



Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας
Σχολή Επιστημών Υγείας – Τμήμα Ιατρικής
ΠΜΣ «Εφαρμοσμένη Δημόσια Υγεία και Περιβαλλοντική Υγιεινή»

Μελέτη συμπεριφοράς σύζευξης του κουνουπιού τίγρης
***Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae)**

Μεταπτυχιακή διατριβή

Φοιτήτρια: Στεφανία Π. Κάλτσου

Πτυχιούχος Γεωπονίας, του τμήματος Γεωπονίας, Φυτικής
Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, του Πανεπιστημίου
Θεσσαλίας

Επιβλέπον καθηγητής: Παπαδόπουλος Νικόλαος

Λάρισα, 2025

Η εκπόνηση της μεταπτυχιακής διατριβής διενεργήθηκε στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Η σύνθεση της τριμελούς συμβουλευτικής- εξεταστικής επιτροπής είναι η εξής:

1. Παπαδόπουλος Νικόλαος, Καθηγητής εφαρμοσμένης εντομολογίας του τμήματος γεωπονίας, φυτικής παραγωγής και αγροτικού περιβάλλοντος του πανεπιστημίου Θεσσαλίας.
2. Χατζηχριστοδούλου Χρήστος, Καθηγητής Επιδημιολογίας του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.
3. Μουχτούρη Βαρβάρα, Αναπληρώτρια Καθηγήτρια Υγιεινής και Επιδημιολογίας, του τμήματος Ιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Περίληψη

Τα κουνούπια αποτελούν την μεγαλύτερη ομάδα αιμομυζητικών εντόμων που προκαλούν όχληση σε ανθρώπους, ζώα και πτηνά. Το κουνούπι τίγρης *Aedes albopictus*, είναι ένα είδος ιδιαίτερα σημαντικό εξαιτίας του ρόλου του ως φορέα μεταδοτικών ασθενειών όπως ο δάγκειος πυρετός, φιλαριάσεις, ιός Zika και ιός Chikungunya. Η παρούσα μελέτη εστιάζει στην τροφή των ενήλικων αρσενικών και στο πως αυτή επηρεάζει τη σύζευξη, καθώς και στις επιπτώσεις της λήψης γεύματος αίματος από τα θηλυκά και της σύζευξης στη γονιμότητα τους. Σκοπός της μελέτης είναι η παρατήρηση των χαρακτηριστικών της σύζευξης και της τροφής των ενήλικων αρσενικών στη λήψη γεύματος αίματος και στα χαρακτηριστικά της σύζευξης αντίστοιχα.. Γενικά, η καλύτερη κατανόηση της σύζευξης του *Ae. albopictus* θα συμβάλει στην αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση του πληθυσμού. Πραγματοποιήθηκαν τρία πειράματα. Στο πρώτο ερευνήθηκε η επίδραση της σύζευξης στην λήψη γεύματος αίματος. Στο δεύτερο πείραμα μελετήθηκε η επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών στη σύζευξη και τα χαρακτηριστικά της. Στο τρίτο πείραμα μελετήθηκε η επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης και τα χαρακτηριστικά που σχετίζονται με τη σύζευξη. Χρησιμοποιήθηκαν τρεις διαφορετικές τροφές για τα ενήλικα αρσενικά, οι οποίες ήταν υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%, μελάσας 10% και το ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με μαγιά μύρας 2%. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η σύζευξη επηρεάζει τη λήψη αίματος καθώς και τον αριθμό των ωών που αποτίθενται, αντιθέτως η διάρκεια ζωής δεν επηρεάζεται από τη λήψη αίματος ή από τη. Επιπλέον, βρέθηκε ότι η τροφή των αρσενικών επηρεάζει την ικανότητα σύζευξης. Συγκεκριμένα, αρσενικά που τρέφονταν με διάλυμα μελάσας πέτυχαν μεγαλύτερα ποσοστά σύζευξης, με μικρότερο χρόνο έως την πρώτη σύζευξη. Εξίσου η ίδια τροφή έκανε πιο ανταγωνιστικά τα εργαστηριακά ενήλικα αρσενικά κουνούπια που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα. Συνολικά, η εργασία προσφέρει πρακτικές κατευθύνσεις για την αντιμετώπιση του συγκεκριμένου είδους προτείνοντας την βέλτιστη εργαστηριακή τροφή και στοχεύει στην έμφαση χρήσης καινοτόμων μεθόδων, όπως η τεχνική εξαπόλυσης στειρωμένων αρσενικών (SIT), για τη μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας των πληθυσμών. Το διάλυμα μελάσας προτείνεται ως η βέλτιστη τροφή των ενήλικων εργαστηριακών αρσενικών κουνουπιών ώστε να γίνουν ανταγωνιστικότερα έναντι των άγριων στην SIT.

Λέξεις κλειδιά: Κουνούπια, *Ae. albopictus*, Σύζευξη, SIT

Abstract

Mosquitoes are the largest group of blood-sucking insects that cause nuisance to humans, animals and birds. The tiger mosquito, *Aedes albopictus*, is a species of particular importance because of its role as a vector of infectious diseases such as dengue, filariasis, Zika virus and Chikungunya virus. This study focuses on the diet of adult males and how this affects mating, as well as the effects of blood meal intake by females and mating on their fertility. The aim of the study is to observe the characteristics of adult male mating and food on blood meal intake and mating characteristics of adult males, respectively. Overall, a better understanding of *Ae. albopictus* mating will contribute to more effective population management. We conducted three experiments. The first investigated the effect of mating on blood meal intake. The second experiment studied the effect of adult male food on mating and its characteristics. The third experiment studied the effect of adult male food on mating competitiveness and the characteristics associated with mating. Three different diets were used for adult males, which were 10% sugar aqueous solution, 10% molasses 10% and 8% sugar enriched with 2% brewer's yeast. The results showed that mating affected blood intake as well as the number of eggs deposited, in contrast, lifespan was not affected by blood intake. In addition, it was found that male feeding influences the ability of mating. Specifically, males fed a molasses solution achieved higher mating rates, with a shorter time to first mating. Equally, the same food made the laboratory adult male mosquitoes used in the experiment more competitive. Overall, the paper offers practical guidelines for the management of this species by suggesting optimal laboratory food and aims to emphasize the use of innovative methods, such as the sterile male inoculation technique (SIT), to reduce the reproductive capacity of populations. Molasses solution is proposed as the optimal food for adult laboratory male mosquitoes to make them more competitive against wild ones in SIT.

Key words: Mosquitoes, *Ae. albopictus*, mating, SIT

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή	1
1.1 Γενικά.....	1
1.2 Βιολογία των κουνουπιών.....	2
1.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά των κουνουπιών.....	4
1.4 Γονοτροφικός κύκλος	5
1.5 Διατροφικές συνήθειες ενηλίκων - Λήψη αίματος.....	6
1.6 Σύζευξη.....	8
1.7 Το ασιατικό κουνούπι τίγρης <i>Aedes Albopictus</i> (Stegomyia) Skuse 1895	9
1.7.1 Βιολογία του <i>Aedes albopictus</i>	10
1.7.2 Μορφολογία του <i>Aedes albopictus</i>	11
1.7.3 Συμπεριφορά σύζευξη στο <i>Aedes albopictus</i>	12
1.7.4 Συμπεριφορά θηλυκών μετά τη σύζευξη	13
1.7.5 Διασπορά.....	15
1.8 Ασθένειες μεταδιδόμενες με διαβιβαστή το <i>Aedes albopictus</i>	17
1.8.1 Δάγκειος πυρετός.....	17
1.8.2 Ιός Chikungunya	19
1.8.3 Φιλαριάσεις.....	20
1.8.4 Ιός του Δυτικού Νείλου	21
1.9 Αντιμετώπιση των κουνουπιών	22
1.9.1 Εξάλειψη εστιών αναπαραγωγής.....	23
1.9.2 Χημική αντιμετώπιση	24
1.9.2.1 Χημική αντιμετώπιση προνυμφών.....	24
1.9.2.2 Χημική αντιμετώπιση ενηλίκων	25
1.9.3 Βιολογική καταπολέμηση ενήλικων κουνουπιών.....	25
1.9.4 Αντιμετώπιση κουνουπιών με μεθόδους που επάγουν στειρότητα	26
1.9.4.1 Τεχνική εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων	26

1.9.4.2 Χρήση διαγονιδιακών κουνουπιών	29
1.9.5 Μηχανικά μέσα αντιμετώπισης των κουνουπιών	30
2. Σκοπός.....	32
3. Υλικά και Μέθοδοι	33
3.1 Εργαστηριακές συνθήκες.....	33
3.2 Επίδρασης της σύζευξης στη λήψη γεύματος αίματος	34
3.3 Επίδρασης της τροφής των αρσενικών στην ικανότητα σύζευξης.....	37
3.4 Επίδραση της τροφής των αρσενικών στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης.....	38
4. Στατιστική ανάλυση.....	40
5. Αποτελέσματα.....	42
5.1 Αποτελέσματα της επίδρασης της σύζευξης στη λήψη γεύματος αίματος.....	42
5.2 Αποτελέσματα της επίδρασης της τροφής των αρσενικών στην ικανότητα σύζευξης.....	46
5.3 Επίδρασης της τροφής των αρσενικών στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης	52
6. Συζήτηση.....	61
7. Βιβλιογραφία	65

Ευχαριστίες

Αρχικά, θα ήθελα να απευθύνω τις θερμότερες ευχαριστίες μου στον Καθηγητή κ. Νικόλαο Παπαδόπουλο, επιβλέπων της παρούσας διατριβής για την υπόδειξη του θέματος και τις συμβουλές του κατά τη συγγραφή της διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την υποψήφια διδάκτορα του τμήματος αειφορικής γεωργίας του πανεπιστημίου Πατρών, Σαββίδου Ελένη για τη συνεργασία που είχα μαζί της, την άμεση και πρόθυμη ανταπόκριση σε προβληματισμούς που προκύπταν κατά τη διάρκεια του πειράματος αλλά και για την πολύτιμη βοήθειά της στην ανάλυση των αποτελεσμάτων, καθώς και τη γεωπόνο Μπακοβασίλη Ευαγγελία, μέλος Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας για τη βοήθεια και συμμετοχή της στις παρατηρήσεις του πειράματος. Επίσης, οφείλω να εκφράσω θερμές ευχαριστίες μου στον Δρ. Ζάρπα Κωνσταντίνο, οποίος με βοήθησε να αποκτήσω σημαντικές γνώσεις και καλή εργαστηριακή εμπειρία.

Τέλος, θα ήθελα να εκφράσω τις ευχαριστίες μου και τη βαθιά ευγνωμοσύνη μου στους γονείς μου για την αμέριστη συμπαράσταση που μου έδειξαν και την πίστη στα όνειρα και τους στόχους που έθεσα.

Κατάσταση Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Ποσοστό επιτυχίας λήψης γεύματος αίματος	42
Διάγραμμα 2: Επίδραση της κατάσταση σύζευξης στον αριθμό των ωών που ωοτόκησαν τα θηλυκά	43
Διάγραμμα 3: Διάρκεια ζωής θηλυκών του <i>Ae. albopictus</i> έχοντας ή όχι λάβει γεύμα αίματος	44
Διάγραμμα 4: Διάρκεια ζωής θηλυκών του <i>Ae. albopictus</i> ανάλογα την κατάσταση σύζευξης	45
Διάγραμμα 5: Επιτυχία σύζευξης επί τις εκατό (%), θηλυκών με αρσενικά που έλαβαν διαφορετικές τροφές	47
Διάγραμμα 6: Χρόνος σε λεπτά μέχρι την πρώτη σύζευξη μεταξύ θηλυκών με αρσενικά που τράφηκαν με τρεις διαφορετικές τροφές	48
Διάγραμμα 7: Επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών στην διάρκεια σύζευξης	49
Διάγραμμα 8: Ποσοστό επί τις εκατό επιτυχίας μύζησης αίματος των θηλυκών, κατόπιν σύζευξης με αρσενικά που είχαν τραφεί με διαφορετικές τροφές	50
Διάγραμμα 9: Η επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών στον αριθμό των ωών που ωοτόκησαν τα θηλυκά που συζευχθήκαν με τα αντίστοιχα αρσενικά.....	50
Διάγραμμα 10: Η ποσοστιαία επί τις εκατό επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών στην εκκόλαψη των ωών που προήλθαν από θηλυκά που συζεύχθηκαν με τα αντίστοιχα αρσενικά	51
Διάγραμμα 11: Επιτυχία σύζευξης (%) θηλυκών που επέλεξαν σύζευξη με αρσενικά που τράφηκαν σε διαφορετικές τροφές S 10% και M 10%.	52

Διάγραμμα 12: Ο χρόνος σε λεπτά μέχρι την σύζευξη με παράγοντα την τροφή των αρσενικών S 10% και M 10%.....	53
Διάγραμμα 13: Διάρκεια σύζευξης θηλυκών με αρσενικά που τράφηκαν σε διαφορετικές τροφές S 10% και M 10%. στην διάρκεια σύζευξης	53
Διάγραμμα 14: Ποσοστό επί τις εκατό επιτυχίας μύζησης αίματος των θηλυκών κατόπιν σύζευξης με αρσενικά που είχαν τραφεί με διαφορετικές τροφές S 10% και M 10%	54
Διάγραμμα 15: Αριθμός αυγών που ωοτόκησαν θηλυκά που συζευχθήκαν με τα αρσενικά που τράφηκαν σε διαφορετικές τροφές S 10% και M 10%.....	55
Διάγραμμα 16: Εκκόλαψη των ωών που προήλθαν από θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που είχαν τραφεί σε διαφορετικές τροφές S 10% και M 10%.....	55
Διάγραμμα 17: Ποσοστά επιτυχίας σύζευξης με παράγοντα την διαφορετική τροφή των ενηλίκων που ήταν S10% και S + HBY 10%.	56
Διάγραμμα 18: Ο χρόνος μέχρι την πρώτη σύζευξη με παράγοντα την τροφή των αρσενικών S10% και S + HBY 10%.	57
Διάγραμμα 19: Η επίδραση της τροφής των ενηλίκων αρσενικών S10% και S + HBY 10% στην διάρκεια σύζευξης	58
Διάγραμμα 20: Ποσοστό επιτυχίας λήψης γεύματος αίματος των θηλυκών κατόπιν σύζευξης με αρσενικά που είχαν τραφεί με S10% και S + HBY 10%.	58
Διάγραμμα 21: Η επίδραση της τροφής των ενηλίκων αρσενικών στον αριθμό των ωών που ωοτόκησαν τα θηλυκά που συζευχθήκαν με τα αρσενικά που τράφηκαν με S10% και S + HBY 10%	59

Διάγραμμα 22: η επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών στην εκκόλαψη των ωών που προήλθαν από θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που είχαν τραφεί με S10% και S + HBY 10%	6
---	---

1. Εισαγωγή

1.1 Γενικά

Τα κουνούπια είναι μια ομάδα αιμομυζητικών εντόμων, τα οποία ανήκουν στην τάξη Δίπτερα (Diptera), στην υποτάξη Νηματόκερα (Nematocera) και στην οικογένεια Culicidae, η οποία χωρίζεται στις υποοικογένειες Anophelinae, Culicinae και Toxorhynchitinae. Τα κουνούπια που ανήκουν στην υποοικογένεια Anophelinae λέγονται «ανωφελή», ενώ αυτά που ανήκουν στην υποοικογένεια Culicinae λέγονται «κοινά». Στην υποοικογένεια Toxorhynchitinae μεταξύ άλλων υπάγεται το γένος *Toxorhynchites* του οποίου η προνύμφη είναι αρπακτική των προνυμφών Culicidae και τα ενήλικα κουνούπια δεν είναι αιμομυζητικά. Συνολικά παγκοσμίως έχουν καταγραφεί περισσότερα 3.500 είδη κουνουπιών με τον αριθμό αυτόν να αυξάνεται (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011). Οι αιμομυζητικές συνήθειες των θηλυκών που ανήκουν στις οικογένειες αυτές καθιστούν ορισμένα είδη επικίνδυνα για τη δημόσια υγεία λόγω των ασθενειών που μεταφέρουν, όπως η ελονοσία, ο ιός του δυτικού Νείλου, ο κίτρινος πυρετός, διάφορες μορφές εγκεφαλίτιδες, ο δάγκειος αιμορραγικός πυρετός, οι ιοί Zika και Chikungunya, οι φιλαριάσεις, οι ελεφαντιάσεις κ.α. Τα κουνούπια χαρακτηρίζονται από τους μεγαλύτερους εχθρούς των ανθρώπων, επειδή κάθε χρόνο μολύνονται μέσω αυτών εκατομμύρια άνθρωποι. Τις τελευταίες δεκαετίες το πρόβλημα εντείνεται εξαιτίας της εγκατάστασης κάποιων ειδών σε καινούργιες περιοχές. Οι παγκόσμιες μετακινήσεις, το διεθνές εμπόριο και η κλιματική αλλαγή συμβάλλουν στην εξάπλωση των κουνουπιών και αυτό συνεπάγεται τη διάδοση νέων μολυσματικών ασθενειών ή την επανεμφάνιση παλαιών που μεταδίδονται μέσω αυτών, προκαλώντας ανησυχία στη δημόσια υγεία. Η παρουσία κουνουπιών σε μία περιοχή επιφέρει δυσμενείς επιπτώσεις στην ποιότητα της ζωής, στις υπαίθριες εργασίες και στο τουρισμό ενώ παράλληλα έχει αρνητικές συνέπειες στην οικονομική ανάπτυξη αυτής της περιοχής. Στην Ελλάδα έχουν καταγραφεί 60 είδη κουνουπιών, το πιο κοινό είδος είναι το *Culex pipiens* (Linnaeus, 1758) (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011). Σε αυτό το είδος ανήκουν δύο μορφολογικά ταυτόσημες μορφές η *Cx. pipiens pipiens* και η *Cx. pipiens molestus*, που διαφέρουν ως προς τη βιολογία τους όπως θα αναλύσουμε παρακάτω. Ένα άλλο είδος, το οποίο συναντάται συχνά στην Ελλάδα είναι το *Aedes*

albopictus (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae). Τα κουνούπια αυτού του είδους, χαρακτηρίζονται από αυξημένη προσαρμοστικότητα στα ενδιαιτήματα που εγκαθίστανται συμβάλλοντας στη ταχεία εξάπλωση του ανά τον κόσμο αυξάνοντας τον κίνδυνο μετάδοσης ασθενειών (Reiter, 2001). Το *Ae. albopictus* χαρακτηρίζεται ως ένα επιθετικό είδος προς τους ανθρώπους, το οποίο εκτός από τη μετάδοση ασθενειών, δημιουργεί και έντονη όχληση, δυσκολεύοντας τη καθημερινότητα των κατοίκων στις περιοχές όπου εμφανίζεται και προκαλώντας σοβαρές οικονομικές συνέπειες, που προκύπτουν από της αρνητικές του επιπτώσεις στον τουρισμό (Medldock et al., 2012).

1.2 Βιολογία των κουνουπιών

Τα κουνούπια είναι ολομετάβολα έντομα που υφίστανται πλήρη μεταμόρφωση. Ο βιολογικός τους κύκλος κουνουπιού ολοκληρώνεται διαδοχικά από το ωό, τέσσερεις προνυμφικές ηλικίες, τη νύμφη και το ενήλικο. Το ωό, η προνύμφη και η νύμφη είναι υδρόβια ενώ το ενήλικο χερσαίο και έχει την ικανότητα να πετά. Η απόθεση των ωών πραγματοποιείται σε υγρές επιφάνειες περιμετρικά φυσικών ή τεχνητών όγκων νερού. Τα ωά γονιμοποιούνται λίγο πριν αποτεθούν, τους, ακολουθεί η καρυογαμία και η ανάπτυξη του εμβρύου για 6-7 ημέρες. Οι προνύμφες εκκολάπτονται κατά την κατάκλιση των ωών με νερό και έχουν βρεθεί τόσο σε φυσικά περιβάλλοντα όπως κουφάλες δέντρων, λακκούβες νερού και βραχώδεις σχηματισμούς όσο και σε τεχνητά ενδιαιτήματα όπως ελαστικά, βάζα, ανθοδοχεία σε νεκροταφεία, πιατάκια γλαστρών και σιντριβάνια (Estada - Franco and Craig, 1995). Μετά το πέρας του προνυμφικού σταδίου, που διαρκεί 7 - 14 μέρες ανάλογα με τη θερμοκρασία και τη διαθεσιμότητα τροφής, ακολουθεί η εμφάνιση των νυμφών από τις οποίες εξέρχονται τα ενήλικα εντός δύο τριών ημερών. Ακολουθούν η σύζευξη και η εύρεση ξενιστή για λήψη γεύματος αίματος (Εικόνα 2), η εναπόθεση ωών και ο κύκλος ξεκινάει από την αρχή.

Ο βιολογικός κύκλος επηρεάζεται τόσο από βιοτικούς όσο και από αβιοτικούς παράγοντες, επιδρώντας στη διάρκεια και την επιβίωση των διαφόρων αναπτυξιακών σταδίων. Η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία αποτελούν δύο από τους βασικότερους παράγοντες που επηρεάζουν τη διάρκεια της εμβρυικής ανάπτυξης (Estada - Franco and Craig, 1995). Η ανάπτυξη και το μέγεθος των προνυμφών, καθώς και η διάρκεια της προνυμφικής ανάπτυξης, καθορίζονται από παράγοντες όπως η θερμοκρασία, η διαθεσιμότητα τροφής και ο βαθμός συνωστισμού (Estada - Franco and Craig, 1995). Ο κύκλος ζωής κυμαίνεται από 10 έως 50 μέρες και εξαρτάται από βιοτικούς και

αβιοτικούς παράγοντες όπως η θερμοκρασία και η υγρασία, ενώ είναι ανάλογος του κλίματος, τις θερμές περιόδους του έτους είναι σύντομος ενώ σε ψυχρές περιόδους διαρκεί αρκετούς μήνες (Larousse Britannica, 1991). Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος αλλάζει τη διάρκεια ζωής του κουνουπιού αλλά και την περίοδο επώασης των ιών επηρεάζοντας τον ρυθμό μετάδοσης ασθενειών (Smith et al., 2012). Η θερμοκρασία και η βροχόπτωση επηρεάζουν τόσο τα ανήλικα στάδια όσο και τα ενήλικα στάδια.

Ο βιολογικός κύκλος ορισμένων ειδών κουνουπιών μπορεί να περιλαμβάνει και περιόδους ληθάργου και διάπαυση. Η διάπαυση είναι μια κατάσταση χαμηλής μεταβολικής δραστηριότητας που ελέγχεται νευροορμονικά και προσδίδει στο έντομο μεγαλύτερη αντοχή σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες (Τζανακάκης, 1995). Κατά τη διάπαυση υπάρχει αναστολή ορισμένων βασικών λειτουργιών του εντόμου όπως είναι η ανήλικη ανάπτυξη η αναπαραγωγή και η ωοτοκία (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011). Η ικανότητα διαχείμασης συμβάλει στην εγκατάσταση ορισμένων ειδών κουνουπιών των τροπικών περιοχών σε περιοχές της Εύκρατης ζώνης και καθορίζει την αύξηση του πληθυσμού την επόμενη περίοδο (Filazzola et al, 2021). Το *Ae. albopictus* διαχειμάζει με τη μορφή ωών ενώ άλλα είδη όπως εκείνα του γένους *Culex* διαχειμάζουν ως προνύμφες ή ως γονιμοποιημένα ενήλικα θηλυκά (Lehane, 2005). Στο *Cx. pipiens* τα αρσενικά και τα μη γονιμοποιημένα θηλυκά δεν μπορούν να επιβιώσουν τον χειμώνα. Τα γονιμοποιημένα θηλυκά στο τέλος του καλοκαιριού ψάχνουν καταφύγιο για να γίνει η διαχείμαση μέχρι την άνοιξη, όταν η φωτοπερίοδος και θερμοκρασία αυξάνονται, στις περιπτώσεις που ο χειμώνας είναι θερμός ψάχνουν νερό για να ωοτοκήσουν (Bahnck & Fonseca, 2006). Εξάιρεση, αποτελεί το *Cx. pipiens molestus*, το οποίο συνεχίζει να είναι δραστήριο και να αναπτύσσεται και τον χειμώνα σε προφυλαγμένα υδάτινα ενδιαιτήματα (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011). Έναυσμα για την διάπαυση του *Ae. albopictus* είναι η μικρή διάρκεια φωτοπερίοδος και οι χαμηλές θερμοκρασίες όπως παρατηρούνται τους χειμερινούς μήνες, τα ωά εισέρχονται σε φάση διάπαυσης μέχρι οι ευνοϊκές καιρικές συνθήκες να επιτρέψουν την εκκόλαψή τους (Hanson and Craig, 1994).

1.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά των κουνουπιών

Τα ωά των κουνουπιών είναι μικρά και επιμήκη λευκού χρώματος κατά την εναπόθεση και αργότερα αλλάζουν χρώμα και γίνονται καφέ ή μαύρα. Τα ανωφελή κουνούπια εναποθέτουν τα ωά τους μεμονωμένα και οι πλευρές τους έχουν ειδικούς σάκους με αέρα που λέγονται πλωτήρες και συμβάλλουν στην επίπλευση τους (Μπέτζιος, 1989). Τα ωά των κοινών κουνουπιών αποτίθενται είτε μεμονωμένα (*Aedes*) είτε πολλά μαζί σε μορφή σχεδίας που επιπλέει σε υγρές επιφάνειες (*Culex* και *Culiseta*) (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011).

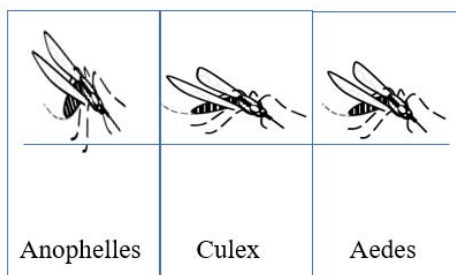
Οι προνύμφες είναι υδρόβιες και χωρίζονται σε 3 ευδιάκριτα μέρη, την κεφαλή, τον θώρακα και την κοιλιά. Οι προνύμφες των κουνουπιών ξεχωρίζουν από τις άλλες υδρόβιες προνύμφες επειδή δεν έχουν πόδια (Μπέτζιος, 1989).

Το σώμα των ενήλικων κουνουπιών διαιρείται σε τρία τμήματα: την κεφαλή, τον θώρακα και την κοιλιά. Το ενήλικο κουνούπι φέρει πτέρυγες, έχει σώμα λεπτό μακρόστενο και μακριά επιμήκη πόδια. Το μέγεθος του ενήλικου κυμαίνεται από 3 – 6 mm, με εξαίρεση στα κουνούπια του γένους *Toxorchynchites*, που στο στάδιο του ενήλικου μπορούν να τα 20 mm (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011). Τα κουνούπια διαθέτουν στοματικά μόρια τύπου νύσσοντος – μυζητικού και τρέφονται μέσω μιας προβοσκίδας (proboscis). Η προβοσκίδα μοιάζει με έναν κυρτό λεπτό σωλήνα. Τα στοματικά μόρια συμπληρώνουν οι άνω και κάτω γνάθοι και είναι τα νύσσοντα όργανα των κουνουπιών αφού με αυτά σκίζουν την επιδερμίδα των ξενιστών. Κατά τη διάρκεια της μύξης αίματος, οι σιελογόνοι αδένες παράγουν σίελο, ο οποίος περιέχει αντιαιμοστατικά ένζυμα που δημιουργούν αιμάτωμα στο σημείο που εισχωρεί η προβοσκίδα και διευκολύνουν τη λήψη αίματος. Ακόμα ο σίελος αποτελείται από αντιπηκτικές και αναισθητικές ουσίες οι οποίες εμποδίζουν την πήξη του αίματος στο σημείο του νύγματος, και έτσι διευκολύνεται η λήψη αίματος (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011).

Ο θώρακας αποτελεί την συνέχεια του οπίσθιου μέρους της κεφαλής και εκεί υπάρχουν εξαρτήματα σχετικά με την κίνηση του κουνουπιού. Στον θώρακα βρίσκονται οι πτέρυγες, τα πόδια, οι αλτήρες και θωρακικά αναπνευστικά τρήματα. Τρία σωματικά μεταμερή αποτελούν τον θώρακα: ο προθώρακας, ο μεσοθώρακας και ο μεταθώρακας, όπου κάθε τμήμα περιέχει ένα ζεύγος ποδιών και οι πτέρυγες εντοπίζονται στον μεσοθώρακα (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011).

Η κοιλία είναι το τελευταίο μέρος του ενήλικου κουνουπιού και έχει στενόμακρο σχήμα. Η κοιλία είναι αρκετά ελαστική και υπόκειται σε διαστολή όταν τα θηλυκά κουνούπια τρέφονται με αίμα ή όταν φέρουν ώριμα ωά. Τα εξωτερικά γεννητικά όργανα βρίσκονται στην κοιλία. Ο γεννητικός οπλισμός στα αρσενικά κουνούπια δεν είναι ίδιος για κάθε είδος και γι' αυτό αποτελεί έναν αξιόπιστο ταξινομικός χαρακτήρας για την αναγνώριση του γένους και του είδους (Becker et al., 2010).

Η μορφολογία των κουνουπιών διαφέρει ανά τα διάφορα αναπτυξιακά στάδια και αποτελεί χαρακτηριστικό του εκάστοτε είδους (Εικόνα 1). Η διάκριση των Ανωφελών και κοινών ενήλικων κουνουπιών γίνεται με την εξέταση των παρακάτω χαρακτηριστικών. Τα ενήλικα του γένους *Aedes* κρατούν το σώμα τους παράλληλο στην επιφάνεια του νερού με την προβοσκίδα τους κεκαμμένη προς τα κάτω. Αντίθετα τα ανωφελή κουνούπια κατά την ανάπαυση σχηματίζουν γωνία με την επιφάνεια και τα κουνούπια της υποοικογένειας Culicinae έχουν το σώμα παράλληλο με την επιφάνεια (Σαββοπούλου-Σουλτάνη, 2011). Ακόμα στα ανωφελή κουνούπια οι γναθικές προσακτρίδες και στα δύο φύλα είναι στο ίδιο μήκος με την προβοσκίδα. Το ίδιο ισχύει και για τα αρσενικά των κοινών κουνουπιών, αλλά στα θηλυκά οι γναθικές προσακτρίδες έχουν μικρότερο από το μισό του μήκους της προβοσκίδας. Τέλος τα κοινά κουνούπια δεν φέρουν κηλίδες (σχηματισμούς από λέπια) στις πτέρυγες.



Εικόνα 1 Διαφορές στη θέση ανάπαυσης πάνω στην επιφάνεια του νερού μεταξύ των γενών *Anopheles*, *Culex* και *Aedes*,

1.4 Γονοτροφικός κύκλος

Μετά την πρώτη ωοτοκία, έπεται η διαδικασία λήψης αίματος και ωρίμανσης των ωών που ονομάζεται γονοτροφικός κύκλος (gonotrophic cycle). Γονοτροφικός κύκλος είναι το χρονικό διάστημα μεταξύ δύο ωοτοκιών. Τα θηλυκά κουνούπια μπορούν να

περάσουν από πολλούς τέτοιους κύκλους στη διάρκεια της ζωής τους, ενώ ο χρόνος που απαιτείται για την ολοκλήρωση ενός γονοτροφικού κύκλου εξαρτάται από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Σε θερμά κλίματα, όπως αυτά των τροπικών περιοχών, ο κύκλος διαρκεί 2 με 4 ημέρες, ενώ σε ψυχρότερες συνθήκες η διάρκεια του μπορεί να ξεπεράσει τη μία εβδομάδα. Κατά τη διάρκεια ενός γεύματος αίματος το θηλυκό κουνούπι αυξάνει το βάρος του έως και 4 φορές. Η λήψη αίματος σταματά όταν ειδικά κοιλιακά νευρικά κύτταρα στέλνουν σήμα στον εγκέφαλο ότι έχει ληφθεί επαρκής ποσότητα αίματος. Κατά τη διάρκεια της πέψης, τα αμινοξέα που προκύπτουν από τη διάσπαση των πρωτεϊνών του αίματος βοηθούν στο σχηματισμό της λεκίθου, που είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη των ωαρίων (Clements, 1992). Τα ωάρια ωριμάζουν και καταλαμβάνουν ολόένα και μεγαλύτερο όγκο μέσα στην κοιλία του θηλυκού. Σε ενδιάμεσο στάδιο, η κοιλία περιέχει σχεδόν ίση ποσότητα αίματος και αναπτυσσόμενων ωαρίων, ενώ στο τελικό στάδιο, τα ωάρια καταλαμβάνουν σχεδόν το σύνολο της κοιλιάς, με το θηλυκό να είναι έτοιμο για την ωοτοκία. Αυτός ο κύκλος είναι βασικός για την αναπαραγωγή του θηλυκού κουνουπιού, καθώς η διαδικασία της μύζησης και της πέψης του αίματος είναι απαραίτητη για την ωρίμανση των ωαρίων (Πέττα, 2023).



Εικόνα 2. Θηλυκό κουνούπι *Aedes albopictus* που λαμβάνει γεύμα αίματος

1.5 Διατροφικές συνήθειες ενηλίκων - Λήψη αίματος

Η διατροφή των ενηλίκων επηρεάζει την επιβίωση, τη γονιμότητα αλλά και τη συμπεριφορά αναζήτησης ξενιστή. Τα ενήλικα κουνούπια προσλαμβάνουν σάκχαρα από τα φυτά. Το νέκταρ αποτελεί μια καλή πηγή σακχάρων (Vrzal et al., 2010). Υπάρχουν αναφορές για τροφή ενηλίκων με σάκχαρα από μελιτώδη άνθη (Improinvil et al., 2004), γύρη (Eischen and Forester, 1983), φυτικούς ιστούς (Qualls et al., 2013), κατεστραμμένους σπόρους (Yu et al., 2016) ακόμα και από γλυκά υγρά που

εντοπίζονται σε οικιακά απορρίμματα (Dieng et al., 2017). Και τα δύο φύλα των κουνουπιών χρησιμοποιούν σάκχαρα σαν πηγές διατροφής συμπεριλαμβανομένων υδατανθράκων όπως η γλυκόζη, η σακχαρόζη και η φρουκτόζη (Kessler et al., 2015). Το ποσοστό επιβίωσης και η αναπαραγωγική επιτυχία έχει συσχετιστεί θετικά με την ολική συγκέντρωση σακχάρων που βρίσκεται σε ορισμένα φυτά (Yu et al., 2016). Η τροφή φυτικής προέλευσης αποτελεί την μοναδική πηγή ενέργειας για τα αρσενικά και πρωταρχική πηγή για τα θηλυκά που παρουσιάζουν μεγαλύτερες διατροφικές απαιτήσεις οι οποίες δεν καλύπτονται από τα σάκχαρα (Sissoko et al., 2019).

Οι διατροφικές συμπεριφορές των θηλυκών αναυτογενών (απαιτούν γεύμα αίματος για να ωοτοκήσουν) κουνουπιών περιλαμβάνουν την λήψη γεύματος αίματος από σπονδυλωτά κατά την διάρκεια κάθε γονοτροφικού κύκλου καθώς και την κατανάλωση φυτικών υδατανθράκων (Clements, 1992). Με την ολοκλήρωση της σύζευξης το θηλυκό χρειάζεται να καταναλώσει πρωτεΐνες και λιπίδια για την ομαλή εξέλιξη της ωογένεσης και της ωοτοκίας (Briegel et al., 2002), τα οποία εξασφαλίζει μέσω λήψης αίματος από ξενιστές όπως ο άνθρωπος, διάφορα σπονδυλωτά και πτηνά (Ahmed, 2013). Η μύζηση αίματος και η σύζευξη αποτελούν τις σημαντικότερες συμπεριφορές που συμβάλλουν τόσο στη ανάπτυξη του είδους των κουνουπιών όσο και στη μετάδοση των ασθενειών. Το θηλυκό αφού ανακαλύψει την πηγή αίματος, διατρυπά το δέρμα του ξενιστή μέσω της άνω και κάτω γνάθου που φέρουν τους οδόντες. Ο σιελαγωγός που βρίσκεται στον υποφάρυγγα πραγματοποιεί την έκκριση σάλιου το οποίο περιέχει αντιπηκτικές ουσίες έτσι ώστε να αποτρέψει την συσσώρευση αιμοπεταλίων και συνεπώς την πήξη του αίματος στο σημείο αυτό. Το αίμα περνάει από το σωληνοειδή επιφάρυγγα με κατεύθυνση προς το στομάχι (Becker et al., 2010). Τα αρσενικά κουνούπια, και ορισμένα είδη θηλυκών, που δεν τρέφονται με αίμα στερούνται συνήθως άνω ή/και κάτω γνάθου ή είναι πολύ μικρές σε μέγεθος και έτσι δεν μπορούν να τσιμπήσουν τους ξενιστές. Το νέκταρ και οι άλλοι ζαχαρούχοι χυμοί από τους οποίους τρέφονται απορροφούνται και σε αυτήν την περίπτωση μέσω του επιφάρυγγα (Becker et al., 2010).

1.6 Σύζευξη

Τα ενήλικα φτάνουν σε σεξουαλική ωριμότητα δύο με τρεις μέρες μετά την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα και τα αναπαραγωγικά όργανα εντοπίζονται στο τελευταίο τμήμα της κοιλίας (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011).

Ο γεννητικός οπλισμός των αρσενικών βρίσκεται στο 9^ο κοιλιακό τμήμα και αποτελείται από τα φαλλικά και περιφαλλικά όργανα και συμβάλλουν στη σύζευξη. Επιπλέον ο γεννητικός οπλισμός αποτελείται από δύο λαβίδες που καλούνται γονοστύλοι και συμμετέχουν στη σύλληψη και συγκράτηση των θηλυκών και τον αιδοιαγό, ο οποίος εντοπίζεται ανάμεσα στους δύο γονοστύλους. Ο αιδοιαγός περιλαμβάνει τον φαλλό και ένα ζεύγος παραμερών, τα οποία η συμβολή τους είναι σημαντική για την σύλληψη και συγκράτηση του γεννητικού οπλισμού των θηλυκών κατά τη σύζευξη (Becker et al., 2010). Τα αρσενικά κουνούπια πρέπει να ολοκληρώσουν δύο εμφανείς σωματικές αλλαγές πριν καθιστούν σεξουαλικά ενεργά. Κατά τη διάρκεια της πρώτης ημέρας μετά την εμφάνιση τους, οι τρίχες των κεραίων γίνονται πλήρως όρθιες και παραμένουν έτσι καθ' όλη της ζωής τους (Roth, 1948). Το αρσενικό κουνούπι είτε αντιλαμβάνεται τη παρουσία του θηλυκού από τον ήχο των πτερύγων του με τη βοήθεια ενός αισθητηρίου οργάνου (Johnston) που βρίσκεται στην κεραία του, είτε μέσω ειδικών χημικών ουσιών που παράγονται από τα ταρσομερή των θηλυκών (Clements, 1992). Οι ουσίες αυτές ονομάζονται φερομόνες και παράγονται από άτομα του ίδιου είδους με στόχο να προκαλέσουν κάποια αντίδραση μεταξύ τους (Βογιατζόγλου 2011; Vaníčková 2017; Pitts 2014).). Οι όρχεις των κουνουπιών είναι γεμάτοι με αδιαφοροποίητα κύτταρα, σπερματοκύτταρα και σπερματοζωάρια σε διάφορα στάδια ανάπτυξης. Η σπερματογένεση στους όρχεις ξεκινά στο στάδιο της προνύμφης και συνεχίζεται σε όλη την ενήλικη ζωή του κουνουπιού έως ότου οι σπερματοκύστες εξαντληθούν από τα σπερματογονίδια (αδιαφοροποίητα γεννητικά κύτταρα). Τα σπερματοζωάρια ωριμάζουν στους όρχεις και στη συνέχεια αποθηκεύονται στα σπερματικά κυστίδια κατά τη σεξουαλική ωρίμανση (Clelia et al., 2014). Το σπέρμα, το σπερματικό υγρό και τα συνοδά εκκρίματα περιλαμβάνονται στα συστατικά που μεταφέρουν τα αρσενικά κουνούπια, παίζοντας αμφότερα ζωτικό ρόλο στην αναπαραγωγή των κουνουπιών (Sirot et al., 2011). Η παραγωγή σπέρματος επηρεάζεται από την ηλικία και το σωματικό μέγεθος του αρσενικού καθώς και από τη θερμοκρασία (Ponlawat and Harrington, 2007).

Ένα θηλυκό κουνούπι μετά το πέρας 2- 9 ημερών έρχεται σε αναπαραγωγική ωριμότητα και καθίσταται έτοιμο για σύζευξη κατά την οποία θα λάβει σπερματοζωάρια που θα φυλάξει για την γονιμοποίηση των ωών για όλη την διάρκεια της ζωής του (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011). Ένα θηλυκό κουνούπι διαθέτει τον γεννητικό οπλισμό στο 8^ο και 9^ο κοιλιακό τμήμα, ο οποίος συμμετέχει στην σύζευξη και ωοτοκία. Το σπέρμα που είναι αποθηκευμένο στη σπερματοθήκη περνά μέσα από τον σπερματοφόρο αγωγό και εισέρχεται σε κάθε ώριμο ωάριο. Κατά τη διάρκεια της σύζευξης το θηλυκό δέχεται ποσότητα σπερματοζωαρίων ικανή να γονιμοποιήσει όλα τα ωά, που θα εναποθέσει καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του. Το σπέρμα αποθηκεύεται σε ειδικά όργανα που διαθέτει το θηλυκό και ονομάζονται σπερματοθήκες, οι οποίες ανάλογα με το είδος του θηλυκού κουνουπιού μπορεί να είναι από μία έως τρείς (Βογιατζόγλου, 2011).

Μία επιτυχημένη σύζευξη περιλαμβάνει αλληλουχίες γεγονότων που επιτρέπουν την ένωση των δύο φύλων, την εμπλοκή των γεννητικών οργάνων, τη μεταφορά σπέρματος και την αποθήκευση σπέρματος από το θηλυκό (Εικόνα 3).



Εικόνα 3 Πραγματοποίηση σύζευξης του *Aedes albopictus* σε εργαστηριακές συνθήκες

1.7 Το ασιατικό κουνούπι τίγρης *Aedes Albopictus* (Stegomyia) Skuse 1895

Το *Ae. albopictus* ανήκει στο υπογένος *Stegomyia* της οικογένειας *Culicidae*. Το *Ae. albopictus*, έχει τεράστια επιδημιολογική σημασία, καθώς είναι ικανός φορέας 22 αρμοϊών αλλά και νηματωδών σκωλήκων. Αρχικά απαντώνταν σε τροπικές και υποτροπικές περιοχές αλλά μέσω του εμπορίου έχει μεταφερθεί και εγκατασταθεί σε

νέες περιοχές της Ευρώπης και της Αμερικής. Το *Ae. albopictus* δεν έχει την ικανότητα να πετάξει μεγάλες αποστάσεις, γι αυτό μεταφέρεται κυρίως μέσω ανθρώπινων δραστηριοτήτων. Το διεθνές εμπόριο, και ιδιαίτερα η μεταφορά μεταχειρισμένων ελαστικών και φυτών όπως τα μπαμπού (lucky bamboo), φαίνεται να έχουν συμβάλλει σημαντικά στην παγκόσμια εξάπλωση του είδους. Το κουνούπι τίγρης κατατάσσεται στα 100 πιο επικίνδυνα είδη εισβολείς (χωροκατακτητικά είδη) και αποτελεί σοβαρή απειλή για τη δημόσια υγεία, παγκοσμίως (Bonizzoni, 2013). Η εξάπλωσή του πραγματοποιείται αποκλειστικά με την παρέμβαση του ανθρώπου (Enserink, 2008).

1.7.1 Βιολογία του *Aedes albopictus*

Τα θηλυκά κουνούπια *Ae. albopictus*, 2 – 3 ημέρες μετά την έξοδο τους αναζητούν ξενιστή ώστε να λάβουν γεύμα αίματος για να αναπτύξουν τα ωά τους (Hartman, 2011). Γενικά υπάρχει ποικιλία στην προτίμηση ξενιστών και εξαρτάται από τη διαθεσιμότητα τους στη φύση. Κυρίως τα *Ae. albopictus* δείχνουν προτίμηση στο ανθρώπινο αίμα, αλλά μυζούν αίμα και από ένα ευρύ φάσμα ζώων (κατοικίδια, πτηνά, ερπετά, αμφίβια) (Becker et al., 2010). Έτσι χαρακτηρίζεται ευκαιριακά ζωόφιλο και ενισχύεται η μετάδοση των παθογόνων και η κατάληψη των οικολογικών θέσεων (Paupy et al., 2009)

Τα ωά των θηλυκών του *Ae. albopictus* αποθέτονται μεμονωμένα σε κάποια κάθετη και τραχιά επιφάνεια σκούρου χρώματος πάνω από την επιφάνεια του νερού. Γενικά κατά την διάρκεια της ωοτοκίας τα κουνούπια μετακινούνται και δεν εναποθέτουν όλα τα ωά σε ένα σημείο, αυτό συμβάλλει στην επιβίωση του είδους (Estrada-Franco & Craig, 1995). Οι επαναλαμβανόμενες λήψεις αίματος μέσα σε έναν γονοτροφικό κύκλο παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιδημιολογία των ασθενειών, καθώς αυξάνουν την ικανότητα του *Ae. albopictus* να προσλάβει και να μεταδώσει διάφορα παθογόνα σε περισσότερους ξενιστές (Estrada - Franco and Craig, 1995). Ένα θηλυκό κουνούπι του είδους *Ae. albopictus* μπορεί να ωοτοκήσει 45 έως 200 αυγά σε κάθε ωοτοκία, και κατά τη διάρκεια του πρώτου γονοτροφικού κύκλου ωοτοκούνται τα περισσότερα ωά (42 – 88). Σε μία εργαστηριακή εκτροφή ένα θηλυκό ενήλικο κουνούπι μπορεί να ωοτοκήσει μέχρι 950 φορές. Όταν τα ωά βυθιστούν στο νερό αρχίζει η εκκόλαψη, αλλά κάποια θα εκκολαφθούν σταδιακά στις επόμενες ώρες. Αυτό το φαινόμενο είναι η συνεχόμενη εκκολαπτικότητα (installment hatching), δηλαδή τα ωά εκκολάπτονται

προοδευτικά ακόμα και αν ευνοούν οι συνθήκες (Estrada-Franco & Craig, 1995). Η θερμοκρασία, η συγκέντρωση του οξυγόνου στο νερό και η διαθεσιμότητα θρεπτικών ουσιών σ' ένα ενδιαίτημα επηρεάζουν τον ρυθμό εκκόλαψης των ωών (Edgerly et al., 1993). Τέλος, κάποια ωά του *Ae. albopictus* υπάρχει πιθανότητα να χρειαστούν περισσότερες από μία κατάκλιση με νερό ώστε να γίνει η εκκόλαψη (Hawley, 1988).

Η θερμοκρασία, η διαθεσιμότητα θρεπτικών ουσιών, ο συνωστισμός και το φύλο επηρεάζουν τη διάρκεια των προνυμφικών σταδίων και το μέγεθος των προνυμφών. Το νυμφικό στάδιο έχει διάρκεια δύο ημερών, η έξοδος των ενηλίκων θηλυκών έπεται των αρσενικών. Το στάδιο της νύμφης των αρσενικών διαρκεί περίπου 32 – 36 ώρες ενώ των θηλυκών 49 – 52 ώρες (Hartman, 2011).

Στο τροπικό κλίμα το *Ae. albopictus* παραμένει δραστήριο αναπαραγωγικά σε όλη την χρονιά, ενώ στο εύκρατο κλίμα και τις ευρωπαϊκές χώρες εμφανίζει διάπαυση στο στάδιο του ωού. Έναυσμα για την διάπαυση του *Ae. albopictus* είναι η μικρή διάρκεια φωτοπερίοδος και οι χαμηλές θερμοκρασίες όπως παρατηρούνται τους χειμερινούς μήνες, τα ωά εισέρχονται σε φάση διάπαυσης μέχρι οι ευνοϊκές καιρικές συνθήκες να επιτρέψουν την εκκόλαψή τους (Hanson and Craig, 1994).

1.7.2 Μορφολογία του *Aedes albopictus*

Το σώμα των ενήλικων κουνουπιών του *Ae. albopictus* έχουν μήκος περίπου 4 mm και το μήκος των πτερύγων κυμαίνεται από 2 – 10 mm (Hartman, 2011). Χαρακτηριστικό του γένους είναι το σκούρο χρώμα σώμα, ο ασημένιος θώρακας με άσπρες κηλίδες και οι πίσω σπειροειδής σκληρές σμήριγγες. Η προβοσκίδα έχει σκούρο χρώμα και καλύπτεται από λέπια. Τα λέπια στο υπόλοιπο σώμα είναι μαύρα με λευκές περιοχές στον θώρακα, την κοιλιά και τα πόδια. Στην πάνω πλευρά του θώρακα, τα λευκά λέπια σχηματίζουν μια χαρακτηριστική λευκή γραμμή, που αποτελεί γνώρισμα του *Ae. albopictus* (Becker et al. 2010). Τα θηλυκά εμφανίζουν μυτερό άκρο κοιλιάς εξαιτίας του γενετικού οπλισμού που εξέχει. Το τελευταίο κοιλιακό τμήμα των θηλυκών περιέχει ένα ζεύγος εξαρτημάτων, τους κέρκους, ενώ τα αρσενικά έχουν τους σφιγκτήρες, οι οποίοι αποτελούν κομμάτι του εξωτερικού γεννητικού εξοπλισμού. Τα ενήλικα έντομα διαθέτουν σύνθετους οφθαλμούς και στοματικά μόρια μυζητικού τύπου με τη μορφή μακρόστενης προβοσκίδας, στα πλάγια της οποίας εντοπίζονται γναθικές προσακτρίδες. Τα αρσενικά έχουν θυσανοειδείς κεραίες ενώ τα θηλυκά

νηματοειδείς. Στα θηλυκά εντοπίζονται 2-3 σπερμοθήκες. Τα ωά είναι ατρακτοειδούς σχήματος, με διογκωμένο κέντρο και λεπτά άκρα. Τα ωά του *Ae. albopictus* είναι εξαιρετικά ανθεκτικά στην αφυδάτωση, γι αυτό είναι εύκολη η επιβίωση και εξάπλωση. Οι προνύμφες είναι κοντές, βαρελόμορφες και διαθέτουν ένα αναπνευστικό σιφώνιο με ένα ζευγάρι θυσάνων, ενώ οι νύμφες μοιάζουν με κόμμα και το σώμα τους διακρίνεται από δύο μέρη τον κεφαλοθώρακα και την κοιλιά (Μπέτζιος, 1989). το μήκος της κεφαλής το οποίο είναι ίσο με το πλάτος στην 4^η προνυμφική ηλικία (Βογιατζόγλου - Σαμανίδου, 2011). Οι νύμφες του *Ae. albopictus* διακρίνονται από άλλες, καθώς τα τελικά προσαρτήματα που είναι σαν κουπιά και είναι χρήσιμα στην κίνηση των νυμφών, διαφέρουν στο μέγεθος και στη μορφολογία (Darsie, 1999).

1.7.3 Συμπεριφορά σύζευξης στο *Aedes albopictus*

Τα αρσενικά του γένους *Aedes* σμηνουργούν κοντά στο έδαφος υπό την παρουσία κάποιου ξενιστή αυξάνοντας έτσι την πιθανότητα εύρεσης θηλυκού συντρόφου (Peyton, 1956- Klowden and Zwiebel, 2005). Δεν υπάρχει συγκεκριμένη εποχή σύζευξης, αλλά το *Ae. albopictus* είναι πιθανότερο να συζευχθεί σε περιόδους με αυξημένη βροχόπτωση εξασφαλίζοντας τη ταχύτερη ανάπτυξη των ωών (Clements, 1992). Η έναρξη της σύζευξης πραγματοποιείται κατά την πτήση και διαρκεί 5 έως 15 δευτερόλεπτα με μέση διάρκεια σύζευξης τα 8 δευτερόλεπτα (Gubler, 1948) (Εικόνα 4). Οι πρωτεΐνες του σπερματικού υγρού αποτρέπουν την επανασύζευξη του θηλυκού με κάποιο άλλο αρσενικό και προκαλούν αλλαγές στην συμπεριφορά και τη φυσιολογία του, συμπεριλαμβανομένης της διέγερσης της ωογένεσης και της αυξημένης επιβίωσης του, ενώ η διάρκεια σύζευξης επηρεάζει το μέγεθος γεύματος αίματος που θα ακολουθήσει (Ethan et al., 2019 & Klowden, 1979). Όπως και στη πλειονότητα των αρσενικών εντόμων, τα αρσενικά του *Ae. albopictus* είναι πολυγαμικά (συζευγνύονται με πολλά θηλυκά), καθώς διαθέτουν υψηλά αποθέματα σπέρματος, συζευγνύονται γρήγορα και μπορούν να συναντούν πολυάριθμα θηλυκά στα σημεία σίτισης, ανάπαυσης ή φωτοκίας (Clements, 1992). Ένα αρσενικό θα επιχειρήσει όσο το δυνατόν περισσότερες συζεύξεις παρόλο που οι επαναλαμβανόμενες συζεύξεις εξαντλούν τα αποθέματα σπέρματος μεταφέροντας μειωμένα επίπεδα πρωτεϊνών σπερματικού υγρού (SPF), μειώνοντας τη γονιμότητα των θηλυκών και περιορίζοντας την ικανότητα τους να αποτρέψουν μια πιθανή

επανασύζευξη (Hardling, 2008). Εργαστηριακές μελέτες έδειξαν ότι ένα αρσενικό είναι ικανό να συζευχθεί με έως και 20 θηλυκά κατά τη διάρκεια της ζωής του (Boyer et al., 2011). Τα θηλυκά του γένους *Aedes* απαιτούν μόνο μία σύζευξη προκειμένου να ολοκληρωθεί η μεταφορά του σπέρματος, καθιστώντας τα μονοανδρικά. Ωστόσο έρευνες έχει βρεθεί ότι τα θηλυκά μπορούν να συζευχθούν έως και τέσσερις φορές κατά την διάρκεια της ζωής τους (Carvalho et al., 2018).



Εικόνα 4 Σύζευξη του *Ae. albopictus*

1.7.4 Συμπεριφορά θηλυκών μετά τη σύζευξη

Τα θηλυκά το *Ae. albopictus* είναι αιμομυζητικά και απαιτούν κατανάλωση αίματος για την ανάπτυξη των ωών, μετά τη σύζευξη. Μόλις ολοκληρωθεί η γονιμοποίηση τα θηλυκά ξεκινούν την αναζήτηση ξενιστή ώστε να λάβουν ένα γεύμα αίματος και να ολοκληρώσουν την ωογένεση εξασφαλίζοντας τις απαραίτητες πρωτεΐνες (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011). Τα θηλυκά του *Ae. albopictus* είναι ικανά να λάβουν το πρώτο τους γεύμα αίματος περίπου μόλις δύο ημέρες μετά την έξοδό τους. Είναι επιθετικά και τσιμπούν τους ανθρώπους στα εκτεθειμένα σημεία του δέρματος, ιδιαίτερα γύρω από τους αστραγάλους και τα γόνατα, κυρίως κατά τη διάρκεια της ημέρας, με δύο κορυφαίες περιόδους δραστηριότητας: το πρωί, από τις 06:00 έως τις 10:00, και το απόγευμα, από τις 16:00 έως τις 22:00. Παρ' όλα αυτά, σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να αναζητήσουν ξενιστές και κατά τη διάρκεια της νύχτας, ενώ η

μέγιστη δραστηριότητα παρατηρείται κυρίως το πρωί 06:00 με 08:00 και το απόγευμα 16:00 με 18:00. Επιπλέον, τα κουνούπια του είδους *Ae. albopictus* θεωρούνται εξωδίαιτα, αφού προτιμούν να τσιμπούν σε εξωτερικούς χώρους (Hawley 1988). Η προσέλκυση των θηλυκών επηρεάζεται από παράγοντες όπως το φύλο, η ηλικία, η φυλή, ο ρουχισμός, το μικροκλίμα του περιβάλλοντος και άλλες αδιευκρίνιστες παραμέτρους που σχετίζονται με κάθε άτομο ξεχωριστά. Τα θηλυκά ‘επιτίθενται’ έντονα στους ανθρώπους, προσελκυσόμενα από το διοξείδιο του άνθρακα, την υγρασία, διάφορες οργανικές ενώσεις και οπτικά ερεθίσματα όπως η κίνηση (Estrada - Franco and Craig, 1995). Για να πραγματοποιηθεί ένα γεύμα αίματος τα θηλυκά αξιοποιούν οπτικά, θερμικά και οσφρητικά ερεθίσματα ώστε να εντοπίσουν τους ξενιστές. Το οσφρητικό ερέθισμα είναι απαραίτητο κατά την προσέγγιση ενός ξενιστή, ενώ το οπτικό για τον προσανατολισμό του θηλυκού κατά τη διάρκεια της πτήσης (Rueda, 2008). Η συμπεριφορά των θηλυκών μετά τη σύζευξη έχει σημαντικές συνέπειες για τους πληθυσμούς των κουνουπιών για την μετάδοση ασθενειών. Η έκφραση πολλών γονιδίων σχετίζεται με τη προετοιμασία της αναπαραγωγικής οδού για την ανάπτυξη ωαρίων, τη προστασία του θηλυκού από βακτηριακές λοιμώξεις και την επεξεργασία του γεύματος αίματος. Η ταυτοποίηση γονιδίων που ανταποκρίνονται στη σύζευξη μπορεί να συμβάλει στην ανάπτυξη εργαλείων που στοχεύουν στην πρόληψη της μετάδοσης ασθενειών (Alfonso- Parra et al., 2016). Τα ωά των κουνουπιών γονιμοποιούνται λίγο πριν αποθεθούν. Το σπέρμα που βρίσκεται αποθηκευμένο στη σπερματοθήκη εισέρχεται σε κάθε ένα από τα πλήρως ανεπτυγμένα ωά (ωοκύτη) μέσω του σπερματοφόρου αγωγού. Μετά την ωοτοκία, στο ωό λαμβάνει χώρα η φάση της καρυογαμίας και της ανάπτυξης του εμβρύου (Oliva, 2014). Το θηλυκό κουνούπι τίγρης όπως και άλλα είδη του γένους *Aedes*, ωοτοκούν μεμονωμένα τα ωά. Τα αυγά αποθέτονται σε υγρά υποστρώματα ακριβώς πάνω από την επιφάνεια του νερού. Σε αντίθεση με τα αυγά που τοποθετούνται απευθείας στην επιφάνεια του νερού, τα ωά του *Ae. albopictus* σύντομα γίνονται ανθεκτικά στην ξηρασία και μπορούν να παραμείνουν βιώσιμα για πολλούς μήνες, καθυστερώντας την εκκόλαψη τους μέχρι να βυθιστούν στο νερό (Mullen and Durden, 2019). Η κατάκλιση των ωών από νερό αποτελεί το κύριο έναυσμα της εκκόλαψης, ωστόσο κάτω από ορισμένες περιβαλλοντικές συνθήκες το θηλυκό δύναται να ωοτοκήσει διαπαύοντα αυγά καθυστερώντας την εκκόλαψη. Ο αριθμός των ωών που θα αποθέσει το θηλυκό επηρεάζεται από την ηλικία του, το σωματικό του βάρος και κυρίως από τη ποσότητα αίματος που έχει καταναλώσει (Estada - Franco and Craig, 1995). Η παρουσία

αρσενικών συνοδών εκκριμάτων κατά τη σύζευξη αποδεικνύεται ότι αυξάνει την πρόσληψη αίματος στο ενήλικο θηλυκό *Aedes (stegomyia) aegypti* (Linnaeus, 1762) και *Culex pipiens fatigans*, καθώς θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά των οποίων οι βοηθητικοί αδένες αφαιρέθηκαν χειρουργικά κατανάλωσαν σημαντικά λιγότερο αίμα. Ωστόσο, θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά των οποίων τα σπερματοδόχα κυστίδια αφαιρέθηκαν χειρουργικά δεν παρουσίασαν δια(φορές στην ποσότητα αίματος που κατανάλωσαν (Adlakha and Pillai, 1976). Μια χημική μέθοδος προσδιορισμού της ποσότητας του αίματος χρησιμοποιήθηκε για να ελεγχθεί ο ισχυρισμός των Adlakha και Pillai (1976) ότι η γονιμοποίηση εμπλέκεται στη ρύθμιση του μεγέθους του γεύματος αίματος που προσλαμβάνεται από τα κουνούπια. Η σπερματέγχυση δεν φάνηκε να επηρεάζει τη ποσότητα του αίματος που προσλαμβάνει το *Ae. aegypti*. Παρόλο που η λήψη αίματος φαίνεται να είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγική επιτυχία του είδους σε έρευνα των Estada - Franco and Craig (1995) καταγράφηκε αυτογενής δραστηριότητα σε εκτροφές του *Ae. albopictus* δηλαδή τα ωά ωρίμασαν χωρίς την πηγή πρωτεΐνης από γεύμα αίματος, η αυτογένεια παρατηρήθηκε σε ένα μικρό ποσοστό 5% ωστόσο έχει οικολογικό αντίκτυπο αφού έτσι δύναται να εξασφαλιστεί η διαίωσιση του είδους χωρίς την παρουσία ξενιστή.

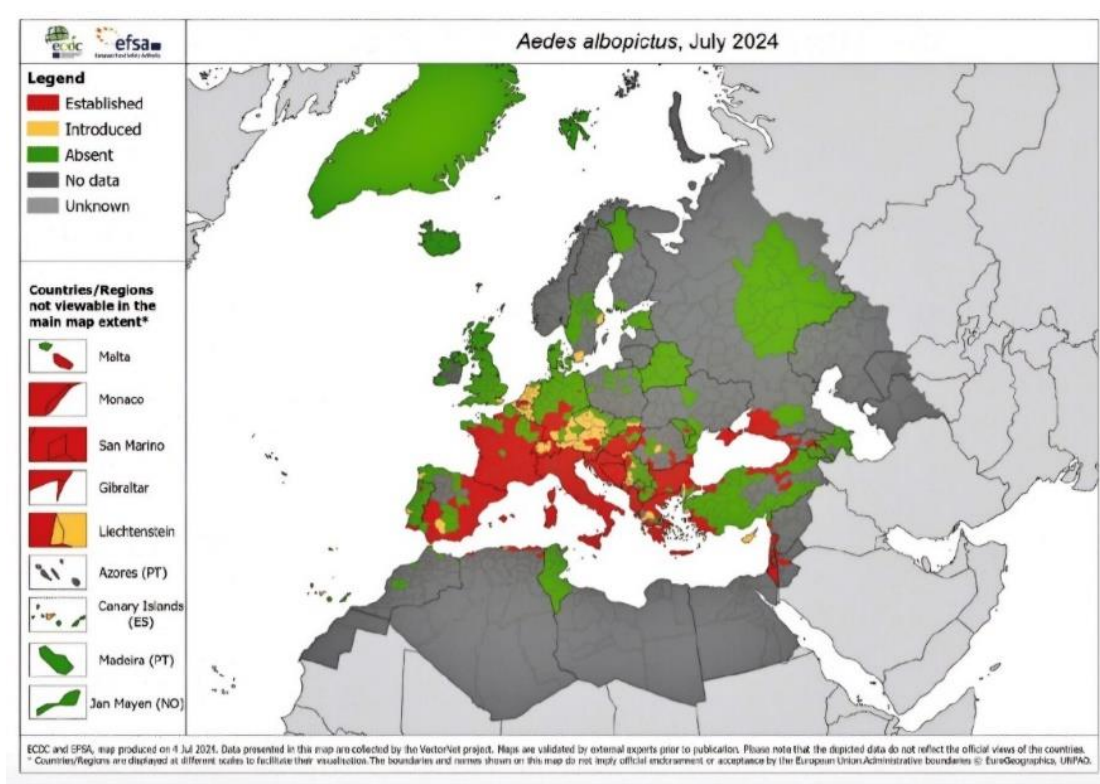
1.7.5 Διασπορά

Το Ασιατικό κουνούπι τίγρης πρωτοεμφανίστηκε στη Νοτιοανατολική Ασία και σήμερα έχει βρεθεί σε κάθε ήπειρο εκτός από την Ανταρκτική (Kraemer, 2015). Η εξάπλωσή του πραγματοποιήθηκε αρχικά στα νησιά του Ινδικού και του Ειρηνικού Ωκεανού (Delatte et al., 2009), ενώ κατά την διάρκεια της δεκαετίας του 80 επεκτάθηκε στην Ευρώπη, τις Ηνωμένες Πολιτείες και τη Βραζιλία.

Στην Ευρώπη το *Ae. albopictus* εντοπίζεται στις νοτιότερες περιοχές, αλλά οι συνεχώς αυξανόμενες θερμοκρασίες λόγω της κλιματικής αλλαγής προβλέπεται να επεκτείνουν το δυναμικό του εύρος βορειότερα (Cunze et al., 2016). Η πρώτη εμφάνιση του είδους στην Ευρώπη χρονολογείται το 1979 στην Αλβανία και αργότερα (1990) στη Βόρεια Ιταλία, όπου εγκαταστάθηκε με επιτυχία. Σήμερα, εντοπίζονται σταθεροί πληθυσμοί σε όλες τις χώρες της Μεσογείου (Medlock, 2006). Στην Ελλάδα το *Ae. albopictus* εντοπίστηκε πρώτη φορά το 2003-2004 στην Κέρκυρα και στην Θεσπρωτία, από τότε έχει εντοπιστεί και σε άλλες περιοχές όπως στην Κεντρική Μακεδονία, την

Πελοπόννησο και την Αττική (Βογιατζόγλου-Σαμανίδου, 2011 & Giatropoulos et al., 2012a & Giatropoulos et al., 2012b). Το συγκεκριμένο είδος επεκτάθηκε πολύ γρήγορα στη χώρα και πλέον ενδημεί σε όλη την ηπειρωτική και νησιωτική Ελλάδα (Badieritakis et al., 2017).

Το *Ae. albopictus* καταγράφεται στον αστικό ιστό των περισσότερων πόλεων της χώρας μας. Η παραλλακτικότητα στα φυσικά περιβάλλοντα είναι υπεύθυνη για τις διακυμάνσεις στη κατανομή, τη δυναμική και τη βιολογία του είδους, ενώ η ικανότητα του ως διαβιβαστής επηρεάζεται αρκετά από τις συνθήκες του περιβάλλοντος (Culbert, 2019). Οι τροπικές και υποτροπικές περιοχές, όπου το κλίμα είναι ζεστό και υγρό, καθιστούν κατάλληλη την επιβίωση του. Όταν το είδος μετακινηθεί από μία τροπική περιοχή σε μια εύκρατη, απαιτείται χρόνος προσαρμογής στο καινούργιο περιβάλλον, κυρίως για την επιβίωση στους χειμερινούς μήνες που εισέρχεται σε διάπαυση (Kress, 2016). Τα τελευταία χρόνια με την αστικοποίηση, το φυσικό περιβάλλον έχει αλλάξει σημαντικά και το παγκόσμιο εμπόριο έχει αυξηθεί συντελώντας στην δημιουργία κατάλληλων οικοτόπων για την ανάπτυξη και διασπορά του είδους (Jia, 2017). Η τωρινή διασπορά του *Ae. albopictus* στην Ευρώπη φαίνεται στην Εικόνα 5.



Εικόνα 5 Η διασπορά του *Ae. albopictus* τον Ιούλιο του 2024 στην Ευρώπη και κοντινές περιοχές. Με κόκκινο χρώμα φαίνονται οι χώρες που έχει εγκατασταθεί, με κίτρινο χρώμα οι χώρες που έχει αναγνωριστεί και με πράσινο οι χώρες με απουσία του είδους (ecdc, 2024)

1.8 Ασθένειες μεταδιδόμενες με διαβιβαστή το *Aedes albopictus*

Η δημόσια Υγεία απειλείται σοβαρά από την παγκόσμια εξάπλωση των κουνουπιών και την ικανότητά τους να μεταδίδουν ασθένειες, καθώς οι ασθένειες που προκαλούν γίνονται θανατηφόρες και παρατηρούνται επιδημίες ή και πανδημίες (Μπέτζιος, 1989). Νοσήματα που μεταδίδονται από διαβιβαστές είναι οι ασθένειες που προκαλούνται από παθογόνα και μεταδίδονται μέσω διαβιβαστών. Η αιμομυζητική συμπεριφορά των κουνουπιών τα καθιστά ικανά να γίνουν δυνητικοί διαβιβαστές παθογόνων. Ένα παθογόνο προσλαμβάνεται από το κουνούπι όταν λαμβάνει γεύμα αίματος από τους ξενιστές που φέρουν το παθογόνο και έτσι μεταφέρεται μέσω του σιέλου στο αίμα των νέων ξενιστών (Σαββοπούλου-Σουλτάνη, 2011; Laporta et al., 2023).. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο οργανισμό υγείας πάνω από το μισό του παγκόσμιου πληθυσμού είναι εκτεθειμένο στον κίνδυνο πιθανής προσβολής από ασθένεια που μεταδίδεται μέσω των κουνουπιών (WHO, 2023b). Παρά το γεγονός ότι αυτές οι ασθένειες πλήττουν περιοχές με θερμό και τροπικό κλίμα, η αυξανόμενη ικανότητα των κουνουπιών να προσαρμόζονται σε καινούργια κλίματα (ιδίως του *Ae. albopictus*), συνδυαστικά με την κλιματική αλλαγή συντελεί στην επέκταση των πληθυσμών των κουνουπιών άρα και στις ασθένειες που μεταδίδονται μέσω αυτών (Tandina et al., 2018). Ακολουθεί αναφορά στις σοβαρότερες ασθένειες που μεταδίδονται μέσω των κουνουπιών *Ae. albopictus*.

1.8.1 Δάγκειος πυρετός

Ο Δάγκειος αιμορραγικός πυρετός είναι η πιο σοβαρή ιογενής νόσος του ανθρώπου ανά τον κόσμο που μεταδίδεται με αρθρόποδα και συγκεκριμένα με το τσίμπημα μολυσμένων κουνουπιών του γένους *Aedes*. Υπάρχουν τέσσερις διαφορετικοί ορότυποι του ιού : DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4, ο καθένας από αυτούς είναι ικανός να προκαλέσει επιδημία και μπορεί να μεταδοθεί στους απογόνους των μολυσμένων κουνουπιών μέσω των ωών (transovarial transmission) (WHO, 1999 & Shroyer, 1986). Επίσης ο Δάγκειος πυρετός αναφέρεται ως ο πυρετός των σπασμένων οστών, διότι προκαλεί στους ανθρώπους τόσο οξύ πόνο, που τους δημιουργεί την αίσθηση ότι σπάνε τα κόκαλα τους (ΕΟΔΥ, 2010). Τα κυριότερα συμπτώματα του Δάγκειου πυρετού είναι

ο υψηλός πυρετός, ο οξύς πονοκέφαλος, ο πόνος στην μέση και τις αρθρώσεις, η ναυτία, ο εμετός και τα εξανθήματα, η εκδήλωση των συμπτωμάτων είναι πιο ήπια στα μικρά παιδιά από ότι στους ενήλικες. Δεν υπάρχει ειδική θεραπεία ούτε εμβόλιο για τον Δάγκειο πυρετό μόνο υποστηρικτική αντιμετώπιση των συμπτωμάτων (π.χ. αναπλήρωση υγρών) (ΕΟΔΥ, 2010).

Ένα κουνούπι μολύνεται μετά το τσίμπημα ενός προσβεβλημένου ατόμου και είναι ικανό να μεταδίδει τον ιό σε υγιή άτομα, μέσω του τσιμπήματος ακόμα και μια εβδομάδα μετά. Ο Δάγκειος πυρετός δεν έχει ανθρωπονοτική μετάδοση, δηλαδή η μετάδοση του απευθείας από άτομο σε άτομο δεν είναι εφικτή (Βογιατζόγλου – Σαμανίδου, 2011). Επίσης, η μετάδοση μπορεί να γίνει μέσω μεταγίσεων μολυσμένου αίματος ή μεταμόσχευσης οργάνων ή ιστών που προέρχονται από μολυσμένα άτομα, αλλά και μετά από επαγγελματική έκθεση σε Μονάδες Υγείας (π.χ. από τραυματισμούς με βελόνες). Έχουν αναφερθεί, επίσης, περιπτώσεις κάθετης μετάδοσης (από τη μητέρα στο έμβρυο ή στο νεογνό κατά τον τοκετό).

Ο Δάγκειος πυρετός είναι ενδημικός στην Αφρική, στην Ασία, στην Αυστραλία και στην νότια Αμερική, ενώ λόγω της ταχύτατης αύξησης μετάδοσης του, εγκυμονεί ο κίνδυνος της εν δυνάμει επιστροφής της ενεργού μετάδοσης σε μη ενδημικές χώρες (Malavige et al., 2004). Από το 2010 και ύστερα έχουν καταγραφεί σποραδικά εισαγόμενα κρούσματα σε Ευρωπαϊκές χώρες, όπως η Γαλλία, η Ιταλία και η Ισπανία (ECDC, 2024). Σύμφωνα με τον παγκόσμιο οργανισμό υγείας εκτιμάται ότι 2,5 δισεκατομμύρια άνθρωποι (δηλαδή το 40% του ανθρώπινου πληθυσμού) κινδυνεύουν με μόλυνση κατοικούν σε ενδημικές χώρες κάποιων από των τεσσάρων ορότυπων του ιού (WHO, 2013). Το καλοκαίρι του 2024 καταγράφηκε επιδημία δάγκειου πυρετού στην κεντρική Ιταλία. Η επιδημία χαρακτηρίστηκε από την τοπική μετάδοση του ιού, χωρίς ιστορικό ταξιδιού των ασθενών σε ενδημικές περιοχές. Αυτό υποδηλώνει την παρουσία και δραστηριότητα του ιού στην περιοχή, πιθανώς λόγω της παρουσίας του κουνουπιού *Ae. albopictus* (Sacco et al., 2024).

Σύμφωνα με τον Cardamatis (1929) στην Ελλάδα καταγράφηκε επιδημία δάγκειου πυρετού το 1927 -1 928 με περίπου ένα εκατομμύριο κρούσματα και 1.533 θανάτους, ενώ περίπου το 90% του πληθυσμού της Αθήνας είχε προσβληθεί από τον ιό (Rosen, 1986). Πραγματοποιήθηκαν επιτυχημένα προγράμματα καταπολέμησης με στόχο το

κουνούπι – φορέα (*Aedes aegypti*) εκριζώνοντας τη νόσο από την Ευρώπη, και εξαλείφοντας τα κρούσματα Δάγκειου πυρετού στην Ελλάδα (Σαββοπούλου, 2011). Πλέον τα κρούσματα στην Ελλάδα είναι μόνο εισαγόμενα και ο Δάγκειος πυρετός είναι εκριζωμένος (WHO, 2023a)

1.8.2 Ιός Chikungunya

Η νόσος Chikungunya είναι ιογενής νόσος που μεταδίδεται στον άνθρωπο μέσω μολυσμένων κουνουπιών. Ο ιός Chikungunya (Chikungunya fever) ανήκει στην κατηγορία των αιμορραγικών πυρετών, στο γένος Alphavirus και προκαλεί ιογενή λοίμωξη (ECDC, 2007). Στη γλώσσα των Σουαχίλι Chikungunya σημαίνει “αυτός που βαδίζει σκυφτός”, γι’ αυτό ο ιός πήρε το όνομα του από το χαρακτηριστικό περπάτημα των πασχόντων.

Τα κουνούπια των ειδών *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus* είναι οι βασικοί διαβιβαστές που μεταδίδουν τον ιό και είναι ικανά να προκαλέσουν επιδημία. Ένα κουνούπι μολύνεται από τον ιό κατά τη διάρκεια λήψης αίματος από ασθενή σε φάση ιαιμίας και γίνεται μολυσματικό όταν ο ιός επώαση για 10 ημέρες (ΕΟΔΥ, 2021c)

Τα συμπτώματα εκδηλώνονται μετά το πέρας 2-4 ημερών επώασης και περιλαμβάνουν αδιαθεσία, πυρετό, ρίγος, πονοκέφαλο, και πόνο σε πολλές αρθρώσεις του σώματος. Γενικά τα συμπτώματα είναι ήπια και το 3 – 28% των ασθενών είναι ασυμπτωματικοί. Σπάνια ο ιός Chikungunya οδηγεί στον θάνατο, κυρίως όταν συνδυάζεται με κάποιο προϋπάρχον πρόβλημα υγείας (WHO, 2022)

Για πρώτη φορά περιεγράφηκε στην Τανζανία το 1952 (Ross, 1956) . Αναφέρονται εκατοντάδες χιλιάδες ανθρώπους ανά τον κόσμο να νοσούν κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του ‘60 (Σαββοπούλου - Σουλτάνη, 2011). Στην Αφρική, οι πίθηκοι, ως πρωτεύοντα θηλαστικά, μπορούν να αποτελέσουν ξενιστές του ιού, μεταδίδοντας τον αργότερα στους ανθρώπους, μέσω κουνουπιού φορέα. Επιπλέον, στη φυσική μετάδοση του ιού, μπορεί να εμπλέκονται και άλλα είδη κουνουπιών πέρα από εκείνα του γένους *Aedes* (Becker et al., 2010). Σημαντικές επιδημίες από τον ιό σημειώθηκαν το 2005 στα νησιά La Reunion (γαλλικό νησί στον Ινδικό Ωκεανό), όπου μολύνθηκαν πάνω από 300.000 άνθρωποι, και το 2006-2007 στην Ινδία, με περισσότερα από 2 εκατομμύρια κρούσματα του ιού (Becker et al., 2010). Δεν υπάρχει ειδική θεραπεία για

την συγκεκριμένη νόσο, οι ασθενείς αντιμετωπίζονται σαν κρούσματα Δάγκειου πυρετού.

1.8.3 Φιλαριάσεις

Οι φιλαριάσεις οφείλονται σε νηματώδεις σκώληκες. Υπάρχουν δύο κατηγορίες φιλαριάσεων, η λυμφατική φιλαρίαση και οι διροφιλαριάσεις.

Η λυμφατική φιλαρίαση είναι η κύρια ενδημική και παρασιτική νόσος που προκαλείται από τους παρασιτικούς νηματώδεις *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* και *Brugia timori*. Το κουνούπι λαμβάνει τις μικροφιλάριας του παρασίτου όταν τρέφεται με το αίμα ενός ξενιστή που είναι μολυσμένος. Λίγες ώρες μετά την είσοδό τους στο σώμα των κουνουπιών, οι μικροφιλάριας μετακινούνται από το πεπτικό σύστημα, στο οποίο βρίσκονται αρχικά, προς τους μυς που χρησιμοποιούνται για την πτήση ή προς τον λιπώδη ιστό. Ο άνθρωπος αποτελεί τον μόνο κύριο ξενιστή. Η λυμφατική φιλαρίαση παρατηρείται στην τροπική και βόρεια Αφρική, στη δυτική Ινδία, στη νότια Αμερική και σε νησιά του Ειρηνικού (Σαββοπούλου- Σουλτάνη, 2011). Υπάρχει πιθανότητα να μολυνθεί ένα παιδί αλλά η εκδήλωση των συμπτωμάτων, όπως είναι το οίδημα των άκρων, να γίνει ορατή όταν μεγαλώσει και να προκληθεί αναπηρία.

Οι διροφιλαριάσεις στην Ευρώπη οφείλονται στα είδη νηματωδών σκωλήκων *Dirofilaria immitis* και *D. repens*, τα οποία προσβάλλουν τα σκυλιά, στις γάτες και σε κάποια θηλαστικά. Το κουνούπι *Ae. albopictus* είναι γνωστό ότι μεταφέρει σκώληκες του γένους *Dirofilaria*, οι οποίοι είναι παράσιτα που μεταδίδονται μέσω τσιμπημάτων κουνουπιών και μπορούν να μολύνουν κυρίως τους σκύλους, αλλά και τον άνθρωπο (Medlock et al. 2012). Αυτοί οι νηματώδεις υπάρχουν φυσιολογικά στο πεπτικό σύστημα των σκύλων και τον γατών, όχι όμως στο κυκλοφορικό σύστημα των ανθρώπων, συνεπώς η μόλυνση τους δεν οδηγεί στην εκδήλωση συμπτωμάτων (Pampiglione and Rivasi, 2001). Παρ' όλο που εντοπίζονται ελάχιστα κρούσματα στη νότια Ευρώπη, η διροφιλαρίαση του σκύλου είναι ενδημική (Σαββοπούλου- Σουλτάνη, 2011). Τις τελευταίες δεκαετίες έχει καταγραφεί μετάδοση των παρασίτων στον άνθρωπο από πληθυσμούς *Ae. albopictus* στην Ιταλία (Pampiglione and Rivasi, 2001).

1.8.4 Ιός του Δυτικού Νείλου

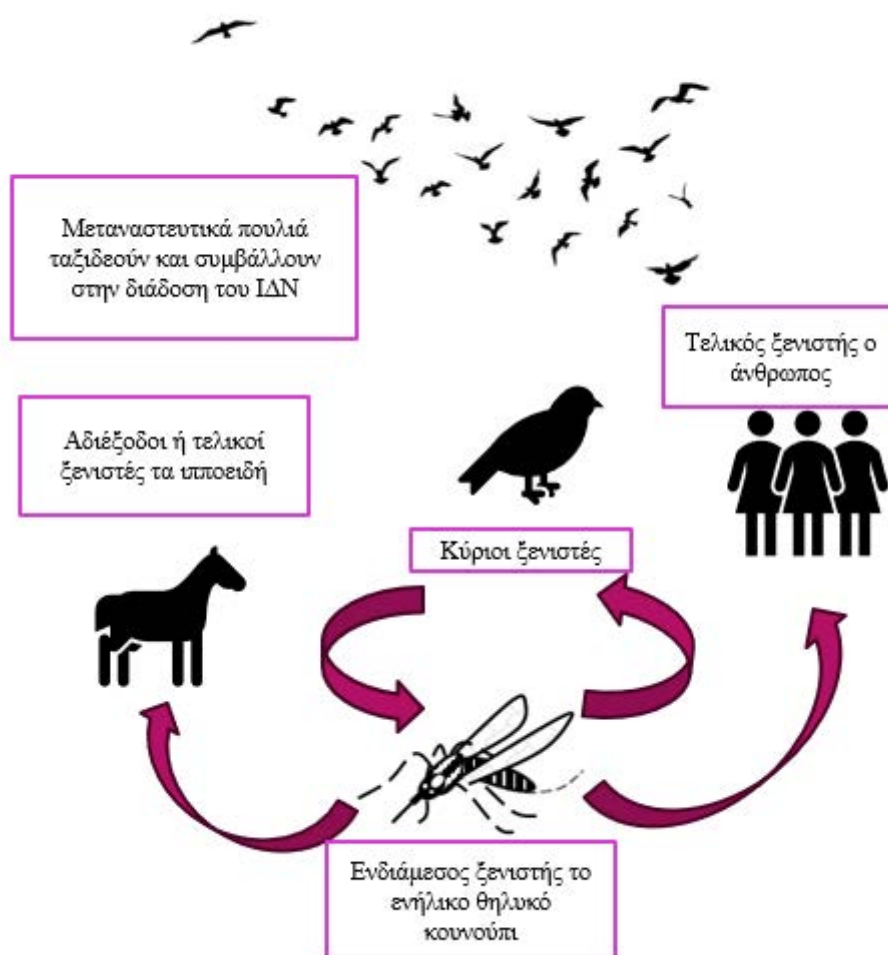
Ο ιός του δυτικού Νείλου (ΙΔΝ) πήρε το όνομά του από την επαρχία του Δυτικού Νείλου, όπου ταυτοποιήθηκε πρώτη φορά, στην Ουγκάντα το 1937. Αυτή είναι μια ασθένεια που μεταδίδεται κυρίως μεταξύ των πτηνών και των κουνουπιών *Culex*, αν και μπορεί να εμπλακούν και άλλα κουνούπια. Το *Ae. albopictus* αποτελεί δευτερεύον διαβιβαστή της μετάδοσης του ιού του δυτικού Νείλου. Τα τελευταία χρόνια αυξάνονται έρευνες που σχετίζουν την υψηλή εμφάνιση του ΙΔΝ με την παρουσία του *Ae. albopictus*, γι αυτό αναφέρεται μαζί με τις ασθένειες που είναι ενδιάμεσος διαβιβαστής το *Ae. albopictus* (Rothman, 2021).

Τα πτηνά αποτελούν την κύρια πηγή του ιού. Ένα πτηνό μολυσμένο από τον ΙΔΝ δέχεται το νύγμα ενός θηλυκού κουνουπιού, μέσω αυτού του γεύματος αίματος ο ιός περνά στον οργανισμό του κουνουπιού και επωάζεται στο γαστρεντερικό του σύστημα. Πλέον το μολυσμένο κουνούπι τσιμπά ένα άλλο πτηνό στο οποίο μέσω του σάλιου του μεταδίδει τον ιό, επίσης το μολυσμένο κουνούπι μεταδίδει τον ιό σε ανθρώπους και ζώα (πχ άλογα) (Colpitts, 2012) (Εικόνα 6). Τα μεταναστευτικά πουλιά είναι υπεύθυνα για την μεταφορά του ιού από ενδημικές χώρες όπως η Αφρική σε άλλες βορειότερες (Ευρώπη) (Lundstrom, 1999). Ωστόσο, υπάρχουν μηχανισμοί που εμποδίζουν τον ιό να γίνει ενδημικός στην Ευρώπη και δεν υπάρχει συσχέτιση μεταξύ της θνησιμότητας των πτηνών και μολύνσεων από τον ιό. Έτσι, τα πτηνά της Ευρώπης πιθανώς έχουν προσαρμοστεί ανοσολογικά στους περισσότερους από τους τύπους του ΙΔΝ και συμβάλλουν στον περιορισμό της εξάπλωσης του (Buckley et al., 2003). Το κουνούπι *Ae. albopictus* δεν εμπλέκεται στον κύκλο του ιού, αλλά η συγκεκριμένη ασθένεια είναι σπουδαία λόγω των επιδημιών που καταγράφηκαν στην Βόρεια Ελλάδα το 2010-2014 (Danis et al., 2011, Papa et al., 2013), πολλά κρούσματα της λοίμωξης καταγράφονται τους τελευταίους καλοκαιρινούς μήνες την περίοδο 2017-2023. Πλέον υπάρχουν καταγραφές του ΙΔΝ σε όλες τις περιφέρειες της Ελλάδας, γεγονός που σημαίνει ότι ο ΙΔΝ έχει εγκατασταθεί στην χώρα μας (ΕΟΔΥ, 2023).

Συνήθως, το 75% των κρουσμάτων είναι ασυμπτωματικό, το 20% εκδηλώνει συμπτώματα πυρετού, εμετού, πονοκεφάλου, εξανθημάτων και μόλις το 1% εκδηλώνει εγκεφαλίτιδα και μηνιγγίτιδα που μπορεί να οδηγήσει σε θάνατο ιδίως σε άτομα μεγάλης ηλικίας με υποκείμενα νοσήματα (Mostashari et al., 2001). Για την

συγκεκριμένη λοίμωξη δεν υπάρχει ειδική θεραπεία ούτε διαθέσιμο εμβόλιο και συνεπώς η αντιμετώπισή της βασίζεται ως επί το πλείστον (ΕΟΔΥ, 2023).

Κύκλος μετάδοσης του ΙΑΝ



Εικόνα 6: Ο βιολογικός κύκλος μετάδοσης του ΙΑΝ.

1.9 Αντιμετώπιση των κουνουπιών

Η παρουσία των κουνουπιών απασχόλησε ανέκαθεν τους ανθρώπους, οι οποίοι έψαχναν τρόπους να απαλλαγούν από αυτά και να τα αντιμετωπίσουν. Στην αρχή του 20^{ου} αιώνα έγινε προσπάθεια εντατικοποίησης της αντιμετώπισης των κουνουπιών με την αποξήρανση ελωδών εκτάσεων, επιπάσεις κάθε έλους με το μοναδικό εντομοκτόνο «πράσινο των Παρισίων», το οποίο ήταν ένα διπλό άλας αρσενικού χαλκού και θείο.

Επίσης χρήση προνυμφοφάγων ψαριών *Gambusia* spp. σε υδάτινα ενδιαιτήματα. Αργότερα ένα οργανοχλωριομένο εντομοκτόνο το DDT συνέβαλε στην εξάλειψη ασθενειών που μεταδίδονται με διαβιβαστές αλλά η αλόγιστη χρήση του επέφερε καταστροφικές επιπτώσεις στο περιβάλλον και τελικά αποφασίστηκε η απαγόρευση της χρήσης του. Γι' αυτό σήμερα η διαχείριση των κουνουπιών έχει στόχο την προστασία της υγείας των ανθρώπων και την μικρότερη δυνατή επιβάρυνση στο περιβάλλον. Τα τελευταία χρόνια η ολοκληρωμένη διαχείριση των κουνουπιών στηρίζεται σε συνδυασμό μέτρων αντί να εστιάζει μόνο σε μία μέθοδο καταπολέμησης, αποσκοπώντας στην μέγιστη αποτελεσματικότητα και στοχεύοντας στη μείωση των πληθυσμών στόχων. Οι βασικοί μέθοδοι καταπολέμησης εστιάζουν κυρίως στην εξόντωση των προνυμφών, και μπορεί να είναι φυσικοί, βιολογικοί ή να περιλαμβάνουν τη χρήση κάποιου χημικού σκευάσματος (Κολιόπουλος 2011).

1.9.1 Εξάλειψη εστιών αναπαραγωγής

Η εξάλειψη των εστιών αναπαραγωγής περιορίζει την ικανότητά των κουνουπιών να πολλαπλασιάζονται μειώνοντας την πυκνότητα του πληθυσμού τους. Αυτό το μέτρο προσφέρει μακροχρόνια οφέλη, καθώς ελαχιστοποιεί την δυνατότητα πολλαπλασιασμού των κουνουπιών και κατά συνέπεια την ευχέρεια ανάπτυξης πληθυσμών. Η αντιμετώπιση ειδών διαβιβαστών που μπορούν να αναπτυχθούν σε μικρές κοιλότητες νερού, όπως το *Ae. albopictus* έχει αποδειχθεί ιδιαίτερα απαιτητική, συνεπώς ο σχολαστικός έλεγχος τόσο εντός όσο και γύρω από τα σπίτια κρίνεται απαραίτητος. Οι πιθανές εστίες θα πρέπει να αποστραγγίζονται ή να σφραγίζονται ώστε να αποτρέπεται η επιβίωση των προνυμφών (Γιατρόπουλος, 2014). Σε μέρη που η αποστράγγιση δεν είναι δυνατή, όπως δεξαμενές νερού και σιντριβάνια πρέπει να ανανεώνεται το νερό κάθε 5 μέρες για να αποφεύγεται η προνυμφική ανάπτυξη (Εμμανουήλ, 1999). Πιθανές εστίες για την ανήλικη ανάπτυξη μπορεί να αποτελέσουν: δοχεία που συγκεντρώνουν νερό από βροχή ή πότισμα, φρεάτια που έχουν βουλώσει, κοιλότητες με στάσιμο νερό σε δέντρα, λακκούβες στο έδαφος, ποτίστρες ζώων, πιατάκια κάτω από γλάστρες, καθώς και παλιά ελαστικά αυτοκινήτων. Πολλές εστίες βρίσκονται σε κατοικημένες περιοχές γι' αυτό είναι επιτακτική ανάγκη η ενημέρωση των πολιτών από αρμόδιους φορείς ώστε να εξαλειφθούν εστίες σε ιδιωτικούς χώρους. Κυρίως πρέπει να γίνεται άδειασμα όλων των δοχείων και των αντικειμένων που είναι

σε θέση να κατακρατήσουν νερό βροχής ή ποτίσματος. Ωστόσο, δεν είναι εφικτό να καταστραφούν όλες οι πιθανές εστίες, όπως για παράδειγμα οι ορυζώνες, οπότε είναι επιτακτική ανάγκη να χρησιμοποιηθούν και άλλες μέθοδοι όπως οι χημικοί ψεκασμοί.

1.9.2 Χημική αντιμετώπιση

1.9.2.1 Χημική αντιμετώπιση προνυμφών

Η χρήση εντομοκτόνων σκευασμάτων συνεχίζει να αποτελεί το πλέον διαδεδομένο μέσο αντιμετώπισης των πληθυσμών κουνουπιών διαβιβαστών παγκοσμίως. Από τα εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται, τα προνυμφοκτόνα θεωρούνται τα σημαντικότερα για την πρόληψη ασθενειών, καθώς στοχεύουν στα ανήλικα στάδια αποτρέποντας την εμφάνιση των θηλυκών που ευθύνονται για τη μετάδοση των παθογόνων. Παρά τη μεγάλη σημασία της προσέγγισης αυτής, σύμφωνα με το ισχύον νομοθετικό πλαίσιο της Ευρωπαϊκής Ένωσης που αφορά βιοκτόνα καθώς και λόγω της απαγόρευσης οργανοφωσφορικών σκευασμάτων όπως το temephos, η καταπολέμηση των προνυμφών βασίζεται σχεδόν αποκλειστικά σε δύο κύριες κατηγορίες βιοκτόνων. Τους ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων (Insect Growth Regulators) και τους μικροβιακούς παράγοντες ελέγχου (Bellini et al., 2014). Το Diflubenzuron (DFB) και ο *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (*Bti*) είναι τα πιο ευρέως εγκεκριμένα χρησιμοποιούμενα προνυμφοκτόνα σε κάθε κατηγορία αντίστοιχα, καθώς συνδυάζουν ορισμένα πολύ επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως είναι η υψηλή αποτελεσματικότητα κατά των προνυμφών και η πολύ χαμηλή τοξικότητα στα σπονδυλωτά. Το Diflubenzuron αναστέλλει τη βιοσύνθεση της χιτίνης παρεμποδίζοντας τη φυσιολογική έκδυση κατά την ανάπτυξη των ανήλικων σταδίων των κουνουπιών αποτρέποντας με τον τρόπο αυτό την εμφάνιση των ενηλίκων (Merzendorfer, 2012). Από την άλλη, το *Bti* παράγει τέσσερις διαφορετικές τοξίνες με εξειδικευμένη εντομοκτόνο δράση έναντι των προνυμφών των κουνουπιών. Οι τοξίνες αυτές προσδένονται σε συγκεκριμένες θέσεις-στόχους της κυτταρικής μεμβράνης του εντέρου απόδιοργανώνοντας την επιθηλιακή στιβάδα και αναστέλλοντας τη λήψης τροφής με συνέπεια το θάνατο των προνυμφών από ασιτία ή/και σηψαιμία (Merzendorfer, 2012. Vachon et al., 2012). Καθώς η κάθε τοξίνη δρα σε συγκεκριμένη θέση-στόχο, εκδηλώνεται συνεργισμός μεταξύ τους με συνέπεια την καθυστέρηση της εμφάνισης και εξέλιξης της ανθεκτικότητας (Cantón et al., 2011. Wirth et al., 2005).

1.9.2.2 Χημική αντιμετώπιση ενήλικων

Η χημική αντιμετώπιση των ενήλικων βασίζεται στη χρήση βιοκτόνων σκευασμάτων που στοχεύουν στην θανάτωση ή απώθηση των κουνουπιών. Ανάλογα με τον τρόπο εφαρμογής υπάρχουν τρεις κατηγορίες: 1) Υπολειμματικοί ψεκασμοί επιφανειών 2) ψεκασμοί χώρων και 3) Καπνισμοί εσωτερικών και εξωτερικών χώρων.

Οι ψεκασμοί με εντομοκτόνα που έχουν υπολειμματική δράση, γίνονται στις επιφάνειες που αναπαύονται και αναπαράγονται τα ενήλικα κουνούπια. Οι ψεκασμοί προηγούνται αυτών των προνυμφών και επαναλαμβάνονται το Φθινόπωρο πριν τα κουνούπια εισέλθουν σε διάπαυση και έτσι μειώνεται ο πληθυσμός που θα δώσει την πρώτη γενιά. Στην Ελλάδα χρησιμοποιούνται σκευάσματα με τις ακόλουθες δραστικές: permethrin, tetramethrin, d-tetramethrin, cypermethrin, piperonyl butoxide, deltamethrin, acetamiprid, cyphenothrin, prallethrin, etofenprox, alpha-cypermethrin και chrysanthemum cinerariaefolium (Εγκύκλιος, 2024; Κολιόπουλος, 2011).

Οι ψεκασμοί εσωτερικών και εξωτερικών χώρων θανατώνουν μόνο τα έντομα που έρχονται σε επαφή με το σκεύασμα κατά την διάρκεια ψεκασμού. Στους εσωτερικούς χώρους γίνεται χρήση ετοιμόχρηστων διαλυμάτων υπό πίεση (aerosols), τα οποία σχηματίζουν ένα νέφος. Τα σταγονίδια αιωρούνται για ένα διάστημα στον αέρα, λόγω μικρού μεγέθους και βάρους και προκαλούν τον θάνατο των εντόμων. Κυκλοφορούν στην αγορά διάφορα τέτοια σκευάσματα και προορίζονται για ερασιτεχνική χρήση (Κολιόπουλος, 2011).

Οι καπνισμοί γίνονται μέσω διάχυσης στον αέρα πτητικών βιοκτόνων ή αιθέριων ελαίων. Η χρήση τους γίνεται για να απωθούνται τα ενήλικα κουνούπια, παρά για θανάτωση, λόγω των μικρών συγκεντρώσεων βιοκτόνου που απελευθερώνεται και δεν είναι ικανό να σκοτώσει τα έντομα. Στην αγορά κυκλοφορούν τρεις μορφές σκευασμάτων, τα ηλεκτροθερμαινόμενα πλακίδια, οι καπνογόνες σπείρες και τα υγρά εντομοαπωθητικά χώρου. Οι καπνογόνες σπείρες χρησιμοποιούνται σε εξωτερικούς χώρους, ενώ τα ηλεκτροθερμαινόμενα πλακίδια και τα υγρά εντομοαπωθητικά σε εσωτερικούς χώρους (Κολιόπουλος, 2011).

1.9.3 Βιολογική καταπολέμηση ενήλικων κουνουπιών

Πολλά αρπακτικά αρθρόποδα (αράχνες, Odonata), αμφίβια (βάτραχοι), ερπετά (σαύρες) και θηλαστικά (νυχτερίδες) ανήκουν στους φυσικούς εχθρούς των ενήλικων

κουνουπιών. Ωστόσο, κανένα από αυτά δεν μπορεί να συνεισφέρει αποτελεσματικά στη μείωση των πληθυσμών.

1.9.4 Αντιμετώπιση κουνουπιών με μεθόδους που επάγουν στείρωση

1.9.4.1 Τεχνική εξαπόλυσης στερωμένων εντόμων

Από όλες τις πρακτικές καταπολέμησης που περιεγράφηκαν παραπάνω, η τεχνική εξαπόλυσης στερωμένων εντόμων (Sterile Insect Technique, SIT) είναι η πλέον διαδεδομένη. Η SIT είναι φιλική προς το περιβάλλον και υψηλής αποτελεσματικότητας και μπορεί να ενσωματωθεί στην ολοκληρωμένη διαχείριση, φορέων που βασίζεται στην εξάλειψη εστιών αναπαραγωγής και ανάπτυξης κουνουπιών και στις εφαρμογές εντομοκτόνων (Balatsos et al., 2021). Η τεχνική αυτή βασίζεται στη μαζική εκτροφή κουνουπιών στο εργαστήριο, τη στείρωση των αρσενικών και την απελευθέρωση τους στο περιβάλλον, για να συζευχθούν με άγρια θηλυκά, οδηγώντας σε παραγωγή μη βιώσιμων απογόνων και τη σταδιακή μείωση του πληθυσμού. Η μαζική εργαστηριακή εκτροφή πρέπει να αποδίδει μεγάλους αριθμούς εντόμων υψηλής αρμοστικότητάς, ικανών να ανταγωνίζονται τα άγρια αρσενικά στη φύση ακόμη και μετά το στρες της ακτινοβόλησης. Τα αρσενικά στερώνονται στο εργαστήριο με ιονίζουσα ακτινοβολία, στο στάδιο της νύμφης ή του ενηλίκου (Knippling, 1955). Για τη στείρωση των αρσενικών χρησιμοποιούνται συνήθως συστήματα ακτινοβόλησης ακτίνων γάμμα. Ωστόσο, λόγω του φόβου της τρομοκρατίας, ο έλεγχος των ραδιοϊσοτόπων έχει γίνει όλο και πιο αυστηρός, καθιστώντας όλο και πιο δύσκολη την αγορά, τη μεταφορά ή την επαναφόρτιση τους. Ως εκ τούτου, τα συστήματα ακτινοβόλησης με ακτίνες X χαμηλής ενέργειας αποτελούν μια καλή εναλλακτική λύση, καθώς παρουσιάζουν ορισμένα θετικά χαρακτηριστικά, όπως η εύκολη προσβασιμότητα, η ασυνεχής εκπομπή ακτινοβολίας, η χαμηλή βλαπτικότητα, η απλή λειτουργία και το χαμηλό κόστος.

Σε συνέχεια της ακτινοβόλησης, ακολουθεί διαρκής και συστηματική εξαπόλυση μεγάλου αριθμού στείρων ατόμων στην περιοχή στόχο. Σκοπός είναι να επιτευχθεί υψηλή συχνότητα σύζευξης μεταξύ στείρων αρσενικών και άγριων θηλυκών, με αποτέλεσμα να προκύψουν μη βιώσιμα αυγά και μακροπρόθεσμα η μείωση των πληθυσμών – στόχων κατά τις διαδοχικές γενιές (Calkins, 2005). Το γεγονός ότι αυτή

η εφαρμογή είναι απαλλαγμένη από εντομοκτόνα οδηγεί στην αυξημένη εφαρμογή του SIT παγκοσμίως (Enkerlin, 2005). Επιπλέον, δεδομένου ότι τα θηλυκά του *Ae. albopictus* είναι μονοανδρικά, η σύζευξη τους με στειρωμένα αρσενικά αναιρεί την αναπαραγωγική τους επιτυχία, καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του (Dunn, 2017). Ωστόσο το θηλυκό είναι ικανό να λαμβάνει γεύματα αίματος διατηρώντας τον κίνδυνο μετάδοσης ασθενειών υψηλό. Έχουν γίνει πολλές μελέτες, σχετικά με την εφαρμογή της τεχνικής SIT με χρήση της γ ακτινοβολίας για την αντιμετώπιση του *Ae. albopictus*, όχι όμως με τη χρήση ακτίνων X (Wang and Li, 2022).

Διάφορες δοκιμές μικρής κλίμακας έχουν διεξαχθεί για την πειραματική αξιολόγηση της SIT για τον έλεγχο της ελονοσίας σε πολλές χώρες στην Ευρώπη, τη Νοτιοανατολική Ασία, τη Λατινική Αμερική και την υποσαχάρια Αφρική. Οι απελευθερώσεις στέρων αρσενικών μείωσαν σημαντικά τη γονιμότητα πληθυσμών του *Ae. albopictus* σε πιλοτικές δοκιμές στην Ιταλία, την Ελλάδα (Balatsos et al., 2021) και τη Κίνα (Εικόνα 7). Ένα από τα κύρια πλεονεκτήματα της μεθόδου αποτελεί η εξειδίκευση της ως προς το είδος στόχο, καθώς δεν επιδρά σε άλλους οργανισμούς. Επομένως, είναι φιλική προς το περιβάλλον και έχει περιορισμένο αντίκτυπο στη βιοποικιλότητα και στα είδη εντόμων που δεν αποτελούν στόχο, όπως επικονιαστές και βιολογικοί εχθροί (Benedict et al., 2010). Ωστόσο οι μεγάλοι αριθμοί εξαπολυόμενων στειρωμένων αρσενικών που απαιτούνται για την αποτελεσματικότητα της μεθόδου, απαιτούν την παραγωγή και διαχείριση μεγάλου αριθμού εργαστηριακών κουνουπιών καθιστώντας τη μέθοδο ιδιαίτερα δαπανηρή. Παρόλα αυτά το κόστος πρόληψης που προκύπτει παραμένει χαμηλότερο από το κόστος των ιατρικών ζημιών και απωλειών, ωστόσο μόνο ένα μικρό μέρος των δαπανών επενδύεται σε αυτόν τον τομέα.

Η τεχνική SIT έχει ήδη χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την αντιμετώπιση γεωργικών παρασίτων, όπως το σκουλήκι του Νέου Κόσμου, το οποίο έχει εξαλειφθεί στη Βόρεια και Κεντρική Αμερική, και της μύγας των φρούτων (Franz et al., 2005). Σε αντίθεση με τη μακροχρόνια χρήση των στειρωμένων αρσενικών στη γεωργία, η εφαρμογή κατά των φορέων ανθρώπινων ασθενειών απαιτεί μεγαλύτερη προσοχή, καθώς οι πιλοτικές δοκιμές σε αστικές περιοχές απαιτούν την επικοινωνία και τη συνεργασία με πολλούς φορείς του δημοσίου και ιδιωτικού τομέα καθώς και την συνεχή ενημέρωση των κατοίκων (Oliva, 2014). Η χρήση της SIT κατά των κουνουπιών θα έχει πιθανότητα μεγαλύτερες δυνατότητες σε αστικές περιοχές όπου η χρήση εντομοκτόνων αποτελεί αντικείμενο επικρίσεων.

Το 2019 πραγματοποιήθηκαν οι πρώτες δοκιμές απελευθέρωσης στερωμένων αρσενικών στην Ελλάδα για μια περίοδο 26 εβδομάδων, καλύπτοντας ολόκληρη την περίοδο δραστηριότητας των κουνουπιών. Τα αποτελέσματα του δεύτερου έτους ήταν πιο ισχυρά και πειστικά όσον αφορά την αξία του SIT για τον έλεγχο των πληθυσμών του *Ae. albopictus*. Ωστόσο, η επιτυχία ενός έργου SIT εξαρτάται από την αναλογία των στερωμένων αρσενικών που απελευθερώνονται σε σχέση με τα άγρια αρσενικά, καθώς και από την ποιότητα των στερωμένων αρσενικών. Αν η ποιότητα των αρσενικών είναι χαμηλή, η αποτελεσματικότητα της SIT μειώνεται (Balatsos et al., 2021).

Το 2024 συνέχισαν οι πιλοτικές εφαρμογές της SIT τεχνικής στην Ελλάδα με την συλλογή άγριων κουνουπιών *Ae. albopictus* από την πειραματική περιοχή ώστε να δημιουργηθεί αποικία. Στη συνέχεια τα αρσενικά υποβλήθηκαν σε ακτινοβολία με ιονίζουσα ακτινοβολία για να καταστούν στείρα, διασφαλίζοντα ότι δεν θα ήταν ικανά να παράξουν απογόνους μετά τη σύζευξη. Τα στερωμένα αρσενικά απελευθερώνονταν σε τακτά χρονικά διαστήματα στην πειραματική περιοχή κατά τη διάρκεια της περιόδου αναπαραγωγής των κουνουπιών. Τέλος, τοποθετήθηκαν παγίδες για την επιτήρηση του πληθυσμού *Ae. albopictus* για να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα αυτής της τεχνικής. Τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά και καταγράφηκε σημαντική μείωση του πληθυσμού. Τέλος επισημαίνεται η ανάγκη για συνεχή παραγωγή μεγάλου αριθμού στερωμένων αρσενικών, καθώς και η διασφάλιση της ανταγωνιστικότητάς τους συγκριτικά με τα άγρια αρσενικά (Balatsos et al., 2024).



Εικόνα 7 Χώρος ακτινοβόλησης κουνουπιών στην Ελληνική επιτροπή ατομικής ενέργειας αριστερά φαίνεται το τραπέζι στο οποίο τοποθετείται το κουτί που περιέχει τα αρσενικά κουνούπια, ο οποίος κινείται πάνω σε ράγες ώστε να ρυθμίζεται η απόσταση ακτινοβόλησης, δεξιά φαίνεται ο ακτινοβολητής που εκπέμπει την ακτινοβολία

1.9.4.2 Χρήση διαγονιδιακών κουνουπιών

Μια εξίσου σύγχρονη μέθοδος καταπολέμησης είναι η χρήση διαγονιδιακών κουνουπιών, τα οποία απελευθερώνονται και φέρουν το θανατηφόρο γονίδιο (RIDL). Η μέθοδος RIDL (Release of Insects carrying a Dominant Lethal) βασίζεται στη χρήση γενετικά τροποποιημένων αρσενικών εντόμων που μεταφέρουν συγκεκριμένα γονίδια στον πληθυσμό. Αυτά τα γονίδια, όταν κληρονομούνται από τα θηλυκά, μπορούν είτε να προκαλέσουν τον θάνατο νυμφών ή ενήλικων θηλυκών, είτε να μειώσουν την έκφραση γονιδίων που είναι απαραίτητα για την πτήση. Ως αποτέλεσμα, τα θηλυκά χάνουν την ικανότητα να πετούν, γεγονός που παρεμποδίζει την εύρεση τροφής και τη σύζευξη, μειώνοντας έτσι την αναπαραγωγή τους. Τα άγρια αρσενικά έχουν μικρότερη ικανότητα να μεταδίδουν γονίδια στα θηλυκά σε σχέση με τα γενετικά τροποποιημένα αρσενικά. Αυτό συμβαίνει επειδή η έκφραση των γονιδίων στα θηλυκά ενεργοποιείται από ειδικούς υποκινητές που λειτουργούν μόνο σε αυτά, καθιστώντας τη διαδικασία πιο αποτελεσματική στα γενετικά τροποποιημένα άτομα. (McGraw & O'Neill, 2013).

Το ενδοσυμβιοτικό βακτήριο *Wolbachia pipiens*, το οποίο ανήκει στην κατηγορία των α-πρωτεοβακτηρίων, αναφέρθηκε για πρώτη φορά το 1924 στις ωοθήκες του κουνουπιού *Culex pipiens* (Hertig & Wolbach, 1924) και θεωρείται ίσως το πιο

διαδεδομένο μολυσματικό βακτήριο στον κόσμο. Το βακτήριο *Wolbachia* εντοπίζεται σε πολλά είδη κουνουπιών, συμπεριλαμβανομένου και του *Aedes albopictus*. Σύμφωνα με την έρευνα των Zug και Hammerstein (2012), περίπου το 40% των αρthropόδων φαίνεται να έχουν μολυνθεί από κάποια μορφή του βακτηρίου *Wolbachia*. Συγκεκριμένα, το βακτήριο *Wolbachia* μπορεί να μειώσει την αναπαραγωγική ικανότητα και να προκαλέσει αλλαγές όπως η θηλυκοποίηση, η παρθενογένεση, η θανάτωση αρσενικών εμβρύων, καθώς και η κυτταροπλασματική ασυμβατότητα σε διάφορους οργανισμούς. Υπάρχουν δύο διαφορετικές στρατηγικές για τη χρήση της *Wolbachia* στην καταπολέμηση των κουνουπιών και των ασθενειών που σχετίζονται με αυτά. Η πρώτη στρατηγική, γνωστή ως αντικατάσταση πληθυσμού, χρησιμοποιεί τη *Wolbachia* για να διαδώσει επιθυμητά χαρακτηριστικά, όπως έναν φαινότυπο που μειώνει την παθογένεια, στον πληθυσμό των κουνουπιών. Η επιτυχία αυτής της στρατηγικής έχει παρατηρηθεί τόσο σε εργαστηριακά πειράματα όσο και σε μελέτες πεδίου με κουνούπια που έχουν μολυνθεί τεχνητά (Hoffmann et al., 2011). Η δεύτερη στρατηγική, γνωστή ως καταστολή του πληθυσμού, περιλαμβάνει την απελευθέρωση αρσενικών κουνουπιών μολυσμένων με *Wolbachia*, που οδηγεί σε στειρότητα και μείωση του πληθυσμού των κουνουπιών και αναφέρεται επίσης ως «τεχνική ασύμβατων εντόμων» (IT). Όταν τα κουνούπια μολύνονται εργαστηριακά με *Wolbachia* και εξαπολύονται σε περιοχές, που τα κουνούπια δεν έχουν το βακτήριο, συμβάλλουν στην μείωση της επιβίωσης των απογόνων και της μεταδοτικότητας των παθογόνων από κουνούπια (Caragata et al., 2016).

1.9.5 Μηχανικά μέσα αντιμετώπισης των κουνουπιών

Η μηχανική αντιμετώπιση των κουνουπιών στηρίζεται στη διατήρηση των κουνουπιών μακριά από μέρη που κατοικούν άνθρωποι και ζώα. Η τοποθέτηση σίτας σε κάθε πόρτα και παράθυρο, και επιπλέον η χρήση κουνουπίερας που έχει εμποτιστεί σε εντομοκτόνο προστατεύουν και αποτρέπουν να έρθουν σε επαφή άνθρωποι και κουνούπια. Ταυτόχρονα οι σίτες εμποτισμένες με εντομοκτόνο θανατώνουν τα κουνούπια που προσπαθούν να προσεγγίσουν τους ανθρώπους (Κολιόπουλος, 2011). Υπάρχει πληθώρα εμποτισμένων διχτύων με εγκεκριμένες δραστικές ουσίες που ανήκουν στην ομάδα των πυρεθροειδών. Οι σίτες έχουν ποικιλία στο μέγεθος, το χρώμα, το σχήμα, το υλικό και την κατάσταση επεξεργασία του εντομοκτόνου. Ωστόσο, πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι η ανθεκτικότητα που εμφανίζουν τα κουνούπια στα πυρεθροειδή υπονομεύει την αποτελεσματικότητα των σιτών (Martin J. et al., 2021). Επίσης, οι

ανεμιστήρες οροφής και το κλιματιστικό συμβάλλουν στην εισαγωγή των κουνουπιών σε εσωτερικούς χώρους, αφού δημιουργείται ένα ρεύμα αέρα (ΕΟΔΥ, 2020).

2. Σκοπός

Τα κουνούπι τίγρης, *Ae. albopictus* αποτελεί σήμερα έναν από τους σημαντικότερους φορείς ασθενειών απειλώντας τη δημόσια υγεία, εξαιτίας της αιμομυζητικής συμπεριφοράς του. Η κατανόηση των παραγόντων που επηρεάζουν την λήψη αίματος θα συμβάλει στην αντιμετώπιση τους. Έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες που σχετίζουν την σύζευξη με το γεύμα αίματος στο κουνούπι *Ae. aegypti* και υπήρξε ανάγκη μελέτης και στο κουνούπι *Ae. albopictus* (Houseman and Downe, 1986). Η παρούσα εργασία πραγματοποιήθηκε για να εξετασθεί το ενδεχόμενο λήψης αίματος χωρίς την πραγματοποίηση σύζευξης σε κουνούπια *Ae. albopictus*, αλλά και η έρευνα της επιρροής της λήψης αίματος στην διάρκεια ζωής του.

Μια από τις σύγχρονες μεθόδους αντιμετώπισης των κουνουπιών είναι η SIT. Η SIT χρησιμοποιείται επιτυχώς στην εξάλειψη εντόμων οικονομικής σημασίας, αλλά στα κουνούπια υπάρχει επιτακτική ανάγκη βελτιστοποίησης αυτής της μεθόδου. Η ικανότητα των στερημένων αρσενικών να ανταγωνιστούν τα άγρια είναι το κύριο πρόβλημα (Balatsos et al., 2024). Σε αυτή τη μελέτη ερευνάται η συμπεριφορά σύζευξης του κουνουπιού *Ae. albopictus* και πως η χρήση διαφορετικών τροφών ενηλίκων την επηρεάζει. Η διατροφή των ενηλίκων κουνουπιών, προσδίδει ορισμένα χαρακτηριστικά στα κουνούπια, και επηρεάζει τη συμπεριφορά σύζευξης. Για αυτό μελετήθηκε η ανταγωνιστικότητα των αρσενικών που είχαν τραφεί με διαφορετικές τροφές και έγινε σύγκρισή τους

Τα αποτελέσματα αναμένεται να προσφέρουν σημαντικές πληροφορίες για την καλύτερη κατανόηση των αλληλεπιδράσεων σύζευξης και λήψης αίματος, αλλά και να συμβάλλουν στη βελτιστοποίηση της εργαστηριακής εκτροφής και μετέπειτα στην αποτελεσματικότητα εναλλακτικών τρόπων καταπολέμησης.

3. Υλικά και Μέθοδοι

3.1 Εργαστηριακές συνθήκες

Τα πειράματα της παρούσας διατριβής πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Χρησιμοποιήθηκαν πληθυσμοί κουνουπιών των ειδών *Ae. albopictus* που προέρχονται από τη Θεσσαλία και ειδικότερα από την περιοχή της Λάρισας και του Βόλου. Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν αναπτύσσονται σε σταθερές εργαστηριακές συνθήκες από το 2021 και 2017 αντίστοιχα. Η εξασφάλιση των σταθερών συνθηκών πραγματοποιείται μέσω δύο walk-in chambers ρυθμισμένους σε συνθήκες θερμοκρασίας $25 \pm 1^\circ\text{C}$, σχετικής υγρασίας $65 \pm 5\%$ και φωτοπεριόδου 14 ώρες φωτός και 10 ώρες σκότους (11:00-13:00 φως, 13:00-11:00 σκοτάδι), με την ένταση του φωτισμού να προσομοιώνει τις συνθήκες της αυγής και του σούρουπου. Οι πληθυσμοί του *Aedes albopictus* στο εργαστήριο διατηρούνται σε ξύλινα κλουβιά (30x30x30) (Ιοαννου, 2021) στα οποία προστίθεται ένα κύπελλο (ουροσυλλέκτης με άνοιγμα στο καπάκι) στο οποίο υπάρχει πρόσβαση σε νερό μέσω ενός wetex, ενώ ως πηγή τροφής χρησιμοποιείται μελάσα. Στα θηλυκά παρέχεται γεύμα αίματος από χέρι εθελοντή και πέντε ημέρες μετά τα θηλυκά έχουν πρόσβαση σε υπόστρωμα ωοτοκίας, μια ωοπαγίδα (ovitrapp) με υγρό λευκό διηθητικό χαρτί, που παραμένει στο εσωτερικό του κλωβού για τρεις ημέρες. Στη συνέχεια τα ωά συλλέγονται και αφήνονται να στεγνώσουν σε εργαστηριακές συνθήκες για 24 ώρες. Έπειτα διατηρούνται σε αεροστεγές δοχείο με μικρή ποσότητα potassium sulfate διαλυμένο σε νερό, για τη διατήρηση υψηλής υγρασίας. Τα αυγά παραμένουν σε αυτές τις συνθήκες για τουλάχιστον μια εβδομάδα προκειμένου να ολοκληρωθεί η εμβρυακή ανάπτυξη (IAEA, 2020). Για την εκκόλαψη ακολουθήθηκε πρωτόκολλο που περιλαμβάνει θρεπτικό ζωμό OXOID (nutrient broth) και μαγιά μύρας (yeast powder), ακολουθεί η δημιουργία διαλύματος με απιονισμένο νερό με αναλογία 12,5g broth + 2,5 g yeast / 100ml απιονισμένο νερό, και αραίωση του όπου σε βάζο με 700 ml απιονισμένο νερό προστίθενται 2 ml του διαλύματος. Τα διηθητικά χαρτιά των ωών μεταφέρονται σε αεροστεγές δοχείο μαζί με το διάλυμα, και μετά από 16 ώρες συλλέγονται οι νεαρές προνύμφες (IAEA, 2020). Οι προνύμφες πρώτου σταδίου που εκκολάπτονται μεταφέρονται σε λευκή λεκάνη με 8L νερό και πυκνότητα περίπου 7.000 προνύμφες, ως πηγή τροφής χρησιμοποιείται αλεσμένη

γατοτροφή (Friskies Adult, Purina, Italy) μέχρι την νόμφωσή τους. Οι νύμφες (pupa) συλλέγονταν καθημερινά με μια πλαστική πιπέτα τύπου Pasteur.

3.2 Επίδρασης της σύζευξης στη λήψη γεύματος αίματος

Για τη μελέτη της επίδρασης της σύζευξης στη λήψη γεύματος αίματος των θηλυκών χρησιμοποιήθηκε ο πληθυσμός Βόλος που διατηρείτε στο εργαστήριο με τις πρακτικές που περιεγράφηκαν παραπάνω. Καθημερινά συλλέγονταν νύμφες από τη λεκάνη εκτροφής και τοποθετούνταν μεμονωμένα σε μικρά τρυβλία διαμέτρου 5cm με 15ml νερό (Εικόνες 8 και 9). Με την έξοδό τους τα ενήλικα διαχωρίζονταν ανά φύλο, τα αρσενικά τοποθετούνταν σε κλουβιά plexiglass (20x20x20 cm) με μέγιστο αριθμό τα 25 άτομα ημερησίως και τα θηλυκά ατομικά σε αντίστοιχα κλουβιά μικρότερων διαστάσεων (15x15x15 cm). Υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10% παρέχονταν στα ενήλικα μέσω μικρού κομματιού wettex στερεωμένο σε ουροσυλλέκτη. Μετά το πέρας 6 ημερών δόθηκε δυνατότητα σύζευξης στα μισά θηλυκά, με αρσενικό 7 ημερών. Η παρατήρηση σύζευξης πραγματοποιούνταν 12:00-14:00, που θεωρήθηκε το διάστημα μεγαλύτερης δραστηριότητας σύζευξης (Mastronikolos et al. , 2023). Κατά την παρατήρηση καταγράφονταν ο χρόνος μέχρι την έναρξη (latency) αλλά και η διάρκεια (duration) της σύζευξης (Εικόνα 10). Καταγράφηκαν μόνο όσες συζεύξεις θεωρήθηκαν ολοκληρωμένες, δηλαδή διήρκεσαν πάνω από 8 δευτερόλεπτα (Gubler and Bhattacharya, 1973) (εικόνα 11). Με την ολοκλήρωση της πρώτης σύζευξης το αρσενικό αφαιρούνταν από το κλουβί για να αποτραπεί η πιθανή επανασύζευξη. Στη συνέχεια σ' όλα τα θηλυκά (συζευγμένα και παρθένα) προσφέρθηκε γεύμα αίματος στην ηλικία των 9 ημερών. Το γεύμα αίματος προσφέρθηκε στα θηλυκά με την τοποθέτηση χεριού εθελοντή για 10 λεπτά σε κάθε κλουβί, και καταγράφηκε η επιτυχία λήψης αίματος ανά μεταχείριση (συζευγμένα, μη συζευγμένα, παρθένα) (Εικόνα 12 και 13). Μετά το γεύμα αίματος τα θηλυκά αφέθηκαν 5 μέρες ώστε να ολοκληρωθεί η πέψη του. Την 14η μέρα σε όλα τα θηλυκά ανεξάρτητα αν είχαν λάβει γεύμα αίματος ή όχι δόθηκε πρόσβαση σε τεχνητό υπόστρωμα φωτοκίας (υγρό διηθητικό χαρτί σε μικρό μαύρο πλαστικό κύπελλο) για 3 ημέρες (εικόνα 14). Τα ωά καταμετρήθηκαν στο στερεοσκόπιο (Εικόνα 15), ακολούθησε η διαδικασία ανάπτυξης εμβρύου και 2 εβδομάδες αργότερα πραγματοποιήθηκε η εκκόλαψη των προνυμφών όπως περιεγράφηκε παραπάνω και καταγράφηκε ο αριθμός τους. Την 16η μέρα τα θηλυκά

μεταφέρθηκαν σε ατομικούς κλωβούς δημογραφίας όπου η θνησιμότητα καταγράφονταν καθημερινά μέχρι και τον θάνατο του τελευταίου ατόμου (Blanco-Sierra et al., 2024) (Εικόνα 16). Οι επαναλήψεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν 3 και η κάθε μία περιλάμβανε 30 συζευγμένα θηλυκά και 30 παρθένα. Στο σύνολο υπήρξαν 99 θηλυκά που τους δόθηκε δυνατότητα σύζευξης και 94 παρθένα.



Εικόνα 8 Νύμφη (pupa) τοποθετημένη σε τρυβλίο petri με νερό ώστε να γίνει η έξοδος της ως ενήλικο



Εικόνα 9 Έξοδος ενήλικου θηλυκού κουνουπιού 48 ώρες μετά την παραμονή στο τρυβλίο



Εικόνα 10 Χώρος παρατήρησης των πειραμάτων σύζευξης. Ο κάθε κλωβός περιέχει ένα θηλυκό και ένα αρσενικό ώστε να γίνει παρατήρηση της σύζευξης. Οι κλωβοί τοποθετούνταν ο ένας δίπλα στον άλλον για να είναι πιο εύκολη για τον παρατηρητή η ταυτόχρονη παρατήρηση.



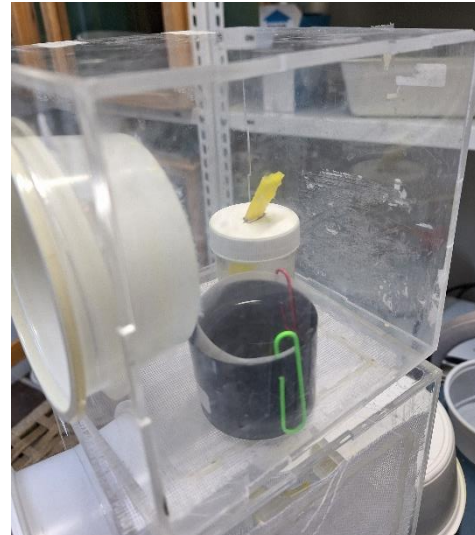
Εικόνα 11 Επιτυχημένη σύζευξη



Εικόνα 12: Χέρι εθελοντή για την λήψη αίματος



Εικόνα 13: Κουνούπι *Ae. albopictus* μετά την ολοκλήρωση του γεύματος αίματος



Εικόνα 14: Υπόστρωμα ωοτοκίας με πλαστικό κύπελο γεμάτο με νερό και διηθητικό χαρτί εντός του κλωβού



Εικόνα 15: Καταμέτρηση ωών στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο



Εικόνα 16: Ατομικοί κλωβοί για την καθημερινή 5 παρατήρηση της δημογραφίας

3.3 Επίδρασης της τροφής των αρσενικών στην ικανότητα σύζευξης

Για τον έλεγχο της επίδρασης της τροφής των αρσενικών στην ικανότητα σύζευξης χρησιμοποιήθηκε ο πληθυσμός Λάρισα, ο οποίος συλλέχθηκε από την περιοχή της Καρίτσας (39.844177, 22.761979). Οι νύμφες συλλέγονταν καθημερινά από τη λεκάνη εκτροφής και τοποθετούνταν μεμονωμένα σε μικρά τρυβλία διαμέτρου 5cm με 15ml νερό. Με την έξοδό τους τα ενήλικα διαχωρίζονταν ανά φύλο, τα αρσενικά τοποθετήθηκαν σε κλουβιά plexiglass (20x20x20 cm) με μέγιστο αριθμό τα 25 άτομα και τα θηλυκά ατομικά σε κλουβιά plexiglass (15x15x15 cm). Τα θηλυκά είχαν πρόσβαση σε υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10% ως πηγή τροφής. Τα αρσενικά διαχωρίστηκαν ανά μεταχείριση (τροφή ενηλίκων) και είχαν πρόσβαση σε Α) υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%, ή Β) υδατικό διάλυμα μελάσας 10% ή Γ) και υδατικό διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μύρας 2% (hydrolyzed brewer's yeast). Η λήψη της τροφής πραγματοποιούνταν από ένα πλαστικό δοχείο μέσω μικρού κομματιού wettex. Αρχικά στα θηλυκά ηλικίας 7-ημερών δόθηκε δυνατότητα σύζευξης με αρσενικά 7 ημερών που προερχόντουσαν αντίστοιχα από τις 3 μεταχειρίσεις. Η αναλογία ήταν 1:1 (θηλυκό: αρσενικό). Η τροφή αφαιρέθηκε από το κλουβί παρατήρησης πριν την προσθήκη του αρσενικού. Η παρατήρηση σύζευξης πραγματοποιούνταν από τις 12:00 έως τις 14:00. Καταγράφηκε ο χρόνος μέχρι την έναρξη (latency) και η διάρκεια (duration) της σύζευξης. Με τη πραγματοποίηση της πρώτης σύζευξης τα αρσενικά αφαιρέθηκαν. Στη συνέχεια σε όλα τα συζευγμένα θηλυκά δόθηκε πρόσβαση σε γεύμα αίματος στην ηλικία των 9 ημερών. Για το σκοπό αυτό τοποθετήθηκε χέρι εθελοντή για 10 λεπτά σε κάθε κλουβί, και καταγράφηκε η λήψη αίματος. Την 14η μέρα στα θηλυκά που είχαν μυζήσει αίμα δόθηκε πρόσβαση σε τεχνητό υπόστρωμα ωοτοκίας (υγρό διηθητικό χαρτί σε μικρό μαύρο πλαστικό κύπελλο) για 3 ημέρες. Τα ωά καταμετρήθηκαν στο στερεοσκόπιο και ακολούθησε διαδικασία ανάπτυξης εμβρύου ενώ δύο εβδομάδες αργότερα καταγράφηκε και η εκκόλαψη, ακολουθώντας τις διαδικασίες που περιεγράφηκαν παραπάνω. Οι επαναλήψεις που πραγματοποιήθηκαν ήταν τρεις για την κάθε τροφή και περιλάμβανε από 20 άτομα (επαναλήψεις) η κάθε μια. Συγκεκριμένα στην κάθε επανάληψη χρησιμοποιήθηκαν 60 θηλυκά που τρέφονταν σε διάλυμα ζάχαρης 10%, 20 αρσενικά που τράφηκαν σε διάλυμα ζάχαρης 10%, 20 αρσενικά που τράφηκαν σε διάλυμα

μελάσας 10% και 20 αρσενικά που τράφηκαν σε διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2% (hydrolyzed brewer's yeast), σε μια επανάληψη.

Στο υπόλοιπο του κειμένου, οι 3 διαφορετικές τροφές ενηλίκων που μελετήθηκαν θα αναφέρονται με τις εξής συντομογραφίες: διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%), διάλυμα μελάσας 10% (M 10%) και διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2% (S+HBY 10%).

3.4 Επίδραση της τροφής των αρσενικών στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης

Για τον έλεγχο της επίδρασης της τροφής των αρσενικών στην ανταγωνιστικότητα κατά τη σύζευξη χρησιμοποιήθηκε ο πληθυσμός Λάρισα ο οποίος συλλέχθηκε από την περιοχή της Καρίτσας (39.844177, 22.761979). Οι νύμφες (pupa) συλλέγονταν καθημερινά από τη λεκάνη εκτροφής και τοποθετούνταν μεμονωμένα σε μικρά τρυβλία με 15ml νερό. Με την έξοδό τους τα ενήλικα διαχωρίζονταν ανά φύλο, τα αρσενικά τοποθετήθηκαν σε κλουβιά plexiglass (20x20x20 cm) με μέγιστο αριθμό τα 25 άτομα ημερησίως και τα θηλυκά ατομικά σε κλουβιά (15x15x15 cm). Τα θηλυκά είχαν πρόσβαση σε διάλυμα ζάχαρης 10% ενώ τα αρσενικά διαχωρίστηκαν ανά μεταχείριση και είχαν πρόσβαση σε μία από τις τρεις τροφές που περιεγράφηκαν παραπάνω. Για την παρατήρηση της σύζευξης τοποθετούνταν 2 αρσενικά από διαφορετική μεταχείριση στο κλουβί παρατήρησης ενός θηλυκού. Η αναλογία ήταν 1:2 (θηλυκό: αρσενικό). Οι συνδυασμοί που έγιναν ήταν πάντα ένα αρσενικό που είχε τραφεί με διάλυμα ζάχαρης και ένα αρσενικό που είχε τραφεί είτε με διάλυμα μελάσας ή με εμπλουτισμένο διάλυμα ζάχαρης. Το ένα εκ των δύο αρσενικών σημειώνονταν με ειδική φθορίζουσα σκόνη ώστε να διακρίνεται η κάθε μεταχείρισή αλλά και να είναι ευδιάκριτό στο σκοτάδι, ο χρωματισμός έγινε ισάριθμα και εναλλάξ για την κάθε μεταχείριση, ώστε να μην επηρεάζει το χρώμα την επιλογή συντρόφου (Εικόνα 17). Η παρατήρηση σύζευξης πραγματοποιούνταν από τις 12:00 έως 14:00 και καταγράφηκε ο χρόνος μέχρι την έναρξη (latency) και η διάρκεια (duration) της σύζευξης. Ακολούθησε ομοίως η ίδια διαδικασία με παραπάνω για την μύζηση αίματος, την ωοτοκία και εκκόλαψη, και καταγράφηκε η επιτυχία λήψης αίματος, ο αριθμός των ωών και η εκκόλαψη των προνυμφών. Πραγματοποιήθηκαν τρεις επαναλήψεις για τη κάθε σύγκριση τροφής. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκαν 30 θηλυκά που τρέφονταν

σε διάλυμα ζάχαρης 10%, 30 αρσενικά που τράφηκαν σε διάλυμα ζάχαρης 10%, 30 αρσενικά που τράφηκαν σε διάλυμα μελάσας 10%, για τη πρώτη σύγκριση τροφών και 30 θηλυκά που τρέφονταν σε διάλυμα ζάχαρης 10%, 30 αρσενικά που τράφηκαν σε διάλυμα ζάχαρης 10%, 30 αρσενικά που τράφηκαν σε αρσενικά που τράφηκαν σε διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2% (hydrolyzed brewer's yeast) για τη δεύτερη σύγκριση, ανά επανάληψη.



Εικόνα 17: παρατήρηση σύζευξης σε συνθήκες UV φωτός ώστε να ξεχωρίζει η ειδική φθορίζουσα χρώση

4. Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση όλων των δεδομένων πραγματοποιήθηκε με το στατιστικό λογισμικό SPSS 19.0. Έλεγχος κανονικότητας (Normality test) των δεδομένων προηγήθηκε των λοιπών αναλύσεων, ώστε να μελετηθεί η κατανομή των δεδομένων. Παραμετρικό μοντέλο χρησιμοποιήθηκε για δεδομένα κανονικής κατανομής (ανάλυση διακύμανσης-Ανοva) και ημί-παραμετρικό για δεδομένα μη κανονικής κατανομής (μοντέλο αναλογικού κινδύνου-Cox Regression). Σε όλες τις περιπτώσεις η πιθανότητα σφάλματος ορίστηκε στο $\alpha = 0.05$.

Η επίδραση της σύζευξης στη λήψη γεύματος αίματος των θηλυκών συγκρίθηκε με το μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics) και οι ανά δύο συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με κριτήριο χ^2 (*chi square test*). Η επίδραση της κατάστασης σύζευξης στον αριθμό των παραγόμενων ωών ελέγχθηκε με την ανάλυση διακύμανσης με έναν παράγοντα (One-way Anova) και οι ανά δύο συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με Bonferroni, post-hoc τεστ. Οι παράγοντες που επηρέασαν τη διάρκεια ζωής των θηλυκών μελετήθηκαν με το μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) ενώ οι ανά δύο συγκρίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων πραγματοποιήθηκαν με το log-rank τεστ (Kaplan-Meier, long rang test) (ElHafeez et al., 2012).

Η επίδραση της τροφής των αρσενικών στο ποσοστό επιτυχίας σύζευξης ελέγχθηκε με την ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics), ενώ οι ανά δύο συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με τεστ χ^2 (*chi square test*). Η επίδραση της τροφής στα χαρακτηριστικά της σύζευξης ελέγχθηκε με το μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) ενώ οι ανά δύο συγκρίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων πραγματοποιήθηκαν με το log-rank (Kaplan-Meier, long rang test) (ElHafeez et al., 2012). Η επίδραση της τροφής στη λήψη γεύματος αίματος ελέγχθηκε με την ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics) και οι ανά δύο συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με τεστ χ^2 (*chi square test*). Τέλος οι επιδράσεις στον αριθμό αυγών αλλά και στην εκκόλαψη των προνυμφών ελέγχθηκαν με ανάλυση διακύμανσης με έναν παράγοντα (One-way Anova) και οι ανά δύο συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με Bonferroni, post-hoc τεστ.

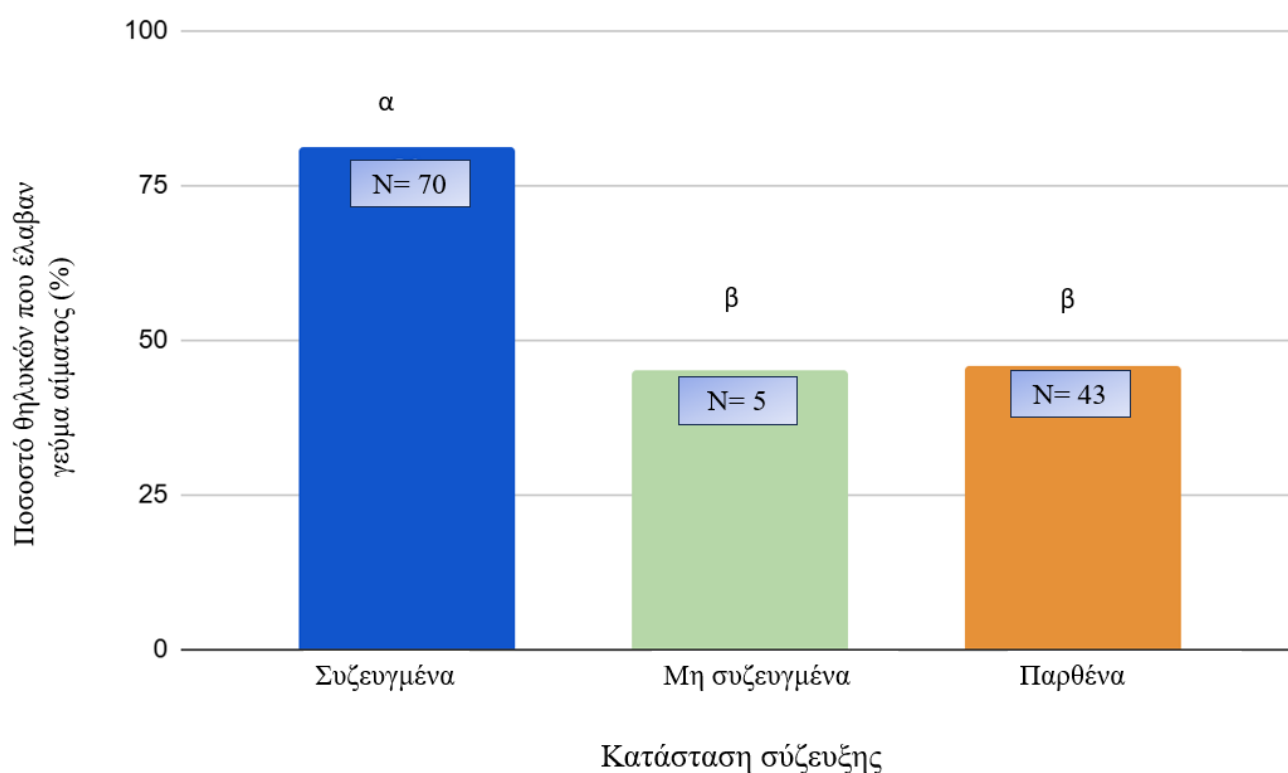
ElHafeez, S. A., Torino, C., D'Arrigo, G., Bolignano, D., Provenzano, F., Mattace-Raso, F., ... & Tripepi, G. (2012). An overview on standard statistical methods for assessing exposure-outcome link in survival analysis (Part II): the Kaplan-Meier

analysis and the Cox regression method. *Aging clinical and experimental research*, 24(3), 203-206.

5. Αποτελέσματα

5.1 Αποτελέσματα της επίδρασης της σύζευξης στη λήψη γεύματος αίματος

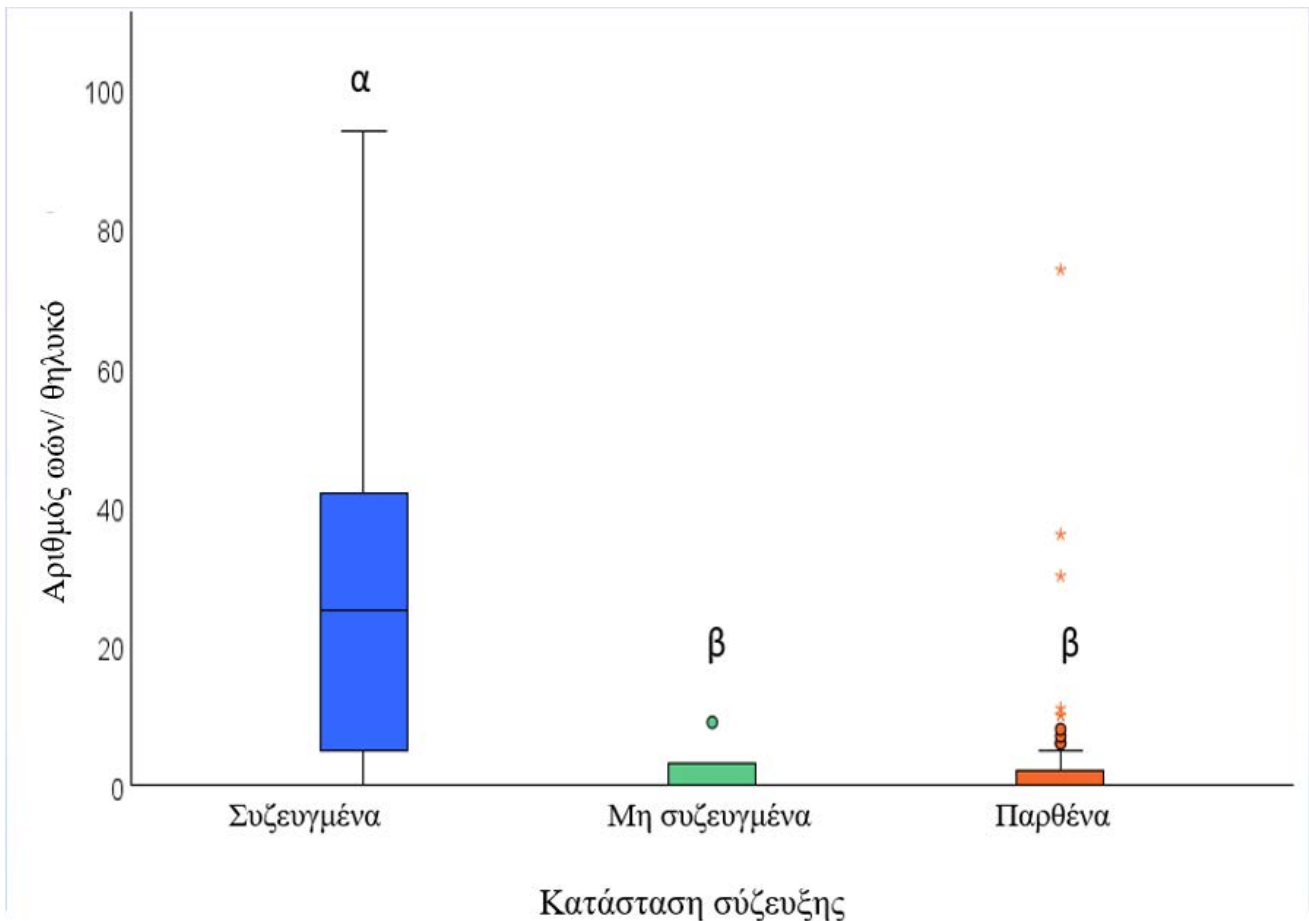
Από τα πειράματά μας προέκυψε ποσοστό επιτυχίας σύζευξης είναι στο 88%. Το μοντέλο λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics) έδειξε ότι η κατάσταση σύζευξης επηρεάζει την μύζηση αίματος (Wald $\chi^2 = 21,963$, $d=2$, $P<0,001$). Οι ανά δύο συγκρίσεις που προέκυψαν από υπολογισμό του χ^2 (*chi square test*) έδειξε ότι τα συζευγμένα θηλυκά παρουσίασαν μεγαλύτερο ποσοστό λήψης γεύματος αίματος συγκριτικά με τα μη συζευγμένα και τα παρθένα θηλυκά όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 1.



Διάγραμμα 1: Ποσοστό επιτυχίας λήψης γεύματος αίματος στα συζευγμένα (μπλε), μη συζευγμένα (πράσινο) και παρθένα (πορτοκαλί) θηλυκά. Στήλες που ακολουθούνται από ίδια γράμματα δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το κριτήριο χ^2 σε ανά δύο συγκρίσεις.

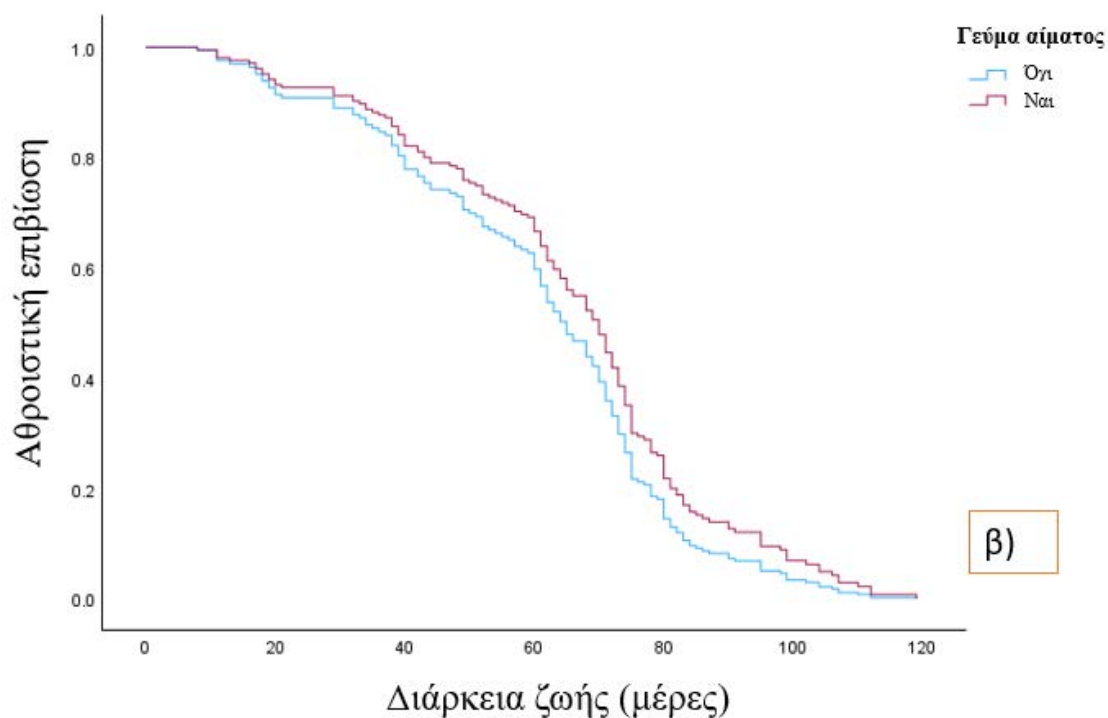
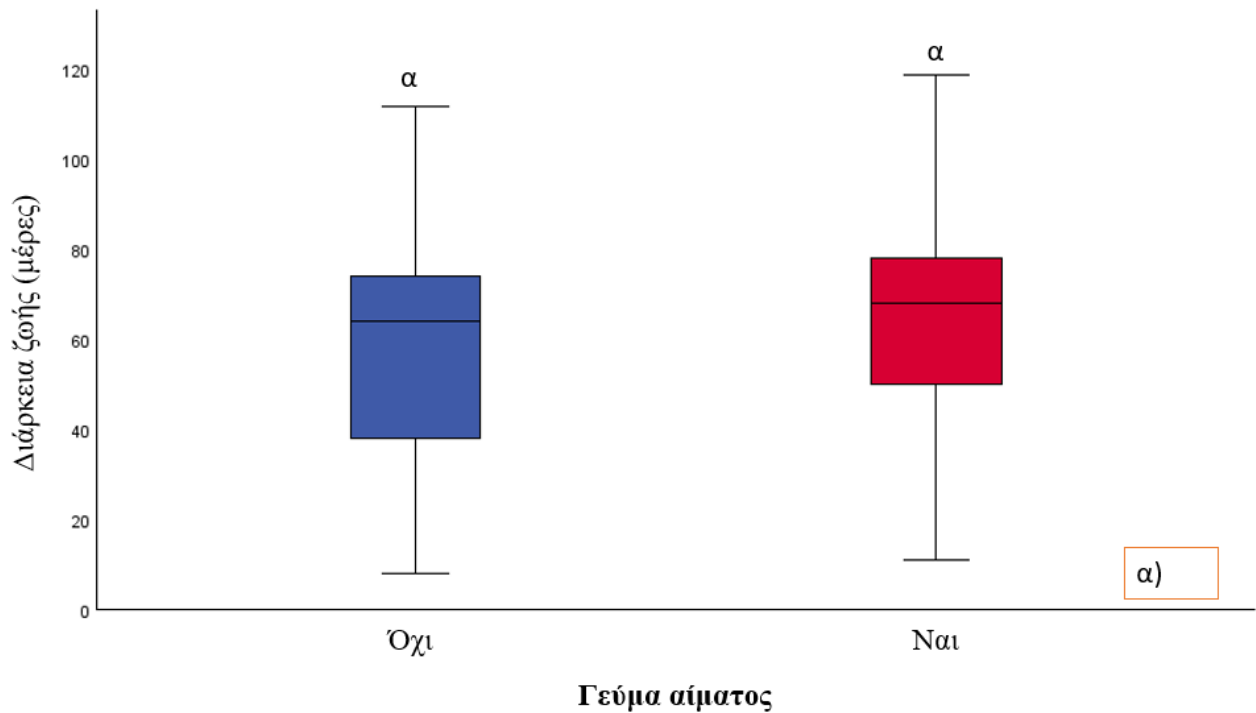
Η ανάλυση διακύμανσης με έναν παράγοντα (One-way Anova) έδειξε ότι ο αριθμός των ωών που προήλθαν από συζευγμένα θηλυκά που είχαν τραφεί με αίμα διαφέρει

σημαντικά ($F=47,791$, $d=2$, $P<0,01$) από τον αριθμό των ωών που προήλθαν από μη συζευγμένα και παρθένα θηλυκά που είχαν τραφεί με αίμα (Διάγραμμα 2). Συγκεκριμένα, τα συζευγμένα θηλυκά απέθεσαν σε μέσο όρο 25 αυγά σε σχέση με τα μη συζευγμένα και τα παρθένα τα οποία έδωσαν παραπλήσιο αριθμό ωών. Όλα τα αυγά που προήλθαν από μη συζευγμένα και παρθένα θηλυκά είχαν μηδενικό ποσοστό εκκόλαψης. Το ποσοστό εκκόλαψης των ωών των συζευγμένων θηλυκών 49%.



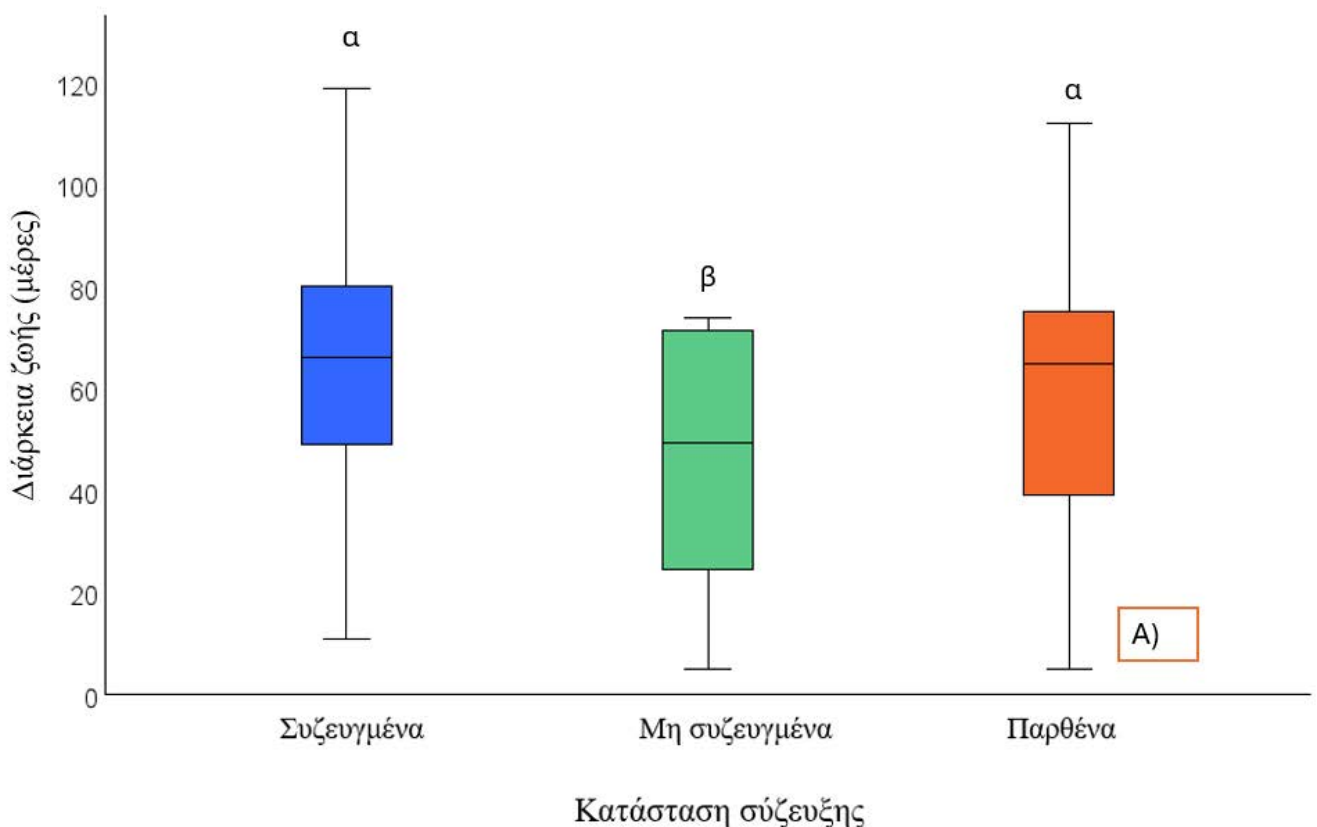
Διάγραμμα 2: Επίδραση της κατάστασης σύζευξης στον αριθμό των ωών που ωοτόκησαν τα θηλυκά. Στο πορτοκαλί κυτιογράμμα ανήκουν παρθένα, στο πράσινο τα μη συζευγμένα κουνούπια και στο μπλε τα συζευγμένα. Κυτιογράμματα που ακολουθούνται από ίδια γράμματα δεν παρουσιάζουν στατιστικές σημαντικές διαφορές σύμφωνα με το κριτήριο post-hoc.

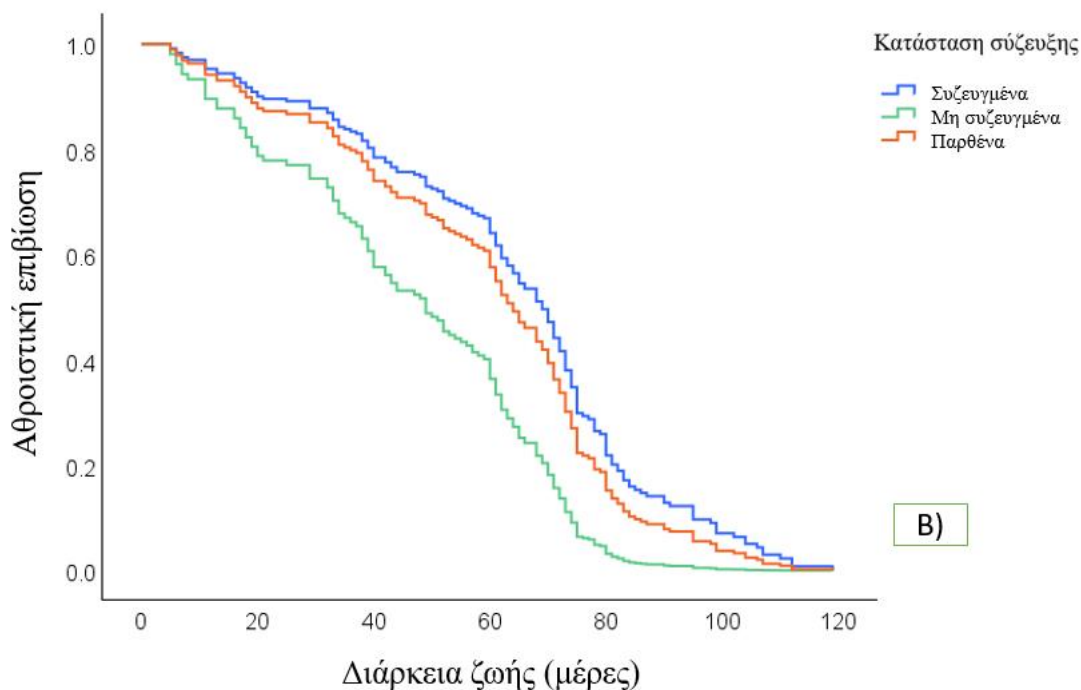
Το μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) έδειξε ότι το γεύμα αίματος δεν επηρέασε τη διάρκεια ζωής (Wald $\chi^2 = 2,175$, $df=2$, $P=0,140$). Οι συγκρίσεις ανά δύο μεταξύ των μεταχειρίσεων όπως προέκυψαν από long rang test δεν παρουσίασαν διαφορές μεταξύ τους. Τα θηλυκά που τράφηκαν με αίμα είχαν ίδια διάρκεια ζωής με τα θηλυκά που δεν τράφηκαν με αίμα (Διάγραμμα 3).



Διάγραμμα 3: Διάρκεια ζωής θηλυκών του *Ae. albopictus* έχοντας ή όχι λάβει γεύμα αίματος α) απεικόνιση με boxplot όπου φαίνεται η διάρκεια ζωής θηλυκών που δεν έλαβαν (μπλε) και έλαβαν (κόκκινο) γεύμα αίματος, Αριθμοί που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (χ^2 , $P < 0.05$). β) απεικόνιση με καμπύλες επιβίωσης της διάρκειας ζωής θηλυκών που δεν έλαβαν (μπλε) και έλαβαν (κόκκινο) γεύμα αίματος.

Το μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) έδειξε ότι η κατάσταση σύζευξης επηρέασε τη διάρκεια ζωής ($F = 47,791$, $d=2$, $P < 0,001$). Οι συγκρίσεις ανά δύο μεταξύ των μεταχειρίσεων από το long rang test παρουσίασαν διαφορές μεταξύ τους. Τα συζευγμένα και παρθένα έχουν διαφορετική διάρκεια ζωής με τα μη συζευγμένα θηλυκά (Διάγραμμα 4)

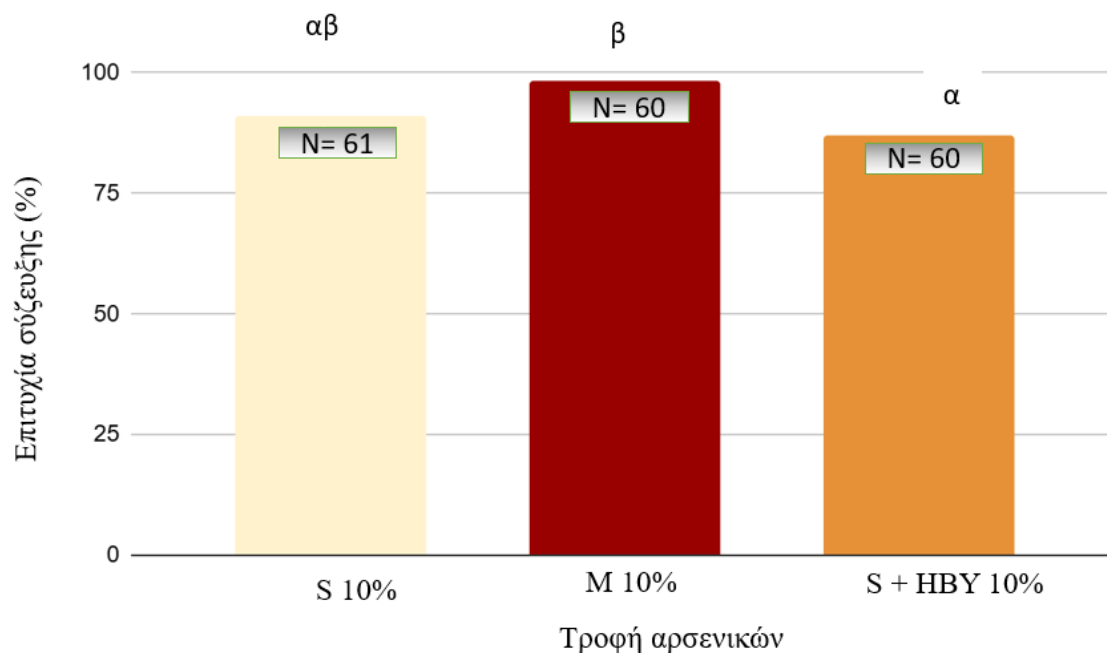




Διάγραμμα 4: Διάρκεια ζωής θηλυκών του *Ae. albopictus* ανάλογα την κατάσταση σύζευξης Α) απεικόνιση με boxplot όπου φαίνεται η διάρκεια ζωής των συζευγμένων (μπλε), ασύζευχτων (πράσινο) και παρθένων (πορτοκαλί) θηλυκών. Αριθμοί που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (χ^2 , $P < 0.05$). Β) απεικόνιση με καμπύλες επιβίωσης της διάρκειας ζωής συζευγμένων (μπλε), μη συζευγμένων (πράσινο) και παρθένων (πορτοκαλί) θηλυκών. Η πορεία της αθροιστικής επιβίωσης των συζευγμένων και παρθένων θηλυκών ήταν σχεδόν παράλληλη και διαφέρει από αυτή των μη συζευγμένων.

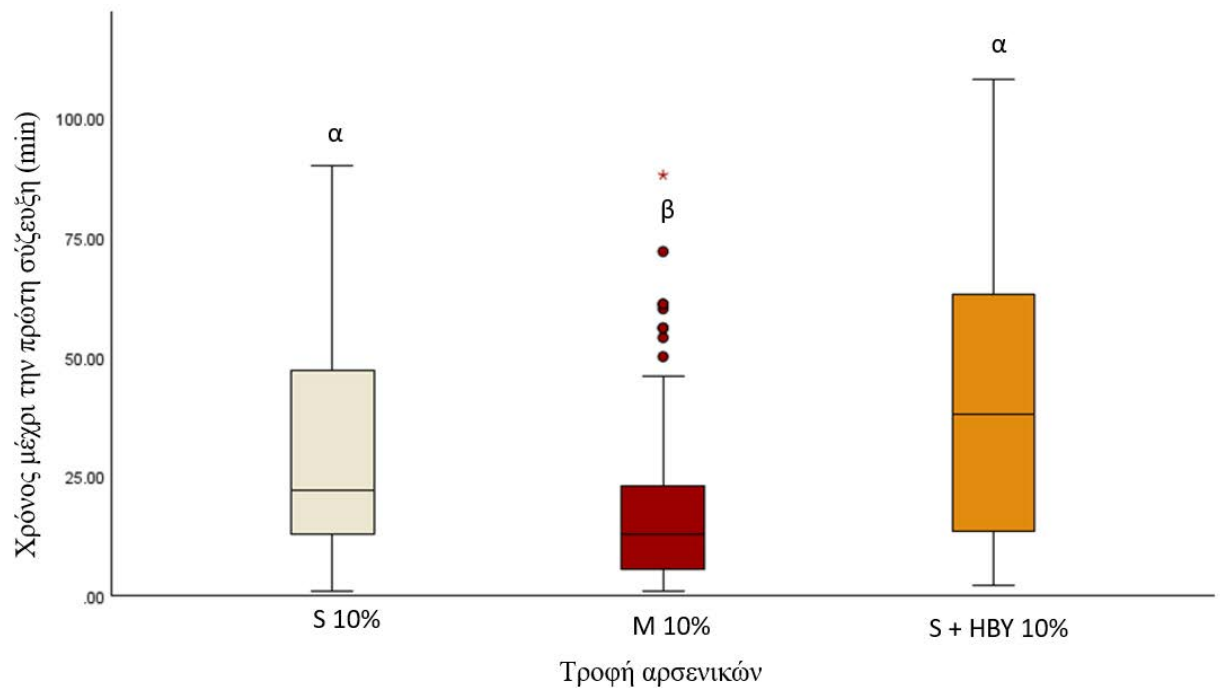
5.2 Αποτελέσματα της επίδρασης της τροφής των αρσενικών στην ικανότητα σύζευξης

Η ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics) έδειξε ότι η επιτυχία σύζευξης δεν επηρεάστηκε από τη τροφή των αρσενικών (Wald $\chi^2 = 18,131$, $d=2$, $P=0,154$). Οι ανά δύο συγκρίσεις που προέκυψαν από υπολογισμό του χ^2 (chi square test) έδειξε ότι διαφέρουν στατιστικά σημαντικά. Το μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας σύζευξης παρουσιάστηκε με αρσενικά που τράφηκαν στη Μ 10% και διέφερε στατιστικά από τις υπόλοιπες, όπως προέκυψε από τις μεταξύ τους συγκρίσεις (Διάγραμμα 5).



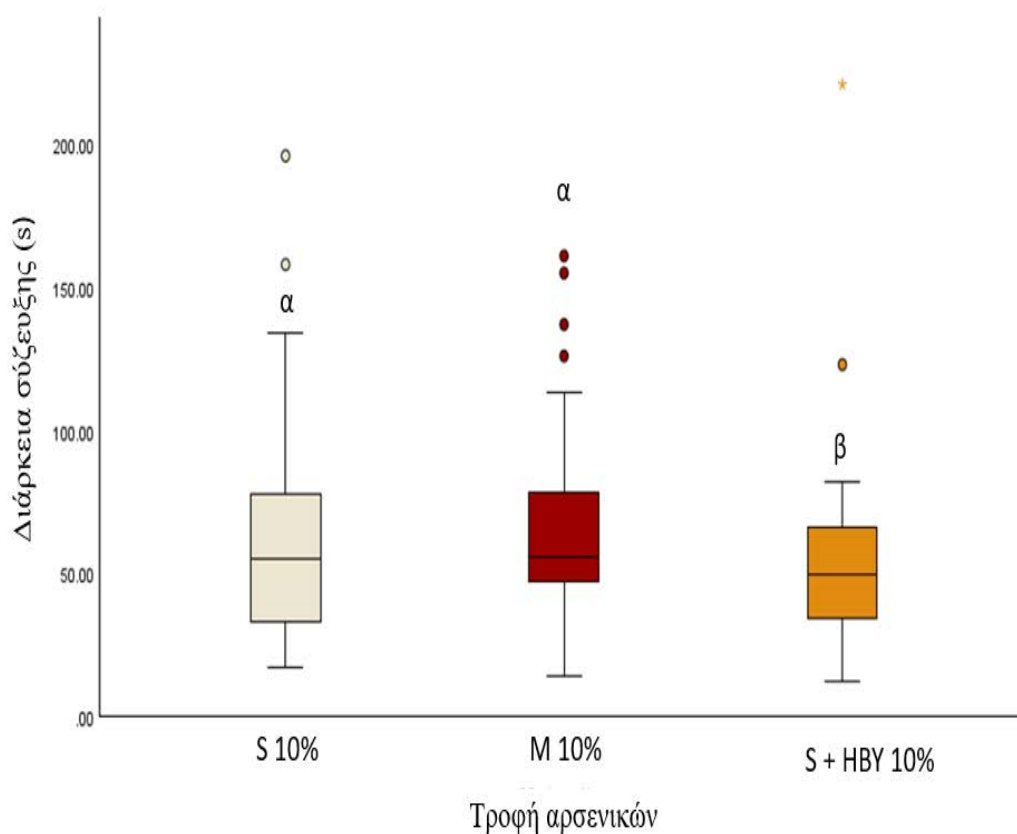
Διάγραμμα 5: Επιτυχία σύζευξης επί τις εκατό (%), θηλυκών με αρσενικά που έλαβαν διαφορετικές τροφές: διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%), διάλυμα μελάσας 10% (M 10%) ή διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μύρας 2% (S+HBY 10%). Το ποσοστό επιτυχίας της σύζευξης με αρσενικά που τράφηκαν με M 10% είναι 98%, σε αυτά που τράφηκαν με S10% είναι 91% και σε αυτά που τράφηκαν με (S+HBY 10% είναι 87%. Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (χ^2 , $P < 0.05$).

Το μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) έδειξε ότι η τροφή των ενήλικων αρσενικών επηρέασε το χρόνο μέχρι τη πρώτη σύζευξη (Wald $\chi^2 = 18.131$, $d=2$, $P < 0.001$) Από τις ανά δύο συγκρίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων όπως προέκυψαν από το long rang test φαίνεται ότι ο χρόνος μέχρι τη σύζευξη με αρσενικά που τράφηκαν με M 10% ήταν σημαντικά μικρότερος συγκριτικά με τις υπόλοιπες τροφές S 10% ή S + HBY 10% (Διάγραμμα 6).



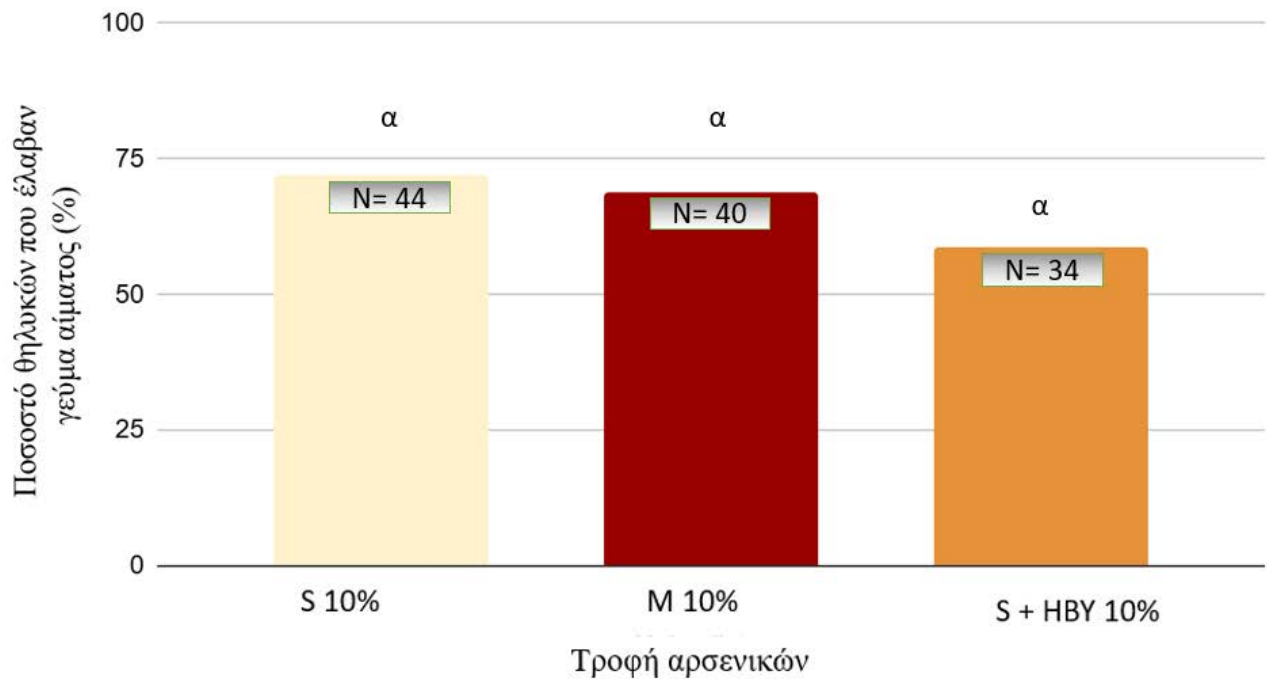
Διάγραμμα 6: Χρόνος σε λεπτά μέχρι την πρώτη σύζευξη μεταξύ θηλυκών που τράφηκαν σε διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%) με αρσενικά που τράφηκαν με τρεις διαφορετικές τροφές (διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%), διάλυμα μελάσας 10% (M 10%) ή διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μύρας 2% (S+HBY 10%). Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμματα δεν διαφέρουν σημαντικά (log rang, $P < 0.05$).

Το μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) έδειξε ότι η τροφή των ενήλικων αρσενικών επηρέασε την διάρκεια σύζευξης (Wald $\chi^2=6,430$, $d=2$, $P=0,40$). Οι συγκρίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων που προέκυψαν από το long rang test παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους. Τα αρσενικά που τράφηκαν με (S 10%) και (M 10%) πραγματοποίησαν σύζευξη που διήρκεσε περισσότερο σε σχέση με αυτά που είχαν τραφεί με (S+HBY 10%) (Διάγραμμα 7)



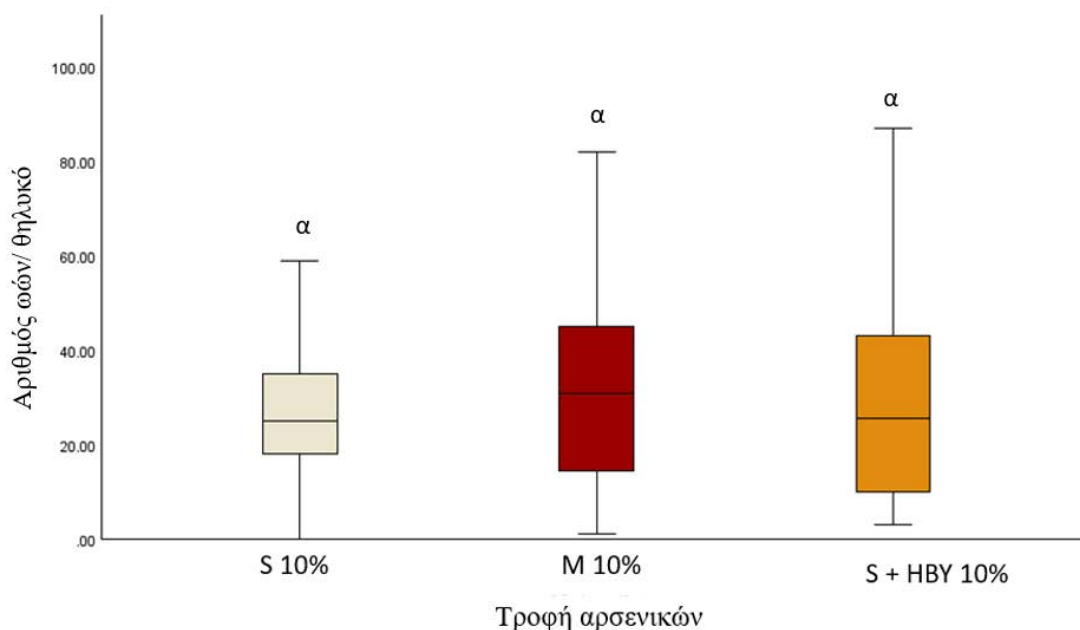
Διάγραμμα 7: Επίδραση της τροφής των ενήλικών αρσενικών (διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%), διάλυμα μελάσας 10% (M 10%) ή διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μύρας 2% (S+HBY 10%) στην διάρκεια σύζευξης. Η διάρκεια μετρίεται σε δευτερόλεπτα (s). Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (log rang, $P < 0.05$).

Η ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics) έδειξε ότι τα θηλυκά που είχαν συζευχθεί με αρσενικά που είχαν τραφεί με S10%, M10% S+HBY 10% είχαν το ίδιο ποσοστό λήψης γεύματος αίματος (Wald $\chi^2=2,622$, $d=2$, $P=0,270$). Οι ανά δύο συγκρίσεις προέκυψαν με χ^2 (chi square test) έδειξαν ότι οι η κάθε τροφή δεν διαφέρει με την άλλη (Διάγραμμα 8)



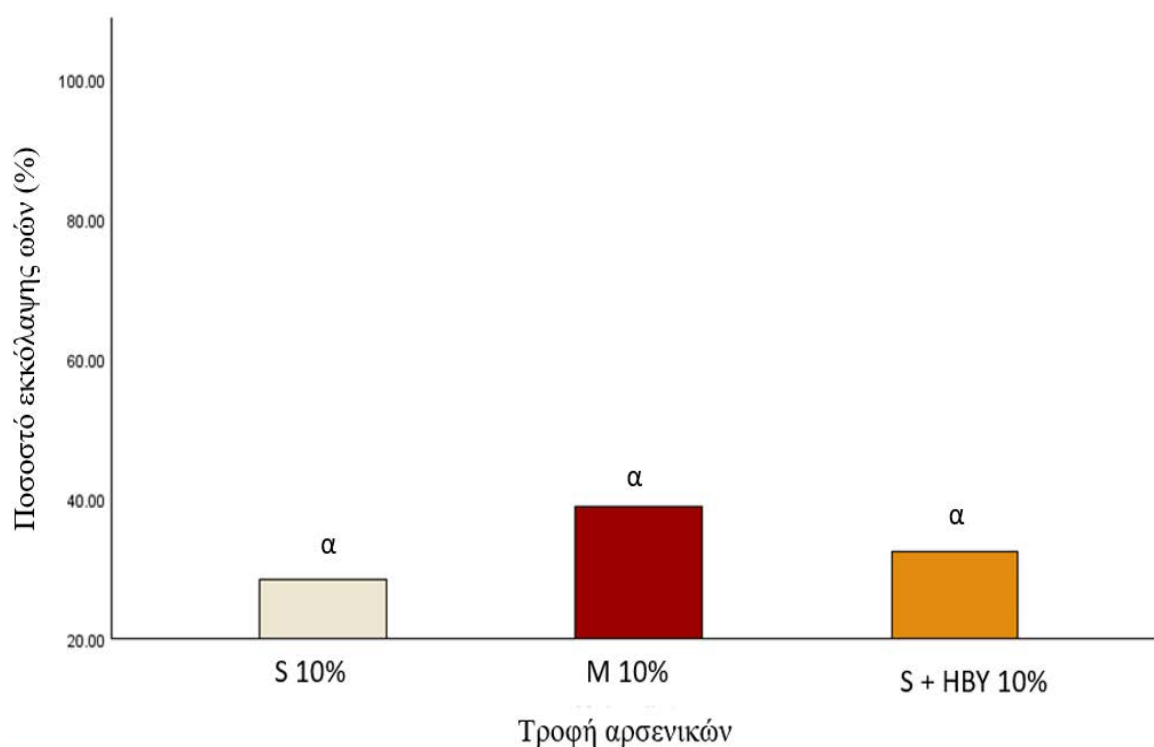
Διάγραμμα 8 : Ποσοστό επί τις εκατό επιτυχίας μύζησης αίματος των θηλυκών, κατόπιν σύζευξης με αρσενικά που είχαν τραφεί με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%), διάλυμα μελάσας 10% (M 10%) ή διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2% (S+HBY 10%). Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (χ^2 , $P < 0.05$).

Η ανάλυση διακύμανσης με έναν παράγοντα (One-way Anova) έδειξε ότι ο αριθμός των ωών που προήλθαν από θηλυκά που είχαν συζευχθεί με αρσενικά που τρέφονταν με S 10%, ή M 10% ή S+HBY 10% δεν διαφέρει ($F=0,553$, $d=2$, $P=0,577$). Οι ανά δύο συγκρίσεις προέκυψαν με post-hoc τεστ έδειξαν ότι οι η κάθε τροφή δεν διαφέρει με την άλλη (Διάγραμμα 9).



Διάγραμμα 9: Η επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών (διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%), διάλυμα μελάσας 10% (M 10%) ή διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2% (S+HBY 10%)) στον αριθμό των ωών που ωοτόκησαν τα θηλυκά που συζευχθήκαν με τα αντίστοιχα αρσενικά. Νούμερα που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (post - hoc, $P < 0.05$).

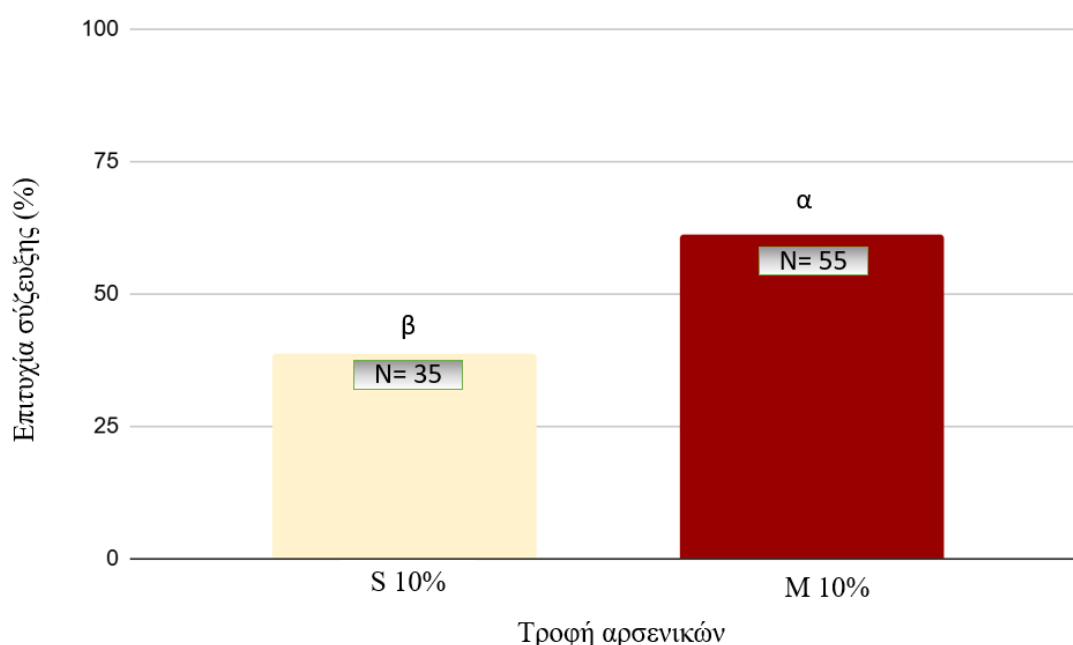
Η ανάλυση διακύμανσης με έναν παράγοντα (One-way Anova) έδειξε ότι η εκκόλαψη των ωών που προέρχονται από θηλυκά που έχουν συζευχθεί με διαφορετικές τροφές (S 10%, ή M 10% ή S+HBY 10%) δεν διαφέρει ($F=1,978$, $d=2$, $P=0,143$). Από τις ανά δύο συγκρίσεις, που προέκυψαν με χ^2 (chi square test) έδειξαν ότι οι η κάθε τροφή δεν διαφέρει με την άλλη (Διάγραμμα 10).



Διάγραμμα 10: Η ποσοστιαία επί τις εκατό επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών στην εκκόλαψη των ωών που προήλθαν από θηλυκά που συζεύχθηκαν με τα αντίστοιχα αρσενικά που τράφηκαν με την αντίστοιχη τροφή (διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%), διάλυμα μελάσας 10% (M 10%) ή διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2% (S+HBY 10%)). Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (post – hoc, $P < 0.05$).

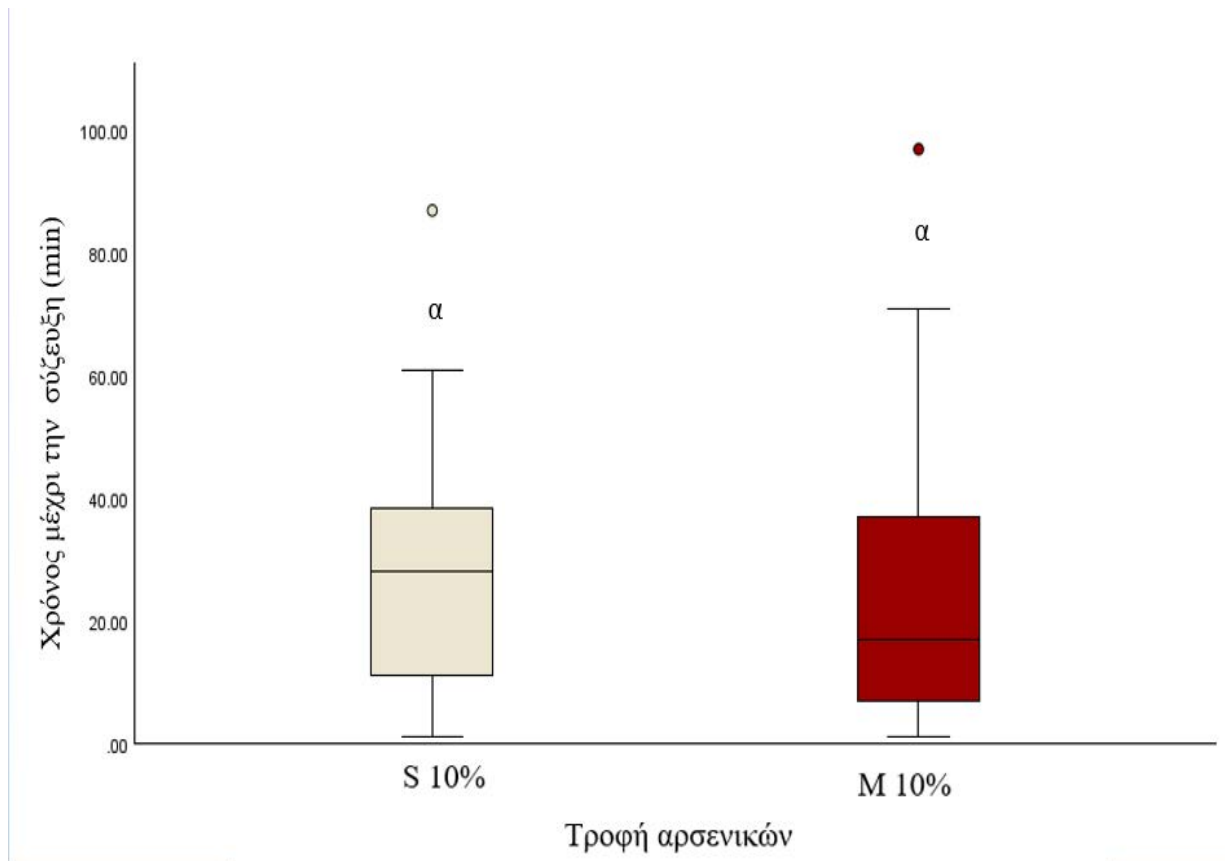
5.3 Επίδρασης της τροφής των αρσενικών στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης

Η ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics) έδειξε σημαντική επίδραση της τροφής των αρσενικών στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης (χ^2 -square= 8.81, d=1, $P=0,002$). Η σύγκριση ανά δυο με τον υπολογισμό του χ^2 (χ^2 square test) έδειξε ότι τα ποσοστά θηλυκών που επέλεξαν σύζευξη με αρσενικά που τράφηκαν με M10% ήταν υψηλότερα από εκείνα που προτίμησαν σύζευξη με αρσενικά που είχαν τραφεί σε S10 (Διάγραμμα 11).



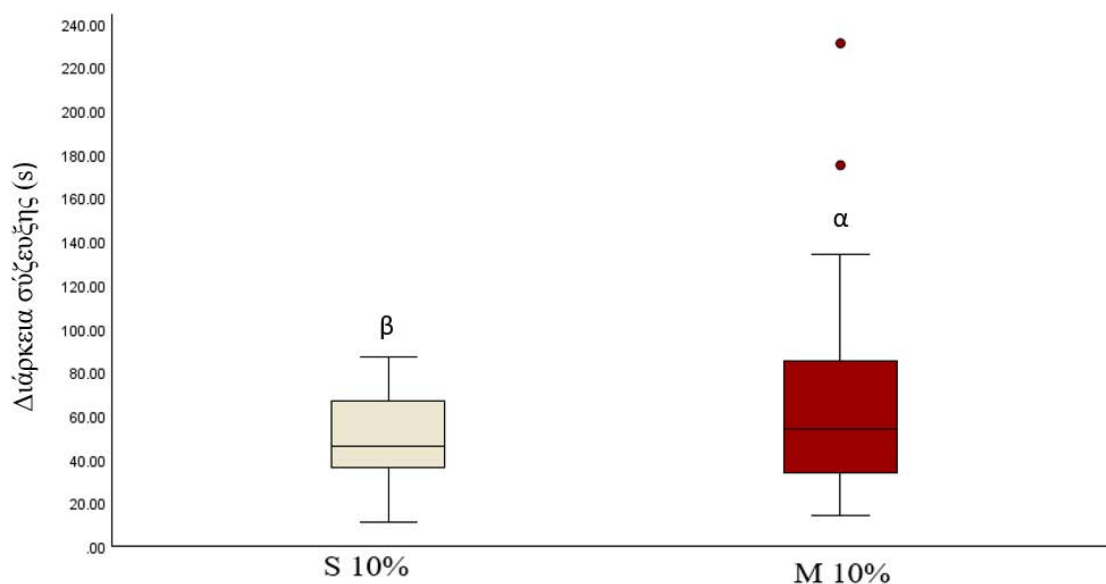
Διάγραμμα 11: Επιτυχία σύζευξης (%) θηλυκών που επέλεξαν σύζευξη με αρσενικά που τράφηκαν σε διαφορετικές δίαιτες (διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%) και διάλυμα μελάσας 10% (M 10%). Ποσοστά που συνοδεύονται από το διαφορετικά γράμματα διαφέρουν σημαντικά (χ^2 , $P < 0.05$)

Σύμφωνα με το μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) η τροφή των ενήλικων αρσενικών δεν επηρέασε τον χρόνο μέχρι την πρώτη σύζευξη (Wald $\chi^2=0,367$, d=1, $P=0,545$). Από τις ανά δυο συγκρίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων, όπως προέκυψαν από το long rang test που έγιναν δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους (Διάγραμμα 12).



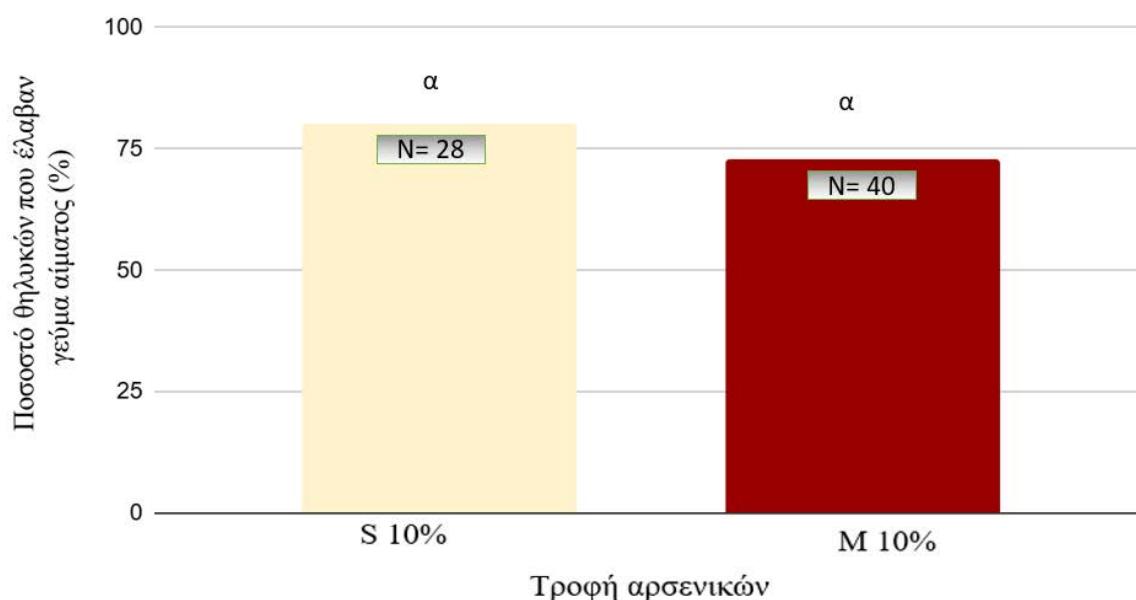
Διάγραμμα 12: Ο χρόνος σε λεπτά μέχρι την σύζευξη με παράγοντα την τροφή των αρσενικών (διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%) και διάλυμα μελάσας 10% (M 10%)). Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (long rang, $P < 0.05$).

Στο μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) φαίνεται ότι η τροφή των ενήλικων αρσενικών επηρέασε τη διάρκεια σύζευξης (Wald $\chi^2=6,374$, $d=1$, $P=0,012$). Από τις ανά δύο συγκρίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων, όπως προέκυψαν από το long rang test παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους. Η διάρκεια σύζευξης θηλυκών με αρσενικά που τράφηκαν σε M10% ήταν μεγαλύτερη συγκριτικά με εκείνα που τράφηκαν σε S10% (Διάγραμμα 13).



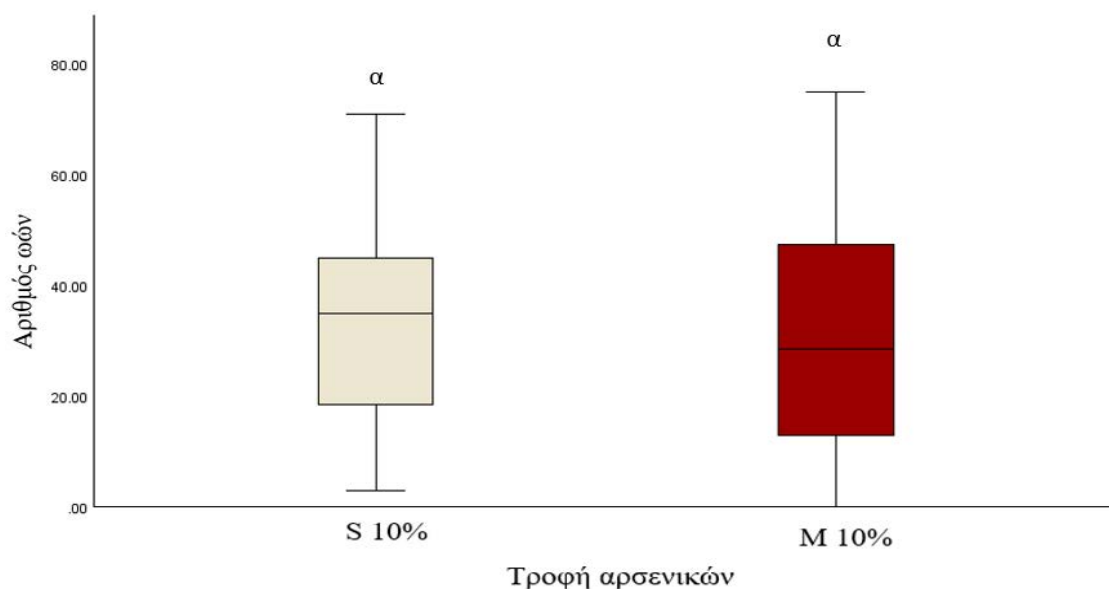
Διάγραμμα 13: Διάρκεια σύζευξης θηλυκών με αρσενικά που τράφηκαν σε διαφορετικές δίαιτες (διάλυμα ζάχαρης 10% και διάλυμα μελάσας 10%) στην διάρκεια σύζευξης. Η διάρκεια μετριέται σε δευτερόλεπτα (s). Ποσοστά που συνοδεύονται από το διαφορετικά γράμματα διαφέρουν σημαντικά (long rang, $P < 0.05$)

Η ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics) έδειξε ότι τα ποσοστά μύζησης αίματος θηλυκών που συζευχτήκαν με αρσενικά που τράφηκαν σε διαφορετικές τροφές S 10%, M 10% δεν παρουσιάζουν σημαντικές διαφορές (Wald $\chi^2=0,302$, $d=1$, $P=0,583$). Η σύγκριση ανά δυο με τον υπολογισμό του χ^2 (*chi square test*) έδειξε ότι δεν διαφέρουν μεταξύ τους και παρουσιάζουν παρόμοια ποσοστά (περίπου 75%) (Διάγραμμα 14).



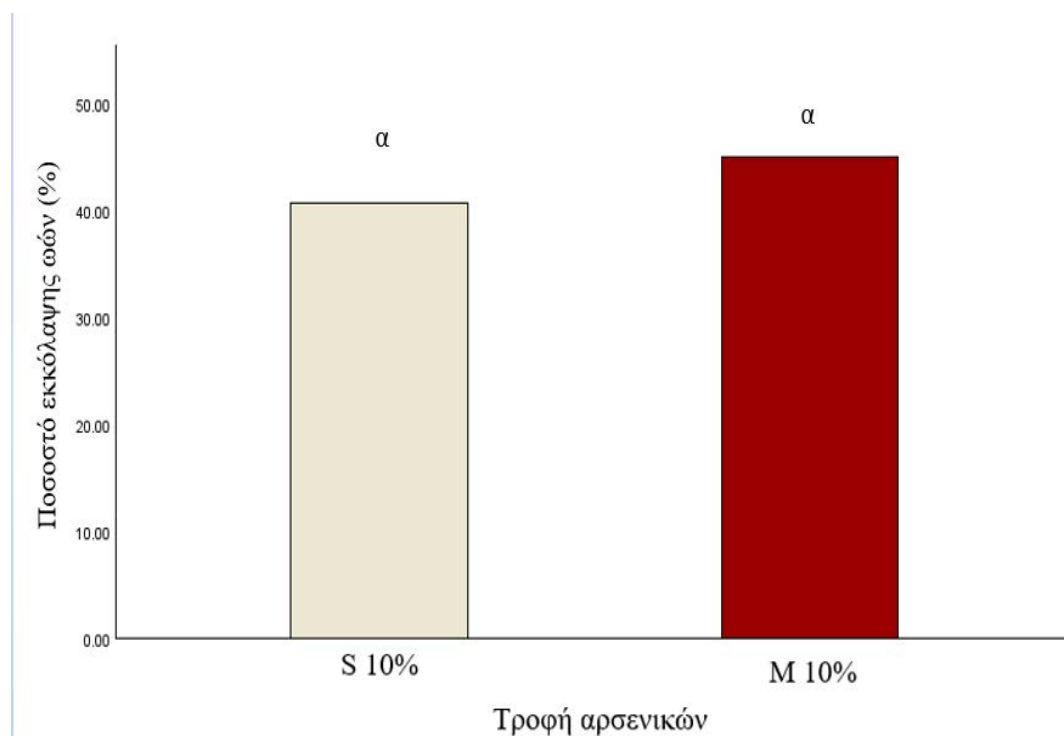
Διάγραμμα 14: Ποσοστό επί τις εκατό επιτυχίας μύζησης αίματος των θηλυκών κατόπιν σύζευξης με αρσενικά που είχαν τραφεί με διαφορετικές δίαιτες (διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%) και διάλυμα μελάσας 10% (M 10%)). Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (χ^2 , $P < 0.05$).

Σύμφωνα με τη ανάλυση διακύμανσης με έναν παράγοντα (One-way Anova) ο αριθμός των ωών που προέκυψε από θηλυκά που είχαν συζευχθεί με αρσενικά που είχαν τραφεί σε διαφορετικές δίαιτες S 10%, M 10% δεν διαφέρει ($F=0,340$, $d=1$, $P=0,562$). Η σύγκριση ανά δυο με post- hoc test έδειξε ότι δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές (Διάγραμμα 15).



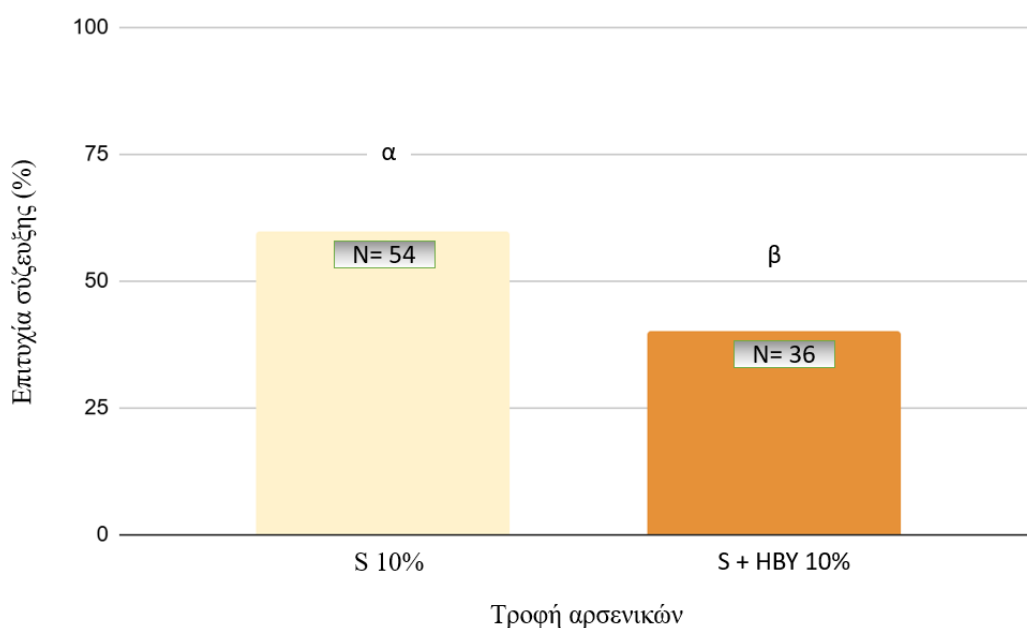
Διάγραμμα 15: Αριθμός ωών που ωοτόκησαν θηλυκά που συζευχθήκαν με τα αρσενικά που τράφηκαν σε διαφορετικές δίαιτες (διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%) και διάλυμα μελάσας 10% (M 10%)). Νούμερα που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (post - hoc, $P < 0.05$).

Σύμφωνα με τη ανάλυση διακύμανσης με έναν παράγοντα (One-way Anova) ο αριθμός των προνυμφών που προέκυψαν από τα ωά των θηλυκών που προήλθαν μετά τη σύζευξη με αρσενικά που τράφηκαν σε διαφορετικές δίαιτες (διάλυμα μελάσας 10% και διάλυμα ζάχαρης 10%) δεν διαφέρει. Η σύγκριση ανά δυο με τον υπολογισμό του post-hoc test έδειξε ότι δεν παρουσιάζουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($F=0,501$, $d=1$, $P=0,481$) (Διάγραμμα 16)



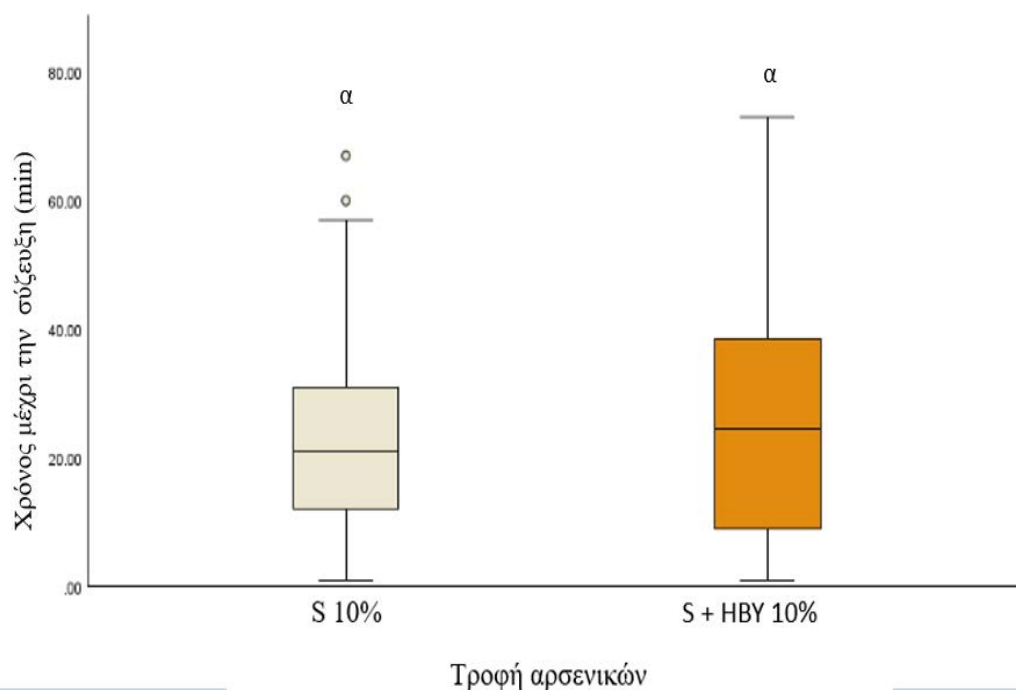
Διάγραμμα 16: Εκκόλαψη των ωών που προήλθαν από θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που είχαν τραφεί σε διαφορετικές δίαιτες (με διάλυμα ζάχαρης 10% (S 10%) και διάλυμα μελάσας 10% (M 10%). Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (post - hoc, $P < 0.05$).

Η ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics) έδειξε ότι το ποσοστό επιτυχίας σύζευξης διαφέρει μεταξύ των αρσενικών που τράφηκαν με S10% και S + HBY 10% (χ^2 -square=7.22, d=1, $P=0.007$). Η σύγκριση ανά δυο με τον υπολογισμό του χ^2 (χ^2 square test) έδειξε ότι η προτίμηση των θηλυκών διαφέρει σημαντικά μεταξύ των αρσενικών που είχαν τραφεί με S10% και S + HBY 10%, αντίστοιχα. τα ποσοστά προτίμησης των αρσενικών που είχαν τραφεί με S10% είναι μεγαλύτερα σε σύγκριση με την προτίμηση αρσενικών που είχαν τραφεί με S + HBY 10% (Διάγραμμα 17).



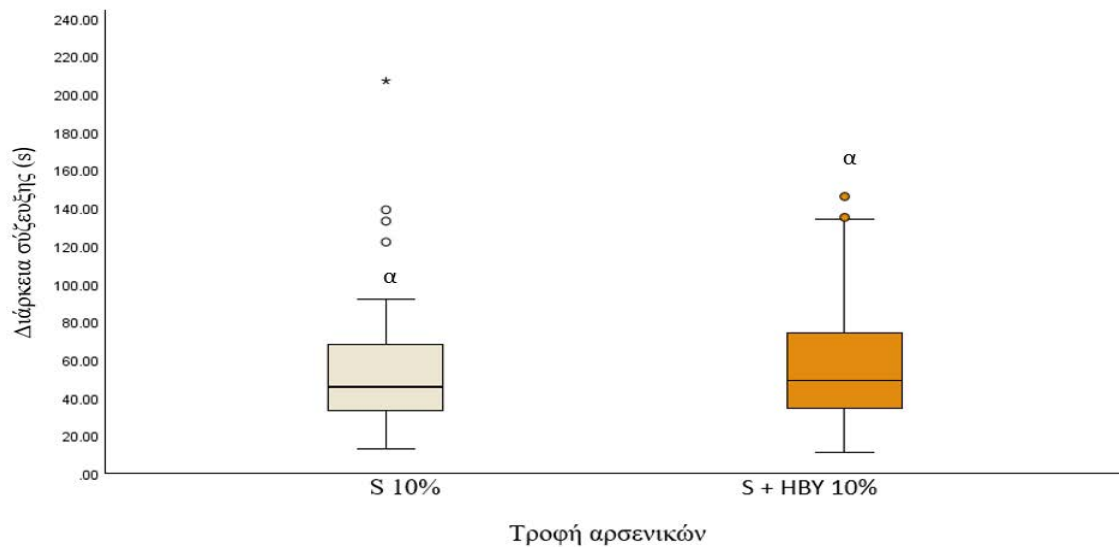
Διάγραμμα 17: Ποσοστά επιτυχίας σύζευξης με παράγοντα την διαφορετική τροφή των ενηλίκων που ήταν διάλυμα ζάχαρης 10% (S10%) και διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2% (S + HBY 10%). Ποσοστά που συνοδεύονται από το διαφορετικό γράμμα διαφέρουν σημαντικά (χ^2 , $P < 0.05$).

Το μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) έδειξε ότι η τροφή των ενήλικων αρσενικών δεν επηρέασε τον χρόνο μέχρι την πρώτη σύζευξη (Wald $\chi^2=1,208$, $d=1$, $P=0,272$). Από τις ανά δύο συγκρίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων, όπως προέκυψαν από long rang test που έγιναν δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους και τα αρσενικά που είχαν τραφεί με διάλυμα S + HBY 10% δεν διαφέρουν με τα αρσενικά που είχαν τραφεί S10% (Διάγραμμα 18).



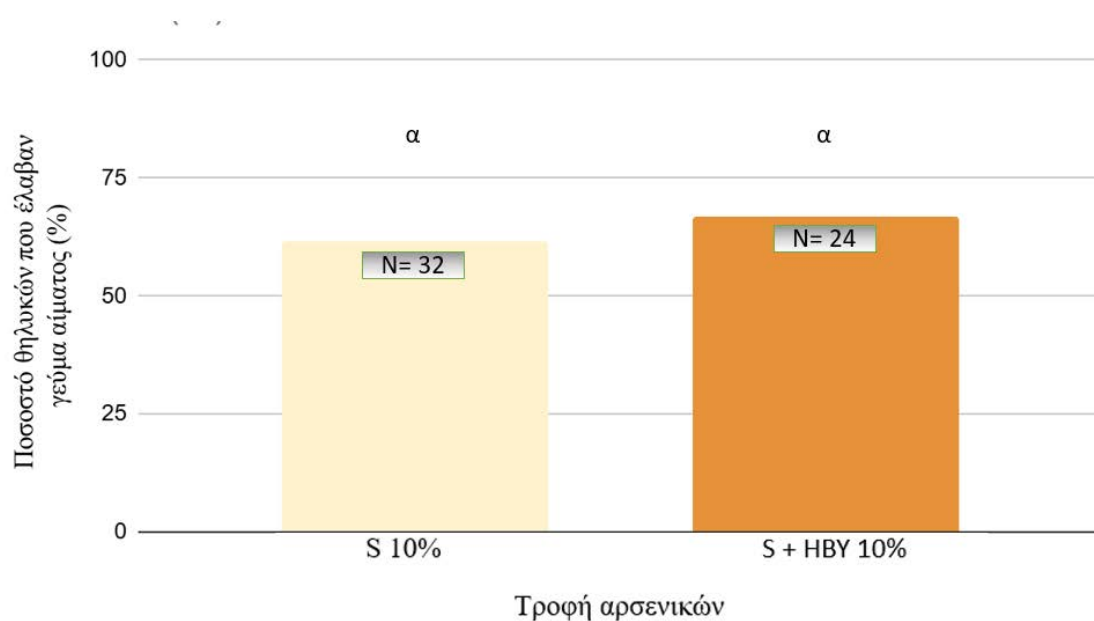
Διάγραμμα 18: Ο χρόνος μέχρι την πρώτη σύζευξη με παράγοντα την τροφή των αρσενικών (διάλυμα ζάχαρης 10% (S10%) και διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μύρας 2%(S + HBY 10%)). Ο χρόνος μετριέται σε λεπτά (min). Νούμερα που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (long rang, $P < 0.05$).

Το μοντέλο αναλογικού κινδύνου (Cox regression) έδειξε ότι η τροφή των ενήλικων αρσενικών δεν επηρέασε την διάρκεια σύζευξης (Wald $\chi^2=0,055$, $d=1$, $P=0,814$). Οι ανά δύο συγκρίσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων από το long rang test που έγιναν δεν παρουσιάζουν διαφορές μεταξύ τους. Τα αρσενικά που είχαν τραφεί με S + HBY 10% είχαν την ίδια διάρκεια σύζευξης από τα αρσενικά που είχαν τραφεί με S10% (Διάγραμμα 19).



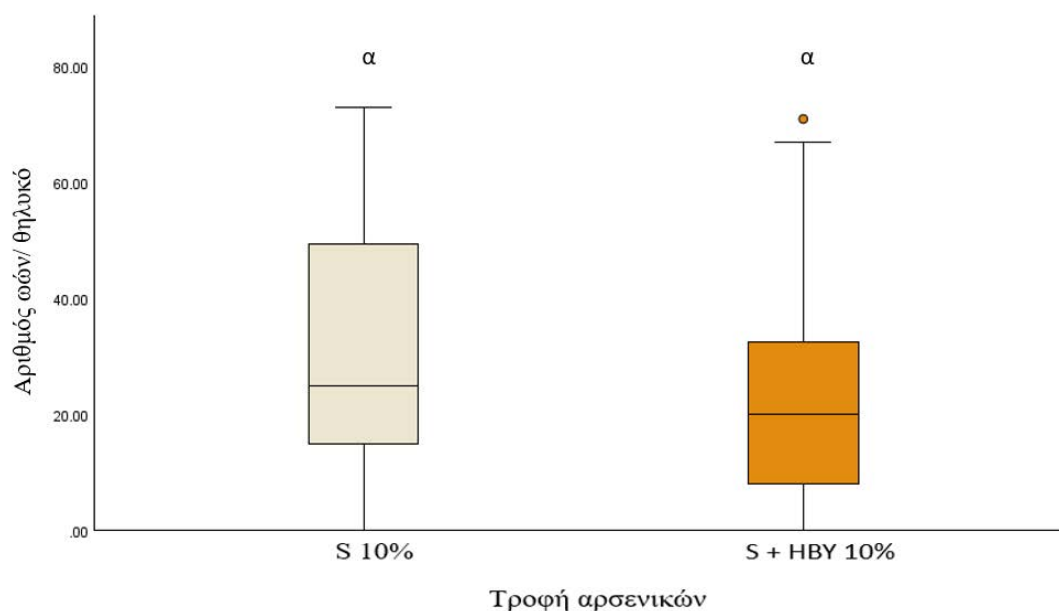
Διάγραμμα 19: Η επίδραση της τροφής των ενηλίκων αρσενικών (διάλυμα ζάχαρης 10% (S10%) και διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μύρας 2% (S + HBY 10%)) στην διάρκεια σύζευξης. Ο χρόνος μετριέται σε λεπτά (min). Νούμερα που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (long rang, $P < 0.05$).

Η ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης (Binary Logistics) έδειξε ότι δεν διαφέρουν τα ποσοστά μύζησης αίματος των θηλυκών που είχε προηγηθεί σύζευξη είτε με S10% είτε S + HBY 10% (Wald $\chi^2=0,075$, d=1, $P=0,784$). Η σύγκριση ανά δυο με τον υπολογισμό του χ^2 (chi square test) έδειξε ότι δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (Διάγραμμα 20).



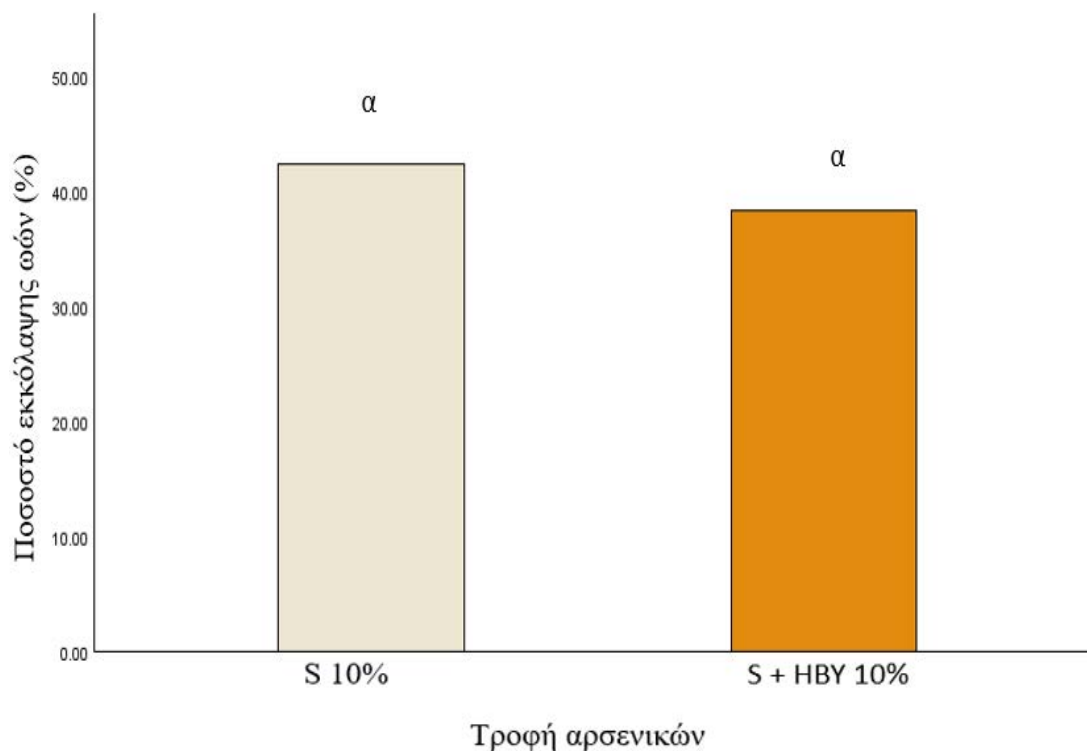
Διάγραμμα 20 : Ποσοστό επιτυχίας λήψης γεύματος αίματος των θηλυκών κατόπιν σύζευξης με αρσενικά που είχαν τραφεί είτε με διάλυμα ζάχαρης 10% (S10%) είτε με διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μύρας 2%(S + HBY 10%). Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (χ^2 , $P < 0.05$).

Σύμφωνα με τη ανάλυση διακύμανσης με έναν παράγοντα (One-way Anova) ο αριθμός των ωών που προέκυψε από θηλυκά που είχαν συζευχθεί με αρσενικά που είχαν τραφεί είτε με S10% είτε με S + HBY 10% δεν διαφέρει ($F=1,240$, $d=1$, $P=0,270$). Η σύγκριση ανά δυο με τον υπολογισμό του χ^2 (*chi square test*) έδειξε ότι δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (Διάγραμμα 21).



Διάγραμμα 21: Η επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών στον αριθμό των ωών που ωοτόκησαν τα θηλυκά που συζευχθήκαν με τα αρσενικά που τράφηκαν με διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μύρας 2% (S + HBY 10%) και διάλυμα ζάχαρης 10% (S10%). Νούμερα που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (post - hoc, $P < 0.05$).

Σύμφωνα με τη ανάλυση διακύμανσης με έναν παράγοντα (One-way Anova) ο αριθμός των προνυμφών που προέκυψαν από τα ωά των θηλυκών που προήλθαν μετά τη σύζευξη με αρσενικά που τράφηκαν με S10% ή S + HBY 10% δεν εντοπίζονται στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($F= 0,449$, $d=1$, $P=0,506$). Η σύγκριση ανά δυο με τον υπολογισμό του post-hoc test έδειξε ότι δεν διαφέρουν (Διάγραμμα 22).



Διάγραμμα 22: η επίδραση της τροφής των ενήλικων αρσενικών στην εκκόλαψη των ωών που προήλθαν από θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που είχαν τραφεί με διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μύρας 2% (S + HBY 10%) και διάλυμα ζάχαρης 10% (S10%). Ποσοστά που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (post - hoc, $P < 0.05$).

6. Συζήτηση

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων προέκυψε ότι η λήψη αίματος επηρεάζεται από τη κατάσταση σύζευξης ενός κουνουπιού *Ae. Albopictus*. Στο δεύτερο κομμάτι των πειραμάτων συμπεραίνεται ότι θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που τράφηκαν με M 10% είχαν μεγαλύτερα ποσοστά επιτυχίας σύζευξης και καλύτερα χαρακτηριστικά σύζευξης σε σύγκριση με αρσενικά που τράφηκαν με άλλες δίαιτες (S10% και S + HBY 10%). Τέλος, το ποσοστό επιτυχίας μύζησης αίματος, ο αριθμός των ωών και η εκκολαψιμότητα δεν επηρεάζονται από την τροφή των ενήλικων αρσενικών. Στο τελευταίο πείραμα παρατήρησης της ανταγωνιστικότητας των αρσενικών (που τράφηκαν με διαφορετικές τροφές με M10% και S10 % στη σύζευξη, το μεγαλύτερο ποσοστό επιτυχίας της σύζευξης είχαν τα αρσενικά που τράφηκαν με M 10%. Επίσης στη δεύτερη σύγκριση ανταγωνιστικότητας των αρσενικών που περιλάμβανε αρσενικά που τράφηκαν με S + HBY 10% και S10% είχε μεγαλύτερο ποσοστό προτίμησης των θηλυκών στα αρσενικά που είχαν τραφεί με διά S 10%.

Από τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής προέκυψε ότι, τα θηλυκά κουνούπια του είδους *Ae. albopictus* τρέφονται με αίμα ακόμα και χωρίς να έχει προηγηθεί σύζευξη. Οι Houseman και Downe έδειξαν ότι η κατάσταση σύζευξης επηρεάζει τις πεπτικές διεργασίες στα θηλυκά κουνούπια *Ae. aegypti*. Μέτρησαν το μέγεθος του γεύματος αίματος και της δραστηριότητας πρωτεϊνών, εντοπίζοντας διαφορές μεταξύ των συζευγμένων και μη θηλυκών. Η κύρια παρατήρηση τους ήταν στο μέγεθος του γεύματος αίματος όπου τα συζευγμένα θηλυκά καταναλώνουν μεγαλύτερες ποσότητες αίματος σε σύγκριση με τα μη συζευγμένα και συμπέραναν ότι η κατάσταση σύζευξης επηρεάζει σημαντικά τις πεπτικές λειτουργίες στα θηλυκά *Ae. aegypti* (Houseman and Downe, 1986). Οι Farjana και Nobuko διερευνήσαν πώς η μύζηση αίματος επηρεάζει τη συμπεριφορά σύζευξης στα κουνούπια *Ae. aegypti* και *Ae. albopictus*. Κύριο εύρημα αποτέλεσε ότι τα θηλυκά και των δύο ειδών συζευγνύονται τόσο πριν όσο και μετά την αιμοληψία και το *Ae. aegypti* έχει υψηλότερη συχνότητα σύζευξης πριν την αιμοληψία, ενώ το *Ae. albopictus* εμφανίζει μεγαλύτερη μείωση στη συχνότητα σύζευξης μετά την λήψη αίματος (Farjana and Nobuko, 2018). Έτσι συμπεραίνεται ότι τα θηλυκά κουνούπια *Ae. albopictus* απαιτούν γεύμα αίματος για την ανάπτυξη των ωών τους. Η λήψη αίματος δεν εξαρτάται από το αν έχουν συζευχθεί ή όχι. Ακόμη και τα μη συζευγμένα θηλυκά μπορούν να τραφούν με αίμα, αλλά η

παραγωγή γόνιμων ωών απαιτεί σύζευξη. Επιπλέον, όπως προέκυψε από τα πειράματα μας η δυνατότητα σύζευξης και η σύζευξη επηρεάζουν τον αριθμό των ωών που μπορεί να γεννήσει ένα θηλυκό κουνούπι *Ae. Albopictus*. Το ίδιο είχε αναφέρει και ο Klowden, ο οποίος υπέδειξε ότι η επίδραση της σύζευξης είναι σημαντική στην ωοπαραγωγή, πιο συγκεκριμένα αναφέρει ότι συζευγμένα θηλυκά είναι πιο πιθανό να αναπτύξουν ωά μετά από γεύμα αίματος σε σύγκριση με μη συζευγμένα και αυτό το αποδίδει στις ουσίες που μεταφέρουν οι αρσενικοί αδένες κατά τη διάρκεια της σύζευξης (Klowden, 1993). Τέλος, το γεύμα αίματος, και η κατάσταση της σύζευξης δεν επηρεάζουν την διάρκεια ζωής των θηλυκών κουνουπιών *Ae. albopictus*. Το γεύμα αίματος που δόθηκε σε όλα τα κουνούπια του πειράματος ήταν ανθρώπινο, αν η πηγή ήταν διαφορετική όπως για παράδειγμα από βοοειδή, κοτόπουλα, χοίρους ή πρόβατα θα μπορούσε να επηρεάζει και την γονιμότητα αλλά και την μακροβιότητα όπως συμβαίνει στο *Anopheles gambiae* και απέδειξε ο Chikwendu ότι τα κουνούπια που τρέφονται με ανθρώπινο και βοοειδές αίμα έζησαν περισσότερο από εκείνα που τράφηκαν με αίμα από άλλα ζώα (Chikwendu, 2019). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων προέκυψε ότι η λήψη αίματος επηρεάζεται από τη κατάσταση σύζευξης ενός κουνουπιού *Ae. albopictus* και τα συζευγμένα κουνούπια λαμβάνουν πιο εύκολα γεύμα αίματος συγκριτικά με τα μη συζευγμένα και τα παρθένα. Ωστόσο, ο αριθμός των παρθένων και ασύζευχτων δεν είναι αμελητέος και η ανάγκη περεταίρω έρευνας κρίνεται επιτακτική.

Υπάρχει επιτακτική ανάγκη για ανάπτυξη εργαλείων καταπολέμησης των κουνουπιών και αυτό έχει οδηγήσει σε αυξημένο ενδιαφέρον για τη διατροφή των ενηλίκων, η οποία μπορεί να προσδώσει ορισμένα χαρακτηριστικά στα ενήλικα κουνούπια. Η τεχνική εξαπόλυσης στείρων εντόμων βασίζεται στην εξαπόλυση αρσενικών με αυξημένη αρμοστικότητα (fitness) που θα είναι ικανά να ανταγωνιστούν τα άγρια αρσενικά. Γενικά, η επίδραση της τροφής ενός εντόμου είναι σημαντική σε βιολογικά και μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως για παράδειγμα η μακροβιότητα. Αύξηση της μακροβιότητας μέσω του διατροφικού περιορισμού έχει παρατηρηθεί σε ποικίλους οργανισμούς (Mair and Dillin, 2008), συμπεριλαμβανομένων εντόμων όπως η μύγα της Μεσογείου, η οικιακή μύγα και κάποιες πεταλούδες (όπως η *Speyeria Mormonia* (Lepidoptera: Nymphalidae)) (Carey et al., 2002, Cooper et al., 2004, Boggs and Ross, 1993, Scott et al., 1993).

Για πολλά έτη, βασισμένο σε δημοσιευμένες έρευνες και εμπειρία από την εκτροφή εργαστηριακών κουνουπιών, ήταν κοινώς αποδεκτό ότι τα κουνούπια πρέπει να τρέφονται με ζάχαρη για να αποκτήσουν την ενέργεια που είναι απαραίτητη για την επιβίωσή τους (Foster, 1995). Τα αρσενικά τρέφονται αποκλειστικά με σάκχαρα. Κατά συνέπεια, η σεξουαλική τους ωρίμανση και η αναπαραγωγική τους επιτυχία εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την πρόσβαση σε πηγές ζάχαρης. Το νέκταρ των φυτών και το μελίτωμα των Ημιπτέρων είναι οι δύο κύριες πηγές ζάχαρης που χρησιμοποιούν τα κουνούπια στη φύση. Ωστόσο, λίγα είναι γνωστά για το πώς η σύνθεση των σακχάρων επηρεάζει τις αναπαραγωγικές διαδικασίες στα αρσενικά κουνούπια. Τα αρσενικά κουνούπια μεταφέρουν στα θηλυκά όταν συζευγνύονται, σπερματοζωάρια και συνοδά εκκρίματα που περιέχουν πρωτεΐνες και άλλες ορμόνες μαζί με το σπέρμα. Στο θηλυκό, αυτά τα συστατικά του σπερματικού υγρού ασκούν την επιρροή τους στα αναπαραγωγικά γονίδια (Abraham, 2013). Ένα από τα αποτελέσματα στα πειράματα ικανότητας σύζευξης ήταν ότι η μελάσα ως τροφή ενηλίκων αρσενικών προσδίδει καλύτερα χαρακτηριστικά σύζευξης (χρόνος μέχρι την σύζευξη και διάρκεια) σε σύγκριση με το διάλυμα ζάχαρης 10% και το διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2%. Η ποιότητα της διατροφής των αρσενικών μπορεί να επηρεάσει έμμεσα τις αναπαραγωγικές δυνατότητες των θηλυκών. Ομοίως ο Abraham εξέτασε την επίδραση της διατροφής των αρσενικών κουνουπιών στις αναπαραγωγικές λειτουργίες των θηλυκών σε δύο είδη κουνουπιών *Anopheles stephensi* και *Culex pipiens molestus* και συμπέρανε ότι θηλυκά *Anopheles stephensi* που συζεύχθηκαν με αρσενικά που είχαν τραφεί με νέκταρ παρουσίασαν διπλάσια έκφραση της γονιδιακής πρωτεΐνης βιτελογενίνης που είναι κρίσιμη για την παραγωγή ωών συγκριτικά με θηλυκά που συζευχθήκαν με αρσενικά που είχαν τραφεί με μελίτωμα. Στο άλλο είδος που μελετήθηκε τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που είχαν τραφεί με νέκταρ παρήγαγαν 11% περισσότερα ωά σε σύγκριση με αυτά που ζευγάρωσαν με αρσενικά που είχαν τραφεί με μελίτωμα (Abraham, 2013). Στο πείραμα της παρούσας διατριβής οι τρεις τροφές που χρησιμοποιήθηκαν (διάλυμα μελάσας 10%, διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2% και διάλυμα ζάχαρης 10% δεν επηρέασαν τον αριθμό ωών που ωοτόκησαν τα θηλυκά

Η ανταγωνιστικότητα σύζευξης στα κουνούπια αποτελεί κρίσιμο σημείο για την αντιμετώπιση των πληθυσμών των διαβιβαστών μέσω στρατηγικών όπως η τεχνική εξαπόλυσης των στειρωμένων εντόμων (SIT). Μελέτες διερευνούν διάφορες παραμέτρους που επηρεάζουν τη σύζευξη των κουνουπιών, όπως οι μέθοδοι

στείρωσης, η ανταγωνιστικότητα στο πεδίο, οι σχέσεις δόσης-απόκρισης και οι γενετικοί παράγοντες. Η τροφή των ενήλικων αρσενικών μπορεί να προσδώσει επιθυμητά χαρακτηριστικά στα κουνούπια και να κάνει τα αρσενικά ανταγωνιστικά έναντι των άγριων. Στα πειράματα ανταγωνιστικότητας στη σύζευξη τα αρσενικά που είχαν τραφεί με διάλυμα μελάσας 10% είχαν μεγαλύτερα ποσοστά προτίμησης από τα θηλυκά συγκριτικά με τα αρσενικά που είχαν τραφεί με διάλυμα ζάχαρης 10%, επηρεάζοντας την διάρκεια της σύζευξης. Στο δεύτερο πείραμα ανταγωνιστικότητας αρσενικά που είχαν τραφεί με διάλυμα ζάχαρης 10% είχαν μεγαλύτερα ποσοστά προτίμησης από τα αρσενικά που είχαν τραφεί με διάλυμα ζάχαρης 8% εμπλουτισμένο με υδρολυμένη μαγιά μπύρας 2% χωρίς ωστόσο να επηρεαστούν τα χαρακτηριστικά της σύζευξης, το ποσοστό μύζησης αίματος και ο αριθμός των ωών που γέννησαν τα θηλυκά. Συνεπώς το διάλυμα μελάσας 10% είναι μια τροφή που θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί σε εργαστηριακές εκτροφές κουνουπιών, κάνοντας τα εργαστηριακά κουνούπια ανταγωνιστικά έναντι των άγριων.

7. Βιβλιογραφία

1. **Abraham, B.** (2013). *The Influence of Male Diet on Life History Traits of Female Mosquitoes*. Master's Thesis, Department of Biological Sciences, Brock University, St. Catharines, ON, Canada.
2. **Adlakha, V., & Pillai, M. K. K.** (1976). *Role of male accessory gland substance in the regulation of blood intake by mosquitoes*. *Journal of Insect Physiology*, 22(10), 1441–1442
3. **Badieritakis, E., Papachristos, D., Latinopoulos, D., Stefopoulou, A., Kolimenakis, A., Bithas, K., Patsoula, E., Beleri, S., Maselou, D., Balatsos, G., & Michaelakis, A.** (2018). *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae) in Greece: 13 years of living with the Asian tiger mosquito. *Parasitology Research*, 117(2), 453–460
4. **Bahnck, C.M., & Fonseca, D.M.** (2006). *Rapid assay to identify the two genetic forms of Culex (Culex) pipiens L. (Diptera: Culicidae) and hybrid populations*. *Am J Trop Med Hyg.* 75(2): 251-5.
5. **Balatsos, G., Karras, V., Puggioli, A., Balestrino, F., Bellini, R., Papachristos, D. P., Milonas, P. G., Papadopoulos, N. T., Malfacini, M., Carrieri, M., Kapranas, A., Mamai, W., Mastronikolos, G., Lytra, I., Bouyer, J., & Michaelakis, A.** (2024). *Sterile Insect Technique (SIT) field trial targeting the suppression of Aedes albopictus in Greece*. *Parasite*, 31, 17.
6. **Balatsos, G., Puggioli, A., Karras, V., Lytra, I., Mastronikolos, G., Carrieri, M., Malfacini, M., Ioannou, C. S., Balestrino, F., Bouyer, J., Petrić, D., Pajović, I., Kapranas, A., Papadopoulos, N. T., Milonas, P. G., Bellini, R., & Michaelakis, A.** (2021). *Reduction in egg fertility of Aedes albopictus mosquitoes in Greece following releases of imported sterile males*. *Insects*, 12(2), 110.
7. **Blanco-Sierra, L., Savvidou, E. C., Mpakovasili, E. D., Ioannou, C. S., Bartumeus, F., & Papadopoulos, N. T.** (2024). *Effect of water salinity on immature performance and lifespan of adult Asian tiger mosquito*. *Parasites & Vectors*, 17(1), 24.
8. **Boggs, C. L., & Ross, C. L.** (1993). *The effect of adult food limitation on life history traits in Speyeria mormonia*. *Ecology*, 74(2), 433–441.

9. **Bonizzoni M, Gasperi G, Chen X, James AA.** (2013). *The invasive mosquito species Aedes albopictus: current knowledge and future perspectives.* Trends Parasitol. 2013;29:460–8.
10. **Boyer S., J. Gilles, D. Merancienne, G. Lemperière, D. Fontenille.** (2011). *Sexual performance of male mosquito Aedes albopictus.* Med. Vet. Entomol., 25 (2011), pp. 454-459
11. **Buckley, A., A. Dawson, S.R. Moss, S.A. Hinsley, P.E Bellamy and E.A Gould.** (2003). *Serological evidence of West Nile virus, Usutu virus and Sindbis virus infection of birds in the UK.* The Journal of General Virology 84: 2807-2817
12. **Calkins, C.O.; Parker, A.G.**(2005) Sterile insect quality. In *Sterile Insect Technique Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*; Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A.S., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2005; pp. 269–296
13. **Cardamatis, J. P.** (1929). *La dengue en Grèce.* Bulletin de la Société de Pathologie Exotique Vol.22 No.4 pp.272-292
14. **Carey, J. R., Liedo, P., Harshman, L., Zhang, Y., Muller, H. G., Partridge, L., & Wang, J. L.** (2002). *Life history response of Mediterranean fruit flies to dietary restriction.* Aging Cell, 1(2), 140–148.
15. **Carvalho, D.O., Chuffi, S., Ioshino, R.S., Marques, I.C.S., Fini, R., Costa, M.K., Araújo, H.R.C., CostaDa-Silva, A.L., Kojin, B.B. and Capurro, M.L.** (2018). *Mosquito pornoscopy: observation and interruption of Aedes aegypti copulation to determine female polyandric event and mixed progeny.* PLoS One13: e0193164.
16. **Catalina Alfonso-Parra , Yasir H. Ahmed-Braimah , Ethan C. Degner, Frank W. Avila, Susan M. Villarreal, Jeffrey A. Pleiss, Mariana F. Wolfner , Laura C. Harrington.** (2016) *Mating-Induced Transcriptome Changes in the Reproductive Tract of Female Aedes aegypti.* Published: February 22, 2016
17. **Chikwendu, J. I., Onekutu, A., & Ogbonna, I. O.** (2019). *Effects of host blood on fecundity and longevity of female Anopheles mosquitoes.* International Journal of Pathogen Research, 3(2), 1–7.
18. **Clelia.O, F., Damiens, D., & Benedict, M. Q.** (2014). *Male reproductive biology of Aedes mosquitoes.* Acta Tropica, 132, S12–S19

19. **Clements. A. N.** (1992) *The biology of mosquitoes*. Volume 1: development, nutrition and reproduction.
20. **Colpitts TM, Conway MJ, Montgomery RR, Fikrig E.** 2012;25(4): *West Nile Virus: biology, transmission, and human infection*. Clin Microbiol Rev. 635-48.
21. **Cooper, T. M., Mockett, R. J., Sohal, B. H., Sohal, R. S., & Orr, W. C.** (2004). *Effect of caloric restriction on life span of the housefly, Musca domestica*. Faseb Journal, 18(3), 159–166.
22. **Culbert NJ, Gilles JRL, Bouyer J.**(2019) *Investigating the impact of chilling temperature on male Aedes aegypti and Aedes albopictus survival*. PLoS ONE. 14:e0221822
23. **Cunze, S., Kochmann, J., Koch, L. K., & Klimpel, S.** (2016). *Aedes albopictus and its environmental limits in Europe*. PLOS ONE, 11(9), e0162116.
24. **D.W. Dunn, P.A. Follett** (2017)*The Sterile Insect Technique (SIT) - an introduction Entomologia Experimentalis et Applicata*, 164 (3) pp. 151-154
25. **Danis, K., Papa, A., Papanikolaou, E., Dougas, G., Terzaki, I., Baka, A., Vrioni, G., Kapsimali, V., Tsakris, A., Kansouzidou, A., Tsiodras, S., Vakalis, N., Bonovas, S., & Kremastinou, J.** (2011) *Ongoing outbreak of West Nile virus infection in humans, Greece, July to August 2011*. Eurosurveillance, 16,34.
26. **Darsie Jr, R.F.** (1999). *Description of the pupa of Aedes cretinus Edwards, a key to the pupae of the albopictus subgroup, subgenus Stegomyia Theobald, genus Aedes Meigen, and characters to separate the European Stegomyia species (Diptera: Culicidae)*. Proceedings of the Entomological Society of Washington 101: 614-618.
27. **Delatte H, Desvars A, Bouétard A., Bord S., Gimonneau G., Vourc'h G., Fontenille D.** (2010) *Blood-feeding behavior of Aedes albopictus, a vector of chikungunya on La Reunion*. Vector-Borne and Zoonotic Diseases 10:249–258.
28. **Dieng H. , T. Satho, F. Abang, N.K.K.B. Meli, I.A. Ghani, C. Nolasco-Hipolito, H. Hakim, F. Miake, A.H. Ahmad, S. Noor, W.F. Zuharah, H. Ahmad, A.H.A. Majid, R.E. Morales** (2017). *Sweet waste extract uptake by a mosquito vector: Survival, biting, fecundity responses, and potential*

- epidemiological significance*. Acta Tropica. Volume 169, May 2017, Pages 84-92
29. **ECDC**, 2024, EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, Local transmission in mainland EU/EEA, 2010 – present.
 30. **Edgerly, J.S., Willey, M.S., & Livdahl, T.** (1993). *The community ecology of Aedes hatching: implications for a mosquito invasion*. Ecol. Entomol. 18: 123-128.
 31. **Eischen F.A, W.A. Foster.** (1983). *Life span and fecundity of adult female Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) fed aqueous extracts of pollen*. Ann. Entomol. Soc. Am., 76 , pp. 661-663
 32. **Enkerlin, E.R.**(2005) *Impact of fruit fly control programmes using the sterile insect technique*. In *Sterile Insect Technique: Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*; : Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A., Eds.; Springer: Dordrecht, The Netherlands, 2005; pp. 651–676.
 33. **Enserink M.** (2008). *A Mosquito Goes Global*. Science, 320:864-866
 34. **Estada – Franco J. G and G. B. Craig** (1995). *Biology, disease relationships and control of biology, Aedes albopictus*. Pan American health organization (World Health Organization) Technical Paper 11996: 49
 35. **Filazzola, S.F. Matter, J.S. MacIvor.** (2021), *The direct and indirect effects of extreme climate events on insects* Sci. Total Environ., 769 Article 145161,
 36. **Foster WA.**(1995) *Mosquito sugar feeding and reproductive energetics*. *Annual Review of Entomology*. 1995;40(1):443–74.
 37. **Giatropoulos A, Emmanouel N, Koliopoulos G, Michaelakis A** (2012a) *A study on distribution and seasonal abundance of Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) population in Athens, Greece*. J Med Entomol 49(2):262-9
 38. **Giatropoulos AK, Michaelakis AN, Koliopoulos GTh, Pontikakos CM** (2012b) *Records of Aedes albopictus and Aedes cretinus (Diptera: Culicidae) in Greece from 2009 to 2011*. Hellenic Plant Protection Journal 5: 49-56
 39. **Gubler D., N. Bhattacharya** (1972). *Swarming and mating of Aedes (S.) albopictus in nature*. Mosq. News, 32 (1972), pp. 219-223
 40. **Hanson, S.M., & Craig, G.B. Jr.** (1994) *Cold acclimation, diapause, and geographic origin affect cold hardiness in eggs of Aedes albopictus (Diptera: Culicidae)*. Journal of Medical Entomology, 31, 192-201.

41. **Härdling, R., Gosden, T. and Aguilée, R.** (2008). *Male mating constraints affect mutual mate choice: prudent male courting and sperm-limited females.* Am. Nat. 172: 259–271
42. **Hartman, K.** (2011). *Aedes albopictus*. Animal Diversity Web. University of Michigan Museum of Zoology. Retrieved February 2025
43. **IAEA.** (2020). Guidelines for Mass-Rearing of Aedes Mosquitoes, Hamidou Maiga, Wadaka Mamai, Hanano Yamada, Rafael Argilés Herrero and Jeremy Bouyer (eds.). Vienna, Austria. 24 pp.
44. **Impoinvil D.E., J.O. Kongere, W.A. Foster, B.N. Njiru, G.F. Killeen, J.I. Githure, J.C. Beier, A. Hassanali, B.G.J. Knols.** (2004). *Feeding and survival of the malaria vector Anopheles gambiae on plants growing in Kenya.* Med. Vet. Entomol., 18 , pp. 108-115
45. **Jia P, Chen X, Chen J, Lu L, Liu Q, Tan X.** (2017) *How does the dengue vector mosquito Aedes albopictus respond to global warming?* Parasit Vectors.10:140.
46. **Kessler S. , M. Vlimant, P.M. Guerin.** (2015). *Sugar-sensitive neurone responses and sugar feeding preferences influence lifespan and biting behaviours of the Afrotropical malaria mosquito, Anopheles gambiae*J. Comp. Physiol.,pp. 317-329
47. **Klowden, M. J.** (1993). *Mating and nutritional state affect the reproduction of Aedes albopictus mosquitoes.* Journal of the American Mosquito Control Association, 9(1), 169–173
48. **Knipling, E.F.** (1955) *Possibilities of insect control or eradication through the use of sexually sterile males.* J. Econ. Entomol. 1955, 48, 459–469
49. **Kraemer MU, Sinka ME, Duda KA, Mylne AQ, Shearer FM, Barker CM, et al.**(2015) *The global distribution of the arbovirus vectors Aedes aegypti and Ae. albopictus.* Elife. 2015;4:e08347
50. **Kress A, Kuch U, Oehlmann J, Muller R.** (2016) *Effects of diapause and cold acclimation on egg ultrastructure: new insights into the cold hardiness mechanisms of the Asian tiger mosquito Aedes (Stegomyia) albopictus.* J Vector Ecol. 2016;41:142–50.
51. **L.M. Roth** (1948) *A study of mosquito behavior. An experimental laboratory study of the sexual behavior of Aedes aegypti (Linnaeus).*

52. **Laporta, G. Z., Potter, A. M., Oliveira, J. F. A., Bourke, B. P., Pecor, D. B., & Linton, Y.-M.** (2023). *Global distribution of Aedes aegypti and Aedes albopictus in a climate change scenario of regional rivalry* *Insects*, 14(1), 49
53. **Lehane, M., J.** (2005). *The Biology of Blood-Sucking in Insects* .Second Edition. Cambridge University Press, New York
54. **Mair, W., & Dillin, A.** (2008). *Aging and survival: the genetics of life span extension by dietary restriction. Annual Review of Biochemistry*, 77, 727–754.
55. **Malavige, G.N., S. Fernando, D.J Fernando and S.L. Senneviratne.** (2004). *Dengue viral infections*. Postgraduate Medical Journal, 80:588-601.
56. **Martin, J. L, Mosha, F. W., Lukole, E., Rowland M., Todd, J. D., and Protopopoff, N.** (2021). *Personal protection with PBO- pyrethroid synergist-treated nets after 2 years of household use against pyrethroid – resistant Anopheles in Tanzania*. Parasites & Vectors, 14, 1- 8
57. **McGraw, E.A., & O’Neill, S.L.** (2013) *Beyond insecticides: new thinking on an ancient problem*. Nature Reviews Microbiology, 11, 181–193.
58. **Medlock JM, Avenell D, Barrass I, Leach S** (2006) *Analysis of the potential for survival and seasonal activity of Aedes albopictus (Diptera. Culicidae) in the United Kingdom*. Journal of Vector Ecology 31 (2): 292–304. pmid:17249347
59. **Mullen, G., R. and Durden L., A.** (2019). *Medical and Veterinary Entomology*. Third Edition..Department of Entomology and Plant Pathology. Mississippi State University. United States
60. **Oliva, C.F.; Vreysen, M.J.B.; Dupé, S.; Lees, R.S.; Gilles, J.R.L.; Gouagna, L.-C.; Chhem, R.** (2014) *Current Status and Future Challenges for Controlling Malaria with the Sterile Insect Technique: Technical and Social Perspectives*. *Acta Trop.* 132, S130–S139
61. **Overgaard, J., Kristensen, T.N., Mitchell, K.A., & Hoffmann, A.A.** (2011) *Thermal tolerance in widespread and tropical Drosophila species: does phenotypic plasticity increase with latitude*; *American Naturalist*, 178, 8.
62. **Pampiglione S, Rivas F, Angelic G, et al.** (2001) *Dirofilariasis due to Dirofilaria repens in Italy: An emergent zoonosis: Report of 60 new cases*. *Histopathology*; 38: 344-54.

63. **Papa, A., Xanthopoulou, K., Tsioka, A., Kalaitzopoulou, S., & Mourelatos, S.,** (2013) *West Nile virus in mosquitoes in Greece*. *Parasitology Research*, 112, 1551–1555.
64. **Paupy, C., Delatte, H., Bagny, L., Corbel, V., & Fontenille, D.** (2009). *Aedes albopictus, an arbovirus vector: From the darkness to the light*. *Microbes and Infection*. Volume 11. Issues 14-15. 1177-1185.
65. **Ponlawat, L.C. Harrington** (2007). *Age and body size influence male sperm capacity of the dengue vector Aedes aegypti (Diptera: Culicidae)* *J. Med. Entomol.*, 44 (2007), pp. 422-426
66. **Reiter P** (2001) *Climate Change and Mosquito-Borne Disease*. *Environ. Health Perspect.* 109 Suppl 1141–161
67. **Rosen, R.W.** 1956. *Dengue in Greece in 1927 and 1928 and the pathogenesis of dengue hemorrhagic fever: new data and a different conclusion*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 35:642-653
68. **Rothman, S. E., Jones, J. A., LaDeau, S. L., & Leisnham, P. T.** (2021). *Higher West Nile Virus Infection in Aedes albopictus (Diptera: Culicidae) and Culex (Diptera: Culicidae) Mosquitoes From Lower Income Neighborhoods in Urban Baltimore, MD*. *Journal of Medical Entomology*, 58(3), 1424–1428.
69. **Russell BM, McBride WJ, Mullner H, Kay BH.** (2002) *Epidemiological significance of subterranean Aedes aegypti (Diptera: Culicidae) breeding sites to dengue virus infection in Charters Towers*, *J Med Entomol* 2002; 39:143–5.
70. **Sacco, C., Liverani, A., Venturi, G., Gavaudan, S., Riccardo, F., Salvoni, G., Fortuna, C., Marinelli, K., Marsili, G., Pesaresi, A., Molina Grané, C., Mercuri, I., Manica, M., Caucci, S., Morelli, D., Sebastianelli, L., Marcacci, M., Ferraro, F., Di Luca, M., Pascucci, I., Merakou, C., Duranti, A., Pati, I., Lombardini, L., Fiacchini, D., Filipponi, G., Maraglino, F., Palamara, A. T., Poletti, P., Pezzotti, P., Filippetti, F., Merler, S., Del Manso, M., Menzo, S., & Marche dengue outbreak group.** (2024). *Autochthonous dengue outbreak in Marche Region, Central Italy, August to October 2024*. *Eurosurveillance*, 29(47), 2400713
71. **Siro, L. K., Hardstone, M. C., Helinski, M. E. H., Ribeiro, J. M. C., Kimura, M., Deewatthanawong, P., Wolfner, M. F., and Harrington, L. C.** (2011) *Towards a semen proteome of the dengue vector mosquito: protein*

72. Sissoko, F., Junnila F., A., M.M. Traore, S. Doumbia, S. M Dembele, Y. Schlein, A.S. Ttraore, P. Gergely, R. De Xue, K.L. Arheat, E. E. Revay, V.D. Kravchenko, J. C. Beier, G. C. Muller, (2019). *Frequent sugar feeding behavior by Aedes aegypti in Bamako, Mali makes them ideal candidates for control with attractive toxic sugar baits (ATSB)*. PloS One, 14, Article e0214170
73. Smith, D.L., Battle, K.E., Hay, S.I., Barker, C.M., Scott, T.W. & McKenzie, F.E. (2012). *Ross, macdonald, and a theory for the dynamics and control of mosquito-transmitted pathogens*. PLoS Pathog., 8, e1002588.
74. Tandina, F., Doumbo, O., Yaro, A.S., Traore, S.F., Parola, P., & Robert, V. (2018). *Mosquitoes (Diptera: Culicidae) and mosquito-borne diseases in Mali, West Africa*. Parasites & Vectors, 11(1). doi: 10.1186/s13071-018-3045-8
75. Vargas, N.P. Morales, S. Attrapadung, G.T. Noweg. (2017). *Sweet waste extract uptake by a mosquito vector: survival, biting, fecundity responses, and potential epidemiological significance*. Acta Trop., 169, pp. 84-92,
76. Vrzal E.M, S.A. Allan, D.A. Hahn. (2010) *Amino acids in nectar enhance longevity of female Culex quinquefasciatus mosquitoes*. J. Insect Physiol., 56, pp. 1659-1664
77. Weaver, S. C. (2014). *Arrival of chikungunya virus in the New World: Prospects for spread and impact on public health*. PLoS Neglected Tropical Diseases, 8(6), e2921WHO. (2022). Chikungunya - Fact sheet. World Health Organization.
78. WHO. (2023a). *Dengue and severe dengue - Fact sheet*. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue>
79. WHO. (2023b). *Malaria - Fact sheet*. World Health Organization. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
80. Yu B.T. , Y.M. Ding, X.C. Mo, N. Liu, H.J. Li, J.C. Mo (2016). *Survivorship and fecundity of Culex pipiens pallens feeding on flowering plants and seed pods with differential preferences*. Acta Trop., 155 ,pp. 51-57

81. **Zug, R., & Hammerstein, P.** (2012) *Still a Host of Hosts for Wolbachia: Analysis of Recent Data Suggests That 40% of Terrestrial Arthropod Species Are Infected*. PLoS ONE, 7, e38544
82. **Γιατρόπουλος Α.,** (2014). *Παρουσία του εισβάλλοντος είδους κουνουπιού *Aedes albopictus* (Skuse 1895) στην Αττική: Διασπορά, εποχιακή διακύμανση, αντιμετώπιση και ανταγωνιστικές αλληλεπιδράσεις με το ιθαγενές είδος *Aedes cretinus* (Edwards 1921)*. Διδακτορική διατριβή του γεωπονικού πανεπιστημίου Αθηνών.
83. **Εγκύκλιος.** (2024). *Προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης των κουνουπιών, σχέδιο δράσης, σχετική ενημέρωση και προφύλαξη του κοινού για το έτος 2024*. (Δ1α/Γ.Π.οικ. 15226). Τμήμα Μεταδοτικών Νοσημάτων. Αθήνα. 35 σελ.
84. **Εγκυκλοπαίδεια Larousse Britannica.** (1991). *Πάπυρος Larousse Britannica*. Πάπυρος Εκδοτικός Οργανισμός.
85. **ΕΟΔΥ.** (2020). *Μέτρα προστασίας από τα κουνούπια*. Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας. Τμήμα Νοσημάτων που Μεταδίδονται με Διαβιβαστές. σελ. 24.
86. **ΕΟΔΥ.** (2021)c. *Νόσος Chikungunya -Γενικές Πληροφορίες*. Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας. <https://eody.gov.gr/disease/nosos-chikungunya/>
87. **Ζημχερής, Γ.** (2015). *Μελέτη των βιολογικών ιδιοτήτων διαφόρων φυσικής προέλευσης ουσιών σε προνύμφες διπτέρων της οικογένειας culicidae*. Τ.Ε.Ι. Καλαμάτας, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής Πτυχιακή Διατριβή
88. **Σαββοπούλου-Σουλτάνη, Μ., Ανδρεάδης, Σ., & Σουλτάνη-Ζουρουλίδη, Χ.** (1999). *Έντομα και άλλα Αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας*. Εκδόσεις ΑΠΘ. Σχολή Γεωπονίας. Θεσσαλονίκη
89. **Σαμανίδου Βογιατζόγλου, Α.** (2011) *Τα κουνούπια της Ελλάδας: Μορφολογία, βιολογία, δημόσια υγεία, κλείδες προσδιορισμού, αντιμετώπιση*. ΑγροΤύπος ΑΕ, 2 112 σελ. ISBN 978-960-7667-43-4
90. **Τζανακάκης Μ, Ε** (1995). *Εντομολογία*. University of Press, Θεσσαλονίκη