



ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ
ΔΥΤΙΚΗΣ ΕΛΛΑΔΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΚΑΙ
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΤΡΟΦΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

Μελέτη αλληλεπίδρασης δυο παθογόνων παραγόντων
για την αντιμετώπιση του κολεοπτέρου “*Sitophilus
granarius*”



Πτυχιακή εργασία της φοιτήτριας
Ζήκου Αθανασίας Α.Μ. 11608

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:
Δρ Ειρήνη Καραναστάση

ΑΜΑΛΙΑΔΑ 2018

**Μελέτη αλληλεπίδρασης δυο παθογόνων παραγόντων
για την αντιμετώπιση του κολεοπτέρου “*Sitophilus
granarius*”.**

ZHKOU ATHANASIA

Πτυχιακή εργασία

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Πρόλογος.....	5
Περίληψη	6
1. Εισαγωγή.....	7
1.1 Έντομα αποθηκευμένων προϊόντων.....	8
1.2 Έντομα αποθηκών της τάξης <i>Coleoptera</i>	11
1.2.1 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ <i>Anobiidae</i>	12
1.2.2 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ <i>Curculionidae</i>	13
1.2.3 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ <i>Bruchidae</i>	15
1.2.4 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ <i>Silvanidae</i>	15
1.2.5 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ <i>Dermestidae</i>	16
1.2.6 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ <i>Trogostidae</i>	16
1.2.7 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ <i>Bostrychidae</i>	17
1.2.8 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ <i>Tenebrionidae</i>	18
1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν το μέγεθος της προσβολής των αποθηκευμένων προϊόντων.....	20
1.4 Το κολεόπτερο <i>Sitophilus granarius</i>	22
1.4.1. Συστηματική κατάταξη του <i>S. granarius</i>	22
1.4.2 Γενικά για το <i>S. granarius</i>	22
1.4.3 Μορφολογία του <i>S. granarius</i>	23
1.4.4 Βιολογικός κύκλος του <i>S. granarius</i>	23
1.4.5 Ζημιές οφειλόμενες στο <i>S. granarius</i>	24
1.5 Μέθοδοι αντιμετώπισης των εντόμων εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων	25
1.5.1 Βιολογική αντιμετώπιση του <i>S. granarius</i>	26
1.6 Εντομοπαθογόνοι μύκητες	27
1.6.1 Μύκητες του γένους <i>Beauveria</i>	28
1.6.2 Μύκητες του γένους <i>Isaria</i>	30
1.6.3 Εμπορικά Μικροβιακά Σκευάσματα με βάση μύκητες	31
1.7 Συνδυασμός εντομοπαθογόνων μυκήτων με άλλους μικροοργανισμούς.....	32
1.8 Σκοπός της Εργασίας.....	33
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	34
2.1 Εκτροφή του εντόμου <i>Sitophilus granarius</i>	34
2.2. Εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί.....	34
2.3 Παρασκευή Εναιωρημάτων Εντομοπαθογόνων Μυκήτων	35
2.3.1 Μελέτη της επίδραση της συνδυαστικής εφαρμογής των εντομοπαθογόνων μυκήτων <i>B. bassiana</i> και <i>I. fumosorosea</i> επί νεαρών ακμαίων του εντόμου.....	36
2.4 Μαθηματική Μέθοδος προσδιορισμού της αλληλεπίδρασης των παθογόνων	36

2.5 Στατιστική επεξεργασία	37
2.6 Αποτελέσματα.....	37
2.7 Συζήτηση	42
3. Βιβλιογραφία.....	44
3.1 Ελληνικές Πηγές	44
3.2 Ξενόγλωσσες Πηγές	45

Πρόλογος

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Φυτοπροστασίας-Φαρμακολογίας του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων Δυτικής Ελλάδας σε συνεργασία με το Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών της Πάτρας και έχει ως αντικείμενο την αλληλεπίδραση των εντομοπαθογόνων μυκήτων *Beauveria bassiana* και *Isaria fumosorosea* στο έντομο *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) εχθρό πολλών αποθηκευμένων προϊόντων.

Για την επιτυχή πραγματοποίηση αυτής της μελέτης θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους συνέβαλαν και με βοήθησαν με οποιοδήποτε τρόπο, και συγκεκριμένα:

Την Αναπληρώτρια Καθηγήτρια του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων κ. Καραναστάση Ειρήνη για το αμέριστο ενδιαφέρον καθ' όλη την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

Τον Δρα. Μαντζούκα Σπυρίδων Καθηγητή του τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων για την ανάθεση και την σωστή καθοδήγηση της μελέτης μου.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τις φίλες και συμφοιτήτριες μου Τριανταφύλλου Βασιλική, Ρόδη Αναστασία, Γαζέπη Μαρία για την πολύτιμη βοήθειά τους καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής μου διαδικασίας.

Τέλος, ευχαριστώ πολύ την οικογένεια μου που βρίσκεται πάντα στο πλευρό μου και στηρίζει κάθε μου προσπάθεια.

Περίληψη

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αλληλεπίδραση των εντομοπαθογόνων μυκήτων *Beauveria bassiana* Balsamo (Vuillemin) (Hypocreales: Cordycipitaceae) και *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown & Smith (Hypocreales: Clavicipitaceae) για την αντιμετώπιση του εχθρού των αποθηκευμένων προϊόντων *Sitophilus granarius* (Linnaeus) (Coleoptera: Curculionidae). Χρησιμοποιήθηκαν εναιωρήματα κονιδίων με πυκνότητα 10^4 , 10^6 , 10^8 κονίδια/ml για τους εντομοπαθογόνους μύκητες τα οποία ψεκάστηκαν στα ακμαία *S. granarius* μέσα σε αποστειρωμένο καλαμπόκι (*Zea mays*) είτε μεμονωμένα, είτε σε συνδυασμό. Διαπιστώθηκε η επιτυχής δράση των μυκήτων που δοκιμάστηκαν επί των ακμαίων του *S. granarius*. Από τα αποτελέσματα που αποκτήθηκαν από την παρούσα μελέτη διαπιστώνουμε ότι οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *B. bassiana* και *I. fumosorosea* μπορούν να αποτελέσουν παράγοντες αντιμετώπισης του *S. granarius*. Περαιτέρω έρευνα όμως είναι απαραίτητη ώστε να καθοριστούν οι ιδανικές πυκνότητες κονιδίων και η κατάλληλη μορφή σκευάσματος.

1. Εισαγωγή

Από την εποχή που ο άνθρωπος άρχισε να καλλιεργεί φυτά, να παράγει προϊόντα για την διατροφή του και να τα αποθηκεύει από την μια συγκομιδή μέχρι την επόμενη, τα έντομα υπήρξαν συνεχώς παράσιτα των προϊόντων αυτών. Τα περισσότερα είδη εντόμων είναι σήμερα ευρύτατα διαδεδομένα σε αποθηκευτικούς και άλλους χώρους γεωργικών προϊόντων και τροφίμων. Οι προσβολές από έντομα έγιναν περισσότερο σοβαρές από τότε που ο άνθρωπος άρχισε να παράγει περισσότερη τροφή, από εκείνη που χρειαζόταν η οικογένεια του και έμαθε να αποθηκεύει τρόφιμα για ανταλλαγή με άλλα αγαθά ή για δύσκολες περιόδους (πολέμους). Τότε η παρουσία των εντόμων και η προσβολή τους στα αποθηκευμένα προϊόντα ήταν πολύ έντονη όπως και όταν άνοιξαν τα απέραντα λιβάδια της Βορείου Αμερικής και αναπτύχθηκε το μεγάλο εξαγωγικό εμπόριο των σιτηρών.

Μάλιστα από κάποιες δεκαετίες έλεγαν ότι ακόμα και στα «προηγμένα» κράτη της Αγγλίας, οι προσβολές από έντομα στα σιτηρά, τον καπνό και το κακάο, θεωρούνταν αναπόφευκτες και κατά κάποιο τρόπο φυσική συνέπεια, καθώς υπήρχε η δοξασία ότι τα προϊόντα «γεννούσαν» την προσβολή και το φαινόμενο καλυπτόταν νομικώς ως «εγγενής ανωμαλία» (inherent vice) των προϊόντων.

Σύμφωνα με υπολογισμούς του F.A.O. (Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών), οι απώλειες σε έτοιμο προϊόν κατά την αποθήκευση ανέρχονται στο 17% περίπου της παγκόσμιας παραγωγής (10% από έντομα και 7% περίπου από ακάρεα, τρωκτικά και ασθένειες. Εκτός από τις ποσοτικές ζημιές, οι προσβολές των αποθηκευμένων προϊόντων από έντομα και ακάρεα μπορεί να δημιουργήσουν προβλήματα υγείας στους καταναλωτές αυτών των προϊόντων. Η παρουσία εντόμων σε προϊόντα που, είτε βρίσκονται στο στάδιο της επεξεργασίας είτε φτάνουν στην κατανάλωση προκαλεί την εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων.

Έτσι, η αντιμετώπιση των εντόμων στα αποθηκευμένα προϊόντα υφίσταται σε διαφορετικές στρατηγικές από εκείνες των εχθρών των καλλιεργειών. Αφού οι ζημιές στις καλλιέργειες μπορούν να αντιμετωπισθούν με τις κατάλληλες επεμβάσεις του ανθρώπου ενώ στα αποθηκευμένα προϊόντα οι απώλειες είναι πολλές και ανεπανόρθωτες για επίλυση.

1.1 Έντομα αποθηκευμένων προϊόντων

“Έντομο αποθηκών” θεωρείται κάθε είδος εντόμου που προσβάλλει και ζημιώνει αμέσως ένα προϊόν και μπορεί να αναπτυχθεί και να αναπαραχθεί σε μία αποθήκη ή χώρο που φιλοξενεί για αρκετό χρονικό διάστημα γεωργικά προϊόντα ή τρόφιμα. Υπάρχουν έντομα τα οποία δεν τρέφονται από αυτά αλλά από διάφορους μύκητες, τα αρπακτικά και τα παράσιτα των εντόμων και άλλων αρθροπόδων στους ίδιους χώρους. Αυτά τα έντομα θεωρούνται χρήσιμοι δείκτες για προσβεβλημένα προϊόντα ή προϊόντα που βρίσκονται σε κακή κατάσταση καθώς η παρουσία τους και μόνο υποβιβάζει την ποιότητα των τροφίμων. Κοινό χαρακτηριστικό των περισσότερων εντόμων που σχετίζονται με τα αποθηκευμένα γεωργικά προϊόντα και τρόφιμα είναι η ευρεία γεωγραφική τους εξάπλωση. Είναι άλλωστε γεγονός ότι ακόμα και έντομα τα οποία έχουν χάσει την ικανότητα να πετούν είναι μεγάλοι ταξιδιώτες καθώς μπορούν να βρεθούν χιλιόμετρα μακριά και να ταξιδέψουν σε όλον τον κόσμο με την βοήθεια του ανθρώπου. Τον ρόλο του μεταφορέα αναλαμβάνει το διεθνές εμπόριο, δηλαδή τα αμάρια των πλοίων, τα containers, τα βαγόνια των τρένων, τα αεροπλάνα κ.τ.λ. και μάλιστα τις περισσότερες φορές μεταφέρονται αφού ήδη έχουν προσβάλει τα προϊόντα πριν ακόμα και από την φόρτωση. Άλλωστε μέσα στους μεγάλους σωρούς οι συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας δεν αλλάζουν γρήγορα με αποτέλεσμα τα έντομα να απολαμβάνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα το μικροκλίμα που τα ευνοεί ακόμα και σε καινούριο περιβάλλον στον τόπο του προορισμού τους (Μπουχέλος, 1996).

Ορισμένα έντομα προσβάλλουν αποκλειστικά καρπούς ενός συγκεκριμένου είδους ή οικογένειας (π.χ. τα κολεόπτερα της οικ. Bruchidae μόνο καρπούς ψυχανθών και το *Lasioderma serricorne* μόνο αποθηκευμένο καπνό). Άλλα έντομα προσβάλλουν ένα πλήθος ειδών αποθηκευμένων προϊόντων (π.χ. τα είδη του γένους *Ephestia* προσβάλλουν άλευρα, σπόρους δημητριακών, σύκα, σταφίδες, καπνό, κακάο). Ορισμένα δεν προσβάλλουν ολόκληρους σπόρους αλλά κυρίως σπασμένους ή ήδη προσβεβλημένους σπόρους (π.χ. *Tribolium confusum*, *Oryzaephilus surinamensis*). Άλλα πάλι τρέφονται και ολοκληρώνουν τον βιολογικό κύκλο τους μέσα σε ένα μόνο σπόρο (*S. granarius*). Σχεδόν όλα τα λεπιδόπτερα σχηματίζουν μετάξινες θήκες ή "τροφικά καταφύγια" όπου προσβάλλουν μεγάλο αριθμό σπόρων (*Ephestia kuhniella*, *Pyralis farinalis*, *Corcyca cephalonica* κ.α.). Για τα περισσότερα έντομα αποθηκών υπάρχουν οριακές τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας για την αναπαραγωγή και ανάπτυξη τους. Ο ρυθμός

αναπαραγωγής τους είναι ευθέως ανάλογος των τιμών των παραγόντων αυτών στο προϊόν και τους αποθηκευτικούς χώρους. Γενικά θερμοκρασίες κάτω των 21°C έχουν δυσμενή επίδραση στην ανάπτυξη και εξάπλωση των εντόμων, και θερμοκρασίες άνω των 35°C καθιστούν την αναπαραγωγή και επιβίωση τους προβληματική. Εξαιρέσεις αποτελούν τα είδη: *Lasioderma serricorne*, *Trogoderma granarium*, *Tribolium confusum* κ.α.). Σε θερμοκρασία άνω των 38°C τα περισσότερα έντομα αποθηκών δεν μπορούν να ζήσουν. Ως προς την υγρασία, τα περισσότερα είδη προτιμούν χαμηλής υγρασίας προϊόντα (π.χ. *Tribolium* sp, σε άλευρα, γαλέτα κ.λ.π.) ενώ άλλα δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε υγρασία κατώτερη του 8% (*Sitophilus* sp) . Τέλος αρκετά έντομα *Lasioderma*, *Ptinus* κ.α.) χρειάζονται υγρασία προϊόντος τουλάχιστον 10%. Τα περισσότερα είδη εντόμων αποθηκών ανήκουν στην τάξη Coleoptera και ακολουθούν εκείνα της τάξης Lepidoptera (Πίνακας 1). Υπάρχουν ακόμη και λίγα μόνο είδη επιζήμιων Ακάρων.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Τα σπουδαιότερα έντομα αποθηκών

ΕΙΔΟΣ	ΚΟΙΝΟ ΟΝΟΜΑ	ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ
<u>ΚΟΛΕΟΠΤΕΡΑ</u>		
<i>Lasioderma serricorne</i>	Σκαθάρι του καπνού	Anodiidae
<i>Stegobium paniceum</i>	—	Anodiidae
<i>Sitophilus granarius</i>	Σκαθάρι του σιταριού	Curculionidae
<i>Sitophilus oryzae</i>	Σκαθάρι του ρυζιού	Curculionidae
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	Βρούχος των φασολιών	Bruchidae
<i>Bruchus pisorum</i>	Βρούχος των μπιζελιών	Bruchidae
<i>Bruchus lentis</i>	Βρούχος της φακής	Bruchidae
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	Ψείρα του σιταριού	Sylvanidae
<i>Trogoderma granarium</i>	Τρωγόδερμα των σπόρων	Dermeestidae
<i>Trogoderma inclusum</i>	Τρωγόδερμα των σπόρων	Dermeestidae
<i>Tenebrioides mauritanicus</i>	Σκαθάρι των σπόρων	Trogostidae
<i>Rhizopertha dominica</i>	Σκαθάρι του ρυζιού	Bostrychidae
<i>Tribolium confusum</i>	Ψείρα ή σκαθάρι των αλεύρων	Tenebrionidae
<i>Tribolium castaneum</i>	Σκούρο σκαθάρι των αλεύρων	Tenebrionidae
<u>ΛΕΠΙΔΟΠΤΕΡΑ</u>		
<i>Ephestia elutella</i>	Σκουλήκι καπνού	Pyralididae
<i>Ephestia kuehniella</i>	Σκουλήκι των αλεύρων	Pyralididae
<i>Ephestia cautella</i>	Σκουλήκι σύκων-σταφίδας	Pyralididae
<i>Plodia interpunctella</i>	Κοινό σκουλήκι αποθηκών	Pyralididae
<i>Sitotroga cerealella</i>	Σιτότρωγα	Geleghiidae
<u>ΔΙΠΤΕΡΑ</u>		
<i>Piophilidae casei</i>	Σκουλήκι του τυριού	Piophilidae
<u>ΑΚΑΡΕΑ</u>		
<i>Acarus siro</i>	Ακάρι των αλεύρων	Acaridae

1.2 Έντομα αποθηκών της τάξης Coleoptera

Ανήκουν στα ολομετάβολα έντομα (ωό - προνύμφη - νύμφη ή πλαγγόνα - ακμαίο). Τόσο τα ακμαία όσο και οι προνύμφες τρέφονται με το προϊόν. Τα ακμαία έχουν πολύ σκληρό εξωσκελετό. Το πρόσθιο ζεύγος πτερύγων είναι ισχυρά χιτινισμένο και ονομάζονται έλυτρα. Τα έλυτρα έχουν προστατευτικό ρόλο, κατά την ηρεμία των εντόμων καλύπτουν τις οπίσθιες πτέρυγες υπό μορφή θήκης (ή κολεός, από όπου και το όνομα Κολεό - περά). Οι οπίσθιες πτέρυγες, όπου υπάρχουν είναι μεμβρανώδεις και χρησιμεύουν για την πτήση. Η κεφαλή των Κολεοπτέρων είναι κατά κανόνα καλώς αναπτυγμένη με στοματικά μέρη μασητικού τύπου.

1.2.1 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ *Anobiidae*

- *Lasioderma serricornne (fabricius)*-(cigarette beetle): σκαθάρι (ψείρα) του καπνού.

Το τέλειο έχει μήκος 2-3 mm, σχήμα σε κάτοψη ωοειδές, χρώμα υποκαστανό ή ερυθροκαστανό. Η κεφαλή βρίσκεται σε θέση κάθετη προς τον άξονα του σώματος και καλύπτεται από τον προθώρακα. Οι κεραίες είναι πριονοειδείς. Έχει έλυτρα χωρίς γραμμώσεις, καλυπτόμενα από λεπτό, ξανθό χνούδι. Η προνύμφη έχει μήκος έως 4 mm, είναι λευκή-υποκίτρινη, κοντόχονδρη, κυρτή με λεπτές τρίχες. Αποτελεί τον κύριο εχθρό του αποθηκευμένου καπνού, μαζί με το *Ephestia elutella*. Προσβάλει επίσης τσιγάρα, πούρα, κακάο, σοκολάτα, μπαχαρικά, ζυμαρικά, αρωματικά φυτά σε συλλογές, ξηρά φρούτα, ελαιώδεις σπόρους και πλακούντες, χαρούπια, όσπρια και μεγάλο αριθμό αυτοφυών φυτών (Μπουχέλος 1993).

- *Stegobium paniceum* (L)-(bread beetle ή drug store beetle).

Τα ακμαία του μοιάζουν με του *L. serricornne* αλλά είναι πιο φαρδιά, τα έλυτρά τους είναι ραβδωτά, ενώ το κεφάλι τους δεν σχηματίζει ορθή γωνία με το υπόλοιπο σώμα. Το σώμα τους καλύπτεται από λεπτές τρίχες και ο προθώρακας με βασικό μεσαίο τμήμα, σε πλάγια όψη είναι πολύ έντονα κυρτωμένο. Προσελκύονται και αυτά από το φως και μπορούν να πετάξουν σε μεγάλες αποστάσεις. Σε θερμοκρασία 30°C και σχετική υγρασία 60-90%, ο βιολογικός κύκλος τους διαρκεί σαράντα μέρες. Η θερμοκρασία ανάπτυξης τους είναι 23 -24°C. Έχουν μία με τέσσερις γενεές το έτος, ανάλογα με τη θερμοκρασία της περιοχής ανάπτυξής τους.

Είναι κοσμοπολίτικα και παμφάγα έντομα. Τα ακμαία δεν τρέφονται. Οι προνύμφες προσβάλλουν πολύ μεγάλη ποικιλία υλικών, συμπεριλαμβανομένων των αλευρωδών και ξηρών φυτικών προϊόντων, σπόρους και προϊόντα τους, ελαιούχους πλακούντες, μπαχαρικά, σοκολάτες και άλλα γλυκίσματα. Επίσης τα συναντάμε σε παλαιό βιβλία, ξηρό ξύλο, φάρμακα, καπνό, καρυδόψιχα και κυρίως σε αρτοσκευάσματα ή ζυμαρικά.

1.2.2 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ Curculionidae

- Sitophilus granarius ή Calandra granaria: Σκαθάρι του σιταριού

Το τέλειο έχει μήκος σώματος 3-5 mm και χρώμα βαθύ καστανό έως μαύρο. Το ρύγχος του έχει μήκος ίσο με τα 2/3 του pronώτου και το pronώτο περίπου όσο και τα έλυτρα. Στο pronώτο φέρει ατρακτοειδή ή ωσειδή κοιλώματα ενώ στα έλυτρα φέρει αυλακώσεις. Δεν έχει μεμβρανοειδείς πτέρυγες και δεν πετά.

- Sitophilus oryzae: Σκαθάρι του ρυζιού

Απαντάται στις περισσότερες περιοχές της γης, ιδιαίτερος στην Ινδία, Αυστραλία, Η.Π.Α., στα παράλια της Β. Αφρικής αλλά και σε ορισμένες περιοχές της Κίνας (Σταμόπουλος 1995), όπου και αναπτύσσεται σε μεγάλους πληθυσμούς και προκαλεί αξιόλογες ζημιές. Το ακμαίο είναι ρυγχοφόρο, το μήκος του κυμαίνεται μεταξύ 2,5-4 mm και το χρώμα του είναι καστανό έως βαθύ καστανό. Έχει καλώς ανεπτυγμένες τις οπίσθιες πτέρυγες και μπορεί να πετά. Επίσης, έχει δύο χαρακτηριστικές κοκκινωπές ή κιτρινωπές κηλίδες σε κάθε έλυτρο. Στο επιθωράκιο του έχει στρογγυλά κοιλώματα. Οι ραβδώσεις κατά μήκος των ελύτρων αποτελούνται από σχετικώς μεγάλα στίγματα – βοθρία ενώ οι μεταξύ τους ζώνες έχουν μεγάλα στίγματα. Η pronύμφη έχει μήκος 3-4 mm, είναι άπους και κοντόχονδρη. Το χρώμα της είναι κιτρινωπό. Υφίσταται τρεις εκδύσεις. Τόσο το ακμαίο όσο και η pronύμφη προσβάλλουν τους σπόρους δημητριακών (σιτάρι, ρύζι, σίκαλη, κριθάρι, αραβόσιτο και σπανιότερα τη βρώμη), στους αποθηκευτικούς χώρους, όπως επίσης και συμπαγή αμυλούχα προϊόντα (ξηρός άρτος, φρυγανιές, ζυμαρικά). Μπορεί να τραφεί και με αλεύρι, πίτυρα ή πλιγούρι, αλλά δεν μπορεί να αναπαραχθεί σε αυτά. Προσβάλλει επίσης σε μικρότερο βαθμό όσπρια, καπνό, λαχανικά και ορισμένα άλλα τρόφιμα και ζωοτροφές. Ο αριθμός των γενεών, η συνολική ανάπτυξη και η δραστηριότητα του εντόμου καθορίζονται κατά κύριο λόγο από την υγρασία και τη θερμοκρασία, που αποτελούν τους βασικότερους παράγοντες αναπτύξεώς του. Οι ευνοϊκότερες συνθήκες είναι : α) θερμοκρασία 27 - 30°C και β) σχετική υγρασία 75-90% (Aitken 1975). Ο αριθμός των γενεών στη Νάπολη της Ιταλίας είναι τέσσερεις ενώ στο Κάιρο της Αιγύπτου δέκα, γεγονός που δείχνει τις διαφορές που μπορεί να προκαλέσει η διαφοροποίηση της θερμοκρασίας και της υγρασίας.

Τα ωά είναι λευκά, απιοειδή και λαμπερά, διαστάσεων 0,5 - 0,8 x 0,2-0,4 mm. Μετά την εναπόθεση του ωού, η οπή καλύπτεται από αλεύρι και ζελατινώδες έκκριμα τα οποία και στερεοποιούνται όταν έρθουν σε επαφή με τον αέρα. Αξίζει να αναφερθεί ότι στον αραβόσιτο μπορεί να εναποτεθούν παραπάνω από ένα ωά ανά σπόρο. Η διάρκεια της ωοτοκίας κρατά πολλούς μήνες και στην περίοδο του χειμώνα είναι μειωμένη. Για την ωοτοκία και την εκκόλαψη οι άριστες συνθήκες είναι θερμοκρασία 30°C και σχετική υγρασία 99% (Aitken 1975). Σε συνθήκες θερμοκρασίας 13°C ή 35°C έχουμε ασθενή ωοτοκία και ανύπαρκτη εκκόλαψη των προνυμφών, ιδιαίτερα όταν η σχετική υγρασία είναι κατώτερη του 30% (Aitken 1975). Το έντομο δεν αντέχει στις χαμηλές χειμερινές θερμοκρασίες ορισμένων εύκρατων χωρών, γι' αυτό είναι σοβαρός εχθρός των αποθηκευμένων σπόρων στις τροπικές και υποτροπικές χώρες και σε ζεστά μέρη των εύκρατων χωρών.

Οι προνύμφες εκκολάπτονται εντός 3 έως 10 ημερών, αναλόγως της θερμοκρασίας και διατρέφονται από το άμυλο των σπόρων χωρίς να προσβάλλουν την κυτταρίνη. Έχει 3 προνυμφικά στάδια και όταν η προνύμφη συμπληρώσει την ανάπτυξή της νυμφώνεται εντός του σπόρου. Στο στάδιο της νύμφης παραμένει από 3 έως 9 ημέρες.

Στην Ελλάδα, ο βιολογικός του κύκλος διαρκεί περίπου 40 ημέρες με 3-4 γενεές το χρόνο όταν η θερμοκρασία κυμαίνεται μεταξύ 22 και 25°C (Σταμόπουλος 1995). Το ακμαίο ζει από 3 έως 6 μήνες και σε καμία περίπτωση παραπάνω από 8 μήνες. Αντιθέτως, το συγγενές είδος *S. granarius* ζει ένα έτος, ενώ σε εξαιρετικές περιπτώσεις φτάνει τα 2,5 έτη.

Είναι πιθανό να παρατηρηθεί δραστηριότητα του εντόμου και στον αγρό. Όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω, τα ακμαία άτομα του εντόμου πετούν. Στα τέλη της ανοίξεως έχει παρατηρηθεί πως μεταναστεύουν από τις αποθήκες προς τον αγρό όπου και γεννούν τα ωά τους στα στάχυα. Αφού γίνει η προσβολή στον αγρό, μετά τη συγκομιδή και αφού μεταφερθεί το προϊόν στους αποθηκευτικούς χώρους, η προσβολή συνεχίζεται σε μεγαλύτερο βαθμό μέσα σε αυτούς. Για το λόγο αυτό, η αντιμετώπιση του εντόμου θα πρέπει να ξεκινά αμέσως μετά τη συγκομιδή, κατά τη μεταφορά των προϊόντων στους αποθηκευτικούς χώρους, στους οποίους προηγουμένως θα πρέπει να έχουν ληφθεί μέτρα πρόληψης της προσβολής.

Οι στοές, οι οποίες ανοίγονται με τη δράση τόσο των ακμαίων όσο και των προνυμφών, καθώς επίσης και η μείωση του αμύλου του ενδοσπερμίου, το οποίο χρησιμοποιείται ως τροφή, προκαλούν τόσο την ποσοτική όσο και την ποιοτική υποβάθμιση του προϊόντος. Οι οπές διευκολύνουν τις δευτερογενείς προσβολές. Είναι δυνατή η ανάπτυξη μυκήτων οι οποίοι όχι μόνο υποβαθμίζουν το προϊόν, αλλά το καθιστούν και τοξικολογικά επικίνδυνο (ανάπτυξη μυκοτοξινών).

1.2.3 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ Bruchidae

- *Acanthoscelides obtectus*: Βρούχος των φασολιών

Τα ακμαία είναι μικρού μήκους και έχουν σχήμα ωσειδές. Το μήκος του σώματος των θηλυκών είναι ελαφρώς μεγαλύτερο από των αρσενικών. Το χρώμα τους είναι καστανόμαυρο, καλυπτόμενο με λεπτό φαιό χνούδι. Τα έλυτρα αφήνουν ακάλυπτο το τελευταίο κοιλιακό τμήμα και ο χρωματισμός τους είναι γενικά γκρίζος με διάφορες σκοτεινόχρωμες κηλίδες. Οι κεραίες είναι πριονωτές και ο προθώρακας κωνικός. Οι προνύμφες τους είναι σαρκώδεις, κυρτές, άποδες, λείες, λευκές με μικρή κίτρινη κεφαλή και του πρώτου σταδίου φέρουν τρίχες που στα επόμενα στάδια τις αποβάλλουν.

Ο βιολογικός κύκλος τους σε ιδανικές συνθήκες 30-35°C και σχετική υγρασία 70-90% διαρκεί είκοσι με εικοσιπέντε μέρες, ενώ σε 20°C συμπληρώνεται σε περίπου δύο μήνες. Η ελάχιστη θερμοκρασία για την ανάπτυξή τους είναι 15°C.

Τα κολεόπτερα αυτά προσβάλλουν κυρίως τα φασόλια όλων των ποικιλιών, σόγια και βίκο.

1.2.4 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ Silvanidae

- *Oryzaephilus surinamensis* (L)-(Silvanus surinamensis)-(saw - toothed grain beetle): Ψείρα του σιταριού.

Το τέλειο είναι λεπτό, πεπλατυσμένο, ευκίνητο, με μήκος 3 mm. Ο θώρακας έχει δύο αυλακώσεις και από 6 οδοντοειδείς προεξοχές σε κάθε πλευρά του. Η προνύμφη είναι νηματοειδής πεπλατυσμένη, υποκίτρινη έως 4 mm μήκος, με κεφαλή και πόδια

κοκκινόχρωμα και έχουν από μια σκοτεινόχρωμη ραχιαία κηλίδα σε κάθε τμήμα του σώματος. Τα έντομα αυτού του είδους δεν αντέχουν στις χαμηλές θερμοκρασίες, γι' αυτό και δε θεωρούνται σημαντικοί εχθροί.

Είναι κοσμοπολίτικο είδος. Τα ακμαία και οι προνύμφες του προσβάλλουν περισσότερο συχνά σπασμένους και προσβεβλημένους σπόρους δημητριακών, τα προϊόντα τους και πολλά άλλα αποθηκευμένα προϊόντα, φυτικής προελεύσεως, κυρίως αμυλούχα τρόφιμα, όπως ψωμί και ζυμαρικά. Τα συναντάμε πολύ συχνά στο σιτάρι, το κριθάρι και το ρύζι. Επίσης προσβάλλουν σταφίδα και είδη διατροφής, όπως μπισκότα, ξηρούς καρπούς, ξηρά όσπρια, κακάο, καφέ, αποξηραμένα φυτά, πάντα όμως με άλλα επιζήμια σε αυτά έντομα. Είναι σοβαροί εχθροί των χύδην προϊόντων. Μπορούν να επιβιώσουν το χειμώνα, σε ψυχρά κλίματα σε καταφύγια ακόμη και μη θερμαινόμενων κτιρίων.

1.2.5 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ Dermestidae

- Trogoderma granarium: Τρωγόδεσμα των σπόρων

Το τέλειο έχει μήκος 2-3 mm, σχήμα ωοειδές, χρώμα ανοιχτοκαστανό. Τα έλυτρά του είναι μονόχρωμα ή σχεδόν μονόχρωμα. Η προνύμφη έχει μήκος 3-6 mm, χρώμα ανοιχτοκαστανό και μακριές, λεπτές κιτρινωπές τρίχες εκφύονται σχεδόν κάθετα στο σώμα της ενώ στο πίσω μέρος της σχηματίζουν αραιό θύσσανο. Είναι ένα από τα πλέον επιζήμια έντομα αποθηκών στις θερμές χώρες ενώ στις ψυχρότερες περιοχές η δραστηριότητά του περιορίζεται σημαντικά. Αντίθετα με τα υπόλοιπα *Dermestidae*, τρέφεται αποκλειστικά με φυτικές ύλες και είναι καταστρεπτικό στα αποθηκευμένα σιτηρά. Προσβάλλει επίσης ελαιώδεις σπόρους και πλακούντες.

1.2.6 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ Trogostidae

- Tenebroides mauritanicus (L.): Σκαθάρι των σπόρων.

Είναι το μεγαλύτερο από τα κολεόπτερα αποθηκών. Το τέλειο έχει μήκος 8-11 mm και χρώμα καστανόμαυρο έως μαύρο. Οι κεραίες και τα πόδια είναι καστανέρυθρα. Η βάση του προθώρακα χωρίζεται πολύ ευκρινώς από τη βάση των ελύτρων. Η προνύμφη

έχει μήκος 15-20 mm, χρώμα συνήθως υπόλευκο ή υποκίτρινο με κεφαλή και πόδια καστανά. Στο νώτο του πρώτου θωρακικού τμήματος υπάρχουν δύο σκοτεινόχρωμες κηλίδες. Το οπίσθιο τμήμα του σώματος είναι υποκαστανό με δύο σκοτεινόχρωμες χιτινώδεις προεκτάσεις (άγκιστρα). Τα ακμαία και οι προνύμφες είναι πολύ ανθεκτικά στο κρύο και μπορούν να επιζήσουν για αρκετές εβδομάδες σε θερμοκρασίες όπως 9°C, ενώ για λίγες ώρες μπορούν να αντέξουν και σε θερμοκρασία έως και - 18°C. Είναι είδος κοσμοπολίτικο, του οποίου τόσο τα ακμαία όσο και οι προνύμφες τρέφονται με σπόρους. Η προνύμφη προσβάλλει σπόρους σιτηρών ήδη προσβεβλημένων από *Sitophilus* ή *Sitotroga*, άλευρα, πίτυρα, παξιμάδια, βαμβακόσπορο κ.α. Το τέλειο, πέρα από σπόρους, τρέφεται και από άλλα έντομα αποθηκών (σαρκοφάγο).

1.2.7 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ Bostrychidae

- *Rhizopertha dominica*: Σκαθάρι του ρυζιού.

Το ακμαίο έχει μήκος σώματος 2,5-3 mm, είναι επίμηκες, με κυλινδρικό σχήμα και το χρώμα του είναι καστανό έως ερυθροκαστανό. Έχει χαρακτηριστικές ροπαλοειδείς κεραίες και ο θώρακας στη ραχιαία επιφάνειά του έχει πυκνά χιτινώδη εξογκώματα που ονομάζονται βόστρυχοι (Bostrychidae). Κατά μήκος των ελύτρων διακρίνονται αυλακώσεις. Η προνύμφη έχει σώμα κυρτό, παχύ και διογκωμένο στο πρόσθιο τμήμα. Το χρώμα της είναι υπόλευκο ενώ η κεφαλή και τα πόδια έχουν χρώμα καστανό. Το μήκος της κυμαίνεται μεταξύ 4-6 mm. Διαχειμάζει στις αποθήκες σε όλα τα στάδια. Πολλαπλασιάζεται σχετικά αργά. Η εμφάνιση μεγάλων πληθυσμών του εντόμου ευνοείται όταν οι σπόροι από τους οποίους τρέφεται μείνουν για πολύ καιρό αμετακίνητοι. Πολλές προνύμφες του μπαίνουν σε κάθε σπόρο και καταστρέφουν το εσωτερικό του, μέσα στο οποίο νυμφώνονται. Μπορεί να αναπτυχθεί σε θερμοκρασίες μεταξύ 18 και 30°C (Aitken 1975). Οι άριστες συνθήκες για την ανάπτυξή του είναι οι 30°C. Όταν η θερμοκρασία είναι από 25 έως 28°C τότε είναι δυνατό να παρατηρηθούν μέχρι και 4 ή 6 επάλληλες γενεές ανά έτος.

Το *R. dominica* εκτός από ρύζι προσβάλλει και άλλους σπόρους σιτηρών όπως σιτάρι, αραβόσιτο, κριθάρι καθώς και άλευρα και προϊόντα αλεύρων όπως μπισκότα κ.α. Κατά τον Μπουχέλο (1993) το *R. dominica* είναι το πολυπληθέστερο έντομο που παρατηρείται σε αποθήκες με ρύζι και σιτάρι στην Ελλάδα (Μπουχέλος 1993).

1.2.8 ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ Tenebrionidae

- Tribolium confusum: Ψείρα ή σκαθάρι των αλεύρων.

Είναι έντομο γνωστό από τους αρχαίους χρόνους για τις ζημιές του. Τα τέλεια και οι προνύμφες τρέφονται σε αποθηκευμένους σπόρους αραχίδας, κεχριού, σόργου, σε αλεύρι σιταριού, κεχριού, σε σιμιγδάλι, σε σπασμένους σπόρους σιτηρών, πίτυρα, ξηρά λαχανικά, σουσάμι, ελαιούχους πλακούντες, φρυγανιές, γλυκοπατάτα, σε φαρμακευτικά προϊόντα, σε εντομολογικές συλλογές, καπνό και πολλά άλλα προϊόντα (Σταμόπουλος 1995).

Το ακμαίο έχει σώμα επίμηκες, πεπιεσμένο, λείο (χωρίς τρίχωμα), με μήκος 3 – 4 mm, χρώμα στυλινό ερυθροκαστανό, κεφαλή και επιθωράκιο με πολλά μικρά στίγματα. Οι κεραίες έχουν άρθρα που μεγεθύνονται βαθμιαίως προς το άκρο, χαρακτηριστικό το οποίο το διακρίνει από το *T. castaneum*. Η προνύμφη είναι ευκέφαλη ολιγόποδη, έχει σώμα επίμηκες και είναι ωχροκίτρινη με μήκος 4 – 5 mm. Έχει σμήριγγες στα πλάγια των σωματικών τμημάτων, κεφαλή σκοτεινού χρώματος και το τελευταίο κοιλιακό τμήμα φέρει χιτινισμένη δικρανοειδή απόφυση.

Το *T. confusum* σε ψυχρές και μη θερμαινόμενες αποθήκες αναστέλλει τη δραστηριότητά του και διαχειμάζει στο στάδιο του ακμαίου στα διάφορα προϊόντα, καθώς και σε ρωγμές και σε άλλα καταφύγια. Όταν οι συνθήκες της αποθήκης γίνουν ευνοϊκές (αισθητή άνοδος της θερμοκρασίας) τα ακμαία αναλαμβάνουν δραστηριότητα, συζεύγνυνται και τα θήλεα αρχίζουν να ωοτοκούν. Τα ακμαία είναι μακρόβια και ζουν 1-2 έτη. Κάθε θήλυ μπορεί να γεννήσει από 300 έως 600 ωά περίπου, τα οποία εναποθέτει μεμονωμένα, προσκολλούμενα στα άλευρα, τους σπόρους, τα πίτυρα, τους σάκκους και σε άλλα υποστρώματα. Τα ωά είναι μικρά, λευκά και γλοιώδη με διαστάσεις 0,6x0,3 mm. Ο ρυθμός ωοτοκίας είναι αργός και ημερησίως γίνεται μικρή εναπόθεση ωών. Η εκκόλαψη των ωών είναι επίσης βραδεία και βασικά εξαρτάται από τη θερμοκρασία (ευνοϊκές θερμοκρασίες 30-35°C). Οι προνύμφες εκκολάπτονται ύστερα από 1 έως 2 εβδομάδες και αρχίζουν να τρέφονται κατά προτίμηση από άλευρα και σπασμένους ή σπόρους προσβεβλημένους από άλλα έντομα.

Φαίνεται ότι θερμοκρασία μεταξύ 28-30°C και σχετική υγρασία μεταξύ 70 – 90% αποτελούν το άριστο για την ανάπτυξη του εντόμου, είτε στα στάδια της προνύμφης, είτε στο στάδιο του ακμαίου (Howe, 1965).

Γενικά, ολόκληροι και υγιείς σπόροι σιτηρών και άλλων φυτών δεν προσβάλλονται από το *T. confusum*. Η παρουσία του περισπερμίου φαίνεται ότι αποτελεί σημαντικό εμπόδιο για την είσοδό του στο εσωτερικό τους. Έτσι, η παρουσία του εντόμου αυτού στις αποθήκες αποτελεί ένδειξη ότι προηγήθηκε προσβολή από άλλα έντομα και πιθανά από τα *S. oryzae* και *S. granarius*.

Η προνύμφη φτάνει σε πλήρη ανάπτυξη, κάτω από ευνοϊκές συνθήκες, εντός 3-5 εβδομάδων. Έτσι, κατά τη διάρκεια των θερμών μηνών ο πλήρης βιολογικός κύκλος του εντόμου συμπληρώνεται εντός 7-8 εβδομάδων. Το *T. confusum* μπορεί να συμπληρώσει 3-5 γενεές ανά έτος, ανάλογα με τις συνθήκες που επικρατούν στις αποθήκες.

- *Tribolium castaneum*: Σκούρο σκαθάρι των αλεύρων.

Μοιάζει πολύ στην εξωτερική μορφολογία, βιολογία και τροφικές προτιμήσεις με το *T. confusum*. Η κυριότερη διαφορά τους είναι ότι τα τελευταία άρθρα της κεραίας του σχηματίζουν πλατυνόμενο ρόπαλο.

Σε ευνοϊκό για το έντομο περιβάλλον (π.χ. αλευρόμυλος), μπορεί να συνυπάρχουν και τα δύο είδη *Tribolium* αλλά μόνο σε χαμηλή πυκνότητα πληθυσμού. Όταν ο αριθμός τους ξεπεράσει ορισμένα όρια, τότε το ένα εκτοπίζει το άλλο με τελικό αποτέλεσμα να απαντάται τελικά μόνο το ένα είδος (Σταμόπουλος 1995).

1.3 Παράγοντες που επηρεάζουν το μέγεθος της προσβολής των αποθηκευμένων προϊόντων

Το μέγεθος της προσβολής ενός προϊόντος που βρίσκεται στη φάση της επεξεργασίας ή της αποθήκευσης, εξαρτάται από πολλούς παράγοντες οι κυριότεροι των οποίων είναι οι εξής:

- **Η καταλληλότητα και τα μέτρα προστασίας των αποθηκευτικών χώρων**

Οι αποθηκευτικοί χώροι θα πρέπει να είναι σχεδιασμένοι με ορθό τρόπο έτσι ώστε να μην επιτρέπουν την εύκολη πρόσβαση αλλά και εγκατάσταση εντομολογικών ή άλλων εχθρών. Στα παράθυρα πρέπει να τοποθετείται ψιλή σήτα για να παρεμποδίζεται η είσοδος στα έντομα στο εσωτερικό της αποθήκης και να μην υπάρχουν ρωγμές στους τοίχους και τις οροφές. Τα δάπεδα θα πρέπει να καθαρίζονται εύκολα και συχνά και να μην υπάρχουν μέρη που θα προσφέρουν καταφύγιο στα έντομα. Τέλος, θα πρέπει να λαμβάνεται μέριμνα ώστε να είναι εύκολη η είσοδος για καθαρισμό στις εγκαταστάσεις κλιματισμού, κεντρικής θερμάνσεως και αποχετεύσεως.

- **Το μικροκλίμα των αποθηκευτικών χώρων**

Η θερμοκρασία που επικρατεί στον αποθηκευτικό χώρο αλλά και η υγρασία τόσο του περιβάλλοντος χώρου όσο και του αποθηκευμένου προϊόντος αποτελούν το μικροκλίμα και επιδρούν καθοριστικά στο μέγεθος των εντομολογικών προσβολών και αυτό γιατί επηρεάζουν:

την διάπαυση των εντόμων, την γονιμότητά τους, την δραστηριότητά τους και την διάρκεια του βιολογικού κύκλου τους, προκαλώντας αύξηση ή μείωση του αριθμού των γενεών τους.

- **Η χωροταξική μελέτη της αποθήκης**

Η επιλογή του χώρου που πρόκειται να φιλοξενήσει τα προς αποθήκευση προϊόντα θα πρέπει να γίνεται με ιδιαίτερη προσοχή. Χώροι οι οποίοι γειτονεύουν με πιθανές άλλες εστίες μόλυνσεως (πχ. εργοστάσια επεξεργασίας φυτικών προϊόντων, αποθήκες,

χωματερές κλπ), εμφανίζουν τις περισσότερες πιθανότητες να μολυνθούν από διάφορα αρθρόποδα και μικροοργανισμούς.

- **Η υγειονομική κατάσταση του προϊόντος πριν την αποθήκευση**

Τα προϊόντα θα πρέπει να μην είναι ήδη προσβεβλημένα από τον αγρό, διότι το μέγεθος της προσβολής μέσα στην αποθήκη θα αυξηθεί και τα προϊόντα αυτά θα αποτελέσουν εστίες μόλυνσης και για προϊόντα τα οποία δεν έχουν προσβληθεί.

- **Συμπεριφορά των εντόμων**

Η συμπεριφορά ενός εντόμου μπορεί να είναι πολλές φορές καθοριστική του μεγέθους της προσβολής ενός αποθηκευμένου προϊόντος. Ορισμένα έντομα προσβάλλουν αποκλειστικά σπασμένους σπόρους. Αρκετά έντομα επίσης, κατά τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου, προσβάλλουν περισσότερους από έναν καρπούς ενώ άλλα συμπληρώνουν την ανάπτυξή τους μόνο σε έναν καρπό.

- **Η ικανότητα πτήσεως των εντόμων**

Η ικανότητα ενός εντόμου να πετάει σε μακρινές αποστάσεις, αυξάνει τις πιθανότητες προσβολής αποθηκευμένων προϊόντων που απέχουν μεταξύ τους ικανή απόσταση με αποτέλεσμα τη γρήγορη επαναμόλυνση των ήδη απεντομοθέντων προϊόντων.

1.4 Το κολεόπτερο *Sitophilus granarius*

1.4.1. Συστηματική κατάταξη του *S. granarius*

Τάξη	→	Coleoptera
Υπόταξη	→	Polyphaga
Οικογένεια	→	Curculionidae
Υποοικογένεια	→	Dryophthorinae
Κοινή ονομασία	→	Σκαθάρι του σιταριού
Αγγλική ονομασία	→	Granary weevil

1.4.2 Γενικά για το *S. granarius*

Το *Sitophilus granarius* είναι ένα από τα πιο καταστροφικά έντομα αποθηκευμένων σιτηρών παγκοσμίως (Sinha and Matters, 1985). Απαντάει συχνότερα σε ζεστά, τροπικά και υποτροπικά κλίματα. Τρέφεται αδηφάγα στο σιτάρι, κριθάρι και καλαμπόκι προκαλώντας σημαντική οικονομική ζημιά. Οι προνύμφες και τα ακμαία τρέφονται σε ολόκληρους σπόρους προκαλώντας μείωση του βάρους του σπόρου, ποιοτική υποβάθμιση, αύξηση του λιπαρούς οξέος και ευπάθεια σε δευτερογενείς προσβολές μυκήτων. Η εισβολή του *S. granarius* σε αποθήκη σιτηρών μπορεί επίσης να προκαλέσει αύξηση της θερμοκρασίας των σπόρων και να διευκολύνει την εγκατάσταση αποικιών μυκήτων, εντόμων και ακάρεων (Koehler, 2008 , Sinha and Matters, 1985).

Το *S. granarius* είναι έντομο μέτριας ανθεκτικότητας σε κρύες συνθήκες και απαιτεί σχετικά υψηλή υγρασία για να αναπτυχθεί. Απαντάται συχνότερα σε τροπικά και ζεστά κλίματα και συνήθως δεν επεκτείνεται σε κρύες περιοχές. Δεν ευδοκιμεί σε περιοχές με πολύ υψηλή θερμοκρασία το καλοκαίρι και συχνά μετατοπίζεται σε υγρές και ζεστές περιοχές. Στην Κεντρική Αμερική ολοκληρώνει 4-5 γενεές τον χρόνο, στις Νότιες περιοχές

της Ρωσίας 4-7 και στον Καναδά 1 γενεά ανά έτος. Συνήθως οι λάρβες και τα ακμαία τρέφονται με ολόκληρο τον σπόρο των σιτηρών, όπως σιτάρι, ρύζι, κριθάρι, καλαμπόκι και σόργο. Το *S. granarius* μπορεί να μολύνει ώριμους σπόρους και ειδικά το καλαμπόκι στον αγρό.

1.4.3 Μορφολογία του *S. granarius*

Το ακμαίο είναι χρώματος καστανού ως μαύρου (μήκος σώματος 3-5mm). Η κεφαλή καταλήγει σε ελαφρώς κυρτό ρύγχος, χαρακτηριστικό γνώρισμα της οικογένειας. Το ρύγχος έχει μήκος ίσο με τα 2/3 του πρόνωτου και το πρόνωτο περίπου όσο τα έλυτρα. Στο πρόνωτο φέρει ατρακτοειδή ή ωσειδή κοιλώματα. Δεν έχει μεμβρανώδεις πτέρυγες και συνεπώς δεν έχει πτητική ικανότητα. Η προνύμφη έχει μήκος 3-4mm, κοντόχονδρη, κεκαμένη, λευκού ή κιτρινωπού χρώματος.

1.4.4 Βιολογικός κύκλος του *S. granarius*

Συμπληρώνει 4-5 γενεές το έτος. Διαχειμάζει ως προνύμφη εντός των αποθηκευμένων σπόρων αλλά και ως τέλειο μέσα στο σωρό ή σε διάφορα άλλα σημεία της αποθήκης. Την άνοιξη τα θηλυκά εναποθέτουν περί τα 100-400 ωά με τον εξής τρόπο: ανοίγουν με το ρύγχος τους βοθρίο (οπή) στο σπόρο και φωτοκούν εντός αυτού, εναποθέτοντας μόνο ένα ωό. Το εξωτερικό άνοιγμα του βοθρίου κλείνεται από το ακμαίο με ζελατινώδες έκκριμα αφήνοντας χαρακτηριστικό σημάδι («θάμπωμα»). Η εκκολαπτόμενη προνύμφη αναπτύσσεται τρεφόμενη με το εσωτερικό του σπόρου, εντός του οποίου και νυμφώνεται. Η προσβολή δεν είναι ορατή μέχρι την συμπλήρωση των ατελών σταδίων και την έξοδο των ακμαίων από τους προσβεβλημένους σπόρους. Ο βιολογικός κύκλος διαρκεί 8-16 εβδομάδες και φτάνει στις 5 σε πολύ ευνοϊκές συνθήκες (25 ημέρες στους 30°C). Το ακμαίο ζει συνήθως 3-6 μήνες. Πυκνοί πληθυσμοί του εντόμου εντός του σωρού είναι δυνατόν να προκαλέσουν «άναμμα» των σπόρων και ανάπτυξη μυκήτων (μούχλας). Αξίζει να σημειωθεί ότι τα είδη του γένους *Sitophilus* είναι τα μοναδικά κολεόπτερα (μαζί με το *R. dominica*) τα οποία μπορούν να προσβάλλουν ακέραιους σπόρους σιτηρών. Για αυτό και συγκαταλέγονται στους πρωτεύοντες εχθρούς (primary pests).

1.4.5 Ζημιές οφειλόμενες στο *S. granarius*

Είναι κοσμοπολίτικο είδος. Ζημιά προκαλούν οι προνύμφες και τα ακμαία. Τα συναντάμε σε σπόρους σιτηρών, όπως σιτάρι, σίκαλη, σόργο, αραβόσιτο, κριθάρι, καλαμπόκι και σπάνια στη βρώμη, καθώς και σε συμπαγή αμυλούχα προϊόντα όπως ξηρό ψωμί, φρυγανιές, ζυμαρικά. Επίσης τρέφονται με αλεύρι, πίτουρα ή πλιγούρι αλλά δεν μπορούν να αναπαραχθούν. Τρέφονται αλλά πεθαίνουν σύντομα στα μπιζέλια, φασόλια, λούπινα, αραχίδα και αμύγδαλα, ενώ δεν προσβάλλουν ποτέ τους σπόρους κακάο, καφέ και το αποφλοιωμένο ρύζι. Σπάνια προσβάλλουν και όσπρια, όπως ρεβίθια.



Εικόνα 1.1 Ακμαίο άτομο *Sitophilus granarius*



Εικόνα 1.2 Προσβολή από *Sitophilus granarius* σε καλαμπόκι.

1.5 Μέθοδοι αντιμετώπισης των εντόμων εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων

Είναι γεγονός ότι οι απώλειες που προκαλούνται κατά την αποθήκευση του συγκομισμένου και πολλές φορές έτοιμου για κατανάλωση προϊόντος είναι ανεπανόρθωτες. Εάν παρ' όλα τα προληπτικά μέτρα που έχουν ληφθεί στο αποθηκευμένο προϊόν ανιχνευθούν προσβολές τότε θα πρέπει να ληφθεί μέριμνα για την άμεση καταπολέμηση των εχθρών.

Οι μέθοδοι αντιμετώπισης διακρίνονται στις παρακάτω κατηγορίες:

- Χημικές: Με τις χημικές μεθόδους αντιμετώπισης υπάγεται ο έλεγχος των εντόμων εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων είτε πριν είτε μετά την εισαγωγή του προϊόντος στην αποθήκη. Τα σκευάσματα που χρησιμοποιούνται είναι είτε τα κοινά εντομοκτόνα είτε τα καπνογόνα.
- Μηχανικές: Οι μηχανικές μέθοδοι αντιμετώπισης αποσκοπούν στην θανάτωση ή στην αδρανοποίηση των εντόμων όταν στο περιβάλλον τους μεταβληθούν ορισμένες συνθήκες όπως η ατμοσφαιρική πίεση, η ξήρανση, το κενό, η ασφυξία, το πλύσιμο με νερό και η φυγοκέντρωση.
- Φυσικές: Οι φυσικές μέθοδοι αντιμετώπισης σχετίζονται με την μεταβολή της θερμοκρασίας, το ψύχος, την χρήση του ηλεκτροστατικού πεδίου και την χρήση των ιονίζουσων ακτινοβολιών.
- Βιοτεχνολογικές: Οι βιοτεχνολογικές μέθοδοι αντιμετώπισης των εντόμων εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων περιλαμβάνουν την χρήση παγίδων, φερομονών ή και τον συνδυασμό τους, τους ρυθμιστές αναπτύξεως και την χρήση αιθέριων ελαίων.
- Βιολογικές: Με τις βιολογικές μεθόδους αντιμετώπισης ο έλεγχος των εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων έχει εστιασθεί στην χρήση φυσικών εχθρών και την ένταξή τους στο οικοσύστημα της αποθήκης.

1.5.1 Βιολογική αντιμετώπιση

Η βιολογική αντιμετώπιση (ή βιολογική καταπολέμηση) ορίζεται ως η δράση των φυσικών εχθρών των επιβλαβών εντόμων (παρασιτοειδή, αρπακτικά, παθογόνα). Διακρίνεται σε φυσική βιολογική καταπολέμηση (δράση των φυσικών εχθρών χωρίς παρέμβαση του ανθρώπου) και σε εφαρμοσμένη βιολογική καταπολέμηση (δράση των φυσικών εχθρών μετά την ενεργό παρέμβαση του ανθρώπου). Η εφαρμοσμένη βιολογική καταπολέμηση διακρίνεται σε διαχείριση πληθυσμών (εκτροφή, πολλαπλασιασμός και εξαπόλυση ιθαγενών φυσικών εχθρών) και σε κλασική βιολογική καταπολέμηση (εισαγωγή και διαχείριση πληθυσμών εξωτικών φυσικών εχθρών και χρήση μικροβιακών σκευασμάτων) (Katsoyannos 1996, Κοντοδήμας 2004).

Βιολογική Καταπολέμηση: ορίζεται ως η δράση των φυσικών εχθρών των επιβλαβών εντόμων (παρασιτοειδή, αρπακτικά, παθογόνα).

Φυσική Βιολογική Καταπολέμηση: (δράση των φυσικών εχθρών χωρίς παρέμβαση του ανθρώπου).

Εφαρμοσμένη Βιολογική Καταπολέμηση: (δράση των φυσικών εχθρών μετά την ενεργό παρέμβαση του ανθρώπου).

Διαχείριση πληθυσμών: (εκτροφή, πολλαπλασιασμός και εξαπόλυση ιθαγενών φυσικών εχθρών).

Κλασική Βιολογική Καταπολέμηση: (εισαγωγή και διαχείριση πληθυσμών εξωτικών φυσικών εχθρών και χρήση μικροβιακών σκευασμάτων).

1.6 Εντομοπαθογόνοι μύκητες

Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες σε αντίθεση με τους άλλους εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς (βακτήρια, ιοί κλπ.) προσβάλλουν τα έντομα δια της επαφής και δεν απαιτούν την βρώση τους από τα έντομα για να προκληθεί η μόλυνση. Οι μύκητες, αυτές οι μικρές μικροβιακές μονάδες φυτικού χαρακτήρα που δεν περιέχουν χλωροφύλλη, υπόσχονται ευρεία χρησιμοποίηση στις βιολογικές καταπολεμήσεις. Ένας μεγάλος αριθμός μυκήτων μολύνει τα έντομα και τα μικρά αρθρόποδα όπως οι αράχνες. Αυτοί οι μύκητες ονομάζονται εντομοπαθογόνοι. Οι εντομοπαθογόνοι, μπορούν να επιτεθούν και να προσβάλλουν ένα έντομο. Στους εντομοπαθογόνους αυτούς μύκητες, χαρακτηριστικό είναι ότι τα έντομα προσβάλλονται, όχι μόνο στο στάδιο της προνύμφης ή νύμφης, αλλά και στο στάδιο του ακμαίου. Συχνά οι μύκητες εξαρτώνται πολύ από το περιβάλλον, κυρίως όσον αφορά τα αρχικά στάδια μόλυνσης. Έτσι, οι πιο σημαντικοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στην εκδήλωση ασθένειας από τα παθογόνα αυτά, είναι η θερμοκρασία και η υγρασία. Η σχετική υγρασία περιβάλλοντος στις περισσότερες περιπτώσεις θα πρέπει να είναι πολύ αυξημένη, δηλαδή, μεγαλύτερη από 85-90%, ώστε να επιτυγχάνεται αποτελεσματική δράση των εντομοπαθογόνων μυκήτων. Όταν ένα έντομο προσβληθεί από ένα μύκητα παθογόνο, ο μύκητας αυτός διαπερνά την επιδερμίδα και αναπτύσσει σιγά-σιγά στο εσωτερικό του εντόμου το μυκήλιο του, κατακλύζοντας έτσι όλους τους ιστούς και με τις τοξίνες που παράγει, έχει σαν αποτέλεσμα τη θανάτωση του ξενιστή. Στη συνέχεια ο μύκητας εμφανίζεται εξωτερικά με μυκήλιο και επανθίσεις και παρατηρούνται στην επιδερμίδα του εντόμου κονιδιοφόροι από τους οποίους γίνεται η διασπορά του παθογόνου.

Περισσότερα από 400 είδη παθογόνων μυκήτων έχουν απομονωθεί από έντομα, αλλά μέχρι σήμερα ένας μικρός αριθμός τους έχει αξιοποιηθεί ως βιοεντομοκτόνα, εξαιτίας της εξάρτησής από υψηλή σχετική υγρασία στο περιβάλλον και της έλλειψης γνώσεων σχετικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν την τοξικότητά τους. Στη μειωμένη αξιοποίησή τους, συμβάλλουν και οι τοξίνες που παράγουν αυτά τα παθογόνα και που μπορεί να είναι επιβλαβείς για τον άνθρωπο και τα ζώα. Επιπλέον, μερικοί μύκητες είναι πολύ απαιτητικοί ως προς την καλλιέργειά τους και παρουσιάζουν δυσκολίες για τη μαζική παραγωγή τους, ενώ όσοι είναι εύκολο να καλλιεργηθούν, εμφανίζουν εξασθένηση ύστερα από μακροχρόνια παραγωγή σε τεχνητά μέσα.

1.6.1 Μύκητες του γένους *Beauveria*

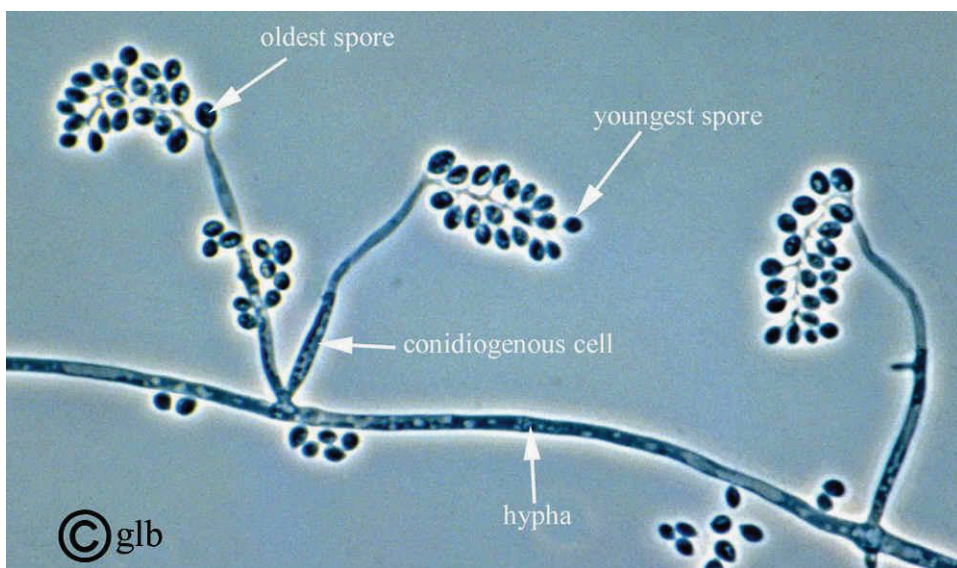
Επιστημονική ταξινόμηση του μύκητα:

Βασίλειο	→ Μύκητες
Διαίρεση	→ Ascomycota
Τάξη	→ Sordariomycetes
Οικογένεια	→ Clavicipitaceae
Γένος	→ <i>Beauveria</i>
Είδος	→ <i>B. bassiana</i>

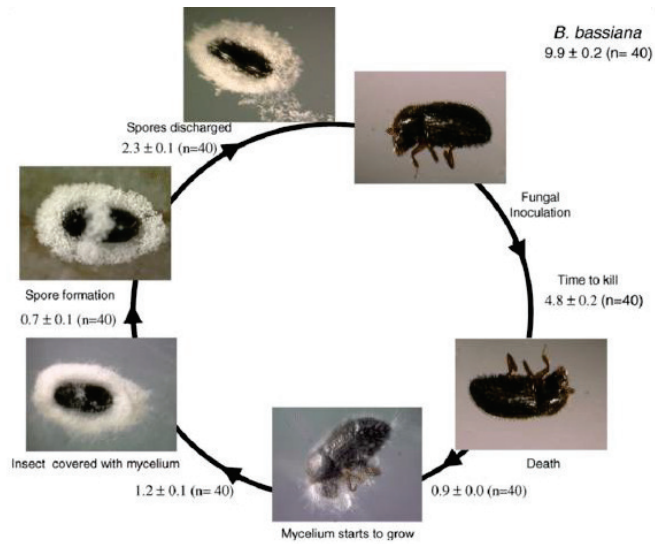
Ο εντομοπαθογόνος μύκητας *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycota: Hyphomycetes) είναι ένας εντομοπαθογόνος μύκητας που παρασιτεί σε ένα μεγάλο εύρος αρθρόποδων. Το όνομα του, το πήρε από τον Ιταλό εντομολόγο Agostino Bassi, οποίος και την ανακάλυψε το 1835 ως αίτιο για την άσπρη επίστρωσης (μούχλας) που βρέθηκε πάνω στο *Bombyx mori*.

Η ικανότητα των εντόμων έχει μελετηθεί ευρέως τα τελευταία χρόνια.(Cheung & Γριία, 1982, Fargues et al., 1997). Συνίσταται για την καταπολέμηση αφίδων, θριπών, αλευρωδών, κολεοπτέρων, ημιπτέρων κ.α. Επίσης δύναται να προσβάλλει προνύμφες λεπιδοπτέρων (Hassanlouï et al., 2006). Ο εντομοπαθογόνος αυτός μύκητας εισβάλλει στο σώμα του εντόμου. Τα κονίδια του έρχονται σε επαφή με την επιδερμίδα του και αφού βλαστήσουν, την διαπερνούν και αναπτύσσουν υφές παράγοντας τοξίνες ξηραίνοντας τα από υγρασία και θρεπτικά στοιχεία και τελικά θανατώνοντας τα. Η υψηλή υγρασία είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό των κονιδίων και η μόλυνση ολοκληρώνεται μέσα σε 24-48 ώρες αναλόγως της θερμοκρασίας. Το έντομο μπορεί να επιζήσει μέχρι και 3-5 μέρες αφού μολυνθεί. Όταν ο μύκητας τελικά σκοτώσει το έντομο αναπτύσσει μία λευκή εξάνθιση γύρω από το σώμα του η οποία παράγει εκατομμύρια νέα σπόρια τα οποία απελευθερώνονται στο περιβάλλον. Τα κονίδια του μύκητα είναι μονοκύτταρα, απλοειδή και υδρόφοβα (Rehner and Buckley, 2005).

Ο *B. bassiana* εμφανίζεται κυρίως στο χώμα σαν σαπρόφυτο. Εκεί διατηρείται με την μορφή κονιδίων για 2 χρόνια περίπου στους 8°C και 35% σχετική υγρασία. Ο μύκητας αναπτύσσεται ικανοποιητικά στους 20-30°C με άριστη θερμοκρασία τους 25-30°C. Σπόρια παράγονται στους 15-20°C. Διατηρούν την βλαστικότητα τους για 12 μήνες στους 8°C. Τα σπόρια μολύνουν άμεσα, μέσα και έξω από το σώμα του εντόμου. Κάτω από ευνοϊκές συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας τα σπόρια που παραμένουν στην επιδερμίδα των ξενιστών, βλαστάνουν και σχηματίζονται τα βλαστοσπόρια. Η υφή παράγει μέσω των σπορίων τα ένζυμα που επιτίθενται στην επιδερμίδα του εντόμου, την διαλύουν, διαπερνούν το δέρμα και καταλήγουν στο εσωτερικό του σώματός του, όπου και αναπτύσσονται. Όταν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές, ο μύκητας θα αναπτυχθεί μέσω του μαλακότερου μέρους του σώματος του εντόμου παράγοντας την χαρακτηριστική 'λευκή εξάνθιση. Η σχετική υγρασία πρέπει να είναι 92% ή και περισσότερη, προκειμένου να αναπτυχθεί ο *B. bassiana* και εκτός του εντόμου. Εκεί παράγονται κονίδια που ωριμάζουν και απελευθερώνονται στο περιβάλλον, ολοκληρώνοντας έτσι τον κύκλο τους.



Εικόνα 1.3 Κονίδια και κονιδιοφόροι του *Beauveria bassiana*.



Εικόνα 1.4 Βιολογικός κύκλος *B. bassiana* (Scott L. Portman, David K. Weaver).

1.6.2 Μύκητες του γένους *Isaria*

Επιστημονική ταξινόμηση του μύκητα:

- Βασίλειο** → Μύκητες
- Διαίρεση** → Ascomycota
- Τάξη** → Sordariomycetes
- Οικογένεια** → Clavicipitaceae
- Γένος** → *Isaria*
- Είδος** → *I. fumosorosea*

Η ασθένεια που προκαλεί ο εντομοπαθογόνος μύκητας *Isaria fumosorosea* αποδίδεται με τον όρο “pink muscardine” εξαιτίας του ροζ χρώματος κονιδιών που καλύπτουν τα νεκρά έντομα. Τα κονίδια τα οποία έρχονται σε επαφή με την επιδερμίδα του εντόμου και βλαστήσουν, διαπερνούν τη επιδερμίδα και πολλαπλασιάζονται μέσα στο σώμα του εντόμου και εισέρχονται στην αιμολέμφο. Συνεπώς οι μύκητες αυτού του είδους παράγουν κονίδια σε στερεό υπόστρωμα και βλαστοσπόρια σε υγρό υπόστρωμα. Τα βλαστοσπόρια βλαστάνουν ταχύτερα και σε μεγαλύτερο ποσοστό σε σχέση με τα κονίδια.

1.6.3 Εμπορικά Μικροβιακά Σκευάσματα με βάση μύκητες

Στην Ελλάδα κυκλοφορεί μόνο το εμπορικό σκεύασμα του *Beauveria bassiana* (Naturalis SC) για την αντιμετώπιση αφίδων, αλευρωδών και θριπών, το οποίο έχει δείξει υψηλή αποτελεσματικότητα και επί άλλων εντομολογικών εχθρών. Επίσης κατά το παρελθόν έχουν δοκιμαστεί εμπορικά σκευάσματα του *Verticillium lecanii* (Mycotai, Vertalec) εναντίον αλευρωδών, θριπών, αφίδων και κοκκοειδών με ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Στο εξωτερικό κυκλοφορούν εμπορικά σκευάσματα και άλλων μυκήτων όπως του *Beauveria brongniartii* (*B. tenella*) για την αντιμετώπιση κολεοπτέρων Scarabeidae, του *Lagenidium giganteum* για την αντιμετώπιση δίπτερων, του *Metarhizium anisopliae* για την αντιμετώπιση κολεοπτέρων, λεπιδοπτέρων και ισοπτέρων, του *M. anisopliae acridium* για την αντιμετώπιση ορθοπτέρων, του *M. anisopliae anisopliae* για την αντιμετώπιση του κολεοπτέρου *Dermolepida albohirtum* (Scarabeidae), του *M. anisopliae strain* ICIPE30 και ICIPE30 για την αντιμετώπιση ισοπτέρων και θυσανοπτέρων, του *M. flavoviridae* για την αντιμετώπιση του κολεοπτέρου *Adoryphorus coultonii* (Scarabeidae) και του *Paecilomyces fumosoroseus* για την αντιμετώπιση αφίδων, αλευρωδών, θριπών και αραχνοειδών.

1.7 Συνδυασμός εντομοπαθογόνων μύκητων με άλλους μικροοργανισμούς

Ένας εντομοπαθογόνος μύκητας ταυτόχρονα με άλλο παθογόνο μικροοργανισμό έχει ως στόχο την αύξηση της αποτελεσματικότητας και την επιτάχυνση του θανάτου του εντόμου στόχου. Αυτή η προσέγγιση βασίζεται πάνω στην υπόθεση ότι το έντομο θα αποδυναμωθεί από την παρουσία του πρώτου παθογόνου με συνέπεια να μολυνθεί πιο εύκολα από το δεύτερο παθογόνο (Cox, 2001). Διάφορες μελέτες για την αλληλεπίδραση των εντομοπαθογόνων μικροοργανισμών, με έμφαση στη σχέση τους με τον ξενιστή ή/και την δυναμική των παθογόνων αυτών έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι σήμερα (Korpenhöfer και Kaya, 1997, Korpenhöfer et al. 1999, Cox 2001, Ishii et al. 2002, Ma et al. 2008, Kryukov et al. 2009, Rahman et al. 2010, Wakil et al. 2013). Η πλειονότητα των μελετών αυτών αφορούσε τη σχέση ενός παθογόνου με ένα ξενιστή. Όμως υπάρχουν ενδείξεις ανάμεσα σε ξενιστή-παθογόνο πως υφίστανται «μεικτές» μολύνσεις και αυτές περιλαμβάνουν δυο ή περισσότερους παθογόνους παράγοντες (Cox 2001, Read και Taylor 2001). Οι «μεικτές» μολύνσεις είναι συνήθεις και ίσως να αποτελούν τον κανόνα (Cox 2001, Read και Taylor 2001). Για παράδειγμα «μεικτές» μολύνσεις έχουν παρατηρηθεί σε διάφορους ξενιστές όπως θηλαστικά (Behnke et al. 2001, Cox 2001), πτηνά (Forbes et al. 1999), ερπετά (Lainson 2002) και ψάρια (Barker et al. 2002). Είναι πιθανό τα έντομα να υφίστανται ταυτόχρονη έκθεση σε διαφορετικούς παθογόνους μικροοργανισμούς άρα οι «μεικτές» μολύνσεις να είναι πιθανές και στα έντομα (Ishii et al. 2002). Σε συνδυασμούς παθογόνων μικροοργανισμών ενδέχεται να παρουσιαστούν πολύπλοκες αλληλεπιδράσεις που οδηγούν στην αύξηση της αποτελεσματικότητας του ενός ή και των δυο, την μείωση της αποτελεσματικότητας του ενός ή και των δυο, την μείωση ης αποτελεσματικότητας του ενός και την αύξηση ης αποτελεσματικότητας του άλλου (Cox 2001). Επίσης, η αλληλεπίδραση μεταξύ των παθογόνων μπορεί να οριστεί είτε σαν θετική είτε σαν αρνητική. Η θετική αλληλεπίδραση μεταφράζεται είτε ως συνέργεια είτε ως προσθετική σχέση μεταξύ τους ενώ η αρνητική αλληλεπίδραση αντιστοιχεί στον ανταγωνισμό των παθογόνων. Μελέτες αναφέρουν ότι η σχέση μεταξύ των παθογόνων είναι τις περισσότερες φορές προσθετική (Chamley και Collins 2007). Επομένως «μεικτές» μολύνσεις μπορούν να επιφέρουν δραματικές αλλαγές στη δυναμική του πληθυσμού του ξενιστή κάτι που μέχρι σήμερα δεν έχει λάβει την απαιτούμενη προσοχή.

1.8 Σκοπός της Εργασίας

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι να δώσει λύσεις στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων αποφεύγοντας την χρήση φαρμάκων και χημικών. Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες αποτελούν σημαντικό κομμάτι στην αντιμετώπιση των επιβλαβών εντόμων και παρουσιάζουν μεγάλο οικονομικό ενδιαφέρον. Η μελέτη τους ενδεχομένως να δώσει σημαντικά στοιχεία απαραίτητα για τη διαχείριση των εχθρών στα σιτηρά.

Έτσι, μελετήθηκε η αλληλεπίδραση αλλά και ο συνδυασμός των εντομοπαθογόνων μυκήτων στην επιβίωση των νεαρών ακμαίων του εντόμου *S. granarius* in vitro και γι' αυτό το λόγο εξετάσαμε δύο είδη μυκήτων που ανήκουν στα γένη *Beauveria* και *Isaria*.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Εκτροφή του εντόμου *Sitophilus granarius*

Η εκτροφή του *Sitophilus granarius* έλαβε χώρα στο ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας στο εργαστήριο Φυτοπροστασίας και Φαρμακολογίας του Τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων και αναπτύχθηκε μέσα σε αποστειρωμένο καλαμπόκι. Σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του εντόμου το δωμάτιο βρισκόταν σε σταθερή θερμοκρασία 25°C. Τα έντομα αναπτύσσονταν μέσα σε βάζα και πραγματοποιούνταν αραιώσεις, ώστε να αποφευχθεί ο συνωστισμός που θα επηρέαζε την ανάπτυξη και τη πρόσληψη τροφής των προνυμφών. Σε όλα τα στάδια της ανάπτυξης του εντόμου, τα έντομα βρίσκονταν σε δωμάτιο με σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας 25±1°C, υγρασίας 60 – 70% Σ.Υ. και φωτοπεριόδου 16:8 ώρες Φ:Σ

2.2. Εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιήθηκαν οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *Beauveria bassiana* Balsamo (Vuillemin) (Hypocreales: Cordycipitaceae) και *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown & Smith (Hypocreales: Clavicipitaceae) από τη συλλογή του Δρ Σπυρίδωνα Μαντζούκα. Οι απομονώσεις διατηρούνταν σε τρυβλία Petri επί θρεπτικού υλικού SDA (Sabouraud Dextrose Agar, Sigma - Aldrich) σε θερμοκρασίες 5±1°C και ανανεώνονταν κάθε μήνα (Εικ 5). Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες απομονώθηκαν με την μέθοδο της χρήσης του εντόμου *Galleria mellonella* ως δολώματος (Μέθοδο *Galleria Bait*) (Zimmermann 1986).



Εικόνα 2.1 Ανάπτυξη των εντομοπαθογόνων μυκήτων σε Sabouraud Dextrose Agar

2.3 Παρασκευή Εναιωρημάτων Εντομοπαθογόνων Μυκήτων

Προκειμένου να παρασκευαστούν τα εναιωρήματα κονιδίων για τις ανάγκες των πειραμάτων, οι μύκητες καλλιεργήθηκαν σε τρυβλία Petri 9cmΦ με Sabouraud Dextrose Agar και αφέθηκαν να αναπτυχθούν στο σκοτάδι για 15 μέρες στους $25^{\circ}\text{C}\pm 1$ ενώ είχαν ασφαλιστεί με Parafilm® για να προστατευτούν από επιμολύνσεις. Το θρεπτικό υλικό Sabouraud Dextrose Agar, προσαρμόστηκε εν μέρει για τη καλλιέργεια και τη ταυτοποίηση μυκήτων. Συνολικά, 20 μονάδες πενικιλίνη και 40 μικρογραμμάρια στρεπτομυκίνη ή διυδροστρεπτομυκίνη/ ml του μέσου, προστίθενται στο αποστειρωμένο και λιωμένο μέσο στους $45 - 50^{\circ}\text{C}$, υπό ασηπτικές συνθήκες. Αυτές οι επιθυμητές συγκεντρώσεις της πενικιλίνης μπορούν εύκολα να παρασκευασθούν διαλύοντας τα περιεχόμενα ενός φιαλιδίου πενικιλίνης που περιέχει 100.000 μονάδες σε 10 ml αποστειρωμένου νερού. Δύο (2) ml αυτού του διαλύματος, προστίθενται σε 1 lt αποστειρωμένου μέσου, στους $45 - 50^{\circ}\text{C}$, υπό ασηπτικές συνθήκες (0,2 ml / 100 ml του μέσου). Για να παρασκευασθούν οι επιθυμητές συγκεντρώσεις στρεπτομυκίνης στο ίδιο μέσο, διαλύονται 1.000.000 μικρογραμμάρια στρεπτομυκίνης σε 10 ml αποστειρωμένου νερού. Ένα (1) ml αυτού του διαλύματος προστίθεται σε 9 ml αποσταγμένου νερού, για να δώσει ένα διάλυμα, το οποίο να περιέχει 10.000 micrograms στρεπτομυκίνης / ml. Στο κάθε λίτρο του μέσου, προστίθενται 4 ml αυτού του διαλύματος για να παρατηρηθούν 40 micrograms / ml. (0,4 ml για 100 ml μέσου). Για να ενυδατωθεί ξανά το μέσο, προστίθενται 65g απ' το Bacto – SabouraudDextroseAgar σε 1000 ml κρύου αποστειρωμένου νερού και θερμαίνονται με βράσιμο για να διαλυθεί το μέσο εντελώς. Έπειτα διανέμεται στα σωληνάκια στα μπουκαλάκια κι αποστειρώνεται στο κλίβανο για 15 λεπτά σε 15% πίεση (121°C). Η τελική αντίδραση του μέσου είναι: pH 5,6. «Φρέσκα» κονίδια συλλέχτηκαν από τις καλλιέργειες 15 ημερών για να χρησιμοποιηθούν στα πειράματα μας. Τα εναιωρήματα κονιδίων μας παρασκευάστηκαν με «ξύσιμο», με την χρήση αποστειρωμένου μεταλλικού γάντζου στην επιφάνεια των τρυβλίων. Τα κονίδια μεταφέρονταν σε φιάλες των 500ml που περιείχαν 50ml αποστειρωμένου νερού που περιείχε 0.05% Tergitol® NP9. Το διάλυμα κονιδίων φιλτραρίστηκε διαμέσου αρκετών στρωμάτων αποστειρωμένου πανιού - «τούλι» μικρής διατομής- και στη συνέχεια το διάλυμα ομογενοποιήθηκε για 5 λεπτά με την βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα (Goettel και Inglis 1997, Quesada – Moraga et al. 2007). Στην συνέχεια σε οπτικό μικροσκόπιο (400x) χρησιμοποιήθηκε αιματοκυτταρόμετρο Neubauer για το καθορισμό των

επιθυμητών δόσεων. Η βλάστηση των κονιδίων ήταν 95%. Αυτό εκτιμήθηκε με την εξέταση κονιδίων των μυκήτων με τη χρήση οπτικού μικροσκοπίου (40x) υστέρη από την επώαση τους στο σκοτάδι και μετά το πέρας εικοσιτεσσάρων ωρών.

2.3.1 Μελέτη της επίδραση της συνδυαστικής εφαρμογής των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B. bassiana* και *I. fumosorosea* επί νεαρών ακμαίων του εντόμου.

Για την μελέτη της αλληλεπίδρασης, τα ακμαία του εντόμου ψεκάστηκαν με την χρήση αποστειρωμένου ψεκαστήρα χειρός όγκου 50ml. Χρησιμοποιήθηκαν εναιωρήματα κονιδίων με πυκνότητα 10^4 , 10^6 , 10^8 κονίδια/ml για τους εντομοπαθογόνους μύκητες. Τα ακμαία ψεκάστηκαν απευθείας με το εναιώρημα των κονιδίων σε τρυβλίο Petri με 10g αποστειρωμένου σίτου. Η θνησιμότητα των ακμαίων καταγραφόταν καθημερινά για δεκά πέντε ημέρες. Τα νεκρά ακμαία απομακρύνθηκαν από τα τρυβλία Petri και αποστειρώθηκαν επιφανειακά για να αποφευχθεί η σαπροφυτική φάση του μύκητα. Στη συνέχεια οι αποστειρωμένες προνύμφες τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri που περιείχαν υγρό διηθητικό χαρτί έως ότου εμφανιστεί το μυκήλιο του μύκητα. Για τον καθορισμό της αιτίας θανάτου και τον προσδιορισμό του παθογόνου κάθε νεκρή προνύμφη εξεταζόταν με την βοήθεια στερεοσκοπίου.

2.4 Μαθηματική Μέθοδος προσδιορισμού της αλληλεπίδρασης των παθογόνων

Η αλληλεπίδραση μεταξύ των παθογόνων υπολογίστηκε από τον τύπο των Robertson και Preisler: $PE = P_0 + (1 - P_0) * (P_1) + (1 - P_0) * (1 - P_1) * (P_2)$ όπου: PE η αναμενόμενη θνησιμότητα από συνδυασμό των δυο παθογόνων, P0 η θνησιμότητα του μάρτυρα, P1 η θνησιμότητα του πρώτου παθογόνου και P2 η θνησιμότητα του δεύτερου παθογόνου. Η κατανομή προσδιορίστηκε από τον μαθηματικό τύπο $\chi^2 = (L_0 - L_E)^2 / L_E + (D_0 - D_E)^2 / D_E$ όπου: L0 ο αριθμός των ζωντανών προνυμφών που παρατηρήθηκε, D0 ο αριθμός των νεκρών προνυμφών που παρατηρήθηκε, LE ο αριθμός των αναμενόμενων ζωντανών προνυμφών και DE ο αριθμός των αναμενόμενα νεκρών προνυμφών. Ο μαθηματικός τύπος χρησιμοποιήθηκε για να ελέγξουμε την υπόθεση ανεξάρτητη - ταυτόχρονη σχέση (df=1, P=0.05). Αν $\chi^2 < 3.84$, η σχέση ορίζεται ως προσθετική. Αν $\chi^2 > 3.84$ και η θνησιμότητα που παρατηρήσαμε είναι μεγαλύτερη από την αναμενόμενη, η σχέση ορίζεται ως συνεργιστική. Αντίθετα αν $\chi^2 > 3.84$ και η θνησιμότητα που παρατηρήσαμε

είναι μικρότερη από την αναμενόμενη, η σχέση ορίζεται ως ανταγωνιστική. Η παραπάνω μαθηματική φόρμουλα χρησιμοποιήθηκε για να υπολογιστεί η αλληλεπίδραση των παθογόνων μετά από δεκά-πέντε ημέρες (Mantzoukas et al. 2013).

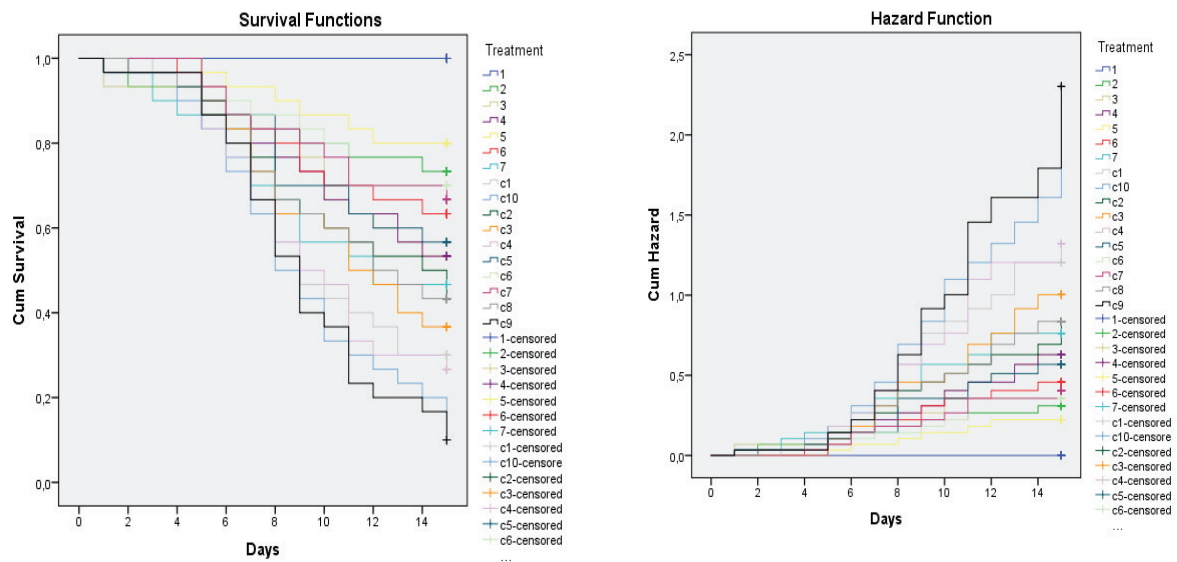
2.5 Στατιστική επεξεργασία

Η αποτελεσματικότητα όλων των στελεχών επί των προνυμφών υπολογίστηκε με τον τύπο του Abbott (Abbott 1925, Kurstak 1982). Το στατιστικό πακέτο IBM SPSS (IBM corp., IL, USA, version 23.0) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση της διακύμανσης των δεδομένων. Τα δεδομένα όπου κρίνονταν αναγκαία μετατρέπονταν κατάλληλα (\arcsin) προκειμένου να τηρηθούν οι προϋποθέσεις της παραμετρικής ανάλυσης για ίσες παραλλακτικότητες μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ο χρόνος επιβίωσης των ακμαίων του *S. granarius* υπολογίστηκε με ανάλυση Kaplan-Meier και η σύγκριση έγινε με το τεστ Log Rank (Mantel-Cox).

2.6 Αποτελέσματα

Μελέτη της επίδρασης της συνδυαστικής εφαρμογής των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B. bassiana* και *I. fumosorosea* επί των ακμαίων του εντόμου.

Η ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier (Log Rank (Mantel-Cox) για τις συνδυαστικές δόσεις, υποδεικνύει ότι ο μέσος συνολικός χρόνος επιβίωσης για τα ακμαία Lt50 ήταν 9 ± 0.7 ημέρες και Lt75 ήταν 7 ± 0.3 (Chi-Square: 3.153, df=1, P=.076) για τους συνδυασμούς των εντομοπαθογόνων μυκήτων. Η ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier (Breslow Generalized Wilcoxon test) για τις μεμονωμένες δόσεις, υποδεικνύει ότι ο μέσος συνολικός χρόνος επιβίωσης Lt75 για τα ακμαία ήταν 9 ± 0.9 ημέρες (Chi-Square: 1.296, df=1, P=.255) (Πίνακας 2.). Με βάση τα αποτελέσματα της ανάλυσης Kaplan-Meier, επιλέχθηκε ο χρόνος λήξης των μετρήσεων μας για τον υπολογισμό των αλληλεπιδράσεων μεταξύ των παθογόνων.



Διάγραμμα 2. Καμπύλες επιβίωσης και τοξικότητας (Kaplan-Meier) των ακμιαίων του εντόμου *S. granarius* μετά από την μεμονωμένη και συνδυασμένη δράση των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B. bassiana* (Bb) και *I. fumosorosea* (If) σε εργαστηριακές συνθήκες (25 °C, RH 70%) (n=30) (Log Rank (Mantel-Cox)) (1: Μάρτυρας, 2: Bb 10⁴, 3: Bb 10⁶, 4: Bb 10⁸, 5: If 10⁴, 6: If 10⁶, 7: If 10⁸, c1: Bb-If 10⁸ -10⁴, c2: If-Bb 10⁶ -10⁶, c3: Bb-If 10⁴ -10⁸, c4: If-Bb 10⁸ -10⁶, c5: Bb-If 10⁶ -10⁸, c6: If-Bb 10⁴ -10⁴, c7: Bb-If 10⁴ -10⁴, c8: Bb-If 10⁶ -10⁶, c9: If-Bb 10⁸ -10⁸, c10: Bb-If 10⁸ -10⁸).

Πίνακας 1. Log Rank pairwise σύγκριση (Mantel-Cox) μεταξύ των συνδυασμών των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B. bassiana* (Bb) και *I. fumosorosea* (If) (Kaplan-Meier survival analysis, $P < 0,05$) ανά χειρισμό στους 25°C (n=30) (σε επίπεδο σημαντικότητας 95%). (2: Bb 10⁴, 3: Bb 10⁶, 4: Bb 10⁸, 5: If 10⁴, 6: If 10⁶, 7: If 10⁸, c1: Bb-If 10⁸-10⁴, c2: If-Bb 10⁶-10⁶, c3: Bb-If 10⁴-10⁸, c4: If-Bb 10⁸-10⁴, c5: Bb-If 10⁶-10⁸, c6: If-Bb 10⁶-10⁶, c7: Bb-If 10⁴-10⁴, c8: Bb-If 10⁸-10⁸, c9: If-Bb 10⁸-10⁸, c10: Bb-If 10⁸-10⁸).

Treatment	Μαγρύλας																																		
	Χ ²	Sig.	Χ ²	Sig.	Χ ²	Sig.	Χ ²	Sig.	Χ ²	Sig.																									
M	9,10	,003	18,21	,000	13,3	,01	33,2	,000	53,7	,000	23,9	,000	11,8	,000	10,4	,000	16,4	,000	35,9	,000	28,2	,000	97	,000	22,3	,000	11,8	,000	35,9	,000	53,7	,000			
2	5		13		45		63		29		21		48		35		72		48		97		0		48		35		48		72				
3	18	,000	2,163	,14	,543	,50	4,13	,04	22,3	,000	4,70	,03	6,86	,000	11,7	,000	1,49	,22	11,7	,000	6,86	,03	0		21		,035	,85	,207	,64	,80	,41			
4	18,2	,000							3,77	,05	,568	,45	1,50	,22	4,68	,03	,82	,82	4,68	,03	1,50	,22	0		7		,052	,82	,82	,82	,34				
5	4	,010	4,49	,503	2,07	,15	7,61	,000	30,4	,000	8,40	,000	11,2	,000	17,6	,000	3,75	,05	17,6	,000	11,2	,000	0		5		,791	,37	1,35	,24	8,40	,000			
6	45	,000	5,43	,461	5	0	1,96	,16	6,51	,01	2,14	,14	3,62	,05	7,68	,000	,244	,24	7,68	,000	3,62	,05	0		8		,343	,55	,091	,76	2,19	,13			
7	63	,000	4,13	,042	1,96	,16	1,09	,29	6,18	,01	,000	,99	,154	,5	1,68	,19	,831	,2	1,68	,19	,154	,5	0		5		3,79	,05	2,80	,09	,000	,99	6,14	,01	
c1	33,2	,000	3,72	,05	6,51	,01	1,09	,29	1,88	,16	1,35	,24	,568	,1	,82	,45	,82	,45	,82	,45	,568	,1	3		5		,976	,00	9,76	,00	1,26	,26	1,80	,17	
c1	53,7	,000	11,8	,000	30,4	,000	6,18	,01	1,88	,16	7,32	,00	4,99	,02	1,47	,22	13,1	,00	22,1	,00	4,99	,02	0		6		22,1	,00	19,7	,00	6,73	,00	,000	,99	
0	29	,000	32	,000	33	,000	3	3	9	,9	9	,9	3	3	9	,9	58	,0	22,1	,00	58	,0	0		25		22,1	,00	6	6	6	6	6	6	
c2	21	,000	5,62	,3	2,14	,14	3	3	6	,6	6	,6	,227	,4	1,01	,31	,962	,7	1,6	,6	,227	,4	0		7		4,19	,04	3,14	,07	,003	,95	7,21	,00	
c3	28,2	,000	1,49	,222	3,62	,05	1,54	,5	4,99	,45	11,2	,000	3,62	,05	5,68	,5	3,62	,05	4,99	,45	5,68	,5	0		5		6,09	,01	4,86	,02	,170	,68	5,02	,02	
4	48	,000	4,62	,03	7,68	,000	1,68	,19	1,47	,22	1,91	,16	1,01	,31	7	3	5,47	,01	1,6	,6	1,01	,31	0		5		11,3	,00	9,53	,00	1,87	,17	1,36	,24	
c5	16,4	,000	8,2	,052	3,75	,05	8,31	,2	4,38	,03	9,62	,7	4,38	,03	9,62	,7	1	9	5,47	,01	4,38	,03	0		2		46	,1	0	2	1	1	8	2	
c6	10,4	,001	1,67	,19	3,79	,05	3,79	,05	3,79	,05	3,79	,05	3,79	,05	3,79	,05	3,79	,05	3,79	,05	3,79	,05	0		0		3	1	1,11	,29	4,16	,04	21,9	,00	
5	35		7		791		5		791		5		791		5		791		5		791		0		4		3	1	,083	4	4	1	14	0	
c7	11,8	,001	1,04	,30	1,35	,24	2,80	,09	8,08	,00	3,14	,07	4,86	,02	9,53	,00	,602	,43	1,11	,29	4,86	,02	0		8		1,11	,29	4,86	,02	4,86	,02	19,4	,00	
6	66		0		8		0		8		0		8		0		8		8		8		0		0		0	0	0	0	0	0	0	0	
c8	23,9	,000	4,80	,028	2,19	,13	6,34	,6	6,73	,00	2,19	,13	6,73	,00	2,19	,13	6,73	,00	2,19	,13	6,73	,00	0		0		3	1	4,16	,04	21,9	,00	6,81	,00	
7	89		11,9	,000	16,4	,36	6,14	,05	16,4	,36	6,14	,05	16,4	,36	6,14	,05	16,4	,36	6,14	,05	16,4	,36	0		0		0	0	0	0	0	0	0	0	0
c9	53,5	,000	22,2	,41	36		5		36		5		36		5		36		5		36		0		23		14	0	6,81	,00	2	2	9	9	

Στο Πίνακα 1. καταγράφονται τα στατιστικά αποτελέσματα ως προς τη θνησιμότητα που εντοπίστηκαν μεταξύ των μεμονωμένων και συνδυαστικών δόσεων με την ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier (έλεγχος Log Rank και έλεγχος Mantel-Cox για κατά ζεύγη συγκρίσεις).

Πίνακας 2. Ο μέσος χρόνος επιβίωσης των ακμαίων του εντόμου ανά χειρισμό στους 25°C λόγω επίδρασης των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B. bassiana* (Bb) και *I. fumosorosea* (If) (n=30) (Kaplan-Meier) (Breslow Generalized Wilcoxon test) (σε επίπεδο σημαντικότητας 95%). (2: Bb 10⁴, 3: Bb 10⁶, 4: Bb 10⁸, 5: If 10⁴, 6: If 10⁶, 7: If 10⁸, c1: Bb-If 10⁸-10⁴, c2: If-Bb 10⁶-10⁶, c3: Bb-If 10⁴-10⁸, c4: If-Bb 10⁸-10⁶, c5: Bb-If 10⁶-10⁸, c6: If-Bb 10⁴-10⁴, c7: Bb-If 10⁴-10⁴, c8: Bb-If 10⁶-10⁶, c9: If-Bb 10⁸-10⁸, c10: Bb-If 10⁸-10⁸).

Μεταχειρίσεις	Μέσος χρόνος επιβίωσης των ακμαίων					
	25,0%		50,0%		75,0%	
	Estimate	Std. Error	Estimate	Std. Error	Estimate	Std. Error
2					14,000	.
3					10,000	1,549
4					9,000	1,817
6					9,000	1,615
7			12,000	.	7,000	1,255
c1			9,000	1,366	7,000	,645
c10	13,000	2,317	8,000	,913	6,000	,807
c2	.	.	14,000	2,739	8,000	1,033
c3			11,000	1,369	7,000	,807
c4			9,000	1,174	7,000	1,033
c5					8,000	1,004
c6					11,000	,837
c7					11,000	1,673
c8			12,000	2,054	7,000	1,211
c9	11,000	,927	9,000	,671	7,000	,645
Overall					8,000	,345

Στο Διάγραμμα 2 παρατηρούμε την θνησιμότητα εκφρασμένη ως Επιβίωση και Τοξικότητα¹ όπου η επίδραση του συνδυασμού c9 (0.17 Cum Survival, 2.35 Cum Hazard, 15 ημέρες) ήταν μεγαλύτερη. Αντίθετα, η επίδραση του συνδυασμού c6 (0.7 Cum Survival, 0.5 Cum Hazard, 15 ημέρες) ήταν μικρότερη. Στο Πίνακα 1 παρουσιάζεται ο μέσος χρόνος επιβίωσης των ακμαίων του εντόμου ανά χειρισμό. Ο μέσος χρόνος επιβίωσης των ακμαίων στους συνδυασμούς με μικρότερο για τους c8, c9 και c10 ενώ με τον μεγαλύτερο χρόνο επιβίωσης ήταν οι συνδυασμοί c6 και c7. Ο μέσος χρόνος επιβίωσης των ακμαίων στις μεμονωμένες δόσεις ήταν ο μικρότερος για την δόση 7 ενώ ο μεγαλύτερος για την δόση 2. Ο

¹ Η τοξικότητα (θνησιμότητα μεταφρασμένη) αναφέρεται στο ποσοστό θανάτου για ένα έμβιο οργανισμό συγκεκριμένης ηλικίας λόγω επίδρασης ενός παράγοντα α.

συνολικός μέσος χρόνος επιβίωσης ήταν για του συνδυασμούς 10 ημέρες και για τις μεμονωμένες δόσεις 14 ημέρες. Με βάση τις παραπάνω συνθήκες, το σημείο που επιλέχθηκε ήταν το τέλος του πειράματος όπου και σε όλες τους συνδυασμούς, η αλληλεπίδραση των παθογόνων ήταν προσθετική (Πιν. 3.).

Πίνακας 3. Αλληλεπιδράσεις των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B. bassiana* (Bb) και *I. fumosorosea* (If) των ακμαίων του εντόμου *S. granarius*, σε διάφορους συνδυασμούς πυκνοτήτων στους 25°C. (A= Ανταγωνιστική, Σ= Συνεργιστική, Π= Προσθετική) (n=30). *Η αναμενόμενη θνησιμότητα υπολογίστηκε σύμφωνα με τους Robertson και Preisler (Mantzoukas et al. 2013).

Πυκνότητα		Θνησιμότητα (%)		χ^2 (1 df, P=0.05)	Αλλ/δραση
Χειρισμοί		Παρατηρήθηκε	Αναμενόμενη *		
<i>B. bassiana</i>	<i>I. fumosorosea</i>				
10 ⁸	10 ⁴	70	65,78	-0,05	Π
10 ⁶	10 ⁶	56	66,22	0.03	Π
10 ⁴	10 ⁸	64	64,22	-0.07	Π
10 ⁶	10 ⁶	57	66,22	0.13	Π
10 ⁸	10 ⁸	93	78,22	-0.4	Π
10 ⁸	10 ⁸	90	78,22	-0.5	Π
10 ⁴	10 ⁴	34	43,78	-0.04	Π
10 ⁸	10 ⁶	58	70,44	-0.12	Π
10 ⁶	10 ⁸	74	82,14	1.11	Π
10 ⁴	10 ⁴	37	43,78	-0.07	Π

2.7 Συζήτηση

Στην παρούσα μελέτη, οι συνδυασμοί των εντομοπαθογόνων μύκητων *B. bassiana* και *I. fumosorosea* έδειξαν αυξημένη θνησιμότητα σε σχέση με την χρήση των παθογόνων μεμονωμένα. Διαπιστώθηκε θετική αλληλεπίδραση μεταξύ των παθογόνων μικροοργανισμών που χρησιμοποιήθηκαν, με της παρακάτω συγκεκριμένες παρατηρήσεις: Στο τέλος του πειράματος, οι συνδυασμοί εμφάνισαν στο σύνολο τους, προσθετική αλληλεπίδραση, η οποία θα μπορούσε θεωρηθεί ως μια θετική σχέση μεταξύ των παθογόνων παραγόντων που χρησιμοποιήθηκαν. Οι Driver and Milner επίσης αναφέρουν ότι η ταυτόχρονη χρήση του μικροσποριδίου *Paranosema locustae* Canning και του μύκητα *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* εναντίον της ακρίδας της ερήμου *Schistocerca gregaria* Forskål είχε ως αποτέλεσμα οι προνύμφες της ακρίδας να πεθαίνουν νωρίτερα από ότι οι προνύμφες που εφαρμόστηκε μόνο ένας εντομοπαθογόνος μικροοργανισμός (Tounou et al. 2008). Σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις παρατηρήθηκε ότι οι δυο εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί εμφάνισαν προσθετική αλληλεπίδραση ενώ στις υψηλότερες συγκεντρώσεις η αλληλεπίδραση ήταν συνεργιστική (Tounou et al. 2008). Οι Sandner και Cichy (1967) εφάρμοσαν ένα μίγμα *B. thuringiensis* subsp *kurstaki* και *B. bassiana* εναντίον προνυμφών του σκώρου της Μεσογείου και βάση των αποτελεσμάτων αναφέρουν ότι οι δύο εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί ενήργησαν αυτοτελώς. Οι Wright και Ramos (2005) αναφέρουν συνεργιστική αλληλεπίδραση μεταξύ *B. bassiana* strain GHA και *B. thuringiensis* subsp *tenebrionis* όταν εφαρμόστηκαν σε συνδυασμό (tank mixed) εναντίον της προνύμφης του κολεοπτέρου *Leptinotarsa decemlineata*.

Πολλές μελέτες αναφέρουν αλληλεπιδράσεις μεταξύ διαφορετικών παθογόνων στους ίδιους ξενιστές (Lewis et al. 1996, Bauer et al. 1998, Thomas et al. 2003, Wright and Ramos 2005, Raymond et al. 2006, Xiao - Mu Ma et al. 2008). Οι Pevling και Weyrich (1992), Mietkiewski και Gorski (1995) αναφέρουν ότι οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *B. bassiana* και *M. robertsii* όταν χρησιμοποιηθούν ταυτόχρονα με άλλο παθογόνο παράγοντα εμφανίζουν άλλοτε συνέργεια άλλοτε ανταγωνισμό και άλλοτε ουδέτερη αλληλεπίδραση. Ομοίως οι Dutt και Balasubramanian (2002) αναφέρουν ότι με κατάλληλες περιβαλλοντικές συνθήκες ο εντομοπαθογόνος μύκητας *B. bassiana* συνδυαζόμενος με το εμπορικό σκεύασμα endosulfan καθίσταται σημαντικά πιο αποτελεσματικός στον έλεγχο του λεπιδόπτερου *Plutella xylostella*. Οι Daykar et al. (2000) αναφέρουν ότι ο συνδυασμός των εντομοπαθογόνων μύκητων *B. bassiana* και *M. robertsii* με εμπορικό σκεύασμα αύξησε το ποσοστό

θνησιμότητας σε σχέση με την θνησιμότητα που προκαλούν όταν αυτά χρησιμοποιούνται μεμονωμένα. Στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν οι Quintela και McCoy (1997) όταν χρησιμοποίησαν τους *B. bassiana* και *M. robertsii* σε συνδυασμό με υπό – τοξικές δόσεις του εμπορικού σκευάσματος imidacloprid εναντίον του κολεοπτέρου *Diaprepes abbreviata* καθώς οι Purwar και Sachan (2004) όταν το δοκίμασαν για το έλεγχο της αφίδας *Lipahis erysimi*. Οι Lewis και Bing (2002) αναφέρουν ότι η χρήση του εντομοπαθογόνου μύκητα *B. bassiana* σε συνδυασμό με το εντομοπαθογόνο βακτήριο *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* μείωσε τον πληθυσμό του λεπιδοπτέρου *Ostrinia nubilalis*. Επίσης οι Lewis και Bing (1991) κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η εφαρμογή του *B. thuringiensis* subsp *kurstaki* σε συνδυασμό με τον εντομοπαθογόνο μύκητα *B. bassiana* εμφανίζουν ανεξάρτητη μεταξύ τους δράση. Στο ίδιο συμπέρασμα οδηγήθηκαν οι Costa et al. (2001), οι οποίοι δεν παρατήρησαν κάποιας μορφής συνέργεια μεταξύ του *B. thuringiensis* subsp *kurstaki* και του *B. bassiana* όταν αυτοί εφαρμόστηκαν σε προνύμφες του κολεοπτέρου *Leptinotarsa decemlineata*. Αντίθετα συνέργεια μεταξύ των δύο παθογόνων παραγόντων αναφέρουν ως πιθανή οι Xiao – Mu Ma et al. (2008) όταν τα παθογόνα εφαρμόζονται σε συνδυασμό ακολουθώντας την ίδια μέθοδο.

Γενική παρατήρησης είναι ότι η θνησιμότητα των εντόμων παρουσιάζει αύξηση του ποσοστού της όταν χρησιμοποιούνται περισσότερα τους ενός παθογόνα (Jacques et al. 1981). Τα αποτελέσματά μας οδήγησαν στο συμπέρασμα ότι ο συνδυασμός των εντομοπαθογόνων μύκητων μπορεί να αυξήσει την θνησιμότητα των προνυμφών των ακμαίων του κολεοπτέρου *S. granarius*. Έτσι εφαρμόζοντας δύο μικροοργανισμοί εντομοπαθογόνων ταυτόχρονα προσφέρουμε μια αξιόπιστη μέθοδο ελέγχου του που θα μπορούσε να είναι πιο αποτελεσματική από τη χρήση ενός παθογόνου. Οι πληροφορίες αυτές μπορεί να φανούν ιδιαίτερα χρήσιμες στο μέλλον για τον έλεγχο του εντόμου και εφόσον αξιοποιηθούν κατάλληλα μέσα από ολοκληρωμένα προγράμματα διαχείρισης εντόμων.

3. Βιβλιογραφία

3.1 Ελληνικές Πηγές

- Αθανασιάδης, Χ., 2007. Έντομα αποθηκών και μέθοδοι αντιμετώπισής τους. Πτυχιακή Μελέτη, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα Θερμοκηπιακών Καλλιεργειών και Ανθοκομίας, Ανώτατο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Κρήτης
- Κατσιαντώνη, Χ., 2010. Αξιολόγηση εντομοπαθογόνων μυκήτων για την αντιμετώπιση της ευμενίδας της αμπέλου *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae). Πτυχιακή Εργασία
- Κρεμμυδιώτης, Δ, 2011. Εντομοπαθογόνοι μύκητες ως ενδόφυτα για την αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών Πτυχιακή Μελέτη, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καλαμάτας.
- Λυκουρέστης, 1995. Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εντόμων- εχθρών καλλιεργειών. Πανεπιστημιακές παραδόσεις. Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα
- Μαντζούκας, Σ., 2008. Έρευνα για την ανεύρεση εντομοπαθογόνων μυκήτων στα εδάφη της Ελλάδος, Διατμηματικό μεταπτυχιακό πρόγραμμα σπουδών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων-ΤΕΙ Ηπείρου
- Μαντζούκας, Σ., 2013. Βιολογικός έλεγχος του Λεπιδόπτερου *Sesamia nonagrioides* L. σε καλλιέργεια γλυκού σόργου (*Sorghum bicolor* L). Εργαστηριακή μελέτη της εντομοπαθογόνου δράσης τριών μυκήτων της τάξης Hygrocreales καθώς και μελέτης της ενδοφυτικής και εντομοπαθογόνου συμπεριφοράς τους σε συνθήκες πεδίου. Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας
- Μπάκας Ε., 1994. Έντομα αποθηκών και μέθοδοι αντιμετώπισής τους. Πτυχιακή Μελέτη, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καλαμάτας
- Μπουχέλος, Κ.θ., 2005. Έντομα αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων. Πανεπιστημιακές παραδόσεις, Γ.Π.Α.
- Σταματίνα, Α., Καλαμάτα 2010. Εργαστηριακή αξιολόγηση απομονώσεων εντομοπαθογόνων μυκήτων για την αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών. Πτυχιακή Μελέτη, Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, Τμήμα Φυτικής Παραγωγής, Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καλαμάτας

3.2 Ξενόγλωσσες Πηγές

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265-267.
- Abdel Rahman Khaled M., Barta M., Cagan L., 2010. Effect of combining *Beauveria bassiana* and *Nosema pyrausta* on the mortality of *Ostrinia nubilalis*, *Cent. Eur. J. Biol.* 5: 472-480.
- Avantaggiato, G., Quaranta, F., Desiderio, E., Visconti, A., 2002. Fumonisin contamination of maize hybrids visible damaged by *Sesamia*. *J. Sci. Food Agric.* 83, 13–18.
- Bischoff, J.F., Rehner, S.A., Humber, R.A., 2009. A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* line age. *Mycologia* 101, 512-530.
- Brownbridge, M, (1991) Native *Bacillus thuringiensis* isolates for the management of lepidopteran cereal pests. *Insect Sci. Appl.* 12, 57-61
- Butron A., Malvar R.A., Carteam.E., Ordas A. & Velasco P. 1999: Resistance of maize inbreds to pink stem borer. *Crop Prot.* 39: 102–107.
- Butron, A., Sandoya, G., Santiago, R., Orda's, A., Rial, A., Malvar, R.A., 2006a. Searching for new sources of pink stem borer resistance in maize. *Genet. Resour. Crop Evol.* 53, 1455–1462.
- Costa, S.D., Barbercheck, M.E., Kennedy, G.G., 2001. Mortality of Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*) after sublethal stress with the CRYIII deltaendotoxin of *Bacillus thuringiensis* and subsequent exposure to *Beauveria bassiana*. *J. Invertebr. Pathol.* 77, 173–179.
- Cox, F. E. G., 2001. Concomitant infections, parasites and immune responses. *Parasitology.* 122: 23–38.
- Dimas I., Pitta E. and Angelopoulos K., 2007. Corn Stalk Borer (*Sesamia nonagrioides*) Infestation on Sorghum in Central Greece. *Phytoparasitica* 35(2): 191-193.
- Furlong MJ, Groden EJ, 2001 Evaluation of synergistic interactions between the Colorado potato beetle (Coleoptera:Chrysomelidae) pathogen *Beauveria bassiana* and the insecticides, imidacloprid and cyromazine. *Econ. Entomol.*, 94(2): 344–356.
- Hilder, V.A., Boulter, D., 1999. Genetic engineering of crop plants for insect resistance—a critical review. *Crop Prot.* 18, 177–191.
- Jacques R.P., Morris O.N., 1981. Compatibility of pathogens with other methods of pest control and with different crops, In: Burges H.D., Hussey N.W., (Eds.), *Microbial Control of Insect and Mites*, Academic Press, New York,.

- Kryukov V. Yu., Khodyrev V. P., Yaroslavtseva O. N., Kamenova A. S., Duisembekov B. A., and Glupov V. V., 2009. Synergistic Action of Entomopathogenic Hyphomycetes and the Bacteria *Bacillus thuringiensis* ssp. *morrisoni* in the Infection of Colorado Potato Beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Applied Biochemistry and Microbiology*, Vol. 45, No. 5, pp. 511–516.
- Lacey, L.A. and Brooks, W.A. 1997. *Biological techniques series – Manual of techniques in insect pathology*. Academic press, London.
- Lefebvre, A. 1827. Description de divers insects in edits. *Ann. Soc. Linn. Paris* 6, 98.
- Lewis, L.C., Bing, L.A., 1991. *Bacillus thuringiensis* Berliner and *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin for European corn borer control: program for immediate and season long suppression. *Canadian Entomologist* 123, 387–393.
- Lewis, L.C., Berry, E.C., Obrycki, J.J., Bing, L.A., 1996. Aptness of insecticides (*Bacillus thuringiensis* and carbofuran) with endophytic *Beauveria bassiana*, in suppressing larval populations of the European corn borer. *Agriculture Ecosystems & Environment* 57, 27–34.
- Lopez C., Elizaguirre M. & Albajes R. 2003: Courtship and mating behaviour of the Mediterranean corn borer, *Sesamia nonagrioides* (Lepidoptera: Noctuidae). *Spanish J. Agr. Res.* 1: 43–51
- Malvar, R.A., Buto n, A., Ordas, B., Santiago, R., 2008. Causes of natural resistance to stem borers in maize. In: Burton, E.N., Williams, P.V. (Eds.), *Crop Protection Research Advances*. Nova Science Publishers, Inc., pp. 57–100.
- Mantzoukas S., Milonas P., Kontodimas D., and Angelopoulos K., 2013. Interaction between the entomopathogenic bacterium *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* and two-entomopathogenic fungus in bio-control of *Sesamia nonagrioides*(Lefebvre) (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of Microbiology*63: 1083-1091
- Mietkiewski, R., Gorski, R., 1995. Growth of selected entomopathogenic fungi species and isolates on media containing insecticides. *Acta Mycol.* 30, 27–33.
- Moore, D., Prior, C., 1996. Mycoinsecticides. In: Upadhyay, R.K., Mukerjee, K.G., Rajak, R.L. (Eds.), *IPM system in Agriculture*, Vol. II. *Biocontrol in Emerging Biotechnology*. Aditya Books Private Ltd, N. Delhi, pp. 25–56.
- Pevling, R., Weyrich, J., 1992. Effects of neem oil, *B. bassiana* and Dieldrin on non target tenebrionid beetle in desert zone of the Republic of Niger. *Biological control of Locusts and Gras hoppers: Proceedings of the Workshop held at International Institute of Tropical*

- Agriculture: Cotonou, Republic of Benin, April–May 1991, Wallingford, UK, CABI, pp. 321–336.
- Riba G., Marcandier S., Richard G., Larget I., 1983. Sensibilité de la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) (Lep.: Pyralidae) aux hypomycètes entomopathogènes, *Entomophaga*, 28, 55–64.
- Quesada-Moraga, Enrique., Navas – Cortez, Juan A, Maranhao, Elizabeth A. A., Ortiz - urquiza, Almudena, Candido Santiago Alvarez., 2007. Factors affecting the occurrence and distribution of entomopathogenic fungi in natural and cultivated soils. *Mycological Research* III 947 – 966.
- SAS Institute Inc. 2011. SAS OnlineDoc®. Version 18. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina
- Sandner, H., Cichy, D., 1967. Research on the effectiveness of fungal and bacterial insecticides. *Ekol. Pol. Ser. A* 15, 325–333.
- Sobek, E.A., Munkvold, G.P., 1999. European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae) larvae as vectors of *Fusarium moniliforme*, causing kernel rot and symptom less infection of maize kernels. *J. Econ. Entomol.* 92, 503–509.
- Thomas, M.B., Watson, E.L., Valverde-Garcia, P., 2003. Mixed infections and insect pathogen interactions. *Ecol. Lett.* 6, 183–188.
- Van Rensburg JBJ, Van Den Berg J, 1992. Infestation patterns of stalk borers *Busseola fusca* Fuller (Lep.: Noctuidae) and *Chilo partellus* Swinhoe (Lep.: Pyralidae) in sorghum. *J Entomol Soc South Afr* 55:197–212
- Velasco, P., Revilla, P., Butro' n, B., Orda' s, B., Orda' s, A., Malvar, R.A., 2002. Ear damage of sweet corn inbreds and their hybrids under multiple corn borer infestation. *Crop Sci.* 42, 724–729.
- Wraight, S.P., Ramos, M.E., 2005. Synergistic interaction between *Beauveria bassiana*- and *Bacillus thuringiensis tenebrionis*-based biopesticides applied against field populations of Colorado potato beetle larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 90, 139–150.
- Xiao-Mu Maa,, Xiao-Xia Liu, Xia Ning, Bo Zhang, Fei Han, Xiu-Min Guan, Yun-Feng Tan Qing-Wen Zhang, 2009. Effects of *Bacillus thuringiensis* toxin Cry1Ac and *Beauveria bassiana* on Asiatic corn borer (Lepidoptera: Crambidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 99:123–128.
- Zimmermann, G., 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pestic. Sci.* 37, 375–379.