

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

Τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα ενήλικα του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) – (ασιατικό κουνούπι τίγρης) των αιθέριων ελαίων φυτών της οικογένειας *Lamiaceae* και συστατικών τους



ΚΑΡΡΑΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

Καλαμάτα, Ιούνιος 2013

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

Τοξική δράση στις προνύμφες και απωθητική δράση στα ενήλικα του *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) – (ασιατικό κουνούπι τίγρης) των αιθέριων ελαίων φυτών της οικογένειας Lamiales και συστατικών τους

ΚΑΡΡΑΣ ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

Επιβλέπων Καθηγητής: Δρ. Σταθός Γεώργιος
Αναπληρωτής καθηγητής

Καλαμάτα, Ιούνιος 2013

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η εργασία αυτή εκπονήθηκε στα Εργαστήρια Γεωργικής Ζωολογίας και Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Στο σημείο αυτό θα ήθελα να ευχαριστήσω τους εξής:

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

Ευχαριστώ θερμά τον Δρ. Παπαχρήστο Δημήτρη, Ερευνητή του Εργαστηρίου Γ. Εντομολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου και επιβλέποντα ερευνητή της πτυχιακής μου διατριβής για τις πολύτιμες συμβουλές του και τον σχεδιασμό των βιοδοκιμών.

Ευχαριστώ θερμά τον Δρ. Μιχαηλάκη Αντώνη, Ερευνητή του Εργαστηρίου Γ. Εντομολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου για τις πολύτιμες συμβουλές του και το σχεδιασμό των βιοδοκιμών.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Υποψήφιο Διδάκτορα Γιατρόπουλο Αθανάσιο, Γεωπόνο M.Sc. του εργαστηρίου Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για την καθοδήγηση και παρακολούθηση της πτυχιακής μου μελέτης σε όλα τα στάδια και την σημαντική συμβολή του στην εκπόνησή της.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ Κολιόπουλο Γεώργιο, Γεωπόνο του εργαστηρίου Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για την συμβολή του στην εκπόνηση της πτυχιακής μου μελέτης.

Τον Δρ. Σταθά Γεώργιο, Αν. 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.

Τον συμφοιτητή μου Δημητρούλη Νικόλαο για την πολύτιμη βοήθειά του καθ' όλη την διάρκεια εκτέλεσης των βιοδοκιμών και διατήρησης της εκτροφής κουνουπιών.

Τον Δρ. Μπαδιεριτάκη Ευάγγελο για την βοήθεια που μου παρείχε κατά την εκτροφή κουνουπιών.

Περιεχόμενα

1.1. Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ	10
1.2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ – ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ	13
1.2.1. ΩΟ	15
1.2.2. ΠΡΟΝΥΜΦΗ	15
1.2.3. ΝΥΜΦΗ.....	17
1.2.4. ΑΚΜΑΙΟ	18
1.3. ΒΙΟΛΟΓΙΑ-ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ <i>AEDES ALBOPICTUS</i>	22
1.3.1 ΕΞΑΠΛΩΣΗ ΤΟΥ <i>AEDES ALBOPICTUS</i>	23
1.3.2 ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ	24
2.1. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ	26
2.1.1. ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΣ ΤΩΝ ΕΣΤΙΩΝ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ	26
2.1.2. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ	27
2.1.3. ΧΗΜΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ	27
2.2. ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΑΚΜΑΙΩΝ ΚΟΥΝΟΥΠΙΩΝ.....	28
2.2.1. ΥΠΟΛΕΙΜΜΑΤΙΚΟΙ ΨΕΚΑΣΜΟΙ	28
2.2.2. ΨΕΚΑΣΜΟΙ ΑΝΟΙΚΤΩΝ ΧΩΡΩΝ.....	29
2.2.3. ΚΑΠΝΙΣΜΟΙ ΕΣΩΤΕΡΙΚΩΝ ΧΩΡΩΝ	29
2.3. ΑΤΟΜΙΚΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ	29
3.1. ΓΕΝΙΚΑ ΠΕΡΙ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ.....	31
3.2. ΣΥΝΘΕΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ.....	31
3.3. ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ	32
3.4. ΠΑΡΑΛΑΒΗ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ	33
3.5. ΔΙΑΤΗΡΗΣΗ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ	35
3.6. ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ	36
3.7. ΕΠΙΔΡΑΣΕΙΣ ΤΩΝ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΣΤΑ ΕΝΤΟΜΑ.....	36
3.8. ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ LAMIACEAE ΚΑΙ ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ	37
4.1 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ	39
5.1 ΕΚΤΡΟΦΗ ΤΟΥ <i>AEDES ALBOPICTUS</i>	41
6.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΤΟΞΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΣΤΙΣ ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ ΚΑΙ ΑΠΩΘΗΤΙΚΗΣ ΔΡΑΣΗΣ ΣΤΑ ΕΝΗΛΙΚΑ ΤΟΥ <i>AEDES ALBOPICTUS</i> ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ ΦΥΤΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ LAMIACEAE	44

6.2. ΦΥΤΙΚΑ ΜΕΡΗ	44
6.2.1 ΧΗΜΙΚΑ ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ	47
6.2.2 ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΑΙΘΕΡΙΩΝ ΕΛΑΙΩΝ	47
6.2.3 ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	48
6.3 ΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΤΟΥ <i>AEDES ALBORICTUS</i>	48
6.3.1 ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ	48
6.3.2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ	51
6.4. ΑΠΩΘΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΤΟΥ <i>AEDES ALBORICTUS</i>	51
6.4.1. ΔΙΕΝΕΡΓΕΙΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ	51
6.4.2. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.	53
7.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	55
7.1.1 ΦΥΤΟΧΗΜΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ	55
7.1.2. ΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΤΟΥ <i>AEDES ALBORICTUS</i>	59
7.1.3. ΑΠΩΘΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΤΟΥ <i>AEDES ALBORICTUS</i>	62
8.1 ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	65
8.1.2 ΤΟΞΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΩΝ ΠΡΟΝΥΜΦΩΝ ΤΟΥ <i>AEDES ALBORICTUS</i>	65
8.2.1. ΑΠΩΘΗΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΕΝΑΝΤΙΟΝ ΤΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΤΟΥ <i>AEDES ALBORICTUS</i>	69
8.3. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	72
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	74

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 (Εμμανουήλ, 1999)










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

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

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

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

ΠΙΝΑΚΑΣ Ε.1. Σημαντικότερες οικογένειες Διπτέρων υγειονομικής σημασίας.

<u>ΤΑΞΗ</u>	<u>ΥΠΟΤΑΞΕΙΣ</u>	<u>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ</u>	
DIPTERA	Nematocera	Culicidae	
		Psychodidae	
		Simuliidae	
		Ceratopogonidae	
	Brachycera	Tabanidae ¹	
		Muscidae	
		Glossinidae	
		Calliphoridae	
		Oestridae	

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

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, Ceratorogonidae, Psychodidae, Hippoboscidae) (Εμμανουήλ, 1999).

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

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

- Τα μη αιμομυζητικά. Στην κατηγορία αυτή είδη με σημαντικό υγειονομικό ενδιαφέρον είναι 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

ΤΑ ΚΟΥΝΟΥΠΙΑ ΚΑΙ Η ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ ΤΟΥΣ

1.1. Η υγειονομική σημασία των κουνουπιών

Τα κουνούπια ανήκουν στην οικογένεια Culicidae, στην υποτάξη Nematocera και στην τάξη Diptera. Η οικογένεια Culicidae διαιρείται σε τρεις υποοικογένειες τις: Toxorhynchitinae, Anophelinae και Culicinae. Στην πρώτη υπάγεται το γένος *Toxorhynchites*, τα είδη του οποίου δεν είναι αιμομυζητικά, οι δε προνύμφες τους, θεωρούνται ωφέλιμες, ως αρπακτικές άλλων προνυμφών Culicidae. Στα Anophelinae υπάγεται το γένος *Anopheles* πολλά είδη, του οποίου μεταδίδουν την ελονοσία στον άνθρωπο. Ενώ στα Culicinae υπάγονται περισσότερα γένη, των οποίων τα πιο ενδιαφέροντα είναι τα *Aedes*, *Culex*, *Culiceta*, *Psorophora* και *Mansonia* με πολυάριθμα είδη, πολλά από τα οποία είναι φορείς σπουδαίων παθογόνων και παρασίτων (ιών, βακτηρίων, κ.α.) του ανθρώπου (Μπέτζιος, 1989; Πελεκάσης, 1994).

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Η γεωγραφική κατανομή του κίτρινου πυρετού περιορίζεται σε χώρες της Αφρικής, όπου μεταδίδεται και με τους δύο κύκλους και της Νότιας Αμερικής, όπου μεταδίδεται σχεδόν αποκλειστικά με το δασικό κύκλο. Η μετάδοση του κίτρινου πυρετού με τις παρούσες συνθήκες στην Ελλάδα δεν είναι δυνατή. Ο μοναδικός ενδιάμεσος ξενιστής της λοίμωξης, το

είδος *Aedes aegypti*, φαίνεται ότι απουσιάζει από τις αρχές της δεκαετίας του '50, κυρίως ως αποτέλεσμα της ανθελονοσιακής εκστρατείας κατά των ανωφελών με DDT².

Ο ιός του δάγγειου πυρετού του γένους *Flarivirus* έχει υποδόχο τον άνθρωπο και ενδιάμεσους ξενιστές τα είδη κουνουπιών του γένους *Aedes* (*Ae. aegypti*, *Ae. albopictus*, *Ae. polynesiensis*). Το πλέον σημαντικό είδος με ευρεία γεωγραφική κατανομή και στενή σχέση με το αστικό περιβάλλον και τον άνθρωπο είναι το *Aedes aegypti*. Ο δάγγειος πυρετός θεωρείται η πιο σημαντική 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* (Campbell et al. 2002). Τα πτηνά διατηρούν τον ιό στο κυκλοφορικό τους σύστημα για αρκετό χρονικό διάστημα (μέχρι και 100 μέρες) και με τη μετανάστευσή τους θεωρούνται υπεύθυνα για τη διασπορά του. Στην Ελλάδα ο ιός του δυτικού Νείλου έχει επισημανθεί από δύο ορολογικές μελέτες που έγιναν στις δεκαετίες του '60 και '70 σε διάφορα μέρη της χώρας (Χανιώτης, 2001).

Ο ιός Sindbis, του γένους *Alphavirus* (Togoniridae), 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 εγκεφαλιτιδών. Ως ενδιάμεσοι ξενιστές της φιλαρίασης λειτουργούν και ορισμένα είδη του γένους *Culex*.

Εκτός από τη μετάδοση των ανωτέρων ασθενειών, τα κουνούπια είναι δυνατόν να προκαλέσουν σημαντικές οικονομικές απώλειες, μόνο και μόνο με την ενόχληση που προκαλούν, με αποτέλεσμα την υποβάθμιση τουριστικών, αστικών και αγροτικών περιοχών. Για το λόγο αυτό, σε ορισμένες αναπτυγμένες χώρες (Η.Π.Α., Γερμανία, Γαλλία) έχουν δημιουργηθεί τοπικοί κυρίως οργανισμοί με αποκλειστικό σκοπό την καταπολέμηση των κουνουπιών. Τα τελευταία χρόνια τέτοιοι οργανισμοί έχουν συσταθεί και στην Ελλάδα σε

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.

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.

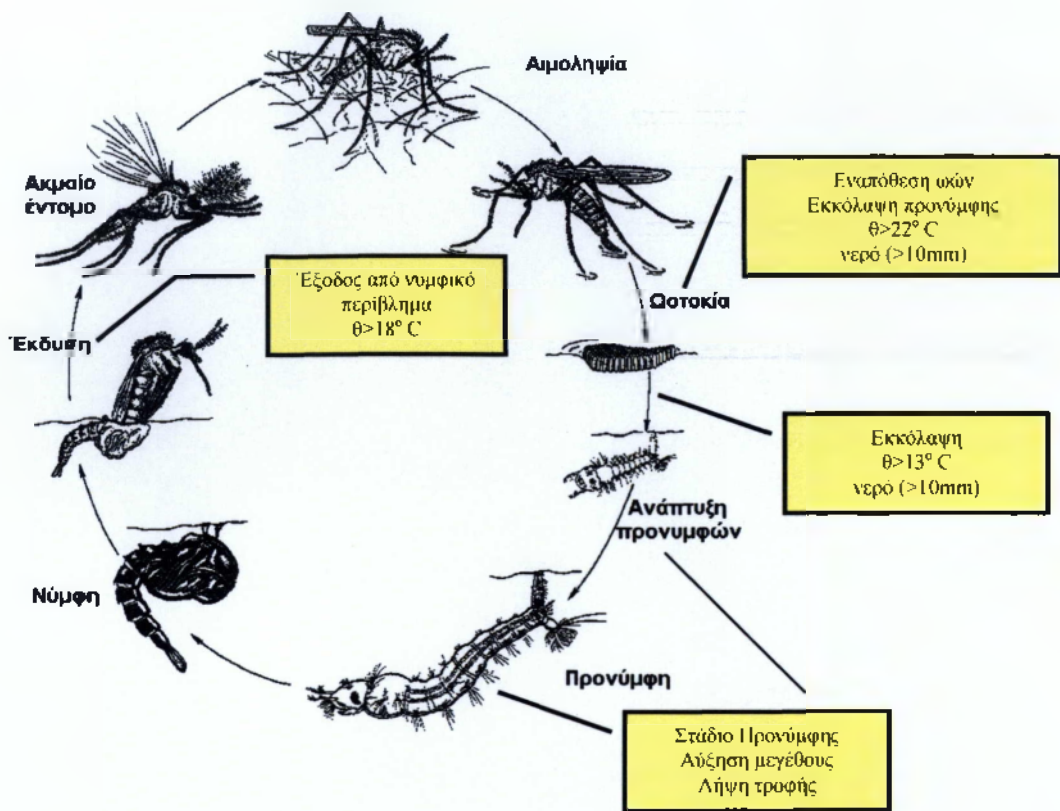
1.2. Βιολογία – μορφολογία

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.



Εικόνα 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.

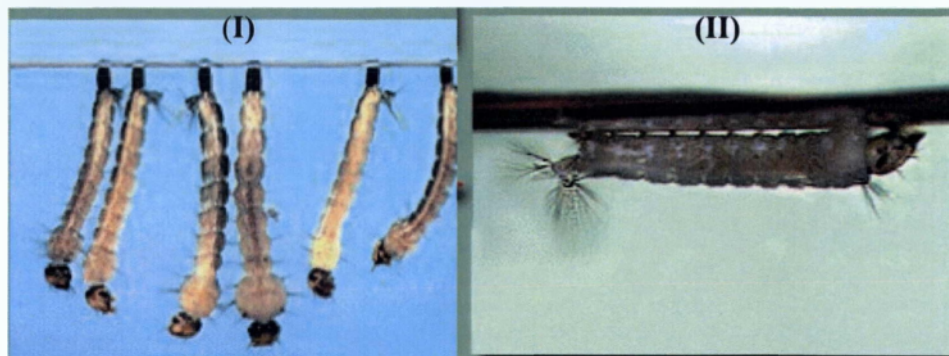
1.2.2. Προνύμφη

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.

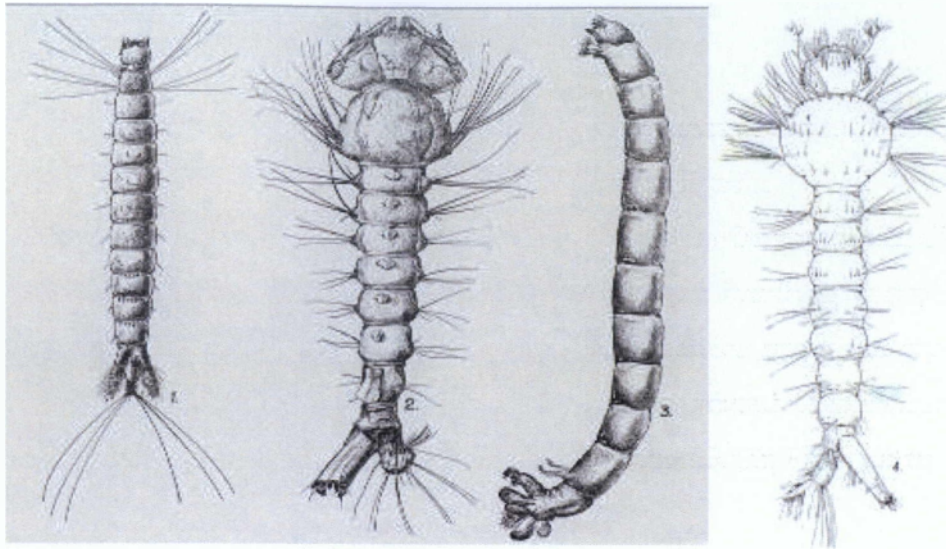
Οι προνύμφες όλων των γενών εκτός του γένους *Anopheles* φέρουν στο 8^ο κοιλιακό τμήμα ένα αναπνευστικό σιφώνιο από το οποίο και αναπνέουν. Λόγω της ύπαρξης αυτού του σιφώνιου στο σώμα της, η προνύμφη σχηματίζει γωνία με την επιφάνεια του νερού. Στα είδη του γένους *Anopheles*, όπου το σιφώνιο δεν υπάρχει,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

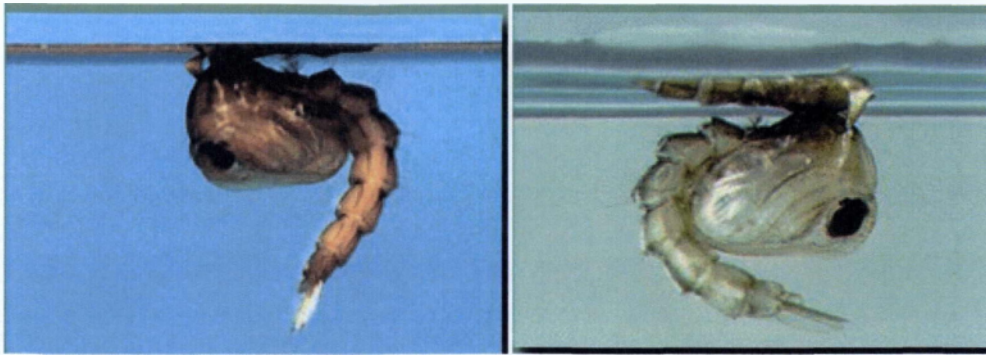


ΕΙΚΟΝΑ 1.5. Υδρόβιες προνύμφες άλλων Διπτέρων: (1) Οικογένεια Dixidae, (2) Οικογένεια Chaoboridae, (3) Οικογένεια Chironomidae και (4) Οικογένεια Culicidae.

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 χροανοειδών 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.).



(I)

(II)

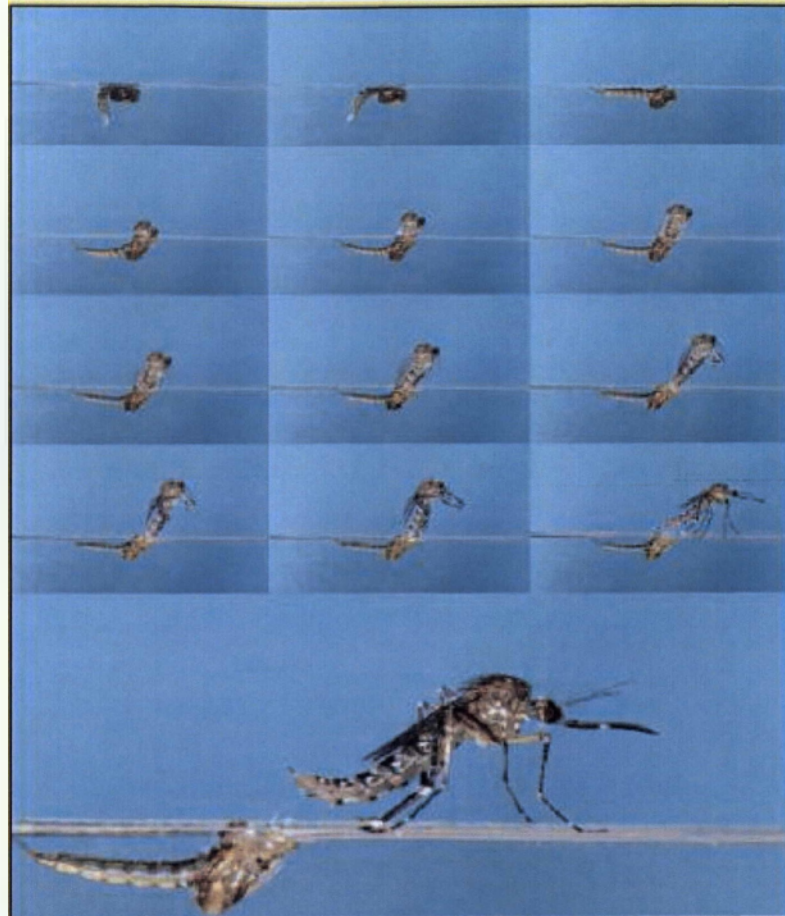
ΕΙΚΟΝΑ 1.6. Νύμφες κουνουπιών: (I) του γένους *Culex* και (II) του γένους *Anopheles*.

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

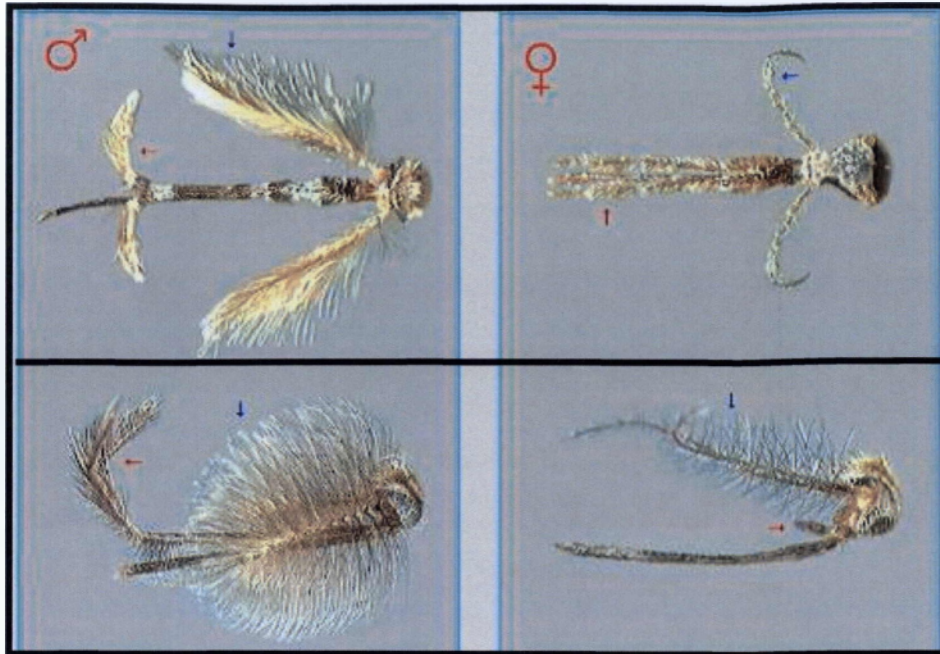
Τα τέλεια έντομα είναι σχετικώς μικρά (μήκος 3-6 mm σπανίως έως 9 mm), με σώμα λεπτό και μακριά πόδια. Η κοιλιά είναι μακριά και λεπτή, οι πτέρυγες λεπτές, διαφανείς με χαρακτηριστική νεύρωση και με λέπια στα νεύρα και στην περιφέρεια, η οποία φέρει σμήριγγες που σχηματίζουν «κροσσό».

Οι κεραίες στα αρσενικά είναι περισσότερο πτεροειδείς (φουντωτές), απ' ότι τα στα θηλυκά. Οι οφθαλμοί είναι καλά ανεπτυγμένοι. 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.



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.

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).

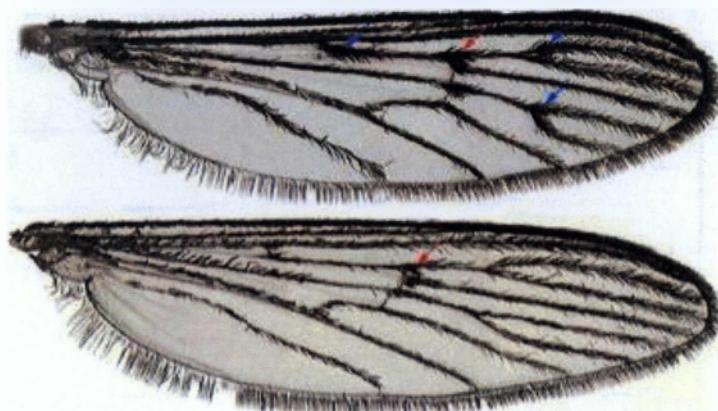
Τα στοματικά μόρια του θηλυκού είναι νύσσοντος – αίματος μυζητικού τύπου, έχουν τη μορφή μακριάς προβοσκίδας στα πλάγια της οποίας υπάρχουν οι γναθικές προσακτρίδες. Μόνο τα θηλυκά είναι αιμομυζητικά, αφού το αίμα τους είναι απαραίτητο για την ωρίμανση των ωών και συνήθως προηγείται μια τουλάχιστον αιμοληψία 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 ανωφελέ ικανοποιούνται με 1-2,5 mg, ενώ ορισμένα άλλα έχουν χωρητικότητα για 6-10 mg (*Culiseta annulata*, *Culex quinquefasciatus*, *Aedes sollicitans*).

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

Τα είδη των γενών *Anopheles* και *Culex* μετά από μία τελευταία λήψη αίματος διαχειμάζουν ως γονιμοποιημένα θηλυκά σε προφυλαγμένα και θερμά σημεία (σπήλαια, εσωτερικό κατοικιών, στάβλοι, τούνελ, κ.α.). Την επόμενη άνοιξη, με την άνοδο της θερμοκρασίας δραστηριοποιούνται και μετά από μία λήψη αίματος πραγματοποιούν την

πρώτη ωοτοκία. Τα περισσότερα είδη του γένους *Aedes* και *Psorophora* διαχειμάζουν ως ωά, υπάρχουν και περιπτώσεις, όπου στο γένος *Mansonia* η διαχείμαση γίνεται στο προνυμφικό στάδιο.



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

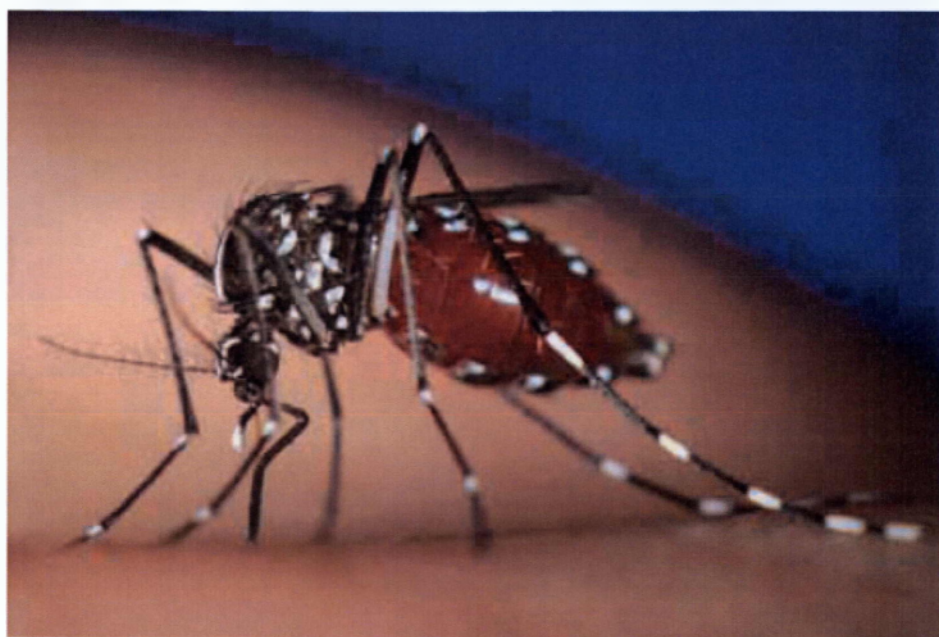
Τα κουνούπια είναι ικανά να αναπτύξουν πολύ μεγάλες πληθυσμιακές πυκνότητες. Ένα θηλυκό και ανάλογα με το είδος μπορεί να γεννήσει την πρώτη φορά από 50 έως 500 ωά περίπου. Στις επόμενες γενεές, οι οποίες ενδέχεται να φτάσουν και τις 10, γεννά μικρότερο αριθμό ωών. Εάν θεωρηθεί ότι κάθε φορά γεννά 200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

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

1.3. Βιολογία-μορφολογία του *Aedes Albopictus*

Το *Ae. albopictus* είναι ένα μάλλον μικρό σε μέγεθος κουνούπι με μέγεθος περίπου στα 5,5 εκατοστά. Είναι ένα ιδιαίτερα ενοχλητικό είδος κουνουπιού αν και αρχικά ήταν δασικό είδος εξαιτίας της ραγδαίας εξάπλωσής του πλέον χαρακτηρίζεται και ως αστικό είδος. Πέρα απ' τον άνθρωπο τρέφεται και με αίμα πτηνών και θηλαστικών.

Το θηλυκό κουνούπι τίγρης (εικόνα 1.10) γεννά περίπου 42-88 ωά σε ομάδες μετά από κάθε αιμοληψία ενώ κατά τη διάρκεια της ζωής του γεννά περίπου 300-350 ωά. Τα ωά προσκολλώνται σε τοιχώματα εστιών όπως μικρά δοχεία που συγκρατούν νερό, βάζα, βαρέλια, δεξαμενές, κοιλότητες δένδρων και πολύ συχνά σε παλιά ελαστικά αυτοκινήτων και έχουν μεγάλη ανθεκτικότητα στην ξηρασία. Επίσης η διαχείμαση γίνεται στο στάδιο του ωού, έτσι όταν οι εστίες αυτές ξαναπλημμυρίσουν και οι συνθήκες είναι κατάλληλες αρχίζει πάλι η εμβρυογένεση και τα ωά εξελίσσονται κανονικά. Το μήκος των προνυμφών φτάνει περίπου τα 8mm και το στάδιο της προνύμφης ανάλογα με την διαθεσιμότητα της τροφής διαρκεί 5-10 μέρες και της νύμφης 2-3 μέρες. Ενώ τα θηλυκά που προκύπτουν είναι έτοιμα να ζευγαρώσουν σε 2-3 μέρες. (Giatropoulos et al. 2012c)



Εικόνα 1.10 Εμφάνιση ακμαίου θηλυκού *Ae. albopictus* μετά τη λήψη αίματος.

1.3.1 Εξάπλωση του *Aedes albopictus*

Κατά τους (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008) *Ae. albopictus* είχε καταγραφεί στα δάση της ΝΑ Ασίας, κυρίως στην Ινδονησία, Φιλιππίνες, Μαλαισία και Σιγκαπούρη. Η εξάπλωσή του έγινε προς Μαδαγασκάρη, Νέα Γουινέα, Κίνα και Ιαπωνία. Το 1972 εντοπίστηκε στα λιμάνια της βόρειας Αμερικής χωρίς να προξενήσει ιδιαίτερη ανησυχία έως το 1985 που εντοπίστηκε ένα μεγάλος πληθυσμός στο Χιούστον του Τέξας και σε πολύ λίγα χρόνια σε αρκετές πολιτείες των Η.Π.Α.

Αποδείχτηκε πως το εμπόριο μεταχειρισμένων ελαστικών ήταν η αιτία εξάπλωσής του είδους στην Αμερικάνικη ήπειρο, καθώς τα ελαστικά είναι άριστη θέση για την εναπόθεση των αυγών του *Ae. Albopictus*, έτσι το εμπόριο των ελαστικών είχε ως συνέπεια την μεταφορά των ωών, που είναι πολύ ανθεκτικά στην ξηρασία, σε νέους τόπους αλλά και σε νέες ηπείρους.

Αξίζει να σημειωθεί ότι μόνο κατά την περίοδο 1988-1995 η Ιαπωνία εξήγαγε πάνω από 49.000.000 μεταχειρισμένα ελαστικά σε 137 χώρες του κόσμου.

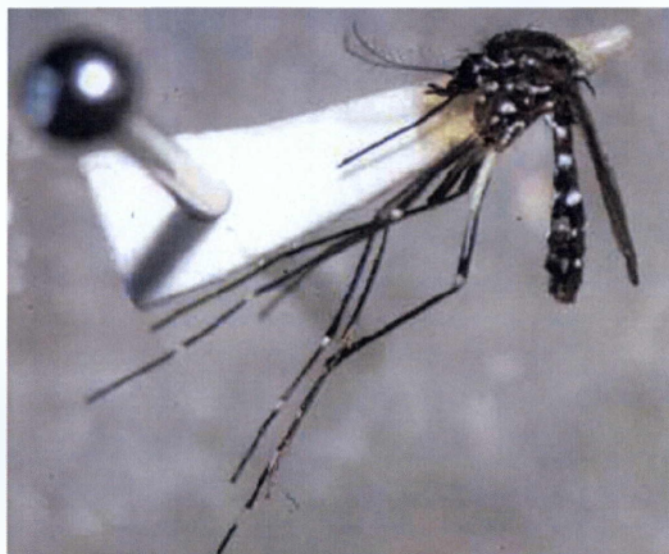
Παράλληλα με τις Ηνωμένες Πολιτείες το *Aedes albopictus* εντοπίστηκε και σε άλλες χώρες της ίδιας ηπείρου όπως η Βραζιλία, τα νησιά της Καραϊβικής, το Μεξικό, η Γουατεμάλα, η Κούβα, η Βολιβία, το Ελ Σαλβαδόρ, την Κολομβία, την Αργεντινή. Παράλληλα έκανε την εμφάνισή του και στην Αφρικανική ήπειρο όπου η παρουσία του έχει επιβεβαιωθεί σε πολλές χώρες.

Στην Ευρώπη εντοπίστηκε για πρώτη φορά το 1979 στις ακτές της βόρειας Αλβανίας. Στην συνέχεια το κουνούπι τίγρης εντοπίστηκε στην Ιταλία, στην Γαλλία, στο Βέλγιο, στο Μαυροβούνιο, στην Ελβετία, στην Ισπανία, στην Κροατία, στην Σλοβενία και στην Κροατία, έχει επίσης επιβεβαιωθεί η παρουσία του στο Ισραήλ, το Λίβανο και την Συρία.

Στην Ελλάδα το *Aedes albopictus* εντοπίστηκε σχετικά πρόσφατα σε σχέση με την υπόλοιπη ευρώπη. Συγκεκριμένα εντοπίστηκε το 2004 στην Κέρκυρα και την Θεσπρωτία. Επίσης, ένας αριθμός ατόμων του είδους αυτού βρέθηκε στην περιοχή του προμαχώνα Σερρών. Το μήνα Αύγουστο του 2008 ακμαία άτομα και προνύμφες εντοπίστηκαν από την ομάδα του Εργαστηρίου Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου στον Αστακό Αιτωλοακαρνανίας αλλά και στην Αθήνα ακμαία άτομα και των δύο φύλλων εντοπίστηκαν στην περιοχή της Ριζούπολης (πλησίον του Β' νεκροταφείου και του ρέματος Ποδονύφη) καθώς και του Βοτανικού (Γεωπονικό Πανεπιστήμιο). Δείγματα και απ' τις τρεις περιοχές (εικόνα 1.11) αναγνωρίστηκαν τόσο απ' το Εργαστήριο Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου όσο και απ' το Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου

Αθηνών. Αμέσως μετά την επιβεβαίωση του είδους ξεκίνησε έρευνα για να διαπιστωθεί κατά πόσο οι πληθυσμοί που εντοπίστηκαν στην Αθήνα έχουν εγκατασταθεί και αναπαράγονται στις συγκεκριμένες περιοχές (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008).

Τα επόμενα 3 έτη (2009-2011) πολυάριθμα δείγματα κουνουπιών από την Αττική και την Ελλάδα γενικότερα εστάλησαν στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο προς αναγνώριση και παροχή σχετικών πληροφοριών, ως αποτέλεσμα της όχλησης των κατοίκων ορισμένων περιοχών καθώς και της ανησυχίας που προκλήθηκε από την παρουσία και υγειονομική σημασία του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού. (Giatoropoulos et al. 2012c). Η προκαταρκτική έρευνα έδειξε ότι τουλάχιστον στην περιοχή της Ριζούπολης τα δείγματα προέρχονται από σταθερά αναπαραγόμενο πληθυσμό. (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008)



ΕΙΚΟΝΑ 1.11 Δείγμα *Aedes albopictus* που συλλέχθηκε απ' την περιοχή της Αθήνας

1.3.2 Υγειονομική σημασία

Η υγειονομική σημασία του *Aedes albopictus* είναι μεγάλη διότι είναι δυνητικός φορέας πολλών σοβαρών για τον άνθρωπο ασθενειών που μπορεί να οδηγήσουν ακόμα και στον θάνατο. Επίσης το γεγονός ότι οι ασθένειες αυτές εμφανίζονται με την μορφή επιδημιών ή πανδημιών, αποτελεί έναν επιπλέον παράγοντα κινδύνου, ιδιαίτερα για πληθυσμούς με

χαμηλά επίπεδα ανοσίας στα συγκεκριμένα παθογόνα, όπως συμβαίνει με τον πληθυσμό της χώρας μας.

Το *Aedes albopictus* μπορεί να μεταδώσει πολλές σοβαρές ασθένειες, οι σοβαρότερες από αυτές όμως είναι ο δάγκειος και ο δάγκειος αιμορραγικός πυρετός, που προσβάλλουν κάθε χρόνο πάνω από 20 εκατομμύρια ανθρώπους σε Ασία, Αφρική και Αμερική. Ειδικά για τον δάγκειο πυρετό το *Aedes albopictus* είναι πολύ ικανός φορέας και των τεσσάρων σεροτύπων του ιού τον οποίο μεταδίδει με ευκολία στον άνθρωπο. Στις περιοχές καταγωγής του το *Aedes albopictus* έχει διαδραματίσει επανειλημμένως πρωταγωνιστικό ρόλο στην εξάπλωση επιδημιών του δάγκειου και δάγκειου αιμορραγικού πυρετού. Επίσης είναι κατηγορείται για την μετάδοση 22 τουλάχιστον αρμοϊών και άλλων παθογόνων. Παθογόνα για τα οποία έχει αποδειχθεί ότι είναι φορέας στη φύση, είναι οι αρμοϊοί Chikungunya, ο ιός της Ιαπωνικής Εγκεφαλίτιδας (Japanese Encephalitis), ιός του Δυτικού Νείλου (West Nile Virus), La Crosse virus, St. Louis Encephalitis, Eastern Equine Encephalomyelitis, Western Equine Encephalomyelitis, Potisi virus, ο κίτρινος πυρετός (Yellow Fever), το βακτήριο *Wolbachia* και οι νηματώδεις των φιλαριώσεων, *Dirofi laria immitis* και *Dirofi laria repens*. Εκτός των παραπάνω έχει αποδειχθεί ότι, στο εργαστήριο τουλάχιστον, μπορεί να μεταδώσει και αρκετούς ακόμη αρμοϊούς (Sindbis, Keystone, Tensaw, Cache Valley, Mayaro, Oropouche και Potosi).

Επίσης, η ισχυρή ανθρωποφιλία που επιδεικνύει το είδος αυτό προκαλεί σοβαρά προβλήματα ενόχλησης με αποτέλεσμα να χρειάζονται ιδιαίτερα μέτρα καταπολέμησής του στις περιοχές που έχει εγκατασταθεί. Η ενόχληση γενικά από τα κουνούπια αποτελεί ένα από τα σημαντικότερα προβλήματα των κατοίκων πολλών περιοχών της χώρας μας. Η χώρα μας μάλιστα κατέχει ένα αρνητικό πρωτείο σχετικά με το Δάγκειο Πυρετό καθώς το 1927-1928 συνέβη μια από τις καταστροφικότερες επιδημίες στη σύγχρονη ιστορία της Ευρώπης με περισσότερους από 100.000 διαπιστωμένους ασθενείς (κατά άλλους 1.000.000) και 1.553 θανάτους, περισσότεροι από τους οποίους στην Αθήνα και τη Θεσσαλονίκη. Ως υπεύθυνο είδος κουνουπιού για την εμφάνιση και εξάπλωση της επιδημίας αυτής θεωρήθηκε τότε το *Aedes aegypti*. Αλλά και οι γειτονικές μας χώρες έχουν υποφέρει πολύ από επιδημίες ασθενειών που μεταδίδονται από κουνούπια όπως το *Aedes albopictus*. Χαρακτηριστικά παραδείγματα και μάλιστα των πολύ τελευταίων ετών είναι η επιδημία του ιού του Δυτικού Νείλου στην Ρουμανία το 1996 (393 εργαστηριακά διαγνωσμένες περιπτώσεις και 17 θάνατοι) και η επιδημία του ιού Chikungunya στην Ιταλία (με 15 περιπτώσεις και έναν νεκρό) μόλις το 2006. (Κολιόπουλος και συνεργάτες 2008)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ

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

Κατά το παρελθόν, έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως για την καταπολέμηση των κουνουπιών και ειδικότερα των ανωφελών που είναι υπεύθυνα για τη μετάδοση της ελονοσίας, όπου σε αρκετές περιπτώσεις έδωσαν άριστα αποτελέσματα, περιορίζοντας την πυκνότητα των κουνουπιών σε ανεκτά επίπεδα (Becker, 2003).

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 προνόμφες κουνουπιών και μόνο τότε να πραγματοποιούνται οι ψεκασμοί.

Η εφαρμογή των βιοκτόνων από εδάφους με μηχανοκίνητο ψεκαστήρα υψηλής πίεσεως δίνει συνήθως καλύτερα αποτελέσματα, γιατί αυτός ο τρόπος εφαρμογής παρέχει την ευχέρεια κατεύθυνσης του εντομοκτόνου στα επιθυμητά σημεία και επιπλέον, λόγω της υψηλής πίεσεως, το ψεκαστικό διάλυμα φθάνει πιο εύκολα στο νερό και αποφεύγεται έτσι η απώλεια από την επικάλυψη μεγάλου μέρους του διαλύματος επάνω στα φυτά (Becker, 2003).

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 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.

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.

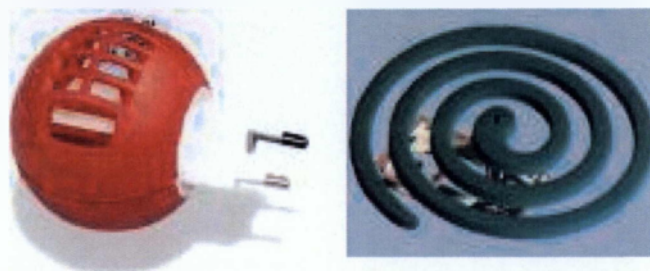
Η δραστική ουσία απελευθερώνεται έπειτα από θέρμανση και η διάρκεια δράσης τους διαρκεί όσο η καύση τους, δηλαδή 6-8 ώρες.

2.3. Ατομική προστασία

Η χρησιμοποίηση των διαφόρων μέσων ατομικής προστασίας αποτελεί ένα σημαντικό δείκτη της έντασης της όχλησης, ενώ η μείωση της εφαρμογής τους αποτελεί δείκτη αποτελεσματικότητας των προγραμμάτων καταπολέμησης κουνουπιών. Η ατομική προστασία

επιτυγχάνεται είτε με μηχανική προστασία του χώρου διαβίωσης (λεπτά πλέγματα σε πόρτες και παράθυρα, κουνουπιέρες κ.λ.π.), είτε με τη χρήση απωθητικών ουσιών.

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



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

Τα περισσότερα εντομοαπωθητικά επάλειψης που χρησιμοποιούνται σήμερα περιέχουν μία συνθετική ουσία, που είναι ευρέως γνωστή με το όνομα DEET (N,N-diethyl-3-methylbenzamide). Η ουσία αυτή είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική, αποτρέποντας τα τσιμπήματα από μια πληθώρα εντόμων όπως κουνούπια, μύγες, ψύλλοι και τσιμπούρια. Τα εντομοαπωθητικά τύπου σπιράλ («φιδάκια») περιέχουν εντομοκτόνα από πυρεθρίνες σε ποσοστό 0,3-0,4% κατά βάρος, ενώ τα υπόλοιπα συστατικά τους είναι ουσίες που έχουν την ιδιότητα να καίγονται αργά και χωρίς φλόγα δημιουργώντας καπνό. Παρά το γεγονός ότι οι φυτικές πυρεθρίνες είναι σχετικά μη τοξικές για τον άνθρωπο, οι επιπτώσεις στην ανθρώπινη υγεία από τη καύση των υπολοίπων συστατικών (>99% του προϊόντος), δεν έχουν ακόμα διευκρινιστεί (ΕΙΚΟΝΑ 2.1.)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ

ΑΙΘΕΡΙΑ ΕΛΑΙΑ

3.1. Γενικά περί αιθέριων ελαίων

Όλα τα φυτά που περιέχουν αιθέρια έλαια ονομάζονται αρωματικά ενώ πολλά από αυτά θεωρούνται και φαρμακευτικά. Η παραγωγή αιθέριων ελαίων έχει εντοπιστεί σε περίπου 2.000 φυτικά είδη που ανήκουν σε περίπου 60 διαφορετικές οικογένειες φυτών, όπως οι οικογένειες Compositae, Labiatae, Lauraceae, Myrtaceae, Pinaceae, κ.ά.

Τα αιθέρια έλαια είναι οργανικές πτητικές χημικές ενώσεις σε υγρή μορφή, με ελαιώδη εμφάνιση και διαφορετική χημική σύσταση κάθε φορά. Δεδομένου ότι οι ενώσεις αυτές είναι ισχυρά πτητικές, τα μόριά τους εξατμίζονται εύκολα και διασκορπίζονται στον ατμοσφαιρικό αέρα. Μέσω του αέρα έρχονται σε επαφή με τα όργανα όσφρησης, τα οποία και διεγείρουν, δίνοντας με τον τρόπο αυτό, στα διάφορα φυτά τη χαρακτηριστική τους μυρωδιά που πολλές φορές αντιστοιχεί στο συγκεκριμένο είδος του φυτού.

Το ισχυρότερο πλεονέκτημα που διαθέτουν εκτός από την ισχυρή δραστηριότητα εναντίον των εντόμων, είναι η ασφάλεια της χρησιμοποίησής τους για το περιβάλλον και τον άνθρωπο. Παρόλο που η δράση των αιθέριων ελαίων καθώς και των κύριων συστατικών τους θεωρείται νευροτοξική, οι συγκεκριμένες ουσίες δεν έχουν μεγάλη τοξικότητα για τα θηλαστικά. Επίσης ένα εξίσου ισχυρό πλεονέκτημα, είναι ότι δεν εμφανίζεται ανάπτυξη ανθεκτικότητας από τα έντομα όπως στις εντομοκτόνες ουσίες.

Αν και η έρευνα στο θέμα των αιθέριων ελαίων έχει ακόμα πολύ δρόμο να διανύσει μέχρι να μπορούν να δοθούν πειστικές και ολοκληρωμένες απαντήσεις στα ερωτήματα που ανακύπτουν σχετικά με τη δυνατότητα και την αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησής τους στη φυτοπροστασία, ωστόσο τα πρώτα προϊόντα βασισμένα πάνω σε αιθέρια έλαια άρχισαν να κυκλοφορούν στο εμπόριο και φαίνεται ότι έχουν σημαντική αποτελεσματικότητα.

3.2. Σύνθεση και βιοσύνθεση των αιθέριων ελαίων

Τα αιθέρια έλαια είναι πολυσύνθετα μίγματα οργανικών πτητικών ουσιών που η σύνθεσή τους διαφέρει στα διάφορα είδη ή και ποικιλίες φυτών. Τα αιθέρια έλαια απαντώνται συνήθως σε εξωτερικούς ή εσωτερικούς θύλακες (αδένες) που βρίσκονται κυρίως στα πράσινα μέρη του φυτού και στα άνθη και δευτερευόντως σε άλλα όργανα όπως ρίζες, καρπούς και

σπέρματα. Βρίσκονται σε μικρές ποσότητες μέσα στο φυτό και σπάνια υπερβαίνουν το 1%, συνήθως κυμαίνονται 0,3-0,7%. Γενικά τα συστατικά των αιθέριων ελαίων χωρίζονται σε δύο μεγάλες ομάδες.

➤ Στα **οξυγονούχα**: είναι τα συστατικά στα οποία οφείλεται το χαρακτηριστικό άρωμα των αιθέριων ελαίων, είναι τα εξής:

- Αλκοόλες, όπως γερανιόλη, μινθόλη, ευκαλυπτόλη κ.α.
- Αλδεύδες, όπως βανιλίνη, κιννάμωμο, σαφρανάλη κ.α.
- Οξέα- εστέρες, όπως βενζοϊκό οξύ, οξικός γερανυλεστέρας κ.α.
- Φαινόλες, όπως καρβακρόλη, εστραγόλη, ανιθόλη, θυμόλη
- Κετόνες, μενθόνη, καμφορά κ.α.

➤ Στα **μη οξυγονούχα**: στα οποία περιλαμβάνονται συστατικά τα οποία θεωρείται ότι δεν έχουν ιδιαίτερη συμβολή στο άρωμα τους, τα οποία είναι:

- Τερπένια, όπως λεμονένιο, πινένιο, καμφένιο κ.α.

Βιοσύνθεση λέγεται η σύνθεση χημικών ουσιών που γίνεται μέσα στους ζωντανούς οργανισμούς. Ειδικότερα η βιοσύνθεση των αιθέριων ελαίων είναι μια σειρά διαφόρων χημικών αντιδράσεων που γίνονται μέσα στους φυτικούς ιστούς, μέχρι τον τελικό σχηματισμό τους. Επίσης μια διεργασία σε πολλά σημεία παραμένει αδιευκρίνιστη μέχρι και σήμερα παρότι οι επιστήμες της χημείας και βιοχημείας σημείωσαν εξελίξεις, δεν κατόρθωσαν να ρίξουν πλήρες φως στο θαύμα του μηχανισμού της φωτοσυνθέσεως, στη βιοσύνθεση των χρωστικών, των αλκαλοειδών και των αιθέριων ελαίων.

Το αιθέριο έλαιο κάθε φυτού έχει διαφορετική σύνθεση σε κάθε στάδιο αναπτύξεώς του. Έτσι συγκριτικές αναλύσεις αιθέριων ελαίων, που πάρθηκαν στην αρχή και το τέλος της βλαστικής περιόδου έδειξαν μεγάλες διαφορές στην χημική σύστασή του. Επίσης διαφορές παρατηρούνται και στο αιθέριο έλαιο νεαρών και ώριμων φύλλων του ίδιου φυτού.

3.3. Ρόλος των αιθέριων ελαίων

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

- Το αιθέριο έλαιο δρα απωθητικά και τοξικά για διάφορα έντομα ή παθογόνα σε ορισμένα αρωματικά φυτά.,

- Προστατεύουν τα φυτά από υψηλές θερμοκρασίες, λόγω της εύκολης εξάτμισής τους,
- Το άρωμα των λουλουδιών προσελκύει διάφορα έντομα, γεγονός που συμβάλλει στην καλύτερη γονιμοποίηση των εντομόφιλων φυτών,
- Η παρουσία τους στους μεσοκνιτάριους χώρους ελαττώνει τη διαπνοή, καθιστώντας τα φυτά πιο ανθεκτικά στην ξηρασία,
- Δρουν καταλυτικά στο μεταβολισμό των γλυκοζιτών και άλλων ουσιών,
- Αυξάνεται η ταχύτητα κυκλοφορίας των θρεπτικών ουσιών που ρυθμίζουν τον μεταβολισμό των φυτών,
- Πιθανόν να έχουν ορμονική δράση σε διάφορες λειτουργίες των φυτών,
- Προστατεύουν τα φυτά από το ψύχος σχηματίζοντας γύρω τους προστατευτικό νέφος λόγω της εξάτμισής τους.

3.4. Παραλαβή των αιθέριων ελαίων

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

- Το είδος και το τμήμα του φυτικού υλικού (άνθη, βλαστοί, φύλλα, σπέρματα κλπ.).
- Η περιεκτικότητα του φυτού σε αιθέρια έλαια.
- Η αξία (τιμή) του αιθέριου ελαίου.
- Η χημική σύνθεση των διαφόρων συστατικών του αιθερίου ελαίου .
- Διάφοροι άλλοι οικονομικοί κυρίως παράγοντες.

Οι μέθοδοι ωστόσο με τις οποίες λαμβάνονται τα αιθέρια έλαια είναι οι εξής:

1). Απόσταξη:

Είναι η πιο απλή, οικονομική και ευρύτατα χρησιμοποιούμενες μεθόδους για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων από όλα σχεδόν τα αρωματικά φυτά. Η απόσταξη ανάλογα με τον τρόπο που γίνεται διακρίνεται σε:

- Υδροαπόσταξη ή απόσταξη με νερό:

Το χαρακτηριστικό της απόσταξης αυτής είναι το νερό (ή το νερό και η αιθανόλη) και το φυτικό υλικό που βρίσκονται στον άμβυκα αποστάξεως, έρχονται σε άμεση επαφή μεταξύ τους, γεγονός που διευκολύνει την υδρόλυση των διαφόρων συστατικών του αιθερίου ελαίου και αρκετά συχνά οδηγεί στην υποβάθμιση του τελικού προϊόντος.

- Υδροατμοαπόσταξη ή απόσταξη με νερό και ατμό:

Το είδος αυτό είναι καλύτερο από το προηγούμενο, γιατί το φυτικό υλικό που αποστάζεται στον άμβυκα δεν έρχεται σε άμεση επαφή με το νερό, αλλά τοποθετείται σε πλέγμα (καλάθι), που βρίσκεται λίγο πιο πάνω από την επιφάνεια του νερού.

- Απόσταξη με υδρατμούς:

Το είδος αυτό, αν και μοιάζει με το προηγούμενο, είναι πιο σύγχρονο και χρησιμοποιείται ευρύτατα από τις βιομηχανίες για μεγάλες κυρίως αποστάξεις. Η διαφορά του από την υδροατμοαπόσταξη είναι ότι δεν υπάρχει νερό στον πυθμένα του άμβυκα για να παραχθεί ατμός. Ο ατμός παράγεται σε ειδικό ατμολέβητα ή ατμογεννήτρια και στη συνέχεια εισάγεται στον άμβυκα όπου υπάρχει το φυτικό υλικό, συνήθως με πίεση μεγαλύτερη από την ατμοσφαιρική.

2). Εκχύλιση:

Η μέθοδος αυτή, χρησιμοποιείται για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων, κυρίως από άνθη ή άλλα φυτικά όργανα που είναι ευπαθή στην απόσταξη. Η εκχύλιση ανάλογα με το εκχυλιστικό μέσο που χρησιμοποιείται διακρίνεται σε:

- Εκχύλιση με πτητικούς διαλύτες:

Είναι η πιο εύχρηστη μέθοδο και χρησιμοποιείται για την παραλαβή των αιθέριων ελαίων από άνθη. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιείται ως πτητικός διαλύτης, πετρελαϊκός αιθέρας καθώς και βενζόλιο, η αιθυλική αλκοόλη κλπ. Το προϊόν που λαμβάνεται κατά την εκχύλιση μετά την αφαίρεση του πτητικού διαλύτη, λέγεται σύγκριμα ή κονκρέτα και περιέχει εκτός από το αιθέριο έλαιο και διάφορες άλλες ουσίες (κήρους, χρωστικές κλπ). Απ' αυτό μετά από ειδική κατεργασία με αλκοόλη, αφαιρούνται οι παραπάνω ουσίες, λαμβάνεται το τελικό προϊόν που είναι το καθαρό αιθέριο έλαιο.

- Εκχύλιση με ψυχρός λίπος:

Είναι απλή και βασίζεται στην ιδιότητα που έχει το λίπος να απορροφά τις πτητικές ουσίες που έρχονται σε επαφή μαζί του. Το λίπος που χρησιμοποιείται πρέπει να είναι ημίσκληρο και καθαρό, ενώ ως φυτικό υλικό χρησιμοποιούνται άνθη που συνεχίζουν και μετά τη συλλογή τους τη φυσιολογική τους δράση, δηλαδή να παράγουν και να διασκορπίζουν το άρωμά τους. Μετά την εκχύλιση που διαρκεί 24-30 ώρες, η πομάδα (λίπος και αιθέριο έλαιο) κατεργάζεται με αλκοόλη, οπότε αφαιρείται το λίπος και λαμβάνεται καθαρό το αιθέριο έλαιο.

- Εκχύλιση με θερμό λίπος:

Η μέθοδος μοιάζει με την προηγούμενη και εφαρμόζεται για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από άνθη τα οποία δεν συνεχίζουν τη φυσιολογική δράση της παραγωγής και διάχυσης στο περιβάλλον του αρώματός τους. Το λίπος με τα άνθη τοποθετούνται σε δοχεία γύρω

- Εκχύλιση με υδρόφιλους διαλύτες:

Χρησιμοποιούνται υδατοδιαλυτοί διαλύτες (αιθυλενογλυκόλη, προπυλενογλυκόλη) ως εκχυλιστικά μέσα ή σε ανάμειξη με το νερό, για την παραλαβή των περισσότερων συστατικών φυσικών προϊόντων που χρησιμοποιούνται κυρίως στην κοσμετολογία.

3). Μηχανική παραλαβή:

Χρησιμοποιείται κυρίως για την παραλαβή αιθέριων ελαίων από καρπούς ή σπέρματα με έκθλιψη. Τα αιθέρια έλαια κατά την αποθήκευση υφίστανται αλλοιώσεις με αποτέλεσμα να καταστρέφεται η ποιότητά τους. Για να διατηρηθούν πρέπει να είναι απαλλαγμένα από ίχνη νερού (αφύγρανση π.χ. με χρήση αλάτων) να φυλάσσονται σε γυάλινα ή ανοξειδωτα δοχεία σκοτεινού χρώματος ή αδιαφανή, τα δοχεία πρέπει να είναι γεμάτα έτσι ώστε να μην υφίστανται οξειδώσεις και τέλος να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία γύρω στους 0°C.

3.5. Διατήρηση των αιθέριων ελαίων

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

1. Θερμοκρασία αποθηκείσεως: Αυτή πρέπει να βρίσκεται μερικούς βαθμούς από το μηδέν.
2. Φως: Τα αιθέρια έλαια για να προστατευτούν από την επίδραση του φωτός πρέπει να διατηρούνται μέσα σε αδιαφανή δοχεία.
3. Νερό: Τα αιθέρια έλαια πριν από την αποθήκευση υφίσταται αφυδάτωση(ξήρανση). Αυτή γίνεται με μετάγγιση ή με την χρησιμοποίηση ουσιών, όπως θεικού νατρίου, θεικού μαγνησίου κλπ.
4. Αέρας: Για να αποφεύγονται αλλοιώσεις από την επίδραση του αέρα, από τα δοχεία όπου φυλάγονται τα αιθέρια έλαια πρέπει να γεμίζουν τελείως.
5. Δοχεία αποθηκείσεως: Κατάλληλα δοχεία είναι τα γυάλινα ή μεταλλικά από ανοξειδωτο χάλυβα. Δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται πλαστικά ή ξύλινα δοχεία.

3.6. Ποιοτικός έλεγχος

Μεγάλη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στην ποιότητα του αιθέριου ελαίου που χρησιμοποιείται. Τα αιθέρια έλαια θα πρέπει να προέρχονται μόνο από απόσταξη ή από πίεση, θα πρέπει να αποθηκεύονται σε σωστές συνθήκες και να καταναλώνονται σε ορισμένο χρονικό διάστημα από την στιγμή της παραγωγής τους.

Η ποιότητα των αιθέριων ελαίων εξαρτάται από διάφορες φυσικές σταθερές (ειδικό βάρος, δείκτης διαθλάσεως, στροφική ικανότητα, διαλυτότητα και σημείο ζέσεως) και κυρίως από τη χημική σύστασή τους. Ο προσδιορισμός των συστατικών παλαιότερα γινόταν με διάφορες χημικές αντιδράσεις με τις οποίες τα κατέτασσαν σε ομάδες (εστέρες, αλκοόλες). Οι αντιδράσεις αυτές απαιτούσαν μεγάλες ποσότητες αιθέριων ελαίων και πολύ χρόνο.

Σήμερα χρησιμοποιούνται νέες σύγχρονες μέθοδοι, η πιο γνωστή από τις οποίες είναι η Αέρια - Χρωματογραφία τις περισσότερες φορές σε συνδυασμό με τη φασματομετρία μαζών. Με τη μέθοδο αυτή, η ανάλυση είναι ταχύτατη και ακριβής και χρειάζεται πολύ μικρή ποσότητα (1-10 ml) αιθέριου ελαίου.

Ο ποσοτικός προσδιορισμός των περιεχόμενων δραστικών συστατικών δεν διαφέρει από την ανάλυση άλλων φαρμακευτικών ουσιών και γίνεται Αέρια Χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC) ή Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) ή και συνδυασμός των παραπάνω μεθόδων με τη φασματομετρία μαζών (Mass Spectrometry, MS). Ενώ δρόγες με σύνθετη χημική σύσταση ελέγχονται με βιολογικές μεθόδους, όπως οι RIA (Radio Immuno Assay) και ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay).

3.7. Επιδράσεις των αιθέριων ελαίων στα έντομα

Μία από τις σημαντικότερες ιδιότητες των αιθέριων ελαίων είναι η ικανότητα τους να δρουν υπό μορφή ατμών στα διάφορα έντομα. Τα αιθέρια έλαια πέραν από την τοξικότητα των ατμών τους εκδηλώνουν και τοξική δράση επαφής και στομάχου για ένα μεγάλο αριθμό ειδών εντόμων. Πέρα από την άμεση τοξικότητα που προκαλούν τα αιθέρια έλαια στα έντομα έχουν και μια πλειάδα άλλων σημαντικών βιολογικών επιδράσεων. Στις σημαντικές επιδράσεις συγκαταλέγονται η απωθητικότητα, η αποτροπή βρώσης και ωοτοκίας. Επίσης έχει παρατηρηθεί σε αρκετές περιπτώσεις ρυθμιστική της ανάπτυξης καθώς και στείρωτική δράση. Ο μηχανισμός της εντομοκτόνου δράσης των αιθέριων ελαίων παραμένει σε μεγάλο βαθμό αδιευκρίνιστος. Λαμβάνοντας υπόψη την ακολουθία των συμπτωμάτων που εμφανίζουν τα

έντομα από τη στιγμή της επίδρασης κάποιου αιθέριου ελαίου μέχρι τη θανάτωσή τους, διάφοροι ερευνητές συγκλίνουν στην άποψη ότι πρόκειται κυρίως για νευροτοξική δράση.

Αν και η έρευνα στο θέμα των αιθέριων ελαίων έχει ακόμα πολύ δρόμο να διανύσει μέχρι να μπορούν να δοθούν πειστικές και ολοκληρωμένες απαντήσεις στα ερωτήματα που ανακύπτουν σχετικά με τη δυνατότητα και την αποτελεσματικότητα χρησιμοποίησής τους στη φυτοπροστασία, ωστόσο τα πρώτα προϊόντα βασισμένα πάνω σε αιθέρια έλαια άρχισαν να κυκλοφορούν στο εμπόριο και φαίνεται ότι έχουν σημαντική αποτελεσματικότητα.

3.8. Αιθέρια έλαια της οικογένειας Lamiaceae και κουνούπια

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

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

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

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

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

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

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

and Moore 2011, Michaelakis *et al.* 2011, Pitarokili *et al.* 2011b, Rajamma *et al.* 2011, Sritabutra *et al.* 2011, Govindarajan *et al.* 2012, Koc *et al.* 2012).

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

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

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΕΤΑΡΤΟ

4.1 Σκοπός της μελέτης

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών και η απωθητική δράση εναντίον των ενηλίκων του *Aedes albopictus*, αιθέριων ελαίων από τα παρακάτω δεκατέσσερα (14) είδη φυτών που ανήκουν στην οικογένεια Lamiaceae: *Mentha piperita* L. (Μέντα), *Mentha spicata* L. I (Δυόσμος ήμερος), *Mentha spicata* L. II (Δυόσμος άγριος), *Mentha pulegium* L. I (Φλισκούνι Καρδίτσας), *Mentha pulegium* L. II (Φλισκούνι Ορεστιάδας), *Rosmarinus officinalis* L. (Δενδρολίβανο), *Mellisa officinalis* L. (Μελισσόχορτο), *Satureja thymbra* L. (Θρούμπι), *Lavandula angustifolia* Mill. (Λεβάντα), *Ocimum basilicum* L. (Βασιλικός), *Origanum dictamnus* L. (Δίκταμο), *Origanum majorana* L. (Μαντζουράνα), *Origanum vulgare* L. (Ρίγανη) και *Thymus vulgaris* L. (Θυμάρι), καθώς και των κύριων (πιο άφθονων) χημικών συστατικών τους (τερπενίων), τα οποία συνιστούν και τον χημειότυπό τους. Η ανάλυση της χημικής σύστασης των αιθέριων ελαίων, τα οποία απομονώθηκαν με υδρο-απόσταξη, πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC-MS).

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΕΜΠΤΟ

5.1 Εκτροφή του *Aedes albopictus*

Η διατήρηση της εκτροφής του *Aedes albopictus* για τις ανάγκες των πειραμάτων της παρούσας διατριβής λάμβανε χώρα εντός κλιματιζόμενου δωματίου (3 x 3m), σε θερμοκρασία 25 ± 2 °C, σχετική υγρασία 80-90% και φωτοπερίοδο 16Φ:8Σ, σε χώρο (εντομοτροφείο) του εργαστηρίου Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων του Μ.Φ.Ι. Η μέθοδος εκτροφής του *Aedes albopictus* βασίστηκε στις μεθόδους που περιγράφονται από τους Gerberg (1970) και Gerberg *et al.* (1993). Ο αρχικός πληθυσμός προήλθε από ωά τα οποία είχαν συλλεχθεί με παγίδες φωθεσίας τον Μάιο του 2011 από τοποθεσίες της περιοχής Ριζούπολης στην Αθήνα, όπου και δραστηριοποιούνταν το *Aedes albopictus* (Giatropoulos *et al.* 2012a). Η εκτροφή ξεκίνησε με ενήλικα άτομα του *Aedes albopictus* που προέκυψαν μετά την εμβάπτιση εκείνων των ωών στο νερό και την ανάπτυξη των προνυμφών/νυμφών.

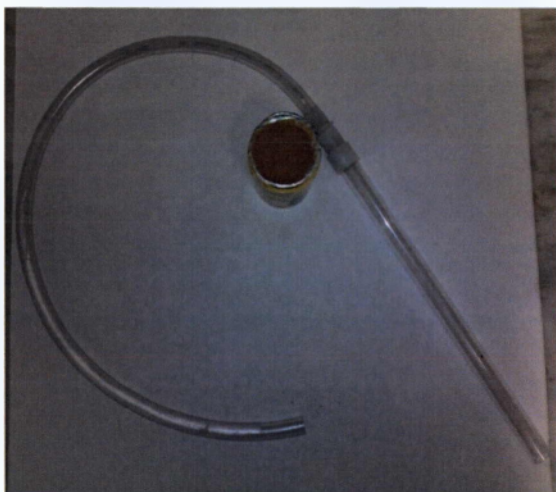
Τα ενήλικα κουνούπια διατηρούνταν εντός ξύλινων κλωβών, διαστάσεων 33x33x33 cm, με τις ακμές ξύλινες και τις 3 πλευρές τους καλυμμένες με λεπτή σήτα. Στο εμπρός μέρος ο κλωβός έχει τζάμι για την εύκολη εποπτεία των εντόμων ενώ στο πίσω μέρος υπήρχε κατασκευή με υφασμάτινο «μανίκι» που επέτρεπε την είσοδο του χεριού του παρατηρητή καθώς και την εισαγωγή και εξαγωγή υλικών, αποτρέποντας όμως την απόδραση των εντόμων (εικόνα 5.4). Οι χειρισμοί των ενήλικων εντόμων στο εντομοτροφείο, γίνονταν συνήθως με απλό αναρροφητήρα (aspirator) (εικόνα 5.1).

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

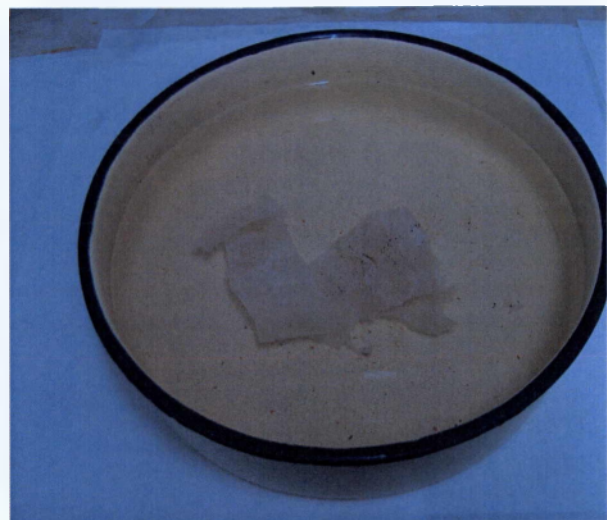
Όπως έχει ήδη αναφερθεί, τα ωά του *Aedes albopictus* προσκολλώνται στα βρεγμένα τοιχώματα και άλλες επιφάνειες που είναι βυθισμένες εντός της εστίας του νερού.

Για τις ανάγκες της εκτροφής, εντός των κλωβών, τοποθετούνταν 3-4 πλαστικά λευκά δοχεία χωρητικότητας 250 ml που συμπληρώνονταν περίπου με 100 ml νερό. Ως υπόστρωμα ωοτοκίας εντός των δοχείων υπήρχε λευκό διηθητικό χαρτί από φίλτρο του καφέ όπου τα ωά προσκολλούνταν από τα θηλυκά κουνούπια πάνω από την επιφάνεια του νερού. Τα υποστρώματα με τα προσκολλημένα ωά αφήνονταν εντός του κλωβού για μερικές ημέρες (4-5) προκειμένου να συμπληρωθεί η εμβρυονική ανάπτυξη και να είναι έτοιμα να εκκολαφθούν.

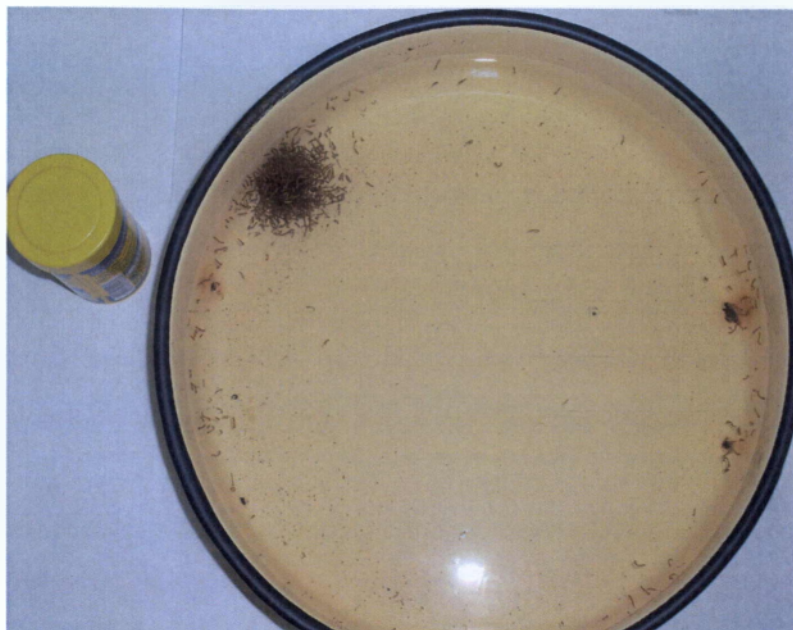
Τα υποστρώματα ωοτοκίας (διηθητικά χαρτιά) που έφεραν προσκολλημένα ωά του *Ae. albopictus* εμβαπτιζόνταν σε νερό βρύσης μέσα σε λεκάνες εμαγιέ (εικόνα 5.2), διαμέτρου 35 εκ. και βάθους 10 εκ., οι οποίες καλύπτονταν με λεπτό τούλι. Για την εκκόλαψη των ωών και την ανάπτυξη των προνυμφών εντός των λεκανών, προστίθετο επαρκής ποσότητα κατάλληλης ψαροτροφής (JBL Novo Tom 10% Artemia) σε τακτά χρονικά διαστήματα. Έτσι, σε κάθε λεκάνη (εικόνα 5.3) αναπτύσσονταν περίπου 400 προνύμφες με χορήγηση άφθονης τροφής (*ad libitum*) έως και την έξοδο των ενηλίκων κουνουπιών. Τα ενήλικα κουνούπια συλλέγονταν με αναρροφητήρα και οδηγούνταν στον κλωβό εκτροφής για τη συνέχιση του βιολογικού κύκλου του εντόμου



Εικόνα 5.1 Αναρροφητήρας για τον χειρισμό των ακμαίων κουνουπιών στο εντομοτροφείο



Εικόνα 5.2 Λεκάνη εμβάπτισης διηθητικού χαρτιού με προσκολλημένα ωά *Ae. albopictus*



Εικόνα 5.3 Πληθυσμός προνυμφών του *Aedes albopictus* σε λεκάνη και ψαροτροφή



Εικόνα 5.4 Κλωβός διατήρησης ακμαίων ατόμων *Aedes albopictus*

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΚΤΟ

6.1. Βιοδοκιμές τοξικής δράσης στις προνύμφες και αποθητικής δράσης στα ενήλικα του *Ae. albopictus* αιθέριων ελαίων φυτών της οικογένειας Lamiaceae

Η απομόνωση των αιθέριων ελαίων και η χημική τους ανάλυση για την εύρεση των συστατικών τους, με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC-MS), πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών από την ερευνητική ομάδα του Καθ. Μ. Πολυσιού, με επικεφαλής τον Επίκ. Καθ. του τμήματος Αγροτικής Ανάπτυξης στο Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης, Α. Κυμπάρη.

6.2. Φυτικά μέρη

Τα περισσότερα αρωματικά φυτά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη προμηθεύτηκαν από παραγωγούς που τα καλλιεργούν, ενώ ορισμένα συλλέχτηκαν απευθείας από άγριους πληθυσμούς σε αγρούς όπου αναπτύσσονται, από μέλη της ομάδας του καθ. Μ. Πολυσιού. Τα φυτά συλλέχτηκαν την περίοδο Ιουνίου- Αυγούστου 2012 στο στάδιο της άνθησής τους. Ειδικότερα, τα είδη *Mentha piperita* (μέντα), *Mentha spicata* (ήμερος δυόσμος I), *Satureja thymbra* (θρούμπι), *Lavandula angustifolia* (λεβάντα) και *Ocimum basilicum* (βασιλικός) συλλέχτηκαν από περιοχή της Καρδίτσας ενώ τα *Rosmarinus officinalis* (δενδρολίβανο), *Mellisa officinalis* (μελισσόχορτο), *Origanum mantzuranum* (μαντζουράνα), *Oregano vulgare* (ρίγανη) και *Thymus vulgaris* (θυμάρι) από περιοχή του Αγρινίου και το *Origanum dictamnus* (δίκταμο) από το Ηράκλειο της Κρήτης. Ο άγριος δυόσμος (*Mentha spicata* II) συλλέχτηκε από περιοχή της Σπάρτης ενώ το φλισκούνη (*Mentha pulegium*) συλλέχτηκε από δύο διαφορετικούς πληθυσμούς, ένα από την Καρδίτσα (I) και ένα από την Ορεστιάδα (II) (εικόνες 6.1 έως 6.6).



Εικόνα 6.1 Φυτά *Mentha piperita* (Μέντα) (αριστερά) και *Mentha spicata* (Δυόσμος) (δεξιά)



Εικόνα 6.2 Φυτά *Mentha pulegium* (Φλισκούνη) (αριστερά) και *Rosmarinus officinalis* (Δενδρολίβανο) (δεξιά)



Εικόνα 6.3 Φυτά *Mellisa officinalis* (Μελισσόχορτο) (αριστερά) και *Satureja thymbra* (Θρούμπι) (δεξιά).



Εικόνα 6.4 Φυτά *Lavandula angustifolia* (Λεβάντα) (αριστερά) και *Ocimum basilicum* (Βασιλικός) (δεξιά).



Εικόνα 6.5 Φυτά *Origanum dictamnus* (Δίκταμο) (αριστερά) και *Origanum majorana* (Μαντζουράνα) (δεξιά).



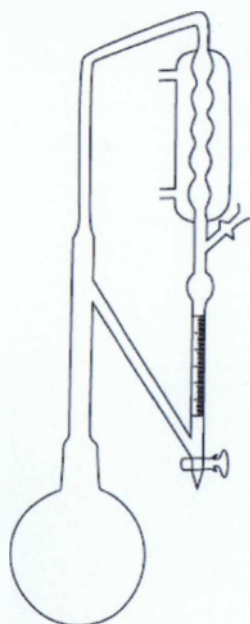
Εικόνα 6.6 Φυτά *Origanum vulgare* (Ρίγανη) (αριστερά) και *Thymus vulgaris* L. (Θυμάρι) (δεξιά).

6.2.1 Χημικά συστατικά

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

6.2.2 Απομόνωση αιθέριων ελαίων

Η απομόνωση των αιθέριων ελαίων από τα φυτικά τμήματα των παραπάνω 14 φυτών έγινε με υδροαπόσταξη. Συγκεκριμένα, τα εναέρια φυτικά τμήματα (βλαστοί, φύλλα, άνθη) πολτοποιήθηκαν σε ηλεκτρικό αναμεικτήρα (blender) και έπειτα 1 κιλό από το κάθε φυτικό δείγμα οδηγήθηκε για υδροαπόσταξη σε συσκευή Clevenger (Winzer) για περίπου 4 ώρες στους 100 οC, παρουσία 3 λίτρων νερού (εικόνα 6.7). Τα αιθέρια έλαια που παρελήφθησαν, αφυδατώθηκαν με τη βοήθεια άνυδρου θεικού μαγνησίου και διατηρήθηκαν σε καταψύκτη στους -22 οC μέχρι να πραγματοποιηθεί η χημική τους ανάλυση και να δοκιμαστεί η βιολογική τους δράση.



Εικόνα 6.7 Συσκευή Clevenger για υδροαπόσταξη ή απόσταξη με νερό

6.2.3 Φυτοχημική ανάλυση

Η φυτοχημική ανάλυση, δηλαδή η ανάλυση της χημικής σύστασης των αιθέριων ελαίων, πραγματοποιήθηκε με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC/GC-MS) (Gas Chromatography/ Gas Chromatography-Mass spectrometry analysis), όπως περιγράφεται αναλυτικά από τους Giatropoulos et al. (2012). Η σύγκριση των αποτελεσμάτων της φυτοχημικής ανάλυσης έγινε με τη βοήθεια βάσεων δεδομένων για φάσματα μάζας, τη χρήση φυσικών προϊόντων (όπου ήταν διαθέσιμα) αλλά και τη βοήθεια της διεθνούς βιβλιογραφίας (Adams 2007). Η απομόνωση των συστατικών piperitenone και piperitone epoxide, έγινε στο εργαστήριο Χημείας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών από την ερευνητική ομάδα του Καθ. Μ. Πολυσίου.

6.3 Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Aedes albopictus*

6.3.1 Διενέργεια βιοδοκιμών

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Βιολογικού Ελέγχου Γεωργικών Φαρμάκων (πρώην Εντομοκτόνων Υγειονομικής Σημασίας), του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, σε εσωτερικό χώρο κατάλληλο για την πραγματοποίηση βιοδοκιμών, απαλλαγμένο από βιοκτόνα, χωρίς ρεύματα αέρα με σταθερή θερμοκρασία και φωτοπερίοδο μακριά από τις ηλιακές ακτίνες. Οι συνθήκες πραγματοποίησης των βιοδοκιμών ήταν: θερμοκρασία $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, φωτοπερίοδο 16Φ:8Σ και σχετική υγρασία 80%.

Η μέθοδος που ακολουθήθηκε ήταν αυτή που προτείνει ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (Π.Ο.Υ.) για τον έλεγχο της ευαισθησίας ή της ανθεκτικότητας των προνυμφών των κουνουπιών, στα διάφορα εντομοκτόνα, με μικρές τροποποιήσεις (W.H.O. 1981, 2005). Στη συγκεκριμένη περίπτωση οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε πλαστικά δοχεία (ποτήρια) χωρητικότητας 200 ml, εντός των οποίων η ποσότητα του υδατικού διαλύματος με την αντίστοιχη δόση του αιθέριου ελαίου ή του συστατικού (διαλυμένα σε DMSO) ήταν 100 ml (εικόνα 6.8). Από το κάθε αιθέριο έλαιο ή συστατικό παρασκευαζόταν ένα μητρικό διάλυμα (stock solution) σε οργανικό διαλύτη dimethyl sulfoxide (DMSO) περιεκτικότητας 10% β/ο (w/v) εντός φιαλιδίου (vial). Εντός των δοχείων βιοδοκιμών τοποθετούνταν 20 προνύμφες του

Aedes albopictus από την εργαστηριακή εκτροφή, ανεπτυγμένες 3^{ου} ή νεαρές 4^{ου} σταδίου, σε υδατικό διάλυμα 100 ml με περιεκτικότητα σε DMSO 2% o/o (v/v), δηλαδή 98 ml νερό + 2 ml DMSO. Η προσθήκη του DMSO στο νερό σε περιεκτικότητα 2% o/o συντέλούσε στην καλύτερη διάλυση των ουσιών. Μετά την τοποθέτηση των 20 προνυμφών στο υδατικό διάλυμα σε DMSO, ακολουθούσε η προσθήκη των επιθυμητών δόσεων από το μητρικό διάλυμα των ουσιών σε DMSO. Η προσθήκη της ποσότητας της ουσίας που απαιτούνταν για τη δημιουργία της εκάστοτε επιθυμητής δόσης γινόταν στην επιφάνεια του νερού με τη χρήση πιπέτας και ακολουθούσε ανάδευση για 30" με τη βοήθεια γυάλινης ράβδου για την ομογενοποίηση του τελικού διαλύματος.

Επειδή με τις βιοδοκιμές μελετήθηκε η μεταβολή της θνησιμότητας σε σχέση με τη μεταβολή της δόσεως, εφαρμόστηκε σειρά δόσεων (τουλάχιστον 4) που έδιναν θνησιμότητες πάνω από 0% και κάτω από 100%. Κάθε συγκέντρωση δοκιμάστηκε τέσσερις φορές (4 επαναλήψεις) ενώ σε κάθε βιοδοκιμή υπήρχε και επέμβαση μόνο με 98 ml νερό + 2 ml DMSO ως αφέκαστος μάρτυρας (control).

Η τοξική δράση των ουσιών (αιθέριων ελαίων ή συστατικών) προσδιορίστηκε με την καταγραφή της θνησιμότητας των προνυμφών στις 24 ώρες. Κατά το διάστημα αυτό των 24 ωρών δεν χορηγήθηκε τροφή στις προνύμφες. Σύμφωνα με τη μέθοδο του Π.Ο.Υ. (W.H.O. 2005), που ακολουθήθηκε, στις νεκρές προνύμφες υπολογίζονται και αυτές που έχουν έντονη απόκλιση από τη φυσιολογική συμπεριφορά όπως σπασμούς ή αδυναμία απομάκρυνσης όταν ενοχληθούν στην άκρη του σιφωνίου τους με τη μύτη μιας βελόνας, οι προνύμφες που αδυνατούν να κολυμπήσουν ως την επιφάνεια για να αναπνεύσουν και οι προνύμφες που δεν παρουσιάζουν την χαρακτηριστική αντίδραση βύθισής τους στο νερό όταν εκείνο διαταράσσεται (εικόνα 6.10).

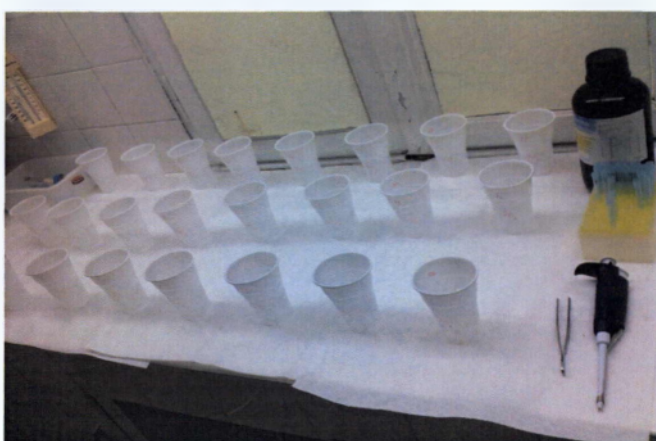
Πιο συγκεκριμένα, μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Aedes albopictus* των δεκατεσσάρων (14) αιθέριων ελαίων των φυτών της οικ. Lamiaceae καθώς και των εξής δεκαεννέα (19) κύριων χημικών συστατικών τους: menthol, menthone, carvone, piperitenone epoxide, pulegone, piperitone, piperitone epoxide, linalool, 1,8 cineole ή eucalyptol, neral, geranial, β -caryophyllene, carvacrol, γ -terpinene, linalyl acetate, methyl chavicol, *p*-cymene, terpinene-4-ol και thymol.

Διευκρινίζεται ότι για τις ουσίες menthol, menthone, carvone και pulegone, διενεργήθηκαν βιοδοκιμές και με τα 2 διαθέσιμα ισομερή της κάθε ουσίας. Δοκιμάστηκε επίσης η βιολογική δράση (προνυμφοκτός + απωθητική) της ουσίας piperitenone, παρόλο που ανιχνεύθηκε σε μικρές συγκεντρώσεις (< 5%), καθώς είναι συγγενές μόριο με τα κύρια συστατικά piperitenone epoxide, piperitone και piperitone epoxide, παράχθηκε με χημική

σύνθεση στο εργαστήριο και προκαταρκτικά πειράματα έδειξαν ότι είχε υψηλή απωθητική δράση.

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

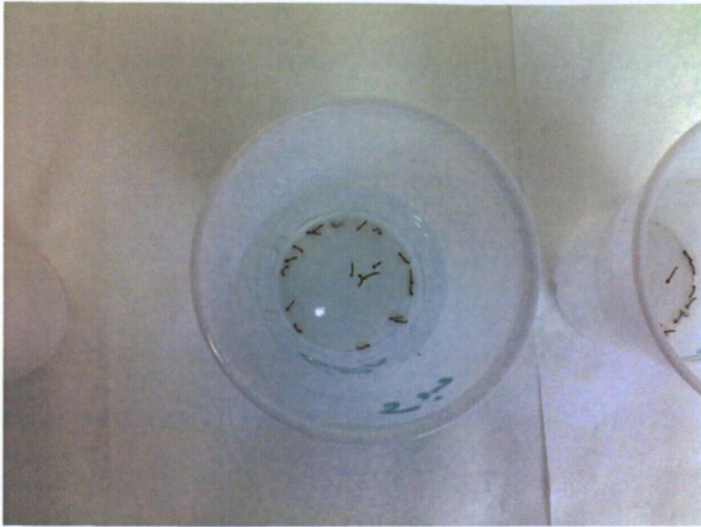
Έτσι, συνολικά διερευνήθηκε η προνυμφοκτόνος δράση στο *Ae. albopictus* 24 διαφορετικών τερπενίων, συστατικών των αιθέριων ελαίων.



Εικόνα 6.8 Βιοδοκιμή τοξικής δράσης ουσιών (αιθέριων ελαίων ή /και συστατικών τους) εναντίων του *Aedes albopictus* σε πλαστικά ποτήρια, εντός δωματίου ελεγχόμενων συνθηκών.



Εικόνα 6.9 Υλικά διεξαγωγής βιοδοκιμών προνυμφοκτονίας: πιπέτες, λαβίδα, tips κ.α.



Εικόνα 6.10 Νεκρές προνύμφες του *Aedes albopictus* μετά από 24 ώρες έκθεσης σε υψηλή δόση

6.3.2. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Τα δεδομένα της θνησιμότητας των προνυμφών στις 24 ώρες για κάθε δόση αιθέριου ελαίου ή συστατικού, δηλαδή η συνολική θνησιμότητα για κάθε δοκιμαζόμενη συγκέντρωση στο υδατικό διάλυμα (δόση) εκφρασμένη σε mg ουσίας ανά 1 λίτρο υδατικού διαλύματος (ή ppm), επεξεργάστηκαν με την Probit ανάλυση. Με την Probit ανάλυση η σιγμοειδής καμπύλη της θνησιμότητας μετατρέπεται σε ευθεία μετά από μετατροπή των ποσοστών θνησιμότητας σε Probit μονάδες και των δόσεων σε \log_{10} . Από την Probit ανάλυση υπολογίστηκαν οι τιμές των μέσων θανατηφόρων συγκεντρώσεων LC_{50} (Lethal concentration₅₀ - η συγκέντρωση στην οποία θανατώνεται το 50% του πληθυσμού) και LC_{90} (η συγκέντρωση στην οποία θανατώνεται το 90% του πληθυσμού), τα όρια εμπιστοσύνης (Confidential limits – CL) για κάθε τιμή LC_{50} ή LC_{90} για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha=0,05$, καθώς επίσης και η κλίσεις των ευθειών (slopes) (Finney 1971). Η στατιστική επεξεργασία δεδομένων της θνησιμότητας των προνυμφών με την Probit analysis έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

6.4. Απωθητική δράση εναντίον των ενήλικων του *Aedes albopictus*

6.4.1. Διενέργεια βιοδοκιμών

Για τη μελέτη της απωθητικής δράσης των ουσιών (αιθέριων ελαίων ή συστατικών) εναντίον των ενήλικων του *Aedes albopictus* αναπτύχθηκε ένα πρωτότυπο πρωτόκολλο πειραματισμού (Giatropoulos *et al.* 2012b, Giatropoulos *et al.* 2013), το οποίο βασίστηκε στον

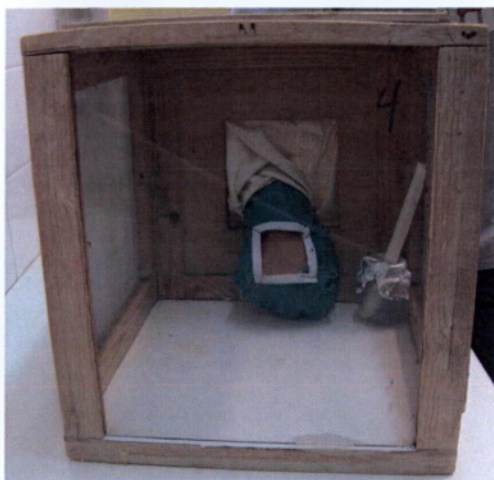
αριθμό των προσγειώσεων (landings) των κουνουπιών στο ανθρώπινο δέρμα (Coleman *et al.* 1993, Govere and Durrheim 2006). Για τις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν οι ξύλινοι κλωβοί της εκτροφής, διαστάσεων 33x33x33 cm, με τις ακμές ξύλινες και τις 3 πλευρές τους καλυμμένες με λεπτή σήτα. Στο πίσω μέρος υπήρχε άνοιγμα διαμέτρου 20 cm και κατασκευή με υφασμάτινο «μανίκι» που επέτρεπε την είσοδο του χεριού του παρατηρητή καθώς και την εισαγωγή και εξαγωγή υλικών, αποτρέποντας όμως την απόδραση των εντόμων. Σε κάθε κλωβό τοποθετούνταν 100 ενήλικα κουνούπια *Aedes albopictus*, με αναλογία φύλου 1:1, ηλικίας 5-10 ημερών, στα οποία είχε διακοπεί η χορήγηση τροφής (ζαχαρόνευρο) για 12 ώρες. Για την διάκριση του φύλου και τον προσδιορισμό της ηλικίας των χρησιμοποιούμενων ενηλίκων, συλλέγονταν αρχικώς νύμφες του *Aedes albopictus* από την εργαστηριακή εκτροφή οι οποίες αναπτύσσονταν μεμονωμένα σε ειδικά φιαλίδια (tubes) (εικόνα 6.11). Οι κλωβοί διατηρούνταν σε χώρο ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ και σχ. υγρασίας 70-80%.

Για τις ανάγκες των βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκε πλαστικό γάντι στην πάνω πλευρά του οποίου και στο ύψος του καρπού έφερε άνοιγμα διαστάσεων 5 x 5 cm. Περιμετρικά του ανοίγματος τοποθετούνταν διηθητικό χαρτί (Whatman chromatography paper) συνολικής επιφάνειας 24 cm^2 με τη βοήθεια μεταλλικών συνδετήρων (εικόνα 6.12). Το γάντι με το διηθητικό χαρτί και την επιθυμητή δόση κάθε ουσίας σε αυτό εισέρχονταν εντός του κλωβού και καταμετρούνταν ο αριθμός των κουνουπιών που προσγειώνονταν, χωρίς να πραγματοποιηθεί αιμοληψία, στην εκτεθειμένη περιοχή του δέρματος για διάστημα 5 λεπτών (εικόνα 6.12). Αρχικώς, στην επιφάνεια του διηθητικού χαρτιού εφαρμόστηκαν με τη βοήθεια πιπέτας διάφορες δόσεις του Deet (από 0,05 έως 1 mg/cm^2) και βρέθηκε ότι για διάστημα 5 λεπτών παραμονής του χεριού εντός του κλωβού η ελάχιστη δόση όπου καταγράφηκαν 0 προσγειώσεις ήταν περίπου $0,2\text{ mg/cm}^2$. Οι υπό εξέταση ουσίες διατηρούνταν σε μητρικό διάλυμα 10% β/ο σε διαλύτη dichloromethane (DCM) (100 μg ουσίας ανά ml διαλύματος σε DCM). Εν συνεχεία, όλα τα υπό εξέταση αιθέρια έλαια καθώς και τα συστατικά τους εφαρμόστηκαν στο διηθητικό χαρτί σε αυτή τη δόση ($0,2\text{ mg ουσίας/cm}^2$ ή 50 μl από το μητρικό διάλυμα DCM 10% β/ο), η οποία και χαρακτηρίστηκε ως «υψηλή». Οι ουσίες, αιθέρια έλαια ή συστατικά, που δοκιμάστηκαν σε αυτή δόση και παρείχαν απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις), δοκιμάστηκαν περαιτέρω στη δόση $0,08\text{ mg/cm}^2$ (20 μl από το μητρικό διάλυμα σε DCM 10% β/ο), η οποία και χαρακτηρίστηκε ως «μέτρια». Τέλος, οι ουσίες, αιθέρια έλαια ή συστατικά, που δοκιμάστηκαν σε αυτή δόση και παρείχαν απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις), δοκιμάστηκαν περαιτέρω στη δόση $0,04\text{ mg/cm}^2$ (100 μl από μητρικό διάλυμα σε DCM 1% β/ο) η οποία και χαρακτηρίστηκε ως «χαμηλή».

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



Εικόνα 6.1. Τοποθέτηση πουπών μεμονωμένα σε φιαλίδια.



Εικόνα 6.2. Βιοδοκιμή απωθητικής δράσης ουσιών σε ενήλικα του *Aedes albopictus*: χέρι εθελοντή με γάντι και διηθητικό χαρτί περιμετρικά του ανοίγματος του γαντιού και της εκτεθειμένης περιοχής του δέρματος, εντός κλωβού με 100 ενήλικα κουνούπια ($\sigma^{\circ}:\rho^{\circ}=1:1$) (αριστερά) και προσγειώσεις θηλυκών στην εκτεθειμένη περιοχή του δέρματος και στο διηθητικό χαρτί (δεξιά).

6.4.2. Στατιστική επεξεργασία δεδομένων.

Για τη σύγκριση του μέσου αριθμού προσγειώσεων κουνουπιών μεταξύ των ουσιών, ξεχωριστά των αιθέριων ελαίων και των συστατικών τους, συμπεριλαμβανομένου του μάρτυρα αναφοράς (Deet) και του αφέκαστου μάρτυρα, και στις τρεις δόσεις που εφαρμόστηκαν, εφαρμόστηκε μη-παραμετρική μέθοδος σύγκρισης, καθώς σε ορισμένες από τις ουσίες δεν υπήρχε παραλλακτικότητα στον αριθμό προσγειώσεων (M.O. προσγειώσεων =0). Σε κάθε μία από τις τρεις δόσεις πραγματοποιήθηκε σύγκριση του μέσου όρου προσγειώσεων ξεχωριστά για τα αιθέρια έλαια και ξεχωριστά για τα τερπένια/ συστατικά. Έτσι, για να διαπιστωθεί εάν ο παράγοντας ουσία, στην υψηλή δόση για τα αιθέρια έλαια με 16 επίπεδα (14 αιθέρια έλαια + 2 μάρτυρες) και τα τερπένια με 26 επίπεδα (24 τερπένια + 2 μάρτυρες)· στη μέτρια δόση για τα αιθέρια έλαια με 15 επίπεδα (13 αιθέρια έλαια + 2 μάρτυρες) και τα τερπένια με 14 επίπεδα (12 τερπένια + 2 μάρτυρες)· και στη χαμηλή δόση για τα αιθέρια έλαια με 11 επίπεδα (9 αιθέρια έλαια + 2 μάρτυρες) και τα τερπένια με 10 επίπεδα (8 τερπένια + 2 μάρτυρες), επιδρά σημαντικά στον αριθμό προσγειώσεων, εφαρμόστηκε το μη-παραμετρικό κριτήριο των Kruskal-Wallis. Το τεστ αυτό έδειξε ότι σε κάθε δόση τόσο μεταξύ των αιθέριων ελαίων όσο και μεταξύ των τερπενίων υπάρχουν σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$) στον αριθμό προσγειώσεων για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0,05$. Εν συνεχεία, για κάθε μία από τρεις δόσεις, τόσο για τα αιθέρια έλαια όσο και για τα τερπένια, έγιναν συγκρίσεις των διαμέσων των προσγειώσεων ανά 2 με τη μη-παραμετρική μέθοδο Mann-Whitney U. Σε κάθε δόση για κάθε σύγκριση των διαμέσων τιμών ανά 2, οι διάμεσοι διαφέρουν σημαντικά με $P < 0,05$. Η στατιστική επεξεργασία των δεδομένων έγινε με τη βοήθεια του στατιστικού πακέτου SPSS version 14.0 (SPSS 2004).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΕΒΔΟΜΟ

7.1. Αποτελέσματα

7.1.1 Φυτοχημική ανάλυση

Στον (εικόνα 7.1) που ακολουθεί εμφανίζεται η χημική σύσταση για κάθε αιθέριο έλαιο της οικογένειας *Lamiaceae* που εξετάστηκε στην παρούσα μελέτη, με την ποσοστιαία (%) περιεκτικότητα των συστατικών, όπως προέκυψε από την φυτοχημική ανάλυση με αέρια χρωματογραφία και φασματομετρία μαζών (GC/GC-MS). Με τη φυτοχημική ανάλυση, από το σύνολο των δεκατεσσάρων (14) αιθέριων ελαίων, εντοπίστηκε σχεδόν το σύνολο των συστατικών τους σε ποσοστά που κυμαίνονταν από 82,5 – 99 %, ενώ ανιχνεύθηκαν συνολικά 93 συστατικά.

Πίνακας 7.1. Χημική σύσταση των αιθέριων ελαίων από δεκατέσσερα (14) φυτά της οικ. *Lamiaceae*. Ποσοστιαία περιεκτικότητα (%) κάθε συστατικού για κάθε αιθέριο έλαιο.

Συστατικά	Σχετική ποσοστιαία (%) σύσταση						
	Mint EO1	Spic1 EO2	Spic2 EO3	Pul1 EO4	Pul2 EO5	Rosm EO6	Melo EO7
3-methyl cyclohexanone ^a	-	-	-	0.2	-	-	-
α -thujene	-	-	-	-	-	-	-
α -pinene ^a	0.4	0.6	0.2	-	0.1	6.0	-
camphene	-	-	-	-	-	1.8	-
sabinene	-	-	0.2	-	0.1	-	-
1-octen-3-ol	-	-	-	-	-	-	-
β -pinene ^a	1.0	0.3	1.1	-	-	0.3	-
β -myrcene	0.1	-	0.9	-	-	0.1	-
δ -2-carene	-	-	-	-	-	-	-
α -phellandrene	-	-	-	-	-	-	-
iso-sylvestrene	-	-	-	-	-	-	-
α -terpinene	0.1	-	-	-	-	-	-
<i>p</i>-cymene (p-κυμένιο)	-	-	-	-	-	-	-
limonene ^a	-	-	1.6	1.4	3.8	-	-
sylvestrene	-	-	-	-	-	-	-
eucalyptol^a (ευκαλυπτόλη)	6.8	9.2	10.0	-	-	71.7	-
<i>Z</i> - β -ocimene	-	-	-	-	-	-	-
<i>E</i> - β -ocimene	-	-	-	-	-	-	-
γ-terpinene^a (γ-τερπινένιο)	0.5	0.5	-	-	-	-	-
sabinene hydrate (cis)	1.7	-	-	-	-	-	-
terpinolene	-	-	-	-	-	-	-
linalool (λιναλοόλη)	0.3	-	0.1	-	-	-	2.2
sabinene hydrate (trans)	0.4	-	-	-	-	-	-

menth-2-en-1-ol (cis)	-	-	-	-	-	-	-
ocimene- <i>allo</i>	-	-	-	-	-	-	-
menth-2-en-1-ol (trans)	-	-	-	-	-	-	-
camphor	-	-	-	-	-	-	-
terpinen-1-ol	-	-	-	-	-	-	0.7
menthone^a (μενθόνη)	32.1	-	-	4.7	1.7	-	-
citronellal	-	-	-	-	-	-	3.8
<i>iso</i> -menthone ^a	6.4	-	-	13.2	0.5	-	1.1
<i>neo</i> -menthol	-	-	-	-	-	-	-
borneol	-	-	-	-	-	9.8	-
menthol^a (μενθόλη)	26.8	-	-	-	-	-	3.1
terpinen-4-ol^a (τερπινεν-4-όλη)	-	0.5	0.5	-	-	0.6	-
<i>iso</i> -menthol	0.6	-	-	-	-	-	-
α -terpineol	0.5	-	0.2	-	-	3.0	-
<i>cis</i> -dihydro carvone ^b	-	1.3	-	-	-	-	-
methyl chavicol (Μεθυλ Χαβικόλη)	-	-	-	-	-	-	2.2
isopulegone ^b	-	-	-	2.1	-	-	-
octenol acetate	-	-	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -carveol ^b	-	1.2	-	-	-	-	-
citronellol	-	-	-	-	-	-	1.8
nerol	-	-	-	-	-	-	0.9
pulegone^a (Πουλεγκόνη)	0.3	-	-	62.3	-	-	-
neral (Νεράλη)	-	-	-	-	-	-	11.3
carvone^a (Καρβόνη)	-	72.3	-	-	-	-	-
carvacrol methyl ether	-	-	-	-	-	-	-
thymoquinone	-	-	-	-	-	-	-
geraniol	-	-	-	-	-	-	3.7
piperitone^a (Πιπεριτόνη)	1.3	-	-	1.3	92.4	-	-
piperitone epoxide (εποξειδίο πιπεριτόνης)	-	-	23.8	-	-	-	-
linalyl acetate (οξικός εστέρας λιναλοόλης)	-	-	-	-	-	-	-
geranial (γερανιάλη)	-	-	-	-	-	-	13.2
anethol (<i>E</i>)	-	-	-	-	-	-	2.5
isopulegyl acetate	-	-	-	-	-	-	0.5
isobornyl acetate	-	-	-	-	-	1.1	-
bornyl acetate	-	-	-	-	-	-	-
lavandulyl acetate	-	-	-	-	-	-	-
thymol (θυμόλη)	-	-	1.4	-	-	-	-
menthyl acetate	2.7	-	-	-	-	-	-
Carvacrol (καρβακρόλη)	3.1	-	-	-	-	-	3.9
methyl geranate	-	-	-	-	-	-	1.3
piperitenone^a (πιπεριτενόνη)	-	-	4.5	4.4	0.3	-	-
eugenol	-	-	-	-	-	-	-
neryl acetate	-	-	-	-	-	-	-
piperitenone oxide^b (οξειδίο της πιπεριτενόνης)	-	-	41.0	1.6	-	-	-
α -copaene	0.1	-	-	-	-	-	0.9
geranyl acetate	-	-	-	-	-	-	-
β -damascenone (<i>E</i>)	-	-	-	-	-	-	0.8
β -cubebene	0.2	-	-	-	-	-	-
β -bourbonene ^c	1.0	1.6	-	0.2	0.1	-	-
β -elemene ^h	0.4	0.9	1.2	-	-	-	-
jasmone	-	-	0.4	-	-	-	-
caryophyllene^a (β-καρυοφυλλέν)	3.5	2.5	0.4	-	-	-	9.5
α -bergamotene- <i>trans</i>	-	-	-	-	-	-	-
α -guaiene	-	-	-	-	-	-	-
β -farnesene ^a	0.8	0.3	-	-	-	-	-

<i>α</i> -caryophyllene	-	-	-	-	-	-	0.9
germacrene D ^b	4.3	1.3	1.0	0.1	-	-	0.9
<i>β</i> -ionone (<i>E</i>)	-	-	-	-	-	-	1.0
bicyclogermacrene ^b	0.6	0.9	-	-	-	-	-
<i>α</i> -bulnesene	-	-	-	-	-	-	-
<i>β</i> -bisabolene	-	-	-	-	-	-	-
<i>α</i> -bisabolene	-	-	-	-	-	-	-
<i>γ</i> -cadinene	-	-	-	-	-	-	-
<i>β</i> -sesquiphellandrene	-	-	-	-	-	-	-
<i>δ</i> -cadinene	0.2	-	-	-	-	-	0.9
maaliol	-	-	-	-	-	-	-
caryophyllene oxide ^a	-	0.3	-	-	-	-	14.5
ledol	1.7	-	-	-	-	-	-
1,10-di- <i>epi</i> -cadinol	-	-	-	-	-	-	-
<i>α</i> -cadinol	-	-	-	-	-	-	0.9
Σύνολο	9	93.7	88.5	91.5	99.0	94.4	82.5
Ποσότητα ελαίου**		1.6	1.4	2.2	2.3	1.3	0.2

Συστατικά	Σχετική ποσοστιαία (%) σύσταση						
	Satu EO8	Lava EO9	Basil EO10	Dict EO11	Majo EO12	Oreg EO13	Thym EO14
3-methyl cyclohexanone ^a	-	-	-	-	-	-	-
<i>α</i> -thujene	1.2	-	-	-	0.2	0.1	-
<i>α</i> -pinene ^a	2.4	0.4	0.3	0.2	-	0.6	0.6
camphene	-	-	-	-	-	0.2	0.1
sabinene	-	-	-	-	-	-	-
1-octen-3-ol	-	-	-	-	-	0.3	0.2
<i>β</i> -pinene ^a	1.0	-	0.6	0.3	0.3	-	-
<i>β</i> -myrcene	3.2	0.1	-	-	-	1.0	1.3
<i>δ</i> -2-carene	2.0	-	-	-	-	-	-
<i>α</i> -phellandrene	-	-	-	-	-	-	0.2
<i>iso</i> -sylvestrene	-	-	-	-	-	-	0.1
<i>α</i> -terpinene	-	-	-	1.3	4.5	0.8	1.1
<i>p</i>-cymene(ρ-κυμένιο)	13.7	0.1	-	22.1	1.9	7.9	6.3
limonene ^a	-	0.3	-	-	-	-	-
sylvestrene	-	-	-	-	1.6	-	-
eucalyptol(ευκαλυπτόλη)	-	-	7.2	-	-	-	-
<i>Z</i> - <i>β</i> -ocimene	-	8.3	-	-	-	-	-
<i>E</i> - <i>β</i> -ocimene	-	3.4	0.9	-	-	-	-
<i>γ</i>-terpinene^a(γ-τερπινένιο)	32.4	0.2	-	12.1	8.4	4.1	3.4
sabinene hydrate (cis)	-	-	-	-	0.7	-	-
terpinolene	-	-	-	-	1.4	0.2	0.2
linalool(λιναλοόλη)	-	25.4	35.7	2.0	7.6	0.2	1.1
sabinene hydrate (trans)	-	-	-	-	-	-	-
menth-2-en-1-ol (cis)	-	-	-	-	0.6	-	-
ocimene- <i>allo</i>	-	0.6	-	-	-	-	-
menth-2-en-1-ol (trans)	-	-	-	-	0.2	-	-
camphor	-	0.4	0.5	-	-	-	-
terpinen-1-ol	-	-	-	-	-	-	-
menthone^a(μενθόνη)	-	-	-	-	-	-	-
citronellal	-	-	-	-	-	-	-
<i>iso</i> -menthone ^a	0.1	-	-	-	-	-	-
<i>neo</i> -menthol	0.1	-	-	-	-	-	-
borneol	-	2.2	-	-	-	0.4	-
menthol^a(μενθόλη)	-	-	-	-	-	-	-
terpinen-4-ol ^a (τερπινεν-4-όλη)	0.6	7.2	0.4	0.8	12.2	0.8	0.9

iso-menthol	-	-	-	-	-	-	-
α -terpineol	0.2	2.2	1.3	-	3.6	-	-
<i>cis</i> -dihydro carvone ^b	-	-	-	-	-	-	-
methyl chavicol(Μεθυλ Χαβικόλη)	-	-	16.3	-	-	-	-
isopulegone ^b	-	-	-	-	-	-	-
octenol acetate	-	1.3	-	-	-	-	-
<i>trans</i> -carveol ^b	-	-	-	-	-	-	-
citronellol	-	-	-	-	-	-	-
nerol	-	-	-	-	-	-	-
pulegone^a(Πουλεγκόνη)	-	-	-	-	-	-	-
neral(Νεράλη)	-	-	-	-	-	-	-
carvone^a(Καρβόνη)	-	-	-	-	-	-	-
carvacrol methyl ether	0.2	-	-	-	-	0.5	-
thymoquinone	-	-	-	-	-	-	0.4
geraniol	-	-	1.1	-	-	-	-
piperitone^a(Πιπεριτόνη)	-	-	-	-	-	-	-
piperitone epoxide(εποξείδιο πιπεριτόνης)	-	-	-	-	-	-	-
linalyl acetate(οξικός εστέρας λινυλοόλης)	-	25.6	-	-	2.6	-	-
geranial(γερανιάλη)	-	-	-	-	-	-	-
anethol (E)	-	-	-	-	-	-	-
isopulegyl acetate	-	-	-	-	-	-	-
isobornyl acetate	-	-	-	-	-	-	-
bornyl acetate	-	-	1.3	-	-	-	-
lavandulyl acetate	-	7.4	-	-	-	-	-
thymol(θυμόλη)	0.3	-	-	-	-	2.7	75.6
menthyl acetate	-	-	-	-	-	-	-
Carvacrol(καρβακρόλη)	32.4	-	-	58.7	50.7	74.8	-
methyl geranate	-	-	-	-	-	-	-
piperitenone^a(πιπεριτενόνη)	-	-	-	-	-	-	-
eugenol	-	-	2.5	-	-	-	0.1
neryl acetate	-	0.7	-	-	-	-	-
piperitenone oxide^b(οξείδιο της πιπεριτενόνης)	-	-	-	-	-	-	-
α -copaene	-	-	0.3	-	-	-	-
geranyl acetate	-	1.3	-	-	0.3	-	-
β -damascenone (E)	-	-	-	-	-	-	-
β -cubebene	-	-	-	-	-	-	-
β -bourbonene ^b	-	-	-	-	-	-	-
β -elemene ^b	-	-	3.5	-	-	-	-
jasmone	-	-	-	-	-	-	-
β-caryophyllene^a(β-καρυοφυλλένιο)	0.7	6.4	0.4	1.5	2.1	2.0	4.3
α -bergamotene- <i>trans</i>	-	0.2	7.8	-	-	-	-
α -guaiene	-	-	1.4	-	-	-	-
β -farnesene ^a	-	3.9	0.2	-	-	-	-
α -caryophyllene	0.1	-	1.2	-	-	0.3	0.2
germacrene D ^b	-	0.4	3.1	-	-	-	-
β -ionone (E)	-	-	-	-	-	-	-
bicyclogermacrene ^b	-	-	1.0	-	-	-	-
α -bulnesene	-	-	1.3	-	-	-	-
β -bisabolene	-	-	-	-	0.4	1.0	0.9
α -bisabolene	1.6	-	-	-	-	-	0.8
γ -cadinene	-	0.1	2.3	-	-	-	-
β -sesquiphellandrene	-	-	0.6	-	-	-	-
δ -cadinene	-	-	-	-	-	0.2	0.1

maaliol	-	-	0.9	-	-	-	-
caryophyllene oxide ^a	0.5	0.2	-	-	-	0.6	0.6
ledol	-	-	-	-	-	-	-
1,10-di-epi-cadinol	-	-	0.5	-	-	-	-
α -cadinol	-	-	1.6	-	-	-	-
Σύνολο	92.7	98.3	96.2	99.0	3	98.7	98.5
Ποσότητα ελαίου**	2.8	2.1	1.8	2.2		4.3	3.5

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

** Η ποσότητα αιθέριου ελαίου εκφρασμένη σε ml αιθέριου ελαίου / 100 gr. ξηρού βάρους (dry wt)

7.1.2. Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Aedes albopictus*

Η τοξική δράση των αιθέριων ελαίων των δεκατεσσάρων (14) ειδών φυτών της οικ. Lamiaceae καθώς και των εικοσιτεσσάρων (24) συνολικά τερπενίων/ συστατικών τους, συμπεριλαμβανομένων των ισομερών μορίων σε ορισμένα, εναντίον των προνυμφών 3ου - 4ου σταδίου του *Aedes albopictus*, παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα 7.2. Η βιολογική δράση του συνόλου των ουσιών, αιθέριων ελαίων ή τερπενίων, επί των προνυμφών του *Aedes albopictus*, με την εφαρμογή τους στο νερό, ήταν δοσο-εξαρτημένη, δηλαδή η αύξηση των δόσεων προκαλούσε αυξημένη θνησιμότητα στις προνύμφες των κουνουπιών.

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

Όσον αφορά την προνυμφοκτόνο δράση των κύριων συστατικών των αιθέριων ελαίων οι πιο δραστικές ουσίες ήταν τα thymol, carvacrol, p-cymene, piperitenone epoxide και γ-terpinene καθώς οι LC50 τιμές τους ήταν αρκετά χαμηλές και κυμάνθηκαν από 12,9 έως 23,9 mg/ lt, με πιο τοξικά τα thymol και carvacrol με LC50 γύρω στο 13 mg/ lt. Λιγότερο αποτελεσματική, αλλά ικανοποιητική, ήταν η προνυμφοκτόνος δράση των menthol, menthone, pulegone, geranial, linalyl acetate και methyl chavicol δεδομένου ότι οι LC50 τιμές τους κυμάνθηκαν από 44,1 έως και 84,2 mg/ lt. Η εφαρμογή των υπόλοιπων συστατικών είχε φτωχή έως καθόλου τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Aedes albopictus*, καθώς για τη θνησιμότητα του 50% των προνυμφών απαιτήθηκαν δόσεις μεγαλύτερες από 100 ή 200 mg/ lt.

Πίνακας 7.2. LC₅₀ και LC₉₀ τιμές για τα 14 αιθέρια έλαια της οικ. *Lamiaceae* και των 24 κύριων συστατικών τους εναντίον προνυμφών 3^{ου}-4^{ου} σταδίου του *Ae. albopictus*.

A/α	Αιθέριο έλαιο	Κλίση ευθείας (±T.Σ.)	LC ₅₀ (95% O.E.) ^a	LC ₉₀ (95% O.E.) ^a	χ ^{2β}	B.E.
1	<i>Mentha piperita</i>	9,67±0,79	60,25 (57,94-62,56)	81,76 (77,61-87,41)	18,938	19
2	<i>Mentha spicata</i> I	10,56±0,99	74,43 (71,75-77,13)	98,43 (93,39-105,68)	15,854	16
3	<i>Mentha spicata</i> II	11,11±1,13	66,07 (63,59-68,42)	86,17 (82,02-92,23)	13,805	16
4	<i>Mentha pulegium</i> I	10,15±1,04	100,24 (96,15-103,87)	134,07 (127,65-143,45)	23,567	16
5	<i>Mentha pulegium</i> II	12,53±1,38	147,53 (138,72-154,85)	186,72 (175,40-207,91)	25,141 ^β	13
6	<i>Rosmarinus officinalis</i>	6,23±0,55	104,60 (99,05-110,10)	167,92 (155,24-186,49)	19,906	19
7	<i>Mellisa officinalis</i>	9,54±0,79	128,75 (124,03-133,57)	175,42 (166,25-188,06)	28,422	19
8	<i>Satureja thymbra</i>	8,49±0,86	53,32 (50,50-55,95)	75,46 (70,84-82,20)	20,260	13
9	<i>Lavandula angustifolia</i>	10,70±1,07	142,92 (137,56-147,91)	188,31 (179,29-201,41)	21,847	16
10	<i>Ocimum basilicum</i>	6,34±0,60	107,66 (98,93-116,24)	171,53 (152,78-207,55)	39,533 ^β	19
11	<i>Origanum dictamnus</i>	4,02±0,34	27,41 (24,98-29,93)	57,08 (50,46-66,99)	18,827	19
12	<i>Origanum majorana</i>	4,51±0,42	39,54 (36,45-42,48)	76,09 (68,56-87,53)	28,530	19
13	<i>Origanum vulgare</i>	5,01±0,51	23,48 (20,17-26,47)	42,33 (36,67-52,86)	23,303 ^β	13
14	<i>Thymus vulgaris</i>	3,70±0,35	20,53 (18,26-22,77)	45,57 (39,82-54,52)	17,152	16

	Κύρια Συστατικά					
1	(+)-menthol	3,72±0,52	84,27 (75,58-92,52)	186,10 (156,70-247,70)	10,966	13
2	(-)-menthol	6,76±0,60	70,46 (62,48-78,97)	109,05 (94,88-136,98)	34,233 ^β	13
3	(+)-menthone	9,06±0,86	53,85 (50,41-57,70)	74,59 (67,86-86,80)	23,780 ^β	13
4	(-)-menthone	6,45±0,65	58,98 (55,90-62,16)	93,21 (85,37-105,53)	14,177	16
5	S-(+)-carvone	8,11±0,85	117,78 (108,69-129,12)	169,46 (149,56-213,70)	29,426 ^β	13
6	R(-)-carvone	7,54±0,81	107,40 (97,93-120,23)	158,85 (137,36-209,79)	30,490 ^β	13
7	piperitenone epoxide	2,65±0,40	23,89 (20,50-27,89)	72,90 (54,63-121,06)	14,312	10
8	R-(+)-pulegone	7,01±0,74	64,19 (61,28-67,04)	97,77 (90,47-109,38)	29,079	19
9	S(-)-pulegone	5,26±0,63	62,03 (51,87-78,84)	108,68 (83,51-245,81)	59,191 ^β	13
10	piperitone		>>200			
11	linalool		>>200			
12	1,8-cineole		>>200			
13	neral	6,83±0,57	112,96 (107,13-119,01)	173,98 (161,21-192,17)	26,529	19
14	geranial	5,66±0,55	76,02 (70,73-80,97)	128,01 (117,50-143,64)	24,246	16
15	β-caryophyllene		>> 200			
16	linalyl acetate	3,19±0,34	44,10 (33,28-54,23)	111,16 (86,31-173,87)	30,847 ^β	13
17	methyl chavicol	10,34±1,16	58,72 (53,70-63,07)	78,13 (71,74-90,38)	19,164 ^β	10
18	piperitenone	8,93±0,67	162,24 (150,97-173,19)	225,73 (208,35-252,86)	43,961 ^β	19
19	piperitone epoxide	7,03±0,76	100,45 (94,85-106,34)	152,81 (139,82-173,67)	19,712	13
20	thymol	4,05±0,43	12,92 (11,63-14,19)	26,79 (23,40-32,41)	21,966	13
21	carvacrol	4,04±0,37	13,01 (11,74-14,28)	27,01 (23,96-31,57)	25,711	16
22	p-cymene	7,55±0,65	19,44 (18,17-20,75)	28,75 (26,26-32,79)	30,936 ^β	19
23	γ-terpinene	6,29±0,47	20,21 (19,20-21,23)	32,31 (30,10-35,32)	25,057	25
24	(-)-terpinene-4-ol		>> 200			

^a Οι τιμές LC εκφράζονται σε mg/lit και υπάρχει μεταξύ τους στατιστικώς σημαντική διαφορά όταν τα όρια εμπιστοσύνης (O.E.) για επίπεδο σημαντικότητας $\alpha = 0.05$ (95%) δεν επικαλύπτονται.

^b Goodness of fit test για την probit ανάλυση. Το χ^2 είναι σημαντικό (επίπεδο σημαντικότητας 0.05) για το λόγο αυτό στον υπολογισμό των ορίων εμπιστοσύνης χρησιμοποιήθηκε παράγοντας ετερογένειας.

7.1.3. Απωθητική δράση εναντίον των ενήλικων του *Aedes Albopictus*

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

Όπως φαίνεται και από τον παρακάτω πίνακα 7.3, όλα τα αιθέρια έλαια, με εξαίρεση το *M. piperita*, όταν δοκιμάστηκαν στην «υψηλή» δόση 0,2 mg ουσίας/ cm² εμφάνισαν απόλυτη προστασία (0 προσγειώσεις) από τα ενήλικα του *Ae. albopictus*, όπως και ο χημικός μάρτυρας αναφοράς (Deet), σε σχέση μάλιστα με το απέκαστο χέρι (μάρτυρας) όπου καταγράφηκε μεγάλος αριθμός προσγειώσεων. Μειώνοντας 2,5 περίπου φορές τη δόση του αιθέριου ελαίου στην επιφάνεια του διηθητικού χαρτιού («μέτρια δόση»), μετά την εφαρμογή ορισμένων από τα αιθέρια έλαια όπως τα *T. vulgaris*, *O. vulgare*, *M. pulegium* I και *L. angustifolia*, όπως επίσης και του Deet, καταγράφηκαν ορισμένες προσγειώσεις κουνουπιών. Η απωθητικότητα των υπόλοιπων αιθέριων ελαίων αξιολογήθηκε και στην μικρότερη δόση των 0,04 mg ουσίας/ cm² όπου καταγράφηκε για όλα ένας μικρότερος ή μεγαλύτερος αριθμός προσγειώσεων, όπως και για το Deet, όμως σημαντικά μικρότερος από τον απέκαστο μάρτυρα. Η εφαρμογή της «μικρής» δόσης έδειξε ότι τα αιθέρια έλαια των φυτών *M. officinalis*, *O. dictamnus*, *M. spicata* II, *O. mantzuranum* και *S. thymbra* εμφανίζουν καλή απωθητική δράση με λιγότερες από 10 προσγειώσεις ανά 5 λεπτά έκθεσης, ενώ τα *O. mantzuranum* και *S. thymbra* φαίνεται ότι παρέχουν την μεγαλύτερη προστασία από το *Ae. albopictus* (περίπου 2 προσγειώσεις/ 5 λεπτά), συγκρινόμενα με την εφαρμογή του Deet.

Πίνακας 7.3. Απωθητική δράση των αιθέριων ελαίων φυτών της οικ. *Lamiaceae* εναντίον ενηλίκων του *Aedes albopictus* στην «υψηλή» δόση 0,2 mg/ cm², στη «μέτρια» δόση 0,08 mg/ cm² και στη «χαμηλή» δόση 0,04 mg/ cm²: Μέσος αριθμός προσγειώσεων ± Τ.Σ.Μ. για 5 λεπτά έκθεσης.

Ουσία	Δόση σε mg/ cm ²		
	0,2 (υψηλή)	0,08 (μέτρια)	0,04 (χαμηλή)
Μάρτυρας	52,6±5 a	52,6±5 a	52,6±5 a
<i>Mentha piperita</i>	2±1,1 b	-	-
<i>Thymus vulgaris</i>	0 b	13,7±1,7 b	-
<i>Origanum vulgare</i>	0 b	3±1 c	-
<i>Mentha pulegium</i> I	0 b	1,3±0,5 cd	-
<i>Lavandula angustifolia</i>	0 b	0,7±0,3 cd	-
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0 b	0 d	17,9±8,4 bc
<i>Mentha pulegium</i> II	0 b	0 d	17,5±2,1 b
<i>Mentha spicata</i> I	0 b	0 d	14±1,3 b
<i>Ocimum basilicum</i>	0 b	0 d	10,2±3,5 bc
<i>Mellisa officinalis</i>	0 b	0 d	5±1,9 cd
<i>Origanum dictamnus</i>	0 b	0 d	5±0,9 cd
<i>Mentha spicata</i> II	0 b	0 d	4,8±0,9 cd
<i>Origanum mantzuranum</i>	0 b	0 d	2,4±1,4 d
<i>Satureja thymbra</i>	0 b	0 d	2,3±1,3 d
Deet	0 b	1,6±0,7 c	1,5±0,8 d

*Οι μέσοι όροι σε μια στήλη που φέρουν διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά (P < 0,05), Mann-Whitney U-test.

Σχετικά με την απωθητική δράση των κύριων συστατικών των αιθέριων ελαίων, από τα 24 τερπένια που δοκιμάστηκαν μόνο τα μισά πέρασαν το κριτήριο των 0 προσγειώσεων στη μεγάλη δόση 0,2 mg ουσίας/ cm² **πίνακα 7.4**. Ωστόσο, στη δόση αυτή καταγράφηκαν σημαντικά λιγότερες προσγειώσεις κουνουπιών από τον αφέκαστο μάρτυρα για όλα τα μόρια που εξετάστηκαν. Στη «μέτρια» δόση (0,08 mg ουσίας/ cm²) τα δύο ισομερή της carvone και τα S(-)-pulegone και linalool έδωσαν ορισμένες προσγειώσεις κουνουπιών, χωρίς όμως να

διαφέρουν σημαντικά από εκείνες που καταγράφηκαν από την εφαρμογή του Deet, ενώ τα υπόλοιπα μόρια παρείχαν απόλυτη προστασία από το *Aedes albopictus*. Τέλος, η αξιολόγηση (screening) των τερπενίων στη «μικρή» δόση (0,04 mg ουσίας/ cm²) έδειξε ότι τα thymol και carvacrol (ισομερή), piperitenone και piperitenone epoxide εμφανίζουν την καλύτερη απωθητική δράση, συγκρινόμενα με την εφαρμογή του Deet, με λιγότερες από 10 προσγειώσεις ανά 5 λεπτά έκθεσης, ενώ το carvacrol παρείχε απόλυτη προστασία από το *Ae. albopictus* (0 προσγειώσεις).

Πίνακας 7.4. Απωθητική δράση των τερπενίων/κύριων συστατικών των αιθέριων ελαίων φυτών της οικ. Lamiaceae εναντίον ενηλίκων του *Aedes albopictus* στην «υψηλή» δόση 0,2 mg/ cm², στη «μέτρια» δόση 0,08 mg/ cm² και στη «χαμηλή» δόση 0,04 mg/ cm²: Μέσος αριθμός προσγειώσεων ± Τ.Σ.Μ. για 5 λεπτά έκθεσης.

Ουσία	Δόση σε mg/ cm ²		
	0,2 (υψηλή)	0,08 (μέτρια)	0,04 (χαμηλή)
Μάρτυρας	52,6±5 a	52,6±5 a	52,6±5 a
1,8-cineole	34,1±4,8 b	-	-
methyl chavicol	31,2±4,5 b	-	-
p-cymene	26,3±5,3 bc	-	-
(+)-menthone	24±3,7 bc	-	-
γ-terpinene	18,3±2 cd	-	-
β-caryophyllene	18,1±5,6 cde	-	-
linalyl acetate	8,6±3,3 def	-	-
(-)-menthone	6,5±2,1 ef	-	-
(+)-menthol	2,8±1,6 efg	-	-
piperitone epoxide	1,5±0,6 fg	-	-
(-)-menthol	1,2±0,6 fg	-	-
terpinen-4-ol	1±0,5 fg	-	-
S(+)-carvone	0 g	7±3,2 bc	-
S(-)-pulegone	0 g	6±2,7 b	-
R(-)-carvone	0 g	4,2±1,2 b	-
linalool	0 g	4,2±1,6 b	-
neral	0 g	0 c	34,7±2,1 b

piperitone	0 g	0 c	32,9±2,4 b
R(+)-pulegone	0 g	0 c	20±3,9 c
geranial	0 g	0 c	13±4,9 cd
thymol	0 g	0 c	4,8±1,5 d
piperitenone	0 g	0 c	3,7±1,9 d
piperitenone epoxide	0 g	0 c	1,3±0,8 d
carvacrol	0 g	0 c	0 d
Deet	0 g	1,6±0,7 b	1,5±0,8 d

*Οι μέσοι όροι σε μια στήλη που φέρουν διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά ($P < 0,05$), Mann-Whitney U-test.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΟΓΔΟΟ

8.1 Συζήτηση - συμπεράσματα

8.1.2 Τοξική δράση εναντίον των προνυμφών του *Aedes albopictus*

Μεταξύ των αιθέριων ελαίων των φυτών Lamiales που αξιολογήθηκαν στην παρούσα μελέτη, η ισχυρότερη προνυμφοκτόνος δράση καταγράφηκε για τα αιθέρια έλαια του είδους *T. vulgaris* ($LC_{50} = 20,5 \text{ mg/l}$) και των ειδών του γένους *Origanum* ($LC_{50} = 23,5 - 39,5 \text{ mg/l}$). Η εντομοκτόνος δράση των συγκεκριμένων ελαίων μπορεί να αποδοθεί στην υψηλή τοξική δράση που σημείωσαν εναντίον των προνυμφών του *Aedes albopictus* τα κύρια συστατικά τους θυμόλη, καρβακρόλη, p-κυμένιο και γ-τερπινένιο με χαμηλές τιμές LC_{50} που κυμάνθηκαν από 12,9 έως 20,2 mg/l. Η αποτελεσματική τοξική δράση του *T. vulgaris* όσο και ειδών του γένους *Origanum*, καθώς και των κύριων συστατικών τους θυμόλη, καρβακρόλη, p-κυμένιο και γ-τερπινένιο έχει αναφερθεί και από άλλους συγγραφείς εναντίον προνυμφών διαφόρων ειδών κουνουπιών. Πιο συγκεκριμένα, σύμφωνα με τους Amer and Mehlhorn (2006) οι LC_{50} τιμές για το αιθέριο έλαιο θυμαριού του είδους *T. serpyllum* σε υδατικό διάλυμα ακετόνης μετά από 24 ώρες έκθεσης ήταν μόλις 1 ppm εναντίον του *Aedes aegypti* και *Cx. quinquefasciatus* και 10 ppm εναντίον του *An. stephensi*. Οι Cetin and Yanikoglu (2006) μελέτησαν την τοξική δράση αιθέριων ελαίων 2 ειδών του γένους *Origanum*, *O. onites* και *O. minutiflorum*, εναντίον προνυμφών 3^{ου} - 4^{ου} σταδίου του *Cx. pipiens* και βρήκαν ότι οι LC_{50} τιμές μετά από 24 ώρες έκθεσης ήταν 24,8 και 73,8 ppm, αντίστοιχα. Σε μελέτη αξιολόγησης

(screening test) της προνυμφοκτόνου δράσης αιθέριων ελαίων 22 αρωματικών φυτών εναντίον του *Cx. quinquefasciatus* το αιθέριο έλαιο από το φυτό *T. vulgaris* εμφάνισε τη μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα ($LC_{50} = 32,9 \text{ mg/l}$) μετά από 24 ώρες έκθεσης. Η χημική ανάλυση έδειξε ότι τα κύρια συστατικά του συγκεκριμένου ελαίου ήταν η θυμόλη και το p-κυμένιο σε συγκεντρώσεις 60,3 και 10,1%, αντίστοιχα (Pavela 2009). Σύμφωνα με τους Pitarokili *et al.* (2011a) οι LC_{50} τιμές των αιθέριων ελαίων των άγριων ελληνικών ειδών θυμαριού *T. leucospermus* και *T. teucrioides subsp. candilicus* ήταν 34,26 και 23,17mg/ lt, αντίστοιχα, εναντίον προνυμφών 3^{ου} – 4^{ου} σταδίου του *Cx. pipiens*. Στην ίδια μελέτη η φυτοχημική ανάλυση έδειξε ότι το κύριο συστατικό στο είδος *T. leucospermus* ήταν το p-κυμένιο (64,2%) ενώ στο *T. teucrioides subsp. candilicus* τα κύρια συστατικά ήταν το p-κυμένιο (25,5%), το γ-τερπινένιο (19%) και η θυμόλη (18,8%). Σύμφωνα με τους Traboulsi *et al.* (2002) η εφαρμογή του αιθέριου ελαίου του φυτού *O. syriacum*, με κύρια συστατικά τα καρβακρόλη (61%) και θυμόλη (21,8%), εναντίον προνυμφών 4^{ου} σταδίου του *Cx. pipiens molestus* προκάλεσε θνησιμότητα στο 50% του πληθυσμού μετά από 24 ώρες έκθεσης στη δόση 36 mg/ lt. Επίσης, σε βιοδοκιμές αιθέριων ελαίων 4 χημειοτύπων του *T. vulgaris* εναντίον προνυμφών του *Cx. quinquefasciatus*, το έλαιο του *T. vulgaris* με κύριο συστατικό τη θυμόλη σε συγκέντρωση 77,7% ήταν το πιο τοξικό με LC_{50} τιμές = 32,9 και 14,2 mg/ lt εναντίον προνυμφών 3^{ου} και 4^{ου} σταδίου, αντίστοιχα (Pavela *et al.* 2009). Η τοξική δράση της θυμόλης και καρβακρόλης ήταν παρόμοια υψηλή εναντίον προνυμφών 4^{ου} σταδίου του *Cx. pipiens* ($LC_{50} = 37,95$ και 44,4 mg/ lt, αντίστοιχα) (Radwan *et al.* 2008) και του *Cx. pipiens molestus* ($LC_{50} = 36$ και 37,6 mg/ lt, αντίστοιχα) μετά από 24 ώρες έκθεσης (Traboulsi *et al.* 2002).

Η σημαντική δράση του αιθέριου ελαίου από το φυτό *S. thymbra* ($LC_{50} = 53,3 \text{ mg/l}$), φαίνεται ότι οφείλεται στην υψηλή τοξικότητα των κύριων συστατικών που ανιχνεύθηκαν στο συγκεκριμένο έλαιο, η καρβακρόλη και το γ-τερπινένιο ($LC_{50} = 13$ και 20,2 mg/ lt, αντίστοιχα). Ομοίως, η εφαρμογή του αιθέριου ελαίου από το φυτό *Satureja hortensis* με κύρια συστατικά την καρβακρόλη και το γ-τερπινένιο (48,1 και 36,7%, αντίστοιχα) προκάλεσε ικανοποιητική θνησιμότητα σε προνύμφες του *Cx. quinquefasciatus*, σημειώνοντας τιμή $LC_{50} = 36,1 \text{ mg/l}$ (Pavela 2009). Σύμφωνα με τους Michaelakis *et al.* (2007) το αιθέριο έλαιο του φυτού *Satureja thymbra* από τα φύλλα και τους βλαστούς με κύρια συστατικά τη θυμόλη (42,1%) και το γ-τερπινένιο (20,1%) εναντίον προνυμφών του *Cx. pipiens molestus* σημείωσε τιμή $LC_{50} = 44,5 \text{ mg/l}$, ενώ το αιθέριο έλαιο από τα φύλλα, τους βλαστούς και τα άνθη του ίδιου φυτού με κύρια συστατικά τη καρβακρόλη (30,4%), τη θυμόλη (24,3%) και το γ-τερπινένιο (14,6%) είχε τιμή $LC_{50} = 64,4 \text{ mg/l}$.

Η ισχυρή τοξικότητα της θυμόλης και της καρβακρόλης εναντίον προνυμφών κουνουπιών σε σχέση με άλλα συστατικά που απαντώνται σε αιθέρια έλαια φυτών της οικ. *Lamiaceae* έχει αναφερθεί και από τους Traboulsi *et al.* (2002), σύμφωνα με τους οποίους οι τιμές LC_{50} εναντίον προνυμφών 4^{ου} σταδίου του *Cx. pipiens molestus* μετά από 24 ώρες έκθεσης ήταν 36 και 37,6 mg/ lt για τη θυμόλη και τη καρβακρόλη και 156, 191 και 193 mg/ lt για τη μενθόνη, την 1,8-σινεόλη και την λιναλοόλη. Ομοίως, σύμφωνα με τους Radwan *et al.* (2008) οι LC_{50} τιμές εναντίον προνυμφών 4^{ου} σταδίου του *Cx. pipiens* ήταν 38 και 44,4 mg/ lt για τη θυμόλη και τη καρβακρόλη ενώ κυμάνθηκαν από 106 έως πάνω από 200 mg/ lt για την (R)-καρβόνη, την (S)-καρβόνη και την μενθόλη.

Στη μέτρια αποτελεσματικότητα των αιθέριων ελαίων από τα φυτά *Mentha piperita* και του ήμερου δυόσμου (*M. spicata* I) εναντίον των προνυμφών του *Ae. albopictus* (LC_{50} = 60,3 - 74,4 mg/ lt) στην παρούσα μελέτη, φαίνεται ότι έχει συμβάλει η αντίστοιχη δράση των κύριων συστατικών τους (+/-)-menthol και (+/-)-menthone (LC_{50} = 53,8 - 84,2 mg/ lt) και η ασθενής τοξικότητα των ισομερών (+/-) της carvone (LC_{50} = 107,4 - 117,8 mg/ lt). Αντιθέτως, παρά την μέτρια τοξικότητα του άγριου δυόσμου (*M. spicata* II) (LC_{50} = 66,07 mg/ lt) το κύριο συστατικό του piperitenone epoxide επέδειξε αρκετά ισχυρή προνυμφοκτόνο δράση (LC_{50} = 23,89 mg/ lt). Σύμφωνα με τη βιβλιογραφία, η εφαρμογή του αιθέριου ελαίου του *M. piperita* προκάλεσε θνησιμότητα στο 50% των προνυμφών του *Ae. aegypti* στη δόση των 47,5 ppm (Kalainani *et al.* 2011). Ομοίως, οι τιμές LC_{50} του αιθέριου ελαίου του *M. piperita* εναντίον των προνυμφών του *Ae. aegypti*, *Cx. quinquefasciatus* και του *An. stephensi* κυμάνθηκαν από 39,7 έως 46,2 ppm (Manimaran *et al.* 2012). Αντιθέτως, οι Kumar *et al.* (2011) αναφέρουν ότι η δράση του αιθέριου ελαίου από φύλλα του *M. piperita* ήταν λιγότερο τοξική εναντίον των προνυμφών του *Ae. aegypti* (LC_{50} = 112 ppm) μετά από 24 ώρες έκθεσης, σε σχέση με την τοξικότητα εναντίον του *Aedes albopictus* στην παρούσα εργασία. Σύμφωνα με τους Michaelakis *et al.* (2011) οι τιμές LC_{50} των αιθέριων ελαίων των *M. piperita* (μενθόνη 39%, μενθόλη 26%) και *M. spicata* (καρβόνη 72%) εναντίον προνυμφών του *Cx. pipiens* biotype *molestus* ήταν 40 και 96 mg/ lt αντίστοιχα. Σε αντιστοιχία με την παρούσα μελέτη, οι Govindarajan *et al.* (2012) διαπίστωσαν ότι το αιθέριο έλαιο του *M. spicata*, με κύρια συστατικά την καρβόνη (48,6%), το cis-carveol (21,3%) και το λιμονένιο (11,3%), είχε σημαντική τοξική δράση εναντίον νεαρών προνυμφών 3^{ου} σταδίου των ειδών *Cx. quinquefasciatus*, *Ae. aegypti* και *An. stephensi* σημειώνοντας τιμές LC_{50} = 62,6, 56 και 49,7 ppm, αντίστοιχα. Ωστόσο, στην ίδια μελέτη η αποτελεσματικότητα της καρβόνης που καταγράφηκε εναντίον των προνυμφών των τριών παραπάνω ειδών κουνουπιών ήταν μεγαλύτερη (LC_{50} = 19,3 - 25,5 ppm) από εκείνη που σημειώθηκε για τα (+/-)-καρβόνης

εναντίον των προνυμφών του *Aedes albopictus* στην παρούσα εργασία. Σύμφωνα με τους Koliopoulos *et al.* (2010) το αιθέριο έλαιο του *M. spicata* από την κεντρική Ελλάδα με κύρια συστατικά τα οξειδίο της πιπεριτενόνης (35,7%) και την 1,8-σινεόλη (14,5%) ήταν αποτελεσματικό εναντίον προνυμφών 3^{ου} - 4^{ου} σταδίου του *Cx. pipiens* biotype *molestus*, καθώς σημείωσε $LC_{50} = 52,9$ mg/ lt.

Η ασθενής προνυμφοκτόνος δράση του *M. pulegium* II ($LC_{50} = 147,5$ mg/ lt) μπορεί να αποδοθεί στην αναποτελεσματικότητα του κύριου συστατικού της πιπεριτόνης ($LC_{50} = >200$ mg/ lt), ενώ στη βελτιωμένη δράση του *M. pulegium* I ($LC_{50} = 100,2$ mg/ lt) ίσως συνέβαλε η διαφορετική του σύσταση και η τοξικότητα του κύριου συστατικού πουλεγκόνη, με τιμές LC_{50} για τα ισομερή του 62 και 64 mg/ lt. Σύμφωνα με τους Michaelakis *et al.* (2011) τα αιθέρια έλαια τριών πληθυσμών του *M. pulegium* με κύρια συστατικά την πουλεγκόνη (61%), την πιπεριτόνη (93%) και την πιπεριτόνη (69%) + ισομενθόνη (25%) όταν εφαρμόστηκαν σε προνύμφες του *Cx. pipiens* biotype *molestus* οι τιμές LC_{50} ήταν ίσες με 47, 169 και >200 mg/ lt, αντίστοιχα.

Η ασθενής τοξική δράση των *R. officinalis*, *M. officinalis*, *L. angustifolia* και *O. basilicum* ($LC_{50} = 104,6 - 142,9$ mg/ lt) ενδεχομένως να οφείλεται στην ασθενή τοξική δράση που καταγράφηκε από την εφαρμογή των κύριων συστατικών τους (-)-λιναλοόλη, η 1,8-σινεόλη, η νεράλη και το β-καρνοφυλλένιο, που σημείωσαν τιμές $LC_{50} > 100$ ή/και 200 mg/ lt. Η χαμηλή τοξικότητα των συγκεκριμένων αιθέριων ελαίων εναντίον των προνυμφών κουνουπιών αναφέρεται και από άλλους συγγραφείς. Πιο συγκεκριμένα, οι Conti *et al.* (2010) αναφέρουν την αναποτελεσματικότητα των αιθέριων ελαίων *R. officinalis* (το α-πινένιο 39%, η 1,8-σινεόλη 20%) και *Lavandula angustifolia* (fenchone 34%, camphene 14% και camphor 14%) εναντίον προνυμφών 4^{ου} σταδίου του *Aedes albopictus* με τιμές $LC_{50} > 250$ mg/ lt. Ομοίως, μετά την εφαρμογή του αιθέριου ελαίου εκχυλίσματος από τα φύλλα του *O. basilicum* εναντίον προνυμφών του *Ae. aegypti* καταγράφηκε χαμηλή θνησιμότητα με τιμές LC_{50} και LC_{90} ίσες με 148,5 και 325,7 ppm, αντίστοιχα, μετά από 24 ώρες έκθεσης. Ωστόσο το αιθέριο έλαιο του *M. officinalis* στη μελέτη των Koliopoulos *et al.* (2010) με κύρια συστατικά την τερπινεν-4-όλη (16%), το caryophyllene oxide (13%), sabinene (13%), το β-πινένιο (12%) και το E-καρνοφυλλένιο (10%), βρέθηκε ότι ήταν πιο αποτελεσματικό εναντίον των προνυμφών του *Cx. pipiens* biotype *molestus* ($LC_{50} = 61,3$ mg/ lt) σε σχέση με την παρούσα εργασία. Ο Pavela (2009) αναφέρει επίσης την ασθενή προνυμφοκτόνο δράση των αιθέριων ελαίων των φυτών *R. officinalis*, *L. angustifolia* και *O. basilicum* καθώς η εφαρμογή τους προκάλεσε θνησιμότητα στο 50% των προνυμφών του *Cx. quinquefasciatus*, στις 24 ώρες, στις δόσεις 111,1, 121,6 και 171,6 mg/ lt, αντίστοιχα.

8.2.1. Απωθητική δράση εναντίον των ενήλικων του *Aedes albopictus*

Από τις βιοδοκιμές απωθητικότητας που διενεργήθηκαν στην παρούσα μελέτη, διαπιστώθηκε ότι όλα τα αιθέρια έλαια των φυτών της οικ. *Lamiaceae* που δοκιμάστηκαν εμφάνισαν απωθητική δράση εναντίον του *Aedes albopictus* σε κάποιο βαθμό. Η δράση αυτή, συγκρινόμενη με τη δράση του χημικού συνθετικού Deet, κυμάνθηκε από ικανοποιητική έως πολύ καλή.

Μεταξύ των αιθέριων ελαίων που εξετάστηκαν, η ισχυρότερη απωθητικότητα εναντίον των ενήλικων του *Aedes albopictus* καταγράφηκε από τα φυτά *M. officinalis*, *O. dictamnus*, *M. spicata* II, *O. mantzuranum* και *S. thymbra*, με τα δύο τελευταία να υπερέχουν και να εμφανίζουν υψηλή απωθητική δράση αντίστοιχη με το χημικό συνθετικό Deet στα 5 λεπτά εφαρμογής. Η υψηλή απωθητική δράση των παραπάνω αιθέριων ελαίων θα μπορούσε να αποδοθεί στην πολύ καλή έως εξαιρετική απωθητική δράση που καταγράφηκε για τα κύρια συστατικά τους/τερπένια νεράλη, γερανιάλη (για το *M. officinalis*), το εποξείδιο της πιπεριτενόνης (για το *M. spicata* II) και η καρβακρόλη (για τα *O. dictamnus*, *O. mantzuranum* και *S. thymbra*). Μάλιστα, τα περισσότερα απωθητικά έλαια των φυτών *O. mantzuranum* και *S. thymbra* έχουν ως κύριο συστατικό τους σε συγκεντρώσεις 58,7% και 32,4%, αντίστοιχα, το απωθητικότερο μόριο της καρβακρόλης. Στην απωθητικότητα του *M. spicata* II ενδεχομένως συνέβαλε και η παρουσία της πολύ απωθητικής πιπεριτενόνης, η οποία ανιχνεύτηκε σε μικρή όμως συγκέντρωση (4,5%).

Σε σχετική μελέτη, οι Oshaghi *et al.* (2003) για την αξιολόγηση της απωθητικής δράσης αιθέριων ελαίων από το φυτά *C. limon* και *M. officinalis* εναντίον του *An. stephensi* εφάρμοσαν 4 ml διαλύματος αιθανόλης περιεκτικότητας 0,04 gr σε αιθέριο έλαιο σε περιοχή 4x6 εκ. δέρματος ινδικών χοιριδίων και σε ανθρώπινο χέρι εθελοντών από τον καρπό έως τις άκρες των δακτύλων. Από τα αποτελέσματα της μελέτης προέκυψε ότι η εφαρμογή και των δύο ελαίων στα ινδικά χοιρίδια παρείχε 92% προστασία και δεν διέφερε σημαντικά από την προστασία που παρείχε το Deet (97%), ενώ στο ανθρώπινο χέρι η προστασία που παρείχε το *M. officinalis* (60%) διέφερε σημαντικά από εκείνη του *C. limon* (71%) και του Deet (80%). Οι Park *et al.* (2005) αξιολόγησαν την απωθητικότητα των μονοτερπενίων καρβακρόλη, ρ-κυμένιο, λιναλοόλη, α-τερπινένιο και θυμόλη από το αιθέριο έλαιο του *T. vulgaris* εναντίον

του *Cx. pipiens pallens*. Και τα 5 μονοτερπένια είχαν αποτελεσματική απωθητική δράση όταν εφαρμόστηκαν σε ανθρώπινο βραχίονα εθελοντών. Για το α-τερπινένιο και την καρβακρόλη καταγράφηκε σημαντικά υψηλότερη απωθητικότητα συγκριτικά με το Deet, ενώ η θυμόλη είχε παρόμοια δράση με το Deet. Ωστόσο, η διάρκεια της απωθητικής δράσης για όλα τα τερπένια ήταν ίδια ή υψηλότερη από εκείνη του Deet.

Οι Koc *et al.* (2012) μελέτησαν την απωθητικότητα των αιθέριων ελαίων δύο ειδών του γένους *Thymus* (*T. sipyleus* Boiss. subsp. *sipyleus* και *T. revolutus* Celak) και δύο ειδών του γένους *Mentha* (*M. spicata* L. subsp. *spicata* και *M. longifolia* L.) εναντίον του κουνουπιού *Oc. caspius*, χρησιμοποιώντας ολφακτόμετρο (Y-tube olfactometer). Όλα τα αιθέρια έλαια είχαν απωθητική δράση, ενώ τα αιθέρια έλαια από τα φυτά *Mentha* εμφάνισαν μεγαλύτερη απωθητικότητα από εκείνα των φυτών *Thymus* (74-84% προστασία μετά από 30 λεπτά έκθεσης των κουνουπιών στις ουσίες). Ομοίως, στην παρούσα μελέτη και οι δύο χημειότυποι του *M. spicata* παρείχαν μεγαλύτερη προστασία από το *Aedes albopictus* σε σχέση με το *T. vulgaris*.

Στην παρούσα μελέτη η συγκριτικά ασθενέστερη αλλά ικανοποιητική δράση των φυτών *M. piperita*, *M. pulegium* I και *L. angustifolia* θα μπορούσε να ερμηνευτεί βάσει του χημειότυπού τους δεδομένου ότι τα κύρια συστατικά τους μενθόλη/μενθόνη, η πουλεγκόνη και λιναλοόλη/linalyl acetate, αντίστοιχα, παρείχαν συγκριτικά χαμηλή έως μέτρια προστασία από τα κουνούπια. Στην απωθητικότητα του *M. pulegium* I ενδεχομένως να συνέβαλε η παρουσία της έντονα απωθητικής πιπεριτενόνης, η οποία ανιχνεύτηκε σε μικρή όμως συγκέντρωση (4,4%). Η δράση πάντως του *M. pulegium* II φαίνεται να συμβαδίζει με την απωθητικότητα του κύριου συστατικού πιπεριτόνη. Οι Kumar *et al.* (2011) αναφέρουν εξαιρετική απωθητική δράση (100% προστασία) του *M. piperita* μετά από τοπική εφαρμογή 0,1 ml ελαίου διαλυμένου σε αιθανόλη σε περιοχή 5x5 εκ. δέρματος για 150 λεπτά, εναντίον ενηλίκων του *Aedes aegypti*. Ωστόσο, η δόση που εφαρμόστηκε στη συγκεκριμένη μελέτη ήταν αρκετά μεγαλύτερη από αυτές που δοκιμάστηκαν στην παρούσα εργασία. Επίσης, σύμφωνα με τους Ansari *et al.* (2000) η επάλειψη με 1 ml καθαρού αιθέριου ελαίου από το *M. piperita* στο χέρι εθελοντών, σε επιφάνεια 0,25 μ² δέρματος, παρείχε 94% προστασία από τα τσιμπήματα του *Cx. quinquefasciatus* εντός κλωβών με 6 ώρες διάρκεια αποτελεσματικής δράσης. Σύμφωνα με τους Sritabutra *et al.* (2011) διάλυμα ελαίου σόγιας με 10% αιθέριο έλαιο από το φυτό *M. piperita* παρείχε μεγαλύτερο χρόνο προστασίας (98 λεπτά) από τα τσιμπήματα του *Ae. aegypti* σε σχέση με διάλυμα 10% αιθέριου ελαίου από το *O. basilicum* (65 λεπτά), ενώ ο ρυθμός τσιμπημάτων ήταν παρόμοιος για τα δύο έλαια και σημαντικά μικρότερος από τον αφέκαστο μάρτυρα (χέρι εθελοντή). Οι Yang and Ma (2005) αναφέρουν ότι η εφαρμογή 5 ml διαλύματος

αιθανόλης 7% σε αιθέριο έλαιο του *M. piperita* ανά cm² δέρματος ποντικιού, παρείχε 97% προστασία για 8 ώρες από τα ενήλικα του *Aedes albopictus*.

Τα αιθέρια έλαια από τα φυτά *R. officinalis* και *O. basilicum* εμφάνισαν, στην παρούσα μελέτη, παρόμοια ικανοποιητική απωθητική δράση. Η δράση του *O. basilicum*, ίσως οφείλεται περισσότερο στην παρουσία της απωθητικής λιναλοόλη στη σύστασή του (35,7%) παρά του ασθενέστερου μορίου μεθυλ χαβικόλης (16,3%). Ωστόσο, η απωθητικότητα του *R. officinalis*, στο οποίο ανιχνεύτηκε μεγάλη ποσότητα του ασθενούς μορίου 1,8-cineole (71,7%), θα μπορούσε να αποδοθεί στη δράση άλλων ουσιών μικρότερης συγκέντρωσης (π.χ. borneol - 9,8%) ή και σε συνεργιστική δράση κάποιων ουσιών.

Σύμφωνα με τους Trongtokit *et al.* (2005) η εφαρμογή 0,1 ml από το αιθέριο έλαιο του *O. basilicum* αδιάλυτο σε περιοχή 3x10 εκ. δέρματος (μεγαλύτερη δόση από αυτή της παρούσας μελέτης) παρείχε 100% προστασία από το *Aedes aegypti* για 70 λεπτά μετά την εφαρμογή. Σε έρευνα των Prajapati *et al.* (2005) αξιολογήθηκε η απωθητική δράση των αιθέριων ελαίων από τα φυτά *R. officinalis* και *O. basilicum* εναντίον των ειδών *An. stephensi*, *Aedes aegypti* και *Cx. quenufasciatus* μετά από εμποτισμό ταμπλετών και τοποθέτηση σε θερμαντική συσκευή εντός δωματίου. Στη συγκεκριμένη μελέτη βρέθηκε ότι το αιθέριο έλαιο από το *R. officinalis* παρείχε 50% προστασία σε δόσεις που κυμάνθηκαν από 39 έως 69 mg/ταμπλέτα, ενώ το αιθέριο έλαιο από το *O. basilicum* είχε ασθενέστερη δράση καθώς η 50% προστασία από παραπάνω είδη κουνουπιών καταγράφηκε σε δόσεις 75-115 mg/ταμπλέτα.

Οι Choi *et al.* (2002) αναφέρουν ότι τα αιθέρια έλαια από τα φυτά *Lavandula angustifolia* (πρώην *Lavandula officinalis*), *R. officinalis* και *T. vulgaris* εμφάνισαν αποτελεσματική απωθητική δράση εναντίον ενηλίκων του κουνουπιού *Cx. pipiens pallens* σε ποντίκια. Το πιο απωθητικό αιθέριο έλαιο ήταν εκείνο του *T. vulgaris* για το οποίο καταγράφηκε 91% προστασία μετά από τοπική εφαρμογή σε συγκέντρωση 0,05%. Η χημική ανάλυση με GC-MS, έδειξε ότι τα κύρια συστατικά του συγκεκριμένου αιθέριου ελαίου ήταν με φθίνουσα σειρά η θυμόλη, το p-κυμένιο, η καρβακρόλη, η λιναλοόλη και το α-τερπινένιο. Αυτά τα 5 μονοτερπένια αξιολογήθηκαν για την απωθητικότητα τους στο *Cx. pipiens pallens* και βρέθηκε ότι το α-τερπινένιο και η καρβακρόλη ήταν τα πιο δραστικά σημειώνοντας προστασία 97% και 96%, αντίστοιχα, μετά από τοπική εφαρμογή στη συγκέντρωση 0,05%. Ακολούθως καλή απωθητική δράση καταγράφηκε για τη θυμόλη, την λιναλοόλη και το p-κυμένιο (90, 89 και 85% προστασία, αντίστοιχα). Στην παρούσα μελέτη, τα αιθέρια έλαια των φυτών *L. angustifolia*, *R. officinalis* και *T. vulgaris* εμφάνισαν συγκριτικά μέτρια αλλά ικανοποιητική απωθητικότητα ενώ το p-κυμένιο, η λιναλοόλη, και τα ισομερή θυμόλη/καρβακρόλη σημείωσαν ασθενή, μέτρια και ισχυρή απωθητική δράση, αντίστοιχα,

εναντίον του *Aedes albopictus*. Η συγκριτικώς μέτρια, ωστόσο, απωθητικότητα κυρίως του φυτού *T. vulgaris* και δευτερευόντως του *O. vulgare*, στην παρούσα μελέτη, δεν συνάδει απόλυτα με την ισχυρότερη απωθητική δράση που σημείωσαν τα ισομερή μόρια θυμόλη και καρβακρόλη και τα οποία εντοπίστηκαν σε υψηλές συγκεντρώσεις στα αιθέρια έλαιά τους (περίπου 75%). Η βιολογική δράση των συγκεκριμένων αιθέριων ελαίων ενδεχομένως να επηρεάζεται και από άλλες ουσίες μικρότερης συγκέντρωσης ή από τον συνεργισμό ουσιών.

Σχετικά με την απωθητικότητα των αιθέριων ελαίων του *Thymus vulgaris* οι Zhu *et al.* (2006) αναφέρουν ότι η τοπική εφαρμογή στο ανθρώπινο δέρμα διαλύματος αιθέριου ελαίου του *T. vulgaris* σε αιθανόλη στη δόση 468,5 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ δέρματος παρέχει 86% προστασία από τα τσιμπήματα του *Aedes albopictus* για 2 ώρες χωρίς να διαφέρει σημαντικά από την αντίστοιχη προστασία (100%) που παρέχει το Deet για το συγκεκριμένο χρονικό διάστημα. Σύμφωνα με τον Barnard (1999) η επάλειψη με 1 ml διαλύματος αιθανόλης 25% σε αιθέριο έλαιο από το *Thymus vulgaris* στο βραχίονα εθελοντών παρείχε 100% προστασία από τα τσιμπήματα του *Ae. aegypti* για 45 λεπτά, σε σύγκριση με διάλυμα του Deet 25% σε αιθανόλη που παρείχε 100% προστασία για περίπου 350 λεπτά. Η απωθητική δράση των αιθέριων ελαίων των φυτών *Thymus leucospermus* και *Thymus teucroides* subsp. *candilicus* εναντίον του *Cx. pipiens* βρέθηκε ότι σημαντικά μικρότερη από εκείνη του Deet αλλά παρόμοια με εκείνη του Icaridin, ενώ το κύριο συστατικό τους/τερπένιο το p-κυμένιο δεν εμφάνισε σχεδόν καμία απωθητική δράση (Pitarokili *et al.* 2011a).

8.3. Συμπεράσματα

Συμπερασματικά, στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η τοξική δράση εναντίον των προνομφών και η απωθητική δράση εναντίον των ενηλίκων του *Aedes albopictus* αιθέριων ελαίων από 14 είδη φυτών που ανήκουν στην οικ. Lamiales και των κύριων συστατικών/τερπενίων τους. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια του είδους *Thymus vulgaris* και των ειδών του γένους *Origanum* καθώς και κύρια συστατικά τους/τερπένια thymol, carvacrol, p-cymene και γ -terpinene εμφάνισαν την ισχυρότερη προνομοκτόνος δράση. Ισχυρή τοξική δράση επέδειξε επίσης και το piperitenone epoxide, όντας κύριο συστατικό του αιθέριου ελαίου του άγριου δυόσμου, η δράση του οποίου όμως ήταν ασθενέστερη. Επιπλέον, διαπιστώθηκε ότι η απωθητική δράση όλων των αιθέριων ελαίων των φυτών της οικ. Lamiales που δοκιμάστηκαν εναντίον των ενηλίκων του *Ae. albopictus* κυμάνθηκε από ικανοποιητική έως πολύ καλή. Ωστόσο, η ισχυρότερη απωθητικότητα καταγράφηκε από τα φυτά *Melissa officinalis*, *Origanum dictamnus*, *Mentha spicata* L., *Origanum mantzurianum* και

Satureja thymbra, με τα δύο τελευταία να υπερέχουν και να εμφανίζουν υψηλή απωθητική δράση αντίστοιχη με το χημικό συνθετικό Deet στα 5 λεπτά εφαρμογής. Τα οξείδιο της πιπεριτενόνης και η καρβακρόλη, ως τα κύρια συστατικά ορισμένων από αυτά τα έλαια, όπως επίσης και η θυμόλη και η πιπεριτενόνη παρείχαν την μεγαλύτερη προστασία από όλα τα τερπένια που δοκιμάστηκαν σημειώνοντας ισχυρή απωθητική δράση.

Συνεπώς, τα παραπάνω αιθέρια έλαια θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αντιμετώπιση των προνυμφών και την απωθητικότητα των ενηλίκων του «Ασιατικού κουνουπιού τίγρης». Στα συγκεκριμένα αιθέρια έλαια ανιχνεύθηκε μια πληθώρα συστατικών/τερπενίων, ορισμένα από τα οποία βρίσκονται σε μεγάλες συγκεντρώσεις και φαίνεται ότι σχετίζονται με την βιολογική δράση των αιθέριων ελαίων εναντίον του *Aedes albopictus* και ως εκ τούτου, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην κατεύθυνση της αντιμετώπισης του συγκεκριμένου είδους κουνουπιού με φιλικά μέσα. Τέλος, απαιτείται περαιτέρω έρευνα σε θέματα που αφορούν στην τυποποίηση των αιθέριων ελαίων και των συστατικών τους για την βελτιστοποίηση της αποτελεσματικότητά τους και τη διερεύνηση της τοξικότητάς τους για την ασφάλεια του χρήστη.

Βιβλιογραφία

- Adams R. P. 2007.** Identification of essential oils components by gas chromatography/quadrupole mass spectroscopy, 4th Edition; Allured Publishing Corp.: Carol Stream, Illinois.
- Adorjan B. and G. Buchbauer. 2010.** Biological properties of essential oils: an updated review. *Flavour and Fragrance Journal*, 25: 407-426.
- Amer A. and H. Mehlhorn. 2006.** Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research*, 99: 466-472.
- Anees A. M. 2008.** Larvicidal activity of *Ocimum sanctum* Linn. (Labiatae) against *Aedes aegypti* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). *Parasitology Research*, 103: 1451-1453.
- Ansari M. A., P. Vasudevan, M. Tandon and R. K. Razdan. 2000.** Larvicidal and mosquito repellent action of peppermint (*Mentha piperita*) oil. *Bioresource Technology*, 71: 267-271.
- Barnard D. R. 1999.** Repellency of essential oils to mosquitoes (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*, 36(5): 625-629.
- Boulogne I., P. Petit, H. Ozier-Lafontaine, L. Desfontaines and G. Loranger-Merciris. 2012.** Insecticidal and antifungal chemicals produced by plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, DOI 10.1007/s10311-012-0359-1.
- Campbell, G.L.; Marfin, A.A.; Lanciotti, R.S.; Gubler, D.J.** West Nile Virus. *Lancet Infect. Dis.* 2002, 2, 519-529
- Cavalcanti E. S. B., S. M. d. Morais, M. A. A. Lima and E. W. P. Santana. 2004.** Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti* L. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 99(5): 541-544.
- Cetin H. and A. Yanikoglu. 2006.** A study of the larvicidal activity of *Origanum* (Labiatae) species from southwest Turkey. *Journal of Vector Ecology*, 31(1): 118-122.
- Choi W.-S., B.-S. Park, S.-K. Ku and S.-E. Lee. 2002.** Repellent activities of essential oils and monoterpenes against *Culex pipiens fallens*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 18(4): 348-351.
- Coleman R. E., L. L. Robert, L. W. Roberts, J. A. Glass, D. C. Seeley, A. Laughinghouse, P. Perkins and R. A. Wirtz. 1993.** Laboratory evaluation of repellents against four anopheline

mosquitoes (Diptera: Culicidae) and two phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, 30: 499-502.

Conti B., A. Canale, A. Bertoli, F. Gozzini and L. Pistelli. 2010. Essential oil composition and larvicidal activity of six Mediterranean aromatic plants against the mosquito *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 107: 1455–1461.

Conti B., G. Benelli, G. Flamini, P. L. Cioni, R. Profeti, L. Ceccarini, M. Macchia and A. Canale. 2012a. Larvicidal and repellent activity of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) essential oil against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 110: 2013-2021.

Conti B., G. Benelli, M. Leonardi, F. U. Afifi, C. Cervelli, R. Profeti, L. Pistelli and A. Canale. 2012b. Repellent effect of *Salvia dorisiana*, *S. longifolia*, and *S. sclarea* (Lamiaceae) essential oils against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, DOI: 10.1007/s00436-012-2837-6.

Drapeau J., C. Fröhler, D. Touraud, U. Kröckel, M. Geier, A. Rosea and W. Kunzb. 2009. Repellent studies with *Aedes aegypti* mosquitoes and human olfactory tests on 19 essential oils from Corsica, France. *Flavour and Fragrance Journal*, 24: 160-169.

Finney D. 1971. Probit Analysis. 3rd edn. London: Cambridge University Press.

Gbolade A. A. and G. B. Lockwood. 2008. Toxicity of *Ocimum sanctum* L. essential oil to *Aedes aegypti* Larvae and its chemical composition. *Journal of Essential Oil-Bearing Plants*, 11(2): 148-153.

Gerberg E. J. 1970. Manual for mosquito rearing and experimental techniques. *American Mosquito Control Association. Inc. AMCA Bulletin No.5, 109 pp.*

Gerberg E. J., D. R. Barnard and R. A. Ward. 1993. Manual for mosquito rearing and experimental techniques. *American Mosquito Control Association*, 5: 1-2.

Giatropoulos A., A. Michaelakis, G. Koliopoulos and C. M. Pontikakos .2012c. Records of *Aedes albopictus* and *Aedes cretinus* (Diptera: Culicidae) in Greece from 2009 to 2011 *Hellenic Plant Protection Journal*, 5(2): 49-56.

Giatropoulos A., D. P. Papachristos, A. Kimbaris, G. Koliopoulos, M. G. Polissiou, N. Emmanouel and A. Michaelakis. 2012b. Evaluation of bioefficacy of three *Citrus* essential oils against the dengue vector *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in correlation to their components enantiomeric distribution. *Parasitology Research*, 111(6): 2253-2263.

Giatropoulos A., D. Pitarokili, F. Papaioannou, D. P. Papachristos, G. Koliopoulos, N. Emmanouel, O. Tzakou and A. Michaelakis. 2013. Essential oil composition, adult

repellency and larvicidal activity of eight Cupressaceae species from Greece against *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 112 (3): 1113-1123.

Giropoulos A., N. Emmanouel, G. Koliopoulos and A. Michaelakis. 2012a. A study on distribution and seasonal abundance of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) population in Athens, Greece. *Journal of Medical Entomology*, 49(2): 262-269.

Govere J. M. and D. V. Durrheim. 2006. In: *Insect Repellents: Principles Methods, and Use.* Debboun M, Frances SP, Strickman D, editor. Boca Raton Florida: CRC Press; 2006. Techniques for evaluating repellents.

Govindarajan M., R. Sivakumar, M. Rajeswari and K. Yogalakshmi. 2012. Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Mentha spicata* (Linn.) against three mosquito species. *Parasitology Research*, 110: 2023-2032.

Hatamneia A. A., M. Khayami, A. Mahmoudzadeh, S. H. Sarghein and M. Heidari. 2008. Comparative anatomical studies of some genera of Lamiaceae family in West Azarbaijan in Iran. *Botany Research Journal*, 1(3): 63-67.

Kalaivani K., S. Senthil-Nathan and A. G. Murugesan. 2011. Biological activity of selected Lamiaceae and Zingiberaceae plant essential oils against the dengue vector *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, DOI: 10.1007/s00436-011-2623-x.

Koc S., E. Oz and H. Cetin. 2012. Repellent activities of some Labiatae plant essential oils against the saltmarsh mosquito *Ochlerotatus caspius* (Pallas, 1771) (Diptera: Culicidae). *Parasitology Research*, 110(2005-2209).

Koliopoulos G., D. Pitarokili, E. Kioulos, A. Michaelakis and O. Tzakou. 2010. Chemical composition and larvicidal evaluation of *Mentha*, *Salvia*, and *Melissa* essential oils against the West Nile virus mosquito *Culex pipiens*. *Parasitology Research*, 107: 327-335.

Kumar S., N. Wahab and R. Warikoo. 2011. Bioefficacy of *Mentha piperita* essential oil against dengue fever mosquito *Aedes aegypti* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: 85-88.

Maia M. F. and S. J. Moore. 2011. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. *Malaria Journal*, 10(suppl.1): 1-15.

Manimaran A., M. M. J. J. Cruz, C. Muthu, S. Vincent and S. Ignacimuthu. 2012. Larvicidal and knockdown effects of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say, *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles stephensi* (Liston). *Advances in Bioscience and Biotechnology*, 3: 855-862.

Mathew J. and J. E. Thoppil. 2011. Chemical composition and mosquito larvicidal activities of *Salvia* essential oils. *Pharmaceutical Biology*, 49(5): 456-463.

- Michaelakis A., D. Papachristos, A. Kimbaris and M. Polissiou. 2011.** Larvicidal evaluation of three *Mentha* species essential oils and their isolated major components against the West Nile virus mosquito. *Hellenic Plant Protection Journal*, 4: 35-43.
- Michaelakis A., S. A. Theotokatos, G. Koliopoulos and N. G. Chorianopoulos. 2007.** Essential oils of *Satureja* species: Insecticidal effect on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *Molecules*, 12: 2567-2578.
- Naghbi F., M. Mosaddegh, S. M. Motamed and A. Ghorbani. 2005.** Labiatae Family in folk Medicine in Iran: from Ethnobotany to Pharmacology. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 2: 63-79.
- Nerio L. S., J. Olivero-Verbel and E. Stashenko. 2010.** Repellent activity of essential oils: A review. *Bioresource Technology*, 101: 372-378.
- Oshaghi M. A., R. Ghalandari, H. Vatandoost, M. Shayeghi, M. Kamali-nejad, H. Tourabi-Khaledi, M. Abolhassani and M. Hashemzadeh. 2003.** Repellent effect of extracts and essential oils of *Citrus limon* (Rutaceae) and *Melissa officinalis* (Labiatae) against main malaria vector, *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Iranian Journal of Public Health*, 32(4): 47-52.
- Park B.-S., W.-S. Choi, J.-H. Kim, K.-H. Kim and S.-E. Lee. 2005.** Monoterpenes from thyme (*Thymus vulgaris*) as potential mosquito repellents *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21(1): 80-83.
- Pavela R. 2009.** Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Industrial Crops and Products*, 30: 311-315.
- Pavela R., N. Vrchotová and J. Tríska. 2009.** Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) *Parasitology Research*, 105(1365-1370).
- Phasomkusolsil S. and M. Soonwera. 2010.** Insect repellent activity of medicinal plant oils against *Aedes aegypti* (linn.), *Anopheles minimus* (theobald) and *Culex quinquefasciatus* say based on protection time and biting rate. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 41(4): 831-840.
- Pitarokili D., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A. Giatropoulos and O. Tzakou. 2011a.** Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek *Thymus* essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. *Parasitology Research*, 109(2): 425-430.
- Pitarokili D., A. Michaelakis, G. Koliopoulos, A. Giatropoulos and O. Tzakou. 2011b.** Chemical composition, larvicidal evaluation, and adult repellency of endemic Greek *Thymus*

essential oils against the mosquito vector of West Nile virus. *Parasitology Research*, 109: 425-430.

Prajapati V., A. K. Tripathi, K. K. Aggarwal and S. P. S. Khanuja. 2005. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology*, 96: 1749-1757.

Radwan M. A., S. R. El-Zemity, S. A. Mohamed and S. M. Sherby. 2008. Larvicidal activity of some essential oils, monoterpenoids and their corresponding N-methyl carbamate derivatives against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *International Journal of Tropical Insect Science*, 28(2): 61-68.

Rajamma A. J., S. Dubey, S. B. Sateesha, S. N. Tiwari and S. K. Ghosh. 2011. Comparative larvicidal activity of different species of *Ocimum* against *Culex Quinquefasciatus*. *Natural Product Research*, 25(20): 1916-1922.

SPSS. 2004. SPSS 14 for Windows users guide. SPSS Inc., Chicago, IL.

Sritabutra D., M. Soonwera, S. Waltanachanobon and S. Pongjai. 2011. Evaluation of herbal essential oil as repellents against *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles dirus* Peyton & Harrion. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*: s124-s128.

Sukumar K., M. J. Perich and L. R. Boobar. 1991. Botanical derivatives in mosquito control: A review. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 7(2): 210-237.

Tawatsin A., P. Asavadachanukorn, U. Thavaral, P. Wongsinkongman, J. Bansidhi, T. Boonruad, P. Chavalittumrong, N. Soonthornchareonnon, N. Komalamisra and M. S. Mulla. 2006. Repellency of essential oils extracted from plants in Thailand against four mosquito vectors(Diptera: Culicidae) and oviposition deterrent effects against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 37(5): 915-931.

Tawatsin A., S. D.Wratten, R. R. Scott, U. Thavara and Y. Techadamrongsin. 2001. Repellency of volatile oils from plants against three mosquito vectors. *Journal of Vector Ecology*, 26(1): 76-82.

Trabousli A. F., K. Taoubi, S. El-Haj, J. Bessiere and S. Rammal. 2002. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera : Culicidae). *Pest Management Science*, 58: 491-495.

Trongtokit Y., Y. Rongsriyam, N. Komalamisra and C. Apiwathnasorn. 2005. Comparative repellency of 38 essential oils against mosquito bites. *Phytotherapy Research*, 19: 303-309.

W.H.O. 1981. Instructions for determining the susceptibility or resistance of mosquito larvae to insecticides VBC/81.807. World Health Organization, Geneva.

W.H.O. 2005. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides World Health Organization (WHO) communicable disease control, prevention and eradication WHO Pesticide Evaluation Scheme (WHOPES). Geneva, Switzerland. p 1-41.

Yang P. and Y. Ma. 2005. Repellent effect of plant essential oils against *Aedes albopictus*. *Journal of Vector Ecology*, 30(2): 231-234.

Zhu J., X. Zeng, Yanma, T. Liu, K. Qian, Y. Han, S. Xue, B. Tucker, G. Schultz, J. Coats, W. Rowley and A. Zhang. 2006. Adult repellency and larvicidal activity of five plant essential oils against mosquitoes. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 22(3): 515-522.

Εμμανουήλ, Ν.Γ. 1999. Δίπτερα υγειονομικής σημασίας. Αναγνώριση, βιολογία, οικονομική σημασία, αντιμετώπιση. *Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών*. 91 σελ.

Κολιόπουλος Γ., Ι. Λύτρα, Α. Μιχαηλάκης, Η. Κιούλος, Α. Γιατρόπουλος και Ν. Εμμανουήλ (2008). Το «Ασιατικό Κουνούπι Τίγρης». Πρώτη εμφάνιση του *Aedes albopictus* (*Skuse*) στην Αθήνα. *Γεωργία - Κτηνοτροφία, Τεύχος 9*.

Μπέτζιος, Χ.Β. 1989. Αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας. Μορφολογία, βιολογία, οικολογία, υγειονομική σημασία, καταπολέμηση. 260 σελ.

Πελεκάσης, Κ.Ε.Δ. 1994. Μαθήματα γεωργικής εντομολογίας. *Τόμος Α*. *Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών*. 357 σελ.