

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΦΥΣΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ
ΟΥΣΙΩΝ ΣΕ ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ ΔΙΠΤΕΡΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ CULICIDAE**

Πτυχιακή εργασία
του σπουδαστή Γεωργίου Ζημηχέρη

Καλαμάτα, Σεπτέμβριος 2005

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΦΥΣΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ
ΟΥΣΙΩΝ ΣΕ ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ ΔΙΠΤΕΡΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ CULICIDAE**

Πτυχιακή εργασία
του σπουδαστή Γεωργίου Ζημηερή

Καλαμάτα, Σεπτέμβριος 2005

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ (Τ.Ε.Ι.)
ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΩΝ ΒΙΟΛΟΓΙΚΩΝ ΙΔΙΟΤΗΤΩΝ ΔΙΑΦΟΡΩΝ ΦΥΣΙΚΗΣ ΠΡΟΕΛΕΥΣΗΣ
ΟΥΣΙΩΝ ΣΕ ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ ΔΙΠΤΕΡΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ CULICIDAE**

Πτυχιακή εργασία
του σπουδαστή **Γεωργίου Ζημηερί**

Επιβλέπων Καθηγητής: Δρ. Σταθός Γεώργιος
Επίκουρος Καθηγητής

Καλαμάτα, Σεπτέμβριος 2005

*Αφιερώνεται στην οικογένεια μου
και ιδιαίτερα στον παππού μου,
Γιώργο*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του τμήματος Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων και Φυτοφαρμακευτικής του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω τους εξής:

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

Ευχαριστώ τον κ. Κολιόπουλο Γεώργιο, Γεωπόνου του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου και υπεύθυνο του Εργαστηρίου, για την καθοδήγηση και για παρακολούθηση της πτυχιακής μου μελέτης σε όλα τα στάδια.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Μιχαηλάκη Αντώνη, Γεωπόνου του Εργαστηρίου Οργανικής και Βιοοργανικής Χημείας του Ε.Κ.Ε.Φ.Ε. «Δημόκριτος», για τις πολύτιμες συμβουλές πάνω στα χημικά μέρη του πειράματος και για τη σημαντική βοήθειά του στην στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Ευχαριστώ τον κ. Κιούλο Ηλία Γεωπόνου (Εντομολόγο) εργαζόμενο στο τμήμα Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων και Φυτοφαρμακευτικής του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.

Το Δρ. Σταθά Γεώργιο, Επίκουρο Καθηγητή του Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας, για την ανάληψη παρακολούθησης της πτυχιακής μου μελέτης, καθώς και για τις εύστοχες υποδείξεις του και συμβουλές για τη συγγραφή και την τελική παρουσίαση της εργασίας αυτής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ τον κ. Στάθη Ιωάννη, τεχνικό βοηθό του εργαστηρίου, που μου εμπιστεύτηκε την εκτροφή των κουνουπιών *Culex pipiens* biotype *molestus* και μου παραχώρησε το εντομολογικό υλικό που χρειάστηκε για τη διεξαγωγή των πειραμάτων. Χωρίς αυτά τίποτα δεν θα είχε γίνει πράξη.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	IV
ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	1
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	2

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

1. ΤΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ ΚΑΙ Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΤΟΥΣ ΣΗΜΑΣΙΑ

1.1. Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ.....	5
1.2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ - ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ	8
1.2.1. Ωό	10
1.2.2. Προνύμφη.....	10
1.2.3. Νύμφη.....	12
1.2.4. Ακμαίο	13

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

2.1. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ.....	16
2.1.1. Περιορισμός των εστιών ανάπτυξης	16
2.1.2. Βιολογική καταπολέμηση	17
2.1.3. Χημική καταπολέμηση	18
2.2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΑΚΜΑΙΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ.....	19
2.2.1. Υπολειμματικοί ψεκασμοί	19
2.2.2. Ψεκασμοί ανοικτών χώρων.....	20
2.2.3. Καπνισμοί εσωτερικών χώρων.....	20
2.3. ΑΤΟΜΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ	21

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

3. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

3.1. ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ ΣΤΑ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ.....	24
3.2. ΔΙΑΠΙΣΤΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	25
3.3. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	26
3.3.1. Μέτρα για την αποφυγή ή καθυστέρηση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας.....	27
3.3.2. Μέτρα για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας που έχει ήδη αναπτυχθεί.....	27
3.3.3. Νέες στρατηγικές για την καταπολέμηση της ανθεκτικότητας.....	28

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	33
------------------------	----

4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

4.1. ΓΕΝΙΚΑ.....	34
4.2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ.....	35
4.2.1. Παράγωγα σικονίνης - αλκαννίνης.....	35
4.2.2. Άλλες χημικές ουσίες.....	38
4.2.2.1. Φαινόλες.....	38
4.2.2.2. Βενζυλ- αλκοόλες (benzyl- alcohol).....	39
4.2.2.3. Βενζυλ- αλδεΐδες (benzyl- aldehyde).....	39
4.2.2.4. Βενζοϊκό οξύ και τα παράγωγα του.....	39
4.3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	40
4.3.1. Παράγωγα σικονίνης - αλκαννίνης.....	40
4.3.2. Άλλες χημικές ουσίες.....	41

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

5. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ

5.1 ΕΚΤΡΟΦΗ.....	44
5.1.1 Ωά.....	44
5.1.2. Προνύμφες.....	44
5.1.3. Νύμφες.....	45
5.1.4. Ακμαία.....	45
5.2. ΠΕΙΡΑΜΑ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΙΑΣ.....	46
5.2.1. Υλικά.....	46
5.2.2. Μέθοδος βιοδοκιμής.....	47
5.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	48
5.3.1. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης της μονοσκέτυλο- και της τριακέτυλο-σικονίνης.....	48
5.3.2. Βιοδοκιμή προνυμφοκτόνου δράσης της πεντακέτυλο- σικονίνης.....	50
5.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	51

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

6. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΩΣ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΑ

6.1. ΠΕΙΡΑΜΑ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΙΑΣ.....	52
6.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	52
6.2.1. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης ουσιών που ανήκουν στην ομάδα των φαινολών.....	53
6.2.2. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης ουσιών που ανήκουν στην ομάδα των βενζυλ- αλκοολών.....	55
6.2.3. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης ουσιών που ανήκουν στην ομάδα των βενζυλ- αλδεΐδων.....	56
6.2.4. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης ουσιών που ανήκουν στην ομάδα του βενζοϊκού οξέος και των παραγώγων του.....	57
6.3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ.....	59

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	60
-------------------	----

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

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

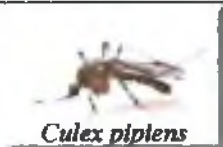








Τα Δίπτερα ταξινομικά διαιρούνται σε δύο μεγάλες υποτάξεις τα Nematocera και τα Brachycera. Η ονομασία των υποτάξεων οφείλεται στην κατασκευή και μορφολογία των κεραιών. Τα Brachycera, ανάλογα με τον τρόπο ανοίγματος του νυμφικού περιβλήματος κατά την έξοδο του ακμαίου, χωρίζονται σε δύο αθροίσματα τα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

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

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

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

ΠΙΝΑΚΑΣ Ε.1. Σημαντικότερες οικογένειες Διπτέρων υγειονομικής σημασίας.

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

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

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

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

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

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

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

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ

1. ΤΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ ΚΑΙ Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΤΟΥΣ ΣΗΜΑΣΙΑ

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

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

1.1. Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

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

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

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

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

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

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

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

Ο ιός του Κίτρινου Πυρετού του γένους *Flavivirus* (οικ. *Flaviridae*) μεταδίδεται με δύο διαφορετικούς κύκλους, τον αστικό και το δασικό. Ο αστικός κύκλος έχει τον άνθρωπο ως υποδόχο και το κουνούπι *Aedes aegypti* ως ενδιάμεσο ξενιστή. Ο δασικός κύκλος έχει υποδόχα πιθήκους και ως ενδιάμεσους ξενιστές κουνούπια, που ανήκουν στα γένη *Aedes*, *Haemagogus* και *Sabethes*.

Η γεωγραφική κατανομή του κίτρινου πυρετού περιορίζεται σε χώρες της Αφρικής, όπου μεταδίδεται και με τους δύο κύκλους και της Νότιας Αμερικής, όπου μεταδίδεται σχεδόν αποκλειστικά με το δασικό κύκλο. Η μετάδοση του κίτρινου πυρετού με τις παρούσες συνθήκες στην Ελλάδα δεν είναι δυνατή. Ο μοναδικός ενδιάμεσος ξενιστής της λοίμωξης, το είδος *Aedes aegypti*, φαίνεται ότι απουσιάζει από τις αρχές της δεκαετίας του '50, κυρίως ως αποτέλεσμα της ανθελονοσιακής εκστρατείας κατά των ανωφελών με DDT².

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

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

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

Τα κουνούπια του γένους *Aedes* περιλαμβάνουν είδη τα οποία είναι ενδιάμεσοι ξενιστές της φιλαρίασης και των ιογενών εγκεφαλιτιδων. Ως ενδιάμεσοι ξενιστές της φιλαρίασης λειτουργούν και ορισμένα είδη του γένους *Culex*.

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

Εκτός από τη μετάδοση των ανωτέρων ασθενειών, τα κουνούπια είναι δυνατόν να προκαλέσουν σημαντικές οικονομικές απώλειες, μόνο και μόνο με την ενόχληση που προκαλούν, με αποτέλεσμα την υποβάθμιση τουριστικών, αστικών και αγροτικών περιοχών. Για το λόγο αυτό, σε ορισμένες αναπτυγμένες χώρες (Η.Π.Α., Γερμανία, Γαλλία) έχουν δημιουργηθεί τοπικοί κυρίως οργανισμοί με αποκλειστικό σκοπό την καταπολέμηση των κουνουπιών. Τα τελευταία χρόνια τέτοιοι οργανισμοί έχουν συσταθεί και στην Ελλάδα σε περιοχές, όπου η ενόχληση από τα κουνούπια είχε φτάσει στα όρια της απόγνωσης. Τέτοιες περιοχές είναι ο κάμπος των Σερρών, η πεδιάδα της Θεσσαλονίκης (στις εκβολές των ποταμών Αξιού, Λουδία και Γαλλικού) και η πεδιάδα του Σπερχειού, στις οποίες υπάρχουν εκτεταμένες εκτάσεις ορυζοκαλλιέργειών, που προσφέρουν άριστες συνθήκες για την αναπαραγωγή των κουνουπιών, με αποτέλεσμα να παρατηρούνται εξαιρετικά μεγάλοι πληθυσμοί τους θερμούς μήνες του έτους.

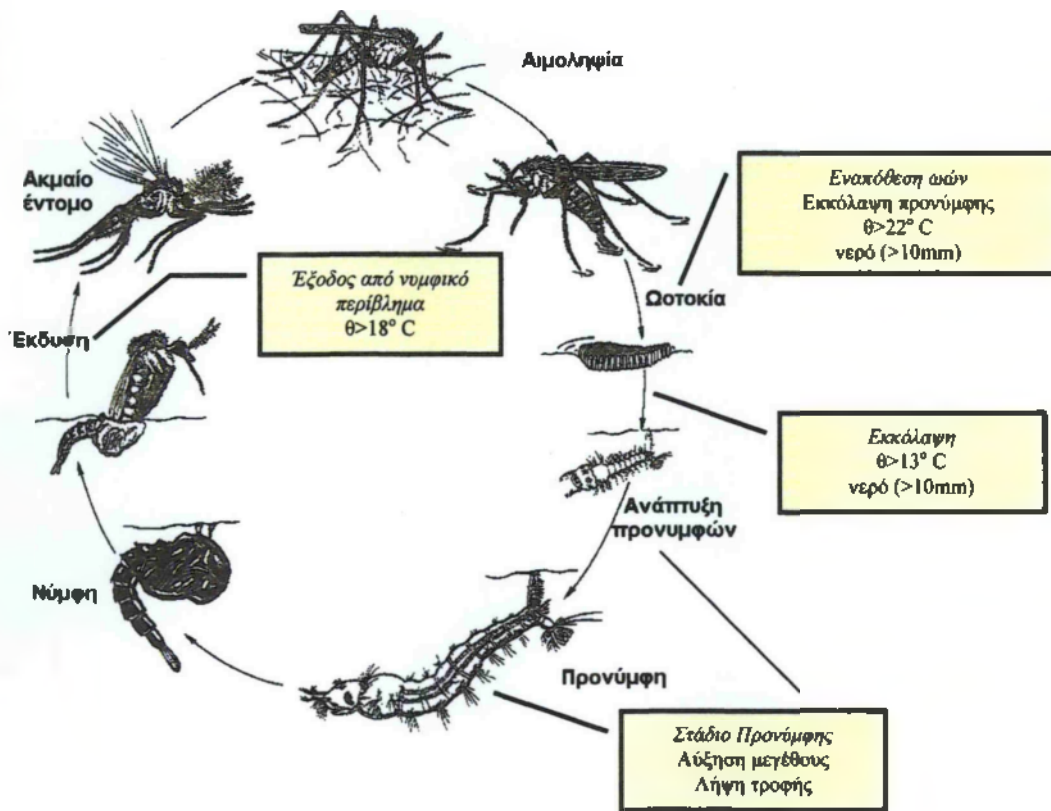
1.2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ - ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ

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

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

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

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



ΕΙΚΟΝΑ 1.1. Βιολογικός κύκλος κουνουπιού.



ΕΙΚΟΝΑ 1.2. Πιθανές εστίες ανάπτυξης ατελών σταδίων κουνουπιών.

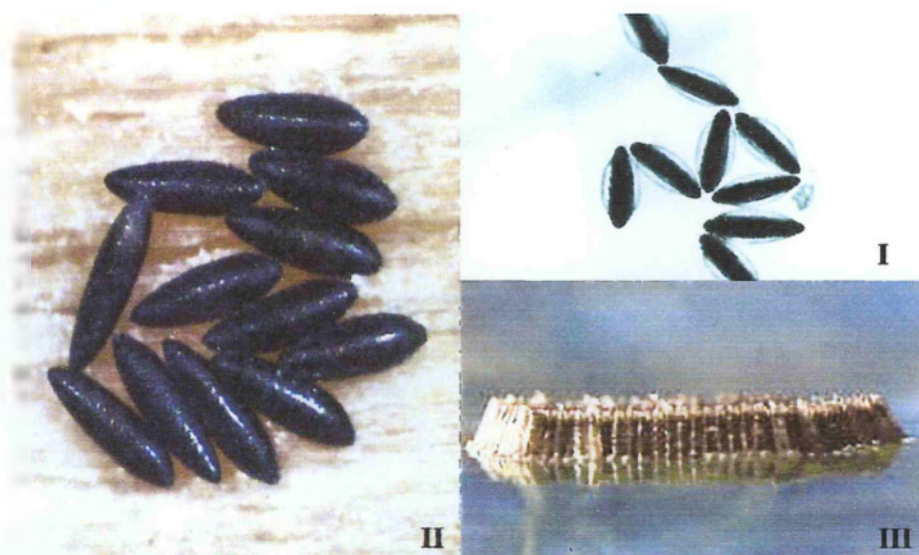
Με βάση τα σημεία όπου αναζητούν τον ξενιστή τους τα διακρίνουμε σε οικοδίαιτα (προτιμούν τα σπίτια για αναζήτηση ξενιστή) ή αγροδίαιτα (τα συναντάμε στην ύπαιθρο), σε ενδόφιλα και εξώφιλα (προτιμούν εσωτερικούς ή εξωτερικούς χώρους, αντίστοιχα, για την ανάπαυσή τους μετά την αιμοληψία ή κατά την διάρκεια της ημέρας).

Τέλος, ανάλογα με το μέγεθος του χώρου που χρειάζονται για την πτήση και τη σύζευξη διακρίνονται σε στενόγαμα και ευρύγαμα και με βάση το χρόνο δραστηριοποίησης τους σε νυκτόβια και ημερόβια είδη.

1.2.1. Ωό

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

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



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

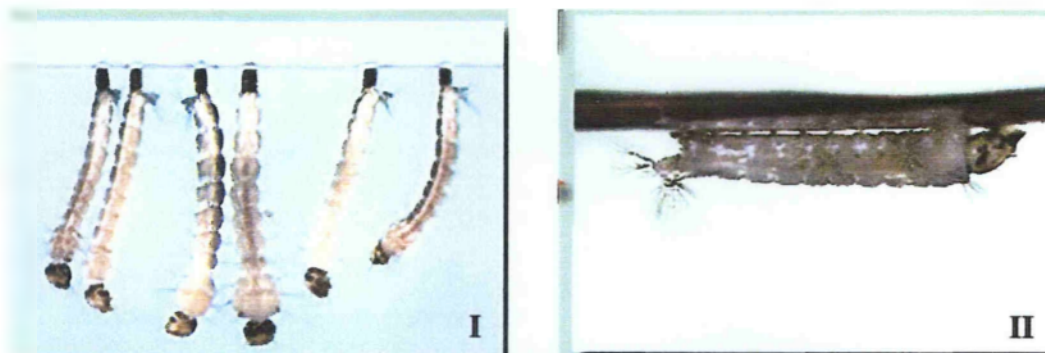
1.2.2. Προνύμφη

Τα ωά των Culicidae συχνά δίδουν προνύμφες εντός 48 ωρών. Οι προνύμφες είναι πάντα υδρόβιες, παρουσιάζουν γρήγορη κίνηση με χαρακτηριστικό στριφογύρισμα της κοιλιάς. Ενδέχεται όμως να κινηθούν αργά εμπρός με την

κεφαλή, χρησιμοποιώντας σαν έλικα τις στοματικές ψήκτρες. Οι ίδιες ψήκτρες είναι που οδηγούν το νερό στην στοματική κοιλότητα, προκειμένου οι προνύμφες να τραφούν με άλγη, πρωτόζωα και σωματίδια οργανικής ύλης. Οι προνύμφες είναι το μοναδικό στάδιο στο νερό που τρέφεται και αυξάνεται σε μέγεθος.

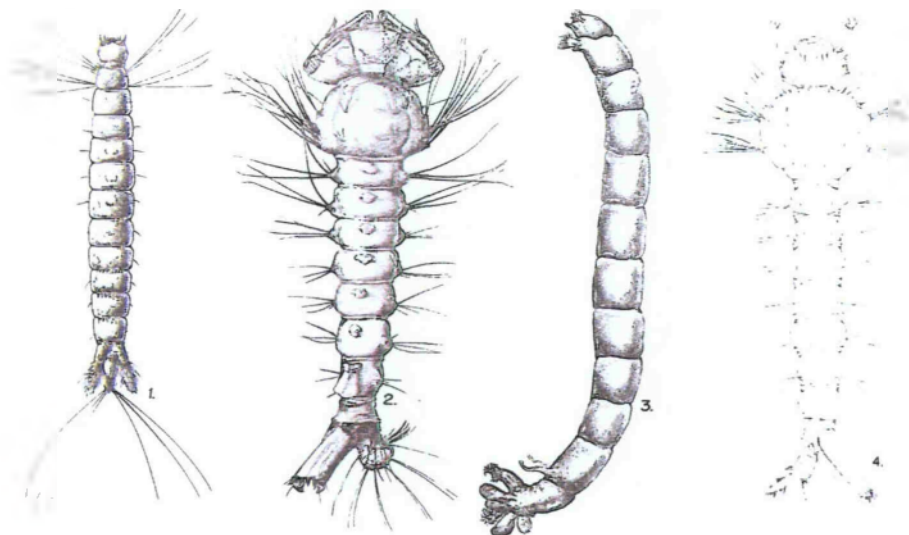
Οι προνύμφες όλων των γενών εκτός του γένους *Anopheles* φέρουν στο 8^ο κοιλιακό τμήμα ένα αναπνευστικό σιφώνιο από το οποίο και αναπνέουν. Λόγω της ύπαρξης αυτού του σιφωνίου στο σώμα της, η προνύμφη σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια του νερού. Στα είδη του γένους *Anopheles*, όπου το σιφώνιο δεν υπάρχει,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

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



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

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



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

1.2.3. Νύμφη

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

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



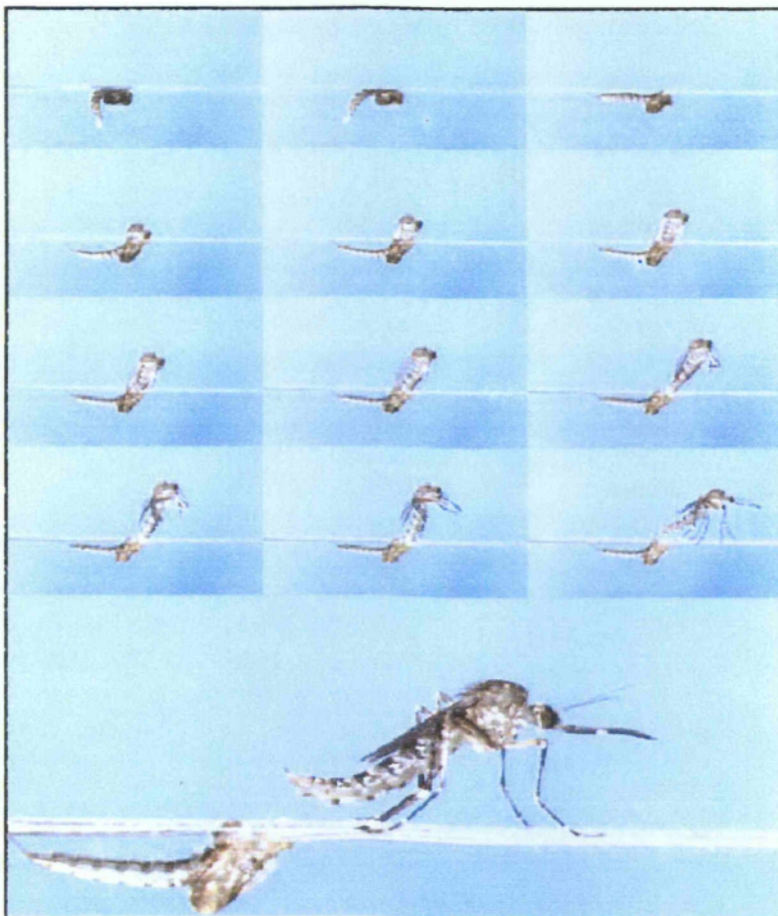
ΕΙΚΟΝΑ 1.6. Νύμφες κουνουπιών: (I) του γένους *Culex* και (II) του γένους *Anopheles*.

Η διάρκεια του νυμφικού σταδίου είναι 1-3 ημέρες, αλλά στο σύντομο αυτό χρονικό διάστημα γίνονται σημαντικές αλλαγές στο εσωτερικό τους με πλήρη

αποδόμηση των προνυμφικών ιστών και αναδόμηση του ακμαίου ατόμου (ΕΙΚΟΝΑ 1.7.).

1.2.4. Ακμαίο

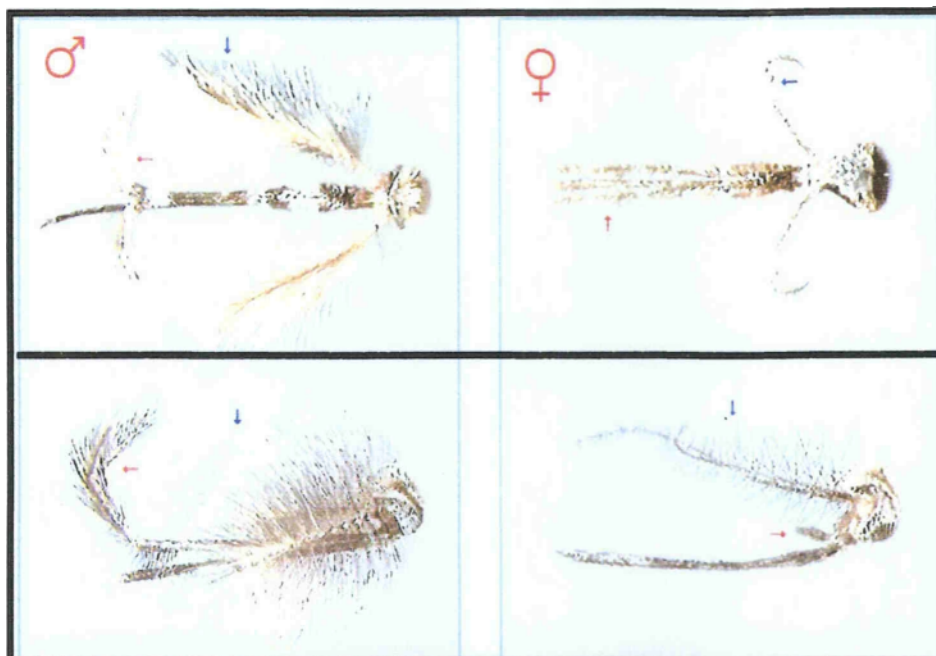
Τα τέλεια έντομα είναι σχετικώς μικρά (μήκος 3-6mm σπανίως έως 9 mm), με σώμα λεπτό και μακριά πόδια. Η κοιλιά είναι μακριά και λεπτή, οι πτέρυγες λεπτές, διαφανείς με χαρακτηριστική νεύρωση και με λείπια στα νεύρα και στην περιφέρεια, η οποία φέρει σμήριγγες που σχηματίζουν «κροσσό». Οι κεραίες στα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



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

Τα τέλεια άτομα ειδών του γένους *Anopheles* είναι σχετικώς μεγάλου μεγέθους, το σώμα τους σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια που κάθονται, έχουν κυκλικό θυρεό και πολύ κυρτή προβοσκίδα με περίπου ισομήκεις γναθικές με αυτή προσακτρίδες και στα δύο φύλλα. Στα περισσότερα είδη των κοινών κουνουπιών οι

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



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

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

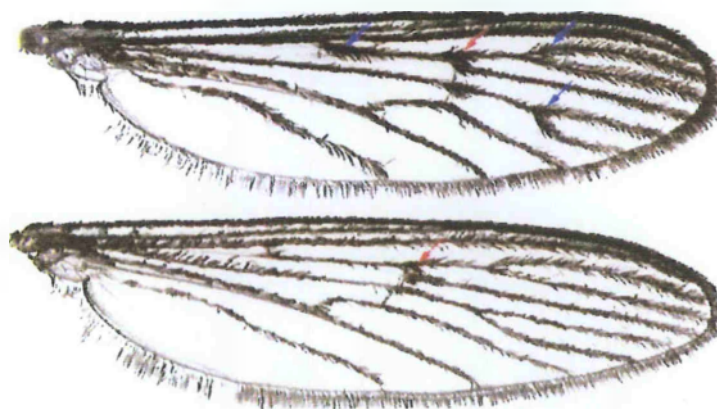
Η ποσότητα του αίματος που απομυζά ένα θηλυκό κουνούπι κυμαίνεται συνήθως από 2-5 mg. Το κουνούπι του κίτρινου πυρετού (*Ae. aegypti*) είναι ικανό να πάρει 4 mg, πολλά ανωφελή ικανοποιούνται με 1-2,5 mg, ενώ ορισμένα άλλα έχουν χωρητικότητα για 6-10 mg (*Culiseta annulata*, *Culex quinquefasciatus*,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

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

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

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

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



ΕΙΚΟΝΑ 1.9. Πτέρυγα κουνουπιού. Το 3^ο νεύρο της πτέρυγας (κόκκινο βέλος) ανάμεσα σε δύο διακλαδισόμενα (μπλε βέλος).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

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

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

2.1. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ

2.1.1. Περιορισμός των εστιών ανάπτυξης

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

Εάν το πρόβλημα είναι μεγάλο θα πρέπει να εξεταστεί η δυνατότητα αποστράγγισης ορισμένων εκτάσεων, ενώ μικρές κοιλότητες του εδάφους θα μπορούσαν να επιχωματωθούν.

Εκτός όμως από την πιο πάνω περίπτωση θα πρέπει να έχουμε υπόψη ότι και μικρές συγκεντρώσεις νερού αποτελούν συχνά σημαντικές εστίες ανάπτυξης κουνουπιών, ιδίως των κοινών. Τέτοιες εστίες είναι το νερό που συγκεντρώνεται σε βαρέλια ή άλλα δοχεία, σε στέρνες ή ανοικτές δεξαμενές, κάτω από σχάρες

συλλογής νερών, σε παλιά ελαστικά αυτοκινήτων και άλλες εστίες που συχνά συμβαίνει να βρίσκονται μέσα στις αστικές περιοχές.

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

2.1.2. Βιολογική καταπολέμηση

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

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

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

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

2.1.3. Χημική καταπολέμηση

Η χρήση βιοκτόνων είναι αποτελεσματικό μέτρο και δίνει άμεσα αποτελέσματα, αλλά θα πρέπει πάντα να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη η χρήση για την οποία προορίζεται το νερό των εστιών.

Σε εστίες που υπάρχουν ψάρια θα πρέπει να εφαρμοστεί η χαμηλότερη δυνατή δόση, ιδίως όταν ψεκάσουμε με πυρεθρινοειδή, τα οποία είναι ιδιαίτερα τοξικά για τα ψάρια.

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

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1. Βιοκτόνα κατάλληλα για καταπολέμηση των προνυμφών των κουνουπιών.

Δρών συστατικό	Δόση (g a.i./str) ³	Διάρκεια δράσης (εβδομαδιαία)	Τοξικότητα LD ₅₀ από στόμα (mg/kg ζωντ. βαρ.)
chlorpyrifos	1,1-2,5	3-17	135
deltamethrin	0,25-1	1-3	135
fenitrothion	10-100	1-3	503
fenthion	2,2-11,2	2-4	586
malathion	22,4-100	1-2	2100
permethrin	0,5-1	5-10	500
pirimiphos-methyl	5-50	1-11	2018
temephos	5,6-11,2	2-4	8600
Bacillus thuringiensis var. israelensis	ανάλογα το σκεύασμα	1-2	>30000
Bacillus sphaericus	ανάλογα το σκεύασμα	1-2	>5000

Βιοκτόνα κατάλληλα για την καταπολέμηση των προνυμφών των κουνουπιών, σύμφωνα με τα στοιχεία της Παγκόσμιας Οργάνωσης Υγείας και τις εγκρίσεις

³ Γραμμάρια δραστικής ουσίας ανά στρέμμα.

κυκλοφορίας στη Χώρα μας για υγειονομική ή γεωργική χρήση, είναι εκείνα που περιέχουν ένα από τα δρώντα συστατικά που αναφέρονται στον παραπάνω πίνακα (ΠΙΝΑΚΑΣ 2.1.).

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

2.2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΑΚΜΑΙΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ

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

2.2.1. Υπολειμματικοί ψεκασμοί

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

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

Στους πίνακες 2.2. και 2.3. αναφέρονται ορισμένα από τα βιοκτόνα που προτείνει η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας, ως κατάλληλα για την καταπολέμηση των τελείων μορφών των κουνουπιών.

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.2. Βιοκτόνα κατάλληλα για υπολειμματικούς ψεκασμούς επιφανειών.

Δρων συστατικό	Δόση (g a.i./m ²)	Διάρκεια δράσης (μήνες)	Τοξικότητα LD ₅₀ από στόμα (mg/kg ζωντ. βαρ.)
bendiocarb	0,4	2-3	55
cypermethrin	0,5	≥4	250
deltamethrin	0,05	2-3	135
fenitrothipon	1-2	≥3	503
malathion	1-2	2-3	2100
permethrin	0,5	2-3	500
pirimiphos-methyl	1-2	2-3	2018
propoxur	1-2	2-3	95

2.2.2. Ψεκασμοί ανοικτών χώρων

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

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

2.2.3. Καπνισμοί εσωτερικών χώρων

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

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

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

ΠΙΝΑΚΑΣ 2.3. Βιοκτίνα κατάλληλα για ψεκασμούς ανοικτών χώρων.

Δρων συστατικό	Δόση (g a.i./str).		Τοξικότητα LD ₅₀ από στόμα (mg/kg ζωντ. βαρ.)
	Ψυχρό αερόλυμα	Θερμός ατμός	
bioresmethrin	5-10	20-30	7000
chlorpyrifos	10-40	150-200	135
deltamehtrin	0,5-1,0	-	>2940 ⁴
dichlorvos	56-280	200-300	56
fenitrothion	250-300	270-300	503
fenthion	112	-	330
malathion	112-693	500-600	2100
permethrin	5-10	-	>4000 ⁵
pirimiphos-methyl	230-330	180-200	2018
propruxur	53-75	-	95

2.3. ΑΤΟΜΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ

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

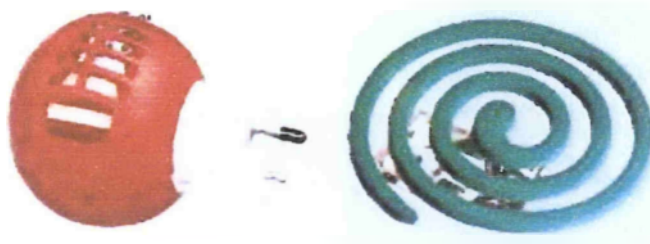
Τα πιο κοινά μέσα που χρησιμοποιούν σήμερα οι άνθρωποι για να προστατεύονται από τα κουνούπια σε υπαίθριους χώρους είναι τα εντομοαπωθητικά που εφαρμόζονται απευθείας πάνω στο δέρμα και τα σπιράλ.

Τα περισσότερα εντομοαπωθητικά επάλειψης που χρησιμοποιούνται σήμερα περιέχουν μία συνθετική ουσία, που είναι ευρέως γνωστή με το όνομα DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide). Η ουσία αυτή είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική, αποτρέποντας τα τσιμπήματα από μια πληθώρα εντόμων όπως κουνούπια, μύγες, ψύλλοι και τσιμπούρια. Τα εντομοαπωθητικά τύπου σπιράλ («φιδάκια») περιέχουν

⁴ Οξεία από δέρματος τοξικότητα (LD₅₀ mg/kg ζώντος βάρους)

⁵ Οξεία από δέρματος τοξικότητα (LD₅₀ mg/kg ζώντος βάρους)

εντομοκτόνα από πυρεθρίνες σε ποσοστό 0,3-0,4% κατά βάρος, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά τους είναι ουσίες που έχουν την ιδιότητα να καίγονται αργά και χωρίς φλόγα δημιουργώντας καπνό. Παρά το γεγονός ότι οι φυτικές πυρεθρίνες είναι σχετικά μη τοξικές για τον άνθρωπο, οι επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία από τη καύση των υπολοίπων συστατικών (>99% του προϊόντος), δεν έχουν ακόμα διευκρινιστεί (ΕΙΚΟΝΑ 2.1.)



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

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

3. ΓΕΝΙΚΑ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

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

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

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

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

Τα στοιχεία αυτά αφορούν είδη στα οποία η ανθεκτικότητα έχει αποδειχθεί πειραματικά, έπειτα από σχετική έρευνα και ως εκ τούτου θεωρείται βέβαιο ότι στην πραγματικότητα τα είδη που έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα είναι πολύ περισσότερα από τα καταγεγραμμένα.

3.1. ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ ΣΤΑ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ

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

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

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

Πολυδύναμη ή έμμεση ή διασταυρούμενη ανθεκτικότητα (cross-resistance) ονομάζεται το φαινόμενο της ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε δύο ή περισσότερες δραστικές ουσίες, που συνήθως έχουν τον ίδιο τρόπο δράσης, ως αποτέλεσμα της έκθεσης του πληθυσμού σε μια μόνο από αυτές. Αυτό οφείλεται στην επιλογή ενός βιοχημικού ή φυσιολογικού μηχανισμού ανθεκτικότητας, ο οποίος παρεμποδίζει τη δράση μιας ολόκληρης ομάδας συγγενών ουσιών που συνήθως, όπως ειπώθηκε, έχουν τον ίδιο τρόπο δράσης.

Οι ομάδες εντομοκτόνων στις οποίες συνήθως εμφανίζεται η πολυδύναμη ανθεκτικότητα είναι: χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες (DDT, κ.α.), κυκλοδιένια (dieldrin, aldrin, BHC, κ.α.), οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά, και πυρεθρινοειδή.

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

3.2. ΔΙΑΠΙΣΤΩΣΗ ΚΑΙ ΕΠΙΠΤΩΣΕΙΣ ΤΟΥ ΦΑΙΝΟΜΕΝΟΥ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

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

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

Όταν σε μετρήσεις ευαισθησίας σε κάποιο παρασιτοκτόνο, διαφόρων γενεών ενός αρθροπόδου, εμφανίζεται μετατόπιση του επιπέδου ευαισθησίας σε υψηλότερες δόσεις ή παρατηρείται αλλαγή του εύρους ευαισθησίας, τότε λέμε ότι έχουμε ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο συγκεκριμένο πληθυσμό.

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

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

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

➤ Οι τοξικολογικές επιπτώσεις, δηλαδή η αύξηση των υπολειμμάτων των παρασιτοκτόνων στα γεωργικά προϊόντα και οι κίνδυνοι δηλητηριάσεων ως συνέπεια

της αύξησης των δόσεων και του αριθμού των επεμβάσεων για την αντιμετώπιση των εχθρών των καλλιεργειών.

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

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

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

Ενδεικτικά σημειώνουμε ότι, ενώ το 1956 η πιθανότητα ανακάλυψης ενός νέου παρασιτοκτόνου ήταν 1:5000 εξεταζόμενες ουσίες, με κόστος των σχετικών ερευνών 1,2 εκατομμύρια δολάρια, το 1975 τα αντίστοιχα ποσά ήταν 1:15000 και το κόστος 13 εκατομμύρια δολάρια και το 1990 η πιθανότητα ήταν μικρότερη από 1:25000, απαιτούνται 7 περίπου χρόνια μελετών πριν εμφανιστεί το νέο παρασιτοκτόνο στην αγορά και το συνολικό κόστος πλησιάζει τα 50 εκατομμύρια δολάρια.

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

3.3. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

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

Παράλληλα θα πρέπει να είμαστε προσεκτικοί και να μην αποδίδουμε σε ανάπτυξη ανθεκτικότητας κάθε αποτυχία καταπολέμησης ή κάθε έξαρση του

πληθυσμού των ανεπιθύμητων αρθροπόδων που μπορεί να συμβεί μετά από μια εφαρμογή παρασιτοκτόνου. Η αποτυχία στην καταπολέμηση μπορεί να οφείλεται σε άσχετους λόγους, όπως σκεύασμα κακής ποιότητας, λανθασμένος υπολογισμός της δόσης, κακή εφαρμογή, κ.λ.π.

Για την αντιμετώπιση αυτής της κατάστασης πρέπει να εξετάσουμε τα μέτρα που μπορούμε ή επιβάλλεται να πάρουμε για να αποφύγουμε, να καθυστερήσουμε ή να αντιμετωπίσουμε την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας⁶.

3.3.1. Μέτρα για την αποφυγή ή καθυστέρηση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας

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

- Μείωση του αριθμού των επεμβάσεων με χημικά παρασιτοκτόνα.
- Αποφυγή εφαρμογής παρασιτοκτόνων σε μεγάλες εκτάσεις.
- Χρησιμοποίηση παρασιτοκτόνων με μικρή υπολειμματική ενέργεια.
- Οι δόσεις να είναι οι χαμηλότερες δυνατές (οπωσδήποτε κάτω από το LD₁₀₀

του ευαίσθητου πληθυσμού).

➤ Εναλλαγή παρασιτοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης ή/και χρησιμοποίηση μειγμάτων παρασιτοκτόνων.

- Να προτιμούνται ακμαιοκτόνα σκευάσματα παρά προνυμφοκτόνα.
- Προστασία και ενίσχυση των φυσικών εχθρών.

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

Τα κυριότερα που εφαρμόζονται είναι:

- Χρησιμοποίηση παρασιτοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης.
- Χρησιμοποίηση συνεργιστικών ουσιών για να αυξήσουμε την

αποτελεσματικότητα των χρησιμοποιούμενων δραστικών ουσιών.

⁶ Για την πρόληψη ή τον περιορισμό φαινομένων ανθεκτικότητας στα νέα μόρια, έχει ιδιαίτερη σημασία η εκτίμηση του κινδύνου ανάπτυξης ανθεκτικότητας πριν τη χορήγηση έγκρισης κυκλοφορίας τους και η επιβολή σχετικών περιορισμών στη χρήση τους, καθώς και η τακτική παρακολούθηση των αγρών (monitoring) για έγκαιρη διάγνωση τυχόν ανθεκτικών πληθυσμών και η άμεση εφαρμογή των κατάλληλων στρατηγικών για την αντιμετώπιση του προβλήματος. Τα μέτρα αυτά προβλέπονται και από την ισχύουσα σήμερα και στη Χώρα μας κοινοτική νομοθεσία (Οδ. 91/414/ΕΟΚ).

➤ Χρησιμοποίηση διαφορετικής μεθόδου καταπολέμησης, εκτός της χημικής, εφόσον βέβαια υπάρχει για το συγκεκριμένο είδος.

➤ Αν η ανθεκτικότητα είναι ακόμη σε χαμηλά επίπεδα, μπορούμε να εφαρμόσουμε αρκετά υψηλότερες δόσεις παρασιτοκτόνου, ώστε να υπερνικηθούν οι αμυντικοί μηχανισμοί του αρθρόποδου και να θανατωθούν τα "εν δυνάμει" ανθεκτικά άτομα.

➤ Εφαρμόζοντας πολλαπλή επίθεση με μείγματα ουσιών ή εναλλαγή παρασιτοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης.

3.3.3. Νέες στρατηγικές για την καταπολέμηση της ανθεκτικότητας⁷

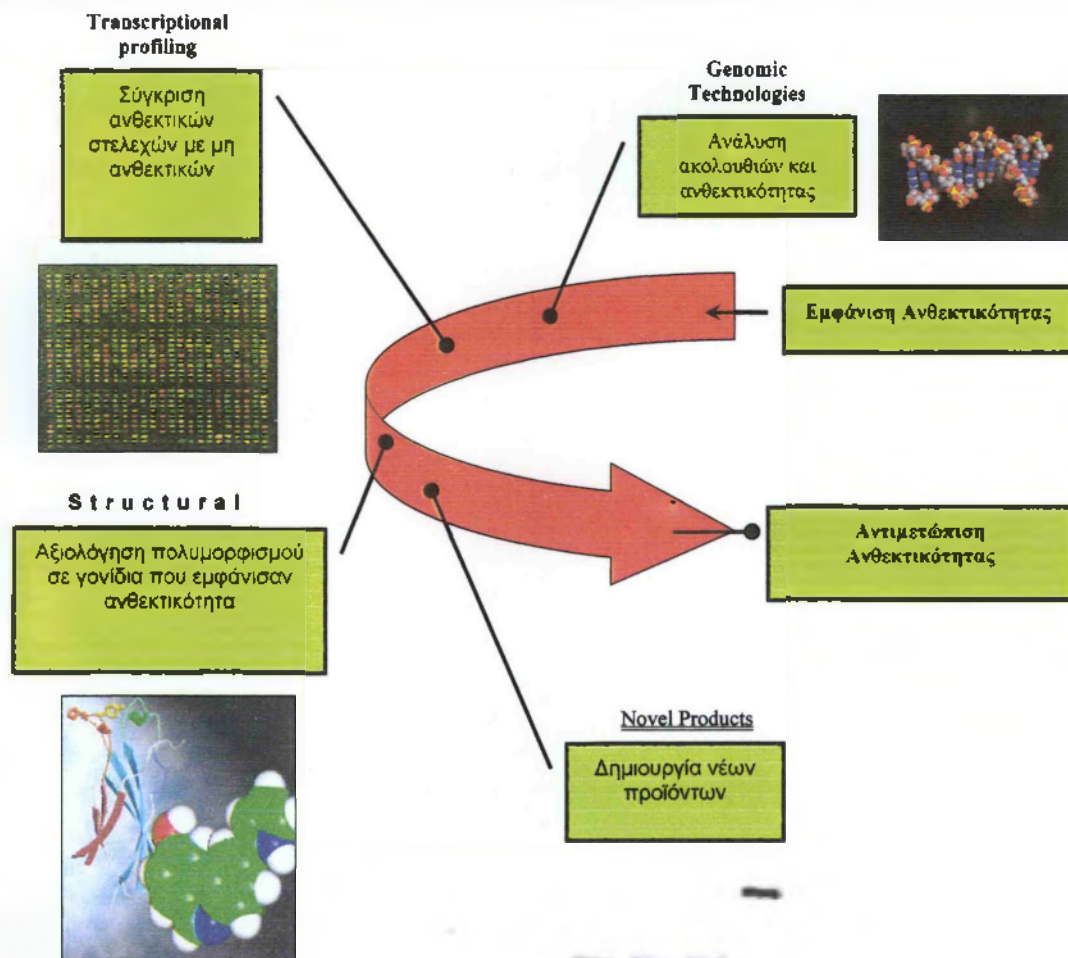
Για να περιορίσουμε τους κινδύνους που προκύπτουν από την ανθεκτικότητα, πρέπει να προσανατολιζόμαστε στην εφαρμογή προγραμμάτων ολοκληρωμένου χειρισμού του κάθε προβλήματος. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση των νέων μεθόδων καταπολέμησης σε συνδυασμό με τις ήδη υπάρχουσες και τον περιορισμό της χημικής καταπολέμησης στον απολύτως αναγκαίο αριθμό επεμβάσεων. Σήμερα έχουμε τη δυνατότητα αντικατάστασης των επικίνδυνων χημικών ουσιών με λιγότερο τοξικά χημικά ή βιολογικά μέσα, τα οποία δρουν αποκλειστικά εναντίον του συγκεκριμένου είδος που θέλουμε να καταπολεμήσουμε και όχι εναντίον άλλων, πιθανώς ωφέλιμων οργανισμών.

Η μεγαλύτερη ανακάλυψη του περασμένου αιώνα είναι αναμφισβήτητα η ανακάλυψη του DNA (deoxyribonucleic acid) πράγμα που έφερε την επανάσταση στο χώρο της βιολογίας, συμπεριλαμβανομένης και της εντομολογίας. Ο τρόπος με τον οποίο το DNA συμμετέχει στη δημιουργία των πρωτεϊνών οδήγησε στην κατανόηση των μηχανισμών της ανάπτυξης και εξέλιξης των εντόμων.

Σημαντική ήταν και η πρόοδος προς την κατεύθυνση της κατανόησης της ανθεκτικότητας. Σε αυτό συνετέλεσε αναμφίβολα η ανάπτυξη των νέων μοριακών τεχνικών της σύγχρονης βιολογίας. Έτσι έχουν μελετηθεί πια σε μεγάλο βαθμό οι μηχανισμοί της ανθεκτικότητας ενώ μέσω των τεχνικών της μοριακής γενετικής μπορούμε να γνωρίζουμε εάν μια περίπτωση ανθεκτικότητας οφείλεται σε μια ή περισσότερες αντικαταστάσεις νουκλεοτιδίων, σε αύξηση των γονιδίων ή σε άλλη αιτία. Με τη χρήση της μοριακής βιολογίας γίνονται σημαντικά βήματα προκειμένου

⁷ Για τη μελέτη και την παροχή βοήθειας για την αντιμετώπιση του φαινομένου της ανθεκτικότητας έχουν συσταθεί δύο διεθνείς επιτροπές: Η FRAC (Fungicides Resistance Action Committee) και η IRAC (Insecticide Resistance Action Committee).

να αντιμετωπιστεί το πρόβλημα αυτό με το σχεδιασμό νέων αποτελεσματικότερων ουσιών (ΕΙΚΟΝΑ 3.1.).



ΕΙΚΟΝΑ 3.1. Ενδεχόμενα βήματα με τη βοήθεια της μοριακής βιολογίας για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας στα κουνούπια (Hemingway et al., 2002).

Εφόσον στις μέρες μας η χρήση των χημικών παρασιτοκτόνων είναι αναπόφευκτη, τόσο για τις αναπτυγμένες όσο και για τις αναπτυσσόμενες χώρες, θα πρέπει προκειμένου να περιορίσουμε τους κινδύνους που προκύπτουν από την ανθεκτικότητα, να προσανατολιζόμαστε στην εφαρμογή προγραμμάτων ολοκληρωμένου χειρισμού του κάθε προβλήματος. Τα ολοκληρωμένα προγράμματα καταπολέμησης (integrated pest management - IPM) έχουν σαν κύριο στόχο τη μείωση των πληθυσμών των κουνουπιών κάτω του ορίου ανεκτικότητας και προσβολής από πλευρά όχλησης και υγειονομικής σημασίας αντίστοιχα.

Η πιο αποτελεσματική μέθοδος χημικής καταπολέμησης των κουνουπιών είναι η προνυμφοκτονία. Οι βιότοποι των προνυμφών των κουνουπιών κατατάσσονται σε

τέσσερις βασικές κατηγορίες: τον αστικό, τον περιαστικό, τον αγροτικό και το φυσικό περιβάλλον. Για κάθε μία από τις παραπάνω κατηγορίες εστιών αναπαραγωγής κουνουπιών απαιτείται ξεχωριστός σχεδιασμός και διαφορετική οργάνωση προκειμένου να επιτευχθεί το επιδιωκόμενο αποτέλεσμα.

Το παραπάνω πρόβλημα μπορεί να αντιμετωπιστεί με τη χρήση των νέων μεθόδων καταπολέμησης σε συνδυασμό με τις ήδη υπάρχουσες και τελικώς τον περιορισμό της χημικής καταπολέμησης στον απολύτως αναγκαίο αριθμό επεμβάσεων. Σήμερα, έχουμε τη δυνατότητα αντικατάστασης των επικίνδυνων χημικών ουσιών με λιγότερο τοξικά χημικά ή βιολογικά μέσα, τα οποία δρουν αποκλειστικά εναντίον του συγκεκριμένου είδος που θέλουμε να καταπολεμήσουμε και όχι εναντίον άλλων, πιθανώς ωφέλιμων, οργανισμών.

Η στρατηγική της «Προσέλκυσης και Εξολόθρευσης» ("Attract and Kill") αποτελεί μία νέα εναλλακτική μέθοδο καταπολέμησης εντόμων. Σύμφωνα με τη στρατηγική αυτή γίνεται χρήση χημικών ουσιών με σκοπό την προσέλκυση των εντόμων στο σημείο που βρίσκεται εστιασμένο το εντομοκτόνο. Στα πλαίσια της νέας αυτής στρατηγικής γίνεται εφαρμογή σημειοχημικών, δηλαδή χημικών ενώσεων που χρησιμοποιούνται για την επικοινωνία οργανισμών που ανήκουν στο ίδιο ή σε διαφορετικά είδη και ονομάζονται αντίστοιχα φερομόνες και αλληλοχημικά. Το κυριότερο πλεονέκτημα των παραπάνω ενώσεων είναι η ελαχιστοποίηση της χρήσης χημικών σκευασμάτων καθώς και έκθεσης σε αυτά οργανισμών μη στόχων. Ένα επιπλέον πλεονέκτημα (που αναλόγως την περίπτωση μπορεί να είναι και μειονέκτημα) είναι η μεγάλη εξειδίκευση ως προς τον οργανισμό στόχο ακόμη και σε επίπεδο είδους (Mori, 2000 και Stetter and Folker, 2000). Η υψηλή πτητική φύση των ενώσεων αυτών όμως, απαιτεί τη δημιουργία σταθερών συστημάτων αποδέσμευσής τους.

Σήμερα, η στενή συνεργασία επιστήμης και τεχνολογίας έχει δώσει ώθηση στην έρευνα και στην παραγωγή φερομονών που επιτρέπει τον εντοπισμό, την παρακολούθηση και την καταπολέμηση των κουνουπιών, παρέχοντας ταυτόχρονα λύσεις βέλτιστης σχέσης κόστους-απόδοσης, οι οποίες δεν ήταν εφικτές στο παρελθόν.

Όπως ήδη έχει προαναφερθεί, η ποικιλομορφία που παρουσιάζει η Χώρα μας από πλευράς κλίματος, πλήθους και ποικιλίας βιοτόπων, αλλά και οι ιδιαιτερότητες της δομής της αγροτικής μας κοινωνίας, καθιστούν σχεδόν αδύνατη την απευθείας εφαρμογή μεθόδων και μέσων καταπολέμησης κουνουπιών από άλλες χώρες. Η

επιτυχία τέτοιων προγραμμάτων εξαρτάται άμεσα από την κατάλληλη προσαρμογή τους στις ελληνικές συνθήκες.

Μετά από τριετή έρευνα του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών σε συνεργασία με το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο επετεύχθη η δημιουργία μιας νέας μεθόδου καταπολέμησης του κοινού ελληνικού κουνουπιού. Η μέθοδος αυτή βασίζεται στην προσέλκυση των εγκυμονούντων κουνουπιών του γένους *Culex* σε προκαθορισμένο χώρο ωοτοκίας. Η προσέλκυση γίνεται με τη χρήση μικροενκαψυλιωμένης φερομόνης ωοθεσίας με μικροκάψουλες πολυουρίας τύπου oil-in-water⁸.

Η μέθοδος αυτή θα μπορούσε να έχει πολλές εφαρμογές όπως τον έλεγχο της παρουσίας ορισμένων σημαντικών ειδών κουνουπιών, την εκτίμηση πληθυσμών τους, καθώς και την εποχιακή διακύμανσή τους (monitoring). Το σύστημα αυτό μπορεί να αποτελέσει τη βάση για ένα «Σύστημα Συναγερμού Παρουσίας Συγκεκριμένων Ειδών Κουνουπιών» που είναι γνωστά ως φορείς επικίνδυνων ασθενειών για τον άνθρωπο και για διάφορα αγροτικά ζώα.

Μία επιπλέον εφαρμογή της μεθόδου αυτής είναι ότι μετά τη προσέλκυση δύναται να επιτευχθεί ταυτόχρονη θανάτωση κουνουπιών στο στάδιο της προνύμφης με τη χρήση οποιουδήποτε, εμπορικά διαθέσιμου, προνυμφοκτόνου. Χαρακτηριστικό της μεθόδου αυτής είναι το γεγονός ότι η τελική ποσότητα που απαιτείται είναι πολύ μικρότερη σε σχέση με την αντίστοιχη της κλασικής χημικής καταπολέμησης. Αυτό συμβαίνει αφενός εξαιτίας της σημειακής χρήσης χημικών, μόνο στους προκαθορισμένους χώρους και αφετέρου επειδή γίνεται καταπολέμηση των κουνουπιών στο ευαίσθητο στάδιο της προνύμφης. Η υψηλή πτητική φύση των ενώσεων αυτών όμως, απαιτεί τη δημιουργία σταθερών συστημάτων αποδέσμευσής τους.

Η εφαρμογή της ολοκληρωμένης καταπολέμησης στην πράξη είναι βέβαια δύσκολη, απαιτεί ειδικές γνώσεις και μπορεί να εφαρμοστεί μόνο ύστερα από συστηματική μελέτη του συγκεκριμένου προβλήματος. Θα πρέπει όμως να προχωρήσουμε χωρίς καθυστέρηση προς την κατεύθυνση αυτή, ειδικά στην περίπτωση της καταπολέμησης των αρθροπόδων υγειονομικής σημασίας, επειδή

⁸ Οι μικροκάψουλες πολυουρίας τύπου oil-in-water ανήκουν στη κατηγορία των Συστημάτων Ελεγχόμενης Αποδέσμευσης (Control Release Systems-CRSs) και η παρασκευή τους επιτυγχάνεται με τη μέθοδο του διεπιφανειακού πολυμερισμού.

στις περιπτώσεις αυτές έχουμε να κάνουμε συνήθως με ευαίσθητα οικοσυστήματα, μεγάλης οικολογικής σημασίας (λίμνες, έλη, ρυάκια) ή οικοσυστήματα που αποτελούν τμήμα του περιβάλλοντος στο οποίο ζει ο άνθρωπος και τα οικιακά ζώα (σπίτια, στάβλοι, κ.λ.π.).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

4. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

4.1. ΓΕΝΙΚΑ

Όπως έχει αναφερθεί στα προηγούμενα κεφάλαια τα τελευταία χρόνια γίνεται μια προσπάθεια στα προγράμματα καταπολέμησης κουνουπιών, αφενός μεν να είναι πιο αποτελεσματικά και αφετέρου πιο φιλικά προς το περιβάλλον, ειδικά, στην περίπτωση καταπολέμησης των αρθροπόδων υγειονομικής σημασίας, όπου έχουμε να κάνουμε με ευαίσθητα οικοσυστήματα, μεγάλης οικολογικής σημασίας ή οικοσυστήματα που αποτελούν τμήμα του περιβάλλοντος, στο οποίο ζει ο άνθρωπος και τα οικιακά ζώα. Συνεπώς γίνεται αντιληπτό πόσο επιζήμια θα ήταν η εφαρμογή της χημικής καταπολέμησης στις συγκεκριμένες περιπτώσεις.

Αυτό μπορεί να αντιμετωπιστεί με την εφαρμογή διαφορετικών μεθόδων καταπολέμησης (βιολογική, προσέλκυση και εξολόθρευση, κ.α.), αλλά και με την ανακάλυψη νέων ουσιών που να λειτουργούν με διαφορετικό τρόπο δράσης, ώστε να αντιμετωπιστεί αποτελεσματικά ο πληθυσμός των εντόμων, ο οποίος μπορεί να έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα στις ήδη εφαρμοζόμενες μεθόδους καταπολέμησης.

Όσο αφορά την καταπολέμηση κουνουπιών στις νέες μεθόδους που προαναφέραμε εντάσσεται και η χρήση φυτικών εκχυλισμάτων ως προσελκυστικά ωθεσίας κουνουπιών, καθώς επίσης και η χρησιμοποίηση αιθέριων ελαίων από φυτά είναι ένας νέος τρόπος αντιμετώπισης των πληθυσμών των κουνουπιών, έναντι της συμβατικής χημικής αντιμετώπισης.

Τα προγράμματα καταπολέμησης κουνουπιών αποτελούν σημαντικό έργο για πολλές περιοχές της Ελλάδος, αφού η επιτυχία τους έχει άμεση επίδραση στην ποιότητα ζωής των κατοίκων, την τουριστική και οικονομική ανάπτυξη και κυρίως την ελαχιστοποίηση της πιθανότητας εκδήλωσης ορισμένων σοβαρών ασθενειών και επιδημιών. Η συνεχής αποτελεσματικότητα τέτοιων προγραμμάτων εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την έρευνα, αξιολόγηση και εφαρμογή νέων εναλλακτικών μεθόδων καταπολέμησης που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ανεξάρτητα ή σε συνδυασμό με τις συμβατικές, ως επί το πλείστον χημικές μεθόδους καταπολέμησης.

Το πειραματικό μέρος χωρίζεται σε δύο κεφάλαια. Στο ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 ως προνυμφοκτόνα κουνουπιών αξιολογούνται τα παράγωγα της σικονίνης – αλκαννίνης, ενώ στο ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6 μελετάται η πιθανό προνυμφοκτόνο δράση χημικών ουσιών, όπου ανήκουν σε διάφορες οργανικές χημικές ενώσεις (φαινόλες, αλδεΐδες και οξέα).

4.2. ΑΝΑΣΚΟΠΗΣΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑΣ

4.2.1. Παράγωγα σικονίνης - αλκαννίνης

Στη διεθνή επιστημονική βιβλιογραφία είναι συχνή η αναφορά της ποικιλόμορφης δράσης τόσο της αλκαννίνης και της σικονίνης όσο και των διαφόρων παραγώγων (ΕΙΚΟΝΑ 4.1.). Γενικά, η αλκαννίνη και η σικονίνη εμφανίζουν όμοια φαρμακολογική δράση και με παρόμοιους δείκτες LD₅₀ και LD₉₅. Μία σημαντική διαφορά παρατηρείται στην τοξικότητα από στοματική χορήγηση, όπου η σικονίνη εμφανίζεται περίπου 3 φορές πιο τοξική σε σχέση με την αλκαννίνη.

Όσο αφορά την προνουμοκτόνο δράση της σικονίνης και των παραγώγων της υπάρχουν μόνο τρεις μελέτες. Πιο συγκεκριμένα, ο Sulaiman et al. (1978) βρήκαν ότι το LC₅₀ για τη σικονίνη και ένα ακόμα παράγωγο της (shikonin angelate) για τις προνύμφες των κουνουπιών του είδους *Aedes aegypti* ήταν οι δόσεις 7 και 14 ppm, αντίστοιχα, και διαπίστωσαν ότι ήταν 5-11 φορές μικρότερες από τις δόσεις άλλων γνωστών προνουμοκτόνων.

Αργότερα, ο Gorgees et al. (1978), με βάση την παραπάνω αναφορά μελέτησαν την επίδραση της σικονίνης σε προνύμφες κουνουπιών *Ae. aegypti* και με βάση τις ιστολογικές αναλύσεις βρήκαν ότι λειτουργεί ως παρεμποδιστής της δράσης της αλκαλικής φωσφατάσης στην επιθηλιακή στοιβάδα του προστόμαχου.



ΕΙΚΟΝΑ 4.1. Τα φυτά των I) *Alkanna tinctoria* πηγή της αλκαννίνης και II) *Lithospermum erythrorizon* η πιο κοινή πηγή της σικονίνης (Papageorgiou et al., 1999).

Αρκετά χρόνια μετά ο Naqvi et al. (1984), μελέτησαν και πάλι τη σικονίνη και την shikonin angelate σε προνύμφες των κουνουπιών του είδους *Ae. aegypti*. Στη

νέα αυτή μελέτη αναφέρονται τα ποσοστά στειρότητας που προκαλούν στα έντομα κάθε μία από τις παραπάνω ουσίες.

Με βάση τις παραπάνω αναφορές και με αφορμή τα αρκετά αναπάντητα ερωτήματα που δημιουργούνταν, το Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας, του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου σχεδίασε και εκτέλεσε μία σειρά πειραμάτων – βιοδοκιμών, με σκοπό την αξιολόγηση βιοδραστικών ναφθοκινονών και των άχρωμων παραγώγων τους⁹, ως προνυμφοκτόνα κουνουπιών. Για το σκοπό αυτό, επιλέχθηκαν διάφορες αναλογίες στις ουσίες αυτές, προκειμένου να επιβεβαιωθεί η υπόθεση αυτή. Οι προνύμφες που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές προέρχονταν από τις εκτροφές του εργαστηρίου και ήταν του είδους *Culex pipiens biotype molestus*.

Οι δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές ήταν η αλκαννίνη 100% και μείγματα αλκαννίνης - σικονίνης. Τα μείγματα αυτά ήταν δύο, αυτό της σικαλκίνης (ρακεμικό μείγμα) και το δεύτερο με αναλογίες σικονίνης:αλκαννίνης 70:30.

Ο δείκτης LD₅₀, για τη σικονίνη σε κουνούπια του είδους *Ae. aegypti* είναι 7 (Sulaiman et al., 1978). Στη περίπτωση των βιοδοκιμών της παρούσας μελέτης δεν έγινε εφαρμογή σικονίνης καθαρότητας 100%. Εντούτοις, η χρήση μειγμάτων αλκαννίνης και σικονίνης έδειξε ότι η εφαρμογή σικονίνης θα έδινε αποτελέσματα τιμών για το δείκτη LD₅₀ μικρότερα από 4,61 ppm (τιμή του δείκτη LD₅₀ για το μείγμα σικονίνη αλκαννίνη 7:3 αντίστοιχα).

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.1. Αποτελέσματα των δεικτών LD₅₀ και LD₉₅ για όλες τις αναλογίες σικονίνης και αλκαννίνης που χρησιμοποιήθηκαν στις παραπάνω βιοδοκιμές.

ΟΝΟΜΑ	ΠΟΣΟΣΤΟ (%)	LD ₅₀	LD ₉₅
ΑΛΚΑΝΝΙΝΗ	100	13,65	25,1
ΣΙΚΟΝΙΝΗ : ΑΛΚΑΝΝΙΝΗ	50 : 50	8,68	18,9
ΣΙΚΟΝΙΝΗ : ΑΛΚΑΝΝΙΝΗ	70 : 30	4,61	10,18

⁹ Στα πλαίσια του προγράμματος ΠΕΝΕΔ (κωδ. 02-0152) με τίτλο «Σύνθεση και αξιολόγηση βιοδραστικών Ναφθοκινονών και άχρωμων παραγώγων τους για εφαρμογή σε επουλωτικά σκευάσματα»

Στον Πίνακα Ε1 συνοψίζονται όλες οι τιμές των δεικτών LD₅₀ και LD₉₅ για όλες τις βιοδοκιμές. Αρχικά, όπου γίνεται χρήση μόνο αλκαννίνης η δόση που θανατώνει το 50% του πληθυσμού (LD₅₀) είναι περίπου 13,5 ppm, ενώ ο αντίστοιχος δείκτης για το 95% (LD₉₅) του πληθυσμού είναι περίπου 25 ppm. Όταν γίνει χρήση μείγματος σικονίνης και αλκαννίνης σε αναλογία 1:1 τότε οι αντίστοιχοι δείκτες είναι αρκετά μειωμένοι δείχνοντας την ισχυρή προνυμφοκτόνο δράση της σικονίνης. Η τελευταία βιοδοκιμή ενισχύει το συμπέρασμα αυτό αφού ο δείκτης LD₅₀ λαμβάνει τιμές κάτω από 5 ppm.

Μία επιπλέον παρατήρηση που έγινε και αφορούσε τη δράση του μείγματος 7:3 είναι το γεγονός ότι ακόμα και μετά το πέρας 7 ημερών από την έναρξη του πειράματος, σε καμία δόση δεν παρατηρήθηκε μεταμόρφωση νύμφης σε ακμαίο. Η δράση αυτή της σικονίνης ομοιάζει με τη γνωστή δράση των ρυθμιστών αύξησης που δρουν εμποδίζοντας τα έντομα να μεταβούν από το ένα στάδιο ανάπτυξης στο άλλο και επομένως διακόπτουν το βιολογικό τους κύκλο. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται και από το γεγονός ότι σε αρκετές νύμφες παρατηρήθηκαν σωματικές ανωμαλίες (ΕΙΚΟΝΑ 4.2.).



ΕΙΚΟΝΑ 4.2. Η εφαρμογή ναφθοκινονών σε προνύμφες κουνουπιών του γένους *Culex* έχει ως κύριο αποτέλεσμα τη θανάτωσή τους. Παράλληλα παρατηρούνται μορφολογικές ανωμαλίες σε νύμφες που δεν θανατώθηκαν στο στάδιο της προνύμφης.

Η χρήση του μείγματος 7:3 έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα ακόμα και στα επίπεδα χαμηλών συγκεντρώσεων. Τα αποτελέσματα αυτά συντέλεσαν στο να ξεπεραστεί το αρχικό πρόβλημα που αφορούσε το απαγορευτικό κόστος παραγωγής καθαρής σικονίνης για πειράματα προνυμφοκτονίας. Το γεγονός αυτό μας επιτρέπει να αντικαταστήσουμε τη σικονίνη με το μείγμα αυτό ως πρώτη ύλη για τη σύνθεση παραγώγων της σικονίνης.

4.2.2. Άλλες χημικές ουσίες

Οι χημικές ουσίες, οι οποίες αξιολογήθηκαν ως πιθανά προνυμφοκτόνα (ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6) ανήκουν σε διάφορες οργανικές χημικές ενώσεις (φαινόλες, αλδεΐδες και οξέα). Η βιβλιογραφική αναφορά που ακολουθεί αφορά μόνο τις εξεταζόμενες χημικές ουσίες.

4.2.2.1. Φαινόλες

Οι φαινόλες είναι άχρωμες στερεές ενώσεις, ως επί το πλείστον κρυσταλλικής μορφής που αποσπάζουν χωρίς να αποσυντίθενται. Πολλές από αυτές έχουν χαρακτηριστική οσμή και αντισηπτική ενέργεια. Τα πρώτα μέλη είναι διαλυτά στο νερό. Έχουν εντονότερα εκφρασμένο τον αρωματικό χαρακτήρα σε σύγκριση με τους αρωματικούς υδρογονάνθρακες. Οι φαινόλες σχηματίζουν εστέρες και αιθερικά παράγωγα, πολλά από τα οποία έχουν ευχάριστη οσμή και χρησιμοποιούνται στην αρωματοποιία.

Όσο αφορά τις φαινόλες υπάρχει αρκετή βιβλιογραφία ως προσελκυστικά ωθεσίας κουνουπιών. Η *p*-Cresol αξιολογήθηκε ως προσελκυστικό κουνουπιού του είδους *Ae. triseriatus*, όπου έδωσε ικανοποιητικά αποτελέσματα (Bentley et al., 1979). Δύο χρόνια αργότερα οι ίδιοι επιστήμονες-ερευνητές διερεύνησαν τη δομή των φαινολών ως προς την προσελκυστικότητα κουνουπιών του είδους *Aedes triseriatus* (Bentley et al., 1981).

Η χημική ουσία Orcinol (5-methylresorcinol) έχει αναφερθεί ως συστατικό ορισμένων ειδών λειχήνων.

4.2.2.2. Βενζυλ- αλκοόλες (*benzyl- alcohol*)

Η *benzyl alcohol* είναι συστατικού του γιασεμιού, του ζουμπουλιού (*Hyacinthus orientalis*) και του δέντρου *Liquidambar orientalis*. Επίσης, στη φύση βρίσκεται και σε μορφή εστέρα.

Η χημική ουσία 2,5-dihydroxybenzylalcohol είναι μεταβολίτης του μύκητα *Penicillium patulum*.

4.2.2.3. Βενζυλ- αλδεΐδες (*benzyl- aldehyde*)

Οι αλδεΐδες είναι μια ομάδα οργανικών χημικών ενώσεων, οι οποίες είναι ισχυρά αρωματικές καρβονυλικές ενώσεις που προκύπτουν με οξείδωση των πρωτοταγών αρωματικών αλκοολών.

Η βενζαλδεΐδη είναι υγρό άχρωμο, ελαιώδες, και με ευχάριστη μυρωδιά πικραμυγδάλων. Βρίσκει εφαρμογή στην αρωματοποιία και στην παρασκευή χημικών προϊόντων και χρωμάτων.

Το LD₅₀ και το LD₉₀ της Benzaldehyde είναι η δόση των 33 και >50 ppm αντίστοιχα για το είδος κουνουπιού *Aedes aegypti*. Σε δόση μεγαλύτερη των 50 ppm στη χημική ουσία 4- dihydroxybenzaldehyde εμφανίζονται οι δείκτες LD₅₀ και LD₉₀ για το ίδιο είδος κουνουπιού (Cheng et al., 2004).

Οι dihydroxybenzaldehydes έχουν βρεθεί στους κορμούς του δέντρου *Machaerium kuhlmannii*. Η χημική ουσία 3,4-dihydroxybenzaldehyde έχει επισημανθεί σε σπόρους και φυτάρια σιταριού, αλλά και σε άλλα φυτά.

4.2.2.4. Βενζοϊκό οξύ και τα παράγωγα του

Καρβονικά ή καρβοξυλικά οξέα ονομάζονται οι ενώσεις που περιέχουν την ομάδα του καρβοξυλίου, -COOH. Τα καρβονικά οξέα μπορεί να θεωρηθεί ότι προέρχονται από τις αλδεΐδες με οξείδωση. Τα μονοκαρβονικά ή λιπαρά οξέα είναι πολύ διαδεδομένα στην φύση, ελεύθερα ή με την μορφή εστέρων.

Το βενζοϊκό οξύ (*benzoic acid*) έχει αναφερθεί στα φυτά: *Dactylis glomerata*, *Hypericum perforatum*, *Uncaria tomentosa* και *Thymus vulgaris* (Štěrbová et al., 2004). Επίσης έχει αναφερθεί στα φύλλα και στις ρίζες του φυτού *Arabidopsis thaliana* (Tan et al., 2004).

Η χημική ουσία 3,5-dihydroxybenzoic acid είναι συστατικό σε καρπούς φιστικιού (*Arachis hypogaea*) και σε σπόρους ρεβιθιού (*Cicer arietinum*).

Η χημική ουσία 2,5-dihydroxybenzoic acid είναι μεταβολίτης στο μύκητα *Penicillium patulum*.

4.3. ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

4.3.1. Παράγωγα σικονίνης - αλκαννίνης

Όπως αναφέρθηκε η δομή μπορεί να παίξει καθοριστικό ρόλο στην προνυμφοκτόνο δράση των ναφθοκινονών. Η αλκαννίνη με τη σικονίνη αν και ισομερή της ίδιας ένωσης εμφανίζουν τεράστια διαφορά στη δραστηριότητα τους έναντι προνυμφών κουνουπιών (Μιχαηλάκης, 2005).

Η παρούσα εργασία έρχεται ως συνέχεια της μελέτης της δράσης των παραγώγων της σικονίνης και αλκαννίνης ως προνυμφοκτόνα κουνουπιών. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί εάν και σε πια ποσότητα τα παράγωγα της σικονίνης και της αλκαννίνης έχουν προνυμφοκτόνο δράση και να προσδιοριστούν οι δόσεις που εξασφαλίζουν τη μέγιστη αποτελεσματικότητα για το είδος κουνουπιών *Culex pipiens* biotype *molestus*, που απαντώνται σε μεγάλους πληθυσμούς στην Χώρα μας. Από υγειονομική άποψη τα *Culex pipiens* είναι φορείς της ελονοσίας των πτηνών και του ιού του κίτρινου και δάγγειου πυρετού. Επίσης, είναι πρωταρχικής σημασίας φορείς των παθογόνων των φιλιαριάσεων και των εγκεφαλίτιδων.

Το LC₅₀ για τη σικονίνη και ένα ακόμα παράγωγο της (shikonin angelate) για προνύμφες κουνουπιών *Aedes aegypti* οι δόσεις ήταν 7 και 14 ppm, αντίστοιχα. Η διαφορά αυτή, πιθανώς να οφείλεται στο γεγονός ότι το πλευρικό υδροξύλιο είναι μία από τις δραστικές ομάδες (Sulaiman et al., 1978).

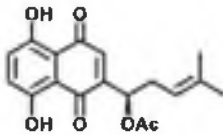
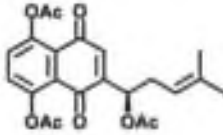
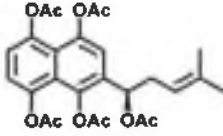
Η επιλογή των παραγώγων¹⁰ έγινε με βάση τα παραπάνω καθώς και τα ελεύθερα υδροξύλια που εμφανίζουν οι εν λόγω ναφθοκινόνες. Επιλέχθηκε το μονοακέτυλο και το τριακέτυλο με σκοπό να διερευνηθεί αρχικά η επίδραση μόνο του υδροξυλίου της πλευρικής αλυσίδας και στη συνέχεια η τυχόν επίδραση και των τριών υδροξυλίων. Τέλος, το πεντακέτυλο επιλέχθηκε για δύο λόγους: α) γιατί θέλαμε να μελετήσουμε την βιολογική δράση από την απενεργοποίηση όλων των υδροξυλίων και των οξυγόνων και β) για το γεγονός ότι ήταν το μόνο άχρωμο παράγωγο (ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2.).

Στον Πίνακα 4.2. φαίνονται αναλυτικά όλες οι δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης. Επειδή, όπως προαναφέρθηκε, η πρώτη ύλη περιείχε και 30% αλκαννίνη είναι φανερό ότι εκτός από τα ακετυλιωμένα παράγωγα της σικονίνης θα υπάρχουν και τα αντίστοιχα

¹⁰ Τα παράγωγα αυτά ελήφθησαν εργαστηριακά χρησιμοποιώντας ως πρώτη ύλη το μείγμα 7:3.

παράγωγα της αλκαννίνης. Για χάρη συντομίας τα ακετυλιωμένα παράγωγα της αλκαννίνης δεν αναγράφονται στον Πίνακα 4.2.

ΠΙΝΑΚΑΣ 4.2. Τα υποψήφια παράγωγα ναφθοκινονών που χρησιμοποιήθηκαν ως προνυμφοκτόνα για κουνούπια του είδους *Cx. pipiens*.

A/A	Δραστική ουσία/ουσίες	Όνομα Παραγώγου	Ποσοστό (%)
1		Μονοακέτυλο-σικονίνη	70
2		Τριακέτυλο-σικονίνη	70
3		Πεντακέτυλο-σικονίνη (MDS-004)	70

4.3.2. Άλλες χημικές ουσίες

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε κατά πόσο μπορεί να επηρεάσει την πιθανή προνυμφοκτόνο δράση τους αν η δομή των οργανικών χημικών ενώσεων (φαινόλες, αλδεϋδες και οξέα) τροποποιηθεί. Στόχος της παρούσας μελέτης είναι να διερευνηθεί εάν και σε πια ποσότητα οι ουσίες αυτές έχουν προνυμφοκτόνο δράση και να προσδιοριστούν οι δόσεις που εξασφαλίζουν τη μέγιστη αποτελεσματικότητα για το είδος κουνουπιών *Cx. pipiens* biotype *molestus*.

Οι χημικές ουσίες που ανήκουν στην ομάδα των φαινολών και αξιολογήθηκαν ως προνυμφοκτόνα κουνουπιών είναι: resorcinol, 2-methylresorcinol, orcinol (5-methylresorcinol) (ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1.).

Οι χημικές ουσίες που ανήκουν στην ομάδα των βενζυλ-αλκοολών και αξιολογήθηκαν ως προνυμφοκτόνα κουνουπιών είναι: benzylalcohol και 3,5-dihydroxybenzylalcohol (ΠΙΝΑΚΑΣ 6.2.).

Οι χημικές ουσίες που θα μας απασχολήσουν σε αυτή τη μελέτη ως προνυμφοκτόνα κουνουπιών που ανήκουν στην ομάδα των βενζυλ-αλδεϋδών είναι: 2,5-dihydroxybenzaldehyde και 3,4-dihydroxybenzaldehyde (ΠΙΝΑΚΑΣ 6.3.).

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.1. Οι ουσίες που ανήκουν στην ομάδα των φαινολών και αξιολογήθηκαν ως προνομφοκτόνα κουνουπιών.

1	Resorcinol	
2	2 methylresorcinol	
3	Orcinol (5-methylresorcinol)	

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.2. Οι ουσίες που ανήκουν στην ομάδα των βενζυλ- αλκοολών και αξιολογήθηκαν ως προνομφοκτόνα κουνουπιών.

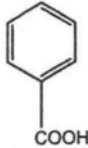
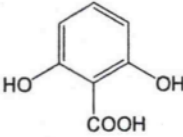
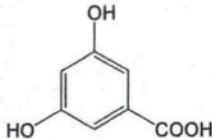
4	Benzylalcohol	
5	3,5- dihydroxybenzylalcohol	

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.3. Οι ουσίες που ανήκουν στην ομάδα των βενζυλ- αλδεϋδών και αξιολογήθηκαν ως προνομφοκτόνα κουνουπιών.

1	2,5 dihydroxybenzaldehyde	
2	3,4 dihydroxybenzaldehyde	

Τέλος, οι χημικές ουσίες που ανήκουν στην ομάδα του βενζοϊκού οξέος και των παραγώγων του και μελετήθηκαν ως προνομφοκτόνα κουνουπιών είναι: benzoic acid, 2,6 dihydroxybenzoic acid και 3,5 dihydroxybenzoic acid (ΠΙΝΑΚΑΣ 6.4.).

ΠΙΝΑΚΑΣ 6.4. Οι ουσίες που ανήκουν στην ομάδα του βενζοϊκού οξέος και των παραγώγων του και αξιολογήθηκαν ως προνομφοκτόνα κουνουπιών.

1	Benzoic acid	
2	2,6 dihydroxybenzoic acid	
3	3,5 dihydroxybenzoic acid	

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΠΤΟ

5. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΟΥ ΔΡΑΣΗΣ

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Οι προνύμφες που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές προέρχονταν από τις εκτροφές του εργαστηρίου και ήταν του είδους *Culex pipiens* biotype *molestus*.

Η εφαρμογή ακετυλιωμένων παραγώγων της σικονίνης και της αλκαννίνης ως προνυμφοκτόνα αποτελεί πρωτοπορία αφού δεν υπάρχει καμία παρόμοια βιβλιογραφική αναφορά.

5.1 ΕΚΤΡΟΦΗ

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

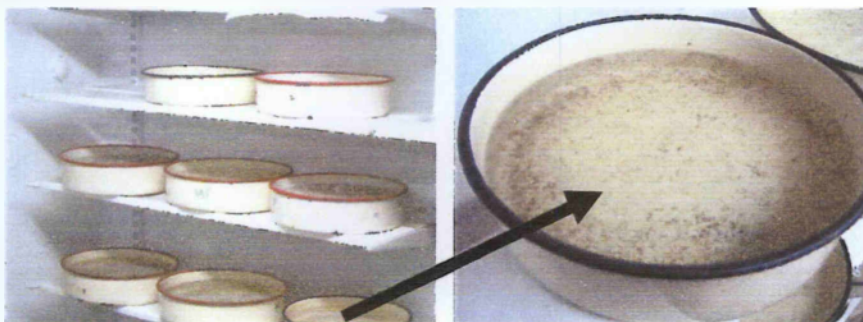
Η διαδικασία της εκτροφής ανά στάδιο περιγράφεται συνοπτικά στη συνέχεια.

5.1.1 Ωά

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

5.1.2. Προνύμφες

Η εκτροφή των προνυμφών γίνεται σε εμαγιέ λεκάνες διαμέτρου 28 cm και ανοικτού χρώματος για την εύκολη διάκρισή τους (ΕΙΚΟΝΑ 5.1.).



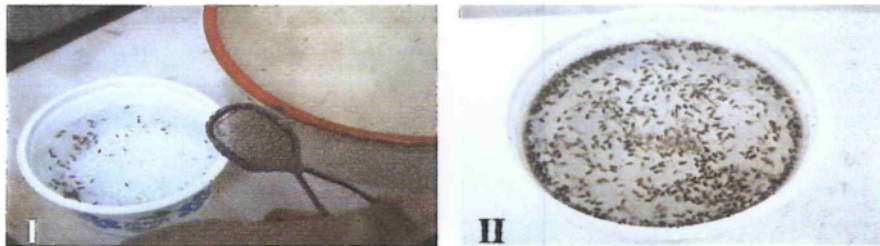
ΕΙΚΟΝΑ 5.1. Λεκάνες εκτροφής προνυμφών κουνουπιών.

Η τροφή που τους παρέχεται για την σωστή ανάπτυξή τους είναι αποξηραμένο ψωμί και ζύμη ώστε να εξασφαλίζονται οι απαραίτητες ποσότητες σε υδατάνθρακες, πρωτεΐνες και μέταλλα (Bentley, 1989). Η χορήγηση τροφής στις προνύμφες γίνεται κάθε μέρα.

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

5.1.3. Νύμφες

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



ΕΙΚΟΝΑ 5.2. Συλλογή νυμφών από τη λεκάνη εκτροφής και (II) τοποθέτηση αυτών σε πλαστικό κύπελλο.



ΕΙΚΟΝΑ 5.3. (I) Κλωβός εκτροφής ακμαίων και τοποθέτησης νυμφών και (II) Διάλυμα νερού και ζάχαρης για την τροφή των ακμαίων μέσα στον κλωβό.

5.1.4. Ακμαία

Τα ακμαία τρέφονται με διάλυμα νερού και ζάχαρης, το οποίο τοποθετείται μέσα στον κάθε κλωβό σε ένα μικρό γυάλινο δοχείο μαζί με μια κατασκευή σαν φιλίλι

από διηθητικό χαρτί και βαμβάκι, για την ευκολότερη λήψη του διαλύματος από τα έντομα (ΕΙΚΟΝΑ 5.3.). Δύο τέτοια διαλύματα είναι τοποθετημένα στον κλωβό και αντικαθίστανται από καινούρια κάθε 4 μέρες.

5.2. ΠΕΙΡΑΜΑ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΙΑΣ

5.2.1. Υλικά

Οι βιοδοκιμές βασίστηκαν στη μέθοδο που προτείνει η Παγκόσμια Οργάνωση Υγείας (WHO) που περιγράφεται στο WHO/VBC/81.807 με κάποιες τροποποιήσεις ή παραδοχές. Τα βασικά στοιχεία της μεθόδου ήταν τα εξής:

- Πλαστικά δοχεία που να χωρούν 100 ml διαλύματος.
- Ογκομετρικοί κύλινδροι των 100ml και 20 ml με τους οποίους μπορούσαμε να μετρήσουμε με ακρίβεια την επιθυμητή κάθε φορά ποσότητα νερού.
- Μηχανικές πιπέτες για τη μέτρηση και τοποθέτηση του υδατικού διαλύματος του βιοκτόνου μέσα στα δοχεία.
- Προνύμφες κουνουπιών, ανεπτυγμένες τρίτου ή νεαρές τετάρτου σταδίου και σε αριθμό αρκετό ώστε να φθάσουν για να τοποθετηθούν 20 προνύμφες σε κάθε δοχείο. Οι προνύμφες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν ζωηρές και σε καλή κατάσταση ενώ όσες παρουσίαζαν ανωμαλίες ή είχαν περίεργη κίνηση απορρίπτονταν.
- Νερό αποχλωριωμένο από το δίκτυο υδρεύσεως. Η θερμοκρασία του διαλύματος κατά την διάρκεια της βιοδοκιμής ήταν 20-30 °C. Πρέπει να σημειωθεί ότι το αποσταγμένο νερό χρησιμοποιήθηκε κατά την προετοιμασία των διαλυμάτων του σκευάσματος, ενώ κατά την πλήρωση των δοχείων των βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκε νερό από το σύστημα ύδρευσης, το οποίο όμως είχε παραμείνει σε ειδικό δοχείο για 24 ώρες ώστε να έχει αποχλωριωθεί.
- Μητρικό διάλυμα 1% κατά βάρος (stock solution), δηλαδή στα 100 ml διαλύτη (αιθανόλη) περιέχονται 1 g δραστικής ουσίας.

Οι βιοδοκιμές έγιναν σε χώρο του εργαστηρίου που θεωρείται κατάλληλος για την εκτέλεση των βιοδοκιμών, αφού είναι απαλλαγμένος από βιοκτόνα, χωρίς ρεύματα αέρα και απότομες αλλαγές θερμοκρασίας, ενώ η θέση εκτελέσεως των βιοδοκιμών δεν βρισκόταν κάτω από την άμεση επίδραση των ηλιακών ακτινών.

Όλα τα σκεύη που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα είχαν πλυθεί δύο φορές και ξεπλυθεί πολύ καλά, ώστε να μην υπάρχουν υπολείμματα απορρυπαντικού και στη συνέχεια ξεπλύθηκαν με ακετόνη τουλάχιστον τρεις φορές.

Τέλος, τοποθετήθηκαν σε κλίβανο για μερικές ώρες πριν από την χρησιμοποίησή τους.

5.2.2. Μέθοδος βιοδοκιμής

Η μέθοδος είχε ως εξής: σε δοχεία των 150 ml βάζαμε 100 ml νερό και 20 προνύμφες κουνουπιών 3^{ου} και 4^{ου} σταδίου σε κάθε ένα, προσέχοντας να μην τις τραυματίσουμε. Πραγματοποιήθηκε μια σειρά βιοδοκιμών κατά την οποία ελέγχθηκε εάν οι ουσίες αυτές είχαν κάποια προνυμφοκτόνο δράση και για να προσδιοριστεί η δόση εκείνη με τα υψηλότερα επίπεδα τοξικότητας. Οι δόσεις που χρησιμοποιήσαμε ήταν:

Μονοακέτυλο → 20, 25, 30 και 35 ppm.

Τριακέτυλο → 20, 25 και 30 ppm.

Πεντακέτυλο → 25, 30 και 35 ppm.

Στα δοχεία που χρησιμοποιήσαμε για τη βιοδοκιμή βάζαμε ανάλογη ποσότητα νερού. Στη συνέχεια τοποθετούσαμε τις προνύμφες προσεκτικά στα δοχεία της βιοδοκιμής. Και τέλος προσθέταμε την ποσότητα του διαλύματος της εξεταζόμενης ουσίας με τη μηχανική πιπέτα.

Πρέπει να σημειωθεί ότι κάθε επέμβαση πραγματοποιήθηκε 5 φορές (επαναλήψεις), δηλαδή κάθε δόση μπήκε σε 5 δοχεία, όπου σε κάθε δοχείο τοποθετούσαμε 20 προνύμφες οι οποίες προέρχονταν από τις εκτροφές του εργαστηρίου. Επιπλέον τα δοχεία που χρησιμοποιήσαμε για τη βιοδοκιμή καλύφθηκαν με τούλι, ώστε να εμποδιστεί η έξοδος των ακμαίων κουνουπιών που τυχόν προέκυπταν.

Επειδή με τις βιοδοκιμές μελετούμε τη μεταβολή της θνησιμότητας σε σχέση με τη μεταβολή της δόσεως, εφαρμόσαμε μια σειρά δόσεων που να μας δίνουν θνησιμότητες πάνω από 0% και κάτω από 100%. Παράλληλα με τις βιοδοκιμές των προνυμφοκτόνων χρησιμοποιήθηκαν και μάρτυρες (σκέτο αποχλωριωμένο νερό βρύσης).

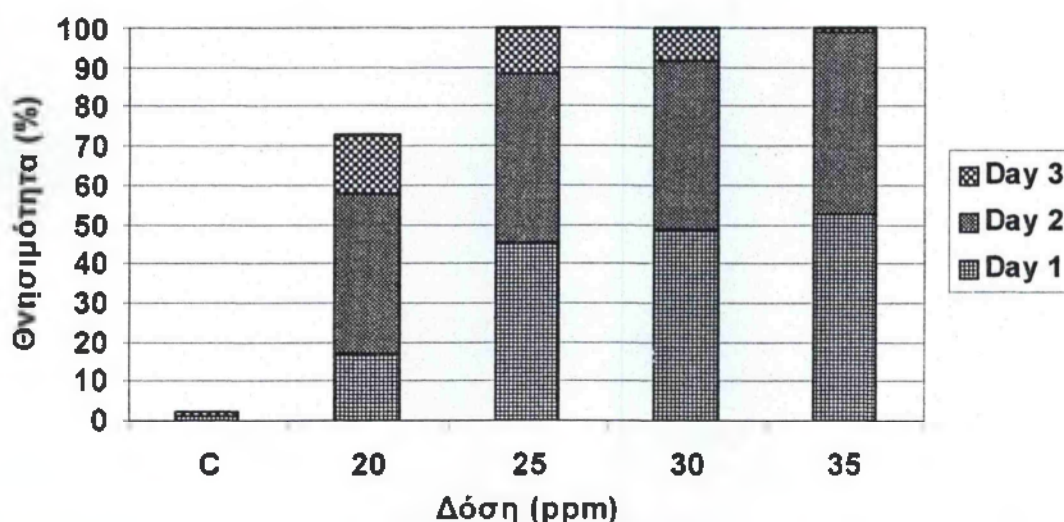
Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων έγινε καταγραφή της θνησιμότητας καθημερινά (24, 48 και 72 h). Για κάθε εφαρμογή (ουσία-συγκέντρωση) υπολογίστηκε το ποσοστό θνησιμότητας και με τη βοήθεια στατιστικού πακέτου υπολογίστηκαν οι δείκτες LC₅₀ και LC₉₅ για τις 48 ώρες.

5.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

5.3.1. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης της μονοακέτυλο- και της τριακέτυλο-σικονίνης

Οι βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης της μονοακέτυλο- και τριακέτυλο-σικονίνης πραγματοποιήθηκαν με σκοπό τη διερεύνηση της δραστηριότητας του υδροξυλίου της πλευρικής αλυσίδας αλλά και των υπολοίπων υδροξυλίων. Τόσο το μονοακέτυλο όσο και το τριακέτυλο δοκιμάστηκαν στο ίδιο εύρος δόσεων. Τυχόν διαφοροποίηση του ποσοστού θνησιμότητας από το τριακέτυλο σε σχέση με το μονοακέτυλο θα φανέρωνε και τη σημαντικότητα των δύο αυτών υδροξυλίων στη προνυμφοκτόνο δράση της σικονίνης.

Αρχικά πραγματοποιήθηκαν οι βιοδοκιμές της προνυμφοκτόνου δράσης της μονοακέτυλο-σικονίνης και έδειξαν ότι για το χρονικό διάστημα των τριών ημερών (72 ωρών) η θνησιμότητα κινήθηκε σε πολύ υψηλά επίπεδα (> 70%) ανεξαρτήτως της συγκέντρωσης. Το ίδιο μοτίβο είχε παρατηρηθεί και στην αντίστοιχη περίπτωση του μείγματος 7:3. Η διαφοροποίηση που παρατηρήθηκε ανάμεσα στις ημέρες (24 και 48 ώρες) ήταν μη αξιόλογη και για συγκεντρώσεις μεγαλύτερες από 20 ppm η θνησιμότητα στις 72 ώρες είναι περίπου ίση με το 100%. Τα αποτελέσματα όλων των μετρήσεων απεικονίζονται γραφικά στο Γράφημα 5.1.



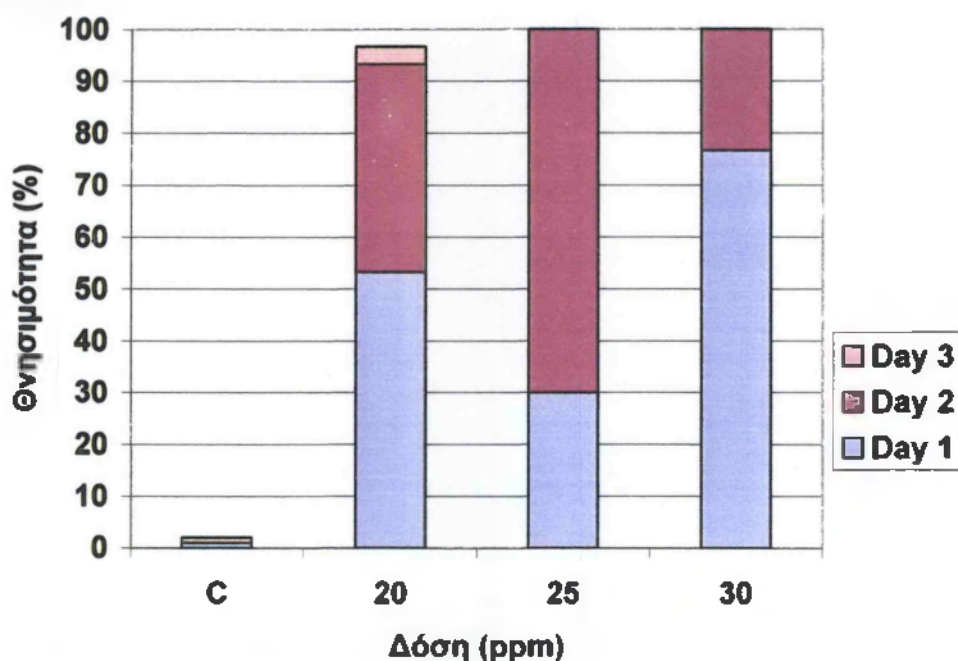
ΓΡΑΦΗΜΑ 5.1. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της μονοακέτυλο-ναφθοκινόνης όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

Από τα αποτελέσματα παρατηρούμε ότι απαιτήθηκαν αρκετά υψηλές δόσεις (άνω των 20 ppm) προκειμένου να παρατηρηθεί σημαντική θνησιμότητα τις πρώτες 24 ώρες. Για δόσεις 25 ppm και άνω η πρώτη μέρα έχει μία σταθερή θνησιμότητα με

τιμή λίγο μικρότερη από 50%. Οι τιμές αυτές των δόσεων που απαιτούνται είναι αρκετά υψηλές και δείχνουν τη μεγάλη δραστικότητα του υδροξυλίου της πλευρικής αλυσίδας.

Για τη στατιστική ανάλυση και στον υπολογισμό των δεικτών LD₅₀ και LD₉₅, ελήφθησαν υπόψη μόνο τρεις μετρήσεις για τις 48 ώρες (τρεις από τις πέντε επαναλήψεις ανά δόση, Γράφημα 5.3). Σύμφωνα με την Probit analysis οι δείκτες LD₅₀ και LD₉₅ είναι αντίστοιχα 17,85 και 29,59 ppm.

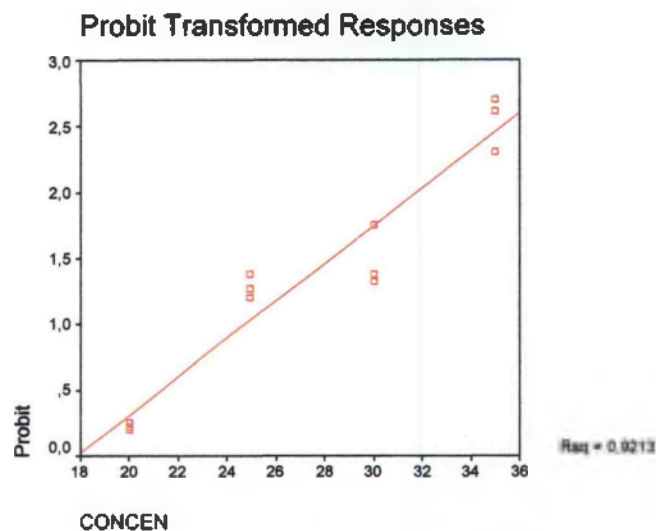
Οι αντίστοιχοι δείκτες για το μείγμα 7:3 ήταν 4,61 και 10,18. Από τα αποτελέσματα της βιοδοκιμής αυτής γίνεται εύκολα αντιληπτό ότι η παρουσία του ακετυλίου στο υδροξύλιο της πλευρικής αλυσίδας της σικονίνης είχε ως αποτέλεσμα να αυξηθούν οι δείκτες LD₅₀ και LD₉₅ (αύξηση των δεικτών σημαίνει και μείωση της προνυμφοκτόνου δράσης).



ΓΡΑΦΗΜΑ 5.2. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της τριακέτυλο-σικονίνης όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

Όπως φαίνεται και από τα αποτελέσματα η παρουσία των δύο επιπλέον ακετυλίων δεν επηρέασε καθόλου τη δράση της σικονίνης. Αν τα φαινολικά υδροξύλια συνεισέφεραν στην προνυμφοκτόνο δράση της σικονίνης θα έδιναν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας σε μεγαλύτερες δόσεις από τις αντίστοιχες της μονοακέτυλο-. Για τη δόση των 20 ppm παρατηρήθηκε 100% θνησιμότητα για το συνολικό διάστημα των τριών ημερών (72 ώρες), ενώ αντιθέτως για όλες τις

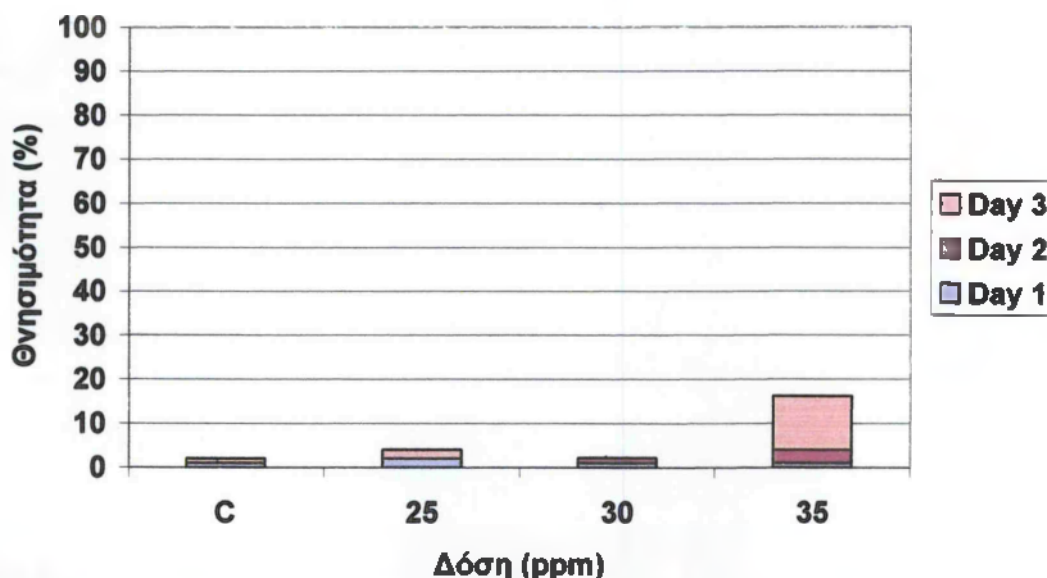
υπόλοιπες δόσεις παρατηρήθηκε 100% θνησιμότητα. Για τη δόση των 20 και 25 ppm παρατηρούμε ότι την πρώτη ημέρα η θνησιμότητα κινείται σε πολύ χαμηλά επίπεδα (μικρότερα από 50%). Όταν όμως η δόση φτάνει τα 30 ppm η θνησιμότητα που καταγράφεται τις πρώτες 24 ώρες φτάνει περίπου το 80%.



ΓΡΑΦΗΜΑ 5.3. Στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων θνησιμότητας της μονοακέτυλο-σικονίνης για 48 ώρες με τη βοήθεια της Probit Analysis ($P \leq 0,05$)¹¹.

5.3.2. Βιοδοκιμή προνυμφοκτόνου δράσης της πεντακέτυλο-σικονίνης

Οι βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης της πεντακέτυλο-σικονίνης έχουν ως κύριο στόχο να δείξουν τη συνεισφορά του ναφθαζαρινικού σκελετού. Εφαρμόσαμε



ΓΡΑΦΗΜΑ 5.4. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της πεντακέτυλο-σικονίνης όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

¹¹ Αν ο δείκτης $Rsq > 0,8$ τότε τα αποτελέσματά είναι ικανοποιητικά.

ακριβώς τις ίδιες δόσεις με τη βιοδοκιμή του μονοακέτυλου και τα αποτελέσματα απεικονίζονται γραφικά στο Γράφημα 5.4. Από τα αποτελέσματα γίνεται αντιληπτό ότι η παρουσία των επιπλέον δύο ακετυλίων στον ναφθαζαρινικό σκελετό είχε ως συνέπεια την πλήρη καταστολή της προνυμφοκτόνου δράσης της σικονίνης.

Στη δόση των 25 και 30 ppm η θνησιμότητα κινήθηκε στα ίδια επίπεδα με αυτά του μάρτυρα ενώ στη δόση των 35 ppm παρατηρήθηκε αύξηση της θνησιμότητας κυρίως την τρίτη ημέρα (72 ώρες).

5.4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών της μονοακέτυλο- και της τριακέτυλο-καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το πλευρικό υδροξύλιο της σικονίνης είναι και εκείνο που συνεισφέρει περισσότερο στη προνυμφοκτόνο δράση της σε σχέση με όλα τα άλλα υδροξύλια. Στη συνέχεια η βιοδοκιμή με το πεντακέτυλο- αποκάλυψε τη σημαντική συνεισφορά των οξυγόνων του ναφθαζαρινικού σκελετού στην προνυμφοκτόνο δράση της ναφθοκινόνης.

Συνοψίζοντας όλα τα αποτελέσματα καταλήγουμε στα εξής τρία βασικά συμπεράσματα που αφορούν στη σχέση δομής-προνυμφοκτόνου δράσης: α) ο ναφθαζαρινικός σκελετός είναι το κομμάτι που είναι κυρίως υπεύθυνο για τη δράση των μορίων, β) η αλκυλίωση των φαινολικών υδροξυλίων δεν οδηγεί σε πλήρη αναστολή της δράσης τους, αλλά παρατηρείται μονάχα μία μείωση της προνυμφοκτονίας και τέλος, γ) η πλευρική αλυσίδα είναι αυτή, η οποία παίζει το ρόλο του φορέα του ενεργού ναφθαζαρινικού συστήματος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

6. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΥΠΟΨΗΦΙΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΩΣ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΑ

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Οι προνύμφες που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές προέρχονταν από τις εκτροφές του εργαστηρίου και ήταν του είδους *Culex pipiens* biotype *molestus*.

6.1. ΠΕΙΡΑΜΑ ΠΡΟΝΥΜΦΟΚΤΟΝΙΑΣ

Η μέθοδος που εφαρμόστηκε στις βιοδοκιμές του κεφαλαίου αυτού ήταν η ίδια με αυτήν που περιγράφεται αναλυτικά στο ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 (5.2.1. Υλικά και 5.2.2. Μέθοδος βιοδοκιμής).

Η εφαρμογή των συγκεκριμένων χημικών ουσιών ως προνυμφοκτόνα κουνουπιών γίνεται για πρώτη φορά, αφού δεν υπάρχει καμία παρόμοια βιβλιογραφική αναφορά.

Παράλληλα με τις βιοδοκιμές των προνυμφοκτόνων χρησιμοποιήθηκαν και μάρτυρες (αποχλωριωμένο νερό βρύσης). Επειδή με τις βιοδοκιμές μελετούμε τη μεταβολή της θνησιμότητας σε σχέση με τη μεταβολή της δόσεως, εφαρμόσαμε μια σειρά δόσεων που να μας δίνουν θνησιμότητες πάνω από 0% και κάτω από 100%.

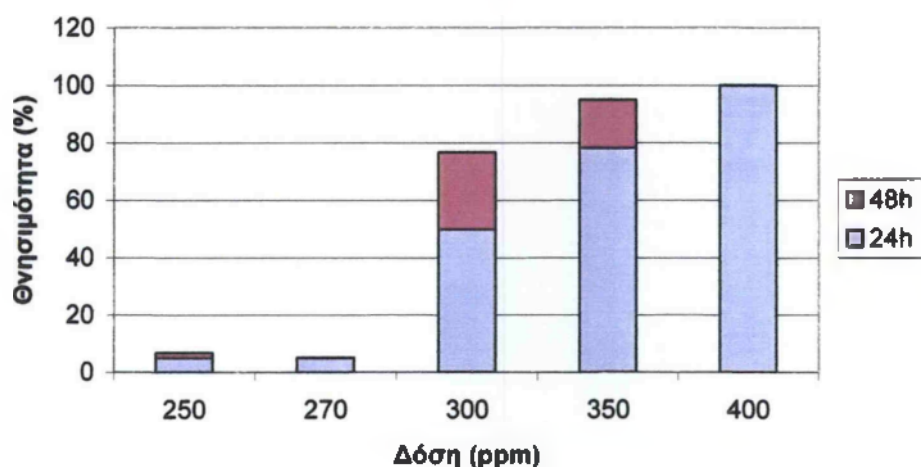
Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων έγινε καταγραφή της θνησιμότητας καθημερινά (24 και 48 ώρες). Για κάθε εφαρμογή (ουσία-συγκέντρωση) υπολογίστηκε το ποσοστό θνησιμότητας και με τη βοήθεια στατιστικού πακέτου υπολογίστηκαν οι δείκτες LC_{50} και LC_{95} για τις 48 ώρες.

6.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Όλες οι δραστικές ουσίες που αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη είχαν ως διαλύτη την αιθανόλη. Συγκεκριμένα για κάθε ουσία ισχύει ότι στα 100 ml διαλύτη (αιθανόλη) περιέχεται 1 g δραστικής ουσίας. Με βάση τα παραπάνω σχεδιάσαμε και στήσαμε ένα πείραμα προνυμφοκτονίας κουνουπιών με αιθανόλη σε διάφορες

δόσεις, με σκοπό να δούμε εάν η αιθανόλη επηρεάζει την θνησιμότητα που εμφανίζουν οι προς εξεταζόμενες ουσίες.

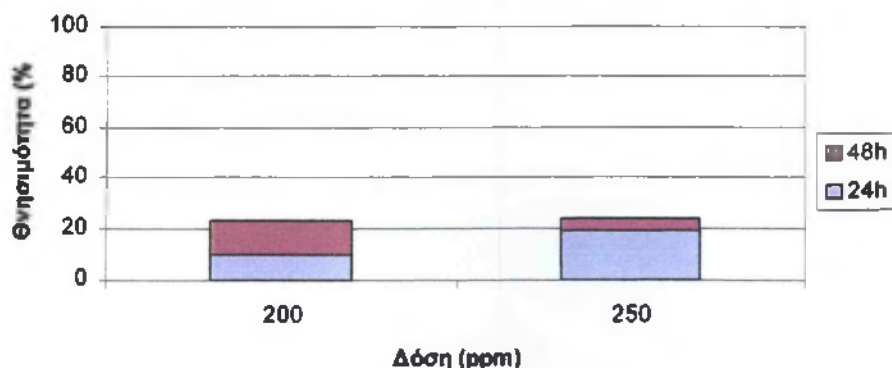
Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων έγινε καταγραφή της θνησιμότητας για 24 και 48 ώρες. Το LC₅₀ και το LD95 της αιθανόλης για προνύμφες κουνουπιών *Culex pipiens* είναι οι δόσεις των 291 και 329 ppm αντίστοιχα (ΓΡΑΦΗΜΑ 6.1.).



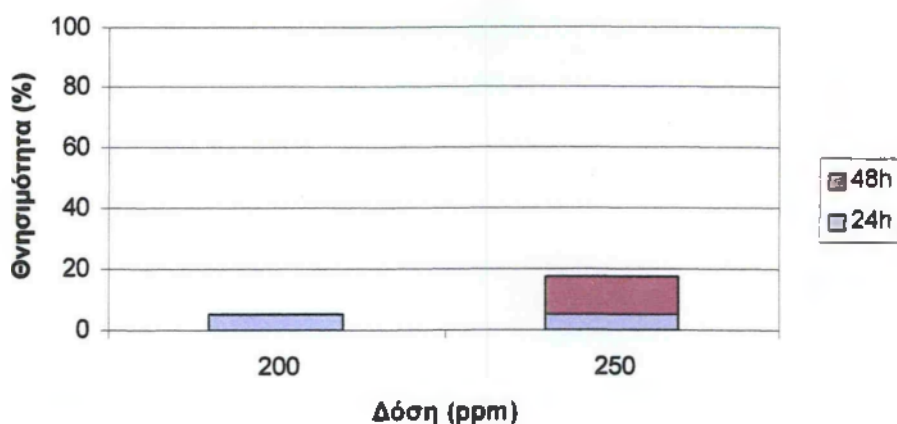
ΓΡΑΦΗΜΑ 6.1. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της αιθανόλης όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

6.2.1. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης ουσιών που ανήκουν στην ομάδα των φαινολών

Οι δόσεις των 200 και 250 ppm των ουσιών resorcinol (ΓΡΑΦΗΜΑ 6.2.), orcinol (ΓΡΑΦΗΜΑ 6.3.) δεν εμφάνισαν ικανοποιητικά ποσοστά θνησιμότητας. Αποφύγαμε να αυξήσουμε την δόση, επειδή η τυχόν αύξηση της θνησιμότητας θα οφειλόταν σε μεγάλο βαθμό στον διαλύτη (αιθανόλη) της δραστικής ουσίας.

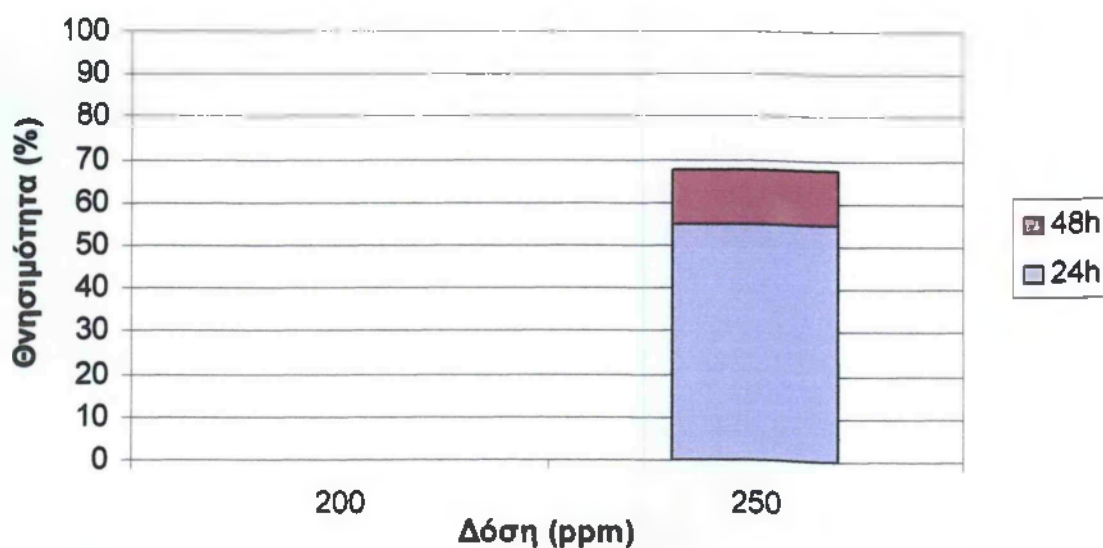


ΓΡΑΦΗΜΑ 6.2. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της resorcinol όσο και για το μάρτυρα (C:Control).



ΓΡΑΦΗΜΑ 6.3. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της oreganol όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

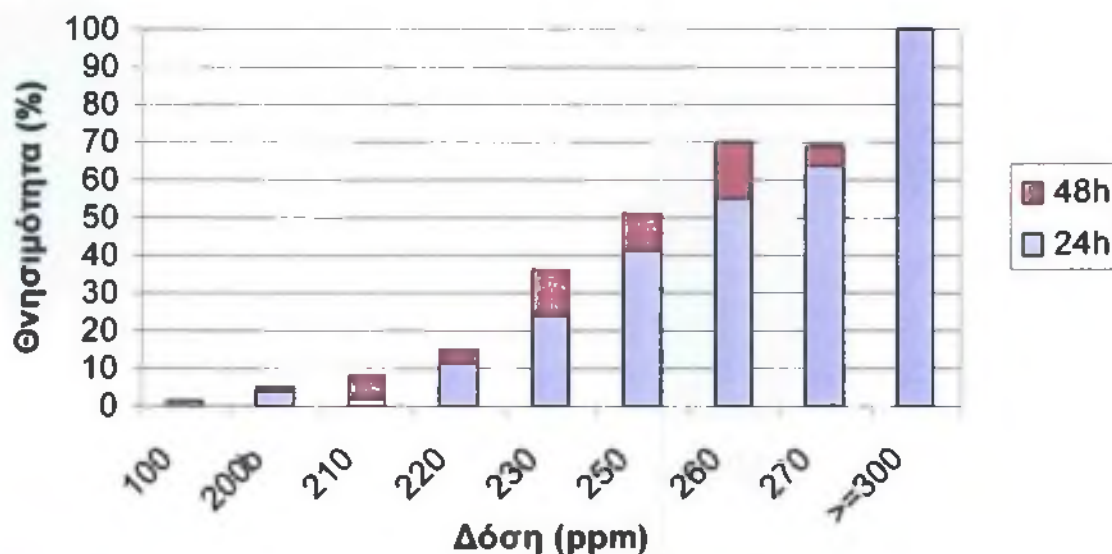
Στην περίπτωση της ουσίας 2-methylresorcinol το ποσοστό θνησιμότητας είναι 55% στη δόση των 250 ppm (ΓΡΑΦΗΜΑ 6.4.). Η περαιτέρω αύξηση της δόσης της δραστικής ουσίας θα επηρέαζε θετικά το ποσοστό θνησιμότητας, αλλά κάτι τέτοιο θα οφειλόταν στη δράση του διαλύτη.



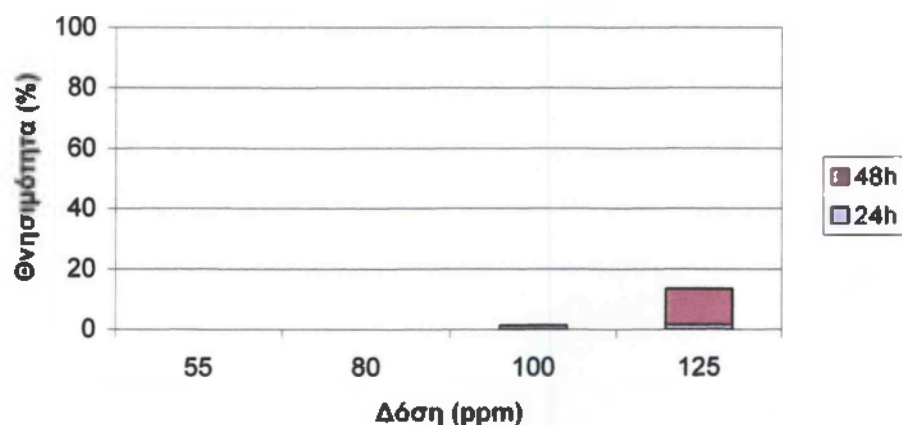
ΓΡΑΦΗΜΑ 6.4. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της 2-methylresorcinol όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

6.2.2. Βιοδοκιμές προνυφοκτόνου δράσης ουσιών που ανήκουν στην ομάδα των βενζυλ-αλκοολών

Το LC₅₀ της Benzylalcohol είναι μικρότερο της δόσης των 250 ppm, διότι το ποσοστό θνησιμότητας στην συγκεκριμένη δόση είναι στο 41% σε 24 ώρες και στο 51% στις 48 ώρες. Κατά το ίδιο σκεπτικό δε μπορούμε να αυξήσουμε την δόση, λόγω αιθανόλης (ΓΡΑΦΗΜΑ 6.5.).



ΓΡΑΦΗΜΑ 6.5. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της Benzylalcohol όσο και για το μάρτυρα (C:Control).



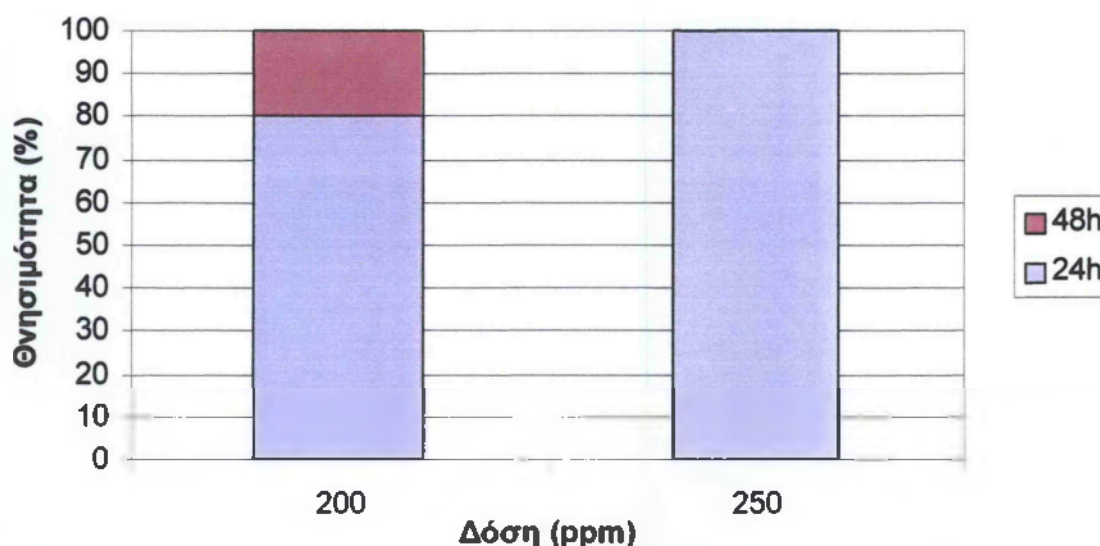
ΓΡΑΦΗΜΑ 6.6. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της 3,5- dihydroxybenzylalcohol όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

Στο παραπάνω γράφημα (ΓΡΑΦΗΜΑ 6.6.) η χημική ουσία 3,5-dihydroxybenzylalcohol δεν έδωσε ικανοποιητικά ποσοστά θνησιμότητας στις δόσεις που αξιολογήθηκε, η αύξηση των δόσεων θα ήταν άσκοπη διότι τα αποτελέσματα θα επηρεαζόντουσαν από την αιθανόλη.

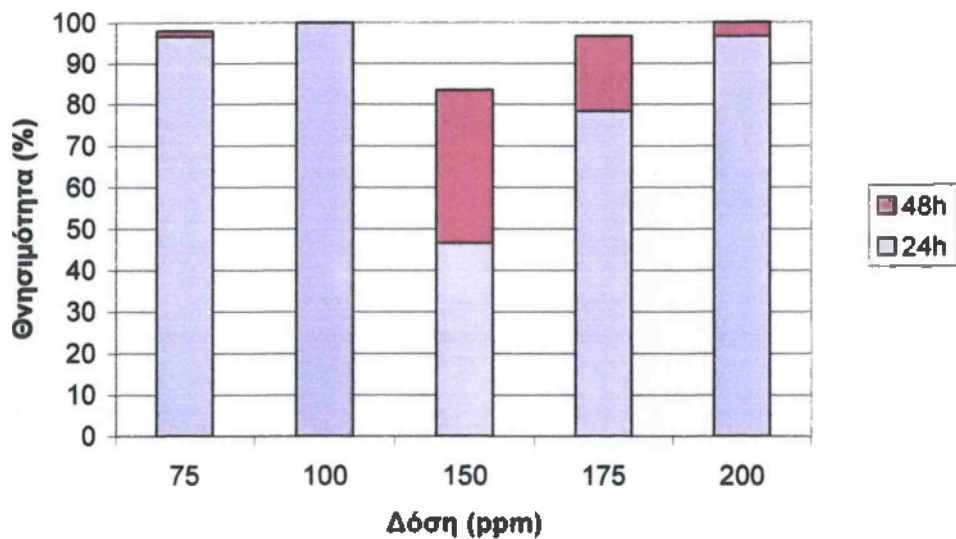
6.2.3. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης ουσιών που ανήκουν στην ομάδα των

Στην περίπτωση της χημικής ουσίας 2,5 dihydroxybenzaldehyde οι δόσεις των 150 και 220 ppm έδωσαν μικρά ποσοστά θνησιμότητας, με αποτέλεσμα να μην μας επιτρέπουν να αυξήσουμε τη δόση, λόγω της δράσης της αιθανόλης που θα παρατηρούταν.

Η χημική ουσία 3,4 dihydroxybenzaldehyde έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα σε χαμηλές δόσεις. Η συγκεκριμένη ουσία δεν είναι εξαρτώμενη από την δόση, διότι υπάρχει μία κρίσιμη συγκέντρωση πάνω από τα 60 ppm, όπου έχει αποτελεσματικότητα 100% (θνησιμότητα).



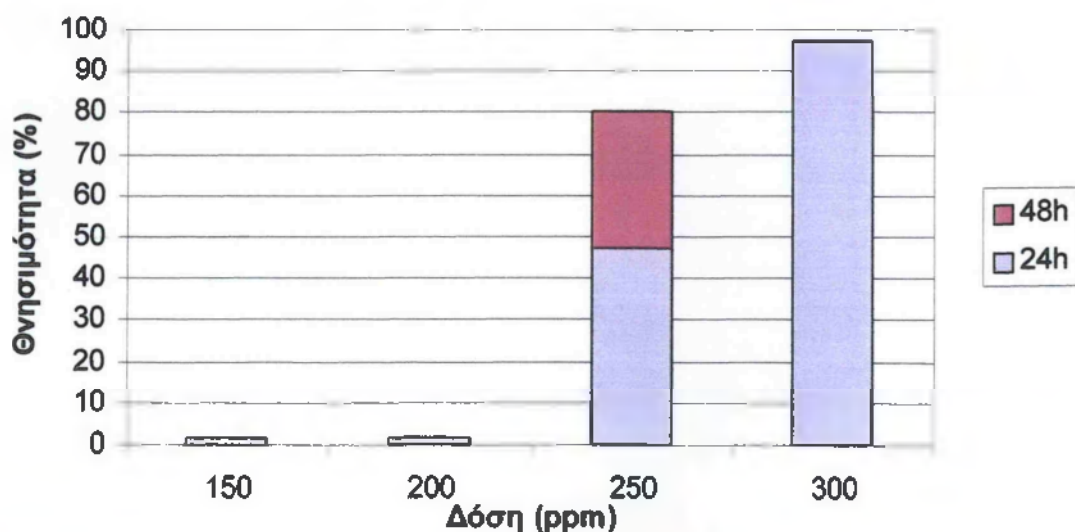
ΓΡΑΦΗΜΑ 6.7. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της 2,5 dihydroxybenzaldehyde όσο και για το μάρτυρα (C:Control).



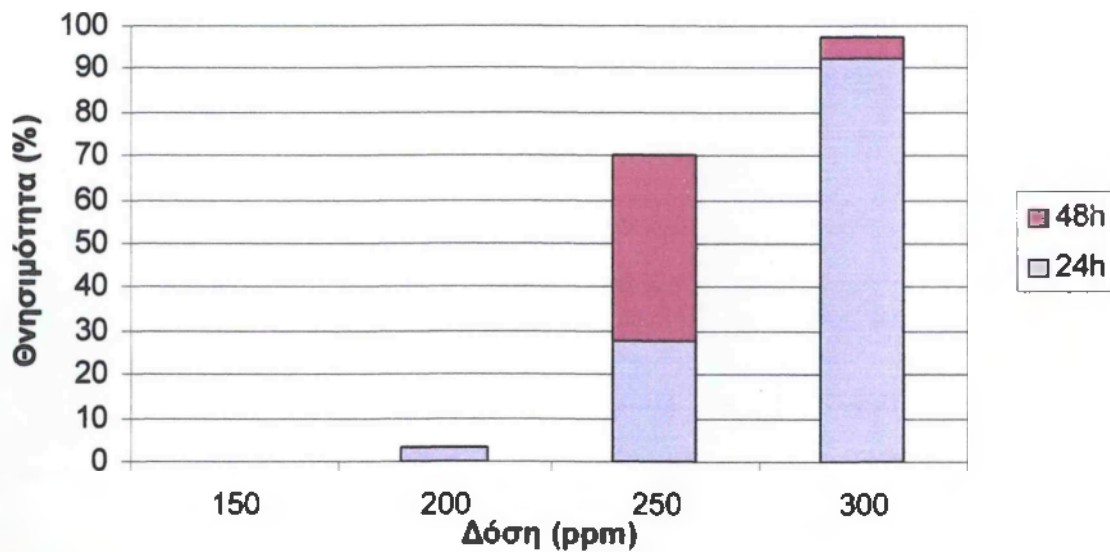
ΓΡΑΦΗΜΑ 6.8. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της 3,4 dihydroxybenzaldehyde όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

6.2.4. Βιοδοκιμές προνυμφοκτόνου δράσης ουσιών που ανήκουν στην ομάδα του βενζοϊκού οξέος και των παραγώγων του

Στις δόσεις των 250 και 300 ppm των ουσιών benzoic acid (ΓΡΑΦΗΜΑ 6.9.) και 2,6 dihydroxybenzoic acid (ΓΡΑΦΗΜΑ 6.10.) παρατηρήθηκαν ικανοποιητικά ποσοστά θνησιμότητας, λόγω του ότι σ' αυτές τις δόσεις επιδρά η αιθανόλη (διαλύτης).

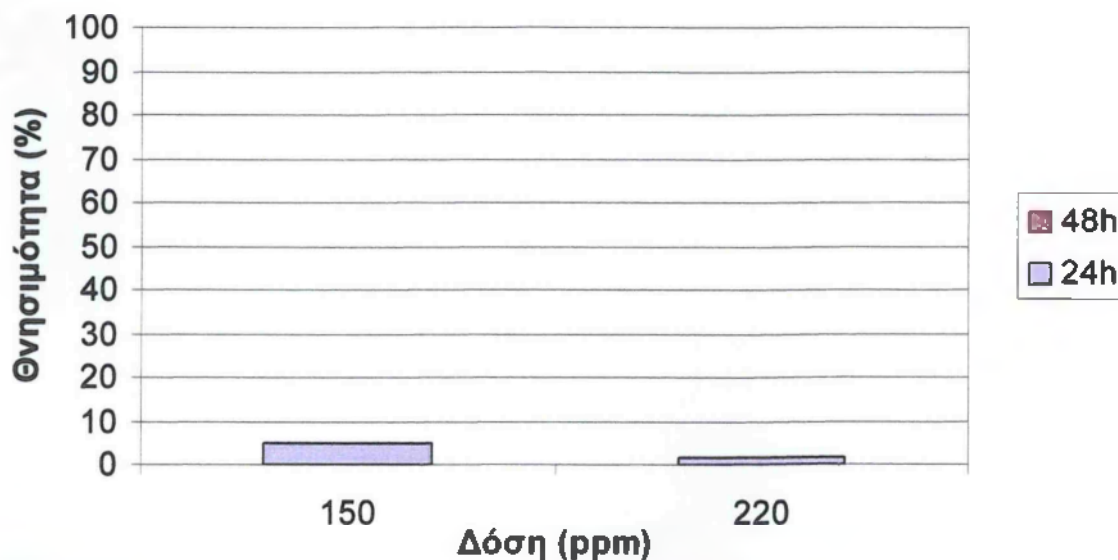


ΓΡΑΦΗΜΑ 6.9. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της benzoic acid όσο και για το μάρτυρα (C:Control).



ΓΡΑΦΗΜΑ 6.10. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της 2,6 dihydroxybenzoic acid όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

Στην περίπτωση της χημικής ουσίας 3,5 dihydroxybenzoic acid οι δόσεις των 150 και 220 ppm έδωσαν μικρά ποσοστά θνησιμότητας, με αποτέλεσμα να μην μας επιτρέπουν να αυξήσουμε τη δόση, λόγω της δράσης της αιθανόλης που θα παρατηρούταν.



ΓΡΑΦΗΜΑ 6.11. Αποτελέσματα από τις μετρήσεις της θνησιμότητας συναρτήσει της δόσης. Χρησιμοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις και για τις βιοδοκιμές της 3,5 dihydroxybenzoic acid όσο και για το μάρτυρα (C:Control).

6.3. ΣΥΖΗΤΗΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από τις ουσίες που μελετήθηκαν ως πιθανά προνυμφοκτόνα κουνουπιών μόνο η 3,4 dihydroxybenzaldehyde έδωσε πολύ καλά αποτελέσματα (κρίσιμη συγκέντρωση <60 ppm). Συγκρίνοντας τη με την χημική ουσία 2,5 dihydroxybenzaldehyde, όπου ανήκουν στην ίδια ομάδα (βενζυλ- αλδεϋδων) διαπιστώνουμε ότι η δομή στην συγκεκριμένη περίπτωση επηρεάζει την προνυμφοκτόνο δράση των ουσιών αυτών.

Όλες οι υπόλοιπες ουσίες εμφάνιζαν ικανοποιητικά ποσοστά θνησιμότητας (LD₅₀ και LD₉₀) σε πολύ υψηλές δόσεις. Όπως διαπιστώθηκε όμως αυτό οφειλόταν στην επίδραση της αιθανόλης.

Κλείνοντας το πειραματικό μέρος της παρούσας εργασίας αξίζει να αναφέρουμε ότι η μελέτη των χημικών ουσιών αυτών (ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5 και 6) πρέπει να συνεχιστεί τόσο σε συνθήκες υπαίθρου όσο και εναντίον άλλων ειδών κουνουπιών. Σκοπός της έρευνας είναι:

1. Η δημιουργία ενός νέου εντομοκτόνου.
2. Οι παραπάνω ουσίες θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν σε προγράμματα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης κουνουπιών ή προγράμματα διαχείρισης ανθεκτικότητας.
3. Οι ουσίες αυτές θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη εναλλακτικής μεθόδου αντιμετώπισης κουνουπιών με εστιασμένη χρήση εντομοκτόνου σε συνδυασμό ίσως με κάποιο ελκυστικό κουνουπιών (Attrack and Kill).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αλεξάνδρου, Ν.Ε. και Βαρβόγλη, Α.Γ. 1981. *Μαθήματα οργανικής χημείας*. Π. ΖΗΤΗ & ΣΙΑ Ο.Ε., Θεσσαλονίκη. 396 σελ.
- Bentley, M.D., Day, J.F. 1989. Chemical ecology and behavioral aspects of mosquito oviposition. *Annu. Rev. Entomol.*: **34**, 401-421.
- Bentley, M.D., Mcdaniel, I.N., Yatagai, M., Lee, H., Maynard, R. 1981. Oviposition attractants and stimulants of *Aedes triseriatus* (Say) (Diptera: Culicidae). *Environ. Entomol.*: **10**, 186-189.
- Bentley, M.D., Mcdaniel, I.N., Yatagai, M., Lee, H., Maynard, R. 1979. p-cresol: an oviposition attractant of *Aedes triseriatus*. *Environ. Entomol.*: **8**, 206-209.
- Βογιατζόγλου – Σαμανίδου, Α., Πατσούλα, Ε., Σπανάκος, Γ., Βακάλης, Ν. 2005. Περιλήψεις εργασιών 11^{ου} Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου, Καρδίτσα.
- Chavasse, D.C. and Yap, H.H. 1997. *Chemical methods for the control of vectors and pests of public health importance*. World Health Organization, Division of Control of Tropical Diseases, WHO Pesticide Evaluation Scheme, 129 pp.
- Cheng, S., Liu, J., Tsai, K., Chen, W., Chang, S. 2004. Chemical composition and mosquito larvicidal activity of essential oils from leaves of different cinnamomum osmophloeum provenances. *J. Agric. Food Chem.*: **52**, 4395-4400.
- Εμμανουήλ, Ν.Γ. 1999. *Δίπτερα υγειονομικής σημασίας. Αναγνώριση, βιολογία, οικονομική σημασία, αντιμετώπιση*. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. 91 σελ.
- Gorgees, N.S., Naqvi, S.N.H., Rashan, L.J. 1978. Effect of Tera, Shikonin and Ecdysone on the Alkaline Phosphate in the Larvae *Aedes aegypti* (L.). *Folia Histochemica et Cytochemica*: **16**, 51-56.
- Hemingway, J., Field, L., Vontas, J. 2002. An Overview of Insecticide Resistance. *Science*: **298**, 96-97.
- Μιχαηλάκης, Α. 2005. Σύνθεση και χαρακτηρισμός βιοδραστικών φυσικών προϊόντων με εφαρμογή στη γεωργία. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Mori, K. 2000. Organic Synthesis and Chemical Ecology. *Acc. Chem. Res.*: **33**, 102-110.

- Μπέτζιος, Χ.Β. 1989. *Αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας. Μορφολογία, βιολογία, οικολογία, υγειονομική σημασία, καταπολέμηση*. 260 σελ.
- Naqvi, S.N.H., Sulaiman, H.M.S., Afzal, M., Mohammad, A.M.S. 1984. Comparison of sterility potential of Shikonin and its analogue with Tera and Hempa, against *Aedes aegypti* (L). *Pakistan J. Zool*: **16**, 175-180.
- Papageorgiou, V.P., Assimopoulou, A.N., Couladouros, E.A., Hepworth, D., Nicolaou, K.C. 1999. The Chemistry and Biology of Alkannin, Shikonin, and Related Naphthazarin Natural Products. *Angew. Chem. Int. Ed.*: **38**, 270-300.
- Πελεκάσης, Κ.Ε.Δ. 1994. *Μαθήματα γεωργικής εντομολογίας*. Τόμος Α . Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. 357 σελ.
- Russell, P.F., West, L.S., Manwell, R.D. and Macdonald, G. 1963. *Practical malariology*. 2nd edition. Oxford university press, London. 750 pp.
- Štěrbová, D., Matějček, D., Vlček, J., Kubáň, V. 2004. Combined microwave-assisted isolation and solid-phase purification procedures prior to the chromatographic determination of phenolic compounds in plant materials. *Analytica Chimica Acta*: **513**, 435-444.
- Stetter, J., Folker, L. 2000. Innovation in Crop Protection: Trends in Research (Review). *Angew. Chem. Int. Ed*: **39**, 1724-1744.
- Sulaiman, H.M.S., Naqvi, S.N.H., Mohammad, A.M.S. 1978. Toxicity of some standard and prospective chemosterilants against *Aedes aegypti* (L.) larvae. *Current Science*: **47**, 743-744.
- Tan, J., Bednarek, P., Liu J., Schneider, B., Svatoš, Al., Hahlbrock, K. 2004. Universally occurring phenylpropanoid and species-specific indolic metabolites in infected and uninfected *Arabidopsis thaliana* roots and leaves. *Phytochemistry*: **65**, 691-699.
- Windholz, M., Budavari, S., Stroumtsos, L.Y., Fertig, M.N. 1976. *The merick index*. Ninth edition. Merck & Co., Rahway.
- World Health Organization. WHO/VBC/81.807. 1981. "Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides". 7 pp.
- Χανιώτης, Ν.Β. 2001. *Αρθρόποδα και δημόσια υγεία. Λοιμώξεις, αλλεργίες, εξωπαρασιτισμός*. Zymel, Αθήνα. 195 σελ.