

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

Παρουσία του εισβάλλοντος είδους κουνουπιού
Aedes albopictus (Skuse 1895) στην Αττική:
Διασπορά, εποχιακή διακύμανση, αντιμετώπιση
και ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις
με το ιθαγενές είδος *Aedes cretinus* (Edwards 1921)

Αθανάσιος Κ. Γιατρόπουλος

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 2014

Συμβουλευτική Επιτροπή:

Νικόλαος Εμμανουήλ, Επιβλέπων Καθηγητής

Μαθίλδη Σαββοπούλου-Σουλτάνη, Καθηγήτρια

Αργυρώ Φαντινού, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια

Εξεταστική Επιτροπή:

Γεώργιος Παπαδούλης, Καθηγητής

Ιωάννης Βόντας, Αναπληρωτής Καθηγητής

Γεώργιος Μπρούφας, Αναπληρωτής Καθηγητής

Διονύσιος Περδίκης, Επίκουρος Καθηγητής

Στην οικογένειά μου

“Η γνώση είναι δύναμη” (Knowledge is power)

Francis Bacon (1561-1626, Άγγλος φιλόσοφος)

Άγγλος ευγενής, σπουδαίος φιλόσοφος, από τα ζωηρότερα πνεύματα της Αναγέννησης, θεμελιωτής του υλισμού και του εμπειρισμού. Αγωνίστηκε εναντίον της σχολαστικής φιλοσοφίας και της εκκλησιαστικής "αυθεντίας" και υποστήριξε ότι οι αισθήσεις μας και το πείραμα είναι η πραγματική πηγή των γνώσεών μας. Το πιο σημαντικό έργο του είναι το *"Νέον Όργανον"*. Είναι επίσης ο πατέρας της Επιστημονικής Μεθόδου.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα Διδακτορική Διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών και το πειραματικό μέρος διεξήχθη στο εργαστήριο Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων (πρώην Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας) του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.

Νιώθω την ανάγκη να ευχαριστήσω από βάθος καρδιάς μια σειρά ανθρώπων που συνέβαλαν με τη βοήθειά τους στην ολοκλήρωση της συγκεκριμένης μελέτης. Πρωτίστως θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Διευθυντή του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γ.Π.Α., επιβλέποντα αυτής της διατριβής, Καθηγητή Νικόλαο Εμμανουήλ, για την εμπιστοσύνη που επέδειξε στο πρόσωπό μου με την ανάθεση του συγκεκριμένου θέματος καθώς και για την ώθηση που μου έδωσε να εντρυφήσω στα έντομα υγειονομικής σημασίας και ειδικότερα στα κουνούπια, ένα κλάδο της εντομολογίας που ο ίδιος αγαπά ιδιαίτερα και υπηρετεί επί πολλά έτη. Τον ευχαριστώ για τις πολύτιμες υποδείξεις του καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης, καθώς και για την ανάγνωση και διόρθωση αυτής.

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές ευχαριστίες μου προς τα μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής, Καθηγήτρια του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης Ματθίλδη Σαββοπούλου-Σουλτάνη και Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών Αργυρώ Φαντινού, για τις χρήσιμες παρατηρήσεις και τις εποικοδομητικές συμβουλές που συντέλεσαν καθοριστικά στην βελτίωση της διατριβής.

Ευχαριστώ, επίσης, τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών Γεώργιο Παπαδούλη, Αναπληρωτή Καθηγητή του Πανεπιστημίου Κρήτης Ιωάννη Βόντα, Αναπληρωτή Καθηγητή του Δημοκρίτειου Πανεπιστημίου Θράκης Γεώργιο Μπούφα και Επίκουρο Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών Διονύσιου Περδίκη, για την προθυμία τους να συμμετάσχουν στην κρίση της συγκεκριμένης διατριβής και ειδικότερα για την ανάγνωση της μελέτης, τις προτεινόμενες βελτιώσεις και την βαθμολόγησή της.

Ιδιαίτερος θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ Γιώργο Κολιόπουλο, ειδικό επιστήμονα του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για την καθοριστική του συμβολή σε όλα τα στάδια της εκπόνησης της συγκεκριμένης διατριβής. Εκτιμώ βαθύτατα την αμέριστη βοήθεια που μου προσέφερε, ως προϊστάμενος, συνάδελφος αλλά και φίλος, στον

επιστημονικό χώρο των κουνουπιών και γενικότερα των αρthropόδων υγειονομικής σημασίας όλα τα χρόνια της συνεργασίας μας στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες θα ήθελα να εκφράσω στον Δρ Αντώνη Μιχαηλάκη, ερευνητή του Μ.Φ.Ι., τόσο για την καθοριστική του βοήθεια στην διενέργεια των βιοδοκιμών αιθερίων ελαίων και συστατικών τους εναντίον των κουνουπιών, όσο για την εν γένει επιστημονική συνεργασία και στήριξη στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο.

Στα πλαίσια της συγκεκριμένης μελέτης ξεχώρισα και εκτίμησα ιδιαίτερα την καταλυτική και συνεχή βοήθεια του ερευνητή του Μ.Φ.Ι. Δρ Δημήτρη Παπαχρήστου, τόσο στο σχεδιασμό όσο και στην στατιστική ανάλυση της πλειονότητας των πειραμάτων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά, επίσης, τον τεχνικό βοηθό κο Ιωάννη Στάθη και όλους τους φοιτητές που εργάστηκαν στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μ.Φ.Ι., τόσο για τη βοήθειά τους σε τεχνικά-πρακτικά θέματα όσο και για την δημιουργία ενός ευχάριστου, συναδελφικού και αποδοτικού κλίματος.

Οφείλω επίσης ευγνωμοσύνη σε όλες τις Διευθύνσεις του Μ.Φ.Ι. καθώς και στους προϊσταμένους του εργαστηρίου Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων για τα μέσα, τον εργαστηριακό εξοπλισμό και τη στήριξη που μου παρείχαν καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της μελέτης αυτής.

Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών για τη χορήγηση υποτροφίας από το ακαδημαϊκό έτος 2004-2005 για μεταπτυχιακές σπουδές στην Ελλάδα, ύστερα από επιτυχή συμμετοχή σε ειδικό γραπτό διαγωνισμό που διεξήγαγε για την Γεωπονική Επιστήμη στην ειδίκευση «Γεωργική Εντομολογία».

Το μεγαλύτερο ευχαριστώ, φυσικά, ανήκει στους δικούς μου ανθρώπους, στους γονείς και στον αδερφό μου, που με την αμέριστη ψυχολογική συμπαράσταση και στήριξη με βοήθησαν να πραγματοποιήσω με ηρεμία και μεθοδικότητα τη συγκεκριμένη μελέτη. Στην καθοδήγηση και τις αρχές των γονιών μου οφείλω την όποια επιστημονική μου πορεία ως τώρα. Τέλος, αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω από βάθος καρδιάς τη Στέλλα Γρίβα που με συντρόφευε και με στήριζε στην πορεία πραγματοποίησης της διατριβής αυτής.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το *Aedes (Stegomyia) albopictus* (κοιν. Ασιατικό κουνούπι τίγρης) θεωρείται ως το περισσότερο χωροκατακτητικό είδος κουνουπιού παγκοσμίως. Από υγειονομική άποψη το *Ae. albopictus* έχει πολύ μεγάλη σημασία καθώς μπορεί να μεταδώσει πολυάριθμα σοβαρά για τον άνθρωπο παθογόνα με σημαντικότερο τον ιό του Δάγκειου πυρετού που αποτελεί την σημαντικότερη ιογενή λοίμωξη του ανθρώπου που μεταδίδεται με αρθρόποδα (αρμποιός).

Στη χώρα μας εντοπίστηκε για πρώτη φορά το 2003-2004 στην Κέρκυρα και την Ηγουμενίτσα και το Σεπτέμβριο του 2008 βρέθηκε για πρώτη φορά στην Αθήνα, στην περιοχή της Ριζούπολης. Ο εντοπισμός του είδους αυτού στην Αθήνα, οδήγησε στη μελέτη της διασποράς και της εποχικής διακύμανσης του πληθυσμού του εκεί, με χρήση παγίδων ωοθεσίας. Το δίκτυο παγίδων ωοθεσίας εγκαταστάθηκε τον Αύγουστο του 2009 σε περιοχή έκτασης 25 Km² γύρω από το σημείο της πρώτης καταγραφής του και παρακολουθούνταν για διάστημα 17 μηνών, έως τον Δεκέμβριο του 2010. Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης προέκυψε ότι το Ασιατικό κουνούπι τίγρης δραστηριοποιούνταν σε όλη την υπό εξέταση περιοχή της Αττικής, αδιάλειπτα, για διάστημα περίπου 8 μηνών από τα μέσα της άνοιξης έως και το τέλος Δεκεμβρίου και ανέπτυξε σχετικά υψηλούς πληθυσμούς κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού και του φθινοπώρου. Επιπλέον, η σύγκριση της αναπαραγωγικής του δραστηριότητας μεταξύ των δύο ετών έδειξε ότι το *Ae. albopictus* εμφάνισε σημαντικά αυξημένους πληθυσμούς το δεύτερο έτος.

Από τα αποτελέσματα της προηγούμενης μελέτης διαπιστώθηκε ότι στην ανατολική πλευρά της υπό εξέταση περιοχής δραστηριοποιούνταν σε μικρούς πληθυσμούς και το ιθαγενές είδος κουνουπιού *Aedes (Stegomyia) cretinus*, το οποίο είναι συγγενές και μοιράζεται τις ίδιες βιοθέσεις με το *Ae. albopictus*. Ο εντοπισμός του *Ae. cretinus* στην περιοχή δραστηριότητας του *Ae. albopictus* προκάλεσε τη διερεύνηση της εποχικής συνύπαρξης των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στο πεδίο, με συλλογή των ωών τους σε παγίδες ωοθεσίας το έτος 2011. Στις υπό εξέταση περιοχές καταγράφηκαν περιορισμένοι πληθυσμοί του *Ae. cretinus*, με εποχική εμφάνισή τους νωρίς την άνοιξη μέχρι τα μέσα του καλοκαιριού, σε συνδυασμό με την αδιάλειπτη, αυξανόμενη και καθολική παρουσία του *Ae. albopictus*.

Επιπλέον, διερευνήθηκε το ενδεχόμενο ενδοειδικού και διειδικού ανταγωνισμού των προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* σε ελεγχόμενες συνθήκες στο εργαστήριο. Συγκεκριμένα, διερευνήθηκε εάν σε δεδομένο χώρο για το κάθε είδος κουνουπιού η συνύπαρξη των προνυμφών των δύο ειδών, η ποσότητα τροφής και η

πυκνότητα των ατόμων τους, επηρεάζουν την ταχύτητα ανάπτυξης των προνυμφών, την επιβίωση αυτών και το μέγεθος των τελείων. Ο ανταγωνισμός μεταξύ των προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*, στις συγκεκριμένες εργαστηριακές συνθήκες βρέθηκε γενικά ασθενής ενώ τάσεις διειδικού ανταγωνισμού, οι οποίες μάλιστα ευνοούν το *Ae. albopictus* έναντι του *Ae. cretinus*, παρατηρήθηκαν σε συγκεκριμένες συνθήκες διαθεσιμότητας τροφής και πυκνότητας ατόμων στο περιβάλλον ανάπτυξής τους.

Επιπρόσθετα, μελετήθηκε το ενδεχόμενο διειδικών συζεύξεων και υβριδισμού μεταξύ των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* σε συνθήκες περιορισμού, εντός κλωβών στο εργαστήριο. Από τις διειδικές διασταυρώσεις των δύο ειδών κουνουπιών προέκυψαν άγονες ωοτοκίες χωρίς υβριδισμό και ασύμμετρες συζεύξεις με το μεγαλύτερο ποσοστό σύζευξης να καταγράφεται μετά από τη διασταύρωση αρσενικών του *Ae. albopictus* με θηλυκά του *Ae. cretinus*.

Επίσης, μελετήθηκε και αξιολογήθηκε η τοξική δράση στις προνύμφες και η απωθητική δράση στα τέλεια του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων που απομονώθηκαν από ελληνικά φυτά του γένους *Citrus*, της οικογένειας Cupressaceae και της οικογένειας Lamiaceae καθώς επίσης και συστατικών τους. Από τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών προέκυψε ότι ορισμένα αιθέρια έλαια και τερπένια εμφάνισαν ισχυρή προνυμφοκτόνο (π.χ. *Citrus limon*, *Cupressus benthamii*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Origanum dictamnus*, γ-τερπινένιο, εποξείδιο της πιπεριτόνης, θυμόλη, καρβακρόλη, π-κυμένιο) και απωθητική δράση (π.χ. *Citrus limon*, *Cupressus macrocarpa*, *Satureja thymbra*, *Origanum mantzuranum*, κιτράλη, S(-)-λεμονένιο, θυμόλη, πιπεριτενόνη, εποξείδιο της πιπεριτενόνης, καρβακρόλη) και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση του Ασιατικού κουνουπιού τίγρης.

Τέλος, μελετήθηκε και αξιολογήθηκε, σε σχέση με προηγούμενες αναφορές, η αποτελεσματικότητα τεσσάρων βιοκτόνων δραστικών ουσιών εγκεκριμένων στη χώρα μας: spinosad, *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, diflubenzuron και methoprene, εναντίον προνυμφών εργαστηριακής εκτροφής του *Ae. albopictus* από πληθυσμό που δραστηριοποιείται στην Αθήνα.

ABSTRACT

Aedes (Stegomyia) albopictus, commonly known as the Asian tiger mosquito, is currently considered as the most invasive mosquito species in the world. It is of great medical importance due to its competence to transmit a wide range of human pathogens, notably dengue virus the most important arboviral disease in humans.

Aedes albopictus presence was noticed for the first time in Corfu and Igoumenitsa, in northwestern Greece, from specimens collected during 2003 and 2004. In September 2008, it was first detected at Rizoupoli region in Athens. The following year, its distribution and seasonal population abundance around its first detection site was investigated. A network of ovitraps was established in a surrounding area of 25 km² and monitored for 17 months, from August 2009 through December 2010. The results revealed that *Ae. albopictus* is widespread in the entire study area and is continuously active from mid spring until the end of December. A considerably high oviposition activity was recorded during summer and fall. Moreover, comparison of its activity, between the two consecutive surveillance years, indicated a significant increase of population abundance the second year.

During the aforementioned field study, a negligible proportion of the collected eggs, originated from the eastern studied area, belonged to the indigenous mosquito species *Aedes (Stegomyia) cretinus*. *Ae. cretinus* is a container breeding mosquito that shares the same ecological niches with the closely related *Ae. albopictus*. The detected co-occurrence of *Ae. cretinus* and *Ae. albopictus* stimulated the study of their seasonal activity in the field for 2011, using ovitraps. According to the results, *Ae. cretinus* was recorded in considerably limited numbers early in the season, from spring till the mid of summer, whereas *Ae. albopictus* was widespread in the studied area performing high ovipositioning activity.

Additionally, intra- and inter- specific larval competition of *Ae. albopictus* and *Ae. cretinus* was investigated in the laboratory. Larval competition was determined by recording larval survival and development and body size of adults of each species under various population and food density regimes. The interspecific larval competition was generally weak, while *Ae. albopictus* was found to be superior competitor in specific combinations of food availability and population densities.

Also, mating and hybridization after reciprocal crosses between *Ae. albopictus* and *Ae. cretinus* were investigated in cages, under laboratory conditions. The findings revealed that interspecific crosses resulted in the production of sterile eggs and asymmetric mating favoring *Ae. albopictus*.

Furthermore, essential oils derived from Greek *Citrus*, Cupressaceae and Lamiaceae plants and their components were evaluated in the laboratory for their larvicidal and repellent properties against *Ae. albopictus*. The bioassays revealed high larvicidal and repellent action for some of the tested essential oils (e.g. *Citrus limon*, *Cupressus benthamii*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare* and *Origanum dictamnus* for larvicidal, and *Citrus limon*, *Cupressus macrocarpa*, *Satureja thymbra* and *Origanum mantzuranum* for repellent effect) and terpenes (e.g. γ -terpinene, piperitone epoxide, thymol, carvacrol, and *p*-cymene for larvicidal, and citral, *S*(-)-limonene, thymol, piperitenone, piperitenone epoxide and carvacrol for repellent effect) which might be used as alternate agents for *Ae. albopictus* control.

Finally, efficacy of four biocidal active ingredients, registered in Greece for mosquito control, namely spinosad, *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*, diflubenzuron and methoprene, was evaluated using larvae from laboratory colony of *Ae. albopictus* population originated from Athens. The bioassays showed that the tested active ingredients provided comparable to other relevant studies control against *Ae. albopictus* larvae.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Γενικό Μέρος	17
1. Κεφάλαιο 1 ^ο	17
1.1 Γενικά περί κουνουπιών	17
1.1.1 Ταξινόμηση και γεωγραφική διασπορά των κουνουπιών	17
1.1.2 Στοιχεία της μορφολογίας και βιολογίας των κουνουπιών	18
1.1.3 Υγειονομική σημασία των κουνουπιών	22
1.1.4 Αντιμετώπιση των κουνουπιών	22
1.2 Το υπογένος <i>Stegomyia</i> Theobald του γένους <i>Aedes</i> της υποοικ. Culicinae	30
1.2.1 Το είδος <i>Aedes (Stegomyia) albopictus</i>	30
1.2.1.1 Στοιχεία περί της μορφολογίας και βιολογίας του <i>Aedes albopictus</i>	30
1.2.1.1.1 Τα ωά του <i>Aedes albopictus</i>	30
1.2.1.1.2 Οι προνύμφες του <i>Aedes albopictus</i>	34
1.2.1.1.3 Οι νύμφες του <i>Aedes albopictus</i>	37
1.2.1.1.4 Τα τέλεια του <i>Aedes albopictus</i>	38
1.2.1.2 Εξάπλωση του <i>Ae. albopictus</i> στον κόσμο και τρόποι διασποράς	43
1.2.1.3 Εμφάνιση και διασπορά του <i>Ae. albopictus</i> στην Ελλάδα	48
1.2.1.4 Υγειονομική σημασία του <i>Ae. albopictus</i>	50
1.2.1.5 Μέθοδοι δειγματοληψίας του <i>Ae. albopictus</i>	60
1.2.2 Το είδος <i>Aedes (Stegomyia) cretinus</i>	72
1.2.3 Το είδος <i>Aedes (Stegomyia) aegypti</i>	76
Ειδικό Μέρος	82
2. Κεφάλαιο 2 ^ο – Διασπορά του <i>Aedes albopictus</i> στην Αττική και εποχική διακύμανση..	82
2.1 Εισαγωγή	82
2.2 Σκοπός της μελέτης	84
2.3 Υλικά και Μέθοδοι	84
2.3.1 Οριοθέτηση της περιοχής μελέτης – Περιοχή δειγματοληψιών	84
2.3.2 Μέθοδοι δειγματοληψίας	86
2.3.3 Μετεωρολογικά δεδομένα	89
2.3.4 Εργαστηριακές τεχνικές	89
2.3.5 Επεξεργασία των δεδομένων – Στατιστική ανάλυση	92
2.4 Αποτελέσματα	94
2.4.1 Αριθμός ωών στις παγίδες και εξερχόμενων τελείων κουνουπιών <i>Aedes</i> στο εργαστήριο	94

2.4.2	Εποχική αναπαραγωγική δραστηριότητα.....	95
2.4.3	Σύγκριση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας μεταξύ των 5 υπο-περιοχών και των 2 διαδοχικών ετών.....	98
2.5	Συζήτηση.....	100
2.6	Συμπεράσματα.....	107
3.	Κεφάλαιο 3 ^ο - Ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις του εισβάλλοντος είδους κουνουπιού <i>Aedes albopictus</i> με το ιθαγενές είδος <i>Aedes cretinus</i>	109
3.1	Εισαγωγικό μέρος.....	109
3.1.1	Γενικά περί ανταγωνισμού των ειδών	109
3.1.2	Οι αρχές του ανταγωνιστικού εκτοπισμού ή αποκλεισμού και της ανταγωνιστικής μείωσης των ειδών	110
3.1.3	Η αρχή της συνύπαρξης των ειδών	112
3.1.4	Παραδείγματα ανταγωνιστικής μείωσης σε πληθυσμούς κουνουπιών εξαιτίας της ανθρώπινης παρέμβασης.....	112
3.1.5	Εισβάλλοντα είδη κουνουπιών, ανταγωνισμός και δημόσια υγεία.....	113
3.1.6	Μηχανισμοί ανταγωνιστικής μείωσης των κουνουπιών (Mechanisms of competitive reduction).....	115
3.1.7	Παραδείγματα ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του <i>Ae. albopictus</i> και άλλων ειδών <i>Aedes</i> στη φύση	120
3.2	Σκοπός της μελέτης.....	126
3.3	Υλικά κα Μέθοδοι.....	127
3.3.1	Μελέτη της εποχικής συνύπαρξης των ειδών <i>Ae. albopictus</i> και <i>Ae. cretinus</i> στο φυσικό περιβάλλον	127
3.3.1.1	Επεξεργασία των δεδομένων.....	128
3.3.2	Εργαστηριακή εκτροφή των ειδών <i>Aedes albopictus</i> και <i>Aedes cretinus</i>	129
3.3.3	Ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προνυμφών του <i>Ae. albopictus</i> και <i>Ae. cretinus</i> στο εργαστήριο.	131
3.3.3.1	Στατιστική ανάλυση	134
3.3.4	Αναπαραγωγικός ανταγωνισμός	134
3.3.4.1	Στατιστική ανάλυση	141
3.4	Αποτελέσματα	143
3.4.1	Εποχική συνύπαρξη των ειδών <i>Ae. albopictus</i> και <i>Ae. cretinus</i> στο φυσικό περιβάλλον	143
3.4.1.1	Καταμέτρηση των συλλεχθέντων ωών και εξερχόμενων τελείων κουνουπιών <i>Aedes</i> στο εργαστήριο	143
3.4.1.2	Παρακολούθηση της εποχικής παρουσίας των ειδών <i>Ae. albopictus</i> και <i>Ae. cretinus</i>	145

3.4.1.3	Χωροταξική απεικόνιση της παρουσίας των ειδών <i>Ae. albopictus</i> και <i>Ae. cretinus</i> με χάρτες.....	148
3.4.2	Ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προνυμφών του <i>Ae. albopictus</i> και του <i>Ae. cretinus</i>	150
3.4.3	Αναπαραγωγικός ανταγωνισμός μεταξύ του <i>Ae. albopictus</i> και <i>Ae. cretinus</i>	156
3.5	Συζήτηση - Συμπεράσματα	160
3.5.1	Εποχική συνύπαρξη των ειδών <i>Ae. albopictus</i> και <i>Ae. cretinus</i> στο φυσικό περιβάλλον	160
3.5.2	Ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προνυμφών του <i>Ae. albopictus</i> και του <i>Ae. cretinus</i>	164
3.5.3	Αναπαραγωγικός ανταγωνισμός μεταξύ του <i>Ae. albopictus</i> και <i>Ae. cretinus</i>	170
4.	Κεφάλαιο 4 ^ο – Αντιμετώπιση του <i>Aedes albopictus</i>	175
4.1	Αιθέρια έλαια	175
4.1.1	Εισαγωγή.....	175
4.1.1.1	Γενικά περί αιθερίων ελαίων.....	175
4.1.1.2	Η χρήση των αιθερίων ελαίων και των συστατικών τους στην αντιμετώπιση των εντόμων και ειδικότερα των κουνουπιών.....	181
4.1.1.3	Αιθέρια έλαια φυτών του γένους <i>Citrus</i> και η βιολογική τους δράση στα κουνούπια	183
4.1.1.4	Αιθέρια έλαια φυτών της οικογένειας Cupressaceae και η βιολογική τους δράση στα κουνούπια	184
4.1.1.5	Αιθέρια έλαια φυτών της οικογένειας Lamiaceae και η βιολογική τους δράση στα κουνούπια	185
4.1.2	Σκοπός της μελέτης.....	187
4.1.3	Υλικά και Μέθοδοι.....	189
4.1.3.1	Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών του γένους <i>Citrus</i> και των συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και αποθητική δράση στα τέλεια του <i>Ae. albopictus</i>	189
4.1.3.1.1	Φυτικό υλικό.....	189
4.1.3.1.2	Χημικά / συστατικά	190
4.1.3.1.3	Απομόνωση των αιθερίων ελαίων	190
4.1.3.1.4	Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων	191
4.1.3.1.5	Τοξική δράση εναντίων των προνυμφών	191
4.1.3.1.5.1	Στατιστική ανάλυση.....	193
4.1.3.1.6	Τοξική δράση LC ₅₀ δόσεων εναντίων των προνυμφών.....	194
4.1.3.1.6.1	Στατιστική ανάλυση.....	195
4.1.3.1.7	Αποθητική δράση εναντίον των τελείων	196

4.1.3.1.7.1	Στατιστική ανάλυση.....	198
4.1.3.2	Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Cupressaceae ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα τέλεια του <i>Ae. albopictus</i>	199
4.1.3.2.1	Φυτικό υλικό.....	199
4.1.3.2.2	Απομόνωση αιθερίων ελαίων	201
4.1.3.2.3	Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων	201
4.1.3.2.4	Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών	201
4.1.3.2.4.1	Στατιστική ανάλυση.....	201
4.1.3.2.5	Απωθητική δράση εναντίον των τελείων	202
4.1.3.2.5.1	Στατιστική ανάλυση.....	202
4.1.3.3	Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Lamiales και των κύριων συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα τέλεια του <i>Ae. albopictus</i>	202
4.1.3.3.1	Φυτικό υλικό.....	203
4.1.3.3.2	Χημικά συστατικά	206
4.1.3.3.3	Απομόνωση των αιθερίων ελαίων	206
4.1.3.3.4	Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων	206
4.1.3.3.5	Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών	206
4.1.3.3.5.1	Στατιστική ανάλυση.....	207
4.1.3.3.6	Απωθητική δράση εναντίον των τελείων	208
4.1.3.3.6.1	Στατιστική ανάλυση.....	208
4.1.4	Αποτελέσματα	209
4.1.4.1	Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών του γένους <i>Citrus</i> και των συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα τέλεια του <i>Ae. albopictus</i>	209
4.1.4.1.1	Χημική σύσταση αιθερίων ελαίων	209
4.1.4.1.2	Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών	211
4.1.4.1.3	Τοξική δράση LC ₅₀ δόσεων εναντίον προνυμφών	213
4.1.4.1.4	Απωθητική δράση εναντίον των τελείων	215
4.1.4.2	Βιοδοκιμές τοξικής δράσης στις προνύμφες και απωθητικής δράσης στα τέλεια του <i>Ae. albopictus</i> αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Cupressaceae	218
4.1.4.2.1	Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων	218
4.1.4.2.2	Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών	221
4.1.4.2.3	Απωθητική δράση εναντίον των τελείων	222

4.1.4.3	Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας <i>Lamiaceae</i> και των δραστικών τους συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα τέλεια του <i>Ae. albopictus</i>	225
4.1.4.3.1	Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων	225
4.1.4.3.2	Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών	230
4.1.4.3.3	Απωθητική δράση εναντίον των τελείων	233
4.1.5	Συζήτηση - Συμπεράσματα	238
4.1.5.1	Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών του γένους <i>Citrus</i> και των συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα τέλεια του <i>Ae. albopictus</i>	238
4.1.5.2	Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας <i>Cupressaceae</i> ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα τέλεια του <i>Ae. albopictus</i>	242
4.1.5.3	Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας <i>Lamiaceae</i> και των συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα τέλεια του <i>Ae. albopictus</i>	246
4.2	Βιοκτόνα – Εντομοκτόνα υγειονομικής σημασίας.....	254
4.2.1	Εισαγωγή.....	254
4.2.2	Σκοπός της μελέτης.....	261
4.2.3	Υλικά και Μέθοδοι.....	261
4.2.3.1	Διενέργεια βιοδοκιμών.....	262
4.2.3.1.1	Spinosad και <i>Bacillus thuringiensis</i> supsp. <i>israelensis</i> (<i>B.t.i.</i>).....	263
4.2.3.1.1.1	Στατιστική ανάλυση.....	264
4.2.3.1.2	Diflubenzuron και Methoprene	265
4.2.3.1.2.1	Στατιστική ανάλυση.....	267
4.2.4	Αποτελέσματα	267
4.2.4.1	Τοξική δράση του spinosad εναντίον προνυμφών του <i>Ae. albopictus</i>	267
4.2.4.2	Τοξική δράση του <i>Bacillus thuringiensis</i> supsp. <i>israelensis</i> (<i>B.t.i.</i>) εναντίον προνυμφών του <i>Ae. albopictus</i>	268
4.2.4.3	Βιολογική δράση των ρυθμιστών ανάπτυξης diflubenzuron και methoprene εναντίον προνυμφών του <i>Ae. albopictus</i>	269
4.2.5	Συζήτηση - Συμπεράσματα	271
	Βιβλιογραφία.....	276
	Παράρτημα I. Πηγές εικόνων.....	296
	Παράρτημα II. Δημοσιεύσεις της Διδακτορικής Διατριβής.....	299
	Παράρτημα III. Βιογραφικό Σημείωμα.....	302

Γενικό Μέρος

Γενικό Μέρος

1. Κεφάλαιο 1^ο

1.1 Γενικά περί κουνουπιών

1.1.1 Ταξινόμηση και γεωγραφική διασπορά των κουνουπιών

Τα κουνούπια είναι τα έντομα που ανήκουν στην οικογένεια Culicidae, της Τάξης των Διπτέρων (Diptera) και της Υποτάξης των Νηματόκερων (Nematocera), και αριθμούν περίπου 3.500 είδη σε όλο τον κόσμο. Η εξάπλωση των κουνουπιών είναι κοσμοπολίτικη, με τη μεγαλύτερη ποικιλία ειδών να έχει καταγραφεί στις τροπικές και εύκρατες περιοχές (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011). Δεν υπάρχει σχεδόν καμία περιοχή του κόσμου που να μην μπορεί να αναπτυχθεί κάποιο από τα είδη κουνουπιών που έχουν καταγραφεί μέχρι σήμερα (Μπέτζιος 1989). Ακόμη και στην Αρκτική ζώνη υπάρχουν είδη κουνουπιών, τα οποία αναπτύσσονται σε υπερβολικά μεγάλους αριθμούς ορισμένη εποχή του έτους, προκαλώντας αφόρητη ενόχληση. Κουνούπια έχουν βρεθεί ακόμα και σε υψόμετρο 4.300 μέτρων, στο οροπέδιο του Κασμίρ, καθώς και σε βάθος 1.160 μέτρων κάτω από την επιφάνεια της θάλασσας, σε μεταλλεία χρυσού στη Δ. Ινδία. Η μόνη περιοχή της Γης όπου ακόμη δεν έχουν βρεθεί κουνούπια είναι η Ανταρκτική, επειδή παραμένει συνεχώς καλυμμένη με πάγους (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Τα είδη της οικ. Culicidae μέχρι το 1998, ταξινομούνταν σε τρεις υποοικογένειες και 38 γένη: την Anophelinae με τρία γένη, την Culicinae με 34 γένη και την Toxorhynchitinae με ένα μόνο γένος. Φυλογενετικές μελέτες που πραγματοποιήθηκαν από τους Harbach and Kitching (1998) απέδειξαν ότι τα κουνούπια του γένους *Toxorhynchites* δεν αποτελούν ξεχωριστή υποοικογένεια, αλλά ομάδα της υποοικογένειας Culicinae (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Τα κουνούπια της υποοικογένειας Anophelinae ονομάζονται «ανωφελή» και ορισμένα μέλη της έχουν τη δυνατότητα να μολύνονται από ένα ή περισσότερα είδη των πλασμοδίων της ελονοσίας και να μεταδίδουν τη νόσο στον άνθρωπο, σε αντίθεση με τα κουνούπια της υποοικογένειας Culicinae, τα οποία δεν μπορούν να μολυνθούν με τα πλασμώδια της ελονοσίας του ανθρώπου και ονομάζονται «κοινά» (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Η συντριπτική πλειοψηφία των ειδών κουνουπιών ανήκει στην υποοικογένεια Culicinae (περίπου 2.930 είδη) τα σπουδαιότερα γένη της οποίας είναι τα *Aedes*, *Culex*, *Ochlerotatus*, *Culiseta*, *Mansonia*, *Coquillettidia*, *Haemagogus*, *Sabethes* και *Psorophora* (Σαββοπούλου-Σουλτάνη και συνεργάτες 2011).

1.1.2 Στοιχεία της μορφολογίας και βιολογίας των κουνουπιών

Όπως όλα τα έντομα της Τάξης Δίπτερα (Diptera), έτσι και τα κουνούπια είναι ολομετάβολα, δηλαδή υφίστανται πλήρη και ολική μεταμόρφωση. Ο κύκλος ζωής τους ολοκληρώνεται σε τέσσερα στάδια: του ωού, της προνύμφης, της νύμφης και του τελείου. Μόνο στο στάδιο του τελείου το κουνούπι έχει την ικανότητα να πετά, ενώ τα ανώριμα στάδιά του είναι υδρόβια (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011). Απαραίτητη προϋπόθεση για την εγκατάσταση κουνουπιών σε μια περιοχή είναι η ύπαρξη στάσιμου ή με μικρή ροή νερού για την εναπόθεση των ωών και την ανάπτυξη των ατελών σταδίων (προνυμφών και νυμφών) (Μπέτζιος 1989). Στα ατελή στάδια περιλαμβάνονται οι τέσσερις ηλικίες της προνύμφης και το στάδιο της νύμφης, από όπου εξέρχεται τελικά το τέλειο έντομο. Τα διάφορα είδη των κουνουπιών έχουν αναπτύξει ειδικούς μηχανισμούς προσαρμογής, οι οποίοι τα καθιστούν ικανά να διαβιούν σε πολλά είδη βιοτόπων. Είναι σπάνιες οι περιπτώσεις όπου υδάτινες συλλογές δεν είναι κατάλληλες για την ανάπτυξη κουνουπιών (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Τα ωά είναι μικρά, επιμήκη και συνήθως λευκά ή ανοιχτόχρωμα κατά την στιγμή της εναπόθεσης, ενώ αργότερα σε πολλές περιπτώσεις αλλάζουν χρώμα και γίνονται τεφρά και μελανά. Τα ωά των ανωφελών σε κάθε ωοθεσία εναποτίθενται μεμονωμένα και στις πλευρές τους φέρουν συνήθως ειδικούς σάκους με αέρα, τους «πλωτήρες», που τους βοηθούν να επιπλέουν (Μπέτζιος 1989). Τα ωά των κοινών κουνουπιών δεν έχουν πλωτήρες και αποτίθενται είτε μεμονωμένα (*Aedes* και *Ochlerotatus*) ή πολλά μαζί σε μορφή σχεδίας που επιπλέει στην επιφάνεια του νερού (*Culex* και *Culiseta*) ή σε κολλώδεις μάζες που προσαρτώνται στην κάτω επιφάνεια φύλλων υδρόβιων φυτών (*Mansonia*) (Σαββοπούλου-Σουλτάνη και συνεργάτες (2011). Η εναπόθεση των ωών γίνεται στην επιφάνεια του νερού, αν και δεν είναι σπάνιες οι περιπτώσεις εναπόθεσης των ωών σε λάσπη ή στο έδαφος (σε είδη του γένους *Aedes*), αλλά πάντα σε σημεία που θα κατακλυσθούν κάποια στιγμή από νερό και τότε πραγματοποιείται η εκκόλαψή τους (Μπέτζιος 1989).

Ανεξάρτητα από τη θέση εναπόθεσης των ωών, οι προνύμφες είναι πάντα υδρόβιες. Το σχήμα τους είναι σκωληκόμορφο και χωρίζονται σε τρία ευδιάκριτα τμήματα: κεφάλι,

θώρακα και κοιλιά. Στο άνω μέρος του 8^{ου} κοιλιακού τμήματος υπάρχουν δύο αναπνευστικά στήγματα με τα οποία η προνύμφη αναπνέει ανεβαίνοντας στην επιφάνεια του νερού. Στα κοινά κουνούπια τα στήγματα περιβάλλονται από μια σωληνοειδή προέκταση, το «αναπνευστικό σιφώνιο» (Μπέτζιος 1989). Αποτέλεσμα της ύπαρξης του σιφωνίου είναι ότι το σώμα των προνυμφών των κοινών κουνουπιών σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια του νερού, εκτός από τα είδη *Mansonia* και *Coquilletidia* που εισάγουν το κατάλληλα διαμορφωμένο σιφώνιο μέσα στους ιστούς υδρόβιων φυτών. Αντίθετα, οι προνύμφες των ανωφελών κουνουπιών που δεν έχουν σιφώνιο, τοποθετούνται παράλληλα με την επιφάνεια του νερού (Μπέτζιος 1989, Σαββοπούλου-Σουλτάνη και συνεργάτες 2011). Τα χαρακτηριστικά που ξεχωρίζουν τις προνύμφες των κουνουπιών από άλλες υδρόβιες προνύμφες εντόμων, είναι η έλλειψη ποδιών και το ότι ο σφαιροειδής θώρακας είναι πλατύτερος από το κεφάλι. Οι νύμφες μοιάζουν με κόμμα και ζουν και αυτές μέσα στο νερό. Ένα χαρακτηριστικό γνώρισμα των νυμφών είναι ότι κινούνται και μάλιστα αρκετά ζωηρά (Μπέτζιος 1989).

Τα τέλεια έντομα είναι μικρά, μήκους 3 έως 6 χιλιοστών και σε ελάχιστα είδη το μήκος τους φτάνει τα εννέα χιλιοστά. Έχουν μεγάλους σύνθετους οφθαλμούς. Οι κεραίες των αρσενικών είναι πτεροειδείς και των θηλυκών νηματοειδείς. Τα στοματικά μόρια είναι αίματος μυζητικού τύπου και έχουν μορφή μιας μακριάς προβοσκίδας, στα πλάγια της οποίας υπάρχουν οι γναθικές προσακτρίδες. Οι πτέρυγες είναι λεπτές, διαφανείς και έχουν λέπια επάνω στα νεύρα και την επιφάνεια. Στην περιφέρεια των πτερύγων υπάρχουν επίσης τρίχες που σχηματίζουν τον «κροσσό». Τα χαρακτηριστικά που ξεχωρίζουν τα τέλεια των κουνουπιών από τα τέλεια των άλλων Διπτέρων, είναι ο συνδυασμός μεγάλης προβοσκίδας, λεπιών στα νεύρα των πτερύγων και η χαρακτηριστική διάταξη των νεύρων, όπου στην εξωτερική πλευρά των πτερύγων (termen) καταλήγει ένα απλό νεύρο (3^ο επίμηκες) ανάμεσα σε δύο διακλαδισμένα (Μπέτζιος 1989).

Τα τέλεια των κοινών κουνουπιών όταν αναπαύονται έχουν το σώμα σε θέση παράλληλη με το υπόστρωμα. Οι νευρώσεις των πτερύγων καλύπτονται με ομοιόμορφου χρωματισμού λέπια συνήθως καστανά ή μαύρα. Μερικές φορές μπορεί να υπάρχουν ανοιχτόχρωμα λέπια αλλά όχι σε σχηματισμούς (μοτίβα) όπως τα είδη *Anophelinae*. Οι προσακτρίδες είναι κοντύτερες από την προβοσκίδα στα θηλυκά ενώ στα αρσενικά είναι ίδιου μήκους. Ο θυρεός είναι τρίλοβος και οι σμήριγγες περιορίζονται στους λοβούς μόνο. Στα θηλυκά υπάρχουν 2-3 σπερματοθήκες και ο μεσαίος λοβός των σιελογόνων αδένων έχει το ίδιο μήκος με τους δύο ακραίους. Αντίθετα, στα ανωφελή κουνούπια το σώμα τους σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια που επικάθονται και τόσο στα αρσενικά όσο και στα θηλυκά οι προσακτρίδες είναι μακριές όσο και η προβοσκίδα. Άλλες διαφορές είναι ότι και

στα δύο φύλα του γένους *Anopheles* ο θυρεός είναι στρογγυλεμένος στην οπίσθια παρυφή και φέρει σμήριγγες σε όλη την περίμετρο. Μόνο μία σπερματοθήκη υπάρχει στο θηλυκό και ο μεσαίος λοβός των σιελογόνων αδένων είναι κοντύτερος από τους άλλους δύο και στα δύο φύλα (Σαββοπούλου-Σουλτάνη και συνεργάτες 2011).

Μόνο τα θηλυκά κουνούπια είναι αιμομυζητικά. Το αίμα είναι απαραίτητο για την ωρίμανση των ωών και συνήθως προηγείται μια τουλάχιστον μύζηση αίματος (αιμοληψία) πριν από κάθε ωοτοκία (Μπέτζιος 1989). Τα θηλυκά κουνούπια γεννούν 50-500 ωά, 2-4 ημέρες (ή περισσότερο σε ψυχρά εύκρατα κλίματα) μετά από μία αιμοληψία (Becker *et al.* 2010). Για την επιβίωσή τους, τους είναι αρκετή η απομύζηση σακχαρούχων φυτικών χυμών ή άλλων μελιτωδών εκκρίσεων, όπως και στα αρσενικά. Υπάρχουν όμως και είδη, τα λεγόμενα "αυτόγονα", όπως π.χ. το αστικό κουνούπι *Culex pipiens molestus* (L.), στα οποία δεν είναι απαραίτητη η λήψη αίματος για την πρώτη ωοτοκία, γιατί τα απαιτούμενα θρεπτικά συστατικά έχουν εξασφαλισθεί από το προνυμφικό στάδιο. Αντίστοιχα, αναυτόγονα (anautoogenous) είναι τα είδη κουνουπιών που για την ανάπτυξη των ωών τους είναι απαραίτητη η κατανάλωση των πρωτεϊνών του αίματος. Τα αυτόγονα είδη συγκεντρώνουν σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια των προνυμφικών τους σταδίων σε σχέση με τα αναυτόγονα. (Μπέτζιος 1989, Estrada-Franco and Craig 1995, Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Ανάλογα με το είδος κουνουπιού παρουσιάζονται αρκετές διαφορές τόσο στον τύπο των εστιών ανάπτυξης των ατελών σταδίων, όσο και στην προτίμηση των ξενιστών για τη λήψη αίματος και τις θέσεις διημέρευσης των τελείων εντόμων, τα οποία μετακινούνται και αναζητούν τροφή συνήθως τις νυχτερινές ώρες. Έτσι ανάλογα με τον τύπο των εστιών ανάπτυξης των ατελών σταδίων, μπορούμε να διακρίνουμε είδη γλυκών, υφάλμυρων, αλατούχων, ψυχρών, θερμών, στάσιμων κλπ. νερών. Επίσης διακρίνουμε είδη κουνουπιών που αναπτύσσονται σε μικρές ή μεγάλες συγκεντρώσεις νερού, σε νερό που βρίσκεται σε κοιλότητες δέντρων, σε πηγάδια, σε καταρράκτες κλπ. Ανάλογα πάλι με το είδος του ξενιστή από τον οποίο προτιμούν να παίρνουν αίμα, τα σημεία που τον αναζητούν και τους χώρους στους οποίους συνήθως διημερεύουν, διακρίνουμε είδη ανθρωπόφιλα, ζωόφιλα, ορνιθόφιλα κλπ. όπως και είδη οικοδίαιτα, αγροδίαιτα, ενδόφιλα, εξώφιλα κλπ. Ένα άλλο χαρακτηριστικό των διαφόρων ειδών είναι ο χώρος που χρειάζονται για να πραγματοποιήσουν τη σύζευξη, η οποία γίνεται σε πτήση, χαρακτηριστικό που τα διακρίνει σε στενόγαμα και ευρύγαμα (Μπέτζιος 1989).

Η αναπαραγωγή του κουνουπιού γίνεται τους θερμούς μήνες, περίοδο που εκδηλώνεται και η δραστηριότητά τους με την αναζήτηση των ξενιστών για τη λήψη αίματος (Μπέτζιος 1989). Διάπαυση, στο βιολογικό κύκλο των κουνουπιών,

χαρακτηρίζεται η περίοδος κατά την οποία αναστέλλεται η ανάπτυξη των ατελών σταδίων (ωό, προνύμφη, νύμφη) ή η σεξουαλική δραστηριότητα και γέννηση ωών στο ώριμο στάδιο του τελείου (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Η διάπαυση είναι μια νευροορμονικώς ελεγχόμενη δυναμική κατάσταση χαμηλής μεταβολικής δραστηριότητας. Σχετίζεται με μειωμένη μορφογένεση, αυξημένη αντοχή σε ακραίες τιμές δυσμενών περιβαλλοντικών παραγόντων, και με αλλαγή ή μείωση της δραστηριότητας που αφορά τη συμπεριφορά (Τζανακάκης 1995). Η διάπαυση στα κουνούπια αποτελεί συνήθως προσαρμογή διαχείμασης. Οι πρωταρχικοί παράγοντες, που επάγουν την έναρξη και τη λήξη της, είναι η διάρκεια της φωτοπερίοδου και η θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Η μείωση της διάρκειας της φωτοπερίοδου αποτελεί το ερέθισμα για την επαγωγή της διάπαυσης, κατά την οποία επέρχεται μείωση του ρυθμού μεταβολισμού. Η αύξηση της διάρκειας φωτοπερίοδου συνεπάγεται την ενεργοποίηση των μεταβολικών λειτουργιών και την ολοκλήρωση της διάπαυσης. Το ίδιο αποτέλεσμα μπορεί να έχει και η αύξηση της θερμοκρασίας μετά από μία μακρά περίοδο ψύχους (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

Το στάδιο της ανάπτυξης κατά το οποίο επάγεται η διάπαυση, εξαρτάται από το είδος. Τα είδη που εκδηλώνουν διάπαυση στο στάδιο του τελείου, εισέρχονται σε διάπαυση σε νεαρή ηλικία, μετά τη γονιμοποίηση και πριν ωοτοκήσουν. Ερέθισμα για την επαγωγή της διάπαυσης στο στάδιο του τελείου αποτελεί η έκθεση της προνύμφης ή της νύμφης σε μικρής διάρκειας φωτοπερίοδο. Κατά τη διάρκεια της διάπαυσης, ορισμένα είδη μπορεί να επιβιώνουν αποκλειστικά με τα θρεπτικά συστατικά που έχουν, ήδη, αποθηκεύσει στον λιπώδη ιστό τους, ενώ άλλα μπορεί να τρέφονται περιστασιακά με αίμα, χωρίς όμως να ολοκληρώνουν τη διαδικασία της ωογένεσης. Τα ακμαία αρσενικά, συνήθως, δεν εισέρχονται σε διάπαυση και δεν επιβιώνουν το χειμώνα. Εξάίρεση αποτελεί το αστικό είδος *Culex ripiens* biotype *molestus*, το οποίο συνεχίζει την ανάπτυξή του και το χειμώνα, σε προφυλαγμένες υδάτινες συλλογές μέσα σε οικήματα. Αρκετά είδη εκδηλώνουν διάπαυση στο στάδιο του ωού ή της προνύμφης. Σε ορισμένα είδη, την έναρξη της διάπαυσης στα ανώριμα αυτά στάδια σηματοδοτεί η έκθεση των ίδιων των σταδίων σε μικρής διάρκειας φωτοπερίοδο. Σε άλλα πάλι είδη, όταν τα θηλυκά εκτεθούν σε μικρής διάρκειας φωτοπερίοδο, επάγονται σε διάπαυση τα ωά ή οι προνύμφες που θα προκύψουν (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

1.1.3 Υγειονομική σημασία των κουνουπιών

Τα κουνούπια βρίσκονται στο επίκεντρο της εντομολογικής έρευνας παγκοσμίως εξαιτίας της υγειονομικής τους σημασίας ως διαβιβαστές μιας μεγάλης ποικιλίας ιογενών και άλλων παρασιτικών ασθενειών που προσβάλλουν τον άνθρωπο και τα ζώα. Περισσότερο από το μισό του ανθρώπινου πληθυσμού της γης διαβιεί σε περιοχές όπου υπάρχει ο κίνδυνος να «τσιμπηθεί» από κουνούπια που είναι μολυσμένα με κάποια παθογόνα ή παράσιτα που προκαλούν ασθένειες όπως η ελονοσία, ο δάγκειος πυρετός, ο πυρετός Chikungunya, ο ιός του Δυτικού Νείλου, ο ιός της Ιαπωνικής εγκεφαλίτιδας και οι φιλαριάσεις. Σύμφωνα με εκτιμήσεις από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (Π.Ο.Υ.) (World Health Organization - W.H.O.), το 2006, 247 εκατομμύρια άνθρωποι νόσησαν και περίπου 1 εκατομμύριο πέθαναν από ασθένειες που μεταδίδονται με τα κουνούπια (W.H.O. 2008). Το 2010 νόσησαν 219 εκατομμύρια και πέθαναν 660.000 άνθρωποι, οι περισσότεροι μικρά παιδιά, από ελονοσία, κυρίως στην Αφρικανική ήπειρο (91%), ενώ μόνο στην Αφρική το ετήσιο κόστος από την ασθένεια της ελονοσίας, που αφορά τα νοσήλια, τη θεραπεία και τους πρόωρους θανάτους υπολογίζεται σε τουλάχιστον 12 δισεκατομμύρια δολάρια Αμερικής (C.D.C. 2013). Παρόλο που τα 3/4 περίπου όλων των ειδών κουνουπιών απαντώνται σε υγρές τροπικές και υποτροπικές χώρες, τα κουνούπια προκαλούν προβλήματα όχλησης και είναι δυνητικοί διαβιβαστές παθογόνων στον άνθρωπο σε εύκρατες περιοχές (Becker *et al.* 2010).

Τα κουνούπια αποτελούν παγκοσμίως σοβαρή απειλή για τη Δημόσια Υγεία, τόσο εξαιτίας της δυνατότητας ορισμένων ειδών να προκαλέσουν επιδημίες σοβαρών νόσων, όσο και λόγω της όχλησης που προκαλούν με τα «τσιμπήματά» τους. Η παρουσία κουνουπιών σε μία περιοχή, επιφέρει πολλές δυσμενείς επιπτώσεις στην ποιότητα ζωής, στις εργασίες υπαίθρου και στην τουριστική ανάπτυξη και, παράλληλα, επιδρά αρνητικά στην οικονομική ανάπτυξη της περιοχής αυτής. Επί πλέον, τα νύγματα προκαλούν συχνά κνησμό, ερεθισμό, δερματίτιδες και αλλεργίες στα ευαίσθητα άτομα, ενώ εάν υπάρξουν οι κατάλληλες συγκυρίες (μολυσμένα άτομα και τα κατάλληλα είδη-φορείς), μπορούν να εμφανισθούν σοβαρά νοσήματα μεταδιδόμενα με κουνούπια (Σαμανίδου-Βογιατζόγλου 2011).

1.1.4 Αντιμετώπιση των κουνουπιών

Σήμερα, η αντιμετώπιση των κουνουπιών βασίζεται σε συνδυασμό μέτρων, που στοχεύουν παράλληλα προς το τελικό αποτέλεσμα και όχι στην εφαρμογή μιας μόνο μεθόδου καταπολέμησης. Γενικά, η αντιμετώπιση των κουνουπιών, θα πρέπει να

στηρίζεται κατά κύριο λόγο στην καταπολέμηση ή τον περιορισμό των προνυμφών και συμπληρωματικά να γίνεται καταπολέμηση των τελείων εντόμων, όταν αυτό απαιτείται (Κολιόπουλος 2011).

Αντιμετώπιση των προνυμφών των κουνουπιών

Χειρισμός και 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 πληθυσμιακή 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 (Δήμοι, Περιφέρειες) και γενικότερα από την πολιτεία και να χρηματοδοτούνται επαρκώς (Κολιόπουλος 2011).

Ο καθαρισμός της βλάστησης στις όχθες των λιμνών, ελών, ποταμών, αρδευτικών και αποστραγγιστικών αυλάκων επειδή διευκολύνει τη ροή του νερού βοηθά στο να συμπαρασύρονται και να καταστρέφονται τα ωά και τα ατελή στάδια των κουνουπιών, τα οποία συνήθως αναπτύσσονται εκεί. Όπου ο καθαρισμός είναι δύσκολος ή δεν μπορεί να εφαρμοστεί (π.χ. σε ορυζώνες) αναγκαστικά θα χρησιμοποιηθούν άλλοι μέθοδοι (π.χ. ψεκασμοί). Για είδη τα οποία μπορούν να αναπτύσσονται ακόμη και σε ελάχιστες ποσότητες νερού (π.χ. τα *Culex ripiens*, *Aedes albopictus* κ.α.) χρειάζεται να πραγματοποιείται λεπτομερής έλεγχος στις κατοικίες και στους γύρω χώρους (βεράντες, υπόγεια, κήπους κ.α.) για να καταστραφεί ή να αποστραγγισθεί κάθε τέτοια εστία, όπως για παράδειγμα δοχεία με νερό βροχής ή ποτίσματος, βουλωμένα φρεάτια, κοιλότητες με νερό σε δένδρα, νερολακούβες στο έδαφος, πλημμυρισμένα υπόγεια, αγωγοί, ποτίστρες ζώων, πιατάκια κάτω από γλάστρες, παλιά λάστιχα αυτοκινήτων, ψυγεία ή άλλες συσκευές που στάζουν κ.α. Εκεί που οι μικροεστίες δεν μπορούν να αποστραγγισθούν (βαρέλια, δεξαμενές νερού, ποτίστρες, σιντριβάνια, μικρές λίμνες κ.α.) μπορεί να εφαρμοστεί η αλλαγή του νερού κάθε 5-6 ημέρες ώστε να μην επιτρέπεται η ανάπτυξη των προνυμφών και νυμφών (Εμμανουήλ 1999).

Αντιμετώπιση των προνυμφών 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.

Τα μόνα φυσικά παθογόνα που έχουν αποδώσει και χρησιμοποιούνται 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. Στη χώρα μας, μέχρι σήμερα (2014), κυκλοφορούν δύο εγκεκριμένα σκευάσματα *B.t.i.* ενώ δεν κυκλοφορεί κανένα σκεύασμα *B.s.* καθώς καμία εταιρεία δεν έχει αιτηθεί σχετική έγκριση κυκλοφορίας (Κολιόπουλος 2011). 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 υψηλό 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 από άλλους παράγοντες όπως η ποσότητα οργανικής ουσίας στο νερό κ.α. (Κολιόπουλος 2011).

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*. 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 *Gambusia* κινούνται κοντά στην επιφάνεια του νερού και θηρεύουν με ευκολία τις προνύμφες των κουνουπιών που θα συναντήσουν. Για να δράσει όμως ικανοποιητικά το *Gambusia*, πρέπει η εστία των κουνουπιών να μην καλύπτεται από πολύ πυκνή βλάστηση προκειμένου να μην παρεμποδίζεται η κίνησή του. 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 *Pelagius marathonicus* που έχει εντοπιστεί στην περιοχή του Μαραθώνα - Σχοινιά της Αττικής (Κολιόπουλος 2011).

Χημική αντιμετώπιση προνυμφών

Η χημική αντιμετώπιση των προνυμφών των κουνουπιών (καθώς και των τελείων) βασίζεται στη χρησιμοποίηση βιοκτόνων-εντομοκτόνων υγειονομικής σημασίας, δηλαδή χημικών τοξικών ουσιών, που παρεμβαίνουν στις φυσιολογικές λειτουργίες του εντόμου και επιφέρουν τελικά το θάνατο.

Βιοκτόνα κατάλληλα για την καταπολέμηση των προνυμφών των κουνουπιών, με έγκριση κυκλοφορίας στη χώρα μας, είναι αυτά που περιέχουν ένα από τα ακόλουθα δρώμενα συστατικά: diflubenzuron, spinosad (έως και το Δεκέμβριο του 2013), s-methoprene και *B.t.i.* (*Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*).

Από τις παραπάνω δραστικές ουσίες, το *B.t.i.* θεωρείται βιολογικής προέλευσης, το spinosad φυσικής προέλευσης και τα υπόλοιπα δύο 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 (s-methoprene), είτε παρεμποδίζοντας τη βιοσύνθεση της χιτίνης (diflubenzuron).

Οι ουσίες αυτές είναι εκλεκτικές και δρουν αποκλειστικά στο κατάλληλο προνυμφικό στάδιο ανάπτυξης των κουνουπιών. Τα σκευάσματα της πρώτης κατηγορίας παρατείνουν το προνυμφικό στάδιο, το έντομο δεν ολοκληρώνει τη μεταμόρφωσή του σε 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 πίεσεως δίνει συνήθως καλύτερα αποτελέσματα, γιατί ο συγκεκριμένος τρόπος εφαρμογής παρέχει την ευχέρεια κατεύθυνσης του εντομοκτόνου στα επιθυμητά σημεία και επιπλέον,

λόγω της υψηλής πίεσεως, το ψεκαστικό διάλυμα φθάνει πιο εύκολα στο νερό και αποφεύγεται έτσι η απώλεια από την 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 αναπτυγμένες χώρες σε άλλα μέρη του κόσμου έχουν πλέον περιορίσει ή και απαγορεύσει τους ψεκασμούς από αέρος καθώς εγκυμονούν σημαντικούς κινδύνους για τη δημόσια υγεία και το περιβάλλον (Κολιόπουλος 2011).

Αντιμετώπιση των προνυμφών με σκευάσματα που δρουν με μηχανικό τρόπο

Στη χώρα μας κυκλοφορεί προνυμφοκτόνο σκεύασμα μονομοριακού φιλμ (monomolecular film) με βάση τη σιλικόνη, το οποίο δρα εναντίον των προνυμφών των κουνουπιών με μηχανικό τρόπο, και ως εκ τούτου δεν απαιτείται άδεια έγκρισης κυκλοφορίας του ως βιοκτόνο-εντομοκτόνο υγειονομικής σημασίας. Το σκεύασμα αυτό εφαρμόζεται εύκολα στο νερό χωρίς ψεκασμό και εξαπλώνεται γρήγορα σε όλη την υδάτινη επιφάνεια σχηματίζοντας φιλμ πάχους ενός μορίου. Η εφαρμογή του σκευάσματος αυτού, αφενός εμποδίζει την αναπνοή των προνυμφών/ νυμφών των κουνουπιών με αποτέλεσμα τη θανάτωσή τους, αφετέρου επιφέρει τον πνιγμό των τελείων κουνουπιών και παρεμποδίζει την ωοτοκία τους μειώνοντας την επιφανειακή τάση του νερού. Εμφανίζει χαμηλή τοξικότητα σε οργανισμούς μη-στόχους, ενώ συστήνεται ακόμη και για εφαρμογή σε πόσιμο νερό (Becker *et al.* 2010).

Αντιμετώπιση των τελείων κουνουπιών

Η αντιμετώπιση των τελείων 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 (Κολιόπουλος 2011).

Μηχανικά μέσα αντιμετώπισης των τελείων κουνουπιών

Η διαχείριση των τελείων 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 σπιτιών 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 συλλογής 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 κοινού 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 απόδοση των τέλειων κουνουπιών με τη βοήθεια υπερήχων, κάτι τέτοιο δεν έχει αποδειχθεί πειραματικά και επομένως οι συσκευές αυτές δεν αναμένεται να προσφέρουν ουσιαστικό αποτέλεσμα (Κολιόπουλος 2011).

Αντιμετώπιση τελείων κουνουπιών με βιολογικά μέσα

Στους φυσικούς εχθρούς των τελείων 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 (Κολιόπουλος 2011).

Χημική αντιμετώπιση τελείων κουνουπιών

Υπολειμματικοί ψεκασμοί επιφανειών

Για να είναι αποτελεσματική η εφαρμογή τους οι υπολειμματικοί ψεκασμοί επιφανειών θα πρέπει να διενεργηθούν σε όλους τους χώρους που διημερεύουν τα τέλεια κουνούπια. Οι ψεκασμοί αυτοί πρέπει να προηγούνται των επεμβάσεων κατά των προνυμφών και να επαναλαμβάνονται το φθινόπωρο για τα είδη που διαχειμιάζουν στο

στάδιο του τελείου. Αυτό θα περιορίσει στο ελάχιστο τον αριθμό των ατόμων που θα δραστηριοποιηθούν την επόμενη άνοιξη.

Ενδιάμεσοι ψεκασμοί, κατά τη θερινή περίοδο, θα πρέπει να πραγματοποιούνται 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, μεταξύ άλλων, είναι αυτά που περιέχουν ένα από τα ακόλουθα δρώστα συστατικά: permethrin, lamda cyhalothrin, alphacypermethrin, deltamethrin, cyfluthrin, bifenthrin, bendiocarb, etofenprox, tetramethrin, cypermethrin, alpha-cypermethrin (Κολιόπουλος 2011).

Ψεκασμοί χώρων

Στην περίπτωση που το πρόβλημα είναι πολύ μεγάλο θα μπορούσαν, να εφαρμοστούν ψεκασμοί ανοικτού χώρου στα μέρη που παρατηρούνται μεγάλες συγκεντρώσεις τελείων 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 κουνούπια 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) (Κολιόπουλος 2011).

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) ηλεκτροθερμαινόμενα πλακίδια και γ) υγρά εντομοαπωθητικά χώρου. Οι καπνογόνες σπείρες χρησιμοποιούνται συνήθως σε εξωτερικούς χώρους ενώ τα ηλεκτροθερμαινόμενα 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 60 εμπορικά σκευάσματα αυτής της κατηγορίας. Επίσης, στο εμπόριο κυκλοφορούν αρκετά σκευάσματα και σε διάφορες μορφές, όπως για παράδειγμα αρωματικά κεριά με βάση τη σιτρονέλα, 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 (Κολιόπουλος 2011).

Ατομική προστασία

Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα βιοκτόνα-εντομοαπωθητικά 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 αρthropόδων όπως αιμομυζητικές μύγες, σκνίπες, ψύλλοι, τσιμπούρια κλπ. Ο ρόλος τους είναι απωθητικός και δεν θανατώνουν τα έντομα.

Οι κυριότερες δραστικές ουσίες που είναι εγκεκριμένες στη χώρα μας ως βιοκτόνα - απωθητικά κουνουπιών είναι το DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide), το icaridin, το IR3535 (Ethyl Butylacetylaminopropionate) καθώς και τα τερπένια Geraniol και Citriodiol. Κυκλοφορούν και χρησιμοποιούνται επίσης στην ελληνική αγορά σκευάσματα με απωθητικά φυτικής προέλευσης όπως η σιτρονέλα με το πρόβλημα όμως, όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, ότι δεν έχουν ελεγχθεί από τις αρμόδιες αρχές (Κολιόπουλος 2011).

1.2 Το υπογένος *Stegomyia* Theobald του γένους *Aedes* της υποοικ. *Culicinae*

Τα περισσότερα είδη κουνουπιών που ανήκουν στο υπογένος *Stegomyia* του γένους *Aedes*, είναι μικρά σε μέγεθος ενώ σπανίως απαντώνται και κουνούπια μεσαίου μεγέθους. Τα είδη του υπογένους *Stegomyia* απαντώνται στον Παλαιό Κόσμο (Παλαιοαρκτική και Αφροτροπική Ζώνη, δηλαδή Ευρώπη, Ασία και Αφρική) και κυρίως σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές με εξαίρεση τα είδη *Aedes aegypti* (L.) και *Ae. albopictus* τα οποία έχουν εισβάλει μέσω του διεθνούς εμπορίου και σε περιοχές του Νέου Κόσμου (Νεαρκτική και Νεοτροπική Ζώνη, δηλαδή Αμερική και Ωκεανία). Περιλαμβάνει πολύ λίγα ευρέως διαδεδομένα στον κόσμο είδη κουνουπιών και ένα μεγάλο αριθμό ενδημικών ειδών με περιορισμένη διασπορά σε ορισμένα μέρη του κόσμου. Στην Ευρώπη το υπογένος αυτό έχει αντιπροσωπευτεί από τρία είδη και συγκεκριμένα τα *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* και *Aedes cretinus* (Edwards) τα οποία έχουν εντοπιστεί σε νότιες περιοχές της γηραιάς ηπείρου. Τέλος, το υπογένος *Stegomyia* είναι ένα από τα σημαντικότερα υπογένη της οικογένειας Culicidae από υγειονομικής άποψης καθώς σε αυτό ανήκουν πολλά είδη κουνουπιών-διαβιβαστών πολυάριθμων παθογόνων και παρασίτων όπως ιών και φιλαριάσεων που προκαλούν σημαντικές ασθένειες στον άνθρωπο (Becker *et al.* 2010).

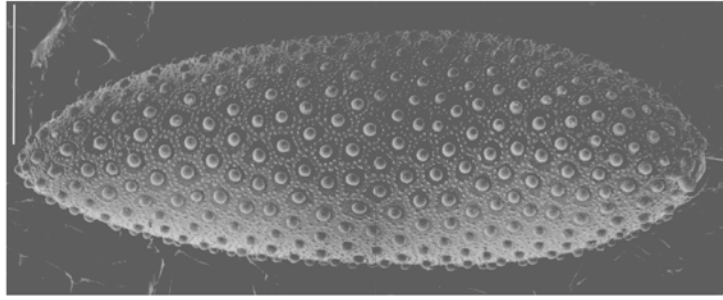
1.2.1 Το είδος *Aedes (Stegomyia) albopictus*

1.2.1.1 Στοιχεία περί της μορφολογίας και βιολογίας του *Aedes albopictus*

1.2.1.1.1 Τα ωά του *Aedes albopictus*

Μορφολογία των ωών

Ο Linley (1989) με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου σάρωσης περιέγραψε τη μορφολογία του ωού του *Ae. albopictus* που φαίνεται στην **Εικόνα 1** και μέτρησε τις διαστάσεις του ($609,8 \pm 5,9$ μm μήκος και $192,9 \pm 2,4$ μm πλάτος). Τα ωά του *Ae. albopictus* έχουν ατρακτοειδές σχήμα, λεπτυνόμενο προς τα άκρα και διογκωμένο στο κέντρο και σύμφωνα με τις περιγραφές είναι σκούρου έως μαύρου χρώματος (**Εικόνα 2**). Είναι όπως αυτά του *Ae. aegypti*, και στερούνται πλωτήρων (floats). Διαθέτουν κυκλική μικροπύλη στο ένα άκρο και η υφή της επιφάνειάς τους είναι τραχεία λόγω της ύπαρξης μεγάλων σφαιρικών φυματίων (outer chorionic tubercles) σε κάθε κυτταροειδή σχηματισμό του εξωτερικού χορίου (chorion), ενώ οι περιβάλλοντες μεσοκυττάριοι χώροι στερούνται μικρών φυματίων (Estrada-Franco and Craig 1995).



Εικόνα 1. Ωό του *Ae. albopictus* από ηλεκτρονικό μικροσκόπιο



Εικόνα 2. Ωά του *Ae. albopictus* κολλημένα σε ξύλινη επιφάνεια

Εμβρυική ανάπτυξη, φωτοκία και εκκολαπτικότητα

Τα ωά των κουνουπιών (συμπεριλαμβανομένων εκείνων που ανήκουν στο γένος *Aedes*) γονιμοποιούνται λίγο πριν αποθεθούν. Το σπέρμα που βρίσκεται αποθηκευμένο στη σπερματοθήκη εισέρχεται σε κάθε ένα από τα πλήρως ανεπτυγμένα ωά (ωοκύτη) μέσω του σπερματοφόρου αγωγού και αφού γεννηθούν τα ωά λαμβάνει χώρα η φάση της καρυογαμίας και της ανάπτυξης του εμβρύου. Η φάση της εμβρυικής ανάπτυξης (embryonic development) ή εμβρυογένεσης (embryogenesis) περιλαμβάνει όλες τις μεταβολές που συμβαίνουν στην ανάπτυξη του ωού μεταξύ της γονιμοποίησης (fertilization) και της εκκόλαψης του νέου οργανισμού (hatching) (Estrada-Franco and Craig 1995).

Διευκρινίζεται ότι στην παρούσα Διατριβή ο όρος «εκκόλαψη ωών» αναφέρεται στην εκκόλαψη (έξοδο) της προνύμφης των κουνουπιών από το ωό και χρησιμοποιείται προκειμένου να αποδοθεί στη ελληνική γλώσσα ο διεθνής όρος «egg hatching».

Η διάρκεια της εμβρυικής ανάπτυξης εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία στην οποία εκτίθενται τα ωά. Εργαστηριακές παρατηρήσεις έχουν δείξει

ότι τα ωά ασιατικών φυλών του *Ae. albopictus* ολοκληρώνουν την εμβρυική τους ανάπτυξη σε 2-4 ημέρες σε θερμοκρασίες 24-27°C. Οι ιδανικές συνθήκες για την εμβρυογένεση των ωών φυλών του *Ae. albopictus* από την Αμερική φαίνεται να είναι έκθεση των ωών στο εργαστήριο ή σε συνθήκες υπαίθρου σε θερμοκρασίες 21°C, σχετικής υγρασίας 70-80%, και φωτοπεριόδου 16:8 ώρες (Φ:Σ) για 6-7 ημέρες (Estrada-Franco and Craig 1995). Ο Hawley (1988) αναφέρει ότι για φυλές του *Ae. albopictus* από την Κίνα, το Βιετνάμ και τις Φιλιππίνες η μέση διάρκεια από την ωοτοκία μέχρι την εκκόλαψη των ωών ήταν 2-4 ημέρες στους 25°C, ενώ για φυλές από την Ινδία και το Βιετνάμ ήταν 2-3 ημέρες στους 30°C. Οι Delatte *et al.* (2009) αναφέρουν ότι η μέση διάρκεια εκκόλαψης των ωών του *Ae. albopictus* από περιοχή της Γαλλίας στο εργαστήριο ήταν 2,9, 4,5 και 6,7 ημέρες στους 20, 25 και 30°C, αντίστοιχα.

Όπως όλα τα είδη κουνουπιών του υπογένους *Stegomyia* του γένους *Aedes*, τα θηλυκά του *Ae. albopictus* γεννούν τα ωά τους μεμονωμένα μέσα και γύρω στη συλλογή του νερού σε διάφορες αποστάσεις πάνω από την επιφάνεια του νερού. Σε σχετική μελέτη αναφέρεται μάλιστα ότι το 75% των ωών προσκολλάται στα 16 χιλ. από τη στάθμη του νερού και ότι το ύψος ωοτοκίας μπορεί να φτάσει έως και τα 53 χιλ. Αφού ολοκληρωθεί η εμβρυική ανάπτυξη, η εκκόλαψη των ωών λαμβάνει χώρα λίγα λεπτά μετά την κατάκλιση τους με νερό και ακολουθεί η έξοδος των προνυμφών και η ανάπτυξή τους στο νερό. Καθώς τα ωά του *Ae. albopictus* εκκολάπτονται σταδιακά κατά ομάδες (batches) ο χρόνος που μεσολαβεί από την έξοδο της πρώτης και τελευταίας προνύμφης από μια ωοτοκία, μπορεί να είναι από μερικά λεπτά έως και πολλές ημέρες, ανάλογα με τη θερμοκρασία του νερού και τη διαθεσιμότητα της τροφής (Estrada-Franco and Craig 1995).

Σχετικά με την εκκόλαψη των ωών *Aedes*, συμπεριλαμβανομένου και του *Ae. albopictus*, τα ωά μπορεί να εκκολαφθούν αμέσως μετά την κατάκλιση τους με νερό, ενώ ορισμένα μπορεί να μην εκκολαφθούν για μεγάλο χρονικό διάστημα παρά την εμβάπτιση τους στο νερό και να εκκολάπτονται σταδιακά. Το φαινόμενο αυτό είναι γνωστό με τον όρο «installment hatching» (συνεχόμενη εκκολαπτικότητα) και παρατηρείται όταν μετά τη μαζική εκκόλαψη μιας ομάδας ωών του *Ae. albopictus* ακολουθούν ολιγάριθμες εκκολάψεις (Estrada-Franco and Craig 1995).

Εφόσον ολοκληρωθεί η εμβρυογένεση, τα ωά μπορεί να αντέξουν σε ξηρασία για μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς να χάσουν τη βιωσιμότητά τους. Ο αριθμός των ωών του *Ae. albopictus* που θα επιβιώσει σε συνθήκες χαμηλής υγρασίας εξαρτάται από το στάδιο που βρίσκεται το έμβρυο πριν την έκθεση σε ξηρασία. Σε σχετική μελέτη, μάλιστα, διαπιστώθηκε ότι τα ωά του *Ae. albopictus* είναι εξαιρετικά ανθεκτικά στην ξηρασία εφόσον διατηρηθούν προηγουμένως σε υγρές συνθήκες για 4 ημέρες, ενώ βρέθηκε ότι

μπορεί να επιβιώσουν μέχρι και 243 ημέρες στους 25°C και 70-75% σχετική υγρασία (Estrada-Franco and Craig 1995).

Ένας ακόμη σημαντικός παράγοντας για την εκκόλαψη των ωών του *Ae. albopictus* είναι το ποσό του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό. Χαμηλά επίπεδα οξυγόνου συνήθως σχετίζονται με έντονη μικροβιακή δραστηριότητα και άφθονα θρεπτικά συστατικά στο νερό, που αυξάνουν την εκκολαπτικότητα των ωών. Μετά την κατάκλιση των ωών με νερό διάφοροι μικροοργανισμοί αποικίζουν την επιφάνεια του ωού, με αποτέλεσμα την μείωση του διαλυμένου οξυγόνου στο νερό λόγω της αυξημένης μικροβιακής δραστηριότητας και τελικά τη διέγερση της εκκόλαψης των ωών (Estrada-Franco and Craig 1995).

Επίσης, τα ωά του *Ae. albopictus* μπορεί να χρειαστούν αρκετές διαδοχικές κατακλύσεις στο νερό πριν εκκολαφθούν, ο αριθμός των οποίων εξαρτάται από τη φυλή, το βαθμό αφυδάτωσης των ωών και την περιεκτικότητα του νερού σε οξυγόνο (Hawley 1988).

Σε εύκρατες περιοχές έχει βρεθεί ότι τα ωά του *Ae. albopictus* είναι ικανά να επιβιώνουν για αρκετούς μήνες κατά τη διάρκεια του χειμώνα (Hawley 1988). Μάλιστα, οι Hawley *et al.* (1987) αναφέρουν ότι το 79 με 99% των ωών του *Ae. albopictus* από εύκρατες περιοχές της Ασίας και των Η.Π.Α. επιβίωσαν όταν εκτέθηκαν σε θερμοκρασίες -10 °C για 24 ώρες, ενώ ωά του *Ae. aegypti* ή του *Ae. albopictus* από τροπικές περιοχές σημείωσαν 100% θνησιμότητα στις ίδιες συνθήκες.

Διάπαυση των ωών

Το *Ae. albopictus* σε περιοχές του κόσμου με εύκρατο κλίμα, όπως η Βόρεια Αμερική και βορειότερες περιοχές της Ασίας, στην Κίνα και την Ιαπωνία, διαχειμάζει στο στάδιο του ωού σε διάπαυση. Η διάπαυση των ωών είναι μία κατάσταση κατά την οποία αναστέλλεται η εκκόλαψη των ωών που παράγονται, προκειμένου το είδος να μην δραστηριοποιείται και να μην εκτίθεται στις χαμηλές θερμοκρασίες ώστε να ανταπεξέλθει και να επιβιώσει στις συνθήκες ψύχους που επικρατούν το χειμώνα (Estrada-Franco and Craig 1995). Η διάπαυση ελέγχεται γενετικά και χαρακτηρίζεται από μειωμένο ρυθμό μορφογένεσης, αυξημένη αντοχή στις ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες και αλλαγές (συνήθως μείωση) της δραστηριότητας του κουνουπιού (Hawley 1988). Σύμφωνα με τους Estrada-Franco and Craig (1995), όλες οι γνωστές περιπτώσεις διάπαυσης στο στάδιο του ωού των κουνουπιών συνίστανται στην πολύ μειωμένη απόκριση των προνυμφών 1^{ης} ηλικίας που έχουν ήδη σχηματιστεί και βρίσκονται εντός του ωού στα ερεθίσματα που διεγείρουν την εκκόλαψή τους (π.χ. μειωμένη περιεκτικότητα σε O₂ του νερού κ.α.). Αντίθετα, κατά τη φάση της διάπαυσης δεν παρατηρείται περιορισμένη εμβρυϊκή ανάπτυξη. Κατά τους Estrada-Franco and Craig (1995) το φαινόμενο της διάπαυσης

θεωρείται ότι είναι νευρο-ορμονικής φύσης και οδηγεί σε μία κατάσταση χαμηλής μεταβολικής δραστηριότητας του κουνουπιού μετά από κάποιο συγκεκριμένο ερέθισμα. Για τις φυλές του *Ae. albopictus* το ερέθισμα αυτό μπορεί να είναι η φωτοπερίοδος αλλά και η θερμοκρασία (Hawley 1988, Focks *et al.* 1994, Estrada-Franco and Craig 1995).

Σύμφωνα με τον Hawley (1988), παρόλο που η διάπαυση εκδηλώνεται στο στάδιο του ωού, το ευαίσθητο στάδιο είναι εκείνο του τελείου. Όταν τα τέλεια εκτίθενται σε μεγάλης διάρκειας φωτοπερίοδο παράγονται μη-διαπαύοντα ωά, ενώ η έκθεση σε μικρής διάρκειας φωτοπερίοδο έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή διαπαύοντων ωών. Για φυλή του *Ae. albopictus* από τη Σαγκάη της Κίνας, η κρίσιμη διάρκεια ημέρας για την διάπαυση των ωών ήταν 13 με 14 ώρες. Επίσης, μόνο φυλές του *Ae. albopictus* που προέρχονται από περιοχές με εύκρατο κλίμα είναι ευαίσθητες στη φωτοπερίοδο για την παραγωγή διαπαύοντων ωών, ενώ εκείνες που έχουν προέλευση από τροπικές ή υπο-τροπικές περιοχές δεν επηρεάζονται από τη φωτοπερίοδο και ως εκ τούτου δεν παράγουν διαπαύοντα ωά το χειμώνα (Estrada-Franco and Craig 1995). Οι Mori and Oda (1981) έδειξαν ότι στο *Ae. albopictus* τα στάδια τα οποία είναι ευαίσθητα στο ερέθισμα της φωτοπεριόδου για την παραγωγή διαπαύοντων ωών είναι εκείνα της νύμφης και του τελείου. Σύμφωνα με τους Estrada-Franco and Craig (1995), μικρής διάρκειας ημέρες (<13,5 ώρες) διεγείρουν την παραγωγή διαπαύοντων ωών, ενώ η επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών μπορεί να ενισχύσει την φωτοπεριοδική αντίδραση των κουνουπιών. Αντίθετα, μεγάλης διάρκειας ημέρες ευνοούν την αδιάλειπτη ανάπτυξη και δραστηριοποίηση των κουνουπιών χωρίς την παραγωγή διαπαύοντων ωών.

1.2.1.1.2 Οι προνύμφες του *Aedes albopictus*

Μορφολογία της προνύμφης

Σύμφωνα με τους Estrada-Franco and Craig (1995), για την ταυτοποίηση των προνυμφών του *Ae. albopictus* και μάλιστα για τη διάκρισή τους από τις προνύμφες του *Ae. aegypti* είναι απαραίτητη η μικροσκοπική παρατήρηση. Ειδικότερα, σχετικά με τα κύρια μορφολογικά χαρακτηριστικά των προνυμφών του *Ae. albopictus*, σύμφωνα με την κλείδα της Σαμανίδου-Βογιατζόγλου (2011), οι προνύμφες 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* φέρουν απλή σμήριγγα 1-A και η κεραία τους δεν είναι ακανθωτή. Επίσης, το σιφώνιο είναι χωρίς βελονοειδή απόφυση στη βάση και οι σμήριγγες 4 και 6-C είναι τοποθετημένες πρόσθια στην κεφαλή. Τα λέπια κτενιδίου φέρουν μεγάλη μεσαία άκανθα και αδύνατες πλευρικές άκανθες. Οι υποστηρικτικές πλάκες των μεταθωρακικών σμηρίγγων 9–12-T έχουν πολύ μικρή άκανθα. Οι σμήριγγες 4-X είναι όλες απλές (**Εικόνα 3**).



Εικόνα 3. Προνύμφη 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*

Διάρκεια προνυμφικής περιόδου

Το μέγεθος των προνυμφών και η διάρκεια τη προνυμφικής περιόδου εξαρτάται από παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η διαθεσιμότητα τροφής, ο συνωστισμός και το φύλο. Σε εργαστηριακή μελέτη, η διάρκεια της προνυμφικής περιόδου του *Ae. albopictus* ήταν 6, 9 και 13 ημέρες στους 30, 25 και 20°C, αντίστοιχα, ενώ το τέταρτο προνυμφικό στάδιο είχε τη μεγαλύτερη διάρκεια (Estrada-Franco and Craig 1995). Σχετικά με τη διαθεσιμότητα τροφής, η στέρηση τροφής, σε εργαστηριακή μελέτη, αύξησε τη διάρκεια της προνυμφικής περιόδου στις 42 ημέρες με 80% θνησιμότητα (Estrada-Franco and Craig 1995). Από τα ευρήματα διαφόρων μελετών, σε ιδανικές (optimum) συνθήκες τροφής στο εργαστήριο η διάρκεια προνυμφικής περιόδου του *Ae. albopictus* κυμαίνονταν από 7 – 9 ημέρες στους 25°C και 5 – 7 στους 30°C (Hawley 1988). Σε πρόσφατη εργαστηριακή μελέτη των Delatte *et al.* (2009), αναφέρεται ότι η μέση διάρκεια προνυμφικής περιόδου του *Ae. albopictus* ήταν 10,4, 8,8 και 12,3 ημέρες στους 20, 25 και 30°C, αντίστοιχα. Ομοίως, οι Kamimura *et al.* (2002) βρήκαν ότι στο εργαστήριο η διάρκεια της προνυμφικής και νυμφικής περιόδου (L+P) των θηλυκών του *Ae. albopictus* από περιοχές της Ινδονησίας και της Ιαπωνίας, κυμαίνονται από 10,5 έως 11,7 ημέρες και από 7,7 έως 8,4 ημέρες, στους 25 και 30°C, αντίστοιχα.

Σε φυσικές και τεχνητές συνθήκες, η υψηλή πληθυσμιακή πυκνότητα προνυμφών φαίνεται να έχει ως αποτέλεσμα την υψηλή θνησιμότητα και την αύξηση της διάρκειας προνυμφικής περιόδου, ενώ σε σχέση με το *Ae. aegypti* το *Ae. albopictus* αντέχει περισσότερο σε συνθήκες συνωστισμού προνυμφών (Mori and Wada 1978). Τέλος, σε εργαστηριακά πειράματα με προνύμφες του *Ae. albopictus* στην Ινδία, βρέθηκε ότι η διάρκεια της προνυμφικής περιόδου για τα θηλυκά είναι μεγαλύτερη από εκείνη των αρσενικών (Estrada-Franco and Craig 1995).

Ενδαιτήματα των προνυμφών

Το *Ae. albopictus* ωοθετεί τόσο σε φυσικές όσο και σε τεχνητές εστίες νερού. Πρόκειται για ένα είδος κουνουπιού τα κινητά ατελή στάδια του οποίου (προνύμφες + νύμφες) αναπτύσσονται σε μικρές δεξαμενές νερού (μικρές συλλογές νερού) και ως εκ τούτου χαρακτηρίζεται διεθνώς με τον όρο «container breeder». Έτσι, οι προνύμφες του έχουν εντοπιστεί σε φυσικές εστίες όπως κουφάλες δένδρων, κοιλότητες από κομμένα μπαμπού (φυτοτέλματα), κελύφη από καρπούς ινδικής καρύδας, μασχάλες τροπικών φυτών της οικ. Bromeliaceae, νερο-λακκούβες στο έδαφος και σε βράχια-πέτρες κ.α.. Τα τεχνητά ενδαιτήματα των προνυμφών του *Ae. albopictus* περιλαμβάνουν ελαστικά, δοχεία από κονσέρβες, βάζα, πήλινα δοχεία, ανθοδοχεία νεκροταφείων, μπουκάλια, πιατάκια γλαστρών, στέρνες, κουβάδες, βαρέλια κ.α. Στις Η.Π.Α., προνύμφες του *Ae. albopictus* έχουν βρεθεί σε σωρούς μεταχειρισμένων ελαστικών, σε παράνομους σκουπιδότοπους, σε νεκροταφεία και άλλους χώρους που διαθέτουν πληθώρα τέτοιων εστιών, καθώς επίσης και σε λούκια, υδρορροές, ποτίστρες πουλιών, δοχεία νερού για κατοικίδια και διάφορες άλλες πλαστικές ή μεταλλικές δεξαμενές που συγκρατούν νερό της βροχής (Estrada-Franco and Craig 1995) (Εικόνα 4).



Εικόνα 4. Ενδιαιτήματα των προνυμφών του *Ae. albopictus* – μικρές συλλογές νερού (μικρά σιντριβάνια, δοχεία με νερό, ανθοδοχεία νεκροταφείων, νερολακούβες, φρεάτια και ελαστικά)

1.2.1.1.3 Οι νύμφες του *Aedes albopictus*

Σε ιδανικές συνθήκες στο εργαστήριο, το *Ae. albopictus* παραμένει στο στάδιο της νύμφης (**Εικόνα 5**) για περίπου 2 ημέρες και όπως και σε άλλα είδη *Aedes* προηγείται η έξοδος των αρσενικών (πρωτανδρεία). Σε εργαστηριακά πειράματα αξιολόγησης της επίδρασης της θερμοκρασίας του νερού στην νυμφική ανάπτυξη, διαπιστώθηκε ότι η διάρκεια της νυμφικής περιόδου του *Ae. albopictus* ήταν 2, 3 και 5 ημέρες στους 30, 25 και 20°C, αντίστοιχα. Επιπλέον, αναφέρεται ότι οι πούπες του *Ae. albopictus* μπορούν να επιβιώσουν σε συνθήκες ξηρασίας έως και 2 ημέρες στους 26°C και σε σχ. υγρασία 87% (Estrada-Franco and Craig 1995).



Εικόνα 5. Νύμφη του *Ae. albopictus*

1.2.1.1.4 Τα τέλεια του *Aedes albopictus*

Μορφολογία του τελείου

Η προβοσκίδα είναι σκούρου χρώματος και φέρει λέπια. Οι προσακτρίδες έχουν μήκος όσο 1/5 της προβοσκίδας. Τα λέπια του σώματός του είναι μαύρα με λευκές περιοχές στο θώρακα, την κοιλιά και τα πόδια. Στη ραχιαία πλευρά του θώρακα σχηματίζεται, με λευκά λέπια, μια λευκή ταινία χαρακτηριστική του είδους. Η περιοχή του θώρακα κάτω από τα στίγματα φέρει λευκά λέπια, και στα ισχία υπάρχουν επίσης κηλίδες από λευκά λέπια. Οι тарσοί των πρόσθιων και των μεσαίων ποδιών έχουν φαρδιές λευκές λωρίδες στα тарσομερή I και II και των οπισθίων στα тарσομερή I και IV ενώ το V тарσομερές είναι όλο λευκό. Τα λέπια κατά μήκος των νευρώσεων των πτερύγων είναι σκούρα εκτός από μια κηλίδα από λευκά λέπια στη βάση του πλευρικού νεύρου (costa) (Becker *et al.* 2010, Σαββοπούλου-Σουλτάνη *et al.* 2011) (**Εικόνα 6**).



Εικόνα 6. Τέλειο του *Ae. albopictus*

Διάρκεια ζωής του τελείου

Η γνώση της μακροβιότητας των τελείων κουνουπιών και ειδικότερα των θηλυκών συχνά παρέχει σημαντικές επιδημιολογικές πληροφορίες, καθώς η μεγαλύτερη διάρκεια ζωής των θηλυκών κουνουπιών αυξάνει την πιθανότητα μετάδοσης ασθενειών. Η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία αποτελούν παράγοντες που επηρεάζουν την επιβίωση των τελείων κουνουπιών. Σε 8-ετή εργαστηριακή μελέτη παρατήρησης των τελείων του *Ae. albopictus* σε κλωβούς που διατηρούνταν στους $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ και σε σχ. υγρ. $80\pm 5\%$ η μέγιστη διάρκεια ζωής των θηλυκών ήταν 30 – 40 ημέρες (Gao *et al.* 1984). Στη συγκεκριμένη μελέτη βρέθηκε ότι το ανώτατο θερμοκρασιακό όριο επιβίωσης ήταν 40°C και το κατώτατο $- 5^{\circ}\text{C}$. Σε μελέτη του Hylton (1969) βρέθηκε ότι τα θηλυκά του *Ae. albopictus* έζησαν για 84 ημέρες σε θερμοκρασίες 22°C και σχ. υγρ. 80%. Το *Ae. albopictus* ήταν ανεκτικό σε χαμηλές θερμοκρασίες ($15,5^{\circ}\text{C}$) με χαμηλές και υψηλές τιμές υγρασίας, ενώ υψηλές θερμοκρασίες ($32,2^{\circ}\text{C}$) μείωσαν την επιβίωση, ανεξάρτητα από την υγρασία. Φαίνεται ότι η ικανότητα του *Ae. albopictus* να επιβιώνει σε διάφορες τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας έχει ως αποτέλεσμα την εξάπλωση σε ποικιλία κλιματικών συνθηκών από εύκρατες μέχρι και τροπικές (Estrada-Franco and Craig 1995).

Η μακροβιότητα των τελείων του *Ae. albopictus* επηρεάζεται επίσης από τη διατροφή τους. Σε εργαστηριακά πειράματα διαπιστώθηκε ότι θηλυκά του *Ae. albopictus* που διατηρούνταν στους 26°C και σχ. υγρ. 50-60%, και τρέφονταν από αίμα, έζησαν από 38 έως 112 ημέρες. Αντίθετα, κουνούπια του *Ae. albopictus* που τράφηκαν μόνο με νερό και διατηρήθηκαν σε θερμοκρασίες $25-26^{\circ}\text{C}$ και σχ. υγρ. 60-70% άρχισαν να πεθαίνουν μετά από 2 ημέρες ενώ η πλειονότητα αυτών δεν έζησε για περισσότερο από 5 ημέρες (Estrada-Franco and Craig 1995).

Βασιζόμενος στα αποτελέσματα διαφόρων εργαστηριακών πειραμάτων που διεξήχθησαν σε θερμοκρασίες γύρω στους 25°C και ελάχιστη σχ. υγρ. 30%, ο Hawley (1988) αναφέρει συνοπτικά για τα τέλεια του *Ae. albopictus* ότι τα θηλυκά ζουν περισσότερο από τα αρσενικά, για 4 με 8 εβδομάδες στο εργαστήριο αλλά μπορεί να επιβιώσουν έως και 3 με 6 μήνες.

Αιμοληψία και γονοτροφικός κύκλος

Ο ρυθμός της ωοτοκίας, όπως και άλλες φυσιολογικές διαδικασίες στα έντομα, εξαρτάται κυρίως από περιβαλλοντικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία. Αν και είναι γενικά αποδεκτό ότι τα θηλυκά του *Ae. albopictus* αρχίζουν να τρέφονται με αίμα 2 ημέρες μετά την έξοδό τους, ορισμένοι ερευνητές παρατήρησαν ότι η πρώτη αιμοληψία μπορεί να γίνει και την πρώτη ημέρα μετά την έξοδό τους. Άλλοι ερευνητές παρατήρησαν ότι τα

θηλυκά του *Ae. albopictus* πραγματοποιούν αιμοληψίες πολλές φορές κατά τη διάρκεια ενός γονοτροφικού κύκλου, 2 με 3 ημέρες μετά το πρώτο γεύμα αίματος. Γονοτροφικός κύκλος είναι το χρονικό διάστημα μεταξύ δύο ωοτοκιών. Οι πολλαπλές αιμοληψίες κατά τη διάρκεια ενός γονοτροφικού κύκλου είναι σημαντικές για την επιδημιολογία των ασθενειών, καθώς συνεπάγονται την αυξημένη ικανότητα του *Ae. albopictus* να συλλέξει και να μεταδώσει διάφορα παθογόνα σε μεγαλύτερο αριθμό ξενιστών (π.χ. ανθρώπων). Γενικότερα, εργαστηριακές μελέτες αλλά και πειράματα αγρού έχουν δείξει ότι η μέση διάρκεια του πρώτου και δεύτερου γονοτροφικού κύκλου του *Ae. albopictus* είναι 5 ημέρες (Estrada-Franco and Craig 1995). Η μέση ποσότητα του αίματος από μία αιμοληψία των θηλυκών του *Ae. albopictus* από τη Μαλαισία με μέσο βάρος 4,3 mg, υπολογίστηκε κατά μέσο όρο στα 2,6 mg αίματος. Ωστόσο, σε βιετναμέζικη φυλή με μικρότερα τέλεια του *Ae. albopictus* (1,95 mg) η ποσότητα του γεύματος αίματος κυμαίνονταν από 0,2 έως 2,5 mg (Hawley 1988).

Αναπαραγωγική ικανότητα

Ο αριθμός των ωών που θα ωοτοκήσει το θηλυκό του *Ae. albopictus* εξαρτάται από την ηλικία, το σωματικό βάρος μετά την έξοδο από το πουπάριο και κυρίως από την ποσότητα του γεύματος αίματος που έχει λάβει. Στο εργαστήριο ένα θηλυκό μπορεί να γεννήσει έως και 950 ωά κατά τη διάρκεια της ζωής του, ενώ η μέση αναπαραγωγική ικανότητα κυμαίνεται στα 300 με 345 ωά ανά θηλυκό. Στον πρώτο γονοτροφικό κύκλο μετά από ένα γεύμα αίματος, αναφέρεται ότι μπορεί να γεννηθούν από 42 έως και 88 ωά. Γενικότερα, στον πρώτο γονοτροφικό κύκλο τα θηλυκά του *Ae. albopictus* γεννούν το μεγαλύτερο αριθμό ωών (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995).

Επίσης, σε εργαστηριακές εκτροφές του *Ae. albopictus* έχει παρατηρηθεί και αυτόγωνα δραστηριότητα (ωρίμανση των ωών χωρίς την εξωγενή πηγή πρωτεΐνης από το γεύμα αίματος). Η αυτόγωνα ιδιότητα, που παρατηρείται σε μικρά όμως ποσοστά για τα θηλυκά του *Ae. albopictus* (5% του πληθυσμού των θηλυκών), έχει μεγάλη οικολογική σημασία καθώς εξασφαλίζει την διαίωσιση ενός είδους ακόμη και στην απουσία ξενιστών (Estrada-Franco and Craig 1995).

Θέσεις ωοτοκίας

Σε εργαστηριακά πειράματα, διαπιστώθηκε ότι τα θηλυκά του *Ae. albopictus* προτιμούν να ωοθετούν πάνω από την επιφάνεια του νερού σε σκούρα και τραχιά υποστρώματα με κάθετο προσανατολισμό. Το σκούρο νερό από φυτικά υπολείμματα και εκχυλίσματα γρασιδιού, που φέρει προνύμφες και ωά του *Ae. albopictus* είναι πιο

ελκυστικό για ωοτοκία από τα θηλυκά σε σχέση με το καθαρό νερό. Τα θηλυκά ωοτοκούν σε νερό με pH από 3 έως 10. Ερευνητές, διαπίστωσαν ότι τα θηλυκά του *Ae. albopictus* φυλής των Φιλιππίνων ωοτοκούν διπλάσιο αριθμό ωών κατά τη διάρκεια της φωτόφασης 12ωρης διάρκειας σε σχέση με την σκοτόφαση. Επίσης, σε μελέτη αγρού στη Μαλαισία βρέθηκε ότι το κόκκινο ή μαύρο χρώμα σε γυάλινες παγίδες ωοθεσίας ήταν πιο ελκυστικό από το κίτρινο, το πράσινο ή το μπλε, ενώ ελάχιστα ωά γεννήθηκαν σε λευκές παγίδες ωοθεσίας. Επίσης, τα θηλυκά του *Ae. albopictus* γεννούν περισσότερα ωά σε παγίδες ωοθεσίας σε εσωτερικούς χώρους από ότι σε εξωτερικούς, ενώ προτιμούν να ωοθετούν σε συλλογές νερού που βρίσκονται κοντά στην επιφάνεια του εδάφους. Αναφέρεται επίσης ότι ένα 10% των ωών εναποτίθεται στην επιφάνεια του νερού (Hawley 1988).

Στη φύση, σπάνια τα θηλυκά του *Ae. albopictus* γεννούν όλα τα ωά τους σε μία μόνο εστία, αλλά συνήθως μετακινούνται μεταξύ διαφορετικών εστιών εναποθέτοντας τα σε κάθε μία λίγα κάθε φορά ωά. Ο μηχανισμός αυτός αναπτύχθηκε ως μία στρατηγική επιβίωσης του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού (Estrada-Franco and Craig 1995).

Ξενιστές

Τα θηλυκά του *Ae. albopictus* τρέφονται από μια ευρεία ποικιλία θηλαστικών και πτηνών. Μελέτες άγριων πληθυσμών του *Ae. albopictus* στο Νέο Κόσμο (Αμερική, Ωκεανία) για την προτίμηση ξενιστών, έδειξαν ότι το συγκεκριμένο είδος κουνουπιού προτιμάει τα θηλαστικά από άλλους τύπους ξενιστών (Estrada-Franco and Craig 1995). Οι Becker *et al.* (2010) αναφέρουν ότι τα θηλυκά του *Ae. albopictus* τρέφονται κυρίως από ανθρώπους (ανθρωπόφιλο είδος), αλλά μπορεί να τραφούν και από άλλα θηλαστικά όπως κουνέλια, σκυλιά, αγελάδες και σκίουρους ή περιστασιακά από πτηνά όπως είδη Passeriformes (στρουθιόμορφα) και Columbiformes (περιστερόμορφα). Αυτός ο τρόπος διατροφής δείχνει ότι μπορεί να μεταφέρει μια ποικιλία αρμοϊών από θηλαστικά και πτηνά στον άνθρωπο.

Συνήθειες νύξης (τσιμπήματος)

Τα θηλυκά του *Ae. albopictus* πραγματοποιούν το πρώτο γεύμα αίματος, κατά μέσο όρο, 2 ημέρες μετά την έξοδό τους. Τα θηλυκά είναι επιθετικά και τσιμπούν κατά τη διάρκεια της ημέρας (daytime biters), κυρίως σε δύο κύκλους: το πρωί (06:00 με 10:00) και το απόγευμα (16:00 με 22:00), αν και ορισμένες φορές μπορεί να αναζητήσουν τους ξενιστές τους και τη νύκτα. Μάλιστα, σε πολλές μελέτες διαπιστώνεται ότι το μέγιστο της δραστηριότητας παρατηρείται νωρίς το πρωί (06:00 με 08:00) και αργά το απόγευμα

(16:00 με 18:00). Επίσης, το *Ae. albopictus* θεωρείται ένα τυπικά εξωδίοιτο είδος κουνουπιού, καθώς προτιμάει να τσιμπάει τους ξενιστές σε εξωτερικούς χώρους, αλλά έχουν αναφερθεί και τσιμπήματα σε ανθρώπους σε εσωτερικούς χώρους (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995).

Το *Ae. albopictus* προτιμάει να νύσσει κυρίως κοντά στο έδαφος, αν και έχουν αναφερθεί τσιμπήματα τις ώρες έντονης δραστηριότητας του συγκεκριμένου είδους σε ύψος ακόμη και 9 μέτρων. Έτσι, στους ανθρώπους προτιμά να νύσσει επιθετικά τα εκτεθειμένα μέρη του δέρματος γύρω από τους αστραγάλους και τα γόνατα. Η προσέλκυσή του από τους ανθρώπους εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως το φύλο, η ηλικία, η φυλή, ο ρουχισμός καθώς επίσης και από το μικροκλίμα του περιβάλλοντος και άλλους απροσδιόριστους παράγοντες που σχετίζονται με το κάθε άτομο-ξενιστή ξεχωριστά. Έτσι, τα θηλυκά επιτίθενται στους ανθρώπους με δριμύτητα καθώς προσελκύνονται από το διοξείδιο του άνθρακα, την υγρασία, οργανικές χημικές ουσίες και οπτικά σήματα όπως είναι η κίνηση. Σε σχετική μελέτη βρέθηκε ότι τα θηλυκά του *Ae. albopictus* προσελκύνονται από τους ανθρώπους σε μια ακτίνα 4-5 μέτρων (50-80 m²) (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995).

Σε εργαστηριακά πειράματα αναφέρεται ότι τα περισσότερα θηλυκά του *Ae. albopictus* ολοκληρώνουν τη διατροφή τους από ινδικά χοιρίδια σε 1-2 λεπτά, ενώ θηλυκά Ινδονησιακής φυλής χρειάστηκαν κατά μέσο όρο 3,6 λεπτά για να ολοκληρώσουν το γεύμα αίματος από ανθρώπινο χέρι (Hawley 1988) (**Εικόνα 7**).



Εικόνα 7. Στιγμιότυπο αιμοληψίας του *Ae. albopictus*

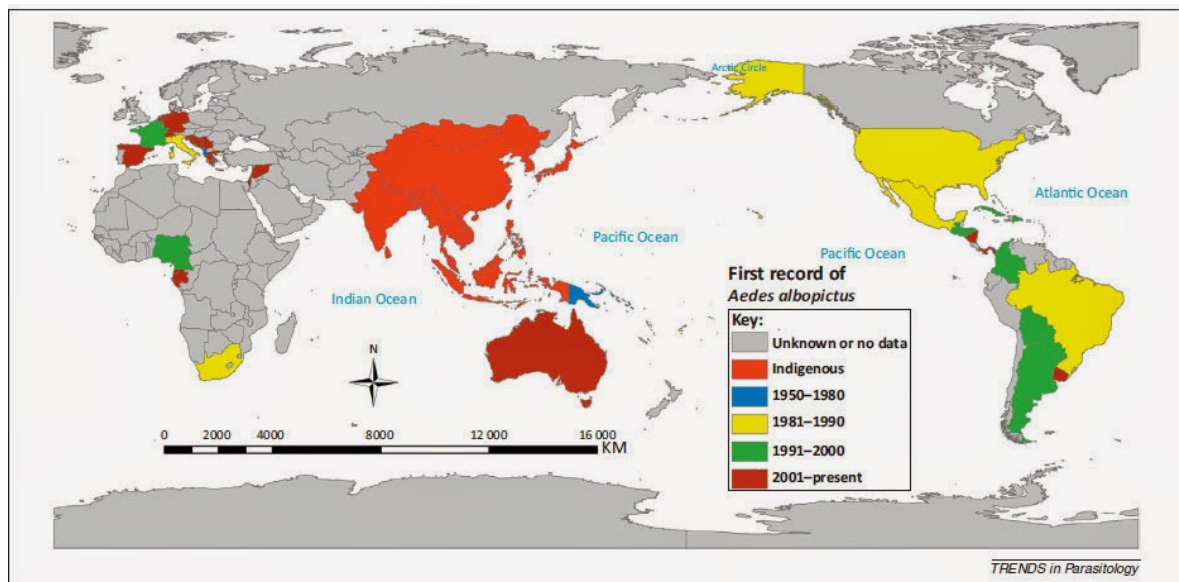
Ακτίνα πτήσης

Οι Estrada-Franco and Craig (1995) αναφέρουν ότι από διάφορες μελέτες στο ύπαιθρο με σήμανση των τελείων κουνουπιών, απελευθέρωση και επανασυλλογή τους

(mark-release-recapture), διαπιστώθηκε ότι το *Ae. albopictus* έχει μικρή ακτίνα πτήσης, η οποία σπάνια φτάνει τα 500 μέτρα από την εστία νερού. Μάλιστα, σε σχετική μελέτη η μέγιστη απόσταση για τα θηλυκά υπολογίστηκε στα 525 μέτρα ενώ για τα αρσενικά στα 225 μέτρα. Στην ίδια μελέτη αναφέρεται ότι η διασπορά για το 90% των τελείων του *Ae. albopictus* ήταν μικρότερη από 100 μέτρα.

1.2.1.2 Εξάπλωση του *Ae. albopictus* στον κόσμο και τρόποι διασποράς

Το *Ae. albopictus* θεωρείται ως το περισσότερο χωροκατακτητικό είδος κουνουπιού (invasive mosquito species) παγκοσμίως (Enserink 2008). Κατατάσσεται μάλιστα στη λίστα των 100 σημαντικότερων εισβαλώντων ειδών του ζωικού, φυτικού και άλλων βασιλείων, βάσει των διαταραχών που προκαλούνται στη βιοποικιλότητα των νέων περιοχών εισβολής αλλά και των επιπτώσεων που προκαλούνται στην υγεία του ανθρώπου (I.S.S.G. 2011). Από τη Νοτιανατολική Ασία όπου και ενδημούσε στο παρελθόν, τα τελευταία 30-40 χρόνια έχει εξαπλωθεί στη Βόρεια, Κεντρική και Νότια Αμερική, σε περιοχές της Αφρικής, στη Βόρεια Αυστραλία και σε διάφορες χώρες της Ευρώπης (Benedict *et al.* 2007, Enserink 2008) (Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Παγκόσμια διασπορά του *Ae. albopictus* (πηγή: Bonizzoni *et al.* (2013))

Στο παρελθόν, η διασπορά του *Ae. albopictus* περιοριζόταν κυρίως στην Νοτιανατολική Ασία (Oriental Region) και την Ωκεανία, από όπου προέρχεται και το κοινό του όνομα «Ασιατικό Κουνούπι Τίγρης» (“Asian Tiger Mosquito”) (Becker *et al.* 2010). Ειδικότερα, είχε καταγραφεί ως ενδημικό είδος 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 (Hawley 1988).

Το 1985 εντοπίστηκε για πρώτη φορά στο Δυτικό Ημισφαίριο, στο Χιούστον του Τέξας των Η.Π.Α. και ήταν η αρχή της ταχείας διασποράς του σε πολλές χώρες του κόσμου (Sprenger and Wuithiranyagool 1986, Mitchell 1995, Becker *et al.* 2010). Το *Ae. albopictus* εντοπίζεται τώρα σε περισσότερες από 25 πολιτείες των Η.Π.Α. (Becker *et al.* 2010) ενώ έχει εντοπιστεί και σε αρκετές χώρες της Νότιας Αμερικής όπως τη Βραζιλία (1986), τα νησιά της Καραϊβικής (Δομινικανή Δημοκρατία, 1993), το Μεξικό (1993), τη Γουατεμάλα (1995), την Κούβα (1995), τη Βολιβία (1995), το Ελ Σαλβαδόρ (1997), την Κολομβία (1997), τους νήσους Cayman (1997) και την Αργεντινή (1998) (Enserink 2008).

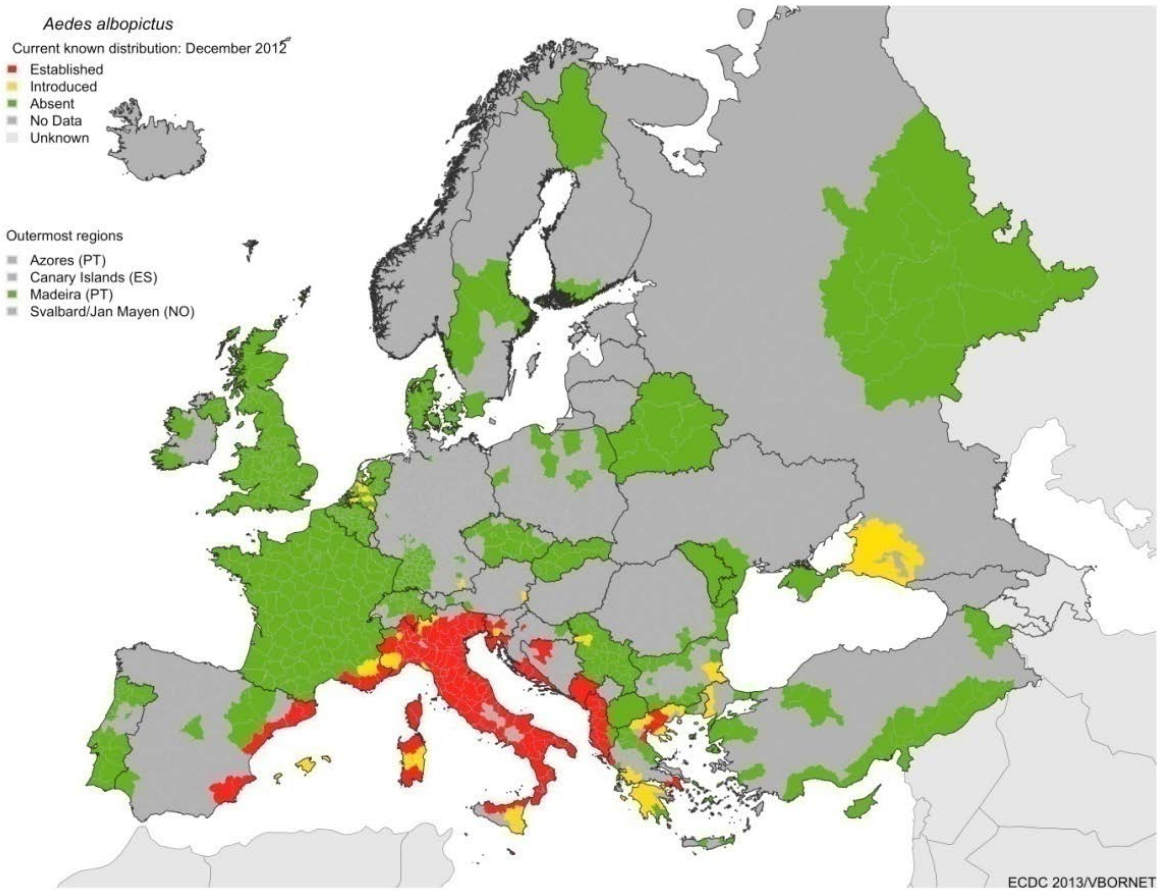
Η ικανότητα του *Ae. albopictus* να καλύπτει με πτήση μεγάλες αποστάσεις είναι περιορισμένη γι' αυτό και ο κυριότερος τρόπος διασποράς του είναι συνήθως η παθητική μεταφορά. Το εμπόριο των μεταχειρισμένων ελαστικών θεωρείται ως ο κύριος τρόπος διασποράς του είδους στην Αμερικανική ήπειρο (Craven *et al.* 1988, Hawley 1988). Τα μεταχειρισμένα ελαστικά έχει αποδειχθεί ότι αποτελούν μία από τις κυριότερες εστίες απόθεσης ωών του είδους αυτού. Στη συνέχεια, το εμπόριο των ελαστικών αυτών είχε ως συνέπεια τη μεταφορά των ωών, τα οποία είναι αρκετά ανθεκτικά στην αφυδάτωση, σε νέους τόπους ακόμη και ηπείρους (Reiter and Sprenger 1987, Reiter 1988). Στο σημείο αυτό αξίζει να αναφερθεί ότι μόνο η Ιαπωνία εξήγαγε κατά την περίοδο 1988-1995 πάνω από 49.000.000 μεταχειρισμένα ελαστικά σε 137 χώρες του κόσμου (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008) .

Παράλληλα με την Αμερική το *Ae. albopictus* έκανε την εμφάνισή του και στην Αφρικανική Ήπειρο όπου η παρουσία του έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές χώρες. Επίσης έχει βρεθεί σε λιμάνια της Νέας Ζηλανδίας και της Βόρειας Αυστραλίας αν και μέχρι στιγμής φαίνεται ότι δεν έχει εγκατασταθεί στις χώρες αυτές (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008, Becker *et al.* 2010).

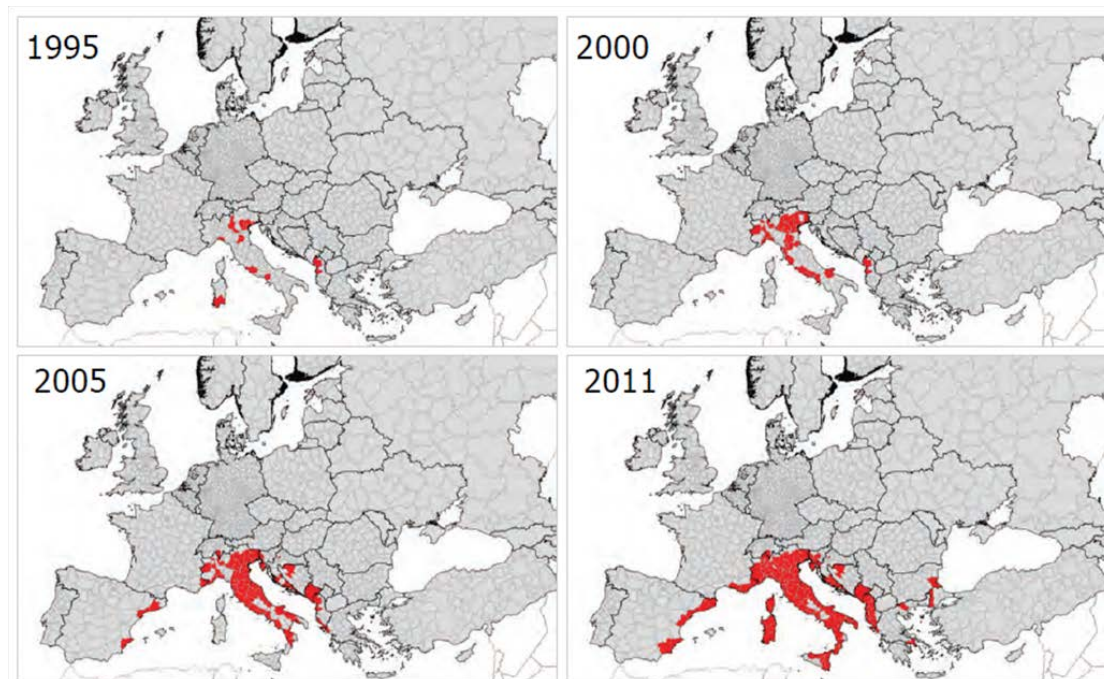
Στην Ευρώπη εντοπίστηκε πρώτα στις ακτές της Βόρειας Αλβανίας, στην περιοχή της πόλης Lac, το 1979 σε μεγάλους σωρούς από μεταχειρισμένα ελαστικά (Adhami and Murati 1987) ενώ μετέπειτα έρευνες έδειξαν ότι το είδος είχε εγκατασταθεί επίσης με επιτυχία σε πολλές ακόμη περιοχές της χώρας αυτής (Adhami and Reiter 1998). Η παρουσία μάλιστα του είδους αυτού στην Αλβανία, σύμφωνα με μαρτυρίες πολιτών 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) πιθανότατα μέσω του διεθνούς εμπορίου μεταχειρισμένων ελαστικών (Becker *et al.* 2010), μετά στην Πάδοβα το 1991 (DallaPozza and Majori 1992) και έπειτα ακολούθησε μία ραγδαία εξάπλωσή του σε πολλές περιοχές της Κεντρικής και Βόρειας Ιταλίας (Romi 1995).

Από το 1999 το *Ae. albopictus* έχει εντοπιστεί σε πολλές χώρες της Κεντρικής και Νότιας Ευρώπης όπως στη Γαλλία το 1999 (Schaffner *et al.* 2001), στο Βέλγιο το 2000 (Schaffner *et al.* 2004), στο Μαυροβούνιο το 2001 (Petrić *et al.* 2001), στην Ελβετία το 2003 (Flacio *et al.* 2004), στην Ελλάδα το 2003-2004 (Samanidou-Voyadjoglou *et al.* 2005), στην Κροατία το 2004 (Klobucar *et al.* 2006), στην Ισπανία το 2004 (Aranda *et al.* 2006), στην Βοσνία-Ερζεγοβίνη και Σλοβενία το 2005 (Petric *et al.* 2006), στην Ολλανδία το 2005 (Scholte *et al.* 2008) και στη Γερμανία το 2007 (Pluskota *et al.* 2008). Σε χώρες όπως η Ιταλία, η Γαλλία, η Ισπανία, η Κροατία, το Μαυροβούνιο και η Σλοβενία το *Ae. albopictus* έχει αναπτύξει ομοιογενείς πληθυσμούς και θεωρείται ότι εξαπλώνεται, ενώ στο Βέλγιο, τη Γερμανία και την Ολλανδία έχει εντοπιστεί αλλά απέτυχε να εγκατασταθεί (E.C.D.C. 2009). Η Ιταλία, ωστόσο, θεωρείται μακράν η περισσότερο προσβεβλημένη ευρωπαϊκή χώρα από το *Ae. albopictus* (E.C.D.C. 2009). Επίσης, οι Medlock *et al.* (2012) αναφέρουν ότι πρόσφατα έχει εντοπιστεί στη Βουλγαρία και την Τουρκία (**Εικόνα 9** και **Εικόνα 10**).



Εικόνα 9. Διασπορά του *Ae. albopictus* στην Ευρώπη το 2013 (πηγή: ECDC-VBORNET)

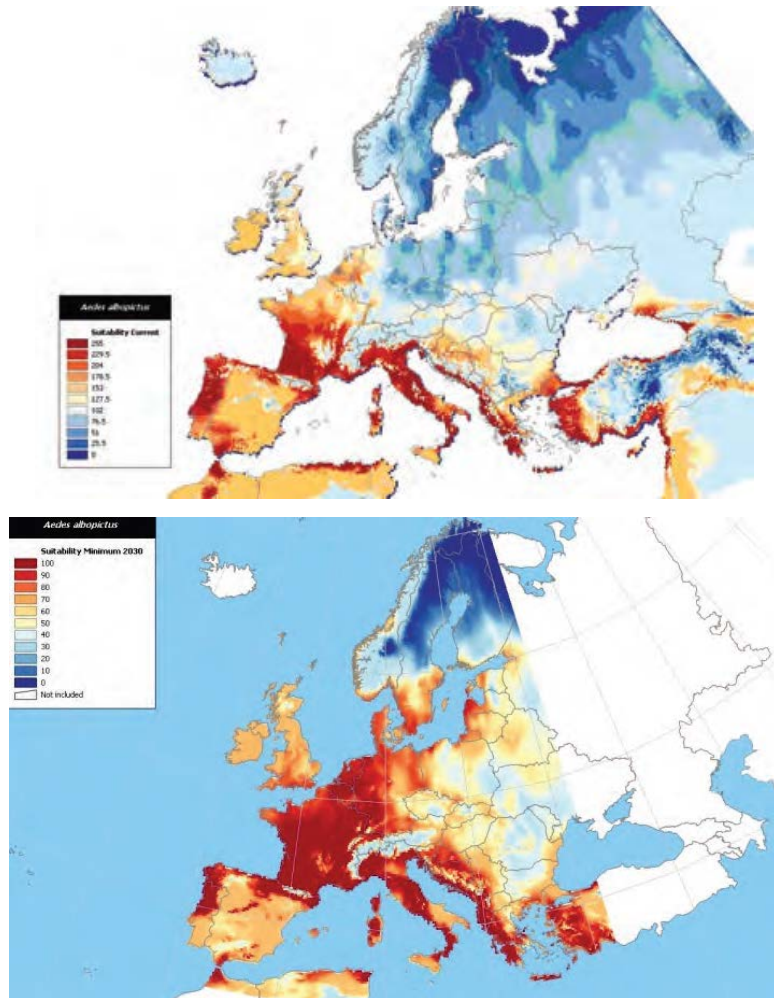


Εικόνα 10. Εξάπλωση του *Ae. albopictus* στην Ευρώπη από το 1995 έως το 2011.
 (Κόκκινο= παρουσία του είδους, γκρι= απουσία του είδους ή μη διαθέσιμα στοιχεία)
 (Πηγή: E.C.D.C. (2012))

Ένας ακόμη τρόπος εξάπλωσης των ωών και των προνυμφών του *Ae. albopictus* είναι μέσω του διεθνούς εμπορίου των τροπικών καλλωπιστικών φυτών του γένους *Dracaena* sp., γνωστά με την κοινή ονομασία (“lucky bamboo”). Τα συγκεκριμένα φυτά συσκευάζονται σε δοχεία με νερά για τη μεταφορά τους και έχουν αποτελέσει μέσο μεταφοράς του *Ae. albopictus* (των ωών και προνυμφών) από την Ασία στην Καλιφόρνια των Η.Π.Α. (Madon *et al.* 2004). Στην Ολλανδία το *Ae. albopictus* εντοπίστηκε σε φυτώρια και θερμοκήπια που γινόταν εισαγωγή του τροπικού καλλωπιστικού φυτού *Dracaena sanderiana* από περιοχές της Νότιας Κίνας ενδημικές του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού (Scholte *et al.* 2008).

Επίσης, τα τέλεια αλλά και τα ατελή στάδια του *Ae. albopictus* μπορεί να μεταφερθούν με οχήματα μέσω οδικών αρτηριών (Medlock *et al.* 2012).

Λαμβάνοντας υπόψη τους παθητικούς τρόπους εξάπλωσης του *Ae. albopictus*, κυρίως με την μεταφορά των ωών με το εμπόριο των μεταχειρισμένων ελαστικών, των καλλωπιστικών φυτών και άλλων προϊόντων εμπορίου, σε συνδυασμό με τους χάρτες επικινδυνότητας (risk maps) της εισβολής του σε νέες περιοχές και τις εκτιμήσεις των κλιματικών αλλαγών από το E.C.D.C. (Benedict *et al.* 2007, E.C.D.C. 2009), εκτιμάται ότι είναι πιθανή η περαιτέρω εξάπλωση του συγκεκριμένου κουνουπιού και σε άλλες περιοχές της Ευρώπης (Medlock *et al.* 2012) (**Εικόνα 11**). Η ραγδαία αποίκιση νέων ενδιαιτημάτων και γεωγραφικών περιοχών στο Βόρειο Ημισφαίριο, μακριά από τις περιοχές προέλευσής του *Ae. albopictus*, οφείλεται τόσο στην ευρεία γενετική και φυσιολογική παραλλακτικότητα όσο και στην ικανότητα της οικολογικής προσαρμογής του συγκεκριμένου είδους σε διαφορετικές κλιματικές συνθήκες κυρίως μέσω της παραγωγής διαπαυόντων ωών-ανθεκτικών στο ψύχος από φυλές που ενδημούν σε εύκρατες περιοχές (Hawley 1988, Medlock *et al.* 2012).



Εικόνα 11. Χάρτης καταλληλότητας μιας περιοχής στην Ευρώπη για την παρουσία του *Ae. albopictus* βάσει των επικρατούσων κλιματικών συνθηκών (επάνω) και μακροπρόθεσμος χάρτης πρόγνωσης της παρουσίας του *Ae. albopictus* το 2030 βάσει σεναρίων κλιματικών αλλαγών (κάτω).

Κλιματικοί παράγοντες πρόγνωσης: ετήσια βροχόπτωση, θερινή θερμοκρασία και θερμοκρασία του Ιανουαρίου. Τα χρώματα δείχνουν τα επίπεδα καταλληλότητας για την παρουσία του *Ae. albopictus* μιας περιοχής, από τη λιγότερο κατάλληλη (σκούρο μπλε) έως την πλέον κατάλληλη (σκούρο κόκκινο).

(Πηγή: E.C.D.C. (2012))

1.2.1.3 Εμφάνιση και διασπορά του *Ae. albopictus* στην Ελλάδα

Η γεωγραφική θέση και οι κλιματικές συνθήκες της Ελλάδας έχουν θεωρηθεί από αρκετούς ερευνητές στο παρελθόν ευνοϊκές για την εισβολή του *Ae. albopictus* (Mitchell 1995, Knudsen *et al.* 1996, Bellini 2001). Έτσι, στη χώρα μας εντοπίστηκε για πρώτη φορά στην Κέρκυρα και την Ηγουμενίτσα μετά από δειγματοληψίες κουνουπιών που διεξάγονταν σε περιοχές των νομών Κερκύρας και Θεσπρωτίας τα έτη 2003 και 2004 (Samanidou-Voyadjoglou *et al.* 2005). Εικάζεται λοιπόν ότι η είσοδος του *Ae. albopictus*

στην Ελλάδα μπορεί να πραγματοποιήθηκε από τα λιμάνια της Κέρκυρας και της Ηγουμενίτσας λόγω της θαλάσσιας επικοινωνίας τους με λιμάνια της Ιταλίας αλλά και της πόλης Χειμάρρα της Αλβανίας όπου το συγκεκριμένο είδος κουνουπιού ήταν ήδη εγκατεστημένο (Velo and Bino 2002, Samanidou-Voyadjoglou *et al.* 2005, E.C.D.C. 2009). Το 2007 το *Ae. albopictus* εντοπίστηκε με παγίδες ωοθεσίας σε σταθμό φορτηγών κοντά στο τελωνείο του Προμαχώνα Σερρών (Voutsina and Karagiannidis 2007). Οι δειγματοληψίες κουνουπιών στα πλαίσια των προγραμμάτων καταπολέμησης κουνουπιών που εφαρμόζονταν σε περιοχές της Βόρειας και Δυτικής Ελλάδας σε συνδυασμό με τα περιορισμένα δεδομένα της παρουσίας ειδών κουνουπιών από την υπόλοιπη χώρα, έδειχναν ότι η δραστηριότητα του *Ae. albopictus* περιοριζόταν σε εκείνες μόνο της περιοχές της χώρας (E.C.D.C. 2009).

Ωστόσο, το Σεπτέμβριο του 2008, τέλεια άτομα του *Ae. albopictus* εντοπίστηκαν στην περιοχή Ριζούπολη της Αθήνας, κοντά στο Β' Νεκροταφείο Αθηνών και στο ρέμα του Ποδονύφτη. Τα κουνούπια προσκομίστηκαν στο Εργαστήριο Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων (πρώην Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας) του Μ.Φ.Ι. από πολίτη (σπουδαστή που πραγματοποιούσε την πρακτική και διπλωματική του στο Μ.Φ.Ι.) ο οποίος συνέλεξε τέλεια άτομα από την αυλή του σπιτιού του και ανέφερε ότι τα συγκεκριμένα κουνούπια δραστηριοποιούνταν στην συγκεκριμένη περιοχή τα τελευταία 2-3 χρόνια προκαλώντας μεγάλη όχληση στους κατοίκους (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008, Giatropoulos *et al.* 2012b). Η ταυτοποίηση των τελείων του *Ae. albopictus* πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια κατάλληλων διχοτομικών κλειδών (Darsie and Samanidou-Voyadjoglou 1997, Samanidou-Voyadjoglou and Harbach 2001) από τους Δρα Γιώργο Κολιόπουλο και καθ. Νικόλαο Εμμανουήλ. Επιπρόσθετα, η ταυτοποίηση του είδους των κουνουπιών επιβεβαιώθηκε με μοριακές τεχνικές από την Δρα Μαρία Μπουγά και την Υπ. Δρα Βάσω Ευαγγέλου στο εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γ.Π.Α. (Giatropoulos *et al.* 2012b).

Την περίοδο εκείνη του 2008 αναφέρεται επίσης ο εντοπισμός προνυμφών και τελείων του *Ae. albopictus* στον Αστακό Αιτωλοακαρνανίας αλλά και τελείων στο Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, στην περιοχή του Βοτανικού της Αθήνας (Κολιόπουλος *et al.* 2008). Τα συγκεκριμένα δείγματα του *Ae. albopictus* συλλέχθηκαν και ταυτοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γ.Π.Α. από την Υπ. Δρα Ιωάννα Λύτρα, υπό την επίβλεψη του καθ. Νικόλαου Εμμανουήλ.

Τα επόμενα 3 έτη (2009-2011) πολυάριθμα δείγματα κουνουπιών από την Αττική και την Ελλάδα γενικότερα εστάλησαν στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο προς αναγνώριση και παροχή σχετικών πληροφοριών, ως αποτέλεσμα της όχλησης των

κατοίκων ορισμένων περιοχών καθώς και της ανησυχίας που προκλήθηκε από την παρουσία και υγειονομική σημασία του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού. Από την εργαστηριακή εξέταση των δειγμάτων προέκυψε ότι το *Ae. albopictus* δραστηριοποιούνταν τη συγκεκριμένη τριετία σε αρκετούς Νομούς της χώρας όπως: Αττικής, Κορίνθου, Αρκαδίας, Αχαΐας, Ηλείας, Μεσσηνίας, Ζακύνθου, και Θεσσαλονίκης καθώς επίσης και σε αρκετούς Δήμους της Αττικής όπως: Αθηνών, Αλίμου, Χαλανδρίου, Αγίου Δημητρίου, Παλαιού Φαλήρου, Νέας Φιλαδέλφειας, Γαλατσίου, Γλυφάδας, Νέου Ηρακλείου, Ηλιούπολης, Ιλίου, Νέας Ιωνίας, Καλλιθέας, Καλυβίων, Κερατσινίου, Κηφισιάς, Κορωπίου, Μάνδρας Αττικής, Πετρούπολης, Πειραιά, Παλαιού Ψυχικού, Νέας Σμύρνης, Βάρης και Βριλησίων. Επιπλέον, επιβεβαιώθηκε η παρουσία και του συγγενούς είδους κουνουπιού *Aedes (Stegomyia) cretinus* (Giatropoulos *et al.* 2012c).

1.2.1.4 Υγειονομική σημασία του *Ae. albopictus*

Από υγειονομική άποψη το *Ae. albopictus* έχει πολύ μεγάλη σημασία καθώς μπορεί να μεταδώσει πολυάριθμες σοβαρές για τον άνθρωπο ασθένειες με σημαντικότερη τον ιό του Δάγκειου πυρετού που αποτελεί την σημαντικότερη ιογενή λοίμωξη του ανθρώπου που μεταδίδεται με αρθρόποδα (αρμποϊός) (arbovirus-arthropod borne disease). Έχει αποδειχθεί ότι είναι ικανός φορέας για τη μετάδοση τουλάχιστον 22 αρμποϊών στο εργαστήριο καθώς επίσης και νηματώδων σκωλήκων του γένους *Dirofilaria* που προκαλούν ασθένειες κυρίως στα σκυλιά αλλά και στους ανθρώπους γνωστές ως διροφιλαριώσεις (Shroyer 1986, Gratz 2004, Becker *et al.* 2010). Μεταξύ των εισβαλόντων ειδών κουνουπιών που εντοπίζονται στην Ευρώπη, το *Ae. albopictus*, αποτελεί πιθανότατα την κυριότερη απειλή για τη δημόσια υγεία στην γηραιά ήπειρο, σύμφωνα με τους Medlock *et al.* (2012).

Όπως φαίνεται και από τον **Πίνακα 1** που ακολουθεί, τα σημαντικότερα παθογόνα τα οποία μεταδίδονται με το *Ae. albopictus*, καθώς έχει αποδειχθεί ότι είναι ικανός φορέας τους στο πεδίο και εμπλέκεται στη μετάδοσή τους στη φύση, είναι ο ιός του Δάγκειου πυρετού, ο ιός Chikungunya καθώς και οι νηματώδεις του γένους *Dirofilaria* που προκαλούν τις διροφιλαριώσεις. Περισσότερα στοιχεία για τις συγκεκριμένες ασθένειες παρατίθενται παρακάτω.

Πίνακας 1. Συνοπτική παρουσίαση της ικανότητας μετάδοσης ασθενειών (vector status) των εξωτικών ειδών κουνουπιών του γένους *Aedes* που έχουν εντοπιστεί ή και εγκατασταθεί στην Ευρώπη (από Medlock *et al.* (2012)).

Παθογόνο			<i>Ae. aegypti</i>	<i>Ae. albopictus</i>	<i>Ae. atropalpus</i>	<i>Ae. japonicus</i>	<i>Ae. koreicus</i>	<i>Ae. triseriatus</i>
Ιοί	<i>Alphavirus</i>	Chikungunya	■					
		Eastern Equine encephalitis		■		■		■
		La Crosse		■	■	■		■
		Venezuelan Equine encephalitis		■				■
		Western equine encephalitis						■
	<i>Flavivirus</i>	Dengue	■	■				■
		Japanese encephalitis		■		■	■	
		St Louis encephalitis				■		■
		West Nile		■	■	■		■
		Yellow fever	■					■
	<i>Bunyavirus</i>	Jamestown Canyon						■
Νηματώδεις	<i>Dirofilaria</i>	<i>D. immitis</i> & <i>D. repens</i>		■			■	

- Είναι αποδεδειγμένα φορέας στο πεδίο
- Έχουν βρεθεί μολυσμένα κουνούπια στο πεδίο και είναι ικανός φορέας στο εργαστήριο, χωρίς όμως να έχει αποδειχθεί ότι είναι φορέας στο πεδίο
- Μόνο εργαστηριακές μελέτες έχουν δείξει ότι είναι ικανός φορέας και την πιθανή συμμετοχή στη μετάδοση του παθογόνου
- Δεν είναι φορέας ή δεν είναι γνωστό αν είναι

Ανεξάρτητα από την ικανότητα μετάδοσης ασθενειών, η υγειονομική σημασία του *Ae. albopictus* έγκειται και στην έντονη όχληση που προκαλεί με τα τσιμπήματά του κυρίως σε αστικές περιοχές όπου καθίσταται δύσκολη η αντιμετώπιση λόγω των πολυάριθμων εστιών ανάπτυξης των ατελών σταδίων του (Medlock *et al.* 2012).

Ο Δάγκειος πυρετός

Ο ιός του δάγκειου πυρετού υπάγεται στους φλαβιούς (Οικογένεια Flaviviridae, γένος *Flavivirus*). Υπάρχουν 4 διαφορετικοί ορότυποι του ιού του δάγκειου πυρετού: DEN-1, DEN-2, DEN-3 και DEN-4, καθένας από τους οποίους μπορεί να προκαλέσει επιδημία (W.H.O. 1999).

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, W.H.O. 1999). Οι 4 ορότυποι του ιού αναφέρεται ότι μπορεί να μεταδοθούν και στους απογόνους των μολυσμένων κουνουπιών μέσω των ωών τους (transovarial transmission) (Shroyer 1986). Η περίοδος από τη μολυσματική νύξη έως την εμφάνιση των πρώτων συμπτωμάτων ποικίλει μεταξύ 3 έως 14 ημερών (κατά μέσο όρο 1 εβδομάδα) (W.H.O. 1999). Εκτός από αυτόν το βασικό κύκλο που γίνεται μεταξύ ανθρώπων και κουνουπιών αστικών περιοχών, έχει αναφερθεί και ένας δευτερεύων κύκλος στη ζούγκλα της Μαλαισίας, με τον οποίο ο ιός μεταδίδεται μεταξύ πρωτεύοντων θηλαστικών (ανθρώπων, πιθήκων) και δασικών ειδών κουνουπιών *Aedes (Finlaya) niveus* (W.H.O. 1999).

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, μυαλγίες, αρθραλγίες, ανορεξία, ναυτία, έμετοι, λεμφαδενοπάθεια, κηλιδοβλατιδώδες ή οστρακιοειδές εξάνθημα, κνησμό, αιμορραγική διάθεση, λευκοπενία με σχετική λεμφοκυττάρωση, επηρεασμένα ηπατικά ένζυμα. Η νόσος είναι συνήθως αυτοϊάσιμη μέσα σε 2-7 ημέρες και σχεδόν πάντα δεν απαιτεί νοσηλεία (W.H.O. 1999).

β) Δάγκειος αιμορραγικός πυρετός (DHF - dengue haemorrhagic fever):

Σύμφωνα με τον ορισμό του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, ο δάγκειος αιμορραγικός πυρετός προκαλεί τα ακόλουθα συμπτώματα (W.H.O. 2001a):

- Πυρετό ή ιστορικό πρόσφατου πυρετού διάρκειας 2-7 ημερών.
- Θρομβοπενία (< 100.000/cc αιμοπετάλια).
- Τουλάχιστον μια από τις παρακάτω αιμορραγικές εκδηλώσεις: πετέχιες εκχυμώσεις, 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 διδρώματα και εξιδρώματα ή ασκίτης ή υποπρωτεϊναιμία.

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 πλήττει κυρίως άτομα κάτω των 15 ετών (W.H.O. 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.

Παρουσιάζει την υψηλότερη θνησιμότητα που κυμαίνεται στο 10-40 % των περιπτώσεων ενώ η θνησιμότητα είναι ιδιαίτερα υψηλή σε δευτερογενείς προσβολές δάγκειου πυρετού, όπου υπεισέρχονται ανοσολογικοί παθογενετικοί μηχανισμοί.

Η θεραπεία είναι συμπτωματική και περιλαμβάνει την ενδοφλέβια χορήγηση υγρών, ηπαρίνης, μεταγγίσεις αίματος κ.ά. Το ακετυλοσαλικυλικό οξύ (ασπιρίνη) αντενδείκνυται λόγω πιθανής αιμορραγικής διάθεσης (W.H.O. 2001a).

Σχετικά με την 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 οροτύπων του ιού, ώστε να αποφεύγεται ο κίνδυνος του DHF (W.H.O. 2000, 2001). Η πρόληψη κατευθύνεται προς το παρόν στον έλεγχο των κουνουπιών-φορέων, μέσω εκτεταμένων προγραμμάτων καταπολέμησης, σε συνδυασμό με τη χρήση μέτρων ατομικής προστασίας (W.H.O. 2001a).

Ο Δάγκειος πυρετός θεωρείται ως η σημαντικότερη ασθένεια που μεταδίδεται με αρθρώποδα (αρμποιός) παγκοσμίως. Εκτιμάται ότι 2,5 δισεκατομμύρια άνθρωποι (40% του πληθυσμού της γης) ζουν σε περισσότερες από 100 χώρες ενδημικές κάποιων από τους 4 οροτύπους του ιού από τους οποίους και μπορούν να μολυνθούν (W.H.O. 2013). Θεωρείται ενδημική νόσος σε 102 χώρες: 20 στην Αφρική, 42 στην Αμερική, 7 στην Νοτιανατολική Ασία, 29 στο Δυτικό Ειρηνικό και 4 στην Ανατολική Μεσόγειο (W.H.O. 1999). Υπολογίζεται ότι τα ετήσια κρούσματα Δάγκειου πυρετού παγκοσμίως ανέρχονται σε 50 εκατομμύρια με 500.000 περιπτώσεις Δάγκειου αιμορραγικού πυρετού και 22.000 θανάτους, κυρίως παιδιών (W.H.O. 2013). Τα τελευταία 50 χρόνια τα κρούσματα Δάγκειου πυρετού διεθνώς έχουν αυξηθεί κατά 30 φορές. Πριν από το 1970 ο Δάγκειος αιμορραγικός

πυρετός υπήρχε μόνο σε 9 χώρες, ενώ σήμερα ο αριθμός των χωρών αυτών έχει τουλάχιστον 4-πλασιαστεί και συνεχίζει να αυξάνεται (W.H.O. 2013) (**Εικόνα 12**). Τα αίτια της αύξησης της απειλής του Δάγκειου πυρετού αποδίδονται κυρίως στην ανεξέλεγκτη πληθυσμιακή έκρηξη και τη συσσώρευση πληθυσμού σε πόλεις με ανεπαρκές δίκτυο ύδρευσης, στη 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 στην αποτυχία πολλών προγραμμάτων ελέγχου των κουνουπιών (W.H.O. 2000).



Εικόνα 12. Περιοχές στον κόσμο που αναφέρθηκαν την πενταετία 2007-2011 εισαγόμενα ή αυτόχθονα κρούσματα Δάγκειου (Πηγή: C.D.C.)

Μεγάλες επιδημίες Δάγκειου πυρετού έχουν καταγραφεί στο Κάιρο της Αιγύπτου το 1937 (2594 περιπτώσεις, 50 θανατηφόρες), στην Τύνιδα το 1945, στη Βηρυτό το 1945 καθώς και η επιδημία στο Ajmer City, Rajasthan στην Ινδία το 1969 που επηρέασε το 34% του συνολικού πληθυσμού (Kettle 1995). Το *Ae. albopictus* αναφέρεται ότι έχει εμπλακεί ως φορέας του Δάγκειου πυρετού στις επιδημίες των νήσων La Reunion το 1977–1978, της Χαβάης το 2001–2002, και πάλι στα νησιά La Reunion το 2004 και στον Μαυρίκιο τον Ιούνιο του 2009 (Medlock *et al.* 2012).

Αξίζει να σημειωθεί ότι η πιο σοβαρή επιδημία Δάγκειου πυρετού στην Ευρώπη καταγράφηκε στην Ελλάδα τα έτη 1927-1928 με περισσότερα από 1.000.000 κρούσματα κυρίως στην Αθήνα και τον Πειραιά (>90% του πληθυσμού είχε νοσήσει) και 1.553

καταγεγραμμένους θανάτους σε όλη τη χώρα (Papaevangelou and Halstead 1977, Louis 2012). Φορέας του ιού ήταν κατά πάσα πιθανότητα το είδος *Ae. aegypti*, το οποίο επικρατούσε στην περιοχή εκείνη την περίοδο (Theiler *et al.* 1960).

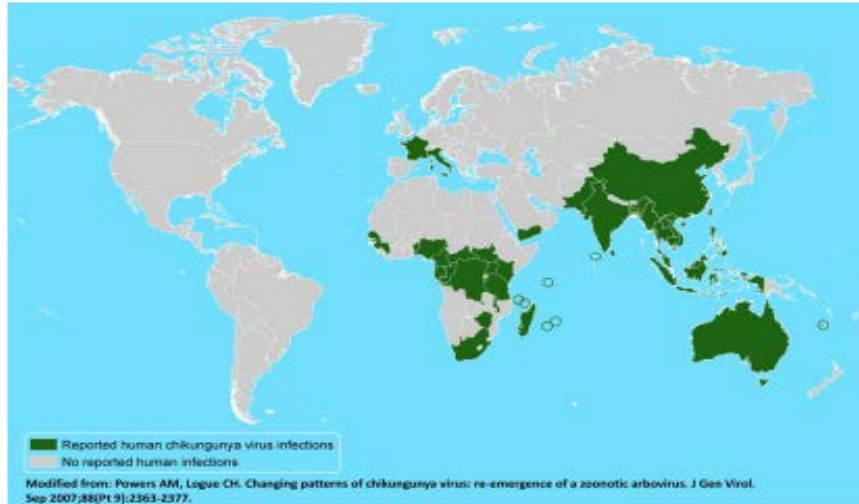
Ιδιαίτερη ανησυχία για την επανεμφάνιση της ασθένειας στην ηπειρωτική Ευρώπη, στις μέρες μας, μετά την μεγάλη επιδημία τη δεκαετία του '20 στην Ελλάδα, έχουν προκαλέσει οι δύο περιπτώσεις αυτόχθονης μετάδοσης του Δάγκειου πυρετού το Σεπτέμβριο-Οκτώβριο του 2010 στη Γαλλία (2 καταγεγραμμένα κρούσματα) και την Κροατία (2 καταγεγραμμένα κρούσματα) (La-Ruche *et al.* 2010, Gjenero-Margan *et al.* 2011).

Ο ιός Chikungunya

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 (E.C.D.C. 2007a). Μετά από περίοδο 2-4 ημερών επώασης τα συμπτώματα του ιού στον άνθρωπο περιλαμβάνουν ξαφνική αδιαθεσία, πυρετό, ρίγος, πονοκεφάλους, φωτοφοβία, αρθραλγία και αρθρίτιδα σε πολλές αρθρώσεις του σώματος. «Chikungunya» στη γλώσσα των Σουαχίλι σημαίνει "αυτός που βαδίζει σκυφτός", και έτσι ο συγκεκριμένος ιός πήρε την ονομασία του από τον χαρακτηριστικό τρόπο με τον οποίο περπατούν οι πάσχοντες, οι οποίοι πονούν φοβερά στις αρθρώσεις (E.C.D.C. 2007a, Becker *et al.* 2010). Ο πυρετός συνήθως υποχωρεί μετά από 2-3 ημέρες ενώ τα υπόλοιπα συμπτώματα όπως οι πόνοι στις αρθρώσεις μπορεί να διατηρηθούν για περίπου μια εβδομάδα. Ωστόσο, σε ορισμένες σοβαρές περιπτώσεις, κυρίως ηλικιωμένων ανθρώπων, η ίαση μπορεί να επέλθει μετά από μήνες. Αν και σπάνια, άνθρωποι άνω των 60 ετών μπορεί να πεθαίνουν εξαιτίας επιπλοκών του συγκεκριμένου ιού.

Ο ιός μετά την πρώτη του απομόνωση στις αρχές της δεκαετίας του '50 σε έναν άνθρωπο στην Τανζανία, έχει προκαλέσει πολυάριθμες εξάρσεις τόσο στην Αφρική όσο και στη νοτιοανατολική Ασία, προσβάλλοντας εκατοντάδες χιλιάδες ανθρώπων στη δεκαετία του '60 (Σαββοπούλου-Σουλτάνη *et al.* 2011). Κατά τη διάρκεια των επιδημιών τα είδη *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* είναι τα κύρια είδη κουνουπιών-φορέων υπεύθυνα για την μετάδοση του ιού από άνθρωπο σε άνθρωπο. Στην Αφρική, ωστόσο, πρωτεύοντα θηλαστικά όπως οι πίθηκοι μπορεί να είναι ξενιστές του ιού από όπου θα προσβληθεί αργότερα ο άνθρωπος, ενώ στην ενζωοτική αυτή μετάδοση του ιού μπορεί να εμπλακούν και άλλα είδη κουνουπιών πέραν από εκείνα του γένους *Aedes* (*Stegomyia*) (Becker *et al.* 2010).

Μεγάλες πρόσφατες επιδημίες του ιού Chikungunya έχουν αναφερθεί το 2005 στα νησιά La Reunion (Γαλλικό νησί στο Ινδικό Ωκεανό) όπου προσβλήθηκαν περισσότεροι από 300.000 άνθρωποι και το 2006/2007 στην Ινδία με περισσότερα από 2 εκατομμύρια περιπτώσεις προσβολής από το συγκεκριμένο ιό (Becker *et al.* 2010).



Εικόνα 13. Χώρες όπου έχουν αναφερθεί κρούσματα του ιού Chikungunya έως το 2012.

(Πηγή: C.D.C.)

Τον Ιούλιο-Οκτώβριο του 2007 ξέσπασε επιδημία του ιού Chikungunya στην περιοχή Ραβέννα της γειτονικής Ιταλίας με περισσότερα από 200 κρούσματα και το θάνατο ενός 83-χρονου άνδρα (Angelini *et al.* 2007, Rezza *et al.* 2007). Ο ιός εντοπίστηκε σε θηλυκά του *Ae. albopictus* υποδεικνύοντας ότι το συγκεκριμένο είδος κουνουπιού, το οποίο είχε εισέλθει στη χώρα από το 1990 και εντοπιζόνταν στη συγκεκριμένη περιοχή, ήταν υπεύθυνο για τη συγκεκριμένη επιδημία (Zgomba and Petric 2008). Επίσης, το Σεπτέμβριο του 2010, καταγράφηκαν 2 περιπτώσεις αυτόχθονης μετάδοσης του ιού σε περιοχή της νοτιοανατολικής Γαλλίας, όπου και δραστηριοποιείται το *Ae. albopictus* (Grandadam *et al.* 2011) (Εικόνα 13).

Φιλαριάσεις

Οι φιλαριάσεις οφείλονται σε νηματώδεις σκώληκες.

Λυμφατική φιλαρίαση

Η λυμφατική φιλαρίαση αποτελεί κύρια ενδημική και παρασιτική νόσο που προκαλείται από τους παρασιτικούς νηματώδεις *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* και *Brugia timori*. Ενδημεί σε απομονωμένες αγροτικές περιοχές αλλά και σε υποβαθμισμένες αστικές περιοχές των τροπικών και υποτροπικών χωρών. Το κουνούπι φορέας προσλαμβάνει τις μικροφιλάρειες του παρασίτου, τρεφόμενο με το αίμα κάποιου

μολυσμένου ξενιστή. Μέσα σε λίγες ώρες από την είσοδό τους στο σώμα των φορέων, οι μικροφιλάρια διασπείρονται από το πεπτικό σύστημα όπου βρίσκονται αρχικά, προς τους έμμεσους μυς πτήσης, ή τον λιπώδη ιστό. Ακολουθούν δύο διαδοχικές εκδύσεις που οδηγούν στην εμφάνιση των προνυμφών 3^{ης} ηλικίας, που αποτελούν και το μολυσματικό στάδιο του νηματώδη. Αυτές μετακινούνται, μέσω του αιμόκοιλου στα στοματικά μόρια του κουνουπιού. Στη συνέχεια οι προνύμφες εγκαταλείπουν τα στοματικά μόρια και εισέρχονται στον τελικό ξενιστή, με τη λήψη αίματος του φορέα από τον τελικό ξενιστή. Στα λεμφοφόρα αγγεία του ανθρώπου γίνεται σύζευξη και ωρίμαση. Τα ώριμα άτομα προκαλούν φλεγμονώδη αποστήματα και πληγές στο δέρμα, πάχυνση των τοιχωμάτων των λεμφαγγείων και αποφράξεις, με αποτέλεσμα να δημιουργείται οίδημα ελεφαντιάσεως και επιμολύνσεις. Ο άνθρωπος είναι ο μόνος κύριος ξενιστής. Οι νηματώδεις μεταδίδονται κατά κύριο λόγο με είδη *Culex*, αλλά και *Anopheles*, *Aedes*, και *Mansonia*. Η ασθένεια παρατηρείται στην τροπική και βόρειο Αφρική, δυτικές Ινδίες, νότια Αμερική και νησιά του Ειρηνικού (Σαββοπούλου-Σουλτάνη *et al.* 2011). 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 (Becker *et al.* 2010).

Διροφιλαριάσεις

Στην Ευρώπη, οι φιλαριάσεις που έχουν υγειονομική σημασία για τον άνθρωπο, οφείλονται στα είδη νηματωδών σκωλήκων *Dirofilaria immitis* και *D. repens* που προκαλούν διροφιλαριάσεις στους σκύλους, τις γάτες και κάποια άλλα θηλαστικά. Τα παράσιτα αυτά (νηματώδεις) 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 Rivas 2001).

Η διροφιλαρίαση του σκύλου (dog heartworm disease), που οφείλεται στο νηματώδη *Dirofilaria immitis* προκαλεί καρδιαγγειακή διροφιλαρίαση κυρίως στα σκυλιά και σπάνια στις γάτες (Boreham 1988). Ενώ υπάρχουν λίγα ανθρώπινα κρούσματα, η διροφιλαρίαση του σκύλου είναι ενδημική στη νότια Ευρώπη (Σαββοπούλου-Σουλτάνη *et al.* 2011). Η ασθένεια αυτή απαντάται και στην Ελλάδα σε σημαντικό ποσοστό. Το παράσιτο *D. immitis*, έχει εντοπιστεί στο αίμα του 4-10% των σκύλων της Μακεδονίας και Θράκης και στο 0,7 % των ζώων στην Αττική. Διροφιλάρια 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 (Κολιόπουλος 2011). Τα κουνούπια που είναι φορείς

του νηματώδη της διροφιλαρίωσης του σκύλου, ανήκουν κυρίως στα γένη *Aedes/Ochlerotatus*, *Culex* και *Anopheles* (Eldridge and Edman 2000).

Μετά την κατάποση από το κουνούπι, οι μικροφιλάρειες διαρρηγνύουν το επιθήλιο του εντέρου και εισέρχονται στους σωλήνες Malpighi όπου εκεί ένα σημαντικό ποσοστό αναπτύσσεται και μεταμορφώνεται μέσα σε 2 περίπου εβδομάδες σε προνύμφες 3^{ης} ηλικίας οι οποίες είναι και οι μολύνουσες μορφές. Οι προνύμφες του νηματώδη μεταφέρονται στα στοματικά μόρια του κουνουπιού και μέσω της προβοσκίδας διαπερνούν το δέρμα του ξενιστή με το τσίμπημα του κουνουπιού. Η ανάπτυξη των σκωλήκων στην καρδιά και την πνευμονική αρτηρία του ξενιστή μέχρι την ενηλικίωσή τους απαιτεί αρκετούς μήνες, ενώ μετά από 6 μήνες περίπου παράγονται νέες μικροφιλάρειες (Becker *et al.* 2010).

Η προσβολή από τη διροφιλαρία του σκύλου προκαλεί δυσλειτουργία στην κυκλοφορία του αίματος της καρδιάς, των πνευμόνων και των νεφρών του ζώου. Η διάγνωση στηρίζεται στα κλινικά συμπτώματα, αλλά κυρίως σε ειδικές εργαστηριακές εξετάσεις. Η θεραπεία της διροφιλαρίωσης 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 (Pampiglione and Rivasi 2001).

Το *Dirofilaria repens*, είναι το μολυσματικό αίτιο της ανθρώπινης υποδόριας διροφιλαρίωσης (human subcutaneous dirofilariasis), ασθένειας που ενδημεί σε πολλές περιοχές της Νότιας και Ανατολικής Ευρώπης, ενώ έχουν αναφερθεί πολυάριθμα αυτόχθονα κρούσματα σε σκύλους τα τελευταία χρόνια σε βορειότερες χώρες όπως η Γερμανία (Pantchev *et al.* 2009). Το παράσιτο (νηματώδης) ζει στον υποδόριο ιστό του ξενιστή, που είναι κυρίως οι σκύλοι, όπου και αναπαράγονται και στη συνέχεια μεταδίδονται με τα κουνούπια. Οι άνθρωποι προσβάλλονται σπάνια ενώ είναι συνήθως περιστασιακοί ξενιστές του (Kramer *et al.* 2007). Τα κουνούπια που είναι φορείς του νηματώδη της ανθρώπινης υποδόριας διροφιλαρίωσης, ανήκουν κυρίως στα γένη *Aedes*, *Culex* και *Anopheles* (Genchi *et al.* 2009).

Μέχρι τα μέσα του προηγούμενου αιώνα η ανθρώπινη διροφιλαρίαση θεωρούνταν σπάνια. Από το 1995 και μετά αυξήθηκαν τα κρούσματα στην Ευρώπη και ιδιαίτερα στην Ιταλία, χωρίς όμως να αναφερθούν θάνατοι και σε κάποιες περιπτώσεις η μόλυνση ήταν ασυμπτωματική. Στις περιπτώσεις όπου εμφανίζονταν συμπτώματα, αυτά ήταν συνήθως υποδόρια και πνευμονικά οζίδια ή παρεγχυματικές αλλοιώσεις. Τα στοιχεία από ορολογικές δοκιμές υποδηλώνουν ότι οι άνθρωποι που ζουν σε ενδημικές περιοχές είναι μολυσμένοι σε ποσοστό αντίστοιχο του πληθυσμού των σκύλων (30% ή περισσότερο)

(Σαββοπούλου-Σουλτάνη *et al.* 2011). Ωστόσο, οι μολύνσεις ανθρώπων από το κύριο παράσιτο *Dirofilaria repens*, αυξάνονται εδώ και δεκαετίες σε Γαλλία, Ελλάδα και Ισπανία και ιδιαίτερα στην Ιταλία (Kramer *et al.* 2007, Σαββοπούλου-Σουλτάνη *et al.* 2011).

Το *Ae. albopictus* αναφέρεται ότι είναι γνωστός φορέας των νηματωδών σκωλήκων του γένους *Dirofilaria* (*D. immitis* και *D. repens*), τα οποία μεταδίδονται με τα κουνούπια και προσβάλλουν κυρίως τους σκύλους αλλά μπορούν ωστόσο να προσβάλλουν και τον άνθρωπο (Medlock *et al.* 2012). Μάλιστα τα τελευταία χρόνια έχει αναφερθεί η μετάδοση των παρασίτων αυτών στον άνθρωπο από πληθυσμούς του *Ae. albopictus* από την Ιταλία (Pampiglione and Rivasi 2001).

Ιός του Δυτικού Νείλου

Αξίζει να σημειωθεί, επιπλέον, ότι το *Ae. albopictus* είναι ικανός φορέας του ιού του Δυτικού Νείλου στο εργαστήριο ενώ έχουν εντοπιστεί και τέλεια κουνούπια άγριων πληθυσμών του μολυσμένα με τον συγκεκριμένο ιό σε περιοχές των Η.Π.Α. Ενδεχομένως λοιπόν να εμπλέκεται σε ένα βαθμό στη μετάδοση του συγκεκριμένου ιού στη φύση, χωρίς όμως αυτό μέχρι στιγμής να έχει αποδειχθεί (Turell *et al.* 2001, Holick *et al.* 2002, Sardelis *et al.* 2002, Kutz *et al.* 2003, Medlock *et al.* 2012). Μάλιστα, οι Hubálek and Halouzka (1999) αναφέρουν ότι οι κύριοι φορείς του ιού του Δυτικού Νείλου είναι έντονα ορνιθόφιλα είδη κουνουπιών. Ο ιός αυτός έχει απομονωθεί από 43 είδη κουνουπιών κυρίως του γένους *Culex*. Στην Ευρώπη, οι κύριοι φορείς είναι τα είδη κουνουπιών *Cx. pipiens*, *Cx. modestus* και *Coquillettidia richiardii*. Επίσης, οι ίδιοι συγγραφείς αναφέρουν ότι ο ιός μπορεί να μεταδοθεί με επιτυχία και εργαστηριακά από τα είδη *Culiseta longiareolata*, *Cx. bitaeniorhynchus* και *Ae. albopictus*. Χαρακτηριστικά, σε ηλεκτρονική επικοινωνία του Δρ. Αντώνη Μιχαηλάκη αναφορικά με την επιδημία του ιού του Δυτικού Νείλου στη χώρα μας, τους δυνητικούς φορείς και την πιθανή εμπλοκή του *Ae. albopictus*, ο καθηγητής Hubálek τονίζει ότι τα είδη του γένους *Culex* είναι οι κύριοι φορείς του Ιού του Δυτικού Νείλου στην Ευρώπη και όχι το *Ae. albopictus*. Η αναφορά στον ιό του Δυτικού Νείλου, παρόλο που το *Ae. albopictus* δεν φαίνεται να εμπλέκεται στον κύκλο της ασθένειας στη φύση, έγκειται στη σπουδαιότητα της συγκεκριμένης ασθένειας για τη χώρα μας, μετά τις 3 επιδημίες του ιού με επίκεντρο τη Βόρεια Ελλάδα τα έτη 2010, 2011 και 2012 (Danis *et al.* 2011, Papa *et al.* 2013). Το 2010 καταγράφηκαν 197 περιπτώσεις ασθενών με προσβολή του κεντρικού νευρικού συστήματος και 35 θάνατοι, το 2011 καταγράφηκαν 75 περιπτώσεις ασθενών με προσβολή του κεντρικού νευρικού συστήματος και 9 θάνατοι, ενώ

το 2012 καταγράφηκαν 109 περιπτώσεις ασθενών με προσβολή του κεντρικού νευρικού συστήματος και 18 θάνατοι (ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. 2013).

1.2.1.5 Μέθοδοι δειγματοληψίας του *Ae. albopictus*

Συλλογή των ωών του *Ae. albopictus* με παγίδες ωοθεσίας

Τα θηλυκά κουνούπια που ανήκουν στα γένη *Aedes* και *Ochleroratus* εναποθέτουν τα ωά τους στο υγρό υπόστρωμα της συλλογής νερού όπου θα αναπτυχθούν οι προνύμφες και νύμφες αργότερα. Η επιλογή της υδάτινης συλλογής που θα εναποθέσουν τα κουνούπια τα ωά τους εξαρτάται από βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες όπως η ποιότητα του νερού, η ένταση του φωτός, η διαθεσιμότητα τροφής και η ύπαρξη βλάστησης. Η μελέτη αυτών των παραγόντων που καθορίζουν την επιλογή της εστίας αναπαραγωγής από ένα συγκεκριμένο είδος κουνουπιού έχουν οδηγήσει στην κατασκευή τεχνητών παγίδων ωοθεσίας (oviposition traps ή ovitraps). Οι παγίδες ωοθεσίας μπορούν να αποτελέσουν ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο στα προγράμματα δειγματοληψιών συγκεκριμένων ειδών κουνουπιών, όπως κουνουπιών που αναπαράγονται σε τεχνητές συλλογές νερού, σε κοιλότητες στους κορμούς δένδρων ή σε κοιλότητες βράχων (Becker *et al.* 2010).

Καθώς το *Ae. albopictus* είναι ένα τυπικό είδος κουνουπιού που προτιμά να εναποθέτει τα ωά του σε μικρές συλλογές/δεξαμενές νερού ο καταλληλότερος τρόπος για τη μελέτη της παρουσίας του σε μια περιοχή είναι οι παγίδες ωοθεσίας (ovitraps). Σε προγράμματα παρακολούθησης πληθυσμών κουνουπιών με δειγματοληψίες, οι πληθυσμοί των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* παρακολουθούνται κυρίως με παγίδες ωοθεσίας, όπως αναφέρουν πολλοί συγγραφείς (Fay and Eliason 1966, Pratt and Jakob 1967, Chadee and Corbet 1987, Freier and Francy 1991, Service 1993, Bellini *et al.* 1996, Reiter and Nathan 2001, Becker *et al.* 2010). Τα επίπεδα των πληθυσμών των δύο αυτών ειδών σε μια συγκεκριμένη περιοχή μπορούν να προσδιοριστούν χρησιμοποιώντας επαρκή αριθμό παγίδων ωοθεσίας (Mogi *et al.* 1990, Bellini *et al.* 1996).

Σύμφωνα με τους Becker *et al.* (2010) οι παγίδες ωοθεσίας που συνήθως χρησιμοποιούνται αποτελούνται από σκούρα πλαστικά δοχεία ή γυάλινα δοχεία τα οποία βάφονται μαύρα εξωτερικά. Τα δοχεία αυτά έχουν ύψος περίπου 12,5 εκ. με διάμετρο περίπου 8 εκ. στην κορυφή και 5 εκ. στον πυθμένα. Όταν οι παγίδες εγκαθίστανται στο ύπαιθρο, στο εσωτερικό της παγίδας τοποθετείται κάθετα με τη βοήθεια ενός συνδετήρα μία λωρίδα (strip) ξύλου κόντρα-πλακέ (hardboard) ή πεπιεσμένου ξύλου (masonite), διαστάσεων 2 x 12 εκ., που φέρει μία λεία και μια τραχιά επιφάνεια, ώστε η τραχιά επιφάνεια να είναι στραμμένη προς το εσωτερικό της παγίδας (Service 1993). Στη συνέχεια

εντός της παγίδας προστίθενται περίπου 200 ml αποχλωριωμένου νερού βρύσης. Πάνω από τη στάθμη του νερού υπάρχει μία μικρή οπή που αποτρέπει την υπερχειλίση του νερού στην παγίδα σε περίπτωση βροχής. Συνήθως, τα θηλυκά των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* γεννούν τα ωά τους ακριβώς πάνω από τη στάθμη του νερού στην τραχιά επιφάνεια του ξύλου. Σε τακτά χρονικά διαστήματα (μία φορά την εβδομάδα) τα κομμάτια ξύλου (υποστρώματα ωτοκίας) αντικαθίστανται και το νερό εντός της παγίδας ανανεώνεται. Ο αριθμός των ωών που βρίσκονται στο ξύλο καταμετράται με στερεοσκοπική παρατήρηση. Η ελκυστικότητα των παγίδων μπορεί να αυξηθεί με την προσθήκη εντός του νερού εκχυλισμάτων άχυρων (infusion hay), ζυθοζύμης (brewer yeast), τροφής σκύλων ή ακάθαρτου νερού αποχετεύσεων (sewage water). Μαζί με τα ελκυστικά αυτά, εντός του νερού της παγίδας ωοθεσίας μπορεί να προστεθεί και κάποιο προνυμφοκτόνο σκεύασμα, συνήθως ρυθμιστής ανάπτυξης (Insect Growth Regulator), για να εμποδίσει την ανεπιθύμητη ανάπτυξη προνυμφών και παραγωγή τελείων κουνουπιών (Becker *et al.* 2010) (Εικόνα 14).



Εικόνα 14. Παγίδα ωοθεσίας

Οι παγίδες ωοθεσίας θεωρούνται ότι αποτελούν ένα πολύ χρήσιμο εργαλείο για τη δειγματοληψία κουνουπιών του γένους *Aedes* που αναπαράγονται σε μικρές συλλογές νερού, αντικατοπτρίζοντας τον πληθυσμό των τελείων ατόμων, καθώς οι παγίδες φωτός και διοξειδίου του άνθρακα (CO_2), για τη συλλογή των τελείων, θεωρούνται μάλλον αναποτελεσματικές για δειγματοληψίες της συγκεκριμένης κατηγορίας κουνουπιών (Fay and Eliason 1966, Chan 1985). Επιπλέον, ειδικοί του Ευρωπαϊκού Κέντρου Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (European Center for Disease Control - E.C.D.C.) προτείνουν τις

παγίδες ωθοεσίας ως την καλύτερη μέθοδο εντοπισμού της παρουσίας ή της εγκατάστασης του *Ae. albopictus* σε μια περιοχή (E.C.D.C. 2007b, 2012).

Σύμφωνα με τους Cohnstaedt *et al.* (2012), οι παγίδες ωθοεσίας θεωρούνται οι περισσότερο κατάλληλες για τον εντοπισμό της παρουσίας του συγγενούς είδους *Ae. aegypti* σε μια περιοχή. Οι παγίδες ωθοεσίας προσομοιάζουν τις εστίες ανάπτυξης του *Ae. aegypti* χωρίς να ανταγωνίζονται τις φυσικές εστίες ανάπτυξής του στο αστικό περιβάλλον. Παρόλο που έχουν γίνει πολλές προσπάθειες να βελτιωθεί η ελκυστικότητα τους, σύμφωνα με τους συγκεκριμένους συγγραφείς, παραμένει το ερώτημα εάν οι συλλογές ωών από τις παγίδες ωθοεσίας αντικατοπτρίζουν ικανοποιητικά την πυκνότητα του πληθυσμού του *Ae. aegypti*. Οι παγίδες ωθοεσίας είναι φθηνές, μπορούν να καλύψουν τις ανάγκες δειγματοληψίας μεγάλων εκτάσεων, δεν απαιτούν ειδική εκπαίδευση του προσωπικού που θα τις χειρίζεται, ενώ έχουν αναπτυχθεί απλά μαθηματικά μοντέλα ώστε να μην χρειάζεται να καταμετρώνται όλα τα συλλεχθέντα ωά στις παγίδες (Mogi *et al.* 1990). Αναφέρεται μάλιστα ότι έχει συσχετιστεί με μαθηματικά μοντέλα η πυκνότητα ωών ανά παγίδα με περιπτώσεις εμφάνισης δάγκειου πυρετού (Cohnstaedt *et al.* 2012).

Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (E.C.D.C. 2012) οι παγίδες ωθοεσίας είναι μία απλή και αποτελεσματική μέθοδος δειγματοληψίας για είδη του γένους *Aedes* που αναπαράγονται σε μικρές συλλογές νερού. Εάν το διάστημα ελέγχου των παγίδων πρόκειται να υπερβεί τις 8 ημέρες τότε συστήνεται η προσθήκη εντός του νερού κάποιου βιοκτόνου φυσικής προέλευσης (π.χ. *B.t.i*) (Carrieri *et al.* 2009) ή κάποιου ρυθμιστή ανάπτυξης ώστε να μην παρατηρηθεί αναπαραγωγή των κουνουπιών εντός της παγίδας. Παρόλο που οι παγίδες ωθοεσίας είναι φθηνές και εύκολες στη χρήση, η αναγνώριση του είδους κουνουπιού από το στάδιο του ωού είναι δύσκολη και συχνά χρονοβόρος διαδικασία. Επίσης, ο αριθμός των ωών που συλλέγονται σε μια παγίδα συχνά δεν αντικατοπτρίζει τον πληθυσμό των τελείων, καθώς αυτά μπορεί να ωοτοκούν σε άλλες φυσικές εστίες, στην περίπτωση που υπάρχουν πολλές εστίες σε μια περιοχή. Η ελκυστικότητα των παγίδων στην περίπτωση αυτή μπορεί να αυξηθεί με την προσθήκη εντός του νερού φύλλων βελανιδιάς ή εκχυλισμάτων γρασιδιού. Οι παγίδες ωθοεσίας είναι χρήσιμα εργαλεία δειγματοληψίας για περιοχές χαμηλού κινδύνου εισαγωγής του *Ae. albopictus*, καθώς εφόσον δεν συλλέγονται ωά μπορούν να ελέγχονται σε αραιά χρονικά διαστήματα (αρκετές εβδομάδες ή και μήνες). Σε περιοχές υψηλού κινδύνου πρέπει να ελέγχονται σε τακτικά χρονικά διαστήματα και να συνδυάζονται με δειγματοληψίες προνυμφών από φυσικές εστίες νερού. Επίσης, οι παγίδες ωθοεσίας είναι χρήσιμα εργαλεία δειγματοληψίας για την αξιολόγηση της έκτασης της αποίκισης σε περιοχές όπου το *Ae. albopictus* έχει ήδη εισβάλει και έχει καταγραφεί η παρουσία του (E.C.D.C. 2012).

Άλλες μέθοδοι δειγματοληψίας του *Ae. albopictus*

Συλλογή προνυμφών/νυμφών

Σύμφωνα με τους Becker *et al.* (2010) η μέθοδος αυτή δειγματοληψίας περιλαμβάνει διάφορες τεχνικές και εφαρμόζεται για την εκτίμηση του πληθυσμού των υδρόβιων ατελών σταδίων των κουνουπιών. Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται για τη μελέτη της δυναμικής του πληθυσμού των κουνουπιών ή για την εκτίμηση των πληθυσμιακών πυκνοτήτων πριν και μετά την εφαρμογή προνυμφοκτονίας. Παρόλο που οι προνύμφες κουνουπιών βρίσκονται σε μια μεγάλη ποικιλία ενδιαιτημάτων, οι πληθυσμοί τους μπορούν να εκτιμηθούν με απλές τεχνικές και εργαλεία. Το συνηθέστερο εργαλείο για τη συλλογή προνυμφών/νυμφών από τις εστίες νερού είναι ο προνυμφοσυλλέκτης (dipper), ο οποίος μπορεί να ποικίλλει σε μέγεθος και σχήμα (**Εικόνα 15**). Επίσης, κουτάλες μαγειρικής, λευκά πλαστικά ή εμαγιέ δοχεία ή και φωτογραφικές λεκάνες χωρητικότητας από μερικές εκατοντάδες μικρό-λιτρα (μl) έως 1 λίτρο είναι φθηνά και ευκολόχρηστα εργαλεία συλλογής προνυμφών. Βεβαίως, για τη σύγκριση των δεδομένων δειγματοληψίας είναι προτιμότερο να χρησιμοποιείται ο κλασικός προνυμφοσυλλέκτης (standard pint dipper). Αυτός αποτελείται από ένα λευκό πλαστικό δοχείο διαμέτρου 11 εκ. και χωρητικότητας 350 ml (Becker *et al.* 2010). Το λευκό χρώμα του δοχείου βοηθάει στο ευκολότερο μέτρημα των προνυμφών. Μία ξύλινη ή μεταλλική χειρολαβή που προσαρμόζεται στο δοχείο χρησιμεύει ώστε να προσεγγίζονται οι συλλογές νερού από απόσταση χωρίς τη διαταραχή του νερού που προκαλεί τη βύθιση των προνυμφών κατά τη διάρκεια της δειγματοληψίας.



Εικόνα 15. Προνυμφοσυλλέκτης (dipper) προνυμφών/νυμφών

Από το μέγεθος και την έκταση της υδάτινης επιφάνειας καθορίζεται και ο αριθμός των «βουτηγμάτων» (dippings) εντός του νερού. Σε μεγάλες συλλογές νερού (>20 μ²) απαιτούνται 10-20 δείγματα κατά μήκος των πλευρών και από το κέντρο της εστίας. Από τον αριθμό των διαφόρων σταδίων προνυμφών και των νυμφών ανά βούτηγμα (dip) και από τον υπολογισμό του όγκου του νερού της εστίας, μπορεί να εκτιμηθεί πρόχειρα ο πληθυσμός των υδρόβιων σταδίων των κουνουπιών (Becker *et al.* 2010). Σε μικρές συλλογές νερού, όπως είναι οι κουφάλες δέντρων, η δειγματοληψία προνυμφών/νυμφών είναι δύσκολη. Οι προνύμφες/νύμφες συλλέγονται με μεγάλες πιπέτες κατευθείαν από την επιφάνεια του νερού ή μετά από μετάγγιση του νερού με κάποιο σιφόνιο εκτός της εστίας. Στη συνέχεια, ένας επαρκής αριθμός ζωντανών προνυμφών/νυμφών μεταφέρεται στο εργαστήριο για την ταυτοποίηση του είδους ή εναλλακτικά προνύμφες 4^{ης} ηλικίας μπορούν να διατηρηθούν μέσα σε 70% αιθανόλη από το ύπαιθρο. Η ταυτοποίηση του είδους γίνεται από το 4^ο προνυμφικό στάδιο ή εναλλακτικά από το στάδιο του τελείου.

Στα προγράμματα αντιμετώπισης του *Ae. aegypti*, για την καταπολέμηση του κίτρινου ή δάγκειου πυρετού, έχουν αναπτυχθεί διάφοροι δείκτες εκτίμησης του πληθυσμού των προνυμφών. Πιο συγκεκριμένα, ο δείκτης σπιτιών (House Index – HI) εκφράζει το ποσοστό των σπιτιών στα οποία έχουν εντοπιστεί προνύμφες ή νύμφες. Ο δείκτης δεξαμενών νερού (Container Index – CI) εκφράζει το ποσοστό των δεξαμενών (συλλογών) νερού που περιέχουν δραστήριες (ζωντανές) προνύμφες ή νύμφες. Ως δείκτης Breteau (Breteau Index – BI) ορίστηκε ο αριθμός θετικών δεξαμενών νερού ανά 100 σπίτια. Ωστόσο, κανείς από αυτούς τους δείκτες δεν συνυπολογίζει τον αριθμό κουνουπιών σε κάθε συλλογή νερού (Becker *et al.* 2010).

Πιο πρόσφατα οι Focks and Chadee (1997) εφάρμοσαν μία μέθοδο δειγματοληψίας νυμφών για το *Ae. aegypti* βασιζόμενοι στο γεγονός ότι η πυκνότητα των νυμφών προσεγγίζει καλύτερα, σε σχέση με εκείνη των προνυμφών, την πυκνότητα του πληθυσμού των τελείων κουνουπιών. Ωστόσο οι Cohnstaedt *et al.* (2012) αναφέρουν ότι οι εστίες ανάπτυξης του *Ae. aegypti*, και κατά αντιστοιχία του *Ae. albopictus*, είναι πολλές φορές απόκρυφες και κάτω από την επιφάνεια του εδάφους (π.χ. φρεάτια), καθιστώντας δύσκολο τον εντοπισμό τους στο αστικό περιβάλλον. Ο εντοπισμός τέτοιων συλλογών νερού που φέρουν νύμφες του *Ae. aegypti*, απαιτεί τον εξονυχιστικό έλεγχο των κατοικιών, κάτι που δεν είναι πολλές φορές εφικτό εφόσον οι ένοικοι λείπουν ή αρνούνται την είσοδο σε συλλέκτες κουνουπιών.

Μέθοδοι συλλογής τελείων

Μέθοδος «άνθρωπινο δόλωμα» (human bait)

Η μέθοδος αυτή δειγματοληψιών βασίζεται στην τεχνική που περιγράφεται από τον Service (1993), σύμφωνα με την οποία συνήθως ένας άνθρωπος (ξενιστής) χρησιμοποιείται ως δόλωμα για να προσελκύσει τα κουνούπια, και στη συνέχεια να τα συλλέξει κατά τη διάρκεια της προσπάθειά τους να τραφούν από αυτόν. Ο άνθρωπος προσελκύει τα κουνούπια για να τραφούν με αίμα, με το διοξείδιο του άνθρακα από την εκπνοή του, με διάφορες προσελκυστικές πτητικές ουσίες ή καιρομόνες που εκλύονται από το σώμα του, με οσμές που αναδύονται από τον ιδρώτα (π.χ. γαλακτικό οξύ), με την κίνηση του σώματος καθώς και τη θερμότητα που εκπέμπεται από αυτή (Becker *et al.* 2010). Με τη συγκεκριμένη μέθοδο, για την εκτίμηση του πληθυσμού των τελείων κουνουπιών, καταμετρούνται οι προσγειώσεις (landings) των θηλυκών κουνουπιών στο ανθρώπινο σώμα και υπολογίζεται ο αριθμός θηλυκών στη μονάδα του χρόνου. Οι μετρήσεις γίνονται συνήθως κάθε μία ή δύο ώρες κατά τη διάρκεια του 24ώρου, προκειμένου να διερευνηθούν οι ώρες δραστηριοποίησης των κουνουπιών. Στην περίπτωση του *Ae. albopictus*, το οποίο είναι είδος με ημερήσια δραστηριότητα, η μέθοδος «άνθρωπος-δόλωμα» μπορεί να εφαρμοστεί σε διάφορες ώρες κατά τη διάρκεια της ημέρας. Ανάλογα με τον πληθυσμό των κουνουπιών σε μια δεδομένη περιοχή, ο συλλέκτης αφήνει εκτεθειμένο ένα μόνο μέρος του σώματός του, συνήθως τον βραχίονα ή το πόδι του, και συλλέγει τα κουνούπια που προσγειώνονται στα σημεία αυτά με τη βοήθεια αναρροφητήρα (Εικόνα 16). Τα κουνούπια που συλλέγονται θανατώνονται με τοποθέτηση σε φιαλίδιο που περιέχει κάποια τοξική ουσία όπως ethyl acetate (Becker *et al.* 2010). Η μέθοδος αυτή δεν πρέπει να εφαρμόζεται σε περιοχές όπου καταγράφονται κρούσματα ή είναι σε εξέλιξη κάποια επιδημία από ασθένεια που μεταδίδεται με κουνούπια (U.S.A.F. 2002).

Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (E.C.D.C. 2012), η μέθοδος «άνθρωπος δόλωμα» είναι η παλαιότερη και απλούστερη μέθοδος συλλογής θηλυκών ανθρωπόφιλων ειδών κουνουπιών που αναζητούν ξενιστή. Μειονεκτήματα της μεθόδου είναι το υψηλό κόστος, λόγω του ανθρώπινου δυναμικού που απαιτείται, καθώς και ο κίνδυνος ασθενειών σε περίπτωση που δραστηριοποιούνται κουνούπια που φέρουν παθογόνα, παρόλο που συνιστάται μόνο η συλλογή των κουνουπιών που προσγειώνονται πριν τσιμπήσουν. Συνιστάται μάλιστα το 15-λεπτο διάστημα έκθεσης του δέρματος στα κουνούπια για τη μέτρηση των προσγειώσεων.



Εικόνα 16. Συλλογές τελείων κουνουπιών με τη μέθοδο "άνθρωπος δόλωμα" (human bait).

Παγίδες "Gravid female"

Τα θηλυκά κουνούπια που είναι έτοιμα να ωοτοκήσουν μπορούν να συλληθούν με τις "Gravid female" παγίδες που ανέπτυξε ο Reiter (1983) (**Εικόνα 17**). Για την προσέλκυση των κουνουπιών η παγίδα αποτελείται από μία λεκάνη η οποία περιέχει νερό συνήθως εμπλουτισμένο με κάποιο φυτικό ή άλλο εκχύλισμα. Καθώς τα θηλυκά κουνούπια πλησιάζουν για να ωοτοκήσουν, αναρροφώνται από ένα ανοδικό ρεύμα αέρα από ανεμιστήρα που βρίσκεται στο άνω μέρος της παγίδας και συγκεντρώνονται σε ειδικό δοχείο. Οι παγίδες αυτές χρησιμοποιούνται κυρίως για την παρακολούθηση ειδών του γένους *Culex* αλλά έχουν χρησιμοποιηθεί και για δειγματοληψίες του *Ochlerotatus japonicus*, το οποίο αναπαράγεται όπως και το *Ae. albopictus* σε μικρές συλλογές νερού (container breeding mosquito) (Scott *et al.* 2001, Becker *et al.* 2010). Οι παγίδες "Gravid female" στην περίπτωση της συλλογής ειδών *Aedes* που αναπαράγονται σε μικρές συλλογές νερού (container ovipositioning), όπως το *Ae. albopictus*, έχουν συνήθως κολλώδεις επιφάνειες (Ritchie *et al.* 2003). Περιορισμένα βιβλιογραφικά δεδομένα δείχνουν ότι υπάρχει μια μη-γραμμική συσχέτιση μεταξύ του αριθμού των «πλήρων ωών» θηλυκών του *Ae. aegypti* που συλλέγονται με τη συγκεκριμένη παγίδα και τον αριθμό των ωών που συλλέγονται με τις παγίδες ωοθεσίας (Facchinelli *et al.* 2007).

Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (E.C.D.C. 2012) οι παγίδες αυτές χρησιμοποιούνται σε δειγματοληψίες αρμοπιών, καθώς τα «πλήρων ωών» θηλυκά κουνούπια που συλλέγονται έχουν πραγματοποιήσει τουλάχιστον μία αιμοληψία καθώς πηγαίνουν να ωοτοκήσουν στην παγίδα και φέρουν πιθανόν κάποιο παθογόνο. Έτσι, οι παγίδες αυτές χρησιμοποιούνται περισσότερο ως δείκτες της δραστηριότητας κάποιου ιού παρά των θηλυκών κουνουπιών που αναζητούν ξενιστή και που ενδεχομένως να μην έχουν τραφεί με αίμα και να αναζητούν εστία ωοτοκίας. Ως εκ

τούτου δεν θεωρούνται ιδιαίτερα ελκυστικές παγίδες για είδη *Aedes*, ενώ η ελκυστικότητα τους μπορεί να βελτιωθεί με την προσθήκη εντός του νερού εκχυλισμάτων φύλλων βελανιδιάς ή γρασιδιού, τα οποία όμως εμφανίζουν περιορισμένη ελκυστικότητα για το *Ae. albopictus*.



Εικόνα 17. Παγίδα "Gravid female"

Παγίδες διοξειδίου του άνθρακα "CO₂ - CDC traps"

Οι παγίδες CO₂ - CDC δημιουργήθηκαν για πρώτη φορά στα μέσα του 1950 και πλέον υπάρχουν αρκετές παραλλαγές αυτών για δειγματοληψία τελείων κουνουπιών. Το κορυφαίο τμήμα της παγίδας περιλαμβάνει ένα πλαστικό δοχείο 3,5 λίτρων που περιέχει ξηρό πάγο. Στον πυθμένα του δοχείου υπάρχουν 2 με 4 οπές διαμέτρου 0,5 εκ. από όπου διαφεύγει το CO₂ από τον ξηρό πάγο με την εξάχνωση, ως μέσο προσέλκυσης των κουνουπιών. Στο μεσαίο τμήμα της παγίδας σε πλαστικό σωλήνα υπάρχουν μπαταρίες για την τροφοδότηση ενέργειας σε ένα μικρό ανεμιστήρα και ένα λαμπτήρα με διακόπτη. Τα θηλυκά κουνούπια που ελκύονται κυρίως από το CO₂, εισέρχονται στην παγίδα μέσω ενός ανοίγματος και συλλέγονται σε νάιλον σάκο μήκους 30 εκ. μέσω ρεύματος που δημιουργείται από τον ανεμιστήρα. Η παγίδα μπορεί να αναρτηθεί από ένα κλαδί δένδρου ή άλλο αντικείμενο. Τα κουνούπια εντός του σάκου μαζί με το σάκο μεταφέρονται σε κάποιο δοχείο και θανατώνονται με CO₂ ή κάποιο άλλο μέσο (Becker *et al.* 2010) (**Εικόνα 18**).

Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (E.C.D.C. 2012), οι παγίδες αυτές μπορεί να λειτουργήσουν και χωρίς το λαμπτήρα. Το πλεονέκτημά τους είναι ότι δεν επηρεάζονται σημαντικά από τα φώτα που υπάρχουν σε αστικά περιβάλλοντα ενώ το κύριο μειονέκτημα είναι ο εξοπλισμός που απαιτείται για την παροχή CO₂ ή η χρήση ξηρού πάγου. Ωστόσο, το E.C.D.C δεν συστήνει τη χρήση αυτών των

παγίδων για τη συλλογή τελείων του *Ae. albopictus* καθώς για αυτά τα κουνούπια το CO₂ δεν αποτελεί ισχυρό ελκυστικό παράγοντα.



Εικόνα 18. Παγίδα διοξειδίου του άνθρακα “CO₂ - CDC trap”

Παγίδες “Mosquito Magnet”

Η παγίδα αυτή είναι μια αυτόνομη συσκευή που προορίζεται περισσότερο ως συσκευή καταπολέμησης των κουνουπιών παρά για παρακολούθηση των πληθυσμών τους. Χρησιμοποιεί ένα κύλινδρο αερίου προπανίου ως εσωτερική πηγή ενέργειας. Το προπάνιο μετατρέπεται σε CO₂ από ένα καταλύτη και η θερμότητα που εκλύεται χρησιμοποιείται για να παράγει ηλεκτρικό ρεύμα για την κίνηση ενός μικρού ανεμιστήρα. Στη συσκευή ενσωματώνεται ένα δόλωμα που απελευθερώνει 1-οκτεν-3-όλη (1-octen-3-ol) μέσα στο νέφος του CO₂. Η συσκευή μπορεί να λειτουργήσει συνεχόμενα για 21 ημέρες. Τα κουνούπια προσελκύονται από το νέφος του CO₂ και της 1-οκτεν-3-όλης που εκλύονται από τη συσκευή και αναρροφώνται από ένα ανεμιστήρα μέσα σε δικτυωτό κλωβό. Προκαταρκτικές υπαίθριες δοκιμές της συσκευής αυτής δείχνουν ότι μπορεί να συλλέξει μια ποικιλία από είδη *Aedes* συμπεριλαμβανομένου και του *Ae. albopictus* καθώς και των κουνουπιών των γενών *Ochlerotatus*, *Culex* και *Anopheles*. Η γερή, αδιάβροχη κατασκευή και η δυνατότητα να λειτουργεί χωρίς επίβλεψη για εβδομάδες δείχνουν ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί και ως μέσο παρακολούθησης πληθυσμών κουνουπιών (Becker *et al.* 2010) (**Εικόνα 19**).

Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (E.C.D.C. 2012), για την προσέλκυση των κουνουπιών μαζί με το CO₂ μπορεί να χρησιμοποιηθεί και προσελκυστικό μείγμα (lure) γαλακτικού οξέως (lactic acid) και 1-οκτεν-3-όλης. Ωστόσο,

θεωρείται ότι ο συγκεκριμένος τύπος παγίδας δεν είναι ιδιαίτερα ελκυστικός για το *Ae. albopictus*, καθώς λόγω του μεγάλου μεγέθους, του βάρους και του υψηλού κόστους η συγκεκριμένη παγίδα δεν είναι κατάλληλη για τη διενέργεια μεγάλης κλίμακας μελετών δειγματοληψίας.



Εικόνα 19. Παγίδα “Mosquito Magnet”

Παγίδες “Biogents Sentinel trap”

Οι παγίδες «Biogents Sentinel traps» ή «BG Sentinel traps» έχουν ενσωματωμένα ιδιοσκευάσματα με οσφρητικά δολώματα που αυξάνουν τον αριθμό και την ποικιλία των συλλεχθέντων ειδών κουνουπιών (Becker *et al.* 2010). Η συγκεκριμένη φορητή παγίδα είναι κατάλληλη για τη συλλογή θηλυκών του *Ae. aegypti* (Geier *et al.* 2006), ωστόσο σημαντικό μειονέκτημά της είναι το υψηλό κόστος αγοράς και συντήρησης (Cohnstaedt *et al.* 2012).

Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (E.C.D.C. 2012), οι συγκεκριμένες παγίδες έχουν σχεδιαστεί για την προσέλκυση των ειδών *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*, καθώς φέρουν ένα ειδικό χημικό δόλωμα-ελκυστικό (BG-Lure ή Sweetscent). Η ελκυστικότητα/αποτελεσματικότητά τους μπορεί να αυξηθεί τοποθετώντας στην κορυφή τους ένα ποντίκι σε μικρό κλωβό ή με την παροχή CO₂ με κατάλληλη συσκευή (φιάλη) ή ξηρό πάγο. Οι παγίδες αυτές μπορούν να λειτουργούν συνεχόμενα εφόσον υπάρχει παροχή ηλεκτρικού ρεύματος (πρίζα), ή εναλλακτικά λειτουργούν με μπαταρίες 12V. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν τόσο σε αγροτικές όσο και σε αστικές περιοχές. Τέλος, αναφέρεται ότι οι συγκεκριμένες παγίδες μπορούν να συλλέξουν αρσενικά καθώς και θηλυκά κουνούπια του *Ae. albopictus* μετά το γεύμα αίματος και έτοιμα να φωτοκλήσουν (**Εικόνα 20**).



Εικόνα 20. Παγίδα Biogents Sentinel trap (BG-Sentinel trap)

Κολλητικές παγίδες (Sticky traps)

Σύμφωνα με το Ευρωπαϊκό Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων (E.C.D.C. 2012), οι κολλητικές παγίδες όπως οι παγίδες ωθεσίας και οι Gravid-traps ελκύουν «πλήρη ωών» θηλυκά κουνούπια που αναζητούν εστία νερού για να ωτοκήσουν. Οι παγίδες αυτές μοιάζουν με τις παγίδες ωθεσίας, με τη διαφορά ότι στα εσωτερικά τοιχώματα φέρουν εντομολογική κόλλα στην οποία προσκολλώνται τα θηλυκά κουνούπια που μπαίνουν στην παγίδα για να ωτοκήσουν. Τα θηλυκά κουνούπια που προσκολλώνται μπορούν αργότερα να απομακρυνθούν, να ταυτοποιηθούν και να διερευνηθεί και η παρουσία σε αυτά παθογόνων. Μεγάλος αριθμός κολλητικών παγίδων μπορεί να μειώσει τον πληθυσμό των τελείων κουνουπιών, ειδικά όταν αυτά δεν είναι σε υψηλούς αριθμούς και δεν υπάρχουν πολλές φυσικές εστίες νερού. Οι συγκεκριμένες παγίδες είναι αποτελεσματικές για όλα τα είδη *Aedes* που αναπαράγονται σε μικρές συλλογές νερού (container-breeding), όπως το *Ae. albopictus* (**Εικόνα 21**).



Εικόνα 21. Κολλητικές παγίδες (sticky traps)

Παγίδες φωτός (Light traps)

Οι παγίδες φωτός λειτουργούν κατά τη διάρκεια της νύκτας όταν δεν υπάρχουν άλλα φώτα σε κοντινή απόσταση. Ως εκ τούτου δεν είναι κατάλληλες παγίδες για τη συλλογή κουνουπιών που δραστηριοποιούνται την ημέρα και σε αστικές περιοχές και δεν είναι ελκυστικές για το *Ae. albopictus*.

Πίνακας 2. Αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας διαφόρων μεθόδων δειγματοληψίας για τα είδη *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* (πηγή: E.C.D.C. (2012))

Είδος κουνουπιού	Αποτελεσματικότητα μεθόδου δειγματοληψίας							
	A-Δ*	CO ₂ *	M-M* (CO ₂)	Παγίδες φωτός	BG-Sentinel	Gravid traps	Κολλητικές παγίδες	Παγίδες ωοθεσίας
<i>Ae. aegypti</i>	+++	+/-	+	-	++	+/-	++	++
<i>Ae. albopictus</i>	+++	+/-	+	-	++	+/-	++	++

*A-Δ= Μέθοδος «Άνθρωπος-Δόλωμα», CO₂ = Παγίδα CO₂, M-M = Παγίδα Mosquito-Magnet με πηγή CO₂,

Αξιολόγηση: - χαμηλή αποτελεσματικότητα, + καλή αποτελεσματικότητα σε ορισμένες περιπτώσεις, ++ καλή αποτελεσματικότητα, +++ εξαιρετική αποτελεσματικότητα.

1.2.2 Το είδος *Aedes (Stegomyia) cretinus*

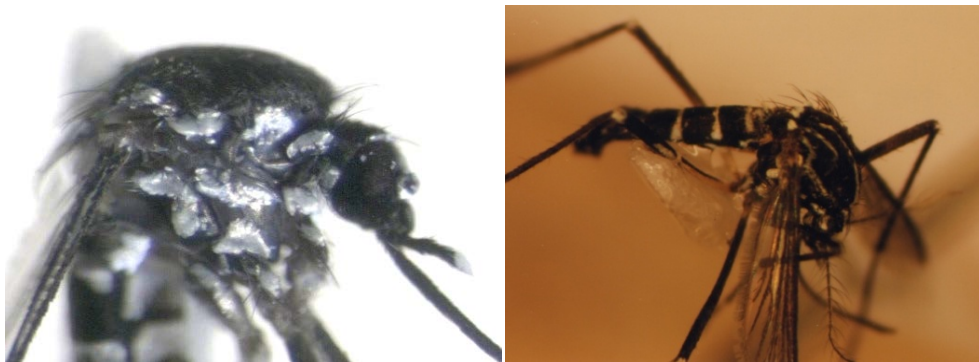
Το είδος *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards, 1921, είναι το μοναδικό είδος κουνουπιού του υπογένους *Stegomyia* το οποίο είναι ιθαγενές στην Ευρώπη (Darsie 1999). Περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Edwards (1921), ο οποίος μελέτησε δύο δείγματα του είδους προερχόμενα από την Κρήτη. Στην Κρητική καταγωγή του οφείλει άλλωστε και το όνομα «cretinus» σύμφωνα με τον Snow (2001). 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.

Σχετικά με τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του θηλυκού του *Ae. cretinus* και επειδή υπάρχουν πολλές ομοιότητες με το συγγενές *Ae. albopictus*, οι τρεις (3) μορφολογικές διαφορές μεταξύ των δύο αυτών ειδών *Stegomyia*, οι οποίες περιγράφονται στις διχοτομικές κλείδες για τέλεια θηλυκά κουνούπια των Darsie and Samanidou-Voyadjoglou (1997) και Darsie (1999) και αναφέρονται συνοπτικά από τους Patsoula *et al.* (2006), έχουν ως εξής:

- i. Μία έντονη λευκή γραμμή από λέπια (scales) διατρέχει κατά μήκος το ραχιαίο τμήμα του μεσοθώρακα (scutum) και στα δύο είδη. Στο *Ae. cretinus* δεξιά και αριστερά αυτής υπάρχουν δύο στενές λευκές γραμμές (παράμεσες) από λέπια που φτάνουν μέχρι το ύψος του μέσου της μεσαίας γραμμής. Στο *Ae. albopictus* οι δύο αυτές γραμμές είναι μικρές και δυσδιάκριτες (**Εικόνα 22**).
- ii. Στο πλευρικό (lateral) τμήμα του νότου του θώρακα (scutum) στο *Ae. cretinus* υπάρχει μία λιγότερο ή περισσότερο συνεχόμενη λευκή γραμμή από λέπια, ενώ στην αντίστοιχη περιοχή του *Ae. albopictus* τα λέπια είναι στο σύνολό τους μαύρα (**Εικόνα 23**).
- iii. Στο *Ae. cretinus* τα νύχια των ταρσών στο πρόσθιο και μεσαίο ζεύγος ποδιών είναι οδοντωτά ενώ στην περίπτωση του *Ae. albopictus* είναι απλά (**Εικόνα 24**).



Εικόνα 22. Η πάνω όψη του ραχιαίου τμήματος του μεσοθώρακα (scutum) στο *Ae. albopictus* (αριστερά) και στο *Ae. cretinus* (δεξιά).

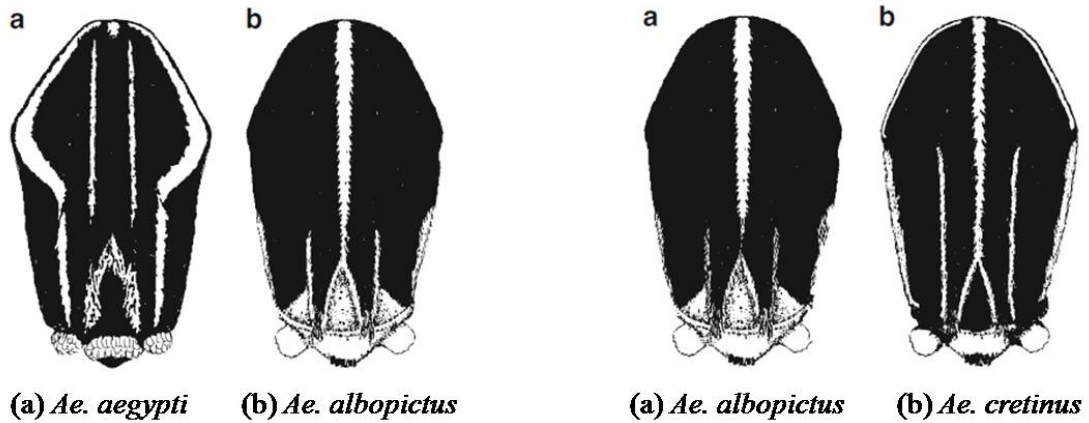


Εικόνα 23. Η πλευρική όψη του ραχιαίου τμήματος του μεσοθώρακα στο *Ae. albopictus* (αριστερά) και στο *Ae. cretinus* (δεξιά).



Εικόνα 24. Απλό νύχι στο *Ae. albopictus* (αριστερά) και οδοντωτό νύχι στο *Ae. cretinus* (δεξιά).

Οι μορφολογικές διαφορές στο μεσόνωτο (scutum) του μεσοθώρακα μεταξύ των συγγενών ειδών *Ae. aegypti*, *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* απεικονίζονται και από τους Becker *et al.* (2010) (Εικόνα 25).



Εικόνα 25. Μορφολογικές διαφορές στο μεσόνωτο (scutum) του μεσοθώρακα του *Ae. aegypti* (a) και *Ae. albopictus* (b) (αριστερά) και του *Ae. albopictus* (a) και *Ae. cretinus* (b) (δεξιά).

Ο Edwards (1932) κατέταξε το *Ae. cretinus* στην ομάδα (group) ειδών κουνουπιών C (Group C), δηλαδή στην ομάδα *scutellaris* (*scutellaris* group). Αργότερα οι Knight and Hurlbut (1949) διαίρεσαν την παραπάνω ομάδα ειδών στις υπό-ομάδες *scutellaris*, *albopictus* και *mediopunctatus* και τοποθέτησαν το *Ae. cretinus* στην υπό-ομάδα *albopictus* μαζί με 9 ακόμη συμπεριλαμβανομένου του *Ae. albopictus*.

Το *Ae. cretinus* έχει περιορισμένη διασπορά στον κόσμο. Έχει εντοπιστεί στην Λευκωσία της Κύπρου (Lane 1982), στην επαρχία Αντάλια της Τουρκίας (Alten *et al.* 2000, Caglar *et al.* 2003), στις ακτές της Μαύρης θάλασσας στην Γεωργία της πρώην ΕΣΣΔ (Gutsevich *et al.* 1974) και στην Ελλάδα (Edwards 1921, Lane 1982, Samanidou-Voyadjoglou and Koliopoulos 1998, Darsie 1999, Patsoula *et al.* 2006, Becker *et al.* 2010). Σύμφωνα με τους Samanidou-Voyadjoglou and Koliopoulos (1998) στην Ελλάδα δείγματα του *Ae. cretinus* έχουν ταυτοποιηθεί από την Κρήτη και την Μακεδονία ενώ περιορισμένοι πληθυσμοί του συγκεκριμένου είδους έχουν εντοπιστεί σε περιοχές της Κηφισιάς, της Νέας Πεντέλης, της Παλαιάς Πεντέλης, της Φιλοθέης και του Άγιου Στέφανου στην Αττική. Οι ίδιοι συγγραφείς αναφέρουν ότι τα τέλεια του *Ae. cretinus* είναι δραστήρια κατά τη διάρκεια της ημέρας από την άνοιξη μέχρι το φθινόπωρο και ότι είναι πολύ επιθετικά στον άνθρωπο καθώς τα τσιμπήματά τους προκαλούν σημαντικό ερεθισμό στο δέρμα.

Σύμφωνα με νεώτερα δεδομένα που έχουν προκύψει σχετικά με την παρουσία του *Ae. cretinus* στη χώρα μας, από δείγματα κουνουπιών τα οποία εστάλησαν στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο προς αναγνώριση και παροχή σχετικών πληροφοριών τα έτη 2009-2011, το συγκεκριμένο είδος δραστηριοποιούνταν τη συγκεκριμένη τριετία στους νομούς Χανίων, Ηρακλείου, Λασιθίου, Ρεθύμνου, Αττικής, Αργολίδας, Πιερίας και Χαλκιδικής, καθώς και στους παρακάτω Δήμους της Αττικής: Αχαρνών, Αμαρουσίου, Αθηνών, Λούτσας, Χαλανδρίου, Φιλοθέης, Γέρακα, Κηφισιά, Λυκόβρυσης, Νέας Μάκρης, Μελισσίων, Παλαιού Ψυχικού, Αγίου Στεφάνου, Θρακομακεδόνων και Βύρωνα (Giatropoulos *et al.* 2012c).

Σύμφωνα με τους Becker *et al.* (2010) και Lane (1982) η γνώση από τη σχετική βιβλιογραφία για την βιολογία του *Ae. cretinus* είναι αρκετά περιορισμένη ενώ οι Gutsevich *et al.* (1974) αναφέρουν ότι οι προνύμφες του έχουν εντοπιστεί σε κουφάλες-δέντρων μαζί με προνύμφες των ειδών *An. plumbeus*, *Oc. geniculatus* και *Orthopodomyia pulchripalpis* και ότι τα τέλεια του τσιμπούν τους ανθρώπους σε σκιαζόμενα μέρη. Οι Alten *et al.* (2000) αναφέρουν ότι το *Ae. cretinus* είναι ένα είδος κουνουπιού που δραστηριοποιείται την άνοιξη και νωρίς το καλοκαίρι, κυρίως σε δασώδεις περιοχές και ανοιχτές εκτάσεις ενώ προτιμάει να αναπαράγεται σε νερο-λακκούβες, κουφάλες δένδρων και μικρές κοιλότητες στα δάση. Σε μελέτη των Caglar *et al.* (2003) στην περιφέρεια Belek της επαρχίας Αντάλια της Τουρκίας, με τη χρήση παγίδων τελείων κουνουπιών (New Jersey light traps και παγίδες CO₂) διαπιστώθηκε ότι τα τέλεια του *Ae. cretinus* συλλέγονταν σε μεγάλους αριθμούς το Μάιο και Ιούνιο (μαζί με το *Cx. pipiens*) και σε μικρότερους τον Ιούλιο, ενώ μετά τον Ιούλιο εξαφανίζονταν οι πληθυσμοί του. Οι ίδιοι ερευνητές αναφέρουν ότι η μέγιστη δραστηριότητα των τελείων του *Ae. cretinus* καταγράφηκε από τις 18:00 έως τις 22:00 (περίπου το 50% των συλλήψεων) ενώ ακολουθούσε έντονη αλλά μικρότερη δραστηριότητα κατά τη διάρκεια της νύκτας (24:00 – 02:00). Καθώς το *Ae. cretinus* έχει παρόμοια βιο-οικολογικά χαρακτηριστικά με το *Ae. albopictus*, οι μέθοδοι δειγματοληψίας των δύο ειδών κουνουπιών πρέπει να είναι κοινοί.

Ωστόσο, πιο πολλά στοιχεία και πληροφορίες σχετικά με την παρουσία, την εξάπλωση, τη βιολογία και την καταπολέμηση του *Ae. cretinus* στο νομό Αττικής αναφέρονται στην Διδακτορική διατριβή του Κολιόπουλου (2011). Ο συγκεκριμένος συγγραφέας μελέτησε, μεταξύ άλλων, την παρουσία και εξάπλωση του *Ae. cretinus* στο Νομό Αττικής με παγίδες ωθεσίας στην ευρύτερη περιοχή του κέντρου της Αθήνας, στα βόρεια προάστια, στην παραλιακή ζώνη του Σαρωνικού, στην ανατολική Αττική και στις δυτικές συνοικίες της Αθήνας για την τριετία 2000-2002. Με βάση τα στοιχεία των δειγματοληψιών από τις παγίδες ωθεσίας, ο συγκεκριμένος συγγραφέας αναφέρει ότι

κατά τη διάρκεια του έτους, το *Ae. cretinus*, είναι δραστήριο τουλάχιστον για 9 μήνες, αδιάλειπτα σχεδόν σε όλες τις περιοχές της συγκεκριμένης μελέτης, με τη δραστηριότητα των θηλυκών για ωοτοκία να αρχίζει την άνοιξη (συνήθως τον Απρίλιο), με τις μέγιστες ωοθεσίες να καταγράφονται το καλοκαίρι και νωρίς το φθινόπωρο, και να σταματάει κατά τα τέλη Οκτώβρη ή αρχές Νοέμβρη.

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.* 2010, Κολιόπουλος 2011).

1.2.3 Το είδος *Aedes (Stegomyia) aegypti*

Κύριο χαρακτηριστικό του είδους είναι ένα σχέδιο με σχήμα λύρας που φέρει το τέλειο άτομο στο επιθωράκιο. Η λύρα σχηματίζεται από δύο εξωτερικές κιτρινόλευκες καμπύλες γραμμές και από δύο εσωτερικές κιτρινόλευκες επίσης παράλληλες ευθείες. Στα πόδια υπάρχουν ευδιάκριτες ανοιχτόχρωμες ταινίες και το τελευταίο τμήμα των οπίσθιων ποδιών είναι τελείως λευκό (Σαββοπούλου-Σουλτάνη *et al.* 2011) (**Εικόνα 25** και **Εικόνα 26**).



Εικόνα 26. Θηλυκό του *Ae. aegypti* μετά από λήψη αίματος.

Στα υποτροπικά κλίματα το *Ae. aegypti* εντοπίζεται σχεδόν πάντα κοντά σε κατοικημένες περιοχές και οι προνύμφες του αναπτύσσονται σε μια μεγάλη ποικιλία μικρών τεχνητών συλλογών νερού τόσο σε εσωτερικούς χώρους όσο και σε εξωτερικούς χώρους σε κήπους εντός ακτίνας 500 μέτρων γύρω από τις κατοικίες όπως για παράδειγμα σε πήλινα δοχεία, δεξαμενές νερού για την αποταμίευση νερού, στέρνες, πιατάκια γλαστρών, άδεια κονσερβοκούτια, σπασμένα μπουκάλια ή μεταχειρισμένα ελαστικά. Εάν υπάρχει βλάστηση γύρω από τις οικίες, οι προνύμφες μπορεί να αναπτυχθούν σε κοιλότητες δέντρων και μασχάλες φύλλων, που γεμίζουν με νερό μετά από βροχή. Επίσης, βρίσκονται σε οποιαδήποτε τεχνητή ή φυσική υδατοσυλλογή στα λιμάνια ή στα πλοία. Το νερό των εστιών είναι μάλλον καθαρό ή περιέχει μικρή ποσότητα οργανικής ύλης. Τα ωά αντέχουν στην ξηρασία και τοποθετούνται κοντά στην επιφάνεια του νερού. Σε θερμοκρασία 27–30°C οι νεαρές προνύμφες εκκολάπτονται μέσα σε 2 ημέρες μετά την ωοτοκία, η νύμφωση πραγματοποιείται μετά από 8 ημέρες και τα τέλεια εξέρχονται από το στάδιο της πούπας συνολικά 9-10 ημέρες μετά την ωοτοκία. Το θηλυκό τρέφεται κυρίως την ημέρα σε σκιερά μέρη και μόνο περιστασιακά κατά τη νύχτα μέσα στις οικίες. Προτιμά το ανθρώπινο αίμα από αυτό των κατοικίδιων ζώων. Τα τέλεια αναπαύονται μέσα στα οικήματα σε ντουλάπια, πίσω από πόρτες κλπ. Δεν μεταναστεύουν σε μεγάλες αποστάσεις και σπάνια απομακρύνονται μερικές εκατοντάδες μέτρα από τις εστίες ανάπτυξης (Becker *et al.* 2010).

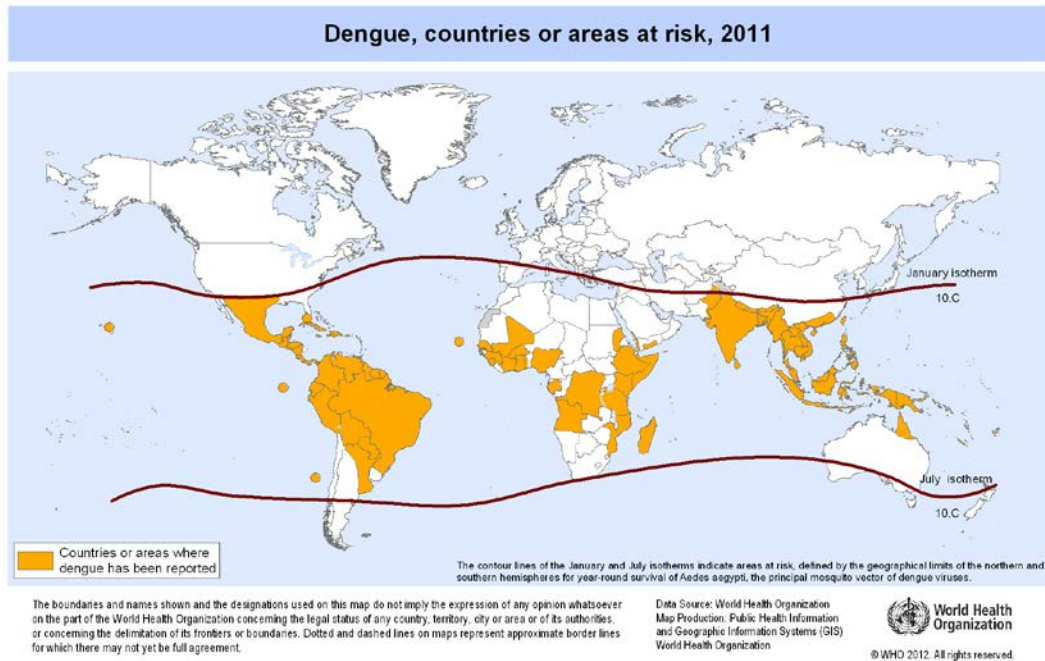
Το *Ae. aegypti* κατάγεται από την Αφρική, θεωρείται εισβάλλον είδος κουνουπιού, και έχει εξαπλωθεί σε τεράστιες εκτάσεις τροπικών κυρίως περιοχών (Becker *et al.* 2010, Medlock *et al.* 2012). Πιθανώς, όπως και το *Ae. albopictus*, εξαπλώθηκε σε ολόκληρο τον κόσμο μετά από την αλλαγή του τρόπου διαβίωσής του και κατάλληλη προσαρμογή του ώστε να μπορεί να αναπτύσσεται σε ανθρωπογενείς εστίες όπως δοχεία και δεξαμενές νερού. Όπως και στο *Ae. albopictus*, το εμπόριο μεταχειρισμένων ελαστικών έχει βοηθήσει στη διασπορά και επανεισαγωγή του είδους αυτού σε νέες χώρες και περιοχές (Groot 1980). Σήμερα θεωρείται κοσμοπολίτικο είδος κουνουπιού και απαντάται στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές καθώς και στις θερμές περιοχές της εύκρατης ζώνης και στα δύο ημισφαίρια (Becker *et al.* 2010). Πιο συγκεκριμένα, βρίσκεται σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές της Αμερικής, της Αφρικής και της Ασίας καθώς και σε νοτιοανατολικές πολιτείες των Η.Π.Α., σε νησιά του Ινδικού Ωκεανού και στη βόρεια Αυστραλία (Medlock *et al.* 2012).

Η διασπορά του περιορίζεται σε περιοχές όπου η μέση θερμοκρασία του πιο κρύου μήνα του χρόνου (ισοθερμία) είναι πάνω από 10 °C και στις οποίες μπορεί να αναπαράγεται καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου. Ορισμένοι πληθυσμοί του συγκεκριμένου

είδους μπορεί να εντοπίζονται τους θερινούς μήνες σε βορειότερες περιοχές, όπως π.χ. στις πολιτείες του Ιλινόις και της Ινδιάννα των Η.Π.Α., αλλά δεν μπορούν να επιβιώσουν κατά τη διάρκεια των κρύων μηνών του χειμώνα. Το γεγονός αυτό αποτρέπει την εγκατάσταση μόνιμων πληθυσμών, μετά την εισαγωγή-εισβολή ατόμων του *Ae. aegypti* σε τέτοιες περιοχές (Becker *et al.* 2010). Η περιορισμένη δυνατότητα εγκατάστασης του *Ae. aegypti* σε βορειότερα κλίματα οφείλεται κυρίως στο γεγονός ότι το είδος αυτό κουνουπιού δεν διαπαύει σε κάποιο στάδιο του βιολογικού του κύκλου όπως συμβαίνει με το *Ae. albopictus*, το οποίο διαπαύει στο στάδιο του ωού (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995, Medlock *et al.* 2012).

Στην Ευρώπη, το *Ae. aegypti* εγκαταστάθηκε στις αρχές του 20^{ου} αιώνα, ενώ μέχρι και το 1945, σε όλες τις μεσογειακές χώρες και στις σημαντικότερες πόλεις-λιμάνια καταγράφονταν σταθεροί πληθυσμοί ή τουλάχιστον περιστασιακές εισαγωγές από το συγκεκριμένο είδος κουνουπιού (Mitchell 1995, Reiter 2010). Πιο συγκεκριμένα, εντοπίζονταν στην Πορτογαλία, την Ισπανία, τη Γαλλία, την πρώην Γιουγκοσλαβία, την Ελλάδα και την Αλβανία ενώ σήμερα έχει εκριζωθεί ή εντοπίζεται σε πολύ περιορισμένη κλίμακα σε χώρες όπου παλαιότερα ήταν πολύ κοινή η παρουσία του (Becker *et al.* 2010). Στην Ελλάδα αναφέρεται ότι η παρουσία του *Ae. aegypti* ήταν αναμφίβολα ευρέως διαδεδομένη στις περισσότερες περιοχές της χώρας μέχρι και τα τέλη της δεκαετίας του '50 (Livadas 1958, Samanidou-Voyadjoglou and Darsie 1993). 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» τη δεκαετία του '50 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 1993, Κολιόπουλος 2011).

Από υγειονομική άποψη το *Ae. aegypti* είναι φορέας πολλών αρμοϊών ενώ θεωρείται ο σημαντικότερος φορέας του ιού του κίτρινου πυρετού από όπου πήρε και το διεθνές κοινό του όνομα: “Yellow fever mosquito”. Επίσης, μαζί με το *Ae. albopictus* είναι οι κύριοι φορείς παγκοσμίως του Δάγκειου και Δάγκειου αιμορραγικού πυρετού, με το *Ae. aegypti* να θεωρείται ο κυριότερος φορέας σε αστικά περιβάλλοντα (Becker *et al.* 2010, Reiter 2010) (**Εικόνα 27**).



Εικόνα 27. Χώρες ή περιοχές όπου αναφέρθηκαν επιδημίες Δάγκειου πυρετού το 2011 (με κίτρινο) και εκείνες που βρίσκονται σε υψηλό κίνδυνο (μεταξύ των δύο γραμμών ισοθεμίας των 10⁰C) λόγω της δραστηριότητας του κύριου φορέα *Ae. aegypti*.

(Πηγή: W.H.O.)

Το γεγονός ότι το *Ae. aegypti* είναι ένα είδος κουνουπιού πολύ καλά προσαρμοσμένο στα αστικά περιβάλλοντα, επιδεικνύει ισχυρή ανθρωποφιλία και μπορεί να τραφεί από πολλούς διαφορετικούς ανθρώπους κατά τη διάρκεια ενός γονοτροφικού κύκλου, αυξάνει την υγειονομική του σημασία σχετικά με την ικανότητα μετάδοσης ασθενειών (Medlock *et al.* 2012)

Σύμφωνα με τους Medlock *et al.* (2012) το *Ae. aegypti* είναι ένα σημαντικό χωροκατακτητικό είδος κουνουπιού το οποίο θα μπορούσε και σήμερα να απειλήσει και πάλι τη δημόσια υγεία στην Ευρώπη, δεδομένου ότι πρόσφατα έχει επαναεγκατασταθεί στη νήσο Μαδέιρα (Almeida *et al.* 2007) και γύρω από τη Μαύρη Θάλασσα στη νότια Ρωσία, Αμπχαζία και Γεωργία (Yunicheva *et al.* 2008). Πρόσφατα, μετά από πολλά χρόνια απουσίας του από την ηπειρωτική Ευρώπη, το *Ae. aegypti* εντοπίστηκε για πρώτη φορά στην Ολλανδία το 2010 σε μεταχειρισμένα ελαστικά, όμως το εύκρατο κλίμα και η άμεση εφαρμογή μέτρων καταπολέμησης απέτρεψαν την εγκατάστασή του σε εκείνη την περιοχή (Enserink 2010, Scholte *et al.* 2010).

Το *Ae. aegypti* παρόλο που δεν διαπαύει όπως το *Ae. albopictus*, μπορεί να αναπτύσσεται σε προστατευμένα μέρη σε κατοικημένους χώρους, όπου προφυλάσσεται από τις αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες και αναπαράγεται σε πληθώρα μικρών εστιών

νερού (Medlock *et al.* 2012). Ως εκ τούτου, δεν μπορεί να αποκλειστεί η εκ νέου ευρεία εξάπλωση του *Ae. aegypti* στη νότια Ευρώπη, λόγω κλιματικών συνθηκών, εφόσον επανα-εισαχθεί στις περιοχές αυτές (Reiter 2010). Έτσι, ιδιαίτερη ανησυχία προκαλεί η ενδεχόμενη είσοδος του στην ηπειρωτική Ευρώπη από τις νήσους Μαδέιρα, και η εξάπλωσή του σε περιοχές όπου στο παρελθόν είχε προκαλέσει μεγάλες επιδημίες από τον Κίτρινο και Δάγκειο πυρετό (Fontenille *et al.* 1997).

Ειδικό Μέρος

Ειδικό Μέρος

2. Κεφάλαιο 2^ο – Διασπορά του *Aedes albopictus* στην Αττική και εποχική διακύμανση

2.1 Εισαγωγή

Όπως ήδη περιγράφηκε στο Γενικό μέρος της παρούσας διατριβής το 2008 αναφέρθηκε για πρώτη φορά η παρουσία του *Ae. albopictus* στην Αθήνα με τον εντοπισμό σταθερά αναπαραγόμενου πληθυσμού του στην περιοχή της Ριζούπολης (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008).

Καθώς το *Ae. albopictus* είναι τυπικό είδος κουνουπιού που προτιμά να εναποθέτει τα ωά του σε μικρές συλλογές νερού, ένας από τους καταλληλότερους, αν όχι ο πλέον κατάλληλος τρόπος - μέθοδος, που χρησιμοποιείται διεθνώς για τη μελέτη της παρουσίας του σε μια περιοχή είναι οι παγίδες ωοθεσίας (Fay and Eliason 1966, Pratt and Jakob 1967, Evans and Brevier 1969, Jakob and Brevier 1969, Thaggard and Eliason 1969, Chadee and Corbet 1987, Freier and Francy 1991, Service 1993, Bellini *et al.* 1996, Reiter and Nathan 2001, E.C.D.C. 2007b, Becker *et al.* 2010, E.C.D.C. 2012).

Ο αριθμός των παγίδων ωοθεσίας που πρέπει να τοποθετηθεί σε κάποια περιοχή μπορεί να διαφέρει και πάντα απασχολεί τους ερευνητές κατά το σχεδιασμό 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 περίπου 2 παγίδες ωοθεσίας ανά 1 Km² ενώ οι Beehler and 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.

Σχετικά με το μεσοδιάστημα μεταξύ των διαδοχικών ελέγχων των παγίδων ωοθεσίας, σε σχετικό πρωτόκολλο του Αμερικάνικου στρατού για δειγματοληψίες του *Ae. albopictus*

σε περιοχές των Η.Π.Α. με παγίδες ωθεσίας (Harlan 1989) τονίζεται ότι, οι παγίδες θα πρέπει να ελέγχονται σε εβδομαδιαία διαστήματα και μάλιστα την ίδια ημέρα της εβδομάδας, ενώ ο έλεγχος κάθε δύο εβδομάδες δεν επιτρέπεται επειδή τα ωά που είναι προσκολλημένα στο εσωτερικό της επιφάνειας της παγίδας μπορεί να εκκολαφθούν. Για την απομάκρυνση των προσκολλημένων ωών, το εσωτερικό της παγίδας θα πρέπει να καθαρίζεται επιμελώς με υγρό σφουγγάρι. Σύμφωνα με τους Frank and Lynn (1982) και Ritchie (1984) οι δειγματοληψίες στις παγίδες ωθεσίας στην περίπτωση του *Ae. aegypti* σε διαστήματα μικρότερα των 7 ημερών δεν ενδείκνυνται καθώς τότε δεν μπορούν να εντοπιστούν χαμηλοί πληθυσμοί του κουνουπιού σε μια περιοχή. Επιπλέον, τα 7-ήμερα διαστήματα, σε σχέση με τα συντομότερα, επιτρέπουν την τοποθέτηση περισσότερων παγίδων και αυξάνουν την στατιστική αξιοπιστία των δεδομένων (περισσότερες συλλογές ωών). Οι συγγραφείς αυτοί επισημαίνουν βεβαίως ότι διαστήματα ελέγχου μεγαλύτερα των 7 ημερών αυξάνουν τον κίνδυνο της απώλειας ενός ποσοστού των ωών λόγω της παρουσίας αρπακτικών εντόμων ή της εκκόλαψής τους που μπορεί να οδηγήσει στην παραγωγή προνυμφών και τελείων κουνουπιών. Συνεπώς, για συνεχόμενες δειγματοληψίες του *Ae. aegypti* προτείνουν τις 7 ημέρες, ως το πιο οικονομικό και αποτελεσματικό μεσοδιάστημα ανάμεσα σε διαδοχικούς ελέγχους των παγίδων ωθεσίας. Ομοίως, για το *Ae. albopictus* οι Carrieri *et al.* (2009) αναφέρουν ότι μία εβδομάδα (7 ημέρες) είναι το μέγιστο διάστημα μεταξύ των ελέγχων των παγίδων ωθεσίας ώστε να αποφευχθεί να μετατραπεί η παγίδα σε εστία αναπαραγωγής κουνουπιών, εκτός εάν στο νερό της παγίδας προστεθεί κάποιο εντομοκτόνο.

Συνοπτικά, το 7-ήμερο διάστημα μεταξύ των ελέγχων των παγίδων ωθεσίας για δειγματοληψίες του *Ae. albopictus* έχει χρησιμοποιηθεί από πολλούς ερευνητές σε διάφορα μέρη του κόσμου όπου δραστηριοποιείται το είδος αυτό, όπως σε χώρες της Ασίας (Μαλαισία και Σιγκαπούρη) (Lee 1992, Ai-leen and Song 2000, Lian *et al.* 2006), στην πολιτεία Φλόριντα των Η.Π.Α. (Hornby and Miller 1994, Hornby *et al.* 1994, Hornby and Opp 1994, O'Meara *et al.* 1995a), στη Βόρεια Καρολίνα των Η.Π.Α. (Richards *et al.* 2006), στην Βραζιλία (Ríos-Velásquez *et al.* 2007), στην Ισπανία (Roiz *et al.* 2008) και στην γειτονική Ιταλία (Toma *et al.* 2003, Albieri *et al.* 2010, Bellini *et al.* 2010).

Σύμφωνα με τους Hawley (1988) και Estrada-Franco and Craig (1995), πέραν της θερμοκρασίας και της φωτοπεριόδου, ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την εκκόλαψη των ωών του *Ae. albopictus* είναι η ποσότητα του διαλυμένου οξυγόνου (O_2) στο νερό. Χαμηλά επίπεδα O_2 στο νερό που συνήθως σχετίζονται με αυξημένη μικροβιακή δραστηριότητα και αυξημένη ποσότητα θρεπτικών ουσιών αυξάνουν την εκκολαπτικότητα των ωών. Μετά την εμβάπτιση του ωού στο νερό, μικροοργανισμοί, λόγω αυξημένης

μικροβιακής δραστηριότητας, επικάθονται στην επιφάνεια του ωού και μειώνουν το ποσό του προσλαμβανομένου O₂ διεγείροντας έτσι την εκκόλαψή του (Edgerly *et al.* 1993). Για την εκκόλαψη των ωών του *Ae. albopictus* στο εργαστήριο μπορεί να απαιτηθούν περισσότερες από μία εμβαπτίσεις στο νερό, ενώ ο αριθμός των εμβαπτίσεων, λόγω περιορισμένης εκκολαπτικότητας, επηρεάζεται από παράγοντες όπως η αφυδάτωση των ωών και η συγκέντρωση O₂ στο νερό (Hawley 1988).

2.2 Σκοπός της μελέτης

Σκοπός της μελέτης του παρόντος κεφαλαίου ήταν η διερεύνηση της διασποράς και της εποχικής διακύμανσης του πληθυσμού του *Ae. albopictus* σε μια συγκεκριμένη περιοχή στην ευρύτερη αστική περιοχή της Αθήνας που οριοθετήθηκε από πέντε επιμέρους περιοχές, γύρω από το πρώτο σημείο εντοπισμού του είδους αυτού. Η μελέτη της διασποράς και εποχικής διακύμανσης των πληθυσμών του *Ae. albopictus* πραγματοποιήθηκε με εβδομαδιαίες συλλογές των ωών του με τη χρήση παγίδων ωοθεσίας, αδιάλειπτα για διάστημα 17 μηνών (71 εβδομάδων), από τις 17 Αυγούστου 2009 έως τις 31 Δεκεμβρίου 2010.

Πιο συγκεκριμένα πραγματοποιήθηκε:

1. Καταγραφή της παρουσίας του *Ae. albopictus* στην ευρύτερη περιοχή της πρώτης καταγραφής του στην Αθήνα.
2. Παρακολούθηση της εποχικής διακύμανσης της αναπαραγωγικής του δραστηριότητας από τον Αύγουστο του 2009 έως το Δεκέμβριο του 2010.
3. Για συγκεκριμένη χρονική περίοδο (από 17 Αυγούστου έως 31 Δεκεμβρίου) καταγράφηκε και έγινε σύγκριση της αναπαραγωγικής του δραστηριότητας μεταξύ των 5 περιοχών παρακολούθησης και των 2 διαδοχικών ετών (2009, 2010).

Επισημαίνεται ότι στα πλαίσια της συγκεκριμένης έρευνας, η διασπορά και η εποχική διακύμανση του πληθυσμού του *Ae. albopictus* μελετήθηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα σε περιοχή της Αττικής.

2.3 Υλικά και Μέθοδοι

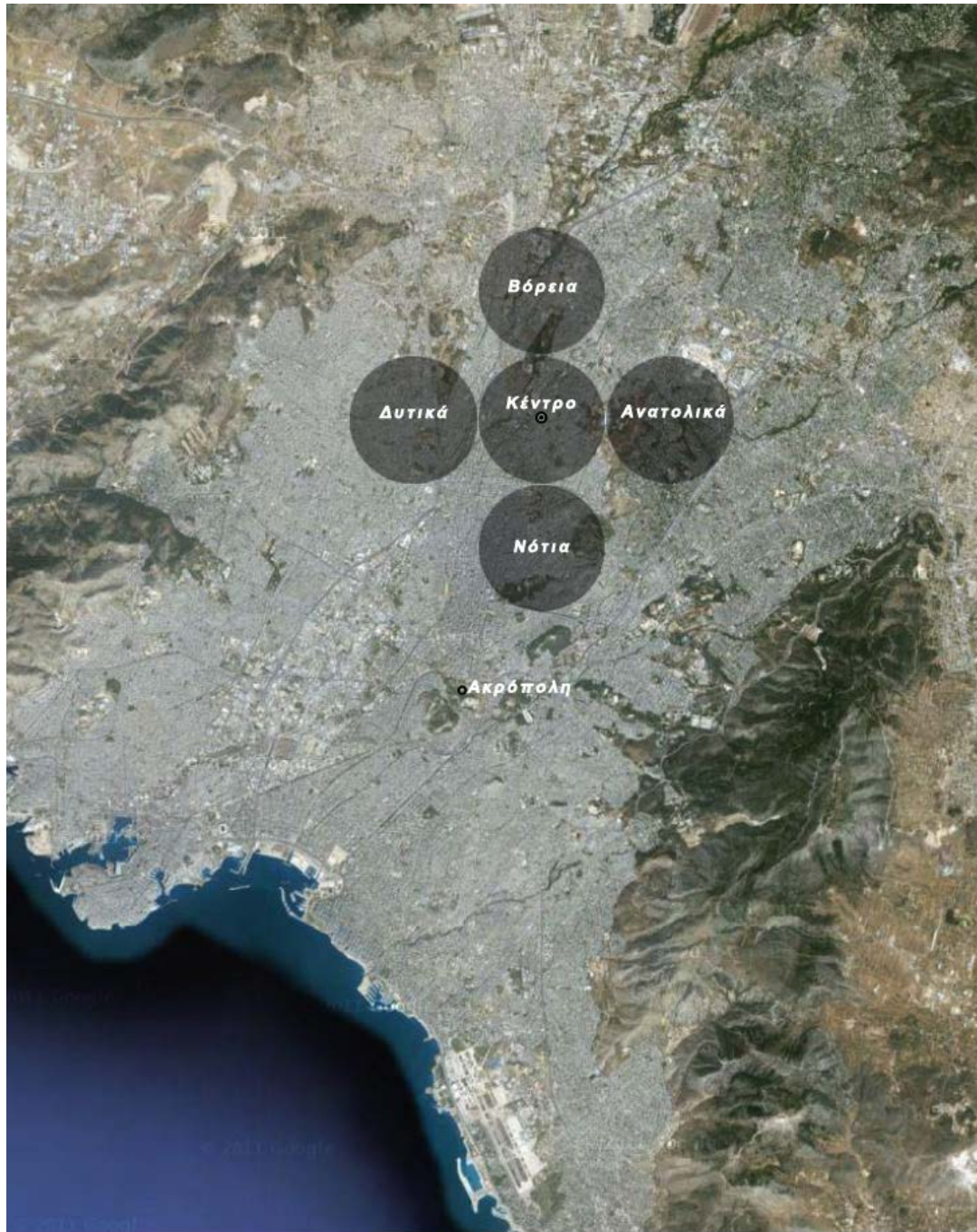
2.3.1 Οριοθέτηση της περιοχής μελέτης – Περιοχή δειγματοληψιών

Για την χωρο-διάταξη των παγίδων ωοθεσίας ακολουθήθηκε με σχετικές τροποποιήσεις το σχέδιο των Roiz *et al.* (2008), οι οποίοι μελέτησαν τη διασπορά και πληθυσμιακή αφθονία του *Ae. albopictus* σε περιοχή κοντά στην Βαρκελώνη της Ισπανίας.

Στην παρούσα μελέτη, με κέντρο την πρώτη επιβεβαιωμένη εστία ανάπτυξης πληθυσμού του *Ae. albopictus* στην περιοχή της Ριζούπολης στην Αθήνα, εγκαταστάθηκε το διάστημα 10 έως 16 Αυγούστου του 2009 ένα δίκτυο παγίδων ωοθεσίας τόσο στην ευρύτερη περιοχή της Ριζούπολης όσο και σε 4 επιπλέον περιοχές βόρεια, νότια, ανατολικά και δυτικά αυτής, έκτασης περίπου 5 km² η κάθε μία. Έτσι, όλη η υπό μελέτη περιοχή είχε συνολικά έκταση περίπου 25 km² (25.000 στρέμματα) και αποτελούνταν από 5 υπο-περιοχές οι οποίες ονομάστηκαν βάσει του γεωγραφικού τους προσανατολισμού ως εξής: Κέντρο, Βόρεια, Νότια, Δυτικά και Ανατολικά (**Εικόνα 28**). Πιο συγκεκριμένα, το γεωγραφικό στίγμα του κέντρου της υπό μελέτης περιοχής στην Ριζούπολη ήταν 38⁰ 01' 40'' Βόρεια και 23⁰ 44' 43'' Ανατολικά, ενώ τα ακραία γεωγραφικά όρια της συνολικής υπό μελέτης περιοχής εντοπίζονταν σε γεωγραφικό πλάτος από 37⁰ 59' 24'' έως 38⁰ 03' 49'' Βόρεια και γεωγραφικό μήκος από 23⁰ 41' 54'' έως 23⁰ 47' 27'' Ανατολικά.

Εκτός της Ριζούπολης, η συνολική περιοχή δειγματοληψιών περιελάμβανε τοποθεσίες των περιοχών της Κυψέλης και των Πατησίων του Δήμου Αθηναίων καθώς επίσης και τοποθεσίες των Δήμων Γαλατσίου, Νέας Ιωνίας, Νέου Ηρακλείου, Νέας Χαλκηδόνας, Νέας Φιλαδέλφειας, Μεταμόρφωσης, Αγίων Αναργύρων, Ιλίου, Φιλοθέης, Ψυχικού και Αμαρουσίου. Η υπό μελέτη περιοχή περιελάμβανε τοποθεσίες και γειτονιές Δήμων με παρόμοια δημογραφικά και περιβαλλοντικά χαρακτηριστικά με εξαίρεση ίσως την Ανατολική υπο-περιοχή της μελέτης. Στις υπο-περιοχές Κέντρο, Βόρεια, Δυτικά και Νότια ανήκαν πυκνοκατοικημένες περιοχές της Αθήνας με καθαρά αστικό περιβάλλον και ελάχιστο «πράσινο». Αντίθετα, η υπο-περιοχή Ανατολικά (κυρίως Φιλοθέη – Ψυχικό) θα μπορούσε να χαρακτηριστεί ως ημι-αστική καθώς περιελάμβανε γειτονιές με λιγότερη δόμηση, λιγότερους κατοίκους και πολύ «πράσινο» σε κήπους σπιτιών και δημόσιους χώρους (πάρκα, πλατείες κ.α.).

Για την οριοθέτηση των 5 υπο-περιοχών εγκατάστασης των παγίδων ωοθεσίας και τον εντοπισμό των σημείων τοποθέτησης των παγίδων χρησιμοποιήθηκε GPS (Global Positioning System) και το πρόγραμμα Google-earth της εταιρείας Google.



Εικόνα 28. Οριοθέτηση των 5 υπο-περιοχών (Κέντρο, Βόρεια, Ανατολικά, Νότια και Δυτικά) γύρω από το σημείο της πρώτης καταγραφής του *Ae. albopictus* στην ευρύτερη αστική περιοχή της Αθήνας

2.3.2 Μέθοδοι δειγματοληψίας

Παγίδες φωθεσίας

Οι παγίδες φωθεσίας αποτελούνταν από πλαστικά μαύρα δοχεία (γλάστρες χωρίς τρύπες στον πυθμένα) χωρητικότητας 1 λίτρου με ύψος 12,5 cm, εσωτερική διάμετρο ανοίγματος 12 cm και διάμετρο βάσης 10 cm. Τα δοχεία συμπληρώνονται κατά το ήμισυ

περίπου (500 ml) με πεπαλαιωμένο (αποχλωριωμένο) νερό ενώ έφεραν μικρή οπή σε απόσταση 5 cm από το χείλος για την αποφυγή υπερχειλίσης. Ως υπόστρωμα ωθοεσίας χρησιμοποιήθηκαν ξύλινα ιατρικά γλωσσοπίεστρα, μήκους 15 cm και πλάτους 2 cm. Προκειμένου να είναι δυνατή η εύκολη και στερεή προσκόλληση των ωών στην επιφάνειά τους, τα γλωσσοπίεστρα «χαράσσονταν» από την πλευρά που πρόκειται να εκτεθεί προς ωθοεσία με την βοήθεια εργαλείου απολέπισης ψαριών. Τα ξύλινα γλωσσοπίεστρα βυθίζονταν εντός του νερού και στερεώνονταν σε κάθετη θέση εντός του δοχείου με τη βοήθεια μεταλλικού σύρματος. Οι παγίδες ωθοεσίας που χρησιμοποιήθηκαν είναι ελαφρώς τροποποιημένες σε σχέση με αυτές που αναφέρθηκαν στο γενικό μέρος της παρούσας διατριβής (παράγραφος 1.2.1.5.1) και με παρόμοιες παγίδες ωθοεσίας που έχουν χρησιμοποιηθεί για τη δειγματοληψία του *Ae. albopictus* και άλλων ειδών κουνουπιών, που αναπαράγονται σε μικρές συλλογές νερού, σε διάφορα μέρη του κόσμου και αναφέρονται στη σχετική βιβλιογραφία (Fay and Eliason 1966, O'Meara *et al.* 1995a, Bellini *et al.* 1996, Toma *et al.* 2003, Favaro *et al.* 2008, Roiz *et al.* 2008).



Εικόνα 29. Παγίδα ωθοεσίας

Τοποθέτηση και έλεγχος των παγίδων ωθοεσίας

Σε κάθε μία από τις 5 υπο-περιοχές της παρούσας μελέτης τοποθετήθηκαν 10 παγίδες ωθοεσίας (συνολικά 50 παγίδες) σε κατάλληλα σημεία σε απόσταση τουλάχιστον 500 μέτρων μεταξύ των γειτονικών παγίδων, ώστε η τελική πυκνότητα να είναι περίπου 1 παγίδα ανά 0,5 km². Η ελάχιστη απόσταση των 500 μέτρων μεταξύ γειτονικών παγίδων επιλέχτηκε λόγω της μικρής σε ακτίνα πτήσης του *Ae. albopictus* από την εστία ανάπτυξής, η οποία όπως αναφέρθηκε είναι γύρω στα 50-100 μέτρα (max 300-500 μέτρα). Συνεπώς,

κατά τη διάρκεια μιας εβδομαδιαίας δειγματοληψίας, με τη συγκεκριμένη απόσταση, περιορίζεται το ενδεχόμενο συλλογής ωών από διαφορετικές παγίδες του δικτύου τα οποία να εναποτέθηκαν από το ίδιο θηλυκό κουνούπι.

Η παγιδοθέτηση πραγματοποιήθηκε σε δημόσια μέρη πιθανής παρουσίας του *Ae. albopictus*, όπως πάρκα, πλατείες, ρέματα και κοιμητήρια ενώ οι παγίδες ωοθεσίας τοποθετούνταν στο έδαφος και σε σημεία ευπρόσιτα, με βλάστηση, σκιά και κατά το δυνατό κοντά σε δυνητικές φυσικές εστίες ανάπτυξης κουνουπιών (**Εικόνες 30 και 31**).



Εικόνα 30. Πάρκο σε τοποθεσία του Αμαρουσίου (υπο-περιοχή Ανατολικά) (αριστερά) και το 2^ο Νεκροταφείο (υπο-περιοχή Κέντρο) (Δεξιά).



Εικόνα 31. Παγίδα ωοθεσίας κάτω από θάμνο (αριστερά) και παγίδα ωοθεσίας κοντά σε συντριβάνι (δεξιά).

Ο έλεγχος κάθε παγίδας ωοθεσίας πραγματοποιούνταν κάθε 7 ημέρες και περιελάμβανε τις εξής ενέργειες:

- i. Τη συλλογή του ξύλινου γλωσσοπίεστρου και την τοποθέτησή του μεμονωμένα εντός πλαστικής σακούλας δειγματοληψίας.

- ii. Το άδειασμα του περιεχομένου της παγίδας (νερό με οργανική ουσία και ίσως προνύμφες κουνουπιών).
- iii. Το επιμελές καθάρισμα του εσωτερικού της παγίδας με διηθητικό χαρτί ώστε να απομακρυνθούν ωά *Stegomyia* που είχαν τυχόν εναποτεθεί στα τοιχώματα αυτού.
- iv. Το καλό ξέπλυμα της παγίδας με νερό.
- v. Την ανανέωση του νερού μέχρι την οπή υπερχειλίσσης.
- vi. Την ανανέωση του γλωσσοπίεστρου.
- vii. Την ανανέωση ολόκληρης της παγίδας σε περίπτωση απώλειας.
- viii. Τη μεταφορά των δειγμάτων (γλωσσοπίεστρα) στο εργαστήριο, για την καταμέτρηση των ωών *Aedes* sp. με τη βοήθεια στερεοσκοπίου.

Η εβδομαδιαία παρακολούθηση του δικτύου παγίδων ωοθεσίας, με τον έλεγχο των παγίδων που προαναφέρθηκε, πραγματοποιήθηκε αδιάλειπτα από τον Αύγουστο του 2009 (10-16 Αυγούστου) για διάστημα 71 εβδομάδων (17 μηνών) έως και τις 31 Δεκεμβρίου του 2010, συμπεριλαμβανομένης και της χειμερινής περιόδου.

2.3.3 Μετεωρολογικά δεδομένα

Τα μετεωρολογικά δεδομένα (μέση ημερήσια θερμοκρασία και βροχόπτωση) της περιοχής δειγματοληψιών για το διάστημα της μελέτης, συλλέχθηκαν από το μετεωρολογικό σταθμό του Εθνικού Αστεροσκοπείου Αθηνών που βρίσκεται στην περιοχή του Ψυχικού (υπο-περιοχή Ανατολικά της μελέτης). Για τις ανάγκες της μελέτης υπολογίστηκαν οι μέσες εβδομαδιαίες τιμές θερμοκρασίας και βροχόπτωσης.

2.3.4 Εργαστηριακές τεχνικές

Μεταχείριση των υποστρωμάτων ωοθεσίας - εκκόλαψη των ωών και ανάπτυξη των προνυμφών

Το σύνολο των συλλεχθέντων γλωσσοπιέστρων εξετάζονταν προσεκτικά στο εργαστήριο, με τη βοήθεια στερεοσκοπίου για την παρουσία ωών κουνουπιών του γένους *Aedes* (**Εικόνα 32**). Με την στερεοσκοπική παρατήρηση καταμετρούνταν ο αριθμός τόσο των μη-εκκολαφθέντων ωών όσο και των ήδη εκκολαφθέντων ωών. Τα ωά που είχαν ήδη εκκολαφθεί στο γλωσσοπίεστρο της παγίδας ωοθεσίας πριν τη συλλογή τους ήταν εκείνα στα οποία το κορυφαίο τμήμα του κελύφους τους έλειπε ή ήταν ανοικτό σαν «πώμα» καθώς είχε προηγουμένως εξέλθει η νεοεκκολαφθείσα προνύμφη. Η ταυτοποίηση του είδους κουνουπιού από το στάδιο του ωού ήταν αδύνατη, καθώς δεν υπάρχει διχοτομική

κλείδα στη σχετική βιβλιογραφία για τη διάκριση των ωών του *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*. Για το λόγο αυτό η ταυτοποίηση του είδους πραγματοποιήθηκε από το στάδιο του τελείου κουνουπιού μετά από εκκόλαψη των ωών και ανάπτυξη των προνυμφών.



Εικόνα 32. Υπόστρωμα ωοθεσίας (ξύλινο ιατρικό γλωσσοπίεστρο) με ωά *Aedes*.

Αναλυτικότερα, το σύνολο των συλλεχθέντων γλωσσοπιέστρων που έφεραν ωά *Aedes* βυθίζονται ατομικά εντός διάφανων πλαστικών δοχείων, χωρητικότητας 300 ml, που καλύπτονταν με τούλι και συμπληρώνονταν με αποχλωριωμένο νερό (~200 ml) και μικρή ποσότητα κατάλληλης ιχθυοτροφής (JBL Novo Tom 10 % Artemia) προκειμένου να επωαστούν και να εκκολαφθούν τα ωά (**Εικόνα 33**). Στην περίπτωση που από κάποιο υπόστρωμα (γλωσσοπίεστρο) δεν εκκολάπτονταν κανένα από τα συλλεχθέντα ωά για διάστημα 7-10 ημερών, το υπόστρωμα αφήνονταν στις συνθήκες του δωματίου να στεγνώσει για 24 ώρες και ακολουθούσε δεύτερη εμφάνιση προκειμένου να διεγερθεί η διαδικασία εκκόλαψης.

Στη συνέχεια, οι εκκολεφθείσες προνύμφες αναπτύσσονταν στο ίδιο δοχείο (**Εικόνα 33**) με την προσθήκη μικρής ποσότητας ιχθυοτροφής σε τακτικά διαστήματα ώστε να αναπτύσσονται σε συνθήκες αφθονίας (*ad libitum*) τροφής αλλά και χώρου. Προκειμένου να εξασφαλίζεται ο επαρκής χώρος ανάπτυξης των προνυμφών και να αποφεύγονται φαινόμενα ανταγωνισμού ή και θήρευσης/κανιβαλισμού μεταξύ των προνυμφών, στην περίπτωση υψηλού συνωστισμού, οι προνύμφες διαμοιράζονταν σε περισσότερα του ενός δοχεία με νερό και τροφή. Οι προνύμφες τρέφονταν με αυτό τον τρόπο μέχρι το στάδιο της νύμφης και τελικά την έξοδο των τελείων κουνουπιών. Τα τέλεια συλλέγονταν από κάθε δοχείο εκκόλαψης των ωών και ανάπτυξης των προνυμφών/νυμφών με τη βοήθεια αναρροφητήρα και θανατώνονταν με τοποθέτηση στους -15°C .

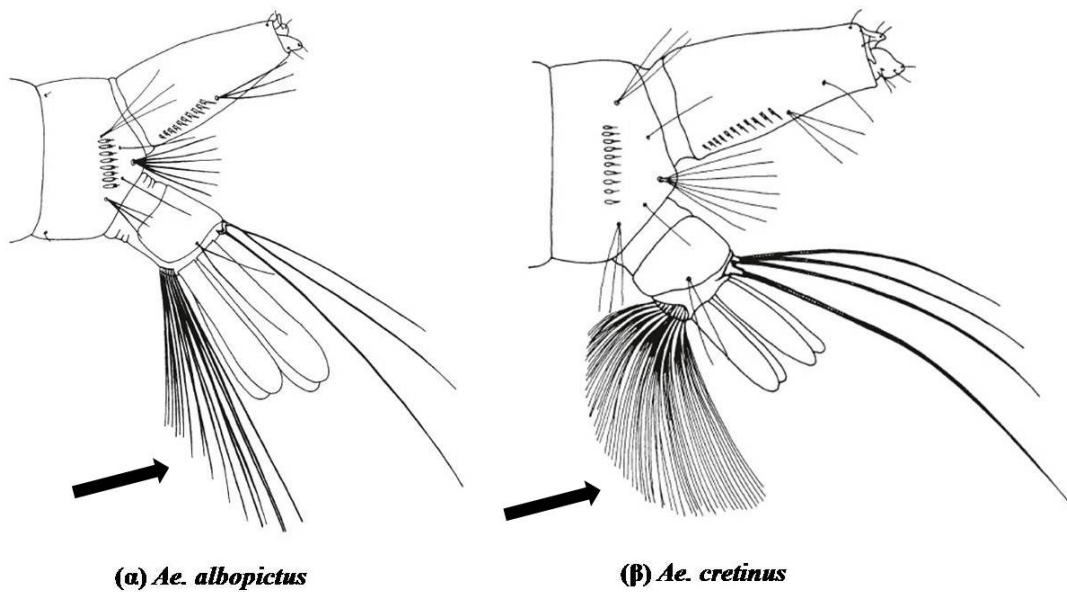
Όλη η μεταχείριση των ωών και των προνυμφών στα δοχεία, έως και την έξοδο των τελείων, που περιγράφηκε παραπάνω, πραγματοποιήθηκε σε χώρο (δωμάτιο 3 x 3 m) με ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας (25-26°C) και φωτοπεριόδου (16Φ:8Σ) (**Εικόνα 33**).



Εικόνα 33. Υπόστρωμα ωοθεσίας (γλωσσοπίεστρο) εντός δοχείου με νερό και τροφή (αριστερά) και δοχεία εκκόλαψης ωών και ανάπτυξης προνυμφών/νυμφών σε χώρο του Μ.Φ.Ι. σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας (25-26°C) και φωτοπεριόδου (16Φ:8Σ) (δεξιά).

Ταυτοποίηση του είδους κουνουπιού από το στάδιο του τελείου

Για την υπερκέραση των προβλημάτων θνησιμότητας των προνυμφών/νυμφών αλλά και του ενδεχόμενου ενδοειδικού ή διειδικού ανταγωνισμού ή και θήρευσης μεταξύ των προνυμφών στα δοχεία ανάπτυξης, η ταυτοποίηση του είδους θα μπορούσε να γίνει από το στάδιο της προνύμφης καθώς υπάρχουν σχετικές διχοτομικές κλειδες για τις προνύμφες κουνουπιών 4^{ης} ηλικίας και μάλιστα των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* (Darsie and Samanidou-Voyadjoglou 1997, Darsie 1999). Έτσι, θα ήταν δυνατή η ταυτοποίηση μεγαλύτερου αριθμού συλλεχθέντων ωών σε σχέση με την ταυτοποίηση από το στάδιο του τελείου. Ωστόσο, για την ταυτοποίηση του είδους από το στάδιο της προνύμφης θα έπρεπε να πραγματοποιηθούν ατομικά μικροσκοπικά παρασκευάσματα για τις προνύμφες από τον ιδιαίτερα μεγάλο αριθμό ωών που συλλέχτηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη, κάτι το οποίο ήταν πρακτικά αδύνατο. Επιπλέον, σύμφωνα με τους Darsie and Samanidou-Voyadjoglou (1997), Darsie (1999) και Σαμανίδου-Βογιατζόγλου (2011), η μόνη διαφορά μεταξύ των προνυμφών 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* και του *Ae. cretinus* είναι δυσδιάκριτη και εντοπίζεται στην ύπαρξη διακλάδωσης (branching) των 4-X σμηρίγγων στο ουραίο ριπίδιο της προνύμφης (cratal setae) (**Εικόνα 34**). Συγκεκριμένα, στο *Ae. albopictus* οι σμηρίγγες αυτές είναι απλές ενώ στο *Ae. cretinus* οι περισσότερες είναι απλές αλλά κάποιες είναι διπλές (διακλαδισμένες).



Εικόνα 34. Απλές (αριστερά) και διακλαδισμένες (δεξιά) σμήριγγες στο ουραίο ριπίδιο της προνύμφης, του *Ae. albopictus* (α) και *Ae. cretinus* (β), αντίστοιχα.

Επομένως, η ασφαλής ταυτοποίηση του είδους πραγματοποιήθηκε από το στάδιο του τελείου με τη βοήθεια των διχοτομικών κλειδών για τέλεια θηλυκά κουνούπια των Darsie and Samanidou-Voyadjoglou (1997) και Darsie (1999). Καθώς το σύνολο των τελείων κουνουπιών που προέκυψαν ανήκαν στα είδη *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*, η αναγνώριση του είδους περιορίστηκε πρακτικά στις τρεις (3) μορφολογικές διαφορές μεταξύ των δύο αυτών ειδών *Stegomyia* και οι οποίες αναφέρονται στις παραπάνω κλείδες και περιγράφονται συνοπτικά από τους Patsoula *et al.* (2006) (βλέπε παράγραφο 1.2.2).

2.3.5 Επεξεργασία των δεδομένων – Στατιστική ανάλυση

Η διασπορά και η εποχική διακύμανση-αφθονία του πληθυσμού του *Ae. albopictus* στη συνολική υπό μελέτη περιοχή, για κάθε εβδομαδιαία δειγματοληψία, υπολογίστηκαν αρχικά με τις εξής παραμέτρους:

- i. Το ποσοστό (%) των θετικών παγίδων. Η συγκεκριμένη παράμετρος δείχνει την παρουσία του είδους στην υπό μελέτη περιοχή σε κάθε εβδομαδιαία δειγματοληψία.
- ii. Το μέσο αριθμό ωών ανά παγίδα. Η συγκεκριμένη παράμετρος δείχνει την αφθονία του είδους στην υπό μελέτη περιοχή σε κάθε εβδομαδιαία δειγματοληψία.

Κατά τον υπολογισμό του ποσοστού (%) των θετικών παγίδων και του μέσου αριθμού ωών ανά παγίδα, ανά εβδομαδιαία δειγματοληψία, δεν συμπεριλήφθησαν οι παγίδες

που είχαν χαθεί. Επιπλέον, ως θετικές χαρακτηρίστηκαν εκείνες οι παγίδες στα υποστρώματα ωοθεσίας των οποίων καταγράφηκε τουλάχιστον ένα (1) ωό. Ομοίως, ως θετικά δείγματα χαρακτηρίστηκαν τα υποστρώματα ωοθεσίας (γλωσσοπίεστρα) στα οποία καταγράφηκε τουλάχιστον ένα (1) ωό.

Θα πρέπει να τονιστεί ότι η παρουσία του είδους (% θετικών παγίδων) με τη συγκεκριμένη μέθοδο δειγματοληψίας (συλλογές ωών) υποδηλώνει ουσιαστικά την παρουσία αναπαραγωγικής δραστηριότητας του είδους. Ομοίως, η πληθυσμιακή αφθονία του είδους, που αποτυπώθηκε με τον μέσο αριθμό ωών ανά παγίδα, αντιπροσωπεύει την αφθονία των σεξουαλικά δραστήριων θηλυκών κουνουπιών. Συνεπώς, οι συλλογές-καταγραφές των ωών από τις παγίδες ωοθεσίας υποδηλώνουν την αναπαραγωγική δραστηριότητα των σεξουαλικά δραστήριων θηλυκών κουνουπιών και αποτελούν περισσότερο μία ένδειξη του πληθυσμού των κουνουπιών με έμμεσο τρόπο παρά μία άμεση εκτίμηση του πληθυσμού, όπως αναφέρουν και οι Roiz *et al.* (2008).

Επιπλέον, για συγκεκριμένη χρονική περίοδο δραστηριότητας του *Ae. albopictus* από τις 17 Αυγούστου έως τις 31 Δεκεμβρίου πραγματοποιήθηκε σύγκριση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας, και συνεπώς της πληθυσμιακής αφθονίας του κουνουπιού, μεταξύ των 5 υπο-περιοχών και των δύο διαδοχικών ετών, 2009 και 2010, της μελέτης. Για το σκοπό αυτό τέθηκαν οι παράγοντες *υπο-περιοχή* και *έτος*. Έτσι, για κάθε μία από τις 5 περιοχές της μελέτης και για το συγκεκριμένο διάστημα των 19 εβδομάδων, υπολογίστηκαν ο μέσος αριθμός ωών/εβδομάδα/παγίδα και το μέσο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα, υπολογίζοντας αρχικά τους μέσους αριθμούς από τις 19 εβδομάδες δειγματοληψιών, για 10 παγίδες (επαναλήψεις, n=10). Η επίδραση των παραγόντων *υπο-περιοχή* (με 5 επίπεδα = υπο-περιοχές) και *έτος* (με 2 επίπεδα = έτη) στον αριθμό ωών ανά εβδομάδα ανά παγίδα και στο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων ανά παγίδα (εξαρτημένες μεταβλητές) προσδιορίστηκε με την ανάλυση διασποράς δύο παραγόντων (two way Analysis of Variance - ANOVA) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ (Sokal and Rohlf 1995).

Επειδή τα δεδομένα αρχικά δεν ακολουθούσαν την κανονική κατανομή και δεν υπήρχε ομοιογένεια διασποράς (ομοσκεδαστικότητα), πριν τη στατιστική ανάλυση τα δεδομένα του αριθμού των ωών ανά εβδομάδα μετατράπηκαν σε τετραγωνική ρίζα του $(x+1)$ [$\sqrt{x+1}$] και του ποσοστού (%) θετικών δειγμάτων μετατράπηκαν σε τόξο ημιτόνου x [$\arcsin(x)$]. Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 για Microsoft Windows (SPSS 2004).

2.4 Αποτελέσματα

2.4.1 Αριθμός ωών στις παγίδες και εξερχόμενων τελείων κουνουπιών *Aedes* στο εργαστήριο

Στον Πίνακα 3 που ακολουθεί παρουσιάζονται ο αριθμός δειγμάτων (ξύλινων γλωσσοπιέστρων), ωών και εξερχόμενων τελείων κουνουπιών για κάθε υπο-περιοχή καθ' όλη τη δειγματοληπτική περίοδο (17 Αυγ. 2009 – 31 Δεκ. 2010). Από τα αποτελέσματα του πίνακα φαίνεται ότι συλλέχθηκαν συνολικά 3.401 δείγματα υποστρωμάτων ωοθεσίας από όλη την υπό μελέτη περιοχή. Από την στερεοσκοπική παρατήρηση του συνόλου των δειγμάτων προέκυψε ότι τα 1.318 υποστρώματα ωοτοκίας έφεραν τουλάχιστον 1 ωό *Aedes*, και ως εκ τούτου τα δείγματα χαρακτηρίστηκαν ως θετικά. Έτσι, το ποσοστό (%) των θετικών δειγμάτων ήταν 39%. Από αυτά τα δείγματα, καταμετρήθηκαν συνολικά 69.647 ωά *Aedes*, από τα οποία τα 67.961 δεν είχαν εκκολαφθεί στις συνθήκες που επικρατούσαν στο πεδίο και οδηγήθηκαν προς εκκόλαψη στο εργαστήριο. Από τον εργαστηριακό χειρισμό των ωών προέκυψαν 27.591 τέλεια κουνούπια, τα οποία ανήκαν στο σύνολό τους στο γένος *Aedes* και μάλιστα στο υπογένος *Stegomyia*. Έτσι, το ποσοστό (%) των εξερχόμενων τελείων κουνουπιών *Aedes* που προέκυψε στο εργαστήριο σε σχέση με τον συνολικό αριθμό συλλεχθέντων ωών από το πεδίο ανήλθε μόλις στο 41%. Καθώς το σύνολο των εξερχόμενων τελείων ανήκε στο γένος *Aedes*, και δεδομένου ότι οι παγίδες ωοθεσίας εξυπηρετούν στη συλλογή κυρίως ωών κουνουπιών του γένους *Aedes*, τα οποία αναπαράγονται σε μικρές συλλογές νερού, τα συλλεχθέντα ωά κουνουπιών χαρακτηρίστηκαν ως ωά *Aedes*. Τελικώς, σχεδόν στο σύνολό τους (99,3%) τα εξερχόμενα τέλεια κουνούπια ανήκαν στο είδος *Ae. albopictus* ενώ ένα πολύ μικρό ποσοστό αυτών (0,7%) ανήκε στο είδος *Ae. cretinus*. Τα τέλεια *Ae. cretinus*, μάλιστα, προέκυψαν από ωά τα οποία είχαν συλλεχθεί μόνο από την υπο-περιοχή «Ανατολικά» της μελέτης.

Πίνακας 3. Αριθμός δειγμάτων, ωών και εξερχόμενων τελείων κουνουπιών για κάθε υπο-περιοχή καθ' όλη τη δειγματοληπτική περίοδο (17 Αυγ. 2009 – 31 Δεκ. 2010)

	Κέντρο	Νότια	Ανατολικά	Δυτικά	Βόρεια	Σύνολο
Συλλεχθέντα δείγματα	690	675	686	663	687	3.401
Θετικά δείγματα	352	329	200	239	198	1.318
% Θετικών δειγμάτων	51	49	29	36	29	39
Μη εκκολαφθέντα ωά <i>Aedes</i> στο πεδίο	17.895	23.368	8.486	10.755	7.457	67.961
Εκκολαφθέντα ωά <i>Aedes</i> στο πεδίο	482	614	286	181	123	1.686
Συνολικός αριθμός ωών <i>Aedes</i> στο πεδίο	18.377	23.982	8.772	10.936	7.580	69.647
Εξερχόμενα τέλεια <i>Aedes</i> στο εργαστήριο από τα μη εκκολαφθέντα ωά	6.968	8.879	4.192	4.602	2.950	27.591
% Εξερχόμενων τελείων <i>Aedes</i> στο εργαστήριο	39	38	49	43	40	41
Εξερχόμενα τέλεια <i>Ae. albopictus</i> στο εργαστήριο από τα μη εκκολαφθέντα ωά	6.968	8.879	3.999	4.602	2.950	27.398
% Εξερχόμενων τελείων <i>Ae. albopictus</i> στο εργαστήριο	100	100	95	100	100	99,3
Εξερχόμενα τέλεια <i>Ae. cretinus</i> στο εργαστήριο από τα μη εκκολαφθέντα ωά	0	0	193	0	0	193
% Εξερχόμενων τελείων <i>Ae. cretinus</i> στο εργαστήριο	0	0	5	0	0	0,7

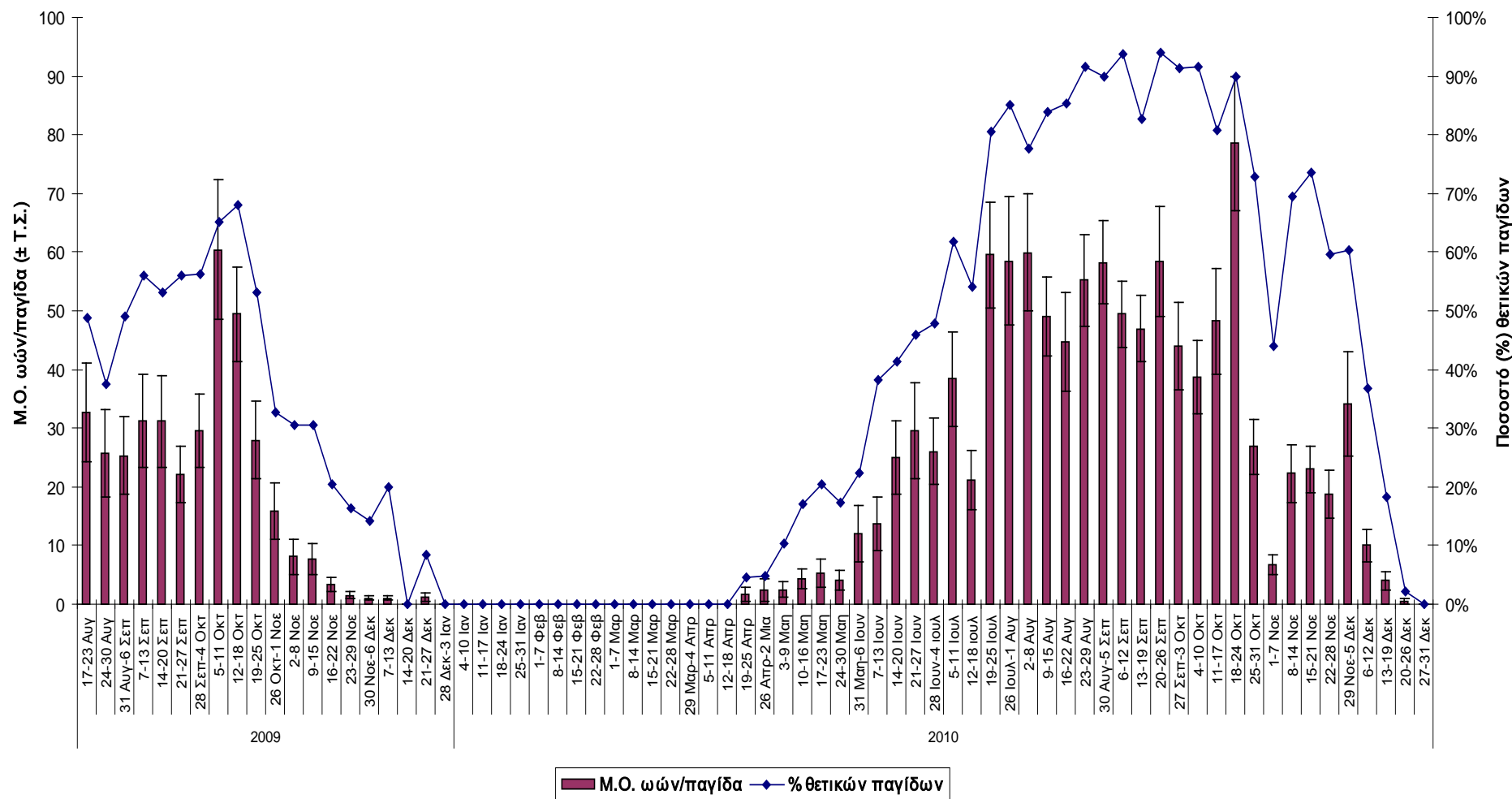
2.4.2 Εποχική αναπαραγωγική δραστηριότητα

Την πρώτη εβδομάδα δειγματοληψιών, στις 17-23 Αυγούστου του 2009, σχεδόν στις μισές (21/43) από τις παγίδες ωοθεσίας του δικτύου που ελέγχθηκαν (7 παγίδες είχαν χαθεί και αντικαταστάθηκαν με νέες), τα υποστρώματα ωοθεσίας έφεραν ωά και συνεπώς καταγράφηκαν ως θετικές. Την εβδομάδα εκείνη καταγράφηκαν κατά μέσο όρο 32,7 ωά ανά παγίδα (**Διάγραμμα 1**). Η αναπαραγωγική δραστηριότητα το 2009 συνεχίστηκε, με το μέγιστο των συλλεχθέντων ωών εκείνη τη χρονιά να σημειώνεται το πρώτο δεκαπενθήμερο

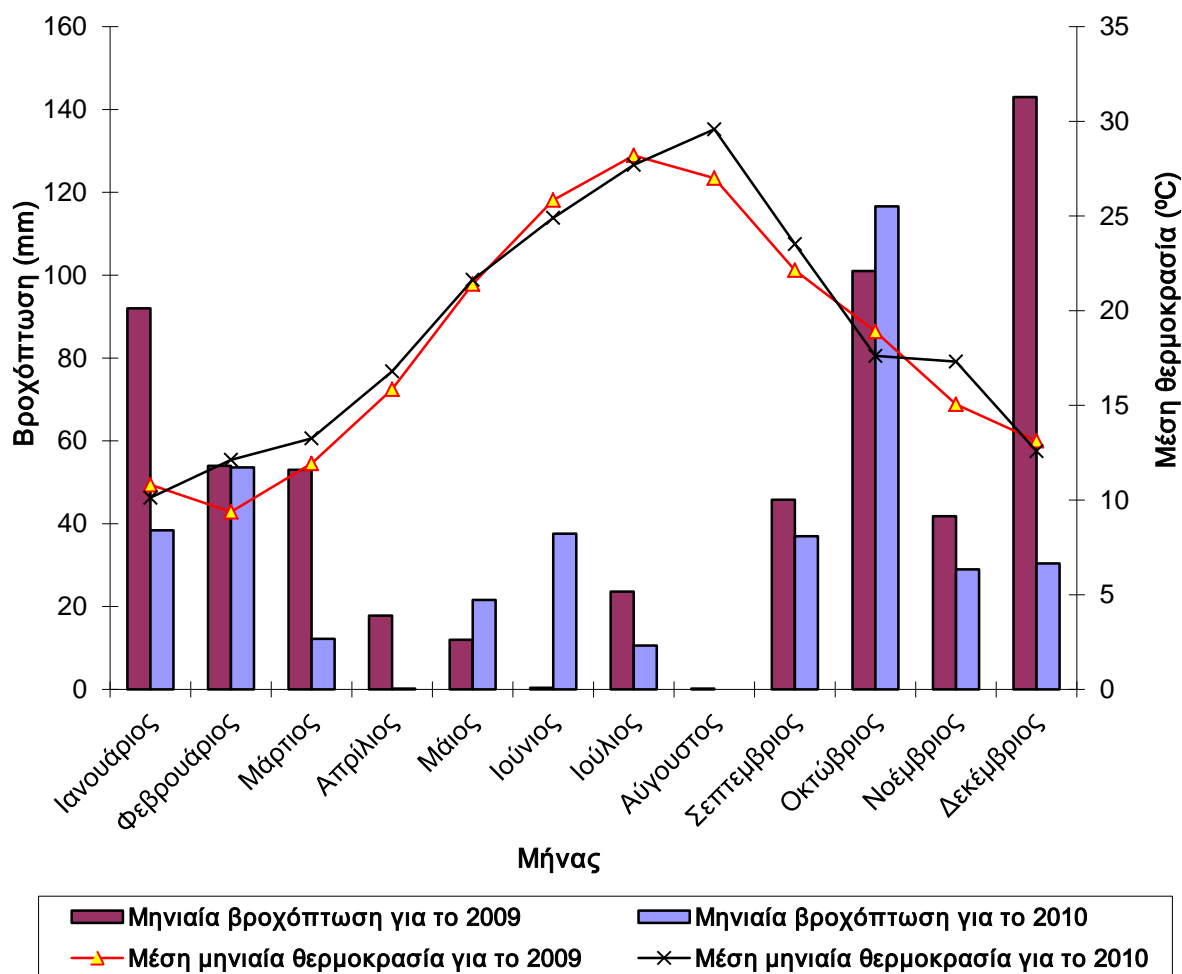
του Οκτωβρίου (60,5 ωά/παγίδα την εβδομάδα 5-11 Οκτωβρίου και 68% ποσοστό θετικών παγίδων την εβδομάδα 12-18 Οκτωβρίου). Το χρονικό εκείνο διάστημα (5-18 Οκτωβρίου 2009) η μέση θερμοκρασία ήταν γύρω στους 20°C (το αποτέλεσμα δεν εμφανίζεται σε διάγραμμα) και σχετικά υψηλή για την εποχή, ενώ είχαν σημειωθεί ορισμένες βροχοπτώσεις τόσο εκείνο το δεκαπενθήμερο (35,8 mm βροχής) (το αποτέλεσμα δεν εμφανίζεται σε διάγραμμα), όσο και προηγουμένως το μήνα Σεπτέμβριο (45,8 mm) (**Διάγραμμα 2**). Στη συνέχεια, οι συλλογές των ωών σταδιακά μειώνονταν αλλά συνεχίστηκαν να καταγράφονται σε κάθε εβδομάδα δειγματοληψίας, τους μήνες Νοέμβριο και Δεκέμβριο. Από τα μετεωρολογικά δεδομένα φαίνεται ότι τους μήνες Οκτώβριο, Νοέμβριο και Δεκέμβριο του 2009 επικράτησε σχετικά ήπιος και υγρός καιρός με μέσες μηνιαίες θερμοκρασίες να κυμαίνονται από 13 έως 19°C και συνολικό ύψος βροχής 273 mm.

Η αναπαραγωγική δραστηριότητα σταμάτησε από τον Ιανουάριο του 2010, που ήταν και ο πιο κρύος μήνας του έτους, με μέση μηνιαία θερμοκρασία 10,1°C, έως τα μέσα Απριλίου 2010. Την εβδομάδα έναρξης της συλλογής ωών, στις 19-25 Απριλίου 2010, η μέση εβδομαδιαία θερμοκρασία που επικρατούσε στην περιοχή της μελέτης ήταν 18,1°C (το αποτέλεσμα δεν εμφανίζεται σε διάγραμμα). Από τα μέσα Ιουλίου (19-25 Ιουλίου) έως και το δεύτερο μισό του Οκτωβρίου (16-24 Οκτωβρίου) το ποσοστό (%) θετικών παγίδων ξεπερνούσε το 80% σχεδόν σε όλες τις εβδομάδες δειγματοληψίας, με το μέγιστο (94%) να σημειώνεται το μήνα Σεπτέμβριο, ενώ ο μέσος αριθμός ωών ανά παγίδα ανά εβδομάδα κυμάνθηκε από 38,6 έως 78,6. Ο μεγαλύτερος αριθμός ωών ανά παγίδα (78,6) καταγράφηκε στις 18-24 Οκτωβρίου, όπου το ποσοστό θετικών παγίδων ήταν 90%. Κατά το χρονικό διάστημα των αυξημένων ωοθεσιών, ο Αύγουστος ήταν πολύ θερμός και ξηρός μήνας, ενώ τους μήνες Σεπτέμβριο και Οκτώβριο επικράτησαν σχετικά ήπιες θερμοκρασίες (Μέση μηνιαία θερμοκρασία= 18-24°C) και ορισμένες βροχοπτώσεις (Μηνιαία βροχόπτωση= 29-30 mm). Μετά την μείωση των συλλογών ωών στις παγίδες ωοθεσίας που παρατηρήθηκε από τις αρχές Νοεμβρίου (7 ωά/ παγίδα και 44% θετικές παγίδες), η αναπαραγωγική δραστηριότητα συνεχίστηκε σχεδόν έως και το τέλος του έτους (20-26 Δεκεμβρίου 2010) με τρόπο παρόμοιο εκείνου που καταγράφηκε την αντίστοιχη περίοδο του 2009.

Έως το τέλος της δειγματοληπτικής περιόδου, στις 31 Δεκεμβρίου 2010, το σύνολο των παγίδων ωοθεσίας (50/50) καταγράφηκε ως θετικό ως προς τη συλλογή ωών *Aedes* τουλάχιστον σε μία δειγματοληψία (το αποτέλεσμα δεν εμφανίζεται σε πίνακα).



Διάγραμμα 1. Εποχική διακύμανση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας σε όλη την υπό μελέτη περιοχή, από 17 Αυγούστου 2009 έως 31 Δεκεμβρίου 2010: Μέσος όρος (Μ.Ο.) ωών / παγίδα (±T.Σ.Μ.) και ποσοστό (%) θετικών παγίδων, ανά εβδομάδα δειγματοληψίας



Διάγραμμα 2. Μετεωρολογικά δεδομένα (μέση μηνιαία θερμοκρασία (°C), μηνιαία βροχόπτωση (mm)) για τα έτη 2009 και 2010

2.4.3 Σύγκριση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας μεταξύ των 5 υπο-περιοχών και των 2 διαδοχικών ετών

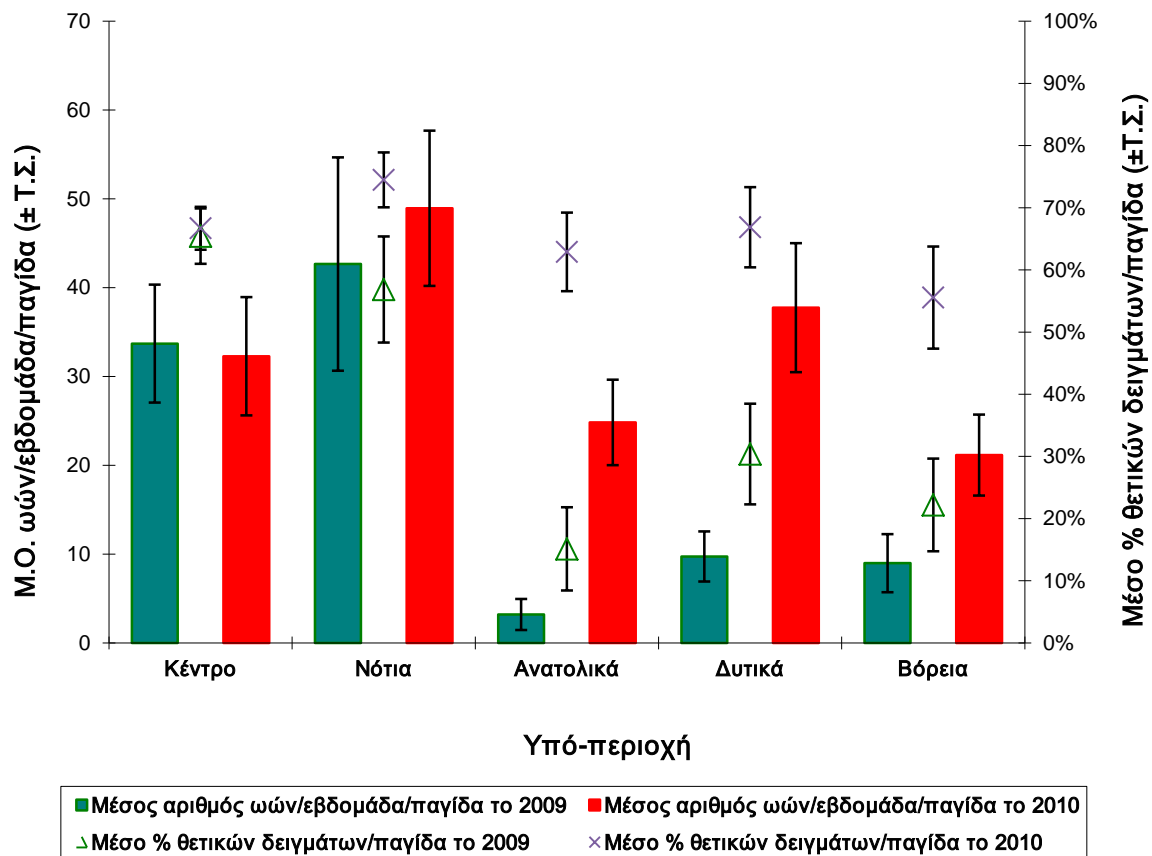
Για τη σύγκριση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας για τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο από τις 17 Αυγούστου έως τις 31 Δεκεμβρίου, μεταξύ των 5 υπο-περιοχών της μελέτης και των 2 διαδοχικών ετών 2009 και 2010, η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έδειξε τα εξής:

- Ο παράγοντας *υπο-περιοχή* επηρέασε στατιστικά σημαντικά τόσο τον αριθμό ωών/εβδομάδα/παγίδα ($F = 10,527$; β.ε. = 4, 90; $P < 0,001$) όσο και ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα ($F = 38,704$; β.ε. = 1, 90; $P < 0,001$).
- Ο παράγοντας *έτος* επηρέασε στατιστικά σημαντικά τόσο τον αριθμό ωών/εβδομάδα/παγίδα ($F = 23,756$; β.ε. = 1, 90; $P < 0,001$) όσο και ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα ($F = 7,789$; β.ε. = 4, 90; $P < 0,001$).

- Η αλληλεπίδραση των παραγόντων *υπο-περιοχή* και *έτος* ήταν στατιστικά σημαντική τόσο στον αριθμό ωών/εβδομάδα/παγίδα ($F = 3,195$; β.ε. = 4, 90; $P = 0,017$) όσο και στο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα ($F = 0,880$; β.ε. = 4, 90; $P = 0,013$)

Στο **Διάγραμμα 3** που ακολουθεί φαίνεται ότι για τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο από τις 17 Αυγούστου έως τις 31 Δεκεμβρίου, το 2009, ο μέσος αριθμός ωών ανά εβδομάδα ανά παγίδα ήταν 33,7 και 42,7, ενώ το μέσο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων ανά παγίδα ήταν 65% και 57%, για τις υπο-περιοχές «Κέντρο» και «Νότια», αντίστοιχα. Αντίθετα, την ίδια χρονική περίοδο, για τις υπόλοιπες 3 υπο-περιοχές της μελέτης («Βόρεια», «Δυτικά» και «Ανατολικά»), η αναπαραγωγική δραστηριότητα ήταν μικρότερη δεδομένου ότι ο μέσος αριθμός ωών ανά εβδομάδα ανά παγίδα κυμάνθηκε από 3,2 έως 9,7 και το μέσο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων ανά παγίδα ήταν μικρότερο από 30%.

Κατά τη διάρκεια της συγκεκριμένης χρονικής περιόδου (17 Αυγούστου έως τις 31 Δεκεμβρίου) του επόμενου έτους (2010), στις υπο-περιοχές «Ανατολικά», «Δυτικά» και «Βόρεια» παρατηρήθηκε μία σημαντική αύξηση του αριθμού των συλλογών ωών στις παγίδες ωοθεσίας, τόσο όσον αφορά το μέσο αριθμό ωών ανά εβδομάδα ανά παγίδα όσο και το μέσο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων ανά παγίδα. Η σημαντικότερη αύξηση της αναπαραγωγικής δραστηριότητας (μέσος αριθμό ωών ανά εβδομάδα και μέσο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων, ανά παγίδα) τη δεύτερη χρονιά (2010) παρατηρήθηκε στην υπο-περιοχή «Ανατολικά» της μελέτης. Ωστόσο, στις υπο-περιοχές «Κέντρο» και «Νότια» σημειώθηκαν εξίσου υψηλές συλλογές ωών και τα δύο έτη παρακολούθησης των παγίδων, με μια μικρή αύξηση των ωοθεσιών για το 2010 να καταγράφεται στην υπο-περιοχή «Νότια».



Διάγραμμα 3. Αναπαραγωγική δραστηριότητα για το χρονικό διάστημα 17 Αυγούστου 2009 έως 31 Δεκεμβρίου 2010, για κάθε μία από τις 5 υπο-περιοχές, για τα έτη 2009 και 2010: Μέσος αριθμός ωών ανά εβδομάδα ανά παγίδα (\pm Τ.Σ.Μ.) και μέσο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων ανά παγίδα (\pm Τ.Σ.Μ.).

2.5 Συζήτηση

Η παρακολούθηση των παγίδων ωοθεσίας για 71 εβδομάδες (από τις 17 Αυγούστου 2009 έως τις 31 Δεκεμβρίου 2010) έδειξε ότι το *Ae. albopictus* δραστηριοποιούνταν σε όλη την υπό μελέτη περιοχή, έκτασης περίπου 25 km², και προς όλες τις κατευθύνσεις (βόρεια, νότια, δυτικά, ανατολικά) γύρω από το πρώτο σημείο εντοπισμού του κουνουπιού στην Αττική, στην περιοχή της Ριζούπολης του Δήμου Αθηναίων, το 2008. Την πρώτη εβδομάδα δειγματοληψιών, στις 17-23 Αυγούστου του 2009, σχεδόν οι μισές από τις παγίδες ωοθεσίας του δικτύου που ελέγχθηκαν καταγράφηκαν ως θετικές, καθώς τα υποστρώματα ωοθεσίας τους έφεραν ωά *Aedes*. Ωστόσο, έως το τέλος της δειγματοληπτικής περιόδου, στις 31 Δεκεμβρίου 2010, το σύνολο των παγίδων ωοθεσίας καταγράφηκε ως θετικό ως προς τη συλλογή ωών *Ae. albopictus* τουλάχιστον σε μία δειγματοληψία.

Ο συνολικός, σχεδόν, αριθμός των τελείων κουνουπιών που προέκυψε μετά από τις εκκολάψεις των συλλεχθέντων ωών και την ανάπτυξη των προνυμφών και νυμφών στο

εργαστήριο, ανήκε στο είδος *Ae. albopictus*, ενώ πολύ μικρό ποσοστό ανήκε στο συγγενές είδος *Ae. cretinus*. Συνεπώς, το *Ae. albopictus* μπορεί να θεωρηθεί το κυρίαρχο (dominant) είδος *Aedes*, που αναπαράγεται σε μικρές δεξαμενές/συλλογές νερού (container breeding), στην υπό μελέτη περιοχή. Εντούτοις, η σχετικά μικρή «παραγωγή» τελείων κουνουπιών από τα συλλεχθέντα ωά, στο εργαστήριο, σε σχέση με το συνολικό αριθμό συλλεχθέντων ωών ίσως οδήγησε σε υπερεκτίμηση του πληθυσμού του *Ae. albopictus* στην υπό μελέτη περιοχή.

Η μικρή «παραγωγή» τελείων στο εργαστήριο ίσως οφείλεται εν μέρει στη δυσκολία εκκόλαψης κάποιων ωών που συλλέχθηκαν το φθινόπωρο και το χειμώνα, είτε γιατί τα συλλεχθέντα ωά βρίσκονταν σε διάπαυση είτε λόγω χαμηλών θερμοκρασιών. Στη συγκεκριμένη μελέτη θα μπορούσαν να ληφθούν υπόψη τα δεδομένα της εκκολαπτικότητας των ωών ανά χρονική περίοδο συλλογής τους προκειμένου να διερευνηθεί λεπτομερέστερα το θέμα της εισαγωγής τους σε διάπαυση.

Η παραγωγή από τα τέλεια του *Ae. albopictus* ωών σε κατάσταση διάπαυσης, που προκαλείται κυρίως από το ερέθισμα του φωτοπεριοδισμού, σε ημέρες μικρής διάρκειας, σε συνδυασμό με τις χαμηλές θερμοκρασίες έχει αναφερθεί στη σχετική βιβλιογραφία (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995) και έχει περιγραφεί εκτενώς στο γενικό μέρος (παρ. 1.2.1.1.1.3).

Σύμφωνα με τους Hawley (1988) και Estrada-Franco and Craig (1995) παράγοντες που μπορεί να προκαλέσουν θνησιμότητα των ωών του *Ae. albopictus* στη φύση είναι η ξηρασία, η θήρευση ή το ψύχος, ενώ η συμμετοχή του κάθε παράγοντα στη βιωσιμότητα των ωών εξαρτάται από τη γεωγραφική περιοχή και την εποχή δραστηριότητας του κουνουπιού. Η διάρκεια της εμβρυικής ανάπτυξης εντός του ωού εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία που είναι εκτεθειμένο το ωό (Estrada-Franco and Craig 1995). Εργαστηριακές μελέτες έδειξαν ότι η αντοχή των ωών του *Ae. albopictus* στην ξηρασία επηρεάζεται από την ηλικία του εμβρύου εντός του ωού τη στιγμή που θα εκτεθεί σε συνθήκες ξηρασίας (Estrada-Franco and Craig 1995). Σε ωά Βιετναμέζικης φυλής του *Ae. albopictus* καταγράφηκε 100% θνησιμότητα όταν αφέθηκαν σε ξηρασία αμέσως μετά την ωοτοκία. Ομοίως, η θνησιμότητα που σημειώθηκε σε ωά Ιαπωνικής φυλής του *Ae. albopictus* ήταν σχεδόν καθολική (100%) και 60% όταν τα ωά εκτέθηκαν σε συνθήκες ξηρασίας σε λιγότερο από 12 ώρες και 16 ώρες μετά την ωοτοκία, αντίστοιχα (Hawley 1988). Αναφέρεται ότι ωά του *Ae. albopictus* ήταν πολύ ανθεκτικά στην ξηρασία όταν διατηρήθηκαν υγρά για 4 ημέρες πριν την έκθεσή τους σε ξηρασία (Estrada-Franco and Craig 1995). Ως εκ τούτου, σε ορισμένα ωά, τα οποία είχαν συλλεχθεί στην παρούσα μελέτη κατά τους πολύ θερμούς καλοκαιρινούς μήνες, η εκκόλαψη πιθανόν εμποδίστηκε

επειδή η στάθμη του νερού στην παγίδα ωθοεσίας στο πεδίο κατέβαινε γρήγορα και τα ξύλινα υποστρώματα ξεραίνονταν σε σημεία που ενδεχομένως είχαν εναποτεθεί ωά. Η γρήγορη απώλεια υγρασίας των ωών που είχαν μόλις εναποτεθεί πριν συμπληρωθεί η διαδικασία της εμβρυογένεσης ενδεχομένως επηρέασε αρνητικά την εκκολαπτικότητα τους. Επίσης, οι χαμηλές θερμοκρασίες ορισμένων ημερών που επικράτησαν στην παρούσα μελέτη κυρίως στο τέλος του φθινοπώρου και το μήνα Δεκέμβριο, και στις οποίες είχαν εκτεθεί τα ωά των παγίδων στο πεδίο, πιθανόν εμπόδισαν την εκκόλαψη ορισμένων ωών που συλλέχθηκαν εκείνη την περίοδο.

Επιπρόσθετα, η χαμηλή «παραγωγή» τελείων στο εργαστήριο μπορεί να οφείλεται σε χαμηλή εκκολαπτικότητα των ωών του *Ae. cretinus* με τη μεθοδολογία που ακολουθήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη. Σε προκαταρκτικές δειγματοληψίες ωών *Aedes* με παγίδες ωθοεσίας από περιοχές της Αττικής που δραστηριοποιείται το *Ae. cretinus*, τα συλλεχθέντα ωά εκκολάφθηκαν στο εργαστήριο με την προαναφερθείσα μεθοδολογία και προέκυψε ένας ικανοποιητικός αριθμός τελείων *Ae. cretinus*. Εντούτοις, δεν καταγράφηκε το ποσοστό εκκόλαψης και δεν έγιναν πειράματα εκκολαπτικότητας των ωών που ανήκουν σε κουνούπια του είδους *Ae. cretinus*.

Επιπλέον, η χαμηλή «παραγωγή» τελείων στο εργαστήριο μπορεί να αποδοθεί σε διειδικές (innerspecific) ή και ενδοειδικές (intraspecific) ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις (interactions) των προνυμφών των κουνουπιών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* τα οποία αναπτύσσονταν στο ίδιο ενδιαίτημα (δοχείο με νερό και ιχθυοτροφή), για τροφή.

Τέλος, θα πρέπει να σημειωθεί ότι μικρά ποσοστά εκκολαπτικότητας ωών του *Ae. albopictus* ή άλλων *Aedes* που αναπαράγονται σε μικρές συλλογές νερού έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία από αρκετούς συγγραφείς κατά τη διάρκεια δειγματοληψιών ειδών *Aedes* που αναπαράγονται σε μικρές συλλογές νερού, χρησιμοποιώντας παγίδες ωθοεσίας. Αναλυτικότερα, σε δειγματοληψίες με μαύρες πλαστικές παγίδες ωθοεσίας με ξύλινα υποστρώματα ωθοεσίας, σε περιοχή κοντά στη Βαρκελώνη της Ισπανίας, που διεξήχθη από το Σεπτέμβριο έως το Δεκέμβριο του 2004, συλλέχθηκαν συνολικά 1.902 ωά. Τα ωά διατηρήθηκαν σε υγρές συνθήκες για 3 ημέρες και στη συνέχεια εμβαπτίστηκαν στο νερό. Από την εμβάπτιση εκκολάφθηκε μόλις το 8% των ωών, ενώ όλες οι εκκολαφθήσες προνύμφες ανήκαν στο είδος *Ae. albopictus* (Roiz et al. 2008).

Σε κατοικημένη περιοχή της Βόρειας Ταϋλάνδης πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες για τα *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* για ένα έτος από τον Οκτώβριο του 1984 έως τον Οκτώβριο του 1985, με παγίδες ωθοεσίας χωρητικότητας 400 ml που έφεραν ως υπόστρωμα ωθοεσίας λωρίδες χαρτιού. Τα συλλεχθέντα ωά *Aedes* εμβαπτίστηκαν σε πεπαλαιωμένο νερό με τροφή για να εκκολαφθούν σε ελεγχόμενες συνθήκες (28°C και

16Φ:8Σ) και οι εκκολαφθείσες προνύμφες αναπτύχθηκαν έως την ενηλικίωση. Το ποσοστό εκκόλαψης των προνυμφών ήταν μόλις 36% ενώ η πλειονότητα των προνυμφών έφτασε ως την ενηλικίωση (90%), όπου ταυτοποιήθηκαν μόνο τα δύο παραπάνω είδη *Aedes* (Mogi *et al.* 1988). Οι Dibo *et al.* (2005) πραγματοποίησαν δειγματοληψίες για το *Ae. aegypti* και το *Ae. albopictus* με παγίδες ωοθεσίας 1 λίτρου με ξύλινα υποστρώματα ωοθεσίας σε περιοχή του Σάο Πάολο της Βραζιλίας, από τον Οκτώβριο έως το Δεκέμβριο του 2002. Τα συλλεχθέντα ωά βυθίστηκαν στο νερό και το είδος κουνουπιού ταυτοποιήθηκε από τις προνύμφες 3^{ης} ηλικίας. Από τα 54.245 ωά που συλλέχτηκαν και εμβάπτιστηκαν στο νερό μόλις τα 15.631 (28,8%) εκκολάφθηκαν, ενώ το ποσοστό ωών σε κάθε υπόστρωμα για τα *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* υπολογίστηκε σε 99,2% και 0,8% αντίστοιχα. Οι Hornby *et al.* (1994) μελέτησαν τη διασπορά, την αφθονία και την αποίκιση του *Ae. albopictus* στην κομητεία Lee της Φλόριντα των Η.Π.Α., και την επίδρασή του στους πληθυσμούς του *Ae. aegypti*, πραγματοποιώντας δειγματοληψίες με παγίδες ωοθεσίας μισού λίτρου από το Μάιο του 1992 έως το Μάιο του 1993. Ως υπόστρωμα ωοθεσίας χρησιμοποιούνταν χάρτινες ταινίες και η εκκόλαψη των ωών στο εργαστήριο (27°C και 80% σχ.υγρ.) διεγείρονταν με μία απλή εμβάπτιση σε νερό με κονικλοτροφή για 3 ή περισσότερες ημέρες. Οι εκκολαφθείσες προνύμφες αναπτύσσονταν έως το στάδιο του τελείου από το οποίο γινόταν και η ταυτοποίηση του είδους. Από τα 31.913 ωά προέκυψαν 20.302 τέλεια *Aedes* spp. (62%) τα οποία ανήκαν κυρίως στα είδη *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*, με ένα μικρό ποσοστό στο είδος *Ae. triseriatus*.

Οι εβδομαδιαίες δειγματοληψίες στην παρούσα μελέτη από το σύνολο των παγίδων έδειξαν ότι το *Ae. albopictus* δραστηριοποιούνται αδιάλειπτα, για διάστημα περίπου 8 μηνών, από τα μέσα Απριλίου έως και τα τέλη Δεκεμβρίου, σημειώνοντας υψηλή αναπαραγωγική δραστηριότητα από τα μέσα Ιουλίου έως αργά το Φθινόπωρο.

Οι πρώτες συλλογές ωών καταγράφηκαν την εβδομάδα 19-25 Απριλίου όπου η μέση εβδομαδιαία θερμοκρασία ήταν περίπου 18°C. Στη συνέχεια, παρατηρήθηκε σταδιακή και συνεχής αύξηση των συλλογών ωών στις παγίδες ωοθεσίας, γεγονός που συνδυάστηκε με την σταδιακή άνοδο της θερμοκρασίας και ορισμένες βροχοπτώσεις που σημειώθηκαν την άνοιξη και το πρώτο μισό του καλοκαιριού. Η σχετικά υψηλή αναπαραγωγική δραστηριότητα του *Ae. albopictus* που παρατηρήθηκε τους θερμούς και ξηρούς καλοκαιρινούς μήνες μπορεί να αποδοθεί στην ύπαρξη εστιών ανάπτυξης κουνουπιών και μάλιστα μικρών συλλογών νερού, στις οποίες προτιμάει να αναπτύσσεται το συγκεκριμένο είδος κουνουπιού, κυρίως λόγω της ανθρώπινης δραστηριότητας. Τέτοιες εστίες δημιουργούνται κυρίως στο περι-οικιακό περιβάλλον (αυλές και κήπους σπιτιών) από

ποτίσματα και μπορεί να περιλαμβάνουν πιατάκια γλαστρών, ποτιστήρια, φραγμένα φρεάτια, λούκια κ.α. Παρόμοιες μικρές συλλογές νερού μπορεί να δημιουργούνται και σε δημόσιους χώρους όπως είναι τα ανθοδοχεία των νεκροταφείων ή τα βουλωμένα φρεάτια όμβριων υδάτων που συγκρατούν νερό. Επιπλέον, οι υψηλές θερμοκρασίες του καλοκαιριού επιταχύνουν την ανάπτυξη των ατελών σταδίων (προνυμφών/νυμφών) και έτσι το κουνούπι μπορεί να συμπληρώνει το βιολογικό του κύκλο επιτυχώς ακόμη και σε πολύ μικρές συλλογές νερού που γρήγορα ξηραίνονται.

Ο ήπιος και βροχερός καιρός που επικράτησε τους μήνες Σεπτέμβριο και Οκτώβριο του 2009 και του 2010 συντέλεσαν στην σχετικά υψηλή αναπαραγωγική δραστηριότητα του *Ae. albopictus* που παρατηρήθηκε το μήνα Οκτώβριο. Έτσι, οι μέγιστες συλλογές ωών οι οποίες καταγράφηκαν το μήνα Οκτώβριο και για τις δύο χρονιές ήταν 60,5 και 78,6 ωά/παγίδα για την εβδομάδα 5-11 Οκτωβρίου του 2009 και την εβδομάδα 18-24 Οκτωβρίου του 2010, αντίστοιχα. Εκείνες τις εβδομάδες δειγματοληψιών τα ποσοστά θετικών παγίδων ήταν επίσης υψηλά και συγκεκριμένα 65% στις 5-11 Οκτωβρίου του 2009 και 90% στις 18-24 Οκτωβρίου του 2010. Η μέση μηνιαία θερμοκρασία για το μήνα Οκτώβριο ήταν σχετικά υψηλή για την εποχή και τις δύο χρονιές (18-19°C) ενώ το ύψος βροχής για τους μήνες Σεπτέμβριο και Οκτώβριο αθροιστικά ήταν περίπου 150 mm βροχής τόσο το 2009 όσο και το 2010.

Το *Ae. albopictus* συνέχιζε να ωοθετεί στις παγίδες ωοθεσίας τους μήνες Νοέμβριο και Δεκέμβριο μέχρι το τέλος του έτους και τις δύο χρονιές, γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί στην επικράτηση σχετικά υψηλών θερμοκρασιών και βροχοπτώσεων, οι οποίες ήταν σημαντικές το 2009. Η μέση μηνιαία θερμοκρασία για τους μήνες Νοέμβριο και Δεκέμβριο και για τις 2 χρονιές ήταν σχετικά υψηλή για την εποχή και κυμάνθηκε από 13 έως και 17°C.

Σημειώνεται ότι με τη συγκεκριμένη μέθοδο δειγματοληψίας που χρησιμοποιήθηκε δεν καταμετρήθηκαν τα ωά που ενδεχομένως είχαν εναποτεθεί στα εσωτερικά τοιχώματα του πλαστικού δοχείου, αλλά μόνο εκείνα που είχαν εναποτεθεί στην επιφάνεια του ξύλινου υποστρώματος, κατά αντιστοιχία με μελέτες άλλων ερευνητών που έχουν εφαρμόσει την ίδια μέθοδο δειγματοληψίας των ωών του *Ae. albopictus*.

Ανάλογα αποτελέσματα καταγράφηκαν σε μελέτη των Toma *et al* (2003), όπου έγινε παρακολούθηση του *Ae. albopictus* στην πόλη της Ρώμης με δίκτυο 500 παγίδων ωοθεσίας (χωρητικότητας 500 ml). Η μελέτη αυτή έδειξε ότι τα τέλεια του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού δραστηριοποιούνταν από τους μήνες Φεβρουάριο-Μάρτιο έως και το μήνα Δεκέμβριο. Οι μέγιστες συλλογές ωών σημειώθηκαν τους μήνες Αύγουστο-Σεπτέμβριο όπου καταγράφηκε 63,5% ποσοστό θετικών παγίδων και 27,6 ωά ανά παγίδα ανά

εβδομάδα δειγματοληψίας. Αντίστοιχα, στην περιοχή Emilia-Romagna της Ιταλίας, κατά τη διάρκεια δειγματοληψιών κουνουπιών με παγίδες ωθεσίας (χωρητικότητας 400 ml) από το Μάιο έως τον Οκτώβριο, από ένα μεγάλο δίκτυο 2.741 παγίδων, ο μέσος αριθμός ωών *Ae. albopictus* που καταγράφηκε κυμάνθηκε από 0 έως 159 ωά ανά παγίδα ανά εβδομάδα δειγματοληψίας (Albieri *et al.* 2010).

Οι εποχικές μεταβολές των καιρικών συνθηκών (θερμοκρασία και βροχοπτώσεις) καθώς και η διαθεσιμότητα εστιών ανάπτυξης κουνουπιών επηρεάζουν την αναπαραγωγική δραστηριότητα του *Ae. albopictus*. Σε εργαστηριακή μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας και του ύψους βροχής που επικρατούν κατά τη διάρκεια του βιολογικού κύκλου του *Ae. albopictus*, στους πληθυσμούς του κουνουπιού, αποδείχθηκε ότι σε θερμές περιοχές παράγονται περισσότερα τέλεια άτομα *Ae. albopictus* εφόσον οι εστίες ανάπτυξης δεν ξεραίνονται πλήρως (Alto and Juliano 2001a). Επιπλέον, σε υψηλές θερμοκρασίες μειώνεται η διάρκεια ανάπτυξης από την εκκόλαση των ωών μέχρι την έξοδο των τελείων κουνουπιών (Briegel and Timmermann 2001). Οι Alto and Juliano (2001b) μελετώντας τη δυναμική πληθυσμών του *Ae. albopictus* στο εργαστήριο εκτίμησαν ότι σε περιοχές με σχετικά υψηλές καλοκαιρινές θερμοκρασίες, το είδος αυτό μπορεί να εμφανίσει υψηλούς πληθυσμούς με τις μέγιστες τιμές πληθυσμιακής αύξησης να σημειώνονται νωρίς την εποχή.

Τα δεδομένα των εβδομαδιαίων συλλογών ωών δείχνουν επίσης ότι η αναπαραγωγική δραστηριότητα του *Ae. albopictus* στην υπό μελέτη περιοχή διακόπτονταν τους κρύους χειμερινούς μήνες Ιανουάριο και Φεβρουάριο, έως και το πρώτο μισό της άνοιξης (μέσα Απριλίου). Η μέση μηνιαία θερμοκρασία του Ιανουαρίου 2010 όπου σταμάτησαν οι συλλογές ωών στις παγίδες ωθεσίας ήταν 10°C. Η διακοπή των ωοτοκιών στις παγίδες ωθεσίας υποδηλώνει ότι η διαχείμαση του *Ae. albopictus* πιθανόν να πραγματοποιήθηκε με την παραγωγή ωών του κουνουπιού σε διάπαυση. Όπως έχει αναφερθεί στην παράγραφο 1.2.1.1.1 το *Ae. albopictus* σε περιοχές του κόσμου με εύκρατο κλίμα, διαχειμάζει στο στάδιο του ωού σε διάπαυση (Estrada-Franco and Craig 1995). Για τις διάφορες φυλές του *Ae. albopictus* το ερέθισμα αυτό σχετίζεται κυρίως με τη φωτοπερίοδο αλλά και με τη θερμοκρασία (Hawley 1988, Focks *et al.* 1994, Estrada-Franco and Craig 1995). Επίσης, φυλές του *Ae. albopictus* που έχουν προέλευση από τροπικές ή υπο-τροπικές περιοχές δεν επηρεάζονται από την φωτοπερίοδο και ως εκ τούτου δεν παράγουν διαπαύοντα ωά το χειμώνα (Estrada-Franco and Craig 1995). Συνεπώς, η διαχείμαση του *Ae. albopictus* στην υπό μελέτη περιοχή πιθανώς με την παραγωγή διαπαύοντων ωών, υποδηλώνει ότι ο πληθυσμός του *Ae. albopictus* στην Αθήνα

ενδεχομένως να προέρχονταν από κάποια περιοχή με εύκρατο κλίμα και όχι από κάποιο τροπικό μέρος του κόσμου (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995).

Τα αποτελέσματα από τη σύγκριση των συλλογών ωών στις παγίδες ωοθεσίας μεταξύ των 5 διακεκριμένων υπο-περιοχών της μελέτης από τις 17 Αυγούστου έως τις 31 Δεκεμβρίου, έδειξαν ότι για τη συγκεκριμένη χρονική περίοδο του 2009, η αναπαραγωγική δραστηριότητα (μέσος αριθμός ωών/εβδομάδα/παγίδα και μέσο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα) ήταν σημαντικά υψηλότερη στις υπο-περιοχές «Κέντρο» και «Νότια» οι οποίες περιλαμβάνουν περισσότερο αστικές περιοχές της Αττικής όπως είναι η Κυψέλη και τα Πατήσια του Δήμου Αθηναίων, ο Δήμος Γαλασίου, Νέας Ιωνίας και Νέας Χαλκηδόνας. Την ίδια χρονική περίοδο του 2009 η μικρότερη αναπαραγωγική δραστηριότητα του *Ae. albopictus* παρατηρήθηκε στην υπο-περιοχή «Ανατολικά», η οποία περιλαμβάνει ημι-αστικές περιοχές με περισσότερο «πράσινο» όπως οι Δήμοι Ψυχικού, Φιλοθέης και Αμαρουσίου. Ωστόσο, για το ίδιο χρονικό διάστημα (17 Αυγούστου έως τις 31 Δεκεμβρίου) τη δεύτερη χρονιά δειγματοληψιών (2010), παρατηρήθηκε υψηλή αναπαραγωγική δραστηριότητα του *Ae. albopictus* σε όλες τις υπο-περιοχές της μελέτης, με σημαντική αύξηση των συλλογών ωών (μέσο αριθμό ωών/εβδομάδα/παγίδα και μέσο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα) να καταγράφεται στις υπο-περιοχές «Ανατολικά», «Δυτικά» και «Βόρεια».

Οι υψηλότερες συλλογές ωών που καταγράφηκαν στις περισσότερο αστικές περιοχές της μελέτης («Κέντρο» και «Νότια») σε σχέση με τις ημι-αστικές («Ανατολικά») κυρίως την πρώτη χρονιά δειγματοληψιών (2009) είναι δύσκολο να ερμηνευτούν, γεγονός που καταδεικνύεται και από την αλληλεπίδραση των παραγόντων υπο-περιοχή και έτος στην αναπαραγωγική δραστηριότητα του κουνουπιού (αριθμό ωών/εβδομάδα/παγίδα και ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα), που προέκυψε από τη στατιστική ανάλυση των δεδομένων. Οι υψηλότερες συλλογές ωών σε αστικές περιοχές σε σχέση με τα ημι-αστικά περιβάλλοντα μπορεί να οφείλονται στην ύπαρξη περισσότερων εστιών ανάπτυξης κουνουπιών λόγω εντονότερης ανθρώπινης δραστηριότητας που παρατηρείται σε πυκνοκατοικημένες περιοχές. Αντίθετα, στις αστικές περιοχές οι φυσικές εστίες ανάπτυξης κουνουπιών μπορεί να είναι περιορισμένες και έτσι οι συλλογές ωών στις παγίδες ωοθεσίας να εμφανίζονταν αυξημένες. Τέλος, το γεγονός ότι η αναπαραγωγική δραστηριότητα εμφανίζονταν σημαντικά αυξημένη στις ημι-αστικές περιοχές τη δεύτερη χρονιά, καταδεικνύει ότι οι πληθυσμοί του κουνουπιού μπορεί απλώς να μην υπήρχαν σε εκείνες τις περιοχές το 2009 και να επεκτάθηκαν το 2010, ανεξαρτήτως περιβαλλοντικών ή άλλων δημογραφικών χαρακτηριστικών των περιοχών.

Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι η αναπαραγωγική δραστηριότητα του *Ae. albopictus* (αριθμός ωών/εβδομάδα/παγίδα και ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα), για το διάστημα 17 Αυγούστου έως τις 31 Δεκεμβρίου, διέφερε στατιστικώς σημαντικά μεταξύ των 5 υπο-περιοχών της μελέτης, πιθανόν λόγω περιβαλλοντικών ή και δημογραφικών διαφορών των γειτονικών αυτών περιοχών, όπως η πυκνότητα δόμησης, η πυκνότητα κατοίκων, η φυτοκάλυψη, το μικροκλίμα και η ποιοτική και ποσοτική σύνθεση των εστιών ανάπτυξης κουνουπιών (ενδιαιτημάτων). Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έδειξε επίσης ότι η αναπαραγωγική δραστηριότητα του *Ae. albopictus* (αριθμός ωών/εβδομάδα/παγίδα και ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα), για το διάστημα 17 Αυγούστου έως τις 31 Δεκεμβρίου, διέφερε στατιστικώς σημαντικά μεταξύ των 2 διαδοχικών ετών (2009-2010). Το γεγονός ότι η αναπαραγωγική δραστηριότητα (μέσος αριθμός ωών/εβδομάδα/παγίδα και μέσο ποσοστό (%) θετικών δειγμάτων/παγίδα) του *Ae. albopictus* ήταν σημαντικά υψηλότερη τη δεύτερη χρονιά (2010) και δεδομένου ότι οι καιρικές συνθήκες (θερμοκρασία, βροχόπτωση) ήταν παρόμοιες για εκείνο το διάστημα και τις δύο χρονιές, πιθανόν καταδεικνύουν μια τάση αύξησης και εξάπλωσης του πληθυσμού του Ασιατικού κουνουπιού Τίγρης στις τοποθεσίες της υπό-μελέτη περιοχής. Συνεπώς, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την περαιτέρω διερεύνηση της πιθανής εξάπλωσης του *Ae. albopictus* και σε άλλες περιοχές της ευρύτερης αστικής περιοχής της Αθήνας και της υπόλοιπης Αττικής. Ευρύτατη εξάπλωση του *Ae. albopictus* κατά αντίστοιχο τρόπο έχει ήδη αναφερθεί στη Ρώμη της Ιταλίας (Severini *et al.* 2008) και τη Βαρκελώνη της Ισπανίας (Roiz *et al.* 2008).

Θα πρέπει, τέλος, να σημειωθεί ότι η συγκεκριμένη μελέτη είναι πείραμα πεδίου και ως εκ τούτου τα αποτελέσματα αυτής αποτελούν μία περιγραφική κατάσταση της δυναμικής του πληθυσμού του *Ae. albopictus* στην οποία μπορεί να επιδρούν πολλοί παράμετροι.

2.6 Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, από τα αποτελέσματα του συγκεκριμένου κεφαλαίου της παρούσας διατριβής προκύπτει ότι, στην περιοχή της μελέτης στην Αττική, το Ασιατικό κουνούπι Τίγρης, δραστηριοποιείται αδιάλειπτα για διάστημα περίπου 8 μηνών από τα μέσα Απριλίου έως και το τέλος του έτους και αναπτύσσει σχετικά υψηλούς πληθυσμούς κατά τη διάρκεια του καλοκαιριού και του φθινοπώρου, με τις μέγιστες πληθυσμιακές πυκνότητες να σημειώνονται το μήνα Οκτώβριο. Επιπλέον, το *Ae. albopictus*

δραστηριοποιείται σε όλη την υπό μελέτη περιοχή, έκτασης περίπου 25 km², γύρω από το πρώτο σημείο εντοπισμού του στην περιοχή της Ριζούπολης του Δήμου Αθηναίων, το 2008, εμφανίζοντας μία τάση αύξησης και εξάπλωσης του πληθυσμού του. Τα αποτελέσματα αυτά επιβεβαιώνονται και από τα πολυάριθμα δείγματα τελείων του *Ae. albopictus* που εστάλησαν και ταυτοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μ.Φ.Ι. (σήμερα Εργαστήριο Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων) από διάφορες περιοχές της Αττικής (και πέραν των περιοχών της παρούσας μελέτης) την τριετία 2009-2011, ως αποτέλεσμα της όχλησης των κατοίκων καθώς και της ανησυχίας που προκλήθηκε από την παρουσία και υγειονομική σημασία του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού (Giatropoulos *et al.* 2012c).

Η παρούσα μελέτη θεωρείται ότι παρέχει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τη βιολογία και τη δυναμική πληθυσμών του *Ae. albopictus* στην ευρύτερη αστική περιοχή της Αθήνας. Είναι σημαντικό να επεκταθεί το δίκτυο των παγίδων ωθησίας και σε άλλες περιοχές της Αττικής και να συνδυαστεί με άλλες μεθόδους δειγματοληψίας προνυμφών και τελείων. Είναι επίσης πολύ σημαντικό να εντοπιστούν οι φυσικές εστίες ανάπτυξης του *Ae. albopictus* ώστε να είναι εφικτός ο σχεδιασμός ενός ολοκληρωμένου σχεδίου αντιμετώπισης του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού στην Αττική αλλά και σε άλλες περιοχές της χώρας όπου αυτό δραστηριοποιείται. Η ενδεδειγμένη μελέτη των περιβαλλοντικών και δημογραφικών χαρακτηριστικών των περιοχών όπου δραστηριοποιείται το *Ae. albopictus* θα συντελέσει στην πιο αποτελεσματική και ολοκληρωμένη διαχείριση του προβλήματος του Ασιατικού κουνουπιού Τίγρης.

3. Κεφάλαιο 3^ο - Ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις του εισβάλλοντος είδους κουνουπιού *Aedes albopictus* με το ιθαγενές είδος *Aedes cretinus*

3.1 Εισαγωγικό μέρος

3.1.1 Γενικά περί ανταγωνισμού των ειδών

Ο ανταγωνισμός υπό την ευρεία έννοια αναφέρεται στην αλληλεπίδραση δύο οργανισμών που αγωνίζονται για τον ίδιο πόρο. Ανταγωνισμός μεταξύ ειδών είναι κάθε αλληλεπίδραση μεταξύ δύο ή περισσότερων πληθυσμών (διαφορετικών ειδών), η οποία μπορεί να επιδρά δυσμενώς στην αύξηση και επιβίωσή τους. Ανταγωνισμός λαμβάνει χώρα, όταν άτομα του ίδιου ή διαφορετικού είδους χρησιμοποιούν κοινούς πόρους, η προσφορά των οποίων είναι περιορισμένη ή εάν οι πόροι δεν είναι περιορισμένοι, ο ανταγωνισμός μπορεί να λαμβάνει χώρα, όταν οι οργανισμοί στη διαδικασία αναζήτησης του πόρου βλάπτουν ο ένας τον άλλο. Ανταγωνισμός παρατηρείται συχνά για τροφή και χώρο. Ανταγωνιζόμενα άτομα ανήκουν συνήθως στο ίδιο τροφικό επίπεδο (Καρανδεινός 1986).

Διακρίνουμε δύο μεγάλες κατηγορίες ανταγωνισμού. Ανταγωνισμός «εκμετάλλευσης» (“exploitation”), παρατηρείται όταν η προσφορά ενός πόρου π.χ. τροφής, είναι περιορισμένη, οπότε η τροφή που χρησιμοποιήθηκε από το ένα είδος δεν είναι πλέον διαθέσιμη για το δεύτερο είδος. Ο ανταγωνισμός αυτός είναι έμμεσος συγκρινόμενος με τον πιο άμεσο ανταγωνισμό της «παρέμβασης» (“interference”), στον οποίο εμφανίζονται αλληλεπιδράσεις χημικής μορφής ή συμπεριφοράς μεταξύ των ανταγωνιζόμενων ατόμων, πριν από τη χρησιμοποίηση του πόρου (Καρανδεινός 1986).

Γενικά, προϋπόθεση για την ύπαρξη του ανταγωνισμού είναι η μερική έστω επικάλυψη των βιοθέσεων (niches) των ανταγωνιζόμενων ατόμων. Ο ανταγωνισμός συνιστά δύναμη, που διαμορφώνει την πορεία της φυσικής επιλογής ή με άλλα λόγια, που ωθεί τα ανταγωνιζόμενα είδη να εξελιχθούν προς διαφορετικές κατευθύνσεις, έτσι ώστε ο ανταγωνισμός μεταξύ τους να μειωθεί. Τα (παρόμοια) είδη που επιτυγχάνουν μια μερική έστω αλλά επαρκή διαφοροποίηση βιοθέσεων μπορεί να συνεχίσουν την συνύπαρξη στην ίδια γεωγραφική περιοχή. Μια άλλη έκβαση είναι ο εκτοπισμός του ενός ανταγωνιστή. Αναφέρεται ότι είναι ρεαλιστικό και χρήσιμο να μην θεωρούμε τον ανταγωνισμό σαν ένα

«ναι ή όχι» φαινόμενο, αλλά σαν φαινόμενο διαφορετικών εντάσεων, που εμφανίζεται σ' όλη την κλίμακα, από το ανταγωνιστικό κενό (απουσία ανταγωνισμού) μέχρι το πλήρως κορεσμένο (προσφορά πόρων ίση με τη ζήτηση) και υπερκορεσμένο (προσφορά πόρων μικρότερη από τη ζήτηση) περιβάλλον (Καρανδεινός 1986).

3.1.2 Οι αρχές του ανταγωνιστικού εκτοπισμού ή αποκλεισμού και της ανταγωνιστικής μείωσης των ειδών

Ο «ανταγωνιστικός εκτοπισμός» (“competitive displacement”) βασίζεται στην οικολογική αρχή ότι διαφορετικά είδη δεν μπορούν ταυτόχρονα να καταλαμβάνουν την ίδια βιοθέση (niche) (Lounibos 2007). Η διατύπωση της αρχής του ανταγωνιστικού εκτοπισμού των ειδών θεωρείται ότι προέρχεται τουλάχιστον από την εποχή του Δαρβίνου (Darwin 1859), και από συγγραφείς του 20^{ου} αιώνα όπως οι Grinnell (1928) και Gause (1934). Ο Hardin (1960) χρησιμοποίησε τον όρο «ανταγωνιστικός αποκλεισμός» (“competitive exclusion”), βασιζόμενος σε διάφορες εργαστηριακές μελέτες ανταγωνισμού πληθυσμών στις οποίες το ένα ή το άλλο είδος τελικώς εξαφανίζονταν.

Σύμφωνα με τον DeBach (1966), ο όρος «αρχή του ανταγωνιστικού εκτοπισμού» (“competitive displacement principle”), είναι προτιμότερος από άλλους που είχαν χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για να περιγράψουν το ίδιο φαινόμενο όπως: «η αρχή του Gause», «το αξίωμα του Grinnell», «η αρχή των Voltera-Gause» ή «η αρχή του ανταγωνιστικού αποκλεισμού» (“Competitive exclusion principle”). Έτσι, ο DeBach (1966) έδωσε τον εξής ορισμό για την «αρχή του ανταγωνιστικού εκτοπισμού»: «Διαφορετικά είδη με πανομοιότυπες βιοθέσεις (niches), δηλαδή οικολογικά ομόλογα, δεν μπορούν να συνυπάρχουν για πολύ στο ίδιο ενδιαίτημα (habitat)».

Πιο πρόσφατα, οι Reitz and Trumble (2002) αναφέρουν ότι ο ανταγωνιστικός εκτοπισμός είναι το πιο ακραίο (severe) αποτέλεσμα του διειδικού ανταγωνισμού. Μάλιστα για το συγκεκριμένο φαινόμενο δίνουν τον εξής ορισμό: «η απομάκρυνση ενός προηγουμένως εγκατεστημένου είδους από ένα ενδιαίτημα ως αποτέλεσμα άμεσων ή έμμεσων ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων με ένα άλλο είδος.»

Σύμφωνα με τον Καρανδεινό (1986), η «αρχή του Gause» ή «αρχή του ανταγωνιστικού αποκλεισμού» (“Competitive exclusion principle”) της θεωρητικής οικολογίας, έχει διατυπωθεί με διάφορους τρόπους από πολλούς ερευνητές: «Δύο είδη με παρόμοια οικολογία δεν μπορούν να ζουν μαζί στο ίδιο μέρος», «Δύο είδη με ταυτόσημη οικολογία δεν μπορούν να διατηρηθούν και τα δύο στην ίδια περιοχή», «Διαφορετικά είδη, τα οποία συνυπάρχουν απεριόριστα (στον χρόνο) στον ίδιο βιότοπο, δεν μπορεί να είναι

οικολογικά ομόλογα». Το 1960 ο Hardin όρισε την «αρχή του ανταγωνιστικού αποκλεισμού» ως εξής: «πλήρεις ανταγωνιστές δεν μπορούν να συνυπάρχουν».

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση που προηγήθηκε οι όροι «ανταγωνιστικός εκτοπισμός» και «ανταγωνιστικός αποκλεισμός» φαίνεται πως είναι ταυτόσημοι και περιγράφουν το ίδιο οικολογικό φαινόμενο. Ο Καρανδεινός (1986), ωστόσο, στέκεται στο απλό μα λογικό συμπέρασμα του Grinell το 1904, σύμφωνα με το οποίο: «ανταγωνισμός μεταξύ δύο (ή περισσότερων) ειδών για τον ίδιο πόρο (π.χ. τροφή) δεν μπορεί να συνεχίζεται σε απεριόριστο χρόνο. Δηλαδή θα δοθεί κάποια λύση: το ένα είδος θα αποκλειστεί ή τα είδη θα διαφοροποιήσουν τις βιοθέσεις τους. Και στις δύο περιπτώσεις η ένταση του ανταγωνισμού θα μειωθεί.»

Ο Lounibos (2007) σε βιβλιογραφική ανασκόπηση περιπτώσεων του ανταγωνιστικού εκτοπισμού στα κουνούπια, εξετάζει εάν και πως το συγκεκριμένο φαινόμενο μπορεί να εφαρμοστεί προς την κατεύθυνση της αντιμετώπισης των κουνουπιών. Ο ανταγωνιστικός εκτοπισμός ειδών, με την ευρεία έννοια του όρου, μπορεί να θεωρηθεί ως βιολογική καταπολέμηση περιλαμβάνοντας την εισαγωγή, τη διατήρηση και επαύξηση φυσικών εχθρών των επιβλαβών εντόμων (pests) ή και των διαβιβαστών (vectors) (Lounibos and Frank 1994). Επειδή όμως στην οικολογία επιθυμητή είναι η μερική μείωση των πληθυσμών των εντόμων εχθρών ή διαβιβαστών και ο ανταγωνιστικός εκτοπισμός των ειδών είναι απίθανο να είναι πλήρης, ο Lounibos (2007) χρησιμοποιεί τον όρο «ανταγωνιστική μείωση» (“competitive reduction”) για να περιγράψει οποιαδήποτε μείωση πληθυσμού κουνουπιών, ως αποτέλεσμα διειδικού ανταγωνισμού, σε βαθμό μικρότερο από την εξάλειψη των ειδών. Απρόβλεπτες περιπτώσεις ανταγωνιστικών μειώσεων αναφέρονται μεταξύ ιθαγενών και εισβαλλόντων πληθυσμών κουνουπιών, ειδικά όταν υπάρχει ανθρώπινη παρέμβαση. Όπως επιβεβαιώνεται και από την σχετικά πρόσφατη ανασκόπηση των Reitz and Trumble (2002) περί αρθροπόδων, ο ανταγωνισμός προνυμφών για πόρους ή ο παρεμβατικός ανταγωνισμός προνυμφών (Larval resource or Interference competition) φαίνεται να είναι ο κυρίαρχος μηχανισμός που επηρεάζει τον ανταγωνιστικό εκτοπισμό.

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται σχετικά λίγα παραδείγματα ανταγωνιστικού εκτοπισμού τα οποία έχουν παρατηρηθεί στη φύση. Το φαινόμενο του ανταγωνιστικού αποκλεισμού στη φύση είναι πιθανόν να συμβεί όταν ένα τυχαίως ή σκοπίμως εισαχθέν είδος εκτοπίσει ένα οικολογικά ομόλογο είδος σε σχετικά σύντομο χρονικό διάστημα. Ωστόσο, ορισμένες περιπτώσεις ανταγωνιστικού εκτοπισμού μπορεί να λάβουν χώρα σε μεγαλύτερες χρονικές περιόδους που υπερβαίνουν τα συνήθη χρονικά διαστήματα

παρατήρησης, με αποτέλεσμα να καθίσταται δύσκολη η πειραματική τεκμηρίωση των αιτιών του φαινομένου.

Το φαινόμενο του ανταγωνιστικού εκτοπισμού αξιοποιείται σήμερα στα πλαίσια των βιολογικών εισβολών (biological invasions) αλλά και των μεταβολών των ενδιαιτημάτων (habitats) των ειδών από ανθρώπινες παρεμβάσεις. Τέτοιου είδους αλλαγές απειλούν τη βιοποικιλότητα εφόσον εκτοπίζονται οικολογικά τρωτά (vulnerable) ή επ' απειλούμενα (endangered) είδη (Mack *et al.* 2000). Η εισαγωγή μη-ιθαγενών ειδών για τη βιολογική καταπολέμηση έχει επικριθεί εξαιτίας των ανεπιθύμητων επιπτώσεων που μπορεί να προκληθούν σε είδη μη στόχους της ιθαγενούς πανίδας ή χλωρίδας λόγω θήρευσης, παρασιτισμού και ανταγωνισμού (Simberloff and Stiling 1996, Ewel *et al.* 1999). Στην ανασκόπηση των Reitz and Trumble (2002) που αφορούσε τον ανταγωνιστικό εκτοπισμό μεταξύ ειδών εντόμων αλλά και αραχνών επιβεβαιώνεται ότι στην πλειονότητα των περιπτώσεων, τα εξωτικά είδη εκτόπισαν τα ιθαγενή ή και άλλα εισβάλλοντα είδη που είχαν προηγουμένως εγκατασταθεί.

3.1.3 Η αρχή της συνύπαρξης των ειδών

Σύμφωνα με τον DeBach (1966) η αρχή της συνύπαρξης των ειδών (“coexistence principle”) απορρέει από την αρχή του ανταγωνιστικού εκτοπισμού και μπορεί να διατυπωθεί κατά αντίστροφο τρόπο ως εξής: «διαφορετικά είδη τα οποία συνυπάρχουν επ' αόριστον στο ίδιο ενδιαίτημα, θα πρέπει να έχουν διαφορετικές βιοθέσεις, που σημαίνει ότι δεν μπορεί να είναι οικολογικά ομόλογα είδη». Τονίζεται ότι συγγενή είδη ή είδη με παρόμοια οικολογία μπορεί να συνυπάρχουν στο ίδιο ενδιαίτημα εφόσον ανακόπτεται ο ανταγωνισμός από κάποιον εξωτερικό παράγοντα πριν την εξάντληση του κοινού πόρου ή υπάρχει διαφοροποίηση των βιοθέσεών τους. Η συγκεκριμένη αρχή έχει διατυπωθεί και ως εξής: «Δύο είδη μπορεί να συνυπάρχουν εφόσον το ένα δεν βλάπτει το άλλο και εφόσον διαφέρουν ελαφρώς στις τροφικές τους απαιτήσεις.»

3.1.4 Παραδείγματα ανταγωνιστικής μείωσης σε πληθυσμούς κουνουπιών εξαιτίας της ανθρώπινης παρέμβασης

Στη βιβλιογραφία αναφέρονται διάφορα παραδείγματα ανταγωνιστικής μείωσης πληθυσμών κουνουπιών μετά από αλλαγές των ενδιαιτημάτων τους ή την είσοδο και εγκατάσταση εισβαλόντων ειδών κουνουπιών, εξαιτίας της ανθρώπινης δραστηριότητας (Lounibos 2007). Αρκετά τέτοια παραδείγματα αφορούν είδη κουνουπιών του συμπλόκου *Maculipennis* του γένους *Anopheles*, διαβίβαστες της ελονοσίας, στην Νότια Ιταλία.

Συγκεκριμένα, το είδος *An. labranchiae* που είναι ανθεκτικό στα υφάλμυρα νερά, εκτοπίστηκε από το λιγότερο επικίνδυνο, ζωόφιλο είδος, *An. hispaniola* μετά την αφαλάτωση των υδάτινων εστιών ανάπτυξης και τους εντατικούς ψεκασμούς εναντίον του με DDT (Missiroli 1939, Trapido and Aitken 1953). Σε άλλη περίπτωση, στα πλαίσια προγράμματος καταπολέμησης της ελονοσίας τη δεκαετία του '50 στην Κένυα και την Τανζανία οι υπολειμματικοί ψεκασμοί επιφανειών εντός των σπιτιών οδήγησαν στην εξαφάνιση του *An. funestus* και την «αντικατάστασή» του από το ζωόφιλο είδος *An. rivulorum* σε καταφύγια εκτός των οικιών (Gillies and Smith 1960). Πριν την εφαρμογή ψεκασμών εναντίον του *An. funestus*, στα ενδιατήματα όπου συνυπήρχαν τα δύο αυτά είδη παρατηρούνταν μείωση των πληθυσμών του *An. rivulorum* λόγω διειδικού ανταγωνισμού των προνυμφών.

Οι χαρακτηριστικές αλλαγές στην πληθυσμιακή αφθονία των ειδών κουνουπιών του γένους *Aedes*, που αναπαράγονται σε μικρές συλλογές/δεξαμενές νερού, έχουν συσχετιστεί με εισβολές των ειδών *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* που έχουν πραγματοποιηθεί με την βοήθεια του ανθρώπου (Lounibos 2002). Το *Ae. aegypti*, είδος ιθαγενές της Αφρικής, εγκαταστάθηκε στις τροπικές περιοχές της Ασίας στα τέλη του 19^{ου} αιώνα (Smith 1956). Σε πόλεις όπως η Κουάλα Λουμπόρ και η Καλκούτα η εξάπλωση του *Ae. aegypti* συνέπιπτε με τη μείωση της διασποράς στο αστικό περιβάλλον του ιθαγενούς είδους *Ae. albopictus* (Gilotra *et al.* 1967). Αντίθετα, μετά την εισβολή του *Ae. albopictus* στη Βόρεια Αμερική τη δεκαετία του '80 (Hawley *et al.* 1987), περιορίστηκε ραγδαίως η διασπορά και η αφθονία του *Ae. aegypti* στις περισσότερες νοτιανατολικές περιοχές των Η.Π.Α. (Hobbs *et al.* 1991, O'Meara *et al.* 1995a).

Η εξάπλωση του εισβάλλοντος είδους *Ae. albopictus* από την Ασία στα νησιά του Ειρηνικού κατά τη διάρκεια κοινωνικών αναταραχών και μαζικών ανθρώπινων μεταναστεύσεων που συνέβησαν στο Δεύτερο Παγκόσμιο Πόλεμο, οδήγησε στη μείωση ενδημικών ειδών κουνουπιών των νησιών αυτών όπως το *Ae. guamensis*, πιθανόν λόγω διειδικού ανταγωνισμού (Rozeboom and Bridges 1972).

Σε αστικές περιοχές του Γκουάμ και της Μανίλα όπου εντομοκτόνες επεμβάσεις είχαν μειώσει τον πληθυσμό του *Ae. aegypti*, παρατηρήθηκε εξάπλωση του είδους *Ae. albopictus* λόγω διειδικού ανταγωνιστικού (Gilotra *et al.* 1967).

3.1.5 Εισβάλλοντα είδη κουνουπιών, ανταγωνισμός και δημόσια υγεία

Με το όρο εισβάλλοντα είδη (invasive species) οι Juliano and Lounibos (2005) αναφέρονται σε εισαχθέντα είδη ο πληθυσμός των οποίων έχει αυξηθεί και εξαπλωθεί, σε

τέτοιο βαθμό ώστε να επηρεάζει δυνητικά τα ιθαγενή είδη και οικοσυστήματα (βιοποικιλότητα, γεωργία) ή τις ανθρώπινες δραστηριότητες. Τα εισβάλλοντα είδη επιδρούν σε άλλα είδη και οικοσυστήματα κυρίως μέσω βιοτικών αλληλεπιδράσεων, όπως η θήρευση και ο παρασιτισμός ή ο διειδικός ανταγωνισμός (Williamson 1996). Οι βιοτικές επιδράσεις ορισμένων εισβαλλόντων ειδών μπορεί να αφορούν επιδράσεις στην υγεία των ανθρώπων και των ζώων (Lounibos 2002). Για παράδειγμα, τα εισβάλλοντα είδη διαβιβαστές (vectors) μπορεί να μεταβάλουν τον κύκλο μετάδοσης ιθαγενών ή μη-ιθαγενών παθογόνων (McMichael and Bouma 2000).

Το *Ae. albopictus* είναι ένα καλά μελετημένο εισβάλλον είδος κουνουπιού για το οποίο έχουν διατυπωθεί διάφορες απόψεις γύρω από τις οικολογικές εξελίξεις που παρατηρήθηκαν κατά τη διάρκεια των εισβολών του σε διάφορα μέρη (Juliano and Lounibos 2005).

Στα πλαίσια των εισβολών ειδών, οι επιδράσεις του ανταγωνισμού και της θήρευσης είναι σημαντικές επειδή μπορεί να αφορούν επιδράσεις των εισβαλλόντων ειδών στα ιθαγενή ή επειδή μπορεί να εμποδίσουν την εισβολή άλλων ειδών (Juliano and Lounibos 2005). Τόσο ο ανταγωνισμός όσο και η θήρευση μπορούν να επηρεάσουν την μετάδοση ασθενειών. Ένα εισβάλλον είδος κουνουπιού που εκτοπίζει ένα ιθαγενές είδος μέσω ανταγωνισμού μπορεί να επηρεάσει την μετάδοση μιας ασθένειας εάν είναι περισσότερο ή λιγότερο αποτελεσματικός διαβιβαστής της ασθένειας αυτής.

Εάν η εισβολή ενός είδους έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της μετάδοσης μιας ασθένειας λόγω εκτοπισμού του ιθαγενούς διαβιβαστή, τότε η εισαγωγή του νέου είδους μπορεί να αξιοποιηθεί στη βιολογική καταπολέμηση του ιθαγενούς διαβιβαστή μέσω του ανταγωνιστικού εκτοπισμού (Rozeboom 1971, Rosen *et al.* 1976). Η ίδια λογική έχει χρησιμοποιηθεί στις προσπάθειες που έχουν γίνει για την καταπολέμηση ασθενειών με χρήση δια-γονιδιακών κουνουπιών που δεν μεταδίδουν κάποιες ασθένειες (O'Brochta 2003). Και στις δύο παραπάνω περιπτώσεις ο στόχος είναι ο εκτοπισμός ενός πληθυσμού κουνουπιών ικανών διαβιβαστών μιας ασθένειας από ένα πληθυσμό κουνουπιών που δεν μεταδίδει την ασθένεια αυτή (Takken and Boete 2003). Στην πρώτη περίπτωση ο εκτοπισμός των ειδών δρα μέσω διειδικού ανταγωνιστικού αποκλεισμού. Στην περίπτωση όμως της χρήσης δια-γονιδιακών κουνουπιών ο εκτοπισμός ειδών μπορεί να συμβεί μέσω ενδοειδικού ανταγωνισμού μεταξύ γονοτύπων ή ενδο-σεξουαλικού ανταγωνισμού (π.χ. χρήση γονιδιακών στείρων αρσενικών σε ανταγωνιστικές συζεύξεις) (Juliano and Lounibos 2005).

Είναι επίσης πιθανόν ένα εισβάλλον είδος κουνουπιού να τροποποιήσει τον κύκλο μετάδοσης μιας ασθένειας χωρίς να επιδρά σε κάποιο ιθαγενές είδος-διαβιβαστή, εφόσον

το εισβάλλον είδος διαδραματίζει ένα νέο ρόλο στον κύκλο ζωής του παθογόνου. Για παράδειγμα, εάν ένα εισβάλλον είδος κουνουπιού που έχει την ικανότητα να μεταδώσει ένα παθογόνο, το οποίο έχει ενδοζωικό κύκλο ζωής, στον άνθρωπο, τότε μπορεί να αλλάξει τον κύκλο ζωής της ασθένειας και να δημιουργήσει νέα προβλήματα για τη δημόσια υγεία (Juliano and Lounibos 2005).

3.1.6 Μηχανισμοί ανταγωνιστικής μείωσης των κουνουπιών (Mechanisms of competitive reduction)

Παρακάτω παρατίθενται οι μηχανισμοί ανταγωνιστικής μείωσης των πληθυσμών κουνουπιών όπως περιγράφονται στην ανασκόπηση του Lounibos (2007).

Αναπαραγωγικός ανταγωνισμός (Reproductive competition)

Οι ασύμμετρες παρεμβάσεις στις συζεύξεις (asymmetric mating interference), όπου αρσενικά ενός είδους συζεύγνυνται με τα θηλυκά ενός συγγενούς είδους και παράγονται έτσι μη-βιώσιμοι ή λιγότερο βιώσιμοι απόγονοι-υβρίδια, έχει προταθεί ως μία μέθοδος βιολογικής καταπολέμησης εντόμων εχθρών ή και διαβιβαστών ασθενειών (Ribeiro 1988) και ως ένας μηχανισμός διατήρησης παραπατρικών διασπορών συγγενών ειδών στη φύση (Ribeiro and Spielman 1986). Στην βιογεωγραφία, παραπατρική (parapatric) είναι η σχέση μεταξύ ειδών η γεωγραφική κατανομή των οποίων δεν αλληλο-επικαλύπτεται σημαντικά αλλά είναι γειτονική και τα είδη συνυπάρχουν σε μια στενή μόνο βιογεωγραφική ζώνη.

Ενώ υπάρχουν ενδείξεις για την ύπαρξη του μηχανισμού του αναπαραγωγικού ανταγωνισμού, γνωστού και με τον όρο «σατυρισμός» (satyrization), σε φυσικούς πληθυσμούς τσιμπουριών και μυγών τσε-τσε (Ribeiro 1988), η σπουδαιότητά του ως παράγοντας ανταγωνιστικής μείωσης των πληθυσμών κουνουπιών παραμένει αναπόδεικτη (Lounibos 2007). Οι Spielman and Feinsod (1979) αναφέρουν ότι εξαιτίας άγονων διειδικών συζεύξεων διατηρήθηκε η παραπατρική βιογεωγραφική κατανομή των *Ae. aegypti* και *Ae. baharnensis* στις Μπαχάμες, χωρίς όμως να έχει αποδειχθεί η συγκεκριμένη υπόθεση.

Οι Nasci *et al.* (1989) ισχυρίζονται ότι μετά την εισβολή του *Ae. albopictus* στις νοτιοανατολικές Η.Π.Α. τη δεκαετία του '80 ο ασύμμετρος αναπαραγωγικός ανταγωνισμός που ευνόησε το *Ae. albopictus* ήταν υπεύθυνος για την εξάλειψη του *Ae. aegypti*. Οι ερευνητές αυτοί διαπίστωσαν διειδικές συζεύξεις (interspecific matings) μεταξύ των αρσενικών του *Ae. albopictus* και των θηλυκών του *Ae. aegypti* τόσο σε εργαστηριακές συνθήκες όσο και σε πειράματα υπαίθρου. Τα θηλυκά του *Ae. aegypti* που είχαν συζευχθεί με το *Ae. albopictus* περιείχαν συσσωματώματα νεκρού σπέρματος στις σπερματοθήκες

τους, γεγονός που συνεπάγεται ενδεχομένως την απροθυμία του θηλυκού για περαιτέρω συζεύξεις. Οι εργαστηριακές αυτές παρατηρήσεις οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι στη φύση θα υπάρξει παρέμβαση στις συζεύξεις (mating interference) του *Ae. aegypti*, παρουσία μεγάλων πληθυσμών του *Ae. albopictus*. Ωστόσο, τα πειραματικά ευρήματα που αναφέρουν οι συγκεκριμένοι συγγραφείς για να υποστηρίξουν την παραπάνω υπόθεση δεν έχουν επιβεβαιωθεί από άλλους συγγραφείς, είτε σε κλωβούς στο εργαστήριο είτε σε συνθήκες υπαίθρου (Harper and Paulson 1994, Estrada-Franco and Craig 1995).

Φαινομενικός ανταγωνισμός (Apparent competition)

Ο φαινομενικός ανταγωνισμός λαμβάνει χώρα όταν υπάρχουν διαφορετικές επιδράσεις ενός παρασίτου ή ενός αρπακτικού σε δύο είδη που συνυπάρχουν (Holt and Lawton 1994). Αρχικά, η μείωση της γεωγραφικής κατανομής του *Ae. aegypti* στις Η.Π.Α., αποδόθηκε στις ασύμμετρες επιδράσεις ενός παρασιτικού πρωτόζωου, του *Ascogregarina taiwanensis*, το οποίο βρέθηκε στην βόρεια Αμερική ως ενδο-παράσιτο του *Ae. albopictus* αλλά θεωρούνταν ότι ήταν παθογόνο μόνο εναντίον του *Ae. aegypti* (Craig 1993).

Συγκεκριμένα, μετά την κατάποση των σπορίων του πρωτόζωου οι σποροζωίτες αναπτύσσονται στα κύτταρα του μεσεντέρου και το πρωτόζωο συμπληρώνει τον βιολογικό του κύκλο στους σωλήνες Malpighi, ενώ αργότερα τα σπόρια αποβάλλονται από το τέλειο κουνούπι. Μεγάλες προσβολές του *Ae. albopictus* από το συγκεκριμένο πρωτόζωο μπορεί να προκαλέσουν το πολύ 10-20% θνησιμότητα στις προνύμφες του. Πειράματα έχουν δείξει ότι το πρωτόζωο αυτό μεταφέρεται και στο *Ae. aegypti* όπου εγκλωβίζεται στον εντερικό σωλήνα και σε μεγάλες προσβολές μπορεί να προκαλέσει μεγάλη θνησιμότητα στις προνύμφες. Ωστόσο, σε δειγματοληψίες που πραγματοποιήθηκαν μετά την εγκατάσταση του *Ae. albopictus* στη Φλόριντα, βρέθηκε χαμηλή παρουσία αυτού του παρασίτου στο *Ae. aegypti* (Garcia *et al.* 1994, Juliano 1998). Επίσης, τα αποτελέσματα πειραμάτων υπαίθρου στη Φλόριντα σε ελαστικά όπου τα δύο είδη συνυπάρχουν δείχνουν ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους δεν μπορούν να αποδοθούν στο μηχανισμό του φαινομενικού ανταγωνισμού εξαιτίας του παρασίτου *A. taiwanensis* (Juliano 1998).

Παρεμπόδιση της εκκόλαψης των ωών (Egg hatching inhibition)

Οι Edgerly *et al.* (1993) ανέπτυξαν μία πρωτότυπη θεωρία σύμφωνα με την οποία οι προνύμφες του *Ae. albopictus* παρεμποδίζουν την εκκολαπτικότητα των ωών του *Ae. aegypti* και του *Ae. (=Ochlerotatus) triseriatus*. Ειδικότερα, οι ερευνητές αυτοί μελέτησαν την ανασταλτική επίδραση που μπορεί να προκαλούν οι προνύμφες κουνουπιών ενός είδους, στην εκκολαπτικότητα των ωών του ίδιου είδους και άλλων ειδών του ίδιου γένους,

ως ένα δυνητικό μηχανισμό ρύθμισης του πληθυσμού. Ειδικότερα μελέτησαν τα ποσοστά εκκόλαψης ωών του *Ae. albopictus* σε σχέση με την αύξηση της πυκνότητας των προνυμφών δύο πιθανών ανταγωνιστικών ειδών, του *Ae. aegypti* και του *Ae. triseriatus*.

Μετά την εμφάνιση των ωών *Aedes* στο νερό, διάφοροι μικροοργανισμοί επικάθονται στην επιφάνεια του ωού, με αποτέλεσμα να μειώνεται η περιεκτικότητα του διαλυμένου οξυγόνου λόγω μικροβιακής αναπνοής και έτσι να διεγείρεται η εκκόλαψή τους. Επομένως, η κατανάλωση των μικροοργανισμών από τις προνύμφες μπορεί να αποτελέσει ένα μηχανισμό παρεμπόδισης της εκκόλαψης των ωών. Συνεπώς, στα πειράματα των Edgerly *et al.* (1993) σε συλλογές νερού με διαφορετικούς συνδυασμούς και πυκνότητες προνυμφών εκτέθηκαν ωά από το κάθε είδος *Aedes* για 24 ώρες και μελετήθηκε το ποσοστό εκκόλαψής τους. Από τα τρία ανωτέρω είδη (*Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* και *Ae. triseriatus*), το μικρότερο ποσοστό παρεμπόδισης εκκόλαψης παρατηρήθηκε στα ωά του *Ae. albopictus* όταν αυτά εκτέθηκαν σε υψηλές πυκνότητες προνυμφών. Επιπλέον, στη χαμηλότερη πυκνότητα προνυμφών, το *Ae. albopictus* παρουσίασε την υψηλότερη διειδική εκκολαπτικότητα ωών. Έτσι, οι συγκεκριμένοι ερευνητές υπέθεσαν ότι οι διαφορές στην εκκολαπτικότητα των ωών οφείλονται σε διαφορές στο ρυθμό κατανάλωσης τροφής από τις προνύμφες, αναπνοής των ωών και της ποσότητας οξυγόνου που απαιτείται για την εκκόλαψη.

Η ικανότητα των προνυμφών του *Ae. albopictus* να παρεμποδίζουν την εκκόλαψη των ωών του *Ae. triseriatus* και του *Ae. aegypti* σε συνδυασμό με την τάση των ωών του *Ae. albopictus* να εκκολάπτονται σε εστίες «κατελιημμένες» από προνύμφες άλλων ειδών κουνουπιών, δίνει ένα σημαντικό πλεονέκτημα ανταγωνισμού στο *Ae. albopictus* έναντι άλλων ειδών κουνουπιών (Estrada-Franco and Craig 1995). Ενώ όμως αυτή η προαιρετική εκκολαπτικότητα των ωών ευνόησε το εισβάλλον είδος *Ae. albopictus* σε εργαστηριακά πειράματα ανταγωνισμού, εντούτοις δεν υπάρχουν αντίστοιχα διαθέσιμα πειράματα υπαίθρου αξιολόγησης αυτού του φαινομένου το οποίο να προκαλεί μια ενδεχόμενη μείωση πληθυσμών των κουνουπιών στη φύση (Lounibos 2007).

Απόθεση ωοτοκίας (Oviposition deterrence)

Το είδος κουνουπιού *Culiseta longiareolata* αποτρέπεται να ωοτοκήσει σε προσωρινές νερολακούβες από την παρουσία ενός είδους βατράχου, του *Bufo viridis*, που είναι δυνητικός ανταγωνιστής του για χώρο και τροφή (Blaustein and Kotler 1993). Αυτό το παράδειγμα δείχνει ότι ο φυσικός εκτοπισμός μπορεί να λάβει χώρα πριν την εμφάνιση των ανταγωνιστικών βιολογικών σταδίων των ειδών, όπως των προνυμφών. Οικολογικά μοντέλα δείχνουν ότι οι αλλαγές στην επιλογή των ενδιαιτημάτων λόγω διειδικών

επιδράσεων στην στρατηγική ωστοκίας μπορεί να επηρεάσει σημαντικά το μέγεθος του πληθυσμού των ανταγωνιζόμενων ειδών (Spencer *et al.* 2002).

Οι Nalen *et al.* (2013) διαπίστωσαν στο εργαστήριο ότι θηλυκά κουνούπια του *Ae. aegypti* που είτε έφεραν είτε όχι το εντομοπαθογόνο βακτήριο *Edhazardia aedis* γεννούσαν λιγότερα ωά σε συλλογές νερού που δραστηριοποιούνταν προνύμφες του *Ae. aegypti* προσβεβλημένες με το συγκεκριμένο είδος βακτηρίου, πιθανώς εξαιτίας της έκκλησης απωθητικών χημικών ερεθισμάτων των προνυμφών.

Ανταγωνισμός προνυμφών για πόρους ή Παρεμβατικός ανταγωνισμός προνυμφών (Larval resource or Interference competition)

Ανταγωνισμός εκμετάλλευσης ή παρέμβασης έχουν παρατηρηθεί μεταξύ των προνυμφών κουνουπιών και μπορεί να δρουν ταυτόχρονα στο ίδιο σύστημα (Dye 1984, Broadie and Bradshaw 1991, Juliano 1998).

Τα *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* είναι και τα δύο είδη κουνουπιών που αναπτύσσονται σε τεχνητές συλλογές νερού (artificial water containers) και σε πολλές μελέτες αναφέρεται ότι τα ατελή τους στάδια μοιράζονται το ίδιο ενδιαίτημα (habitat) (Gilotra *et al.* 1967, Chan *et al.* 1971, Ho *et al.* 1971, Sprenger and Wuithiranyagool 1986, Nasci *et al.* 1989, O'Meara *et al.* 1993). Εξαιτίας αυτής της οικολογικής σχέσης, θεωρήθηκε ότι σε αστικές περιοχές της νοτιοανατολικής Ασίας το εισβάλον *Ae. aegypti* εκτόπισε εξ ολοκλήρου το ιθαγενές *Ae. albopictus* (Pant *et al.* 1973). Έτσι, πολλές εργαστηριακές μελέτες στο παρελθόν που αφορούσαν τον ανταγωνισμό προνυμφών με διάφορες ασιατικές φυλές του *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* έδειξαν ότι οι προνύμφες του *Ae. aegypti* ανταγωνίζονταν καλύτερα εκείνες του *Ae. albopictus* (Gilotra *et al.* 1967, Moore and Fisher 1969, Sucharit *et al.* 1978).

Ο διεδικός ανταγωνισμός προνυμφών είχε προταθεί επίσης από τους Moore and Fisher (1969) ως ένας πιθανός μηχανισμός ανταγωνισμού για την εξήγηση της επιτυχημένης εισβολής του *Ae. aegypti* στην Ασία, δεδομένης της ανταγωνιστικής υπεροχής αυτού του εισβάλλοντος είδους που παρατηρήθηκε σε εργαστηριακά πειράματα έναντι του ιθαγενούς *Ae. albopictus*. Παρά το γεγονός ότι οι προνύμφες του *Ae. aegypti*, σε εργαστηριακά πειράματα, στην παρουσία τεχνητής τροφής επικράτησαν σταθερά έναντι του *Ae. albopictus* (Black *et al.* 1989), αυτή η ανταγωνιστική υπεροχή όμως δεν επιβεβαιώνεται λόγω της μείωσης των πληθυσμών του *Ae. aegypti* εξαιτίας της αντίστοιχης αύξησης του *Ae. albopictus* που παρατηρήθηκε στις νοτιοανατολικές πολιτείες των Η.Π.Α. στα τέλη της δεκαετίας του '80 και τις αρχές του '90 (Hobbs *et al.* 1991, O'Meara *et al.* 1995a). Ωστόσο, σε πειράματα ανταγωνισμού όπου χρησιμοποιήθηκαν υπολείμματα

φύλλων ως πηγή τροφής, οι προνύμφες του *Ae. albopictus* κυριαρχούσαν σταθερά έναντι του *Ae. aegypti* σε ανάπτυξη και επιβίωση (Barrera 1996, Juliano 1998), και η ανάλυση της πορείας της πληθυσμιακής αύξησης απέδειξε ότι ο διειδικός ανταγωνισμός προνυμφών ήταν η πιο λογική εξήγηση της πληθυσμιακής μείωσης του *Ae. aegypti* σε συλλογές νερού που περιείχαν ως πηγή τροφής υπολείμματα φύλλων (Juliano 1998). Παρόμοιο αποτέλεσμα ανταγωνιστικής υπεροχής των προνυμφών του *Ae. albopictus* έναντι του *Ae. aegypti* παρατηρήθηκε και σε πειράματα υπαίθρου, που πραγματοποιήθηκαν με τοπικούς πληθυσμούς των δύο αυτών ειδών στη Βραζιλία (Braks *et al.* 2004), καταδεικνύοντας ότι το φαινόμενο αυτό είναι γενικότερο και απαντάται και σε άλλες περιοχές με γενετικά διαφορετικούς πληθυσμούς κουνουπιών (Birungi and Munstermann 2002).

Εργαστηριακά πειράματα των Smith *et al.* (1995) έχουν καταδείξει την ανταγωνιστική υπεροχή του *Cx. quinquefasciatus* έναντι των προνυμφών του *Cx. tarsalis* και ως εκ τούτου προτείνεται ως ένας μηχανισμός ανταγωνισμού για την εξήγηση της μετατόπισης της ισορροπίας αυτών των δύο ειδών σε συλλογές κουνουπιών σε παγίδες φωτός τις δύο τελευταίες δεκαετίες στην κοιλάδα της Καλιφόρνια. Ωστόσο, η αλλαγή της πληθυσμιακής πυκνότητας κουνουπιών στις παγίδες μπορεί επίσης να οφείλεται στις αλλαγές των ενδιαιτημάτων της περιοχής ως συνέπεια της ανθρώπινης δραστηριότητας που ευνόησε την αύξηση πληθυσμών του *Cx. quinquefasciatus* σε ευτροφικά υδατικά περιβάλλοντα, τα οποία και προτιμώνται από το συγκεκριμένο είδος.

Ο διειδικός ανταγωνισμός προνυμφών μπορεί να λάβει χώρα επίσης σε περιπτώσεις όπου δεν παρατηρείται μείωση του πληθυσμού του ιθαγενούς είδους μετά την είσοδο ενός εισβάλλοντος αλλά το αντίστροφο, όπως στην περίπτωση ειδών κουνουπιού *Wyeomyia spp.* που αναπτύσσονται σε φυτοτέλματα και οι προνύμφες τους εκδήλωσαν ανταγωνιστική υπεροχή για πόρους από εκείνες του εισβάλλοντος *Ae. albopictus* σε περιοχές της Φλόριντα (Lounibos *et al.* 2003).

Διαφυλετικός ανταγωνισμός προνυμφών (Interphyletic larval competition)

Αν και στο παρελθόν οι περισσότερες μελέτες στον ανταγωνιστικό εκτοπισμό αφορούσαν μόνο οικολογικά ομόλογα είδη (DeBach 1966), τελευταίες έρευνες από τρία διαφορετικά οικοσυστήματα δείχνουν ότι οι προνύμφες κουνουπιών μπορεί να υφίστανται δια-φυλετικό ανταγωνισμό με προνυμφικά στάδια αμφίβιων της τάξης Anura. Έτσι, οι Blaustein and Margalit (1996) αναφέρουν ότι σε προσωρινές νερολακούβες στο Ισραήλ γυρίνοι βατράχων μπορεί να εμποδίσουν την ανάπτυξη προνυμφών του *Cs. longiareolata*. Σε πιο μόνιμες συλλογές νερού στην Αυστραλία γυρίνοι συμπατρικών ειδών βατραχοειδών παρεμποδίζουν την επιβίωση και ανάπτυξη προνυμφών του *Cx. quinquefasciatus* και *Oc.*

australis (Mokany and Shine 2003b, Mokany and Shine 2003a). Η μειωμένη ανάπτυξη των κουνουπιών από τα ατελή στάδια των βατράχων παρατηρείται σε νερά με υψηλό οργανικό φορτίο και ίσως οφείλεται σε κάποιο μύκητα ο οποίος ζει συμβιωτικά στον εντερικό σωλήνα των βατράχων αλλά παρεμποδίζει την ανάπτυξη των κουνουπιών (φαινομενικός ανταγωνισμός) (Mokany and Shine 2003b).

3.1.7 Παραδείγματα ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ του *Ae. albopictus* και άλλων ειδών *Aedes* στη φύση

Εξαιτίας του χωροκατακτητικού χαρακτήρα του *Ae. albopictus*, αναφέρονται παρακάτω βιβλιογραφικά δεδομένα και πληροφορίες για παραδείγματα ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων του με άλλα οικολογικά ομόλογα είδη *Aedes*.

Οι ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *Ae. albopictus* και του *Ae. aegypti*

Στη Νοτιοανατολική Ασία

Τον 20^ο αιώνα, η γεωγραφική κατανομή του *Ae. aegypti* στη Νοτιοανατολική Ασία, μετά την εισβολή του από την Αφρική, επεκτάθηκε από τις ακτές στις περισσότερες περιοχές και πόλεις της ενδοχώρας. Σε ορισμένες μεγαλουπόλεις το *Ae. aegypti* έγινε το κυρίαρχο οικιακό είδος κουνουπιού, εκτοπίζοντας το ιθαγενές κοινό είδος *Ae. albopictus*. Η εκτόπιση του *Ae. albopictus* και η επικράτηση του *Ae. aegypti* σε αυτές τις πόλεις έχει εξαιρετικό ενδιαφέρον, καθώς αμέσως μετά την εγκατάσταση του *Ae. aegypti* ο Δάγκειος αιμορραγικός πυρετός εξελίχθηκε σε μία κοινή ασθένεια των αστικών κέντρων (Hawley 1988).

Έτσι, αρκετοί ερευνητές υπέθεσαν ότι το *Ae. aegypti* εκτόπισε ανταγωνιστικά το *Ae. albopictus*, τουλάχιστον από ένα μέρος των ενδιαιτημάτων του, και εξέτασαν τον ανταγωνισμό των προνυμφών ως ένα πιθανό μηχανισμό αυτού του ανταγωνιστικού εκτοπισμού (competitive replacement). Τέτοιες εργαστηριακές μελέτες που αφορούσαν στον ανταγωνισμό προνυμφών με διάφορες ασιατικές φυλές του *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* έδειξαν ότι οι προνύμφες του *Ae. aegypti* ανταγωνίζονταν καλύτερα εκείνες του *Ae. albopictus* (Gilotra *et al.* 1967, Moore and Fisher 1969, Sucharit *et al.* 1978). Ωστόσο, οι ερευνητές αυτοί ξεκίνησαν τα πειράματά τους με προνύμφες 1^{ης} ηλικίας των δύο ειδών, χωρίς να υπολογίζεται η δυναμική του πληθυσμού μεικτών ηλικιών προνυμφών. Επιπλέον, οι μελέτες αυτές αντικατοπτρίζουν τον ανταγωνισμό στο ύπαιθρο μόνο στην περίπτωση που οι προνύμφες των δύο ειδών μοιράζονται τα ίδια ενδιαιτήματα (Hawley 1988).

Εάν το *Ae. aegypti* είναι πράγματι ανταγωνιστικά κυρίαρχο είδος σε σχέση με το *Ae. albopictus*, τότε θα έπρεπε να είχε μεγαλύτερη σχετική αφθονία και σε αγροτικές περιοχές,

όμως τα διαθέσιμα δεδομένα δεν επιβεβαιώνουν κάτι τέτοιο (Hawley 1988). Ο Yap (1975) αναφέρει ότι το *Ae. aegypti* απουσίαζε από αγροτικές περιοχές του νησιού Πένανγκ, παρότι είχε εγκατασταθεί στην πόλη Georgetown του νησιού τουλάχιστον 10 χρόνια νωρίτερα. Εβδομήντα χρόνια μετά την εισβολή του στο νησί Mahe στις Σεϋχέλλες, το *Ae. aegypti* δεν κατάφερε να επεκταθεί σε αγροτικές περιοχές, παρά την ύπαρξη σε αυτές άφθονων θέσεων αναπαραγωγής, οι οποίες όμως είχαν καταληφθεί από το *Ae. albopictus*.

Συνεπώς, αναπτύχθηκε μία εναλλακτική υπόθεση βασιζόμενη στο γεγονός ότι σε περιοχές της Νοτιοανατολικής Ασίας, τα *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* δεν καταλαμβάνουν τις ίδιες οικολογικές βιοθέσεις (ecological niches) και ως εκ τούτου δεν είναι δυνατό να ανταγωνίζονται σε μεγάλο βαθμό. Σύμφωνα με αυτή την άποψη, το *Ae. aegypti* έχει εξαπλωθεί στη Νοτιοανατολική Ασία αποικίζοντας βιοθέσεις, οι οποίες μόνο περιστασιακά καταλαμβάνονταν από το ιθαγενές *Ae. albopictus*. Έτσι, το *Ae. aegypti* αναπαράγεται σε εστίες νερού εντός ή πλησίον των οικιών σε αντίθεση από ότι το *Ae. albopictus* (Chan *et al.* 1971, Juco and Cabrera 1976, Hii 1979, Cheong 1986), το οποίο βρίσκεται συχνότερα σε κοιλότητες δένδρων και φυτών μπαμπού (Jumali *et al.* 1979).

Η αστικοποίηση πολλών ασιατικών χωρών χαρακτηρίστηκε από την πυκνή δόμηση μεγάλων περιοχών χωρίς την εγκατάσταση εσωτερικών σωλήνων ύδρευσης και την ταυτόχρονη καταστροφή της αστικής βλάστησης. Συνεπώς, η ραγδαία εξάπλωση του *Ae. aegypti* σε όλη τη Νοτιοανατολική Ασία τον προηγούμενο αιώνα και η εκτόπιση του *Ae. albopictus* σε συγκεκριμένα αστικά κέντρα πιθανότατα οφείλεται στην αποίκιση του *Ae. aegypti* μη εκμεταλλεύσιμων μέχρι εκείνη τη στιγμή βιοθέσεων (niche) και στην αύξηση αυτών των βιοθέσεων κατά τη διάρκεια της αστικοποίησης μεγάλων περιοχών (Hawley 1988).

Οι Hawley (1988) και Edgerly *et al.* (1993), καταλήγουν στην εξής θεώρηση: «οι αλλαγές στα ενδιαίτηματα (habitats) των κουνουπιών μπορεί να επηρεάσουν σημαντικά την εξέλιξη της εισβολής ειδών κουνουπιών. Η ανεξέλεγκτη αστικοποίηση περιοχών της Νοτιοανατολικής Ασίας σηματοδότησε την αύξηση της αφθονίας του *Ae. aegypti* που εισήλθε σε εκείνες τις περιοχές από την Αφρική και τη μείωση του ιθαγενούς *Ae. albopictus*.»

Στη Βόρεια Αμερική

Αντίθετα με τη Νοτιοανατολική Ασία, η είσοδος του *Ae. albopictus* στις Η.Π.Α. τη δεκαετία του '80 και η εξάπλωσή του στις νότιες παράκτιες πολιτείες συνοδεύτηκαν από μία δραστική και ραγδαία μείωση των πληθυσμών του *Ae. aegypti* (Nasci *et al.* 1989, O'Meara *et al.* 1993). Μάλιστα δειγματοληψίες από τεχνητές συλλογές νερού στο ύπαιθρο,

όπως ελαστικών, στο Τέξας, την Αλαμπάμα και τη Φλόριντα επιβεβαιώνουν την αύξηση των πληθυσμών του *Ae. albopictus* και τη δραματική μείωση των πληθυσμών του *Ae. aegypti* (Sprenger and Wuithiranyagool 1986, Hobbs et al. 1991, O'Meara et al. 1993).

Τα χαρακτηριστικά, ωστόσο, του εκτοπισμού του *Ae. albopictus* από το *Ae. aegypti* που παρατηρήθηκε σε αστικά κέντρα της Ασίας δεν σχετίζονται με το αντίστροφο φαινόμενο που παρατηρήθηκε στη Βόρεια Αμερική. Οι πληθυσμοί του *Ae. aegypti* της Βόρειας Αμερικής δεν σχετίζονται με εκείνους της Ασίας (Powell et al. 1980) και οι πληθυσμοί του *Ae. albopictus* που εισέβαλαν στη Βόρεια Αμερική προέρχονται από τη Βόρεια και όχι την Νοτιοανατολική Ασία (Hawley et al. 1987). Επιπλέον, οι βιοθέσεις πιθανού ανταγωνισμού των δύο ειδών στη Βόρεια Αμερική ήταν σωροί μεταχειρισμένων ελαστικών τοποθετημένοι σε εξωτερικούς χώρους, μακριά από πυκνοκατοικημένες περιοχές.

Εργαστηριακά πειράματα όπου χρησιμοποιήθηκαν φυτικά υπολείμματα ως τροφή των προνυμφών έδειξαν ότι στη Βόρεια Αμερική το *Ae. albopictus* κυριαρχεί στον ανταγωνισμό με το *Ae. aegypti* (Barrera 1996, Daugherty et al. 2000). Πειράματα υπαίθρου σε ελαστικά έδειξαν ένα παρόμοιο ανταγωνιστικό πλεονέκτημα για το *Ae. albopictus* (Juliano 1998). Μελέτες υπαίθρου σε ανθοδοχεία κοιμητηρίων έδειξαν ότι ο διειδικός ανταγωνισμός μεταξύ των προνυμφών των δύο ειδών μπορεί να προκαλέσει σημαντική μείωση στην επιβίωση του *Ae. aegypti* (Juliano et al. 2004), καταδεικνύοντας ότι το φαινόμενο του διειδικού ανταγωνισμού συμβαίνει στη φύση. Σε εργαστηριακά πειράματα ανταγωνισμού των προνυμφών των δύο ειδών χρησιμοποιήθηκαν διαφορετικές πηγές τροφής (π.χ. σκόνη συκωτιού, ζύμη, νεκρά έντομα) και βρέθηκε ότι υπήρχε ισορροπία μεταξύ των ειδών ή κάποιο πλεονέκτημα για το *Ae. aegypti* (Barrera 1996, Daugherty et al. 2000).

Το *Ae. aegypti* διατηρεί, ωστόσο, τους πληθυσμούς του στις νότιες και αστικές περιοχές της χερσονήσου της Φλόριντα (O'Meara et al. 1995b, Juliano et al. 2002, Juliano et al. 2004), και σε άλλες αστικές περιοχές των νότιων Η.Π.Α. (π.χ. Χιούστον, Σαβάνα, Νέα Ορλεάνη) και παράλληλα συνυπάρχει τοπικά σε αυτές τις περιοχές με το *Ae. albopictus* (Juliano et al. 2004, Juliano and Lounibos 2005). Η συνύπαρξη αυτή, παρά τον διειδικό ανταγωνισμό προνυμφών των δύο ειδών, παραμένει ένα από τα κύρια αναπάντητα ερωτήματα που σχετίζονται με την εισβολή του *Ae. albopictus* στη Βόρεια Αμερική. Το *Ae. aegypti* παραμένει το κυρίαρχο είδος στο Μαϊάμι (O'Meara et al. 1995a, O'Meara et al. 1995b) και τα νησιά του κοραλλιογενούς αρχιπελάγους της Φλόριντα, στα περισσότερα από τα οποία απουσιάζει το *Ae. albopictus* (Juliano and Lounibos 2005), πιθανόν λόγω των ξηρικών συνθηκών (Juliano et al. 2002) ή των εντατικών χημικών μέτρων καταπολέμησης.

Η παρούσα διασπορά του *Ae. aegypti* και του *Ae. albopictus* στις Η.Π.Α., σύμφωνα με την οποία το πρώτο είδος έχει πλέον περιοριστεί σε αστικές υποτροπικές περιοχές, αντικατοπτρίζει μία κατάσταση σχετικά σταθερής ισορροπίας, στην οποία οι ζώνες συνύπαρξης και αποκλεισμού των δύο ειδών σχετίζονται με διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες, κάτι που έχει παρατηρηθεί και σε άλλες περιοχές του κόσμου όπου τα δύο είδη είναι συμπατρικά ή παραπατρικά (Fontenille and Rodhain 1989). Πειράματα σε περιοχές αποκλεισμού και συνύπαρξης των δύο ειδών δείχνουν ότι η υψηλότερη θνησιμότητα των ωών του *Ae. albopictus* σε ξηρότερα και θερμότερα κλίματα αμβλύνει την ανταγωνιστική του υπεροχή στα προνυμφικά στάδια έναντι του *Ae. aegypti* (Juliano *et al.* 2002). Έτσι, ενώ οι περιοχές συνύπαρξης και αποκλεισμού των ειδών μπορεί να είναι παρόμοιες σε υδατικά περιβάλλοντα (Juliano *et al.* 2004), οι διαφορές στο εναέριο περιβάλλον μπορεί να καθορίζουν την επίδραση του διειδικού ανταγωνισμού των προνυμφών στις διάφορες περιοχές. Ως εκ τούτου, τόσο οι αβιοτικοί όσο και οι βιοτικοί παράγοντες μπορεί να επηρεάζουν το αποτέλεσμα της ανταγωνιστικής μείωσης μέσω των επιδράσεων στα διάφορα βιολογικά στάδια.

Οι ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *Ae. albopictus* και του *Ae. triseriatus*

Στη βόρεια Αμερική το *Ae. albopictus* έχει εντοπιστεί σε ελαστικά και κοιλότητες δένδρων μαζί με το *Ae. triseriatus* (Livdahl and Willey 1991, O'Meara *et al.* 1993). Εργαστηριακές μελέτες ανταγωνισμού των προνυμφών μεταξύ των δύο ειδών χρησιμοποιώντας νερό από κοιλότητες δένδρων και ελαστικών έδειξαν ότι τα δύο είδη μπορεί να συνυπάρχουν σε κοιλότητες δένδρων αλλά σε ελαστικά το *Ae. triseriatus* μπορεί να εκλείψει (Livdahl and Willey 1991). Η παραπάνω υπόθεση βασίστηκε στο γεγονός ότι τα οργανικά θρεπτικά συστατικά που βρίσκονται στα ελαστικά αξιοποιούνται πιο αποτελεσματικά από το *Ae. albopictus* ενώ στις κοιλότητες δένδρων αξιοποιούνται εξίσου από τα δύο είδη.

Αν και ο διειδικός ανταγωνισμός προνυμφών είναι προφανώς ένας σημαντικός μηχανισμός της μείωσης των πληθυσμών ορισμένων ειδών, η πρόβλεψη της πληθυσμιακής πορείας των ανταγωνιζόμενων ειδών στη φύση, βάσει εργαστηριακών πειραμάτων πολλές φορές έχει αποδειχθεί επισφαλής. Έτσι, στις αποτυχημένες προβλέψεις εργαστηριακών πειραμάτων έρχεται να προστεθεί και η πρόβλεψη της ανταγωνιστικής μείωσης του *Ae. triseriatus* σε ενδιαιτήματα ελαστικών από το εισβάλλον είδος *Ae. albopictus* που προέκυπτε από τα παραπάνω εργαστηριακά πειράματα των Livdahl and Willey (1991) και τελικώς δεν παρατηρήθηκε στην περιοχή της Φλόριντα (Lounibos *et al.* 2001). Η απροσδόκητη συνύπαρξη των δύο αυτών ειδών στη φύση αποδίδεται πιθανόν στην επιλογή

διαφορετικών ενδιαιτημάτων (Lounibos *et al.* 2001) και την ασύμμετρη ευαισθησία σε ιθαγενή αρπακτικά (Griswold and Lounibos 2005).

Οι ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *Ae. albopictus* και του *Ae. polynesiensis*

Εργαστηριακά πειράματα σε κλωβούς, που διενεργήθηκαν στο πανεπιστήμιο John Hopkins, έδειξαν ότι το *Ae. albopictus* μπορούσε να εκτοπίσει ανταγωνιστικά πληθυσμούς του *Ae. polynesiensis* (Gubler 1970a). Οι μηχανισμοί εκτοπισμού του *Ae. polynesiensis* από το *Ae. albopictus* που αποδείχτηκαν εργαστηριακά ήταν η παραγωγή στείρων θηλυκών του *Ae. polynesiensis* λόγω ασύμμετρου αναπαραγωγικού ανταγωνισμού με το *Ae. albopictus* (Gubler 1970b), ο διειδικός ανταγωνισμός των προνυμφών (Lowrie 1973), ή ο συνδυασμός αυτών των δύο μηχανισμών (Gubler 1970a).

Βάσει του διειδικού ανταγωνισμού που παρατηρούνταν στα εργαστηριακά πειράματα, μη-ιθαγενείς φυλές του *Ae. albopictus* εξαπολύθηκαν σε ένα αραιοκατοικημένο κοραλλιογενές νησί στον Ειρηνικό Ωκεανό ώστε να μειωθεί ο τοπικός πληθυσμός του *Ae. polynesiensis* (Rosen *et al.* 1976). Σκοπός του όλου εγχειρήματος ήταν ο εκτοπισμός ενός είδους κουνουπιού (*Ae. polynesiensis*), σημαντικού διαβιβαστή του παρασίτου της ανθρώπινης φιλαρίασης, από ένα είδος κουνουπιού που δεν είναι διαβιβαστής (*Ae. albopictus*) του συγκεκριμένου παρασίτου. Παρόλο που το *Ae. albopictus* εξαπολύθηκε σε όλο το νησί, δεν κατάφερε να εγκατασταθεί και εξαφανίστηκε μέσα σε 2 χρόνια, χωρίς να επηρεάσει τους πληθυσμούς του *Ae. polynesiensis* (Rosen *et al.* 1976).

Σύμφωνα με τον Hawley (1988), τα ενδιαιτήματα όπου εξαπολύθηκε το *Ae. albopictus* ίσως για κάποιο λόγο ήταν ακατάλληλα για την εγκατάσταση του συγκεκριμένου είδους. Ενώ οι ερευνητές αδυνατούσαν να εξηγήσουν την αποτυχία της εγκατάστασης του *Ae. albopictus* στα ενδιαιτήματα-στόχους (Lounibos 2007), το συγκεκριμένο πείραμα είναι ένα χαρακτηριστικό παράδειγμα αποτυχίας των εργαστηριακών πειραμάτων να εκτιμήσουν την έκβαση των ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων στη φύση (Hawley 1988).

Οι ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του *Ae. albopictus* και του *Ae. guamensis*

Το *Ae. albopictus* αναφέρεται ότι έχει εκτοπίσει το *Ae. guamensis* από ορισμένες περιοχές της χώρας του Γκουάμ και των νήσων Mariana στην Ωκεανία. Το *Ae. guamensis* είναι ιθαγενές του Γκουάμ ενώ το *Ae. albopictus* εισήλθε στη χώρα το 1944 (Estrada-Franco and Craig 1995). Έως το 1970 η πληθυσμιακή πυκνότητα του *Ae. albopictus* σε σχέση με εκείνη του *Ae. guamensis* είχε αυξηθεί δραματικά (Hawley 1988). Μάλιστα σε

μελέτη των Rozeboom and Bridges (1972) αναφέρεται ότι λόγω του ανταγωνισμού η πληθυσμιακή πυκνότητα του *Ae. guamensis* μειώθηκε στο 95% σε τεχνητές συλλογές νερού και έως 30% σε φυσικές εστίες νερού, ενώ καταγράφηκε αντίστοιχη αύξηση της πυκνότητας του *Ae. albopictus*.

Συμπεράσματα ως προς τον ανταγωνισμό μεταξύ ειδών κουνουπιών του γένους *Aedes*

Συμπερασματικά, έχουν ακολουθηθεί διάφορες προσεγγίσεις για να εξηγήσουν την μείωση των πληθυσμών του *Ae. aegypti* στη Βόρεια Αμερική και τον ρόλο που έχει διαδραματίσει σε αυτή τη μείωση η εξάπλωση του *Ae. albopictus*, ωστόσο δεν έχει προκύψει ακόμη ένα γενικό συμπέρασμα που να την εξηγεί. Πολλοί ερευνητές συμφωνούν ότι δεν υπάρχουν επαρκείς ενδείξεις που να αποδεικνύουν ότι η μείωση των πληθυσμών του *Ae. aegypti* και του *Ae. triseriatus* οφείλεται στο *Ae. albopictus*. Πιθανότατα, ένας συνδυασμός διαφόρων παραγόντων, συμπεριλαμβανομένου και του ανταγωνισμού προνυμφών με το *Ae. albopictus*, συνέβαλε στη μείωση πληθυσμών του *Ae. aegypti* και άλλων ειδών *Aedes* στη βόρεια Αμερική (Estrada-Franco and Craig 1995).

Χαρακτηριστικά οι Estrada-Franco and Craig (1995) αναφέρουν ότι παρά τις πολυάριθμες πιθανές εξηγήσεις, τα φαινόμενα ανταγωνιστικού εκτοπισμού των ειδών *Aedes* που έχουν παρατηρηθεί στη Βόρεια Αμερική και τη Νοτιανατολική Ασία εξακολουθούν να αποτελούν ένα οικολογικό αίνιγμα.

Οι ιατρικοί εντομολόγοι (medical entomologists) στην προσπάθειά τους να εξηγήσουν τις αλλαγές που παρατηρούνται στη διασπορά και την πληθυσμιακή αφθονία ειδών κουνουπιών του γένους *Aedes* επικαλούνται επανειλημμένως τον ανταγωνιστικό αποκλεισμό. Αν και πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι ο διειδικός ανταγωνισμός όντως υπάρχει στη φύση, ο ανταγωνιστικός αποκλεισμός σπάνια εμφανίζεται σε φυσικούς πληθυσμούς ζώων (Birch 1979, den-Boer 1986).

Για πολλά ζώα, συμπεριλαμβανομένων των κουνουπιών του γένους *Aedes*, ο ανταγωνιστικός αποκλεισμός αποτελεί ίσως μία «βολική» εξήγηση για τις αλλαγές που παρατηρούνται στη διασπορά μεταξύ ειδών, των οποίων η δυναμική πληθυσμών δεν έχει μελετηθεί πλήρως. Άλλες υποθέσεις για την ερμηνεία της μεταβολής της διασποράς και αφθονίας των ειδών, όπως οι κλιματικές αλλαγές, οι αλλαγές των ενδιαιτημάτων ή ο παρασιτισμός, τυχάνουν μικρότερης προσοχής απλώς επειδή απαιτούν αρκετά ενδελεχή γνώση της βιολογίας των πληθυσμών των εν λόγω ειδών. Για τα περισσότερα είδη κουνουπιών τέτοιες πληροφορίες σχετικά με τη βιολογία του πληθυσμού τους είναι συνήθως περιορισμένες. Έτσι, η παρατήρηση του εκτοπισμού ενός είδους από ένα άλλο,

δεν συνεπάγεται απαραίτητα κάποιο μηχανισμό ανταγωνιστικού εκτοπισμού (Hawley 1988).

3.2 Σκοπός της μελέτης

Ο Κολιόπουλος (2011) μελέτησε, μεταξύ άλλων, την παρουσία και εξάπλωση του *Ae. cretinus* με παγίδες ωθοεσίας στο Νομό Αττικής για την τριετία 2000-2002. Με βάση τα στοιχεία των δειγματοληψιών, ο συγκεκριμένος συγγραφέας συμπεραίνει ότι το *Ae. cretinus* διατηρεί μόνιμα εγκατεστημένους πληθυσμούς στο Νομό Αττικής και η παρουσία του είναι εμφανής σε όλες τις γεωγραφικές ζώνες του Νομού που είχε οριοθετήσει. Αναφέρει επίσης ότι κατά τη διάρκεια του έτους, το *Ae. cretinus*, είναι δραστήριο τουλάχιστον για 9 μήνες, αδιάλειπτα σχεδόν σε όλες τις περιοχές της συγκεκριμένης μελέτης, με τη δραστηριότητα των θηλυκών για ωοτοκία να αρχίζει την άνοιξη (συνήθως τον Απρίλιο), με τις μέγιστες ωθοεσίες να καταγράφονται το καλοκαίρι και νωρίς το φθινόπωρο, και να σταματάει κατά τα τέλη Οκτώβρη ή αρχές Νοέμβρη.

Η σχετική αφθονία του *Ae. cretinus* που καταγράφηκε σε διάφορες περιοχές της Αττικής από τον Κολιόπουλο (2011) την τριετία 2000 έως 2002, πριν την εισβολή του *Ae. albopictus* στη χώρα μας το 2003-2004 (Samanidou-Voyadjoglou *et al.* 2005) και την πρώτη καταγραφή του στην Αθήνα το 2008 (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008), έρχεται σε αντίθεση με την αφθονία του *Ae. albopictus* και ταυτόχρονα την πολύ περιορισμένη παρουσία του *Ae. cretinus* που καταγράφηκε τα έτη 2009 και 2010 στην περιοχή μελέτης της Αττικής που αναφέρεται στο κεφάλαιο 2 της παρούσας μελέτης. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι ορισμένα σημεία (όχι ακριβώς τα ίδια) στις ευρύτερες περιοχές της μελέτης του Κολιόπουλου (2011), όπως το Παλαιό Ψυχικό, το Ολυμπιακό Στάδιο, το ρέμα Χαλανδρίου, το Μαρούσι, η Μεταμόρφωση και το Περιστερί είχαν επιλεγεί στην παρούσα διατριβή για παγιδοθέτηση όπως περιγράφεται αναλυτικά και στο κεφάλαιο 2.

Επιπλέον, σε διάφορα σημεία του Δήμου Χαλανδρίου, ανατολικότερα από την περιοχή «Ανατολικά» της μελέτης του κεφαλαίου 2, προκαταρκτικές δειγματοληψίες με τη μέθοδο «άνθρωπος δόλωμα» (human-bait), που πραγματοποιήθηκαν από τον γράφοντα, έδειξαν ότι τα έτη 2009-2010, υπήρχε δραστηριότητα τελείων του *Ae. cretinus* σε εκείνες τις περιοχές.

Συνεπώς, τόσο τα ευρήματα της παρούσας εργασίας όσο και τα αποτελέσματα της μελέτης του Κολιόπουλου (2011), αποτέλεσαν το κίνητρο για τη μελέτη διερεύνησης της εποχικής συνύπαρξης των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στο φυσικό τους

περιβάλλον. Η μελέτη της εποχικής παρουσίας των δύο ειδών στο πεδίο πραγματοποιήθηκε με συλλογές των ωών τους με τη χρήση παγίδων ωοθεσίας.

Οι πολύ περιορισμένοι πληθυσμοί του *Ae. cretinus* και η μεγάλη διασπορά και αφθονία των πληθυσμών του *Ae. albopictus* που βρέθηκαν στις συγκεκριμένες περιοχές μελέτης της παρούσας διατριβής, σε συνδυασμό με τη διασπορά και αφθονία του *Ae. cretinus* που καταγράφηκε από τον Κολιόπουλο (2011) τα έτη 2000-2002 πριν την εισβολή του *Ae. albopictus* στην Αττική, καθώς και τα ευρήματα άλλων εργασιών (βλ. παρ. 3.1.7) που εισηγούνται ότι το *Ae. albopictus* πιθανόν ανταγωνίζεται άλλα είδη κουνουπιών, σηματοδότησαν τη διερεύνηση του ανταγωνισμού των δύο συγγενών ειδών *Aedes* στο εργαστήριο.

Ως εκ τούτου, στο παρόν κεφάλαιο διερευνήθηκε το ενδεχόμενο ενδοειδικού και διειδικού ανταγωνισμού των προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* σε ελεγχόμενες συνθήκες στο εργαστήριο. Πιο συγκεκριμένα, διερευνήθηκε εάν σε δεδομένο χώρο για το κάθε είδος κουνουπιού η συνύπαρξη των προνυμφών των δύο ειδών, η ποσότητα τροφής και η πυκνότητα των ατόμων τους, επηρεάζουν την ταχύτητα ανάπτυξης των προνυμφών, την επιβίωση των προνυμφών και το μέγεθος των τελείων.

Επιπλέον, μελετήθηκε το ενδεχόμενο διειδικών συζεύξεων και υβριδισμού μεταξύ των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στο εργαστήριο. Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε το ενδεχόμενο σύζευξης, ωοτοκίας και υβριδισμού, μετά από διασταυρώσεις μεταξύ τελείων των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* σε συνθήκες περιορισμού, εντός κλωβών στο εργαστήριο.

Επισημαίνεται ότι στα πλαίσια της συγκεκριμένης έρευνας, διερευνήθηκε για πρώτη φορά τόσο η εποχική συνύπαρξη των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στο φυσικό τους περιβάλλον, όσο και ο ανταγωνισμός των προνυμφών και οι διειδικές διασταυρώσεις των δύο ειδών στο εργαστήριο.

3.3 Υλικά και Μέθοδοι

3.3.1 Μελέτη της εποχικής συνύπαρξης των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στο φυσικό περιβάλλον

Στις 10 παγίδες ωοθεσίας που βρίσκονταν στην περιοχή «Ανατολικά», όπου και είχε καταγραφεί η συνύπαρξη των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* πραγματοποιήθηκαν εβδομαδιαίες δειγματοληψίες ωών το έτος 2011. Παράλληλα, χρησιμοποιώντας δεδομένα

από το κεφ. 2, πραγματοποιήθηκε συγκριτική μελέτη της παρουσίας των δύο συγγενών ειδών στο χρόνο και στο χώρο, στην περιοχή «Ανατολικά» για τα έτη 2009, 2010 και 2011.

Προκειμένου να επιβεβαιωθεί η εποχική παρουσία των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στο πεδίο σε μια περιοχή όπου εντοπίζονται και τα δύο είδη, οριοθετήθηκε επιπλέον για το 2011 μία νέα περιοχή έκτασης 5 km², ανατολικότερα της περιοχής «Ανατολικά», η οποία περιελάμβανε κυρίως γειτονίες του Δήμου Χαλανδρίου, και γι αυτό ονομάστηκε «Χαλάνδρι». Σε αυτή την περιοχή, κατ' αντιστοιχία με το δίκτυο παγίδων ωθοεσίας του 2009-2011, από την 1 Ιανουαρίου 2011 εγκαταστάθηκαν 10 παγίδες ωθοεσίας που απείχαν μεταξύ τους τουλάχιστον 500 μέτρα, και οι οποίες παρακολουθούνταν εβδομαδιαίως έως το τέλος του έτους (31 Δεκεμβρίου 2011).

Τα υλικά και μέθοδοι, δηλαδή οι παγίδες ωθοεσίας, η παγιδοθέτηση, ο τρόπος δειγματοληψίας καθώς και η διαδικασία εκκόλαψης των ωών και ανάπτυξης των προνυμφών/νυμφών στο εργαστήριο για την ταυτοποίηση του είδους κουνουπιού από το στάδιο του τελείου, είναι ακριβώς τα ίδια με εκείνα που ακολουθήθηκαν το 2009 και 2010 και περιγράφονται στις παραγράφους 2.2.2 και 2.3.4.

3.3.1.1 Επεξεργασία των δεδομένων

Η εκτίμηση της εποχικής παρουσίας και συνύπαρξης των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* πραγματοποιήθηκε με τον υπολογισμό των εξής παραμέτρων:

- i. Το ποσοστό (%) των θετικών παγίδων.
- ii. Το ποσοστό (%) παγίδων από το οποίο, μετά τη μεταχείριση των ωών στο εργαστήριο, προέκυψαν τέλεια του *Ae. albopictus* ή του *Ae. cretinus* ή και των δύο ειδών ταυτόχρονα στην ίδια δειγματοληψία.

Επιπλέον, η παρουσία των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στην περιοχή «Ανατολικά», για την περίοδο Αύγουστο-Δεκέμβριο του 2009 και για τα έτη 2010 και 2011, καθώς και στην περιοχή «Χαλάνδρι», για το έτος 2011, απεικονίστηκε χωροταξικά σε χάρτες για κάθε παγίδα σε κάθε περιοχή και κάθε αντίστοιχη χρονική περίοδο μελέτης, έως το τέλος της κάθε περιόδου. Πιο συγκεκριμένα, στους χάρτες η παρουσία των ειδών σε κάθε παγίδα απεικονίστηκε χρωματικά με βάση το είδος των τελείων κουνουπιών, τα οποία προέκυψαν από την εργαστηριακή μεταχείριση των ωών, έως και το τέλος της κάθε χρονικής περιόδου.

3.3.2 Εργαστηριακή εκτροφή των ειδών *Aedes albopictus* και *Aedes cretinus*

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

Τα τέλεια κουνούπια διατηρούνταν εντός ξύλινων κλωβών, διαστάσεων 33x33x33 cm, με τις ακμές ξύλινες και τις 3 πλευρές τους καλυμμένες με λεπτή σήτα. Στο εμπρός μέρος ο κλωβός έχει γυάλινη επιφάνεια για την εύκολη εποπτεία των εντόμων ενώ στο πίσω μέρος υπήρχε κατασκευή με υφασμάτινο «μανίκι» που επέτρεπε την είσοδο του χεριού του παρατηρητή καθώς και την εισαγωγή και εξαγωγή υλικών, αποτρέποντας όμως την απόδραση των εντόμων (**Εικόνα 35**). Οι χειρισμοί των τελείων εντόμων στο εντομοτροφείο, γίνονταν συνήθως με απλό αναρροφητήρα.

Τα τέλεια κουνούπια, για την επιβίωσή τους, τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%, το οποίο τοποθετούνταν μέσα στον κάθε κλωβό, σε ένα μικρό γυάλινο δοχείο, χωρητικότητας 100 ml, μαζί με μια κατασκευή από διηθητικό χαρτί και βαμβάκι (σαν φιλίλι), για την ευκολότερη λήψη του διαλύματος από τα έντομα. Τα ζαχαρούχα διαλύματα αντικαθίσταντο με καινούρια μία φορά την εβδομάδα. Στα θηλυκά κουνούπια παρέχονταν γεύμα αίματος κάθε 15 ημέρες περίπου προκειμένου να ωοτοκήσουν. Η χορήγηση αίματος στα κουνούπια γινόταν από το βραχίονα του γράφοντος με την είσοδο του χεριού, έχοντας τον καρπό καλυμμένο με γάντι, εντός του κλωβού για περίπου 10-15 λεπτά έως ότου πραγματοποιηθεί επαρκής αριθμός τσιμπημάτων.

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα ωά του *Ae. albopictus* προσκολλώνται στα βρεγμένα τοιχώματα και άλλες επιφάνειες που είναι βυθισμένες εντός της εστίας του νερού. Για τις ανάγκες της εκτροφής, εντός των κλωβών, τοποθετούνταν 3-4 πλαστικά λευκά δοχεία χωρητικότητας 250 ml που συμπληρώνονταν περίπου με 100 ml νερό. Ως υπόστρωμα ωοτοκίας εντός των δοχείων υπήρχε λευκό διηθητικό χαρτί από φίλτρο του καφέ όπου τα ωά προσκολλούνταν από τα θηλυκά κουνούπια πάνω από την επιφάνεια του νερού (**Εικόνα 35**). Τα υποστρώματα με τα προσκολλημένα ωά αφήνονταν εντός του κλωβού για

μερικές ημέρες (4-5) προκειμένου να συμπληρωθεί η εμβρυική ανάπτυξη και να είναι έτοιμα να εκκολαφθούν.

Τα υποστρώματα ωτοκίας (διηθητικά χαρτιά) που έφεραν προσκολλημένα ωά του *Ae. albopictus* εμβαπτίζονταν σε νερό βρύσης μέσα σε λεκάνες εμαγιέ, διαμέτρου 35 εκ. και βάθους 10 εκ., οι οποίες καλύπτονταν με λεπτό τούλι. Για την εκκόλαψη των ωών και την ανάπτυξη των προνυμφών εντός των λεκανών, προστίθετο επαρκής ποσότητα κατάλληλης ιχθυοτροφής (JBL Novo Tom 10% Artemia) σε τακτά χρονικά διαστήματα (**Εικόνα 36**). Έτσι, σε κάθε λεκάνη αναπτύσσονταν περίπου 400 προνύμφες με χορήγηση άφθονης τροφής (*ad libitum*) (**Εικόνα 36**) έως και την έξοδο των τελείων κουνουπιών. Τα τέλεια κουνούπια συλλέγονταν με αναρροφητήρα και οδηγούνταν στον κλωβό εκτροφής για τη συνέχιση του βιολογικού κύκλου του εντόμου.

Η διατήρηση της εκτροφής του *Ae. cretinus* για τις ανάγκες των πειραμάτων της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκε με τα ίδια υλικά και μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την εκτροφή του *Ae. albopictus*. Ο αρχικός πληθυσμός προήλθε από ωά τα οποία είχαν συλλεχθεί με παγίδες ωοθεσίας τον Μάιο του 2012 από τοποθεσίες της περιοχής Χαλάνδρι στην Αθήνα, όπου και δραστηριοποιούνταν το *Ae. cretinus*. Η εκτροφή ξεκίνησε με τέλεια άτομα του *Ae. cretinus* που προέκυψαν μετά την εμβάπτιση εκείνων των ωών στο νερό και την ανάπτυξη των προνυμφών/νυμφών.



Εικόνα 35. Κλωβός διατήρησης των τελείων του *Ae. albopictus* (δοχεία με υδατικά διαλύματα ζάχαρης ως πηγή τροφής και δοχείο με νερό και διηθητικό χαρτί ως υπόστρωμα ωτοκίας) (αριστερά) και δοχείο με ωά κολλημένα στο υπόστρωμα του διηθητικού χαρτιού (δεξιά).



Εικόνα 36. Εμβάπτιση διηθητικού χαρτιού με ωά (αριστερά) και ανάπτυξη προνυμφών (δεξιά) του *Ae. albopictus* εντός λεκάνης με νερό και ιχθυοτροφή.

3.3.3 Ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προνυμφών του *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στο εργαστήριο.

Το πείραμα ανταγωνισμού των προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* διεξήχθη εντός κλιματιζόμενου δωματίου (3 x 3m), σε θερμοκρασία 25 ± 1 °C, σχετική υγρασία 80-90% και φωτοπερίοδο 16Φ:8Σ. Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν προνύμφες 1^{ης} ηλικίας από τις εργαστηριακές εκτροφές του κάθε είδους ηλικίας μικρότερης των 8 ωρών. Για το σκοπό αυτό, ωά από το κάθε είδος που είχαν διατηρηθεί υγρά για αρκετές ημέρες ώστε να ολοκληρωθεί η εμβρυογένεση, εμβαπτίστηκαν ξεχωριστά σε νερό μέσα σε λεκάνες εμαγιέ, διαμέτρου 35 εκ. και βάθους 10 εκ., οι οποίες καλύπτονταν με λεπτό τούλι. Περίπου 8 ώρες μετά την εμβάπτιση των ωών οι νεοεκκολαφθείσες προνύμφες μεταφέρονταν την ίδια ημέρα, με τη βοήθεια πλαστικής πιπέτας σε πλαστικά διαφανή δοχεία χωρητικότητας 500 ml που έφεραν 250 ml νερό και καλύπτονταν από λεπτό τούλι. Στις προνύμφες χορηγούνταν καθημερινά συγκεκριμένη ποσότητα τροφής, ιχθυοτροφή (JBL Novo Tom 10% Artemia), ανά προνύμφη, έως το στάδιο της νύμφης.

Στο δοχείο νερού τοποθετήθηκαν ομάδες ατόμων (cohorts) (προνύμφες 1^{ης} ηλικίας) σε δύο διαφορετικές πυκνότητες: 20 άτομα, «χαμηλή πυκνότητα» και 60 άτομα, «υψηλή πυκνότητα». Καθημερινά, χορηγούνταν δύο ποσότητες τροφής: 0,1 mg τροφής/προνύμφη, «χαμηλή ποσότητα τροφής» και 0,3 mg τροφής/προνύμφη, «υψηλή ποσότητα τροφή». Η αξιολόγηση του ανταγωνισμού πραγματοποιήθηκε σε δοχεία με νερό που περιείχαν είτε προνύμφες του «ενός είδους» (ενδοειδικός ανταγωνισμός), είτε προνύμφες των «δύο ειδών» μαζί σε αναλογία 1:1 (διειδικός ανταγωνισμός) (**Εικόνα 37**). Η σειρά τοποθέτησης

των δοχείων με το νερό και τις προνύμφες εντός του δωματίου, εναλλάσσονταν καθημερινά προκειμένου να αποφευχθεί κάποια επίδραση της θέσης των δοχείων στα αποτελέσματα του πειράματος (Εικόνα 38).

Για τον κάθε συνδυασμό των επεμβάσεων «είδος κουνουπιού» x «ανταγωνισμός» x «ποσότητα τροφής» x «πυκνότητα ατόμων», πραγματοποιήθηκαν 6 επαναλήψεις.



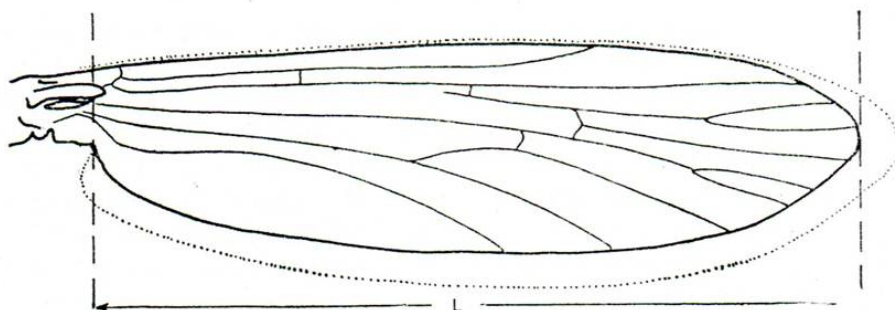
Εικόνα 37. Ομάδα 60 προνυμφών του *Ae. cretinus* εντός δοχείου με νερό στη χορήγηση 0,3 mg τροφής/ ημέρα.



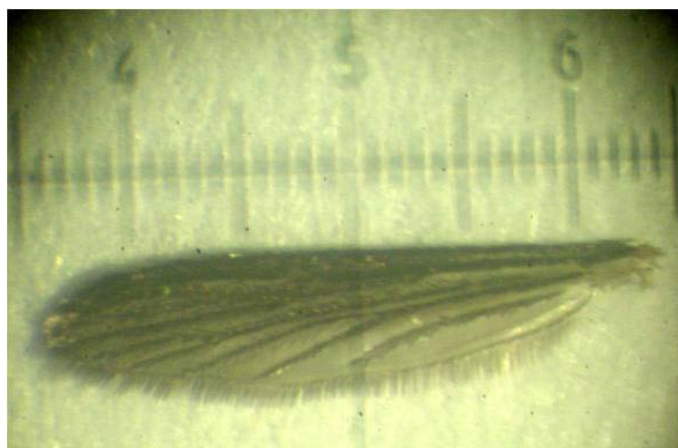
Εικόνα 38. Δοχεία των 500 ml με 250 ml νερό και προνύμφες κουνουπιών με τροφή (κάτω), δοχεία των 200 ml με 100 ml νερό και καθαρό νερό με νύμφες και δοχεία μεταφοράς των τελείων κουνουπιών προς θανάτωση (επάνω), εντός δωματίου ελεγχόμενων συνθηκών.

Με την τοποθέτηση των προνυμφών πραγματοποιήθηκαν μετρήσεις που αφορούσαν τη διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης, την επιβίωση των προνυμφών και το μήκος της πτέρυγας των θηλυκών, σε κάθε μεταχείριση. Καθημερινά, σε κάθε επανάληψη ομάδας

προνυμφών για κάθε μεταχείριση καταγράφονταν η εμφάνιση νυμφών. Οι ζωντανές νύμφες μεταφέρονταν ξεχωριστά σε πλαστικά δοχεία χωρητικότητας 200 ml με 100 ml καθαρό νερό, τα οποία σκεπάζονταν με τούλι, έως την εμφάνιση των τελείων (**Εικόνα 38**). Όλα τα τέλεια κουνούπια που εξέρχονταν συλλέγονταν και θανατώνονταν με τοποθέτησή τους σε κατάψυξη. Από το σύνολο των εξερχομένων τελείων μετρήθηκε το μήκος της πτέρυγας των θηλυκών ατόμων. Με τη βοήθεια στερεοσκοπίου που έφερε κλίμακα μετρήθηκε το μήκος της μίας εκ των δύο πτερύγων λόγω της αμφίπλευρης συμμετρίας των εντόμων, από την κορυφή, εξαιρώντας τους κροσσούς, μέχρι το σημείο καμπής προς την βάση της πτέρυγας, όπως φαίνεται στις **Εικόνες 39** και **40** (van-den-Huevel 1963, Packer and Corbet 1989).



Εικόνα 39. Τμήμα της πτέρυγας θηλυκού του *Ae. aegypti* που μετράται για τον υπολογισμό του μήκους της πτέρυγας (van den Huevel 1963).



Εικόνα 40. Μέτρηση του μήκους πτέρυγας θηλυκού του *Ae. albopictus* σε στερεοσκόπιο με κλίμακα.

3.3.3.1 Στατιστική ανάλυση

Η επίδραση των παραγόντων: «είδος κουνουπιού», «ποσότητα τροφής», «πυκνότητα ατόμων» και «ανταγωνισμός» και οι αλληλεπιδράσεις τους στις εξαρτημένες μεταβλητές: διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης, επιβίωση προνυμφών και μήκος πτέρυγας των θηλυκών, προσδιορίστηκαν ξεχωριστά για κάθε μεταβλητή με την ανάλυση διασποράς 4 παραγόντων (4-way ANOVA). Για τον κάθε παράγοντα υπήρχαν 2 επίπεδα και πιο συγκεκριμένα: για τον παράγοντα «είδος κουνουπιού» τα επίπεδα «*Ae. albopictus*» και «*Ae. cretinus*», για τον παράγοντα «ποσότητα τροφής» τα επίπεδα «χαμηλή» και «υψηλή» ποσότητα τροφής, για τον παράγοντα «πυκνότητα ατόμων» τα επίπεδα «χαμηλή» και «υψηλή» πυκνότητα και για τον παράγοντα «ανταγωνισμός» τα επίπεδα «ένα είδος» και «δύο είδη».

Πριν την ανάλυση διασποράς ελέγχθηκε και διαπιστώθηκε ότι τα δεδομένα ακολουθούν την κανονική κατανομή.

Όσον αφορά στις μεταβλητές «μήκος πτέρυγας» και «επιβίωση προνυμφών» υπήρχε ομοιογένεια διασπορών των τιμών κάθε μεταβλητής (ομοσκεδαστικότητα) μεταξύ των 4 παραγόντων. Επειδή όμως δεν υπήρχε ομοσκεδαστικότητα στην περίπτωση της εξαρτημένης μεταβλητής «διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης», πριν την ανάλυση διασποράς, οι τιμές της προνυμφικής ανάπτυξης μετατράπηκαν σε $\log_{10}x$. Μετά τη μετατροπή αυτή, οι διασπορές των τιμών της συγκεκριμένης μεταβλητής ήταν ομοιογενείς για τους 4 παράγοντες του πειράματος. Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διασποράς των δεδομένων για τους 4 παράγοντες για κάθε μία από τις 3 μεταβλητές ξεχωριστά (4 way-ANOVA).

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

3.3.4 Αναπαραγωγικός ανταγωνισμός

Σε ελεγχόμενες συνθήκες στο εργαστήριο, διερευνήθηκε το ενδεχόμενο αναπαραγωγικού ανταγωνισμού μεταξύ των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*. Πιο συγκεκριμένα, διερευνήθηκε εάν σε συνθήκες περιορισμένου χώρου, εντός εντομολογικών κλωβών, μετά από διειδικές διασταυρώσεις αρσενικών και θηλυκών των δύο ειδών κουνουπιών πραγματοποιούνται συζεύξεις και ωοτοκίες που να δίνουν απογόνους.

Το πείραμα αναπαραγωγικού ανταγωνισμού των τελείων των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* διεξήχθη εντός κλιματιζόμενου δωματίου (3 x 3m), σε θερμοκρασία 25 ± 1 °C, σχετική υγρασία 80-90% και φωτοπερίοδο 16Φ:8Σ. Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν παρθένα αρσενικά και θηλυκά άτομα ηλικίας 2-3 ημερών από τις

εργαστηριακές εκτροφές του κάθε είδους. Για τη συλλογή παρθένων τελείων κουνουπιών, συλλέγονταν αρχικά νύμφες του *Ae. albopictus* και του *Ae. cretinus* από τις εργαστηριακές εκτροφές και μεταφέρονταν μεμονωμένα με τη βοήθεια πλαστικής πιπέτας σε μικρά πλαστικά διαφανή φιαλίδια, όπου και αναπτύσσονταν μέχρι την έξοδο των τελείων (Εικόνα 41).



Εικόνα 41. Τοποθέτηση νυμφών μεμονωμένα σε φιαλίδια

Στη συνέχεια, μεταφέρονταν 20 άτομα από το κάθε φύλο κάθε είδους, ανάλογα με τη μεταχείριση, εντός ξύλινων κλωβών, διαστάσεων 33x33x33 cm, με τις ακμές ξύλινες και τις 3 πλευρές τους καλυμμένες με λεπτή σήτα. Για την αποφυγή ανεπιθύμητων συζεύξεων με άτομα που ενδεχομένως πετούσαν ελεύθερα στο χώρο, οι 3 πλευρές των κλωβών με σήτα καλύπτονταν επιπλέον με λεπτό τούλι. Εντός των κλωβών τοποθετούνταν υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%, μαζί με μια κατασκευή από διηθητικό χαρτί και βαμβάκι, για την επιβίωσή των κουνουπιών και εισάγονταν ταυτόχρονα τα τέλεια άτομα.

Διενεργήθηκαν 2 σειρές πειραμάτων:

(A): Ενδοειδικές (intraspecific) και διειδικές (interspecific) διασταυρώσεις παρθένων ♂ με ♀. Διασταυρώσεις χωρίς επιλογή είδους (non-choice crosses).

Πιο συγκεκριμένα, διενεργήθηκαν οι εξής διασταυρώσεις (Εικόνα 42) που αποτελούσαν και τις μεταχειρίσεις του πειράματος:

- (i) ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. albopictus*
 - (ii) ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. cretinus*
 - (iii) ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. cretinus*
 - (iv) ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. albopictus*
 - (v) ♀ *Ae. albopictus*
 - (vi) ♀ *Ae. cretinus*
- } ενδοειδικές διασταυρώσεις
 } διειδικές διασταυρώσεις
 } μάρτυρες ωτοκίας

Την 5^η ημέρα μετά την είσοδο των τελείων στον κλωβό, παρέχονταν γεύμα αίματος στα θηλυκά κουνούπια από το χέρι του γράφοντος με είσοδό του εντός του κλωβού για τουλάχιστον 15 λεπτά έως ότου διακοπούν τα τσιμπήματα των κουνουπιών (**Εικόνα 43**). Μετά την αιμοληψία, εντός του κλωβού τοποθετούνταν ένα πλαστικό λευκό δοχείο χωρητικότητας 250 ml που συμπληρώνονταν περίπου με 100 ml νερό και έφερε ως υπόστρωμα ωτοκίας λευκό διηθητικό χαρτί από φίλτρο του καφέ.

Στη συνέχεια, 10 ημέρες μετά την χορήγηση αίματος στα κουνούπια, αφαιρούνταν το δοχείο με το νερό και το υπόστρωμα ωτοκίας και καταγράφονταν ο αριθμός των ωών που είχαν εναποτεθεί στα τοιχώματα του διηθητικού χαρτιού (**Εικόνα 44**). Τα ωά αυτά παρέμεναν στις συνθήκες του δωματίου, εντός των δοχείων με το νερό για 5 ημέρες καλυμμένα με τούλι, έως ότου συμπληρωθεί η εμβρυογένεση και στη συνέχεια εμβαπτίζονταν σε άλλα διαφανή δοχεία με νερό και ιχθυοτροφή για την εκκόλαψή τους. Για 10 ημέρες μετά την εμβάπτιση τους στο νερό καταγραφόταν ο αριθμός των εκκολαφθέντων προνυμφών (απογόνων).

Παράλληλα με την απομάκρυνση των δοχείων με το υπόστρωμα ωτοκίας και την καταγραφή των ωών, 10 ημέρες μετά την αιμοληψία, τα τέλεια (♂ και ♀) κουνούπια συλλέγονταν από τους κλωβούς, και αναισθητοποιούνταν με την τοποθέτησή τους σε γυάλινο δοχείο (killing tube) με χλωροφόρμιο. Στη συνέχεια, σε όλα τα αναισθητοποιημένα θηλυκά κουνούπια πραγματοποιήθηκε τομή στην κοιλιά τους για να αφαιρεθούν οι σπερματοθήκες και να εξεταστούν για την παρουσία σπερματοζωαρίων, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν τα θηλυκά είχαν συζευχθεί και να υπολογιστεί το ποσοστό (%) συζευγμένων θηλυκών ανά κλωβό.

Οι μετρήσεις του αριθμού των ωών και του ποσοστού (%) εκκόλαψής τους, ανά κλωβό, για τις διειδικές και ενδοειδικές διασταυρώσεις 20 ♂ και 20 ♀ κουνουπιών, καθώς

και για τους μάρτυρες (20 ♀ κουνούπια), πραγματοποιήθηκαν σε 4 κλωβούς (επαναλήψεις).

(B): Διασταυρώσεις παρθένων ♂ με ♀ του ίδιου είδους και ♀ του άλλου είδους. Διασταυρώσεις με επιλογή είδους (choice crosses)

Πιο συγκεκριμένα, διενεργήθηκαν οι εξής διασταυρώσεις που αποτελούσαν και τις μεταχειρίσεις του πειράματος:

- (i) ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. cretinus*
- (ii) ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. cretinus* και ♀ *Ae. albopictus*

Η συγκεκριμένη σειρά πειραμάτων διενεργήθηκε προκειμένου να διερευνηθεί η δυνατότητα διειδικής σύζευξης μεταξύ των αρσενικών και θηλυκών διαφορετικών ειδών, εφόσον υπάρχει και η επιλογή στον ίδιο χώρο της σύζευξης των αρσενικών με θηλυκά του ίδιου είδους. Τα τέλεια άτομα τοποθετούνταν εντός των κλωβών με το υδατικό διάλυμα ζάχαρης για διάστημα 15 ημερών, χωρίς να χορηγηθεί αίμα, και στη συνέχεια καταγράφονταν το ποσοστό (%) συζευγμένων θηλυκών ανά κλωβό.

Οι μετρήσεις για το ποσοστό (%) των συζευγμένων ♀ κουνουπιών, ανά κλωβό, στις διασταυρώσεις 20 ♂ *Ae. albopictus* ή 20 ♂ *Ae. cretinus* με 20 ♀ κουνούπια από το κάθε είδος ταυτόχρονα, πραγματοποιήθηκαν σε 6 κλωβούς (επαναλήψεις).



Εικόνα 42. Σύζευξη ενός αρσενικού και ενός θηλυκού του *Aedes cretinus* εντός κλωβού με πηγή τροφής (ζαχαρόνερο) (αριστερά) και εστίαση επί της επαφής (δεξιά).



Εικόνα 43. Αιμοληψία κουνουπιών του *Ae. albopictus*



Εικόνα 44. Δοχείο με νερό και διηθητικό χαρτί (υπόστρωμα φωτοκίας) με κολλημένα ωά του *Ae. albopictus* (αριστερά) και μεγέθυνση της εικόνας των κολλημένων ωών στο υπόστρωμα φωτοκίας (δεξιά).

Πρωτόκολλο εξέτασης των συζευγμένων θηλυκών κουνουπιών

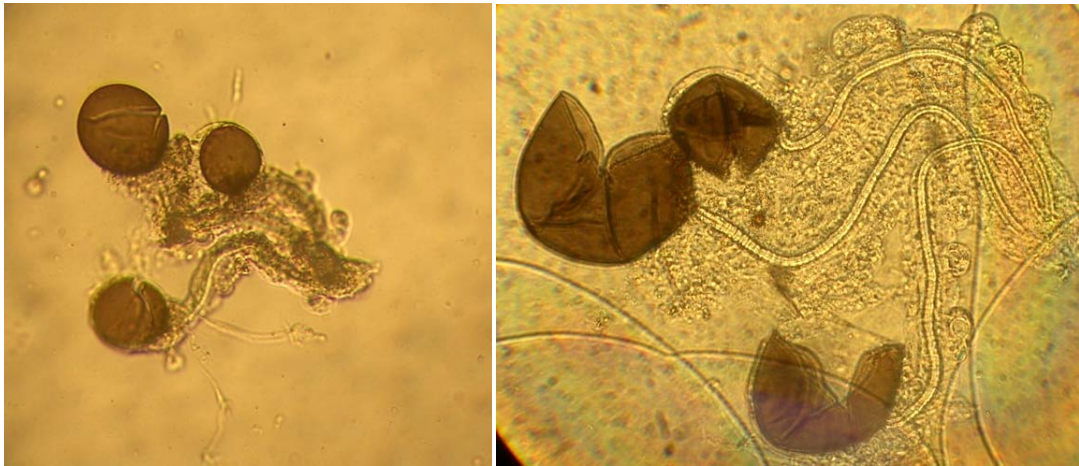
Στην παρούσα μελέτη, η τομή στα θηλυκά των *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* για την αφαίρεση των σπερματοθηκών πραγματοποιούνταν με τη χρήση ανατομικών βελονών κάτω από στερεοσκόπιο ενώ οι σπερματοθήκες εξετάζονταν για την ύπαρξη σπέρματος σε μικροσκόπιο αντίθετης φάσης (μεγέθυνση x400), σύμφωνα με την τεχνική που περιγράφει ο Benedict (2007) για την τομή σπερματοθηκών των θηλυκών προκειμένου να προσδιοριστεί η σύζευξη κουνουπιών. Έτσι, με στερεοσκοπική παρατήρηση, το θηλυκό κουνούπι τοποθετούνταν σε σταγόνα αλατούχου διαλύματος (saline) (Hayes 1953) επάνω

σε αντικειμενοφόρο πλάκα και με τη χρήση ανατομικών βελονών απομακρύνονταν από το υπόλοιπο σώμα το 8^ο κοιλιακό τμήμα, όπου περιέχονται οι 3 σπερματοθήκες. Οι σπερματοθήκες των κουνουπιών είναι όργανα σφαιρικά, σκούρου καφέ χρώματος που μοιάζουν με μπαλάκι του γκολφ (Benedict 2007). Τα θηλυκά του *Ae. albopictus* έχουν 3 σπερματοθήκες, με τη μεσαία να είναι μεγαλύτερη σε μέγεθος από τις άλλες δύο (Tripet *et al.* 2011) (Εικόνα 45).



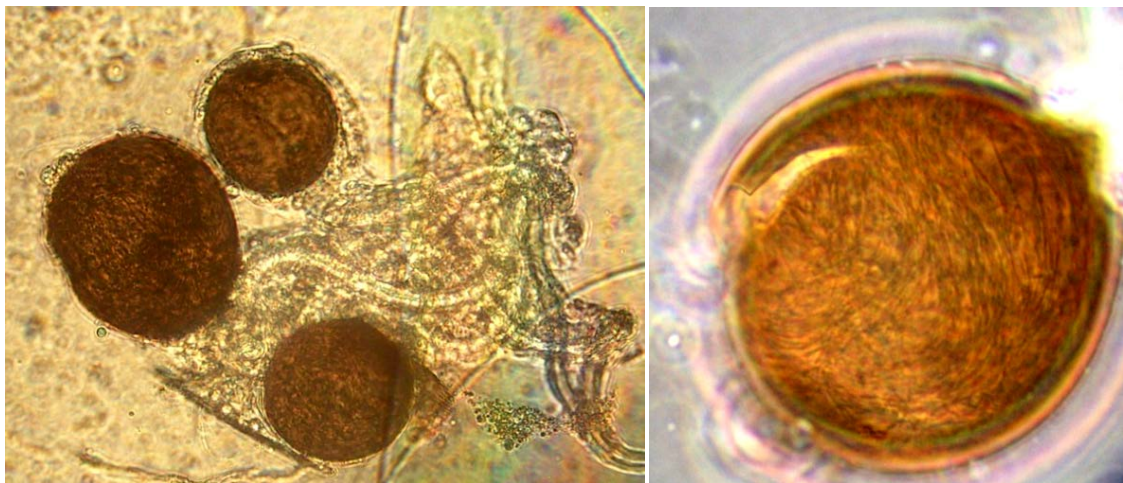
Εικόνα 45. Απομάκρυνση του 8^{ου} κοιλιακού τμήματος που περιέχει τις σπερματοθήκες του θηλυκού κουνουπιού με τη χρήση ανατομικών βελονών (αριστερά) και οι 3 σπερματοθήκες με σφαιρικό σχήμα (δεξιά).

Στη συνέχεια, δημιουργούνται προσωρινό μικροσκοπικό παρασκεύασμα, με την τοποθέτηση καλυπτρίδας, για την παρατήρηση των σπερματοθηκών στο μικροσκόπιο. Με ελαφρά πίεση της καλυπτρίδας με τη βελόνα, διαρρηγνύονταν το δερμικό κέλυφος της σπερματοθήκης (cuticular shell) και διαπιστώνονταν η ύπαρξη σπερματοζωαρίων. Στις άδειες σπερματοθήκες διακρίνεται μόνο το δερμικό κέλυφος το οποίο μάλιστα έχει διάφανη όψη όπως φαίνεται στην **Εικόνα 46**.

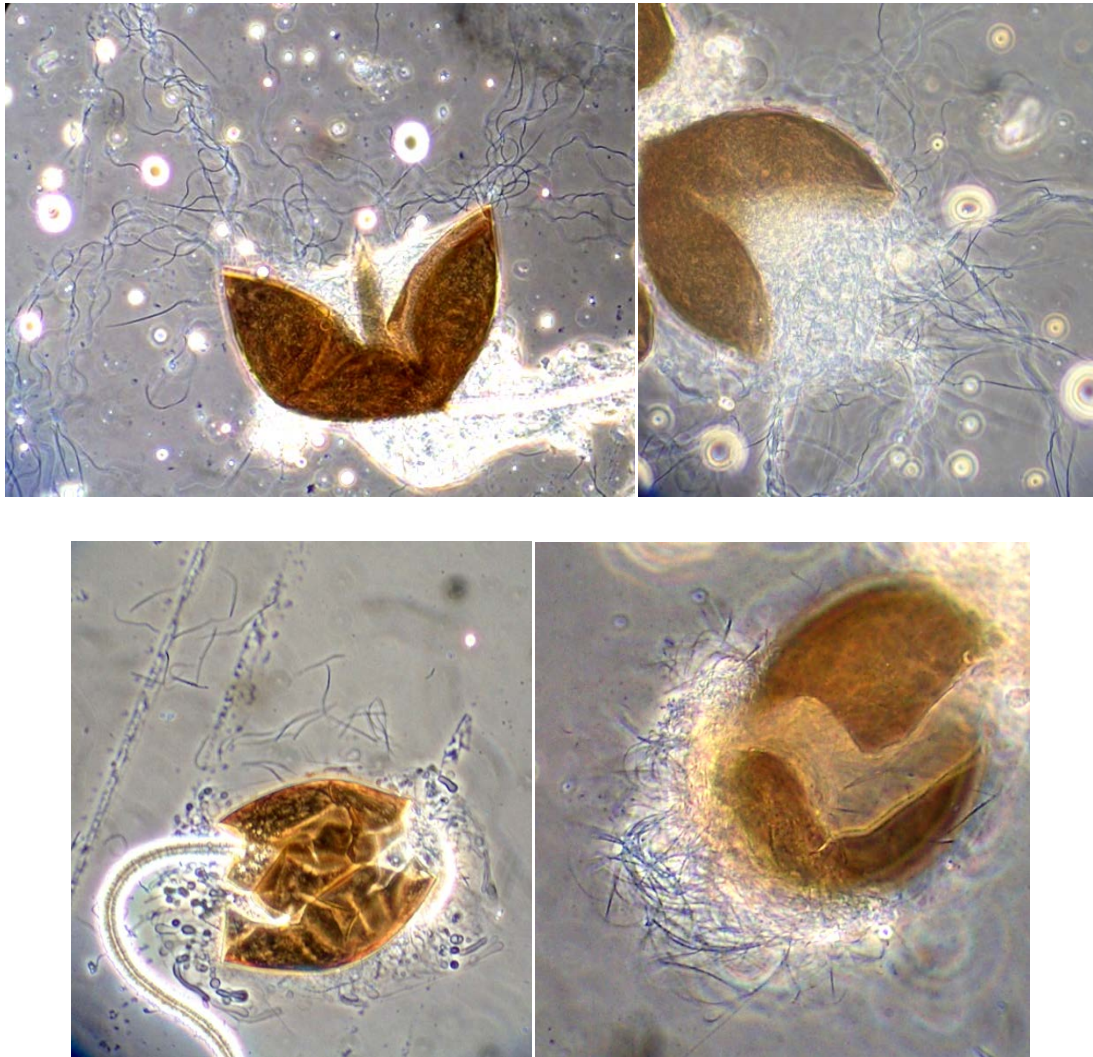


Εικόνα 46. Άδειες σπέρματοθήκες και σπέρματοφόροι αγωγοί.

Στις γεμάτες σπέρματοθήκες, πριν τη διάρρηξη τους ακόμη, μπορεί να παρατηρηθεί η ύπαρξη σπέρματοζωαρίων, τα οποία με την ομόκεντρη κυκλική τους κίνηση δημιουργούν την εμφάνιση ενός δακτυλίου εντός της σπέρματοθήκης (**Εικόνα 47**). Όταν οι γεμάτες σπέρματοθήκες διαρρηχθούν, τα σπέρματοζώαρια εμφανίζονται σαν μακριά νημάτια (long thread-like) τα οποία μπορεί να έχουν έντονη κινητικότητα (**Εικόνα 48**).



Εικόνα 47. Σπέρματοθήκες γεμάτες με σπέρματοζώαρια (αριστερά) και γεμάτη σπέρματοθήκη με δακτυλιωτή κίνηση των σπέρματοζωαρίων (δεξιά).



Εικόνα 48. Διαρρηγμένες γεμάτες σπερματοθήκες και νηματόμορφα σπερματοζώαρια

3.3.4.1 Στατιστική ανάλυση

(A) Διασταυρώσεις χωρίς επιλογή είδους (non choice crosses):

Για τη σύγκριση των μέσων όρων ωών ανά κλωβό για τους 6 συνδυασμούς ειδών (4 διασταυρώσεις + 2 μάρτυρες) πραγματοποιήθηκε ανάλυση διασποράς ενός παράγοντα (one-way ANOVA). Ως παράγοντας ορίστηκε ο «συνδυασμός ειδών» με τα εξής 6 επίπεδα: ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. albopictus*, ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. cretinus*, ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. cretinus*, ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. albopictus*, ♀ *Ae. albopictus* μόνο του και ♀ *Ae. cretinus* μόνο του. Για τη μελέτη της επίδρασης του παράγοντα «συνδυασμός ειδών» στην εξαρτημένη μεταβλητή «αριθμός ωών», αρχικά, διερευνήθηκε και διαπιστώθηκε ότι τα δεδομένα ακολουθούν την κανονική κατανομή (τεστ Kolmogorov-Smirnov και καμπυλών ασυμμετρίας-κύρτωσης/ sckewness- kurtosis) και ότι οι διασπορά (παραλλακτικότητα) των τιμών μεταξύ των επιπέδων είναι ομοιογενής ($P=0,06$, για $\alpha=0,05$). Έπειτα, οι post hoc

συγκρίσεις των μέσων όρων ωών των 6 συνδυασμών ειδών (επιπέδων) πραγματοποιήθηκαν με το τεστ των Student-Newman-Keuls (SNK) ($\alpha=0,05$).

Οι μετρήσεις για το ποσοστό (%) των συζευγμένων ♀ (inseminated) κουνουπιών ανά κλωβό στις ενδοειδικές και διειδικές διασταυρώσεις 20 ♂ και 20 ♀ κουνουπιών, πραγματοποιήθηκαν σε 6 κλωβούς (επαναλήψεις). Πιο συγκεκριμένα, υπολογίστηκαν τα μέσα ποσοστά (%) συζευγμένων ♀ για κάθε μία από τις εξής διασταυρώσεις: ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. albopictus*, ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. cretinus* (ενδοειδικές διασταυρώσεις), ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. cretinus*, ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. albopictus* (διειδικές διασταυρώσεις).

Για τη σύγκριση του μέσου ποσοστού (%) συζευγμένων ♀ (insemination rate) ανά κλωβό για τις 4 διασταυρώσεις πραγματοποιήθηκε ανάλυση των δεδομένων με μη-παραμετρικό τεστ, καθώς δεν υπήρχε παραλλακτικότητα σε μία εκ των 4 συγκρινόμενων μέσων όρων (μέσο ποσοστό = 100%). Ως παράγοντας ορίστηκε η «διασταύρωση» με τα εξής 4 επίπεδα: ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. albopictus*, ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. cretinus* (ενδοειδικές διασταυρώσεις), ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. cretinus*, ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. albopictus* (διειδικές διασταυρώσεις). Ο έλεγχος της επίδρασης του παράγοντα «διασταύρωση» στη μεταβλητή «ποσοστό συζευγμένων ♀», πραγματοποιήθηκε με το μη-παραμετρικό τεστ των Kruskal-Wallis. Στη συνέχεια, έγιναν συγκρίσεις όλων των διαμέσων ανά 2 με το τεστ Mann-Whitney U. Για να μειωθεί ο βαθμός σφάλματος κατά πείραμα, το επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ για τα 6 ζεύγη συγκρίσεων που προέκυψαν διορθώθηκε με τη μέθοδο Bonferroni, διαιρώντας το δια του αριθμού των συγκρίσεων (6) (Sokal and Rohlf 1995, Καλτσίκης 1997). Δηλαδή έγινε $\alpha'=0,008$. Επομένως, για κάθε σύγκριση των διαμέσων τιμών ανά 2, οι μέσες τιμές διαφέρουν σημαντικά όταν $P < 0,008$.

(B) Διασταυρώσεις με επιλογή είδους (choice crosses):

Για τη μελέτη της προτίμησης των ♂ *Ae. albopictus* μεταξύ των ♀ *Ae. albopictus* και ♀ *Ae. cretinus*, υπολογίστηκαν τα μέσα ποσοστά (%) συζευγμένων ♀ *Ae. albopictus* και ♀ *Ae. cretinus* από τη διασταύρωση ♂ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. albopictus* + ♀ *Ae. cretinus*.

Ομοίως, για τη μελέτη της προτίμησης των ♂ *Ae. cretinus* μεταξύ των ♀ *Ae. cretinus* και ♀ *Ae. albopictus*, υπολογίστηκαν τα μέσα ποσοστά (%) συζευγμένων ♀ *Ae. cretinus* και ♀ *Ae. albopictus* από τη διασταύρωση ♂ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. cretinus* + ♀ *Ae. albopictus*.

Για κάθε μία από τις παραπάνω 2 διασταυρώσεις πραγματοποιήθηκε, ξεχωριστά, σύγκριση των 2 μέσων ποσοστών (%) συζευγμένων ♀ *Ae. albopictus* και ♀ *Ae. cretinus* ανά κλωβό, με το μη-παραμετρικό τεστ Wilcoxon για σύγκριση διαμέσων τιμών δύο εξαρτημένων δειγμάτων και για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, καθώς σε 2 από τα μέσα ποσοστά δεν υπήρχε παραλλακτικότητα (M.O.=100%) (Sokal and Rohlf 1995, Καλτσίκης 1997).

Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

3.4 Αποτελέσματα

3.4.1 Εποχική συνύπαρξη των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στο φυσικό περιβάλλον

3.4.1.1 Καταμέτρηση των συλλεχθέντων ωών και εξερχόμενων τελείων κουνουπιών *Aedes* στο εργαστήριο

Στον Πίνακα 4 που ακολουθεί παρουσιάζονται ο αριθμός δειγμάτων (ξύλινων γλωσσοπιέστρων), ωών και εξερχόμενων τελείων κουνουπιών στην περιοχή «Ανατολικά», για την περίοδο Αύγουστο-Δεκέμβριο του 2009 και για τα έτη 2010 και 2011, και στην περιοχή «Χαλάνδρι», για το έτος 2011. Από τα αποτελέσματα του πίνακα φαίνεται ότι κατά τη διάρκεια των 2 ½ περίπου ετών δειγματοληψιών από τις συγκεκριμένες περιοχές συλλέχθηκαν συνολικά 1.689 δείγματα υποστρωμάτων ωοθεσίας. Από την στερεοσκοπική παρατήρηση του συνόλου των δειγμάτων προέκυψε ότι τα 557 υποστρώματα ωοτοκίας έφεραν τουλάχιστον 1 ωό *Aedes*, και ως εκ τούτου τα δείγματα αυτά χαρακτηρίστηκαν ως θετικά. Έτσι, το ποσοστό (%) των θετικών δειγμάτων ήταν 33%. Από αυτά τα δείγματα, καταμετρήθηκαν συνολικά 31.257 ωά *Aedes*, από τα οποία τα 30.111 δεν είχαν εκκολαφθεί στις συνθήκες που επικρατούσαν στο πεδίο και οδηγήθηκαν προς εκκόλαψη στο εργαστήριο. Από τη μεταχείριση των ωών προκειμένου να εκκολαφθούν και τη διαδικασία ανάπτυξης των προνυμφών και νυμφών στο εργαστήριο προέκυψαν 12.130 τέλεια κουνουπιών, τα οποία ανήκαν στο σύνολό τους στο γένος *Aedes* και μάλιστα στο υπογένος *Stegomyia*. Έτσι, το ποσοστό (%) των εξερχόμενων τελείων κουνουπιών *Aedes* που προέκυψε στο εργαστήριο σε σχέση με τον συνολικό αριθμό συλλεχθέντων ωών από το πεδίο ανήλθε μόλις στο 40,3%.

Πίνακας 4. Αριθμός δειγμάτων, ωών και εξερχόμενων τελείων κουνουπιών στην περιοχή «Ανατολικά», για την περίοδο Αύγουστο-Δεκέμβριο του 2009 και για τα έτη 2010 και 2011, και στην περιοχή «Χαλάνδρι», για το έτος 2011.

	Ανατολικά (Αυγ.-Δεκ. 2009)	Ανατολικά (2010)	Ανατολικά (2011)	Χαλάνδρι (2011)	Σύνολο
Συλλεχθέντα δείγματα	185	501	502	501	1.689
Θετικά δείγματα	28	172	157	200	557
% θετικών δειγμάτων	15,1	34,3	31,3	39,9	33
Μη εκκολαφθέντα ωά <i>Aedes</i> στο πεδίο	588	7.898	9.297	12.328	30.111
Εκκολαφθέντα ωά <i>Aedes</i> στο πεδίο	8	278	280	580	1.146
Συνολικός αριθμός ωών <i>Aedes</i> στο πεδίο	596	8.176	9.577	12.908	31.257
Εξερχόμενα τέλεια <i>Aedes</i> στο εργαστήριο από τα μη εκκολαφθέντα ωά	114	4.078	3.868	4.070	12.130
% εξερχόμενων τελείων <i>Aedes</i> στο εργαστήριο	19,4	51,6	41,6	33	40,3
Εξερχόμενα τέλεια <i>Ae. albopictus</i> στο εργαστήριο από τα μη εκκολαφθέντα ωά	114	3.885	3.793	3.760	11.552
% εξερχόμενων τελείων <i>Ae. albopictus</i> στο εργαστήριο	100	95,3	98,1	92,4	95,2
Εξερχόμενα τέλεια <i>Ae. cretinus</i> στο εργαστήριο από τα μη εκκολαφθέντα ωά	0	193	65	310	568
% εξερχόμενων τελείων <i>Ae. cretinus</i> στο εργαστήριο	0	4,7	1,7	7,6	4,7

Στην περίπτωση της περιοχής «Ανατολικά», την περίοδο Αύγουστο με Δεκέμβριο του 2009, καταγράφηκε το μικρότερο ποσοστό εξερχόμενων τελείων, μόλις 19,4%, από το σύνολο των συλλεχθέντων ωών, ενώ τα τέλεια αυτά ανήκαν στο σύνολό τους (100%) στο είδος *Ae. albopictus*, χωρίς να καταγραφεί τότε η παρουσία του *Ae. cretinus*. Στην ίδια περιοχή τα έτη 2010 και 2011, καθώς και στην περιοχή «Χαλάνδρι» το 2011, το ποσοστό των εξερχόμενων τελείων *Aedes* μετά τη μεταχείριση των ωών στο εργαστήριο ήταν μεγαλύτερο και κυμάνθηκε από 33 έως 51,6%, με κυρίαρχη την παρουσία του *Ae. albopictus* (92,4 – 98,1%) και ισχνή εμφάνιση του *Ae. cretinus* (1,7 – 7,6%) μεταξύ των τελείων που ταυτοποιήθηκαν. Συνολικά, από όλες τις περιοχές και τις περιόδους μελέτης, σχεδόν η συντριπτική πλειονότητα (95,2%) των εξερχόμενων τελείων κουνουπιών ανήκε στο είδος *Ae. albopictus* ενώ ένα μικρό ποσοστό αυτών (4,7%) ανήκε στο είδος *Ae. cretinus*.

3.4.1.2 Παρακολούθηση της εποχικής παρουσίας των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*.

Όπως φαίνεται και στο **Διάγραμμα 4**, σε πολλές από τις εβδομαδιαίες δειγματοληψίες, σε σημαντικό ποσοστό (%) θετικών παγίδων δεν ήταν δυνατή η καταγραφή του είδους κουνουπιού που είχε ωτοκήσει για κανένα από τα συλλεχθέντα ωά, λόγω της μικρής παραγωγής τελείων στο εργαστήριο από τα ωά των παγίδων, που αναφέρθηκε προηγουμένως.

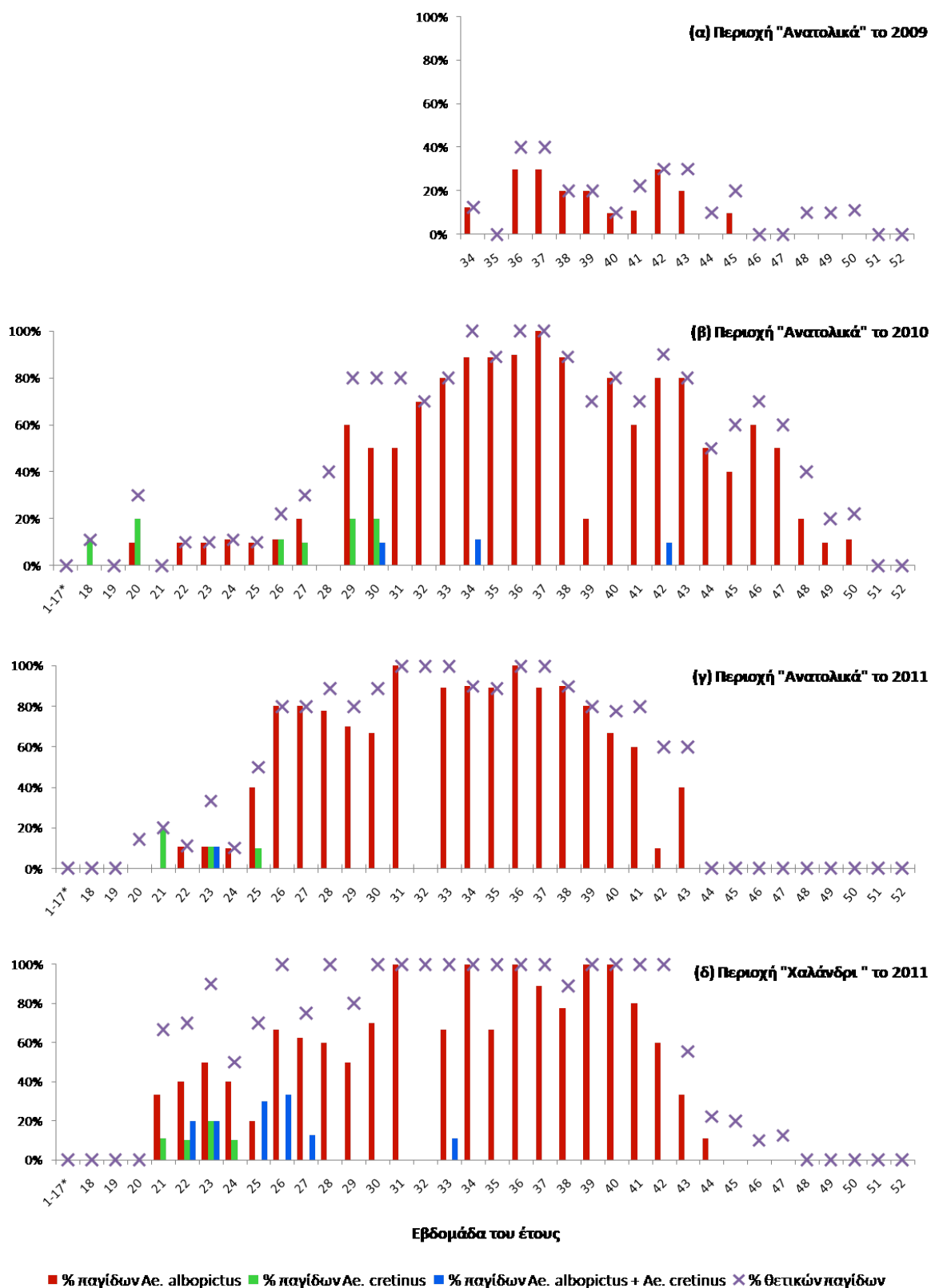
Στο **Διάγραμμα 4α** φαίνεται ότι από τον Αύγουστο έως το Δεκέμβριο του 2009 στην περιοχή «Ανατολικά» η εβδομαδιαία αναπαραγωγική δραστηριότητα στις παγίδες ωοθεσίας ήταν σχετικά μικρή, με τις μέγιστες συλλογές ωών να καταγράφονται το πρώτο δεκαπενθήμερο του Σεπτεμβρίου. Το *Ae. cretinus* δεν καταγράφηκε σε καμία από τις εγκαταστημένες παγίδες εκείνη την περίοδο στη συγκεκριμένη περιοχή.

Στο **Διάγραμμα 4β** φαίνεται ότι για την χρονική περίοδο από την 34^η εβδομάδα (23-29 Αυγούστου) έως και το τέλος του έτους, το ποσοστό των θετικών παγίδων στις εβδομαδιαίες δειγματοληψίες του 2010 ήταν σημαντικά υψηλότερο από εκείνο του 2009. Επιπλέον, σύμφωνα με τα στοιχεία για τα τέλεια που προέκυψαν μετά τη μεταχείριση των ωών στο εργαστήριο, το ποσοστό των παγίδων ανά εβδομαδιαία δειγματοληψία στο οποίο καταγράφηκε το *Ae. cretinus* ήταν σημαντικά μικρότερο (έως και 20%) από το αντίστοιχο ποσοστό για το *Ae. albopictus* που έφτανε έως και το 100%. Αξιοσημείωτο είναι, επίσης, το γεγονός ότι το μικρό ποσοστό των παγίδων, από τα ωά των οποίων προέκυψαν στο εργαστήριο τέλεια μόνο του *Ae. cretinus*, καταγράφηκε μόνο στην αρχή της περιόδου το Μάιο (18^η εβδομάδα) από τις πρώτες συλλογές ωών στις παγίδες έως και την τελευταία

εβδομάδα του Ιουλίου (30^η εβδομάδα). Για το υπόλοιπο της περιόδου, μέχρι το τέλος του έτους, καταγράφηκε σποραδικά ένα μικρό ποσοστό παγίδων όπου συνυπήρχαν τα δύο είδη, χωρίς όμως να καταγραφούν παγίδες με συλλογές μόνο του *Ae. cretinus*.

Στην περιοχή «Ανατολικά», το 2011 (**Διάγραμμα 4γ**) η συντριπτική πλειοψηφία των τελείων, από τις εκκολάψεις των ωών στις παγίδες, ανήκε στο *Ae. albopictus* ενώ τα μικρά ποσοστά παγίδων (10-20%), ανά εβδομαδιαία δειγματοληψία, από τις οποίες προέκυψαν τέλεια μόνο του *Ae. cretinus* ή και των δύο ειδών καταγράφηκαν μόνο στην αρχή της περιόδου έως και τα τέλη Ιουνίου (25^η εβδομάδα).

Στη γειτονική περιοχή «Χαλάνδρι», το 2011 (**Διάγραμμα 4δ**) η πλειονότητα των τελείων, από τις εκκολάψεις των ωών στις παγίδες, ανήκε στο *Ae. albopictus* ενώ τα συγκριτικά μικρότερα ποσοστά παγίδων (10-40%), ανά εβδομαδιαία δειγματοληψία, από τις οποίες προέκυψαν τέλεια μόνο του *Ae. cretinus* ή και των δύο ειδών ταυτόχρονα καταγράφηκαν κυρίως στην αρχή της περιόδου έως και τις αρχές Ιουλίου (27^η εβδομάδα).

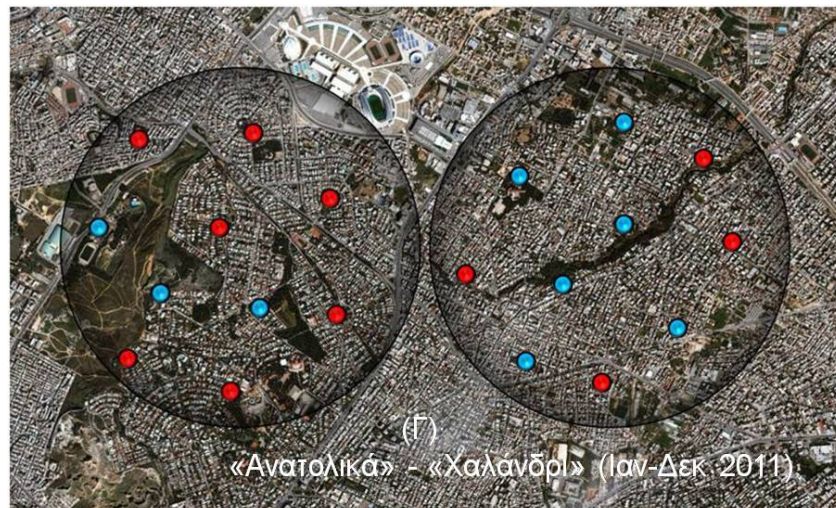
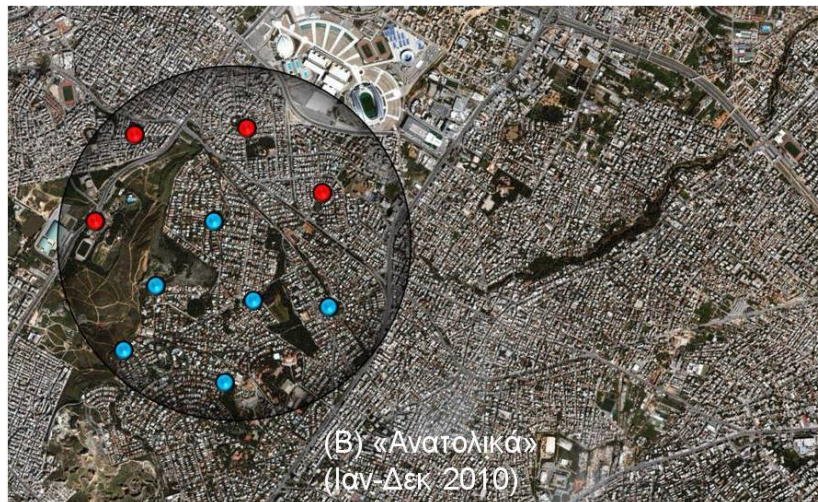
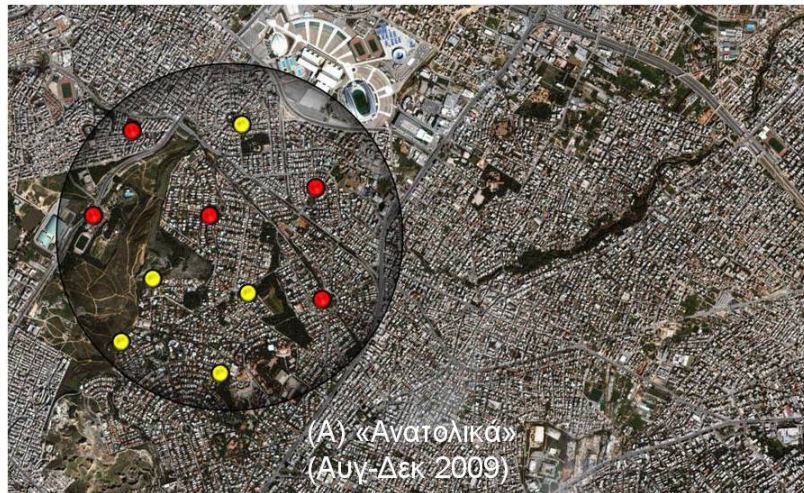


Διάγραμμα 4. Εποχική παρουσία των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στην περιοχή «Ανατολικά» για την περίοδο Αύγ.-Δεκ. 2009 (α) και για τα έτη 2010 (β) και 2011 (γ), και στην περιοχή «Χαλάνδρι» για το έτος 2011 (δ): ποσοστό (%) θετικών παγίδων (>1 ωά) και

ποσοστό (%) παγίδων από το οποίο, μετά τη μεταχείριση των ωών στο εργαστήριο, προέκυψαν τέλεια του *Ae. albopictus*, του *Ae. cretinus* ή και των δύο ειδών, ανά εβδομάδα δειγματοληψίας. Ο αστερίσκος (1-17*) στον άξονα x σημαίνει ότι για το συγκεκριμένο διάστημα δεν υπήρχαν συλλογές ωών στις παγίδες ωοθεσίας.

3.4.1.3 Χωροταξική απεικόνιση της παρουσίας των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* με χάρτες.

Στους παρακάτω χάρτες (**Εικόνα 49**) απεικονίζεται η χωροταξική κατανομή της παρουσίας των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*, βάσει των συλλογών των ωών τους, στην περιοχή «Ανατολικά» την περίοδο Αύγουστο-Δεκέμβριο 2009, και τα έτη 2010 και 2011 καθώς και στην περιοχή «Χαλάνδρι» το 2011. Όπως φαίνεται και από τους χάρτες, στην περιοχή «Ανατολικά» την περίοδο Αύγουστο-Δεκέμβριο 2009, στις μισές παγίδες (5/10) δεν καταγράφηκε καμία συλλογή ωών *Aedes*, ενώ στις υπόλοιπες καταγράφηκε μόνο η παρουσία του *Ae. albopictus*. Το 2010 η παρουσία του *Ae. albopictus* στη συγκεκριμένη περιοχή καταγράφηκε σε όλες τις παγίδες ωοθεσίας, ενώ στις 6 από τις 10 παγίδες συλλέχθηκαν μέχρι το τέλος της περιόδου και ωά του *Ae. cretinus*. Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι στην περιοχή «Ανατολικά» το 2010 η παρουσία του *Ae. cretinus* εντοπίζεται σε παγίδες οι οποίες είναι ως επί το πλείστο γειτονικές και σε ορισμένες από τις οποίες το 2009 δεν είχε καταγραφεί καμία συλλογή ωών *Aedes*. Το 2011 η παρουσία του *Ae. albopictus* στην περιοχή «Ανατολικά» καταγράφηκε και πάλι σε όλες τις παγίδες ωοθεσίας, ενώ το *Ae. cretinus* περιορίστηκε σε μόλις 3 παγίδες. Η εντοπισμένη παρουσία του *Ae. cretinus* σε γειτονικές κυρίως παγίδες παρατηρήθηκε και στην περιοχή «Χαλάνδρι» το 2011.



● Κανένα ● *Ae. albopictus* ● *Ae. albopictus*+*Ae. cretinus*

Εικόνα 49. Χωροταξική παρουσία των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στην περιοχή «Ανατολικά», για την περίοδο Αύγουστο-Δεκέμβριο του 2009 (Α) και για το έτος 2010 (Β) και στις περιοχές «Ανατολικά» και «Χαλάνδρι» για το έτος 2011 (Γ): Χρωματική απεικόνιση της παρουσίας των ειδών για κάθε περιοχή σε κάθε παγίδα έως και το τέλος της κάθε χρονικής περιόδου.

3.4.2 Ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προνυμφών του *Ae. albopictus* και του *Ae. cretinus*

Τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς των 4 παραγόντων, «ανταγωνισμός», «είδος κουνουπιού», «ποσότητα τροφής» και «πυκνότητα ατόμων» στις 3 εξαρτημένες μεταβλητές, διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης, επιβίωση προνυμφών και μήκος πτέρυγας θηλυκών ατόμων, ξεχωριστά για την κάθε μία μεταβλητή, παρουσιάζονται στον παρακάτω **Πίνακα 5**. Όπως φαίνεται από τον συγκεκριμένο πίνακα, τόσο η διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης όσο και η επιβίωση των προνυμφών επηρεάστηκαν σημαντικά από τους παράγοντες «είδος κουνουπιού» και «ποσότητα τροφής». Αντίστοιχα, το μήκος της πτέρυγας επηρεάστηκε σημαντικά από τους παράγοντες «είδος κουνουπιού», «ποσότητα τροφής» και «πυκνότητα ατόμων». Ωστόσο, για τον παράγοντα ανταγωνισμό δεν καταγράφηκε σημαντική κύρια επίδραση σε καμία από τις 3 μεταβλητές του πειράματος. Όσον αφορά στις αλληλεπιδράσεις πρώτου βαθμού του παράγοντα «ανταγωνισμός» με τους υπολοίπους, καταγράφηκε σημαντική αλληλεπίδραση του «ανταγωνισμού» με το «είδος κουνουπιού» καθώς και του «ανταγωνισμού» με τον παράγοντα «ποσότητα τροφής» στην μεταβλητή της διάρκειας προνυμφικής ανάπτυξης. Σχετικά με τις αλληλεπιδράσεις δευτέρου βαθμού, παρατηρούμε ότι η τριπλή αλληλεπίδραση του «ανταγωνισμού» με το «είδος του κουνουπιού» και την «ποσότητα τροφής» επηρέασε σημαντικά την διάρκεια ανάπτυξης των προνυμφών. Δηλαδή, ο ρυθμός μεταβολής της διάρκειας προνυμφικής ανάπτυξης του κάθε είδους όταν αυτό αναπτύσσεται μόνο του ή με την ταυτόχρονη παρουσία του άλλου είδους είναι σημαντικά διαφορετικός στη χαμηλή και υψηλή ποσότητα τροφής. Αντίστοιχα, η τριπλή αλληλεπίδραση του «ανταγωνισμού» με το «είδος» και την «πυκνότητα ατόμων» των ατόμων ήταν σημαντική για την ανάπτυξη των προνυμφών και το μήκος της πτέρυγας (**Πίνακας 5**).

Πίνακας 5. Αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς 4 παραγόντων (4-way ANOVA) για τις επιδράσεις και αλληλεπιδράσεις των παραγόντων ανταγωνισμού, είδους κουνουπιού, ποσότητας τροφής και πυκνότητας ατόμων, ξεχωριστά, στις εξαρτημένες μεταβλητές: Διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης, % επιβίωσης προνυμφών και μήκος πτέρυγας.

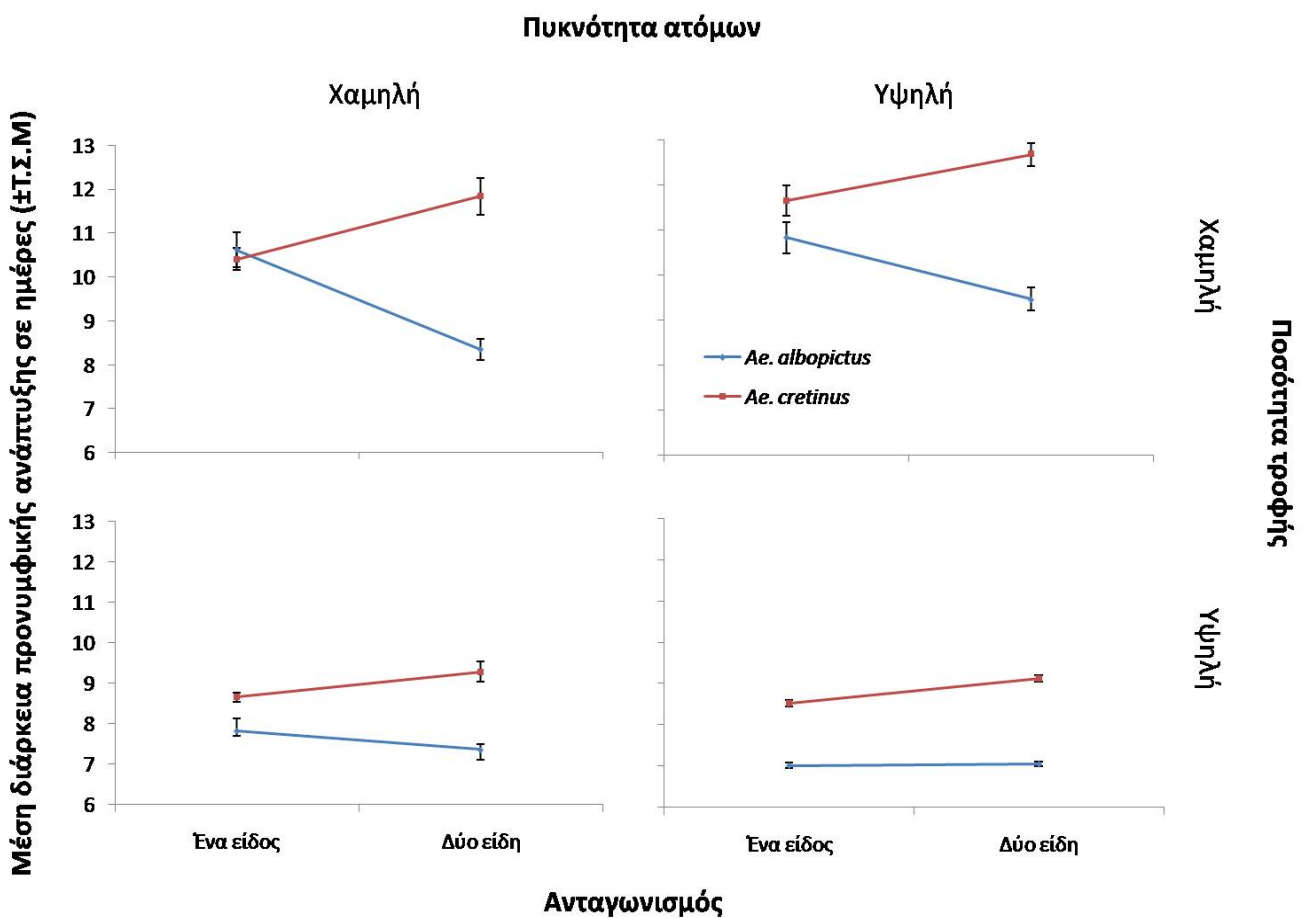
Παράγοντες ¹	B.E.	Τιμές P για τις εξαρτημένες μεταβλητές ²		
		Διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης ³	Επιβίωση προνυμφών	Μήκος πτέρυγας
Ανταγωνισμός	1	0,441	0,242	0,7
Είδος	1	<0,0001*	0,038*	0,001*
Τροφή	1	<0,0001*	0,044*	<0,0001*
Πυκνότητα	1	0,131	0,423	<0,0001*
Ανταγωνισμός x Είδος	1	<0,0001*	0,268	0,378
Ανταγωνισμός x Τροφή	1	0,017*	0,579	0,523
Ανταγωνισμός x Πυκνότητα	1	0,223	0,158	0,455
Είδος x Τροφή	1	0,362	0,004*	0,491
Είδος x Πυκνότητα	1	0,137	0,902	<0,0001*
Τροφή x Πυκνότητα	1	<0,0001*	0,197	<0,0001*
Ανταγωνισμός x Είδος x Τροφή	1	<0,0001*	0,324	0,088
Ανταγωνισμός x Είδος x Πυκνότητα	1	0,045*	0,711	0,020*
Ανταγωνισμός x Τροφή x Πυκνότητα	1	0,977	0,098	0,906
Είδος x Τροφή x Πυκνότητα	1	0,442	1,000	0,067
Ανταγωνισμός x Είδος x Τροφή x Πυκνότητα	1	0,418	0,051	0,800

¹ Ο παράγοντας ανταγωνισμός αναφέρεται στην παρουσία ενός ή δύο ειδών, ο παράγοντας είδος στην παρουσία του *Ae. albopictus* ή του *Ae. cretinus*, ο παράγοντας τροφή στην παρουσία χαμηλής ή υψηλής ποσότητας τροφής και ο παράγοντας πυκνότητα στην παρουσία χαμηλής ή υψηλής πυκνότητας ατόμων, εντός του νερού των δοχείων ανάπτυξης.

² Οι σημαντικές επιδράσεις και αλληλεπιδράσεις ($P < 0,05$), για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, σημειώνονται με έντονη γραφή και αστερίσκο (*).

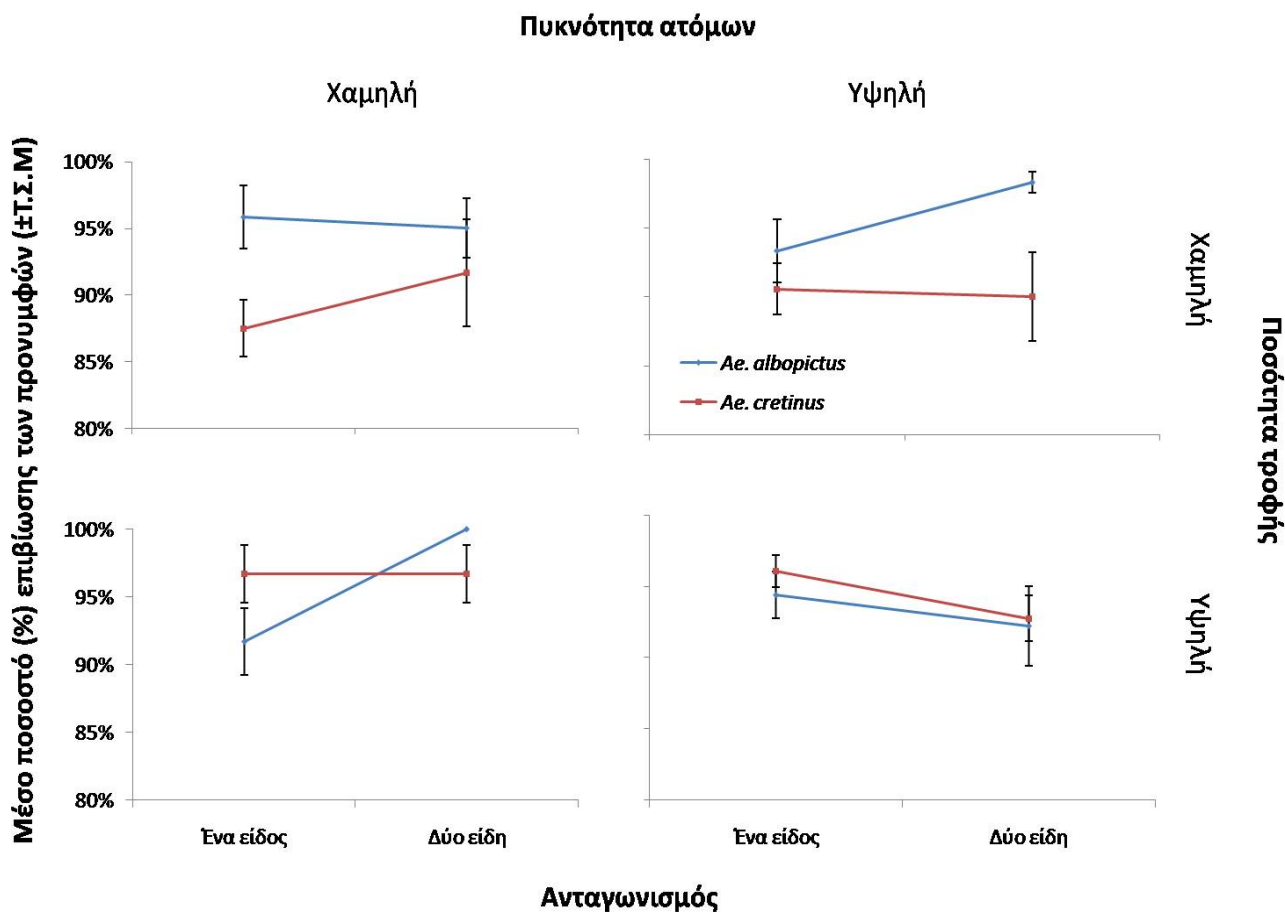
³ Τα δεδομένα της διάρκειας προνυμφικής ανάπτυξης πριν την ανάλυση διασποράς μετατράπηκαν σε $\log_{10}x$.

Στα παρακάτω **Διαγράμματα 5, 6 και 7** παρουσιάζονται η μέση διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης σε ημέρες, το μέσο ποσοστό (%) επιβίωσης των προνυμφών και το μέσο μήκος της πτέρυγας σε mm, αντίστοιχα, όταν οι προνύμφες των δύο ειδών αναπτύσσονται μεμονωμένα ή μαζί (σε αναλογία 1:1), σε συνθήκες χαμηλής ή υψηλής ποσότητας τροφής (0,1 ή 0,3 mg τροφής/ προνύμφη/ ημέρα, αντίστοιχα), και λίγων ή πολλών ατόμων (20 ή 60 άτομα, αντίστοιχα).



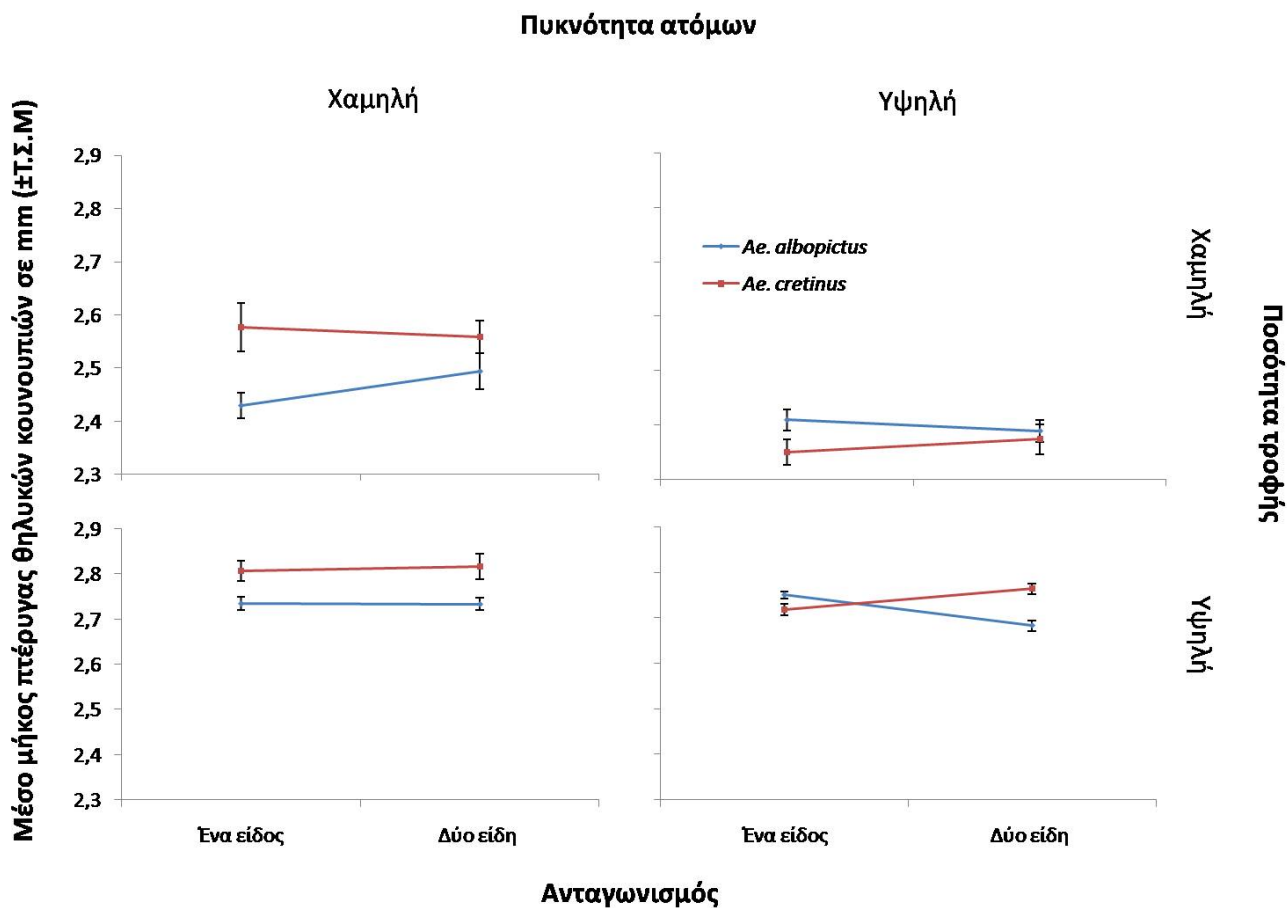
Διάγραμμα 5. Μέση διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης (\pm T.Σ.Μ.) των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* όταν οι προνύμφες των δύο ειδών αναπτύσσονται μεμονωμένα ή μαζί (σε αναλογία 1:1), σε συνθήκες χαμηλής ή υψηλής ποσότητας τροφής (0,1 ή 0,3 mg τροφής/προνύμφη/ημέρα, αντίστοιχα), και λίγων ή πολλών ατόμων (20 ή 60 άτομα, αντίστοιχα).

Στο **Διάγραμμα 5** φαίνεται ότι ο χρόνος έως τη νύμφωση των προνυμφών όταν οι προνύμφες αναπτύσσονται μεμονωμένα (ένα είδος) σε συνθήκες χαμηλής ποσότητας τροφής είναι κατά μέσο όρο 10,6 και 10,8 ημέρες για το *Ae. albopictus* και 10,4 και 11,7 ημέρες για το *Ae. cretinus* στη χαμηλή και υψηλή πυκνότητα ατόμων, αντίστοιχα. Ωστόσο, η διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης για το *Ae. albopictus* σε συνθήκες διειδικού ανταγωνισμού (δύο είδη μαζί) με χορήγηση χαμηλής ποσότητας τροφής είναι 8,3 και 9,5 ημέρες κατά μέσο όρο στην χαμηλή και υψηλή πυκνότητα ατόμων, αντίστοιχα. Όμως, η διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης για το *Ae. cretinus* σε συνθήκες συνύπαρξης των ειδών με χορήγηση χαμηλής ποσότητας τροφής είναι 11,8 και 12,7 ημέρες κατά μέσο όρο στην χαμηλή και υψηλή πυκνότητα ατόμων, αντίστοιχα. Μετά τη χορήγηση της υψηλής ποσότητας τροφής, η διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης του *Ae. albopictus* όταν οι προνύμφες του αναπτύσσονταν μεμονωμένα ή και συνυπήρχαν με εκείνες του *Ae. cretinus*, στη χαμηλή και υψηλή πυκνότητα ατόμων, κυμάνθηκε από 7 έως 7,8 ημέρες κατά μέσο όρο. Αντίστοιχα, μετά τη χορήγηση της υψηλής ποσότητας τροφής, η διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης του *Ae. cretinus* όταν οι προνύμφες του αναπτύσσονταν μεμονωμένα ή και συνυπήρχαν με εκείνες του *Ae. albopictus*, στη χαμηλή και υψηλή πυκνότητα ατόμων, κυμάνθηκε από 8,5 έως 9,3 ημέρες κατά μέσο όρο.



Διάγραμμα 6. Μέσο ποσοστό (%) επιβίωσης (\pm T.S.M.) των προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* όταν οι προνύμφες των δύο ειδών αναπτύσσονται μεμονωμένα ή μαζί (σε αναλογία 1:1), σε συνθήκες χαμηλής ή υψηλής ποσότητας τροφής (0,1 ή 0,3 mg τροφής/προνύμφη/ημέρα, αντίστοιχα), και λίγων ή πολλών ατόμων (20 ή 60 άτομα, αντίστοιχα).

Στο **Διάγραμμα 6** φαίνεται ότι η επιβίωση των προνυμφών των δύο ειδών κουνουπιών σε συνθήκες μεμονωμένης ανάπτυξης ή συνύπαρξης, χαμηλής ή υψηλής ποσότητας τροφής και λίγων ή πολλών ατόμων, κυμάνθηκε από 88 έως 100%. Πιο συγκεκριμένα, στο *Ae. albopictus* καταγράφηκαν ποσοστά επιβίωσης από 92 έως 100% και για το *Ae. cretinus* από 88 έως 97%. Κατά τη χορήγηση της χαμηλής ποσότητας τροφής σημειώθηκαν σχετικώς μικρότερα ποσοστά επιβίωσης των προνυμφών του *Ae. cretinus* (88 - 92%) σε σχέση με εκείνα του *Ae. albopictus* (93 - 98%), ανεξάρτητα από την συνύπαρξη των δύο ειδών ή το πλήθος των ατόμων. Ωστόσο, στην υψηλή ποσότητα τροφής το ποσοστό επιβίωσης των προνυμφών του *Ae. cretinus* βελτιώθηκε και κυμάνθηκε από 93 έως 97%.



Διάγραμμα 7. Μέσο μήκος πτέρυγας σε mm των θηλυκών (\pm T.Σ.Μ.) των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* όταν οι προνύμφες των δύο ειδών αναπτύσσονται μεμονωμένα ή μαζί (σε αναλογία 1:1), σε συνθήκες χαμηλής ή υψηλής ποσότητας τροφής (0,1 ή 0,3 mg τροφής/προνύμφη/ημέρα, αντίστοιχα), και λίγων ή πολλών ατόμων (20 ή 60 άτομα, αντίστοιχα).

Στο **Διάγραμμα 7** φαίνεται ότι το μήκος της πτέρυγας των θηλυκών των δύο ειδών κουνουπιών σε συνθήκες μεμονωμένης ανάπτυξης ή συνύπαρξης, χαμηλής ή υψηλής ποσότητας τροφής και λίγων ή πολλών ατόμων, κυμάνθηκε κατά μέσο όρο από 2,35 έως 2,82 mm. Σε συνθήκες χορήγησης χαμηλής ποσότητας τροφής το μήκος της πτέρυγας των θηλυκών ήταν σημαντικά μικρότερο (2,35 - 2,58 mm) σε σχέση με εκείνο που καταγράφηκε στην υψηλή ποσότητα τροφής (2,68 - 2,82 mm), ανεξάρτητα από το είδος του κουνουπιού, την συνύπαρξη των δύο ειδών και την πυκνότητα των ατόμων. Στην περίπτωση χορήγησης χαμηλής ποσότητας τροφής και χαμηλής πυκνότητας ατόμων το μήκος της πτέρυγας των θηλυκών του *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*, όταν αναπτύσσονταν μεμονωμένα τα δύο είδη ήταν 2,43 και 2,58 mm, αντίστοιχα. Ωστόσο, στις ίδιες συνθήκες τροφής και πυκνότητας ατόμων, όταν τα δύο είδη συνυπήρχαν καταγράφηκε ελαφρά αύξηση του μήκους της πτέρυγας του *Ae. albopictus* (2,49 mm) και αντίστοιχη μείωση του μήκους της πτέρυγας του *Ae. cretinus* (2,56 mm).

3.4.3 Αναπαραγωγικός ανταγωνισμός μεταξύ του *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*

(A): Ενδοειδικές (intraspecific) και διειδικές (interspecific) διασταυρώσεις παρθένων ♂ με ♀. Διασταυρώσεις χωρίς επιλογή είδους (non-choice crosses)

Η ανάλυση διασποράς έδειξε ότι ο παράγοντας «συνδυασμός ειδών» επέδρασε σημαντικά στη μεταβλητή «αριθμός ωών» ($F=45,541$, $B.E.=5$, $P<0,0001$), για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$ και συνεπώς υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των μέσων αριθμών ωών. Όπως φαίνεται και από τον **Πίνακα 6** που ακολουθεί, 10 ημέρες μετά από τη λήψη αίματος, στις ενδοειδικές διασταυρώσεις ♂ με ♀ του *Ae. albopictus* και του *Ae. cretinus* καταμετρήθηκαν 498 και 314 ωά αντίστοιχα, ενώ το ποσοστό εκκόλαψης κυμάνθηκε από 87 - 94% για τα δύο είδη. Στις διειδικές διασταυρώσεις των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* ο αριθμός ωών ήταν μειωμένος και διέφερε στατιστικά εκείνου των ενδοειδικών διασταυρώσεων. Παρά το γεγονός ότι στη διασταύρωση ♂ *Ae. albopictus* με ♀ *Ae. cretinus* καταγράφηκε σημαντικός αριθμός ωών (M.O.= 213 ωά), και στις 2 διειδικές διασταυρώσεις ♂ με ♀ των *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* κανένα από τα ωά που καταγράφηκαν δεν εκκολάφθηκε. Ο αριθμός των ωών που καταγράφηκαν από την διειδική διασταύρωση ♂ *Ae. cretinus* με ♀ *Ae. albopictus* δεν διέφερε σημαντικά από τον αριθμό των άγονων ωών που δίνουν τα ♀ *Ae. albopictus* παρθενογεννητικά χωρίς διασταύρωση με ♂ άτομα του είδους τους. Ωστόσο, ο αριθμός των άγονων ωών που παρήγαγαν τα ♀ *Ae. cretinus* μετά τη σύζευξη με ♂ *Ae. albopictus* διέφερε σημαντικά από τον αριθμό των άγονων ωών που δίνουν τα ♀ *Ae. cretinus* παρθενογεννητικά χωρίς διασταύρωση με ♂ άτομα του είδους τους.

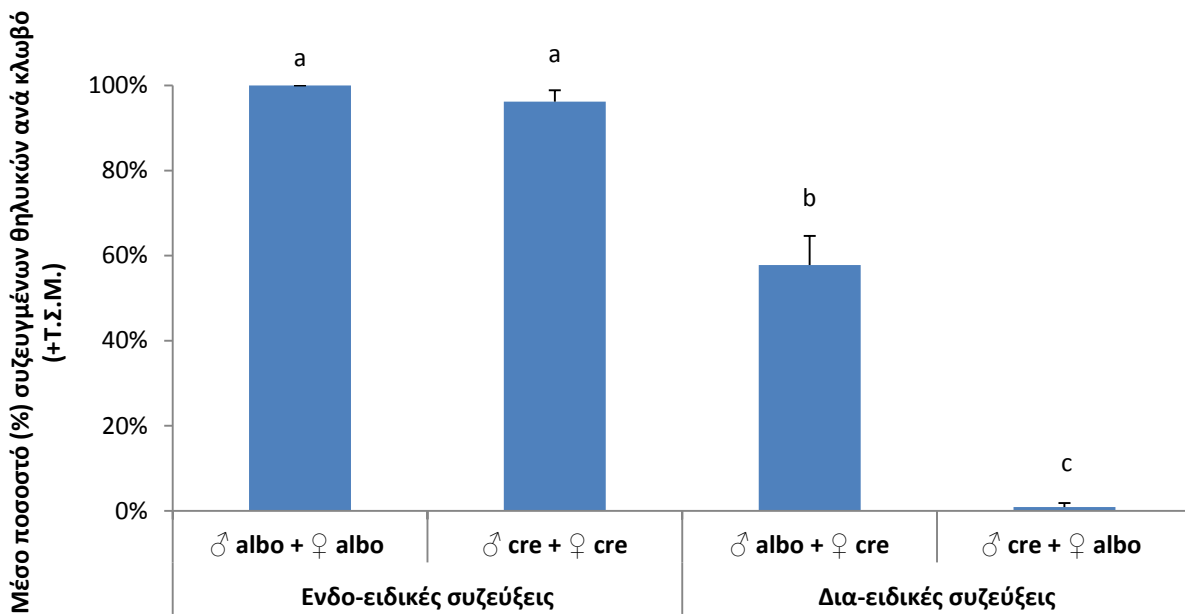
Πίνακας 6. Μέσος αριθμός ωών (\pm Τ.Σ.Μ.) και μέσο ποσοστό (%) εκκόλαψης (\pm Τ.Σ.Μ.) των ωών μετά από ενδοειδικές και διειδικές διασταυρώσεις 20 ♂ και 20 ♀ κουνουπιών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* εντός κλωβού, ανά κλωβό.

Είδος διασταύρωσης	Επαναλήψεις (κλωβοί)	Μέσος όρος ωών ανά κλωβό *	Μέσο ποσοστό (%) εκκόλαψης ωών ανά κλωβό
♂ <i>Ae. albopictus</i> + ♀ <i>Ae. albopictus</i>	4	498 \pm 38 a	94 \pm 2
♂ <i>Ae. cretinus</i> + ♀ <i>Ae. cretinus</i>	4	314 \pm 54 b	87 \pm 4
♂ <i>Ae. albopictus</i> + ♀ <i>Ae. cretinus</i>	4	213 \pm 28 c	0
♂ <i>Ae. cretinus</i> + ♀ <i>Ae. albopictus</i>	4	36 \pm 11 d	0
♀ <i>Ae. albopictus</i>	4	11 \pm 8 d	0
♀ <i>Ae. cretinus</i>	4	2 \pm 2 d	0

* Οι μέσοι όροι σε μια στήλη που έχουν το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά ($P \geq 0.05$). Student-Newman-Keuls (SNK)-test ($\alpha = 0,05$).

Η επίδραση του παράγοντα «διασταύρωση» στη μεταβλητή «ποσοστό συζευγμένων ♀», έδειξε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαμέσων των 4 διασταυρώσεων (επιπέδων), για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ ($X^2 = 21,401$, B.E.=3, $P < 0,0001$). Μετά από τις ενδοειδικές διασταυρώσεις ♂ με ♀ του *Ae. albopictus* και ομοίως του *Ae. cretinus*, τα οποία παρέμειναν για 15 ημέρες συνολικά εντός των κλωβών, καταγράφηκε υψηλό ποσοστό (%) σύζευξης των ♀ κουνουπιών, το οποίο κυμάνθηκε από 96 - 100% (**Διάγραμμα 8**). Το πολύ ενδιαφέρον αποτέλεσμα αναφορικά με το ποσοστό σύζευξης των ♀ εστιάζεται στις διειδικές διασταυρώσεις. Πιο συγκεκριμένα, μετά από τη διασταύρωση ♂ *Ae. albopictus* με ♀ *Ae. cretinus* καταγράφηκε ένα σημαντικό ποσοστό συζευγμένων ♀ *Ae. cretinus* ίσο με 58%. Αντίθετα, μετά από τη διασταύρωση ♂ *Ae. cretinus* με ♀ *Ae. albopictus* καταγράφηκε ένα σημαντικά μικρότερο ποσοστό συζευγμένων ♀ *Ae. albopictus*, μόλις ίσο με 1%. Τα ποσοστά βεβαίως των συζευγμένων ♀ από τις διειδικές διασταυρώσεις ήταν στατιστικά σημαντικά μικρότερα από τα αντίστοιχα των ενδοειδικών διασταυρώσεων.

Διασταύρωση χωρίς επιλογή είδους



Διάγραμμα 8. Μέσο ποσοστό (%) συζευγμένων ♀ κουνουπιών (+ T.Σ.Μ.) μετά από ενδοειδικές και διειδικές διασταυρώσεις των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* (n=6).

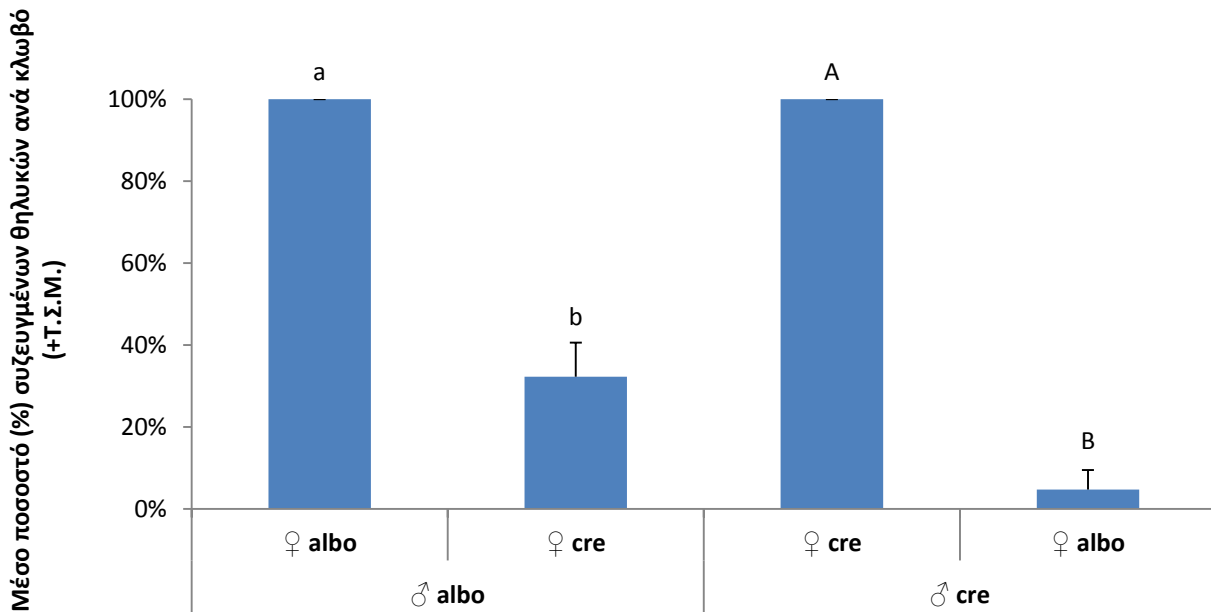
*Τα μέσα ποσοστά (%) σε μια στήλη που έχουν το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά ($P \geq 0,05$), Mann-Whitney U-test με διόρθωση Bonferroni (διορθωμένο $\alpha = 0,008$).

** “albo”= *Ae. albopictus*, “cre”= *Ae. cretinus*

(B): Διασταυρώσεις παρθένων ♂ με ♀ του ίδιου είδους και ♀ του άλλου είδους. Διασταυρώσεις με επιλογή είδους (choice crosses)

Όταν εντός του κλωβού τοποθετήθηκαν ♂ του *Ae. albopictus* ή του *Ae. cretinus* με ♀ από το ένα και ♀ από το άλλο είδος ταυτόχρονα, καταγράφηκε 100% ποσοστό σύζευξης για τα ♀ της ενδοειδικής διασταύρωσης (**Διάγραμμα 9**). Το ενδιαφέρον αποτέλεσμα εστιάζεται στην επιλογή των ♂ του *Ae. albopictus* μεταξύ των ♀ από τα δύο είδη, όπου καταγράφηκε ένα αρκετά υψηλό ποσοστό (%) συζευγμένων ♀ *Ae. cretinus*, ίσο με 32%. Στο συγκεκριμένο συνδυασμό, βεβαίως, το ποσοστό (%) των συζευγμένων ♀ *Ae. albopictus* (100%) ήταν στατιστικά μεγαλύτερο ($Z = -2,207$, $P = 0,027$). Αντίθετα, στην επιλογή των ♂ του *Ae. cretinus* μεταξύ των ♀ από τα δύο είδη, καταγράφηκε πολύ μικρό ποσοστό συζευγμένων ♀ *Ae. albopictus* (5%), ενώ το ποσοστό (%) των συζευγμένων ♀ *Ae. cretinus* ήταν στατιστικά μεγαλύτερο και ίσο με 100% ($Z = -2,333$, $P = 0,020$).

Διασταύρωση με επιλογή είδους



Διάγραμμα 9. Μέσο ποσοστό (%) συζευγμένων ♀ κουνουπιών (+ T.Σ.Μ.) από ♂ του *Ae. albopictus* ή του *Ae. cretinus* μετά από έκθεση των ♂ ταυτόχρονα σε ♀ των δύο ειδών (n=6).

* Η σύγκριση των μέσων ποσοστών (%) συζευγμένων ♀ πραγματοποιήθηκε για κάθε αρσενικό ξεχωριστά με το μη-παραμετρικό τεστ Wilcoxon για σύγκριση διαμέσων τιμών δύο εξαρτημένων δειγμάτων ($\alpha=0,05$).

** Για κάθε ♂, τα μέσα ποσοστά (%) σε μια στήλη που έχουν διαφορετικό μικρό ή κεφαλαίο γράμμα διαφέρουν σημαντικά ($P < 0,05$, Wilcoxon test).

*** “albo”= *Ae. albopictus*, “cre”= *Ae. cretinus*.

3.5 Συζήτηση - Συμπεράσματα

3.5.1 Εποχική συνύπαρξη των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στο φυσικό περιβάλλον

Από τις εκκολάψεις των συλλεχθέντων ωών στο εργαστήριο και την ανάπτυξη των προνυμφών και νυμφών στα δοχεία ανάπτυξης, κατά τη διάρκεια των 2 ½ περίπου ετών και από τις δύο εξεταζόμενες περιοχές («Ανατολικά» και «Χαλάνδρι»), προέκυψε ένα σχετικά μικρό ποσοστό (40,3%) τελείων κουνουπιών, που ανήκαν αποκλειστικά στο γένος *Aedes*, επί του συνολικού αριθμού μη-εκκολαφθέντων ωών που συλλέχθηκαν από τις παγίδες ωοθεσίας.

Συνολικά, από τις δύο περιοχές και τις τρεις περιόδους μελέτης, η συντριπτική πλειονότητα (95,2%) των εξερχόμενων τελείων κουνουπιών ανήκε στο είδος *Ae. albopictus* ενώ ένα μικρό μόνο ποσοστό αυτών (4,7%) ανήκε στο είδος *Ae. cretinus*. Συνεπώς, το *Ae. albopictus* θα μπορούσε να θεωρηθεί το κυρίαρχο (dominant) είδος *Aedes*, που αναπαράγεται σε μικρές συλλογές νερού (container breeding), στις συγκεκριμένες περιοχές. Εντούτοις, η σχετικά μικρή «παραγωγή» τελείων κουνουπιών από τα συλλεχθέντα ωά, στο εργαστήριο, ίσως οδήγησε σε υπερεκτίμηση του πληθυσμού του *Ae. albopictus* σε αυτές τις περιοχές.

Η μικρή «παραγωγή» τελείων στο εργαστήριο, όπως αναφέρθηκε αναλυτικά και στην παρ. 2.5 (Συζήτηση του 2^{ου} κεφ.), μεταξύ άλλων ίσως οφείλεται στη δυσκολία εκκόλαψης κάποιων ωών που συλλέχθηκαν το φθινόπωρο και το χειμώνα, είτε εξαιτίας της παραγωγής φωτοπεριοδικώς διαπαυόντων ωών είτε λόγω χαμηλών θερμοκρασιών (Hawley 1988, Estrada-Franco and Craig 1995). Η υπόθεση αυτή φαίνεται να επιβεβαιώνεται από το γεγονός ότι στην περιοχή «Ανατολικά» η παραγωγή τελείων *Aedes* στο εργαστήριο, από τα ωά που συλλέχθηκαν σχετικά αργά την εποχή το 2009 (από Αύγουστο έως Δεκέμβριο), ήταν αρκετά μικρότερη (19,4%) σε σχέση με το ποσοστό εξερχόμενων τελείων που καταγράφηκε στην ίδια περιοχή και την περιοχή «Χαλάνδρι» καθ' όλη την περίοδο (Ιανουάριο-Δεκέμβριο) τα έτη 2010 και 2011 (33 - 51,6%). Άλλοι παράγοντες στους οποίους μπορεί να οφείλεται η χαμηλή παραγωγή τελείων *Aedes* στο εργαστήριο είναι η ξηρασία των καλοκαιρινών μηνών που μπορεί να επηρέασε την εμβρυική ανάπτυξη και την εκκολαπτικότητα των ωών, η μειωμένη εκκολαπτικότητα των ωών του *Ae. cretinus* κάτω από τις συγκεκριμένες εργαστηριακές συνθήκες καθώς και διειδικές ή και ενδοειδικές ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις των προνυμφών των δύο ειδών κουνουπιών τα οποία αναπτύσσονταν στο ίδιο ενδιαίτημα (δοχείο με νερό και ιχθυοτροφή).

Θα πρέπει, ωστόσο, να τονιστεί ότι εξαιτίας του σημαντικού ποσοστού (%) των θετικών παγίδων στις οποίες δεν ήταν δυνατή η ταυτοποίηση των θηλυκών που ωοτόκησαν και γενικώς εξαιτίας του σημαντικού αριθμού ωών στις θετικές παγίδες για τα οποία δεν ήταν εφικτή η ταυτοποίηση του είδους, η εικόνα των αποτελεσμάτων σχετικά με την εποχική παρουσία και αφθονία των δύο ειδών κουνουπιών είναι κατά προσέγγιση και ως εκ τούτου η ερμηνεία τους καθίσταται δύσκολη και επισφαλής.

Στην περιοχή «Ανατολικά» από τον Αύγουστο έως το Δεκέμβριο του 2009 η εβδομαδιαία αναπαραγωγική δραστηριότητα που καταγράφηκε στις παγίδες ωοθεσίας ήταν σχετικά μικρή ενώ σύμφωνα με τα στοιχεία για τα τέλεια που προέκυψαν μετά τη μεταχείριση των ωών στο εργαστήριο, το *Ae. cretinus* δεν καταγράφηκε σε καμία από τις εγκαταστημένες παγίδες εκείνη την περίοδο στη συγκεκριμένη περιοχή. Ωστόσο, τις δύο επόμενες χρονιές (2010 και 2011), στην ίδια ακριβώς περιοχή και την ίδια χρονική περίοδο, τα ποσοστά θετικών παγίδων ήταν σημαντικά υψηλότερα, μάλιστα και σε διαδοχικές δειγματοληψίες, και αφορούσαν σχεδόν αποκλειστικά ωά του *Ae. albopictus*. Τα δεδομένα αυτά, υποδεικνύουν την αύξηση και εξάπλωση της παρουσίας του *Ae. albopictus* στην συγκεκριμένη περιοχή το 2010 και 2011 σε σχέση με το 2009.

Από τις εβδομαδιαίες δειγματοληψίες στην περιοχή «Ανατολικά» τα έτη 2010 και 2011 και τη μεταχείριση των ωών στο εργαστήριο, προέκυψε η εποχική εμφάνιση του *Ae. cretinus*, η οποία εντοπίζεται νωρίς την εποχή με την έναρξη των συλλογών ωών στις παγίδες ωοθεσίας, το Μάιο. Η παρουσία του *Ae. cretinus* συνέχιζε να καταγράφεται κυρίως μέχρι τα τέλη Ιουλίου το 2010 και περί τα τέλη Ιουνίου το 2011, χρονικές στιγμές που συνέπιπταν με την ραγδαία αύξηση της παρουσίας του *Ae. albopictus* αλλά και την σταθερά αυξημένη παρουσία του είδους αυτού αργότερα στην εποχή.

Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στις δειγματοληψίες όπου καταγράφηκε η παρουσία του *Ae. cretinus*, μετά τη μεταχείριση των ωών στο εργαστήριο, φάνηκε ότι από τις παγίδες αυτές συλλέχθηκαν ωά μόνο του *Ae. cretinus* ή ωά του *Ae. cretinus* και του *Ae. albopictus*. Η ταυτόχρονη παρουσία των δύο ειδών, στην ίδια παγίδα την ίδια δειγματοληψία και το γεγονός ότι είναι συγγενή φυλλογεννητικά είδη με παρόμοια βιοηθολογικά χαρακτηριστικά αποτελούν ενδείξεις ότι ενδεχομένως πρόκειται για οικολογικά ομόλογα είδη κουνουπιών που μοιράζονται την ίδια βιοθέση.

Η χωροταξική κατανομή της παρουσίας των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*, βάσει των συλλογών των ωών τους, καταδεικνύει καταρχάς την εξάπλωση της παρουσίας του *Ae. albopictus* στην περιοχή «Ανατολικά» το 2010 σε σχέση με το 2009. Το 2010 σε αρκετές παγίδες καταγράφηκε και το *Ae. cretinus*, η παρουσία όμως του οποίου την

επόμενη χρονιά (2011) ήταν σχετικά περιορισμένη, συνυπολογίζοντας την καθολική παρουσία του *Ae. albopictus*. Επίσης, στην περιοχή «Ανατολικά» ορισμένες από τις παγίδες που συλλέχθηκε το *Ae. cretinus* το 2010 ήταν «ανεκμετάλλευτες» την προηγούμενη χρονιά (2009) από τα δύο είδη *Aedes*, ενώ την επόμενη χρονιά (2011) κατελήφθησαν μόνο από το *Ae. albopictus*, χωρίς να καταγραφεί το *Ae. cretinus*. Ενδεχομένως, λοιπόν, η αυξημένη παρουσία του *Ae. albopictus* να επηρέασε αρνητικά την παρουσία του *Ae. cretinus* στη συγκεκριμένη περιοχή. Ένα ακόμη στοιχείο που προκύπτει από την χωροταξική κατανομή της παρουσίας των δύο ειδών, είναι η εντοπισμένη παρουσία του *Ae. cretinus* σε γειτονικές κυρίως παγίδες, που παρατηρήθηκε στην περιοχή «Ανατολικά» το 2010 και στην περιοχή «Χαλάνδρι» το 2011, γεγονός που δείχνει την δραστηριότητα του συγκεκριμένου είδους σε συγκεκριμένη εστία στο χώρο.

Η αδιάλειπτη παρουσία του *Ae. albopictus* καθ' όλη την περίοδο από την άνοιξη έως αργά το φθινόπωρο, η καθολική παρουσία του *Ae. albopictus* στην περιοχή δραστηριοποίησής του, η εποχική εμφάνιση του *Ae. cretinus* νωρίς την εποχή από την άνοιξη μέχρι τα μέσα του καλοκαιριού και η μη καταγραφή του τότε σε συνδυασμό με τη διατήρηση της αυξημένης παρουσίας του *Ae. albopictus* και την παρουσία των δύο συγγενών ειδών ταυτόχρονα στην ίδια παγίδα, είναι μερικές παρατηρήσεις αναφορικά με την παρουσία των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στον αγρό, που επιβεβαιώθηκαν από τις εβδομαδιαίες δειγματοληψίες των παγίδων ωοθεσίας στην περιοχή «Χαλάνδρι» το 2011.

Θα πρέπει, ωστόσο, να τονιστεί ότι εξαιτίας του μικρού αριθμού παγίδων στις μελετούμενες περιοχές τα αποτελέσματα αναφορικά με τη χωροδιάταξη των δύο ειδών κουνουπιών είναι απλώς ενδεικτικά και ως εκ τούτου η ερμηνεία τους καθίσταται δύσκολη και επισφαλής.

Οι παρατηρήσεις από την παρούσα μελέτη που αφορούν την εποχική παρουσία του *Ae. cretinus* σε περιοχές της Αθήνας, νωρίς την εποχή από το Μάιο έως και τα μέσα του καλοκαιριού, αλλά τη σχετικά μικρή αφθονία και εξάπλωσή του σε περιοχές της Αθήνας, έρχονται σε αντίθεση με τα ευρήματα του Κολιόπουλου (2011) όπως αναφέρθηκε στο σκοπό της μελέτης του συγκεκριμένου κεφαλαίου. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η συγκεκριμένη μελέτη πεδίου διεξήχθη πριν την εισβολή του *Ae. albopictus* στη χώρα μας το 2003-2004 (Samanidou-Voyadjoglou *et al.* 2005) και την πρώτη καταγραφή του στην Αθήνα το 2008 (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008).

Ωστόσο, τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής που αφορούν στην εποχική εμφάνιση του *Ae. cretinus* νωρίς την εποχή από την άνοιξη μέχρι τα μέσα του καλοκαιριού φαίνεται να συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Alten *et al.* (2000) και Caglar *et al.* (2003). Πιο συγκεκριμένα, οι Alten *et al.* (2000) μελέτησαν την παρουσία ειδών κουνουπιών και την εποχική τους διακύμανση στην περιφέρεια Belek της επαρχίας Αντάλια της Τουρκίας με τη χρήση παγίδων για τέλεια κουνούπια (New Jersey light traps και παγίδες CO₂) από το Μάιο έως το Δεκέμβριο του 1997 και διαπίστωσαν ότι το *Ae. cretinus* εντοπίζονταν σε μεγαλύτερους πληθυσμούς σε δασώδεις περιοχές, ενώ τα τέλεια του συλλέγονταν μόνο κατά τη διάρκεια των τριών μηνών Μαΐου, Ιουνίου και Ιουλίου με το μέγιστο των συλλογών να καταγράφεται τον Ιούνιο. Το *Ae. cretinus* ήταν το πιο κοινό είδος κουνουπιού νωρίς το καλοκαίρι, ειδικά τον Ιούνιο, ενώ δεν παρατηρούνταν συλλογές από τον μήνα Αύγουστο και μετά. Ομοίως, σε παρόμοια μελέτη των Caglar *et al.* (2003) στην ίδια περιοχή της Τουρκίας, με τη χρήση παγίδων τελείων κουνουπιών (New Jersey light traps και παγίδες CO₂) διαπιστώθηκε ότι τα τέλεια του *Ae. cretinus* συλλέγονταν σε μεγάλους αριθμούς το Μάιο και Ιούνιο (μαζί με το *Cx. pipiens*) και σε μικρότερους τον Ιούλιο, ενώ μετά τον Ιούλιο εξαφανίζονταν οι πληθυσμοί του.

Συμπεράσματα

Λαμβάνοντας υπόψη τα ευρήματα της παρούσας μελέτης, μπορούμε να συνοψίσουμε τα εξής στοιχεία: α) τους περιορισμένους πληθυσμούς του *Ae. cretinus* στις δύο περιοχές μελέτης του συγκεκριμένου κεφαλαίου («Ανατολικά» και «Χαλάνδρι») και την εποχικότητα εμφάνισής τους (νωρίς την εποχή από την άνοιξη μέχρι τα μέσα του καλοκαιριού) σε συνδυασμό με την αδιάλειπτη, αυξανόμενη και καθολική παρουσία του *Ae. albopictus* σε αυτές και β) το γεγονός ότι ενδεχομένως πρόκειται για δύο οικολογικά ομόλογα είδη τα οποία συνυπάρχουν στην ίδια παγίδα σε δεδομένο χρόνο. Επιπρόσθετα, θα πρέπει να λάβουμε υπόψη και τα δεδομένα του Κολιόπουλου (2011) για την σχετική αφθονία και δραστηριότητα του *Ae. cretinus* καθ' όλη την εποχή, τα έτη 2000-2002, σε περιοχές της Αττικής πριν τον εντοπισμό του *Ae. albopictus*.

Τα παραπάνω ευρήματα και δεδομένα που αφορούν στη συνύπαρξη των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* στον αγρό δείχνουν ότι στις συνθήκες των συγκεκριμένων περιοχών της Αθήνας η παρουσία του *Ae. albopictus*, η οποία βαίνει αυξανόμενη και εξαπλούμενη, ενδεχομένως να επηρεάζει αρνητικά την παρουσία του *Ae. cretinus*, η οποία και περιορίζεται. Με άλλα λόγια η παρουσία του *Ae. albopictus*, σε περιοχές της Αθήνας φαίνεται να επικρατεί της παρουσίας του *Ae. cretinus*. Τα δεδομένα αυτά σηματοδοτούν

την περεταίρω διερεύνηση της συνύπαρξης των δύο συγγενών ειδών *Aedes* και των πιθανών μηχανισμών ανταγωνισμού μεταξύ τους.

3.5.2 Ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των προνυμφών του *Ae. albopictus* και του *Ae. cretinus*

Η διάρκεια ανάπτυξης και η επιβίωση των προνυμφών, καθώς και το μήκος της πτέρυγας των θηλυκών, διέφεραν σημαντικά μεταξύ των δύο ειδών κουνουπιών και των δύο ποσοτήτων χορηγούμενης τροφής (χαμηλή και υψηλή). Οι συγκεκριμένες συνθήκες συνωστισμού των ατόμων είχαν σημαντική κύρια επίδραση μόνο στην περίπτωση του μήκους της πτέρυγας και όχι στις υπόλοιπες μεταβλητές του πειράματος. Ωστόσο, παρατηρήθηκαν αρκετές σημαντικές αλληλεπιδράσεις πρώτου και δευτέρου βαθμού του παράγοντα «πυκνότητα» με άλλους παράγοντες του πειράματος.

Ανεξάρτητα από τη συνύπαρξη ή τη μεμονωμένη ανάπτυξη τους, οι προνύμφες των δύο ειδών φαίνεται ότι στην παρουσία περισσότερης τροφής αναπτύσσονταν ταχύτερα. Συνεπώς, πιθανόν σε συνθήκες χαμηλής ποσότητας τροφής παρατηρήθηκε ενδοειδικός ανταγωνισμός των προνυμφών για τροφή.

Αν και ο παράγοντας «ανταγωνισμός» δεν είχε σημαντική κύρια επίδραση στις μεταβλητές του πειράματος, τα αποτελέσματα της ανάλυσης διασποράς έδειξαν ότι οι τιμές της διάρκειας προνυμφικής ανάπτυξης, της επιβίωσης των προνυμφών και του μήκους της πτέρυγας ήταν σημαντικά διαφορετικές στην συνύπαρξη των δύο ειδών σε σχέση με την μεμονωμένη ανάπτυξή τους, για το κάθε είδος, σε συγκεκριμένους όμως συνδυασμούς επιπέδων των παραγόντων «ποσότητα τροφής» και «πυκνότητα ατόμων». Με άλλα λόγια, παρατηρήθηκαν τάσεις διεδικού ανταγωνισμού των προνυμφών των δύο ειδών κουνουπιών σε συγκεκριμένες όμως συνθήκες ανάπτυξης.

Το γεγονός ότι ο «ανταγωνισμός» δεν είχε σημαντική κύρια επίδραση στην διάρκεια ανάπτυξης των προνυμφών οφείλεται στο ότι οι μέσες τιμές της διάρκειας προνυμφικής ανάπτυξης, στα διάφορα επίπεδα ποσότητας τροφής και πυκνότητας ατόμων, συνολικά (ανεξάρτητα από το είδος), όπως φαίνεται και από το **Διάγραμμα 5** (σελ. 152), παραμένουν οι ίδιες στην ανάπτυξη του ενός είδους ή και των δύο ειδών μαζί. Ωστόσο, η διάρκεια ανάπτυξης, όταν τα δύο είδη αναπτύσσονται μαζί, σε όλες τις περιπτώσεις συνδυασμού επιπέδων τροφής και πυκνότητας ατόμων, μειώνεται στην περίπτωση του *Ae. albopictus* και ταυτόχρονα αυξάνεται στην περίπτωση του *Ae. cretinus*. Το φαινόμενο αυτό είναι εντονότερο, βεβαίως, σε συνθήκες χορήγησης περιορισμένης τροφής. Η τάση αυτή αποτυπώνεται και στο αποτέλεσμα της στατιστικής ανάλυσης παραλλακτικότητας όπου

καταγράφηκε σημαντική αλληλεπίδραση του «ανταγωνισμού» x «είδος κουνουπιού» καθώς και σημαντική αλληλεπίδραση «ανταγωνισμού» x «είδος κουνουπιού» x «ποσότητα τροφής» στην διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης.

Η προνυμφική περίοδος ήταν παρόμοια για τα δύο είδη στην περίπτωση που κάθε ένα αναπτύσσονταν μόνο του, μιας και απαιτήθηκε παρόμοιο χρονικό διάστημα έως τη νύμφωση, στη χαμηλή και αντίστοιχα στην υψηλή ποσότητα τροφής. Ωστόσο, η διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης για το *Ae. albopictus* όταν συνυπήρχε με το *Ae. cretinus* και στην έλλειψη τροφής βρέθηκε περίπου 1 με 2 ημέρες συντομότερη στην υψηλή και χαμηλή πυκνότητα ατόμων, αντίστοιχα. Αντίθετα, η διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης για το *Ae. cretinus* όταν συνυπήρχε με το *Ae. albopictus* στην έλλειψη τροφής βρέθηκε περίπου 1 ημέρα βραδύτερη, τόσο στη χαμηλή όσο και στην υψηλή πυκνότητα ατόμων. Συνεπώς, όταν τα δύο είδη συνυπήρχαν αλλά σε συνθήκες περιορισμένης τροφής, ευνοήθηκε η ταχύτερη προνυμφική περίοδος του *Ae. albopictus* και καθυστέρησε εκείνη του *Ae. cretinus*. Η τάση αυτή παρατηρήθηκε και στη χορήγηση υψηλής ποσότητας τροφής (κυρίως στη χαμηλή πυκνότητα ατόμων) σε μικρότερο όμως βαθμό. Η τάση αυτή εισηγείται, επίσης, ότι μεταξύ των δύο ειδών αναπτύσσεται ανταγωνιστική αλληλεπίδραση.

Η επιβίωση των προνυμφών των δύο ειδών κυμάνθηκε γενικώς σε υψηλά ποσοστά, με υψηλότερα να καταγράφονται για το *Ae. albopictus*. Τα χαμηλότερα ποσοστά επιβίωσης προνυμφών του *Ae. cretinus* καταγράφηκαν σε συνθήκες χαμηλής ποσότητας τροφής ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά επιβίωσης του *Ae. albopictus* παρέμεναν σχετικώς υψηλά, ανεξάρτητα από την συνύπαρξη των δύο ειδών ή το πλήθος των ατόμων. Ωστόσο, στην υψηλή ποσότητα τροφής το ποσοστό επιβίωσης των προνυμφών του *Ae. cretinus* βελτιώθηκε σημαντικά.

Σχετικά με το μήκος της πτέρυγας των κουνουπιών, σε μελέτη των Packer and Corbet (1989) με το *Aedes punctator* Kirby αναφέρεται ότι το μήκος των πτερύγων στα θηλυκά κουνούπια σχετίζεται θετικά με το μέγεθος των θηλυκών. Ακολούθως, το μέγεθος των θηλυκών σχετίζεται θετικά με τον αριθμό των ωοθηκών και την αναπαραγωγική ικανότητα (fecundity), την επιβίωση (survival) των θηλυκών και την μετάδοση ασθενειών, καθώς μεγαλύτερα θηλυκά κουνούπια γεννάνε περισσότερα ωά, ζουν περισσότερο και εντοπίζουν ευκολότερα τους ξενιστές τους.

Στην παρούσα μελέτη, σε συνθήκες περιορισμένης διαθεσιμότητας τροφής το μήκος της πτέρυγας των θηλυκών και συνεπώς το μέγεθος των θηλυκών ήταν σημαντικά

μικρότερο σε σχέση με εκείνο που καταγράφηκε κατά τη χορήγηση επαρκούς ποσότητας τροφής, ανεξάρτητα από το είδος του κουνουπιού, την συνύπαρξη των δύο ειδών και την πυκνότητα των ατόμων. Συνεπώς, η περιορισμένη ποσότητα τροφής επέδρασε ακόμα και στην περίπτωση που το κάθε είδος αναπτύχθηκε μόνο του, υποδηλώνοντας ενδοειδικό ανταγωνισμό για τροφή.

Σε περιορισμένη διαθεσιμότητα τροφής και χαμηλή πυκνότητα ατόμων καταγράφηκε ελαφρά αύξηση του μήκους της πτέρυγας του *Ae. albopictus* και αντίστοιχη μείωση στο *Ae. cretinus* όταν τα δύο είδη συνυπήρχαν, σε σχέση με το μήκος της πτέρυγας που καταγράφηκε όταν αναπτύσσονταν τα δύο είδη μεμονωμένα. Στις συγκεκριμένες συνθήκες, επομένως, διαφαίνεται μία τάση διεδικού ανταγωνισμού υπέρ του μεγέθους των θηλυκών του *Ae. albopictus*.

Σημειώνεται ότι τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης που αφορούσαν τον ανταγωνισμό των προνυμφών, προέκυψαν με τη χρησιμοποίηση της συγκεκριμένης τροφής (ιχθυοτροφή). Ωστόσο, το είδος της τροφής στις εστίες ανάπτυξης των προνυμφών στη φύση μπορεί να επηρεάζει σημαντικά τη διατροφή των προνυμφών των δύο ειδών και συνεπώς τις ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις τους και ως εκ τούτου αξίζει να διερευνηθεί.

Παρόμοιες μελέτες του διεδικού και ενδοειδικού ανταγωνισμού των προνυμφών σε είδη *Aedes* και άλλων γενών κουνουπιών έχουν αναφερθεί στη σχετική βιβλιογραφία.

Οι Hardstone and Andreadis (2012) διερεύνησαν τον ενδοειδικό και διεδικό ανταγωνισμό των προνυμφών των ειδών *Aedes japonicus* (Theobald), *Aedes atropalpus* (Coquillett), *Aedes triseriatus* (Say) και *Culex pipiens*, στο εργαστήριο σε 3 διαφορετικά επίπεδα συνωστισμού των προνυμφών (20, 40 και 60 άτομα) με αναλογία 1:1, εντός δοχείων με 250 ml νερό και χορήγηση συγκεκριμένης ποσότητας τροφής. Καταμετρήθηκε η διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης, η επιβίωση των προνυμφών, η θνησιμότητα των τελείων, το μήκος της πτέρυγας των θηλυκών και η αναλογία φύλου. Στη συγκεκριμένη μελέτη παρατηρήθηκε ενδοειδικός ανταγωνισμός στο *Aedes japonicus* καθώς σημειώνονταν καθυστερημένη προνυμφική ανάπτυξη και αυξημένη θνησιμότητα των τελείων. Ο διεδικός ανταγωνισμός ήταν γενικώς ασθενής, ενώ σημαντικές κύριες επιδράσεις στις μεταβλητές του πειράματος καταγράφηκαν μόνο για τους παράγοντες «είδος» και «πυκνότητα», κατά αντιστοιχία με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας. Συνεπώς, ο ασθενής ανταγωνισμός μεταξύ των προνυμφών του *Aedes japonicus* και των υπολοίπων ειδών δεν αρκεί για να ερμηνευθεί η επιτυχής εισβολή του συγκεκριμένου εισβάλλοντος είδους κουνουπιού στην βόρεια Αμερική.

Οι Ho *et al.* (1989) μελέτησαν τον ενδοειδικό και διειδικό ανταγωνισμό των προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus*, *Ae. aegypti* και *Ae. triseriatus* στο εργαστήριο εντός δοχείων με 50 ml νερό ανά δύο (25 προνύμφες από το κάθε είδος) αλλά και όταν συνυπάρχουν και τα τρία είδη μαζί (30 προνύμφες από το κάθε είδος). Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης προέκυψε ότι η διάρκεια προνυμφικής ανάπτυξης του *Ae. aegypti* όταν αναπτύσσονταν μαζί με το *Ae. albopictus* ή το *Ae. triseriatus* ή και τα δύο μαζί, επιταχύνθηκε σημαντικά. Πιο συγκεκριμένα, για το *Ae. aegypti* απαιτήθηκαν 12,2 και 14,8 ημέρες κατά Μ.Ο. για την νύμφωση του 50 και 75% των ατόμων, αντίστοιχα, σε συνθήκες συνύπαρξης με τα άλλα είδη, και 17,7 και 21,5 ημέρες όταν το είδος αναπτύσσονταν μόνο του. Αντίθετα, ο χρόνος που απαιτήθηκε έως το στάδιο της νύμφης για το *Ae. albopictus* ή το *Ae. triseriatus* ήταν μεγαλύτερος όταν τα είδη αυτά αναπτύσσονταν μαζί με το *Ae. aegypti*. Για το *Ae. albopictus* απαιτήθηκαν 18,7 και 22 ημέρες για τη νύμφωση του 50 και 75% των ατόμων σε συνθήκες συνύπαρξης με τα άλλα είδη, και 16,8 και 20,7 ημέρες όταν αναπτύσσονταν μόνο του.

Οι Carrieri *et al.* (2003) προκειμένου να μελετήσουν τον ανταγωνισμό των ειδών *Ae. albopictus* και *Cx. pipiens* στο εργαστήριο τοποθέτησαν προνύμφες εντός δοχείων με νερό σε διάφορες αναλογίες και ποσότητες τροφής και κατέγραφαν τη διάρκεια ανάπτυξης των προνυμφών, το βάρος των τελείων και την έξοδο των τελείων. Οι συγκεκριμένοι ερευνητές διαπίστωσαν ότι η σχέση μεταξύ ποσότητας τροφής και βάρους τελείων, που δείχνει την ικανότητα μετατροπής της χορηγούμενης τροφής σε βιομάζα (σωματικό βάρος), ήταν σημαντικά υψηλότερη για το *Ae. albopictus* σε σχέση με το *Cx. pipiens*. Το εύρημα αυτό δείχνει ότι το *Ae. albopictus* έχει μεγαλύτερη ικανότητα να μετατρέπει την τροφή σε βιομάζα και συνεπώς να εκμεταλλεύεται αποτελεσματικότερα την χορηγούμενη τροφή και τελικώς να αναπτύσσεται ταχύτερα από το *Cx. pipiens*. Σε συνθήκες μάλιστα περιορισμένης τροφής παρατηρήθηκε διειδικός ανταγωνισμός μεταξύ των προνυμφών, όπου επικρατεί το *Ae. albopictus*. Σε συνθήκες συνύπαρξης των δύο ειδών και περιορισμένης τροφής παρατηρήθηκε μείωση του σωματικού βάρους του *Ae. albopictus* χωρίς όμως μείωση του ποσοστού εμφάνισης τελείων ενώ το *Cx. pipiens* δεν κατόρθωσε να φτάσει στο στάδιο του τελείου. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι οι προνύμφες του *Ae. albopictus* στερούσαν την απαραίτητη τροφή από το *Cx. pipiens* για την ανάπτυξή του.

Οι Novak *et al.* (1993) μελέτησαν τον διειδικό ανταγωνισμό μεταξύ των προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. triseriatus* στο εργαστήριο τοποθετώντας τις προνύμφες εντός δοχείων με 150 ml νερό σε διάφορες αναλογίες και χορηγώντας δύο ποσότητες τροφής (χαμηλή και υψηλή). Στην υψηλή ποσότητα τροφής δεν παρατηρήθηκαν φαινόμενα ανταγωνισμού, ενώ στις μεταχειρίσεις της χαμηλής ποσότητας τροφής καταγράφηκαν

στατιστικώς σημαντικές ανταγωνιστικές σχέσεις μεταξύ των προνυμφών των δύο ειδών με επικρατούν ανταγωνιστικό είδος σε όλες τις περιπτώσεις το *Ae. albopictus*, κατά αντιστοιχία με τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας με το *Ae. cretinus*. Πιο συγκεκριμένα, στη χαμηλή ποσότητα τροφής το σωματικό βάρος του *Ae. albopictus* ήταν κατά Μ.Ο. 15 mg στην περίπτωση που αναπτύσσονταν μόνο του και 22 mg όταν αναπτύσσονταν μαζί με το *Ae. triseriatus* σε αναλογία 1:1. Αντίθετα στις συνθήκες αυτές το σωματικό βάρος του *Ae. triseriatus* ήταν περίπου 10 mg στην περίπτωση που αναπτύσσονταν μόνο του και 4 mg όταν αναπτύσσονταν μαζί με το *Ae. albopictus*. Αντίστοιχα, η επιβίωση του *Ae. albopictus* ήταν γύρω στο 80% είτε όταν αναπτύσσονταν μόνο του είτε μαζί με το *Ae. triseriatus* σε αναλογία 1:1 στη χαμηλή τροφή, ενώ η επιβίωση που καταγράφηκε για το *Ae. triseriatus* ήταν 60 και 25% όταν αναπτύσσονταν μόνο του και μαζί με το *Ae. albopictus*, αντίστοιχα.

Οι Armistead *et al.* (2008) μελέτησαν τον ανταγωνισμό μεταξύ των προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. japonicus* σε πραγματικές συνθήκες σε δασική περιοχή τοποθετώντας προνύμφες των δύο ειδών σε δοχεία με νερό και φύλλα δρυός σε διάφορες αναλογίες. Διαπιστώθηκε ότι το *Ae. albopictus* επέδειξε ανταγωνιστικό πλεονέκτημα έναντι του *Ae. japonicus* ως αποτέλεσμα της υψηλότερης επιβίωσης, της συντομότερης διάρκειας ως την ενηλικίωση και του σημαντικά υψηλότερου εκτιμώμενου ρυθμού αύξησης του πληθυσμού. Ειδικότερα, τα θηλυκά *Ae. albopictus* και *Ae. japonicus* όταν αναπτύσσονταν μόνα τους (50 άτομα) ενηλικιώθηκαν περίπου σε 30 και 32 ημέρες, αντίστοιχα, ενώ όταν αναπτύσσονταν σε αναλογία 1:1, η ενηλικίωσή τους καταγράφηκε περίπου σε 18 και 36 ημέρες, αντίστοιχα. Ωστόσο, το μέσο μήκος της πτέρυγας των θηλυκών *Ae. albopictus* και *Ae. japonicus* ήταν περίπου 2,5 και 3 mm, αντίστοιχα, είτε όταν αναπτύσσονταν μόνα τους (50 άτομα) είτε όταν αναπτύσσονταν σε αναλογία 1:1.

Σε σχέση με τις παραπάνω βιβλιογραφικές αναφορές, παρόμοιο φαινόμενο διειδικού ανταγωνισμού παρατηρήθηκε και στην παρούσα εργασία όπου σε συνθήκες περιορισμένης τροφής το *Ae. albopictus* ενδεχομένως εκμεταλλευόταν αποτελεσματικότερα και πιθανόν περιόριζε τους διαθέσιμους πόρους για το *Ae. cretinus*. Αυτό είχε ως αποτέλεσμα το *Ae. albopictus* να αναπτύσσονταν ταχύτερα και να αποκτούσε σχετικώς μεγαλύτερο μέγεθος ενώ το *Ae. cretinus* αναπτύσσονταν βραδύτερα και αποκτούσε σχετικώς μικρότερο μέγεθος.

Συμπεράσματα

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας ο ανταγωνισμός μεταξύ των προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*, ήταν γενικά ασθενής, ενώ τάσεις διειδικού ανταγωνισμού οι οποίες φαίνεται ότι ευνόησαν το *Ae. albopictus* έναντι του *Ae. cretinus* παρατηρήθηκαν σε συγκεκριμένες συνθήκες διαθεσιμότητας τροφής και πυκνότητας ατόμων στο περιβάλλον ανάπτυξής τους. Ειδικότερα, σε συνθήκες περιορισμένης τροφής παρατηρήθηκε ταχύτερη ανάπτυξη των προνυμφών του *Ae. albopictus* και μια βραδύτερη ανάπτυξη του *Ae. cretinus* γεγονός που εισηγείται μία τάση διειδικού ανταγωνισμού μεταξύ των προνυμφών. Επιπλέον, όταν η ποσότητα της τροφής ήταν περιορισμένη και η πυκνότητα των ατόμων μικρή και τα δύο είδη συνυπήρχαν, παρατηρήθηκε αύξηση του μεγέθους των τελείων του *Ae. albopictus* και ανάλογη μείωση του μεγέθους του *Ae. cretinus*, σε σχέση με το μέγεθός τους που τελικά είχαν όταν αναπτύσσονταν μεμονωμένα. Οι επιδράσεις αυτές τόσο στο προνυμφικό στάδιο όσο και στο στάδιο του τελείου φαίνεται ότι σχετίζονται με μία τάση διειδικού ανταγωνισμού μεταξύ των δυο αυτών ειδών. Το *Ae. albopictus* φαίνεται να διαθέτει την ικανότητα να εκμεταλλεύεται αποτελεσματικότερα τους διαθέσιμους πόρους σε σχέση με το *Ae. cretinus*. Οι οικολογικές προεκτάσεις αυτής της ανταγωνιστικής συμπεριφοράς είναι σημαντικές μιας και σε συνθήκες περιορισμένης τροφής η χρονική καθυστέρηση της προνυμφικής περιόδου του *Ae. cretinus* μπορεί να έχει ως αποτέλεσμα μικρότερη επιβίωση του είδους, λόγω του μεγαλύτερου χρόνου έκθεσης των προνυμφών σε διάφορους παράγοντες θνησιμότητας (όπως θήρευση, εξάντληση του νερού από την εστία ανάπτυξης, έκθεση σε χημικές επεμβάσεις κ.α.), καθώς και μικρότερο αριθμό γενεών ανά έτος. Επιπλέον, η μείωση του μεγέθους των θηλυκών *Ae. cretinus* στις συνθήκες αυτές ενδεχομένως να επηρεάζει τη διάρκεια ζωής των τελείων και του αναπαραγωγικού δυναμικού με πιθανές αρνητικές επιπτώσεις στη δυναμική του πληθυσμού του συγκεκριμένου είδους. Είναι πιθανόν λοιπόν το είδος *Ae. albopictus* να εκδηλώνει ένα ανταγωνιστικό πλεονέκτημα σε σχέση με το ομόλογό του οικολογικά *Ae. cretinus* σε περιπτώσεις συνύπαρξής τους.

Επιπρόσθετα, διαπιστώθηκε ότι, στις ενδοειδικές αλλά και στις διαδειδικές μεταχειρίσεις, οι προνύμφες των δύο ειδών στην παρουσία επάρκειας τροφής παρουσίασαν ταχύτερη ανάπτυξη. Παράλληλα η χορήγηση χαμηλής ποσότητας τροφής επέδρασε στο μέγεθος των τελείων κουνουπιών. Έτσι το μέγεθος ήταν σημαντικά μικρότερο σε σχέση με εκείνο που καταγράφηκε με τη χορήγηση υψηλής ποσότητας τροφής, ανεξάρτητα από το είδος του κουνουπιού, την συνύπαρξη ή μη των δύο ειδών και την πυκνότητα των ατόμων. Η χαμηλή ποσότητα της τροφής επομένως πιθανόν να αποτελεί παράγοντα εκδήλωσης ενδοειδικού ανταγωνισμού μεταξύ των προνυμφών για τροφή.

Τα ευρήματα της παρούσας εργασίας υποδεικνύουν την ανταγωνιστική αλληλεπίδραση μεταξύ των δύο συγγενών ειδών κουνουπιών. Ωστόσο για την αξιολόγηση των ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων απαιτείται περαιτέρω μελέτη των παραγόντων που μπορεί να επιδρούν όπως η θερμοκρασία ή το είδος της τροφής. Επίσης, απαιτείται η μελέτη της συνύπαρξης των δύο ειδών και σε πραγματικές συνθήκες στη φύση με φυσικούς ή εργαστηριακούς πληθυσμούς σε φυσικές ή τεχνητές συλλογές νερού.

3.5.3 Αναπαραγωγικός ανταγωνισμός μεταξύ του *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*

Από τις διειδικές διασταυρώσεις αρσενικών (♂) και θηλυκών (♀) κουνουπιών των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* δεν προέκυψε απόγονος-υβρίδιο. Ωστόσο, στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί περίπτωση διειδικής σύζευξης και υβριδισμού μεταξύ ειδών που ανήκουν στην ομάδα *Scutellaris*, στην οποία ανήκουν το *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*. Πιο συγκεκριμένα, οι Miyagi and Toma (1989) αναφέρουν ότι από τη διασταύρωση θηλυκών του *Ae. flavopictus downsi* από τα αρσενικά του *Ae. albopictus* παρήχθησαν απόγονοι-υβρίδια τα οποία περιγράφηκαν ως φυσιολογικά με μορφολογικά χαρακτηριστικά και από τα δύο διασταυρούμενα είδη.

Στην παρούσα μελέτη, η σημαντική επίδραση της παρουσίας των ♂ *Ae. albopictus* στην ωοτοκία των ♀ του *Ae. cretinus* επιβεβαιώθηκε και από την καταγραφή του σημαντικού ποσοστού συζευγμένων ♀ *Ae. cretinus* από ♂ *Ae. albopictus*. Αντίθετα, ο μικρός αριθμός ωών από ♀ του *Ae. albopictus* μετά από διασταύρωση με ♂ *Ae. cretinus* συνάδει με το πολύ μικρό ποσοστό συζευγμένων θηλυκών που καταγράφηκε στη συγκεκριμένη διασταύρωση.

Σύμφωνα με τους Clements and Potter (1967) οι σπερματοθήκες στα έντομα είναι εκείνα τα όργανα του θηλυκού στα οποία αποθηκεύονται τα σπερματοζωάρια από τη στιγμή της σύζευξης του θηλυκού με το αρσενικό έως και τη γονιμοποίηση των ωαρίων. Η διάρκεια αποθήκευσης ποικίλλει ανάλογα με το είδος του εντόμου και κυμαίνεται από μερικές ώρες έως αρκετούς μήνες, με εξαίρεση τις μέλισσες που αποθηκεύουν το σπέρμα για χρόνια. Συνεπώς, προκειμένου να διαπιστωθεί εάν ένα θηλυκό κουνούπι έχει συζευχθεί ο πιο απλός τρόπος είναι να απομακρυνθούν με τομή οι σπερματοθήκες του και να καταγραφεί η παρουσία ή απουσία σπερματοζωαρίων σε αυτές (Benedict 2007), μέθοδος που ακολουθήθηκε στη συγκεκριμένη μελέτη.

Είναι αξιοσημείωτο το υψηλό ποσοστό (%) σύζευξης των ♀ του *Ae. cretinus* μετά από διασταύρωση με ♂ του *Ae. albopictus* (58%), ενώ αντίθετα η ικανότητα σύζευξης των

♀ του *Ae. albopictus* από ♂ του *Ae. cretinus* ήταν πολύ μικρή (1%). Το φαινόμενο της διειδικής σύζευξης των ♀ του *Ae. cretinus* από ♂ του *Ae. albopictus* φαίνεται να επιβεβαιώθηκε και στην περίπτωση που τα ♂ του *Ae. albopictus* είχαν τη δυνατότητα να επιλέξουν να συζευχθούν με ♀ του είδους τους ή με ♀ του *Ae. cretinus* (πείραμα διασταυρώσεων με επιλογή είδους). Στην περίπτωση αυτή, παρά το γεγονός ότι στον ίδιο χώρο συνυπήρχαν ♂ και ♀ του ίδιου είδους (*Ae. albopictus*), παρατηρήθηκε ότι συζεύχθηκαν σε σημαντικό βαθμό (32%) τα ♀ του *Ae. cretinus*. Είναι σημαντικό ότι το αντίθετο φαινόμενο δεν συνέβη σε τέτοια ένταση, δηλαδή τα ♂ του *Ae. cretinus*, όταν στον ίδιο χώρο συνυπήρχαν ♀ του ίδιου είδους και του *Ae. albopictus*, συζεύχθηκαν σε μικρό βαθμό με τα ♀ του *Ae. albopictus* (5%). Βεβαίως, και στις δύο περιπτώσεις διασταυρώσεων με επιλογή είδους, τα ♂ άτομα και των δύο ειδών προτίμησαν να συζευχθούν με ♀ του είδους τους από ότι με ♀ του άλλου είδους.

Σύμφωνα με τους Becker *et al.* (2010), οι εκκρίσεις από τους βοηθητικούς γεννητικούς αδένες (accessory glands) του αρσενικού περιέχουν μία ουσία γνωστή ως *matrone*, η οποία μεταφερόμενη στο θηλυκό μετά τη σύζευξη κάνει το θηλυκό μη επιδεκτικό σε περεταίρω συζεύξεις για το υπόλοιπο της ζωής του. Σε αντίθεση με τα θηλυκά, τα αρσενικά κουνούπια μπορούν να ζευγαρώσουν πολλές φορές. Τα θηλυκά αποθηκεύουν επαρκή ποσότητα σπέρματος στις σπερματοθήκες τους για να γονιμοποιήσουν αρκετές ομάδες ωών χωρίς επιπλέον σύζευξη.

Οι Tripet *et al.* (2011) αναφέρουν ότι μετά τη σύζευξη τα αρσενικά κουνούπια μεταφέρουν στα θηλυκά πρωτεΐνες των βοηθητικών γεννητικών αδένων οι οποίες επάγουν την μη-επιδεκτικότητα των θηλυκών για επιπλέον σύζευξη. Οι ίδιοι ερευνητές απομόνωσαν εκχύλισμα των γεννητικών αδένων των αρσενικών με συγκεκριμένη τεχνική και το χορήγησαν με ένεση μέσα στο θώρακα των θηλυκών κουνουπιών. Διαπιστώθηκε ότι το 84% των θηλυκών *Ae. albopictus*, στα οποία είχε γίνει προηγουμένως ένεση με το εκχύλισμα που έφερε την πρωτεΐνη από αρσενικά του *Ae. aegypti*, μετέπειτα συζεύχθηκαν επιτυχώς με αρσενικά του είδους τους. Αντίθετα, πολύ λιγότερα θηλυκά του *Ae. aegypti* (0,01-12%) στα οποία είχε χορηγηθεί το εκχύλισμα από τους γεννητικούς αδένες αρσενικών του *Ae. albopictus* συζεύχθηκαν επιτυχώς με αρσενικά του είδους τους. Στα πλαίσια της συγκεκριμένης εργασίας σε άγριο πληθυσμό των *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* καταγράφηκε μικρό ποσοστό (1,6%) θηλυκών που έφεραν σπέρμα από το άλλο είδος.

Σε πειράματα του Gubler (1970b) εντός κλωβών βρέθηκε ότι τα θηλυκά του *Ae. polynesiensis* συζεύχθηκαν από τα αρσενικά του *Ae. albopictus* σε υψηλό ποσοστό (86%) και γέννησαν άγωνα ωά. Αντίθετα, τα θηλυκά του *Ae. albopictus* δεν συζεύχθηκαν από τα

αρσενικά του *Ae. polynesiensis*. Ο ίδιος ερευνητής διαπίστωσε μάλιστα ότι όταν ένα θηλυκό του *Ae. polynesiensis* συζευχθεί από ένα αρσενικό του *Ae. albopictus* τότε δεν μπορεί να πραγματοποιηθεί μεταγενέστερη επανασύζευξη από αρσενικό του είδους του, και το θηλυκό αυτό θα ωοτοκήσει τελικά στείρα ωά.

Στην παρούσα μελέτη παρατηρήθηκε σημαντικός βαθμός (ικανότητα) με τον οποίο τα ♂ του *Ae. albopictus* συζεύχθηκαν με τα ♀ του *Ae. cretinus* είτε όταν τα ♂ του *Ae. albopictus* δεν είχαν επιλογή να συζευχθούν με ♀ του είδους τους είτε όταν είχαν επιλογή να συζευχθούν με ♀ του είδους τους ή ♀ *Ae. cretinus*. Οι οικολογικές προεκτάσεις αυτής της συμπεριφοράς είναι σημαντικές λαμβάνοντας υπόψη τις παραπάνω βιβλιογραφικές αναφορές. Η συγκεκριμένη ικανότητα ενδεχομένως να έχει ως αποτέλεσμα την αδυναμία των συζευγμένων ♀ *Ae. cretinus* (από ♂ του *Ae. albopictus*) για περαιτέρω σύζευξη με ♂ του είδους τους ή/και τον επηρεασμό της γονιμότητάς τους, με αποτέλεσμα την ενδεχόμενη μείωση του πληθυσμού του *Ae. cretinus* λόγω του αναπαραγωγικού ανταγωνισμού με το *Ae. albopictus*. Αντίστοιχη ικανότητα των ♂ του *Ae. cretinus* για σύζευξη με τα ♀ του *Ae. albopictus* παρατηρήθηκε σε αμελητέο βαθμό στις συνθήκες των πειραμάτων της συγκεκριμένης μελέτης οπότε και δεν υπάρχουν ενδείξεις αναπαραγωγικού ανταγωνισμού των δύο ειδών εις βάρος του *Ae. albopictus*.

Στα πλαίσια της αξιολόγησης της οικολογικής σημασίας των διειδικών διασταυρώσεων των *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η πρόσφατη έρευνα των Boyer *et al.* (2012). Οι ερευνητές αυτοί φαίνεται ότι καταρρίπτουν την έως τώρα υπόθεση ότι τα θηλυκά κουνούπια συζεύγνυνται μία φορά στη ζωή τους από ένα αρσενικό. Πιο συγκεκριμένα, οι ερευνητές αυτοί συνέλεξαν 27 θηλυκά του *Ae. albopictus* από περιοχή των νησιών La Reunion και εντόπισαν με μοριακές τεχνικές στους απογόνους 7 εξ αυτών DNA από περισσότερα από ένα αρσενικά («πατέρες»). Οι ερευνητές αυτοί συμπέραναν ότι σε άγριους πληθυσμούς θηλυκών του *Ae. albopictus* λαμβάνουν χώρα πολλές συζεύξεις και ότι η γονιμοποίηση των ωών τους μπορεί να γίνει από την εισαγωγή σπέρματος από πολλά αρσενικά.

Σε μελέτη των Nasci *et al.* (1989) καταγράφηκε 89% ποσοστό σύζευξης των ♀ *Ae. aegypti* από τα ♂ του *Ae. albopictus* και αντίστοιχα 32% ποσοστό σύζευξης των ♀ *Ae. albopictus* από τα ♂ του *Ae. aegypti*. Σε πείραμα επιλογής ♂ του *Ae. albopictus* μεταξύ ♀ *Ae. albopictus* και ♀ *Ae. aegypti*, εντός κλωβών, συζεύχθηκε το 90% των ♀ *Ae. aegypti*. Ωστόσο, στο αντίστοιχο πείραμα επιλογής ♂ του *Ae. aegypti* μεταξύ ♀ *Ae. aegypti* και ♀ *Ae. albopictus* συζεύχθηκε μόλις το 5% των ♀ *Ae. aegypti*. Οι εργαστηριακές αυτές

παρατηρήσεις οδήγησαν τους συγκεκριμένους ερευνητές στο συμπέρασμα ότι στη φύση ενδεχομένως να υπάρξει παρέμβαση στις συζεύξεις του *Ae. aegypti*, παρουσία μεγάλων πληθυσμών του *Ae. albopictus*. Αντίστοιχα αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στις διειδικές συζεύξεις των *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus* της παρούσας εργασίας. Ωστόσο, οι Harper and Paulson (1994) αναφέρουν μικρά ποσοστά σύζευξης (4-11%) και μικρό αριθμό ωών μετά από διειδική διασταύρωση φυλών του *Ae. albopictus* και του *Ae. aegypti* από τη Φλόριντα.

Οι Nazni *et al.* (2009) μελέτησαν τη διειδική διασταύρωση φυλών του *Ae. albopictus* και *Ae. aegypti* από τη Μαλαισία σε εργαστηριακές συνθήκες τοποθετώντας αρσενικά από το ένα είδος με θηλυκά από το άλλο είδος εντός κλωβών για να συζευχθούν και να ωοτοκήσουν. Μετά από επτά ημέρες συνύπαρξης των κουνουπιών, καταγράφηκαν ωοτοκίες, οι οποίες όμως ήταν άγονες. Στις σπερματοθήκες των θηλυκών και των 2 διειδικών διασταυρώσεων καταγράφηκαν σπερματοζώαρια επιβεβαιώνοντας την ικανότητα διειδικών συζεύξεων των δύο συγγενών ειδών κουνουπιών, όπως και στην περίπτωση της παρούσας μελέτης με το *Ae. albopictus* και το *Ae. cretinus*.

Σε παρόμοιο πείραμα διασταύρωσης αρσενικών *Ae. albopictus* μιας φυλής από την Ινδία ή μιας άλλης φυλής από τη Χαβάη με θηλυκά κουνούπια από την ομάδα *Scutellaris* του γένους *Aedes* (που ανήκει και το *Ae. cretinus*), διαπιστώθηκε ότι θηλυκά των φυλών του *Ae. pseudoscutellaris* Theobald από τα νησιά Φίτζι και την Μπανγκόγκ δεν συζεύχθηκαν από τα αρσενικά του *Ae. albopictus* ενώ τα θηλυκά φυλών του *Ae. polynesiensis* Marks από τα νησιά Σαμόα, Ταϊτή και Τουαμότου συζεύχθηκαν από τα αρσενικά του *Ae. albopictus* σε ποσοστά που κυμαίνονται από 7-76% (Ali and Rozeboom 1971). Η συγκεκριμένη μελέτη δείχνει ότι η συγγένεια του *Ae. albopictus* με άλλα είδη της ομάδας *Scutellaris* δεν συνεπάγεται και την ικανότητα διειδικής σύζευξης.

Συμπεράσματα

Στη σχετική βιβλιογραφία που αναφέρεται στις διειδικές διασταυρώσεις κουνουπιών φαίνεται ότι το *Ae. albopictus* έχει ανταγωνιστικό πλεονέκτημα σε σχέση με το *Ae. aegypti* ή και άλλα είδη *Stegomyia*. Οι ασύμμετρες συζεύξεις που παρατηρήθηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη μεταξύ των ειδών *Ae. albopictus* και *Ae. cretinus*, υπέρ του *Ae. albopictus*, αποτελούν μια πρώτη εργαστηριακή ένδειξη για πιθανό αναπαραγωγικό ανταγωνισμό με παρέμβαση στις συζεύξεις που ευνοούν το *Ae. albopictus*. Οι οικολογικές προεκτάσεις αυτής της συμπεριφοράς είναι σημαντικές δεδομένου ότι η ενδεχόμενη παρέμβαση του ενός είδους στις επικείμενες συζεύξεις του άλλου είδους θα έχει σαν αποτέλεσμα μείωση της γονιμότητας που θα μπορούσε να οδηγήσει σε πιθανή μείωση του

πληθυσμού. Αυτές ωστόσο οι πιθανές αρνητικές επιπτώσεις στον πληθυσμό του *Ae. cretinus* θα είχαν σαν αποτέλεσμα να ευνοηθεί η πληθυσμιακή αύξηση του οικολογικά ομόλογου είδους *Ae. albopictus*, με το οποίο μοιράζεται κοινές βιοθέσεις γεγονός το οποίο απαιτείται να αξιολογηθεί.

Ωστόσο, απαιτείται περαιτέρω πειραματική προσπάθεια για τη διερεύνηση της επίδρασης των διειδικών συζεύξεων στη γονιμότητα των δύο ειδών και τη διαπίστωση της ύπαρξης αναπαραγωγικού ανταγωνισμού. Επίσης, κρίνεται σκόπιμη η μελέτη του φαινομένου των εργαστηριακών ενδείξεων υπεροχής του *Ae. albopictus* στις διειδικές διασταυρώσεις με το *Ae. cretinus* σε πραγματικές συνθήκες στη φύση με άγριους πληθυσμούς των συγκεκριμένων ειδών κουνουπιών.

4. Κεφάλαιο 4^ο – Αντιμετώπιση του *Aedes albopictus*

Στο παρόν κεφάλαιο μελετήθηκε η αντιμετώπιση του *Ae. albopictus* με δύο προσεγγίσεις: Την αντιμετώπιση των προνυμφών και των τελείων με τη χρήση αιθερίων ελαίων και την αντιμετώπιση των προνυμφών με εγκεκριμένα στη χώρα μας βιοκτόνα-εντομοκτόνα υγειονομικής σημασίας.

4.1 Αιθέρια έλαια

4.1.1 Εισαγωγή

4.1.1.1 Γενικά περί αιθερίων ελαίων

Τα φυτά που περιέχουν αιθέρια έλαια ονομάζονται αρωματικά ενώ πολλά από αυτά θεωρούνται και φαρμακευτικά. Τα αρωματικά φυτά, όπως υποδηλώνει και το όνομά τους, αναδίδουν στο περιβάλλον τους κάποιο ειδικό άρωμα, χαρακτηριστικό για κάθε είδος ή και για κάθε ποικιλία ενός φυτού. Την ιδιότητά τους αυτή την οφείλουν στην ύπαρξη ειδικών πτητικών χημικών ουσιών, που είναι γνωστές ως «αιθέρια έλαια», σε ορισμένα όργανα του φυτού (Σαρλής 1994).

Τα αιθέρια έλαια είναι οργανικές πτητικές χημικές ενώσεις σε υγρή μορφή και μικρότερο συνήθως ειδικό βάρος από το νερό, με ελαιώδη εμφάνιση και διαφορετική χημική σύσταση κάθε φορά. Δεδομένου ότι οι ενώσεις αυτές είναι ισχυρά πτητικές, τα μόριά τους εξατμίζονται εύκολα και διασκορπίζόμενα στον ατμοσφαιρικό αέρα έρχονται σε επαφή με τα όργανα όσφρησης, τα οποία και διεγείρουν. Προκαλούν έτσι, μία συνήθως ευχάριστη αίσθηση, χαρακτηριστική για κάθε είδος φυτού, που αντιστοιχεί στο χαρακτηριστικό για το κάθε είδος άρωμα (Σαρλής 1994).

Τα αιθέρια έλαια απαντώνται συνήθως σε ειδικούς αδένες (θύλακες), εσωτερικούς ή εξωτερικούς, που βρίσκονται στα φύλλα ή στα άνθη των αρωματικών φυτών. Πολλές φορές όμως βρίσκονται και σε άλλα όργανα όπως ρίζες, βλαστούς, καρπούς και σπέρματα. Βρίσκονται συνήθως σε μικρές ποσότητες μέσα στο φυτό που σπάνια υπερβαίνουν το 1%, συνήθως δε, κυμαίνονται γύρω στο 0,03 – 0,07%. Κάθε αρωματικό φυτό περιέχει ένα αιθέριο έλαιο, που αποτελείται από περισσότερες από μία χημικές ουσίες, κάθε μία από τις οποίες έχει ξεχωριστό άρωμα διάφορο των άλλων χημικών ουσιών. Το ειδικό, χαρακτηριστικό για το είδος του φυτού άρωμα, είναι η συνισταμένη όλων των επιμέρους

αρωματικών ενώσεων και της ειδικής τους αναλογίας στο τελικό αιθέριο έλαιο. Η αναλογία αυτή είναι χαρακτηριστική – μέσα σε ορισμένα όρια- για το είδος ή την ποικιλία του φυτού (Σαρλής 1994).

Υπάρχουν περίπου 17.500 αρωματικά είδη φυτών που ανήκουν σε περίπου 60 διαφορετικές οικογένειες φυτών, όπως οι οικογένειες Compositae, Labiatae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, κ.ά. Από τα φυτά αυτά έχουν απομονωθεί περίπου 3.000 αιθέρια έλαια, εκ των οποίων γύρω στα 300 έχουν ιδιαίτερη εμπορική σημασία για τη βιομηχανία της φαρμακευτικής, των καλλυντικών και της αρωματοποιίας, των απορρυπαντικών, των τροφίμων και ποτών (ως βελτιωτικά και συντηρητικά γεύσης και αρώματος) καθώς και της γεωργίας. Έτσι, πέραν της βιολογικής τους δράσης στον άνθρωπο και στα ζώα, τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν φυτοπροστατευτικές ιδιότητες εναντίον βακτηρίων, ιών, μυκήτων, ζιζανίων και εντόμων που προσβάλλουν τα φυτά αλλά και άλλες ιδιότητες όπως να προσελκύουν έντομα επικονιαστές των φυτών (Bakkali *et al.* 2008, Tripathi *et al.* 2009, Adorjan and Buchbauer 2010).

Βιοσύνθεση των αιθερίων 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 ίδιου είδους.

Γενικά τα συστατικά των αιθερίων ελαίων χωρίζονται σε δύο μεγάλες ομάδες:

A) Στα οξυγονούχα, που είναι και τα συστατικά στα οποία οφείλεται το χαρακτηριστικό άρωμα των αιθερίων ελαίων, τα οποία είναι τα εξής:

- Αλκοόλες, όπως η γερανιόλη, η μινθόλη, η ευκαλυπτόλη κ.α.
- Αλδευδες, όπως η βανιλίνη, 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 μινθόνη, η καμφορά κ.α.

B) Στα μη οξυγονούχα, στα οποία περιλαμβάνονται συστατικά των αιθερίων ελαίων, η συμβολή των οποίων στο άρωμά τους είναι μικρή ή μηδαμινή, τα οποία είναι τερπένια, όπως το λεμονένιο, το πινένιο, το καμφένιο κ.α.

Η βιοσύνθεση των αιθερίων ελαίων, πραγματοποιείται με μια σειρά διαφόρων χημικών αντιδράσεων που γίνονται μέσα στους φυτικούς ιστούς, μέχρι τον τελικό σχηματισμό τους. Επίσης, η διεργασία της βιοσύνθεσης των αιθερίων 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 ανάπτυξής του. Έτσι, συγκριτικές αναλύσεις αιθερίων ελαίων, στην αρχή και το τέλος της βλαστικής περιόδου έδειξαν μεγάλες διαφορές ως προς τη χημική τους σύσταση. Επίσης διαφορές παρατηρούνται και στο αιθέριο έλαιο νεαρών και ώριμων φύλλων του ίδιου φυτού (Kokkini *et al.* 2004).

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

Ο ρόλος των αιθερίων ελαίων στο φυτό

Σύμφωνα με τον Σαρλή (1994), από φυσιολογική άποψη, δεν έχει γίνει ακόμη δυνατό να δοθεί τελική, από όλους αποδεκτή, εξήγηση σχετικά με τη χρησιμότητα και το ρόλο που διαδραματίζουν μέσα στο φυτικό οργανισμό τα αιθέρια έλαια. Οι σπουδαιότερες από τις λειτουργίες που κατά καιρούς έχουν αποδοθεί στα αιθέρια έλαια από τους επιστήμονες είναι:

- Το αιθέριο έλαιο δρα αποθητικά και τοξικά για τα διάφορα έντομα-εχθρούς ή παθογόνα σε ορισμένα αρωματικά φυτά. Ασκεί, δηλαδή, προστατευτικό ρόλο έναντι των εντόμων-εχθρών και των ασθeneιών των φυτών.

- Προστατεύουν τα φυτά από υψηλές θερμοκρασίες, λόγω της εύκολης εξάτμισής τους.
- Το άρωμα των ανθέων προσελκύει διάφορα έντομα επικονιαστές, γεγονός που συμβάλλει στην καλύτερη γονιμοποίηση των σταυρογονιμοποιούμενων, 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.
 - 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.

Παραλαβή των αιθερίων ελαίων

Αρκετές μέθοδοι είναι σήμερα στη διάθεσή μας για την παραλαβή των αιθερίων ελαίων από τα αρωματικά φυτά σε βιομηχανικό επίπεδο. Η εκλογή της κατάλληλης μεθόδου, εξαρτάται κυρίως από το είδος και το τμήμα του φυτού, αλλά και από την περιεκτικότητά του σε αιθέριο έλαιο, την ποιότητα που θέλουμε να παράγουμε, τη χημική σύνθεση των συστατικών του αιθερίου ελαίου και από διάφορους άλλους παράγοντες που σχετίζονται με την οικονομικότητα της παραγωγής (Σαρλής 1994).

Οι μέθοδοι παραλαβής των αιθερίων ελαίων που χρησιμοποιούνται είναι οι εξής (Σαρλής 1994):

Απόσταξη

Είναι η πιο απλή και συνηθισμένη μέθοδος παραλαβής. Βασίζεται στη διαφορά των τάσεων των ατμών των συστατικών ενός διαλύματος. Η απόσταξη ανάλογα με τον τρόπο που γίνεται διακρίνεται σε:

Υδροαπόσταξη ή απόσταξη με νερό: Πρόκειται για απόσταξη με συνθέρμανση του φυτικού ιστού με νερό που σήμερα χρησιμοποιείται μόνο σε εργαστηριακό επίπεδο. 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.

Εκχύλιση

Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται για την παραλαβή των αιθερίων ελαίων κυρίως από άνθη ή άλλα φυτικά όργανα που είναι ευπαθή στην απόσταξη. Με την εκχύλιση παραλαμβάνονται τα πτητικά αλλά και τα μη πτητικά λιπόφιλα συστατικά του φυτού. Έτσι, παραλαμβάνεται όλο το αιθέριο έλαιο πλην όμως αυτό έχει συνήθως σκοτεινό χρώμα γιατί περιέχει και ποσότητες λιποδιαλυτών χρωστικών. Η εκχύλιση ανάλογα με το εκχυλιστικό μέσο που χρησιμοποιείται διακρίνεται σε:

Εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες: Είναι η πιο εύχρηστη μέθοδος εκχύλισης και χρησιμοποιείται για την παραλαβή των αιθερίων ελαίων από άνθη. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται ως πτητικός διαλύτης, πετρελαϊκός αιθέρας, βενζόλιο, 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 απορρόφηση σε λίπος: Το λίπος μπορεί να είναι ψυχρό ή θερμό. Είναι απλή μέθοδος και βασίζεται στην ιδιότητα που έχει το λίπος να απορροφά τις πτητικές ουσίες που έρχονται σε επαφή μαζί του. Είναι η αρχαιότερη μέθοδος που έχει χρησιμοποιηθεί για την παραλαβή αρωματικών ουσιών από τα φυτά. Σήμερα χρησιμοποιείται ελάχιστα.

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.

Μηχανική παραλαβή

Συνήθως γίνεται με συμπίεση του προς κατεργασία φυτικού υλικού. Εφαρμόζεται κυρίως για την παραλαβή αιθερίων ελαίων από ξηρούς καρπούς ή από τους φλοιούς εσπεριδοειδών.

Ποιοτικός έλεγχος και χημική ανάλυση της σύστασης των αιθερίων ελαίων

Μεγάλη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στην ποιότητα του αιθερίου ελαίου που χρησιμοποιείται. Σύμφωνα με τον Σαρλή (1994), όσον αφορά στην ποιότητα των αιθερίων ελαίων, αυτή εξαρτάται από διάφορες φυσικές σταθερές και κυρίως από τη χημική σύστασή τους. Για να γίνει πλήρης ανάλυση ενός αιθερίου ελαίου πρέπει να προσδιοριστούν τα εξής:

1. Φυσικές σταθερές. Οι σπουδαιότερες από αυτές είναι: α) το ειδικό βάρος, β) ο δείκτης διαθλάσεως, γ) η οπτική στροφική ικανότητα, δ) η διαλυτότητα και ε) το σημείο ζέσεως.

2. Χημική σύνθεση. Ο προσδιορισμός των συστατικών έχει μεγάλη σημασία γιατί από την παρουσία και την ποσότητά τους εξαρτάται κυρίως η ποιότητα των αιθερίων ελαίων. Παλαιότερα, ο προσδιορισμός αυτός γινόταν, όσο ήταν δυνατόν, με τα συνηθισμένα αντιδραστήρια αναλυτικής χημείας και κατέτασσαν τα συστατικά σε ομάδες (εστέρες, αλκοόλες). Οι αντιδράσεις αυτές απαιτούσαν μεγάλες ποσότητες αιθερίων 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) αιθερίου ελαίου. Ο ποσοτικός προσδιορισμός των περιεχόμενων 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 (κάθε φυσικό προϊόν που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως φάρμακο ή ως πηγή φαρμάκου, ρίζα της αγγλικής λέξης «drug») με σύνθετη χημική σύσταση ελέγχονται με βιολογικές μεθόδους, όπως οι RIA (Radio Immuno Assay) και ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) (McMurry 2008).

4.1.1.2 Η χρήση των αιθερίων ελαίων και των συστατικών τους στην αντιμετώπιση των εντόμων και ειδικότερα των κουνουπιών

Σχετικά με την αντιμετώπιση των κουνουπιών, η αποτελεσματικότερη μέθοδος αντιμετώπισης βασίζεται στην καταπολέμηση των προνυμφών στις εστίες ανάπτυξης, δεδομένου ότι οι εφαρμογές εναντίον των τελείων μειώνουν τους πληθυσμούς των κουνουπιών μόνο προσωρινά (Lim *et al.* 2011). Αν και η εφαρμογή συνθετικών προνυμφοκτόνων (βιοκτόνων) είναι αποτελεσματική για την αντιμετώπιση των κουνουπιών, η εντατική τους χρήση έχει δημιουργήσει μεγάλες ανησυχίες και προβλήματα που αφορούν στις συνέπειες στην ανθρώπινη υγεία, τις περιβαλλοντικές επιπτώσεις καθώς και την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στους πληθυσμούς των κουνουπιών (Isman 2000, Hemingway *et al.* 2002, Khan *et al.* 2011). Εκτός από την προνυμφοκτονία, τα μέτρα ατομικής προστασίας εναντίον των νυγμάτων των κουνουπιών, συμπεριλαμβανομένης της χρήσης απωθητικών ουσιών, χρησιμοποιούνται ευρύτατα από το κοινό για την μείωση της όχλησης από τα κουνούπια αλλά και την προστασία από ασθένειες που μεταδίδονται από αυτά (Fradin and Day 2002). Το N,N-diethyl-3-methylbenzamide (Deet), που ανακαλύφθηκε το 1953, θεωρείται ακόμη και σήμερα ως μία από τις αποτελεσματικότερες συνθετικές απωθητικές ουσίες εναντίον των κουνουπιών και συνεχίζει να αποκαλείται ως η «χρυσή πρότυπη» (“gold standard”) συνθετική εντομο-απωθητική ουσία μεταξύ των κυκλοφορούντων στην αγορά (Fradin 1998). Ωστόσο, στη βιβλιογραφία έχουν αναφερθεί περιπτώσεις πρόκλησης τοξικότητας του Deet κυρίως σε μικρά παιδιά και ηλικιωμένους (Clem *et al.* 1993, Qiu *et al.* 1998, Sudakin and Trevathan 2003), αυξάνοντας την απαίτηση των καταναλωτών στις μέρες μας για εναλλακτικές εντομο-απωθητικές ουσίες φυσικής προέλευσης (natural products).

Συνεπώς, εξαιτίας των προβλημάτων που έχουν δημιουργήσει τα συνθετικά εντομοκτόνα, τα φυσικής προέλευσης βιοκτόνα (εντομοκτόνα ή εντομοαπωθητικά υγειονομικής σημασίας) αποτελούν ένα ελπιδοφόρο και πολύτιμο «όπλο» στη φαρέτρα των μεθόδων που διαθέτουμε για την ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των εντόμων και ειδικότερα των κουνουπιών. Τα αιθέρια έλαια που απομονώνονται από τα φυτά και τα συστατικά τους, κυρίως τα μονο-τερπένια, θεωρείται ότι έχουν χαμηλό οικο-τοξικολογικό προφίλ για το περιβάλλον και χαμηλό τοξικολογικό προφίλ για τον άνθρωπο και τα θηλαστικά και ως εκ τούτου μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικά εντομοκτόνα φυσικής προέλευσης (Isman 2000). Παρά το ότι η δράση των αιθερίων 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.

Τα αιθέρια έλαια εμφανίζουν βιολογική δράση σε ένα ευρύ φάσμα εντόμων-εχθρών και μπορεί να δρουν στα έντομα: ως υποκαπνιστικά (fumigants) με τους ατμούς τους, ως εντομοκτόνα επαφής (contact insecticides), ως απωθητικά (repellents), ως ανασχετικά λήψης τροφής από τα έντομα (antifeedants), ως ρυθμιστές ανάπτυξης (IGR's) παρεμποδίζοντας την ανάπτυξη σε διάφορα στάδια του βιολογικού κύκλου του εντόμου, ως παρεμποδιστές της αναπαραγωγής-ωοτοκίας και επηρεάζοντας τη συμπεριφορά των εντόμων (Isman 2000, Papachristos and Stamopoulos 2002, Papachristos *et al.* 2004, Isman 2006, Kumar *et al.* 2011a, Regnault-Roger *et al.* 2012). Ο μηχανισμός της εντομοκτόνου δράσης των αιθερίων ελαίων παραμένει σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστος. Λαμβάνοντας υπόψη την ακολουθία των συμπτωμάτων που εμφανίζουν τα έντομα από τη στιγμή της επίδρασης κάποιου αιθερίου ελαίου μέχρι τη θανάτωσή τους, διάφοροι ερευνητές συγκλίνουν στην άποψη ότι έχουν κυρίως νευροτοξική δράση (Harwood *et al.* 1990, Papachristos and Stamopoulos 2002, 2004, Isman *et al.* 2008). Παρόλο που η έρευνα στο θέμα αυτό συνεχίζεται, 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). Στη χώρα μας μάλιστα έχουν άδεια έγκρισης κυκλοφορίας ως εντομοαπωθητικά κουνουπιών σκευάσματα που περιέχουν ως δραστικές ουσίες τα citriodiol (περιέχει 64% ρακεμικό μίγμα (+/-) *p*-Menthane-3,8-diol, το οποίο είναι συστατικό του αιθερίου ελαίου του φυτού *Eucalyptus citriodora*) και geraniol [μονοτερπένιο – αλκοόλη- που απαντάται στα αιθέρια έλαια της τριανταφυλλιάς, της σιτρονέλλας (είδη του γένους *Cymbopogon* – lemongrass), του γερανίου, του λεμονιού και άλλων φυτών].

Οι Boulogne *et al.* (2012) πραγματοποίησαν μια ενδελεχή ανασκόπηση (review) σε 1965 επιστημονικές βιβλιογραφικές αναφορές (papers) που χρονολογούνται από το 1923 έως και το 2010 και που αφορούν μυκητοκτόνες και εντομοκτόνες χημικές ουσίες που απομονώνονται από τα φυτά, χρησιμοποιώντας επιστημονικές βάσεις δεδομένων όπως τις Sciencedirect, Springerlink και Wiley, αλλά και άλλες χημικές (Amicbase 2010, Duke 2010) και βοτανικές (Tropicos 2010) επιστημονικές βάσεις δεδομένων ή και βιβλία. Η συγκεκριμένη ανασκόπηση έδειξε ότι έως τώρα έχουν αναφερθεί 656 είδη φυτών, παγκοσμίως, με σημαντικές εντομοκτόνες ιδιότητες, τα οποία ανήκουν σε 110 διαφορετικές οικογένειες. Επιπλέον, στη σχετική ογκώδη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί ότι 119 χημικές ουσίες φυτικής προέλευσης εμφανίζουν εντομοκτόνο δράση. Αυτές οι χημικές ουσίες κατηγοριοποιήθηκαν στους παρακάτω 11 τύπους: πολυακετυλένια, ανόργανα οξέα,

αρωματικοί υδρογονάνθρακες, αμίδια, πρωτεΐνες, αλδεΐδες, θειούχες ενώσεις, λιπίδια, φαινολικές ενώσεις, αλκαλοειδή και τερπενοειδή. Μεταξύ αυτών, 3 τύποι χημικών ουσιών εμφάνισαν ισχυρή εντομοκτόνο δράση: τα τερπενοειδή με 43 χημικές ουσίες (37% επί του συνόλου των ουσιών), τα αλκαλοειδή με 38 χημικές ουσίες (30% επί του συνόλου των ουσιών) και οι φαινολικές ουσίες με 21 χημικές ουσίες (20% επί του συνόλου των ουσιών).

Ειδικότερα, η δράση των αιθερίων ελαίων ως προνυμφοκτόνα ή ως απωθητικά των κουνουπιών έχει μελετηθεί εκτενώς από πολλούς συγγραφείς με ελπιδοφόρα αποτελέσματα για την αντιμετώπιση των κουνουπιών με φυσικής προέλευσης προϊόντα (Sukumar *et al.* 1991, Trabousli *et al.* 2002, Yang *et al.* 2002, Jeyabalan *et al.* 2003, Shaalan *et al.* 2005, Adorjan and Buchbauer 2010, Conti *et al.* 2010, Nerio *et al.* 2010, Maia and Moore 2011, Pohlit *et al.* 2011, Zahran and Abdelgaleil 2011, Evergetis *et al.* 2012, Regnault-Roger *et al.* 2012).

4.1.1.3 Αιθέρια έλαια φυτών του γένους *Citrus* και η βιολογική τους δράση στα κουνούπια

Τα εσπεριδοειδή περιλαμβάνουν είδη φυτών του γένους *Citrus*, οι καρποί των οποίων καταναλώνονται ευρύτατα παγκοσμίως, ενώ τα συστατικά τους χρησιμοποιούνται και ως βελτιωτικά γεύσης σε ποικιλία τροφών. Τα παρα-προϊόντα της βιομηχανικής επεξεργασίας καρπών εσπεριδοειδών αποτελούν πηγή πολύτιμων συστατικών όπως αιθερίων ελαίων, τα οποία θα μπορούσαν εύκολα να απομονωθούν με απόσταξη ή υψηλή πίεση των φλοιών των καρπών που συγκεντρώνονται σε μεγάλες ποσότητες (Hardin *et al.* 2010). Τα αιθέρια έλαια ή εκχυλίσματα διαφόρων τμημάτων φυτών του γένους *Citrus* καθώς επίσης και τα συστατικά τους έχουν μελετηθεί εκτενώς για την τοξική τους δράση εναντίον προνυμφών διαφόρων ειδών κουνουπιών όπως τα *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. pipiens*, *Ae. aegypti* και *An. stephensi* (Sujatha *et al.* 1988, Kassir *et al.* 1989, Mwaiko and Savaeli 1994, Dakhil and Morsy 1999, Amer and Mehlhorn 2006a, Lee 2006, Melliou *et al.* 2009, Michaelakis *et al.* 2009, Warikoo *et al.* 2012). Οι Phasomkusolsil and Soonwera (2010) μελέτησαν την προστασία που παρείχαν αιθέρια έλαια του *C. sinensis* από τσιμπήματα κουνουπιών των ειδών *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* και *An. minimus*. Αντίστοιχα, οι Oshaghi *et al.* (2003) αξιολόγησαν την απωθητική δράση αιθερίων ελαίων του *C. limon* εναντίον τελείων του *An. stephensi* τόσο σε ζώα όσο και σε ανθρώπους, υπό εργαστηριακές συνθήκες.

Ωστόσο, η δράση αιθερίων ελαίων ή εκχυλισμάτων από τα φυτά *C. sinensis*, *C. limon* και *C. paradisi* εναντίον προνυμφών του *Ae. albopictus* έχει αναφερθεί σε λίγες μελέτες διεθνώς (Morales-Saldaña *et al.* 2007, Akram *et al.* 2010, Din *et al.* 2011, Hafeez *et al.* 2011). Επιπλέον, παρά τη μεγάλη ανάγκη των ανθρώπων για χρήση εντομοαπωθητικών

ουσιών φυσικής προέλευσης για την προστασία από τα κουνούπια, η γνώση περί της απωθητικής δράσης αιθερίων ελαίων των συγκεκριμένων ειδών φυτών εναντίον τελείων του «Ασιατικού κουνουπιού τίγρης» είναι πολύ περιορισμένη. Στη βιβλιογραφία έχει αναφερθεί μόνο η μελέτη απωθητικότητας αιθερίου ελαίου από φύλλα πορτοκαλιάς, χωρίς να προσδιορίζεται η χημική του σύσταση, μετά από εφαρμογή σε ποντίκια (Yang and Ma 2005).

4.1.1.4 Αιθέρια έλαια φυτών της οικογένειας Cupressaceae και η βιολογική τους δράση στα κουνούπια

Σύμφωνα με την εγκυκλοπαίδεια βοτανικής Flora Europaea, στην Ευρώπη η οικογένεια Cupressaceae αντιπροσωπεύεται από τα παρακάτω πέντε γένη (genera) κυπαρισσοειδών φυτών: *Cupressus*, *Chamaecyparis*, *Thuja*, *Tetraclinis* και *Juniperus*. Στην οικογένεια Cupressaceae ανήκουν μόνοικα ή δίοικα είδη δένδρων ή θάμνων, που παράγουν ρητίνη (Moore 1993). Είδη φυτών της οικογένειας Cupressaceae αναφέρεται ότι έχουν πολλές φαρμακευτικές ιδιότητες για τον άνθρωπο και χρησιμοποιούνται σε μεγάλο βαθμό στη λαϊκή ιατρική (folk medicine) (Adorjan and Buchbauer 2010). Πιο συγκεκριμένα, αναφέρεται η χρήση του *Cupressus sempervirens* στην αντιμετώπιση του κοινού κρυολογήματος και του βήχα. Σκευάσματα από το είδος *C. arizonica* αναφέρεται ότι έχουν αιμοστατικές ιδιότητες και τονωτικές για το δέρμα, ενώ χρησιμοποιούνται για την θεραπεία σπασμένων αιμοφόρων αγγείων και κισμών. Διάφορα μέρη του φυτού *Tetraclinis articulata* αναφέρεται ότι χρησιμοποιούνται στην παραδοσιακή ιατρική και κτηνιατρική για τη θεραπεία εντερικών, αναπνευστικών και δερματικών προβλημάτων. Η χρήση σκευασμάτων αποξηραμένων καρπών ή αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Juniperus* ανακουφίζουν από τη δυσπεψία, ενώ τα φυτά αυτά έχουν διουρητικές, αντισηπτικές και αντιρευματικές ιδιότητες (Newall *et al.* 1996).

Μια ενδιαφέρουσα χρήση του ξύλου των δένδρων του γένους *Juniperus*, έχει περιγραφεί από τον ιστορικό Ηρόδοτο, ο οποίος αναφέρει τη χρήση της ρητίνης από τα δένδρα αυτά για τη συντήρηση ανθρώπινων ιστών (μούμιες), στην αρχαία Αίγυπτο (Abdel-Maksouda and El-Amin 2011). Αυτή η χρήση αναφέρεται επίσης από τον θεμελιωτή της φαρμακολογίας Διοσκουρίδη (40-90 μ.Χ.), ο οποίος ονόμασε τα φυτά του γένους *Juniperus* ως «η ζωή των νεκρών». Πολύ αργότερα, μετά από σειρά βιολογικών πειραμάτων επιβεβαιώθηκε η εντομοαπωθητική, αντι-μυκητιακή και αντι-βακτηριακή δράση των φυτών αυτών (Karaman *et al.* 2003).

Πέραν από τις φαρμακευτικές τους ιδιότητες τα φυτά της οικογένειας Cupressaceae αποτελούν μια σημαντική πηγή αιθερίων ελαίων με βιολογική δράση και στα έντομα

(Adorjan and Buchbauer 2010). Αιθέρια έλαια φυτών της οικογένειας αυτής και κυρίως εκείνων που ανήκουν στα γένη *Juniperus* και *Cupressus*, αναφέρεται ότι έχουν προνυμοκτόνο και απωθητική δράση εναντίον των τελείων διαφόρων ειδών κουνουπιών όπως *Cx. pipiens*, *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. aegypti* και *An. stephensi* (Barnard 1999, Prajapati *et al.* 2005, Trongtokit *et al.* 2005, Amer and Mehlhorn 2006a, 2006c, 2006b, Lee 2006, Carroll *et al.* 2011, Sedaghat *et al.* 2011, Vourlioti-Arapi *et al.* 2012). Ωστόσο, δεν έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία η προνυμοκτόνος ή απωθητική δράση στα τέλεια, αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Cupressaceae εναντίον του *Ae. albopictus*.

4.1.1.5 Αιθέρια έλαια φυτών της οικογένειας Lamiaceae και η βιολογική τους δράση στα κουνούπια

Η οικογένεια Lamiaceae (Labiatae) είναι μία από τις μεγαλύτερες και πιο χαρακτηριστικές οικογένειες ανθοκομικών-αρωματικών φυτών με περίπου 220 γένη και σχεδόν 4.000 είδη παγκοσμίως. Τα φυτά της οικογένειας αυτής έχουν σχεδόν κοσμοπολίτικη διασπορά, ενώ ορισμένα γένη της (*Nepeta*, *Phlomis*, *Eremostachys*, *Salvia* και *Lagochilus*) εμφανίζουν μεγάλη βιοποικιλότητα στη λεκάνη της Μεσογείου και σε χώρες της Κεντρικής και Νοτιοδυτικής Ασίας. Τα φυτά της οικογένειας Lamiaceae είναι γνωστά για τα αιθέρια έλαιά τους τα οποία είναι κοινά σε πολλά φυτικά είδη της. Τα φυτά αυτά έχουν χρησιμοποιηθεί από τον άνθρωπο από τους προϊστορικούς χρόνους, ενώ αρχαιολογικές ανασκαφές έχουν δείξει ότι είδη φυτών Lamiaceae που σήμερα θεωρούνται αυτοφυή, στο παρελθόν καλλιεργούνταν από τον άνθρωπο σε μικρή κλίμακα (Naghibi *et al.* 2005, Hatamneia *et al.* 2008).

Τα φυτά της οικογένειας Lamiaceae περιέχουν μια ποικιλία χημικών ουσιών όπως τερπενοειδών, ιριδοειδών, φαινολικών και φλαβονοειδών ουσιών. Ορισμένα από τα τερπενοειδή που περιέχονται στα αιθέρια έλαιά τους είναι υπεύθυνα για τη χαρακτηριστική οσμή και γεύση των φυτών αυτών (Naghibi *et al.* 2005).

Όσον αφορά στις χρήσεις των φυτών της οικογένειας Lamiaceae, σύμφωνα με τους Naghibi *et al.* (2005), αυτές θα μπορούσαν να ομαδοποιηθούν σε 3 βασικές κατηγορίες: α) στις φαρμακευτικές, β) στις καλλωπιστικές και γ) στις αρωματικές με τις οποίες τα φυτά αυτά χρησιμοποιούνται στη διατροφή του ανθρώπου ως καρυκεύματα στη μαγειρική ή ως βρώσιμα λαχανικά καθώς και στη βιομηχανία των καλλυντικών.

Ειδικότερα, όσον αφορά τις φαρμακευτικές ιδιότητες, είδη φυτών της οικογένειας Lamiaceae χρησιμοποιούνται κυρίως για ασθένειες του πεπτικού συστήματος όπως φουσκώματα και δυσπεψία, καθώς και για δερματικές παθήσεις ή ως αναλγητικά και αντιφλεγμονώδη. Σχετικά με τις αρωματικές τους ιδιότητες, είδη των γενών *Mentha*,

Thymus, *Lavandula*, *Ocimum*, *Origanum*, *Melissa* και *Satureja* χρησιμοποιούνται στη διατροφή ως λαχανικά ή ως καρυκεύματα στα φαγητά. Τα *Mentha spicata* (Δυόσμος) και *Mentha piperita* (Μέντα), χρησιμοποιούνται τόσο ως καρυκεύματα στη μαγειρική και ζαχαροπλαστική, όσο και ως συστατικά στις οδοντόκρεμες και τις τσίχλες. Τα γένη *Ocimum*, *Origanum* και *Melissa* καλλιεργούνται ως λαχανικά, ενώ είδη του γένους *Thymus* χρησιμοποιούνται ως μπαχαρικά ή ως ρόφημα. Είδη του γένους *Lavandula*, που περιέχουν αρωματικές τερπενοειδείς ουσίες, χρησιμοποιούνται επίσης στη μαγειρική και την αρωματοποιία. Επιπλέον, πολλά γένη της συγκεκριμένης οικογένειας όπως *Lavandula*, *Mentha*, *Molucella*, *Nepeta*, *Perovscia*, *Stachys*, *Teucrium*, *Salvia* και *Thymus* καλλιεργούνται ως καλλωπιστικά. Είδη των γενών *Stachys*, *Salvia* και *Thymus* χρησιμοποιούνται σε βραχόκηπους ενώ τα είδη *Lavandula spp.* και *Rosmarinus officinalis* φυτεύονται ως καλλωπιστικά φυτά σε πάρκα.

Σύμφωνα με τη βιβλιογραφική ανασκόπηση των Boulogne *et al.* (2012) σε 1965 αναφορές που χρονολογούνται από το 1923 έως το 2010, 656 είδη φυτών παγκοσμίως που ανήκουν σε 110 οικογένειες έχουν αναφερθεί ότι εμφανίζουν σημαντικές εντομοκτόνες ιδιότητες. Η οικογένεια Lamiaceae είναι εκείνη με τις περισσότερες αναφορές μεταξύ των οικογενειών αυτών, καταλαμβάνοντας το 28% του συνόλου των βιβλιογραφικών αναφορών. Η οικογένεια Lamiaceae περιλαμβάνει 181 είδη με εντομοκτόνες ιδιότητες που ανήκουν σε 48 γένη, με τις περισσότερες βιβλιογραφικές αναφορές για εντομοκτόνο δράση να αφορούν στα παρακάτω 9 γένη: *Pycnanthemum*, *Teucrium*, *Thymus*, *Satureja*, *Micromeria*, *Origanum*, *Mentha*, *Monarda* και *Ocimum*.

Εκτός από τις φαρμακευτικές, αρωματικές και άλλες ιδιότητες, φυτά της οικογένειας Lamiaceae αποτελούν μια σημαντική πηγή αιθερίων ελαίων με βιολογική δράση, τοξική ή/και απωθητική, στα έντομα και ειδικότερα στα κουνούπια (Adorjan and Buchbauer 2010, Nerio *et al.* 2010, Maia and Moore 2011). Αιθέρια έλαια ειδών φυτών της οικογένειας αυτής όπως των γενών *Thymus*, *Ocimum*, *Origanum*, *Mentha*, *Salvia*, *Melissa*, *Satureja*, *Rosmarinus* και *Lavandula* αναφέρεται ότι έχουν προνυμφοκτόνο ή/και απωθητική δράση εναντίον των τελείων διαφόρων ειδών κουνουπιών όπως *Cx. pipiens*, *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. aegypti*, *Oc. caspius*, *An. stephensi*, *An. annularis*, *An. culicifacies*, *An. gambiae*, *An. braziliensis*, *An. minimus* και *An. dirus* (Sukumar *et al.* 1991, Tawatsin *et al.* 2001, Choi *et al.* 2002, Trabousli *et al.* 2002, Oshaghi *et al.* 2003, Cavalcanti *et al.* 2004, Amer and Mehlhorn 2006a, Cetin and Yanikoglu 2006, Tawatsin *et al.* 2006, Zhu *et al.* 2006, Anees 2008, Gbolade and Lockwood 2008, Drapeau *et al.* 2009, Pavela 2009, Pavela *et al.* 2009, Ανδρεάδης *et al.* 2009, Koliopoulos *et al.* 2010, Nerio *et al.* 2010, Phasomkusolsil and Soonwera 2010, Kalaivani *et al.* 2011, Kumar *et al.* 2011b, Maia and Moore 2011,

Michaelakis *et al.* 2011, Pitarokili *et al.* 2011a, Rajamma *et al.* 2011, Sritabutra *et al.* 2011, Govindarajan *et al.* 2012, Koc *et al.* 2012).

Αντίστοιχα, εναντίον του *Ae. albopictus* έχει μελετηθεί τόσο η προνυμφοκτόνος δράση αιθερίων ελαίων των φυτών *Lavandula angustifolia*, *Rosmarinus officinalis* (Conti *et al.* 2010), *Hyptis suaveolens* (Conti *et al.* 2012a) και *Salvia* spp. (Mathew and Thoppil 2011), όσο και η απωθητική δράση αιθερίων ελαίων των φυτών *Thymus vulgaris* (Zhu *et al.* 2006), *Salvia* spp. (Conti *et al.* 2012b), *Hyptis suaveolens* (Conti *et al.* 2012a), *Ocimum sanctum* (Tawatsin *et al.* 2006), *Mentha piperita* και *Mentha spicata* (Yang and Ma 2005).

Όπως φαίνεται από τη σχετική βιβλιογραφία, η βιολογική δράση των αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Lamiales, εναντίον διαφόρων ειδών κουνουπιών, έχει απασχολήσει αρκετούς ερευνητές στο παρελθόν. Εντούτοις, στοιχεία που να αφορούν την προνυμφοκτόνο και απωθητική δράση αιθερίων ελαίων των φυτών Lamiales εναντίον του *Ae. albopictus*, ενός κουνουπιού με μεγάλη οικολογική και υγειονομική σημασία, είναι μάλλον περιορισμένα.

4.1.2 Σκοπός της μελέτης

Στο παρόν κεφάλαιο, όσον αφορά τα αιθέρια έλαια, μελετήθηκε η προνυμφοκτόνος δράση αιθερίων ελαίων της πορτοκαλιάς (*Citrus sinensis* L.), της λεμονιάς (*C. limon* L.) και του γκρέιπφρουτ (*C. paradisi* Macfadyen), καθώς επίσης και των συστατικών τους [τα ισομερή *R*-(+) και *S*-(-) του λεμονενίου, το γ -τερπινένιο, η κιτράλη και τα 4 εναντιομερή α και β (-/+ των πιπενίων] εναντίον του *Ae. albopictus*. Μελετήθηκε, επίσης, η επίδραση της εφαρμογής των LC₅₀ δόσεων, των τριών αιθερίων ελαίων και του συστατικού *R*-(+)-λεμονενίου, στην επιβίωση των προνυμφών, των νυμφών και των τελείων του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού. Επιπρόσθετα, έγινε συγκριτική μελέτη αξιολόγησης της απωθητικής δράσης δύο εκ των αιθερίων ελαίων (*C. sinensis* και *C. limon*) και των συστατικών τους [*R*-(+)-λεμονένιο, *S*-(-)-λεμονένιο, α -(+)-πινένιο, α -(-)-πινένιο, β -(+)-πινένιο, β -(-)-πινένιο, κιτράλη και γ -τερπινένιο], εναντίον τελείων του *Ae. albopictus*.

Επιπλέον, μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών και η απωθητική δράση εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus*, αιθερίων ελαίων από οκτώ (8) είδη φυτών που ανήκουν στην οικογένεια Cupressaceae, και συγκεκριμένα των *Cupressus arizonica* Greene, *C. benthamii* Endl., *C. macrocarpa* Hartw. ex Gordon, *C. sempervirens* L., *C. torulosa* D. Don, *Chamaecyparis lawsoniana* (A. Murray) Parl., *Juniperus phoenicea* L. και *Tetraclinis articulata* Mast.

Επιπρόσθετα, μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών και η απωθητική δράση εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus*, αιθερίων ελαίων από τα παρακάτω δεκατέσσερα (14) είδη φυτών που ανήκουν στην οικογένεια Lamiaceae: *Mentha piperita* L. (Μέντα), *Mentha spicata* L. I (Δυόσμος ήμερος), *Mentha spicata* L. II (Δυόσμος άγριος), *Mentha pulegium* L. I (Φλισκούνη Καρδίτσας), *Mentha pulegium* L. II (Φλισκούνη Ορεστιάδας), *Rosmarinus officinalis* L. (Δενδρολίβανο), *Mellisa officinalis* L. (Μελισσόχορτο), *Satureja thymbra* L. (Θρούμπι), *Lavandula angustifolia* Mill. (Λεβάντα), *Ocimum basilicum* L. (Βασιλικός), *Origanum dictamnus* L. (Δίκταμο), *Origanum majorana* L. (Μαντζουράνα), *Origanum vulgare* L. (Ρίγανη) και *Thymus vulgaris* L. (Θυμάρι), καθώς και των κύριων (πιο άφθονων) χημικών συστατικών τους (τερπενίων), τα οποία συνιστούν και τον χημειότυπό τους.

Επίσης, προκειμένου να διερευνηθεί η βιολογική δράση των συγκεκριμένων αιθερίων ελαίων, πραγματοποιήθηκε ανάλυση της χημικής τους σύστασης με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC-MS). Για τον προσδιορισμό της αναλογίας των εναντιομερών μορφών των κυρίαρχων συστατικών, λεμονενίου και α - και β -πινενίων, των αιθερίων ελαίων του γένους *Citrus* εφαρμόστηκε χειρόμορφη αέρια χρωματογραφία, ώστε να μελετηθεί η σχέση της αποτελεσματικότητας των αιθερίων ελαίων και της εναντιομέρειας των συστατικών τους.

Σημειώνεται ότι, για πρώτη φορά στην Ελλάδα, μελετήθηκε η βιολογική δράση αιθερίων ελαίων, τα οποία απομονώθηκαν με συγκεκριμένη μέθοδο από συγκεκριμένα τμήματα των φυτών και είχαν συγκεκριμένη σύσταση που προσδιορίστηκε με χημική ανάλυση, εναντίον του *Ae. albopictus*. Για την αξιολόγηση της βιολογικής δράσης των αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και της οικογένειας Lamiaceae, πραγματοποιήθηκε, παράλληλα, μελέτη της βιολογικής δράσης των κυριοτέρων συστατικών τους με τα ίδια υλικά και μεθόδους. Επιπλέον, στα αιθέρια έλαια του γένους *Citrus* μελετήθηκε για πρώτη φορά η σχέση της αποτελεσματικότητας των αιθερίων ελαίων και της εναντιομέρειας των συστατικών τους.

Επισημαίνεται, ότι στην παρούσα μελέτη, για πρώτη φορά, έγινε συγκριτική μελέτη της προνυμφοκτόνου δράσης των LC_{50} δόσεων και της απωθητικότητας αιθερίων ελαίων των τριών φυτών του γένους *Citrus*, καθώς και της προνυμφοκτόνου και απωθητικής δράσης αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Cupressaceae, εναντίον του *Ae. albopictus*. Επιπλέον, μελετήθηκε για πρώτη φορά η προνυμφοκτόνος δράση αιθερίων ελαίων των φυτών *M. piperita*, *M. spicata*, *M. pulegium*, *M. officinalis*, *S. thymbra*, *O. basilicum*, *O. dictamnus*, *O. majorana*, *O. vulgare* και *T. vulgaris*, καθώς και η απωθητική δράση των

αιθερίων ελαίων των φυτών *M. pulegium*, *R. officinalis*, *M. officinalis*, *S. thymbra*, *L. angustifolia*, *O. basilicum*, *O. dictamnus*, *O. majorana* και *Origanum vulgare* της οικογένειας Lamiaceae, εναντίον του *Ae. albopictus*.

Στην παρούσα μελέτη, εφαρμόστηκε ένα πρωτότυπο πρωτόκολλο αξιολόγησης της αποθητικότητας εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus*.

4.1.3 Υλικά και Μέθοδοι

4.1.3.1 Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και των συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και αποθητική δράση στα τέλεια του *Ae. albopictus*

Η απομόνωση των αιθερίων ελαίων καθώς και η χημική ανάλυσή τους έγινε με τη βοήθεια αέριας χρωματογραφίας και φασματομετρίας μάζας (GC-MS) στο Εργαστήριο Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών από την ερευνητική ομάδα του Καθ. Μόσχου Πολυσίου και του Επίκ. Καθ. του τμήματος Αγροτικής Ανάπτυξης στο Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης Αθανάσιο Κυμπάρη.

4.1.3.1.1 Φυτικό υλικό

Για τις ανάγκες των βιοδοκιμών της παρούσας εργασίας, συλλέχθηκαν καρποί πορτοκαλιάς (*Citrus sinensis* L.) και λεμονιάς (*Citrus limon* L.) από την περιοχή της Άρτας νωρίς την άνοιξη του 2011, ενώ κατά την ίδια περίοδο συλλέχθηκαν και καρποί γκρέιπφρουτ (*Citrus paradisi* Macfadyen) από τα Χανιά της Κρήτης (Εικόνα 50). Οι καρποί συλλέχθηκαν από οπωρώνες στους οποίους δεν είχε πραγματοποιηθεί καμία επέμβαση με φυτοπροστατευτικά προϊόντα.



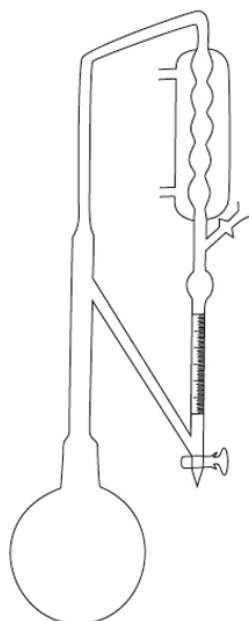
Εικόνα 50. Καρποί πορτοκαλιάς, λεμονιάς και γκρέιπφρουτ (από αριστερά προς τα δεξιά)

4.1.3.1.2 Χημικά / συστατικά

Οι χημικές ουσίες (συστατικά των αιθερίων ελαίων) που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Sigma-Aldrich (Steinheim, Γερμανίας) και είχαν καθαρότητα > 97%. Τα εναντιομερή (+)- α -πινένιο (97%) και (-)- α -πινένιο (99%), (+)- β -πινένιο (98.5%) και (-)- β -πινένιο (99%), *R*-(+)-λεμονένιο (96%) και *S*-(-)-λεμονένιο (95%) προμηθεύτηκαν από την εταιρεία Fluka (Steinheim, Γερμανίας). Τέλος το *N,N*-Diethyl-meta-toluamide (Deet) παραχωρήθηκε από την εταιρεία Bayer CropScience.

4.1.3.1.3 Απομόνωση των αιθερίων ελαίων

Η απομόνωση των αιθερίων ελαίων από τους καρπούς των παραπάνω φυτών έγινε με τη μέθοδο της υδροαπόσταξης. Αρχικά, οι νωποί καρποί πλύθηκαν επιμελώς με νερό βρύσης και αφέθηκαν να στεγνώσουν σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια, αφαιρέθηκε η περιοχή του φλοιού από 20-30 καρπούς και τεμαχίστηκε σε μικρά κομμάτια. Τα τεμαχισμένα κομμάτια φλοιού οδηγήθηκαν για υδροαπόσταξη σε συσκευή Clevenger (Winzer) για περίπου 3 ώρες στους 100°C, παρουσία 3 λίτρων νερού (**Εικόνα 51**). Τα αιθέρια έλαια που παρελήφθησαν, αφυδατώθηκαν με τη βοήθεια άνυδρου θειικού νατρίου και διατηρήθηκαν σε καταψύκτη στους -22°C μέχρι να πραγματοποιηθεί η χημική τους ανάλυση και να δοκιμαστεί η βιολογική τους δράση.



Εικόνα 51. Συσκευή Clevenger για υδροαπόσταξη (απόσταξη με νερό).

4.1.3.1.4 Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων

Η ανάλυση της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μάζας (GC/GC-MS) (Gas Chromatography/ Gas Chromatography-Mass spectrometry analysis), όπως περιγράφεται αναλυτικά από τους Giatropoulos *et al.* (2012d). Ειδικότερα, για τις ουσίες λεμονένιο και α - και β -πινένιο χρησιμοποιήθηκε χειρόμορφη στήλη προκειμένου να ληφθεί λεπτομερής ανάλυση της αναλογίας των ισομερών τους (Giatropoulos *et al.* 2012d).

Η σύγκριση των αποτελεσμάτων της χημικής ανάλυσης έγινε με τη βοήθεια βάσεων δεδομένων για φάσματα μάζας, τη χρήση φυσικών προϊόντων (όπου ήταν διαθέσιμα) αλλά και με τη βοήθεια βιβλιογραφίας (Adams 2007)

4.1.3.1.5 Τοξική δράση εναντίων των προνυμφών

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε εσωτερικό χώρο με συνθήκες σταθερής θερμοκρασίας ($25\pm 1^\circ\text{C}$), φωτοπεριόδου (16Φ:8Σ) και σχετικής υγρασίας (80%).

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

Στη συγκεκριμένη περίπτωση οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε πλαστικά δοχεία (ποτήρια) χωρητικότητας 200 ml, εντός των οποίων η ποσότητα του υδατικού διαλύματος με την αντίστοιχη δόση της υπό εξέταση ουσίας (αιθερίου ελαίου ή συστατικού) (διαλυμένα σε DMSO - dimethyl sulfoxide) ήταν 100 ml (**Εικόνα 52**). Από το κάθε αιθέριο έλαιο ή συστατικό παρασκευαζόταν ένα μητρικό διάλυμα (stock solution) σε οργανικό διαλύτη (DMSO) περιεκτικότητας 10% β/ο (w/v) εντός γυάλινου φιαλιδίου (vial). Εντός των δοχείων βιοδοκιμών τοποθετούνταν 20 προνύμφες του *Ae. albopictus* από την εργαστηριακή εκτροφή, ανεπτυγμένες 3^{ης} ή νεαρές 4^{ης} ηλικίας (καθώς η διάκριση των σταδίων είναι δύσκολη), σε υδατικό διάλυμα 100 ml με περιεκτικότητα σε DMSO 2% ο/ο (v/v) (98 ml νερό + 2 ml DMSO). Η προσθήκη του DMSO στο νερό σε περιεκτικότητα 2% ο/ο συντελούσε στην ομοιόμορφη κατανομή του οργανικού συστατικού σε υδατικό περιβάλλον (καλύτερη διάλυση των ουσιών). Μετά την τοποθέτηση των 20 προνυμφών στο υδατικό διάλυμα με DMSO, ακολουθούσε η προσθήκη των επιθυμητών δόσεων από το μητρικό διάλυμα των ουσιών (σε DMSO). Η προσθήκη της ποσότητας της ουσίας που απαιτούνταν για τη δημιουργία της εκάστοτε επιθυμητής δόσης γινόταν στην επιφάνεια του νερού με τη χρήση πιπέτας και ακολουθούσε ανάδευση για 30" με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου με στόχο την ομογενοποίηση του τελικού διαλύματος (**Εικόνα 53**). Στόχος των

βιοδοκιμών ήταν η μελέτη της μεταβολής της θνησιμότητας σε συνάρτηση με τη μεταβολή της δόσης. Για το λόγο αυτό εφαρμόστηκε σειρά δόσεων (τουλάχιστον 4) που έδιναν θνησιμότητες πάνω από 0% και κάτω από 100%. Κάθε συγκέντρωση δοκιμάστηκε τέσσερις φορές (4 επαναλήψεις) ενώ σε κάθε βιοδοκιμή υπήρχε παράλληλα και επέμβαση μάρτυρας (control) μόνο με 98 ml νερό + 2 ml DMSO.

Η τοξική δράση των ουσιών (αιθερίων ελαίων ή συστατικών) προσδιορίστηκε με την καταγραφή της θνησιμότητας των προνυμφών 24 ώρες μετά την εφαρμογή. Κατά το διάστημα αυτό δεν χορηγήθηκε τροφή στις προνύμφες. Σύμφωνα με τη μέθοδο του Π.Ο.Υ. (W.H.O. 2005), που ακολουθήθηκε, ως νεκρές προνύμφες υπολογίζονται και αυτές που έχουν έντονη απόκλιση από τη φυσιολογική συμπεριφορά όπως σπασμούς ή αδυναμία απομάκρυνσης όταν ενοχληθούν στην άκρη του σιφωνίου τους με τη μύτη μιας βελόνας, οι προνύμφες που αδυνατούν να κολυμπήσουν ως την επιφάνεια για να αναπνεύσουν καθώς και οι προνύμφες που δεν παρουσιάζουν τη χαρακτηριστική αντίδραση βύθισης τους στο νερό όταν εκείνο διαταράσσεται (**Εικόνα 54**).

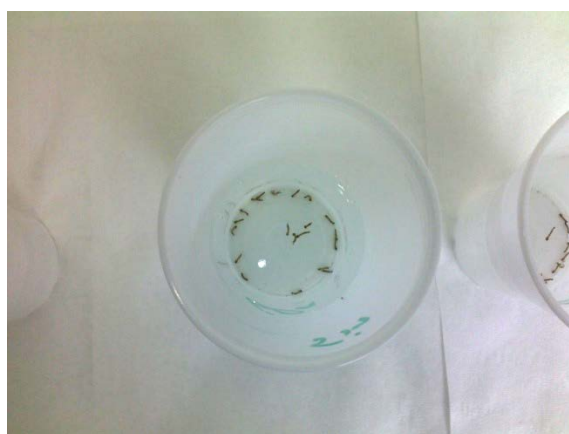
Στη συγκεκριμένη μελέτη εξετάστηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* των τριών (3) αιθερίων ελαίων των φυτών του γένους *Citrus* (*Citrus sinensis*, *C. limon* και *C. paradisi*) καθώς και οκτώ (8) συστατικών τους (κύριων και δευτερευόντων): *R*-(+)-λεμονένιο, *S*-(-)-λεμονένιο, *α*-(+)-πινένιο, *α*-(-)-πινένιο, *β*-(+)-πινένιο, *β*-(-)-πινένιο, κιτράλη (μείγμα νεράλης και γερανιάλης) και *γ*-τερπινένιο.



Εικόνα 52. Βιοδοκιμή τοξικής δράσης ουσιών (αιθερίων ελαίων ή /και συστατικών τους) εναντίων του *Ae. albopictus* σε πλαστικά ποτήρια, εντός δωματίου ελεγχόμενων συνθηκών.



Εικόνα 53. Υλικά διεξαγωγής βιοδοκιμών προνυμφοκτονίας: πιπέτες, λαβίδα, tips κ.α.



Εικόνα 54. Νεκρές προνύμφες του *Ae. albopictus* μετά από 24 ώρες έκθεσης σε υψηλή δόση αιθερίου ελαίου λεμονιού.

4.1.3.1.5.1 Στατιστική ανάλυση

Τα δεδομένα της θνησιμότητας των προνυμφών στις 24 ώρες για κάθε δόση αιθερίου ελαίου ή συστατικού, δηλαδή η συνολική θνησιμότητα για κάθε δοκιμαζόμενη συγκέντρωση στο υδατικό διάλυμα (δόση) εκφρασμένη σε mg ουσίας ανά 1 λίτρο υδατικού διαλύματος (ή ppm), επεξεργάστηκαν με την Probit ανάλυση. Με την Probit ανάλυση η σιγμοειδής καμπύλη της θνησιμότητας μετατρέπεται σε ευθεία μετά από μετατροπή των ποσοστών θνησιμότητας σε Probit μονάδες και των δόσεων σε \log_{10} . Από την Probit ανάλυση υπολογίστηκαν οι τιμές των LC_{50} (Lethal Concentration₅₀ - η συγκέντρωση στην οποία θανατώνεται το 50% του πληθυσμού) και LC_{90} (η συγκέντρωση στην οποία θανατώνεται το 90% του πληθυσμού), τα όρια εμπιστοσύνης (Confidential Limits – CL) για κάθε τιμή LC_{50} ή LC_{90} για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, καθώς επίσης και η κλίσεις

των ευθειών (slopes) (Finney 1971). Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

4.1.3.1.6 Τοξική δράση LC₅₀ δόσεων εναντίων των προνυμφών

Για τα αιθέρια έλαια *C. sinensis*, *C. limon* και *C. paradisi* καθώς και το συστατικό *R*-(+)-λεμονένιο, μελετήθηκε περαιτέρω η τοξική τους δράση εναντίων των προνυμφών του *Ae. albopictus*. Ομάδες των 20 προνυμφών 3^{ης}- 4^{ης} ηλικίας από την εργαστηριακή εκτροφή τοποθετήθηκαν εντός δοχείου (πλαστικό ποτήρι 200 ml) σε υδατικό διάλυμα 100 ml περιεκτικότητας 2% ο/ο σε DMSO (98 ml νερό + 2 ml DMSO). Στο διάλυμα αυτό εφαρμόστηκαν οι LC₅₀ δόσεις, οι οποίες υπολογίστηκαν με την Probit ανάλυση στις βιοδοκιμές τις τοξικής δράσης, για κάθε ουσία (έλαιο ή *R*-(+)-λεμονένιο). Μετά από 24 ώρες καταμετρήθηκαν οι νεκρές προνύμφες και μόνο οι ζωντανές μεταφέρθηκαν σε δοχεία με 100 ml νερό βρύσης, τα οποία καλύπτονταν με τούλι (**Εικόνα 55**). Στις προνύμφες χορηγούνταν μικρή ποσότητα ιχθυοτροφής σε συγκέντρωση 10 mg τροφής ανά λίτρο νερού ανά δύο ημέρες έως το στάδιο της νύμφης (W.H.O. 2005). Ο αριθμός των νυμφών καθώς και των τελείων σε κάθε δοχείο καταγράφονταν καθημερινά. Ταυτόχρονα, υπήρχε και μάρτυρας (control) με 20 προνύμφες 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας σε υδατικό διάλυμα 2% με DMSO για 24 ώρες, οι οποίες στη συνέχεια μεταφέρονταν σε δοχεία με νερό και τη συγκεκριμένη ποσότητα τροφής.

Για κάθε υπό εξέταση ουσία και για το μάρτυρα πραγματοποιήθηκαν 5 επαναλήψεις (n=5) και τα πειράματα διενεργήθηκαν ταυτόχρονα στον ίδιο χώρο (θερμοκρασία 25±1°C, φωτοπερίοδο 16Φ:8Σ και σχετική υγρασία 80%).

Τα υγιή τέλεια κουνούπια που προέκυπταν από κάθε επέμβαση συλλέγονταν καθημερινά και μεταφέρονταν ξεχωριστά σε διαφανή πλαστικά δοχεία χωρητικότητας 250 ml που καλύπτονταν με τούλι. Εντός των δοχείων τοποθετούνταν κομμάτι βαμβακιού εντός αλουμινόχαρτου που είχε προηγουμένως εμποτιστεί σε υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10% και χρησίμευε ως πηγή τροφής των τελείων (**Εικόνα 56**). Η επιβίωση των τελείων καταγράφονταν καθημερινά για διάστημα 20 ημερών και συγκρίθηκε με την επιβίωση αντίστοιχα από τους χωρίς επέμβαση μάρτυρες.



Εικόνα 55. Βιοδοκιμή δράσης LC_{50} δόσεων ουσιών (αιθερίων ελαίων ή /και συστατικών τους) εναντίον του *Ae. albopictus* σε πλαστικά ποτήρια, εντός δωματίου ελεγχόμενων συνθηκών. Τα ποτήρια που περιέχουν νύμφες καλύπτονται με τούλι.



Εικόνα 56. Μελέτη επιβίωσης τελείων του *Ae. albopictus*, που προέρχονται από βιοδοκιμές LC_{50} δόσεων εντός δοχείου με πηγή τροφής (βαμβάκι με ζαχαρόνερο).

4.1.3.1.6.1 Στατιστική ανάλυση

Η επίδραση της έκθεσης των προνυμφών 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας στις LC_{50} δόσεις κάθε ουσίας (αιθερίου ελαίου ή *R*-(+)- λεμονενίου) στην επιβίωση των προνυμφών 24 ώρες μετά την εφαρμογή, στη νύμφωση και στην έξοδο των τελείων προσδιορίστηκε με την ανάλυση διασποράς ενός παράγοντα (one way – ANOVA), καθώς τα δεδομένα ακολουθούσαν την κανονική κατανομή και υπήρχε ομοιογένεια των διασπορών τους (παραλλακτικότητα). Επειδή η παραπάνω επίδραση ήταν στατιστικά σημαντική ($P < 0,05$, για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$) και στις 4 περιπτώσεις ουσιών που δοκιμάστηκαν, στη συνέχεια πραγματοποιήθηκαν *a posteriori* συγκρίσεις με post hoc test μεταξύ των μέσων ποσοστών

(%) επιβίωσης (σε σχέση με τον αρχικό αριθμό προνυμφών) σε κάθε ένα από τα παρακάτω στάδια: α) 24 ώρες μετά την εφαρμογή, β) νύμφωση και γ) έξοδο των τελείων. Η σύγκριση των 3 αυτών μέσων ποσοστών (%) για κάθε υπό εξέταση ουσία έγινε με τη μέθοδο των Student-Newman-Keuls (SNK) για συγκρίσεις όλων των μέσων τιμών ανά δύο (Sokal and Rohlf 1995). Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

4.1.3.1.7 Αποθητική δράση εναντίον των τελείων

Για τη μελέτη της αποθητικής δράσης των ουσιών (αιθερίων ελαίων ή συστατικών) εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* αναπτύχθηκε ένα πρωτότυπο πρωτόκολλο πειραματισμού (Giatropoulos *et al.* 2012d), το οποίο βασίστηκε στον αριθμό των προσγειώσεων (landings) των κουνουπιών στο ανθρώπινο δέρμα (Coleman *et al.* 1993, Govere and Durrheim 2006). Για τις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν ξύλινοι κλωβοί, διαστάσεων 33x33x33 cm, με τις ακμές ξύλινες και τις 3 πλευρές τους καλυμμένες με λεπτή σήτα. Στο πίσω μέρος υπήρχε άνοιγμα διαμέτρου 20 cm και 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. Σε κάθε κλωβό τοποθετούνταν 100 τέλεια κουνούπια *Ae. albopictus*, με αναλογία φύλου 1:1, ηλικίας 5-10 ημερών, στα οποία είχε διακοπεί η χορήγηση τροφής (ζαχαρόνευρο) για 12 ώρες. Για την διάκριση του φύλου και τον προσδιορισμό της ηλικίας των χρησιμοποιούμενων τελείων, συλλέγονταν αρχικά νύμφες του *Ae. albopictus* από την εργαστηριακή εκτροφή οι οποίες αναπτύσσονταν μεμονωμένα σε ειδικά φιαλίδια (tubes) (Εικόνα 57). Η διατήρηση των κλωβών και η διενέργεια των βιοδοκιμών πραγματοποιούνταν σε χώρους ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), φωτοπεριόδου (16Φ:8Σ) και σχ. υγρασίας (70-80%).

Για τις ανάγκες των βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκε πλαστικό γάντι στην πάνω πλευρά του οποίου και στο ύψος του καρπού έφερε άνοιγμα διαστάσεων 5 x 5 cm. Περιμετρικά του ανοίγματος τοποθετούνταν διηθητικό χαρτί (Whatman chromatography paper) συνολικής επιφάνειας 24 cm² με τη βοήθεια μεταλλικών συνδετήρων (Εικόνα 58). Το γάντι με το διηθητικό χαρτί, που έφερε την επιθυμητή δόση κάθε ουσίας, εισέρχονταν εντός του κλωβού και καταμετρούνταν ο αριθμός των κουνουπιών που προσγειώνονταν, χωρίς να πραγματοποιηθεί αιμοληψία, στην εκτεθειμένη περιοχή του δέρματος για διάστημα 5 λεπτών. Κάθε γάντι αποσύρονταν μετά τη βιοδοκιμή (Εικόνα 58).

Αρχικά, στην επιφάνεια του διηθητικού χαρτιού εφαρμόστηκαν με τη βοήθεια πιπέτας διάφορες δόσεις του Deet (από 0,05 έως 1 mg /cm²) και βρέθηκε ότι για διάστημα 5 λεπτών παραμονής του χεριού εντός του κλωβού η ελάχιστη δόση όπου καταγράφηκαν 0 προσγειώσεις ήταν περίπου 0,2 mg /cm². Οι υπό εξέταση ουσίες διατηρούνταν σε μητρικό διάλυμα 10% β/ο σε διαλύτη dichloromethane (DCM) (100 μg ουσίας ανά μl διαλύματος σε DCM). Στη συνέχεια, όλες οι υπό εξέταση ουσίες εφαρμόστηκαν στις εξής 2 δόσεις: «υψηλή» ≈ 0,4 mg ουσίας/ cm² (ή 100 μl από το μητρικό διάλυμα) και «χαμηλή» ≈ 0,2 mg ουσίας/ cm² (ή 50 μl από το μητρικό διάλυμα). Αμέσως μετά την εφαρμογή της ουσίας, το διηθητικό χαρτί αφήνονταν για 5 λεπτά προκειμένου να εξατμιστεί ο διαλύτης και στη συνέχεια τοποθετούνταν στο γάντι. Χρησιμοποιήθηκε τόσο θετικός μάρτυρας αναφοράς με το Deet (positive control), όσο και μάρτυρας (control) μόνο με την εφαρμογή του διαλύτη (DCM) επί του διηθητικού χαρτιού. Κάθε επέμβαση επαναλήφθηκε 8 φορές (n=8), ενώ χρησιμοποιήθηκαν 4 διαφορετικοί εθελοντές για την αποφυγή μεροληψίας στα αποτελέσματα του πειράματος.

Η συγκριτική μελέτη της απωθητικής δράσης εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* με το παραπάνω πρωτόκολλο πραγματοποιήθηκε για τα αιθέρια έλαια πορτοκαλιάς (*C. sinensis*) και λεμονιάς (*C. limon*). Δεν χρησιμοποιήθηκε το αιθέριο έλαιο του γκρέιπφρουτ (*C. paradisi*) καθώς η χημική του ανάλυση έδειξε ότι έχει παρόμοια σύσταση με το *C. sinensis*. Επιπλέον, εξετάστηκε και η απωθητική δράση 8 συστατικών των αιθερίων ελαίων: *R*(+)-λεμονένιο, *S*(-)-λεμονένιο, *α*(+)-πινένιο, *α*(-)-πινένιο, *β*(+)-πινένιο, *β*(-)-πινένιο, κιτράλη (μείγμα νεράλης και γερανιάλης) και *γ*-τερπινένιο.



Εικόνα 57. Τοποθέτηση νυμφών μεμονωμένα σε φιαλίδια.



Εικόνα 58. Βιοδοκιμή απωθητικής δράσης ουσιών σε τέλεια του *Ae. albopictus*: χέρι εθελοντή με γάντι και διηθητικό χαρτί περιμετρικά του ανοίγματος του γαντιού και της εκτεθειμένης περιοχής του δέρματος, εντός κλωβού με 100 τέλεια κουνούπια (♂:♀=1:1) (αριστερά) και προσγειώσεις θηλυκών στην εκτεθειμένη περιοχή του δέρματος και στο διηθητικό χαρτί (δεξιά).

4.1.3.1.7.1 Στατιστική ανάλυση

Για τη σύγκριση του μέσου αριθμού προσγειώσεων κουνουπιών μεταξύ των ουσιών (αιθερίων ελαίων + συστατικών), συμπεριλαμβανομένου του μάρτυρα αναφοράς και του χωρίς επέμβαση μάρτυρα εφαρμόστηκε μη-παραμετρική μέθοδος σύγκρισης, καθώς σε 2 από τις ουσίες (χωρίς επέμβαση μάρτυρας και θετικός μάρτυρας) δεν υπήρχε παραλλακτικότητα στον αριθμό προσγειώσεων (M.O.=0). Συνεπώς, για να διαπιστωθεί εάν ο παράγοντας ουσία (με 12 επίπεδα = 10 ουσίες + 2 μάρτυρες) επιδρά σημαντικά στον αριθμό προσγειώσεων, εφαρμόστηκε το μη-παραμετρικό τεστ των Kruskal-Wallis. Εφόσον διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$) μεταξύ των διαμέσων του αριθμού προσγειώσεων μεταξύ των 12 διαφορετικών ουσιών, για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, πραγματοποιήθηκαν συγκρίσεις των διαμέσων ανά 2 με το τεστ των Mann-Whitney U. Επομένως, για κάθε σύγκριση των μέσων τιμών ανά 2, οι διάμεσοι διαφέρουν σημαντικά όταν $P < 0,05$. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

4.1.3.2 Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Cupressaceae ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα τέλεια του *Ae. albopictus*

Η απομόνωση των αιθερίων ελαίων και η χημική τους ανάλυση για την εύρεση των συστατικών τους με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC-MS), πραγματοποιήθηκαν στον Τομέα Φαρμακογνωσίας και Χημείας Φυσικών Προϊόντων στο Τμήμα Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών από την ερευνητική ομάδα της Καθ. Όλγας Τζάκου και της Δρας Δανάης Πιταροκοίλη.

4.1.3.2.1 Φυτικό υλικό

Τον Ιούνιο του 2011 συλλέχθηκαν εναέρια φυτικά τμήματα (φύλλα, καρποί, κλάδοι) των φυτών *C. arizonica*, *C. benthamii*, *C. macrocarpa*, *C. sempervirens*, *C. torulosa*, *Ch. lawsoniana*, *J. phoenicea* και *T. articulata* από τον Βοτανικό κήπο Ιουλίας και Αλέξανδρου Ν. Διομήδους, του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών (**Εικόνες 59 - 61**). Η ταυτοποίηση των ειδών των φυτών έγινε από την Δρα Ειρήνη Βαλλιανάτου, Βιολόγο, Συστηματική Βοτανικό - Φυτοκοινωνιολόγο και Προϊσταμένη του Βοτανικού Κήπου Διομήδους, ενώ δείγματα των φυτών βρίσκονται στη βοτανική συλλογή του Πανεπιστημίου Αθηνών.



Εικόνα 59. Δένδρο *Cupressus arizonica* (αριστερά) και φύλλα και καρποί *Cupressus sempervirens* (δεξιά)



Εικόνα 60. Δένδρο *Chamaecyparis lawsoniana* (αριστερά) και φύλλα και καρποί από το *Chamaecyparis lawsoniana* (δεξιά)



Εικόνα 61. Δένδρο *Juniperus phoenicea* (αριστερά) και *Tetraclinis articulata* (δεξιά)

4.1.3.2.2 Απομόνωση αιθερίων ελαίων

Η απομόνωση των αιθερίων ελαίων έγινε από τα λεπιοειδή ή βελονοειδή φύλλα των κυπαρισσοειδών φυτών της μελέτης με τη μέθοδο της υδρο-απόσταξης. Τα φρέσκα φύλλα διαχωρίστηκαν από τους κλάδους, τεμαχίστηκαν σε μικρά κομμάτια και οδηγήθηκαν για υδρο-απόσταξη σε τροποποιημένη συσκευή Clevenger για περίπου 3 ώρες. Για την παραλαβή των αιθερίων ελαίων χρησιμοποιήθηκε ο διαλύτης *n*-pentane ενώ στη συνέχεια τα αιθέρια έλαια που παρήχθησαν αφυδατώθηκαν με τη βοήθεια άνυδρου θειικού νατρίου και αποθηκεύτηκαν σε φιαλίδια στους 4°C μέχρι να γίνει η χημική τους ανάλυση.

4.1.3.2.3 Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων

Η ανάλυση της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων, πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC/GC-MS), όπως περιγράφεται αναλυτικά από τους Giatropoulos *et al.* (2013).

Η σύγκριση των αποτελεσμάτων της χημικής ανάλυσης έγινε με τη βοήθεια βάσεων δεδομένων για φάσματα μάζας, τη χρήση φυσικών προϊόντων (όπου ήταν διαθέσιμα) αλλά και με τη βοήθεια βιβλιογραφίας (Adams 2007)

4.1.3.2.4 Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με τα ίδια υλικά και μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της τοξικής δράσης εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και συστατικών τους (βλέπε παρ. 4.1.3.1.5.1).

Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* των παρακάτω οκτώ (8) αιθερίων ελαίων των φυτών της οικ. Cupressaceae: *C. arizonica*, *C. benthamii*, *C. macrocarpa*, *C. sempervirens*, *C. torulosa*, *Ch. lawsoniana*, *J. phoenicea* και *T. articulata*.

4.1.3.2.4.1 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με την Probit ανάλυση όπως ακριβώς περιγράφηκε στην παρ. 4.1.3.1.5.1 που αφορά την στατιστική ανάλυση των δεδομένων της τοξικής δράσης εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus*.

4.1.3.2.5 Αποθητική δράση εναντίον των τελείων

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με τα ίδια υλικά και μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της αποθητικής δράσης αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και συστατικών τους εναντίον του τελείων του *Ae. albopictus* (βλέπε παρ. 4.1.3.1.7), με την εξής τροποποίηση στις εφαρμοζόμενες δόσεις:

Αρχικά, στην επιφάνεια του διηθητικού χαρτιού εφαρμόστηκαν με τη βοήθεια πιπέτας διάφορες δόσεις του Deet (από 0,05 έως 1 mg /cm²) και βρέθηκε ότι για διάστημα 5 λεπτών παραμονής του χεριού εντός του κλωβού η ελάχιστη δόση όπου καταγράφηκαν 0 προσγειώσεις ήταν περίπου 0,2 mg /cm², όπως και στην περίπτωση των αιθερίων ελαίων από φυτά *Citrus*. Στη συνέχεια, όλα τα υπό εξέταση αιθέρια έλαια εφαρμόστηκαν στο διηθητικό χαρτί σε αυτή τη δόση (0,2 mg ουσίας/ cm² ή 50 μl από το μητρικό διάλυμα σε DCM 10% β/ο), η οποία και χαρακτηρίστηκε ως «υψηλή». Τα αιθέρια έλαια που δοκιμάστηκαν σε αυτή τη δόση και παρείχαν απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις), δοκιμάστηκαν περαιτέρω στη δόση 0,08 mg/ cm² (20 μl από το μητρικό διάλυμα σε DCM 10% β/ο), η οποία και χαρακτηρίστηκε ως «χαμηλή».

Η συγκριτική μελέτη της αποθητικής δράσης εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* με το παραπάνω πρωτόκολλο πραγματοποιήθηκε για τα αιθέρια έλαια των παρακάτω οκτώ (8) φυτών της οικ. Cupressaceae: *C. arizonica*, *C. benthamii*, *C. macrocarpa*, *C. sempervirens*, *C. torulosa*, *Ch. lawsoniana*, *J. phoenicea* και *T. articulata*.

4.1.3.2.5.1 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση είναι αντίστοιχη με εκείνη που αναφέρεται στην παρ. 4.1.3.1.7.1 για την αποθητικότητα αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και συστατικών τους. Εφαρμόστηκε το μη-παραμετρικό τεστ των Kruskal-Wallis και εφόσον διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές, οι συγκρίσεις των διαμέσων ανά 2 έγιναν με τη μέθοδο Mann-Whitney U. Για κάθε σύγκριση των μέσων τιμών ανά 2, οι διάμεσοι διαφέρουν σημαντικά όταν $P < 0,05$. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

4.1.3.3 Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Lamiaceae και των κύριων συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και αποθητική δράση στα τέλεια του *Ae. albopictus*

Η απομόνωση των αιθερίων ελαίων και η χημική τους ανάλυση για την εύρεση των συστατικών τους, με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC-MS),

πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών από την ερευνητική ομάδα του Καθ. Μόσχου Πολυσίου και του Επίκ. Καθ. του τμήματος Αγροτικής Ανάπτυξης στο Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης Αθανάσιο Κυμπάρη.

4.1.3.3.1 Φυτικό υλικό

Τα περισσότερα αρωματικά φυτά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη προμηθεύτηκαν από παραγωγούς που τα καλλιεργούν, ενώ ορισμένα συλλέχτηκαν απευθείας από άγριους πληθυσμούς όπου αναπτύσσονται στην ύπαιθρο, από μέλη της ομάδας του καθ. Μ. Πολυσίου. Τα φυτά συλλέχτηκαν την περίοδο Ιουνίου- Αυγούστου 2012 στο στάδιο της άνθησής τους. Ειδικότερα, τα είδη *Mentha piperita* (μέντα), *Mentha spicata* (ήμερος δυόσμος I), *Satureja thymbra* (θρούμπι), *Lavandula angustifolia* (λεβάντα) και *Ocimum basilicum* (βασιλικός) συλλέχτηκαν από περιοχή της Καρδίτσας ενώ τα *Rosmarinus officinalis* (δενδρολίβανο), *Mellisa officinalis* (μελισσόχορτο), *Origanum mantzuranum* (μαντζουράνα), *Oregano vulgare* (ρίγανη) και *Thymus vulgaris* (θυμάρι) από περιοχή του Αγρινίου και το *Origanum dictamnus* (δίκταμο) από το Ηράκλειο της Κρήτης. Ο άγριος δυόσμος (*Mentha spicata* II) συλλέχτηκε από περιοχή της Σπάρτης ενώ το φλισκούνη (*Mentha pulegium*) συλλέχτηκε από δύο διαφορετικούς πληθυσμούς, ένα από την Καρδίτσα (I) και ένα από την Ορεστιάδα (II) (Εικόνες 62-67).



Εικόνα 62. Φυτά *Mentha piperita* (Μέντα) (αριστερά) και *Mentha spicata* (Δυόσμος) (δεξιά)



Εικόνα 63. Φυτά *Mentha pulegium* (Φλισκούνη) (αριστερά) και *Rosmarinus officinalis* (Δενδρολίβανο) (δεξιά)



Εικόνα 64. Φυτά *Mellisa officinalis* (Μελισσόχορτο) (αριστερά) και *Satureja thymbra* (Θρούμπι) (δεξιά).



Εικόνα 65. Φυτά *Lavandula angustifolia* (Λεβάντα) (αριστερά) και *Ocimum basilicum* (Βασιλικός) (δεξιά).



Εικόνα 66. Φυτά *Origanum dictamnus* (Δίκταμο) (αριστερά) και *Origanum majorana* (Μαντζουράνα) (δεξιά).



Εικόνα 67. Φυτά *Origanum vulgare* (Ρίγανη) (αριστερά) και *Thymus vulgaris* L. (Θυμάρι) (δεξιά).

4.1.3.3.2 Χημικά συστατικά

Τα συστατικά των αιθερίων ελαίων (τερπένια) που χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα για τη φυτοχημική ανάλυση και για τη διενέργεια των βιοδοκιμών διατέθηκαν από την εταιρεία Sigma-Aldrich (Steinheim, Γερμανίας) και είχαν τη μέγιστη καθαρότητα. Το N,N-Diethyl-meta-toluamide (Deet) προσφέρθηκε από την εταιρεία Bayer CropScience. Η πιπεριτενόνη (piperitenone) παράχθηκε με χημική σύνθεση στο εργαστήριο Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

4.1.3.3.3 Απομόνωση των αιθερίων ελαίων

Η απομόνωση των αιθερίων ελαίων από τα φυτικά τμήματα των παραπάνω 14 φυτών έγινε με υδροαπόσταξη. Συγκεκριμένα, τα εναέρια φυτικά τμήματα (βλαστοί, φύλλα, άνθη) πολτοποιήθηκαν σε ηλεκτρικό αναμεικτήρα (blender) και έπειτα 1 κιλό από το κάθε φυτικό δείγμα οδηγήθηκε για υδροαπόσταξη σε συσκευή Clevenger (Winzer) για περίπου 4 ώρες στους 100°C, παρουσία 3 λίτρων νερού. Τα αιθέρια έλαια που παρελήφθησαν, αφυδατώθηκαν με τη βοήθεια άνυδρου θεικού μαγνησίου και διατηρήθηκαν σε καταψύκτη στους -22°C μέχρι να πραγματοποιηθεί η χημική τους ανάλυση και να δοκιμαστεί η βιολογική τους δράση.

4.1.3.3.4 Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων

Η ανάλυση της χημικής σύστασης των αιθερίων ελαίων, πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC/GC-MS), όπως περιγράφεται αναλυτικά από τους Giatropoulos *et al.* (2012d). 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 (Adams 2007). Η απομόνωση του συστατικού εποξειδίου της πιπεριτόνης (piperitone epoxide), έγινε στο Εργαστήριο Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

4.1.3.3.5 Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με τα ίδια υλικά και μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της τοξικής δράσης εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και συστατικών τους (βλέπε παρ. 4.1.3.1.5).

Μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* των δεκατεσσάρων (14) αιθερίων ελαίων των φυτών της οικ. Lamiaceae καθώς και των εξής δεκαεννέα (19) κύριων χημικών συστατικών τους: μενθόλη (menthol), μενθόνη (menthone), καρβόνη (carvone), εποξειδίο της πιπεριτενόνης (piperitenone epoxide), πουλεγκόνη (pulegone), πιπεριτόνη (piperitone), εποξειδίο της πιπεριτόνης (piperitone epoxide), λιναλοόλη (linalool), 1,8 κινεόλη ή ευκαλυπτόλη (1,8-cineole ή eucalyptol), νεράλη (neral), γερανιάλη (geranial), β -καρυοφυλλένιο (β -caryophyllene), καρβακρόλη (carvacrol), γ -τερπινένιο (γ -terpinene), οξικός λιναλοϋλεστέρας (linalyl acetate), μεθυλ-χαβικόλη (methyl chavicol), *p*-κυμένιο (*p*-cymene), τερπινέν-4-όλη (terpinene-4-ol) και θυμόλη (thymol).

Διευκρινίζεται ότι για τις ουσίες μενθόλη, μενθόνη, καρβόνη και πουλεγκόνη, διενεργήθηκαν βιοδοκιμές και με τα 2 διαθέσιμα ισομερή της κάθε ουσίας. Για την ουσία λιναλοόλη διενεργήθηκαν βιοδοκιμές με το (-) ισομερές της. Δοκιμάστηκε επίσης η βιολογική δράση (προνυμφοκτός + απωθητική) της πιπεριτενόνης, παρόλο που ανιχνεύθηκε σε μικρές συγκεντρώσεις (< 5%), καθώς είναι συγγενές μόριο με τα κύρια συστατικά εποξειδίο της πιπεριτενόνης, πιπεριτόνη και εποξειδίο της πιπεριτόνης, παράχθηκε με χημική σύνθεση στο εργαστήριο και προκαταρκτικά πειράματα έδειξαν ότι είχε υψηλή απωθητική δράση.

Αντίθετα, δεν δοκιμάστηκε η βιολογική δράση, προνυμφοκτόνος ή απωθητική, του οξειδίου του καρυοφυλλενίου (caryophyllene oxide), που ανιχνεύθηκε σε συγκέντρωση 14,5% στο αιθέριο έλαιο του *M. officinalis*, όπως επίσης και της βορνεόλης (borneol) που ανιχνεύθηκε σε συγκέντρωση 9,8% στο αιθέριο έλαιο του *R. officinalis*, καθώς δεν ήταν δυνατή η διάλυσή τους στον οργανικό διαλύτη DMSO που χρησιμοποιήθηκε για τις βιοδοκιμές προνυμφοκτονίας.

Έτσι, τελικώς, πέραν των 14 αιθερίων ελαίων, διερευνήθηκε η προνυμφοκτόνος δράση στο *Ae. albopictus* 24 διαφορετικών τερπενίων, συστατικών των αιθερίων ελαίων.

4.1.3.3.5.1 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση έγινε με την Probit ανάλυση όπως ακριβώς περιγράφηκε στην παρ. 4.1.3.1.5.1 που αφορά την στατιστική ανάλυση των δεδομένων της τοξικής δράσης εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus*.

4.1.3.3.6 Απωθητική δράση εναντίον των τελείων

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με τα ίδια υλικά και μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν για την μελέτη της απωθητικής δράσης αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Cupressaceae εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* (βλέπε παρ. 4.1.3.2.5), με την εξής τροποποίηση στις εφαρμοζόμενες δόσεις:

Όλα τα υπό εξέταση αιθέρια έλαια καθώς και τα συστατικά τους εφαρμόστηκαν στο διηθητικό χαρτί στη δόση 0,2 mg ουσίας/ cm² ή 50 μl από το μητρικό διάλυμα DCM 10% β/ο, η οποία και χαρακτηρίστηκε ως «υψηλή». Οι ουσίες, αιθέρια έλαια ή συστατικά, που δοκιμάστηκαν σε αυτή δόση και παρείχαν απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις), δοκιμάστηκαν περαιτέρω στη δόση 0,08 mg/ cm² (20 μl από το μητρικό διάλυμα σε DCM 10% β/ο), η οποία και χαρακτηρίστηκε ως «μέτρια». Τέλος, οι ουσίες, αιθέρια έλαια ή συστατικά, που δοκιμάστηκαν σε αυτή τη δόση και παρείχαν απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις), δοκιμάστηκαν περαιτέρω στη δόση 0,04 mg/ cm² (100 μl από μητρικό διάλυμα σε DCM 1% β/ο) η οποία και χαρακτηρίστηκε ως «χαμηλή»

Η συγκριτική μελέτη της απωθητικής δράσης εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* με το παραπάνω πρωτόκολλο πραγματοποιήθηκε για τα δεκατέσσερα (14) αιθέρια έλαια των φυτών της οικ. Lamiaceae καθώς και για τα εικοσιτέσσερα (24) συνολικά χημικά συστατικά/ τερπένια για τα οποία διενεργήθηκαν και οι βιοδοκιμές προνυμφοκτονίας.

4.1.3.3.6.1 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση είναι αντίστοιχη με εκείνη που αναφέρεται στην παρ. 4.1.3.1.7.1 για την απωθητικότητα αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και συστατικών τους. Εφαρμόστηκε το μη-παραμετρικό τεστ των Kruskal-Wallis και εφόσον διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφορές, οι συγκρίσεις των διαμέσων ανά 2 έγιναν με τη μέθοδο Mann-Whitney U. Για κάθε σύγκριση των μέσων τιμών ανά 2, οι διάμεσοι διαφέρουν σημαντικά όταν $P < 0,05$. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

4.1.4 Αποτελέσματα

4.1.4.1 Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και των συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και αποθητική δράση στα τέλεια του *Ae. albopictus*

4.1.4.1.1 Χημική σύσταση αιθερίων ελαίων

Η απόδοση καθώς και η σύσταση κάθε αιθερίου ελαίου όπως προέκυψε από την φυτοχημική ανάλυση με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC/GC-MS) παρουσιάζεται στον **Πίνακα 7**. Ειδικότερα, στην περίπτωση του πορτοκαλιού και του γκρέιπφρουτ το λεμονένιο ήταν το πιο άφθονο συστατικό (έως και 94%), ενώ συστατικά όπως το μυρκένιο, α - και β -πινένιο και η λιναλοόλη εντοπίστηκαν σε μικρότερα ποσοστά. Αντίθετα, στο αιθέριο έλαιο του λεμονιού το λεμονένιο βρέθηκε σε μικρότερο ποσοστό (59,3%), και ακολουθούσαν τα υπόλοιπα συστατικά όπως β -πινένιο (13,4%), γ -τερπινένιο (8,6%), μυρκένιο (3,5%), α -πινένιο (2,9%), γερανιάλη (1,6%) και νεράλη (1,3%), μεταξύ άλλων. Όσον αφορά στην εναντιομέρεια, αυτή προσδιορίστηκε για τα συστατικά λεμονένιο, α - και β -πινένιο. Από τα αποτελέσματα φάνηκε ότι το *R*-(+)-λεμονένιο, με οπτική καθαρότητα $\geq 99\%$, ήταν το κύριο ισομερές και στα 3 αιθέρια έλαια του γένους *Citrus*. Στην περίπτωση του β -πινενίου το (-)- ισομερές κυριάρχησε σε περιεκτικότητα μεγαλύτερη του 99% σε αντίθεση με το (+)- β -πινένιο, και στα 3 αιθέρια έλαια. Αντίθετα, στο αιθέριο έλαιο λεμονιού και γκρέιπφρουτ η αναλογία εναντιομερών (-):(+) του α -πινενίου είχε τη μορφή ρακεμικού μείγματος (53:47 και 56:44, αντίστοιχα). Αντίθετα, στο αιθέριο έλαιο πορτοκαλιάς κυριάρχησε το (-)- εναντιομερές (65:35).

Πίνακας 7. Σύσταση των αιθερίων ελαίων

Συστατικά	Ποσοστό (%) σύστασης		
	Λεμόνι	Πορτοκάλι	Γκρέιπφρουτ
<i>α</i> -pinene (<i>α</i> -πινένιο)	2,9	0,7	0,1
<i>Αναλογία εναντιομερών (-):(+) </i>	<i>53:47</i>	<i>65:35</i>	<i>56:44</i>
sabinene	0,6	0,2	-
<i>β</i> -pinene (<i>β</i> -πινένιο)	13,4	1,3	0,6
<i>Αναλογία εναντιομερών (+):(-) </i>	<i>1,2:98,8</i>	<i>0,8:99,2</i>	<i>0,6:99,4</i>
myrcene (μυρκένιο)	3,5	1,5	0,1
limonene (λεμονένιο)	59,3	94,3	97,6
<i>Αναλογία εναντιομερών (-):(+) </i>	<i>0,8:99,2</i>	<i>0,2:99,8</i>	<i>03:99,7</i>
<i>γ</i> -terpinene (<i>γ</i> -τερπινένιο)	8,6	-	-
terpinolene	0,6	-	-
linanool	-	0,6	0,3
terpinen-4-ol	0,2	-	-
<i>α</i> -terpineol	0,5	-	-
nerol	0,4	-	-
neral (νεράλη)	1,3	-	-
geraniol	0,6	-	-
geranial (γερανιάλη)	1,6	-	-
neryl acetate	0,7	-	-
geranyl acetate	0,4	-	-
<i>β</i> -caryophyllene	0,6	-	-
<i>a</i> -bergamotene (<i>trans</i>)	0,5	-	-
Σύνολο	97,7	98,6	98,7
Ποσότητα ελαίου^α	2,1	2,5	1,3

^α Η ποσότητα αιθερίου ελαίου εκφρασμένη σε ml αιθερίου ελαίου / 100 gr. νωπού φλοιού καρπών.

4.1.4.1.2 Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών

Στον Πίνακα 8 παρουσιάζονται οι LC₅₀ και LC₉₀ τιμές για προνύμφες 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*, τόσο για τα 3 αιθέρια έλαια (*C. sinensis*, *C. limon* και *C. paradisi*) όσο και για τα 8 συστατικά τους (κύρια ή δευτερεύοντα). Τα αιθέρια έλαια από τον φλοιό των καρπών πορτοκαλιάς, λεμονιάς και γκρέιπφρουτ βρέθηκε ότι είχαν σχετικά υψηλή προνυμφοκτόνο δράση με LC₅₀ τιμές 28,7, 25 και 37 mg/ lt, αντίστοιχα. Μεταξύ των καθαρών συστατικών που δοκιμάστηκαν το γ-τερπινένιο βρέθηκε ότι ήταν το πιο τοξικό με LC₅₀ τιμή περίπου ίση με 20 mg/ lt. Οι εναντιομερείς μορφές *R*-(+)- και *S*-(-)- του λεμονενίου εμφάνισαν παρόμοια τοξική δράση μεταξύ τους (36 και 34,9 mg/ lt, αντίστοιχα), ενώ τα μόρια των και των δύο ισομερών (+/-) του β-πινενίου είχαν LC₅₀ τιμές γύρω στα 45 mg/ lt. Η κιτράλη και οι δύο εναντιομερείς μορφές (+/-) του α-πινενίου ήταν τα λιγότερο δραστικά μόρια εναντίον των προνυμφών των κουνουπιών, με LC₅₀ τιμές που κυμαίνονταν από 68,7 έως 78,3 mg/ lt.

Πίνακας 8. LC₅₀ και LC₉₀ τιμές για τα 3 αιθέρια έλαια *C. sinensis*, *C. limon* και *C. paradisi* και 8 εκ των κύριων ή δευτερευόντων συστατικών τους εναντίον προνυμφών 3^{ης}- 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*.

Αιθέριο έλαιο / Κύριο ή δευτερεύον συστατικό	Κλίση ευθείας (±Τ.Σ.)	LC ₅₀ (95% O.E.) ^a	LC ₉₀ (95% O.E.) ^a	X ^{2β}	B.E.
<i>Citrus sinensis</i>	6,33±0,53	28,7 (26,8-30,5)	45,7 (42,5-50,2)	21,37	22
<i>Citrus limon</i>	9,08±0,99	25 (23,5-26,5)	34,7 (32,3-38,1)	10,27	13
<i>Citrus paradisi</i>	10,43±0,94	37 (34,6-39,3)	49,1 (45,7-54,8)	32,45 ^β	16
<i>R</i> (+)-λεμονένιο	9,67±1,06	36 (32,6-39,5)	48,8 (43,6-61)	26,17 ^β	10
<i>S</i> (-)-λεμονένιο	8,39±0,78	34,9 (33,1-36,7)	49,6 (46,4-54,2)	23,38	16
κιτράλη (νεράλη/γερανιαάλη)	5,19±0,43	78,3 (71,9-84,8)	138,2 (122,6-164,6)	37,76 ^β	22
γ-τερπινένιο	6,29±0,47	20,2 (19,2-21,2)	32,3 (30,1-35,3)	25,05	25
(+)-α-πινένιο	5,84±0,48	68,7 (64,7-72,4)	113,9 (106-125)	29,38	25
(-)-α-πινένιο	6,43±0,55	72,3 (67,8-76,5)	114,4 (106,9-124,8)	27,24	22
(+)-β-πινένιο	6,79±0,69	47,3 (44,7-49,9)	73,1 (67,7-81,3)	24,30	16
(-)-β-πινένιο	7,42±0,67	42,4 (39,3-45,6)	63,1 (57,1-73,3)	27,36 ^β	16

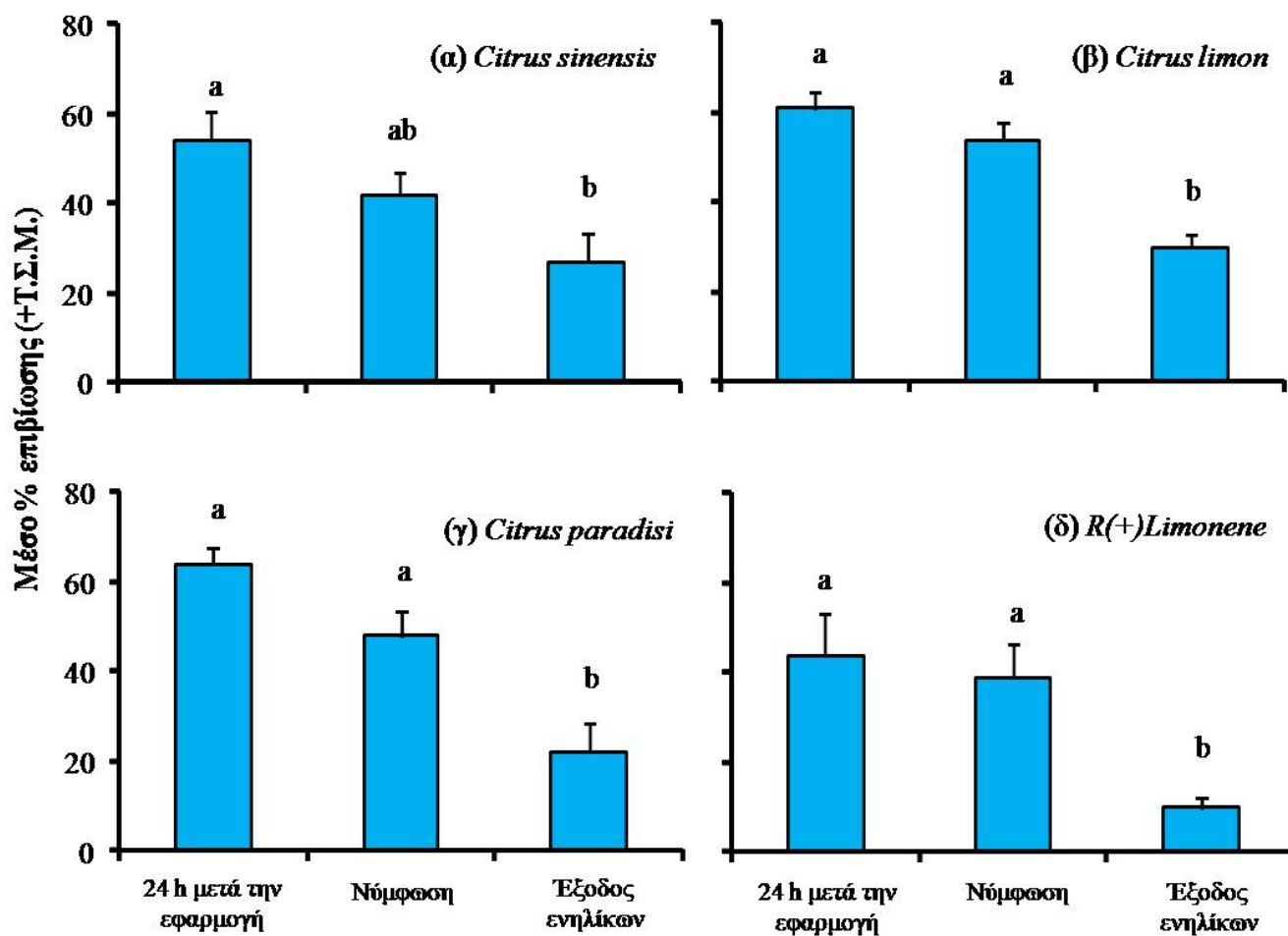
^a Οι τιμές LC εκφράζονται σε mg/ lt και υπάρχει μεταξύ τους στατιστικώς σημαντική διαφορά όταν τα όρια εμπιστοσύνης (O.E.) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ (95%) δεν επικαλύπτονται.

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

4.1.4.1.3 Τοξική δράση LC₅₀ δόσεων εναντίον προνυμφών

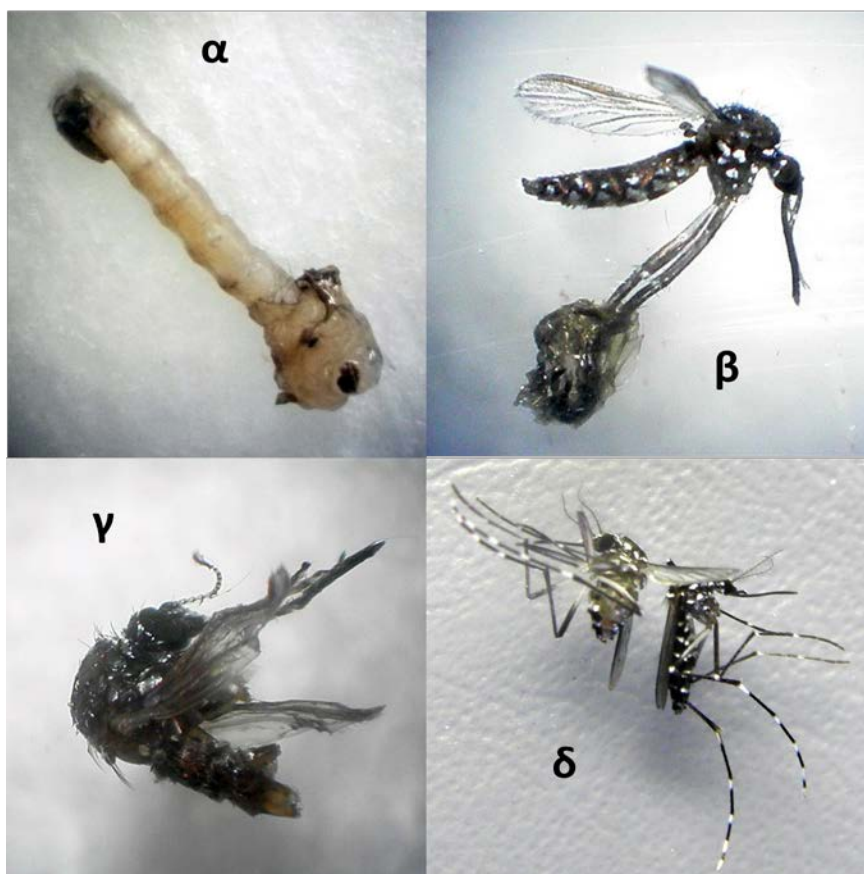
Από τη στατιστική ανάλυση προέκυψε ότι η έκθεση των προνυμφών 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* στις LC₅₀ δόσεις επηρέασε σημαντικά το ποσοστό (%) επιβίωσης στα διάφορα στάδια: 24 ώρες μετά την εφαρμογή, νύμφωση και έξοδο των τελείων ($F_{2,12}=7,247, P=0,009$; $F_{2,12}=20,076, P<0,001$; $F_{2,12}=5,155, P=0,024$; $F_{2,12}=14,340, P=0,001$ για το *R*-(+)-λεμονένιο, το λεμόνι, το πορτοκάλι και το γκρέιπφρουτ, αντίστοιχα) (Διάγραμμα 10).

Από το Διάγραμμα 10 φαίνεται ότι σχεδόν το σύνολο των προνυμφών που επιβίωσε μετά την έκθεση στις ουσίες (αιθέριο έλαιο ή *R*-(+)-λεμονένιο) έφτασε στο στάδιο της νύμφης. Ωστόσο, ένα σημαντικό ποσοστό (%) αυτών των νυμφών δεν κατόρθωσε να μεταμορφωθεί σε τέλειο υγιές κουνούπι. Συνεπώς, ο αριθμός των τελείων κουνουπιών στο τέλος του πειράματος (εκφρασμένος σε ποσοστό επί του αρχικού αριθμού προνυμφών) ήταν σημαντικά μικρότερος σε σχέση με τον αριθμό των προνυμφών που επιβίωσαν 24 ώρες μετά την εφαρμογή της κάθε ουσίας (εκφρασμένος σε ποσοστό επί του αρχικού αριθμού προνυμφών). Το τελικό ποσοστό (%) προνυμφών που έφτασε στο στάδιο του τελείου ήταν μόλις 10% στην περίπτωση του *R*-(+)-λεμονενίου, ενώ κυμάνθηκε από 22% έως 30% κατά την εφαρμογή των LC₅₀ δόσεων των αιθερίων ελαίων του γένους *Citrus*. Τελικώς, ωστόσο, το σύνολο των τελείων κουνουπιών που εξήλθαν και μεταφέρθηκαν σε δοχεία με υδατικό διάλυμα ζάχαρης επιβίωσε για διάστημα 20 ημερών (τα δεδομένα δεν παρουσιάζονται αναλυτικά). Επισημαίνεται, επίσης, ότι στον μάρτυρα εξήλθαν τέλεια άτομα από το σύνολο των προνυμφών, χωρίς τα συγκεκριμένα αποτελέσματα να συμπεριληφθούν στην στατιστική ανάλυση.



Διάγραμμα 10. Τοξική δράση LC_{50} δόσεων των τριών (3) αιθερίων ελαίων, *C. sinensis* (α), *C. limon* (β) και *C. paradisi* (γ), και του *R-(+)*-λεμονενίου (δ) στις προνύμφες του *Ae. albopictus*: Μέσο ποσοστό (%) επιβίωσης στις 24 ώρες μετά την εφαρμογή, στη νύμφωση και στην έξοδο των τελείων. Οι μέσοι όροι σε μια στήλη που έχουν το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά ($P \geq 0.05$). Student-Newman-Keuls (SNK)-test ($\alpha = 0.05$).

Ως αποτέλεσμα της εφαρμογής των LC_{50} δόσεων, παρατηρήθηκε ένας σημαντικός αριθμός νεκρών νυμφών, οι οποίες είχαν πάρει τη μορφή επιμήκους προνύμφης (elongated larviform pupae), ενώ ορισμένα τέλεια δεν κατάφεραν να εξέλθουν επιτυχώς από το puparium (θήκη από δέρμα προνύμφης μέσα στο οποίο διαμένει η νύμφη). Σε μερικές περιπτώσεις μόνο η κεφαλή και ο θώρακας του τελείου είχε εξέλθει από το puparium, ενώ σε άλλες περιπτώσεις το τέλειο παρέμενε προσκολλημένο με ένα ή και περισσότερα πόδια του στο puparium. Σε κάποιες περιπτώσεις παρατηρήθηκαν εξερχόμενα τέλεια με παραμορφώσεις, όπως συστροφές στις πτέρυγες ή άλλες σωματικές ανωμαλίες (Εικόνα 68).



Εικόνα 68. Νεκρή νύμφη (α) και τέλεια (β, γ, δ) του *Ae. albopictus* μετά την εφαρμογή των LC₅₀ δόσεων των αιθερίων ελαίων *C. sinensis*, *C. limon* και *C. paradisi* και του συστατικού R-(+)-λεμονενίου σε προνύμφες 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας.

4.1.4.1.4 Αποθητική δράση εναντίον των τελείων

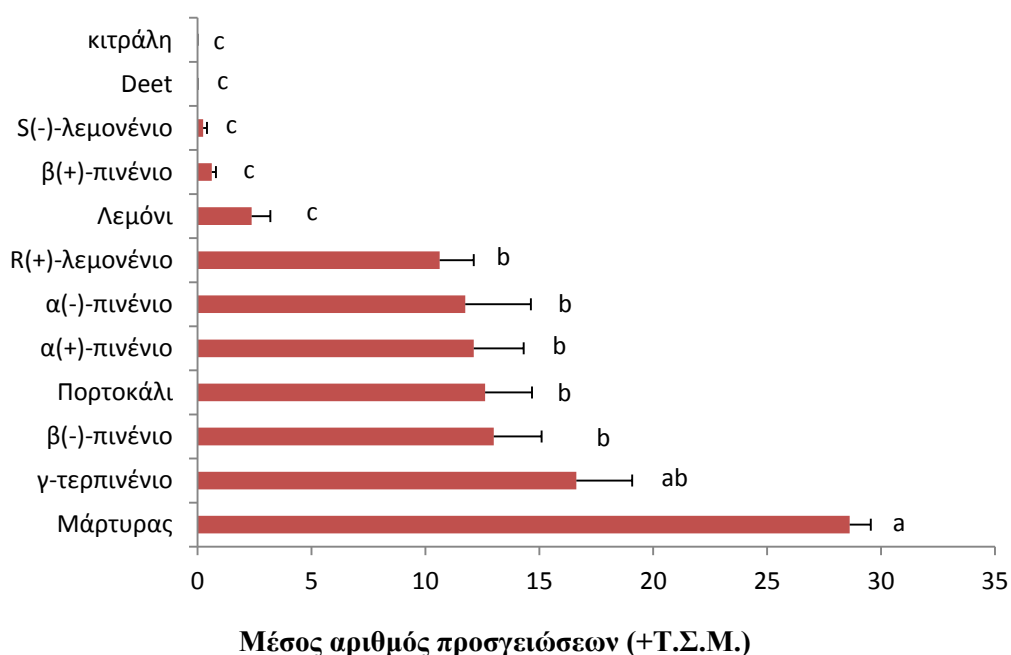
Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στον αριθμό προσγειώσεων των κουνουπιών μεταξύ των 12 διαφορετικών μεταχειρίσεων (2 αιθερίων ελαίων + 8 συστατικών + 1 χωρίς επέμβαση μάρτυρας + 1 μάρτυρας αναφοράς), για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$, και στις δύο δόσεις που εφαρμόστηκαν για την αξιολόγηση της αποθητικής δράσης τους ($X^2 = 65,338$ B.E.= 11, $P < 0,001$; $X^2 = 79,709$, B.E.=11, $P < 0,001$; για την “χαμηλή” και την “υψηλή” δόση, αντίστοιχα) (Διάγραμμα 11). Στον μάρτυρα καταγράφηκε συγκριτικά με τις υπόλοιπες επεμβάσεις υψηλός αριθμός προσγειώσεων κουνουπιών (29,1 προσγειώσεις), ενώ ο μάρτυρας αναφοράς (Deet) παρείχε απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις) και στις δύο δόσεις που δοκιμάστηκαν.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο του λεμονιού στην υψηλή δόση εφαρμογής (0,4 mg/cm²) είχε ισχυρή αποθητική δράση εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* καθώς ο μέσος αριθμός προσγειώσεων (2,4) δεν διέφερε σημαντικά από εκείνο που σημειώθηκε με την εφαρμογή του Deet. Στη χαμηλή δόση (0,2 mg/cm²) το αιθέριο

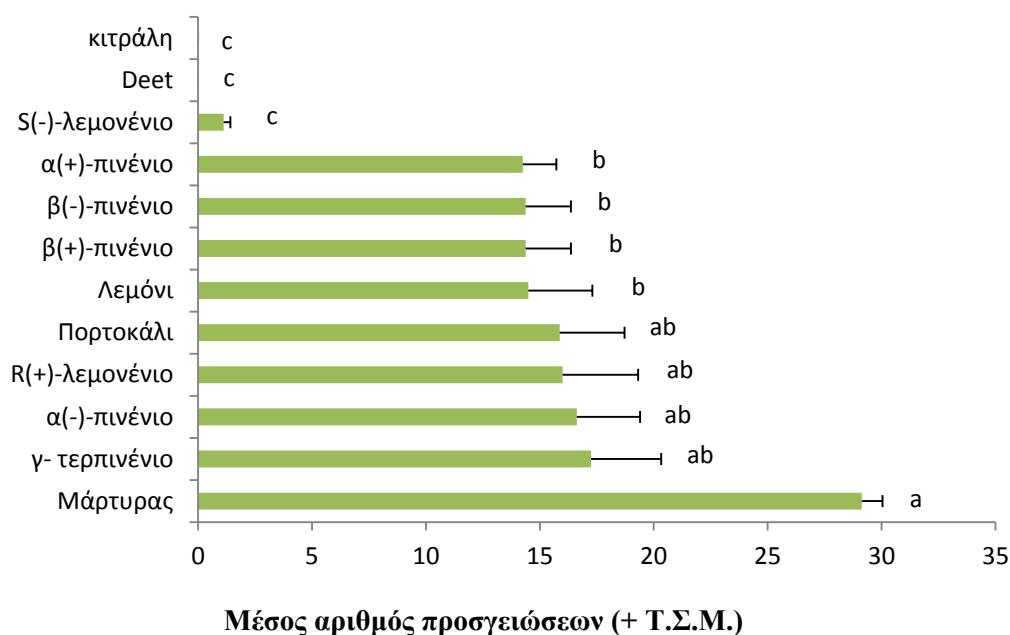
έλαιο του λεμονιού εμφάνισε ασθενή απωθητικότητα όπως και το αιθέριο έλαιο του πορτοκαλιού στην υψηλή δόση (14,5 και 12,6 προσγειώσεις, αντίστοιχα). Τέλος, το αιθέριο έλαιο πορτοκαλιού στη χαμηλή δόση δεν παρείχε καθόλου προστασία εναντίον των κουνουπιών.

Οι βιοδοκιμές απωθητικότητας με τα συστατικά των αιθερίων ελαίων έδειξαν ότι η κιτράλη και το *S*-(-)-λεμονένιο, τόσο στην υψηλή όσο και στην χαμηλή δόση, ήταν τα πιο αποτελεσματικά απωθητικά συστατικά, δεδομένου ότι μετά την εφαρμογή τους καταγράφηκαν σχεδόν μηδενικές προσγειώσεις στο ανθρώπινο χέρι. Στην υψηλή δόση, εκτός από την κιτράλη και το *S*-(-)-λεμονένιο, το (+)-*β*-πινένιο παρείχε επίσης σχεδόν πλήρη προστασία από τα τέλεια κουνούπια (0, 0,2 και 0,6 προσγειώσεις, αντίστοιχα). Αντίθετα, οι δύο άλλες εναντιομερείς μορφές, το *R*-(+)-λεμονένιο και το (-)-*β*-πινένιο, σημείωσαν ασθενή απωθητική δράση (10,6 και 13 προσγειώσεις, αντίστοιχα), ακόμη και στην υψηλή δόση. Για τα υπόλοιπα συστατικά δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στην απωθητικότητα, τόσο στην υψηλή όσο και στη χαμηλή δόση, καθώς ο αριθμός προσγειώσεων κυμάνθηκε συνολικά από 10,6 έως 16,6 προσγειώσεις κατά τη διάρκεια των 5 λεπτών έκθεσης του χεριού εντός του κλωβού.

(α) "Υψηλή" δόση (0,4 mg/ cm²)



(β) "Χαμηλή" δόση (0,2 mg/ cm²)



Διάγραμμα 11. Αποθητική δράση των ουσιών (αιθερίων ελαίων *C. sinensis* και *C. limon*, και 8 κύριων ή/και δευτερευόντων συστατικών) εναντίον τελείων του *Ae. albopictus* στην «υψηλή» δόση 0,4 mg/ cm² (α) και στη «χαμηλή» δόση 0,2 mg/ cm² (β) για κάθε ουσία: Μέσος αριθμός προσγειώσεων για 5 λεπτά έκθεσης. Οι μέσοι όροι σε μια στήλη που φέρουν διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά ($P < 0,05$), Mann-Whitney U-test.

4.1.4.2 Βιοδοκιμές τοξικής δράσης στις προνύμφες και αποθητικής δράσης στα τέλεια του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Cupressaceae

4.1.4.2.1 Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων

Στον Πίνακα 9 που ακολουθεί εμφανίζεται η χημική σύσταση για κάθε αιθέριο έλαιο της οικογένειας Cupressaceae που εξετάστηκε στην παρούσα μελέτη, με την ποσοστιαία (%) περιεκτικότητα των συστατικών, όπως προέκυψε από την φυτοχημική ανάλυση με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC/GC-MS). Με τη φυτοχημική ανάλυση, από το σύνολο των οκτώ αιθερίων ελαίων, εντοπίστηκε σχεδόν το σύνολο των συστατικών τους σε ποσοστά που κυμαίνονταν από 95,7 – 99,9%, ενώ ανιχνεύθηκαν συνολικά 125 συστατικά. Μάλιστα, η χημική σύσταση του αιθερίου ελαίου από φύλλα του φυτού *Ch. lawsoniana* αναλύθηκε για πρώτη φορά διεθνώς.

Πίνακας 9. Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων από οκτώ (8) φυτά της οικ. Cupressaceae. Ποσοστιαία περιεκτικότητα (%) κάθε συστατικού για κάθε αιθέριο έλαιο.

Συστατικά	RI	CARL	CBEL	CMAL	CSEL	CTOL	CLAL	JPHL	TARL
tricyclene	924	-	-	-	-	-	-	tr	1,7
<i>a</i> -thujene	928	tr	2,6	2,1	tr	tr	0,8	-	-
<i>a</i> -pinene	937	17,1	9,1	19,5	54,1	27,9	2,9	31,3	26,4
<i>a</i> -fenchene	950	-	tr	-	tr	1,2	-	0,8	-
camphene	952	tr	1,6	0,6	tr	0,3	tr	0,4	1,9
thuja-2,4(10)-diene	958	-	tr	-	-	-	tr	tr	0,1
verbenene	965	-	tr	-	tr	tr	-	-	-
sabinene	973	2,8	6,5	21,8	2,4	tr	5,4	tr	0,4
β -pinene	977	tr	0,8	2,7	2,5	1,9	tr	1,6	0,8
myrcene	988	1,6	3,0	4,1	4,6	3,3	1,6	4,8	3,3
α -phellandrene	1000	-	-	tr	-	-	tr	tr	-
δ -3-carene	1009		9,5	tr	10,8	21,4	-	12,5	tr
<i>a</i> -terpinene	1015	tr	1,7	5,7	tr	tr	tr	0,3	tr
<i>p</i> -cymene	1022	1,5	tr	tr	tr	0,6	-	1,0	tr
limonene	1027	7,4	13,0	1,7	3,2	3,1	18,5	-	8,7
β -phellandrene	1028	1,0	-	0,9	tr	0,4	-	13,0	-
(<i>Z</i>)- β -ocimene	1035	-	0,9	-	-	-	-	-	-
(<i>E</i>)- β -ocimene	1048		tr	-	tr	tr	tr	tr	-
γ -terpinene	1057	1,5	2,2	7,9	1,0	0,4	1,7	0,7	0,4
<i>cis</i> -sabinene hydrate	1068	tr	tr	0,4	-	-	tr	-	-
terpinolene	1086	tr	1,6	2,8	4,1	4,3	0,8	1,9	0,6
fenchone	1084	-	tr	-	-	-	tr	-	-
ρ -cymenene	1089	-	0,5	-	tr	tr	tr	tr	tr
linalool	1094	tr	-	0,8	tr	tr	-	tr	tr
<i>trans</i> -sabinene hydrate	1096	-	tr	tr	-	-	0,5	-	-
<i>n</i> -nonanal	1098	tr	tr	tr	-		-	-	-
1,3,8- ρ -menthatriene	1108	tr	tr	tr	-	-	tr	-	-

<i>trans</i> -thujone	1112	tr	tr	tr	-	-	tr	-	-
<i>cis</i> - ρ -menth-2-en-1-ol	1119	tr	0,4	1,3	-	-	0,6	0,5	-
α -campholenal	1124	-	-	-	tr	tr	-	0,2	0,7
<i>trans</i> - p -mentha-2-en-1-ol	1138	-	-	0,9	tr	-	tr	tr	-
<i>trans</i> -pinocarveol	1133	-	-	-	-	-	-	0,5	-
camphor	1144	2,8	1,0	-	-	-	tr	tr	9,5
camphene hydrate	1147	-	-	-	-	-	-	tr	0,7
citronellal	1151	-	-	0,6	-	-	-	-	-
pinocarvone	1162	tr	-	-	tr	-	-	tr	tr
borneol	1167	-	-	tr	tr	-	-	-	4,7
ρ -mentha-1,5-dien-8-ol	1168	-	0,8	-	-	-	-	tr	-
umbellulone	1169	8,0	15,9	-	-	-	tr	-	-
<i>cis</i> -pinocamphone	1173	-	-	-	-	-	-	tr	-
terpinen-4-ol	1175	3,5	4,1	18,9	1,5	tr	6,9	0,3	1,0
ρ -cymen-8-ol	1181	tr	0,7	-	tr	-	tr	-	tr
thuj-3-en-10-al		-	-	-	-	-	-	-	1,0
α -terpineol	1186	tr	-	2,0	tr	tr	-	-	-
(4 <i>Z</i>)-decenal	1191	-	-	-	-	-	1,0	-	-
α -terpineol		-	0,7	-	-	-	0,6	-	-
γ -terpineol	1197	-	-	-	-	-	-	0,9	-
verbenone	1203	-	tr	-	-	-	-	tr	tr
<i>trans</i> -piperitol	1206	-	0,6	0,5	-	-	tr	tr	-
<i>trans</i> -carveol	1214	tr	-	-	-	-	-	tr	tr
<i>endo</i> -fenchyl acetate	1218	-	-	-	-	-	tr	tr	tr
citronellol	1223	-	-	1,1	-	-	tr	tr	-
thymol, methyl ether	1233	tr	1,1	tr	tr	0,4	tr	tr	-
carvone	1241	-	tr	tr	-	-	tr	-	tr
car-3-en-2-one	1246	-	tr	-	-	-	-	-	-
piperitone	1250	tr	tr	tr	-	-	-	0,9	-
(4 <i>Z</i>)-decen-1-ol	1257	-	-	-	-	-	0,7	-	-
perilla aldehyde	1269	-	-	-	-	-	0,6	-	-
isopulegyl acetate	1275	-	-	-	-	-	-	0,8	-
isobornyl acetate	1283	-	-	-	tr	tr	-	tr	-
bornyl acetate	1286	tr	0,9	tr	-	-	0,8	-	25,3
thymol	1288	tr	2,6	-	-	-	-	-	-
3-thujanol acetate	1292	-	0,4	-	-	-	-	-	-
methyl myrtenate	1293	-	-	-	-	-	9,7	-	-
carvacrol	1297	-	tr	tr	-	-	-	tr	-
α -terpinyl acetate	1347	1,4	5,0	-	5,5	5,9	2,7	12,5	1,3
α -copaene	1375	-	tr	-	tr	-	-	tr	tr
geranyl acetate	1378	-	-	tr	-	-	tr	-	-
β -elemene	1387	-	-	tr	-	-	0,4	tr	-
sibirene	1397	-	-	-	-	-	-	-	0,4
(E)-caryophyllene	1416	-	-	tr	tr	tr	tr	0,6	1,4
2,5-dimethoxy- ρ -cymene	1423	-	-	-	-	-	-	0,4	-
<i>cis</i> -muurola-3,5-diene	1447	6,5	tr	-	-	-	0,7	-	tr
<i>trans</i> -muurola-3,5-diene	1450	15,5	-	-	-	-	-	0,3	-
α -humulene	1451	tr	tr	-	tr	tr	tr	0,6	0,4
<i>cis</i> -cadina-1(6),4-diene	1460	-	tr	-	-	-	1,6	tr	-

<i>trans</i> -cadin-1(6),4-diene	1473	-	-	-	-	tr	-	0,9	-
γ -muurolene	1476	-	tr	-	-	tr	tr	tr	tr
germacrene D	1482	-	-	tr	2,4	-	tr	1,3	0,6
β -selinene	1487	-	-	tr	-	-	tr	tr	-
<i>trans</i> -muurola-4(14),5-diene	1490	-	-	-	-	-	-	0,7	tr
<i>epi</i> -cubebol	1492	-	-	-	-	-	-	0,6	tr
epizonarene		-	-	-	-	-	0,5	-	-
α -muurolene	1498	5,6	tr	-	tr	-	-	tr	tr
γ -cadinene	1510	-	tr	-	tr	tr	tr	-	tr
cubebol	1512	-	-	-	-	tr	-	1,5	-
<i>trans</i> -calamene	1519	5,2	-	-	-	-	-	-	-
δ -cadinene	1520	tr	0,7	tr	tr	-	1,0	1,0	0,4
10- <i>epi</i> -cubebol	1532	-	-	-	-	-	0,7	-	-
<i>a</i> -cadinene	1536	-	tr	-	-	-	tr	tr	tr
<i>a</i> -calacorene	1542	tr	tr	-	-	tr	tr	tr	tr
<i>a</i> -calacorene	1543	tr	tr	-	-	tr	tr	tr	tr
<i>cis</i> -muurol-5-en-4- β -ol	1549	1,8	-	-	-	-	tr	-	-
<i>cis</i> -muurol-5-en-4- α -ol	1557	1,2	-	-	-	-	tr	-	-
germacrene B	1558	-	tr	tr	-	-	-	0,7	-
(<i>E</i>)-nerolidol	1561	-	-	0,4	-	-	-	-	tr
β -calacorene	1562	tr	tr	-	-	tr	tr	tr	-
spathulenol	1575	tr	tr	-	-	tr	tr	-	tr
caryophyllene oxide	1580	-	0,9	-	-	tr	tr	0,3	1,6
cedrol	1597	tr	-	tr	4,9	12,5	-	-	-
β -oplophenone	1604	tr	tr	-	-	-	2,4	tr	tr
humulene epoxide II	1605	-	tr	-	-	-	-	tr	0,4
1,10- <i>di-epi</i> -cubenol	1616	-	tr	-	-	-	0,4	-	tr
1- <i>epi</i> -cubenol	1626	-	-	-	-	-	-	2,4	3,3
<i>a</i> -acorenol	1630	3,3	tr	-	-	tr	-	-	-
β -acorenol	1634	tr	tr	-	-	tr	-	-	-
<i>epi</i> - α -cadinol	1637	tr	tr	tr	-	tr	-	-	0,8
<i>epi</i> - α -muurolol	1639	tr	tr	tr	tr	tr	-	tr	0,2
cubenol	1642	-	-	-	-	-	-	0,2	-
<i>a</i> -muurolol	1643	-	tr	-	tr	tr	-	-	tr
<i>a</i> -cadinol	1651	2,0	1,2	-	tr	tr	0,7	1,0	0,7
germacra-4(15),5,10(14)-trien-1- α -ol	1682	-	-	-	-	-	tr	-	0,5
<i>a</i> -bisabolol	1683	-	tr	tr	-	-	tr	-	-
<i>cis</i> -14- <i>nor</i> -muurol-5-en-4-one	1685	7,2	tr	-	-	-	tr	-	-
shyobunol	1686	-	-	-	-	-	-	1,0	-
(<i>Z</i>)-nuciferol	1721	-	0,6	-	-	-	-	-	-
oplopanonyl acetate	1883	-	0,5	-	-	-	15,9	-	-
beyerene	1927	-	-	-	-	-	17,1	-	-
pimaradiene	1945	-	tr	tr	2,9	1,0	tr	tr	-
isophyllocladene	1963	-	tr	1,6	-	-	-	-	-
manool oxide	1983	tr	0,6	-	-	1,0	0,5	-	-
abietatriene	2052	tr	0,7	tr	tr	4,5	tr	tr	tr

abietadiene	2083	3,0	3,5	-	-	-	-	tr	-
nezuol	2129	-	1,3	-	-	-	-	-	-
abienol	2145	-	tr	-	tr	1,5	-	-	-
phyllocladanol	2206	-	tr	0,8	-	-	-	-	-
sempervirol	2279	-	tr	tr	-	0,7	-	-	-
trans-totarol	2310	-	tr	-	-	3,4	tr	tr	-
Σύνολο		99,9	97,2	99,1	99,9	95,7	97,0	99,1	99,2

tr: συγκέντρωση <0.1%.

Συντομογραφίες που χρησιμοποιήθηκαν για τα αιθέρια έλαια: *Cupressus arizonica* (CARL), *C. benthamii* (CBEL), *C. macrocarpa* (CMAL), *C. sempervirens* (CSEL), *C. torulosa* (CTOL), *Chamaecyparis lawsoniana* (CLAL), *Juniperus phoenicea* (JPHL) και *Tetraclinis articulata* (TARL)

4.1.4.2 Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών

Η τοξική δράση των αιθερίων ελαίων των οκτώ κυπαρισσοειδών ειδών φυτών (οικ. Cupressaceae) εναντίον των προνυμφών 3^{ης}- 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*, παρουσιάζεται στον παρακάτω **Πίνακα 10**. Η βιολογική δράση του συνόλου των αιθερίων ελαίων επί των προνυμφών του *Ae. albopictus*, με την εφαρμογή τους στο νερό, ήταν δοσο-εξαρτημένη, δηλαδή η αύξηση των δόσεων προκαλούσε αυξημένη θνησιμότητα στις προνύμφες των κουνουπιών. Μεταξύ των αιθερίων ελαίων που δοκιμάστηκαν, την υψηλότερη προνυμφοκτόνο δράση εμφάνισε εκείνο που απομονώθηκε από το φυτό *C. benthamii*, σημειώνοντας σχετικά χαμηλή τιμή $LC_{50} = 37,5$ mg/ lt. Αντίθετα, η ασθενέστερη τοξική δράση καταγράφηκε μετά την εφαρμογή του αιθερίου ελαίου από το φυτό *T. articulata*, με τιμές $LC_{50} = 70,6$ mg/ lt και LC_{90} περίπου 100 mg/ lt. Η εφαρμογή των υπολοίπων αιθερίων ελαίων είχε μάλλον μέτρια αποτελεσματικότητα εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus*, δεδομένου ότι οι LC_{50} τιμές κυμάνθηκαν από 47,9 έως 64,8 mg/ lt.

Πίνακας 10. LC₅₀ και LC₉₀ τιμές για τα 8 αιθέρια έλαια της οικ. Cupressaceae εναντίον προνυμφών 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*

Αιθέριο έλαιο	Κλίση ευθείας (±Τ.Σ.)	LC ₅₀ (95% O.E.) ^α	LC ₉₀ (95% O.E.) ^α	X ^{2β}	B.E.
<i>Cupressus arizonica</i>	6,8±0,6	64,8 (62,9-66,6)	78,2 (75,4-82,0)	16,782	16
<i>Cupressus macrocarpa</i>	6,9±0,6	54,6 (52,2-57,0)	84,0 (78,6-91,7)	27,685	25
<i>Cupressus sempervirens</i>	3,6±0,4	54,7 (58,9-65,0)	78,1 (73,4-84,9)	24,771	16
<i>Chamaecyparis lawsoniana</i>	10,2±0,9	47,9 (46,0-49,7)	64,0 (61,0-68,1)	10,895	19
<i>Cupressus torulosa</i>	7,8±0,8	57,1 (54,1-59,9)	83,5 (78,1-91,6)	22,844	16
<i>Cupressus benthamii</i>	14,9±1,4	37,5 (36,5-38,7)	45,8 (43,8-48,5)	16,740	13
<i>Juniperus phoenicea</i>	9,0±0,8	55,5 (53,0-58,0)	77,0 (72,6-83,1)	15,053	16
<i>Tetraclinis articulata</i>	3,8±0,4	70,6 (67,4-73,8)	99,0 (93,1-107,7)	20,516	16

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

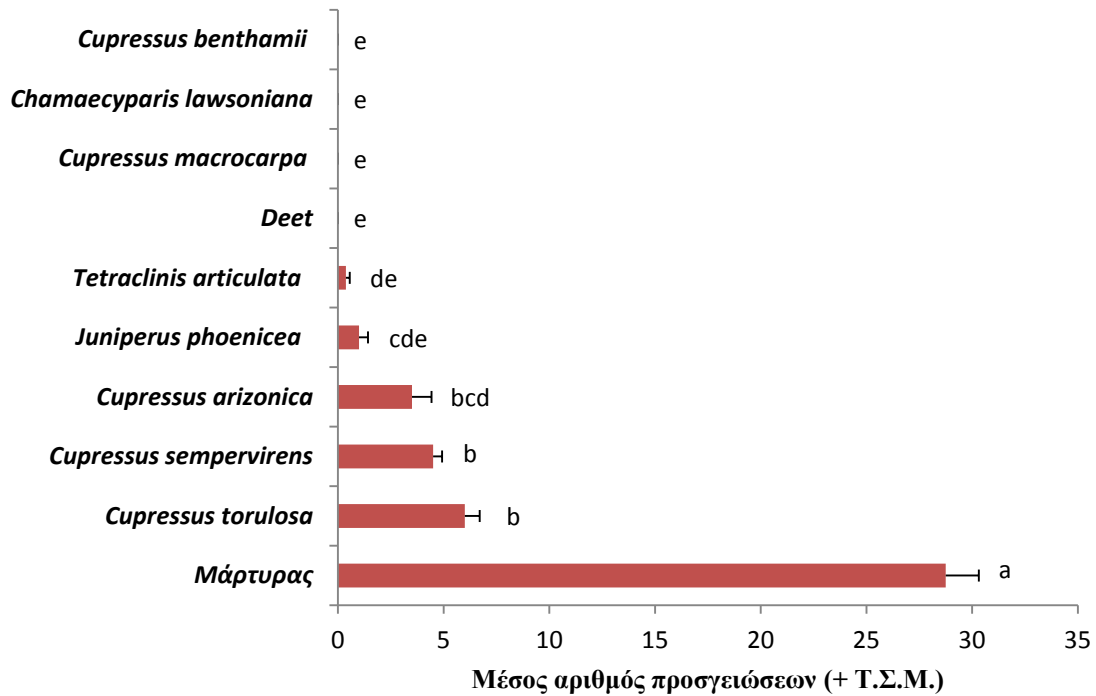
^β Από τη στιγμή που η καλή προσαρμογή των δοκιμών είναι σημαντική ($P < 0,05$), ένας ετερογενής παράγοντας χρησιμοποιείται για τον υπολογισμό των ορίων εμπιστοσύνης (O.E.).

4.1.4.2.3 Αποθητική δράση εναντίον των τελείων

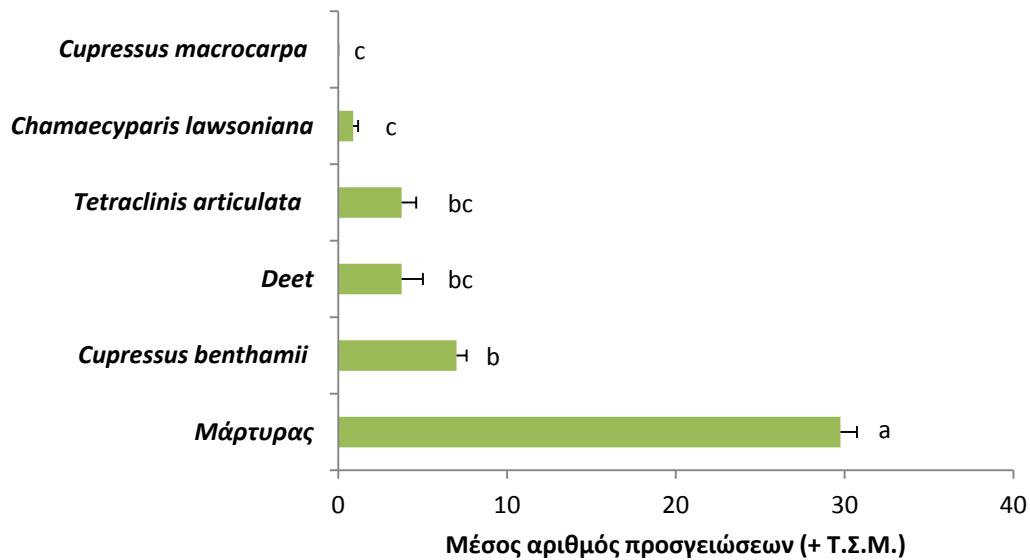
Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στον αριθμό προσγειώσεων των κουνουπιών τόσο στην υψηλή δόση, μεταξύ των 10 διαφορετικών μεταχειρίσεων (8 αιθερίων ελαίων + 1 μάρτυρας + 1 μάρτυρας αναφοράς), όσο και στη χαμηλή δόση, μεταξύ των 6 διαφορετικών μεταχειρίσεων (4 αιθερίων ελαίων + 1 μάρτυρας + 1 μάρτυρας αναφοράς), για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$ ($X^2 = 70,888$; B.E.= 9, $P < 0,001$; $X^2 = 36,391$, B.E.=5, $P < 0,001$, για την “χαμηλή” και την “υψηλή” δόση, αντίστοιχα) (**Διάγραμμα 12**). Στον μάρτυρα καταγράφηκε συγκριτικά με τις υπόλοιπες επεμβάσεις υψηλός αριθμός προσγειώσεων κουνουπιών (28,8 προσγειώσεις), ενώ ο

μάρτυρας αναφοράς (Deet) παρείχε απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις) στην «υψηλή» δόση ($\approx 0,2 \text{ mg/ cm}^2$) και ασθενέστερη προστασία (3,8 προσγειώσεις) στη συμπληρωματική «χαμηλή» δόση ($\approx 0,08 \text{ mg/ cm}^2$). Στην «υψηλή» δόση οι βιοδοκιμές έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια των φυτών *C. benthamii*, *Ch. lawsoniana* και *C. macrocarpa* παρείχαν απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις) και ότι τα αιθέρια έλαια από τα φυτά *T. articulata* και *J. phoenicea* είχαν και αυτά ισχυρή απωθητική δράση εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus*. Τα αιθέρια έλαια που απομονώθηκαν από τα φυτά *C. arizonica*, *C. sempervirens* και *C. torulosa* σημείωσαν ασθενέστερη απωθητικότητα, αλλά παρείχαν και αυτά επαρκή προστασία από τα τέλεια κουνούπια (3,5 – 6 προσγειώσεις), συγκρινόμενα με την απωθητική δράση του Deet και τις προσγειώσεις στον χωρίς επέμβαση μάρτυρα. Μετά την εφαρμογή της «χαμηλής» δόσης (2,5 φορές μικρότερη από την «υψηλή»), το αιθέριο έλαιο του *C. macrocarpa* καταγράφηκε ως το καλύτερο απωθητικό, ακολουθούμενο από τα αιθέρια έλαια των φυτών *Ch. lawsoniana*, *T. articulata* και *C. benthamii* (0, 1, 4 και 7 προσγειώσεις, αντίστοιχα).

(α) "Υψηλή" δόση (0,2 mg/ cm²)



(β) "Χαμηλή" δόση (0,08 mg/ cm²)



Διάγραμμα 12. Αποθητική δράση των αιθερίων ελαίων της οικ. Cupressaceae και του Deet εναντίον τελείων του *Ae. albopictus* στην «υψηλή» δόση 0,2 mg/ cm² (α) και στη «χαμηλή» δόση 0,08 mg/ cm² (β) για κάθε ουσία: Μέσος αριθμός προσγειώσεων για 5 λεπτά έκθεσης. Οι μέσοι όροι σε μια στήλη που φέρουν διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά (P < 0,05), Mann-Whitney U-test.

4.1.4.3 Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* και των δραστικών τους συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα τέλεια του *Ae. albopictus*

4.1.4.3.1 Ανάλυση χημικής σύστασης αιθερίων ελαίων

Στον **Πίνακα 11** που ακολουθεί, εμφανίζεται η χημική σύσταση για κάθε αιθέριο έλαιο της οικογένειας *Lamiaceae* που εξετάστηκε στην παρούσα μελέτη, με την ποσοστιαία (%) περιεκτικότητα των συστατικών, όπως προέκυψε από την φυτοχημική ανάλυση με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC/GC-MS). Με τη φυτοχημική ανάλυση, από το σύνολο των δεκατεσσάρων (14) αιθερίων ελαίων, εντοπίστηκε σχεδόν το σύνολο των συστατικών τους σε ποσοστά που κυμαίνονταν από 82,5 – 99 %, ενώ ανιχνεύθηκαν συνολικά 93 συστατικά.

Πίνακας 11. Χημική σύσταση των αιθερίων ελαίων από δεκατέσσερα (14) φυτά της οικ. Lamiaceae. Ποσοστιαία περιεκτικότητα (%) κάθε συστατικού για κάθε αιθέριο έλαιο.

Συστατικά	Σχετική ποσοστιαία (%) σύσταση													
	Mint	Spic1	Spic2	Pul1	Pul2	Rosm	Melo	Satu	Lava	Basil	Dict	Majo	Oreg	Thym
	EO1	EO2	EO3	EO4	EO5	EO6	EO7	EO8	EO9	EO10	EO11	EO12	EO13	EO14
3-methyl cyclohexanone ^a	-	-	-	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -thujene	-	-	-	-	-	-	-	1,2	-	-	-	0,2	0,1	-
α -pinene ^a	0,4	0,6	0,2	-	0,1	6,0	-	2,4	0,4	0,3	0,2	-	0,6	0,6
camphene	-	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-	-	0,2	0,1
sabinene	-	-	0,2	-	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-octen-3-ol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3	0,2
β -pinene ^a	1,0	0,3	1,1	-	-	0,3	-	1,0	-	0,6	0,3	0,3	-	-
β -myrcene	0,1	-	0,9	-	-	0,1	-	3,2	0,1	-	-	-	1,0	1,3
δ -2-carene	-	-	-	-	-	-	-	2,0	-	-	-	-	-	-
α -phellandrene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2
<i>iso</i> -sylvestrene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1
α -terpinene	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	4,5	0,8	1,1
<i>p</i>-cymene (π-κυμένιο)	-	-	-	-	-	-	-	13,7	0,1	-	22,1	1,9	7,9	6,3
limonene ^a	-	-	1,6	1,4	3,8	-	-	-	0,3	-	-	-	-	-
sylvestrene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,6	-	-
eucalyptol^a (ευκαλυπτόλη)	6,8	9,2	10,0	-	-	71,7	-	-	-	7,2	-	-	-	-
<i>Z</i> - β -ocimene	-	-	-	-	-	-	-	-	8,3	-	-	-	-	-
<i>E</i> - β -ocimene	-	-	-	-	-	-	-	-	3,4	0,9	-	-	-	-
γ-terpinene^a (γ-τερπινένιο)	0,5	0,5	-	-	-	-	-	32,4	0,2	-	12,1	8,4	4,1	3,4
sabinene hydrate (cis)	1,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-
terpinolene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4	0,2	0,2
Linalool (λιναλοόλη)	0,3	-	0,1	-	-	-	2,2	-	25,4	35,7	2,0	7,6	0,2	1,1
sabinene hydrate (trans)	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
menth-2-en-1-ol (cis)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-
ocimene- <i>allo</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-	-
menth-2-en-1-ol (trans)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-

camphor	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	0,5	-	-	-	-
terpinen-1-ol	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-	-	-
menthone^{a*} (μενθόνη)	32,1	-	-	4,7	1,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-
citronellal	-	-	-	-	-	-	3,8	-	-	-	-	-	-	-
iso-menthone ^{a*}	6,4	-	-	13,2	0,5	-	1,1	0,1	-	-	-	-	-	-
neo-menthol	-	-	-	-	-	-	-	0,1	-	-	-	-	-	-
borneol	-	-	-	-	-	9,8	-	-	2,2	-	-	-	0,4	-
menthol^{a*} (μενθόλη)	26,8	-	-	-	-	-	3,1	-	-	-	-	-	-	-
terpinen-4-ol^a (τερπινέν-4-όλη)	-	0,5	0,5	-	-	0,6	-	0,6	7,2	0,4	0,8	12,2	0,8	0,9
iso-menthol	0,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -terpineol	0,5	-	0,2	-	-	3,0	-	0,2	2,2	1,3	-	3,6	-	-
cis-dihydro carvone ^b	-	1,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
methyl chavicol (μεθύλ χαβικόλη)	-	-	-	-	-	-	2,2	-	-	16,3	-	-	-	-
isopulegone ^b	-	-	-	2,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
octenol acetate	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-	-
trans-carveol ^b	-	1,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
citronellol	-	-	-	-	-	-	1,8	-	-	-	-	-	-	-
nerol	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	-	-
pulegone^{a*} (πουλεγκόνη)	0,3	-	-	62,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
neral (νεράλη)	-	-	-	-	-	-	11,3	-	-	-	-	-	-	-
carvone^{a*} (καρβόνη)	-	72,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
carvacrol methyl ether	-	-	-	-	-	-	-	0,2	-	-	-	-	0,5	-
thymoquinone	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4
geraniol	-	-	-	-	-	-	3,7	-	-	1,1	-	-	-	-
pipéritone^{a*} (πιπεριτόνη)	1,3	-	-	1,3	92,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pipéritone epoxide (εποξείδιο της πιπεριτόνης)	-	-	23,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
linalyl acetate (οξικός λιναλοϋλεστέρας)	-	-	-	-	-	-	-	-	25,6	-	-	2,6	-	-
geranial (γερανιάλη)	-	-	-	-	-	-	13,2	-	-	-	-	-	-	-

anethol (<i>E</i>)	-	-	-	-	-	-	2,5	-	-	-	-	-	-	-
isopulegyl acetate	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-	-	-	-
isobornyl acetate	-	-	-	-	-	1,1	-	-	-	-	-	-	-	-
bornyl acetate	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-
lavandulyl acetate	-	-	-	-	-	-	-	-	7,4	-	-	-	-	-
thymol (θυμόλη)	-	-	1,4	-	-	-	-	0,3	-	-	-	-	2,7	75,6
menthyl acetate	2,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
carvacrol (καρβακρόλη)	3,1	-	-	-	-	-	3,9	32,4	-	-	58,7	50,7	74,8	-
methyl geranate	-	-	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-	-	-	-
pipерitenone^{a*} (πιπεριτενόνη)	-	-	4,5	4,4	0,3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
eugenol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2,5	-	-	-	0,1
neryl acetate	-	-	-	-	-	-	-	-	0,7	-	-	-	-	-
pipерitenone epoxide^b (εποξείδιο της πιπεριτενόνης)	-	-	41,0	1,6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α -copaene	0,1	-	-	-	-	-	0,9	-	-	0,3	-	-	-	-
geranyl acetate	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	-	-	0,3	-	-
β -damascenone (<i>E</i>)	-	-	-	-	-	-	0,8	-	-	-	-	-	-	-
β -cubebene	0,2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -bourbonene ^b	1,0	1,6	-	0,2	0,1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β -elemene ^b	0,4	0,9	1,2	-	-	-	-	-	-	3,5	-	-	-	-
jasmone	-	-	0,4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β-caryophyllene^a (β-καρυοφυλλένιο)	3,5	2,5	0,4	-	-	-	9,5	0,7	6,4	0,4	1,5	2,1	2,0	4,3
α -bergamotene- <i>trans</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	0,2	7,8	-	-	-	-
α -guaiene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,4	-	-	-	-
β -farnesene ^a	0,8	0,3	-	-	-	-	-	-	3,9	0,2	-	-	-	-
α -caryophyllene	-	-	-	-	-	-	0,9	0,1	-	1,2	-	-	0,3	0,2
germacrene D ^b	4,3	1,3	1,0	0,1	-	-	0,9	-	0,4	3,1	-	-	-	-
β -ionone (<i>E</i>)	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-	-	-	-
bicyclgermacrene ^b	0,6	0,9	-	-	-	-	-	-	-	1,0	-	-	-	-
α -bulnesene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1,3	-	-	-	-
β -bisabolene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,4	1,0	0,9

α -bisabolene	-	-	-	-	-	-	-	1,6	-	-	-	-	-	0,8
γ -cadinene	-	-	-	-	-	-	-	-	0,1	2,3	-	-	-	-
β -sesquiphellandrene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,6	-	-	-	-
δ -cadinene	0,2	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-	-	0,2	0,1
maaliol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	-	-
caryophyllene oxide ^a	-	0,3	-	-	-	-	14,5	0,5	0,2	-	-	-	0,6	0,6
ledol	1,7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,10-di-epi-cadinol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,5	-	-	-	-
α -cadinol	-	-	-	-	-	-	0,9	-	-	1,6	-	-	-	-
Σύνολο	97,9	93,7	88,5	91,5	99,0	94,4	82,5	92,7	98,3	96,2	99,0	99,3	98,7	98,5
Ποσότητα ελαίου**	2,9	1,6	1,4	2,2	2,3	1,3	0,2	2,8	2,1	1,8	2,2	5,0	4,3	3,5

Συντομογραφίες που χρησιμοποιήθηκαν για τα αιθέρια έλαια: *Mentha piperita* (Mint), *Mentha spicata* I (Spic1), *Mentha spicata* II (Spic2), *Mentha pulegium* I (Pul1), *Mentha pulegium* II (Pul2), *Rosmarinus officinalis* (Rosm), *Mellisa officinalis* (Melo), *Satureja thymbra* (Satu), *Lavandula angustifolia* (Lava), *Ocimum basilicum* (Basil), *Origanum dictamnus* (Dict), *Origanum majorana* (Majo), *Origanum vulgare* (Oreg) και *Thymus vulgaris* (Thym).

** Η ποσότητα αιθερίου ελαίου εκφρασμένη σε ml αιθερίου ελαίου / 100 gr. ξηρού βάρους.

4.1.4.3.2 Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών

Η τοξική δράση των αιθερίων ελαίων των δεκατεσσάρων (14) ειδών φυτών της οικ. *Lamiaceae* καθώς και των εικοσιτεσσάρων (24) συνολικά τερπενίων/ συστατικών τους, συμπεριλαμβανομένων των ισομερών μορίων σε ορισμένα, εναντίον των προνυμφών 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*, παρουσιάζεται στον παρακάτω **Πίνακα 12**. Η βιολογική δράση του συνόλου των ουσιών, αιθερίων ελαίων ή τερπενίων, επί των προνυμφών του *Ae. albopictus*, με την εφαρμογή τους στο νερό, ήταν δοσο-εξαρτημένη, δηλαδή η αύξηση των δόσεων προκαλούσε αυξημένη θνησιμότητα στις προνύμφες των κουνουπιών.

Μεταξύ των αιθερίων ελαίων που δοκιμάστηκαν, την υψηλότερη προνυμφοκτόνο δράση εμφάνισαν εκείνα που απομονώθηκαν από το φυτό *Thymus vulgaris* και τα είδη του γένους *Origanum*. Ειδικότερα, η ισχυρότερη τοξική δράση καταγράφηκε από τα είδη *T. vulgaris* και *O. vulgare*, με αρκετά χαμηλές τιμές $LC_{50} = 20,5$ και $23,5$ mg/ lt, αντίστοιχα. Σημαντική προνυμφοκτόνο δράση σημείωσε, επίσης, το αιθέριο έλαιο του *O. dictamnus* ($LC_{50} = 27,4$ mg/ lt), ακολουθούμενο από το *O. majorana* ($LC_{50} = 39,5$ mg/ lt). Η δράση του αιθερίου ελαίου από το φυτό *S. thymbra* ήταν ασθενέστερη αλλά αρκετά ικανοποιητική ($LC_{50} = 53,3$ mg/ lt), ενώ η εφαρμογή των αιθερίων ελαίων από τα φυτά *M. piperita* και των δύο χημειοτύπων του *M. spicata* είχε μάλλον μέτρια αποτελεσματικότητα εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus*, δεδομένου ότι οι LC_{50} τιμές κυμάνθηκαν από 60,3 έως 74,4 mg/ lt. Τα υπόλοιπα αιθέρια έλαια είχαν φτωχή τοξική δράση, καθώς για τη θνησιμότητα του 50% των προνυμφών απαιτήθηκαν δόσεις μεγαλύτερες από 100 mg/ lt.

Όσον αφορά στην προνυμφοκτόνο δράση των κύριων συστατικών των αιθερίων ελαίων οι πιο δραστικές ουσίες ήταν η θυμόλη, η καρβακρόλη, το π -κυμένιο, το εποξειδίο της πιπεριτενόνης και το γ -τερπινένιο καθώς οι LC_{50} τιμές τους ήταν αρκετά χαμηλές και κυμάνθηκαν από 12,9 έως 23,9 mg/ lt, με πιο τοξικά τη θυμόλη και καρβακρόλη με LC_{50} γύρω στο 13 mg/ lt. Λιγότερο αποτελεσματική, αλλά ικανοποιητική, ήταν η προνυμφοκτόνος δράση της μενθόλης, μενθόνης, πουλεγκόνης, γερανιάλης, του οξικού λιναλουϊλεστέρα και της μεθυλ-γαβικόλης δεδομένου ότι οι LC_{50} τιμές τους κυμάνθηκαν από 44,1 έως και 84,2 mg/ lt. Η εφαρμογή των υπόλοιπων συστατικών είχε φτωχή έως καθόλου τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus*, καθώς για τη θνησιμότητα του 50% των προνυμφών απαιτήθηκαν δόσεις μεγαλύτερες από 100 ή 200 mg/ lt.

Πίνακας 12. LC₅₀ και LC₉₀ τιμές για τα 14 αιθέρια έλαια της οικ. Lamiaceae και των 24 κύριων συστατικών τους εναντίον προνυμφών 3^{ης}–4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*.

A/α	Αιθέριο έλαιο	Κλίση ευθείας (±T.Σ.)	LC ₅₀ (95% O.E.) ^α	LC ₉₀ (95% O.E.) ^α	χ ^{2β}	B.E.
1	<i>Mentha piperita</i>	9,67±0,79	60,3 (58-62,6)	81,8 (77,6-87,4)	18,938	19
2	<i>Mentha spicata</i> I	10,56±0,99	74,4 (71,8-77,1)	98,4 (93,4-105,7)	15,854	16
3	<i>Mentha spicata</i> II	11,11±1,13	66,1 (63,6-68,4)	86,2 (82-92,2)	13,805	16
4	<i>Mentha pulegium</i> I	10,15±1,04	100,2 (96,1-103,9)	134,1 (127,7-143,5)	23,567	16
5	<i>Mentha pulegium</i> II	12,53±1,38	147,5 (138,7-154,9)	186,7 (175,4-207,9)	25,141 ^β	13
6	<i>Rosmarinus officinalis</i>	6,23±0,55	104,6 (99,1-110,1)	167,9 (155,2-186,5)	19,906	19
7	<i>Mellisa officinalis</i>	9,54±0,79	128,8 (124-133,6)	175,4 (166,3-188,1)	28,422	19
8	<i>Satureja thymbra</i>	8,49±0,86	53,3 (50,5-56)	75,5 (70,8-82,2)	20,260	13
9	<i>Lavandula angustifolia</i>	10,70±1,07	142,9 (137,6-147,9)	188,3 (179,3-201,4)	21,847	16
10	<i>Ocimum basilicum</i>	6,34±0,60	107,7 (98,9-116,2)	171,5 (152,8-207,6)	39,533 ^β	19
11	<i>Origanum dictamnus</i>	4,02±0,34	27,4 (25-29,9)	57,1 (50,5-67)	18,827	19
12	<i>Origanum majorana</i>	4,51±0,42	39,5 (36,5-42,5)	76,1 (68,6-87,5)	28,530	19
13	<i>Origanum vulgare</i>	5,01±0,51	23,5 (20,2-26,5)	42,3 (36,7-52,9)	23,303 ^β	13
14	<i>Thymus vulgaris</i>	3,70±0,35	20,5 (18,3-22,8)	45,6 (39,8-54,5)	17,152	16

A/α	Κύρια Συστατικά	Κλίση ευθείας (±T.Σ.)	LC ₅₀ (95% O.E.) ^α	LC ₉₀ (95% O.E.) ^α	χ ^{2β}	B.E.
1	(+)-μενθόλη	3,72±0,52	84,3 (75,6-92,5)	186,1 (156,7-247,7)	10,966	13
2	(-)-μενθόλη	6,76±0,60	70,5 (62,5-79)	109,1 (94,9-137)	34,233 ^β	13
3	(+)-μενθόνη	9,06±0,86	53,9 (50,4-57,7)	74,6 (67,9-86,8)	23,780 ^β	13
4	(-)-μενθόνη	6,45±0,65	59 (55,9-62,2)	93,2 (85,4-105,5)	14,177	16
5	S-(+)-καρβόνη	8,11±0,85	117,8 (108,7-129,1)	169,5 (149,6-213,7)	29,426 ^β	13
6	R-(-)-καρβόνη	7,54±0,81	107,4 (97,9-120,2)	158,9 (137,4-209,8)	30,490 ^β	13
7	εποξειδίο της πιπεριτενόνης	2,65±0,40	23,9 (20,5-27,9)	72,9 (54,6-121,1)	14,312	10
8	R-(+)-πουλεγκόνη	7,01±0,74	64,2 (61,3-67)	97,8 (90,5-109,4)	29,079	19
9	S-(-)-πουλεγκόνη	5,26±0,63	62 (51,9-78,8)	108,7 (83,5-245,8)	59,191 ^β	13
10	(-)-λιναλοόλη	11,2±1,1	169,6 (157,7-184,2)	220,5 (199,4-268,1)	40,791 ^β	13
11	νεράλη	6,83±0,57	113 (107,1-119)	174 (161,2-192,2)	26,529	19
12	γερανιαάλη	5,66±0,55	76 (70,7-81)	128 (117,5-143,6)	24,246	16
13	οξικός λιναλοϋλεστέρας	3,19±0,34	44,1 (33,3-54,2)	111,2 (86,3-173,9)	30,847 ^β	13
14	μεθυλ-χαβικόλη	10,34±1,16	58,7 (53,7-63,1)	78,1 (71,7-90,4)	19,164 ^β	10
15	πιπεριτενόνη	8,93±0,67	162,2 (151-173,2)	225,7 (208,4-252,9)	43,961 ^β	19

A/a	Κύρια Συστατικά	Κλίση ευθείας (±T.Σ.)	LC ₅₀ (95% O.E.) ^α	LC ₉₀ (95% O.E.) ^α	χ ^{2β}	B.E.
16	εποξειδίο της πιπεριτόνης	7,03±0,76	100,5 (94,9-106,3)	152,8 (139,8-173,7)	19,712	13
17	θυμόλη	4,05±0,43	12,9 (11,6-14,2)	26,8 (23,4-32,4)	21,966	13
18	καρβακρόλη	4,04±0,37	13 (11,7-14,3)	27 (24-31,6)	25,711	16
19	π-κυμένιο	7,55±0,65	19,4 (18,2-20,8)	28,8 (26,3-32,8)	30,936 ^β	19
20	γ-τερπινένιο	6,29±0,47	20,2 (19,2-21,2)	32,3 (30,1-35,3)	25,057	25
21	(-)-τερπινέν-4-όλη		>> 200			
22	πιπεριτόνη		>> 200			
23	1,8-κινεόλη		>> 200			
24	β-καρνοφυλλένιο		>> 200			

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

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

4.1.4.3.3 Αποθητική δράση εναντίον των τελείων

Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές στον αριθμό προσγειώσεων των κουνουπιών στην υψηλή δόση για τα αιθέρια έλαια μεταξύ των 16 μεταχειρίσεων ($X^2 = 78,017$; B.E.= 15, $P < 0,0001$) και τα τερπένια μεταξύ των 26 μεταχειρίσεων ($X^2 = 145,771$; B.E.= 25, $P < 0,0001$), στη μέτρια δόση για τα αιθέρια έλαια μεταξύ των 15 μεταχειρίσεων ($X^2 = 79,602$; B.E.= 14, $P < 0,0001$) και τα τερπένια μεταξύ των 14 μεταχειρίσεων ($X^2 = 71,716$; B.E.= 13, $P < 0,0001$) και στη χαμηλή δόση για τα αιθέρια έλαια μεταξύ των 11 μεταχειρίσεων ($X^2 = 52,969$; B.E.= 10, $P < 0,0001$) και τα τερπένια μεταξύ των 10 μεταχειρίσεων ($X^2 = 53,999$; B.E.= 9, $P < 0,0001$).

Όπως φαίνεται και από τον παρακάτω **Πίνακα 13**, όλα τα αιθέρια έλαια, με εξαίρεση το *M. piperita*, όταν δοκιμάστηκαν στην «υψηλή» δόση 0,2 mg ουσίας/ cm² εμφάνισαν απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις) από τα τέλεια του *Ae. albopictus*, όπως και ο χημικός μάρτυρας αναφοράς (Deet), σε σχέση μάλιστα με το χωρίς επέμβαση χέρι (μάρτυρας) όπου καταγράφηκε μεγάλος αριθμός προσγειώσεων. Μειώνοντας 2,5 περίπου φορές τη δόση του αιθερίου ελαίου στην επιφάνεια του διηθητικού χαρτιού («μέτρια δόση»), μετά την εφαρμογή ορισμένων από τα αιθέρια έλαια όπως τα *T. vulgaris*, *O. vulgare*, *M. pulegium* I και *L. angustifolia*, όπως επίσης και του Deet, καταγράφηκαν ορισμένες προσγειώσεις κουνουπιών. Η αποθητικότητα των υπόλοιπων αιθερίων ελαίων (με 0 προσγειώσεις) αξιολογήθηκε και στην μικρότερη δόση των 0,04 mg ουσίας/ cm² όπου καταγράφηκε για όλα ένας μικρότερος ή μεγαλύτερος αριθμός προσγειώσεων, όπως και για το Deet, όμως σημαντικά μικρότερος από τον χωρίς επέμβαση μάρτυρα. Η εφαρμογή της «μικρής» δόσης έδειξε ότι τα αιθέρια έλαια των φυτών *M. officinalis*, *O. dictamus*, *M. spicata* II, *O. mantzuranum* και *S. thymbra* εμφανίζουν καλή αποθητική δράση με λιγότερες από 10 προσγειώσεις ανά 5 λεπτά έκθεσης, ενώ τα *O. mantzuranum* και *S. thymbra* φαίνεται ότι παρέχουν την μεγαλύτερη προστασία από το *Ae. albopictus* (περίπου 2 προσγειώσεις/ 5 λεπτά), συγκρινόμενα με την εφαρμογή του Deet.

Πίνακας 13. Αποθητική δράση των αιθερίων ελαίων φυτών της οικ. Lamiaceae εναντίον τελεείων του *Ae. albopictus* στην «υψηλή» δόση 0,2 mg/ cm², στη «μέτρια» δόση 0,08 mg/ cm² και στη «χαμηλή» δόση 0,04 mg/ cm²: Μέσος αριθμός προσγειώσεων ± Τ.Σ.Μ. στα 5 λεπτά έκθεσης.

Ουσία	Δόση σε mg/ cm ²		
	0,2 (υψηλή)	0,08 (μέτρια)	0,04 (χαμηλή)
Μάρτυρας	52,6±5 a	52,6±5 a	52,6±5 a
<i>Mentha piperita</i>	2±1,1 b	-	-
<i>Thymus vulgaris</i>	0 b	13,7±1,7 b	-
<i>Origanum vulgare</i>	0 b	3±1 c	-
<i>Mentha pulegium I</i>	0 b	1,3±0,5 cd	-
<i>Lavandula angustifolia</i>	0 b	0,7±0,3 cd	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0 b	0 d	17,9±8,4 bc
<i>Mentha pulegium II</i>	0 b	0 d	17,5±2,1 b
<i>Mentha spicata I</i>	0 b	0 d	14±1,3 b
<i>Ocinum basilicum</i>	0 b	0 d	10,2±3,5 bc
<i>Mellisa officinalis</i>	0 b	0 d	5±1,9 cd
<i>Origanum dictamnus</i>	0 b	0 d	5±0,9 cd
<i>Mentha spicata II</i>	0 b	0 d	4,8±0,9 cd
<i>Origanum mantzuranum</i>	0 b	0 d	2,4±1,4 d
<i>Satureja thymbra</i>	0 b	0 d	2,3±1,3 d
Deet	0 b	1,6±0,7 c	1,5±0,8 d

*Οι μέσοι όροι σε μια στήλη που φέρουν διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά (P < 0,05), Mann-Whitney U-test.

Σχετικά με την απωθητική δράση των κύριων συστατικών των αιθερίων ελαίων, από τα 24 τερπένια που δοκιμάστηκαν μόνο τα μισά πέρασαν το κριτήριο των 0 προσγειώσεων στη μεγάλη δόση 0,2 mg ουσίας/ cm² (

Πίνακας 14). Ωστόσο, στη δόση αυτή καταγράφηκαν σημαντικά λιγότερες προσγειώσεις κουνουπιών από τον μάρτυρα για όλα τα μόρια που εξετάστηκαν. Στη «μέτρια» δόση (0,08 mg ουσίας/ cm²) τα δύο ισομερή της καρβόνης και η S(-)-πουλεγκόνη και (-)-λιναλοόλη έδωσαν ορισμένες προσγειώσεις κουνουπιών, χωρίς όμως να διαφέρουν σημαντικά από εκείνες που καταγράφηκαν από την εφαρμογή του Deet, ενώ τα υπόλοιπα μόρια παρείχαν απόλυτη προστασία από το *Ae. albopictus*. Τέλος, η αξιολόγηση (screening) των τερπενίων στη «μικρή» δόση (0,04 mg ουσίας/ cm²) έδειξε ότι η θυμόλη και η καρβακρόλη (ισομερείς ενώσεις), η πιπεριτενόνη και το εποξειδίο της πιπεριτενόνης εμφανίζουν την καλύτερη απωθητική δράση, συγκρινόμενα με την εφαρμογή του Deet, με λιγότερες από 10 προσγειώσεις ανά 5 λεπτά έκθεσης, ενώ η καρβακρόλη παρείχε απόλυτη προστασία από το *Ae. albopictus* (0 προσγειώσεις).

Πίνακας 14. Απωθητική δράση των τερπενίων/κύριων συστατικών των αιθερίων ελαίων φυτών της οικ. Lamiaceae εναντίον τελείων του *Ae. albopictus* στην «υψηλή» δόση 0,2 mg/ cm², στη «μέτρια» δόση 0,08 mg/ cm² και στη «χαμηλή» δόση 0,04 mg/ cm²: Μέσος αριθμός προσγειώσεων ± Τ.Σ.Μ. στα 5 λεπτά έκθεσης.

Ουσία	Δόση σε mg/ cm ²		
	0,2 (υψηλή)	0,08 (μέτρια)	0,04 (χαμηλή)
Μάρτυρας	52,6±5 a	52,6±5 a	52,6±5 a
1,8-κινεόλη	34,1±4,8 b	-	-
μεθύλ-χαβικόλη	31,2±4,5 b	-	-
p-κυμένιο	26,3±5,3 bc	-	-
(+)-μενθόνη	24±3,7 bc	-	-
γ-τερπινένιο	18,3±2 cd	-	-
β-καρνοφυλλένιο	18,1±5,6 cde	-	-
οξικός λιναλοϋλεστέρας	8,6±3,3 def	-	-

Ουσία	Δόση σε mg/ cm ²		
	0,2 (υψηλή)	0,08 (μέτρια)	0,04 (χαμηλή)
(-)-μενθόνη	6,5±2,1 ef	-	-
(+)-μενθόλη	2,8±1,6 efg	-	-
εποξειδίο της πιπεριτόνης	1,5±0,6 fg	-	-
(-)-μενθόλη	1,2±0,6 fg	-	-
τερπινέν-4-όλη	1±0,5 fg	-	-
S(+)-καρβόνη	0 g	7±3,2 bc	-
S(-)-πουλεγκόνη	0 g	6±2,7 b	-
R(-)-καρβόνη	0 g	4,2±1,2 b	-
(-)-λιναλοόλη	0 g	4,2±1,6 b	-
νεράλη	0 g	0 c	34,7±2,1 b
πιπεριτόνη	0 g	0 c	32,9±2,4 b
R(+)-πουλεγκόνη	0 g	0 c	20±3,9 c
γερανιάλη	0 g	0 c	13±4,9 cd
θυμόλη	0 g	0 c	4,8±1,5 d
πιπεριτενόνη	0 g	0 c	3,7±1,9 d
εποξειδίο της πιπεριτενόνης	0 g	0 c	1,3±0,8 d
καρβακρόλη	0 g	0 c	0 d
Deet	0 g	1,6±0,7 b	1,5±0,8 d

*Οι μέσοι όροι σε μια στήλη που φέρουν διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά (P < 0,05), Mann-Whitney U-test.

4.1.5 Συζήτηση - Συμπεράσματα

4.1.5.1 Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και των συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και αποθητική δράση στα τέλεια του *Ae. albopictus*

Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών

Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης προέκυψε ότι τα αιθέρια έλαια και των τριών (3) ειδών του γένους *Citrus* που δοκιμάστηκαν (*C. sinensis*, *C. limon* και *C. paradisi*) εμφάνισαν ισχυρή τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* μετά από 24 ώρες έκθεσης, με το αιθέριο έλαιο του λεμονιού να είναι το πιο αποτελεσματικό. Παρόμοια προνυμφοκτόνος δράση αιθερίων ελαίων από το φλοιό καρπών φυτών του γένους *Citrus* έχει αναφερθεί εναντίον προνυμφών του *Cx. pipiens*, με τιμές 51,5 mg/ lt για το *C. sinensis* και 30,1 mg/ lt για το *C. limon* (Michaelakis et al. 2009). Η υψηλότερη προνυμφοκτόνος δράση εκχυλισμάτων λεμονιού από το σπόρο και το φλοιό καρπών μεταξύ εκχυλισμάτων άλλων ειδών *Citrus*, εναντίον του *Ae. albopictus*, έχει αναφερθεί στη βιβλιογραφία από τους Akram et al. (2010) και Din et al. (2011). Θα πρέπει να σημειωθεί, ωστόσο, ότι στις μελέτες εκείνες αξιολογήθηκε η δράση εκχυλισμάτων άγνωστης σύστασης και όχι αιθερίων ελαίων, όπως στη συγκεκριμένη εργασία. Αντίστοιχα, οι Hafeez et al. (2011) αναφέρουν πολύ ασθενέστερη προνυμφοκτόνο δράση εκχυλισμάτων από σπόρους ποικιλιών πορτοκαλιάς και γκρέιπφρουτ στο *Ae. albopictus* σε σχέση με τη δράση των αιθερίων ελαίων της συγκεκριμένης εργασίας. Σε αντίθεση με την σχετικά υψηλή προνυμφοκτόνο δράση του γκρέιπφρουτ (με κύριο συστατικό το λεμονένιο) που βρέθηκε στην παρούσα μελέτη, οι Morales-Saldaña et al. (2007) αναφέρουν ότι το αιθέριο έλαιο γκρέιπφρουτ, πλούσιο στο συστατικό οκιμένιο (ocimene), εμφάνισε μικρότερη τοξικότητα σε προνύμφες του *Ae. albopictus* (LC₅₀= 85,1 mg/ lt).

Για τη λεπτομερέστερη διερεύνηση της βιολογικής δράσης των αιθερίων ελαίων είναι σημαντική η παράλληλη μελέτη της δράσης των συστατικών τους, με τα ίδια υλικά και μεθόδους όπως για παράδειγμα η χρησιμοποίηση ίδιων διαλυτών, ίδιων συνθηκών πειραματισμού και ίδιου πληθυσμού βιολογικού υλικού.

Μεταξύ των μονοτερπενίων που δοκιμάστηκαν για την αξιολόγηση της προνυμφοκτόνου δράσης τους, το γ-τερπινένιο ήταν το πιο τοξικό ενώ η κιτράλη και τα εναντιομερή του α-πινενίου ήταν τα λιγότερο δραστικά. Η ισχυρή τοξική δράση του γ-τερπινενίου υποδηλώνει τη σημαντική συμβολή του στην αξιοσημείωτη προνυμφοκτόνο δράση που σημείωσε το αιθέριο έλαιο του λεμονιού. Η ισχυρή τοξική δράση του γ-τερπινενίου εναντίον προνυμφών κουνουπιών όπως του *Ae. aegypti*, του *Cx. pipiens*

pallens και του *Ae. albopictus* έχει αναφερθεί στη σχετική βιβλιογραφία (Cheng *et al.* 2009a, Perumalsamy *et al.* 2009). Στην παρούσα εργασία βρέθηκε επίσης ότι και οι 2 εναντιομερείς μορφές του λεμονενίου ήταν από τα πιο δραστικά συστατικά εναντίον των προνυμφών. Η συμβολή του λεμονενίου στην προνυμφοκτόνο δράση αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* εναντίον κουνουπιών, τόσο εξαιτίας της τοξικής του δράσης όσο και της αφθονίας του ως κύριου συστατικού, έχει ήδη επισημανθεί από τους Kassir *et al.* (1989), Chantraine *et al.* (1998) και Michaelakis *et al.* (2008). Σε μελέτη αξιολόγησης της τοξικής δράσης διαφόρων μονοτερπενίων εναντίον προνυμφών του *Ae. aegypti*, τα *R*-(+)- and *S*-(-)-λεμονένιο εμφάνισαν την υψηλότερη προνυμφοκτόνο δράση (LC_{50} = 27 και 30 ppm, αντίστοιχα), και ακολούθως ήταν το γ -τερπινένιο με LC_{50} = 56 ppm (Santos *et al.* 2011). Η σημαντική προνυμφοκτόνος δράση των *R*-(+)-λεμονένιο, (+)- β -πινένιο, (-)- β -πινένιο και γ -τερπινένιο εναντίον διαφόρων ειδών κουνουπιών έχει αναφερθεί και από τους Pohlit *et al.* (2011). Στην παρούσα μελέτη, και οι δύο εναντιομερείς μορφές του β -πινενίου ήταν περισσότερο τοξικές εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* σε σχέση με τις εναντιομερείς μορφές του α -πινενίου, γεγονός που αναφέρεται και από τους Perumalsamy *et al.* (2009) και Vourlioti-Arapi *et al.* (2012) για τις προνύμφες άλλων ειδών κουνουπιών.

Τοξική δράση LC_{50} δόσεων εναντίον των προνυμφών

Οι βιοδοκιμές της τοξικής δράσης των LC_{50} δόσεων εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus*, έδειξαν ότι το ποσοστό των προνυμφών που εκτέθηκαν στις δόσεις αυτές και τελικώς έφτασε στο στάδιο του τελείου ήταν σημαντικά μικρότερο από εκείνο που επιβίωσε 24 ώρες μετά την εφαρμογή της LC_{50} δόσης, για όλες τις ουσίες που δοκιμάστηκαν (αιθέρια έλαια *C. sinensis*, *C. limon* και *C. paradisi* και το *R*-(+)-λεμονένιο). Το συγκριτικά χαμηλό ποσοστό (%) επιτυχούς ενηλικίωσης (έξοδος τελείων) των κουνουπιών, μετά την εφαρμογή της LC_{50} δόσης, οφείλεται κυρίως στην υψηλή θνησιμότητα που καταγράφηκε στο στάδιο της νύμφης. Το αποτέλεσμα αυτό δείχνει ότι το διάστημα των 24 ωρών έκθεσης των προνυμφών στα αιθέρια έλαια φυτών του γένους *Citrus* ενδεχομένως δεν είναι αρκετό γιατί μπορεί να οδηγήσει σε υποεκτίμηση της συνολικής τοξικής δράσης των ουσιών αυτών επί των προνυμφών κουνουπιών. Επιπλέον, από τα αποτελέσματα της μελέτης φαίνεται ότι το *R*-(+)-λεμονένιο συνέβαλε σημαντικά στην «καθυστερημένη» θανατηφόρο δράση των αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* στις προνύμφες των κουνουπιών, εξαιτίας της σημαντικής μείωσης που προκάλεσε στην έξοδο των τελείων. Η «καθυστερημένη» τοξική δράση των ουσιών που δοκιμάστηκαν σε συνδυασμό με το σχηματισμό των νεκρών νυμφών και τα παραμορφωμένα τέλεια που

παρατηρήθηκαν, δείχνουν την ενδεχόμενη δράση αυτών των ουσιών ως ρυθμιστών ανάπτυξης (Insect Growth Regulation – IGR). Σε μελέτη των Stamopoulos *et al.* (2007) όπου δοκιμάστηκε η δράση ατμών του *R-(+)*-λεμονενίου σε νύμφες του κολεοπτέρου αποθηκών *Tribolium confusum* Jacquelin du Val, παρατηρήθηκαν συμπτώματα δράσης ρυθμιστή ανάπτυξης της ουσίας, κυρίως στα εξερχόμενα τέλεια έντομα, τα οποία μάλιστα οι συγκεκριμένοι συγγραφείς τα χαρακτήρισαν ως “adultoids”, εξαιτίας των παραμορφώσεων που εμφάνιζαν. Επιπλέον, οι Zahran and Abdelgaleil (2011) βρήκαν ότι η εφαρμογή υπο-θανατηφόρων δόσεων ($0,5 \times LC_{50}$) του *S-(-)*-λεμονενίου από το στάδιο του ωού επηρέασε την επιβίωση και ανάπτυξη των προνυμφών και νυμφών του *Cx. pipiens*, παρεμποδίζοντας σημαντικά και την έξοδο των τελείων. Γενικώς, τα αιθέρια έλαια αναφέρεται ότι μπορεί να έχουν ιδιότητες ρυθμιστών ανάπτυξης σε διάφορα είδη εντόμων μειώνοντας ή διακόπτοντας το ρυθμό ανάπτυξης σε διάφορα στάδια του βιολογικού τους κύκλου (Regnault-Roger *et al.* 2012). Σύμφωνα με τους Sujatha *et al.* (1988) εκχυλίσματα των φυτών *Acorus calamus* L., *Madhuca longifolia* (L.) J. F. Macbr. και *Ageratum conyzoides* L. βρέθηκε ότι παρεμπόδιζαν την έξοδο των τελείων κουνουπιών των ειδών *Cx. quenquefasciatus*, *An. stephensi* και *Ae. aegypti* μετά από έκθεση των προνυμφών σε συγκεντρώσεις 5 και 10 mg/ lt. Οι ίδιοι συγγραφείς διαπίστωσαν ότι η δράση αυτών των φυτικών εκχυλισμάτων ήταν ανάλογη με εκείνη των μιμητικών ορμονών των εντόμων, καθώς οι εφαρμογές στις προνύμφες είχαν ως αποτέλεσμα την παραγωγή μορφογενετικών ανωμαλιών όπως σχηματισμό προνυμφό-μορφων, σκουρόχρωμων και επίμηκων νυμφών και τελείων ατελώς εξερχομένων από τα puparia. Τέλος, οι Dakhil and Morsy (1999) εφαρμόζοντας LC_{50} δόσεις εκχυλίσματος φλοιού καρπού λεμονιού σε προνύμφες 4^{ης} ηλικίας του *Cx. pipiens*, παρατήρησαν ότι η τοξική δράση επεκτείνονταν στις νύμφες, ενώ ορισμένες από τις νύμφες αδυνατούσαν να αποχωριστούν το εξώδερμα των προνυμφών.

Απωθητική δράση εναντίον των τελείων

Οι βιοδοκιμές για την αξιολόγηση της απωθητικής δράσης των αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus*, σε σύγκριση με το θετικό μάρτυρα αναφοράς (Deet), έδειξαν ότι το αιθέριο έλαιο του λεμονιού παρείχε ικανοποιητική απωθητικότητα, σε αντίθεση με εκείνο του πορτοκαλιού που εμφάνισε ασθενή προστασία από τα τέλεια του *Ae. albopictus*. Ικανοποιητική απωθητική δράση του αιθερίου ελαίου λεμονιού και ασθενή του πορτοκαλιού έχουν αναφερθεί στη βιβλιογραφία εναντίον τελείων του *Ae. aegypti* και του *An. stephensi* (Oshaghi *et al.* 2003, Amer and Mehlhorn 2006c, Phasomkusolsil and Soonwera 2010). Ωστόσο, οι Yang and Ma (2005) αναφέρουν ικανοποιητική απωθητικότητα αιθερίου ελαίου φύλλων πορτοκαλιάς εναντίον τελείων του *Ae. albopictus*,

με βιοδοκιμές σε ποντίκια. Η κιτράλη (μείγμα νεράλης και γερανιάλης) είχε την πιο ισχυρή απωθητική δράση, συγκρινόμενη με τα υπόλοιπα μονοτερπένια και τα δύο αιθέρια έλαια *Citrus*, εμφανίζοντας μάλιστα την ίδια αποτελεσματικότητα με το Deet (0 προσγειώσεις τελείων) και στις δύο δόσεις που εφαρμόστηκαν (υψηλή και χαμηλή). Επιπλέον, τα *S*-(-)-λεμονένιο και (+)- β -πινένιο εμφάνισαν και αυτά σημαντική απωθητική δράση. Δεδομένου ότι, με τη βοήθεια της χειρόμορφης ανάλυσης, τα ισομερή *S*-(-)-λεμονένιο και (+)- β -πινένιο εντοπίστηκαν σε πολύ μικρές ποσότητες στο αιθέριο έλαιο του λεμονιού, η υψηλή απωθητική δράση του αιθερίου ελαίου λεμονιού εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* μπορεί να αποδοθεί στην παρουσία της κιτράλης (γερανιάλης + νεράλης). Σύμφωνα με τους Michaelakis *et al.* (2013), η νεράλη και η γερανιάλη έχουν εμφανίσει ισχυρή απωθητική δράση εναντίον τελείων του *Cx. pipiens* biotype *molestus* και μάλιστα υψηλότερη από τους μάρτυρες αναφοράς Deet και Icaridin.

Σύμφωνα με τους Jaenson *et al.* (2006), τα συστατικά α -πινένιο, β -πινένιο και λεμονένιο εντοπίστηκαν μεταξύ άλλων πτητικών αρωματικών ουσιών που περιέχονταν σε εκχυλίσματα των φυτών *Hyptis suaveolens* (L.) Poit., *Rhododendron tomentosum* Harms, *Myrica gale* L. και *Achillea millefolium* L. Τα εκχυλίσματα αυτά μείωσαν σημαντικά τα τσιμπήματα του *Ae. aegypti* σε πειράματα εργαστηρίου και άλλων κουνουπιών του γένους *Aedes* σε πραγματικές συνθήκες υπαίθρου. Οι Weldon *et al.* (2011) κατέγραψαν λιγότερες προσγειώσεις, λιγότερα τσιμπήματα και περισσότερο χρόνο πτήσης σε τέλεια κουνούπια όταν εκείνα εκτέθηκαν σε αλδεύδες (π.χ. κιτράλη), οξείδια (π.χ. +/- οξείδιο του λεμονιού), ή αλκοόλες (π.χ. 4-τερπινόλη), σε αντίθεση τους υδρογονάνθρακες (π.χ. α - ή β -πινένιο, *R*-(+)-λεμονένιο). Επιπλέον, σε τέλεια του *Ae. albopictus* που εκτέθηκαν σε ατμούς των ουσιών γερανιόλη, κιτράλη, ευγενόλη, ή ανισαλδεύδη παρατηρήθηκε μείωση της ικανότητας αναζήτησης ξενιστή και μείωση των νυγμάτων (Hao *et al.* 2008). Η υψηλότερη απωθητική δράση των αλδευδών (κιτράλη) σε σχέση με τους υδρογονάνθρακες (λεμονένιο και πινένια) που αναφέρεται στη βιβλιογραφία, επιβεβαιώθηκε και στην παρούσα μελέτη. Τέλος, οι βιοδοκιμές απωθητικότητας της συγκεκριμένης μελέτης, έδειξαν ότι υπάρχει στενή σχέση μεταξύ της ισομέρειας (χειρομορφία) των υδρογονανθράκων μονοτερπενίων και της απωθητικής τους δράσης.

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης δείχνουν ότι τα αιθέρια έλαια φυτών του γένους *Citrus* και τα συστατικά τους θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικά μέσα αντιμετώπισης των προνυμφών και απωθητικότητας των τελείων του *Ae. albopictus*. Μια καλή προοπτική για την βιομηχανία

σε αυτή την κατεύθυνση θα ήταν η εκμετάλλευση των παρά-προϊόντων (π.χ. φλοιός καρπών) της βιομηχανικής επεξεργασίας (π.χ. χυμοποίηση) των εσπεριδοειδών ελληνικής παραγωγής, λαμβάνοντας υπό όψη ότι η ετήσια παραγωγή πορτοκαλιών στη χώρα μας για τα έτη 2010 και 2011, ήταν άνω των 900.000 τόνων εκ των οποίων 130.000 τόνοι οδηγήθηκαν για επεξεργασία σε ελληνικές βιομηχανίες (U.S.D.A. 2011).

Στα πλαίσια της οικολογικής και αποτελεσματικής αντιμετώπισης του «Ασιατικού κουνουπιού Τίγρης» είναι σημαντικό να αξιολογηθεί η προνυμφοκτόνος δράση των αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και των συστατικών τους κάτω από πραγματικές συνθήκες υπαίθρου. Δεδομένου ότι στην παρούσα μελέτη η τοξικότητα αυτών των ουσιών στις προνύμφες του *Ae. albopictus* εμφανίζει μια «καθυστερημένη» δράση, αντίστοιχη των ρυθμιστών ανάπτυξης (IGRs), απαιτείται να διερευνηθούν περαιτέρω οι μηχανισμοί δράσης που εμπλέκονται στην προνυμφοκτόνο ικανότητά των ουσιών αυτών. Τέλος, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν τα αιθέρια έλαια των *Citrus* ως αποθητικά κουνουπιών σε πραγματικές συνθήκες, απαιτείται επιπλέον έρευνα που θα αφορά τόσο μελέτες του τοξικολογικού τους προφίλ στον χρήστη (άνθρωπο), όσο και την αξιολόγηση διαφορετικών μορφών και μεθόδων τυποποίησης (formulation) που θα βελτιώσουν την αποτελεσματικότητά τους.

4.1.5.2 Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας Cupressaceae ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και αποθητική δράση στα τέλεια του *Ae. albopictus*

Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών

Το εύρος της τοξικής δράσης των αιθερίων ελαίων των οκτώ φυτών της οικ. Cupressaceae εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* ($LC_{50} = 37,5 - 70,6 \text{ mg/ lt}$), που καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη, είναι γενικώς σε αντιστοιχία με αρκετές παρόμοιες μελέτες προνυμφοκτόνου δράσης αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας αυτής σε άλλα είδη κουνουπιών. Σύμφωνα με τους Vourlioti-Arapi *et al.* (2012), 14 αιθέρια έλαια που απομονώθηκαν από είδη φυτών του γένους *Juniperus* σημείωσαν σημαντική τοξική δράση εναντίον προνυμφών του *Cx. pipiens*, καθώς οι LC_{50} δόσεις κυμάνθηκαν μεταξύ 26,5 και 96,7 mg/ lt. Στη μελέτη εκείνη το πιο δραστικό αιθέριο έλαιο εναντίον των προνυμφών κουνουπιών απομονώθηκε από το ξύλο του φυτού *J. drupacea*, ενώ το λιγότερο αποτελεσματικό απομονώθηκε από τους καρπούς του *J. phoenicea*. Επιπλέον, σε εργασία των Sedaghat *et al.* (2011) βρέθηκε ότι η LC_{50} τιμή του αιθερίου ελαίου από φύλλα του φυτού *C. arizonica* εναντίον προνυμφών του *An. stephensi* ήταν 79,3 ppm. Το αιθέριο έλαιο από το ξύλο του φυτού *J. virginiana* προκάλεσε 52,2 και 37,8 % θνησιμότητα σε

προνύμφες των *Ae. aegypti* και *Cx. pipiens pallens*, αντίστοιχα, στη δόση των 50 ppm (Lee 2006). Οι τιμές LC₅₀ του αιθερίου ελαίου από το φυτό *J. macropoda* κυμάνθηκαν από 50 έως 100 mg/ lt εναντίον προνυμφών 4^{ης} ηλικίας των ειδών *An. stephensi*, *Ae. aegypti* και *Cx. quinquefasciatus* (Prajapati *et al.* 2005). Ωστόσο, αρκετά μικρότερη τοξική δράση αναφέρουν οι Carroll *et al.* (2011), οι οποίοι κατέγραψαν θνησιμότητες 100, 80 και 67% στα 250 ppm, και 80, 27 και 40% στα 125 ppm εναντίον προνυμφών του *Ae. aegypti* από τα αιθέρια έλαια των φυτών *J. chinensis*, *C. funebris*, and *J. communis*, αντίστοιχα. Αντίθετα, οι Amer and Mehlhorn (2006a) αναφέρουν ότι το αιθέριο έλαιο του φυτού *J. virginiana* προξένησε υψηλή θνησιμότητα στις προνύμφες των *An. stephensi*, *Ae. aegypti* και *C. quinquefasciatus* σημειώνοντας πολύ χαμηλές τιμές LC₅₀ γύρω στο 1 και 10 ppm μετά από 24 ώρες έκθεσης. Οι ίδιοι συγγραφείς αναφέρουν μεγάλες διαφορές στην τοξικότητα που προκαλεί το αιθέριο έλαιο του *J. communis*, καθώς οι τιμές LC₅₀ εναντίον των προνυμφών των τριών παραπάνω ειδών κουνουπιών κυμάνθηκαν μεταξύ 10 και 100 ppm.

Η προνυμφοκτόνος δράση των αιθερίων ελαίων των φυτών Cupressaceae που διαπιστώθηκε στην παρούσα μελέτη, μπορεί να αποδοθεί στην προνυμφοκτόνο δράση που εμφανίζουν ορισμένα τερπένια, τα οποία ανιχνεύθηκαν σε αυτά τα αιθέρια έλαια, μετά την ανάλυση της χημικής τους σύστασης. Η προνυμφοκτόνος δράση εναντίον διαφόρων ειδών κουνουπιών έχει διαπιστωθεί, με βιοδοκιμές, για ποικιλία συστατικών που απαντώνται συχνά στα αιθέρια έλαια, όπως τα 3-καρένιο (3-carene), (R)-(+)-λεμονένιο, μυρκενίο, α -φελλανδρένιο (α -phellandrene), τερπινεν-4-όλη, α -πινένιο και β -πινένιο (Pohlit *et al.* 2011). Ειδικότερα, οι Chantraine *et al.* (1998) και Kassir *et al.* (1989) αναφέρουν αυξημένη θνησιμότητα σε προνύμφες του *Ae. aegypti*, (έως 90%) και του *Cx. quinquefasciatus* μετά την εφαρμογή του λεμονενίου. Κατά τη διερεύνηση της προνυμφοκτόνου δράσης διαφόρων μονοτερπενίων συστατικών αιθερίων ελαίων, εναντίον του *Ae. aegypti*, τα R-(+) και S-(-)-λεμονένιο εμφάνισαν την υψηλότερη τοξική δράση (LC₅₀ = 27 και 30 ppm, αντίστοιχα), ενώ το 3-καρένιο είχε μέτρια αποτελεσματικότητα (LC₅₀ = 150 ppm) (Santos *et al.* 2011). Οι Cheng *et al.* (2009b) και Cheng *et al.* (2009c) αναφέρουν ισχυρή προνυμφοκτόνο δράση του λεμονενίου, β -μυρκενίου, 3-καρενίου, γ -τερπινενίου και τερπινολενίου (terpinolene), εναντίον των *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*, με τις τιμές LC₅₀ να κυμαίνονται από 15 μέχρι 32 mg/ lt, και ασθενέστερη δράση των ουσιών α -οξικό εστέρα του τερπινιλίου (α -terpinyl acetate), α -πινενίου και (-)-τερπινεν-4-όλης με τις τιμές LC₅₀ > 50 mg/ lt. Σύμφωνα με τους Perumalsamy *et al.* (2009) η τοξικότητα (LC₅₀ τιμές) διαφόρων ουσιών εναντίον των προνυμφών τριών ειδών κουνουπιών (*Cx. pipiens pallens*, *Ae. aegypti* και *Oc. togoi*) διέφερε ως εξής: 14-19 ppm για το δ -3-καρένιο, 14-23 ppm για

το α - φελλανδρένιο, 13-24 ppm για το R-(+)- λεμονένιο, 58 – 65 ppm για την τερπινεν-4-όλη και 65-66 ppm για το μυρκένιο. Επιπλέον, το σαβινένιο (sabinene) έχει αναφερθεί από τους Govindarajan *et al.* (2011) ως ιδιαίτερος τοξικός (LC₅₀= 20 - 25 mg/ lt) εναντίον των προνυμφών των *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. aegypti* και *An stephensi*. Ομοίως, και για το γ -τερπινένιο έχει αναφερθεί υψηλή τοξικότητα (LC₅₀= 20 mg/ lt) σε προνύμφες του *Ae. albopictus* (Giatropoulos *et al.* 2012d). Τέλος, και οι δύο εναντιομερείς μορφές του β -πινενίου έχει βρεθεί ότι είναι αρκετά τοξικές εναντίον προνυμφών των ειδών *Ae. albopictus*, *Cx. p. pallens*, *Ae. aegypti* και *Cx. pipiens* βιότοπος *molestus* (Cheng *et al.* 2009b, Michaelakis *et al.* 2009, Perumalsamy *et al.* 2009, Vourlioti-Arapi *et al.* 2012).

Απωθητική δράση εναντίον των τελείων

Η απωθητική δράση των αιθερίων ελαίων της οικ. Cupressaceae εναντίον διαφόρων ειδών κουνουπιών έχει μελετηθεί αρκετά με ποικίλα και σε ορισμένες περιπτώσεις αντιφατικά ευρήματα. Οι Carroll *et al.* (2011) μετά από εργαστηριακά πειράματα αναφέρουν ότι κανένα από τα αιθέρια έλαια των φυτών *C. funebris* και *J. chinensis* δεν παρείχε ικανοποιητική προστασία από τα νύγματα των θηλυκών του *Ae. aegypti* ακόμη και στην υψηλή δόση των 1,5 mg/cm² δέρματος, ενώ η ελάχιστη αποτελεσματική (απωθητική) δόση του αιθερίου ελαίου από το φυτό *J. communis* ήταν 0,06 mg/cm². Σε εργαστηριακές μελέτες με το αιθέριο έλαιο του φυτού *J. virginiana* εναντίον του *An. albimanus*, οι Curtis *et al.* (1987) βρήκαν ότι η αποτελεσματική δόση που απωθεί το 90% των κουνουπιών (ED₉₀ - effective dose) ήταν 0,00618 mg/cm² και κατέληξαν ότι το συγκεκριμένο αιθέριο έλαιο ήταν απωθητικό στα κουνούπια. Αντίθετα, σε μελέτη του Barnard (1999) βρέθηκε ότι το παραπάνω αιθέριο έλαιο δεν ήταν αποτελεσματικό ως προς την απωθητικότητα εναντίον των κουνουπιών *Ae. aegypti* και *An. albimanus*. Οι Amer and Mehlhorn (2006c) αναφέρουν ότι σκεύασμα με περιεκτικότητα 20% σε αιθέρια έλαια από το ξύλο των φυτών *J. virginiana* και *J. communis* παρείχε απόλυτη προστασία εναντίον τελείων του *Cx. quinquefasciatus* (0% προσγειώσεις και τσιμπήματα μετά από 2 λεπτά έκθεσης του ανθρώπινου δέρματος στα κουνούπια), ενώ εμφάνισε ασθενέστερη απωθητική δράση εναντίον των *Ae. aegypti* και *An. stephensi*, όπου τα ποσοστά προσγειώσεων και τσιμπημάτων των κουνουπιών κυμάνθηκαν από 0 – 6,8%. Το αιθέριο έλαιο από το φυτό *J. macropoda* αναφέρεται ότι δεν εμφάνισε κάποια απωθητική δράση εναντίον των τριών παραπάνω ειδών κουνουπιών (Prajarati *et al.* 2005), ενώ το αιθέριο έλαιο από το φυτό *C. funebris*, στην αδιάλυτη μορφή του, παρείχε απόλυτη προστασία για 10 λεπτά εναντίον των τελείων του *Ae. aegypti* (Trongtokit *et al.* 2005).

Ως γνωστό, τα αιθέρια έλαια αποτελούνται από φυσικής προέλευσης πτητικά συστατικά, μονοτερπένια (monoterpenes) (αλυσίδα με 10 C και μοριακό τύπο C₁₀H₁₆) και σεσκιτερπένια (sesquiterpenes) (αλυσίδα με 15 C και μοριακό τύπο C₁₅H₂₄), και η απωθητική τους δράση έχει συσχετιστεί με την παρουσία αυτών των ουσιών (Nerio *et al.* 2010). Για παράδειγμα, οι Conti *et al.* (2012a) βρήκαν ότι το αιθέριο έλαιο από τα φύλλα του φυτού *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae), το οποίο περιείχε σε υψηλά ποσοστά τα συστατικά σαβινένιο (21,9%), β-καρυοφυλλένιο (β-caryophyllene) (16,1%), τερπινολένιο (9,6%) και 4-τερπινεόλη (4-terpineol) (7,3%), εμφάνισε σημαντική απωθητική δράση εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus*, απωθώντας το 50% των κουνουπιών στη δόση των 0,00035 μg/ cm². Οι Gu *et al.* (2009) αξιολόγησαν την απωθητική δράση των ουσιών 3-καρένιο, α-τερπινένιο, λεμονένιο, γ-τερπινένιο, τερπινολένιο και (-)-τερπινέν-4-όλη, οι οποίες ανιχνεύτηκαν στο αιθέριο έλαιο από τα φύλλα του φυτού *Cryptomeria japonica* (Sugi) (Pinaceae) και βρήκαν ότι το (-)-τερπινέν-4-όλη εμφάνισε την υψηλότερη απωθητικότητα εναντίον τελείων του *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*. Επίσης, σύμφωνα με τους Jaenson *et al.* (2006) οι ουσίες τερπινολένιο, τερπινέν-4-όλη, οξ. εστέρας του τερπινιλίου, α-πινένιο, (-)-σαβινένιο, α-φελλανδρένιο, μυρκένιο και λεμονένιο ανιχνεύθηκαν μεταξύ των κυριότερων πτητικών ουσιών στα φυτά *Hyptis suaveolens*, *Rhododendron tomentosum*, *Myrica gale* και *Achillea millefolium*, εκχυλίσματα των οποίων μείωσαν σημαντικά τον αριθμό των τσιμπημάτων από το *Ae. aegypti* στο εργαστήριο και από κουνούπια του γένους *Aedes* στο πεδίο. Όλα τα προαναφερθέντα τερπένια, για τα οποία μελετήθηκε η απωθητική τους δράση σε διάφορα είδη κουνουπιών από διάφορους συγγραφείς, ανιχνεύθηκαν μεταξύ άλλων συστατικών και στα αιθέρια έλαια των φυτών της οικ. Cupressaceae της παρούσας μελέτης.

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η τοξική δράση και η απωθητική δράση εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων από τα φύλλα οκτώ ειδών της οικογένειας Cupressaceae. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα συγκεκριμένα αιθέρια έλαια θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν τόσο για την αντιμετώπιση των προνυμφών όσο και για την απωθητικότητα των τελείων του «Ασιατικού κουνουπιού τίγρης». Στα αιθέρια έλαια της παρούσας μελέτης ανιχνεύθηκε μια πληθώρα συστατικών, ορισμένα από τα οποία πιθανόν σχετίζονται με τη βιολογική δράση των αιθερίων ελαίων εναντίον του *Ae. albopictus*. Ως εκ τούτου, απαιτείται έρευνα για τη βιολογική δράση των επιμέρους συστατικών που ανιχνεύθηκαν στα αιθέρια έλαια, καθώς επίσης και για θέματα που αφορούν στην τυποποίηση των αιθερίων ελαίων για βελτιστοποίηση της

αποτελεσματικότητά τους και τη διερεύνηση της τοξικότητάς τους για την ασφάλεια του χρήστη.

4.1.5.3 Βιοδοκιμές αιθερίων ελαίων φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* και των συστατικών τους ως προς την τοξική δράση στις προνύμφες και αποθητική δράση στα τέλεια του *Ae. albopictus*

Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών

Μεταξύ των αιθερίων ελαίων των φυτών *Lamiaceae* που αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη, η ισχυρότερη προνυμφοκτόνος δράση καταγράφηκε για τα αιθέρια έλαια του είδους *T. vulgaris* ($LC_{50} = 20,5 \text{ mg/ lt}$) και των ειδών του γένους *Origanum* ($LC_{50} = 23,5 - 39,5 \text{ mg/ lt}$). Η εντομοκτόνος δράση των συγκεκριμένων ελαίων μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή τοξική δράση που σημείωσαν εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* τα κύρια συστατικά τους θυμόλη, καρβακρόλη, π -κυμένιο και γ -τερπινένιο με χαμηλές τιμές LC_{50} που κυμάνθηκαν από 12,9 έως 20,2 mg/ lt. Η αποτελεσματική τοξική δράση του *T. vulgaris* όσο και ειδών του γένους *Origanum*, καθώς και των κύριων συστατικών τους θυμόλη, καρβακρόλη, π -κυμένιο και γ -τερπινένιο έχει αναφερθεί και από άλλους συγγραφείς εναντίον προνυμφών διαφόρων ειδών κουνουπιών. Οι Cetin and Yanikoglu (2006) μελέτησαν την τοξική δράση αιθερίων ελαίων 2 ειδών του γένους *Origanum*, *O. onites* και *O. minutiflorum*, εναντίον προνυμφών 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας του *Cx. pipiens* και βρήκαν ότι οι LC_{50} τιμές μετά από 24 ώρες έκθεσης ήταν 24,8 και 73,8 ppm, αντίστοιχα. Σε μελέτη αξιολόγησης (screening test) της προνυμφοκτόνου δράσης αιθερίων ελαίων 22 αρωματικών φυτών εναντίον του *Cx. quinquefasciatus* το αιθέριο έλαιο από το φυτό *T. vulgaris* εμφάνισε τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα ($LC_{50} = 32,9 \text{ mg/ lt}$) μετά από 24 ώρες έκθεσης. Η χημική ανάλυση έδειξε ότι τα κύρια συστατικά του συγκεκριμένου ελαίου ήταν η θυμόλη και το π -κυμένιο σε συγκεντρώσεις 60,3 και 10,1%, αντίστοιχα (Pavela 2009). Σύμφωνα με τους Pitarokili *et al.* (2011b) οι LC_{50} τιμές των αιθερίων ελαίων των άγριων ελληνικών ειδών θυμαριού *T. leucospermus* και *T. teucroides subsp. candilicus* ήταν 34,26 και 23,17mg/ lt, αντίστοιχα, εναντίον προνυμφών 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας του *Cx. pipiens*. Στην ίδια μελέτη η φυτοχημική ανάλυση έδειξε ότι το κύριο συστατικό στο είδος *T. leucospermus* ήταν το π -κυμένιο (64,2%) ενώ στο *T. teucroides subsp. candilicus* τα κύρια συστατικά ήταν το π -κυμένιο (25,5%), το γ -τερπινένιο (19%) και η θυμόλη (18,8%). Σύμφωνα με τους Traboulsi *et al.* (2002) η εφαρμογή του αιθερίου ελαίου του φυτού *O. syriacum*, με κύρια συστατικά την καρβακρόλη (61%) και τη θυμόλη (21,8%), εναντίον προνυμφών 4^{ης} ηλικίας του *Cx. pipiens molestus* προκάλεσε θνησιμότητα στο 50% του πληθυσμού μετά από 24 ώρες έκθεσης στη δόση 36 mg/ lt. Επίσης, σε βιοδοκιμές αιθερίων

ελαίων 4 χημειοτύπων του *T. vulgaris* εναντίον προνυμφών του *Cx. quinquefasciatus*, το έλαιο του *T. vulgaris* με κύριο συστατικό τη θυμόλη σε συγκέντρωση 77,7% ήταν το πιο τοξικό με LC_{50} τιμές = 32,9 και 14,2 mg/ lt εναντίον προνυμφών 3^{ης} και 4^{ης} ηλικίας, αντίστοιχα (Pavela *et al.* 2009). Η τοξική δράση της θυμόλης και της καρβακρόλης ήταν παρόμοια υψηλή εναντίον προνυμφών 4^{ης} ηλικίας του *Cx. pipiens* (LC_{50} = 37,95 και 44,4 mg/ lt, αντίστοιχα) (Radwan *et al.* 2008) και του *Cx. pipiens molestus* (LC_{50} = 36 και 37,6 mg/ lt, αντίστοιχα) μετά από 24 ώρες έκθεσης (Trabousli *et al.* 2002).

Η σημαντική δράση του αιθερίου ελαίου από το φυτό *S. thymbra* (LC_{50} = 53,3 mg/ lt), φαίνεται ότι οφείλεται στην υψηλή τοξικότητα των κύριων συστατικών που ανιχνεύθηκαν στο συγκεκριμένο έλαιο, της καρβακρόλης και του γ -τερπινένιου (LC_{50} = 13 και 20,2 mg/ lt, αντίστοιχα). Ομοίως, η εφαρμογή του αιθερίου ελαίου από το φυτό *Satureja hortensis* με κύρια συστατικά την καρβακρόλη και το γ -τερπινένιο (48,1 και 36,7%, αντίστοιχα) προκάλεσε ικανοποιητική θνησιμότητα σε προνύμφες του *Cx. quinquefasciatus*, σημειώνοντας τιμή LC_{50} = 36,1 mg/ lt (Pavela 2009). Σύμφωνα με τους Michaelakis *et al.* (2007) το αιθέριο έλαιο του φυτού *Satureja thymbra* από τα φύλλα και τους βλαστούς με κύρια συστατικά τη θυμόλη (42,1%) και το γ -τερπινένιο (20,1%) εναντίον προνυμφών του *Cx. pipiens molestus* σημείωσε τιμή LC_{50} = 44,5 mg/ lt, ενώ το αιθέριο έλαιο από τα φύλλα, τους βλαστούς και τα άνθη του ίδιου φυτού με κύρια συστατικά την καρβακρόλη (30,4%), τη θυμόλη (24,3%) και το γ -τερπινένιο (14,6%) είχε τιμή LC_{50} = 64,4 mg/ lt.

Η ισχυρή τοξικότητα της θυμόλης και της καρβακρόλης εναντίον προνυμφών κουνουπιών σε σχέση με άλλα συστατικά που απαντώνται σε αιθέρια έλαια φυτών της οικ. Lamiaceae έχει αναφερθεί και από τους Trabousli *et al.* (2002), σύμφωνα με τους οποίους οι τιμές LC_{50} εναντίον προνυμφών 4^{ης} ηλικίας του *Cx. pipiens molestus* μετά από 24 ώρες έκθεσης ήταν 36 και 37,6 mg/ lt για τη θυμόλη και καρβακρόλη, αντίστοιχα, και 156, 191 και 193 mg/ lt για τη μενθόνη, την 1,8-κινεδόλη και τη λιναλοόλη, αντίστοιχα. Ομοίως, σύμφωνα με τους Radwan *et al.* (2008) οι LC_{50} τιμές εναντίον προνυμφών 4^{ης} ηλικίας του *Cx. pipiens* ήταν 38 και 44,4 mg/ lt για τη θυμόλη και την καρβακρόλη, αντίστοιχα, ενώ κυμάνθηκαν από 106 έως πάνω από 200 mg/ lt για τα (*R*)-καρβόνη, (*S*)-καρβόνη και μενθόλη.

Στη μέτρια αποτελεσματικότητα των αιθερίων ελαίων από τα φυτά *Mentha piperita* και του ήμερου δυόσμου (*M. spicata* I) εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* (LC_{50} = 60,3 - 74,4 mg/ lt) στην παρούσα μελέτη, φαίνεται ότι έχει συμβάλει η αντίστοιχη δράση των κύριων συστατικών τους (+/-)-μενθόλη και (+/-)-μενθόνη (LC_{50} = 53,8 - 84,2 mg/ lt) και η ασθενής τοξικότητα των ισομερών (+/-) της καρβόνης (LC_{50} = 107,4 - 117,8 mg/ lt).

Αντίθετα, παρά την μέτρια τοξικότητα του άγριου δυόσμου (*M. spicata* II) ($LC_{50} = 66,07$ mg/ lt) το κύριο συστατικό του εποξειδίου της πιπεριτενόνης επέδειξε αρκετά ισχυρή προνουμοκτόνο δράση ($LC_{50} = 23,89$ mg/ lt). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η εφαρμογή του αιθερίου ελαίου του *M. piperita* προκάλεσε θνησιμότητα στο 50% των προνουμών του *Ae. aegypti* στη δόση των 47,5 ppm (Kalainani *et al.* 2011). Ομοίως, οι τιμές LC_{50} του αιθερίου ελαίου του *M. piperita* εναντίον των προνουμών του *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* και του *An. stephensi* κυμάνθηκαν από 39,7 έως 46,2 ppm (Manimaran *et al.* 2012). Αντίθετα, οι Kumar *et al.* (2011b) αναφέρουν ότι η δράση του αιθερίου ελαίου από φύλλα του *M. piperita* ήταν λιγότερο τοξική εναντίον των προνουμών του *Ae. aegypti* ($LC_{50} = 112$ ppm) μετά από 24 ώρες έκθεσης, σε σχέση με την τοξικότητα εναντίον του *Ae. albopictus* στην παρούσα εργασία. Το γεγονός αυτό ενδεχομένως να οφείλεται στο διαφορετικό είδος κουνουπιού ή/και στη διαφορετική σύσταση του αιθερίου ελαίου. Σύμφωνα με τους Michaelakis *et al.* (2011) οι τιμές LC_{50} των αιθερίων ελαίων των *M. piperita* (μενθόνη 39%, μενθόλη 26%) και *M. spicata* (καρβόνη 72%) εναντίον προνουμών του *Cx. pipiens* biotype *molestus* ήταν 40 και 96 mg/ lt αντίστοιχα. Σε αντιστοιχία με την παρούσα μελέτη, οι Govindarajan *et al.* (2012) διαπίστωσαν ότι το αιθέριο έλαιο του *M. spicata*, με κύρια συστατικά την καρβόνη (48,6%), *cis*-καρβεόλη (*cis*-carveol) (21,3%) και λεμονένιο (11,3%), είχε σημαντική τοξική δράση εναντίον νεαρών προνουμών 3^{ης} ηλικίας των ειδών *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. aegypti* και *An. stephensi*, σημειώνοντας τιμές $LC_{50} = 62,6$, 56 και 49,7 ppm, αντίστοιχα. Ωστόσο, στην ίδια μελέτη η αποτελεσματικότητα της καρβόνης που καταγράφηκε εναντίον των προνουμών των τριών παραπάνω ειδών κουνουπιών ήταν μεγαλύτερη ($LC_{50} = 19,3 - 25,5$ ppm) από εκείνη που σημειώθηκε για τα ισομερή (+/-) της καρβόνης εναντίον των προνουμών του *Ae. albopictus* στην παρούσα εργασία. Σύμφωνα με τους Koliopoulos *et al.* (2010) το αιθέριο έλαιο του *M. spicata* από την κεντρική Ελλάδα με κύρια συστατικά το εποξειδίου της πιπεριτενόνης (35,7%) και την 1,8-κινεόλη (14,5%) ήταν αποτελεσματικό εναντίον προνουμών 3^{ης} - 4^{ης} ηλικίας του *Cx. pipiens* biotype *molestus*, καθώς σημείωσε $LC_{50} = 52,9$ mg/ lt.

Η ασθενής προνουμοκτόνος δράση του *M. pulegium* II ($LC_{50} = 147,5$ mg/ lt) μπορεί να αποδοθεί στην αναποτελεσματικότητα του κύριου συστατικού της πιπεριτόνης ($LC_{50} = >200$ mg/ lt), ενώ στη βελτιωμένη δράση του *M. pulegium* I ($LC_{50} = 100,2$ mg/ lt) ίσως συνέβαλε η διαφορετική του σύσταση και η τοξικότητα του κύριου συστατικού της πουλεγκόνης, με τιμές LC_{50} για τα ισομερή του 62 και 64 mg/ lt. Σύμφωνα με τους Michaelakis *et al.* (2011) τα αιθέρια έλαια τριών πληθυσμών του *M. pulegium* με κύρια συστατικά την πουλεγκόνη (61%), την πιπεριτόνη (93%) και την πιπεριτόνη (69%) +

ισομενθόνη (isomenthone) (25%), όταν εφαρμόστηκαν σε προνύμφες του *Cx. pipiens* biotype *molestus* οι τιμές LC₅₀ ήταν ίσες με 47, 169 και >200 mg/ lt, αντίστοιχα.

Η ασθενής τοξική δράση των *R. officinalis*, *M. officinalis*, *L. angustifolia* και *O. basilicum* (LC₅₀ = 104,6 - 142,9 mg/ lt) ενδεχομένως να οφείλεται στην ασθενή τοξική δράση που καταγράφηκε από την εφαρμογή των κύριων συστατικών τους (-)-λιναλοόλης, 1,8-κινεόλης, νεράλης και β-καρνοφυλλενίου, που σημείωσαν τιμές LC₅₀ > 100 ή/και 200 mg/ lt. Η χαμηλή τοξικότητα των συγκεκριμένων αιθερίων ελαίων εναντίον των προνυμφών κουνουπιών αναφέρεται και από άλλους συγγραφείς. Πιο συγκεκριμένα, οι Conti *et al.* (2010) αναφέρουν την αναποτελεσματικότητα των αιθερίων ελαίων *R. officinalis* (α-πινένιο 39%, 1,8-κινεόλη 20%) και *Lavandula angustifolia* [φενχόνη (fenchone) 34%, καμφένιο (camphene) 14% και καμφορά (camphor) 14%] εναντίον προνυμφών 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* με τιμές LC₅₀ > 250 mg/ lt. Ομοίως, μετά την εφαρμογή του αιθερίου ελαίου εκχυλίσματος από τα φύλλα του *O. basilicum* εναντίον προνυμφών του *Ae. aegypti* καταγράφηκε χαμηλή θνησιμότητα με τιμές LC₅₀ και LC₉₀ ίσες με 148,5 και 325,7 ppm, αντίστοιχα, μετά από 24 ώρες έκθεσης. Ωστόσο το αιθέριο έλαιο του *M. officinalis*, στη μελέτη των Koliopoulos *et al.* (2010), με κύρια συστατικά τα τερπινέν-4-όλη (16%), οξείδιο του καρνοφυλλενίου (13%), σαβινένιο (13%), β-πινένιο (12%) και E-καρνοφυλλένιο (10%), βρέθηκε ότι ήταν πιο αποτελεσματικό εναντίον των προνυμφών του *Cx. pipiens* biotype *molestus* (LC₅₀ = 61,3 mg/ lt), σε σχέση με την παρούσα εργασία. Η ασθενής προνυμφοκτόνος δράση των αιθερίων ελαίων των φυτών *R. officinalis*, *L. angustifolia* και *O. basilicum* αναφέρεται επίσης και από τον Pavela (2009), καθώς η εφαρμογή τους προκάλεσε θνησιμότητα στο 50% των προνυμφών του *Cx. quinquefasciatus*, στις 24 ώρες, στις δόσεις 111, 122 και 172 mg/ lt, αντίστοιχα.

Απωθητική δράση εναντίον των τελείων

Από τις βιοδοκιμές απωθητικότητας που διενεργήθηκαν στην παρούσα μελέτη, διαπιστώθηκε ότι όλα τα αιθέρια έλαια των φυτών της οικ. Lamiaceae που δοκιμάστηκαν εμφάνισαν απωθητική δράση εναντίον του *Ae. albopictus* σε κάποιο βαθμό. Η δράση αυτή, συγκρινόμενη με τη δράση του χημικού συνθετικού Deet, κυμάνθηκε από ικανοποιητική έως πολύ καλή.

Μεταξύ των αιθερίων ελαίων που εξετάστηκαν, η ισχυρότερη απωθητικότητα εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* καταγράφηκε από τα φυτά *M. officinalis*, *O. dictamus*, *M. spicata* II, *O. mantzuranum* και *S. thymbra*, με τα δύο τελευταία να υπερέχουν και να εμφανίζουν υψηλή απωθητική δράση αντίστοιχη με το χημικό συνθετικό Deet στα 5 λεπτά εφαρμογής. Η υψηλή απωθητική δράση των παραπάνω αιθερίων ελαίων θα

μπορούσε να αποδοθεί στην πολύ καλή έως εξαιρετική απωθητική δράση που καταγράφηκε για τα κύρια συστατικά τους/τερπένια νεράλη, γερανιάλη (για το *M. officinalis*), εποξείδιο της πιπεριτενόνης (για το *M. spicata* II) και καρβακρόλη (για τα *O. dictamnus*, *O. mantzuranum* και *S. thymbra*). Μάλιστα, τα περισσότερα απωθητικά έλαια των φυτών *O. mantzuranum* και *S. thymbra* έχουν ως κύριο συστατικό τους σε συγκεντρώσεις 58,7% και 32,4%, αντίστοιχα, το απωθητικότερο μόριο της καρβακρόλης. Στην απωθητικότητα του *M. spicata* II ενδεχομένως συνέβαλε και η παρουσία της πολύ απωθητικής πιπεριτενόνης, η οποία ανιχνεύτηκε σε μικρή όμως συγκέντρωση (4,5%).

Σε σχετική μελέτη, οι Oshaghi *et al.* (2003) για την αξιολόγηση της απωθητικής δράσης αιθερίων ελαίων από το φυτό *C. limon* και *M. officinalis* εναντίον του *An. stephensi* εφάρμοσαν 4 ml διαλύματος αιθανόλης περιεκτικότητας 0,04 gr σε αιθέριο έλαιο σε περιοχή 4x6 εκ. δέρματος ινδικών χοιριδίων και σε ανθρώπινο χέρι εθελοντών από τον καρπό έως τις άκρες των δακτύλων. Από τα αποτελέσματα της μελέτης προέκυψε ότι η εφαρμογή και των δύο ελαίων στα ινδικά χοιρίδια παρείχε 92% προστασία και δεν διέφερε σημαντικά από την προστασία που παρείχε το Deet (97%), ενώ στο ανθρώπινο χέρι η προστασία που παρείχε το *M. officinalis* (60%) διέφερε σημαντικά από εκείνη του *C. limon* (71%) και του Deet (80%). Οι Park *et al.* (2005) αξιολόγησαν την απωθητικότητα των μονοτερπενίων καρβακρόλη, π-κυμένιο, λιναλοόλη, α-τερπινένιο και θυμόλη από το αιθέριο έλαιο του *T. vulgaris* εναντίον του *Cx. pipiens pallens*. Και τα 5 μονοτερπένια είχαν αποτελεσματική απωθητική δράση όταν εφαρμόστηκαν σε ανθρώπινο βραχίονα εθελοντών. Για το α-τερπινένιο και την καρβακρόλη καταγράφηκε σημαντικά υψηλότερη απωθητικότητα συγκριτικά με το Deet, ενώ η θυμόλη είχε παρόμοια δράση με το Deet. Ωστόσο, η διάρκεια της απωθητικής δράσης για όλα τα τερπένια ήταν ίδια ή υψηλότερη από εκείνη του Deet.

Οι Koc *et al.* (2012) μελέτησαν την απωθητικότητα των αιθερίων ελαίων δύο ειδών του γένους *Thymus* (*T. sipyleus* Boiss. subsp. *sipyleus* και *T. revolutus* Celak) και δύο ειδών του γένους *Mentha* (*M. spicata* L. subsp. *spicata* και *M. longifolia* L.) εναντίον του κουνουπιού *Oc. caspius*, χρησιμοποιώντας ολφακτόμετρο (Y-tube olfactometer). Όλα τα αιθέρια έλαια είχαν απωθητική δράση, ενώ τα αιθέρια έλαια από τα φυτά *Mentha* εμφάνισαν μεγαλύτερη απωθητικότητα από εκείνα των φυτών *Thymus* (74-84% προστασία μετά από 30 λεπτά έκθεσης των κουνουπιών στις ουσίες). Ομοίως, στην παρούσα μελέτη και οι δύο χημειότυποι του *M. spicata* παρείχαν μεγαλύτερη προστασία από το *Ae. albopictus* σε σχέση με το *T. vulgaris*.

Στην παρούσα μελέτη η συγκριτικά ασθενέστερη αλλά ικανοποιητική δράση των φυτών *M. piperita*, *M. pulegium* I και *L. angustifolia* θα μπορούσε να ερμηνευτεί βάσει του χημειότυπού τους δεδομένου ότι τα κύρια συστατικά τους μενθόλη/μενθόνη, πουλεγκόνη και λιναλοόλη/ οξικός λιναλοϋλεστέρας, αντίστοιχα, παρείχαν συγκριτικά χαμηλή έως μέτρια προστασία από τα κουνούπια. Στην απωθητικότητα του *M. pulegium* I ενδεχομένως να συνέβαλε η παρουσία της έντονα απωθητικής πιπεριτενόνης, η οποία ανιχνεύτηκε σε μικρή όμως συγκέντρωση (4,4%). Η δράση πάντως του *M. pulegium* II φαίνεται να συμβαδίζει με την απωθητικότητα του κύριου συστατικού της πιπεριτόνης. Οι Kumar *et al.* (2011b) αναφέρουν εξαιρετική απωθητική δράση (100% προστασία) του *M. piperita* μετά από τοπική εφαρμογή 0,1 ml ελαίου διαλυμένου σε αιθανόλη σε περιοχή 5x5 εκ. δέρματος για 150 λεπτά, εναντίον τελείων του *Ae. aegypti*. Ωστόσο, η δόση που εφαρμόστηκε στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν αρκετά μεγαλύτερη από αυτές που δοκιμάστηκαν στην παρούσα εργασία. Επίσης, σύμφωνα με τους Ansari *et al.* (2000) η επάλειψη με 1 ml καθαρού αιθέριου ελαίου από το *M. piperita* στο χέρι εθελοντών, σε επιφάνεια 0,25 μ² δέρματος, παρείχε 94% προστασία από τα νύγματα του *Cx. quinquefasciatus* εντός κλωβών με 6 ώρες διάρκεια αποτελεσματικής δράσης. Σύμφωνα με τους Sritabutra *et al.* (2011) διάλυμα ελαίου σόγιας με 10% αιθέριο έλαιο από το φυτό *M. piperita* παρείχε μεγαλύτερο χρόνο προστασίας (98 λεπτά) από τα νύγματα του *Ae. aegypti* σε σχέση με διάλυμα 10% αιθέριου ελαίου από το *O. basilicum* (65 λεπτά), ενώ ο ρυθμός νυγμάτων ήταν παρόμοιος για τα δύο έλαια και σημαντικά μικρότερος από τον χωρίς επέμβαση μάρτυρα (χέρι εθελοντή). Οι Yang and Ma (2005) αναφέρουν ότι η εφαρμογή 5 μl διαλύματος αιθανόλης 7% σε αιθέριο έλαιο του *M. piperita* ανά cm² δέρματος ποντικιού, παρείχε 97% προστασία για 8 ώρες από τα τέλεια του *Ae. albopictus*.

Τα αιθέρια έλαια από τα φυτά *R. officinalis* και *O. basilicum* εμφάνισαν, στην παρούσα μελέτη, παρόμοια ικανοποιητική απωθητική δράση. Η δράση του *O. basilicum*, ίσως οφείλεται περισσότερο στην παρουσία της απωθητικής λιναλοόλης στη σύστασή του (35,7%) παρά του ασθενέστερου μορίου της μεθυλ-χαβικόλης (16,3%). Ωστόσο, η απωθητικότητα του *R. officinalis*, στο οποίο ανιχνεύτηκε μεγάλη ποσότητα του ασθενούς μορίου 1,8-κινεόλη (71,7%), θα μπορούσε να αποδοθεί στη δράση άλλων ουσιών μικρότερης συγκέντρωσης (π.χ. βορνεόλης - 9,8%) ή και σε συνεργιστική δράση κάποιων ουσιών.

Σύμφωνα με τους Trongtokit *et al.* (2005) η εφαρμογή 0,1 ml από το αιθέριο έλαιο του *O. basilicum* αδιάλυτο σε περιοχή 3x10 εκ. δέρματος (μεγαλύτερη δόση από αυτή της παρούσας μελέτης) παρείχε 100% προστασία από το *Ae. aegypti* για 70 λεπτά μετά την

εφαρμογή. Σε έρευνα των Prajapati *et al.* (2005) αξιολογήθηκε η απωθητική δράση των αιθερίων ελαίων από τα φυτά *R. officinalis* και *O. basilicum* εναντίον των ειδών *An. stephensi*, *Ae. aegypti* και *Cx. quinquifasciatus* μετά από εμποτισμό ταμπλετών και τοποθέτηση σε θερμαντική συσκευή εντός δωματίου. Στη συγκεκριμένη μελέτη βρέθηκε ότι το αιθέριο έλαιο από το *R. officinalis* παρείχε 50% προστασία σε δόσεις που κυμάνθηκαν από 39 έως 69 mg/ταμπλέτα, ενώ το αιθέριο έλαιο από το *O. basilicum* είχε ασθενέστερη δράση καθώς η αντίστοιχη προστασία από τα παραπάνω είδη κουνουπιών καταγράφηκε σε δόσεις 75-115 mg/ταμπλέτα.

Οι Choi *et al.* (2002) αναφέρουν ότι τα αιθέρια έλαια από τα φυτά *Lavandula angustifolia* (πρώην *Lavandula officinalis*), *R. officinalis* και *T. vulgaris* εμφάνισαν αποτελεσματική απωθητική δράση εναντίον τελείων του κουνουπιού *Cx. pipiens pallens* σε ποντίκια. Το πιο απωθητικό αιθέριο έλαιο ήταν εκείνο του *T. vulgaris* για το οποίο καταγράφηκε 91% προστασία μετά από τοπική εφαρμογή και σε συγκέντρωση 0,05%. Η χημική ανάλυση με GC-MS, έδειξε ότι τα κύρια συστατικά του συγκεκριμένου αιθερίου ελαίου ήταν με φθίνουσα σειρά τα θυμόλη, π-κυμένιο, καρβακρόλη, λιναλοόλη και α-τερπινένιο. Αυτά τα 5 μονοτερπένια αξιολογήθηκαν για την απωθητικότητα τους στο *Cx. pipiens pallens* και βρέθηκε ότι τα α-τερπινένιο και η καρβακρόλη ήταν τα πιο δραστικά σημειώνοντας προστασία 97% και 96%, αντίστοιχα, μετά από τοπική εφαρμογή στη συγκέντρωση 0,05%. Ακολούθως καλή απωθητική δράση καταγράφηκε για τη θυμόλη, τη λιναλοόλη και το π-κυμένιο (90, 89 και 85% προστασία, αντίστοιχα). Στην παρούσα μελέτη, τα αιθέρια έλαια των φυτών *L. angustifolia*, *R. officinalis* και *T. vulgaris* εμφάνισαν συγκριτικά μέτρια αλλά ικανοποιητική απωθητικότητα ενώ το π-κυμένιο, η (-)-λιναλοόλη και τα ισομερή θυμόλη/ καρβακρόλη σημείωσαν ασθενή, μέτρια και ισχυρή απωθητική δράση, αντίστοιχα, εναντίον του *Ae. albopictus*. Η συγκριτικώς μέτρια, ωστόσο, απωθητικότητα κυρίως του φυτού *T. vulgaris* και δευτερευόντως του *O. vulgare*, στην παρούσα μελέτη, δεν συνάδει απόλυτα με την ισχυρότερη απωθητική δράση που σημείωσαν τα ισομερή μόρια της θυμόλης και καρβακρόλης τα οποία εντοπίστηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις στα αιθέρια έλαιά τους (περίπου 75%). Η βιολογική δράση των συγκεκριμένων αιθερίων ελαίων ενδεχομένως να επηρεάζεται και από άλλες ουσίες μικρότερης συγκέντρωσης ή από τυχόν συνεργισμό μεταξύ των ουσιών αυτών.

Σχετικά με την απωθητικότητα των αιθερίων ελαίων του *Thymus vulgaris* οι Zhu *et al.* (2006) αναφέρουν ότι η τοπική εφαρμογή στο ανθρώπινο δέρμα διαλύματος αιθερίου ελαίου του *T. vulgaris* σε αιθανόλη στη δόση 468,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ δέρματος παρέχει 86% προστασία από τα τσιμπήματα του *Ae. albopictus* για 2 ώρες χωρίς να διαφέρει σημαντικά

από την αντίστοιχη προστασία (100%) που παρέχει το Deet για το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Σύμφωνα με τον Barnard (1999) η επάλειψη με 1 ml διαλύματος αιθανόλης 25% σε αιθέριο έλαιο από το *T. vulgaris* στο βραχίονα εθελοντών παρείχε 100% προστασία από τα τσιμπήματα του *Ae. aegypti* για 45 λεπτά, σε σύγκριση με διάλυμα του Deet 25% σε αιθανόλη που παρείχε 100% προστασία για περίπου 350 λεπτά. Η απωθητική δράση των αιθερίων ελαίων των φυτών *Thymus leucospermus* και *Thymus teucrioides* subsp. *candilicus* εναντίον του *Cx. ripiens* βρέθηκε ότι είναι σημαντικά μικρότερη από εκείνη του Deet αλλά παρόμοια με εκείνη του Icaridin, ενώ το κύριο συστατικό τους π -κυμένιο δεν εμφάνισε σχεδόν καμία απωθητική δράση (Pitarokili *et al.* 2011b).

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών και η απωθητική δράση εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων από 14 είδη φυτών που ανήκουν στην οικ. Lamiaceae και των κύριων συστατικών/τερπενίων τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια του είδους *Thymus vulgaris* και των ειδών του γένους *Origanum* καθώς και κύρια συστατικά τους (τερπένια) θυμόλη, καρβακρόλη, π -κυμένιο και γ -τερπινένιο εμφάνισαν την ισχυρότερη προνυμφοκτόνο δράση. Ισχυρή τοξική δράση, σε μικρότερο όμως βαθμό, επέδειξε επίσης και το εποξειδίου της πιπεριτενόνης, κύριο συστατικό του αιθερίου ελαίου του άγριου δυόσμου. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η απωθητική δράση όλων των αιθερίων ελαίων των φυτών της οικ. Lamiaceae που δοκιμάστηκαν εναντίον των τελείων του *Ae. albopictus* κυμάνθηκε από ικανοποιητική έως πολύ καλή. Ωστόσο, η ισχυρότερη απωθητικότητα καταγράφηκε από τα φυτά *Mellisa officinalis*, *Origanum dictamnus*, *Mentha spicata* II, *Origanum mantzurianum* και *Satureja thymbra*, με τα δύο τελευταία να υπερέχουν και να εμφανίζουν υψηλή απωθητική δράση αντίστοιχη με το χημικό συνθετικό Deet στα 5 λεπτά εφαρμογής. Τα μόρια του εποξειδίου της πιπεριτενόνης και της καρβακρόλης, ως τα κύρια συστατικά ορισμένων από αυτά τα έλαια, όπως επίσης και η θυμόλη και η πιπεριτενόνη παρείχαν την μεγαλύτερη προστασία από όλα τα τερπένια που δοκιμάστηκαν, σημειώνοντας ισχυρή απωθητική δράση.

Συνεπώς, τα παραπάνω αιθέρια έλαια θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση των προνυμφών και την απωθητικότητα των τελείων του «Ασιατικού κουνουπιού τίγρης». Στα συγκεκριμένα αιθέρια έλαια ανιχνεύθηκε μια πληθώρα συστατικών (τερπενίων), ορισμένα από τα οποία βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις και φαίνεται ότι σχετίζονται με την βιολογική δράση των αιθερίων ελαίων εναντίον του *Ae. albopictus* και ως εκ τούτου, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην κατεύθυνση της

αντιμετώπισης του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού με φιλικά μέσα. Τέλος, απαιτείται έρευνα σε θέματα που αφορούν στην τυποποίηση των αιθερίων ελαίων και των συστατικών τους για την βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητά τους και τη διερεύνηση της τοξικότητάς τους για την ασφάλεια του χρήστη.

4.2 Βιοκτόνα – Εντομοκτόνα υγειονομικής σημασίας

4.2.1 Εισαγωγή

Η αντιμετώπιση των κουνουπιών βασίζεται σε συνδυασμό μέτρων και όχι στην εφαρμογή μιας μόνο μεθόδου καταπολέμησης. Ωστόσο, η αντιμετώπισή τους θα πρέπει να στηρίζεται κατά κύριο λόγο στην καταπολέμηση ή τον περιορισμό των προνυμφών στις εστίες ανάπτυξης και συμπληρωματικά να γίνεται καταπολέμηση των τελείων εντόμων, όταν αυτό απαιτείται από τις συνθήκες.

Παρακάτω παρατίθενται κάποια γενικά στοιχεία για τη χρήση και το μηχανισμό δράσης των τεσσάρων δραστικών ουσιών (spinosad, *B.t.i.*, diflubenzuron και methoprene), που είναι εγκεκριμένες για την καταπολέμηση των προνυμφών κουνουπιών στη χώρα μας.

Spinosad

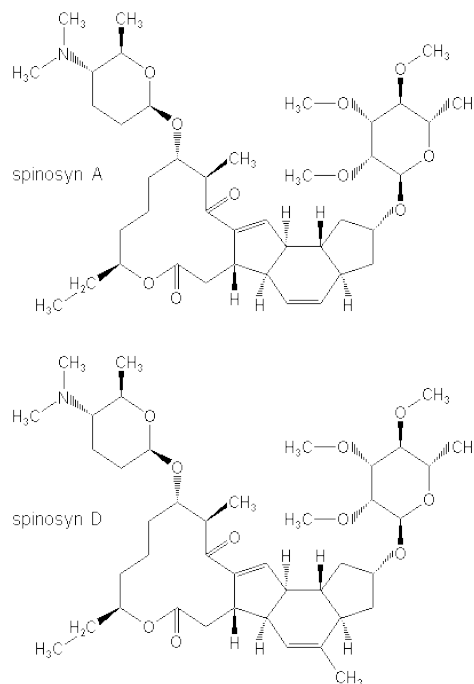
Οι σπινοσίνες (spinosyns) είναι δευτερογενείς μεταβολίτες του ακτινομύκητα *Saccharopolyspora spinosa* και πρωτοανακαλύφθηκαν το 1982, από την εταιρεία Eli Lilly & Co. Οι σημαντικότερες ενώσεις είναι οι spinosyns A και D που κυκλοφορούν στο εμπόριο με το κοινό όνομα spinosad.

Το spinosad θεωρείται ως ένα φυσικής προέλευσης εντομοκτόνο καθώς παράγεται με τη διαδικασία της ζύμωσης από τον ακτινομύκητα του εδάφους *Saccharopolyspora spinosa*. Είναι μείγμα δύο τετρακυκλικών μακρολιπιδίων, των spinosyn A (50-95%) και spinosyn D (5-50%), που εισήλθε στη γεωργική πράξη το 1997 (**Εικόνα 69**). Είναι αποτελεσματικό σε ευρύ φάσμα εντόμων γεωργικού ενδιαφέροντος, όπως λεπιδοπτέρων, θυσανοπτέρων, διπτέρων και κολεοπτέρων. Είναι επίσης αποτελεσματικό στον έλεγχο ξυλοφάγων εντόμων όπως οι τερμίτες και εντόμων υγειονομικής σημασίας όπως τα κουνούπια, οι μύγες και τα μυρμήγκια.

Το spinosad είναι νευροτοξικό εντομοκτόνο επαφής και στομάχου και δρα με διαφορετικό τρόπο από τα περισσότερα εντομοκτόνα. Ως προς το βιοχημικό μηχανισμό δράσης έχει βρεθεί ότι οι σπινοσίνες προσκολλώνται σε πρωτεϊνικές υπομονάδες της

ακετυλοχολίνης, αλλά με διαφορετικό τρόπο από τη νικοτίνη και τα νεονικοτινοειδή και δευτερευόντως στους υποδοχείς του γ-αμινοβουτηρικού οξέος (GABA). Αποτέλεσμα της δράσης αυτής είναι η διατάραξη της κανονικής μετάδοσης των νευρικών σημάτων.

Το spinosad είναι ασταθές στο φως αλλά ανθεκτικό στην υδρόλυση. Τα προϊόντα του spinosad έχουν γενικώς χαμηλό τοξικολογικό προφίλ στο περιβάλλον και πολύ χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά και τα πουλιά. Η τοξικότητά του σε άλλους χερσαίους οργανισμούς μη-στόχους είναι μικρή. Αντίθετα, είναι μετρίως τοξικό στα ψάρια και πολύ τοξικό στις μέλισσες (Bond *et al.* 2004, W.H.O. 2007, Ζιώγας και Μαρκόγλου 2007, Becker *et al.* 2010, European-Commission 2010, Hertlein *et al.* 2010, Marina *et al.* 2011).



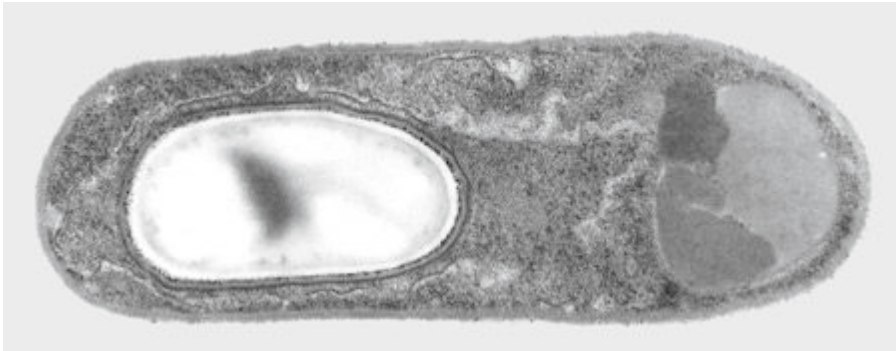
Εικόνα 69. Χημική δομή των δρώντων συστατικών του spinosad (spinosyn A και spinosyn D)

Bacillus thuringiensis subsp. israelensis (B.t.i)

Το *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis (B.t.i)* είναι ένα βιολογικής προέλευσης εντομοκτόνο, το οποίο ανήκει στην κατηγορία των εντομοπαθογόνων βακτηρίων που ασκούν την εντομοκτόνο δράση τους με την παραγωγή εντομοκτόνων τοξινών.

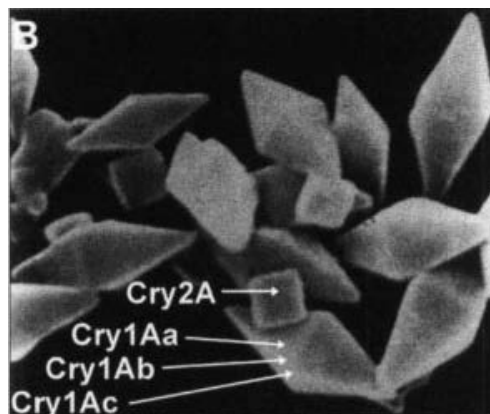
Το *Bacillus thuringiensis* είναι ένα βακτήριο που παράγει πρωτεϊνικές ενδοτοξίνες (δ-ενδοτοξίνες), μεγέθους 60-70 kD, και νουκλεϊνικές εξωτοξίνες, οι οποίες θανατώνουν το έντομο και χωρίς την παρουσία του βακτηρίου. Η πρώτη εμπορική εφαρμογή του βακτηρίου αυτού άρχισε στα μέσα της δεκαετίας του '50. Το είδος *B. thuringiensis (B.t.)* στην πραγματικότητα είναι ένα σύμπλοκο υποειδών που όλα χαρακτηρίζονται από την

παραγωγή παρασποριδιακών σωματιδίων (parasporal bodies) κατά τη σποροποίησή τους (**Εικόνα 70**).



Εικόνα 70. Ηλεκτρονική μικροφωτογραφία ενός κυττάρου του *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis*. Αριστερά: σπόριο, Δεξιά: παρασποριδιακό σωματίδιο που περιέχει τις ενδοτοξίνες (πηγή: Becker *et al.* (2010))

Αυτά τα παρασποριδιακά σωματίδια περιέχουν μία ή περισσότερες πρωτεΐνες σε κρυσταλλική μορφή (**Εικόνα 71**) οι οποίες είναι πολύ τοξικές σε πολλά είδη εντόμων. Οι τοξίνες αυτές είναι γνωστές ως ενδοτοξίνες και βρίσκονται στα παρασποριδιακά σωματίδια ως πρωτοξίνες οι οποίες μετά την κατάποση από το έντομο και την είσοδό τους στον πεπτικό σωλήνα (κύριο στόμαχο) ενεργοποιούνται μετά από πρωτεόλυση. Οι ενεργοποιημένες τοξίνες καταστρέφουν τα επιθηλιακά κύτταρα του μεσεντέρου και τα έντομα θανατώνονται μετά από 1-2 ημέρες.



Εικόνα 71. Ηλεκτρονική μικροφωτογραφία κρυστάλλων των παρασποριδιακών σωματιδίων του *B. thuringiensis* subsp. *krustaki* που περιέχουν τις ενδοτοξίνες.

Το *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* είναι ένα υποείδος του *B. thuringiensis*, που παράγει τέσσερις ενδοτοξίνες (Cry 4a, Cry 4b, Cry 11a, Cry 1a) οι οποίες ευθύνονται και

για την εντομοτοξική του δράση. Το *B.t.i* έχει τοξική δράση μόνο μέσω κατάποσης (εντομοκτόνο στομάχου) εναντίων των προνυμφών συγκεκριμένων υδρόβιων διπτέρων εντόμων όπως κουνουπιών και αιμομυζητικών Διπτέρων της οικ. Simuliidae (σκνίπες).

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 δεν περιέχει ζώντα κύτταρα του βακτηρίου, αλλά νεκρά σπόρια, τα οποία όμως περιέχουν τις ενδοτοξίνες. Χαρακτηριστικά, το *B.t.i* είναι το μόνο προνυμφοκτόνο σκεύασμα-βιοκτόνο που συστήνεται στη χώρα μας για την καταπολέμηση των κουνουπιών σε προστατευόμενες οικολογικά περιοχές Natura.

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 κ.α. (Εμμανουήλ 1999, Ζιώγας και Μαρκόγλου 2007, Becker *et al.* 2010, European-Commission 2011, Κολιόπουλος 2011, Σαββοπούλου-Σουλτάνη *et al.* 2011).

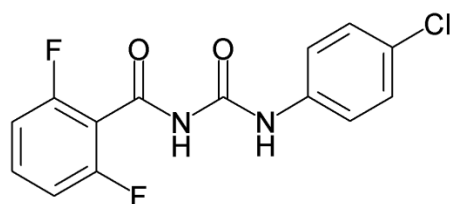
Diflubenzuron

Το diflubenzuron ανήκει στους ρυθμιστές ανάπτυξης (Insect Growth Regulators, IGR's), που αντιπροσωπεύουν μια νέα γενιά εντομοκτόνων που παρεμποδίζουν τη φυσιολογική ανάπτυξη και εξέλιξη των εντόμων (**Εικόνα 72**). Πρόκειται για εντομοκτόνα που δεν είναι τοξικά στον άνθρωπο και τα θηλαστικά, δεν βλάπτουν τα ωφέλιμα παράσιτα και αρπακτικά, είναι φιλικά προς το περιβάλλον και μπορούν να ενταχθούν σε προγράμματα ολοκληρωμένης καταπολέμησης (Integrated Pest Management). Οι IGR's δρουν σε συγκεκριμένο στάδιο του βιολογικού κύκλου των εντόμων και κατά συνέπεια, ο χρόνος εφαρμογής των ενώσεων αυτών παίζει καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητά τους.

Με βάση το βιοχημικό μηχανισμό δράσης ή τις μεταβολικές διεργασίες που επηρεάζουν, οι ενώσεις αυτές μπορούν να διακριθούν σε δύο κύριες κατηγορίες: α) τους παρεμποδιστές της βιοσύνθεσης της χιτίνης και β) τις ενώσεις που επηρεάζουν τη λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος των εντόμων.

Το diflubenzuron ανήκει στους παρεμποδιστές βιοσύνθεσης χιτίνης, με αποτέλεσμα η δράση του να προκαλεί την παρεμπόδιση σχηματισμού νέου δερματοσκελετού κατά την έκδυση και μετάβαση του εντόμου από το ένα στάδιο στο άλλο. Αποτέλεσμα της δράσης αυτής είναι η διακοπή της εξέλιξης των προνυμφικών σταδίων ή της μετάβασης στο στάδιο της νύμφης και της μεταμόρφωσης σε τέλεια και τελικά ο θάνατος των εντόμων.

Το diflubenzuron είναι το πρώτο εντομοκτόνο της ομάδας των βενζουλουριών που εισήλθε στη γεωργική πράξη το 1975 με το εμπορικό όνομα Dimilin. Το diflubenzuron είναι εκλεκτικό εντομοκτόνο επαφής και στομάχου, αποτελεσματικό σε ευρύ φάσμα εντόμων γεωργικού ενδιαφέροντος. Είναι επίσης αποτελεσματικό εναντίον των προνυμφών κουνουπιών, μυγών, καθώς και ψειρών και ψύλλων. Καθώς είναι πιο τοξικό μετά από κατάποση από τον οργανισμό στόχο, η εφαρμογή του ως προνυμφοκτόνο κουνουπιών στο πεδίο θα πρέπει να συγχρονίζεται χρονικά με τον πληθυσμό των κουνουπιών όταν βρίσκεται κατά το πλείστον στο στάδιο της τρεφόμενης προνύμφης. Επιπλέον, όλα τα προνυμφικά στάδια των κουνουπιών είναι ευαίσθητα στο diflubenzuron, ενώ θεωρείται εντομοκτόνος ουσία μεγάλης υπολειμματικής δράσης, η οποία κυμαίνεται από 15-30 ημέρες ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Λόγω της εκλεκτικότητας και της γρήγορης αποδόμησής του στο έδαφος, δεν έχει σημαντικές επιδράσεις σε ωφέλιμα έντομα. Σε υδάτινες συλλογές όπου εφαρμόστηκε το diflubenzuron διαπιστώθηκαν προσωρινές μόνο επιβλαβείς επιπτώσεις σε διάφορους υδρόβιους οργανισμούς μη-στόχους, ενώ η οξεία τοξικότητα αυτού και των μεταβολιτών του στα ψάρια είναι χαμηλή. Η οξεία τοξικότητα του diflubenzuron στα θηλαστικά είναι πολύ χαμηλή. Μάλιστα ο Π.Ο.Υ. συστήνει την εφαρμογή του diflubenzuron σε πόσιμο νερό για την καταπολέμηση προνυμφών κουνουπιών στη δόση των 0,25 mg/l (W.H.O. 2006a, Ζιώγας and Μαρκόγλου 2007, Becker *et al.* 2010, Κολιόπουλος 2011).



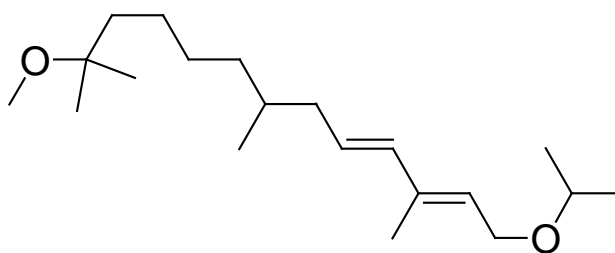
Εικόνα 72. Χημική δομή του diflubenzuron

Methoprene

Το methoprene ανήκει στους ρυθμιστές ανάπτυξης (IGR's) που επηρεάζουν τη λειτουργία του ενδοκρινικού συστήματος των εντόμων. Πιο συγκεκριμένα πρόκειται για ένωση που μιμείται τη δράση της ορμόνης νεότητας των εντόμων (juvenile hormone mimics), τη νεοτίνη, παρεμποδίζοντας τη φυσιολογική εξέλιξη των εντόμων, τα οποία παραμένουν σε ένα στάδιο γηρασμένων προνυμφών και τελικά πεθαίνουν. Η νεανική ορμόνη ή νεοτίνη αφενός προάγει και ρυθμίζει την ομαλή ανάπτυξη της προνύμφης και τη διατήρηση των χαρακτηριστικών της και αφετέρου παρεμποδίζει το μηχανισμό μεταμόρφωσης διατηρώντας το έντομο σε νεανικότητα. Δηλαδή, όσο χρόνο εκκρίνεται αυτή η ορμόνη το έντομο εξελίσσεται κατά την περίοδο των προνυμφικών του και μόνο σταδίων. Όταν όμως το έντομο πρόκειται να μεταμορφωθεί σε νύμφη (pupa) τότε διακόπτεται η έκκριση της νεανικής ορμόνης.

Λόγω της εκλεκτικής δράσης τους στο ορμονικό σύστημα των εντόμων, οι ενώσεις αυτές (μιμητικά ορμόνης νεότητας) πλεονεκτούν σημαντικά από τοξικολογικής πλευράς, και ελαχιστοποιούνται έτσι οι τοξικολογικοί κίνδυνοι για τον άνθρωπο και το περιβάλλον.

Το methoprene είναι αλειφατική ένωση που λόγω της ύπαρξης διπλού δεσμού χαρακτηρίζεται από την παρουσία ισομερών μορφών, από τις οποίες το S-ισομερές είναι το πιο δραστικό μόριο (**Εικόνα 73**). Το methoprene χαρακτηρίζεται από ένα ευρύ φάσμα δράσης εναντίον εντόμων υγειονομικής σημασίας, κυρίως διπτέρων, υμενοπτέρων, κολεοπτέρων και ομοπτέρων, καθώς και σε έντομα αποθηκών. Χρησιμοποιείται κυρίως για τον έλεγχο προνυμφών κουνουπιών, διπτέρων σε καλλιέργειες μανιταριών, κολεοπτέρων σε αποθήκες καπνού κ.α. Είναι ένα από τα σημαντικότερα μιμητικά ορμόνης νεότητας που συντέθηκε για πρώτη φορά το 1973 και αποτελεί ένα από τα ασφαλέστερα για το περιβάλλον προνυμφοκτόνα κουνουπιών. Η υπολειμματική διάρκεια δράσης του στο νερό ποικίλει ανάλογα με τη μορφή του σκευάσματος, από 10-30 ημέρες (Ζιώγας και Μαρκόγλου 2007, Becker *et al.* 2010).



Εικόνα 73. Χημική δομή του s-methoprene

Για την επιτυχία ενός προγράμματος διαχείρισης κουνουπιών, και ειδικότερα για το *Ae. albopictus*, σε μια περιοχή, είναι σημαντική η επιλογή του κατάλληλου ή των κατάλληλων βιοκτόνων που θα χρησιμοποιηθούν, για την προνυμφοκτονία ή και την ακμαιοκτονία. Οι βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας με τα εγκεκριμένα βιοκτόνα εναντίον του *Ae. albopictus*, έχουν ιδιαίτερη σημασία καθώς τα εγκεκριμένα βιοκτόνα είναι και τα μόνα βιοκτόνα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην πράξη για την καταπολέμηση του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού στη χώρα μας, δεδομένου ότι η Ελληνική αλλά και η Ευρωπαϊκή νομοθεσία, απαγορεύει την εφαρμογή οποιουδήποτε μη εγκεκριμένου σκευάσματος στο φυσικό, αγροτικό ή αστικό περιβάλλον. Επιπλέον οι βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας μας παρέχουν πληροφορίες για πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας στον πληθυσμό ενός είδους κουνουπιού, εν προκειμένω του *Ae. albopictus*, σε συγκεκριμένες δραστικές ουσίες. Το στοιχείο αυτό είναι σημαντικό για την επιτυχία των προγραμμάτων αντιμετώπισης του *Ae. albopictus* ή για την λήψη ειδικών μέτρων περιορισμού του φαινομένου της ανθεκτικότητας (Μπέτζιος 1989, Εμμανουήλ 1999, Σαββοπούλου-Σουλτάνη 1999, W.S.D.H.Z.D.P. 2008, Becker *et al.* 2010, Κολιόπουλος 2011, Σαββοπούλου-Σουλτάνη και συνεργάτες 2011).

Σύμφωνα με το πρωτόκολλο του Π.Ο.Υ. (W.H.O. 1981), προκειμένου να διερευνηθεί η ανάπτυξη ανθεκτικότητας ενός πληθυσμού κουνουπιών σε ορισμένη προνυμφοκτόνο ουσία, θα πρέπει να προσδιοριστεί αρχικά η βάση της ευαισθησίας (base-line susceptibility) ενός «κανονικού» πληθυσμού κουνουπιών, δηλαδή ενός πληθυσμού ο οποίος δεν δέχτηκε ποτέ πίεση επιλογής ανθεκτικών στελεχών από προνυμφοκτόνα εντομοκτόνα και τα ανθεκτικά άτομα του πληθυσμού του είναι σπάνια. Μετά από έκθεση των προνυμφών του πληθυσμού αυτού σε μία σειρά δόσεων του εντομοκτόνου, προκύπτει μία γραμμική σχέση μεταξύ των τροποποιημένων δόσεων σε δεκαδική λογαριθμική κλίμακα (\log_{10}) και των τροποποιημένων ποσοστών θνησιμότητας σε Probit μονάδες, με την Probit ανάλυση. Από αυτή τη σχέση υπολογίζονται οι τιμές LD_{50} , LD_{90} καθώς και η LD_{100} . Η διπλάσια δόση της LD_{100} , δηλαδή της δόσης που σκοτώνει το 100% του πληθυσμού, ονομάζεται διαγνωστική δόση (diagnostic dose). Εάν επανειλημμένως, σε κάποιο πληθυσμό κουνουπιών καταγράφονται κάποια ποσοστά επιβίωσης μετά την εφαρμογή της διαγνωστικής δόσης τότε υπάρχει μια πρώτη ένδειξη εμφάνισης ανθεκτικότητας.

Το *Ae. albopictus* είναι ένα νεοεισελθέν είδος κουνουπιού στην Αττική και οι πληθυσμοί του, λόγω της περιορισμένης ακόμη χρήσης χημικών για το συγκεκριμένο είδος κουνουπιού, δεν έχουν ενδεχομένως αναπτύξει ακόμη ανθεκτικότητα, λόγω εντατικής χρήσης χημικών και αυξημένης πίεσης επιλογής ανθεκτικών στελεχών. Φυσικά, οι άγριοι

πληθυσμοί του *Ae. albopictus* που δραστηριοποιούνται στην Αττική και προέρχονται από άλλα/ο μέρη/ος του κόσμου, ενδεχομένως φέρουν γονίδια ανθεκτικότητας από χρήση χημικών στις χώρες προέλευσης. Η συλλογή λοιπόν πληθυσμών του *Ae. albopictus* από περιοχές της Αττικής δεν αποκλείει την συλλογή ανθεκτικών σε εντομοκτόνα πληθυσμών του συγκεκριμένου είδους.

4.2.2 Σκοπός της μελέτης

Στο παρόν κεφάλαιο αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα τεσσάρων βιοκτόνων δραστικών ουσιών, οι οποίες είναι εγκεκριμένες στη χώρα μας για την καταπολέμηση προνυμφών κουνουπιών σε εστίες νερού, εναντίον του *Ae. albopictus*. Πιο συγκεκριμένα, διερευνήθηκε η προνυμφοκτόνος δράση, σε εργαστηριακή εκτροφή πληθυσμού του *Ae. albopictus* που δραστηριοποιείται στην Αττική, των παρακάτω δραστικών ουσιών: του spinosad που είναι φυσικής προέλευσης, του *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (*B.t.i*) που είναι βιολογικής προέλευσης, και των ρυθμιστών ανάπτυξης (IGR's) diflubenzuron και methoprene. Στόχοι των βιοδοκιμών αποτελεσματικότητας ήταν:

- Η αξιολόγηση της προνυμφοκτόνου δράσης των παραπάνω τεσσάρων εγκεκριμένων δραστικών ουσιών εναντίον πληθυσμού του *Ae. albopictus* που δραστηριοποιείται στην Αττική. Τα αποτελέσματα συσχέτισθηκαν με βιβλιογραφικές αναφορές σε σχέση με την αποτελεσματικότητα των ουσιών αυτών που καταγράφηκε εναντίον πληθυσμών του *Ae. albopictus* από την Ελλάδα και άλλες περιοχές του κόσμου.
- Ο προσδιορισμός μιας «προκαταρκτικής» ενδεικτικής βάσης ευαισθησίας και της διαγνωστικής δόσης των εγκεκριμένων αυτών δραστικών ουσιών, εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* που δραστηριοποιείται στην Αττική, ώστε να είναι δυνατή η παρακολούθηση της ευαισθησίας των πληθυσμών του είδους αυτού στο μέλλον μετά από την πιθανή εντατική χρήση χημικών, την αυξημένη πίεση επιλογής ανθεκτικών στελεχών και την ενδεχόμενη ανάπτυξη ανθεκτικότητας.

4.2.3 Υλικά και Μέθοδοι

Στην παράγραφο αυτή περιγράφονται τα υλικά και οι μέθοδοι που χρησιμοποιήθηκαν για τη διενέργεια βιοδοκιμών αποτελεσματικότητας των εγκεκριμένων στη χώρα μας δραστικών ουσιών spinosad, *B.t.i.*, diflubenzuron και methoprene εναντίον προνυμφών πληθυσμού του *Ae. albopictus* που δραστηριοποιείται στην Αθήνα.

4.2.3.1 Διενέργεια βιοδοκιμών

Η τοξική δράση των εγκεκριμένων προνυμφοκτόνων δραστικών ουσιών στη χώρα μας, μελετήθηκε εναντίον προνυμφών που προήλθαν από την εργαστηριακή εκτροφή του *Ae. albopictus* που διατηρείτο στο Εργαστήριο Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μ.Φ.Ι. Η εκτροφή στο εργαστήριο ξεκίνησε από ωά του *Ae. albopictus* τα οποία συλλέχτηκαν από περιοχή της Αττικής το Μάιο του 2011 (βλέπε παρ. 3.3.2). Οι βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας πραγματοποιήθηκαν με άτομα (προνύμφες) της εκτροφής που διατηρούνταν περίπου για ένα έτος και για περισσότερες από 10 γενιές.

Η διενέργεια των βιοδοκιμών αποτελεσματικότητας πραγματοποιήθηκε με βάση το πρωτόκολλο του Π.Ο.Υ. (W.H.O. 2005) υπολογίζοντας τις τιμές LC₅₀ και LC₉₀ (Lethal Concentration), δηλαδή τις συγκεντρώσεις που προκαλούν 50 και 90% θνησιμότητα, αντίστοιχα, για τις δραστικές ουσίες spinosad και *B.t.i*, καθώς και τις τιμές EI₅₀ και EI₉₀ (Emergence Inhibition), δηλαδή τις συγκεντρώσεις που προκαλούν 50 και 90% παρεμπόδιση στην έξοδο των τελείων, αντίστοιχα, για τους ρυθμιστές ανάπτυξης diflubenzuron και methoprene. Η διενέργεια των βιοδοκιμών πραγματοποιήθηκε σε δωμάτιο ελεγχόμενων συνθηκών (θερμοκρασία 25±1°C, φωτοπερίοδο 16Φ:8Σ και σχετική υγρασία 80%).

Για τη διενέργεια των βιοδοκιμών αποτελεσματικότητας των δραστικών ουσιών εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω εγκεκριμένα στη χώρα μας βιοκτόνα σκευάσματα:

- Για το spinosad χρησιμοποιήθηκε το σκεύασμα Mozkill 120 SC, μορφής πυκνού εναιωρήματος και περιεκτικότητας σε spinosad 12% β/ο, το οποίο διατέθηκε για πειραματισμό από την εταιρεία Dow AgroSciences Export SAS.
- Για το *Bacillus thuringiensis* supsp. *israelensis* χρησιμοποιήθηκε το σκεύασμα Vectobac 120 SC, μορφής πυκνού εναιωρήματος, και περιεκτικότητας σε *Bacillus thuringiensis* (serotype H-14) 1,32% β/ο (ισοδύναμο με 1200 IU/mgr), το οποίο διατέθηκε για πειραματισμό από την εταιρεία BASF Agro Ελλάς ABEE.
- Για το diflubenzuron χρησιμοποιήθηκε το σκεύασμα Du-Dim 15 SC, μορφής πυκνού εναιωρήματος, και περιεκτικότητας σε diflubenzuron 15% β/ο, το οποίο διατέθηκε για πειραματισμό από την εταιρεία VETERIN ABEE.
- Για το methoprene χρησιμοποιήθηκε το σκεύασμα Bioprene-BM 20 EC, μορφής υγρού γαλακτοματοποιήσιμου, και περιεκτικότητας σε s-methoprene 19% β/ο, το οποίο είναι της εταιρείας ΦΑΡΜΑ-XHM ABEE και για τις ανάγκες του

πειραματισμού αγοράστηκε η μικρή συσκευασία των 40 ml από κατάστημα γεωργικών φαρμάκων.

Θα πρέπει να διευκρινιστεί ότι ειδικά στην περίπτωση των σκευασμάτων Mozkill 120SC και Vectobac 12SC προτιμήθηκε η διάθεση δειγμάτων τους από τις εταιρείες κατόχους των εγκρίσεων κυκλοφορίας, καθώς είναι σκευάσματα που διατίθενται στην αγορά μόνο σε μεγάλες συσκευασίες άνω των 10 λίτρων.

4.2.3.1.1 Spinosad και *Bacillus thuringiensis* supsp. *israelensis* (*B.t.i.*)

Στην περίπτωση του spinosad αρχικά, παρασκευάστηκε μητρικό υδατικό διάλυμα (stock solution) περιεκτικότητας 1% β/ο σε δραστική ουσία. Από το σκεύασμα Mozkill 120SC, περιεκτικότητας 12 % β/ο σε spinosad, πάρθηκαν με τη βοήθεια πιπέτας 1,666 ml, τα οποία αντιστοιχούν σε 0,2 γρ. spinosad. Η ποσότητα αυτή διαλύθηκε σε 18,333 ml αποσταγμένου νερού, σε ποτήρι ζέσεως, με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα (magnetic stirrer). Έτσι, προέκυψε μητρικό υδατικό διάλυμα 1% β/ο σε spinosad (από το σκεύασμα Mozkill 120SC). Στη συνέχεια, με τη βοήθεια πιπέτας πάρθηκαν 2 ml από το διάλυμα 1% και διαλύθηκαν σε 18 ml αποσταγμένου νερού εντός ποτηριού ζέσεως με τη βοήθεια του μαγνητικού αναδευτήρα και προέκυψε μητρικό υδατικό διάλυμα 0,1 % σε spinosad. Με την ίδια διαδικασία και διαδοχικές αραιώσεις προέκυψαν μητρικά υδατικά διαλύματα των 20 ml, περιεκτικότητας 0,01% και 0,001% β/ο σε spinosad.

Στην περίπτωση του *B.t.i.* αρχικά, παρασκευάστηκε μητρικό υδατικό διάλυμα (stock solution) περιεκτικότητας 1% β/ο σε δραστική ουσία. Από το σκεύασμα Vectobac 12SC, περιεκτικότητας 1,32 % β/ο σε *B.t.i.*, πάρθηκαν με τη βοήθεια πιπέτας 15,15 ml, τα οποία αντιστοιχούν σε 0,2 γρ. spinosad. Η ποσότητα αυτή διαλύθηκε σε 4,85 ml αποσταγμένου νερού, σε ποτήρι ζέσεως, με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα (magnetic stirrer). Έτσι, προέκυψε μητρικό υδατικό διάλυμα 1% β/ο σε *B.t.i.* (από το σκεύασμα Vectobac 12SC). Στη συνέχεια, με τη βοήθεια πιπέτας πάρθηκαν 2 ml από το διάλυμα 1% και διαλύθηκαν σε 18 ml αποσταγμένου νερού εντός ποτηριού ζέσεως με τη βοήθεια του μαγνητικού αναδευτήρα και προέκυψε μητρικό υδατικό διάλυμα 0,1 % σε *B.t.i.* Με την ίδια διαδικασία και διαδοχικές αραιώσεις προέκυψαν μητρικά υδατικά διαλύματα των 20 ml, περιεκτικότητας 0,01% και 0,001% β/ο σε *B.t.i.*

Οι βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας και για τις δύο παραπάνω δραστικές ουσίες πραγματοποιήθηκαν σε πλαστικά δοχεία (ποτήρια) χωρητικότητας 200 ml, που περιείχαν

100 ml αποσταγμένου νερού και στα οποία τοποθετούνταν 20 προνύμφες 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*.

Στο δοχείο βιοδοκιμών με τα 100 ml νερό και τις προνύμφες κουνουπιών προσθέτονταν, με τη βοήθεια πιπέτας, ένα εύρος δόσεων (τουλάχιστον 4) από τα μητρικά διαλύματα, οι οποίες προκαλούν θνησιμότητα μεταξύ 10 και 95% μετά από 24 και 48 ώρες έκθεσης, έτσι ώστε να υπολογιστούν οι τιμές LC₅₀ και LC₉₀. Κάθε δόση (συγκέντρωση ουσίας στο διάλυμα) δοκιμάστηκε τέσσερις φορές (4 επαναλήψεις) ενώ παράλληλα διατηρούνταν και μάρτυρας (control), δηλαδή δοχείο με 100 ml αποσταγμένου νερού και 20 προνύμφες του *Ae. albopictus*.

Η τοξική δράση και των δύο δραστικών ουσιών προσδιορίστηκε με την καταγραφή της θνησιμότητας των προνυμφών στις 24 και 48 ώρες. Κατά το διάστημα αυτό δεν χορηγήθηκε τροφή στις προνύμφες. Σε περίπτωση που ορισμένες προνύμφες είχαν μεταμορφωθεί σε νύμφες, αυτές δεν υπολογίζονταν στο συνολικό αριθμό ζωντανών ατόμων του πειράματος. Σε περίπτωση που ο αριθμός των νυμφών στο μάρτυρα υπερέβαινε το 10%, τότε το πείραμα ακυρώνονταν. Εάν η θνησιμότητα στο μάρτυρα ήταν μεταξύ 5 και 20%, οι θνησιμότητα στις επεμβάσεις με τις δραστικές ουσίες διορθώνονταν με τον τύπο του Abbott: Θνησιμότητα (%) = $\frac{X-Y}{X} * 100$

(X= % επιβίωσης στον μάρτυρα, Y= % επιβίωσης στην επέμβαση)

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 στην άκρη του σιφωνίου τους με τη μύτη μιας βελόνας, οι προνύμφες που αδυνατούν να κολυμπήσουν ως την επιφάνεια για να αναπνεύσουν και οι προνύμφες που δεν παρουσιάζουν την χαρακτηριστική αντίδραση βύθισής τους στο νερό όταν εκείνο διαταράσσεται

4.2.3.1.1.1 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση της θνησιμότητας των προνυμφών στις 24 και 48 ώρες έγινε με την Probit ανάλυση όπως ακριβώς περιγράφηκε στην παρ. 4.1.3.1.5.1 που αφορά την στατιστική ανάλυση των δεδομένων της τοξικής δράσης εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus*.

4.2.3.1.2 Diflubenzuron και Methoprene

Στην περίπτωση του diflubenzuron αρχικά, παρασκευάστηκε μητρικό υδατικό διάλυμα (stock solution) περιεκτικότητας 1% β/ο σε δραστική ουσία. Από το σκεύασμα Du-dim 15SC, περιεκτικότητας 15 % β/ο σε diflubenzuron, πάρθηκαν με τη βοήθεια πιπέτας 1,333 ml, τα οποία αντιστοιχούν σε 0,2 γρ. diflubenzuron. Η ποσότητα αυτή διαλύθηκε σε 18,666 ml αποσταγμένου νερού, σε ποτήρι ζέσεως, με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα (magnetic stirrer). Έτσι, προέκυψε μητρικό υδατικό διάλυμα 1% β/ο σε diflubenzuron (από το σκεύασμα Du-Dim 15SC). Στη συνέχεια, με τη βοήθεια πιπέτας πάρθηκαν 2 ml από το διάλυμα 1% και διαλύθηκαν σε 18 ml αποσταγμένου νερού εντός ποτηριού ζέσεως με τη βοήθεια του μαγνητικού αναδευτήρα και προέκυψε μητρικό υδατικό διάλυμα 0,1 % σε diflubenzuron. Με την ίδια διαδικασία και διαδοχικές αραιώσεις προέκυψαν μητρικά υδατικά διαλύματα των 20 ml, περιεκτικότητας 0,01%, 0,001, 0,0001 και 0,00001% β/ο σε diflubenzuron.

Στην περίπτωση του methoprene αρχικά, παρασκευάστηκε μητρικό υδατικό διάλυμα (stock solution) περιεκτικότητας 1% β/ο σε δραστική ουσία. Από το σκεύασμα Bioprene-BM 20 EC, περιεκτικότητας 19 % β/ο σε methoprene, πάρθηκαν με τη βοήθεια πιπέτας 1,05 ml, τα οποία αντιστοιχούν σε 0,2 γρ. methoprene. Η ποσότητα αυτή διαλύθηκε σε 18,950 ml αποσταγμένου νερού, σε ποτήρι ζέσεως, με τη βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα (magnetic stirrer). Έτσι, προέκυψε μητρικό υδατικό διάλυμα 1% β/ο σε methoprene (από το σκεύασμα Bioprene-BM 20 EC). Στη συνέχεια, με τη βοήθεια πιπέτας πάρθηκαν 2 ml από το διάλυμα 1% και διαλύθηκαν σε 18 ml αποσταγμένου νερού εντός ποτηριού ζέσεως με τη βοήθεια του μαγνητικού αναδευτήρα και προέκυψε μητρικό υδατικό διάλυμα 0,1 % σε methoprene. Με την ίδια διαδικασία και διαδοχικές αραιώσεις προέκυψαν μητρικά υδατικά διαλύματα των 20 ml, περιεκτικότητας 0,01%, 0,001% και 0,0001% β/ο σε methoprene.

Οι βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας και για τις δύο παραπάνω δραστικές ουσίες πραγματοποιήθηκαν σε πλαστικά δοχεία (ποτήρια) χωρητικότητας 200 ml, που περιείχαν 100 ml αποσταγμένου νερού και καλύπτονταν με τούλι. Εντός των δοχείων βιοδοκιμών τοποθετούνταν 20 προνύμφες 3^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* από την εργαστηριακή εκτροφή (Εικόνα 74).

Στο δοχείο βιοδοκιμών με τα 100 ml νερό και τις προνύμφες κουνουπιών προσθέτονταν, με τη βοήθεια πιπέτας, ένα εύρος δόσεων (4-5) από τα μητρικά διαλύματα, οι οποίες προκαλούν παρεμπόδιση της εξέλιξης των προνυμφών τελικώς σε τέλεια σε

ποσοστό μεταξύ 10 και 95%. Έτσι υπολογίστηκαν οι τιμές EI₅₀ και EI₉₀ (Emergence Inhibition) - δηλαδή οι συγκεντρώσεις που παρεμποδίζουν την έξοδο των τελείων στο 50 και 90% των προνυμφών, αντίστοιχα. Η καταμέτρηση των νεκρών και ζωντανών προνυμφών, νυμφών και τελείων σε κάθε δοχείο βιοδοκιμής πραγματοποιούνταν καθημερινά, ενώ κάθε φορά αφαιρούνταν από το δοχείο τα νεκρά άτομα. Κάθε δεύτερη ημέρα σε κάθε δοχείο βιοδοκιμής προστίθετο μικρή ποσότητα τροφής (ιχθυοτροφή), με δόση 10 mg/ λίτρο διαλύματος, έως ότου καταγραφεί η τελική θνησιμότητα σε όλες τις προνύμφες / νύμφες και η έξοδος των τελείων, οπότε και τελείωνε η βιοδοκιμή. Για τον υπολογισμό της ποσότητας τροφής διαλύθηκαν 400 mg τροφής σε 100 ml νερό και από αυτό το διάλυμα σε κάθε δοχείο με 100 ml υδατικού διαλύματος με το σκεύασμα προσθέτονταν 0,25 ml που περιείχαν 1 mg τροφής. Κάθε δόση (συγκέντρωση ουσίας στο διάλυμα) δοκιμάστηκε τέσσερις φορές (4 επαναλήψεις) ενώ παράλληλα διατηρούνταν και μάρτυρας (control), δηλαδή δοχείο με 100 ml αποσταγμένου νερού, τη δόση τροφής και 20 προνύμφες 3^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* μέχρι την έξοδο όλων των τελείων και την καταγραφή της τελικής θνησιμότητας σε προνύμφες/νύμφες.

Σε περίπτωση που το ποσοστό εξόδου των τελείων στον μάρτυρα ήταν μικρότερο από 80%, τότε το πείραμα ακυρώνονταν. Εάν το ποσοστό αυτό ήταν μεταξύ 80 και 95% τότε το ποσοστό παρεμπόδισης της εξόδου των τελείων στις επεμβάσεις με τις δραστικές ουσίες διορθώνονταν με τον τύπο του Abbott.



Εικόνα 74. Δοχεία βιοδοκιμών αποτελεσματικότητας των ρυθμιστών ανάπτυξης diflubenzuron και methoprene εναντίον προνυμφών 3^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*.

4.2.3.1.2.1 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση της παρεμπόδισης εξόδου τελείων για κάθε ουσία έγινε με την Probit ανάλυση όπως ακριβώς περιγράφηκε στην παρ. 4.1.3.1.5.1 που αφορά την στατιστική ανάλυση των δεδομένων της τοξικής δράσης εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus*.

4.2.4 Αποτελέσματα

4.2.4.1 Τοξική δράση του spinosad εναντίον προνυμφών του *Ae. albopictus*

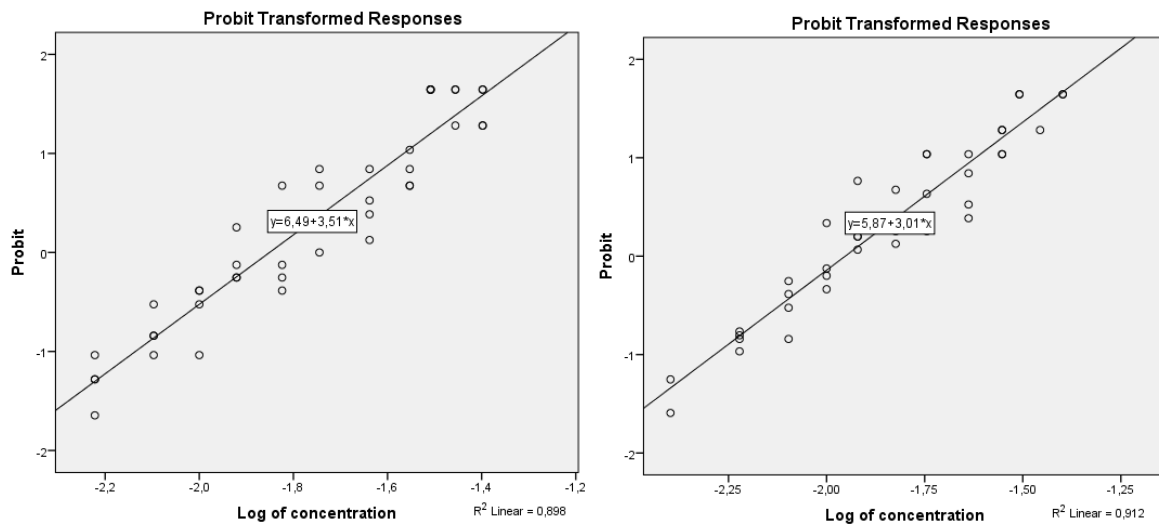
Η τοξική δράση του spinosad μετά από 24 και 48 ώρες έκθεσης των προνυμφών 3^{ης}-4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* φαίνεται στον **Πίνακα 15** που ακολουθεί. Πιο συγκεκριμένα, μετά από 24 ώρες έκθεσης των προνυμφών στο spinosad οι LC₅₀ και LC₉₀ τιμές ήταν 0,014 και 0,034 mg/lit (ppm), αντίστοιχα. Αντίστοιχα, στις 48 ώρες οι δόσεις στις οποίες θανατώνονταν το 50 και 90% του πληθυσμού των προνυμφών (LC₅₀ και LC₉₀) ήταν 0,011 και 0,027 mg/lit (ppm), αντίστοιχα. Στο **Διάγραμμα 13** που ακολουθεί απεικονίζεται η γραμμική σχέση μεταξύ των δόσεων του spinosad (μετά από μετατροπή σε log₁₀) και του % θνησιμότητας των προνυμφών του *Ae. albopictus* (μετά από μετατροπή σε Probit μονάδες) μετά από 24 και 48 ώρες έκθεσης στο spinosad.

Πίνακας 15. LC₅₀ και LC₉₀ τιμές για το spinosad εναντίον προνυμφών 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*

spinosad	Κλίση ευθείας (±T.Σ.)	LC ₅₀ (95% O.E.) ^α	LC ₉₀ (95% O.E.) ^α	$\chi^{2\beta}$	B.E.
Στις 24 ώρες	3,4±0,2	0,014 (0,013-0,015)	0,034 (0,031-0,038)	40,134	42
Στις 48 ώρες	3,4±0,2	0,011 (0,010-0,012)	0,027 (0,025-0,030)	41,874	46

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

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



Διάγραμμα 13. Διαγραμματική απεικόνιση, με την Probit ανάλυση, της γραμμικής σχέσης των δόσεων του spinosad (μετά από μετατροπή σε \log_{10}) και του % θνησιμότητας των προνυμφών του *Ae. albopictus* (μετά από μετατροπή σε Probit μονάδες) μετά από 24 ώρες (αριστερά) και 48 ώρες (δεξιά) έκθεσης στο spinosad.

4.2.4.2 Τοξική δράση του *Bacillus thuringiensis* supsp. *israelensis* (*B.t.i.*) εναντίον προνυμφών του *Ae. albopictus*

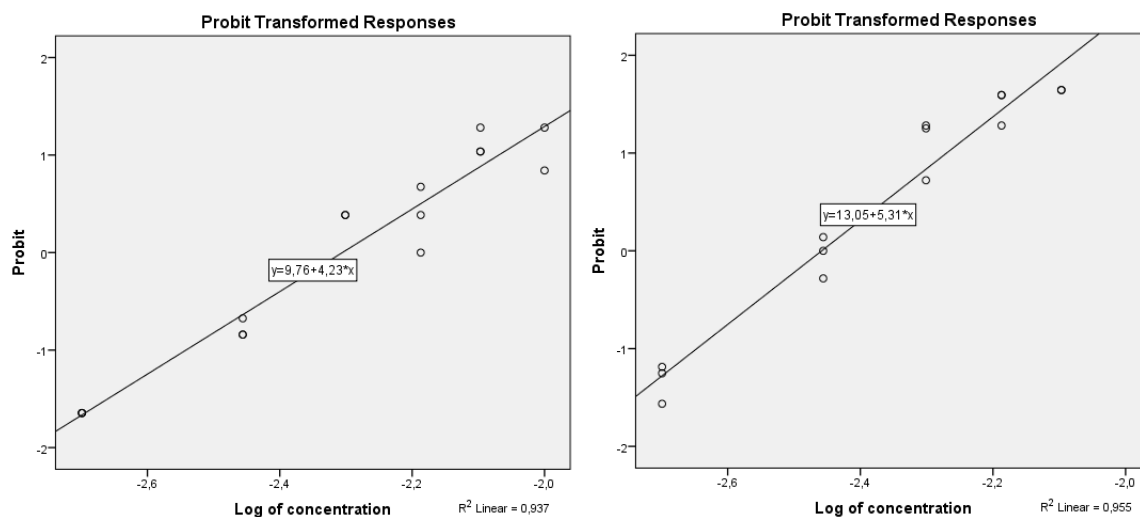
Η τοξική δράση του *B.t.i.* μετά από 24 και 48 ώρες έκθεσης των προνυμφών 3^{ης}- 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* φαίνεται στον **Πίνακα 16** που ακολουθεί. Πιο συγκεκριμένα, μετά από 24 ώρες έκθεσης των προνυμφών στο *B.t.i.* οι LC₅₀ και LC₉₀ τιμές ήταν 0,0049 και 0,0092 mg/lit (ppm), αντίστοιχα. Αντίστοιχα, στις 48 ώρες οι δόσεις στις οποίες θανατώνονταν το 50 και 90% του πληθυσμού των προνυμφών (LC₅₀ και LC₉₀) ήταν 0,0035 και 0,0059 mg/lit (ppm), αντίστοιχα. Στο **Διάγραμμα 14** που ακολουθεί απεικονίζεται η γραμμική σχέση μεταξύ των δόσεων του *B.t.i.* (μετά από μετατροπή σε \log_{10}) και του % θνησιμότητας των προνυμφών του *Ae. albopictus* (μετά από μετατροπή σε Probit μονάδες) μετά από 24 και 48 ώρες έκθεσης στο *B.t.i.*.

Πίνακας 16. LC₅₀ και LC₉₀ τιμές για το *B.t.i.* εναντίον προνυμφών 3^{ης} – 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*

<i>B.t.i</i>	Κλίση ευθείας (±T.Σ.)	LC ₅₀ (95% O.E.) ^α	LC ₉₀ (95% O.E.) ^α	χ^2_{β}	B.E.
Στις 24 ώρες	4,7±0,4	0,0049 (0,0045-0,0053)	0,0092 (0,0083-0,0104)	18,656	19
Στις 48 ώρες	5,6±0,5	0,0035 (0,0032-0,0038)	0,0059 (0,0053-0,0066)	6,586	16

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

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



Διάγραμμα 14. Διαγραμματική απεικόνιση, με την Probit ανάλυση, της γραμμικής σχέσης των δόσεων του *B.t.i* (μετά από μετατροπή σε \log_{10}) και του % θνησιμότητας των προνυμφών του *Ae. albopictus* (μετά από μετατροπή σε Probit μονάδες) μετά από 24 ώρες (αριστερά) και 48 ώρες (δεξιά) έκθεσης στο *B.t.i*.

4.2.4.3 Βιολογική δράση των ρυθμιστών ανάπτυξης diflubenzuron και methoprene εναντίον προνυμφών του *Ae. albopictus*

Η βιολογική δράση των ρυθμιστών ανάπτυξης diflubenzuron και methoprene μετά από έκθεση των προνυμφών 3^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* φαίνεται συνοπτικά στον **Πίνακα 17** που ακολουθεί. Πιο συγκεκριμένα, οι τιμές EI₅₀ και EI₉₀ για τις προνύμφες του *Ae. albopictus* μετά από την έκθεσή τους στο diflubenzuron ήταν 0,0012 και 0,0041 mg/lt (ppm), αντίστοιχα. Ομοίως, οι δόσεις του methoprene στις οποίες παρεμποδίστηκε η

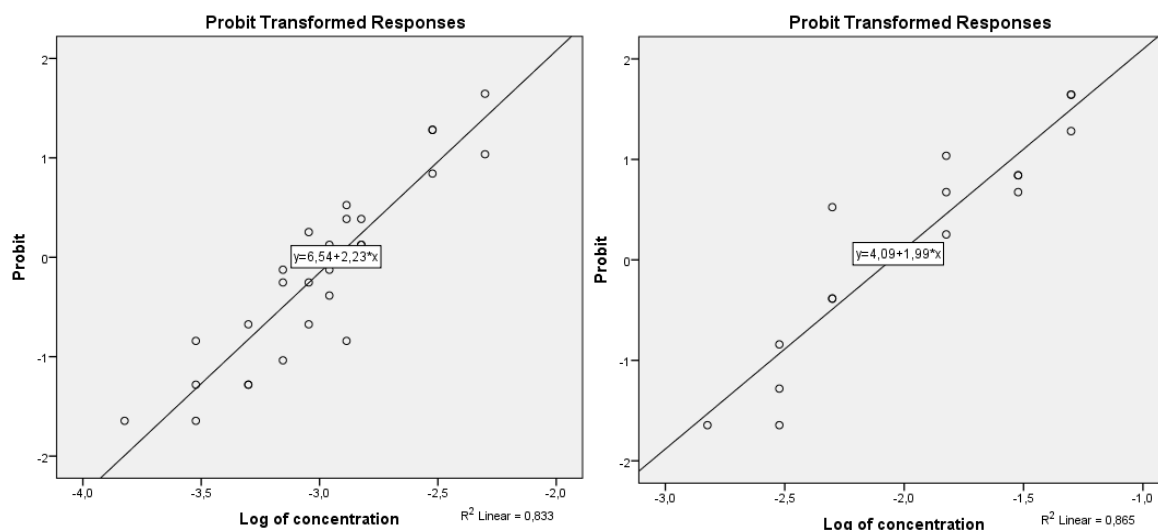
έξοδος στο 50 και 90% του πληθυσμού των προνυμφών (EI₅₀ και EI₉₀) ήταν 0,0088 και 0,038 mg/lit (ppm), αντίστοιχα. Στο **Διάγραμμα 15** που ακολουθεί απεικονίζεται, με την Probit ανάλυση, η γραμμική σχέση μεταξύ των δόσεων του diflubenzuron και του methoprene (μετά από μετατροπή σε log₁₀) και του % παρεμπόδισης εξόδου των τελείων του *Ae. albopictus* (μετά από μετατροπή σε Probit μονάδες) μετά από έκθεση των προνυμφών 3^{ης} ηλικίας σε αυτές τις δραστικές ουσίες.

Πίνακας 17. EI₅₀ και EI₉₀ τιμές για το diflubenzuron και το methoprene εναντίον προνυμφών 3^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus*

Δρ. ουσία	Κλίση ευθείας (±T.Σ.)	EI ₅₀ (95% O.E.) ^α	EI ₉₀ (95% O.E.) ^α	χ ^{2β}	B.E.
diflubenzuron	2,4±0,2	0,0012 (0,0010-0,0013)	0,0041 (0,0033-0,0054)	38,867	28
methoprene	2,0±0,2	0,0088 (0,0073-0,0105)	0,038 (0,029-0,053)	27,356	19

^α Οι τιμές EI εκφράζονται σε mg/ lt και υπάρχει μεταξύ τους στατιστικώς σημαντική διαφορά όταν τα όρια εμπιστοσύνης (O.E.) για επίπεδο σημαντικότητας α = 0,05 (95%) δεν επικαλύπτονται.

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



Διάγραμμα 15. Διαγραμματική απεικόνιση, με την Probit ανάλυση, της γραμμικής σχέσης των δόσεων (μετά από μετατροπή σε log₁₀) και του % παρεμπόδισης εξόδου τελείων του *Ae. albopictus* (μετά από μετατροπή σε Probit μονάδες) για το diflebenzuron (αριστερά) και το methoprene (δεξιά).

4.2.5 Συζήτηση - Συμπεράσματα

Spinosad

Σε μελέτη των Κιούλος και συνεργάτες (2011), διερεύνησης της ανθεκτικότητας πληθυσμών του *Ae. albopictus* που συλλέχτηκαν τα έτη 2009-2010 από την Αττική, η LC₅₀ τιμή που υπολογίστηκε για το spinosad (0,01 ppm) από εγκεκριμένο στη χώρα μας σκεύασμα ήταν σχεδόν ίση με αυτή που καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη μετά από 48 ώρες έκθεσης των προνυμφών.

Σε εργασία ανασκόπησης των Hertlein *et al.* (2010), εφαρμόζοντας το πρωτόκολλο του Π.Ο.Υ. (W.H.O. 2005) που χρησιμοποιήθηκε και στην παρούσα εργασία, οι LC₅₀ και LC₉₀ τιμές του spinosad από σκεύασμα 120 SC εναντίον προνυμφών 4^{ης} ηλικίας του *Ae. albopictus* από εργαστηριακή εκτροφή, μετά από 48 ώρες έκθεσης, ήταν 5,5 και 1,7 φορές μικρότερες (0,002 και 0,016 ppm), αντίστοιχα, από αυτές που βρέθηκαν στην παρούσα εργασία.

Σε μελέτη των Liu *et al.* (2004) πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας τεχνικώς καθαρού spinosad, εναντίον προνυμφών του *Ae. albopictus* από περιοχές των Η.Π.Α. που είχαν εκτεθεί στη χρήση διαφόρων εντομοκτόνων (*B.t.i.*, resmethrin, permethrin, malathion) για περισσότερο από 10 έτη. Ως μάρτυρες αναφοράς χρησιμοποιήθηκαν προνύμφες του *Ae. albopictus* από εργαστηριακές εκτροφές οι άγριοι πληθυσμοί των οποίων δεν είχαν δεχθεί εκτεταμένη χρήση χημικών όπως επίσης και οι εργαστηριακοί πληθυσμοί μετά τη συλλογή τους. Από τη σύγκριση των τιμών LC₅₀ και LC₉₀, μεταξύ των άγριων πληθυσμών και των ευαίσθητων εργαστηριακών πληθυσμών του *Ae. albopictus* δεν διαπιστώθηκαν κάποια επίπεδα ανθεκτικότητας, καθώς οι τιμές LC₅₀ για τους άγριους πληθυσμούς ήταν 0,2 ppm, ενώ για τους ευαίσθητους πληθυσμούς ήταν 0,3-0,4 ppm. Αντιθέτως, οι Khan *et al.* (2011) αναφέρουν μέτρια έως υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας για πληθυσμούς του *Ae. albopictus* από περιοχές του Πακιστάν στο spinosad, καθώς οι LC₅₀ τιμές που υπολογίστηκαν από σκεύασμα ήταν 23 έως 50 φορές μεγαλύτερες από εκείνη που καταγράφηκε σε ευαίσθητο εργαστηριακό πληθυσμό (LC₅₀ = 0,019 ppm). Οι τιμές LC₅₀ του spinosad που υπολογίστηκαν για προνύμφες εργαστηριακής εκτροφής του πληθυσμού του *Ae. albopictus* από την Αττική στην παρούσα μελέτη, μπορούν κατ' αντιστοιχία να χρησιμοποιηθούν για τη διερεύνηση της ανθεκτικότητας σε πληθυσμούς του *Ae. albopictus* μετά από την εντατική χρήση χημικών.

Σχετικά με τη δράση του spinosad σε άλλα είδη κουνουπιών, οι Bahgat *et al.* (2007) αναφέρουν ότι η μορφή του πυκνού εναιωρήματος (SC) είναι πιο δραστική σε σχέση με τη μορφή σκόνης (dust) του spinosad εναντίον προνυμφών του *Cx. pipiens*, και οι τιμές LC₅₀

και LC₉₀ του spinosad από σκεύασμα SC περιεκτικότητας 12% εναντίον προνυμφών άγριου πληθυσμού του συγκεκριμένου είδους μετά από 24 ώρες έκθεσης ήταν 0,002 και 0,006 ppm, αντίστοιχα. Σύμφωνα με τους Romi *et al.* (2006) οι τιμές LC₅₀ και LC₉₀ του spinosad από σκεύασμα EC περιεκτικότητας 4,8% εναντίον προνυμφών εργαστηριακών εκτροφών (>30 ετών) τριών ειδών κουνουπιών (*An. stephensi*, *Ae. aegypti* και *Cx. pipiens*) μετά από 24 ώρες έκθεσης κυμάνθηκαν από 0,039 έως 0,0096 mg/lit και 0,015 έως 0,101 mg/lit, αντίστοιχα. Σε προνύμφες άγριου πληθυσμού του *Cx. pipiens* που συλλέχτηκαν από υπονόμους στην Αντάλια της Τουρκίας, οι τιμές LC₅₀ και LC₉₀ του spinosad από σκεύασμα 12% SC στις 24 ώρες ήταν 0,027 και 0,111 ppm, αντίστοιχα (Cetin and Yanikoglu 2006). Βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας με το spinosad από σκεύασμα EC περιεκτικότητας 4,8% σε προνύμφες εργαστηριακής εκτροφής από το Μεξικό ευαίσθητου σε εντομοκτόνα πληθυσμού του *Ae. aegypti* προκάλεσαν 50% θνησιμότητα (LC₅₀) στη δόση 0,025 και 0,026 ppm (Bond *et al.* 2004, Perez *et al.* 2007). Ο Mulla (2006) πραγματοποίησε βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας με την τεχνικώς καθαρή ουσία spinosad σε απλό διάλυμα ακετόνης, καθώς και με σκεύασμα SC περιεκτικότητας σε spinosad 12% εναντίον προνυμφών 4^{ης} ηλικίας του *Cx. quinquefasciatus* και του *Ae. aegypti*. Οι τιμές LC₅₀ και LC₉₀ της τεχνικώς καθαρής ουσίας στις 24 ώρες ήταν 0,084 και 0,155 mg/lit για το *Ae. aegypti* και 0,094 και 0,281 mg/lit για το *Cx. quinquefasciatus*. Το spinosad από το σκεύασμα 12% SC ήταν πιο δραστικό καθώς οι τιμές LC₅₀ και LC₉₀ στις 24 ώρες για το *Ae. aegypti* ήταν 0,030 και 0,061 και για το *Cx. quinquefasciatus* ήταν 0,013 και 0,038, αντίστοιχα.

***Bacillus thuringiensis* supsp. *israelensis* (B.t.i)**

Σε μελέτη των Κιούλος και συνεργάτες (2011), διερεύνησης της ανθεκτικότητας πληθυσμών του *Ae. albopictus* που συλλέχτηκαν τα έτη 2009-2010 από την Αττική και τη Κέρκυρα, οι LC₅₀ τιμές του *B.t.i* που υπολογίστηκαν από εγκεκριμένο στη χώρα μας σκεύασμα ήταν 2 (0,00175 ppm) και 1,5 (0,00237 ppm) φορές μικρότερες σε σχέση με εκείνη που καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη μετά από 48 ώρες έκθεσης των προνυμφών.

Σε μελέτη των Ali *et al.* (1995) βρέθηκε ότι οι LC₅₀ και LC₉₀ τιμές του σκευάσματος Vectobac TP (5.000 ITU/mg) εναντίον προνυμφών της F1 γενιάς του *Ae. albopictus* από πληθυσμό των Η.Π.Α. ήταν 0,181 και 0,380 ppm, αντίστοιχα. Στην ίδια μελέτη, οι τιμές LC₅₀ και LC₉₀ του *B.t.i* από το σκεύασμα Bactimos FC (1.200 ITU/mg) εναντίον του *Ae. albopictus* ήταν 0,849 και 1,913 ppm, αντίστοιχα.

Σε μελέτη των Russell *et al.* (2003) οι LC₅₀ και LC₉₅ τιμές του *B.t.i* από σκεύασμα μορφής βρέξιμων κόκκων (WG) και περιεκτικότητας 3.000 IU/mgr, εναντίον προνυμφών 3^{ης} ηλικίας εργαστηριακών εκτροφών πέντε διαφορετικών ειδών κουνουπιών από την Αυστραλία (*Cx. sitiens*, *Cx. quenquefasciatus*, *Cx. annulirostris*, *Oc. vigilax*, *Oc. notoscroptus* και *Ae. aegypti*) μετά από 48 ώρες έκθεσης, κυμάνθηκαν από 0,004 έως 0,019 ppm και από 0,019 έως 0,037 ppm, αντίστοιχα. Στην παρούσα εργασία, το *B.t.i.*, από διαφορετικό όμως σκεύασμα, εμφάνισε μικρότερη τιμή LC₅₀ εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus*. Οι Ponce *et al.* (2002) μελέτησαν την αποτελεσματικότητα του *B.t.i.* από το σκεύασμα Vectobac 12AS, υδατοδιαλυτής μορφής (ισοδύναμο με 600 IU/mgr), σε προνύμφες του *Ae. aegypti* της F1 γενιάς από άγριο πληθυσμό που συλλέχτηκε από περιοχή του Μεξικό. Οι βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας έδειξαν ότι οι LC₅₀ και LC₉₅ τιμές του *B.t.i* μετά από 24 ώρες έκθεσης των προνυμφών ήταν 0,0104 και 0,1843 ppm, αντίστοιχα. Οι ίδιοι συγγραφείς αναφέρουν ότι σε μελέτη άλλων ερευνητών βρέθηκε ότι η LC₅₀ τιμή του *B.t.i.* από το σκεύασμα Vectobac AS (1.200 IU/mgr) εναντίον προνυμφών του *Ae. aegypti* ήταν 0,0027 mg/lit.

Σύμφωνα με τους Skovmand *et al.* (1998) η μεγάλη παραλλακτικότητα που παρατηρείται στην αποτελεσματικότητα του *B.t.i.* εναντίον των προνυμφών συγκεκριμένων ειδών κουνουπιών μπορεί να οφείλεται σε διαφορές του βιολογικού υλικού που χρησιμοποιείται κάθε φορά όπως η ηλικία, το στάδιο ανάπτυξης, η φυλή και η τροφή που χορηγείται στις προνύμφες. Οι συγκεκριμένοι συγγραφείς διαπίστωσαν σημαντικές διαφορές στις τιμές LC₅₀ που υπολογίστηκαν από διαφορετικά εργαστήρια εναντίων του ίδιου βιολογικού υλικού (προνύμφες του ίδιου είδους, ίδιας φυλής και ηλικίας) μεταξύ σκευασμάτων *B.t.i.*, ίδιας μορφής και σύστασης, αλλά διαφορετικών εταιρειών.

Diflubenzuron

Σε μελέτη των Κιούλος και συνεργάτες (2011), διερεύνησης της ανθεκτικότητας πληθυσμών του *Ae. albopictus* που συλλέχτηκαν τα έτη 2009-2010 από την Αττική και τη Κέρκυρα, οι EI₅₀ τιμές του diflubenzuron που υπολογίστηκαν από εγκεκριμένο στη χώρα μας σκεύασμα (0,00191 και 0,00181 ppm, αντίστοιχα) ήταν περίπου 1,5 φορά μεγαλύτερες σε σχέση με εκείνη που καταγράφηκε στην παρούσα μελέτη.

Σε βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας εναντίον προνυμφών της F1 γενιάς του *Ae. albopictus* από άγριο πληθυσμό κουνουπιών περιοχής των Η.Π.Α., η EI₅₀ τιμή του τεχνικώς καθαρού diflubenzuron, μετά από διάλυση σε ακετόνη, ήταν 0,00045 ppm (Ali *et al.* 1995), σημειώνοντας δηλαδή 2,5 περίπου φορές μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από εκείνη που διαπιστώθηκε στην παρούσα εργασία. Η δράση του diflubenzuron, από το

σκεύασμα Dimilin (25% WP) εναντίον προνυμφών εργαστηριακής εκτροφής του *Ae. albopictus* από περιοχή του Ιράν ($EI_{50}= 0,0011$ ppm) (Baruah and Das 1996) ήταν παρόμοια με αυτή που βρέθηκε στην παρούσα εργασία.

Σύμφωνα με τους Ali *et al.* (1999) η τιμή EI_{50} για το diflubenzuron (0,0014 mg/l), από την τεχνικώς καθαρή δραστική ουσία, εναντίον προνυμφών άγριων πληθυσμών του *Cx. quinquefasciatus* από περιοχή του Μπαγκλαντές ήταν παρόμοια με αυτή που βρέθηκε στην παρούσα εργασία εναντίον του *Ae. albopictus*. Σε μελέτη αποτελεσματικότητας του diflubenzuron (σε τεχνικώς καθαρή μορφή) εναντίον προνυμφών εργαστηριακής εκτροφής των ειδών *An. stephensi* και *Cx. quinquefasciatus* από το Ιράν, διαπιστώθηκε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα εναντίον του *An. stephensi* ($EI_{50}=0,003$ mg/l) σε σχέση με το *Cx. quinquefasciatus* ($EI_{50}=0,036$ mg/l) (W.H.O. 2006b). Στην παρούσα εργασία η δράση του diflubenzuron ήταν καλύτερη εναντίον του *Ae. albopictus*.

Σε μελέτη των Seccacini *et al.* (2008) η μορφή 10% EC του diflubenzuron βρέθηκε ότι ήταν πιο αποτελεσματική από την τεχνικώς καθαρή δραστική ουσία εναντίον προνυμφών εργαστηριακής εκτροφής του *Ae. aegypti*, καθώς οι EI_{50} τιμές ήταν 0,00002 ppm και 0,00159, αντίστοιχα.

Σε βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας εναντίον προνυμφών της F1 γενιάς του *Ae. aegypti* από άγριο πληθυσμό κουνουπιών περιοχής της Βραζιλίας η EI_{50} τιμή του diflubenzuron (τεχνικώς καθαρής ουσίας) ήταν 0,00519 ppm (Silva and Mendes 2007). Η αποτελεσματικότητα του diflubenzuron της συγκεκριμένης μελέτης εναντίον του *Ae. aegypti* ήταν 4 φορές μικρότερη από εκείνη που διαπιστώθηκε στην παρούσα εργασία εναντίον του *Ae. albopictus*.

Methoprene

Σε βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας εναντίον προνυμφών της F1 γενιάς του *Ae. albopictus* από άγριο πληθυσμό κουνουπιών περιοχής των Η.Π.Α. οι EI_{50} και EI_{90} τιμές του methoprene (τεχνικώς καθαρών ουσιών) ήταν 0,0022 και 0,0081 ppm, αντίστοιχα (Ali *et al.* 1995). Η αποτελεσματικότητα του methoprene της συγκεκριμένης μελέτης εναντίον της φυλής του *Ae. albopictus* από τις Η.Π.Α. ήταν περίπου 4 φορές μεγαλύτερη από εκείνη που διαπιστώθηκε στην παρούσα εργασία εναντίον του *Ae. albopictus* από την Αθήνα, καθώς σημειώθηκαν μικρότερες τιμές EI_{50} και EI_{90} . Αντίστοιχα, σε μελέτη των Baruah and Das (1996) όπου αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του methoprene, από το σκεύασμα Altosid EC, μορφής υγρού γαλακτοματοποιήσιμου, εναντίον προνυμφών εργαστηριακής εκτροφής του *Ae. albopictus* από περιοχή του Ιράν οι EI_{50} και EI_{90} τιμές ήταν 0,001 και

0,0022 ppm, αντίστοιχα. Η δράση του methoprene στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν περίπου 9 φορές μεγαλύτερη από αυτή που καταγράφηκε στην παρούσα εργασία.

Σύμφωνα με τον Π.Ο.Υ. (W.H.O. 2001b), σειρά εργαστηριακών βιοδοκιμών αποτελεσματικότητας με την τεχνικώς καθαρή ουσία methoprene έδειξε ότι η τιμή EI₅₀ εναντίον του *Ae. aegypti* κυμαίνονταν από 0,13 έως 3,0 ppb ή 0,00013 έως 0,003 ppm.

Οι Ali *et al.* (1999) υπολόγισαν ότι η EI₅₀ τιμή για το methoprene (τεχνικώς καθαρές δραστικές ουσίες) εναντίον προνυμφών άγριων πληθυσμών του *Cx. quinquifasciatus* από περιοχή του Μπαγκλαντές ήταν 0,017 mg/Lt. Ομοίως, σε βιοδοκιμές αποτελεσματικότητας εναντίον προνυμφών της F1 γενιάς του *Ae. aegypti* από άγριο πληθυσμό κουνουπιών περιοχής της Βραζιλίας η EI₅₀ τιμή του methoprene (τεχνικώς καθαρής ουσίας) ήταν 0,01995 ppm (Silva and Mendes 2007). Η αποτελεσματικότητα του methoprene των συγκεκριμένων μελετών ήταν περίπου 2 φορές μικρότερη από εκείνη που διαπιστώθηκε στην παρούσα εργασία εναντίον του *Ae. albopictus*.

Οι Braga *et al.* (2005) μελέτησαν τη δράση του methoprene, από σκεύασμα μορφής υγρού γαλακτοματοποιήσιμου, εναντίον προνυμφών 3^{ης}-4^{ης} ηλικίας εργαστηριακής εκτροφής του είδους *Ae. aegypti*. Από τα αποτελέσματα της συγκεκριμένης μελέτης προέκυψε ότι οι EI₅₀ και EI₉₀ τιμές του methoprene ήταν 2,95 και 10,67 µg/Lt ή 0,00295 και 0,01067 mg/Lt, αντίστοιχα, δηλαδή περίπου 3 φορές μικρότερες από εκείνες που καταγράφηκαν εναντίον του *Ae. albopictus* στην παρούσα μελέτη.

Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, στην παρούσα μελέτη προσδιορίστηκαν οι ενδεικτικές βάσεις ευαισθησίας των εγκεκριμένων στην χώρα μας προνυμφοκτόνων δραστικών ουσιών, spinosad, *B.t.i.*, diflubenzuron και methoprene, εναντίον πληθυσμού του *Ae. albopictus* που δραστηριοποιείται στην Αττική και διατηρείται ως εργαστηριακή εκτροφή, προκειμένου να είναι δυνατή η παρακολούθηση της ευαισθησίας των πληθυσμών του είδους αυτού στο μέλλον μετά από την πιθανή εντατική χρήση χημικών, την αυξημένη πίεση επιλογής ανθεκτικών στελεχών και την ενδεχόμενη ανάπτυξη ανθεκτικότητας.

Επισημαίνεται ότι οι διαφορές που αναφέρθηκαν στη βιολογική δράση των δραστικών ουσιών που αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη εναντίον πληθυσμού του *Ae. albopictus* από την Αττική σε σχέση με εκείνη που αναφέρεται σε βιβλιογραφικές αναφορές εναντίον του *Ae. albopictus* ή άλλων ειδών κουνουπιών, μπορεί να οφείλονται είτε σε περιπτώσεις ενδεχόμενης ανάπτυξης ανθεκτικότητας είτε σε διαφορές του βιολογικού υλικού όπως το είδος και ο πληθυσμός του κουνουπιού, η ηλικία των προνυμφών καθώς και στο σκεύασμα της δραστικής ουσίας.

Βιβλιογραφία

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

- Abdel-Maksouda G. and A.-R. El-Amin. 2011.** A review on the materials used during the mummification processes in ancient Egypt. *Mediterranean Archaeology and Archaeometry*, 11(2): 129-150.
- Adams R. P. 2007.** Identification of essential oils components by gas chromatography/ quadrupole mass spectroscopy, 4th Edition; Allured Publishing Corp.: Carol Stream, Illinois.
- Adhami J. and N. Murati. 1987.** Prani e mushkonjes *Aedes albopictus* ne Shqiperi. [Presence of *Aedes albopictus* in Albania]. 1: 13-16. [In Albania]. *Revista Mjekesore*, 1: 13-16.
- Adhami J. and P. Reiter. 1998.** Introduction and establishment of *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae) in Albania *Journal of the American Mosquito Control Association*, 14(3): 340-343.
- Adorjan B. and G. Buchbauer. 2010.** Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25: 407-426.
- Ai-leen G. T. and R. J. Song. 2000.** The Use of GIS in ovitrap monitoring for dengue control in Singapore. *Dengue Bulletin*, 24.
- Akram W., H. A. A. Khan, F. Hafeez, H. Bilal, Y. K. Kim and J.-J. Lee. 2010.** Potential of Citrus seed extracts against dengue fever mosquito, *Aedes albopictus* (skuse) (Culicidae: Diptera). *Pakistan Journal of Botany*, 42(4): 3343-3348.
- Albieri A., M. Carrier, P. Angelini, F. Baldacchini, C. Venturelli, S. M. Zeo and R. Bellini. 2010.** Quantitative monitoring of *Aedes albopictus* in Emilia-Romagna, Northern Italy: cluster investigation and geostatistical analysis. *Bulletin of Insectology*, 63(2): 209-216.
- Ali A., M. Chowdhury, M. Hossain, M. Ameen, D. Habiba and A. Aslam. 1999.** Laboratory evaluation of selected larvicides and insect growth regulators against field-collected *Culex quinquefasciatus* larvae from urban Dhaka, Bangladesh. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 15: 43-47.
- Ali A., J. K. Nayar and R. d. Xue. 1995.** Comparative toxicity of selected larvicides and insect growth regulators to a Florida laboratory population of *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 11(1): 72-76.
- Ali S. R. and L. E. Rozeboom. 1971.** Cross-insemination frequencies between strains of *Aedes albopictus* and members of the *Aedes scutellaris* group. *Journal of Medical Entomology*, 8(3): 263-265.
- Almeida A., Y. Goncalves, M. Novo, C. Sousa, M. Melim and A. Grácio. 2007.** Vector monitoring of *Aedes aegypti* in the Autonomous Region of Madeira, Portugal. *Eurosurveillance*, available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=3311>.
- Alten B., R. Bellini, S. S. Caglar, F. M. Simsek and S. Kaynas. 2000.** Species composition and seasonal dynamics of mosquitoes in the Belek region of Turkey. *Journal of Vector Ecology*, 25(2): 146-154.
- Alto B. W. and S. A. Juliano. 2001a.** Precipitation and temperature effects on populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Implications for range expansion. *Journal of Vector Ecology*, 38(5): 646-656.
- Alto B. W. and S. A. Juliano. 2001b.** Temperature effects on the dynamics of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) populations in the laboratory. *Journal of Medical Entomology* 38(4): 548-556.
- Amer A. and H. Mehlhorn. 2006a.** Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research*, 99: 466-472.
- Amer A. and H. Mehlhorn. 2006b.** Persistency of larvicidal effects of plant oil extracts under different storage conditions. *Parasitology Research*, 99: 473-477.
- Amer A. and H. Mehlhorn. 2006c.** Repellency effect of forty-one essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* mosquitoes. *Parasitology Research*, 99: 478-490.

- Amicbase. 2010.** Collections of antimicrobial data of drugs, natural compounds and essential oils. <http://www.reviews-science.com/Index.html>.
- Anees A. M. 2008.** Larvicidal activity of *Ocimum sanctum* Linn. (Labiatae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Parasitology Research*, 103: 1451-1453.
- Angelini R., A. Finarelli, P. Angelini, C. Po, K. Petropulacos, P. Macini, C. Fiorentini, C. Fortuna, G. Venturi, R. Romi, G. Majori, L. Nicoletti, G. Rezza and A. Cassone. 2007.** An outbreak of Chikungunya fever in the province of Ravenna, Italy. *Eurosurveillance* 12(7-9): 281.
- Ansari M. A., P. Vasudevan, M. Tandon and R. K. Razdan. 2000.** Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresource Technology*, 71: 267-271.
- Aranda C., R. Eritja and D. Roiz. 2006.** First record and establishment of the mosquito *Aedes albopictus* in Spain. *Medical and Veterinary Entomology*, 20: 150-152.
- Armistead J. S., J. R. Arias, N. Nishimura and I. P. Lounibos. 2008.** Interspecific larval competition between *Aedes albopictus* and *Aedes japonicus* (Diptera: Culicidae) in Northern Virginia. *Journal of Medical Entomology*, 45(4): 629-637.
- Bahgat I. M., G. A.-E. Kady, S. A. Temerak and M. Lysandrou. 2007.** The natural bio-insecticide and its toxicity to combat some mosquito species in Ismailia Governorate, Egypt. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(4): 396-400.
- Bakkali F., S. Averbeck, D. Averbeck and M. Idaomar. 2008.** Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.
- Barnard D. R. 1999.** Repellency of essential oils to mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 36(5): 625-629.
- Barrera R. 1996.** Competition and resistance to starvation in larvae of container-inhabiting *Aedes* mosquitoes. *Ecological Entomology*, 21: 117-127.
- Baruah I. and S. C. Das. 1996.** Evaluation of Methoprene (Altosid) and Diflubenzuron (Dimilin) for control of mosquito breeding in Tezpur (Assam). *Indian Journal of Malariology*, 33: 61-66.
- Becker N., D. Petric, M. Zgomba, C. Boase, M. Madon, C. Dahl and A. Kaiser. 2010.** Mosquitoes and Their Control. Springer-Verlag Berlin Heidelberg. Second edition, 577 pp.
- Behler J. W. and G. R. DeFoliart. 1990.** Spatial distribution of *Aedes triseriatus* eggs in a site endemic for La Crosse encephalitis virus. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 6(2): 254-257.
- Bellini R. 2001.** Surveillance and prevention to stop the spread of *Aedes albopictus* in Europe. Proceedings of the 1st Balkan Conference. Malaria and Mosquito Control. 5-7 April 2001, Serres, Greece, pp. 104-106.
- Bellini R., A. Albieri, F. Balestrino, M. Carrieri, D. Porretta, S. Urbanelli, M. Calvitti, R. Moretti and S. Maini. 2010.** Dispersal and survival of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) males in Italian urban areas and significance for sterile insect technique application. *Journal of Medical Entomology*, 47(6): 1082-1091.
- Bellini R., M. Carrieri, G. Burgio and M. Bacchi. 1996.** Efficacy of different ovitraps and binomial sampling in *Aedes albopictus* surveillance activity. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 12(4): 632-636.
- Benedict M. Q. 2007.** Dissecting spermathecae to determine insemination status. In: Methods in *Anopheles* Research. Center for Disease Control (CDC). Atlanta, USA.
- Benedict M. Q., R. S. Levine, W. A. Hawley and L. P. Lounibos. 2007.** Spread of the Tiger: Global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-Borne And Zoonotic Diseases*, 7(1): 76-85.
- Birch L. C. 1979.** The effect of species of animals which share common resources on one another's distribution and abundance. *Fortschr. Zool.*, 25: 197-221.
- Birungi J. and L. Munstermann. 2002.** Genetic structure of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) populations based on mitochondrial ND5 sequences: evidence for an independent invasion into Brazil and the United States. *Annals of the Entomological Society of America*, 95: 125-132.
- Black W. C., K. S. Rai, B. J. Turco and D. C. Arroyo. 1989.** Laboratory study of competition between United States strains of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 26(4): 260-271.

- Blaustein L. and B. Kotler. 1993.** Oviposition habitat selection by the mosquito *Culiseta longiareolata*: effects of conspecifics, food, and green toad tadpoles. *Ecological Entomology*, 18: 104-108.
- Blaustein L. and J. Margalit. 1996.** Priority effects in temporary pools: nature and outcome of mosquito larva toad interactions depend on order of entrance. *Journal of Animal Ecology*, 65: 77-84.
- Bond J. G., C. F. Marina and T. Williams. 2004.** The naturally derived insecticide spinosad is highly toxic to *Aedes* and *Anopheles* mosquito larvae. *Medical and Veterinary Entomology*, 18: 50-56.
- Bonizzoni M., G. Gasperi, X. Chen and A. A. James. 2013.** The invasive mosquito species *Aedes albopictus*: current knowledge and future perspectives. *Trends in Parasitology*, 29(9): 460-468.
- Boreham P. F. L. 1988.** Dirofilariasis, CRC Press, Atwell RB (eds), Boca Raton, Florida.
- Boulogne I., P. Petit, H. Ozier-Lafontaine, L. Desfontaines and G. Loranger-Merciris. 2012.** Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, DOI 10.1007/s10311-012-0359-1.
- Boyer S., C. Toty, M. Jacquet, G. Lemperiere and D. Fontenille. 2012.** Evidence of multiple inseminations in the field in *Aedes albopictus*. *Plos One*, 7(8): e42040.
- Braga I. A., C. B. Mello, A. A. Peixoto and D. Valle. 2005.** Evaluation of methoprene effect on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) development in laboratory conditions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 100(4): 435-440.
- Braks M. A. H., N. A. Honorio, I. P. Lounibos, R. Lourenco-De-Oliveira and S. A. Juliano. 2004.** Interspecific competition between two invasive species of container mosquitoes, *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), in Brazil. *Journal of Medical Entomology*, 97(1): 130-139.
- Briegleb H. and S. E. Timmermann. 2001.** *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): Physiological Aspects of Development and Reproduction. *Journal of Medical Entomology*, 38(4): 566-571.
- Broadie K. and W. Bradshaw. 1991.** Mechanisms of interference competition in the western tree-hole mosquito, *Aedes sierrensis*. *Ecological Entomology*, 16: 145-154.
- C.D.C. 2013.** CDC's Malaria Program. <http://www.cdc.gov/malaria/>.
- Caglar S. S., B. Alten, R. Bellini, F. M. Simsek and S. Kaynas. 2003.** Comparison of nocturnal activities of mosquitoes (Diptera: Culicidae) sampled by New Jersey light traps and CO₂ traps in Belek, Turkey. *Journal of Vector Ecology*, 28(1): 1-11.
- Carrieri M., M. Bacchi, R. Bellini and S. Maini. 2003.** On the competition occurring between *Aedes albopictus* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) in Italy. *Journal of Medical Entomology*, 32(6): 1313-1321.
- Carrieri M., A. Massetti, A. Albieri, B. Maccagnani and R. Bellini. 2009.** Larvicidal activity and influence of bacillus thuringiensis var. israelensis on *Aedes albopictus* oviposition in ovitraps during a two week check interval protocol. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 25(2): 149-155.
- Carroll J. F., N. Tabanca, M. Kramer, N. M. Elejalde, D. E. Wedge, U. R. Bernier, M. Coy, J. J. Becnel, B. Demirci, K. H. C. Başer, J. Zhang and S. Zhang. 2011.** Essential oils of *Cupressus funebris*, *Juniperus communis*, and *J. chinensis* (Cupressaceae) as repellents against ticks (Acari: Ixodidae) and mosquitoes (Diptera: Culicidae) and as toxicants against mosquitoes. *Journal of Vector Ecology*, 36(2): 258-268.
- Cavalcanti E. S. B., S. M. d. Morais, M. A. A. Lima and E. W. P. Santana. 2004.** Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 99(5): 541-544.
- Cetin H. and A. Yanikoglu. 2006.** A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *Journal of Vector Ecology*, 31(1): 118-122.
- Chadee D. D. and P. S. Corbet. 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(2): 151-161.
- Chan K. L. 1985.** Method and indices used in the surveillance of dengue vectors. *Mosquito Borne Diseases Bulletin*, 1: 79-80.

- Chan K. L., B. C. Ho and Y. C. Chan. 1971.** *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) in Singapore city. Larval habitats. *Bull. Org. mond. Sante*, 44: 629-633.
- Chantraine J. M., D. Laurent, C. Ballivian, G. Saavedra, R. Ibanez and L. A. Vilaseca. 1998.** Insecticidal activity of essential oils on *Aedes aegypti* larvae. *Phytotherapy Research*, 12: 350-354.
- Cheng S.-S., H.-T. Chang, C.-Y. Lin, P.-S. Chen, C.-G. Huang, W.-J. Chend and S.-T. Chang. 2009a.** Insecticidal activities of leaf and twig essential oils from *Clausena excavata* against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* larvae. *Pest Management Science*, 65: 339-343.
- Cheng S.-S., C.-G. Huang, Y.-J. Chen, J.-J. Yu, W.-J. Chen and S.-T. Chang. 2009b.** Chemical compositions and larvicidal activities of leaf essential oils from two eucalyptus species. *Bioresource Technology*, 100: 452-456.
- Cheng S.-S., J.-Y. Liu, C.-G. Huang, Y.-R. Hsui, W.-J. Chen and S.-T. Chang. 2009c.** Insecticidal activities of leaf essential oils from *Cinnamomum osmophloeum* against three mosquito species. *Bioresource Technology*, 100: 457-464.
- Cheong W. H. 1986.** The vectors of dengue and dengue haemorrhagic fevers in Malaysia, pp. 155-167. In: *Dengue fever studies in Malaysia*. A. Rudnick and T. W. Lim (eds.), Bulletin No. 23, Institute for Medical Research, Kuala Lumpur, Malaysia.
- Choi W.-S., B.-S. Park, S.-K. Ku and S.-E. Lee. 2002.** Repellent activities of essential oils and monoterpenes against *Culex pipiens fallens*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18(4): 348-351.
- Clem J. R., D. F. Havemann and M. A. Raebel. 1993.** Insect repellent deet (N,N-diethyl-m-toluamide) cardiovascular toxicity in an adult. *The Annals of Pharmacotherapy*, 27: 289-293.
- Clements A. N. and S. A. Potter. 1967.** The fine structure of the spermathecae and their ducts in the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology*, 13: 1825-1836.
- Cohnstaedt L. W., K. Rochon, A. J. Duehl, J. F. Anderson, R. Barrera, N.-Y. Su, A. C. Gerry, P. J. Obenauer, J. F. Campbell, T. J. Lysyk and S. A. Allan. 2012.** Arthropod surveillance programs: Basic components, strategies, and analysis. *Annals of the Entomological Society of America*, 105(2): 135-149.
- Coleman R. E., L. L. Robert, L. W. Roberts, J. A. Glass, D. C. Seeley, A. Laughinghouse, P. Perkins and R. A. Wirtz. 1993.** Laboratory evaluation of repellents against four anopheline mosquitoes (Diptera: Culicidae) and two phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, 30: 499-502.
- Conti B., G. Benelli, G. Flamini, P. L. Cioni, R. Profeti, L. Ceccarini, M. Macchia and A. Canale. 2012a.** Larvicidal and repellent activity of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) essential oil against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 110: 2013-2021.
- Conti B., G. Benelli, M. Leonardi, F. U. Affi, C. Cervelli, R. Profeti, L. Pistelli and A. Canale. 2012b.** Repellent effect of *Salvia dorisiana*, *S. longifolia*, and *S. sclarea* (Lamiaceae) essential oils against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, DOI: 10.1007/s00436-012-2837-6.
- Conti B., A. Canale, A. Bertoli, F. Gozzini and L. Pistelli. 2010.** Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 107: 1455-1461.
- Craig G. 1993.** The diaspora of the Asian Tiger Mosquito. In: Knight BN, ed. *Biological Pollution. The Control and Impact of Invasive Exotic Species*. Indianapolis, IN: Indiana Academy of Sciences, pp. 101-120.
- Craven R. B., D. A. Eliason, D. B. Francy, P. Reiter, E. G. Campos, W. L. Jakob, G. C. Smith, C. J. Bozzi, C. G. Moore, G. O. Maupin and T. P. Monath. 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(2): 138-142.
- Curtis C. F., J. D. Lines, J. Ijumba, A. Callaghan, N. Hill and M. A. Karimzad. 1987.** The relative efficiency of repellents against mosquito vectors of disease. *Medical and Veterinary Entomology*, 1: 109-119.
- Dakhil M. A. and T. A. Morsy. 1999.** The larvicidal activities of the peel oils of three citrus fruits against *Culex pipiens*. *Journal of Egyptian Society of Parasitology*, 29(2): 347-352.

- DallaPozza G. and G. Majori. 1992.** First record of *Aedes albopictus* establishment in Italy. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 8(3): 318-320.
- Danis K., A. Papa, G. Theocharopoulos, G. Dougas, M. Athanasiou, M. Detsis, A. Baka, T. Lytras, K. Mellou, S. Bonovas and T. Panagiotopoulos. 2011.** Outbreak of West Nile virus infection in Greece, 2010. *Emerging Infectious Diseases*, 17: 1868–1872.
- Darsie 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*, 10(3): 614-618.
- Darsie R. F. and A. Samanidou-Voyadjoglou. 1997.** Keys for the Identification of the mosquitoes of Greece. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 13(3): 247-254.
- Darwin C. 1859.** The Origin of Species by Means of Natural Selection or the Preservation of Favoured Races in the Struggle for Life. London: John Murray.
- Daugherty M. P., B. W. Alto and S. A. Juliano. 2000.** Invertebrate carcasses as a resource for competing *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 37: 364–372.
- DeBach P. 1966.** The competitive displacement and coexistence principles. *Annual Review of Entomology*, 11: 183-212.
- Delatte H., G. Gimonneau, A. Triboire and D. Fontenille. 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(1): 33-41.
- den-Boer P. J. 1986.** The present status of the competitive exclusion principle. *Trends of Ecological Evolution*, 1: 25-28.
- Dibo M. R., F. Chiaravalloti-Neto, M. Battaglia, A. Mondini, E. A. Favaro, A. A. Barbosa and C. M. Glasser. 2005.** Identification of the best ovitrap installation sites for gravid *Aedes (Stegomyia) aegypti* in residences in Mirassol, state of São Paulo, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 100(4): 339-343.
- Din S. u., W. Akram, H. A. A. Khan, A. Hussain and F. Hafeez. 2011.** Citrus waste-derived essential oils: Alternative larvicides for Dengue fever mosquito, *Aedes albopictus* (Skuse) (Culicidae: Diptera). *Pakistan Journal of Zoology*, 43(2): 367-372.
- Drapeau J., C. Fröhler, D. Touraud, U. Kröckel, M. Geier, A. Rosea and W. Kunzb. 2009.** Repellent studies with *Aedes aegypti* mosquitoes and human olfactory tests on 19 essential oils from Corsica, France. *Flavour and Fragrance Journal*, 24: 160-169.
- Duke J. A. 2010.** Dr. Duke's phytochemical and ethnobotanical databases. <http://www.ars-grin.gov/duke>.
- Dye C. 1984.** Competition amongst larval *Aedes aegypti*: the role of interference. *Ecological Entomology*, 9: 355-357.
- E.C.D.C. 2007a.** Consultation on vector-related risk for chikungunya virus transmission in Europe. Meeting report. European Centre of Disease Prevention and Control. Paris. 16 pp.
- E.C.D.C. 2007b.** Meeting Report - Consultation on vector - related risk for chikungunya virus transmission in Europe Paris. *Consultation on vector - related risk for chikungunya virus transmission in Europe*: 2-15.
- E.C.D.C. 2009.** Development of *Aedes albopictus* risk maps. *European Center of Disease Control*, Technical report at Stockholm, May 2009.
- E.C.D.C. 2012.** Guidelines for the surveillance of invasive mosquitoes in Europe.
- Edgerly J., M. S. Willey and T. P. Livdahl. 1993.** The munity ecology of *Aedes* egg hatching: implications for mosquito invasion. *Ecological Entomology*, 18: 123-128.
- Edwards F. W. 1921.** A revision of the mosquitoes of the Palaearctic region. *Bulletin of Entomological Research*, 12: 263-351, 325-326.
- Edwards F. W. 1932.** Genera insectorum. Diptera. Family Culicidae. Fascicle 194. Desmet-Verteneuil. Brussels, Belgium. 258 pp.
- Eldrige B. F. and J. D. Edman. 2000.** Medical Entomology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London, pp 659.
- Enserink M. 2008.** A Mosquito Goes Global. *Science*, 320: 864-866.
- Enserink M. 2010.** Yellow fever mosquito shows up in northern Europe. *Science*, 329: 736.

- Estrada-Franco J. G. and G. B. Craig. 1995.** Biology, disease relationships and control of Biology, *Aedes albopictus*. *Pan American health organization (World Health Organization) Technical Paper 1995*: 49.
- European-Commission. 2010.** Spinosad. Assessment report. Inclusion of spinosad in Annex I of Council Directive 98/8/EC. <http://esis.jrc.ec.europa.eu/index.php?PGM=bpd>.
- European-Commission. 2011.** *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* Serotype H-14 Strain AM65-52. Assessment report. Inclusion of spinosad in Annex I of Council Directive 98/8/EC. <http://esis.jrc.ec.europa.eu/index.php?PGM=bpd>.
- Evans B. and G. Brevier. 1969.** Measurements of field populations of *Aedes aegypti* with the ovitrap in 1968. *Mosquito News*, 29: 347–353.
- Evergetis E., A. Michaelakis and S. A. Haroutounian. 2012.** Essential oils of umbelliferae (apiaceae) family taxa as emerging potent agents for mosquito control. In: M.L. Larramendy, S. Soloneski (eds.), *Integrated Pest Management and Pest Control – Current and Future Tactics*, ISBN 978-953-307-926-4.
- Ewel J., D. O'Dowd and J. Bergelson. 1999.** Deliberate introductions of species: research needs. *Bioscience*, 49: 619-630.
- Facchinelli L., L. Valerio, M. Pombi, P. Reiter and A. Constantini. 2007.** Development of a novel sticky trap for container-breeding mosquitoes and evaluation of its sampling properties to monitor urban populations of *Aedes albopictus*. *Medical and Veterinary Entomology*, 21: 183-195.
- Favaro E. A., A. Mondini, M. R. Dibo, A. A. C. Barbosa, A. E. Eiras and F. C. Neto. 2008.** Assessment of entomological indicators of *Aedes aegypti* (L.) from adult and egg collections in Sao Paulo, Brazil. *Journal of Vector Ecology*, 33(1): 8-16.
- Fay R. W. and D. A. Eliason. 1966.** A preferred oviposition site as a surveillance method for *Aedes aegypti*. *Mosquito News*, 26(4): 531-535.
- Finney D. 1971.** Probit Analysis. 3rd edn. London: Cambridge University Press.
- Flacio E., P. Lóthy, N. Patocchi, F. Guidotti, M. Tonolla and R. Peduzzi. 2004.** Primo ritrovamento di *Aedes albopictus* in Svizzera. *Bollettino della Società ticinese di Scienze Naturali*, 92: 141-142.
- Focks D., S. Linda, B. Craig, W. Hawley and C. Pumpuni. 1994.** *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae): A statistical model of the role of temperature, photoperiod and geography in the induction of egg diapause. *Journal of Medical Entomology*, 31: 278-286.
- Focks D. A. and D. D. Chadee. 1997.** Pupal survey: an epidemiologically significant surveillance method for *Aedes aegypti*: an example using data from Trinidad. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 56: 159-167.
- Fontenille D., M. Diallo, M. Mondo, M. Ndlaye and J. Thonnon. 1997.** First evidence of natural vertical transmission of yellow fever virus in *Aedes aegypti*, its epidemic vector. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 91: 533–535.
- Fontenille D. and F. Rodhain. 1989.** Biology and distribution of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in Madagascar. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5: 219-225.
- Fradin M. S. 1998.** Mosquitoes and mosquito repellent: a clinician's guide. *Annals of Internal Medicine*, 128: 931-940.
- Fradin M. S. and J. F. Day. 2002.** Comparative efficacy of insect repellents against mosquito bites. *New England Journal of Medicine*, 347(1): 13-18.
- Frank J. and H. Lynn. 1982.** Standardizing oviposition traps for *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*: Time and medium. *Journal of the Florida Anti-Mosquito Association*, 53: 22-27.
- Freier J. E. and D. B. Francy. 1991.** A duplex cone trap for the collection of adult *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 7(1): 73-79.
- Gao J. Z., Y. Z. Zhao, M. X. Jing, Y. H. Ping, P. Z. Jun and H. Nian. 1984.** Studies the longevity of caged females under laboratory conditions. *Acta Entomologica Sinica*, 27(2): 182-188.
- Garcia J., T. Fukuda and J. Becnel. 1994.** Seasonality, prevalence and pathogenicity of the gregarine *Ascogregarina taiwanensis* (Apicomplexa: Lecudinidae) in mosquitoes from Florida. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 10: 413-418.
- Gause G. 1934.** *The Struggle for Existence*. Baltimore, MD: Williams and Wilkins.

- Gbolade A. A. and G. B. Lockwood. 2008.** Toxicity of *Ocimum sanctum* L. essential oil to *Aedes aegypti* Larvae and its chemical composition. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 11(2): 148-153.
- Geier M., A. Rose, J. Grunewald and O. Jones. 2006.** New mosquito traps improve the monitoring of disease vectors. *International Pest Control*, 48: 124-126.
- Genchi C., M. Mortarino, M. Genchi and L. Rinaldi. 2009.** The spreading of *Dirofilaria* infections in the European countries. 2nd European Dirofilari days. Salamanga, Spain, 16-18 September. Edited by Morchón R., Simón F., Montoya J. A., Genchi C.
- Gerberg E. J. 1970.** Manual for mosquito rearing and experimental techniques. *American Mosquito Control Association. Inc. AMCA Bulletin No.5, 109 pp.*
- Gerberg E. J., D. R. Barnard and R. A. Ward. 1993.** Manual for mosquito rearing and experimental techniques. *American Mosquito Control Association*, 5: 1-2.
- Giatropoulos A., N. Emmanouel, G. Koliopoulos and A. Michaelakis. 2012a.** Asian Tiger mosquito (*Aedes albopictus*, Diptera: Culicidae) in Athens, Greece. 12th International Congress of Zoogeography and Ecology of Greece and Adjacent Regions. International Congress on the Zoogeography, Ecology and Evolution of South-eastern Europe and the Eastern Mediterranean. Hellenic Zoological Society, Athens, Greece, 18-22 June. Edited by A. Legakis, C. Georgiadis and P. Pafilis [230 pp.].
- Giatropoulos A., N. Emmanouel, G. Koliopoulos and A. Michaelakis. 2012b.** A study on distribution and seasonal abundance of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population in Athens, Greece. *Journal of Medical Entomology*, 49(2): 262-269.
- Giatropoulos A., A. Michaelakis, G. Koliopoulos and C. M. Pontikakos. 2012c.** Records of *Aedes albopictus* and *Aedes cretinus* (Diptera: Culicidae) in Greece from 2009 to 2011. *Hellenic Plant Protection Journal*, 5(2): 49-56.
- Giatropoulos A., D. P. Papachristos, A. Kimbaris, G. Koliopoulos, M. G. Polissiou, N. Emmanouel and A. Michaelakis. 2012d.** Evaluation of bioefficacy of three *Citrus* essential oils against the dengue vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in correlation to their components enantiomeric distribution. *Parasitology Research*, 111(6): 2253-2263.
- Giatropoulos A., D. Pitarokili, F. Papaioannou, D. P. Papachristos, G. Koliopoulos, N. Emmanouel, O. Tzakou and A. Michaelakis. 2013.** Essential oil composition, adult repellency and larvicidal activity of eight Cupressaceae species from Greece against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 112 (3): 1113-1123.
- Gillies M. and A. Smith. 1960.** The effect of a residual house-spraying campaign in East Africa on species balance in the *Anopheles funestus* Group. The replacement of *A. funestus* Giles by *A. rivulorum* Leeson. *Bulletin of Entomological Research*, 51: 243-252.
- Gilotra S., L. Rozeboom and N. Bhattacharya. 1967.** Observations on possible competitive displacement between populations of *Aedes aegypti* Linnaeus and *Aedes albopictus* Skuse in Calcutta. *WHO Bulletin*, 37: 437-446.
- Gjenero-Margan I., B. Aleraj, D. Krajcar, V. Lesnikar, A. Klobučar, I. Pem-Novosel, S. Kurečić-Filipović, S. Komparak, R. Martić, S. Đuričić, L. Betica-Radić, J. Okmadžić, T. Vilibić-Čavlek, A. Babić-Erceg, B. Turković, T. Avšić-Županc, I. Radić, M. Ljubić, K. Šarac, N. Benić and G. Mlinarić-Galinović. 2011.** Autochthonous dengue fever in Croatia, August–September 2010. *Eurosurveillance*, 16: 19805. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19805>: 1-4.
- Govere J. M. and D. V. Durrheim. 2006.** In: *Insect Repellents: Principles Methods, and Use*. Debboun M, Frances SP, Strickman D, editor. Boca Raton Florida: CRC Press; 2006. Techniques for evaluating repellents.
- Govindarajan M., T. Mathivanan, K. Elumalai, K. Krishnappa and A. Anandan. 2011.** Mosquito larvicidal, ovicidal, and repellent properties of botanical extracts against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti*, and *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 109: 353-367.
- Govindarajan M., R. Sivakumar, M. Rajeswari and K. Yogalakshmi. 2012.** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. *Parasitology Research*, 110: 2023-2032.
- Grandadam M., V. Caro, S. Plumet, J.-M. Thiberge, Y. Souarès, A.-B. Failloux, H. J. Tolou, M. Budelot, D. Cossierat, I. Leparac-Goffart and P. Desprès. 2011.** Chikungunya Virus, Southeastern France. *Emerging Infectious Diseases*, 17(5): 910-913.

- Gratz N. G. 2004.** Critical review of the vector status of *Aedes albopictus*. *Medical and Veterinary Entomology* 18: 215-227.
- Grinnell J. 1928.** The presence and absence of animals. *University of California Chronicle* 30: 429-450.
- Griswold M. and L. Lounibos. 2005.** Does differential predation permit invasive and native mosquito larvae to coexist in Florida? *Ecological Entomology*, 29: 122-127.
- Groot H. 1980.** The reinvasion of Colombia by *Aedes aegypti*: Aspects to remember. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 29: 330-338.
- Gu H.-J., S.-S. Cheng, C.-Y. Lin, C.-G. Huang, W.-J. Chen and S.-T. Chang. 2009.** Repellency of essential oils of *Cryptomeria japonica* (Pinaceae) against adults of the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 11127-11133.
- Gubler D. 1970a.** Competitive displacement of *Aedes (Stegomyia) polynesiensis* Marks by *Aedes (Stegomyia) albopictus* Skuse in laboratory populations. *Journal of Medical Entomology*, 7: 229-235.
- Gubler D. J. 1970b.** Induced sterility in *Aedes (stegomyia) polynesiensis* marks by cross-insemination with *Aedes (stegomyia) albopictus* skuse. *Journal of Medical Entomology*, 7(1): 65-70.
- Gutsevich A. V., A. S. Monchadskii and A. A. Shtakelberg. 1974.** Fauna of the USSR Diptera, vol. 3, no. 4, Mosquitoes, family Culicidae. Israel Program for Scientific Translations, Jerusalem, Israel.
- Hafeez F., W. Akram and E. A.-S. Shaalan. 2011.** Mosquito larvicidal activity of *Citrus* limonoids against *Aedes albopictus*. *Parasitology Research*, 109: 221-229.
- Hanson S. M., M. Song and J. Craig. 1988.** Urban distribution of *Aedes triseriatus* in northern Indiana. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 4(1): 15-19.
- Hao H., J. Wei, J. Dai and J. Du. 2008.** Host-seeking and blood-feeding behavior of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) exposed to vapors of geraniol, citral, citronellal, eugenol, or anisaldehyde. *Journal of Medical Entomology*, 45(3): 533-539.
- Harbach R. F. and I. J. Kitching. 1998.** Phylogeny and classification of the Culicidae (Diptera). *Systematic Entomology*, 23: 327-370.
- Hardin A., P. G. Crandall and T. Stankus. 2010.** Essential oils and antioxidants derived from *Citrus* by-products in food protection and medicine: An introduction and review of recent literature. *Journal of Agricultural and Food Information*, 11: 99-122.
- Hardin G. 1960.** The competitive exclusion principle. *Science*, 131: 1292-1297.
- Hardstone M. C. and T. G. Andreadis. 2012.** Weak larval competition between the invasive mosquito *Aedes japonicus japonicus* (Diptera: Culicidae) and three resident container-inhabiting mosquitoes in the laboratory. *Journal of Medical Entomology*, 49(2): 277-285.
- Harlan H. J. 1989.** *Aedes albopictus* Surveillance Program CY 1989. Department of the army. U.S. Army Enviromental Hygiene Actiivty-North. Fort George G. Meade, Maryland. pp. 7.
- Harper J. P. and S. L. Paulson. 1994.** Reproductive isolation between Florida strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 10(1): 88-92.
- Harwood S. H., A. F. Moldenke and R. E. Berry. 1990.** Toxicity of peppermint monoterpenes to the variegated cutworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 83: 1761-1767.
- Hatamneia A. A., M. Khayami, A. Mahmoudzadeh, S. H. Sarghein and M. Heidarih. 2008.** Comparative anatomical studies of some genera of Lamiaceae family in West Azarbaijan in Iran. *Botany Research Journal*, 1(3): 63-67.
- Hawley W. A. 1988.** The biology of *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 4 (suppl. 1): 1-40.
- Hawley W. A., P. Reiter, R. S. Copeland, C. B. Pumpuni and J. G. B. Craig. 1987.** *Aedes albopictus* in North America: Probable introduction in used tires from northern Asia. *Science*, 236: 1114-1116. *Science*, 236: 1114-1116.
- Hayes R. O. 1953.** Determination of a physiological saline solution for *Aedes aegypti* (L.). *Journal of Economic Entomology*, 46: 624-627.
- Hemingway J., L. Field and J. Vontas. 2002.** An overview of insecticide resistance. *Science*, 298: 96-97

- Hertlein M. B., C. Mavrotas, C. Jodsseume, M. Lysandrou, G. D. Thompson, L. W. Jany and S. A. Ritchie. 2010.** A review of spinosad as a natural product for larval mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 26(1): 67-87.
- Hii J. L. K. 1979.** Evaluation of *Aedes* control trial using the one-larva-per-container method in Labuan Island, Sabah, Malaysia. *Japanese Journal of Sanitary Zoology*, 30: 127-134.
- Ho B. C., K. L. Chan and Y. C. Chan. 1971.** *Aedes aegypti* (L.) and *Aedes albopictus* (Skuse) in Singapore city. *Bulletin of the World Health Organization*, 44: 635-641.
- Ho B. C., A. Ewert and L.-M. Chew. 1989.** Interspecific competition among *Aedes aegypti*, *Ae. albopictus*, and *Ae. triseriatus* (Diptera: Culicidae): Larval development in mixed cultures. *Journal of Medical Entomology*, 26(6): 615-623.
- Hobbs I., E. Hugos and B. Eichold. 1991.** Replacement of *Ae. aegypti* by *Ae. albopictus* in Mobile, Alabama. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 7(3): 488-489.
- Holick J., A. Kyle, W. Ferraro, R. R. Delaney and M. Iwaseczk. 2002.** Discovery of *Aedes albopictus* infected with West Nile Virus in Southeastern Pennsylvania. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18(2): 131.
- Holt R. and J. Lawton. 1994.** The ecological consequences of shared natural enemies. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 25: 495-520.
- Hornby J. A. and T. W. Miller. 1994.** *Aedes albopictus* distribution, abundance and colonization in Lee County, Florida and its effect on *Aedes aegypti* -Two additional seasons. *Journal of the Florida Mosquito Control Association*, 65: 21-27.
- Hornby J. A., D. E. Moore and T. W. Miller. 1994.** *Aedes albopictus* distribution, abundance and colonization in Lee County, Florida and its effect on *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 10(3): 397-402.
- Hornby J. A. and W. R. Opp. 1994.** *Aedes albopictus* distribution, abundance and colonization in Collier County, Florida and its effect on *Aedes aegypti*. *Journal of the Florida Mosquito Control Association*, 65: 28-34.
- Hubálek Z. and J. Halouzka. 1999.** West Nile fever - a reemerging mosquito-borne viral disease in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 5(5): 643-650.
- Hylton A. 1969.** Studies longevity of adult *Eretmapodites chrysogaster*, *Aedes togoi* and *Aedes (Stegomyia) albopictus* females. *Journal of Medical Entomology*, 6(2): 147-149.
- I.S.S.G. 2011.** Invasive Species Specialist Group. 100 of the World's Worst Invasive Alien Species: A selection from the Global Invasive Species Database. Retrieved online from: <http://www.issg.org/database/species/search.asp?st=100ss> (last visit 30/11/2011).
- Isman M. B. 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19: 603-608.
- Isman M. B. 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
- Isman M. B., J. A. Wilson and R. Bradbury. 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.
- Jaenson T. G. T., K. Pålsson and A.-K. Borg-Karlson. 2006.** Evaluation of extracts and oils of mosquito (Diptera: Culicidae) repellent plants from Sweden and Guinea-Bissau. *Journal of Medical Entomology*, 43(1): 113-119.
- Jakob W. and G. Brevier. 1969.** Application of ovitraps in the US *Aedes aegypti* eradication program. *Mosquito News*, 29: 55-62.
- Jeyabalan D., N. Arul and P. Thangamathi. 2003.** Studies on effects of *Pelargonium citrosa* leaf extracts on malarial vector *Anopheles stephensi* Liston. *Bioresource Technology*, 89: 185-189.
- Jueco N. L. and B. D. Cabrera. 1976.** Ecology and biology of *Aedes aegypti*, *A. albopictus*, and *Culex fatigans*: breeding distance and oviposition preferences. *Kalikasan*, 5: 301-308.
- Juliano S. A. 1998.** Species introduction and replacement among mosquitoes: Interspecific resource competition or apparent competition? *Ecology*, 79(1): 255-268.
- Juliano S. A. and L. P. Lounibos. 2005.** Ecology of invasive mosquitoes: effects on resident species and on human health. *Ecology Letters*, 8: 558-574.
- Juliano S. A., L. P. Lounibos and G. F. O'Meara. 2004.** A field test for competitive effects of *Aedes albopictus* on *Aedes aegypti* in south Florida: differences between sites of coexistence and exclusion? *Oecologia*, 139: 583-593.

- Juliano S. A., G. F. O'Meara, J. R. Morrill and M. M. Cutwa. 2002.** Desiccation and thermal tolerance of eggs and the coexistence of competing mosquitoes. *Oecologia*, 130: 458–469.
- Jumali, Sunarto, D. J. Gubler, S. Nalim, S. Eram and J. S. Saroso. 1979.** Epidemic dengue hemorrhagic fever in rural Indonesia III. Entomological studies. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 28: 717-724.
- Kalaivani K., S. Senthil-Nathan and A. G. Murugesan. 2011.** Biological activity of selected Lamiaceae and Zingiberaceae plant essential oils against the dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, DOI: 10.1007/s00436-011-2623-x.
- Kamimura K., I. T. Matsuse, H. Takahashi, J. Komukai, T. Fukuda, K. Suzuki, M. Aratani, Y. Sffira and M. Mogi. 2002.** Effect of temperature on the development of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus*. *Medical Entomology and Zoology* 53(1): 53-58.
- Karaman I., F. Sahin, M. Gulluce, H. Ogutcu, M. Sengul and A. Adiguzel. 2003.** Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of *Juniperus oxycedrus* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 85(231–235).
- Kassir J. T., Z. H. Mohsen and N. S. Mehdi. 1989.** Toxic effects of limonene against *Culex quinquefasciatus* Say larvae and its interference with oviposition. *Anz. Schadlingskde., Pflanzenschutz, Umweltschutz*, 62: 19-21.
- Kettle D. S. 1995.** Medical and veterinary entomology. 2nd edition. CAB International. Cambridge, U.K. 725 pp.
- Khan H. A. A., W. Akram, K. Shehzad and E. A. Shaalan. 2011.** First report of field evolved resistance to agrochemicals in dengue mosquito, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae), from Pakistan. *Parasites and Vectors*, 4: 146.
- Klobucar A., E. Merdic, N. Benic, Z. Baklaic and S. Krcmar. 2006.** First record of *Aedes albopictus* in Croatia. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22: 147-148.
- Knight K. L. and H. S. Hurlbut. 1949.** The mosquitoes of Ponape Island eastern Carolinas. *Journal of the Washington Academy of Sciences* 39: 20-34.
- Knudsen A. B., R. Romi and G. Majori. 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(2): 177-183.
- Koc S., E. Oz and H. Cetin. 2012.** Repellent activities of some Labiatae plant essential oils against the saltmarsh mosquito *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 110(2005-2209).
- Kokkini S., E. Hanlidou and R. Karousou. 2004.** Clinal variation of *Mentha pulegium* essential oils along the climatic gradient of Greece. *Journal of Essential Oil Research*, 16: 588-593.
- Koliopoulos G., D. Pitarokili, E. Kioulos, A. Michaelakis and O. Tzakou. 2010.** Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology Research*, 107: 327-335.
- Kramer H. L., V. V. Kartashev, G. Grandi, R. Morchón, S. A. Nagornii, P. Karanis and F. Simón. 2007.** Human subcutaneous *Dirofilariasis*, Russia. *Emerging Infectious Diseases*, 13(1): 150-152.
- Kumar P., S. Mishra, A. Malik and S. Satya. 2011a.** Repellent, larvicidal and pupicidal properties of essential oils and their formulations against the housefly, *Musca domestica*. *Medical and Veterinary Entomology*, 25: 302–310.
- Kumar S., N. Wahab and R. Warikoo. 2011b.** Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: 85-88.
- Kutz F. W., T. G. Wade and B. B. Pagac. 2003.** A geospatial study of the potential of two exotic species of mosquitoes to impact the epidemiology of the West Nile Virus in Maryland. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19(3): 190-198.
- La-Ruche G., Y. Souarès, A. Armengaud, F. Peloux-Petiot, P. Delaunay, P. Desprès, A. Lenglet, F. Jourdain, I. Leparac-Goffart, F. Charlet, L. Ollier, K. Mantey, T. Mollet, J. P. Fournier, R. Torrents, K. Leitmeyer, P. Hilairet, H. Zeller, W. V. Bortel, D. Dejour-Salamanca, M. Grandadam and M. Gastellu-Etchegorry. 2010.** First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France, September 2010. *Eurosurveillance*, 15: 19676. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19676>.

- Lane J. 1982.** *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards 1921 (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics*, 14(2): 81-84.
- 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(2): 292-295.
- Lee H. 1992.** *Aedes* ovitrap and larval survey in several suburban communities in Selangor, Malaysia. *Mosquito Borne Diseases Bulletin*, 9(1): 9-15.
- Lian C. W., C. M. Seng and W. Y. Chai. 2006.** Spatial, environmental and entomological risk factors analysis on a rural dengue outbreak in Lundu District in Sarawak, Malaysia. *Tropical Biomedicine*, 23(1): 85-96.
- Lim J.-D., I.-M. Chung and H.-I. Moon. 2011.** Immunotoxicity activity from various organic solvents extract of *Allium* genus from South Korea against *Aedes aegypti* L. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 33(3): 484-487.
- 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.
- Liu H., E. W. Cupp, A. Guo and N. Liu. 2004.** Insecticide resistance in Alabama and Florida mosquito strains of *Aedes albopictus*. *Journal of Medical Entomology*, 41(5): 946-952.
- Livadas G. 1958.** Malaria eradication in Greece. *Rivista di Malariologia*, 37: 173-191.
- Livdahl T. P. and M. S. Willey. 1991.** Prospects for an Invasion: Competition between *Aedes albopictus* and native *Aedes triseriatus*. *Science*, 25: 189-191.
- Louis C. 2012.** Daily newspaper view of Dengue fever epidemic, Athens, Greece, 1927-1931. *Emerging Infectious Diseases*, 18(1): 78-82.
- Lounibos L. and J. Frank. 1994.** Biological control of mosquitoes. In: Rosen D, Bennett FD, Capinera JL, eds. *Pest Management in the Subtropics. Biological Control- A Florida Perspective*. Andover, United Kingdom: Intercept Press. p 395-409.
- Lounibos L., G. O'Meara, N. Nishimura and R. Escher. 2003.** Interactions with native mosquito larvae regulate the production of *Aedes albopictus* from bromeliads in Florida. *Ecological Entomology*, 28: 551-558.
- Lounibos L. P. 2002.** Invasions by insect vectors of human disease. *Annual Review of Entomology*, 47: 233-266.
- Lounibos L. P. 2007.** Competitive displacement and reduction. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23 (suppl. 2): 276-282.
- Lounibos L. P., G. F. O'Meara, R. L. Escher, N. Nishimura, M. Cutwa, T. Nelson, R. E. Campos and S. A. Juliano. 2001.** Testing predictions of displacement of native *Aedes* by the invasive Asian Tiger Mosquito *Aedes albopictus* in Florida, USA. *Biological Invasions*, 3: 151-166.
- Lowrie R. 1973.** Displacement of *Aedes (S.) polynesiensis* Marks by *A. (S.) albopictus* Skuse through competition in the larval stage under laboratory conditions. *Journal of Medical Entomology*, 10: 131-136.
- Mack R., D. Simberloff, W. Lonsdale, H. Evans, M. Clout and F. Bazzaz. 2000.** Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications*, 10: 689-710.
- Madon M., J. Hazelrigg, M. Shaw, S. Kluh and M. Mulla. 2004.** Has *Aedes albopictus* established in California? *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19: 298.
- Maia M. F. and S. J. Moore. 2011.** Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malaria Journal*, 10(suppl.1): 1-15.
- Manimaran A., M. M. J. J. Cruz, C. Muthu, S. Vincent and S. Ignacimuthu. 2012.** Larvicidal and knockdown effects of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say, *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles stephensi* (Liston). *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3: 855-862.
- Marina C. F., J. G. Bond, M. Casas, J. Munoz, A. Orozco, J. Valleb and T. Williams. 2011.** Spinosad as an effective larvicide for control of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti*, vectors of dengue in southern Mexico. *Pest Management Science*, 67: 114-121.
- Mathew J. and J. E. Thoppil. 2011.** Chemical composition and mosquito larvicidal activities of *Salvia* essential oils. *Pharmaceutical Biology*, 49(5): 456-463.

- McMichael A. and M. Bouma. 2000.** Global changes, invasive species and human health. In: *Invasive Species in a Changing World* (eds Mooney, H.A. & Hobbs, R.J.). Island Press, Washington, DC, USA, pp. 191–210.
- McMurry J. 2008.** *Organic Chemistry*. Seventh edition, Brooks/Coll, Thomson Learning, Inc. United States of America. pp. 1225.
- Medlock J. M., K. M. Hansford, F. Schaffner, V. Versteirt, G. Hendrickx, H. Zeller and W. V. Bortel. 2012.** A review of the invasive mosquitoes in Europe: Ecology, public health risks, and control options. *Vector-Borne And Zoonotic Diseases*, 12: 1-13.
- Melliou E., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A.-L. Skaltsounis and P. Magiatis. 2009.** High quality bergamot oil from Greece: chemical analysis using enantiomeric GC-MS and larvicidal activity against the West Nile virus vector. *Molecules*, 14: 839–849.
- Michaelakis A., G. Koliopoulos, P. Milonas, D. Kontodimas, M. Polissiou, A. C. Kimbaris and D. Papachristos. 2008.** Activity of nonoxygenated versus oxygenated monoterpenes against mosquitoes. An attempt to correlate toxicity with chemical structure. In: A 7th Joint meeting of AFERP, GA, PSE & SIF. Natural products with pharmaceutical, nutraceutical, cosmetic and agochemical interest, Athens.
- Michaelakis A., D. Papachristos, A. Kimbaris, G. Koliopoulos, A. Giatropoulos and M. G. Polissiou. 2009.** *Citrus* essential oils and four enantiomeric pinenes against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 105(3): 769-773.
- Michaelakis A., D. Papachristos, A. Kimbaris and M. Polissiou. 2011.** Larvicidal evaluation of three *Mentha* species essential oils and their isolated major components against the West Nile virus mosquito. *Hellenic Plant Protection Journal*, 4: 35-43.
- Michaelakis A., S. A. Theotokatos, G. Koliopoulos and N. G. Chorianopoulos. 2007.** Essential oils of *Satureja* species: Insecticidal effect on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 12: 2567-2578.
- Michaelakis A., V. P. Vidali, D. P. Papachristos, E. N. Pitsinos, G. Koliopoulos, E. A. Couladouros, M. G. Polissiou and A. C. Kimbaris. 2013.** Bioefficacy of acyclic monoterpenes and their saturated derivatives against the West Nile vector *Culex pipiens*. *Chemosphere*, DOI:10.1016/j.chemosphere.2013.07.032.
- Missiroli A. 1939.** Varieties of *Anopheles maculipennis* and the malaria problem in Italy. Proc VII Internatl Congress Entomol, Berlin, 1939, August 15-20.p 1619-1640.
- Mitchell C. J. 1995.** Geographic Spread of *Aedes albopictus* and Potential for Involvement in Arbovirus Cycles in the Mediterranean Basin. *Journal of Vector Ecology*, 20(1): 44-58.
- Miyagi I. and T. Toma. 1989.** Experimental crossing of *Aedes albopictus*, *Aedes flavopictus downsi* and *Aedes riversi* (Diptera: Culicidae) occurring in Okinawajima, Kyukyu Islands, Japan. *Japanese Journal of Sanitary Zoology*, 40(2): 87-95.
- Mogi M., W. Choochote, C. Khambooruang and P. Suwanpanit. 1990.** Applicability of presence-absence and sequential sampling for ovitrap surveillance of *Aedes* (Diptera: Culicidae) in Chiang Mai, northern Thailand. *Journal of Medical Entomology*, 27: 509–514.
- Mogi M., C. Khamboonruang, W. Choochote and P. Suwanpanit. 1988.** Ovitrap surveys of dengue vector mosquitoes in Chiang Mai, northern Thailand: seasonal shifts in relative abundance of *Aedes albopictus* and *Ae.aegypti*. *Medical and Veterinary Entomology* 2: 319-324.
- Mokany A. and R. Shine. 2003a.** Biological warfare in the garden pond: tadpoles suppress the growth of mosquito larvae. *Ecological Entomology*, 28: 102-108.
- Mokany A. and R. Shine. 2003b.** Competition between tadpoles and mosquito larvae. *Oecologia*, 135: 615-620.
- Moore C. and B. Fisher. 1969.** Competition in mosquitoes: Density and species ratio, effects growth, mortality, fecundity and production of growth retardant. *Annals of the Entomological Society of America*, 62: 1325-1331.
- Moore M. 1993.** Cupressus L. in *Flora Europea* (Tutin TG, Burges NA, Chater AO, Edmondson GR, Heywood WH, Moore DM, Valentine DH, Walters SM, Webb DA Eds.) Cambridge University Press, Cambridge, vol. 1: 45-48.
- Morales-Saldaña J., N. Gómez, J. Rovira and M. Abrahams. 2007.** Larvicidal activity of the grapefruit *Citrus paradise* (Rutaceae) on two vectors of dengue. *Peruvian Journal of Biology*, 14(2): 297-299.

- Mori A. and T. Oda. 1981.** Studies on the Egg Diapause and Overwriting of *Aedes albopictus* in Nagasaki *Tropical Medicine*, 23(2): 79-90.
- Mori A. and Y. Wada. 1978.** The seasonal abundance of *Aedes albopictus* in Nagasaki. *Tropical Medicine*, 20(1): 29-37.
- Mulla M. 2006.** Evaluation of spinosad formulations for the control of *Aedes aegypti* larvae in earthen water storage jars in Thailand. Unpublished report to the WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES).
- Mwaiko G. L. and Z. X. Savaeli. 1994.** Lemon peel oil extract as mosquito larvicide. *East African Medical Journal*, 71: 797-799.
- Naghibi F., M. Mosaddegh, S. M. Motamed and A. Ghorbani. 2005.** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 63-79.
- Nalen C. M. Z., S. A. Allan, J. J. Becnel and P. E. Kaufman. 2013.** Oviposition substrate selection by Florida mosquitoes in response to pathogen-infected conspecific larvae. *Journal of Vector Ecology*, 38(1): 182-187.
- Nasci R. S., S. G. Hare and F. S. Willis. 1989.** Interspecific mating between Louisiana strains of *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* in the field and laboratory. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 5(3): 416-421.
- Nazni W., H. Lee, H. Dayang and A. Azahari. 2009.** Cross -mating between malaysian strains of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in the laboratory. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 40(1): 41-46.
- Nerio L. S., J. Olivero-Verbel and E. Stashenko. 2010.** Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101: 372-378.
- Newall C. A., L. A. Anderson and J. D. Phillipson. 1996.** Herbal Medicines: A guide for Health-Care Professionals. The Pharmaceutical Press, London: 176-177.
- Novak M. G., L. G. Higley, C. A. Christianssen and W. A. Rowley. 1993.** Evaluating larval competition between *Aedes albopictus* and *A. triseriatus* (Diptera: Culicidae) through replacement series experiments. *Environmental Entomology*, 22(2): 311-318.
- O'Meara G. F., A. D. Gettman, L. F. Evans and G. A. Curtis. 1993.** The spread of *Aedes albopictus* in Florida. *American Entomologist*, 39(3): 163-173.
- O'Brochta D. A. 2003.** Transgenic mosquitoes: the state of the art. In: Ecological Aspects for Application of Genetically Modified Mosquitoes (eds Takken, W. & Scott, T.W.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 15-24.
- O'Meara G. F., L. F. Evans, A. D. Gettman and J. P. Cuda. 1995a.** Spread of *Aedes albopictus* and decline of *Ae. aegypti* (Diptera: Culicidae) in Florida. *Journal of Medical Entomology*, 32(4): 554-562.
- O'Meara G. F., L. F. Evans, A. D. Gettman and A. W. Patteson. 1995b.** Exotic tank bromeliads harboring immature *Aedes albopictus* and *Aedes bahamensis* (Diptera: Culicidae) in Florida. *Journal of Vector Ecology*, 20: 216-224.
- Oshaghi M. A., R. Ghalandari, H. Vatandoost, M. Shayeghi, M. Kamali-nejad, H. Tourabi-Khaledi, M. Abolhassani and M. Hashemzadeh. 2003.** Repellent effect of extracts and essential oils of *Citrus limon* (Rutaceae) and *Melissa officinalis* (Labiatae) against main malaria vector, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Iranian Journal of Public Health*, 32(4): 47-52.
- Packer M. J. and P. S. Corbet. 1989.** Size variation and reproductive success of female *Aedes punctator* (Diptera: Culicidae). *Ecological Entomology*, 14(3): 297-309.
- Pampiglione S. and F. Rivasi. 2001.** Dirofilariasis. In the encyclopedia of arthropodtransmitted infections, M. W. Service [ed.]. CABI Publishing, Eastbourne, UK, pp. 143-150.
- Pant C., S. Jatanasen and M. Yasuno. 1973.** Prevalence of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* and observations on the ecology of dengue haemorrhagic fever in several areas of Thailand. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 4: 113-121.
- Pantchev N., N. Norden, L. Lorentzen, M. Rossi, U. Rossi, B. Brand and V. Dyachenko. 2009.** Current surveys on the prevalence and distribution of *Dirofilaria* spp. in dogs in Germany. *Parasitology Research*, 105(1): 63-74.
- Papa A., K. Xanthopoulou, A. Tsioka, S. Kalaitzopoulou and S. Mourelatos. 2013.** West Nile virus in mosquitoes in Greece. *Parasitology Research*, 112: 1551-1555.

- Papachristos D. P., K. I. Karamanoli, D. C. Stamopoulos and U. Menkissoglu-Spiroudi. 2004.** The relationship between the chemical composition of three essential oils and their insecticidal activity against *Acanthoscelides obtectus* (Say). *Pest Management Science*, 60: 514-520.
- Papachristos D. P. and D. C. Stamopoulos. 2002.** Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38: 117-128.
- Papachristos D. P. and D. C. Stamopoulos. 2004.** Fumigant toxicity of three essential oils on the eggs of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 40: 517-525.
- Papaevangelou G. and S. B. Halstead. 1977.** Infections with two dengue viruses in Greece in the 20th century. Did dengue haemorrhagic fever occur in the 1928 epidemic? *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 80: 46-51.
- Park B.-S., W.-S. Choi, J.-H. Kim, K.-H. Kim and S.-E. Lee. 2005.** Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(1): 80-83.
- Patsoula E., A. Samanidou-Voyadjoglou, G. Spanakos, J. Kremastinou, G. Nasioulas and N. C. Vakalis. 2006.** Molecular and morphological characterization of *Aedes albopictus* in Northwestern Greece and differentiation from *Aedes cretinus* and *Aedes aegypti*. *Journal of Medical Entomology* 43(1): 40-54.
- Pavela R. 2009.** Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Industrial Crops and Products*, 30: 311-315.
- Pavela R., N. Vrchotová and J. Tříška. 2009.** Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) *Parasitology Research*, 105(1365-1370).
- Perez C. M., F. Marina, G. Bond, C. Rojas, J. Valle and T. Williams. 2007.** Spinosad, a naturally derived insecticide, for control of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae): Efficacy, persistence, and elicited oviposition response. *Journal of Medical Entomology*, 44(4): 631-638.
- Perumalsamy H., N.-J. Kim and Y.-J. Ahn. 2009.** Larvicidal activity of compounds isolated from *Asarum heterotropoides* against *Culex pipiens pallens*, *Aedes aegypti*, and *Ochlerotatus togoi* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 46(6): 1420-1423.
- Petrić D., I. Pajović, A. Ignjatović and M. Zgomba. 2001.** *Aedes albopictus* (Skuse, 1894) new mosquito species (Diptera, Culicidae) in entomofauna of Yugoslavia. *Plant Doctor, Novi Sad XXIX* 6:457-458.
- Petric D., M. Zgomba, A. Cupina, I. Pajovic, E. Merdic, I. Boca, A. Klobucar and N. Landeka. 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.
- Phasomkusolsil S. and M. Soonwera. 2010.** Insect repellent activity of medicinal plant oils against *Aedes aegypti* (Linn.), *Anopheles minimus* (Theobald) and *Culex quinquefasciatus* Say based on protection time and biting rate. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 41(4): 831-840.
- Pitarokili D., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A. Giatropoulos and O. Tzakou. 2011a.** Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek *Thymus* essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. *Parasitology Research*, 109: 425-430.
- Pitarokili D., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A. Giatropoulos and O. Tzakou. 2011b.** Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek *Thymus* essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. *Parasitology Research*, 109(2): 425-430.
- Pluskota B., V. Storch, T. Braunbeck, M. Beck and N. Becker. 2008.** First record of *Stegomyia albopicta* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in Germany. *European Mosquito Bulletin*, 26: 1-5.
- Pohlit A. M., A. R. Rezende, E. L. L. Baldin, N. P. Lopes and V. F. d. A. Neto. 2011.** Plant extracts, isolated phytochemicals, and plant-derived agents which are lethal to arthropod vectors of human tropical diseases— A review. *Planta Medica*: www.thieme.de/fz/plantamedica | www.thieme-connect.com/ejournals.

- Ponce G., A. E. Flores, M. H. Badii, M. L. Rodriguez-Tovar and I. Fernandez-Salas. 2002.** Laboratory evaluation of vectobac S as against *Aedes aegypti* in Monterrey, Nuevo Leon, Mexico. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18(4): 341-343.
- Powell J. R., W. J. Tabachnick and J. Arnold. 1980.** Genetics and the origin of vector population: *Aedes aegypti*, a case study. *Science*, 208: 1385-1387.
- Prajapati V., A. K. Tripathi, K. K. Aggarwal and S. P. S. Khanuja. 2005.** Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology*, 96: 1749-1757.
- Pratt H. D. and W. L. Jakob 1967.** Oviposition trap reference handbook *Aedes aegypti* handbook series No. 6, National Communicable Disease Centre pp.33.
- Qiu H., H. W. Jun and J. W. McCall. 1998.** Pharmacokinetics, formulation, and safety of insect repellent N,N-diethyl-3-methylbenzamide (deet): A review. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 14: 12-27.
- Radwan M. A., S. R. El-Zemity, S. A. Mohamed and S. M. Sherby. 2008.** Larvicidal activity of some essential oils, monoterpenoids and their corresponding N-methyl carbamate derivatives against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 28(2): 61-68.
- Rajamma A. J., S. Dubey, S. B. Sateesha, S. N. Tiwari and S. K. Ghosh. 2011.** Comparative larvicidal activity of different species of *Ocimum* against *Culex quinquefasciatus*. *Natural Product Research*, 25(20): 1916-1922.
- Regnault-Roger C., C. Vincent and J. T. Arnason. 2012.** Essential oils in insect control: Low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57: 405-424.
- Reiter P. 1983.** A portable, battery-powered trap for collecting gravid *Culex* mosquitoes. *Mosquito News*, 43: 496-498.
- Reiter P. 1988.** *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. 2010.** Yellow fever and dengue: a threat to Europe? *Eurosurveillance*, 15: 19509 Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19509>.
- Reiter P. and M. Nathan. 2001.** Guidelines for assessing the efficacy of insecticidal space sprays for control of the dengue vector *Aedes aegypti*. *WHO/CDS/CPE/PVC/2001.1*, pp 34.
- Reiter P. and D. Sprenger. 1987.** The used tire trade: a mechanism for the worldwide dispersal of container breeding mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 3(3): 494-501.
- Reitz S. and J. Trumble. 2002.** Competitive displacement among insects and arachnids. *Annual Review of Entomology*, 47: 435-465.
- Rezza G., L. Nicoletti, R. Angelini, R. Romi, A. C. Finarelli, M. Panning, P. Cordioli, C. Fortuna, S. Boros, F. Magurano, G. Silvi, P. Angelini, M. Dottori, M. G. Ciufolini, G. C. Majori and A. Cassone. 2007.** Infection with chikungunya virus in Italy: an outbreak in a temperate region. *The Lancet* 370: 1840-46.
- Ribeiro J. 1988.** Can satyrs control pests and vectors? *Journal of Medical Entomology*, 25: 431-440.
- Ribeiro J. and A. Spielman. 1986.** The satyr effect: a model predicting parapathy and species extinction. *American Naturalist*, 128: 513-528.
- Richards S. L., C. S. Apperson, S. K. Ghosh, H. M. Cheshire and B. C. Zeichner. 2006.** Spatial analysis of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) oviposition in suburban neighborhoods of a Piedmont community in North Carolina. *Journal of Medical Entomology*, 43(5): 976-989.
- Ríos-Velázquez C. M., C. T. Codeço, N. A. Honório, P. S. Sabroza, M. Moresco, I. C. Cunha, A. Levino, L. M. Toledo and S. L. Luz. 2007.** Distribution of dengue vectors in neighborhoods with different urbanization types of Manaus, state of Amazonas, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 102(5): 617-623.
- Ritchie S. A. 1984.** The production of *Aedes aegypti* by a weekly ovitrap survey. *Mosquito News*, 44(1): 77-79.
- Ritchie S. A., S. Long, A. Hart, C. E. Webb and R. C. Russell. 2003.** An adulticidal sticky ovitrap for sampling container breeding mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19: 235-242.

- Roiz D., R. Eritja, R. Molina, R. Melero-Alcibar and J. Lucientes. 2008.** Initial distribution assessment of *Aedes albopictus* (Diptera Culicidae) in the Barcelona, Spain, area. *Journal of Medical Entomology*, 45(3): 347-352.
- Romi R., S. Proietti, M. D. Luca and M. Cristofaro. 2006.** Laboratory evaluation of the bioinsecticide Spinosad for mosquito control. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(1): 93-96.
- Romi R. 1995.** History and updating on the spread of *Aedes albopictus* in Italy. *Parassitologia*, 37: 99-103.
- Rosen L., L. E. Rozeboom, W. C. Reeves, J. Saugrain and D. J. Gubler. 1976.** A field trial of competitive displacement of *Aedes polynesiensis* by *Aedes albopictus* on a Pacific atoll. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 25: 906-913.
- Rozeboom L. and J. Bridges. 1972.** Relative population densities of *Aedes albopictus* and *A. guamensis* on Guam. *WHO Bulletin*, 46: 477-483.
- Rozeboom L. E. 1971.** Relative densities of freely breeding populations of *Aedes (S) polynesiensis* Marks and *Aedes (S) albopictus* Skuse: a large cage experiment. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 20: 356-362.
- Russell T. L., M. D. Brown, D. M. Purdie, P. A. Ryan and B. H. Kay. 2003.** Efficacy of VectoBac (*Bacillus thuringiensis* variety *israelensis*) formulations for mosquito control in Australia. *Journal of Medical Entomology*, 96(6): 1786-1791.
- Sabatini A., V. Raineri, G. Trovato and M. Coluzzi. 1990.** *Aedes albopictus* in Italia e possibile diffusione della specie nell'area mediterranea. *Parassitologia* 32: 301-304.
- Samanidou-Voyadjoglou A. and R. F. Darsie. 1993.** An annotated checklist and bibliography of the mosquitoes of Greece (Diptera: Culicidae). *Mosquito Systematics*, 25(3): 177-185.
- Samanidou-Voyadjoglou A. and R. E. Harbach. 2001.** Keys to the adult female mosquitoes (Culicidae) of Greece. *Department of Parasitology, Entomology and Tropical Diseases*: pp. 20.
- Samanidou-Voyadjoglou A. and G. Koliopoulos. 1998.** Some notes on *Aedes (Stegomyia) cretinus* Edwards (Culicidae) in northern Athens, Attiki, Greece. *Fourth International Congress of Dipterology*: 194-195.
- Samanidou-Voyadjoglou A., E. Patsoula, G. Spanakos and N. C. Vakalis. 2005.** Confirmation of *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) in Greece. *European Mosquito Bulletin*, 19: 10-11.
- Santos S. R. L., M. A. Melo, A. V. Cardoso, R. L. C. Santos, D. P. d. Sousa and S. C. H. Cavalcanti. 2011.** Structure-activity relationships of larvicidal monoterpenes and derivatives against *Aedes aegypti* Linn. *Chemosphere*, 84: 150-153.
- Sardelis M. R., M. J. Turell, M. L. O. Guinn, R. G. Andre and D. R. Roberts. 2002.** Vector competence of three north American strains of *Aedes albopictus* for West Nile Virus. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18(4): 284-289.
- Schaffner F., W. V. Bortel and M. Coosemans. 2004.** First record of *Aedes (Stegomyia) albopictus* in Belgium. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 20(2): 201-203.
- Schaffner F., B. Bouletreau, B. Guillet, J. Guilloteau and S. Karch. 2001.** *Aedes albopictus* established in metropolitan France. *European Mosquito Bulletin*, 9: 1-3.
- Scholte E.-J., E. Dijkstra, H. Blok, A. D. Vries, W. Takken, A. Hofhuis, M. Koopmans, A. D. Boer and C. B. E. M. Reusken. 2008.** Accidental importation of the mosquito *Aedes albopictus* into the Netherlands: a survey of mosquito distribution and the presence of dengue virus. *Medical and Veterinary Entomology*, 22: 352-358.
- Scholte E., W. D. Hartog, M. Dik, B. Schoelitz, M. Brooks, F. Schaffner, R. Foussadier, M. Braks and J. Beeuwkes. 2010.** Introduction and control of three invasive mosquito species in the Netherlands, July-October 2010. *Eurosurveillance*, 15:11.
- Scott J., S. Crans and W. Crans. 2001.** Use of an infusion-baited gravid trap to collect adult *Ochlerotatus japonicus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 17(2): 142-143.
- Seccacini E., A. Lucia, L. Harburguer, E. Zerba, S. Licastro and H. Masuh. 2008.** Effectiveness of pyriproxyfen and diflubenzuron formulations as larvicides against *Aedes aegypti*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 24(3): 398-403.

- Sedaghat M. M., A. S. Dehkordi, M. Khanavi, M. R. Abai, F. Mohtarami and H. Vatandoost. 2011.** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Cupressus arizonica* E.L. Greene against malaria vector *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Pharmacognosy Research*, 3(2): 135-139.
- Service M. W. 1993.** Mosquito ecology: field sampling methods. 2nd edition, Elsevier Science Publishers Ltd, Essex, UK, pp 988.
- Severini F., M. D. Luka, L. Toma and R. Romi. 2008.** *Aedes albopictus* in Rome: results and perspectives after 10 years of monitoring. *Parassitologia*, 50(1-2): 121-3.
- Shalan E. A.-S., D. Canyon, M. W. F. Younes, H. Abdel-Wahab and A.-H. Mansour. 2005.** A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environment International*, 31: 1149-1166.
- Shroyer D. A. 1986.** *Aedes albopictus* and arboviruses: a concise review of the literature. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 2(4): 424-428.
- Silva J. J. d. and J. Mendes. 2007.** Susceptibility of *Aedes aegypti* (L) to the insect growth regulators diflubenzuron and methoprene in Uberlandia, State of Minas Gerais. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 140(6): 612-616.
- Simberloff D. and P. Stiling. 1996.** Risks of species introduced for biological control. *Biol Conservation*. *Biological Conservation*, 78: 85-192.
- Skovmand O., I. Thiery, G. L. Benzon, G. Sinigre, N. Monteny and N. Becker. 1998.** Potency of products based on *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: interlaboratory variations. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 14: 298-304.
- Smith C. 1956.** The history of dengue in tropical Asia, and its probable relationship to the mosquito *Aedes aegypti*. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59: 3-11.
- Smith P., W. Reisen and D. Cowles. 1995.** Interspecific competition between *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Vector Ecology*, 20: 139-146.
- Snow K. 2001.** The names of European mosquitoes: Part 7. *Journal of the European Mosquito Control Association*, 9: 4-8.
- Sokal R. R. and F. J. Rohlf. 1995.** Biometry, 3rd ed. W. H. Freeman, New York.
- Spencer M., L. Blaustein and J. E. Cohen. 2002.** Oviposition habitat selection by mosquitoes (*Culiseta longiareolata*) and consequences for population size. *Ecology*, 83: 669-679.
- Spielman A. and F. Feinsod. 1979.** Differential distribution of peridomestic *Aedes* mosquitoes on Grand Bahama Island. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 73: 381-384.
- Sprenger D. and T. Wuithiranyagool. 1986.** The discovery and distribution of *Aedes albopictus* in Harris County, Texas. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 2: 217-219.
- SPSS. 2004.** SPSS 14 for Windows users guide. SPSS Inc., Chicago, IL.
- Sritabutra D., M. Soonwera, S. Waltanachanobon and S. Pongjai. 2011.** Evaluation of herbal essential oil as repellents against *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles dirus* Peyton & Harrion. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: s124-s128.
- Stamopoulos D. C., P. Damos and G. Karagianidou. 2007.** Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Products Research*, 43: 571-577.
- Sucharit S., W. Tumrasuin, S. Vutikcs and S. Viraboonchai. 1978.** Interaction between larvae of *Ae. aegypti* and *Ae. albopictus* in mixed experimental populations. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 9: 93-97.
- Sudakin D. L. and W. R. Trevathan. 2003.** Deet: a review and update of safety and risk in the general population. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, 41: 831.
- Sujatha C. H., V. Vasuki, T. Mariappan, M. Kalyanasundaram and P. K. Das. 1988.** Evaluation of plant extracts for biological activity against mosquitoes. *International Pest Control*: 122-124.
- Sukumar K., M. J. Perich and L. R. Boobar. 1991.** Botanical derivatives in mosquito control: A review. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 7(2): 210-237.
- Takken W. and C. Boete. 2003.** An introduction to the ecological challenges concerning the use of genetically-modified mosquitoes for disease control. In: *Ecological Aspects for Application of Genetically Modified Mosquitoes* (eds Takken, W. & Scott, T.W.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 9-14.

- Tawatsin A., P. Asavadachanukorn, U. Thavaral, P. Wongsinkongman, J. Bansidhi, T. Boonruad, P. Chavalittumrong, N. Soonthornchareonnon, N. Komalamisra and M. S. Mulla. 2006.** Repellency of essential oils extracted from plants in Thailand against four mosquito vectors (Diptera: Culicidae) and oviposition deterrent effects against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 37(5): 915-931.
- Tawatsin A., S. D. Wratten, R. R. Scott, U. Thavara and Y. Techadamrongsin. 2001.** Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *Journal of Vector Ecology*, 26(1): 76-82.
- Thaggard C. and D. Eliason. 1969.** Field evaluation of components for an *Aedes aegypti* (L) oviposition trap. *Mosquito News*, 29: 608-612.
- Theiler M., J. Casals and C. Moutousses. 1960.** Etiology of the 1927-28 epidemic of dengue in Greece. *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine*, 103: 244-6.
- Toma L., F. Severini, M. D. Luca, A. Bella and R. Romi. 2003.** Seasonal patterns of oviposition and egg hatching rate of *Aedes albopictus* in Rome. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 19(1): 19-22.
- Traboulsi A. F., K. Taoubi, S. EI-Haj, J. Bessiere and S. Rammal. 2002.** Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera : Culicidae). *Pest Management Science*, 58: 491-495.
- Trapido H. and T. Aitken. 1953.** Study of a residual population of *Anopheles l. labranchiae* Falleroni in the Geremeas Valley, Sardinia. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2: 658-676.
- Tripathi A. K., S. Upadhyay, M. Bhuiyan and P. R. Bhattacharya. 2009.** A review on prospects of essential oils as biopesticide in insect-pest management. *Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy*, 1(5): 52-63.
- Tripet F., L. P. Lounibos, D. Robbins, J. Moran, N. Nishimura and E. M. Blosser. 2011.** Competitive reduction by satyrization? Evidence for interspecific mating in nature and asymmetric reproductive competition between invasive mosquito vectors. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 85(2): 265-270.
- Trongtokit Y., Y. Rongsriyam, N. Komalamisra and C. Apiwathnasorn. 2005.** Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy Research*, 19: 303-309.
- Tropicos. 2010.** Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. <http://www.tropicos.org>.
- Turell M. J., M. R. Sardelis, D. J. Dohm and M. L. O'Guinn. 2001.** Potential North American vectors of West Nile virus. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 951: 317-324.
- U.S.A.F. 2002.** United States Air Force. Operational Entomology. Guide to Operational Surveillance of Medically Important Vectors and Pests. pp 116.
- U.S.D.A. 2011.** United States Department of Agriculture, Greece Citrus annual 2011. Foreign Agricultural Service, Global Agricultural Information Network. Gain report number GR 1112.
- van-den-Huevel M. J. 1963.** The effect of rearing temperature on the wing length, thorax length, leg length and ovariole number of the adult mosquito, *Aedes aegypti* (L.). *Transactions of the Royal Entomological Society of London*, 115: 197-216.
- Velo E. and S. Bino. 2002.** Introduction, establishment and present status of *Aedes albopictus* in Albania. Abstracts of the 2nd European Mosquito Control Association Workshop, Bologna, 7-8.
- Vilela A. P. P., L. B. Figueiredo, J. R. d. Santos, Á. E. Eiras, C. A. Bonjardim, P. C. P. Ferreira and G. Erna. 2010.** Dengue Virus 3 Genotype I in *Aedes aegypti* Mosquitoes and Eggs, Brazil, 2005-2006. *Emerging Infectious Diseases*, 16(6): 989-992.
- Vourlioti-Arapi F., A. Michaelakis, E. Evergetis, G. Koliopoulos and S. A. Haroutounian. 2012.** Essential oils of indigenous in Greece six Juniperus taxa. *Parasitology Research*, 110: 1829-1839.
- Voutsina I. and G. Karagiannidis. 2007.** *Aedes albopictus*: monitoring program in Serres Prefecture, Πρακτικά 12ου Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου. Εντομολογική Εταιρεία Ελλάδος, Λάρνακα Κύπρος, 13-16 Νοεμβρίου 2007, σελ. 274.
- W.H.O. 1981.** Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides VBC/81.807. World Health Organization, Geneva.

- W.H.O. 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.
- W.H.O. 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.
- W.H.O. 2001a.** WHO recommended strategies for the prevention and control of communicable diseases. World Health Organization. Geneva. WHO/CDS/SMT/2001.13, 189 pp.
- W.H.O. 2001b.** Review of : Ir3535; Kbr3023; (RS)-methoprene 20% EC, Pyriproxyfen 0.5% GR; and Lambda-Cyhalothrin 2.5% CS. Report of the fourth WHOPEs Working Group Meeting, WHO/HQ, Geneva, 4–5 December 2000. Geneva, World Health Organization (WHO/CDS/WHOPEs/2001.2).
- W.H.O. 2005.** Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides World Health Organization (WHO) communicable disease control, prevention and eradication WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPEs). Geneva, Switzerland. p 1-41.
- W.H.O. 2006a.** Diflubenzuron in drinking water use for vector control in drinking water sources and containers. Background document for development of WHO guidelines for drinking-water quality.
- W.H.O. 2006b.** Review of: Dimilin GR and DT, Vectobac DT, Aqua K-othrine, Aqua Reslin Super. Report of the ninth WHOPEs Working Group Meeting, WHO/HQ, Geneva, 5–9 December 2005. Geneva, World Health Organization (WHO/CDS/NTD/WHOPEs/2006.2).
- W.H.O. 2007.** Report of the tenth Whopes working group meeting. Review of: Spinosad 0.5% gr & 12% sc, Lambda-cyhalothrin 10% cs, K-o tab 1-2-3, Interceptor. Control of neglected tropical diseases who pesticide evaluation scheme.
- W.H.O. 2008.** World Malaria Report 2008. WHO/HTM/GMP/2008.
- W.H.O. 2013.** Global Alert and Response (GAR). Impact of Dengue. <http://www.who.int/csr/disease/dengue/impact/en/>.
- W.S.D.H.Z.D.P. 2008.** Washington State Department of Health Zoonotic Disease Program. Guidance for Surveillance, Prevention, and Control of Mosquitoborne Disease. pp. 121.
- Warikoo R., A. Ray, J. K. Sandhu, R. Samal, N. Wahab and S. Kumar. 2012.** Larvicidal and irritant activities of hexane leaf extracts of *Citrus sinensis* against dengue vector *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: 152-155.
- Weldon P. J., J. F. Carroll, M. Kramer, R. H. Bedoukian, R. E. Coleman and U. R. Bernier. 2011.** Anointing chemicals and hematophagous arthropods: Responses by ticks and mosquitoes to *Citrus* (Rutaceae) peel exudates and monoterpenes components. *Journal of Chemical Ecology*, 37: 348-359.
- Williamson M. 1996.** Biological Invasions. Chapman & Hall, New York, USA, 244 pp.
- Yang P. and Y. Ma. 2005.** Repellent effect of plant essential oils against *Aedes albopictus*. *Journal of Vector Ecology*, 30(2): 231-234.
- Yang Y. C., S. G. Lee, H. K. Lee, M. K. Kim, S. H. Lee and H. S. Lee. 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.
- Yap H. H. 1975.** Distribution of *Aedes aegypti* (Linnaeus) and *Aedes albopictus* (Skuse) in small towns and villages of Penang Island, Malaysia-An ovitrap survey. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Hygiene*, 6: 519-524.
- Yunicheva Y., T. Ryabova and N. Markovich. 2008.** First data on the presence of breeding populations of the *Aedes aegypti* L. mosquito in Greater Sochi and various cities of Abkhazia. *Meditinskaja Parazitologija I Parazitarnye Bolezni*, 3: 40–43.
- Zahran H. E.-D. M. and S. A. M. Abdelgaleil. 2011.** Insecticidal and developmental inhibitory properties of monoterpenes on *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 14: 46-51.
- Zgomba M. and D. Petric. 2008.** Risk assessment and management of mosquito-born diseases in the European region. *Proceedings of the Sixth International Conference on Urban Pests William H Robinson and Dániel Bajomi (editors)*: 29-39.
- Zhu J., X. Zeng, Yanma, T. Liu, K. Qian, Y. Han, S. Xue, B. Tucker, G. Schultz, J. Coats, W. Rowley and A. Zhang. 2006.** Adult repellency and larvicidal activity of five plant essential oils against mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(3): 515-522.

Ελληνική βιβλιογραφία

- Ανδρεάδης Σ. Σ., Π. Δάμος, Χ. Γ. Σπανούδης, Γ. Ραφτόπουλος and Μ. Σαββοπούλου-Σουλτάνη. 2009. Μελέτη της απωθητικής δράσης αιθερίων ελαίων σε ενήλικα κουνούπια με τη χρήση αυτόματου συστήματος ψεκασμού υπέρμικρου όγκου (ULV). Πρακτικά 13ου Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρείου, Αλεξανδρούπολη. Σελ. 221-222. .
- Γιατρόπουλος Α., Ν. Εμμανουήλ, Γ. Κολιόπουλος and Α. Μιχαηλάκης. 2011. Παρουσία και εποχική διακύμανση του *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) (Ασιατικό κουνούπι τίγρης) στην Αθήνα. Πρακτικά 14ου Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου, Ναύπλιο, 11-14 Οκτωβρίου, σελ. 274-275.
- Γιατρόπουλος Α., Γ. Κολιόπουλος, Η. Κιούλος, Α. Μιχαηλάκης and Ν. Εμμανουήλ. 2009. Προκαταρκτική μελέτη της παρουσίας του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) (Ασιατικό κουνούπι «Τίγρης») στην Αθήνα. Πρακτικά 13ου Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου Αλεξανδρούπολη, 3-6 Νοεμβρίου, σελ. 215-217.
- Γιατρόπουλος Α., Δ. Π. Παπαχρήστος, Α. Κυμπάρης, Γ. Κολιόπουλος, Μ. Γ. Πολυσίου, Ν. Εμμανουήλ and Α. Μιχαηλάκης. 2013a. Βιολογική δράση τριών αιθερίων ελαίων του γένους Citrus και των συστατικών τους εναντίον του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Πρακτικά 15ου Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου, Καβάλα, 22-25 Οκτωβρίου.
- Γιατρόπουλος Α., Δ. Πιταροκοίλη, Φ. Παπαϊωάννου, Δ. Π. Παπαχρήστος, Γ. Κολιόπουλος, Ν. Εμμανουήλ, Ο. Τζάκου and Α. Μιχαηλάκης. 2013b. Χημική ανάλυση, προνυμφοκτόνος και απωθητική δράση αιθερίων ελαίων οκτώ εκπροσώπων της οικ. Cupressaceae εναντίον του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Πρακτικά 15ου Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου, Καβάλα, 22-25 Οκτωβρίου.
- Εμμανουήλ Ν. Γ. 1999. Δίπτερα Υγειονομικής Σημασίας. Αναγνώριση, βιολογία, οικονομική σημασία, αντιμετώπιση. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα. 93 σελ.
- Ζιώγας Β. and Α. Μαρκόγλου. 2007. Γεωργική Φαρμακολογία. Βιοχημεία, Μηχανισμοί Δράσης και Χρήσεις των Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων. Ελληνική Έκδοση, Αθήνα. σελ. 836.
- Καλτσίκης Π. Ι. 1997. Απλά Πειραματικά Σχέδια. Εκδόσεις Σταμούλης, Αθήνα, σελ. 463.
- Καρανδεινός Μ. Γ. 1986. Εισαγωγή στην πληθυσμιακή οικολογία. Τόμος Ι. Ανωτάτη Γεωπονική Σχολή. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις, Αθήνα. 220 σελ.
- ΚΕ.ΕΛ.Π.ΝΟ. 2013. Κέντρο Ελέγχου και Πρόληψης Νοσημάτων. <http://www.keelpno.gr>.
- Κιούλος Η., Β. G. Silva, Α. Παππά, Β. Μπαριάμη, Ε. Μώρου, Α. Τσαγκαράκου, J. Pinto and Γ. Βόντας. 2011. Ανάλυση της πληθυσμιακής δομής και της ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα του κύριου φορέα του WNV *Culex ripiens* (Diptera: Culicidae) και του Ασιατικού κουνουπιού τίγρη *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Πρακτικά 14ου Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου, Ναύπλιο, 11-14 Οκτωβρίου, σελ. 269-270.
- Κολιόπουλος Γ., Ι. Λύτρα, Α. Μιχαηλάκης, Η. Κιούλος, Α. Γιατρόπουλος and Ν. Εμμανουήλ. 2008. Το «Ασιατικό Κουνούπι Τίγρης»: Πρώτη εμφάνιση του *Aedes albopictus* (Skuse) στην Αθήνα. *Γεωργία - Κτηνοτροφία*, 9: 68-73.
- Κολιόπουλος Γ. Θ. 2011. Συμβολή στη μελέτη της παρουσίας, εξάπλωσης, βιολογίας και καταπολέμησης, του *Aedes cretinus* Edws. και άλλων ανθρωπόφιλων Culicidae, στο Νομό Αττικής. Διδακτορική διατριβή (PhD Thesis). Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. 386 σελ.
- Μπέτζιος Β. Χ. 1989. Αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας. Μορφολογία, βιολογία, οικολογία, υγειονομική σημασία, καταπολέμηση. Αθήνα. 260 σελ.
- Σαββοπούλου-Σουλτάνη Μ. 1999. Έντομα και άλλα αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας. Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη. 153 σελ.
- Σαββοπούλου-Σουλτάνη Μ., Σ. Ανδρεάδης and Χ. Σουλτάνη-Ζουρουλίδη. 2011. Έντομα & άλλα αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας. Βιολογία, οικολογία, αντιμετώπιση. Θεσσαλονίκη, 441 σελ.
- Σαμανίδου-Βογιατζόγλου Α. 2011. Τα Κουνούπια της Ελλάδας, Μορφολογία, Βιολογία, Δημόσια υγεία, Κλειδες προσδιορισμού, Αντιμετώπιση. Εκδόσεις ΑγροΤύπος Α.Ε., 112 σελ.
- Σαρλής Γ. Π. 1994. Αρωματικά και Φαρμακευτικά Φυτά. Εκδόσεις Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, Αθήνα, 112 σελ.
- Τζανακάκης Μ. Ε. 1995. Εντομολογία. University Studio Press, Θεσσαλονίκη, σελ. 501.

Παράρτημα Ι. Πηγές εικόνων

Εικόνα 1. Από Linley (1989)

Εικόνα 2. Από διαδίκτυο: <http://entoplp.okstate.edu/mosquito/biology>

Εικόνα 3. Από διαδίκτυο: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/asian_tiger.htm

Εικόνα 4. Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου, πλην της εικόνας του ανθοδοχείου (Κολιόπουλος (2008))

Εικόνα 5. Από διαδίκτυο: http://entnemdept.ufl.edu/creatures/aquatic/asian_tiger.htm

Εικόνα 6. Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου

Εικόνα 7. Από διαδίκτυο: <http://phil.cdc.gov/phil/quicksearch.asp> (C.D.C.)

Εικόνα 8. Από Bonizzoni *et al.* (2013)

Εικόνα 9. Από διαδίκτυο:
http://ecdc.europa.eu/en/activities/diseaseprogrammes/emerging_and_vector_borne_disease_s/Pages/VBORNET_maps.aspx (ECDC-VBORNET)

Εικόνα 10. Από διαδίκτυο:
http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC_DispForm.aspx?ID=948
(E.C.D.C. 2012)

Εικόνα 11. Από διαδίκτυο:
http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/Forms/ECDC_DispForm.aspx?ID=948
(E.C.D.C. 2012)

Εικόνα 12. Από διαδίκτυο: <http://www.healthmap.org/dengue/index.php> (C.D.C.)

Εικόνα 13. Από διαδίκτυο: <http://www.cdc.gov/chikungunya/map/index.html> (C.D.C.)

Εικόνα 14. Από Vilela *et al.* (2010)

Εικόνα 15. Από Becker *et al.* (2010)

Εικόνα 16. Από διαδίκτυο:
http://www.trevorwilliams.info/Mosquitoes_blackflies_ticks.htm

Εικόνα 17. Από Becker *et al.* (2010)

Εικόνα 18. Από Becker *et al.* (2010)

Εικόνα 19. Από Becker *et al.* (2010)

Εικόνα 20. Από Vilela *et al.* (2010)

Εικόνα 21. Από E.C.D.C. (2012)

Εικόνα 22. Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου

Εικόνα 23. Φωτογραφίες Γ. Κολιόπουλου και Α. Σαμανίδου

Εικόνα 24. Φωτογραφία Α. Σαμανίδου (αριστερά) και Α. Γιατρόπουλου (δεξιά)

Εικόνα 25. Από Becker *et al.* (2010)

- Εικόνα 26.** Από διαδίκτυο: <http://phil.cdc.gov/phil/details.asp> (C.D.C.)
- Εικόνα 27.** Από διαδίκτυο: <http://www.inviragen.com/dengueInfo.php> (W.H.O.)
- Εικόνα 28.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου από Google earth
- Εικόνα 29.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 30.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 31.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 32.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 33.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 34.** Από Becker *et al.* (2010)
- Εικόνα 35.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 36.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 37.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 38.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 39.** Από van-den-Huevel (1963)
- Εικόνα 40.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 41.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 42.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 43.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 44.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 45.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 46.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 47.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 48.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 49.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου από Google earth
- Εικόνα 50.** Από διαδίκτυο: http://en.wikipedia.org/wiki/Orange_%28fruit%29
- Εικόνα 51.** Από διαδίκτυο: <http://popups.ulg.ac.be/Base/document.php?id=830>
- Εικόνα 52.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 53.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 54.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 55.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 56.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 57.** Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου
- Εικόνα 58.** Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου

Εικόνα 59. Από διαδίκτυο:

http://users.sch.gr/pazoulis/plants/cupressus/cupressus_arizonica.htm,

<http://www.biolib.cz/en/taxonimage/id7096/>

Εικόνα 60. Από διαδίκτυο: <http://www.about-garden.com/se/en/fotoa-chamaecyparis+lawsoniana/>

http://www.aphotoflora.com/conifer_chamaecyparis_lawsoniana_lawsons_cypress.html

Εικόνα 61. Από διαδίκτυο: <http://tree-species.blogspot.gr/2009/04/sandarac-tetraclinis-articulata.html>

Εικόνα 62. Από διαδίκτυο: <http://prakashmouthcare.blogspot.gr/2009/11/prakash-herbal-mouth-care-mouth-gargle.html> <http://hortiplex.gardenweb.com/plants/p1/gw1025615.html>

Εικόνα 63. Από διαδίκτυο: <http://greenchef.gr/>

<http://www.examiner.com/article/what-s-growing-the-herb-garden-1>

Εικόνα 64. Από διαδίκτυο: <http://www.plantoftheweek.org/week405.shtml>

<http://www.treknature.com/gallery/photo184309.htm>

Εικόνα 65. Από διαδίκτυο: <http://www.wildgingerfarm.com/Lavender.htm>

<http://www.kerneliv.dk/en/basil/836-ocimum-basilicum-genovese-basil.html>

Εικόνα 66. Από διαδίκτυο: <http://www.mountainvalleygrowers.com/oridictamnus.htm>

http://it.wikipedia.org/wiki/File:Starr_070906-8859_Origanum_majorana.jpg

Εικόνα 67. Από διαδίκτυο: <http://da.wikipedia.org/wiki/Fil:Origanum-vulgare.JPG>

http://en.wikipedia.org/wiki/File:Thymus_vulgaris_001.JPG

Εικόνα 68. Φωτογραφία Α. Γιατρόπουλου

Εικόνα 69. Από διαδίκτυο:

<http://www.google.gr/imgres?um=1&hl=el&sa=N&tbo=d&biw=1280&bih=637&tbm=isch&tbnid=JaGaMKV5sgip4M:&imgrefurl=http://www.alanwood.net/pesticides/spinosad.html&docid=STwz3M83ios->

[XM&imgurl=http://www.alanwood.net/pesticides/structures/spinosad.gif&w=409&h=591&ei=ESi6ULTiEOyP4gTX4YD4Ag&zoom=1&iact=rc&dur=2&sig=102353558831933447323&page=1&tbnh=153&tbnw=106&start=0&ndsp=22&ved=1t:429,r:0,s:0,i:81&tx=58&ty=75](http://www.alanwood.net/pesticides/structures/spinosad.gif&w=409&h=591&ei=ESi6ULTiEOyP4gTX4YD4Ag&zoom=1&iact=rc&dur=2&sig=102353558831933447323&page=1&tbnh=153&tbnw=106&start=0&ndsp=22&ved=1t:429,r:0,s:0,i:81&tx=58&ty=75)

Εικόνα 70. Από Becker *et al.* (2010)

Εικόνα 71. Από διαδίκτυο:

<http://ucanr.org/repository/CAO/landingpage.cfm?article=ca.v052n06p14&fulltext=yes>

Εικόνα 72. Από διαδίκτυο: <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Diflubenzuron.PNG>

Εικόνα 73. Από διαδίκτυο:

http://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB8214823_EN.htm

Εικόνα 74. Φωτογραφίες Α. Γιατρόπουλου

Παράρτημα II. Δημοσιεύσεις της Διδακτορικής Διατριβής

A. Τα αποτελέσματα του 2^{ου} κεφαλαίου έχουν δημοσιευθεί από τους Giatropoulos *et al.* (2012b) στο διεθνές επιστημονικό περιοδικό *Journal of Medical Entomology*, με τον εξής τίτλο:

- Giatropoulos A.*, N. Emmanouel, G. Koliopoulos and A. Michaelakis (2012). A study on distribution and seasonal abundance of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population in Athens, Greece. *Journal of Medical Entomology*, 49(2): 262-269.

(*corresponded author)

Επίσης, μέρος ή και το σύνολο των αποτελεσμάτων που περιέχονται στο 2^ο κεφάλαιο έχουν ανακοινωθεί στο 13^ο και 14^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο από τους Γιατρόπουλος και συνεργάτες (2009) και Γιατρόπουλος και συνεργάτες (2011), αντίστοιχα, με τους εξής τίτλους:

- Γιατρόπουλος A., Γ. Κολιόπουλος, Η. Κιούλος, Α. Μιχαηλάκης και Ν. Εμμανουήλ (2009). Προκαταρκτική μελέτη της παρουσίας του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) (Ασιατικό κουνούπι «Τίγρης») στην Αθήνα. 13^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη, 3-6 Νοεμβρίου
- Γιατρόπουλος A., Ν. Εμμανουήλ, Γ. Κολιόπουλος και Α. Μιχαηλάκης (2011). Παρουσία και εποχική διακύμανση του *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) (Ασιατικό κουνούπι τίγρης) στην Αθήνα. 14^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ναύπλιο, 11-14 Οκτωβρίου

Το σύνολο των αποτελεσμάτων που περιέχονται στο 2^ο κεφάλαιο έχουν ανακοινωθεί από τους Giatropoulos *et al.* (2012a) στο 12^ο διεθνές συνέδριο Ζωογεωγραφίας και Οικολογίας στην Ελλάδα και σε γειτονικές περιοχές, με τον εξής τίτλο:

- Giatropoulos A., N. Emmanouel, G. Koliopoulos, and A. Michaelakis (2012). Asian Tiger mosquito (*Aedes albopictus*, Diptera: Culicidae) in Athens, Greece. 12th International Congress of Zoogeography and Ecology of Greece and Adjacent Regions. International Congress on the Zoogeography, Ecology and Evolution of South-eastern Europe and the Eastern Mediterranean. Hellenic Zoological Society, Athens, Greece, 18-22 June. Edited by A. Legakis, C. Georgiadis and P. Pafilis [230 pp.].

B. Τα αποτελέσματα του 4^{ου} κεφαλαίου που αφορούν τη μελέτη της τοξικής δράσης στις προνύμφες και απωθητικής δράσης στα τέλεια του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων φυτών του γένους *Citrus* και των συστατικών τους έχουν δημοσιευθεί στο διεθνές επιστημονικό περιοδικό *Parasitology Research*, από τους Giatropoulos *et al.* (2012d), με τον εξής τίτλο:

- Giatropoulos A., D. P. Papachristos, A. Kimbaris, G. Koliopoulos, M. G. Polissiou, N. Emmanouel and A. Michaelakis (2012). Evaluation of bioefficacy of three Citrus essential oils against the dengue vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in correlation to their components enantiomeric distribution. *Parasitology Research*, 111(6): 2253-2263.

Επίσης, τα συγκεκριμένα αποτελέσματα του 4^{ου} κεφαλαίου έχουν ανακοινωθεί στο 15^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο από τους Γιατρόπουλος και συνεργάτες (2013a), με τον εξής τίτλο:

- Γιατρόπουλος Α., Δ.Π. Παπαχρήστος, Α. Κυμπάρης, Γ. Κολιόπουλος, Μ.Γ. Πολυσίου, Ν. Εμμανουήλ και Α. Μιχαηλάκης (2013). Βιολογική δράση τριών αιθερίων ελαίων του γένους *Citrus* και των συστατικών τους εναντίον του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). 15^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Καβάλα, 22-25 Οκτωβρίου

Γ. Τα αποτελέσματα του 4^{ου} κεφαλαίου που αφορούν τη μελέτη της τοξικής δράσης στις προνύμφες και απωθητικής δράσης στα τέλεια του *Ae. albopictus* αιθερίων ελαίων φυτών της Οικογένειας Cupressaceae έχουν δημοσιευθεί στο διεθνές επιστημονικό περιοδικό *Parasitology Research*, από τους Giatropoulos *et al.* (2013) με τον εξής τίτλο:

- Giatropoulos A., D. Pitarokili, F. Papaioannou, D.P. Papachristos, G. Koliopoulos, N. Emmanouel, O. Tzakou and A. Michaelakis (2013). Essential oil composition, adult repellency and larvicidal activity of eight Cupressaceae species from Greece against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 112(3): 1113-1123.

Επίσης, τα συγκεκριμένα αποτελέσματα του 4^{ου} κεφαλαίου έχουν ανακοινωθεί στο 15^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο από τους Γιατρόπουλος και συνεργάτες (2013b), με το εξής τίτλο:

- Γιατρόπουλος Α., Δ. Πιταροκοΐλη, Φ. Παπαϊωάννου, Δ.Π. Παπαχρήστος, Γ. Κολιόπουλος, Ν. Εμμανουήλ, Ο. Τζάκου και Α. Μιχαηλάκης (2013). Χημική ανάλυση, προνυμφοκτόνος και απωθητική δράση αιθερίων ελαίων οκτώ εκπροσώπων της οικ. Cupressaceae εναντίον του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Πρακτικά 15ου Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου, Καβάλα, 22-25 Οκτωβρίου.

Παράρτημα ΙΙΙ. Βιογραφικό Σημείωμα

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ

- **Νοέμβριος 2003.** Πτυχίο Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών (Γ.Π.Α), Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Ειδικότητα Φυτοπροστασία και Περιβάλλον. Βαθμός Πτυχίου: 7,30
- **Φεβρουάριος 2006.** Μεταπτυχιακό Δίπλωμα Ειδίκευσης με τίτλο «Επιστήμη και Σύγχρονα Συστήματα Φυτικής Παραγωγής, Φυτοπροστασίας και Αρχιτεκτονικής Τοπίου» στην κατεύθυνση Φυτοπροστασία και Περιβάλλον του τμήματος Φυτικής Παραγωγής του Γ.Π.Α. Βαθμός: 9,10
- **Νοέμβριος 2008 – Σήμερα.** Υποψήφιος Διδάκτορας στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας, του Τμήματος Φυτικής παραγωγής του Γ.Π.Α.

Τίτλος Διδακτορικής Διατριβής: «Παρουσία του εισβάλλοντος είδους κουνουπιού *Aedes albopictus* (Skuse 1895) στην Αττική: Διασπορά, εποχιακή διακύμανση, αντιμετώπιση και ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις με το ιθαγενές είδος *Aedes cretinus* (Edwards 1921)».

ΔΙΑΚΡΙΣΕΙΣ

Νοέμβριος 2004. Υποτροφία διάρκειας 3 ετών από το Ίδρυμα Κρατικών Υποτροφιών (Ι.Κ.Υ.) για μεταπτυχιακές σπουδές στην Ελλάδα μετά από επιτυχή συμμετοχή σε γραπτό διαγωνισμό στην ειδίκευση «Γεωργική Εντομολογία» για την Γεωπονική Επιστήμη.

Οκτώβριος 2013. Τρίτο βραβείο καλύτερης παρουσίασης εικονογραφημένης εργασίας φοιτητών κατά τις εργασίες του 15^{ου} Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου στην Καβάλα.

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- **Δεκέμβριος 2007 – Σήμερα.** Εργασία με σχέση εργασίας ιδιωτικού δικαίου ορισμένου χρόνου στο πρόγραμμα «Φυτοφάρμακα-Υπολείμματα» στο Εργαστήριο Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων (Ε.Β.Ε.Γ.Φ.) του Τμήματος Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων και Φυτοφαρμακευτικής του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου (Μ.Φ.Ι.). Το πρόγραμμα χρηματοδοτείται από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (Υπ.Α.Α.Τ.) και το αντικείμενο απασχόλησης αφορά την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των Βιοκτόνων Προϊόντων βάσει της Ελληνικής και Ευρωπαϊκής νομοθεσίας.

- Έως τις 20/02/2012 το ίδιο αντικείμενο εργασίας καθώς και η ερευνητική και επιστημονική δραστηριότητα διενεργούνταν στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, το οποίο τότε συγχωνεύθηκε στο Ε.Β.Ε.Γ.Φ.

Αρμοδιότητες στα πλαίσια του προγράμματος «Φυτοφάρμακα-Υπολείμματα»:

- Αξιολόγηση μελετών που αφορούν τη βιολογική δράση (χρήσεις, τρόπος δράσης, αποτελεσματικότητα, ανθεκτικότητα κ.α.) των Βιοκτόνων Προϊόντων.
- Συγγραφή Υπηρεσιακών Σημειωμάτων/Ειδικών Εκθέσεων του Ε.Β.Ε.Γ.Φ. του Μ.Φ.Ι. προς το Υπ.Α.Α.Τ. όσον αφορά το βιολογικό έλεγχο των Βιοκτόνων Προϊόντων για τη χορήγηση έγκρισης κυκλοφορίας τους στην Ελλάδα, βάσει της Ελληνικής Νομοθεσίας (Ν. 721/77, Π.Δ. 205). Συγγραφή υπηρεσιακών σημειωμάτων σε > 30 Βιοκτόνα Προϊόντα που κυκλοφορούν στην ελληνική αγορά.
- Συγγραφή μονογραφιών [Competent Authority Reports (CAR)] Δραστικών Ουσιών Βιοκτόνων Προϊόντων στα πλαίσια του προγράμματος της Ευρωπαϊκής Ένωσης για την αξιολόγηση – επαναξιολόγηση (Review Program) των Δραστικών Ουσιών Βιοκτόνων Προϊόντων σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Οδηγία για τα Βιοκτόνα Προϊόντα [Biocidal Products Regulation (BPR), Regulation (EU) 528/2012, σε αντικατάσταση την Ευρωπαϊκής Οδηγίας 98/8/EE]. Συγγραφή μονογραφιών για τη βιολογική δράση 6 Δραστικών Ουσιών Βιοκτόνων Προϊόντων για τα οποία η Ελλάδα είναι Εισηγήτρια χώρα (Rapporteur Member State).
- Συγγραφή εκθέσεων αξιολόγησης [Draft Assessment Reports (DAR)] των Βιοκτόνων Προϊόντων για τα οποία η Ελλάδα είναι Εισηγήτρια χώρα, στα πλαίσια της Ευρωπαϊκής Οδηγίας για τα Βιοκτόνα Προϊόντα (BPR, EU, 528/2012).

Ερευνητική και επιστημονική δραστηριότητα στο Ε.Β.Ε.Γ.Φ. του Μ.Φ.Ι.:

- Αναγνώριση δειγμάτων αρthropόδων υγειονομικής σημασίας και παροχή πληροφοριών και οδηγιών αντιμετώπισής τους προς Δημόσιους και Ιδιωτικούς φορείς.
- Παρακολούθηση της παρουσίας ειδών κουνουπιών με τη χρήση κατάλληλων μεθόδων δειγματοληψίας. Μελέτη της βιοοικολογίας και των μεθόδων καταπολέμησής τους.
- Μελέτη ανταγωνιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ ειδών κουνουπιών στον αγρό και στο εργαστήριο.
- Μελέτη της αποτελεσματικότητας ουσιών ή μέσων για την αντιμετώπιση κουνουπιών, με έμφαση στη δράση φυσικών προϊόντων όπως αιθέριων ελαίων.
- Διατήρηση εργαστηριακών εκτροφών διαφορετικών ειδών κουνουπιών (*Aedes albopictus*, *Ae. cretinus* και *Culex pipiens*) για ερευνητικούς σκοπούς.

ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΑ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑΤΑ

- **Ιούλιος 2013 – Σήμερα.** Συμβολή ως επιστημονικός συνεργάτης στο ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο «Development & demonstration of management plans against -the climate change enhanced- invasive mosquitoes in S. Europe (LIFE CONOPS- LIFE12 ENV/GR/000466). Το πρόγραμμα συγχρηματοδοτείται από το Μ.Φ.Ι. και την Ευρωπαϊκή Ένωση και εφαρμόζεται από το Μ.Φ.Ι και άλλους εταίρους.
- **Απρίλιος 2009 – Απρίλιος 2010.** Επιστημονικός συνεργάτης στο ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο «Καταγραφή της υφιστάμενης κατάστασης και μελέτη του προβλήματος των κουνουπιών στη λίμνη Δύστου Ευβοίας με σκοπό την αντιμετώπισή του». Το πρόγραμμα χρηματοδοτήθηκε από τη Νομαρχία Ευβοίας και εφαρμόστηκε από το εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μ.Φ.Ι.
- **Ιούλιος 2009 – Μάρτιος 2010.** Επιστημονικός συνεργάτης στο ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο «Έλεγχος της υφιστάμενης κατάστασης του *Aedes albopictus* (Ασιατικό κουνούπι τίγρης) στο Δήμο Νέας Χαλκηδόνας». Το πρόγραμμα χρηματοδοτήθηκε από το Δήμο Νέας Χαλκηδόνας. και εφαρμόστηκε από το εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μ.Φ.Ι.
- **Απρίλιος - Δεκέμβριος 2007.** Εργασία με σύμβαση ανάθεσης έργου στο ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο «Μελέτη των αλληλεπιδράσεων μεταξύ φυσικών εχθρών σημαντικών επιβλαβών εντόμων. Μια νέα προσέγγιση με σημαντικό πρακτικό ενδιαφέρον στην καλλιέργεια των κηπευτικών στη χώρα μας». Το πρόγραμμα χρηματοδοτήθηκε από τη Γενική Γραμματεία Έρευνας και Τεχνολογίας και εφαρμόστηκε από τα Εργαστήρια Οικολογίας και Προστασίας του Περιβάλλοντος και Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γ.Π.Α. σε συνεργασία με το τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου U.Q.A.M. του Καναδά.
- **Μάιος 2005 – Ιανουάριος 2006.** Εργασία με σύμβαση ανάθεσης έργου στο ερευνητικό πρόγραμμα με τίτλο «Ο οικολογικός ρόλος της βιοποικιλότητας στα αγροοικοσυστήματα: ο ρόλος των αυτοφύων φυτών στη διατήρηση της οικολογικής ισορροπίας σε αγροοικοσυστήματα». Το πρόγραμμα συγχρηματοδοτήθηκε από την Ε.Ε και το Υπ. Παιδείας και εφαρμόστηκε από τα εργαστήρια Οικολογίας και Προστασίας του Περιβάλλοντος και Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γ.Π.Α.
- **Ιούλιος - Αύγουστος 2004.** Συμμετοχή στις πειραματικές εργασίες του ερευνητικού προγράμματος με τίτλο «Ολοκληρωμένη Φυτοπροστασία στο Βαμβάκι». Το πρόγραμμα χρηματοδοτήθηκε από το Υπ. Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων και εφαρμόστηκε από το τμήμα Φυτοπροστασίας της Δ/σης Αγροτικής Ανάπτυξης Λάρισας.

- **Αύγουστος - Σεπτέμβριος 2003.** Συμμετοχή στις πειραματικές εργασίες του ερευνητικού προγράμματος με τίτλο «Συγκριτικές εργασίες για την αντιμετώπιση του Δάκου της ελιάς». Το πρόγραμμα χρηματοδοτήθηκε από το Υπ. Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων και εφαρμόστηκε από το τμήμα Φυτοπροστασίας της Δ/σης Αγροτικής Ανάπτυξης Λάρισας.

ΜΕΛΟΣ ΕΥΡΩΠΑΪΚΩΝ ΕΠΙΤΡΟΠΩΝ

Συμμετοχή ως κύριο μέλος (Core Member) στην ομάδα εργασίας της Επιτροπής Βιοκτόνων Προϊόντων (Biocidal Products Committee Working Group) για την αποτελεσματικότητα (Efficacy) των Βιοκτόνων Προϊόντων, στα πλαίσια της Ευρωπαϊκής Οδηγίας για τα Βιοκτόνα Προϊόντα. Η ομάδα εργασίας συντονίζεται από την Ευρωπαϊκή Αρχή Χημικών [European Chemicals Agency (ECHA)] με έδρα στο Ελσίνκι της Φινλανδίας.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΣΚΕΨΕΙΣ

- Συμμετοχή σε συσκέψεις του Ανωτάτου Συμβουλίου Γεωργικών Φαρμάκων (Α.ΣΥ.ΓΕ.Φ.) για τη χορήγηση έγκρισης κυκλοφορίας σε Βιοκτόνα Προϊόντα και για άλλα ειδικά θέματα που αφορούν την εφαρμογή Βιοκτόνων Προϊόντων στην Ελλάδα.
- Συμμετοχή σε συσκέψεις με εκπροσώπους εταιρειών γεωργικών φαρμάκων και υπαλλήλων αρμόδιων αρχών για την αξιολόγηση των βιοκτόνων.

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΟΜΑΔΕΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Συμμετοχή σε ομάδα εργασίας της Εντομολογικής Εταιρείας Ελλάδας (Ε.Ε.Ε.) στις 26/1/2011 με θέμα «Συμπεράσματα και προτάσεις σχετικά με την εμφάνιση και αντιμετώπιση της επιδημίας του ιού του Δυτικού Νείλου στην Ελλάδα το 2010.»

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

ΔΙΑΤΡΙΒΕΣ

Μεταπτυχιακή Διατριβή: «Μελέτη των βιολογικών χαρακτηριστικών και των πληθυσμιακών παραμέτρων του αρπακτικού *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) (Heteroptera: Miridae) επί του αυτοφυούς φυτού *Solanum nigrum* (Solanaceae)».

ΣΕ ΛΙΘΩΝΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΑ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΜΕ ΚΡΙΤΕΣ

1. Perdikis D., E. Lucas, N. Garantonakis, A. Giatropoulos, P. Kitsis, D. Maselou, S. Panagakis, P. Lampropoulos, A. Paraskevopoulos, D. Lykouressis and A. Fantinou (2014). Intraguild predation and sublethal interactions between two zoophytophagous mirids, *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. *Biological control*, 70: 35-41. (Impact factor: 1.917 for 2012).
2. Giatropoulos A., D. Pitarokili, F. Papaioannou, D.P. Papachristos, G. Koliopoulos, N. Emmanouel, O. Tzakou and A. Michaelakis (2013). Essential oil composition, adult repellency and larvicidal activity of eight Cupressaceae species from Greece against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 112(3): 1113-1123. (Impact factor: 2.852 for 2012).
3. Giatropoulos A.*, N. Emmanouel, G. Koliopoulos and A. Michaelakis (2012). A study on distribution and seasonal abundance of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population in Athens, Greece. *Journal of Medical Entomology*, 49(2): 262-269. (Impact factor: 1.857 for 2012)
4. Giatropoulos A., D. P. Papachristos, A. Kimbaris, G. Koliopoulos, M. G. Polissiou, N. Emmanouel and A. Michaelakis (2012). Evaluation of bioefficacy of three Citrus essential oils against the dengue vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in correlation to their components enantiomeric distribution. *Parasitology Research*, 111(6): 2253-2263 (Impact factor: 2.852 for 2012).
5. Giatropoulos A., A. Michaelakis, G. Koliopoulos and C. M. Pontikakos. Records of *Aedes albopictus* and *Aedes cretinus* (Diptera: Culicidae) in Greece from 2009 to 2011 (2012). *Hellenic Plant Protection Journal*, 5(2): 49-56.
6. Pitarokili D., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A. Giatropoulos and O. Tzakou (2011). Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek *Thymus* essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. *Parasitology Research*, 109: 425-430. (Impact factor: 2.149 for 2011)
7. Michaelakis A., D. Papachristos, A. Kimbaris, G. Koliopoulos, A. Giatropoulos and G. Polissiou (2009). Citrus essential oils and four enantiomeric pinenes against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 105(3): 769-773. (Impact factor: 1.721 for 2009)
8. Perdikis D., N. Garantonakis, P. Kitsis, A. Giatropoulos, A. Paraskevopoulos, G. Cassis, S. Panagakis (2009). Studies on the damage potential of *Closterotomus trivialis* and *Aphanosoma italicum* on olive fruit setting. *Bulletin of Insectology*, 62 (2): 215-219. (Impact factor: 0.448 for 2009)

9. Perdikis D., N. Garantonakis, **A. Giatropoulos**, A. Paraskevopoulos, D. Lykouressis & P. Kitsis (2009). Damage evaluation of *Rhynchites cribripennis* (Col., Attelabidae) in olive fruits. *Journal of applied Entomology*, 133(7): 512–517. (Impact factor: 1.436 for 2009)
10. Lykouressis D., **A. Giatropoulos**, D. Perdikis and C. Favas (2008). Assessing the suitability of non-cultivated plants and associated insect prey as food sources for the omnivorous predator *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae). *Biological Control* 44(2): 142-148. (Impact factor: 1.805 for 2008)
11. Stavridis D. G., Gliatis, A., Deligeorgidis, P.N., Giatropoulos C., **Giatropoulos A.**, Deligeorgidis, N.P. and C.G., Ipsilandis (2008). Cotton production in the presence of *Helicoverpa armigera* (Hb.) in central Greece. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 11(21): 2490-2494.

(* Corresponded author)

Ετεροαναφορές (εξαιρώντας τις αυτό-αναφορές όλων των συγγραφέων): 56

Πηγή: Scopus (www.scopus.com)

ΣΕ ΛΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. **Giatropoulos A.***, D. Papachristos, G. Koliopoulos, A. Michaelakis and N. Emmanouel (2014). Cross mating studies between *Aedes albopictus* and *Aedes cretinus* (Diptera: Culicidae). 19th European - Society for Vector Ecology (E-SOVE) Conference, 13-17th October 2014, Thessaloniki, Greece.
2. **Giatropoulos A.***, D. Pitarokili, V. Karras, N. Dimitroulis, A. Michaelakis and O. Tzakou (2014). Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of Greek *Thymus* and *Salvia* essential oils against *Aedes albopictus*. 19th European - Society for Vector Ecology (E-SOVE) Conference, 13-17th October 2014, Thessaloniki, Greece.
3. **Giatropoulos A.***, N. Emmanouel, G. Koliopoulos, and A. Michaelakis* (2012). Asian Tiger mosquito (*Aedes albopictus*, Diptera: Culicidae) in Athens, Greece. **12th International Congress of Zoogeography and Ecology of Greece and Adjacent Regions**. International Congress on the Zoogeography, Ecology and Evolution of South-eastern Europe and the Eastern Mediterranean. Hellenic Zoological Society, Athens, Greece, 18-22 June. Edited by A. Legakis, C. Georgiadis and P. Pafilis [230 pp.].

4. Michaelakis A., Fytrou A., Bonelis N., Milonas P., Papachristos D., **Giatropoulos A.** and G. Koliopoulos (2012). Behavioral studies with oviposition pheromone in *Culex* mosquitoes and study of the O B P 1 gene expression in adult males and females. **International Society of Chemical Ecology, 28th Annual meeting**, Vilnius, Lithuania, July 22-26.
5. Perdikis D., Garantonakis N., Paraskeuopoulos A., **Giatropoulos A.** and D. Lykouressis (2010). Evaluation of different colour sticky traps in the captures of *Rhynchites cribripennis*. **IOBC/WPRS Bulletin**, Working Group "Integrated Protection of Olive Crops". Proceedings of the Meeting at Bragança (Portugal), 10-12 October, 2007. Edited by: Argyro Kalaitzaki [xiv + 152 pp.], 53: 95.
6. Perdikis D., E. Lucas, N. Garantonakis, **A. Giatropoulos**, P. Kitsis, D. Maselou, S. Panagakis, A. Paraskevopoulos, D. Lykouressis and A. Fantinou (2009). Intraguild predation between *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. **IOBC/WPRS Bulletin**, Working Group "Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate". Proceedings of the meeting at Chania (Greece: Crete), 6-11 September, 2009. Edited by Cristina Castañé & Dionyssios Perdikis [viii + 358 pp.], 49: 301-305.
7. Perdikis D., Garantonakis N., **Giatropoulos A.**, Gouvitsas T., Kourti A., Lykouressis D., Praskevopoulos A., Gkina E. & Fantinou A. (2008). Enhancing sustainability in vegetable farming: Clarification of *Macrolophus* species that colonize tomato and potential of alternative host plant in conservation biological control. **XXIII International Congress of Entomology**, Durban, South Africa, 6-12 July
8. Perdikis D., Garantonakis N., Paraskevopoulos A., Lykouressis D. and **A. Giatropoulos** (2008). Damage evaluation of the olive insect pest *Rhynchites cribripennis* (Coleoptera: Attelabidae). **XXIII International Congress of Entomology**. Durban, South Africa, 6-12 July
9. Perdikis D., **A. Giatropoulos**, P. Labropoulos, D. Maselou, A. Fantinou and D. Lykouressis (2007). The role of non-cultivated plants in the colonization of a tomato field by polyphagous mirid predators. **IOBC/WPRS Bulletin**, Working Group "Integrated Protection in Field Vegetable Crops". Proceedings of the meeting at Ljubljana (Slovenia), October 3-7, 2005. Edited by: Rosemary Collier [vi + 159 pp.], 30(8): 17.

ΣΕ ΠΑΝΕΛΛΗΝΙΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

1. **Γιατρόπουλος Α.**, Δ.Π. Παπαχρήστος, Α. Κυμπάρης, Γ. Κολιόπουλος, Μ.Γ. Πολυσίου, Ν. Εμμανουήλ και Α. Μιχαηλάκης (2013). Βιολογική δράση τριών αιθερίων ελαίων του γένους *Citrus* και των συστατικών τους εναντίον του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). 15^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Καβάλα, 22-25 Οκτωβρίου
2. **Γιατρόπουλος Α.**, Δ. Πιταροκοίλη, Φ. Παπαϊωάννου, Δ.Π. Παπαχρήστος, Γ. Κολιόπουλος, Ν. Εμμανουήλ, Ο. Τζάκου και Α. Μιχαηλάκης (2013). Χημική ανάλυση, προνυμφοκτόνος και απωθητική δράση αιθερίων ελαίων οκτώ εκπροσώπων της οικ. Cupressaceae εναντίον του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). Πρακτικά 15ου Πανελλήνιου Εντομολογικού Συνεδρίου, Καβάλα, 22-25 Οκτωβρίου
3. **Γιατρόπουλος Α.**, Ν. Εμμανουήλ, Γ. Κολιόπουλος και Α. Μιχαηλάκης (2011). Παρουσία και εποχική διακύμανση του *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) (Ασιατικό κουνούπι τίγρης) στην Αθήνα. 14^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ναύπλιο, 11-14 Οκτωβρίου
4. Μιχαηλάκης Α., Α. Φύτρου, Ν. Μπονέλης, Π. Μυλωνάς, Δ. Παπαχρήστος, **Α. Γιατρόπουλος** και Γ. Κολιόπουλος (2011). Μελέτη της συμπεριφοράς κουνουπιών *Culex ripiens* (Diptera: Culicidae) παρουσία φερομόνης ωοθεσίας και μελέτη της έκφρασης του γονιδίου OBP1. 14^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ναύπλιο, 11-14 Οκτωβρίου
5. Λιγνού Μ., Ι. Μπαζός, Γ. Κολιόπουλος, Α. Μιχαηλάκης, **Α. Γιατρόπουλος** και Ο. Τζάκου (2011). Χημική σύσταση αιθερίων ελαίων του είδους *Myrtus communis* L. και προνυμφοκτόνος δράση τους σε κουνούπια. 12^ο Πανελλήνιο Επιστημονικό Συνέδριο Ελληνικής Βοτανικής Εταιρείας, Ρέθυμνο, 29 Σεπτεμβρίου – 2 Οκτωβρίου
6. Κολιόπουλος Γ., Α. Μιχαηλάκης, Η. Κιούλος και **Α. Γιατρόπουλος** (2010). Αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας στο αστικό περιβάλλον και η αντιμετώπισή τους. 5^η Πανελλήνια Συνάντηση Φυτοπροστασίας, Λάρισα, 23-25 Φεβρουαρίου
7. **Γιατρόπουλος Α.**, Γ. Κολιόπουλος, Η. Κιούλος, Α. Μιχαηλάκης και Ν. Εμμανουήλ (2009). Προκαταρκτική μελέτη της παρουσίας του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) (Ασιατικό κουνούπι «Τίγρης») στην Αθήνα. 13^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη, 3-6 Νοεμβρίου
8. Περδίκης Δ., Ε. Lucas, Ν. Γαραντωνάκης, **Α. Γιατρόπουλος**, Π. Κίτσης, Δ. Μασέλου, Σ. Παναγάκης, Α. Παρασκευόπουλος, Δ. Λυκουρέσης και Α. Φαντινού (2009). Ενδοσυντεχνιακός ανταγωνισμός μεταξύ των πολυφάγων αρπακτικών *Macrolophus*

rygmaeus και *Nesidiocoris tenuis*. 13^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη, 3-6 Νοεμβρίου

9. Κυμπάρης Α., Δ. Παπαχρήστος, Γ. Κολιόπουλος, Α. Γιατρόπουλος και Α. Μιχαηλάκης (2009). Τοξικότητα αιθερίων ελαίων εσπεριδοειδών σε κουνούπια: Μελέτη δομής-δράσης μη κυκλικών μονοτερπενίων. 3^ο Συνέδριο Πράσινης Χημείας και Βιώσιμης Ανάπτυξης, Θεσσαλονίκη, 25-27 Σεπτεμβρίου
10. Περδίκης Δ., Δ. Λυκουρέσης, Ν. Γαραντωνάκης, Α. Κούρτη, Θ. Γκουβίτσας, Α. Φαντινού, Α. Γιατρόπουλος, Δ. Μασέλου, Π. Λαμπρόπουλος, Α. Παρασκευόπουλος και Ε. Γκινάλα. (2008). Η αξιοποίηση των αυτοφυών φυτών και ο ρόλος της αυτοφυούς βλάστησης των περιθωρίων στον αποικισμό καλλιιεργειών από αρπακτικά *Macrolophus* (Hemiptera: Miridae). 4ο πανελλήνιο συνέδριο Οικολογίας "Σύγχρονες τάσεις της έρευνας στην Οικολογία". Abstract p. 84.
11. Γιατρόπουλος Α., Περδίκης Δ. και Δ. Λυκουρέσης (2007). Το αυτοφύες φυτό *Solanum nigrum* (οικ. Solanaceae) ως κατάλληλος ξενιστής για τη διατήρηση και αύξηση των πληθυσμών του αρπακτικού *Macrolophus rygmaeus* Rambur (Heteroptera: Miridae). 12^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Λάρνακα, Κύπρος, 13-16 Νοεμβρίου
12. Περδίκης Δ., Ν. Γαραντωνάκης, Α. Παρασκευόπουλος, Δ. Λυκουρέσης και Α. Γιατρόπουλος (2007). Εκτίμηση του ύψους της ζημιάς του ρυγχίτη της ελιάς *Rhynchites cribripennis* (Coleoptera: Attelabidae). 12^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Λάρνακα, Κύπρος, 13-16 Νοεμβρίου
13. Γιατρόπουλος Α., Περδίκης Δ. και Δ. Λυκουρέσης (2005). Μελέτη της νυμφικής ανάπτυξης και επιβίωσης του αρπακτικού *Macrolophus rygmaeus* Rambur επί του αυτοφυούς φυτού *Solanum nigrum* L. 11^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Καρδίτσα 11-14 Οκτωβρίου
14. Γιατρόπουλος Α., Παλυβός Ν., Αθανασίου Χ. και Γ. Παπαδούλης (2003). Παρουσία και εποχική διακύμανση ακάρεων σε αποθηκευμένο σύσπορο βαμβάκι και προϊόντα εκκόκκισης. 10^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ηράκλειο 4-7 Νοεμβρίου.

ΣΕ ΠΕΡΙΟΔΙΚΑ ΧΩΡΙΣ ΚΡΙΤΕΣ

1. Περδίκης Δ., Ν. Γαραντωνάκης, Π. Κίτσης, Α. Γιατρόπουλος, Α. Παρασκευόπουλος και Σ. Παναγάκης (2010). Αξιολόγηση της ικανότητας του εντόμου καλόκορη για πρόκληση ζημιάς στην ελιά. Γεωργία - Κτηνοτροφία, Τεύχος 3.

2. Περδίκης Δ., Ν. Γαραντωνάκης, **Α. Γιατρόπουλος**, Α. Παρασκευόπουλος, Δ. Λυκουρέσης και Π. Κίτσης (2010). Αξιολόγηση της ζημιάς που προκαλεί ο ρυγχίτης της ελιάς. Γεωργία - Κτηνοτροφία, Τεύχος 4.
3. Κολιόπουλος Γ., Ι. Λύτρα, Α. Μιχαηλάκης, Η. Κιούλος, **Α. Γιατρόπουλος** και Ν. Εμμανουήλ (2008). Το «Ασιατικό Κουνούπι Τίγρης». Πρώτη εμφάνιση του *Aedes albopictus* (Skuse) στην Αθήνα. Γεωργία - Κτηνοτροφία, Τεύχος 9.

ΣΕ ΛΟΙΠΑ ΕΝΤΥΠΙΑ/ ΜΕΣΑ ΕΠΙΚΟΙΝΩΝΙΑΣ

- Συνέντευξη στην εφημερίδα Real News για άρθρο με τίτλο «Τα κουνούπια θα τσιμπάνε και τον χειμώνα». Φύλλο εφημερίδας στις 2/12/2012.
- Συνέντευξη στην εφημερίδα Real News για άρθρο με τίτλο «Συναγερμός για το κουνούπι τίγρης». Φύλλο εφημερίδας στις 14/7/2013.
- Σειρά επιστημονικών άρθρων με τίτλο «Ασιατικό κουνούπι τίγρης» στην ιστοσελίδα www.Conops.gr που δημιουργήθηκε στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος Life+ - Life Conops (επιστημονικός υπεύθυνος Δρ. Α. Μιχαηλάκης).

ΚΡΙΣΕΙΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ ΔΙΕΘΝΩΝ ΠΕΡΙΟΔΙΚΩΝ

- Journal of Vector Ecology (I.F.= 1.227 for 2012) (1 άρθρο το 2013)
- International Journal of Environmental Research and Public Health – Special Issue "Epidemiology of West Nile Virus" (I.F.= 1.998 for 2012) (1 άρθρο το 2013)
- Acta Tropica (I.F.= 2.787 for 2012) (1 άρθρο το 2014)
- Toxicological and Environmental Chemistry (1 άρθρο το 2014)
- Austral Entomology (I.F.= 0.884 for 2012) (1 άρθρο το 2014)

ΠΡΟΣΚΕΚΛΗΜΕΝΟΣ ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ/ΗΜΕΡΙΑΔΕΣ

Γιατρόπουλος Α. (2013). Κουνούπια-διαβιβαστές του ιού του Δυτικού Νείλου και η αντιμετώπισή τους. Επιστημονική ημερίδα με θέμα «Ιός του Δυτικού Νείλου». Διοργάνωση: HelMSIC (Ελληνική Επιτροπή Διεθνών Σχέσεων Φοιτητών Ιατρικής), Γενική Δ/ση Δημόσιας Υγείας και Κοινωνικής Μέριμνας Περιφέρειας Δυτικής Ελλάδας, Εργαστήριο Υγιεινής Ιατρικής Πατρών, 24 Μαΐου 2013, Πάτρα.

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

Αγγλικά : First certificate in English (University of Cambridge)

ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΙ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΕΣ

- Κατοχή Διπλώματος της E.C.D.L. στις ενότητες Windows, Internet, Word, Excel, Power point.
- Χειρισμός του προγράμματος επεξεργασίας βιβλιογραφίας EndNote X4.

ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΑ ΠΑΚΕΤΑ

Χειρισμός στατιστικού πακέτου SPSS: Ανάλυση παραλλακτικότητας, συγκρίσεις μέσω των τιμών με παραμετρικά και μη-παραμετρικά τεστ, Probit ανάλυση.

ΜΕΛΟΣ ΣΕ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΤΑΙΡΕΙΕΣ

- Μέλος της Εντομολογικής Εταιρείας Ελλάδος (E.E.E.)
- Μέλος της Εντομολογικής Εταιρείας Αμερικής (Entomological Society of America – E.S.A)
- Μέλος της Διεθνούς Εταιρείας για την Οικολογία των Διαβιβαστών (Society for Vector Ecology – S.O.V.E.)
- Μέλος του InfraVec (Ευρωπαϊκό δίκτυο ερευνητικών υποδομών και τεχνογνωσίας για την καταπολέμηση αρthropόδων-φορέων)
- Μέλος του Γεωτεχνικού Επιμελητηρίου Ελλάδος (ΓΕΩΤ.Ε.Ε.)
- Μέλος του Συλλόγου Εργαζομένων Μπεννακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου (Σ.Ε.Μ.Φ.Ι.)