

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

**ΜΕΛΕΤΗ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ-ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ
ΤΗ ΒΙΟ-ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΔΙΠΤΕΡΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ CULICIDAE**

Πτυχιακή εργασία
της σπουδάστριας **Μαρίας Γάνα**

Καλαμάτα, Σεπτέμβριος 2008

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

**ΜΕΛΕΤΗ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ-ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ
ΤΗ ΒΙΟ-ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΔΙΠΤΕΡΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ CULICIDAE**

Πτυχιακή εργασία
της σπουδάστριας **Μαρίας Γάνα**

Καλαμάτα, Σεπτέμβριος 2008

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

ΜΕΛΕΤΗ ΟΡΙΣΜΕΝΩΝ ΦΥΣΙΚΩΝ-ΧΗΜΙΚΩΝ ΠΑΡΑΓΟΝΤΩΝ ΠΟΥ ΕΠΗΡΕΑΖΟΥΝ
ΤΗ ΒΙΟ-ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΔΙΠΤΕΡΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ CULICIDAE

Πτυχιακή εργασία
της σπουδάστριας **Μαρίας Γάνα**

Επιβλέπων Καθηγητής: Δρ. Σταθός Γεώργιος
Επίκουρος Καθηγητής

Καλαμάτα, Σεπτέμβριος 2008

*Αφιερώνεται στην οικογένειά μου
και ιδιαίτερα στον πατέρα μου,
Σπόρο*

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γεωργικής Εντομολογίας του Τμήματος Εντομολογίας και Γ. Ζωολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω τους εξής:

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

Τον Δρα. Σταθά Γιώργο, Καθηγητή του ΤΕΙ 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.

Ευχαριστώ τον Δρα. Μιχαηλάκη Αντώνη, ερευνητή του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για την καθοδήγηση και για παρακολούθηση της πτυχιακής μου μελέτης σε όλα τα στάδια.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον κ. Γιώργο Κολιόπουλο, γεωπόνο του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου και υπεύθυνο του εργαστηρίου Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του τμήματος Ελέγχου Γεωργικών φαρμάκων και Φυτοφαρμακευτικής, για την καθοδήγηση και για παρακολούθηση της πτυχιακής μου μελέτης σε όλα τα στάδια.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ τον κ. Γιάννη Στάθη, 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 του πειράματος. Χωρίς αυτά τίποτα δεν θα είχε γίνει πράξη.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Σελίδα

Εισαγωγή.....	8
---------------	---

ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ.....	10
1.1 Υγειονομική σημασία.....	10
1.2 Βιολογία.....	11
1.3 Μορφολογία.....	13
1.3.1. Ωά.....	14
1.3.2.Προνύμφες.....	16
1.3.3. Νύμφες.....	17
1.3.4. Τέλεια έντομα.....	18
1.4. Διαχωρισμός κοινών και αναφελών κουνουπιών.....	20
1.4.1. Τέλεια έντομα.....	20
1.4.2. Pronύμφες.....	20
1.4.3. Ωά.....	21
2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ.....	22
2.1. Καταπολέμηση των προνυμφών.....	22
2.1.1. Περιορισμός των εστιών ανάπτυξης.....	22
2.1.2. Βιολογική καταπολέμηση.....	23
2.1.3. Χημική καταπολέμηση.....	24
2.2. Καταπολέμηση ακμαίων κουνουπιών.....	24
2.2.1. Υπολειμματικοί ψεκασμοί.....	24
2.2.2. Ψεκασμοί ανοιχτών χώρων.....	25

2.2.3. Καπνισμοί ανοιχτών χώρων.....	25
2.3.Ατομική προστασία.....	26

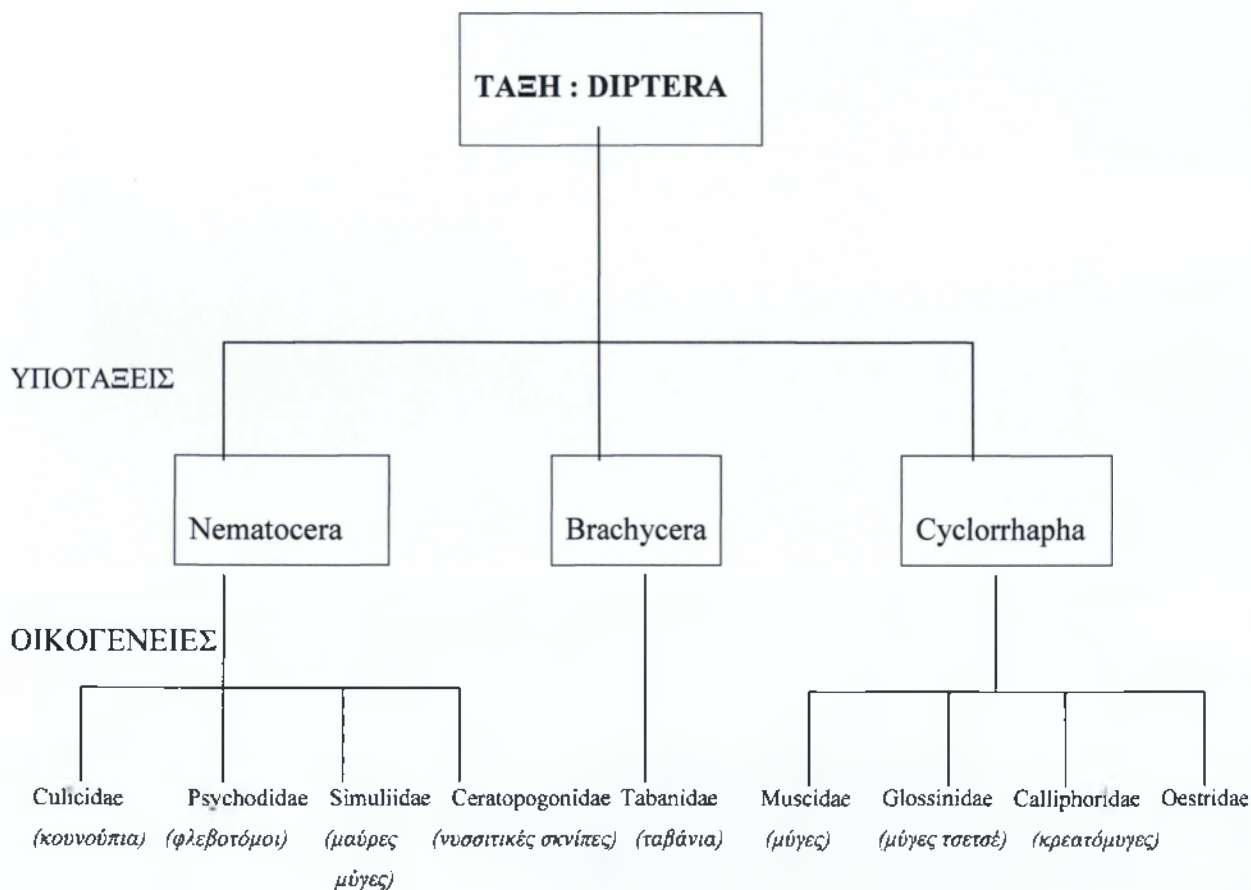
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	28
3.1. Βοτανικά παράγωγα με εντομοκτόνο δράση	31
4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	30
4.1. Γενικά.....	30
4.2. Εκτροφή.....	30
4.2.1. Ωά.....	30
4.2.2. Προνύμφες.....	30
4.2.3. Νύμφες.....	31
4.2.4. Ακμαία.....	32
4.3. Υλικά πειραμάτων προνυμφοκτονίας	33
4.4. Μονοτερπένια	34
5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	35
6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	38

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η τάξη των Διπτέρων (Diptera) περιλαμβάνει 100.000 περίπου γνωστά είδη και αποτελεί, από υγειονομική άποψη, τη σπουδαιότερη τάξη εντόμων. Πολλά είδη έχουν άμεση σχέση με τον άνθρωπο και το περιβάλλον στο οποίο διαβιεί ενώ αρκετά από αυτά είναι φορείς σοβαρών ασθενειών του ανθρώπου, των οικόσιτων ή άλλων ζώων.

Τα δίπτερα ταξινομικά διαιρούνται σε τρεις μεγάλες υποτάξεις: Nematocera, Brachycera και Cyclorrhapha. Η ονομασία των υποτάξεων οφείλεται στην κατασκευή και μορφολογία των κεραίων. Οι πιο σημαντικές οικογένειες διπτέρων από υγειονομική άποψη είναι:



ΘΕΩΡΗΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

1. ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ-ΓΕΝΙΚΑ

1.1. Υγειονομική σημασία

Ακόμη και σήμερα, τα κουνούπια θεωρούνται παγκοσμίως, τα πιο επικίνδυνα έντομα για τον άνθρωπο και είναι η κύρια αιτία που κάθε χρόνο εκατοντάδες χιλιάδες ανθρώπινες ζωές χάνονται από μεταδιδόμενες ασθένειες που φέρουν τα έντομα αυτά. Μόνο από την ελονοσία, σύμφωνα με στοιχεία του Παγκόσμιου Οργανισμού Υγείας, πάνω από 1 εκατομμύριο άνθρωποι, κυρίως παιδιά, πεθαίνουν κάθε χρόνο ενώ 270 εκατομμύρια ανθρώπων υπολογίζεται ότι είναι μολυσμένοι με κάποιο από τα παράσιτα της ασθένειας.

Στην Ελλάδα έχουν καταγραφεί περισσότερα από 50 είδη κουνουπιών, πολλά από τα οποία είναι μεγάλης υγειονομικής σημασίας για τον άνθρωπο και τα παραγωγικά ζώα. Είδη που συχνά παρατηρούνται σε μεγάλους πληθυσμούς και στην Ελλάδα είναι φορείς πολλών σοβαρών ασθενειών.

Τα είδη του γένους *Anopheles* είναι ξενιστές του πλασμοδίου της ελονοσίας. Από τα είδη αυτά, ιδιαίτερα επικίνδυνα είναι όσα παρουσιάζουν προτίμηση στο να μυζούν αίμα από τον άνθρωπο (ανθρωποφιλία) και είναι ενδόφιλα (δηλαδή μπαίνουν εύκολα μέσα στα σπίτια για αναζήτηση ξενιστή). Από τα είδη που απαντώνται στη χώρα μας 4 τουλάχιστον ανήκουν σε αυτή τη κατηγορία. Τα κοινά κουνούπια δεν είναι ξενιστές του πλασμοδίου της ελονοσίας του ανθρώπου αλλά είναι φορείς της ελονοσίας των πτηνών. Επίσης είδη των γενών *Culex* και *Aedes* είναι φορείς άλλων σοβαρών ασθενειών όπως ο ιός του κίτρινου και του δάγγειου πυρετού.



Εικ. 1,2. Ακμαία κουνούπια των ειδών *Culex pipiens* και *Aedes aegypti*

Επίσης τα κουνούπια είναι πρωταρχικής σημασίας φορείς των παθογόνων των φιλαριάσεων και των εγκεφαλιτιδων.

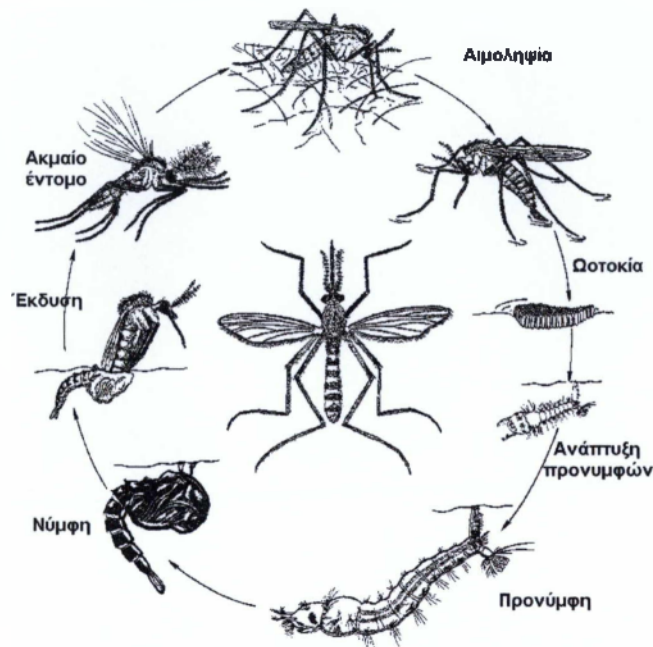
Ασθένειες όπως οι παραπάνω θεωρούνται αρκετά σοβαρές και είναι δυνατό να οδηγήσουν ακόμη και στο θάνατο. Η θεραπεία τους συχνά είναι δύσκολη και επίπονη ενώ το γεγονός ότι μπορούν να εμφανιστούν με τη μορφή επιδημιών ή και πανδημιών προδίδει έναν επιπλέον παράγοντα κινδύνου, ιδίως για πληθυσμούς με μικρά επίπεδα ανοσίας όπως ο δικός μας.

Το γεγονός ότι πολλές από τις ασθένειες αυτές έχουν εξαλειφθεί από τη Χώρα μας, δεν πρέπει να μας καθησυχάζει διότι πάντα υπάρχει κίνδυνος επανεισαγωγής τους. Είναι γνωστό ότι μεγάλος αριθμός αλλοδαπών που προέρχονται από χώρες στις οποίες ενδημούν τέτοιες ασθένειες (Πακιστάν, Φιλιππίνες, Αφρικανικές χώρες κ.λ.π.), ζουν και εργάζονται στην Ελλάδα ενώ κάθε χρόνο χιλιάδες τουρίστες μας επισκέπτονται από όλα τα μέρη του κόσμου. Επίσης το γεγονός ότι η Χώρα μας συνορεύει με χώρες που έχουν σχετικά χαμηλό βιοτικό επίπεδο και στις οποίες τα μέτρα υγιεινής συχνά παραμελούνται, θα πρέπει να μας κρατά σε ετοιμότητα ώστε να αποφευχθούν επικίνδυνες καταστάσεις.

Εκτός όμως από την πιθανότητα μετάδοσης ασθενειών, η ενόχληση και μόνο που προκαλείται από τα κουνούπια, όταν η πυκνότητά τους είναι μεγάλη, αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα των κατοίκων πολλών περιοχών της Χώρας μας. Σε πολλές αγροτικές κυρίως περιοχές η παραμονή και η εργασία εκτός των οικιών είναι σχεδόν αδύνατη κατά τους θερμούς μήνες ενώ πολλές παραθαλάσσιες ή παραλίμνιες περιοχές κυριολεκτικά ερημώνουν την καλοκαιρινή περίοδο. Οι επιπτώσεις της κατάστασης αυτής στην οικονομία των περιοχών αυτών είναι σημαντικές ενώ η παραπέρα γεωργική και τουριστική τους ανάπτυξη είναι αδύνατη εάν προηγουμένως δεν επιλυθεί το πρόβλημα της ενόχλησης από τα κουνούπια.

1.2. Βιολογία

Ο βιολογικός κύκλος του κουνουπιού περιλαμβάνει τα στάδια του ωού, της προνύμφης, της νύμφης και του ακμαίου. Σχηματικά ο βιολογικός κύκλος απεικονίζεται στην εικόνα 3.



Εικ. 3. Απεικόνιση βιολογικού κύκλου κουνουπιού του γένους *Aedes*

Τα κουνούπια ανάλογα με το είδος, παρουσιάζουν αρκετές διαφορές ως προς το είδος των εστιών ανάπτυξης των ατελών τους σταδίων. Έτσι ανάλογα με το είδος των εστιών ανάπτυξης των ατελών σταδίων συναντούμε είδη που προτιμούν γλυκά, υφάρμυρα, αλατούχα, στάσιμα, ψυχρά και θερμά νερά, μικρές ή μεγάλες συγκεντρώσεις νερού, κοιλάτητες δέντρων, πηγάδια κ.τ.λ. Επίσης συχνά διαφέρουν οι προτιμήσεις τους ως προς τους ξενιστές για τη λήψη αίματος και τις θέσεις διημέρευσης των τέλειων εντόμων.



Εικ. 4,5. Εστίες ωθσεσίας κουνουπιών



Εικ. 6. Χώροι στους οποίους συσσωρεύεται νερό ύστερα από κατάκλιση αποτελούν άριστες θέσεις ωστοκίας

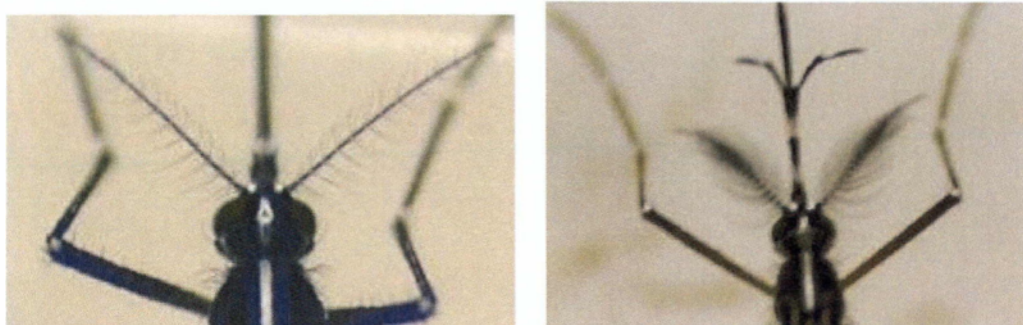
Ανάλογα με το είδος του ξενιστή που προτιμούν για την αιμοληψία τους μπορούμε να τα διακρίνουμε σε ανθρωπόφιλα (είδη με κύριους ξενιστές τους ανθρώπους), ζωόφιλα (κυρίως θηλαστικά), ορνιθόφιλα (πτηνά), ερπετόφιλα (ερπετά) κ.λ.π.

Με βάση τα σημεία όπου αναζητούν το 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 για την ανάπαυση τους μετά την αιμοληψία ή κατά την διάρκεια της ημέρας).

Η αναπαραγωγή των κουνουπιών γίνεται κυρίως τους θερμούς μήνες, περίοδο που εκδηλώνεται και η δραστηριότητά τους με την αναζήτηση των ξενιστών για την λήψη αίματος. Τους ψυχρούς μήνες συνήθως διαχειμάζουν ως γονιμοποιημένα θηλυκά σε πιο ζεστά και προφυλαγμένα σημεία. Με την άνοδο της θερμοκρασίας πραγματοποιείται η πρώτη ωστοκία, αφού πρώτα προηγηθεί μια αιμοληψία. Υπάρχουν όμως και είδη όπου διαχειμάζουν στο στάδιο του ωού ή ακόμα και της προνύμφης.

1.3. Μορφολογία

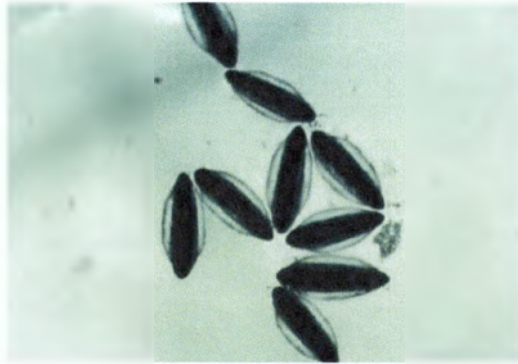
Τα κουνούπια όπως έχει ήδη αναφερθεί ανήκουν στην τάξη των διπτέρων (Diptera) που σημαίνει ότι είναι ολομετάβολα (δηλαδή έχουν τέλεια μεταμόρφωση), τα τέλεια φέρουν ένα ζεύγος μεμβρανώδων πτερύγων (ενώ το δεύτερο ζεύγος πτερύγων έχει μεταμορφωθεί σε μικρά ροπαλοειδή όργανα τους αλτήρες) και έχουν στοματικά μόρια μυζητικού τύπου. Στις ακόλουθες εικόνες μπορούμε να διακρίνουμε τις βασικές διαφορές μεταξύ των ακμαίων θυληκών και αρσενικών κουνουπιών.



Εικ. 7,8. Ακμαίο θυληκό και αρσενικό κουνούπι αντίστοιχα του γένους *Aedes*

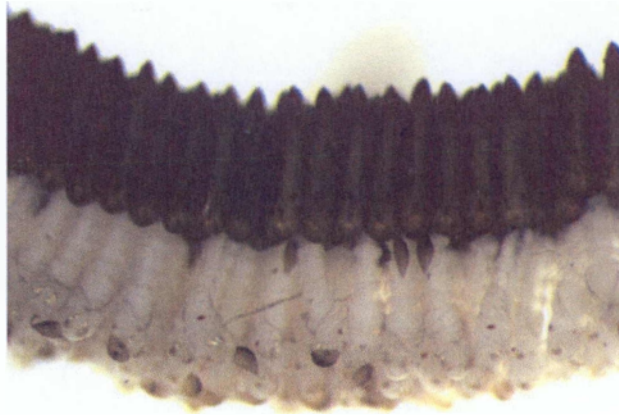
1.3.1. Ωά

Τα ωά των κουνουπιών έχουν μήκος περίπου 0,5 mm και όταν εναποτίθενται στην αρχή έχουν χρώμα λευκό και στη συνέχεια γίνονται μαύρα ή σκούρα καφέ μέσα σε 12 – 48 ώρες. Τα ωά τοποθετούνται μεμονωμένα από μερικά είδη (π.χ. *Aedes spp.*, *Anopheles spp.*) και κάποια άλλα γεννούν τα ωά τους σε σχεδίες (π.χ. *Culex spp.*). Η περίοδος επώασης των ωών (ο χρόνος μεταξύ της ωοτοκίας και εκκόλαψης) μπορεί να διαφέρει σημαντικά ανάμεσα στα είδη. Γενικά τα ωά τα οποία τοποθετούνται άμεσα στην επιφάνεια του νερού μπορούν να εκκολαφθούν σε 1-3 ημέρες ανάλογα με τη θερμοκρασία. Ορισμένα είδη όμως τοποθετούν τα ωά τους σε υγρό χώμα ή σε κάποιο άλλο υγρό υπόστρωμα και τότε ο χρόνος επώασης ποικίλλει αφού τα ωά αυτά



Εικ. 9,10,11. Ωά κουνουπιών των γενών *Aedes*, *Culex* και *Anopheles*

δεν πρόκειται να εκκολαφθούν μέχρι να κατακλυστούν από βρόχινο νερό, λιωμένο χιόνι ή να βρεθούν σε κάποια άλλη παρόμοια κατάσταση.



Sven-Erik Spichiger. PA DEP

Εικ. 12. Προνύμφες κουνουπιών του είδους *Culex pipiens* κατά την εκκόλαψη (hatching)

1.3.2. Προνύμφες

Οι προνύμφες όλων των ειδών των κουνουπιών (Culicidae), διαβιούν μέσα στο νερό και παρουσιάζουν γρήγορη κίνηση με χαρακτηριστικό γύρισμα της κοιλιάς τους. Ξεχωρίζουν εύκολα από τις υδρόβιες προνύμφες των άλλων εντόμων καθώς:

- α) δεν έχουν πόδια και
- β) ο θώρακάς τους είναι σφαιροειδής και πλατύτερος από το κεφάλι και την κοιλία.



Εικ. 13. Προνύμφη κουνουπιού

Έχουν 4 περιόδους ανάπτυξης τα οποία καλούνται ηλικίες. Οι ηλικίες αυτές ονομάζονται 1η, 2η, 3η και 4η, με κάθε αυξανόμενο στάδιο να είναι μεγαλύτερο σε μέγεθος από το προηγούμενο.

Η προνύμφη είναι ένα ενεργά τρεφόμενο στάδιο και η τροφή τους συνήθως από άλγη, πρωτόζωα και σωματίδια οργανικής ύλης που βρίσκονται στο νερό στο οποίο διαβιούν.

Η συνολική χρονική διάρκεια που περνούν οι προνύμφες σε αυτό το στάδιο εξαρτάται από το είδος και τη θερμοκρασία του νερού. Πολλές φορές όταν οι θερμοκρασίες είναι κατάλληλες και υπάρχει αρκετή τροφή ο χρόνος αυτός μπορεί να είναι αρκετά σύντομος όπως 5 – 7 ημέρες. Στο τέλος της ανάπτυξης της 4ης ηλικίας οι προνύμφες εκδύονται και περνούν στο νυμφικό στάδιο.

1.3.3. Νύμφες

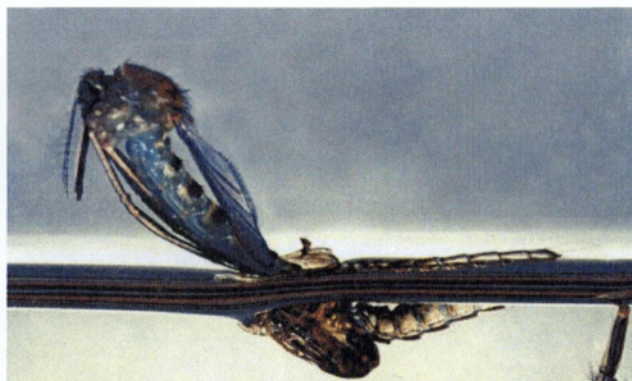
Σε αντίθεση με τα περισσότερα έντομα οι νύμφες των κουνουπιών είναι πολύ ενεργητικές και όπως και οι προνύμφες είναι και αυτές υδρόβιες. Διαφέρουν σημαντικά από τις προνύμφες σε σχήμα και μορφή. Το σώμα τους μοιάζει με κόμμα το οποίο διαιρείται σε δύο μέρη. Το μπροστινό μέρος είναι αρκετά μεγάλο και αποτελείται από το κεφάλι και το θώρακα (κεφαλοθώρακας). Το μέρος αυτό φέρει ένα ζεύγος αναπνευστικών χοανοειδών εξαρτημάτων στο μπροστινό του τμήμα για αυτό και κατά το μεγαλύτερο χρονικό διάστημα παραμένουν στην επιφάνεια του νερού.



Εικ. 14. Νύμφη κουνουπιού (pupa)

Το δεύτερο μέρος είναι η κοιλία η οποία αποτελείται από 9 τμήματα. Στο 9ο και τελευταίο τμήμα υπάρχει ένα ζευγάρι προσαρτημάτων που μοιάζουν με κουπιά και χρησιμεύουν στην κίνηση της νύμφης. Οι νύμφες δεν τρέφονται κατά τη διάρκεια του νυμφικού σταδίου.

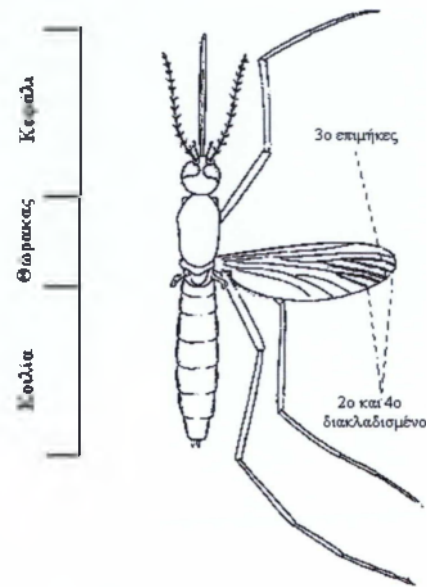
Όταν το ακμαίο σχηματίζεται πλήρως, η νύμφη αρχίζει να καταπίνει αέρα. Αυτό έχει ως συνέπεια να αυξηθεί η εσωτερική πίεση, που εξαναγκάζει ένα σκίσιμο στη μέση του νυμφικού θωρακικού τμήματος και το ακμαίο ξεπροβάλλει σιγά σιγά από το νυμφικό περίβλημα και στέκεται στην επιφάνεια του νερού. Το τμήμα που απομένει ονομάζεται *ruparium*.



Εικ. 15. Ακμαίο κουνουπιού κατά την έξοδό του από το *ruparium*

1.3.4. Τέλεια έντομα

Τα νεύρα των πτερόγων των κουνουπιών διακλαδίζονται έτσι ώστε να σχηματίζεται ένα χαρακτηριστικό απλό επιμήκες νεύρο (3ο επιμήκες) ανάμεσα σε δύο διακλαδισμένα (το 2ο και το 4ο). Στην εικόνα 16 φαίνεται αυτή η διάταξη.



Εικ. 16. Σχεδιάγραμμα πτέρυγας κουνουπιού

Την ίδια διακλάδωση έχουν και τα είδη των οικογενειών των Διπτέρων Dixidae και Chaoboridae με τη διαφορά ότι αυτά έχουν λέπια μόνο στην περιφέρεια των πτερύγων ενώ τα Culicidae έχουν λέπια και στα νεύρα.

Οι οικογένειες Dixidae και Chaoboridae δεν παρουσιάζουν κανένα υγειονομικό ενδιαφέρον γιατί τα στοματικά τους μόρια είναι κοντά και ακατάλληλα να μυζούν αίμα ή να τσιμπούν. Σε σπάνιες περιπτώσεις μπορεί να γίνουν ενοχλητικά όταν παρουσιάζονται σε μεγάλη πυκνότητα.

Στα Culicidae αντίθετα, τα στοματικά μόρια είναι προσαρμοσμένα στο να τσιμπούν και διαθέτουν για αυτό μεγάλη μακριά προβοσκίδα.

Η Culicidae χωρίζεται σε 3 υποοικογένειες.

α) Toxorhynchitinae, τα οποία βρίσκονται κυρίως σε τροπικές χώρες και δεν παρουσιάζουν υγειονομικό ενδιαφέρον.

β) Anophelinae (ανωφελή κουνούπια)

γ) Culicinae (κοινά κουνούπια)

1.4. Διαχωρισμός κοινών και ανωφελών κουνουπιών

Στην Ελλάδα έχουν καταγραφεί 53 είδη κουνουπιών. Στο γένος *Anopheles* κατατάσσονται 14 είδη τα οποία είναι γνωστά ως ανωφελή κουνούπια. Τα υπόλοιπα είδη ανήκουν στα κοινά κουνούπια με σημαντικότερη γένη τα *Aedes*, *Ochlerotatus* και *Culex*. Τα ανωφελή από τα κοινά κουνούπια ξεχωρίζουν από τα ακόλουθα χαρακτηριστικά:

1.4.1. Τέλεια έντομα

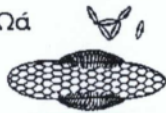


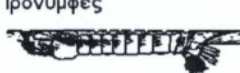








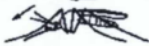





- α) Στα ανωφελή οι χειλικές προσαρκτρίδες και των δύο φύλων είναι μακρυές όσο και η προβοσκίδα τους ενώ στα κοινά αυτό ισχύει μόνο για τα αρσενικά. Στα θηλυκά είναι μικρότερες δηλαδή έχουν μήκος μικρότερο από το μισό του μήκους της προβοσκίδας.
- β) Το πίσω μέρος του θώρακα (θυρεός) των ανωφελών είναι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

1.4.2. Προνύμφες

- α) Οι προνύμφες των κοινών κουνουπιών φέρουν αναπνευστικό σιφώνιο στο τελευταίο κοιλιακό τμήμα ενώ τα ανωφελή δεν διαθέτουν τέτοια κατασκευή και η αναπνοή τους γίνεται μέσω αναπνευστικών στιγμάτων.
- β) Η στάση του σώματος των ανωφελών μέσα στο νερό είναι παράλληλη προς την επιφάνεια του νερού ενώ των κοινών σχηματίζει γωνία.
- γ) Τα ανωφελή την ώρα που τρέφονται γυρίζουν το κεφάλι τους κατά 180°, δηλαδή η κάτω επιφάνεια έρχεται επάνω ενώ τα κοινά δεν κάνουν κάτι τέτοιο.

1.4.3. Ωά

Τα ωά των ανωφελών τοποθετούνται ένα-ένα και στο πλάι συνήθως διαθέτουν ειδικούς σάκους με αέρα που τα βοηθούν να επιπλέουν (πλωτήρες). Τα ωά των κοινών κουνουπιών δεν έχουν πλωτήρες και τοποθετούνται είτε ένα-ένα, όπως στα κουνούπια του γένους *Aedes*, είτε ενωμένα σε ομάδες της μιας ωοτοκίας, όπως στο γένος *Culex*, οι οποίες ονομάζονται «σχεδίες».

<i>Anopheles</i>	<i>Aedes</i>	<i>Culex</i>
Ωά 		
Προνύμφες 		
Νύμφες 		
Ακμαία   	  	  

Εικ. 17. Συγκεντρωτικός πίνακας των σημαντικότερων διαφορών μεταξύ των κουνουπιών *Anopheles*, *Aedes* και *Culex*

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. Καταπολέμηση των προνυμφών

2.1.1. Περιορισμός των εστιών ανάπτυξης

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

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

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 βακίλλου *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (B.t.i.) ή του *Bacillus sphaericus* (B.s.).

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

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

Κατά το παρελθόν έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για την καταπολέμηση των κουνουπιών και ειδικότερα των ανωφελών που είναι υπεύθυνα για τη μετάδοση της ελονοσίας και 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.

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

2.2. Καταπολέμηση ακμαίων κουνουπιών

Όπως έχει αναφερθεί τα κουνούπια, ανάλογα με το είδος, παρουσιάζουν αρκετές διαφορές ως προς την προτίμηση των ξενιστών και τις θέσεις διημέρευσης των τελείων εντόμων. Η καταπολέμηση των ακμαίων κουνουπιών θα πρέπει να εφαρμόζεται ως συμπλήρωμα της καταπολέμησης των προνυφών 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 ετοιμάζονται να διαχειμάσουν. Αυτό θα περιορίσει στο ελάχιστο τον αριθμό των ατόμων που θα δραστηριοποιηθούν την επόμενη άνοιξη. Ένας ενδιάμεσος ψεκασμός τον Ιούνιο θα πρέπει να γίνει μόνο όταν υπάρχει πολύ έντονο πρόβλημα.

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

2.2.2. Ψεκασμοί ανοικτών χώρων

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

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

2.2.3. Καπνισμοί εσωτερικών χώρων

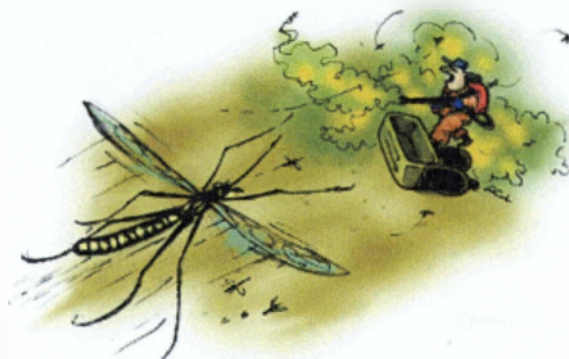
Γίνεται με διάχυση στον αέρα πτητικών βιοκτόνων και έχει ως αποτέλεσμα την απόθεση περισσότερο παρά τη θανάτωση των κουνουπιών. Για τον καπνισμό χρησιμοποιούνται πτητικά βιοκτόνα όπως φυσικές πυρεθρίνες και συνθετικά πυρεθροειδή, σε τρεις κυρίως μορφές σκευασμάτων: καπνογόνες σπείρες, ηλεκτροθερμενόμενα πλακίδια και υγρά.

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

2.3. Ατομική προστασία

Η ατομική προστασία επιτυγχάνεται είτε με μηχανική προστασία του χώρου διαβίωσης (λεπτά πλέγματα σε πόρτες και παράθυρα, κουνουπιέρες κλπ.), είτε με τη χρήση απωθητικών ουσιών.

Από τις ουσίες με απωθητική δράση στα κουνούπια τα καλύτερα αποτελέσματα έχει δώσει το DEET (diethyltoluamide) το οποίο κυκλοφορεί σε διάφορες μορφές σκευασμάτων όπως γαλακτώματα, λοσιόν, στικ, αερολύματα κ.α. με τα οποία επιτυγχάνεται προστασία των ακάλυπτων μερών του σώματος για κάποιες ώρες.



ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

3. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

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 ωθοεσίας 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.

Στη παρούσα μελέτη ως προνομφοκτόνα κουνουπιών αξιολογούνται μερικά μονοτερπένια τα οποία απαντώνται συχνά σε αιθέρια έλαια των φυτών της οικογένειας *Lamiaceae*. Κύριος στόχος είναι η εξαγωγή συμπερασμάτων σχετικά με τη σχέση δομής δράσης.

3.1 Βοτανικά παράγωγα με εντομοκτόνο δράση

Είναι γνωστό από πολύ παλιά ότι πολλά φυτά έχουν αναπτύξει διάφορους αμυντικούς μηχανισμούς για να προστατεύονται από τους εχθρούς τους (Chamberlain et al. 2000). Μεταξύ αυτών των μηχανισμών είναι και η παραγωγή ουσιών που έχουν απωθητικές ή και εντομοκτόνες ιδιότητες. Γνωστότερη περίπτωση ίσως είναι αυτή του «πυρέθρου», το οποίο παράγεται από ένα είδος χρυσανθέμου (*Chrysanthemum cinerariaefolium*, Compositae), χρησιμοποιείται πάνω από 100 χρόνια και έχει οδηγήσει μάλιστα και στη δημιουργία μια ολόκληρης ομάδας εντομοκτόνων, των συνθετικών πυρεθροειδών. Τα συνθετικά πυρεθροειδή προέρχονται από τις πυρεθρίνες και είναι εντομοκτόνα με ευρύ φάσμα εντομοτοξικής δράσης, με υπολειμματική διάρκεια που ποικίλει με το κάθε πυρεθροειδές.

Στις μέρες μας το αυξημένο ενδιαφέρον της επιστημονικής κοινότητας για προϊόντα που προέρχονται από φυτά μας οδήγησε στο να γνωρίζουμε ότι υπάρχουν περισσότερα από 2000 είδη φυτών που παράγουν χημικές ενώσεις με εντομοκτόνες ιδιότητες (Macedo et al. 1997; El Hag et al. 1999; Rahuman et al. 2000; Ratnayake et al. 2001; Mongelli et al. 2002; Trabousli et al. 2002; Yang et al. 2002; Jeyabalan et al. 2003; Yang et al. 2003; Cheng et al. 2004; Joseph et al. 2004). Εκτός από το πύρεθρο, έχουν αναφερθεί περισσότερα από 340 είδη φυτών για τα οποία έχει αποδειχθεί ότι διαθέτουν κουνουποκτόνες ιδιότητες (Sukumar et al. 1991). Πολλές από αυτές τις νέες χημικές ενώσεις έχουν ληφθεί από φυτά που ανήκουν στην οικογένεια Lamiaceae και έχουν δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα για πιθανή μελλοντική χρήση τους σε προγράμματα καταπολέμησης κουνουπιών (Sukumar et al. 1991; Trabousli et al. 2002). Ένα σημαντικό πρόβλημα αξιοποίησης αυτών των αποτελεσμάτων για τη χώρα μας είναι το γεγονός ότι τα περισσότερα από τα φυτά αυτά δεν απαντώνται στη χώρα μας.

Στην οικογένεια Lamiaceae (τάξη Lamiales, υποτάξη Asteridae, Δικοτυλίδονα) περιλαμβάνονται περίπου 6700 είδη (από 251 γένη) με παγκόσμια διασπορά, εκ των οποίων 450 είδη παρατηρούνται στην Ευρώπη.

4. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. Γενικά

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μπεννακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου.

Τα πειράματα έγιναν σε χώρο απαλλαγμένο από χημικές ουσίες, χωρίς ρεύματα αέρα και απότομες αλλαγές θερμοκρασίας ενώ η θέση εκτέλεσης των πειραμάτων ήταν μακριά από την άμεση επίδραση των ηλιακών ακτίνων.

4.2. Εκτροφή

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 γύρω στο $75\pm 5\%$. Οι συνθήκες αυτές διατηρούνται στα επίπεδα που προαναφέρθηκαν καθ' όλη την διάρκεια του χρόνου.

Η διαδικασία της εκτροφής ανά στάδιο περιγράφεται συνοπτικά στη συνέχεια.

4.2.1. Ωά

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

4.2.2. Προνύμφες

Η εκτροφή των προνυμφών γίνεται σε εμαγιέ λεκάνες διαστάσεων 28 cm και ανοικτού χρώματος για την εύκολη διάκρισή τους.



Εικ. 21. Λεκάνες εκτροφής προνυμφών

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. Η χορήγηση τροφής στις προνύμφες γίνεται κάθε μέρα. Ο χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωση του προνυμφικού σταδίου κυμαίνεται από 7-23 μέρες, ανάλογα με τις συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας και τη διαθεσιμότητα τροφής.

4.2.3. Νύμφες

Όταν ολοκληρωθεί το προνυμφικό στάδιο, οι προνύμφες μεταμορφώνονται σε νύμφες. Οι νύμφες συλλέγονται με ειδικά εργαλεία από τις λεκάνες εκτροφής σε πλαστικά κύπελλα 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. Η συχνότητα συλλογής νυμφών είναι κάθε δύο ημέρες. Το νυμφικό στάδιο διαρκεί περίπου 3 – 4 ημέρες.



Εικ. 22. Κλωβός εκτροφής ακμαίων και τοποθέτησης νυμφών

4.2.4. 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. Δύο τέτοια διαλύματα είναι τοποθετημένα στον κλωβό και αντικαθιστώνται από καινούρια κάθε 4 μέρες.

4.3. Υλικά πειραμάτων προνυμφοκτονίας

Οι βιοδοκιμές βασίστηκαν στη μέθοδο που προτείνει η Παγκόσμια οργάνωση Υγείας (WHO 1981) με κάποιες τροποποιήσεις ή παραδοχές. Εν συντομία, τα βασικά στοιχεία της μεθόδου ήταν τα εξής:


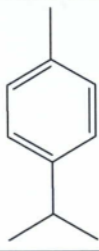
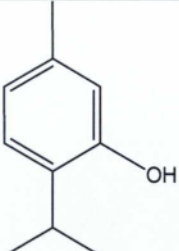
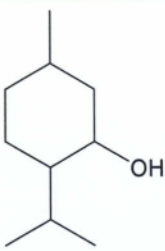

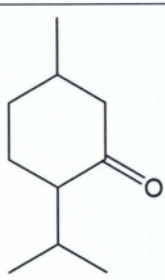
- α) χρησιμοποιήθηκαν γυάλινα ποτήρια ζέσεως χωρητικότητας 250ml περίπου,
- β) η ποσότητα του νερού (αποχλωριωμένο) με την αντίστοιχη δόση του βιοκτόνου στο κάθε ποτήρι ήταν 200 ml,
- γ) τα μητρικά διαλύματα (1% stock solution) των ενώσεων παρασκευάστηκαν με αιθανόλη (καθαρότητας 99%),
- δ) μετρήσεις ελήφθησαν για 72 ώρες (ανά 24 ώρες),
- δ) κάθε δόση μπήκε σε 5 ποτήρια (πέντε επαναλήψεις) και
- ζ) σε κάθε ποτήρι τοποθετήθηκαν 20 προνύμφες κουνουπιών, ανεπτυγμένες τρίτου ή νεαρές τετάρτου σταδίου.

Οι βιοδοκιμές έγιναν σε χώρο του εργαστηρίου και του εντομοτροφείου 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 τοποθετήθηκαν σε κλίβανο για μερικές ώρες. Πριν από την χρησιμοποίησή τους επίσης ξεπλύθηκαν με ακετόνη τουλάχιστον τρεις φορές. Οι κλωβοί των βιοδοκιμών πριν τη χρησιμοποίησή τους είχαν καθαριστεί προσεκτικά και απολυμανθεί με ατμό.

4.4. Μονοτερπένια

Τα μονοτερπένια που επιλέχθηκαν στην παρούσα εργασία φαίνονται αναλυτικά στον Πίνακα 1.

Όνομα	Δομή	Όνομα	Δομή
<i>p</i> -menthane		<i>p</i> -cymene	
Thymol		Menthol	
Cineole (eucalyptole)		Menthone	

Πίνακας 1. Χημικές δομές των μονοτερπενίων που χρησιμοποιήθηκαν για βιοδοκιμή

5. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ-ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών φαίνονται συγκεντρωτικά στο Πίνακα 2. Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων έγινε καταγραφή της θνησιμότητας στις 24 και 48 h. Για κάθε εφαρμογή υπολογίστηκε το ποσοστό θνησιμότητας και με τη βοήθεια στατιστικού πακέτου υπολογίστηκαν οι δείκτες LC_{50} και LC_{90} για τις 48 ώρες (SPSS 11.0).

Όνομα	LD_{50}	LD_{90}
<i>p</i> -menthane	98.95 (92.32-105.37)	138.72 (127.26-159.03)
<i>p</i> -cymene	21.31 (19.21-23.34)	33.38 (29.38-41.90)
Cineole (eukalyptole)	> 200	-
Menthol	120.97 (105.35-130.02)	170.45 (157.72-199.31)
Menthone	111.11 (104.54-116.67)	152.63 (145.23-162.51)
Thymol	21.06 (20.08-22.04)	28.25 (26.85-30.83)

Πίνακας 2. Αποτελέσματα των υπό εξέταση μονοτερπενίων

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως ο κύριος στόχος της παρούσας μελέτης είναι η εξαγωγή συμπερασμάτων της σχέσης δομής δράσης. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιήθηκαν μονοτερπένια σε πειράματα προνυμφοκτονίας κουνουπιών. Από τα αποτελέσματα μπορούμε να συμπεράνουμε τα εξής:

A) Μεταξύ του *p*-menthane και του *p*-cymene γίνεται αντιληπτό ότι η παρουσία διπλών δεσμών (συζυγιακών) ενισχύει την προνυμφοκτόνο δράση ενός μονοτερπενίου.

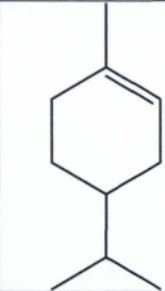
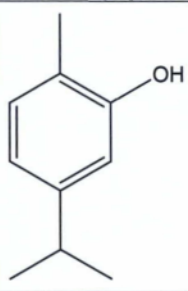
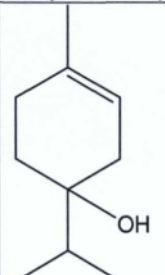
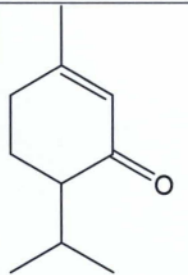
B) Στην περίπτωση του *p*-menthane και της Cineole (eukalyptole) φαίνεται ότι η παρουσία οξυγόνου μειώνει σημαντικά τη δράση.

Γ) Οι ενώσεις Menthol και Menthone έχουν αντίστοιχα οξυγόνο με τη μορφή αλκοόλης και κετόνης. Και στις δύο περιπτώσεις η δράση είναι ελαφρώς μειωμένη σε σχέση με εκείνη του *p*-menthane. Το γεγονός αυτό ενισχύει την υπόθεση μας για την αρνητική δράση του οξυγόνου.

Δ) Τέλος, στην περίπτωση της Thymol η προνυμφοκτόνος δράση είναι ίδια περίπου με εκείνη του *p*-cymene. Το μόριο της Thymol εμφανίζει οξυγόνο στο μόριο του αλλά παρόλ' αυτά η δράση του είναι αρκετά αξιόλογη.

Από τα παραπάνω συμπεράσματα μπορούμε να υποθέσουμε ότι η παρουσία του οξυγόνου στα μόρια των μονοτερπενίων μπορεί να επηρεάσει τη δραστηριότητά τους (σε επίπεδο προνυμφοκτονίας κουνουπιών) είτε αρνητικά και είτε θετικά. Ο τελικός τρόπος εξαρτάται άμεσα με την παρουσία ή όχι διπλών δεσμών. Πιο συγκεκριμένα η απουσία διπλών δεσμών δείχνει να με επηρεάζει αρνητικά την τελική δράση. Αντιθέτως, η παρουσία συζυγιακών διπλών δεσμών ενισχύει τη δράση ακόμα και στην περίπτωση που υπάρχει οξυγόνο στο μόριο.

Για τη ενίσχυση των παραπάνω υποθέσεων δοκιμάστηκαν επίσης τρία μόρια μερικά από τα οποία όμως δεν υπάρχουν μέσα σε εκχυλίσματα. Η επιλογή τους έγινε καθαρά με γνώμονα τη δομή τους και προκειμένου να μπορούν να επιβεβαιώσουν ή να απορρίψουν τις παραπάνω υποθέσεις μας (βλέπε Πίνακα 3).

Όνομα	Δομή	Όνομα	Δομή
(+)- <i>p</i> -menth-1-ene		Carvacrol	
(+)-terpinene-4-ol		Piperitone	

Πίνακας 3. Χημικές δομές των μονοτερπενίων που χρησιμοποιήθηκαν για βιοδοκιμή (συνέχεια)

Από τα νέα αποτελέσματα γίνεται αντιληπτό ότι οι προηγούμενες υποθέσεις εν μέρει επιβεβαιώνονται (βλέπε Πίνακα 4). Αναλυτικότερα έχουμε:

A) Η σύγκριση (+)-*p*-menth-1-ene και (+)-terpinene-4-ol επιβεβαιώνει την υπόθεση ότι η παρουσία οξυγόνου μειώνει τη δράση και ειδικότερα απουσία διπλών συζυγιακών δεσμών.

B) Η Carvacrol εμφανίζει δράση παρόμοια με εκείνη της Thymol. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι στην περίπτωση των συζυγιακών δεσμών η παρουσία οξυγόνου, ανεξαρτήτως από τη θέση πάνω στο μόριο, δεν επηρεάζει το τελικό αποτέλεσμα.

Τέλος, η περίπτωση της Piperitone μας αποκαλύπτει ότι πιθανότατα η θέση αλλά και η μορφή με την οποία δεσμεύεται το οξυγόνο πάνω στο μόριο μπορεί να επηρεάσει τη σχέση δομής-δράσης.

Τα νέα αυτά ευρήματα μας υποχρεώνουν να σχεδιάσουμε νέα πειράματα προκειμένου να διερευνήσουμε τον τρόπο που το οξυγόνο επηρεάζει τη δράση των μονοτερπενίων ως προνυμφοκτόνα κουνουπιών.

Όνομα	LD ₅₀	LD ₉₀
(+)- <i>p</i> -menth-1-ene	51.56 (47.63-55.91)	70.61 (63.30-87.83)
(+)-terpinene-4-ol	> 200	-
Piperitone	75.91 (72.54-79.20)	97.31 (92.16-104.84)
Carvacrol	27.15 (25.29-29.29)	44.46 (39.79-51.79)

Πίνακας 4. Αποτελέσματα των υπό εξέταση μονοτερπενίων (συνέχεια).

6. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Chamberlain, K., J. A. Pickett and C. M. Woodcock. 2000. Plant signaling and induced defense in insect attack. *Mol. Plant Physiol.* 1: 67-72.
- Cheng, S.-S., J.-Y. Liu, K.-H. Tsai, W.-J. Chen and S.-T. Chang. 2004. Chemical Composition and Mosquito Larvicidal Activity of Essential Oils from Leaves of Different *Cinnamomum osmophloeum* Provanances. *J. Agric. Food Chem.* 52: 4395-4400.
- El Hag, E. A., A. H. El Nadi and A. A. Zaitton. 1999. Toxic and Growth Retarding Effects of Three Plant Extracts on *Culex pipiens* Larvae (Diptera: Culicidae). *Phytother. Res.* 13: 388-392.
- Jeyabalan, D., N. Arul and P. Thangamathi. 2003. Studies on effects of *Pelargonium citrosa* leaf extracts on malarial vector *Anopheles stephensi* Liston. *Bioresource Technol.* 89: 185-189.
- Joseph, C. C., M. M. Ndoile, R. C. Malima and M. H. H. Nkunya. 2004. Larvicidal and mosquitocidal extracts, a coumarin, isoflavonoids and pterocarpanes from *Neorautanemia mitis*. *T. Roy. Soc. Trop. Med. H.* 98: 451-455.
- Macedo, M. E., R. A. G. B. Consoli, T. S. M. Grandi, M. G. Antonio dos Anjos, B. Alaide de Oloveira, N. M. Mendes, R. O. Queiroz and C. L. Zani. 1997. (?) Screening of Asteraceae (Compositae) Plant extracts for Larvicidal Activity against *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* 92: 565-570.
- Mongelli, E., J. Coussio and G. Ciccía. 2002. Investigation of the Larvicidal Activity of *Pothomorphe peltata* and Isolation of the Active Constituent. *Phytother. Res.* 16: S71-S72.
- Rahuman, A. A., G. Gopalakrishnan, B. S. Ghouse, S. Arumugam and B. Himalayan. 2000. Effect of *Feronia limonia* on mosquito larvae. *Fitoterapia* 71: 553-555.
- Ratnayake, R., V. Karunaratne, B. M. Ratnayake Bandara and V. Kumar. 2001. Teo New Lactones with Mosquito Larvicidal Activity from Three *Hortonia* species. *J. Nat. Prod.* 64: 376-378.
- Sukumar, K., M. J. Perich and L. R. Boobar. 1991. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 7: 210-237.

- Trabousli, A. F., K. Taoubi, S. El-Haj, J. M. Bessiere and S. Rammal. 2002. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest Manag. Sci.* 58: 491-495.
- WHO. 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides. Geneva, World Health Organization.
- Yang, Y.-C., S.-G. Lee, H.-K. Lee, M.-K. Kim, S.-H. Lee and H.-S. Lee. 2002. A Piperidine Amide Extracted from *Piper longum* L. Fruit Shows Activity against *Aedes aegypti* Mosquito Larvae. *J. Agric. Food Chem.* 50: 3765-3767.
- Yang, Y.-C., M.-Y. Lim and H.-S. Lee. 2003. Emodin Isolated from *Cassia obtusifolia* (Leguminosae) Seed Shows Larvicidal Activity against Three Mosquito Species. *J. Agric. Food Chem.* 51: 7629-7631.