από Smart (1956).

Εικ. 1.14.: εικόνες από το διαδίκτυο (http://www.sciencephoto.com/images/image_PopUp_Details.html?pop=1&id=903410193&pviewid=&country=67&search=&matchtype=F_UZZY) και (<http://www.theresilientearth.com/?q=content/climate-change-malaria-link-debunked>).

Εικ. 1.15.: από το διαδίκτυο (<http://www.cdc.gov/ncidod/dvbid/westnile/culex-image.htm>).

Εικ. 1.16.: από το διαδίκτυο (<http://www.ento.okstate.edu/mosquito/biology.html>), (http://medent.usyd.edu.au/arbovirus/mosquit/photos/mansonia_uniformis_eggs.jpg) και (<http://www.amcdsjc.org/mosquito-info/biology/lifecycle.aspx>).

Εικ. 1.17.: από το διαφημιστικό φυλλάδιο της εταιρείας Sandoz Ltd, για το βιοκτόνο προϊόν Teknar.

Εικ. 1.18.: προσαρμογή εικόνας από το διαδίκτυο (http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Culex_restuans_larva_diagram_en.svg?uselang=fr).

Εικ. 1.19.: προσαρμογή από Russel *et al.* (1963).

Εικ. 1.20.: από το διαδίκτυο (http://fmel.ifas.ufl.edu/key/quick_larval/larval02.shtml) και (<http://bottleworld.net/?p=68>).

Εικ. 1.21.: από Smart (1956).

Εικ. 1.22.: από το διαδίκτυο (<http://www.flickr.com/photos/peteredin/4423501230/>) και (<http://bugguide.net/node/view/115664/bgimage>).

Εικ. 1.23.: από Schaffner *et al.* (2001).

- Εικ. 1.24.**: από το διαδίκτυο (<http://it.wikipedia.org/wiki/Culicidae>).
- Εικ. 1.25.**: από το διαδίκτυο (<http://www.napamosquito.org/Images/Hatching%20Eggs.jpg>) και (<http://www.plymouthmosquito.com/lifecycle.htm>).
- Εικ. 1.26.** έως **Εικ.1.31.**: φωτογραφίες Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 1.32.**: από το διαδίκτυο (<http://fmel.ifas.ufl.edu/kits/cycle.shtml>).
- Εικ. 1.33.**: από Becker *et al.* (2003).
- Εικ. 1.34.**: προσαρμογή από Russel *et al.* (1963).
- Εικ. 1.35.**: από το διαδίκτυο (http://medent.usyd.edu.au/arbovirus/mosquit/photos/coqlin_pupa.jpg).
- Εικ. 1.36.**: από Becker *et al.* (2003).
- Εικ. 1.37.**: από το διαδίκτυο (http://fmel.ifas.ufl.edu/kits/images/a_emerge.gif).
- Εικ. 1.38.**: από το διαδίκτυο (<http://bepast.org/dataman.pl?c=flib&dir=docs/photos/malaria/>).
- Εικ. 1.39.**: από το διαδίκτυο (http://www.ddw-online.com/therapeutics/258406/building_a_robust_portfolio_of_new_medicines.html).
- Εικ. 1.40.**: από την αναδημοσίευση του άρθρου του Reiter (2001) στο περιοδικό: Το δΗΓΜΑ (τεύχος 12).
- Εικ. 1.41.**: από το διαδίκτυο (<http://www.environment.ucla.edu/ctr/news/article.asp?parentID=1261>).
- Εικ. 1.42.**: διάγραμμα από ενημερωτικό έντυπο του ΚΕΕΛΠΝΟ.
- Εικ. 1.43.**: από το διαδίκτυο (http://jimbrandenburg.blogspot.com/2010_09_01_archive.html).
- Εικ. 1.44.**: από Hubaleck and Halouzka (1999).
- Εικ. 1.45.**: λεπτομέρεια από ψηφιδωτό της Αρχαίας Πομπηΐας.
- Εικ. 1.46.** και **Εικ.1.47.**: χάρτες από αναφορά του ΚΕΕΛΠΝΟ.
- Εικ. 1.48.**: από το διαδίκτυο (<http://www.vet4me.com/heartworm.htm>).
- Εικ. 1.49.**: από το διαδίκτυο (http://www.wikihow.com/Image:Mosquitofish_eating_larvae.jpg).
- Εικ. 2.1.**: φωτογραφία Γ. Κολιόπουλος – Α. Σαμανίδου.
- Εικ. 2.2.**: από το διαδικτυακό τόπο του University of Florida (<http://fmel.ifas.ufl.edu/research/exotic.shtml>).
- Εικ. 2.3.**: χάρτης από European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC 2009).
- Εικ. 2.4.**: χάρτης από European Centre of Disease Prevention and Control (ECDC 2009).
- Εικ. 3.1.**: χάρτης από το διαδίκτυο (http://photobucket.com/images/wider_athens/) μετά από επεξεργασία και προσαρμογή στοιχείων (Γ. Κολιόπουλος).
- Εικ. 3.2.**: χάρτης του Οργανισμού Αθήνας, από το διαδικτυακό τόπο (<http://www.minenv.gr/4/41/4116/schinias1.jpg>).
- Εικ. 3.3.**: φωτογραφία από Ελληνική Ορνιθολογική Εταιρεία.
- Εικ. 3.4.**: φωτογραφία Γ. Κολιόπουλος και προσαρμογή εικόνας από το διαδίκτυο (<http://www.timawa.net/forum/index.php?topic=24685.0>).
- Εικ. 3.5.**: φωτογραφία Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 3.6.**: σχέδιο Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 3.7.**: από O’Malley (1995).
- Εικ. 3.8.** έως **Εικ. 3.11.**: φωτογραφίες Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 3.12.**: από έντυπο οδηγιών του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO 1981).

- Εικ. 3.13.**: φωτογραφία Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 3.14.** έως **Εικ. 3.28.**: γραφήματα Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 3.29.** έως **Εικ. 3.36.**: φωτογραφίες Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 3.37.** έως **Εικ. 3.41.**: γραφήματα Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 3.42.** έως **Εικ. 3.58.**: φωτογραφίες Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 3.59.**: από Schaffner *et al.* (2001).
- Εικ. 3.60.**: από Becker *et al.* (2003).
- Εικ. 3.61.**: από Schaffner *et al.* (2001).
- Εικ. 3.62.**: από Becker *et al.* (2003).
- Εικ. 3.63.**: από Schaffner *et al.* (2001).
- Εικ. 3.64.**: από Becker *et al.* (2003).
- Εικ. 3.65.** έως **Εικ. 3.93.**: από Schaffner *et al.* (2001).
- Εικ. 3.94.** έως **Εικ. 3.96.**: γραφήματα Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 3.97.**: από εφημερίδα «Η ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ», Κυριακή 9 Σεπτεμβρίου 2007.
- Εικ. 3.98.**: φωτογραφία Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 4.1.** έως **Εικ. 4.3.**: φωτογραφίες Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 4.4.**: προσαρμογή στοιχείων σε σχέδιο από το διαδίκτυο (Γ. Κολιόπουλος).
- Εικ. 4.5.**: γράφημα Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 4.6.**: προσαρμογή εικόνας από το διαδίκτυο.
- Εικ. 5.1.**: από το διαδίκτυο (<http://www.flickr.com/photos/deadmike/170729124/>).
- Εικ. 5.2.**: από το διαδίκτυο (http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2c/Aedes_aegypti_CDC-Gathany.jpg).
- Εικ. 5.3.**: από Schaffner *et al.* (2001).
- Εικ. 5.4.**: από Becker *et al.* (2003).
- Εικ. 5.5.**: φωτογραφίες Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 5.6.**: προσαρμογή εικόνας από εγχειρίδιο του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας (WHO 1995).
- Εικ. 5.7.**: από Schaffner *et al.* (2001).
- Εικ. 5.8.**: φωτογραφία των Spring *et al.*, J. Microsc. Biol. 25:107, από Redei (1998).
- Εικ. 5.9.**: σχέδιο από Stryer (1995).
- Εικ. 5.10.**: φωτογραφία Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 5.11.** έως **Εικ. 5.15.**: γραφήματα Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 5.16.** έως **Εικ. 5.20.**: φωτογραφίες Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 5.21.** έως **Εικ. 5.22.**: από Linley (1989).
- Εικ. 6.1.** έως **Εικ. 6.4.**: από Μιχαηλάκη (2006).
- Εικ. 6.5.**: από το διαδίκτυο (<http://www.flickr.com/photos/deadmike/170729124/>).
- Εικ. 6.6.**: φωτογραφία Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 6.7.** έως **Εικ. 6.10.**: γραφήματα Γ. Κολιόπουλος.
- Εικ. 6.11.**: σύνθεση από φωτογραφίες τεχνικού φυλλαδίου της εταιρείας παρασκευής πυρέθρου Kenya-Pyrethrum.
- Εικ. 6.12.**: από το διαδίκτυο (<http://askville.amazon.com/bergamot/AnswerViewer.do?requestId=63861>), (<http://www.pfaf.org/user/Plant.aspx?LatinName=Citrus%20sinensis>), (<http://en.academic.ru/dic.nsf/enwiki/24062>) και (<http://www>.

meemelink.com/prints%20pages/22015.Rutaceae%20-%20Citrus%20aurantium.htm.

Εικ. 6.13.: από το διαδίκτυο (http://luirig.altervista.org/photos/h/heracleum_sphondylium.htm), (<http://www.meemelink.com/prints%20pages/18648.Umbelliferae%20-%20Seseli%20montanum.htm>), (<http://delta-intkey.com/angio/www/umbellif.htm>), (<http://rostacman.co.cc/bupleurum.html>), (http://uk.ask.com/wiki/Water_dropwort), και (http://www.coloridellamurgia.it/fiori_e_pianta/Eleoselinum_asclepium.htm).

Εικ. 6.14.: από το διαδίκτυο (http://en.wikipedia.org/wiki/File>Allium_sativum_Woodwill_1793.jpg) και (<http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Garlic.jpg>).

Εικ. 6.15.: από το διαδίκτυο (<http://popups.ulg.ac.be/Base/document.php?id=830>).

Εικ. 6.16. έως **Εικ. 6.17.**: προσφορά Α. Μιχαηλάκη.

Παράρτημα Γ. Βιβλιογραφία

Abbott, W.S. 1987. A method of computing the effectiveness of an insecticide. (reprinted from the *J. Econ. Entomol.*, 1925, 18:265-267). *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**: 302-303.

Adams, R. 1995. Identification of essential oil components by Gas Chromatography / Mass Spectroscopy. Allured Publishing. Carol Stream, IL.

Adhami, J., and Murati N. 1987. Prani e mushkonjes *Aedes albopictus* ne Shqiperi. [Presence of the mosquito *Aedes albopictus* in Albania]. *Revista Mjekesore* **1**: 13-16, [In Albanian].

Adhami, J., and Reiter P. 1998. Introduction and establishment of *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) in Albania. *Journal of the American Mosquito Control Association* **14**: 340-343.

Afrane, Y.A., Zhou G., Lawson B.W., Githeko A.K., and Yan G. 2007. Life-Table analysis of *Anopheles arabiensis* in Western Kenya highlands: Effects of land covers on larval and adult survivorship. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **77**: 660-666.

Agramonte, A. 1908. An account of Dr. Louis-Daniel Beauperthuy - A pioneer in Yellow Fever research. *Boston Medical and Surgical Journal* **158**: 927-930.

Aitken, T.H.G., Chamberlain R.W., Francy D.B., McLean D.M., Rudnick A., and Woodall J.P. 1975. International catalogue of arboviruses. U.S. Department of Health, Education & Welfare. 789 pp.

Alten, B., Bellini R., Caglar S.S., Simsek F.M., and Kaynas S. 2000. Species composition and seasonal dynamics of mosquitoes in the Belek region of Turkey. *Journal of Vector Ecology* **25**: 146-154.

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.

Andis, M.D., Meek C.L., and Wright V.L. 1983. Bionomics of Louisiana riceland mosquito larvae. I. A comparison of sampling techniques. *Mosquito News* **43**: 195-203.

Andis, M.D., and Meek C.L. 1984. Bionomics of Louisiana riceland mosquito larvae. II. Spatial dispersion patterns. *Mosquito News* **44**: 371-376.

Andreadis, T.G. 1988. A survey of mosquitoes breeding in used tire stockpiles in Connecticut. *Journal of the American Mosquito Control Association* **4**: 256-260.

Antoniadis, A., Alexiou-Daniel S., Malissiovas N., Doutsos J., Polyzoni T., and LeDuc J.W. 1990. Seroepidemiological survey for antibodies to arboviruses in Greece. *Archives of Virology Suppl* **1**: 277-285.

Aranda, C., Eritja R., and Roiz D. 2006. First record and establishment of the mosquito *Aedes albopictus* in Spain. *Medical and Veterinary Entomology* **20**: 150.

Armbruster, P., Damsky Jr. W.E., Giordano R., Birungi J., Munstermann L.E., and Conn J.E. 2003. Infection of New- and Old-World *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) by the intracellular parasite *Wolbachia*: implications for host mitochondrial DNA evolution. *Journal of Medical Entomology* **40**: 356-360.

- Aziz, N., and Hayes J.** 1987. Oviposition and biting patterns of *Aedes triseriatus* in the flood plains of Fort Bent county, Texas. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**: 397-399.
- Balkhy, H.H., and Memish Z.A.** 2003. Rift Valley fever: an uninvited zoonosis in the Arabian peninsula. *International Journal of the Antimicrobial Agents* **21**: 153-157.
- Ballard, E.M., Waller J.H., and Knapp F.W.** 1987. Occurrence and ovitrap site preference of tree hole mosquitoes: *Aedes triseriatus* and *Aedes hendersoni* in eastern Kentucky. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**: 42-44.
- Baqar, S., Hayes C.G., Murphy J.R., and Watts D.M.** 1993. Vertical transmission of West Nile virus by *Culex* and *Aedes* species mosquitoes. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **48**: 757-762.
- Bardos, V., Adamcova J., Dedei S., Gjiini N., Rosicky B., and Simkova A.** 1959. Neutralizing antibodies against some neurotropic viruses determined in human sera in Albania. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology (Prague)* **3**: 277-282.
- Bardos, V., and Danielova V.** 1959. The Tahyna virus - a virus isolated from mosquitoes in Czechoslovakia. *Journal of Hygiene, Epidemiology, Microbiology and Immunology (Prague)* **3**: 264-276.
- Barr, A.R.** 1958. The mosquitoes of Minnesota (Diptera: Culicidae). University of Minnesota Agricultural Experiment Station. Technical Bulletin 228, 154 pp.
- Barr, A.R.** 1986. Bases of mosquito systematics. *Journal of the American Mosquito Control Association* **2**: 261-266.
- Beach, R.** 1978. The required day number and timely induction of diapause in geographic strains of the mosquito *Aedes atropalpus*. *Journal of Insect Physiology* **24**: 448-455.
- Bear, A.** 2003. *Aedes albopictus* in Israel. *European Mosquito Bulletin* **14**: 32.
- Becker, N.** 1989. Life strategies of mosquitoes as an adaptation to their habitats. *Bulletin of the Society for Vector Ecology* **14**: 6-25.
- Becker, N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Dahl C., Lane J., and Kaiser A.** 2003. Mosquitoes and their control. Kluwer Academic/Plenum Publishers. New York. 498 pp.
- Becker, N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Dahl C., Madon M., and Kaiser A.** 2010. Mosquitoes and their control. Springer - Verlag Berlin Heidelberg. 577 pp.
- Beehler, J.W., and DeFoliart G.R.** 1990. Spatial distribution of *Aedes triseriatus* eggs in a site endemic for La Crosse encephalitis virus. *Journal of the American Mosquito Control Association* **6**: 254-257.
- Beier, J.C., Berry W.J., and Craig G.B.** 1982. Horizontal distibution of adult *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae) in relation to habitat - structure, oviposition and other mosquito mosquito species. *Journal of Medical Entomology* **19**: 239-247.
- Belios, G.D.** 1954. Sort-term inactivation of residual spraying with DDT, resulting from anopheline resistance. *Rivista di Malariologia* **33**: 1-3.
- Belios, G.D., and Familiaris G.** 1956. Resistance of anopheline larvae to chlordane and dieldrin. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé* **15**.
- Belios, G.D.** 1959. Malaria eradication progress in Greece. In *Proceedings of the 6th "International congressess on tropical medicine and malaria"* Volume 7, September 5-13, 1958 Lisboa, pp. 665-673.
- Belkin, J.N.** 1962. The mosquitoes of the South Pacific (Diptera: Culicinae), vol.1. University of California Press. Berkeley, CA.

- Belkin, J.N., Hogue C.L., Galindo P., Aitken T.H.G., Shick R.X., and Powder W.A. 1965.** Mosquito studies (Diptera, Culicidae) II. Methods for the collection, rearing and preservation of mosquitoes. *Contribution o the American Entomological Institution* **1**: 19-78.
- Bellini, R., Carrieri M., Burgio G., and Bacchi M. 1996.** Efficacy of different ovitraps and binomial sampling in *Aedes albopictus* surveillance activity. *Journal of the American Mosquito Control Association* **12**: 632-636.
- Bellini, R. 2001.** Surveillance and prevention to stop the spread of *Aedes albopictus* in Europe. In *Proceedings of the 1st Balkan Conference "Malaria and Mosquito Control"* 5-7 April 2001 Lithotopos, Serres, Greece, pp. 104-106.
- Benedict, M.Q., Levine R.S., Hawley W.A., and Lounibos L.P. 2007.** Spread of the tiger: Global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **7**: 76-85.
- Beng-Chuan, H., Kai-Lok C., and Yow-Cheong C. 1972.** The biology and bionomics of *Aedes albopictus* (Skuse). In *Vector Contr. Southeast Asia*, pp. 125-143.
- Bentley, M.D., and Day J.F. 1989.** Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Annual Review of Entomology* **34**: 401-421.
- Betzios, B.C. 1977.** Development of resistance to dieldrin in a laboratory colony of the mosquito *Culex pipiens molestus* Forsk. *Annals of the Benaki Phytopathological Institute, (N.S.)* **11**: 284-301.
- Bidlingmayer, W.L. 1964.** The effect of moonlight on the flight activity of mosquitoes. *Ecology* **45**: 87-94.
- Bidlingmayer, W.L. 1971.** Mosquito flight paths in relation to the environment. 1. Illumination levels, orientation, and resting areas. *Annals of the Entomological Society of America* **64**: 1121-1131.
- Bidlingmayer, W.L., Franklin B.P., Jennings A.M., and Cody E.F. 1974.** Mosquito flight paths in relation to the environment. Influence of blood meals, ovarian stage and parity. *Annals of the Entomological Society of America* **67**: 919-927.
- Bidlingmayer, W.L. 1975.** Mosquito flight paths in relation to the environment. Effect of vertical and horizontal visual barriers. *Annals of the Entomological Society of America* **68**: 51-57.
- Bidlingmayer, W.L. 1985.** The measurement of adult mosquito populations changes - some considerations. *Journal of the American Mosquito Control Association* **1**: 328-347.
- Bidlingmayer, W.L., and Evans D.G. 1987.** The distribution of female mosquitoes about a flight barrier. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**: 369-377.
- Black, W. 2004.** Learning to use *Ochlerotatus* is just the beginning. *Journal of the American Mosquito Control Association* **20**: 215-216.
- Blackman, R.L. 1995.** Whats in a name? Species concepts and realities. *Bulletin of Entomological Research* **85**: 1-4.
- Block, E. 1992.** The organosulfur chemistry of the genus *Allium* - Implications for the organic chemistry of sulfur. *Angewandte Chemie International Edition* **31**: 1135-1178.
- Bond, J.G., Marina C.F., and Williams T. 2004.** The naturarally derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes* and *Anopheles* mosquito larvae. *Medical and Veterinary Entomology* **18**: 50-56.
- Bonnet, D.D., and Worcester D.J. 1946.** The dispersal of *Aedes albopictus* in the territory of Hawaii. *American Journal of Tropical Medicine* **26**: 465-476.

- Bourguet D., Fonseca D., Vourch G., Dubois M. P., Chandre F., Severini C. and Raymond M. 1998.** The acetylcholinesterase gene Ace: a diagnostic marker for *Cx. pipiens* and *Cx. quinquefasciatus* forms of the *Culex pipiens* complex. *Journal of the American Mosquito Control Association* **14**: 390–396.
- Briegel, H., and Kaiser C. 1973.** Life-span of mosquitoes (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. *Gerontologia* **19**: 240-249.
- Broche, R.G., and Borja E.M. 1999.** *Aedes albopictus* in Cuba. *Journal of the American Mosquito Control Association* **15**: 569-570.
- Brower, V. 2001.** Vector-borne diseases and global warming: are both on an upward swing? *EMBO rep.* **2**: 755-757.
- Brust, R., A., and Costello R.A. 1969.** Mosquitoes of Manitoba. II. The effect of storage temperature and relative humidity on hatching of eggs of *Aedes vexans* and *Aedes abserratus* (Diptera: Culicidae). *Canadian Entomologist* **101**: 1285-1291.
- Busvine, J.R. 1980.** Insects and hygiene. 3rd edition. Chapman and Hall. London. 568 pp.
- Calisher, C.H., Nuti M., Lazuick J.S., Ferrari J.D.M., and Kappus K.D. 1981.** Dengue in Seychelles. *Bulletin of the World Health Organization* **59**: 619-622.
- Callaghan, A., and Thomas J.C. 1999.** The use of garlic (*Allium sativa*) and lemon peel (*Citrus limon*) extracts as *Culex pipiens* larvicides: persistence and interaction with an organophosphate resistance mechanism. *Chemosphere* **39**: 2489-2496.
- Campbell, G.L., Marfin A.A., Lanciotti R.S., and Gubler D.J. 2002.** West Nile Virus - review. *The Lancet Infectious Diseases* **2**: 519-529.
- Cancrini, G., Rainieri V., and Della Torre A. 1992.** *Aedes albopictus* as a possible vector of canine and human dirofilariasis in Italy. *Parassitologia Roma* **34**: 13.
- Cancrini, G., Pietrobelli M., Frangipane di Regalbono A.F., Tampieri M.P., and della Torre A. 1995.** Development of *Dirofilaria* and *Setaria* nematodes in *Aedes albopictus*. *Parassitologia* **37**: 141-145.
- Cancrini, G., Romi R., Gabrielli S., Toma L., DI Paolo M., and Scaramozzino P. 2003.** First finding of *Dirofilaria repens* in a natural population of *Aedes albopictus*. *Medical and Veterinary Entomology* **17**: 448-451.
- Cardamatis, J.P. 1929.** La dengue en Grece. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* **22**: 272-292.
- Cardamatis, J.P. 1931.** Les especes de moustiques en Grece et tout particulierment d'Athenes. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* **24**: 122-131.
- Carle, E. 2010.** Ένας γρύλος πολύ σιωπηλός (The very quiet cricket). Εκδόσεις Καλειδοσκόπιο, 20 σελ.
- CDC. 1992.** Eastern equine encephalitis virus associated with *Aedes albopictus* - Florida, 1991. *Morbidity and Mortality Weekly Report* **41**: 115,121.
- Cernescu, C., Nedelcu N.-I., Tardei G., Ruta S., and Tsai T.F. 2000.** Continued transmission of West Nile virus to humans in southeastern Romania, 1997-1998. *Journal of Infectious Diseases* **181**: 710-712.
- Chadée, D.D., and Corbet P.S. 1987.** Seasonal incidence and diel patterns of oviposition in the field of the mosquito, *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) in Trinidad, West Indies: a preliminary study. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **81**: 151-161.
- Chadée, D.D. 1991.** Seasonal incidence and vertical distribution patterns of oviposition by *Aedes aegypti* in urban environment in Trinidad, West Indies. *Journal of the American Mosquito Control Association* **7**: 383-386.

- Chalupa, P., Kolarova M., Sojkova N., and Januska J.** 2003. Diagnosis of imported dengue fever in the Czech Republic. *Dengue Bulletin (WHO)* **27**.
- Chambers, D.M., Steelman C.D., and Schilling P.E.** 1979. Mosquito species and densities in Louisiana ricefields. *Mosquito News* **39**: 658-668.
- Chan, K.L.** 1971. Life table studies of *Aedes albopictus* (Skuse). In *Sterility principles for insect control or eradication*. International Atomic Energy Agency, Vienna, pp. 131-144.
- Chapman, H.C., Petersen J.J., Fukuda T., Scholtens R.G., and Najera J.A.** 1972. Predators and pathogens for mosquito control. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **21**: 777-781.
- Chavasse, D.C., and Yap H.H.** 1997. Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance. World Health Organization, Division of Control of Tropical Diseases, WHO Pesticide Evaluation Scheme. Geneva. 129 pp.
- Checchi, F., Cox J., Balkan S., Tamrat A., Priotto G., Alberti K.P., Zurovac D., and Guthmann J.-P.** 2006. Malaria epidemics and interventions, Kenya, Burundi, Southern Sudan, and Ethiopia (1999-2004). *Emerging Infectious Diseases* **12**: 1477-1485.
- Chellapah, W.T., and Chellapah Jr G.R.** 1968. Susceptibility of four common Singapore mosquitoes to *Dirofilaria immitis* Leidy. *Journal of Medical Entomology* **5**: 358-361.
- Chen, W.J., Wei H.L., Hsu E.L., and Chen E.R.** 1993. Vector competence of *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) to dengue 1 virus on Taiwan: Development of the virus in orally and parenterally infected mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* **30**: 524-530.
- Cheng, S.-S., Liu J.-Y., Tsai K.-H., Chen W.-J., and Chang S.-T.** 2004. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different *Cinnamomum osmophloeum* provenances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 4395-4400.
- Chevalier, V., Pépin M., Plée L., and Lancelot R.** 2010. Rift Valley fever - a threat for Europe? *Euro Surveillance* **15**: (available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19506>).
- Chorianopoulos, N., Kalpoutzakis E., Aligiannis N., Mitaku S., Nychas G.J., and Haroutounian S.A.** 2004. Essential oils of *Satureja*, *Origanum*, and *Thymus* species: chemical composition and antibacterial activities against foodborne pathogens. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 8261-8267.
- Christophers, S.R.** 1960. *Aedes aegypti* (L.). The yellow fever mosquito: its life history, bionomics and structure. Cambridge University Press. London. 739 pp.
- Chunca, B.** 2004. Alexander the Great and West Nile Virus Encephalitis (Letter to the Editor referring the article of Marr & Calisher 2003. Alexander the Great and West Nile Virus encephalitis. Emerging Infectious Diseases, 9: 1599-1603). *Emerging Infectious Diseases* **10**: 1328-1329.
- Clarke, J.L.** 1943. Studies of the flight range of mosquitoes. *Journal of Economic Entomology* **36**: 121-122.
- Clements, A.N.** 1963. The physiology of mosquitoes. Pergamon Press. Oxford. 395 pp.
- Clements, A.N.** 1992. The biology of mosquitoes. Vol. I., Development, nutrition and reproduction. Chapman & Hall. London. 536 pp.
- Clements, A.N.** 1999. The biology of mosquitoes. Vol. 2., CABI Publishing. New York.
- Cockburn, A.F.** 1994. A critique of techniques for detection, identification, and classification of sibling species of mosquitoes. *Bulletin of the Society for Vector Ecology* **19**: 37-42.

- Colless, D.H. 1973.** A note on the status of *Aedes malayensis* and the distribution of *Aedes albopictus*. *Mosquito Systematics* **5**: 225-226.
- Collins, F.H., and Paskewitz S.M. 1996.** A review of the use of ribosomal DNA (rDNA) to differentiate among cryptic *Anopheles* species. *Insect Molecular Biology* **5**: 1-9.
- Copanaris, P. 1928.** L' epidemie de dengue en Grece au cours de l' ete 1928. *Office International d'Hygiene Publique Bulletin* **20**: 1590.
- Cornel, A.J., and Hunt R.H. 1991.** *Aedes albopictus* in Africa? First records of live specimens in imported tires in Cape Town. *Journal of the American Mosquito Control Association* **7**: 107-108.
- Cornel, A.J., Porter C.H., and Collins F.H. 1996.** Polymerase chain reaction species diagnostic assay for *Anopheles quadrimaculatus* cryptic species (Diptera: Culicidae) based on ribosomal DNA ITS2 sequences. *Journal of Medical Entomology* **33**: 109-116.
- Couladouros, E.A., and Mihou A.P. 1999.** A general synthetic route towards γ - and δ -lactones. Total asymmetric synthesis of (-)-muricatacin and the mosquito oviposition pheromone (5R,6S)-6-acetoxy-hexadecanolide. *Tetrahedron Letters* **40**: 4861-4862.
- Crabtree, M.B., Savage H.M., and Miller B.R. 1995.** Development of a species-diagnostic polymerase chain-reaction assay for the identification of *Culex* vectors of St-Louis Encephalitis-virus based on interspecies sequence variation in ribosomal DNA spacers. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **53**: 105-109.
- Crans, W.J., Chomsky M.S., Guthrie D., and Acquaviva A. 1996.** First record of *Aedes albopictus* from New Jersey. *Journal of the American Mosquito Control Association* **12**: 307-309.
- Craven, R.B., Eliason D.A., Francy D.B., Reiter P., Campos E.G., Jakob W.L., Smith G.C., Bozzi C.J., Moore C.G., Maupin G.O., and Monath T.P. 1988.** Importation of *Aedes albopictus* and other exotic mosquito species into the United States in used tires from Asia. *Journal of the American Mosquito Control Association* **4**: 138-142.
- Croset, H., Papierok B., Rioux J.A., Gabinaud A., Cousserans J., and Arnaud D. 1976.** Absolute estimates of larval populations of culicid mosquitoes: comparison of "capture-recapture", "removal" and "dipping" methods. *Ecological Entomology* **1**: 251-256.
- Dalla Pozza, G., and Majori G. 1992.** First record of *Aedes albopictus* establishment in Italy. *Journal of the American Mosquito Control Association* **8**: 318-320.
- Dalla Pozza, G., Romi R., and Severini C. 1994.** Source and spread of *Aedes albopictus* in the Veneto region of Italy. *Journal of the American Mosquito Control Association* **10**: 589-592.
- Darsie Jr, R.F., and Ward R.A. 1981.** Identification and geographical distribution of the mosquitoes of North America, North to Mexico. American Mosquito Control Association. Fresno, CA. 313 pp.
- Darsie Jr, R.F., and Samanidou-Voyadjoglou A. 1997.** Keys for the identification of the mosquitoes of Greece. *Journal of the American Mosquito Control Association* **13**: 247-254.
- Darsie Jr, R.F. 1999.** Description of the pupa of *Aedes cretinus* Edwards, a key to the pupae of the *albopictus* subgroup, subgenus *Stegomyia* Theobald, genus *Aedes* Meigen, and characters to separate the European *Stegomyia* species (Diptera: Culicidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington* **101**: 614-618.
- Dauphin, G., Zientara S., Zeller H., and Murgue B. 2004.** West Nile: worldwide current situation in animals and humans. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **27**: 343-355.

- Davis, E.E., and Sokolove P.G. 1975.** Temperature response of the antennal receptors in the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Comparative Physiology* **96**: 223-236.
- de Buck, A., Schoute E., and Swellengrebel N.H. 1934.** Cross-breeding experiments with Dutch and foreign races of *Anopheles maculipennis*. *Rivista di Malariologia* **13**: 237-263.
- Deevey Jr., E.S. 1947.** Life tables for natural populations of animals. *The Quarterly Review of Biology* **22**: 283-314.
- del Rosario, A. 1963.** Studies on the biology of Philippine mosquitoes. II. Observations on the life and behavior of *Aedes albopictus* (Skuse) in the laboratory. *Philippine Journal of Science* **92**: 89-103.
- Delatte, H., Gimonneau G., Triboire A., and Fontenille D. 2009.** Influence of temperature on immature development, survival, longevity, fecundity, and gonotrophic cycles of *Aedes albopictus*, vector of Chikungunya and dengue in the Indian Ocean. *Journal of Medical Entomology* **46**: 33-41.
- Della Torre, A., Bomboi C., and Cancrini G. 1992.** Estensione dell'areale di *Aedes albopictus* in Italia. Primo reperto della specie in Italia centrale. *Parassitologia* **34**: 143-146.
- Deubel, V., Gubler D.J., Layton M., and Malkinson M. 2001.** West Nile virus: A newly emergent epidemic disease. *Emerging Infectious Diseases* **7**: 536.
- Deubel, V., and Zeller H. 2001.** West Nile virus. In *The encyclopedia of arthropod-transmitted infections*, M. W. Service [ed.]. CABI Publishing, Eastbourne, UK, pp. 563-570.
- Dohm, D.J., Logan T.M., Barth J.F., and Turell M.J. 1995.** Laboratory transmission of sindbis virus by *Aedes albopictus*, *Ae. aegypti*, and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **32**: 818-821.
- Downing, J.A. 1986.** Spatial heterogeneity: evolved behaviour or mathematical artefact? *Nature* **323**: 255-257.
- Downs, W.G. 1974.** Yellow fever and Josiah Clark Nott. *Bulletin of the New York Academy of Medicine* **50**: 499-508.
- Dye, C. 1992.** The analysis of parasite transmission by bloodsucking insects. *Annual Review of Entomology* **37**: 1-19.
- Eads, R.B. 1972.** Recovery of *Aedes albopictus* from used tires shipped to United States ports. *Mosquito Systematics* **32**: 113-114.
- ECDC. 2007a.** Chikungunya in Italy. Mission report. European Centre of Disease Prevention and Control. 26 pp.
- ECDC. 2007b.** Consultation on vector-related risk for chikungunya virus transmission in Europe. Meeting report. European Centre of Disease Prevention and Control. Paris. 16 pp.
- ECDC. 2009.** Development of *Aedes albopictus* risk maps. European Centre of Disease Prevention and Control. Stockholm. 45 pp.
- Economidis, P.S. 1995.** Endangered freshwater fishes of Greece. *Biological Conservation* **72**: 201-211.
- Edwards, F.W. 1921.** A revision of the mosquitoes of the Palaearctic region. *Bulletin of Entomological Research* **12**: 263-351.
- Edwards, F.W. 1932.** Genera insectorum. Diptera. Family Culicidae. Fascicle 194. Desmet-Verteneuil. Brussels, Belgium. 258 pp.
- Ekblom, T. 1929.** Some observations on *Stegomyia fasciata* during a visit to Greece in the autumn of 1928. *Acta Medica Scandinavica* **70**: 505-518.

- El Hag, E.A., El Nadi A.H., and Zaitton A.A. 1999.** Toxic and growth retarding effects of three plant extracts on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *Phytotherapy Research* **13**: 388-392.
- Elliot, S.A. 1980.** *Aedes albopictus* in the Solomon and Santa Cruz islands, south Pacific. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* **74**: 747-748.
- Eltari, E., Gina A., Bitri T., and Sharofi F. 1993.** Some data on arboviruses, especially tick-borne encephalitis, in Albania. *Giornale de Malattie Infettive e Parassitario* **45**: 404-411.
- Enserink, M. 2010.** Yellow fever mosquito shows up in Northern Europe. *Science* **329**: 736.
- Estrada, J.G., and Craig G.B. 1995.** Biology, disease relationships, and control of *Aedes albopictus*. Pan American Health Organization, WHO. Washington, U.S.A. Technical Paper No. 42, 46 pp.
- Evergetis, E., Michaelakis A., Kioulos E., Koliopoulos G., and Haroutounian S.A. 2009.** Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from six Apiaceae family taxa against the West Nile virus vector *Culex pipiens*. *Parasitology Research* **105**: 117-124.
- Faran, M.E., Burnett C., Crockett J.J., and Lawson W.L. 1984.** A computerized mosquito information and collection management system for systematic research and medical entomology. (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics* **16**: 289-307.
- Fay, R.W., and Perry A.S. 1965.** Laboratory studies of ovipositional preferences of *Aedes aegypti*. *Mosquito News* **25**: 277-281.
- Fay, R.W., and Eliason D.A. 1966.** A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosquito News* **26**: 531-535.
- Felsenstein, J. 1985.** Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. *Evolution* **39**: 783-791.
- Fenwick, G.R., and Hanley A.B. 1985.** The genus *Allium* - Part I. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **22**: 199-271.
- Flacio, E., Lüthy P., Patocchi N., Guidotti F., Tonolla M., and Peduzzi R. 2004.** Primo ritrovamento di *Aedes albopictus* in Svizzera. *Bollettino della Società Ticinese di Scienze Naturali* **92**: 141-142.
- Fontenille, D., and Toto J.-C. 2001.** *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse), a potential new Dengue vector in southern Cameroon. *Emerging Infectious Diseases* **7**: 1066-1067.
- Forattini, O.P. 1996.** Culicidologia medica. Volume 1. Principios gerais morfologia glossario taxonomico. Universidade de Sao Paulo-Edusp. Brasil. 548 pp.
- Forrattini, O.P. 1986.** Identificacao de *Aedes albopictus* no Brazil. *Revista de Saude Publica* **20**: 244-245.
- Francy, D.B., Moore C.G., and Eliason D.A. 1990.** Past, present, and future of *Aedes albopictus* in the United States. *Journal of the American Mosquito Control Association* **6**: 127-132.
- Frank, L.H., and Lynn H.C. 1982.** Standardizing oviposition traps for *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*: Time and medium. *Journal of the Florida Anti Mosquito Association* **53**: 55-62.
- Freeman, B.E. 1976.** A spatial approach to insect population dynamics. *Nature* **260**: 240-241.
- Furlow, B.M., and Young W.W. 1970.** Larval surveys compared to ovitrap surveys for determining *Aedes aegypti* and *Aedes triseriatus*. *Mosquito News* **30**: 468-470.
- Galli, M., Bernini F., and Zehender G. 2004.** Alexander the Great and West Nile Virus Encephalitis (Letter to the Editor referring the article of Marr & Calisher 2003. Alexander the

Great and West Nile Virus encephalitis. Emerging Infectious Diseases, 9: 1599-1603). *Emerging Infectious Diseases* 10: 1330-1332.

Galliard, H., and Golvan I.J. 1957. Influences de certains facteurs nutritionnels et hormonaux, a des températures variables, sur la croissance des larves d'*Aedes (S.) aegypti*, *Aedes (S.) albopictus* et *Anopheles (M.) stephensi*. *Annales de Parasitologie* 23: 563-579.

Galliard, H. 1958. Recherches sur la biologie des culicides a Hanoi (Tonkin, Nord-Vietnam). I. Developpement larvaire comparatif de differentes souches d'*Aedes albopictus*, *A. aegypti*, *Culex fatigans* et *Armigerae obturbans*. *Annls. Parasitol. Hum. Comp.* 33: 131-144.

Georghiou, G., and Lagunes-Tejeda A. 1991. The occurrence of resistance in arthropods: An index of cases reported through 1989. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. 318 pp.

Georghiou, G.P., and Saito T. 1983. Pest resistance to pesticides. Plenum Press. New York.

Georghiou, G.P. 1995. Mosquito control in Northeastern Greece. Report of a consultation to the districts of Serres and Evros. 21 pp.

Gerberg, E.J. 1970. Manual for mosquito rearing and experimental techniques. American Mosquito Control Association, Inc. AMCA Bulletin No.5, 109 pp.

Gillett, J.D. 1955. Variation in the hatching-response of *Aedes* eggs. *Bulletin of Entomological Research* 46: 241-253.

Gillett, J.D. 1983. Abdominal pulses in newly emerged mosquitoes *Aedes aegypti*. *Mosquito News* 43: 359-361.

Gillies, M.T., and Wilkes T.J. 1972. The range of attraction of animal baits and carbon dioxide for mosquitoes. Studies in a freshwater area of West Africa. *Bulletin of Entomological Research* 61: 389-404.

Gillies, M.T. 1980. The role of carbon dioxide in host-finding by mosquitoes (Diptera: Culicidae): a review. *Bulletin of Entomological Research* 70: 525-532.

Gjullin, C.M., and Stage H.H. 1950. Studies on *Aedes vexans* (Meig.) and *Aedes sticticus* (Meig.), flood water mosquitoes, in the Lower Columbia River Valley. *Annals of the Entomological Society of America* 43: 262-275.

Gjullin, C.M., Johnson J.O., and Plapp Jr. F.W. 1965. The effect of odors released by various waters on the oviposition sites selected by *Culex*. *Mosquito News* 25: 268-271.

Granwehr, B.P., Lillibridge K.M., Higgs S., Mason P.W., Aronson J.F., Campbell G.A., and Barrett A.D.T. 2004. West Nile virus: where are we now? *The Lancet Infectious Diseases* 4: 547-556.

Gratz, N.G. 1999. Emerging and resurging vector-borne diseases. *Annual Review of Entomology* 44: 51-75.

Gratz, N.G. 2001. The risk of resurgent malaria in the Balkans. In *Proceedings of the 1st Balkan Conference "Malaria and Mosquito Control"* 5-7 April 2001 Lithotopos, Serres, Greece, pp. 27-32.

Gratz, N.G. 2004. Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Medical and Veterinary Entomology* 18: 215-227.

Grist, N.R. 1993. *Aedes albopictus*: the tyre-travelling tiger. *Journal of Infection* 27: 1-4.

Groot, H. 1980. The reinvasion of Colombia by *Aedes aegypti*: Aspects to remember. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 29: 330-338.

Gubler, D.J., and Bhattacharya N.C. 1971. Observations on the reproductive history of *Aedes albopictus* in the laboratory. *Mosquito News* 31: 356-359.

- Gubler, D.J. 1998a.** Resurgent vector-borne diseases as a global health problem. *Emerging Infectious Diseases* **4**: 442-450.
- Gubler, D.J. 1998b.** Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clinical Microbiology Reviews* **11**: 480-496.
- Gutsevich, A.V., Monchadskii A.S., and Shtakel'berg A.A. 1974.** Fauna of the U.S.S.R. Diptera Volume 3, No. 4, Mosquitoes, family Culicidae. [Translated from Russian original, 1971, by Israel Program for Scientific Translations]. Keter Publishing House Jerusalem Ltd, Jerusalem, Israel. 408 pp.
- Hacker, C.S. 1972.** Measuring reproductive potentials in populations. *Mosquito News* **32**: 193-197.
- Haddad, N., Harbach R.E., Chamat S., and Bouharoun-Tayoun H. 2007.** Presence of *Aedes albopictus* in Lebanon and Syria. *Journal of the American Mosquito Control Association* **23**: 226-228.
- Hadjinicolaou, J. 1948.** Toxicity of DDT and "Gammexane" sprays to house flies (*Musca domestica* L.). *Archives of Hygiene* **6**: 7-12.
- Hadjinicolaou, J. 1954.** Observations on the control of some insects of medical importance in Greece. In *Proceedings of the 1st International Symposium on the control of insect vectors of disease*, pp. 160-183.
- Hadjinicolaou, J., and Betzios B.C. 1972.** Testing the effect on DDT on wild *Anopheles sacharovi* populations in Greece. World Health Organization. Geneva. WHO/MAL/72.786, 10 pp.
- Hadjinicolaou, J., and Betzios B. 1973a.** Resurgence of *Anopheles sacharovi* following malaria eradication. *Bulletin of the World Health Organization* **48**: 699-703.
- Hadjinicolaou, J., and Betzios B. 1973b.** Gambusia fish as a means of biological control of *Anopheles sacharovi* in Greece. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/73.463, WHO/MAL/73.818, 7 pp.
- Hagstrum, D.W. 1971.** Evaluation of the standard pint dipper as a quantitative sampling device for mosquito larvae. *Annals of the Entomological Society of America* **64**: 537-540.
- Halcrow, J.G. 1955.** Notes on a laboratory colony of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) and its distribution in Mauritius. *Proceedings of the Royal Entomological Society of London (A)* **30**: 40-42.
- Halstead, S.B. 1980.** Dengue haemorrhagic fever - public health problem and a field for research. *Bulletin of the World Health Organization* **58**: 1-21.
- Hammon, W.M., Rundnick A., and Sather G.E. 1960.** Viruses associated with epidemic hemorrhagic fevers of the Philippines and Thailand. *Science* **131**: 1102-1103.
- Han, L.L., Popovici F., Alexander Jr J.P., Laurentia V., Tengelsen L.A., Cernescu C., Gary Jr H.E., Ion-Nedelcu N., Campbell G.L., and Tsai T.F. 1999.** Risk factors for West Nile virus infection and meningoencephalitis, Romania, 1996. *Journal of Infectious Diseases* **179**: 230-233.
- Hannoun, C., Corniou B., and Mouchet J. 1972.** Role of migrating birds in arbovirus transfer between Africa and Europe. In *Transcontinental connections of migratory birds and their role in the distribution of arboviruses*, A. I. Cherepanov [ed.] Novosibirsk: Nauka, pp. 167-172.
- Hanson, S.M., Song M., and Graig Jr G.B. 1988.** Urban distribution of *Aedes triseriatus* in northern Indiana. *Journal of the American Mosquito Control Association* **4**: 15-19.
- Harbach, R.E., and Knight K.L. 1977.** The mosquito taxonomic glossary - XII. The larval labiohypopharynx. *Mosquito Systematics* **9**: 337-365.

- Harbach, R.E., and Knight K.L. 1980.** Taxonomists' glossary of mosquito anatomy. Plexus Publishing, Inc., New Jersey. 413 pp.
- Harbach, R.E., and Kitching I.J. 1998.** Phylogeny and classification of the Culicidae (Diptera). *Systematic Entomology* **23**: 327-370.
- Harbach, R.E., and Howard T.M. 2007.** Index of currently recognized mosquito species (Diptera: Culicidae). *European Mosquito Bulletin* **23**: 1-66.
- Harwood, S.H., Moldenke A.F., and Berry R.E. 1990.** Toxicity of peppermint monoterpenes to the variegated cutworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* **83**: 1761-1767.
- Hashim, N.A., Ahmad A.H., Md Rawi C.S., Tahir N.A., and Basari N. 2008.** Life tables study of immature *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) during the wet and dry seasons in Penang, Malaysia. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **39**: 39-47.
- Haverfield, L.E., and Hoffman B.L. 1966.** Used tires as a mean of dispersal of *Aedes aegypti* in Texas. *Mosquito News* **26**: 433-435.
- Hawley, W.A., Reiter P., Copeland R.S., Pumpuni C.B., and Craig Jr G.B. 1987.** *Aedes albopictus* in North America: probable introduction in used tires from northern Asia. *Science* **236**: 1114-1116.
- Hawley, W.A. 1988.** The biology of *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association* **4** (Suppl.1): 1-39.
- Hawley, W.A., Pumpuni C.B., Brady R.H., and Craig Jr G.B. 1989.** Overwintering survival of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) eggs in Indiana. *Journal of Medical Entomology* **26**: 122-129.
- Headlee, T.J. 1932.** The development of mechanical equipment for sampling the fauna and some results of its use. *Proceedings of the Annual Meeting of the New Jersey Mosquito Extermination Association* **19**: 106-128.
- Hemingway, J., and Ranson H. 2000.** Insecticide resistance in insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology* **45**: 371-391.
- Hemingway, J., Field L., and Vontas J. 2002.** An overview of insecticide resistance. *Science* **298**: 96-97.
- Hien, D.-S. 1975a.** Biology of *Aedes aegypti* (L., 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera, Culicidae). III. Effect of certain environmental conditions on the development of larvae and pupae. *Acta Parasitologica Polonica* **23**: 553-568.
- Hien, D.-S. 1975b.** Biology of *Aedes aegypti* (L., 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera, Culicidae). II. Effect of environmental conditions on the hatching of larvae. *Acta Parasitologica Polonica* **23**: 537-552.
- Higgs, S. 2005.** Journal policy on names of Aedine mosquito genera and subgenera. *Vector - Borne and Zoonotic Diseases* **5**: 93-94.
- Hilburn, L.R., Willis N.L., and Seawright J.A. 1983.** An analysis of preference in the color of oviposition sites exhibited by female *Toxorhynchites r. rutilus* in the laboratory. *Mosquito News* **43**: 302-306.
- Ho, S.H., Koh Y., Ma Y., Huang Y., and Sim K.Y. 1996.** The oil of garlic, *Allium Sativum* L. (Amaryllidaceae), as a potential grain protectant against *Trigolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motch. *Postharvest Biology and Technology* **9**: 41-48.
- Holick, J., Kyle A., Ferraro W., Delaney R.R., and Iwaseckzo M. 2002.** Discovery of *Aedes albopictus* infected with west nile virus in southeastern Pennsylvania. *Journal of the American Mosquito Control Association* **18**: 131.

- Horsfall, W.R. 1955.** Mosquitoes - Their bionomics and relation to disease. The Ronald Press Company. New York. 723 pp.
- Horsfall, W.R. 1956.** A method for making a survey of floodwater mosquitoes. *Mosquito News* **16**: 66-71.
- Horsfall, W.R., Fowler H.W., Moretti L.J., and Larsen J.R. 1973.** Bionomics and embryology of the inland floodwater mosquito *Aedes vexans*. University of Illinois Press. Urbana, U.S.A. 211 pp.
- Huang, C.H. 1957.** Studies of virus factors as causes of inapparent infection in Japanese B encephalitis: virus strains, viraemia, stability to heat and infective dosage. *Acta Virologica* **1**: 36-45.
- Huang, Y.-M. 1972.** Contributions to the mosquito fauna of the Southeast Asia. XIV. The subgenus *Stegomyia* of *Aedes* in Southeast Asia. I - The *Scutellaris* group of species. *Contribution of the American Entomological Institution* **9**: 1-109.
- Hubálek, Z., and Halouzka J. 1996.** Arthropod-borne viruses of vertebrates in Europe. *Acta Scientiarum Naturalium Academiae Scientiarum Bohemicae Brno* **30**: 4-5.
- Hubálek, Z., and Halouzka J. 1999.** West Nile Fever - a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerging Infectious Diseases* **5**: 545-556.
- Hubálek, Z. 2000.** European experience with the West Nile virus ecology and epidemiology: Could it be relevant for the New World? *Viral Immunology* **13**: 415-426.
- Hubálek, Z. 2008.** Mosquito-borne viruses in Europe. *Parasitology Research* **103**: S29-S43.
- Hurlbut, H.S. 1956.** West Nile virus infection in arthropods. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **5**: 76-85.
- Hutchins, S.H., Smelser R.B., and Pedigo L.P. 1988.** Insect migration: Atmospheric modeling and industrial application of an ecological phenomenon. *Bulletin of the Entomological Society of America Spring*, **1988**.
- Ibanez-Bernal, S., and Martinez-Campos C. 1994.** *Aedes albopictus* in Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association* **10**: 231-232.
- Ikeshoji, T., Saito K., and Yano A. 1975.** Bacterial production of the ovipositional attractants for mosquitoes in fatty acid substrates. *Applied Entomology and Zoology* **10**: 239-242.
- Ioannidis, P.M., Savopoulou-Soultani M., Kaltsa O.P., and Andreadis S.S. 2001.** Monitoring and detection of insecticides resistance of mosquitoes in the region of Serres, of Northern Greece. In *Proceedings of the 1st Balkan Conference "Malaria and Mosquito Control"* 5-7 April 2001 Lithotopos, Serres, Greece, pp. 98-102.
- Ishii, N., Nakayama A., and Ishii Y. 1954.** Biological observations on the mosquito, *Aedes albopictus*. *Yokohama med. Bull.* **5**: 275-281.
- 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 an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology* **51**: 45-66.
- Isman, M.B., and Machial C.M. 2006.** Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. In *Naturally occurring bioactive compounds*, M. Rai and C. M. Carpinella [ed.]. Elsevier, Amsterdam, pp. 29-44.
- Isman, M.B., Wilson J.A., and Bradbury R. 2008.** Insecticidal activities of commercial rosemary oils (*Rosmarinus officinalis*) against larvae of *Pseudaletia unipuncta* and *Trichoplusia ni* in relation to their chemical composition. *Pharmaceutical Biology* **46**: 82-87.

- Isoe, J., Millar J.G., and Beehler J.W. 1995.** Bioassays for *Culex* (Diptera: Culicidae) mosquito oviposition attractants and stimulants. *Journal of Medical Entomology* **32**: 475-483.
- Jakob, W.L., and Bevier G.A. 1969.** Evaluation of ovitraps in the U.S. *Aedes aegypti* eradication program. *Mosquito News* **29**: 650-653.
- Jepson, P.C., and Healy T.P. 1988.** The location of floral nectar sources by mosquitoes: an advanced bioassay for volatile plant odours and initial studies with *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae). *Bulletin of Entomological Research* **78**: 641-650.
- Jeyabalan, D., Arul N., and Thangamathi P. 2003.** Studies on effects of *Pelargonium citrosa* leaf extracts on malarial vector *Anopheles stephensi* Liston. *Bioresource Technology* **89**: 185-189.
- JME Editors. 2005.** Journal policy on names of Aedine mosquito genera and subgenera. *Journal of Medical Entomology* **42**: 511.
- John, K.H., Stoll J.R., and Olson J.K. 1987.** An economic assessment of the benefits of mosquito abatement in an organized mosquito control district. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**: 8-14.
- Joseph, C.C., Ndoile M.M., Malima R.C., and Nkunya M.H.H. 2004.** Larvicidal and mosquitocidal extracts, a coumarin, isoflavonoids and pterocarpans from *Neorautanenia mitis*. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* **98**: 451-455.
- Joyeux, C.H. 1918.** Note sur les Culicides de Macedoine. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* **11**: 530-547.
- Jumali, S., Gubler D.J., Nalim S., Eram S., and Saroso J.S. 1979.** Epidemic dengue hemorrhagic fever in rural Indonesia. III. Entomological studies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **28**: 717-724.
- Jupp, P.G., and Kemp A. 1992.** *Aedes albopictus* and other mosquitoes imported in tires into Durban, South Africa. *Journal of the American Mosquito Control Association* **8**: 321-322.
- Kaiser, A., Jerrentrup H., Samanidou-Voyadoglou A., and Becker N. 2001.** Contribution to the distribution of European mosquitoes (Diptera: Culicidae): four new country records from northern Greece. *European Mosquito Bulletin* **10**: 9-12.
- Kamimura, K., Matsuse I.T., Takahashi H., Komukai J., Fukuda T., Suzuki H., Aratani M., Shirai Y., and Mogi M. 2002.** Effect of temperature on the development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Medical Entomology and Zoology* **53**: 53-58.
- Karabatsos, N. 1985.** International catalogue of arboviruses, including certain other viruses of vertebrates. 3rd edition & Supplements 1986-98. American Society of Tropical Medicine and Hygiene. San Antonio, USA.
- Kassir, J.-T., Mohsen Z.-H., and Mehdi N.-S. 1989.** Toxic effects of limonene against *Culex quinquefasciatus* Say larvae and its interference with oviposition. *Anzeiger fur Schadlingskunde, Pflanzenschutz, Umweltschutz* **62**: 19-21.
- Kasule, F.K. 1986.** A comparison of the life history components of *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Insect Scientific Applications* **7**: 143-147.
- Kay, B.H., Prakash G., and Andre R.G. 1995.** *Aedes albopictus* and other *Aedes* (*Stegomyia*) species in Fiji. *Journal of the American Mosquito Control Association* **11**: 230-234.
- Kellogg, F.E. 1970.** Water vapour and carbon dioxide receptors in *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology* **16**: 99-108.
- Kettle, D.S. 1995.** Medical and veterinary entomology. 2nd edition. CAB International. Cambridge, U.K. 725 pp.

- Kim, S.I., Roh J.Y., Kim D.-H., Lee H.-K., and Ahn Y.-J.** 2003. Insecticidal activities of aromatic plant extracts and essential oils against *Sitophilus oryzae* and *Callosobruchus chinensis*. *Journal of Stored Products Research* **39**: 293-303.
- Kimbaris, A.C., Kioulos E., Koliopoulos G., Polissiou M.G., and Michaelakis A.** 2009. Coactivity of sulfide ingredients: a new perspective of the larvical activity of garlic essential oil against mosquitoes. *Pest Management Science* **65**: 249-254.
- Kioulos, E., Koliopoulos G., Couladouros E.A., and Michaelakis A.** 2007-2008. Preliminary studies for the attract-and-kill strategy against *Culex pipiens*. *Entomologia Hellenica* **17**: 3-11.
- Kirbaslar, F.G., Kirbaslar S.I., and Dramur U.** 2001. The compositions of Turkish bergamot oils produced by cold-pressing and steam distillation. *Journal of Essential Oil Research* **13**: 411-415.
- Kitron, U.D., Webb D.W., and Novak R.J.** 1989. Oviposition behavior of *Aedes triseriatus* (Diptera: Culicidae): prevalence, intensity aggregation of eggs in oviposition traps. *Journal of Medical Entomology* **26**: 462-467.
- Kjer, K.M., Baldridge G.D., and Fallon A.M.** 1994. Mosquito large subunit ribosomal RNA: simultaneous alignment of primary and secondary structure. *Biochimica et Biophysica Acta* **1217**: 147-155.
- Klobucar, A., Benic N., John V., Culig J., Merdic E., Boca I., Landeka N., and Zitko T.** 2006a. *Stegomyia albopicta*, Asian tiger mosquito in Croatia. In *Abstract book of 15th European SOVE Meeting* 10-14 April, 2006 Serres, Greece, pp. 98.
- Klobucar, A., Merdic E., Benic N., Baklaic Z., and Krcmar S.** 2006b. First record of *Aedes albopictus* in Croatia. *Journal of the American Mosquito Control Association* **22**: 147-148.
- Kloter, K.O., Bowman D.D., and Carroll M.K.** 1983. Evaluation of some ovitrap materials used for *Aedes aegypti* surveillance. *Mosquito News* **43**: 438-441.
- Klowden, M.J.** 1995. Blood, sex, and the mosquito. *BioScience* **45**: 326-331.
- Knight, K.L., and Hurlbut H.S.** 1949. The mosquitoes of Ponape Island eastern Carolinas. *Journal of the Washington Academy of Sciences* **39**: 20-34.
- Knight, K.L., and Stone A.** 1977. A catalog of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae). 2nd edition. *Journal of the Entomological Society of America* **6**: 611 pp.
- Knudsen, A.B.** 1995. Geographic spread of *Aedes albopictus* in Europe and the concern among public health authorities. *European Journal of Epidemiology* **11**: 345-348.
- Knudsen, A.B., Romi R., and Majori G.** 1996. Occurrence and spread in Italy of *Aedes albopictus* with implications for its introduction into other parts of Europe. *Journal of the American Mosquito Control Association* **12**: 177-183.
- Koetschan, C., Förster F., Keller A., Schleicher T., Ruderisch B., Schwarz R., Müller T., Wolf M., and Schultz J.** 2010. The ITS2 Database III-sequences and structures for phylogeny. *Nucleic Acids Research* **38 (Database issue)**: D275-9. Epub 2009 Nov 17.
- Komar, N.** 2000. West Nile viral encephalitis. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)* **19**: 166-176.
- Konishi, E.** 1989. *Culex tritaeniorhynchus* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) as natural vectors of *Dirofilaria immitis* (Spirurida: Filariidae) in Miki City, Japan. *Journal of Medical Entomology* **26**: 294-300.
- Koptopoulos, G., and Papadopoulos O.** 1980. A serological survey for tick-borne encephalitis and West Nile viruses in Greece. *Zentralblatt fur Bakteriologie Suppl* **9**: 185-188.

- Kortekaas, J., Ergönül O., and Moormann R.J.M.** 2010. Interventions against West Nile virus, Rift Valley Fever virus, and Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus: Where are we? *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **10**: 709-718.
- Kottelat, M., and Freyhof J.** 2007. *Pelasgus*, a new genus name for the Balkan species of *Pseudophoxinus* (Teleostei: Cyprinidae). *Ichthyological Explorations in Freshwaterers* **18**: 103-108.
- Kow, C.Y., Koon L.L., and Yin P.F.** 2001. Detection of Dengue viruses in field caught male *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Singapore by type-specific PCR. *Journal of Medical Entomology* **38**: 475-479.
- Krisztalovics, K., Ferenczi E., Molnár Z., Csohán Á., Bán E., Zöldi V., and Kaszás K.** 2008. West Nile virus infections in Hungary, August–September 2008. *Euro Surveillance* **13**: (available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19030>).
- Kruger, R.M., and Pinger R.R.** 1981. A larval survey of the mosquitoes of Delaware county, Indiana. *Mosquito News* **41**: 484-489.
- La Ruche, G., Souarès Y., Armengaud A., Peloux-Petiot F., Delaunay P., Després P., Lenglet A., Jourdain F., Leparc-Goffart I., Charlet F., Ollier L., Mantey K., Mollet T., Fournier J.P., Torrents R., Leitmeyer K., Hilairet P., Zeller H., Van Bortel W., Dejour-Salamanca D., Grandadam M., and Gastellu-Etchegorry M.** 2010. First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France. *Euro Surveillance* **15**: (available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19676>).
- Laille, P.M., Fauran P., and Rodhain F.** 1990. Note sur la présence d'*Aedes (Stegomyia) albopictus* dans les îles Fidji. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* **83**: 394-398.
- Lanciotti, R.S., Kerst A.J., Nasci R.S., Godsey M.S., Mitchell C.J., Savage H.M., Komar N., Panella N.A., Allen B.C., Volpe K.E., Davis B.S., and Roehrig J.T.** 2000. Rapid detection of West Nile virus from human clinical specimens, Field-collected mosquitoes, and avian samples by a TaqMan reverse transcriptase-PCR assay. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 4066-4071.
- Lane, J.** 1974. The preservation and mounting of insects of medical importance. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/74.502, 20 pp.
- Lane, J.** 1982. *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards, 1921 (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics* **14**: 81-85.
- Lapage, G.** 1956. Veterinary parasitology. Oliver and Boyd. 964 pp.
- Laurence, B.R., and Pickett J.A.** 1985. An oviposition attractant pheromone in *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Bulletin of Entomological Research* **75**: 283-290.
- Lee, H.-S.** 2004. Acaricidal activity of constituents identified in *Foeniculum vulgare* fruit oil against *Dermatophagoides* spp. (Acari: Pyroglyphidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 2887-2889.
- Lee, H.-S.** 2006. Mosquito larvicidal activity of aromatic medicinal plant oils against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens*. *Journal of the American Mosquito Control Association* **22**: 292-295.
- Lehane, M.J.** 1991. Biology of blood-sucking insects. Harper Collins Academic. London, UK. 288 pp.
- Leiser, L.B., and Beier J.C.** 1982. A comparison of oviposition traps and New Jersey light traps for *Culex* population surveillance. *Mosquito News* **42**: 391-395.
- Leyse, K., Lawler S.P., and Strange T.** 2004. Effects of an alien fish, *Gambusia affinis*, on an endemic California fairy shrimp, *Linderiella occidentalis*: implications for conservation of diversity in fishless waters. *Biological Conservation* **118**: 57-65.

- Linley, J.R. 1989.** Comparative fine structure of the eggs of *Aedes albopictus*, *Ae. aegypti*, and *Ae. bahamensis* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* **26**: 510-521.
- Linton, Y.-M. 1999.** Molecular biology techniques. In: Characterisation of the *Culicoides imicola* complex in South Africa, and its phylogenetic status in Europe. Ph.D. Thesis. University of Aberdeen. Scotland.
- Linton, Y.-M., Harbach R.E., Chang M.S., Anthony T.G., and Matusop A. 2001.** Morphological and molecular identity of *Anopheles (Cellia) sundaicus* (Diptera: Culicidae), the nominotypical member of a malaria vector species complex in Southeast Asia. *Systematic Entomology* **26**: 357-366.
- Livadas, G. 1955.** Resistance of anophelines to chlorinated insecticides in Greece. *Mosquito News* **15**: 67-71.
- Livadas, G. 1958.** Malaria eradication in Greece. *Rivista di Malariologia* **37**: 173-191.
- Lounibos, L.P. 2002.** Invasions by insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology* **47**: 233-266.
- Lounibos, L.P., Escher R.L., and Lourenco-de-Oliveira R. 2003.** Asymmetric evolution of photoperiodic diapause in temperate and tropical invasive populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America* **96**: 512-518.
- Lowe, R.E., and Bailey D.L. 1979.** Comparison of morning and evening captures of adult female *Anopheles albimanus* from stables in El Salvador. *Mosquito News* **39**: 532-535.
- Lowe, S., Browne M., Boudjelas S., and De Poorter M. 2004.** 100 of the world's worst invasive alien species. A selection from the Global Invasive Species Database. The Invasive Species Specialist Group (ISSG), a specialist group of the Species Survival Commission (SSC) of the World Conservation Union (IUCN). 12 pp.
- Lugo Edel, C., Moreno G., Zachariah M.A., López M.M., López J.D., Delgado M.A., Valle S.I., Espinoza P.M., Salgado M.J., Pérez R., Hammond S.N., and Harris E. 2005.** Identification of *Aedes albopictus* in urban Nicaragua. *Journal of the American Mosquito Control Association* **21**: 325-327.
- Lundström, J.O. 1999.** Mosquito-borne viruses in Western Europe: a review. *Journal of Vector Ecology* **24**: 1-39.
- Macedo, M.E., Consoli R.A.G.B., Grandi T.S.M., dos Anjos A.M.G., de Oliveira A.B., Mendes N.M., Queiroz R.O., and Zani C.L. 1997.** Screening of Asteraceae (Compositae) plant extracts for larvicidal activity against *Aedes vexans* (Diptera: Culicidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* **92**: 565-570.
- Mackey, B.E., and Hoy J.B. 1978.** *Culex tarsalis*: Sequential sampling as a means of estimating populations in Californian rice fields. *Journal of Economic Entomology* **71**: 329-334.
- Madon, M.B., Mulla M.S., Shaw M.W., Kluh S., and Hazelrigg J.E. 2002.** Introduction of *Aedes albopictus* (Skuse) in southern California and potential for its establishment. *Journal of Vector Ecology* **27**: 149-154.
- Magnarelli, L.A. 1979.** Diurnal nectar-feeding of *Aedes cantator* and *Ae. sollicitans* (Diptera: Culicidae). *Environmental Entomology* **8**: 949-955.
- Mahmood, F. 1997.** Life-Table attributes of *Anopheles albimanus* (Wiedemann) under controlled laboratory conditions. *Journal of Vector Ecology* **22**: 103-108.
- Mangiafico, J.A. 1971.** Chikungunya virus infection and transmission in five species of mosquito. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **20**: 642-645.

- Manonmani, A., Townson H., Adeniran T., Jambulingam P., Sahu S., and Vijayakumar T.** 2001. rDNA-ITS2 polymerase chain reaction assay for the sibling species of *Anopheles fluviatilis*. *Acta Tropica* **78**: 3-9.
- Manson, P.** 1879. On the development of *Filaria sanguinis hominis* and on the mosquito considered as a nurse. *Journal of the Linnean Society of London* **14**: 304-311.
- Marr, J.S., and Calisher H.** 2003. Alexander the Great and West Nile Virus encephalitis. *Emerging Infectious Diseases* **9**: 1599-1603.
- Marr, J.S., and Calisher H.** 2004. Alexander the Great and West Nile Virus encephalitis (in reply of the Letters to the Editor in the same issue, by Chunca, B., Oldach, D., Benitez, M., Mackowiak, P., Galli, M., Bernini, F. and Zehender, G.). *Emerging Infectious Diseases* **10**: 1332-1333.
- Martini, E.** 1931. Culicidae. In Lindner's 'Die Fliegen der Palaearktischen region,' 11-12 Stuttgard: Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung.
- Massada, Y.** 1976. Analysis of essential oil by Gas Chromatography and Spectrometry. Wiley. New York.
- Matheson, R.** 1950. Medical Entomology. Comstock Publishing Company, Inc., Ithaca, New York. 612 pp.
- Matsuo, K.Y., Yoshida Y., and Kunou I.** 1972. The scanning electron microscopy of mosquitoes. I. The egg surfaces of five species of *Aedes* and *Armigeres subalbatus*. *Journal of Kyoto Prefectural University of Medicine* **81**: 358-363.
- Matsuo, K.Y., Yoshida Y., and Lien J.C.** 1974. The scanning electron microscopy of mosquitoes. II. The egg surfaces of 13 species of *Aedes* from Taiwan. *Journal of Medical Entomology* **11**: 179-188.
- Matsuzawa, H., and Kitahara N.** 1966. Some knowledge on the biology of *Aedes albopictus* Skuse (in Japanese). *Japanese Journal of Sanitary Zoology* **17**: 232-235.
- Mattingly, P.F.** 1954. Notes on the subgenus *Stegomyia* (Diptera, Culicidae), with a description of a new species. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **48**: 259-270.
- Mattingly, P.F.** 1957. Genetical aspects of the *Aedes aegypti* problem. I. Taxonomy and bionomics. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **51**: 392-408.
- McDaniel, I.N., Bentley M.D.Z., Lee H.-P., and Yatagai M.** 1976. Effects of color and larval-produced oviposition attractants on oviposition of *Aedes triseriatus*. *Environmental Entomology* **5**: 553-556.
- McIver, S.B.** 1980. Sensory aspects of mate-finding behaviour in male mosquitoes. *Journal of Medical Entomology* **17**: 54-57.
- McLaughlin, R.E., Brown M.A., and Vidrine M.F.** 1987. The sequential sampling of *Psorophora columbiae* larvae in rice fields. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**: 423-428.
- McLean, R.G., Ubico S.R., Bourne D., and Komar N.** 2002. West Nile virus in livestock and wildlife. *Current Topics in Microbiology and Immunology* **267**: 271-308.
- McManus, M.L.** 1988. Weather, behaviour and insect dispersal. *Memoirs of the Entomological Society of Canada* **146**: 71-94.
- Medical Net.** 2004. Overview of West Nile virus before season starts. *Disease/Infection News* **24 April 2004**.
- Medlock, J.M., Avenell D., Barratt I., and Leach S.** 2006. Analysis of the potential for survival and seasonal activity of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in the United Kingdom. *Journal of Vector Ecology* **31**: 292-304.

- Melliou, E., Michaelakis A., Koliopoulos G., Skaltsounis A.-L., and Magiatis P. 2009.** High quality bergamot oil from Greece: Chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against West Nile Virus vector. *Molecules* **14**: 839-849.
- Melnick, J.L., Paul J.R., Riordan J.T., Barnett V.H.H., Goldblum N., and Zabin E. 1951.** Isolation from human sera in Egypt of a virus apparently identical to West Nile virus. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine* **77**: 661-665.
- Metselaar, D., Grainger C.R., Oei K.G., Reynolds D.G., Pudney M., Leake C.J., Tukei P.M., D'Offay R.M., and Simpson D.I.H. 1980.** An outbreak of type 2 dengue fever in Seychelles probably transmitted by *Aedes albopictus* (Skuse). *Bulletin of the World Health Organization* **58**: 937-943.
- Michaelakis, A., Mihou A.P., Couladouros E.A., Zounos A.K., and Koliopoulos G. 2005.** Oviposition responses of *Culex pipiens* to a synthetic racemic *Culex quinquefasciatus* oviposition aggregation pheromone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**: 5225-5229.
- Michaelakis, A., Couladouros E.A., Mihou A.P., and Koliopoulos G. 2006.** Evaluation of the synthetic racemic oviposition pheromone of *Culex quinquefasciatus* and the use of its microencapsulated form in the "Attract and the Kill" strategy. In *Abstract book of 15th European SOVE Meeting* 10-14 April, 2006 Serres, Greece, pp. 118.
- Michaelakis, A., Mihou A.P., Koliopoulos G., and Couladouros E.A. 2007.** Attract-and-kill strategy. Laboratory studies on hatched larvae of *Culex pipiens*. *Pest Management Science* **63**: 954-959.
- Michaelakis, A., Papachristos D., Kimbaris A., Koliopoulos G., Giatropoulos A., and Polissiou M. 2009.** Citrus essential oils and four enantiomeric pinenes against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research* **105**: 769-773.
- Mihou, A. 2001.** PhD Thesis. Agricultural University of Athens, Athens.
- Millar, J.C., Chaney J.D., and Mulla M.S. 1992.** Identification of oviposition attractants for *Culex quinquefasciatus* from fermented Bermuda grass infusions. *Journal of the American Mosquito Control Association* **8**: 11-17.
- Mitchell, C.J., Miller B.R., and Gubler D.J. 1987.** Vector competence of *Aedes albopictus* from Houston, Texas, for dengue serotypes 1 to 4, yellow fever and Ross River viruses. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**: 460-465.
- Mitchell, C.J. 1991.** Vector competence of North and South American strains of *Aedes albopictus* for certain arboviruses - a review. *Journal of the American Mosquito Control Association* **7**: 446-451.
- Mitchell, C.J., Niebylski M.L., Smith G.C., Karabatsos N., Martin D., Mutebi J.-P., Craig Jr G.B., and Mahler M.J. 1992.** Isolation of eastern equine encephalitis virus from *Aedes albopictus* in Florida. *Science* **257**: 526-527.
- Mitchell, C.J., McLean R.G., Nasci R.S., Crans W.J., Smith G.C., and Caccamise D.F. 1993.** Susceptibility parameters of *Aedes albopictus* to per oral infection with Eastern Equine Encephalitis Virus. *Journal of Medical Entomology* **30**: 233-235.
- Mitchell, C.J. 1995.** Geographical spread of *Aedes albopictus* and potential for involvement in arbovirus cycles in the Mediterranean basin. *Journal of Vector Ecology* **20**: 44-58.
- Miyazawa, M., Tsukamoto T., Anzai J., and Ishikawa Y. 2004.** Insecticidal effect of phthalides and furanocoumarins from *Angelica acutiloba* against *Drosophila melanogaster*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**: 4401-4405.
- Modello, L., Verzera A., Previti P., Crispo F., and Dugo G. 1998.** Multidimensional capillary GC-GC for the analysis of complex samples. 5. Enantiomeric distribution of

- monoterpene hydrocarbons, monoterpene alcohols and linalyl acetate of Bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **46**: 4275-4282.
- Mogi, M. 1978.** Population studies on mosquitoes in the rice field area of Nagasaki, Japan, especially on *Culex tritaeniorhynchus*. *Tropical Medicine* **20**: 173-263.
- Mohrig, W. 1969.** Die Culiciden Deutschlands. *Parasitol. Schriftenreihe* **18**: 260.
- Monath, T.P., Warren K.S., and Mahmoud A.A.F. 1990.** Yellow fever. In *Tropical and geographical medicine*. McGraw Hill Inc., New York; USA, pp. 661-674.
- Monath, T.P. 2001.** Yellow fever. In *The encyclopedia of arthropod-transmitted infections*, M. W. Service [ed.]. CABI Publishing, Eastbourne, UK, pp. 571-577.
- Mongelli, E., Coussio J., and Ciccia G. 2002.** Investigation of the larvicidal activity of *Pothomorphe peltata* and isolation of the active constituent. *Phytotherapy Research* **16**: S71-S72.
- Montschadsky, A. 1936.** Les larves des moustiques (fam. Culicidae) de l'URSS et des pays limitrophes. *Tableaux Analytiques del le Faune U.R.S.S.* **24**: 1-383 (in Russian).
- Montschadsky, A. 1951.** Les larves des moustiques (fam. Culicidae) de l'URSS et des pays limitrophes. 2nd ed. *Ibid* **37**.
- Moore, C.G., Francy D.B., Eliason D.A., Bailey R.E., and Campos E.G. 1990.** *Aedes albopictus* and other container-inhabiting mosquitoes in the United States; results of an eight-city survey. *Journal of the American Mosquito Control Association* **6**: 173-178.
- Moore, C.G., McLean R.G., Mitchell C.J., Nasci R.S., Tsai T.F., Calisher C.H., Marfin A.A., Moore P.S., and Gubler D.J. 1993.** Guidelines for arbovirus surveillance programs in the United States. Centers for Disease Control and Prevention. Fort Collins, Colorado, USA. 81 pp.
- Moore, C.G. 1999.** *Aedes albopictus* in the United States: Current status and prospects for further spread. *Journal of the American Mosquito Control Association* **15**: 221-227.
- Moreau, M. 1988.** Data sheet on the impact of pesticides on non-target organisms - No.1 Temephos. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/88.955, 39 pp.
- Mori, K. 2000.** Organic synthesis and chemical ecology. *Accounts of Chemical Research* **33**: 102-110.
- Moriya, K., Yabe T., and Harada F. 1973.** Chorionic markings of some aedine mosquitoes in Japan I. Preliminary observations by a scanning electron microscope and a reflected lighting microscope. *Japanese Journal of Sanitary Zoology* **24**: 47-55.
- Morris, C.D., and Clanton K.B. 1988.** Quantification of a nuisance mosquito problem in Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association* **4**: 377-379.
- Morris, C.D., and Robinson J.W. 1994.** Distribution of mosquito larvae in a waste tire pile in Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association* **10**: 174-180.
- Morris, R.F., and Miller C.A. 1954.** The development of epitoboles for the spruce budworm. *Canadian Journal of Zoology* **32**: 283-301.
- Mullis, K.B., Falloona F.A., Scharf S., Saiki R., Horn G., and Erlich H. 1986.** Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* **51**: 263-273.
- Mullis, K.B., and Falloona F.A. 1987.** Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase - catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol.* **155**: 335-350.

- Munstermann, L.E. 1995.** Mosquito systematics, current status, new trends, associated complications. *Journal of Vector Ecology* **20**: 129-138.
- Murgue, B., Murri S., Zientara S., Durand B., Durand J.P., and Zeller H. 2001.** West Nile outbreak in horses in Southern France, 2000: the return after 35 years. *Emerging Infectious Diseases* **7**: 692-696.
- Nayar, J.K., and Sauerman D.M. 1975.** The effects of nutrition on survival and fecundity in Florida mosquitoes. Part 2: Utilization of a blood meal for survival. *Journal of Medical Entomology* **12**: 99-103.
- Nedelman, J. 1983.** A negative binomial model for sampling mosquitoes in a malaria survey. *Biometrics* **39**: 1009-1020.
- Niebylski, M.L., and Craig Jr G.B. 1994.** Dispersal and survival of *Aedes albopictus* at a scrap tire yard in Missouri. *Journal of the American Mosquito Control Association* **10**: 339-343.
- Nielsen, L.T. 1957.** Notes on the flight ranges of Rocky Mountain mosquitoes of the genus *Aedes*. *Proceedings of the Utah Academy of Sciences, Arts, and Letters* **34**: 27-29.
- O'Malley, C.M. 1989.** Guidelines for larval surveillance. In *Proceedings of the 76th Annual Meeting of the New Jersey Mosquito Control Association, Inc.* 1989, pp. 45-55.
- O'Malley, C.M. 1995.** Seven ways to a successful dipping career. *Wing Beats (American Mosquito Control Association)* **6**: 23-24.
- O'Meara, G.F., Gettman A.D., Evans Jr L.F., and Schell F.D. 1992.** Invasion of cemeteries in Florida by *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association* **8**: 1-10.
- O'Meara, G.F., Evans Jr L.F., and Womack M.L. 1997.** Colonization of rock holes by *Aedes albopictus* in the Southeastern United States. *Journal of the American Mosquito Control Association* **13**: 270-274.
- Ogata, K., and Samayoa A.L. 1996.** Discovery of *Aedes albopictus* in Guatemala. *Journal of the American Mosquito Control Association* **12**: 503-506.
- Okogun, G.R.A. 2005.** Life-table analysis of Anopheles malaria vectors: generational mortality as tool in mosquito vector abundance and control studies. *Journal of Vector Borne Diseases* **42**: 45-53.
- Olayemi, I.K., and Ande A.T. 2009.** Life table analysis of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) in relation to malaria transmission. *Journal of Vector Borne Diseases* **46**: 295-298.
- Oldach, D., Benitez M.R., and Mackowiak P.A. 2004.** Alexander the Great and West Nile Virus Encephalitis (Letter to the Editor referring the article of Marr & Calisher 2003. Alexander the Great and West Nile Virus encephalitis. *Emerging Infectious Diseases*, **9**: 1599-1603). *Emerging Infectious Diseases* **10**: 1329-1330.
- Olsen, G.J., Larsen N., and Woese C.R. 1991.** The ribosomal RNA database project. *Nucleic Acids Research* **19**: 2017-2021.
- Pampiglione, S., and Rivasi F. 2001.** Dirofilariasis. In *The encyclopedia of arthropod-transmitted infections*, M. W. Service [ed.]. CABI Publishing, Eastbourne, UK, pp. 143-150.
- Pandazis, G. 1932.** The culicid fauna of Greece. *Transactions (Praktika) of the Academy of Athens* **7**: 170-176 [In Greek].
- Papa, A., Danis K., Baka A., Bakas A., Dougas G., Lytras T., Theocharopoulos G., Chrysagis D., Vassiliadou E., Kamaria F., Liona A., Mellou K., Saroglou G., and Panagiotopoulos T. 2010a.** Ongoing outbreak of West Nile virus infections in humans in Greece. *Euro Surveillance* **15**: (available from: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19644>).

- Papa, A., Perperidou P., Tzouli A., and Castilletti C.** 2010b. West Nile virus – Neutralizing antibodies in humans in Greece. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **10**: 655-658.
- Papachristos, D.P., and Stamopoulos D.C.** 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 Stamopoulos D.C.** 2004. Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research* **40**: 517-525.
- Papadopoulos, O.** 1980. Arbovirus problems in Greece. In *Arboviruses in the Mediterranean countries*, J. Vesenjak-Hirjan, J. S. Porterfield and E. Arslanagie [ed.]. Gustav Fischer Verlag, Zbl. Bakt. Supplement 9 Stuttgart, pp. 332.
- Papaevangelou, G., and Halstead S.B.** 1977. Infections with two dengue vectors in Greece in the 20th Century. Did dengue hemorrhagic fever occur in the 1928 epidemic? *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **80**: 46-51.
- Parker, K.R., and Mant M.J.** 1979. Effects of tsetse salivary gland homogenate on coagulation and fibrinolysis. *Thrombosis and Haemostasis* **42**: 743-751.
- Parola, P., de Lamballerie X., Jourdan J., Rovery C., Vaillant V., Minodier P., Brouqui P., Flahault A., Raoult D., and Charrel R.N.** 2006. Novel Chikungunya Virus variant in travelers returning from Indian Ocean Islands. *Emerging Infectious Diseases* **12**: 1493-1499.
- Pashley, D.N., and Pashley D.P.** 1983. Observations on *Aedes (Stegomyia)* mosquitoes in Micronesia and Melanesia. *Mosquito Systematics* **15**: 41-49.
- Patsoula, E., Samanidou-Voyadjoglou A., Spanakos G., Kremastinou J., Nasioulas G., and Vakalis N.C.** 2006. Molecular and morphological characterization of *Aedes albopictus* in Northwestern Greece and differentiation from *Aedes cretinus* and *Aedes aegypti*. *Journal of Medical Entomology* **43**: 40-54.
- Pena, C.J.** 1993. First report of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuse) from the Dominican Republic. *Vector Ecol. Newsletters* **24**.
- Petrakis, P.V., Roussis V., Papadimitriou D., Vagias C., and Tsitsimpikou C.** 2005. The effects of terpenoid extracts from 15 pine species on the feeding behavioural sequence of the late instars of the pine processionary caterpillar *Thaumetopea pityocampa*. *Behavioural Processes* **69**: 303-322.
- Petric, D., Pajovic I., Ignjatovic Cupina A., and Zgomba M.** 2001. *Aedes albopictus* (Skuse, 1984), a new mosquito species (Diptera: Culicidae) in the entomofauna of Yugoslavia. *Symposia of Serbian Entomologist's 2001. Entomological Society of Serbia, Goc Abstract Volume*: pp 29 (in Serbian).
- Petric, D., Zgomba M., Ignjatovic Cupina A., Pajovic I., Merdic E., Boca I., Klobucar A., and Landeka N.** 2006. Invasion of the *Stegomyia albopicta* to a part of Europe. In *Abstract book of 15th European SOVE Meeting 10-14 April, 2006 Serres, Greece*, pp. 58.
- Pinazo, M.J., Muñoz J., Betica L., Maretic T., Zekan S., Avsic-Zupanc T., Sequeira E., Trilla A., and Gascon J.** 2008. Imported dengue hemorrhagic fever, Europe. *Emerging Infectious Diseases* **14**: 1329-1330.
- Pitasawa, B., Champakaew D., Choochote W., Jitpakdi A., Chaithong U., Kanjanapothi D., Rattanachanpitchai E., Tippawangkosol P., Riyong D., Tuetun B., and Chaiyasit D.** 2007. Aromatic plant-derived essential oil: an alternative larvicide for mosquito control. *Filotherapia* **78**: 205-210.
- Platonov, A.E., Fedorova M.V., Karan L.S., Tatyana A.S., Platonova O.V., and Zhuravlev V.I.** 2008. Epidemiology of West Nile infection in Volgograd, Russia, in relation

to climate change and mosquito (Diptera: Culicidae) bionomics. *Parasitology Research* **103**: S45-S53.

Polaszek, A. 2006. Two words colliding: resistance to changes in the scientific names of animals - *Aedes* vs *Stegomyia*. *Trends in Parasitology* **22**: 8-9.

Prajapati, V., Tripathi A.K., Aggarwal K.K., and Khanuja S.P.S. 2005. Insecticidal, repellent and oviposition-deterring activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology* **96**: 1749-1757.

Pratt, H.D., and Jakob W.L. 1967. *Aedes aegypti* handbook series No.6 - Oviposition trap reference handbook. U.S. Department of Health, Education, and Welfare. *Aedes aegypti* Eradication Program, Atlanta, Georgia, pp. 11.

Proft, J., Maier W.A., and Kampen H. 1999. Identification of six sibling species of the *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae) by a polymerase chain reaction assay. *Parasitology Research* **85**: 837-843.

Provost, M.W. 1953. Motives behind mosquito flights. *Mosquito News* **13**: 106-109.

Prowse, G.M., Galloway T.S., and Foggo A. 2006. Insecticidal activity of garlic juice in two dipteran pests. *Agricultural and Forest Entomology* **8**: 1-6.

Rahman, S.J., and Menon P.K.B. 1975. On the use of sweepnets for the collection of anopheline mosquitos resting indoors. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/75.561, 3 pp.

Rahuman, A.A., Gopalakrishnan G., Ghose B.S., Arumugam S., and Himalayan B. 2000. Effect of *Feronia limonia* on mosquito larvae. *Fitoterapia* **71**: 553-555.

Ramsdale, C.D., and Snow K.R. 1999. A preliminary checklist of European mosquitoes. *European Mosquito Bulletin* **5**: 25-35.

Ratnayake, R., Karunaratne V., Ratnayake Bandara B.M., Kumar V., MacLeod J.K., and Simmonds P. 2001. Two new lactones with mosquito larvicidal activity from three *Hortonia* species. *Journal of Natural Products* **64**: 376-378.

Rawlins, S.C., Martinez R., Wiltshire S., and Legall G. 1998. A comparison of surveillance systems for the dengue vector *Aedes aegypti* in Port of Spain, Trinidad. *Journal of the American Mosquito Control Association* **14**: 131-136.

Read, N.R., Rooker J., and Gathman J. 1994. Public perception of mosquito annoyance measured by a survey and simultaneous mosquito sampling. *Journal of the American Mosquito Control Association* **10**: 79-87.

Rebora, A., Rongioletti F., and Raineri V. 1993. *Aedes albopictus* in Europe: a new challenge for dermatologists. *Dermatology* **187**: 6-8.

Redei, G.P. 1998. Genetics manual: current theory, concepts, terms. World Scientific Publishing Co. Singapore. 1142 pp.

Regnault-Roger, C., and Hamraoui A. 1994. Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera), a kidney bean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection* **13**: 624-628.

Regnault-Roger, C. 1997. The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews* **2**: 25-34.

Regnault-Roger, C., and Philogene B.J.R. 2008. Past and current prospects for the use of botanicals and plant allelochemicals in integrated pest management. *Pharmaceutical Biology* **46**: 41-52.

- Reinert, J.F.** 1975. Mosquito generic and subgeneric abbreviations (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics* 7: 105-110.
- Reinert, J.F.** 1982. Abbreviations for mosquito generic and subgeneric taxa established since 1975 (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics* 14: 124-126.
- Reinert, J.F.** 2000. New classification of the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to genetic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. *Journal of the American Mosquito Control Association* 16: 175-188.
- Reinert, J.F.** 2001. Revised list of abbreviations for genera and subgenera of Culicidae (Diptera) and notes on generic and subgeneric changes. *Journal of the American Mosquito Control Association* 17: 51-55.
- Reinert, J.F., Harbach R.E., and Kitching I.J.** 2004. Phylogeny and classification of Aedini (Diptera: Culicidae), based on morphological characters of all life stages. *Zoological Journal of the Linnean Society* 142: 289-368.
- Reinert, J.F., and Harbach R.E.** 2005. Generic changes to the classification of the composite genus *Aedes* and tribe Aedini (Diptera: Culicidae: Aedini) with a checklist of species. *European Mosquito Bulletin* 19: 1-4.
- Reinert, W.C.** 1989. The New Jersey light trap: an old standard for most mosquito control programs. In *Proceedings of the 76th Annual Meeting of the New Jersey Mosquito Control Association*, pp. 17-25.
- Reisen, W.K., and Mahmood F.** 1980. Horizontal life table characteristics of malaria vector *Anopheles culicifacies* and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology* 17: 211-217.
- Reiter, P., and Darsie Jr R.F.** 1984. *Aedes albopictus* in Memphis, Tennessee (USA): An achievement of modern transportation? *Mosquito News* 44: 396-399.
- Reiter, P., and Sprenger D.** 1987. The used tire trade: a mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association* 3: 494-501.
- Reiter, P.** 1998. *Aedes albopictus* and the world trade in used tires, 1988-1995: The shape of things to come? *Journal of the American Mosquito Control Association* 14: 83-94.
- Reiter, P.** 2001. Climate change and mosquito-borne disease. *Environmental Health Perspectives* 109(suppl.): 141-161.
- Reiter, P.** 2010a. Yellow fever and dengue: a threat to Europe? *Euro Surveillance* 15: (available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19509>).
- Reiter, P.** 2010b. West Nile virus in Europe: understanding the present to gauge the future. *Euro Surveillance* 15: 1-7.
- Rezza, G., Nicoletti L., Angelini R., Romi R., Finarelli A.C., Panning M., Cordioli P., Fortuna C., Boros S., Magurano F., Silvi G., Angelini P., Dottori M., Ciufolini M.G., Majori G.C., and Cassone A.** 2007. Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *The Lancet* 370: 1840-1846.
- Ritchie, S.A.** 1984. The production of *Aedes aegypti* by a weekly ovitrap survey. *Mosquito News* 44: 77-79.
- Robinson, W.H., and Atkins R.L.** 1983. Attitudes and knowledge of urban home owners towards mosquitoes. *Mosquito News* 43: 38-41.
- Rodhain, F.** 1993. *Aedes albopictus* en Europe: une menace réelle. Editorial. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique* 86: 3.

- Roiz, D., Eritja R., Escosa R., Lucientes J., Marques E., Melero-Alcibar R., Molina R., and Ruiz S.** 2006. Spreading of *Aedes albopictus* in Spain. In *Abstract book of 15th European SOVE Meeting* 10-14 April, 2006 Serres, Greece, pp. 60.
- Roiz, D., Eritja R., Molina R., Melero-Alcibar R., and Lucientes J.** 2008. Initial distribution assessment of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in Barcelona, Spain, area. *Journal of Medical Entomology* **45**: 347-352.
- Romi, R.** 1995. History and updating on the spread of *Aedes albopictus* in Italy. *Parassitologia* **37**: 99-103.
- Romi, R., Di Luca M., and Majori G.** 1999. Current status of *Aedes albopictus* and *Aedes atropalpus* in Italy. *Journal of the American Mosquito Control Association* **15**: 425-427.
- Rosen, L., Tesh R.B., Lien J.C., and Cross J.H.** 1978. Transovarian transmission of Japanese encephalitis virus by mosquitoes. *Science* **199**: 909-911.
- Rosen, L., Shroyer D.A., Tesh R.B., Freier J.E., and Lien J.C.** 1983. Transovarian transmission of dengue viruses by mosquitoes: *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **32**: 1108-1119.
- Rosen, L.** 1987a. Sexual transmission of dengue viruses by *Aedes albopictus*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **37**: 398-402.
- Rosen, L.** 1987b. On the mechanism of vertical transmission of dengue virus in mosquitos. *Californian Academy of Sciences* **304**: 347-350.
- Ross, R.** 1899. Mosquitoes and malaria. The infection of birds by mosquitos. *British Medical Journal* **1**: 432-433.
- Rossi, G.C., Pascual N.T., and Krsticevic F.J.** 1999. First record of *Aedes albopictus* (Skuse) from Argentina. *Journal of the American Mosquito Control Association* **15**: 422.
- Rozendaal, J.A.** 1997. Vector control - Methods for use by individuals and communities. World Health Organization. Geneva. 412 pp.
- Rubio-Palis, Y.** 1996. Evaluation of light traps combined with carbon dioxide and 1-octen-3-ol to collect anophelines in Venezuela. *Journal of the American Mosquito Control Association* **12**: 109-114.
- Rudnick, A., and Chan Y.C.** 1965. Dengue type 2 virus in naturally infected *Aedes albopictus* mosquitoes in Singapore. *Science* **149**: 638-639.
- Rudnick, A.** 1967. *Aedes aegypti* and haemorrhagic fever. *Bulletin of the World Health Organization* **36**: 528-532.
- Russell, P.F., West L.S., Manwell R.D., and Macdonald G.** 1963. Practical malariology. 2nd edition. Oxford University Press. London. 750 pp.
- Russell, P.K., Yuill T.M., Nisalak A., Udomsakdi S., Gould D.J., and Winter P.E.** 1968. An insular outbreak of dengue hemorrhagic fever. II. Virologic and serologic studies. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **17**: 600-608.
- Russell, P.K., Gould D.J., Yuill T.M., Nisalak A., and Winter P.E.** 1969. Recovery of dengue-4 viruses from mosquito vectors and patients during an epidemic of dengue hemorrhagic fever. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **18**: 580-583.
- Sabatini, A., Raineri V., Trovato G., and Coluzzi M.** 1990. *Aedes albopictus* in Italia e possibile diffusione della specie nell'area mediterranea. *Parassitologia* **32**: 301-304.
- Sabin, A.B.** 1952. Research on dengue during World War II. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **1**: 30-50.
- Saether, O.A.** 2000. Phylogeny of the Culicomorpha (Diptera). *Systematic Entomology* **25**: 223-234.

- Saitou, N., and Nei M. 1987.** The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* **4**: 406-425.
- Samanidou-Voyadjoglou, A., and Darsie Jr R.F. 1993a.** New country records for mosquito species in Greece. *Journal of the American Mosquito Control Association* **9**: 465-466.
- Samanidou-Voyadjoglou, A., and Darsie Jr R.F. 1993b.** An annotated checklist and bibliography of the mosquitoes of Greece (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics* **25**: 177-185.
- Samanidou-Voyadjoglou, A. 1998.** *Aedes cretinus*: is it a threat to the Mediterranean countries? *European Mosquito Bulletin* **1**: 8.
- Samanidou-Voyadjoglou, A., and Koliopoulos G. 1998.** Some notes on *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards (Culicidae) in northern Athens, Attiki, Greece. In *Fourth International Congress of Dipterology, 6-13 September, Oxford, UK*. Abstracts book Oxford, UK., pp. 194-195.
- Samanidou-Voyadjoglou, A., and Harbach R.E. 2001.** Keys to the adult female mosquitoes (Culicidae) of Greece. *European Mosquito Bulletin* **10**: 13-20.
- Samanidou-Voyadjoglou, A., and Harbach R.E. 2003.** *Culex (Culex) tritaeniorhynchus* Giles, a newly discovered potential vector of arboviruses in Greece. *European Mosquito Bulletin* **16**: 15-17.
- Samanidou-Voyadjoglou, A., Patsoula E., Spanakos G., and Vakalis N.C. 2005.** Confirmation of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in Greece. *European Mosquito Bulletin* **19**: 10-12.
- Samanidou-Voyadjoglou, A., and Vakalis N.C. 2006.** Malaria vectors in Greece. In *Abstract book of 15th European SOVE Meeting 10-14 April, 2006 Serres, Greece*, pp. 47.
- Samanidou, A., and Harbach R.E. 2003.** *Culex (Culex) tritaeniorhynchus* Giles, a newly discovered potential vector of arboviruses in Greece. *European Mosquito Bulletin* **16**: 15-17.
- Sambri, V., Cavrini F., Rossini G., Pierro A., and Landini M.P. 2008.** The 2007 epidemic outbreak of Chikungunya virus infection in the Romagna region of Italy: a new perspective for the possible diffusion of tropical diseases in temperate areas? *New Microbiologica* **31**: 303-304.
- Sandoski, C.A., Kring T.J., Yearian W.C., and Meisch M.V. 1987.** Sampling and distribution of *Anopheles quadrimaculatus* immatures in rice fields. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**: 611-615.
- Sandra, A.A., and Kline D.L. 1995.** Evaluation of organic infusions and synthetic compounds mediating oviposition in *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*. *Journal of Chemical Ecology* **21**: 1847-1860.
- Santa-Olalla Peralta, P., Vazquez-Torres M.C., Latorre-Fandós E., Mairal-Claver P., Cortina-Solano P., Puy-Azón A., Adiego Sancho B., Leitmeyer K., Lucientes-Curdi J., and Sierra-Moros M.J. 2010.** First autochthonous malaria case due to *Plasmodium vivax* since eradication, Spain, October 2010. *Euro Surveillance* **15**: 1-3.
- Sasa, M., Shirasaka A., Wada Y., Suzuki H., Tanaka H., and Noda S. 1971.** The use of scanning electron microscopy in morphology and taxonomy of some mites and mosquitoes. *Japanese Journal of Experimental Medicine* **41**: 135-158.
- Savage, H.M., Ezike V.I., Nwankwo A.C.N., Spiegel R., and Miller B.R. 1992.** First record of breeding populations of *Aedes albopictus* in continental Africa: implications for arboviral transmission. *Journal of the American Mosquito Control Association* **8**: 101-103.

- Savage, H.M., and Strickman D.** 2004. The genus and subgenus categories within Culicidae and placement of *Ochlerotatus* as a subgenus of *Aedes*. *Journal of the American Mosquito Control Association* **20**: 208-214.
- Savage, H.M.** 2005. Classification of mosquitoes in the Tribe Aedini (Diptera: Culicidae): Paraphylyphobia and classification versus cladistic analysis. *Journal of Medical Entomology* **42**: 923-927.
- Sawamura, M., Onishi Y., Ikemoto J., Tu N.T.M., and Phi N.T.L.** 2006. Characteristic odour components of bergamot (*Citrus bergamia* Risso) essential oil. *Flavour and Fragrance Journal* **21**: 609-615.
- Sawyer, A.J.** 1989. Inconstancy of Taylor's b: simulated sampling with different quadrat sizes and spatial distributions. *Researches on Population Ecology* **31**: 11-24.
- Schaffner, E., Angel G., Geoffroy B., Hervy J.-P., Rhaiem A., and Brunhes J.** 2001a. The mosquitoes of Europe. An identification and training programme. EID Mediterranee. France. CD-ROM for PC.
- Schaffner, F., and Said K.** 1999. *Aedes albopictus* discovered in France. *Journal of Vector Ecology* **30**: 11.
- Schaffner, F., and Karch S.** 2000. Premiere observation d'*Aedes albopictus* (Skuse, 1894) en France métropolitaine. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences, Paris (Sciences de la vie / Life Sciences)* **323**: 373-375.
- Schaffner, F., Bouletreau B., Guillet B., Guilloteau J., and Karch S.** 2001b. *Aedes albopictus* established in metropolitan France. *European Mosquito Bulletin* **9**: 1-3.
- Schaffner, F., van Bortel W., and Coosemans M.** 2004. First record of *Aedes (Stegomyia) albopictus* (Skuze, 1894) in Belgium. *Journal of the American Mosquito Control Association* **20**: 201-203.
- Schmidt-Chanasit, J., Haditsch M., Schöneberg I., Günther S., Stark K., and Frank C.** 2010. Dengue virus infection in a traveller returning from Croatia to Germany. *Euro Surveillance* **15**: (available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19677>).
- Schmidt, R.F.** 1989. Landing rates and bite counts for nuisance evaluation. In *Proceedings of the 76th Annual Meeting of the New Jersey Mosquito Control Association*, pp. 34-37.
- Scholte, E.-J., Dijkstra E., Jacobs F., Takken W., and Fransen J.** 2006. *Aedes albopictus* in the Netherlands. In *Abstract book of 15th European SOVE Meeting* 10-14 April, 2006 Serres, Greece, pp. 61.
- Schreiber, E.T., Meek C.L., and Yates M.M.** 1988. Vertical distribution and species coexistence of tree hole mosquitoes in Louisiana. *Journal of the American Mosquito Control Association* **4**: 9-14.
- Scott, J.A., Brogdon W.G., and Collins F.H.** 1993. Identification of single specimens of the *Anopheles gambiae* complex by the polymerase chain-reaction. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **49**: 520-529.
- Sedaghat, M.M., Linton Y.-M., Nicolescu G., Smith L., Koliopoulos G., Zounos A.K., Oshaghi M.A., Vatandoost H., and Harbach R.E.** 2003. Morphological and molecular characterization of *Anopheles (Anopheles) sacharovi* Favre, a primary vector of malaria in the Middle East. *Systematic Entomology* **28**: 241-256.
- Seguy, E.** 1924. Les moustiques de l'Afrique mineure, de l'Egypte et de la Syrie. Paris: Lechevalier.
- Seidowski, D., Ziegler U., von Rönn J.A.C., Müller K., Hüppop K., Müller T., Freuling C., Mühle R.-U., Nowotny N., Ulrich R.G., Niedrig M., and Groschup M.H.** 2010. West

- Nile virus monitoring of migratory and resident birds in Germany. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* **10**: 639-647.
- Service, M.W. 1977.** A critical review of procedures for sampling populations of adult mosquitoes. *Bulletin of Entomological Research* **67**: 343-382.
- Service, M.W. 1991.** Control of urban mosquitoes. *Pesticide Outlook*: 17-20.
- Service, M.W. 1992.** Importance of ecology in *Aedes aegypti* control. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health* **23**: 681-690.
- Service, M.W. 1993.** Mosquito ecology: Field sampling methods. 2nd edition. Chapman & Hall. London, UK. 988 pp.
- Shannon, R.C., and Papadakis A. 1937.** Some comparative rearing experiments with Greek anophelines. *Acta Instituti et Musei Zoologici Universitatis Atheniensis* **1**: 179-192.
- Sheng, T., and Wu I. 1951.** An ecological study of mosquitoes in Wuhan. *Bulletin of Entomological Research* **42**: 527-533.
- Shirai, Y., Funada H., Kamimura K., Seki T., and Morohashi M. 2002.** Landing sites on the human body preferred by *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association* **18**: 97-99.
- Shoemaker, T., Boulianne C., Vincent M.J., Pezzanite L., Al Qahtani M.M., Al Mazrou Y., Khan A.S., Rollin P.E., Swanepoel R., Ksiazek T.G., and Nichol S.T. 2002.** Genetic analysis of viruses associated with emergence of Rift Valley fever in Saudi Arabia and Yemen, 2000–01. *Emerging Infectious Diseases* **8**: 1415-1420.
- Showers, W.B., Whitford F., Smelser R.B., Keaster A.J., Robinson J.F., Lopez J.D., and Taylor S.E. 1989.** Direct evidence for meteorologically driven long-range dispersal of an economically important moth. *Ecology* **70**: 987-992.
- Shroyer, D.A. 1986.** *Aedes albopictus* and arboviruses: a concise review of the literature. *Journal of the American Mosquito Control Association* **2**: 424-428.
- Sjogren, R.D., Genereux J.P., and Genereux M.M. 1977.** Metropolitan Mosquito Control District final environmental impact statement - options for control to the year 2000. Metropolitan Mosquito Control District. Minneapolis-St. Paul.
- Slaff, M., Crans W.J., and McCuiston L.J. 1983.** A comparison of three mosquito sampling techniques in northwestern New Jersey. *Mosquito News* **43**: 287-290.
- Smart, J.M.A. 1956.** A handbook for the identification of insects of medical importance. 3rd edition. British Museum (Natural History). London. 315 pp.
- Smith, G.C., and Francy D.B. 1991.** Laboratory studies of a Brazilian strain of *Aedes albopictus* as a potential vector of Mayaro and Oropouche viruses. *Journal of the American Mosquito Control Association* **7**: 89-93.
- Smithburn, K.C., Hughes T.P., Burke A.W., and Paul J.H. 1940.** A neurotropic virus isolated from the blood of a native of Uganda. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **20**: 471-492.
- Snow, K.R. 1990.** Mosquitoes. Richmond Publishing Co. Ltd. Slough, England. Naturalists' Handbooks 14, 66 pp.
- Snow, K.R. 2001.** The names of European mosquitoes: Part 7. *European Mosquito Bulletin* **9**: 4-8.
- Soekiman, S., Subagyo M., Adipoetro S., Yamanishi H., and Matsumura T. 1984.** Comparative studies on the biology of *Aedes aegypti* (Linnaeus, 1762) ang *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) in a room condition. *ICMR Annals* **4**: 143-152.

- Southwood, T.R.E., Murdie G., Yasuno N., Tonn R.J., and Reader P.M. 1972.** Studies on the life budget of *Aedes aegypti* in Wat Samphaya, Bangkok, Thailand. *Bulletin of the World Health Organization* **46**: 211-226.
- Sprenger, D., and Wuithiranyagool T. 1986.** The discovery and distribution of *Aedes albopictus* in Harris county, Texas. *Journal of the American Mosquito Control Association* **2**: 217-219.
- Starratt, A.N., and Osgood C.E. 1972.** An oviposition pheromone of the mosquito *Culex tarsalis*: diglyceride composition of the active fraction. *Biochimica et Biophysica Acta* **280**: 187-93.
- Starratt, A.N., and Osgood C.E. 1973.** 1,3 diglycerides from eggs of *Culex pipiens quinquefasciatus* and *Culex pipiens pipiens*. *Comparative Biochemistry and Physiology* **46B**: 857-859.
- Steffan, W.A., and Evenhuis N.L. 1985.** Classification of the subgenus Toxorhynchites (Diptera: Culicidae). I. Australasian, eastern Palaearctic and Oriental species-groups. *Journal of Medical Entomology* **22**: 421-446.
- Stetter, J., and Folker L. 2000.** Innovation in Crop Protection: Trends in Research (Review). *Angewandte Chemie International Edition* **39**: 1724-1744.
- Stewart, R.J., and Schaefer C.H. 1983.** The relationship between dipper counts and the absolute density of *Culex tarsalis* larvae and pupae in rice fields. *Mosquito News* **43**: 129-135.
- Strickman, D. 2001.** Guide to entomological surveillance during contingency operations. U.S. Army. 153 pp.
- Stryer, L. 1995.** Βιοχημεία. Τόμος 2ος. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης. 819 pp.
- Suenaga, O. 1972.** Studies on the filarial prevalence among dogs and mosquito vectors in Nagasaki city, western Japan. 3. On the susceptibility of *Aedes albopictus* and *Culex pipiens molestus* to the larvae of *Dirofilaria immitis* in Nagasaki city. *Tropical Medicine* **14**: 144-150.
- Sujatha, C.-H., Vasuki V., Mariappan T., Kalyanasundaran M., and Das P.-K. 1988.** Evaluation of plant extracts for biological activity against mosquitoes. *International Pest Control* **30**: 398-401.
- Sukumar, K., Perich M.J., and Boobar L.R. 1991.** Botanical derivatives in mosquito control: a review. *Journal of the American Mosquito Control Association* **7**: 210-237.
- Sulaiman, S., and Service M.W. 1983.** Studies on hibernating populations of the mosquito *Culex pipiens* in southern and northern England. *Journal of Natural History* **17**: 849-857.
- Sutcliffe, J.E. 1994.** Sensory bases of attractancy: morphology of mosquito olfactory sensilla - a review. *Journal of the American Mosquito Control Association* **10**: 309-315.
- Sutcliffe, L.F. 1987.** Distance orientation of biting flies to their hosts. *Insect Science and its Applications* **8**: 611-616.
- Taafe Gaunt, C.M. 1997.** Biochemical taxonomy of *Aedes (Stegomyia) cretinus* and *Aedes (Stegomyia) albopictus*. M.S. dissertation. University of Notre Dame. Notre Dame, IL.
- Taafe Gaunt, C.M., Mutebi J.-P., and Munstermann L.E. 2004.** Biochemical taxonomy and enzyme electrophoretic profiles during development for three morphologically similar *Aedes* species (Diptera: Culicidae) of the subgenus *Stegomyia*. *Journal of Medical Entomology* **41**: 23-32.
- Tamura, K., Nei M., and Kumar S. 2004.** Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proceedings of the National Academy of Sciences (USA)* **101**: 11030-11035.

- Tamura, K., Dudley J., Nei M., and Kumar S. 2007.** MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0. *Molecular Biology and Evolution* **24**: 1596-1599.
- Tanner, G.D. 1969.** Oviposition traps and population sampling for the distribution of *Aedes aegypti* (L.). *Mosquito News* **29**: 116-121.
- Taylor, L.R. 1961.** Aggregation, variance, and the mean. *Nature* **189**: 732-735.
- Taylor, R.M., Work T.H., Hurlbut H.S., and Rizk F. 1956.** A study of the ecology of West Nile virus in Egypt. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **5**: 579-620.
- Telford, A.D. 1963.** A consideration of diapause in *Aedes nigromaculatus* and other aedine mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Annals of the Entomological Society of America* **56**: 409-418.
- Thaggard, C.W., and Eliason D.A. 1969.** Field evaluation of components for an *Aedes aegypti* (L.) oviposition trap. *Mosquito News* **29**: 608-612.
- Theiler, M., Casals J., and Moutousses C. 1960.** Etiology of the 1927-1928 epidemic of Dengue in Greece. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine* **103**: 244-250.
- Thompson, G.D., Dutton R., and Sparks T.C. 2002.** Spinosad - a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Management Science* **56**: 696-702.
- Thompson, J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F., and Higgins D.G. 1997.** The Clustal X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* **24**: 4876-4882.
- Thomson, M.C., and Connor S.J. 2000.** Environmental information systems for the control of arthropod vectors of disease. *Medical and Veterinary Entomology* **14**: 227-244.
- Tidwell, M.A., Williams D.C., Tidwell T.C., Pena C.J., Gwinn T.A., Focks D.A., Zaglul A., and Mercedes M. 1990.** Baseline data on *Aedes aegypti* populations in Santo Domingo, Dominican Republic. *Journal of the American Mosquito Control Association* **6**: 514-522.
- Toma, L., Severini F., Di Luca M., Bella A., and Romi R. 2003.** Seasonal patterns of oviposition and egg hatching rate of *Aedes albopictus* in Rome. *Journal of the American Mosquito Control Association* **19**: 19-22.
- Toto, J.-C., Abaga S., Carnevale P., and Simard F. 2003.** First report of the oriental mosquito *Aedes albopictus* on the West African island of Bioko, Equatorial Guinea. *Medical and Veterinary Entomology* **17**: 343.
- Trabousli, A.F., Taoubi K., El-Haj S., Bessiere J.M., and Rammal S. 2002.** Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag. Sci.* **58**: 491-495.
- Trembley, H.L. 1955.** Mosquito culture techniques and experimental procedures. American Mosquito Control Association, Inc. AMCA Bulletin No.3, 74 pp.
- Tsai, T.F., Popovici F., Cernescu C., Campbell G.L., and Nedelcu N.I. 1998.** West Nile encephalitis epidemic in southeastern Romania. *The Lancet*: 767-771.
- Tseng, S., and Wu I. 1951.** An ecological study of mosquitoes in Wuhan area. *Bulletin of Entomological Research* **42**: 527-533.
- Tsukamoto, T., Ishikawa Y., and Miyazawa M. 2005.** Larvicidal and adulticidal activity of alkylphthalide derivatives from rhizome of *Cnidium officinale* against *Drosophila melanogaster*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **53**: 5549-5553.
- Tunc, I., Berger F., Erler F., and Dagli F. 2000.** Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* **36**: 161-168.

- Turell, M.J., Beaman J.R., and Tammriello R.F. 1992.** Susceptibility of selected stains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera:Culicidae) to Chikungunya virus. *Journal of Medical Entomology* **29**: 49-53.
- Udaka, M. 1959.** Some ecological notes on *Aedes albopictus* in Shikoku, Japan. *Kontyu* **27**: 202-208 (in Japanese with English summary).
- Vainio, J., and Cutts F. 1998.** Yellow fever. World Health Organization. Geneva. WHO/EPI/GEN/98.11, 87 pp.
- van Bortel, W., Trung H.D., Roelants P., Harbach R.E., Backeljau T., and Coosemans M. 2000.** Molecular identification of *Anopheles minimus* s.l. beyond distinguishing the members of the species complex. *Insect Molecular Biology* **9**: 335-340.
- Vazeille, M., Adhami J., Mousson L., and Rodhain F. 1999.** *Aedes albopictus* from Albania: A potential vector of dengue viruses. *Journal of the American Mosquito Control Association* **15**: 475-478.
- Vazeille, M., Jeannin C., Martin E., Schaffner F., and Failloux A.-B. 2008.** Chikungunya: A risk for Mediterranean countries? *Acta Tropica* **105**: 200-202.
- Vélez, I., Quiñones M.L., Olano V., Murcia L.-M., Correa E., Arévalo C., Pérez L., Brochero H., and Morales A. 1998.** Presencia de *Aedes atbopictus* en Leticia, Amazonas, Colombia. *Biomedica (Bogota)* **18**: 182-198.
- Verzera, A., Trozzi A., Gazea F., Cicciarello G., and Cotroneo A. 2003.** Effects of rootstock on the composition of Bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 206-210.
- Voutsina, I., and Karagiannidis G. 2007.** *Aedes albopictus*: monitoring program in Serres Prefecture. *Πρακτικά 12ου Πανελλήνιου Εντομολογικού Συνεδρίου*. Εντομολογική Εταιρεία Ελλάδος, Λάρνακα Κύπρος, 13-16 Νοεμβρίου 2007, σελ. 274.
- Ward, M.A., and Burgess N.R.H. 1993.** *Aedes albopictus* - a new disease vector for Europe? *Journal of the Regional Army Corps* **139**: 109-111.
- Washino, R.K., and Thomas P.A. 1985.** Preliminary studies on forecasting mosquito pest and disease outbreaks in California. In *Ecology of Mosquitoes: Proceedings of a Workshop* L. P. Lounibos, J. R. Rey and J. H. Frank [ed.]. Florida Medical Entomology Laboratory, Florida, pp. 251-258.
- Waterston, J. 1918.** Entomological research on the mosquitoes of Macedonia. *Bulletin of Entomological Research* **9**: 1-12.
- Weaver, S. 2005.** Journal policy on names of Aedine mosquito genera and subgenera. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **73**: 481.
- Webb, C., and Joss J. 1997.** Does predation by the fish *Gambusia holbrooki* (Atheriniformes: Poeciliidae) contribute to declining frog populations? *Australian Zoologist* **30**: 316-326.
- Weiss, R. 2002.** West Nile's widening toll impact on North American Wildlife far worse than humans. *To Λήγμα* **20**: 4-5.
- Wesson, D.M., Porter C.H., and Collins F.H. 1992.** Sequence and secondary structure comparisons of ITS rDNA in Mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **1**: 253-269.
- Weyer, F. 1942.** Beitrag zur Stechmunken fauna von Macedonien. *Westthrazien. Deutsche Tropenmedizinische Zeitschrift* **46**: 249-275, 284-293.
- WHO. 1975.** Manual on practical entomology in malaria. Part II: Methods and techniques. World Health Organization, Division of Malaria and Other Parasitic Diseases., Geneva. Offset Publication No. 13, 191 pp.

- WHO.** 1978. Methods for laboratory and simulated field evaluation of insecticides. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/78.700, 15 pp.
- WHO.** 1981a. Criteria and meaning of tests for determining the susceptibility or resistance of insects to insecticides. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/81.6, 4 pp.
- WHO.** 1981b. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitos to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides - Establishment of the baseline. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/81.805, 7 pp.
- WHO.** 1981c. Instructions for determining the susceptibility or resistance of adult mosquitos to organochlorine, organophosphate and carbamate insecticides - Diagnostic test. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/81.806, 8 pp.
- WHO.** 1981d. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insect development inhibitors. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/81.812, 6 pp.
- WHO.** 1981e. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. World Health Organization. Geneva. WHO/VBC/81.807, 6 pp.
- WHO.** 1992a. Entomological field techniques for malaria control. Part I - Learner's guide. World Health Organization. Geneva. 79 pp.
- WHO.** 1992b. Entomological field techniques for malaria control. Part II - Tutor's guide. World Health Organization. Geneva. 56 pp.
- WHO.** 1995a. Guidelines for Dengue surveillance and mosquito control. World Health Organization (WHO/WPRO). 112 pp.
- WHO.** 1995b. Supplies for monitoring insecticide resistance in disease vectors - Procedures and conditions. World Health Organization. Geneva. WHO/CTD/VBC/95.998, WHO/MAL/95.1073, 14 pp.
- WHO.** 1996. Operational manual on the application of insecticides for control of the mosquito vectors of malaria and other diseases. World Health Organization. 198 pp.
- WHO.** 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.
- WHO.** 2000. Communicable diseases 2000: Highlights of activities in 1999 and major challenges for the future World Health Organization. Geneva. WHO/CDS/2000.1, 103 pp.
- WHO.** 2001a. Supplies for monitoring insecticide resistance in disease vectors - Procedures and conditions. World Health Organization. Geneva. WHO/CDS/CPE/PVC/2001.2, 16 pp.
- WHO.** 2001b. WHO recommended strategies for the prevention and control of communicable diseases. World Health Organization. Geneva. WHO/CDS/SMT/2001.13, 189 pp.
- WHO.** 2003. Guidelines for dengue surveillance and mosquito control. 2nd edition. World Health Organization. Manila. 105 pp.
- WHO.** 2004. The vector-borne human infections of Europe. Their distribution and burden on public health. Edited by N. G. Gratz. World Health Organization, Regional Office for Europe. 154 pp.
- WHO.** 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. World Health Organization. WHO/CDS/WHOPES/GCDPP/2005.13, 39 pp.
- WHO.** 2007. Review of: SPINOSAD 0.5% GR & 12% SC; LAMBDA-CYHALOTHRIN 10% CS; K-O TAB 1-2-3; INTERCEPTOR WHO/CDS/NTD/WHOPES/2007.1 Geneva Switzerland, pp. 102.

- WHO.** 2008. Chikungunya - Fact sheet. World Health Organization. Geneva. [www.who.int/entity/mediacentre/factsheets/fs327/en/index.html],
- WHO.** 2009a. World health statistics 2009. World Health Organization. Geneva. 149 pp.
- WHO.** 2009b. World malaria report 2009. World Health Organization. Geneva. 66 pp.
- WHO.** 2010. Centralized information system for infectious diseases (CISID) database. Malaria. http://data.euro.who.int/cisid/?TabID=257344.
- Wilder-Smith, A., Chen L.H., Massad E., and Wilson M.E.** 2009. Threat of dengue to blood safety in dengue-endemic countries. *Emerging Infectious Diseases* **15**: 8-11.
- Williams, R.E.** 1962. Effect of coloring oviposition media with regard to the mosquito *Aedes triseriatus* (Say). *Journal of Parasitology* **48**: 919-925.
- Williams, T., Valle J., and E. V.** 2003. Is the naturally derived insecticide Spinosad compatible with insect natural enemies? *Biocontrol Science and Technology* **13**: 459-475.
- Wilmot, T.** 1999. West Nile Virus. *AMCA Newsletter* **25**: 7.
- Womack, M.L.** 1993. Distribution, abundance and bionomics of *Aedes albopictus* in southern Texas. *Journal of the American Mosquito Control Association* **9**: 367-369.
- Xavier, G., Neves D., and Silva R.** 1991. Biological cycle of *Ae. albopictus* (Diptera: Culicidae) at laboratory conditions. *Revista Brasileira de Biologia* **51**: 647-650.
- Xu, R.** 1998. Japanese Encephalitis in China. *Vector Ecology Newsletter* **29**: 5-6.
- Yang, Y.-C., Lee S.-G., Lee H.-K., Kim M.-K., Lee S.-H., and Lee H.-S.** 2002. A piperidine amide extracted from *Piper longum* L. fruit shows activity against *Aedes aegypti* mosquito larvae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **50**: 3765-3767.
- Yang, Y.-C., Lim M.-Y., and Lee H.-S.** 2003. Emodin isolated from *Cassia obtusifolia* (Leguminosae) seed shows larvicidal activity against three mosquito species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 7629-7631.
- Zaim, M.** 1987. The distribution and larval habitat characteristics of Iranian Culicinae. *Journal of the American Mosquito Control Association* **3**: 568-573.
- Zavortink, T.J.** 1990. Classical taxonomy of mosquitoes - A memorial to John N. Belkin. *Journal of the American Mosquito Control Association* **6**: 593-600.
- Zeller, H., Lenglet A., and Van Bortel W.** 2010. West Nile virus: the need to strengthen preparedness in Europe. *Euro Surveillance* **15**: (available online: http://www.eurosurveillance.org/View Article.aspx? ArticleId =19647).
- Zgomba, M., and Petric D.** 2008. Risk assessment and management of mosquito-born diseases in the European region. In *Proceedings of the Sixth International Conference on Urban Pests*, W. H. Robinson and D. Bajomi [ed.]. OOK-Press Kft., Hungary, pp. 29-39.
- Zimmer, E.A., Martin S.L., Beverly S.M., Kan Y.W., and Wilson A.C.** 1980. Rapid duplication and loss of genes coding for the chains of haemoglobin. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **77**: 2158-2162.
- Γιατρόπουλος, Α., Κολιόπουλος Γ., Κιούλος Η., Μιχαηλάκης Α., and Εμμανουήλ Ν.** 2009. Προκαταρκτική μελέτη της παρουσίας του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) (Ασιατικό κουνούπι «Τίγρης») στην Αθήνα. *Πρακτικά 13ου Πανελλήνιου Εντομολογικού Συνεδρίου* Αλεξανδρούπολη, σελ. 215-217.
- Εμμανουήλ, Ν.Γ.** 1999. Δίπτερα υγειονομικής σημασίας. Αναγνώριση, βιολογία, οικονομική σημασία, αντιμετώπιση. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα. 93 σελ.
- Ισαακίδης, Κ.Α.** 1941. Ο άνθρωπος και τα έντομα. Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Αθήνα.

Καρανδεινός, Μ., and Παράσχη, Λ. 1992. Το κόκκινο βιβλίο των απειλούμενων σπονδυλοζώων της Ελλάδας (The red data book of threatened vertebrates of Greece). Ελληνική Ζωολογική Εταιρεία, Ελληνική Ορνιθολογική Εταιρεία, WWF, Αθήνα. 372 σελ.

Καρανικολού, Ι. 2003. Οδηγία των βιοκτόνων προϊόντων (παρασιτοκτόνων υγειονομικής σημασίας): Κοινοτική νομοθεσία για την έγκριση, διάθεση στην αγορά και τον έλεγχο των βιοκτόνων προϊόντων. *Πρακτικά 10ου Πανελλήνιου Εντομολογικού Συνεδρίου*. Εντομολογική Εταιρεία Ελλάδος, Ηράκλειο, 4-7 Νοεμβρίου 2003, σελ. 211-216.

Καρδαμάτης, Ι.Π. 1931. Αι νεώτεραι έρευναι επί των εν Αθήναις κοινών και ανωφελών κωνώπων. *Ελληνική Ιατρική*: 3131.

Κολιόπουλος, Γ., Λύτρα, Ι., Μιχαηλάκης, Α., Κιούλος, Η., Γιατρόπουλος, Α., and Εμμανονήλ, Ν. 2008. Το «Ασιατικό Κουνούπι Τύρης». Πρώτη εμφάνιση του *Aedes albopictus* (Skuse) στην Αθήνα. *Γεωργία - Κτηνοτροφία* 9/2008, σελ. 68-73.

Λεγάκης, Α., and Μαραγκού, Π. 2009. Το κόκκινο βιβλίο των απειλούμενων ζώων της Ελλάδας. Ελληνική Ζωολογική Εταιρεία, Αθήνα. 372 σελ.

Λιβαδάς, Γ.Α., and Σφάγγος, Ι. 1940a. Η ελονοσία εν Ελλάδi. Τόμος Β'. Πυρσός, Αθήνα. 303 σελ.

Λιβαδάς, Γ.Α., and Σφάγγος, Ι. 1940b. Η ελονοσία εν Ελλάδi. Τόμος Α'. Πυρσός, Αθήνα. 248 σελ.

Λιβαδάς, Γ.Α. 1950. Αραίωσις και εξαφάνισις των επιπολαζόντων εν Αττική ανωφελικών ειδών συνεπεία του εφαρμοσθέντος ανθελονοσιακού προγράμματος (1946-1949). *Ελληνική Ιατρική* 19: 206-217.

Λιβαδάς, Γ.Α. 1954. Ο ανθελονοσιακός αγών εις την Ελλάδα και τα εξ αυτού απορρέοντα διδάγματα. *Ελληνική Ιατρική* 23: 569-581.

Λιβαδάς, Γ.Α. 1955. Η ελονοσία. Αθήνα. 255 σελ.

Λιβαδάς, Γ.Α. 1959. Η εκρίζωσις της ελονοσίας εις την Ελλάδα. *Ελληνική Ιατρική* 28: 422-445.

Λοράνδος, Ν. 1935. Η επιδημία της Δραπετσώνας και Κοκκινιάς (Δάγγειος, 3ήμερος). *Ιατρικαὶ Αθήναι* 80: 457-464.

Μιχαηλάκης, Α. 2006. Σύνθεση και χαρακτηρισμός βιοδραστικών φυσικών προϊόντων με εφαρμογή στη γεωργία. (PhD Thesis). Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. 271 σελ.

Μπελιός, Γ.Δ. 1977. Από την καταπολέμησιν εις την εκρίζωσιν της ελονοσίας: Προβλήματα, λύσεις. *Αρχεία Υγειεινής* 27: 54-72.

Μπελιός, Γ.Δ. 1982. Η εκρίζωση της ελονοσίας στην Ελλάδα. Μια σκιαγράφηση. *Ιπποκράτης* 10: 499-503.

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

Πανταζής, Γ. 1932. Η πανίς των κωνωπιδών της Ελλάδος. *Πρακτικά Ακαδημίας Αθηνών* 7: 170-176.

Παπαδάκης, Α.Μ. 1956. Παρασιτολογία - Πρωτόζωα, έλμινθες, αρθρόποδα και παρασιτικά μολύνσεις. Αθήνα. 925 σελ.

Πελεκάσης, Κ.Ε.Δ. 1981. Μαθήματα γεωργικής εντομολογίας. α' τόμος. Μορφολογία, συστηματική. Ανωτάτη Γεωπονική Σχολή Αθηνών, Αθήνα. A, 357 σελ.

Πελεκάσης, Κ.Ε.Δ. 1986. Μαθήματα γεωργικής εντομολογίας. B' τόμος. Ειδική εντομολογία. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα. 554 σελ.

- Σαββοπούλου-Σουλτάνη, Μ. 1999.** Έντομα και άλλα αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη. 153 σελ.
- Σακελλαρίου, Μ., and Lane J. 1977.** Παρατηρήσεις επί των κωνωποειδών (Culicidae) των σημειωθέντων εις την περιοχήν Κωπαϊδος κατά τα έτη 1974-1976. *Χρονικά του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου (Ν. Σ.)* 11: 321-328.
- Σαμανίδου-Βογιατζόγλου, Α. 1997.** Ελληνικά είδη κουνουπιών (Diptera: Culicidae) και γεωργαφική κατανομή των κυριοτέρων ειδών υγειονομικής σημασίας. *Πρακτικά ΣΤ' Πανελλήνιου Εντομολογικού Συνεδρίου. Εντομολογική Εταιρεία Ελλάδος Χανιά*, σελ. 581-589.
- Σενή, Α., Καψιμάλης Β., and Παυλόπουλος Κ. 2004.** Προσδιορισμός των πρόσφατων μεταβολών στην παράκτια πεδιάδα του Μαραθώνα Αττικής, με χρήση συστημάτων γεωγραφικών πληροφοριών. *Πρακτικά 7ου Πανελλήνιου Γεωγραφικού Συνεδρίου. Ελληνική Γεωγραφική Εταιρεία*, 14-17 Οκτωβρίου 2004, Μυτιλήνη, σελ. 1-8.
- Στεφανής, K.N. 2006.** Εφαρμοσμένη έρευνα δεν μπορεί να υπάρξει σε κενό βασικής έρευνας (συνέντευξη). *E&T (Περιοδική ενημερωτική έκδοση της ΓΓΕΤ)* 18 Νέα Περίοδος: 30-33.
- Τζανακάκης, Μ.Ε. 1980.** Μαθήματα εφαρμοσμένης εντομολογίας. 2 ειδικό μέρος. Θεσσαλονίκη. 613 σελ.
- Τζανακάκης, Μ.Ε. 1995.** Εντομολογία. University Studio Press, Θεσσαλονίκη. 501 σελ.
- Χανιώτης, Β.Ν. 2001.** Αρθρόποδα και δημόσια υγεία. Λοιμώξεις, αλλεργίες, εξωπαρασιτισμός. Εκδόσεις Zymel, Αθήνα. 195 σελ.
- Χαραλαμπίδης, Σ.Θ. 2001.** Κτηνιατρική παρασιτολογία. University Studio Press. Θεσσαλονίκη.
- Χατζηνικολάου, Ι. 1957.** Ανωφελείς εξώφιλοι φορείς ελονοσίας. *Αρχεία Υγιεινής Ιανουάριος-Ιούνιος*: 1-7.