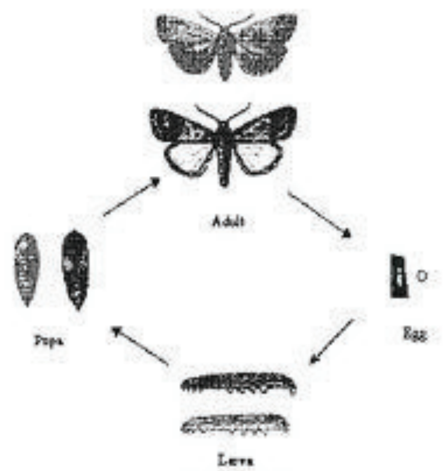
ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ
ΙΔΡΥΜΑ
ΔΥΤΙΚΗΣ
ΕΛΛΑΔΑΣ

ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ ΓΕΩΠΟΝΩΝ

«Μελέτη της αποτελεσματικότητας απομονώσεων εντομοπαθογόνων μυκήτων από εδάφη του Νομού Αχαΐας επί των εντόμων *Ephestia kuehniella* και *Trogoderma granarium*»

ΡΟΔΗ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ Α.Μ. 11714



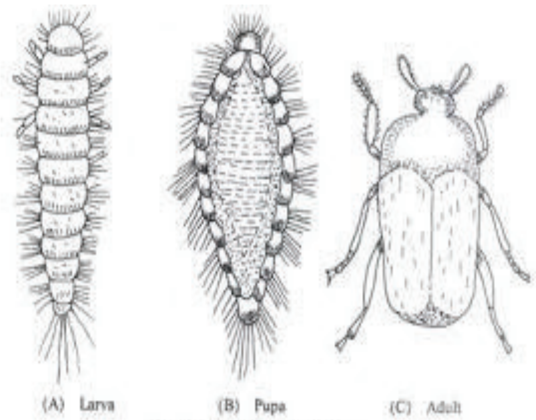


Fig. 106. *Trogoderma granaria*

Επιβλέπουσα καθηγήτρια:

Δρ. Καραναστάση Ειρήνη

ΑΜΑΛΙΑΔΑ 2018

«Μελέτη της αποτελεσματικότητας απομονώσεων εντομοπαθογόνων μυκήτων από εδάφη του Νομού Αχαΐας επί των εντόμων *Ephestia kuehniella* και *Trogoderma granarium*»

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Για την επιτυχή εξέλιξη της παρούσας εργασίας οφείλω να ευχαριστήσω τους καθηγητές και κάποιους συμφοιτητές μου για την πολύτιμη βοήθεια τους, πιο συγκεκριμένα:

Την εισηγήτρια της πτυχιακής εργασίας, Δρα Καραναστάση Ειρήνη, Αναπληρώτρια καθηγήτρια του τμήματος Τεχνολόγων Γεωπόνων Αμαλιάδας, που ουσιαστικά ήταν η *''κινητήρια δύναμη''* του πειράματος, έδωσε τις βασικές γνώσεις καθώς παραχώρησε το γραφείο και το εργαστήριο της για την διεξαγωγή της πτυχιακής εργασίας

Επιπλέον, τον Δρα Μαντζούκα Σπυρίδων που με τις γνώσεις του, την επιμονή και ουσιαστική βοήθεια του σε κάθε βήμα του πειράματος, κατάφερα να αφομοιώσω την σημασία του πειράματος για την ορθή υλοποίηση της παρούσας πτυχιακής μου εργασίας.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τις συμφοιτήτριες μου, Ζήκου Αθανασία, Γαζέπη Μαρία και Τριανταφύλλου Βάσω που με την πολύτιμη βοήθεια τους και συμπαράστασή τους μου έδιναν δύναμη να συνεχίσω.

Η δε μελέτη φύσεως αγαθά πλείονα δωρείται.

ΕΠΙΜΑΡΧΟΣ 530-440 π.Χ

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Α

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η συνεχής κατά γεωμετρική πρόοδο αύξηση του πληθυσμού της γης, επιβάλλει μεταξύ άλλων και την αντιμετώπιση του μεγάλου προβλήματος της διατροφής του ανθρώπου. Ο άνθρωπος, στο συνεχή αγώνα του για επιβίωση, παράγει μεγάλες ποσότητες προϊόντων τα οποία πρέπει να αποθηκεύσει, με σκοπό, να μεταποιηθούν, να μεταφερθούν ή να καταναλωθούν. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης τους, τα γεωργικά προϊόντα, προσβάλλονται από διαφόρων κατηγοριών εχθρούς και ασθένειες, που πολλές φορές προκαλούν σημαντικές ζημιές.

Η καταπολέμηση των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων είναι επιτακτική ανάγκη. Βασίζεται σε στρατηγικές διαφορετικές από αυτές που ακολουθούνται για τους εχθρούς των καλλιεργειών. Εξάλλου, ενώ κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας είναι δυνατόν να αντιμετωπιστούν με κατάλληλες επεμβάσεις του ανθρώπου, ζημιές από δεδομένη προσβολή, οι απώλειες που προκαλούνται κατά την αποθήκευση των αγροτικών προϊόντων είναι πολλές φορές κυριολεκτικά ανεπανόρθωτες.

Με τον όρο "έντομα αποθηκευμένων προϊόντων" χαρακτηρίζουμε τα έντομα εκείνα που προσβάλλουν εδώδιμα ή μη προϊόντα, που βρίσκονται στη φάση της επεξεργασίας ή της αποθήκευσης τους. Τα έντομα αποθηκών μπορούμε να τα κατατάξουμε με διάφορους τρόπους ανάλογα με τις ιδιαιτερότητες τους, την οικογένεια ή την οικονομική σημασία τους.

Ορισμένα έντομα προσβάλλουν ένα πλήθος ειδών αποθηκευμένων προϊόντων (π.χ. τα είδη του γένους *Ephestia* sp. 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 (*Sitophilus granarius*). Σχεδόν όλα τα λεπιδόπτερα σχηματίζουν μετάξινες «θήκες», 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 ανάπτυξή τους. Ο ρυθμός αναπαραγωγής τους είναι ευθέως ανάλογος, των τιμών των παραγόντων αυτών στο προϊόν και τους αποθηκευτικούς χώρους (Πίνακας 1).

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.

1.1 ΟΙΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΚΩΝ ΠΡΟΣΒΟΛΩΝ ΚΑΙ ΤΡΟΠΟΙ ΜΟΛΥΝΣΗΣ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

Για την ορθή αντιμετώπιση των εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων, κυρίως των εντόμων, είναι απαραίτητο να γνωρίζουμε, εκτός από την μορφολογία και τη βιολογία κάθε είδους, τις απαιτήσεις τους από το περιβάλλον και τις συνθήκες που ευνοούν την αναπαραγωγή και την ανάπτυξη τους. Χωρίς αμφιβολία, τα έντομα που βρίσκονται σήμερα στις αποθήκες, ζούσαν άλλοτε στους αγρούς τρεφόμενα με σπόρους και φυτικούς ιστούς που έβρισκαν άφθονα. Όταν όμως ο άνθρωπος άρχισε να αποθηκεύει σπόρους και άλλα γεωργικά εφόδια για να καλύψει τις βιοτικές του ανάγκες, τα έντομα αυτά, βρίσκοντας εύκολα άφθονη τροφή στις αποθήκες χωρίς να είναι υποχρεωμένα να πετούν μακριά με αντίξοες καιρικές συνθήκες, εγκαταστάθηκαν σ' αυτές. Αυτό είχε σαν αποτέλεσμα να χάσουν ή να έχουν περιορισμένη δυνατότητα πτήσης. Λόγω του μικρού τους μεγέθους, της ευκολίας με την οποία τρυπούν την μάζα των προϊόντων και της αντοχής τους στις δύσκολες καιρικές συνθήκες έγιναν τα πιο πολλά παμφάγα και κοσμοπολίτικα, μεταφερόμενα με την διακίνηση των εμπορευμάτων σ' όλα τα μέρη του κόσμου. Τα περισσότερα έντομα αποθηκών προέρχονται από περιοχές θερμών κλιμάτων, της τροπικής και υποτροπικής ζώνης, και προτιμούν κυρίως θερμό ή ξηρό περιβάλλον διαβίωσης, τρέφονται δε από ύλες μικρής περιεκτικότητας σε υγρασία. Υπάρχουν όμως είδη που κατορθώνουν να επιβιώσουν και σε βόρειες περιοχές της γης, όπως είναι το *Sitophilus oryzae*.

Πίνακας 1. Τα σπουδαιότερα έντομα αποθηκών

ΕΙΔΟΣ	**ΚΟΙΝΟ ΟΝΟΜΑ**	**ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ**
Α. ΚΟΛΕΟΠΤΕΡΑ		
Lasioderma serricorne	Σκαθάρι του καπνού	Anodiidae
Sitophilus granarius	Σκαθάρι του σιταριού	Curculionidae
Sitophilus oryzae	Σκαθάρι του ρυζιού	Curculionidae
Acanthoscelides obtectus	Βρούχος των φασολιών	Bruchidae
Bruchus pisorum	Βρούχος των μπιζελιών	Bruchidae
Bruchus lentis	Βρούχος της φακής	Bruchidae
Oryzaephilus surinamensis	Ψείρα του σταριού	Sylvanidae
Trogoderma granarium	Τρωγόδερμα των σπόρων	Dermestidae
Trogoderma inclusum	Τρωγόδερμα των σπόρων	Dermestidae
Tenebrioides mauritanicus	Σκαθάρι των σπόρων	Trogostidae
Rhizopertha dominica	Σκαθάρι του ρυζιού	Bostrychidae
Tribolium confusum	Ψείρα ή σκαθάρι των αλεύρων	Tenebrionidae
Tribolium castaneum	Σκούρο σκαθάρι των αλεύρων	Tenebrionidae
Β. ΛΕΠΙΔΟΠΤΕΡΑ		
Ephestia elutella	Σκουλήκι καπνού ή κακάο	Pyralididae
Ephestia kuehniella	Σκουλήκι των αλεύρων	Pyralididae
Ephestia cautella	Σκουλήκι σύκων, σταφίδας	Pyralididae
Sitotroga cerealella	Σιτότρωγα	Geleghiidae
Γ. ΔΙΠΤΕΡΑ		
Piophila casei	Σκουλήκι του τυριού	Piophilidae
Δ. ΑΚΑΡΕΑ		
Acarus siro	Ακάρι των αλεύρων	Acaridae

Προϊόντα, κυρίως σιτηρά, σε θερμοκρασίες γύρω στους 21^{o}C ή υψηλότερες, θεωρούνται επιδεκτικά μεγάλης προσβολής. Στις θερμοκρασίες αυτές ο πληθυσμός των εντόμων αυξάνεται πολύ γρήγορα και αναμένονται μεγάλες ζημιές. Σε θερμοκρασίες άνω των 35^{o}C, η επιβίωση και η αναπαραγωγή των περισσότερων εντόμων είναι προβληματική και η ζωή τους μικρή. Εξαιρέσεις αποτελούν τα: *Lasioderma serricorne*, *Trogoderma granarium*, *Tribolium confusum*, *Palorus* sp. κ.ά. Ειδικά το *Lasioderma serricorne* επιδεικνύει ιδιαίτερη προτίμηση στις υψηλές θερμοκρασίες, όπου μπορεί να ωοτοκεί ακόμα και σε θερμοκρασία 43^{o}C ενώ κάθε δραστηριότητα του αναστέλλεται σε θερμοκρασία κατώτερη των 15^{o}C. Γενικότερα όμως, σε θερμοκρασίες ανώτερες των 38^{o}C τα περισσότερα έντομα αδυνατούν να επιζήσουν. Ως προς τις απαιτήσεις τους σε υγρασία, τα περισσότερα είδη όπως τα *Tribolium* sp. ζουν και αναπαράγονται σε προϊόντα μικρής περιεκτικότητας σε υγρασία (άλευρα, γαλέτα), ενώ άλλα, όπως τα *Sitophilus* sp. δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε σπόρους με υγρασία κατώτερη από 8%.

1.2 ΕΝΤΟΜΑ ΑΠΟΘΗΚΩΝ

Με τον όρο "έντομα αποθηκευμένων προϊόντων" χαρακτηρίζουμε τα έντομα εκείνα που προσβάλλουν εδώδιμα ή μη προϊόντα, που βρίσκονται στη φάση της επεξεργασίας ή της αποθήκευσης τους. Τα έντομα αποθηκών μπορούμε να τα κατατάξουμε με διάφορους τρόπους ανάλογα με τις ιδιαιτερότητες τους, την οικογένεια ή την οικονομική σημασία τους. Πιο αναλυτικά, έντομα προσβάλλουν ένα πλήθος ειδών αποθηκευμένων προϊόντων (π.χ. τα είδη του γένους *Ephestia* sp. προσβάλλουν άλευρα, σπόρους δημητριακών, σύκα, σταφίδες, καπνό, κακάο). Για τα περισσότερα έντομα αποθηκών υπάρχουν οριακές τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας για την αναπαραγωγή και ανάπτυξη τους. 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. *Triborium* 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%.

1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Ως **Βιολογική Αντιμετώπιση** εννοούμε τη χρησιμοποίηση ζωντανών οργανισμών για τον περιορισμό του πληθυσμού των επιβλαβών εντόμων. Οι οργανισμοί που χρησιμοποιούνται χαρακτηρίζονται ως φυσικοί εχθροί των επιβλαβών εντόμων. Στους φυσικούς εχθρούς συγκαταλέγονται τα εντομοφάγα έντομα, και οι εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί. Τα εντομοφάγα έντομα διακρίνονται σε αρπακτικά και παρασιτοειδή. Με τον όρο αρπακτικά χαρακτηρίζονται είδη εντόμων που κατά την ανήλικη ζωή τους και ώσπου να συμπληρώσουν την ανάπτυξή τους τρώνε κατά κανόνα περισσότερα από ένα άτομα της λείας (θηράματος) τους.

Στους εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς περιλαμβάνονται οι μύκητες, τα βακτήρια και τα πρωτόζωα αλλά και οι ιοί και οι νηματώδεις. Συνήθως διασπείρονται και χρησιμοποιούνται με τα συνήθη ψεκαστικά μηχανήματα και για αυτό και χρησιμοποιείται ο όρος μικροβιακά εντομοκτόνα. Από τα πιο γνωστά παραδείγματα χρήσης εντομοπαθογόνων μικροοργανισμών είναι το βακτήριο *Bacillus thuringiensis* που χρησιμοποιείται για την αντιμετώπιση προνυμφών λεπιδοπτέρων εντόμων αλλά και διπτέρων όπως κουνούπια και κολεοπτέρων. Σήμερα κυκλοφορούν στο εμπόριο αρκετά σκευάσματα που φέρουν ως δραστική ουσία βακτήρια, μύκητες, ιούς και νηματώδεις.

Εικόνα 1. Επάνθιση του εντομοπαθογόνου μύκητα *Beauveria bassiana*, σε ενήλικα άτομα *Rhynchophorus ferrugineus* (Κοντοδήμας 1998).

Εικόνα 2. Επάνθιση του εντομοπαθογόνου μύκητα *Metarhizium anisopliae* σε ενήλικα άτομα *Rhynchophorus ferrugineus* (Κοντοδήμας 1998).

Η Βιολογική Αντιμετώπιση διακρίνεται σε Φυσική και σε Εφαρμοσμένη. Η Εφαρμοσμένη Βιολογική Αντιμετώπιση διακρίνεται σε Διαχείριση πληθυσμών (εκτροφή, πολλαπλασιασμός και εξαπόλυση ιθαγενών φυσικών εχθρών) και σε Κλασική Βιολογική Αντιμετώπιση (δηλαδή εισαγωγή και διαχείριση πληθυσμών εξωτικών φυσικών εχθρών ή χρήση μικροβιακών σκευασμάτων).

Εικόνα 3. Βιολογική καταπολέμηση εντόμων αποθηκών με (4) τέσσερεις διαφορετικούς τρόπους (Κοντοδήμας 1998).

ΤΟ ΚΟΛΕΟΠΤΕΡΟ *TROGODERMA GRANARIUM*

1.4 Η ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ DERMESTIDAE

1.4.1 Γενικά

Πολλά από τα 48 είδη (τα οποία ανήκουν σε 12 γένη) αυτής της οικογένειας υπάρχουν στην κεντρική Ευρώπη και παρασιτούν στα σπίτια. Οι προνύμφες τρέφονται εξ ολοκλήρου με υλικά ζωικής προέλευσης, τα μεγαλύτερα από αυτά τα σκαθάρια τρέφονται με γύρη και συχνά απαντώνται πάνω σε φυτά. Τέτοιου είδους κολεόπτερα μας είναι γνωστά από μία μεγάλη γκάμα αγαθών την οποία προσβάλλουν, συμπεριλαμβανομένων των αποξηραμένων ψαριών και δερμάτων, μάλλινων αντικειμένων, μουσειακών δειγμάτων και σπόρων δημητριακών. Έχουν σχήμα ωοειδές και μήκος 1.5 ως 1mm. Πολύ συχνά είναι επικαλυμμένα με τρίχωμα ή χρωματιστές πτέρυγες. Όταν υπάρχουν οι πτέρυγες, όπως συμβαίνει στα είδη *Anthrenus* sp., η εμφάνιση τους αποκτά ένα πολύχρωμο σχέδιο. Οι καμπιοειδείς προνύμφες είναι πολύ τριχωτές. Αυτό το αγκαθωτό τους χαρακτηριστικό μπορεί να προκαλέσει μεγάλους ερεθισμούς στο δέρμα όταν έρθει σε επαφή με αυτό ή όταν κάποιος το καταπιεί. Υπάρχουν 18 είδη αυτού του γένους στην κεντρική Ευρώπη. Οι προνύμφες συνήθως βρίσκονται στις φωλιές των πουλιών καθώς και σε πτώματα και σε άλλα ζωικά υλικά. Πολλά από αυτά ζουν στα σπίτια. Τα είδη αυτά τρέφονται με διάφορα προϊόντα ζωικής προελεύσεως που βρίσκονται στα σπίτια και στις αποθήκες.

Τα ενήλικα έντομα είναι επιμήκη-οβάλ, μήκους περίπου 1,6 έως 3,0 mm και πλάτους 0,9 έως 1,7 mm. Τα αρσενικά είναι καστανά έως μαύρα με αδιαφανή κοκκινωπή καφετιά σημάδια στα έλυτρα τους. Τα θηλυκά είναι ελαφρώς μεγαλύτερα από τα αρσενικά και έχουν ελαφρύτερο χρώμα. Η κεφαλή είναι μικρή και εκτοπίζεται με μικρές κεραίες με 11 τμήματα. Οι κεραίες φέρουν ροπαλοειδής άκρο τριών έως πέντε τμημάτων, το οποίο ταιριάζει σε μια αυλάκωση στην πλευρά του pronotum. Τα ενήλικα έντομα καλύπτονται με τρίχες.

Οι προνύμφες κατά την εκκόλαψη έχουν μήκος περίπου 1,6 έως 1,8 mm, περισσότερο από το ήμισυ του οποίου αποτελείται από μια ουρά που αποτελείται από τρίχες στο τελευταίο τμήμα της κοιλίας. Οι προνύμφες είναι ομοιόμορφα κιτρινωπές, εκτός από τις τρίχες κεφαλής και σώματος που είναι καφέ. Καθώς οι προνύμφες αυξάνονται σε μέγεθος, το χρώμα του σώματος τους αλλάζει σε ένα χρυσό ή κοκκινωπό καφέ, αναπτύσσονται περισσότερες τρίχες σώματος και η ουρά γίνεται αναλογικά μικρότερη. Οι ώριμες προνύμφες έχουν μήκος περίπου 6 mm και πλάτος 1,5 mm.

Τα έντομα της οικογένειας Dermestidae, είναι σημαντικά στις τελικές φάσεις της αποσύνθεσης ενός πτώματος. Τα ενήλικα και οι προνύμφες, που είναι τριχωτά, τρέφονται από το ξηρό δέρμα, τους τένοντες και τα κόκαλα που απέμειναν από τις προνύμφες των μυγών. Είναι τα μόνα που έχουν τα απαραίτητα ένζυμα για να διασπάσουν την κερατίνη, ένα πρωτεϊνικό συστατικό της τρίχας.

1.4.2 Γεωγραφική εξάπλωση

Είναι δύσκολο να ληφθούν ακριβή στοιχεία κατανομής για το *Trogoderma granarium*, επειδή η αποδοχή της παρουσίας του σε μια χώρα μπορεί να οδηγήσει σε επιβολή εμπορικών περιορισμών. Η ενδημική της ζώνη εκτείνεται από τη Βιρμανία στη δυτική Αφρική. Έχει εισαχθεί από το εμπόριο σε ορισμένες περιοχές παρόμοιων κλιματικών συνθηκών. Το συγκεκριμένο έντομο ανακαλύφθηκε για πρώτη φορά στις ΗΠΑ στην Καλιφόρνια το 1953. Εντούτοις, αργότερα αποφασίστηκε να έχει εισαχθεί ήδη από το 1946 σε αποθήκη στο Fresno της Καλιφόρνιας και ενδεχομένως να βρίσκεται στην κοιλάδα San Joaquin από το 1939.

1.4.3 Βιολογία εντόμου

Τα έντομα των ενηλίκων έχουν πτέρυγες, αλλά προφανώς δεν πετούν και τρέφονται πολύ λίγο (Εικ 4Β). Το ζευγάρωμα εμφανίζεται περίπου πέντε ημέρες μετά την εμφάνιση και η ωοτοκία αρχίζει σχεδόν αμέσως στους 40°C. Η ωοτοκία μπορεί να αρχίσει σε μία έως τρεις ημέρες σε ψυχρότερες θερμοκρασίες, αλλά δεν παράγονται ωά στους 20°C. Τα ωά εκκολάπτονται σε 3 έως 14 ημέρες αφού τα θηλυκά εναποθέτουν κατά μέσο όρο 50 έως 90 ωά που είναι χαλαρά διάσπαρτα στο υλικό του ξενιστή. Η πλήρης ανάπτυξη από το ωό σε ενήλικα μπορεί να διαρκέσει από 26 έως 220 ημέρες, ανάλογα με τη θερμοκρασία. Η βέλτιστη θερμοκρασία για ανάπτυξη είναι 35°C. Εάν η θερμοκρασία πέσει κάτω από τους 25°C για μια χρονική περίοδο ή εάν οι προνύμφες είναι πολύ γεμάτες, μπορεί να εισέλθουν σε διάπαυση. Μπορούν να επιβιώσουν σε θερμοκρασίες κάτω από -8°C. Οι προνύμφες τρέφονται με μια μεγάλη ποικιλία από αποθηκευμένα προϊόντα και αποξηραμένα τρόφιμα (Εικ 4Α). Προτιμούν δημητριακά όπως σιτάρι, κριθάρι και ρύζι, αλλά οι προνύμφες έχουν καταγραφεί στα ακόλουθα: βρώμη, σίκαλη, καλαμπόκι, αποξηραμένο αίμα, αποξηραμένο γάλα, ιχθυάλευρο, αρακά, αλεύρι, πίτουρο, βύνη, σπόροι τριφυλλιού, σπόροι ντομάτας, σπόροι σπόρου σόργου, άχυρο σιταριού και άχυρο.

Εικόνα 4: Α) Η προνύμφη του κολεοπτέρου*T. granarium*
Β) Ακμαίο του κολεοπτέρου *T. granarium*

1.5 ΤΟ ΛΕΠΙΔΟΠΤΕΡΟ *EPHESTIA KUEHNIELLA*

1.5.1 Συστηματική Κατάταξη

Τάξη: Lepidoptera

Υπόταξη: Heteroneura

Οικογένεια: Pyralidae

Κοινή Ονομασία: Εφέστια ή Μεσογειακό σκουλήκι των αλευρών

Αγγλική Ονομασία: Mediterranean flour moth

1.5.2 Βιολογία του εντόμου

Ακμαίο: Το μήκος του σώματος κυμαίνεται από 10-14 mm, το άνοιγμα πτερύγων από 18-25 mm, οι πτέρυγες τους έχουν βελούδινη υφή και καλύπτονται όπως και το υπόλοιπο σώμα από μαλακές πεπλατυσμένες τρίχες. Οι πρόσθιες τρίχες έχουν χρώμα γκρίζο σατινέ με τρεις μαύρες εγκάρσιες κυματοειδής γραμμές, ενώ οι οπίσθιες είναι υπόλευκες ή ανοιχτότεφρες και ελαφρώς κροσσωτές, ροπαλοειδείς, κτενοειδείς και πτεροειδείς. Τα στοματικά τους μόρια είναι λειχο-μυζητικού τύπου και σχηματίζουν προβοσκίδα που όταν δεν χρησιμοποιείται, συσπειρώνεται σαν ελατήριο. Ο θώρακας σχηματίζεται περισσότερο από τον προθώρακα, τον μεσοθώρακα, με περισσότερο ανεπτυγμένο το μεσοθώρακα. Άνοιγμα πτερύγων 18 –

25 mm. Το σώμα και οι πρόσθιες τεφρό χρώμα. Οι οπίσθιες πτέρυγες έχουν χρώμα υπόλευκο με καστανά πτέρυγες έχουν νεύρα.

Προνύμφη: Το μήκος σώματος κυμαίνεται από 15-20 mm, το σώμα έχει χρώμα υπορόδινο, ενώ η κεφαλή καστανό.

Προσβολές: Προσβάλλει τα άλευρα, σπόρους σιτηρών, όσπρια, ξηρούς καρπούς, πίτυρα κ.α. Στους αλευρόμυλους, εκτός από τις σοβαρές ζημιές στο αλεύρι, μπορεί να προκληθούν βλάβες στα μηχανήματα εξαιτίας των πυκνών μετάξινων ιστών που πλέκει. Οι προνύμφες κατασκευάζουν θήκες μέσα στις οποίες τρέφονται και αναπτύσσονται. Με αυτόν τον τρόπο ρυπαίνουν, προκαλούν ζυμώσεις στα άλευρα και τα υποβαθμίζουν.

Εικόνα 5. Ακμαίο του *Ephestia kuehniella* από το στερεοσκόπιο του Εργαστηρίου Φυτοπροστασίας – Φαρμακολογίας του ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας.

Εικόνα 6. Προνύμφη του λεπιδοπτέρου *Ephestia kuehniella* από του Εργαστηρίου Φυτοπροστασίας – Φαρμακολογίας του ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας.

1.5.3 Παρουσία του εντόμου

Ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες στις αποθήκες, μπορεί να έχει μέχρι και 5 γενεές το έτος. Διαχειμάζει ως νύμφη και προνύμφη εντός των προϊόντων που προσβάλλει. Τα τέλεια εμφανίζονται την άνοιξη. Την ημέρα αδρανοποιούνται και επαναδραστηριοποιούνται την νύχτα, όπως τα περισσότερα έντομα αποθηκών. Τα θηλυκά ωοτοκούν πάνω στους σωρούς των αλεύρων έως και 100-300 ωά το καθένα. Οι εκκολαπτόμενες προνύμφες υφαίνουν με μετάξινα νήματα θήκες (κουκούλια) μέσα στις οποίες τρέφονται και αναπτύσσονται. Τα νήματα αυτά καλύπτουν πολλές φορές το προϊόν και μαζί με τα απορρίμματα των προνυμφών ρυπαίνουν και προκαλούν ζυμώσεις, δυσοσμία κ.α. Ο βιολογικός κύκλος μπορεί να συμπληρωθεί σε 4-6 εβδομάδες (40 ημέρες) στους 25^{o}C.

1.6 ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ

Τα τελευταία χρόνια το ενδιαφέρον για την βιολογική καταπολέμηση σαν βιώσιμη εφαρμογή στη σύγχρονη γεωργία οφείλεται στον σταθερά αυξανόμενο αριθμό δημοσιεύσεων και αναφορών μιας σειράς προϊόντων βιολογικής καταπολέμησης που είναι σήμερα εμπορικά διαθέσιμα και είναι πετυχημένοι παράγοντες στην καταπολέμηση των παθογόνων των φυτών. Υπάρχουν διάφοροι λόγοι που οδηγούν στο ενδιαφέρον για την βιολογική καταπολέμηση. Ένας λόγος είναι οι οικολογικοί κίνδυνοι που δημιουργούνται από την χρήση των χημικών φυτοφαρμάκων, η τοξικότητα τους στον άνθρωπο και γενικότερα όλες οι αρνητικές τους επιπτώσεις. Ένας άλλος σημαντικός λόγος είναι η μείωση της αποτελεσματικότητας της χημικής καταπολέμησης των παθογόνων λόγω της ανθεκτικότητας που εμφανίζουν ορισμένοι πληθυσμοί αυτών, και το οικονομικό κόστος που συνεπάγεται από την εμφάνιση της ανθεκτικότητας. Οι φυσικοί εχθροί των εντόμων και ακάρεων περιλαμβάνουν έναν τεράστιο κατάλογο από αρπακτικά, παρασιτοειδή, παράσιτα και παθογόνα τα οποία έχουν προσαρμοστεί να χρησιμοποιούν αυτά τα αρθρόποδα σαν πηγή τροφής. Τα αρπακτικά παρασιτοειδή και παράσιτα φαίνεται να είναι κύριοι ρυθμιστές της ισορροπίας που υφίσταται στον κόσμο των εντόμων, στα πλαίσια της ισορροπίας ανάμεσα στα έντομα και τους υπόλοιπους οργανισμούς. Μεταξύ των μικροοργανισμών, οι μύκητες φαίνεται να είναι τα πιο κοινά αλλά και πιο σημαντικά παθογόνα. Τα βακτήρια είναι λιγότερο σημαντικά σαν παράγοντες βιολογικής καταπολέμησης και ακόμα λιγότερο οι ιοί.

Οι μύκητες προσβάλλουν το ξενιστή τους, σχεδόν πάντα, με απευθείας διάτρηση του εξωσκελετού. Επιδερμικές πληγές είναι μια εναλλακτική λύση εισόδου για όλους τους εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς. Οι μύκητες είναι οι μόνοι σημαντικοί παθογόνοι μικροοργανισμοί των ημίπτερων ενώ τα βακτήρια έχουν καλές δυνατότητες εφαρμογής στις προνύμφες των λεπιδοπτέρων. Οι ιοί, τα μικροσπορίδια και οι νηματώδεις συμβάλλουν σημαντικά στην διατήρηση των ισορροπιών στη φύση, αλλά η οικονομική τους συμβολή υπολείπεται αυτή των μυκήτων και βακτηρίων Υπάρχουν πολλές κατηγορίες βιολογικών παραγόντων καταπολέμησης που έχουν δράση ενάντια σε κάθε βασικό τύπο παθογόνου. Προς το παρόν τα παρασιτικά έντομα φαίνεται να είναι οι βασικοί παράγοντες των προγραμμάτων βιολογικής καταπολέμησης σήμερα.

Οι περισσότεροι εντομοπαθογόνοι μύκητες έχουν κύκλο ζωής ο όποιος συγχρονίζεται με τα στάδια της ζωής των εντόμων ξενιστών τους και με τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Οι προσβολές των μυκήτων μπορεί να γίνει με πολλούς τρόπους και κατά συνέπεια και η μετάδοση τους. Τα αγενώς παραγόμενα μυκητιακά σπόρια ή κονίδια, είναι γενικώς υπεύθυνα για τις μολύνσεις, μέσω της διασποράς τους στο περιβάλλον από τα έντομα ξενιστές στα οποία υπάρχουν. Όταν τα κονίδια έρχονται σε επαφή με την επιδερμίδα ενός κατάλληλου ξενιστή, εκεί εγκαθίστανται και αναπαράγονται. Η εισβολή του μύκητα στο σώμα του εντόμου και στο κυκλοφορικό του σύστημα (αιμόλεμφος) λαμβάνει χώρα από την στιγμή που ο μύκητας περνάει από την επιδερμίδα του εξωσκελετού του εντόμου. Η δομή και διαδικασία της εισβολής του μύκητα στο έντομο, είναι παρόμοια με αυτή των φυτοπαθογόνων. Οι υφές που παράγουν οι μύκητες εξαπλώνονται εκτός του εντόμου προκειμένου να τραφούν. Οδηγούν έτσι το έντομο στον θάνατο από φυσιολογική ασιτία σε 3 με 7 μέρες μετά την προσβολή. Με τον θάνατο του ξενιστή, οι μύκητες εξέρχονται του νεκρού σώματος και ξεκινούν να αναπαράγουν σπόρια και κονίδια, εκτός πια του σώματος του εντόμου. Η σποροπαραγωγή μπορεί να λάβει χώρα και εσωτερικά του εντόμου, όταν η ατμοσφαιρική υγρασία εμποδίζει την εξωτερική σποροπαραγωγή.

Επηρεάζουν την υγεία του ξενιστή, προκαλώντας συμπτώματα ασθένειας που συνοδεύονται από αλλαγές στη λειτουργία και μορφολογία του οργανισμού ξενιστή. Μερικοί μύκητες είναι κυρίως σαπροφυτικοί αλλά μπορούν να γίνουν παρασιτικοί κάτω από ορισμένες συνθήκες, αυτοί είναι τα κανονικά παράσιτα. Γενικά οι μύκητες δεν είναι πολύ εξειδικευμένοι ως παθογόνα αλλά είναι συχνά πολύ τοξικοί, προκαλώντας ταχύ θάνατο στους ξενιστές τους. Σε αντίθεση, άλλοι μύκητες είναι υποχρεωτικά παράσιτα και τρέφονται και αναπαράγονται αποκλειστικά σε συγκεκριμένους οργανισμούς. Στα πλαίσια του βιολογικού ελέγχου οι στόχοι των παθογόνων μπορεί να είναι ζιζάνια, νηματώδεις, άλλοι μύκητες και έντομα.

Εξαιτίας όλων αυτών, έχουν εφευρεθεί εμπορικά σκευάσματα καταπολέμησης μυκήτων. Η τυποποίηση έχει αναγνωριστεί ως ένα σημαντικό στοιχείο για την εμπορική επιτυχία των εντομοκτόνων μυκήτων και αποσκοπεί:

• στη βελτίωση της κάλυψης της φυτικής επιφάνειας με το ψεκαστικό υγρό (συμπεριλαμβανομένης και της μεταφοράς - στόχευσης- αυτού σε μικροεστίες προσβολής των επιβλαβών ειδών)

• στην αύξηση της ασφάλειας (μείωση εισπνοής της σκόνης, ερεθισμού των ματιών)

• στη βελτίωση και απλούστευση του χειρισμού.

• στη βελτίωση της σταθερότητας αποθήκευσης (ιδιαίτερα σε μέτριες έως ψηλές θερμοκρασίες)

• στη βελτίωση της σταθερότητας στον αγρό (ιδιαίτερα στην έκθεση στην υπεριώδη ακτινοβολία)

• στη βελτίωση της αποτελεσματικότητας (ιδιαίτερα στη μείωση των υγρασιακών απαιτήσεων του περιβάλλοντος).

Οι μύκητες μπορούν να εφαρμοστούν απ' ευθείας στα έντομα στόχους, ως βρέξιμες σκόνες, γαλακτώματα ή σκόνες, καθώς επίσης βελτιωμένοι (τροποποιημένοι) ως δολώματα ή παγίδες ή μπορούν να ενσωματώνονται στο έδαφος. Οι μορφές αυτές τυποποίησης είναι απαραίτητες για την προστασία των βιολογικών παραγόντων από ακραίες συνθήκες περιβάλλοντος (θερμοκρασίας και υγρασίας) καθώς και για την παροχή προστασίας από την υπεριώδη ακτινοβολία του φωτός και την ακόλουθη αποξήρανση και αφυδάτωσή τους. Τα εντομοπαθογόνα μπορούν να εφαρμοστούν σε συνθήκες αγρού, σε σκευάσματα ελαίου με ψεκασμό υπέρμικρου όγκου ώστε ν' αυξηθεί η αποτελεσματικότητά τους και να προστατευθούν από την φωτοχημική διάσπαση που υφίστανται από το υπεριώδες φως. Σημαντικός παράγοντας των μυκητολογικών παθογόνων των αρθρόποδων αποτελεί η ανάγκη σταθερής επαφής τους με το στόχο-ξενιστή, η οποία διασφαλίζεται με την επίτευξη ακριβούς τοποθέτησης και καλής προσκόλλησής τους, καθώς και η ανάγκη για επαρκή παρουσία νερού ή υψηλή υγρασία για την βλάστηση των σπορίων. Μια πρόσφατη, σημαντική εξέλιξη αποτέλεσε η χρήση ελαίων ως διαλυτών. Τα έλαια είναι ιδιαίτερα συμβατά με τα λιποδιαλυτά κονίδια καθώς επίσης και με το σύστημα του εξωσκελετού των εντόμων και της επιδερμίδας της φυλλικής επιφάνειας. Η συμβατότητα αυτή μειώνει ή και εξαλείφει την ανάγκη για διαβρεκτικές, επιφανειοδραστικές ή εξαπλωτικές ουσίες/παράγοντες. Τα έλαια είναι περισσότερο αποτελεσματικοί φορείς για εφαρμογές χαμηλού όγκου απ' ότι το νερό, που εξατμίζεται γρήγορα όταν εφαρμόζεται σαν λεπτές σταγόνες. Η τυποποίηση σε έλαια βελτίωσε σημαντικά την σταθερότητα σε υψηλές θερμοκρασίες των κονιδίων του Τα σκευάσματα με έλαια παρακάμπτουν τα προβλήματα εισπνοής της σκόνης που σχετίζονται με ορισμένες βρέξιμες σκόνες, ιδιαίτερα απλών σκονών που βασίζονται στην άργιλο. Ένα μίγμα φυτικών ελαίων, φυτικών υδατανθράκων και πρωτεϊνών αναπτύχθηκε για την τυποποίηση κονιδίων των μυκήτων που παράγουν υφές. Υποστηρίχθηκε ότι αύξησε την επαφή μεταξύ του μύκητα και του εντόμου-ξενιστή, όρώντας ως διεγερτικό της τροφικής δραστηριότητας.

1.6.1 Ο Μύκητας του γένους *Beauveria*

Ο μύκητας *Beauveria bassiana* Balsamo (Vuillemin) (Hypocreales: Cordycipitaceae) ενδείκνυται για την αντιμετώπιση αφίδων, θρίπων, κολεόπτερων και μερικών ημίπτερων. Είναι το πιο κοινό και παγκόσμια διαδεδομένο είδος από τους εντομοπαθογόνους μύκητες, γιατί φέρει το πλουσιότερο φάσμα ξενιστών. Όπως και όλοι οι εντομοπαθογόνοι μύκητες, έτσι και ο *B.bassiana*, παράγει σπόρια που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε ακραίες περιβαλλοντικές συνθήκες και είναι το μολυσματικό στάδιο του μυκητιακού κύκλου ζωής τους. 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 μυκηλιακή 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. Μέσα στο έντομο παράγουν μια τοξίνη, αποκαλούμενη Beauvericin που αποδυναμώνει το ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή. Τελικά, ολόκληρη η σωματική κοιλότητα του εντόμου γεμίζει με την μυκηλιακή μάζα. Όταν οι συνθήκες είναι ευνοϊκές, ο μύκητας θα αναπτυχθεί μέσω του μαλακότερου μέρους του σώματος του εντόμου παράγοντας την χαρακτηριστική 'λευκή επάνθηση'. 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.

Οι μύκητες *B.bassiana* χαρακτηρίζονται μορφολογικά από ελικοειδή συσσωματώματα σφαιρικών κονιδιοφόρων. Τα κονίδια είναι συνήθως σφαιρικά και το μέγεθός τους 1,7μm έως 5,5μm. Εισβάλλει στο σώμα του εντόμου. Τα κονίδια έρχονται σε επαφή με την επιδερμίδα του εντόμου και αφού βλαστήσουν, διαπερνούν την επιδερμίδα και πολλαπλασιάζονται μέσα στο σώμα του εντόμου. Η υγρασία είναι απαραίτητη για την ανάπτυξη του μύκητα και ολοκληρώνεται σε 24-48 ώρες. Το έντομο επιζεί 3-5 μέρες αφού μολυνθεί. Η διείσδυση του εντομοπαθογόνου γίνεται με τη δημιουργία βλαστικού σωλήνα. Ο μύκητας αναπτύσσεται κανονικά στους 20-30^{o}C με άριστους τους 25-30^{O}C. Σπόρια παράγονται σε 15-35^{o}C ενώ κάτω από 10^{o}C και άνω 35^{o}C δεν παράγονται (Εικ 7)

Εικόνα 7. Αναπτυγμένος μύκητας του γένους *Beauveria* σε θρεπτικό υλικό σε τρυβλίο Petri.

1.6.2 Ο Μύκητας του γένους *Metarhizium*

Ο μύκητας *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) αναπτύσσεται στο έδαφος και προσβάλλει διάφορα έντομα λειτουργώντας σαν παράσιτο. Παράγεται εύκολα και εισέρχεται από τους πόρους του τραχειακού συστήματος. Θέλει 18 ώρες για να εισέρθει στο εσωτερικό του εντόμου με την μορφή ασπεσσορίων και παράγει κονίδια. Τρέφεται από τα λιπίδια που παράγεται η επιδεμίδα του εντόμου και μπορεί να απελευθερώνει σπόρια υπό χαμηλές συνθήκες υγρασίας >50% εάν η υγρασία είναι αρκετά υψηλή εμφανίζεται μια λευκή μούχλα στο κουφάρι του εντόμου που σιγά-σιγά αυξάνεται και σε σύντομο χρονικό διάστημα μεταχρωματίζεται σε πράσινη.

Χαρακτηριστικό του μύκητα *M. anisopliae* είναι ότι το μυκήλιό του δεν έχει εντομοκτόνο δράση. Αντίθετα τα βλαστοσπόρια και τα κονίδια είναι βιολογικώς δραστικά και έχουν την ικανότητα να μολύνουν και να σκοτώσουν τον ξενιστή τους. Ο μύκητας παράγει βλαστοσπόρια μόνο σε υγρές καλλιέργειες και εφόσον βρεθεί στις κατάλληλες συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας. Αντίθετα, κονίδια παράγονται αποκλειστικά στην επιφάνεια καλλιεργειών που φέρουν θρεπτικό υπόστρωμα.

Εκεί, παράγονται πλευρικές υφές του μύκητα, οι οποίες πολλαπλασιάζονται τελικά και καταλαμβάνουν το εσωτερικό περιεχόμενο του εντόμου. Η μυκηλιακή αυτή αύξηση συνεχίζεται μέχρι να γεμίσει το έντομο με τα μυκήλια του μύκητα. Όταν το εσωτερικό του εντόμου καταναλωθεί, ο μύκητας διαπερνά την επιδερμίδα και σχηματίζει σπόρια. Η υγρασία που πρέπει να επικρατεί, προκειμένου ο μύκητας ν' απελευθερώσει τα σπόριά του είναι χαμηλότερη από 50%. Ο συγκεκριμένος μύκητας μπορεί να διατρέφεται από τα λιπίδια της επιδερμίδας του εντόμου. Επιπλέον ο μύκητας παράγει δευτερογενείς μεταβολίτες, όπως τον dextruxin οι οποίοι έχουν εντομοκτόνες ιδιότητες για τις πτερωτές προνύμφες. Σε πολλά έντομα παρατηρείται το φαινόμενο, να έχουν αναπτύξει φυσιολογικά μηχανισμούς στο εσωτερικό τους, οι οποίοι τα προστατεύουν από τον *M. anisopliae* και μειώνουν την μολυσματικότητά του. Για παράδειγμα, η 'ακρίδα της ερήμου', παράγει αντιμυκητιακές τοξίνες, οι οποίες μπορούν να εμποδίσουν την βλάστηση των σπορίων του μύκητα. Ένας άλλος μηχανισμός άμυνας των εντόμων στους μύκητες, είναι αυτός που αποφεύγουν την μόλυνση με το να καταστρέφουν το περίβλημά τους γρήγορα ή να αναπτύσσουν ένα άλλο πριν ακόμα προλάβει ο μύκητας να διαπεράσει την επιδερμίδα.

Εικόνα 8. Εμπορικό σκεύασμα του μύκητα *Metarhizium anisopliae*.

1.6.3 Ο μύκητας του γένους *Isaria*

Ανάμεσα στους εντομοπαθογόνους μύκητες που μέχρι στιγμής έχουν αναγνωριστεί και ταξινομηθεί, τα γένη *Beauveria* και *Metarhizium* είναι μάλλον τα πιο γνωστά από τους εντομολόγους. Και τα δύο από αυτά ανήκουν στην ίδια υπερκατηγορία των ατελών μυκήτων την Deuteromycotina. Σ' αυτήν την κατηγορία ανήκει και το είδος *Isaria fumosorosea* (Hypocreales: Clavicipitaceae). Μια κοινή ιδιότητα αυτών των μυκήτων είναι η έλλειψη φύλου, γι' αυτό και χαρακτηρίζονται σαν ατελείς. Ο μολυσματικός κύκλος των εν λόγω μυκήτων που περιλαμβάνει την παραγωγή ενζύμων στην επιδερμίδα των ξενιστών αποτελεί το πιο ενδιαφέρον κομμάτι της έρευνας που σχετίζεται με αυτούς τους μύκητες.

Ύστερα από έρευνες που έγιναν σε καλλιέργειες του μύκητα *I. fumosorosea*, παρατηρήθηκε ότι σε αυτόν τον μολυσματικό κύκλο, ένα σπόριο εναποτίθεται στην επιδερμίδα του εντόμου και έπεται η ανάπτυξη του βλαστικού σωλήνα) η υφή η οποία προέρχεται από ένα σπόριο κατά την βλάστησή του). Σε μερικές περιπτώσεις έχουμε την ανάπτυξη μιας δομής που λέγεται απρεσσόριο που διαπερνά το έντομο. Το απρεσσόριο (ή πλάκα συγκρατήσεως) είναι ένα δισκόμορφο ή άλλης μορφής όργανο προσκολλήσεως, το οποίο σχηματίζεται στην άκρη του βλαστικού σωλήνα του σπορίου του μύκητα, όταν αυτός συναντήσει την εφυμενίδα του προς μόλυνση εντόμου. Η μυκητιακή διείσδυση όμως, μπορεί να γίνει και με άλλους τρόπους όπως από το στόμα, το πρωκτικό άνοιγμα και τους πόρους του σώματος του εντόμου. Στην εξέλιξη της μόλυνσης έχουμε την ανάπτυξη μυκηλίων στο αίμα του εντόμου, τα οποία εξέρχονται του σώματος και παράγουν τα κονίδια. Η θνησιμότητα του εντόμου από μια τέτοια μόλυνση, έχει αποδοθεί στην καταστροφή των ιστών του εντόμου, την απελευθέρωση τοξινών και των διατροφικών και θρεπτικών ανεπαρκειών.

Ο *I. fumosorosea*, ή PPEI, θεωρείται από τους επιστήμονες σαν πολλά υποσχόμενος μύκητας στο κεφάλαιο της βιολογικής καταπολέμησης. Αυτό οφείλεται στο μεγάλο εύρος των ξενιστών του, που περιλαμβάνει 25 διαφορετικές οικογένειες εντόμων. Μερικοί από τους σημαντικούς ξενιστές του είναι ο αλευρώδης *Bemisia angentifolii*, η αφίδα του σίτου *Diura phisnoxia* και πολλά Λεπιδόπτερα. Κάποια στιγμή αναγνωρίστηκαν 31 είδη σε αυτό το γένος. Τα κονίδια του μύκητα έρχονται σε επαφή με την επιδερμίδα και πολλαπλασιάζονται μέσα στο ίδιο σώμα του εντόμου και εισέρχονται στην αιμόλεμφο. Κονίδια σε στερεό υπόστρωμα και βλαστοσπόρια σε υγρό υπόστρωμα.

Εικόνα 9. Καλλιέργεια του μύκητα *I. fumosorosea*

1.7 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Στα πλαίσια της βιολογικής γεωργίας θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν οι εντομοπαθογόνοι μύκητες ως εντομοκτόνα, γεγονός που θα αποτελούσε ένα σπουδαίο εργαλείο στον τρόπο αντιμετώπισης των επιβλαβών εχθρών. Κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους τα γεωργικά προϊόντα προσβάλλονται από διαφόρων κατηγοριών εχθρούς και ασθένειες, που πολλές φορές προκαλούν σημαντικές ζημιές Η συνεχής κατά γεωμετρική πρόοδο αύξηση του πληθυσμού της γης επιβάλλει μεταξύ άλλων και την αντιμετώπιση του μεγάλου προβλήματος της διατροφής του ανθρώπου. Στόχος της μελέτης αυτής, η χρήση των εντομοπαθογόνων μυκήτων για τον βιολογικό έλεγχο των σημαντικών εντόμων. Στην παρούσα πτυχιακή εργασία μελετήθηκε η χρήση τριών εντομοπαθογόνων μυκήτων για την αντιμετώπιση δυο από τους σπουδαιότερους εχθρούς των αποθηκευμένων προϊόντων προνυμφών του κολεοπτέρου *T. granarium* και του λεπιδοπτέρου *E. kuehniella* με τη χρήση εντομοπαθογόνων μυκήτων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ Β

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΕΚΤΡΟΦΕΣ ΕΝΤΟΜΩΝ

Η εκτροφή του *Trogoderma granarium* έλαβε χώρα στο ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας στο εργαστήριο Φυτοπροστασίας – Φαρμακολογίας και αναπτύχθηκε μέσα σε αποστειρωμένο σιτάρι και μαγιά. Σε όλα τα στάδια ανάπτυξης του εντόμου βρισκόταν σε σταθερή θερμοκρασία στους ±25^{o}C. Τα έντομα βρισκόντουσαν και αναπτύσσονταν μέσα σε βάζα και πραγματοποιούνταν αραιώσεις, ώστε να αποφευχθεί ο συνωστισμός που θα επηρέαζε την ανάπτυξη και την πρόσληψη τροφής των προνυμφών.

Η εκτροφή του εντόμου *Ephestia kuehniella* έλαβε και αυτή χώρα στο ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας στο εργαστήριο Φυτοπροστασίας – Φαρμακολογίας και πραγματοποιήθηκε σε μίγμα από αλεύρι ολικής άλεσης, σιμιγδάλι, μαγιά, μέλι, αντιβιοτικό. Τα ακμαία τοποθετούνται σε θάλαμο ωοτοκίας (γυάλινο βάζο) ο οποίος κλείνεται με τούλι με χοντρές τρύπες και τοποθετείται ανάποδα προσαρμοσμένο σε ένα κουτί έτσι ώστε τα ωά πέφτουν σε αυτό (δοχείο συλλογής). Κάθε μέρα γίνεται συλλογή των ωών με τη βοήθεια πινέλου και τοποθετούνται σε ένα διάφανο δοχείο με τρύπες στο καπάκι για αερισμό. Στο δοχείο έχουν τοποθετηθεί 250g χοντρό σιμιγδάλι και το περιεχόμενο από 2g κάψουλες αντιβιοτικού. Το δοχείο με τα ωά και το σιμιγδάλι αφήνεται σε ηρεμία σε θερμοκρασία 24-28^{o}C μέχρι να παρατηρηθεί έξοδος ακμαίων, περίπου σε 25 ημέρες. Τέλος, μόλις εμφανιστούν τα νεαρά ακμαία, η διαδικασία επαναλαμβάνεται.

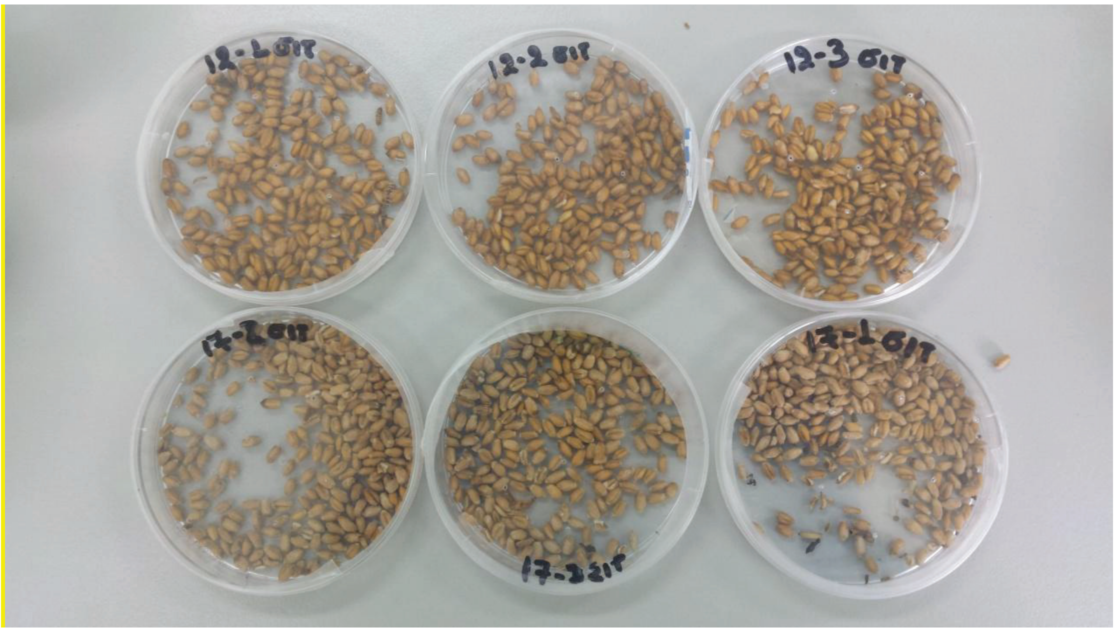
2.2 ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ

Στην παρούσα πτυχιακή εργασία χρησιμοποιήθηκαν οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *Beauveria bassiana* Balsamo (Vuillemin) (Hypocreales: Cordycitaceae, *Metarhizium robertsii* (Metchnikoff) Sorokin (Hypocreales: Clavicipitaceae) και *Isaria fumosorosea* (Wize) Brown & Smith (Hypocreales: Clavicipitaceae) από την συλλογή του Δρ. Σπυρίδων Μαντζούκα. Οι απομονώσεις διατηρούνταν σε τρυβλία Petri επί θρεπτικού υλικού SDA (Sabouraud DextroseAgar, Sigma - Aldrich) σε θερμοκρασίες 5±1^{o}C και ανανεώνονταν κάθε μήνα (Εικ. 21). Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες απομονώθηκαν με την μέθοδο Galleria Bait που χρησιμοποιεί το έντομο *Galleria mellonella* ως δόλωμα) (Zimmermann 1986), και τη μέθοδο των ημιεκλεκτικών υποστρωμάτων.

2.2.1 ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΕΝΑΙΩΡΗΜΑΤΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ

Προκειμένου να παρασκευαστούν τα εναιωρήματα για τις ανάγκες των πειραμάτων οι μύκητες καλλιεργήθηκαν σε τρυβλία Petri 9cm με Sabouraud Dextrose Agar, τα οποία αφέθηκαν να αναπτυχθούν στο σκοτάδι για 15 μέρες στους 25^{o}C, ασφαλισμένα με μεμβράνη Parafilm για να προστατευτούν από επιμολύνσεις. Το θρεπτικό υλικό Sabouraud Dextose Agar, προσαρμόστηκε εν μέρει για τη καλλιέργεια και τη τυποποίηση μυκήτων. Συνολικά, 20 μονάδες πενικιλίνη και 40 μικρογραμμάρια στρεπτομυκίνη ή διυδροστρεπττομυκίνη/ml του μέσου, προστέθηκαν στο αποστειρωμένο και λιωμένο μέσο στους 45-50^{o}C , υπό ασηπτικές συνθήκες. Αυτές οι επιθυμητές συγκεντρώσεις της πενικιλίνης μπορούν εύκολα να παρασκευαστούν διαλύοντας τα περιεχόμενα ενός φιαλίδιου πενικιλίνης που περιέχει 100.000 μονάδες πενικιλίνης σε 10ml αποστειρωμένου νερού. Δύο (2) ml αυτού του διαλύματος προστέθηκαν σε 1 lt αποστειρωμένου μέσου, 45-50^{o}C, υπό ασηπτικές συνθήκες (0,2 ml / 100ml του μέσου). Για να παρασκευασθούν οι επιθυμητές συγκεντρώσεις στρεπτομυκίνης σε 10ml αποστειρωμένου νερού. Ένα (1) ml αυτού του διαλύματος προστέθηκαν σε 9ml αποσταγμένου νερού, για να δώσουν ένα διάλυμα, το οποίο περιείχε 10.000 micrograms στρεπτομυκίνης / ml. Στο κάθε λίτρο του μέσου, προστέθηκαν 4 ml για αυτού του διαλύματος για να παρατηρηθούν 40 micrograms / ml μέσου). Για να ενυδατωθεί ξανά το μέσο, προστέθηκαν 65 gr απ’ το Bacto- Sabouraud Dextrose Agar σε 1000 ml κρύου αποστειρωμένου νερού και θερμάνθηκαν με βρασμό για να διαλυθεί το μέσο εντελώς. Έπειτα μεταφέρθηκε σε δοκιμαστικούς σωλήνες και αποστειρώθηκε στον κλίβανο για 15 λεπτά σε 15% πίεση

(121^{o}C). Η τελική αντίδραση του μέσου pH ήταν 5,6. Φρέσκα κονίδια συλλέχτηκαν από τις καλλιέργειες 15 ημερών για να χρησιμοποιηθούν στα πειράματα μας. Τα εναιωρήματα κονιδίων παρασκευάστηκαν με «ξύσιμο», με την χρήση αποστειρωμένου μεταλλικού γάντζου στην επιφάνεια των τρυβλίων Petri. Τα κονίδια μεταφέρθηκαν σε φιάλες των 500ml αποστειρωμένου νερού που περιείχε 0.05% Tergitol® NP9. Το διάλυμα κονιδίων φιλτραρίστηκε διαμέσου αρκετών στρωμάτων αποστειρωμένου πανιού μικρής διατομής και στη συνέχεια το διάλυμα ομογενοποιήθηκε για 5 λεπτά με την βοήθεια μαγνητικού αναδευτήρα (Goettel και Inglis 1997, Quesada – Moraga etal. 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) υστέρα από την επώαση τους στο σκοτάδι και μετά το πέρας 24 ωρών.



Εικόνα 10. Τρυβλία με 30g αποστειρωμένο σιτάρι και 10 προνύμφες του κολεοπτέρου *Trogoderma granarium*. Στην εικόνα διακρίνονται οι προσβολές με τους δύο διαφορετικούς μύκητες: *Isaria fumosorosea* (12) και *Metarhizium anisopliae* (17).

2.3 ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Για την μελέτη της επίδρασης των εντομοπαθογόνων μυκήτων ρπραγματοποιήθηκε ψεκασμός των προνυμφών *Trogoderma granarium* και *Ephestia kuehniella* με εναιώρημα κονιδίων των μυκήτων. Πιο συγκεκριμένα από κάθε εκτροφή ξεχωρίστηκαν τα ακμαία από τις προνύμφες έτσι ώστε να πάρουμε τον πληθυσμό που χρειάστηκε για το πείραμα. Η εφαρμογή του πειράματος έγινε υπό ασηπτικές συνθήκες για προστασία από επιμολύνσεις.

2.3.1 Όργανα και υλικά που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εφαρμογή

- Ξηραντήριο (για την αποστείρωση και απώλεια περιττής υγρασίας των προϊόντων)
- Γάντια μιας χρήσης
- Πηγή φωτός (για βελτίωση όρασης)
- Κόσκινα (για διαχωρισμό ακμαίων από εκτροφές)
- Ζύγος ακριβείας
- Τρυβλία Petri 9cm *Φ*
- Πλαστικά λευκά δοχεία – μπολ (πολλαπλών χρήσεων)
- Λαβίδες
- Λίχνος Bunsen (για καύση – αποστείρωση εργαλείων)
- Αιθανόλη
- Ανατομική βελόνα
- Ταινία Parafilm
- Ψεκαστήρες χειρός όγκου 500ml.

2.3.2 Διαδικασία

- ➢ Για την εκτέλεση της παρούσας μελέτης, οι προνύμφες του εντόμου ψεκάζονταν απευθείας με το εναιώρημα των κονιδίων, με την χρήση αποστειρωμένου ψεκαστήρα χειρός όγκου 500ml.
- ➢ Χρησιμοποιήθηκαν εναιωρήματα κονιδίων με πυκνότητα 10^8κονίδια/ml.
- ➢ Οι προνύμφες (σύνολο 10 άτομα) τοποθετούνταν σε πλαστικά λευκά δοχεία που περιείχαν 10g αποστειρωμένου σίτου και ψεκάζονταν με το εναιώρημα κονιδίων.

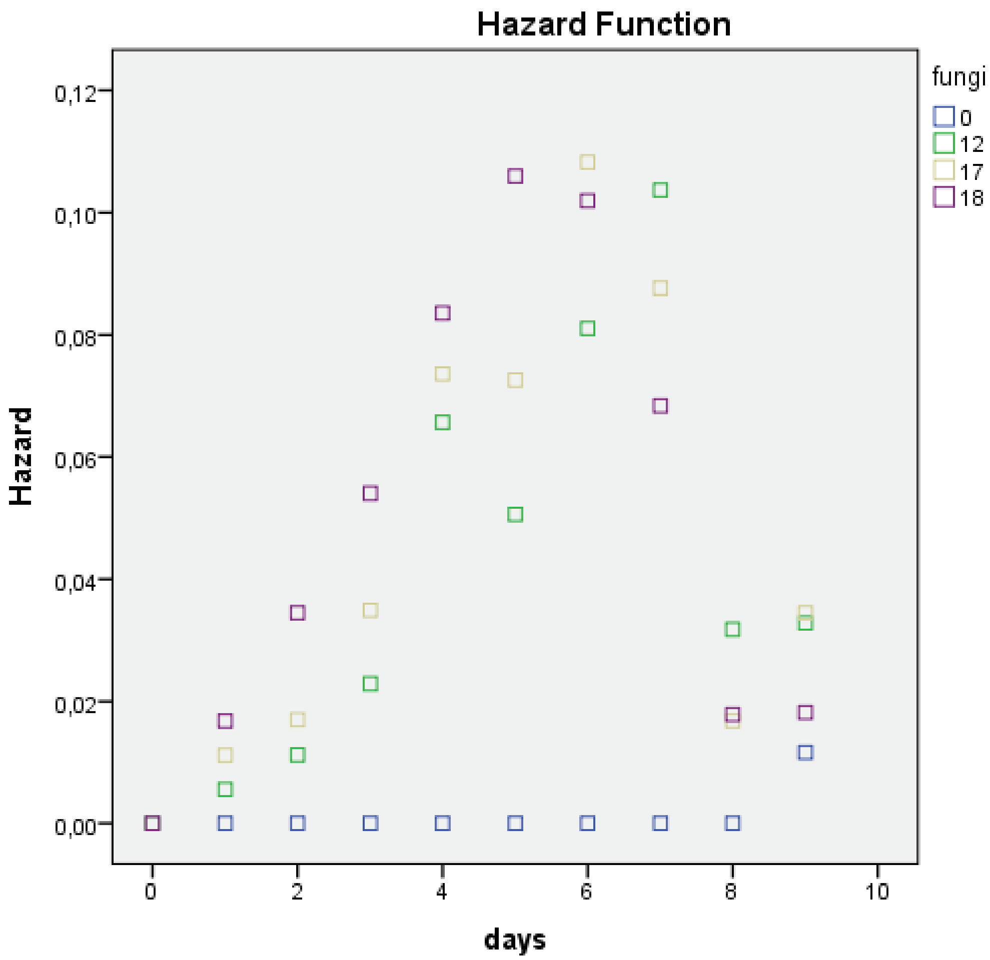
- Μετά την πάροδο 2 δευτερολέπτων (χρόνος επαρκής για τον μύκητα να προκαλέσει μόλυνση στο προϊόν), μεταφέρονταν στα τρυβλία Petri, τα οποία στη συνέχεια σφραγίζονταν με ταινία Parafilm.
- Ακολουθούσε καταμέτρηση των νεκρών προνυμφών επί 10 ημέρες.
- Εν συνεχεία, κάθε νεκρό άτομο απολυμαίνονταν σε διάλυμα υδροχλωρικού νατρίου και ξεπλένονταν με απιονισμένο νερό και απομονωνόταν σε νέο τρυβλίο με διηθητικό χαρτί με μια σταγόνα απιονισμένου νερού για να ελεγχθεί εάν η αιτία θανάτου ήταν η προσβολή από τον μύκητα.

2.3.3 Στατιστική επεξεργασία

Η αποτελεσματικότητα όλων των στελεχών των μυκήτων επί των προνυμφών υπολογίστηκε με τον τύπο του Abbott (Abbott 1925, Kurstak 1982). Το στατιστικό πακέτο IBMSPSS (IBMcop., IL, USA, version23.0) χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση της διακύμανσης των δεδομένων. Τα δεδομένα, όπου κρίνονταν αναγκαίο μετατρέπονταν κατάλληλα (arcsin) προκειμένου να τηρηθούν οι προϋποθέσεις της παραμετρικής ανάλυσης για ίσες παραλλακτικότητες μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ο χρόνος επιβίωσης των προνυμφών των εντόμων *T. granarium* και *E. kuehniella* υπολογίστηκε με ανάλυση Kaplan-Meier και η σύγκριση έγινε με το τεστ Wilcoxon (Gehan).

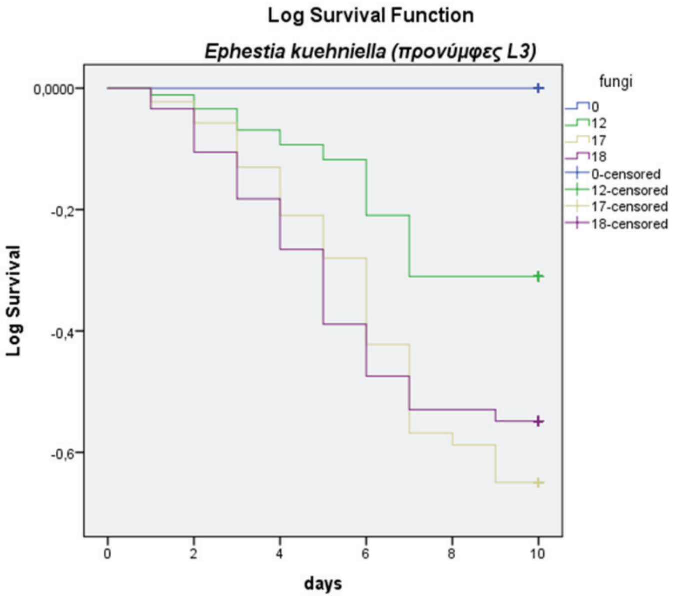
2.3.4 Αποτελέσματα

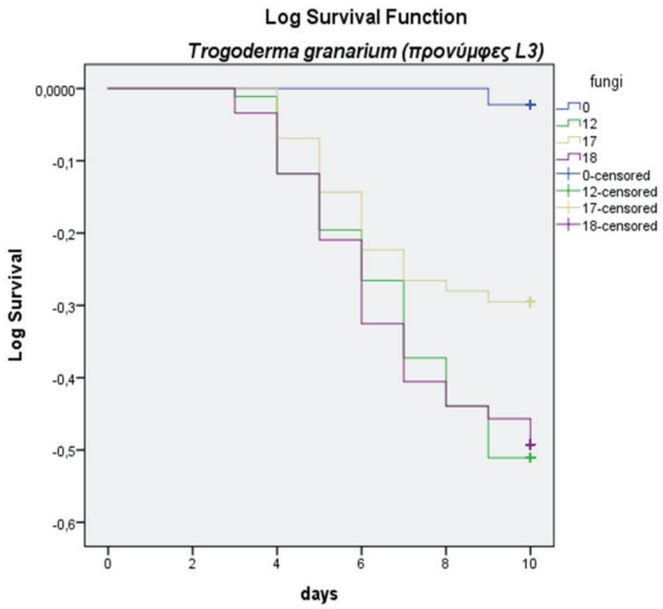
Η ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier (Wilcoxon (Gehan)) για το σιτάρι, υποδεικνύει ότι ο μέσος συνολικός χρόνος επιβίωσης για τις προνύμφες Lt75 για τον μύκητα *I. fumosorosea* ήταν 7±0.6,για τον μύκητα *M. anisopliae* Lt75 ήταν 6±0.4 και τέλος για το μύκητα *B. bassiana* Lt75 ήταν 5±0.4 ημέρες. Στο Διάγραμμα 1 παρατηρούμε την θνησιμότητα εκφρασμένη ως τοξικότητα όπου η επίδραση με τον μύκητα (18) B. *bassiana* ήταν μεγαλύτερη στο τέλος του πειράματος συνολικά. Αντίθετα, η επίδραση μύκητα (12) *I. fumosorosea* ήταν μικρότερη συνολικά.



Διάγραμμα 1. Καμπύλες επιβίωσης και τοξικότητας[1] (Kaplan-Meier) των προνυμφών των εντόμων *T. granarium* και *E. kuehniella* σε εργαστηριακές συνθήκες μετά την επίδραση των εντομοπαθογόνων μυκήτων (25°C, RH 70%) (n=30) (Wilcoxon (Gehan) 12: *I. fumosorosea*, 17: *M. anisopliae* var *anisopliae*, 18: *B. bassiana.*

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





Διάγραμμα 2. Καμπύλες επιβίωσης (Kaplan-Meier) των προνυμφών των εντόμων *T. granarium* και *E. kuehniella* σε εργαστηριακές συνθήκες μετά την επίδραση των εντομοπαθογόνων μυκήτων (25^{o}C, RH 70%) (n=30) (Wilcoxon (Gehan): 12: *I. fumosorosea,* 17: *M. anisopliae var anisopliae*, 18: *B. bassiana*

Στο Διάγραμμα 2 παρατηρούμε την θνησιμότητα εκφρασμένη ως Επιβίωση ανά προϊόν. Η επίδραση με τον μύκητα 17 (*Metarhizium anisopliae*) ήταν μεγαλύτερη στο τέλος του πειράματος στις προνύμφες του λεπιδοπτέρου *E. kuehniella*. Αντίθετα, η επίδραση μύκητα 12 (*Isaria fumosorosea*) ήταν μεγαλύτερη στις προνύμφες του κολεοπτέρου *T. granarium*. Στον Πίνακα 1. καταγράφονται τα στατιστικά αποτελέσματα ως προς τη θνησιμότητα που εντοπίστηκαν μεταξύ των παθογόνων με την ανάλυση επιβίωσης Kaplan-Meier (έλεγχο Wilcoxon και έλεγχο Gehan για κατά ζεύγη συγκρίσεις).

Πίνακας 1. Wilcoxon (Gehan) σύγκριση μεταξύ των παθογόνων μικροοργανισμών (Kaplan–Meier survival analysis, $P<0.05$) επί των προνυμφών των εντόμων στους 25oC (n=30 (σε επίπεδο σημαντικότητας 95%). 12: *I. fumosorosea*, 17: M. *anisopliae var anisopliae*, 18: *B. bassiana*

Χειρισμοί		Wilcoxon (Gehan) Statistic	df	Sig.
Control	12	63,547	1	,000
	17	71,858	1	,000
	18	81,871	1	,000
12	0	63,547	1	,000
	17	,853	1	,356
	18	3,912	1	,048
17	0	71,858	1	,000
	12	,853	1	,356
	18	1,174	1	,279
18	0	81,871	1	,000
	12	3,912	1	,048
	17	1,174	1	,279

2.3.5 Συζήτηση

Η σύγχρονη τάση στο πεδίο της παραγωγής προϊόντων με ολοκληρωμένες μεθόδους παραγωγής και διαχείρισης ευνοεί την ανάπτυξη βιολογικών σκευασμάτων, που τείνουν να αντικαταστήσουν τα χημικά-συνθετικά σκευάσματα με τα οποία αντιμετωπίζονταν οι ασθένειες και προσβολές. Πολλά είδη εντομοπαθογόνων μυκήτων έχουν χρησιμοποιηθεί εναντίον διαφόρων εντόμων και έχουν επιδείξει εξαιρετικά επίπεδα ελέγχου. Αρκετά είδη εξ αυτών έχουν αναφερθεί ως άριστοι παράγοντες αντιμετώπισης επιζήμιων εντόμων - εχθρών στις καλλιέργειες, όπως οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *M. anisopliae*, *B. bassiana* και *I. fumosorosea*. Η μόλυνση ενός εντόμου από εντομοπαθογόνο μύκητα είναι σύνθετο φαινόμενο. Ξεκινάει με την βλάστηση των κονιδίων και γενικά με την διαδερμική διείσδυση του βλαστικού σωλήνα που έχει ως αποτέλεσμα οι εντομοπαθογόνοι μύκητες να εισέρχονται στην αιμολέμφο και να προκαλούν το θάνατο του ξενιστή. Εκτός της υψηλής θνησιμότητας που είναι επιθυμητή για ένα βιολογικό παράγοντα ελέγχου, σημαντικά χαρακτηριστικά αποτελούν τόσο η κονιδιογένεση όσο και η εμφάνιση του μυκηλίου που συμβάλλουν αφενός στην εξάπλωση και στην διάδοση του παθογόνου μέσα στο πληθυσμό των επιβλαβών εντόμων αφετέρου αποτελούν σημαντικές παραμέτρους για την επιλογή του καταλλήλου εντομοπαθογόνου μύκητα για τον αποδοτικότερο έλεγχο αυτών (Inglis et al. 2001, Er et al. 2007).

Στην παρούσα μελέτη έγινε μία προσπάθεια να μελετηθεί η εντομοπαθογόνος δράση των μυκήτων *B. bassiana*, *M. anisopliae* και *I. fumosorosea* επί των προνυμφών των εντόμων *T. granarium* και *E. kuehniella*. Από τη σύγκριση των αποτελεσμάτων παρατηρούμε ότι ο πιο αποτελεσματικός εντομοπαθογονός μύκητας στο σύνολό ήταν ο μύκητας 18 (*Beauveria bassiana*). Επιμέρους, ανά έντομο έχουμε την επίδραση με τον μύκητα 17 (*Metarhizium anisopliae*) να είναι μεγαλύτερη στο τέλος του πειράματος στις προνύμφες του λεπιδοπτέρου *E. kuehniella*. Αντίθετα, η επίδραση του μύκητα 12 (*Isaria fumosorosea*) ήταν μεγαλύτερη στις προνύμφες του κολεοπτέρου *T. granarium*. Οι Rice et al. (1999) αναφέρουν θνησιμότητα περίπου στο 80% του *T. confusum*, μετά από 21 ημέρες σε ρύζι και ότι η θνησιμότητα των *S. oryzae* L. ήταν περίπου 50%. Ταυτοχρόνα οι Hidalgo et al αναφέρουν επίσης ότι η θνησιμότητα των *S. zeamais* σε αλεύρι με την εφαρμογή με *B. bassiana* (10^{10} κονίδια/ml) έφτασε το 100% μετά από 7 ημέρες.

Τα αποτελέσματά οδηγούν στο συμπέρασμα ότι η χρήση των εντομοπαθογόνων μύκητων μπορεί να παίξει σημαντικό ρόλο για τον έλεγχο των προνυμφών των εντόμων *T. granarium* και *E. kuehniella*. 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 στην αποθήκη.

3. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

3.1 Ξενόγλωσση

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.

Altre, J. A., και Vandenberg, J. D., 2001. Factors Influencing the Infectivity ofIsolates of *Paecilomyces fumosoroseus* against Diamondback Moth, *Plutella xylostella*. *Journal of Invertebrate Pathology*. 78: 31–36.

Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Dimizas C.B., Vayias B.J., Tsakiri J.B., Mikeli N.H., Meletsis C.M., Tomanovic Z., (2008). Persistence and efficacy of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) and diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) on wheat and maize”. *Crop Protection* 27: 1303-1311.

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.

Baldwin R. and Fasoulo T., 2003. Confused flour beetle, *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). University of Florida, institute of food and agricultural sciences, department of entomology and nematology. http://creatures.ifas.edu/urban/beetles/red_flour_beetle (html)

Bennett S.M., 2003. Stored products insects, *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). http://www.ma.utexas.edu

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., MalvarR R.A., Carteam.E., Ordas A. & Velasco P. 1999: Resistance of maize in breds 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 CRYIIIA 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.

Day E., 1996. Confused flour beetle, *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae).Virginia polytechnic institute and state university, insect identification laboratory
http://ext.vt.edu/departments/entomology/factsheets/confused.html

Dimas I., Pitta E. and Angelopoulos K., 2007. Corn Stalk Borer (*Sesamia nonagrioides*) Infestation on *Sorghum* in Central Greece. *Phytoparasitica* 35(2): 191-193.

Driver, F., Milner, R.J., Trueman, W.H.A., 2000 A Taxonomic revision of *Metarhizium* based on sequence analysis of ribosomal DNA. *Mycological Res*.104: 135-151

Fargues, J., Delmas, J. C. και Lebrun, R. A., 1997. Leaf consumption by larvae of the Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) infected with the entomopathogen, *Beauveria bassiana*. *Journal of Economic Ent*. 87: 67–71.

Ford J., 1937. Research on populations of *Tribolium confusum* and bearing on ecological theory (special review). *The Journal of Animal Ecology* 6, 1937, 1-14.http: //links.j stor.org/sici

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.

Gillespie, A. T., Bailey A. M., Cobb B., Vilcinskas A. 2000. Fungi as elicitors ofinsect immune responses. *Arch Insect Biochem Physiol.* 44: 49-68.

Hajek, A. E., 1989. Food consumption by *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae infected with *Entomophaga maimaiga* (Zygomycetes: Entomophthorales). *Environmental Entom*. 18: 723–727.

Hajek, A. E., McManus, M. L., Delalibera Jr. I., 2007. A review of introductions of pathogens and nematodes for classical biological control of insects and mites. *Biol. Con*. 41: 1-13.

Hassanloui, R.T., Pakdel, A.K., Goettel, M. and Mozaffari, J., (2006). Variation in virulence of *Beauveria bassiana* isolates and its relatedness to some morphological characteristics. *Biocontrol Science & Technology,* 16(5/6). p.p. 525-534.

Hilder, V.A., Boulter, D., 1999. Genetic engineering of crop plants for insect resistance—a critical review. *Crop Prot*. 18, 177–191.

Howe R.W., 1960. The effects of temperature and humidity on the rate of development and the mortality of *Tribolium confusum* Duval. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Ann. appl. Biol*.,48 (1960), 363-376.

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,.

Jegorov, A., Sedmera, P., Matha, V., Simek, P., Zahradnickova, Landa, Z., Eyal, J., 1994. Beauverolides L and La from *Beauveria tenella* and *Paecilomyces fumosoroseus*. *Phytochemistry*. 37: 1301–1303.

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.

Leger, R. J., 2006. A collagenous protective coat enables *Metarhizium anisopliae* to evade insect immune responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A*. 103:6647-6652.

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.

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.

Lopez C., EIizaguirre 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.

McCoy, C. W., Samson, R. A., Boucias, D. G., 1988. Entomogenous fungi. In: Ignoffo CM (ed) CRC Handbook of Natural Pesticides vol V. Microbial insecticides, part A. Entomogenous protozoa and fungi. CRC Press, Bocaaton, FL, pp 151–236

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 Nenin, April–May 1991, Wallingford, UK, CABI, pp. 321–336.

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.

Rehner, S. A., & Buckley, E. (2005). "A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-{alpha} sequences: evidence for cryptic diversification and links to Cordyceps teleomorphs". Mycologia 97: Pages 84-98.

Riba G., Marcandier S., Richard G., Larget I., 1983. Sensibilitéde la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) (Lep.: Pyralidae) aux hypomycétes entomopathogènes, *Entomophaga*,, 28, 55-64.

Robertson J. L., Preisler H.K., Russel M.R., Savin N.E., 2007. Pesticide bioassayswith arthropods, second edition, CRC, Boca Raton pp 196.

Sandner, H., Cichy, D., 1967. Research on the eVectiveness of fungal and bacterial insecticides. Ekol. Pol. Ser. A 15, 325–333.

SAS Institute Inc. 2011. SAS OnlineDoc®. Version 18. SAS Institute Inc., Cary, North Carolina.

Shahid, A. A., Rao, Q. A., Baskhsh, A. και Husnain, T., 2012. Entomopathogenicfungi as biological controllers: new insights into their virulence andpathogenicity. *Arch. Biol. Sci.* 64(1): 21-42.

Shahid, A. A., Rao, Q. A., Baskhsh, A. και Husnain, T., 2012. Entomopathogenicfungi as biological controllers: new insights into their virulence andpathogenicity. Arch. Biol. Sci. 64(1): 21-42.

Sierotzki, H., Camastral, F., Shah, P. A., Aebi, M., Tuor, U., 2000. Biologicalcharacteristics of selected *Erynia neoaphidis* isolates. *Mycol Res*. 104: 213–219.

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., Butt, T. M., Galaini-Wraight, S., Allee, L. L., Soper, R. S., Roberts, D.W., 1990. Germination and infection processes of entomophthoralean fungus *Erynia radicans* on the potato leafhopper *Emproasca fabae. J. Ivert. Pathol.* 56:157-174.

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

Xiong, Qi., Xie, Yingping., Zhua, Yougmin., Xuea, Jiaoliang., Lib, Jie., Fanb, Renjun., 2012. Morphological and ultrastructural characterization of Carposinasasakii larvae (Lepidoptera: Carposinidae) infected by *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales: Clavicipitaceae). *Micron*. 44: 303–311

Zimmermann, G., 1986. The Galleria bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. *J. Appl. Ent*. 102: 213–215.

Zimmermann, G., 1993. The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pestic. Sci*. 37, 375–379.

3.2 Ελληνική

Αθανασίου Χ.Γ., και Μπουχέλος Κ.Θ., (2003). Κολεόπτερα αποθηκευμένων δημητριακών και συναφών προϊόντων στην Ελλάδα”. 8° Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Χαλκίδα 2-5 Νοεμβρίου 1999, σελ. 215

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 Hypocreales καθώς και μελέτης της ενδοφυτικής και εντομοπαθογόνου συμπεριφοράς τους σε συνθήκες πεδίου. Διδακτορική διατριβή, Πανεπιστήμιο Πατρών, Τμήμα Βιολογίας

Μαντζούκας, Σ., 2008. Έρευνα για την ανεύρεση εντομοπαθογόνων μυκήτων στα εδάφη της Ελλάδας. Διατμηματικό Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων- ΤΕΙ Ηπείρου.

Μαντζούκας, Σ., 2012. Διερεύνηση της επίδρασης του εκχυλίσματος κρόκου στην αύξηση εντομοπαθογόνων μυκήτων, με τη μέθοδο των ημιεκλεκτικών υποστρωμάτων και στην αποτελεσματικότητα τους επί των προνυμφών του εντόμου *Sesamia nonagrioides*. Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Μπουχέλος, Κ.Θ., (1996). Έντομα αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων.» Πανεπιστημιακές παραδόσεις Γεωργική; Εντομολογίας. Εκδ. Γ.Π.Α., Αθήνα: 1-6.

Πέκας Α. Ειδικό άρθρο Βιολογική καταπολέμηση στη Γεωργία: Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universidad Politécnica de Valencia, Γεωργία - Κτηνοτροφία, τεύχος 7/2009.

Σταμόπουλος, Κ. 1995. Έντομα αποθηκών μεγάλων καλλιεργειών καιλαχανικών. Εκδόσεις ΖΗΤΗ. Θεσσαλονίκη. Σταμόπουλος Δ.Κ., 1999. Έντομα αποθηκών και μεγάλων καλλιεργειών και λαχανικών. Εκδόσεις Ζήτη, Θεσσαλονίκη, σελ.254.4

Σταμόπουλος Δ.Κ., 2008. Εχθροί αποθηκευμένων προϊόντων, μουσείων και κατοικιών. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος, σελ 237.