



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΠΑΤΡΩΝ
UNIVERSITY OF PATRAS

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
(πρώην Τμήμα Τεχνολόγων Γεωπόνων, ΤΕΙ Δυτικής
Ελλάδας)

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ



**Ο ΡΟΛΟΣ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ ΣΤΗΝ
ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΕΝΤΟΜΩΝ**

Κατριμπούζα Μαρία (ΑΜ 11624)

ΕΙΣΗΓΗΤΡΙΑ: ΔΡ. ΚΑΡΑΝΑΣΤΑΣΗ ΕΙΡΗΝΗ

ΑΜΑΛΙΑΔΑ 2021

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία με θέμα «Ο ρόλος των εντομοπαθογόνων νηματωδών στην αντιμετώπιση των εντόμων», πραγματοποιήθηκε στο πλαίσιο της ολοκλήρωσης των σπουδών μου στο Τμήμα Γεωπονίας του Πανεπιστημίου Πατρών. Στο σημείο αυτό αισθάνομαι την ανάγκη να εκφράσω τις ειλικρινείς και θερμές ευχαριστίες μου σε όσους συνέβαλαν στην ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας και πρώτα απ' όλα, στην επιβλέπουσα καθηγήτριά μου Ειρήνη Καραναστάση για τη συνεχή καθοδήγηση, την αμέριστη υποστήριξη, τις ουσιώδεις συμβουλές, καθώς και την αδιάκοπη συμπαράσταση και ενθάρρυνση που μου παρείχε σε όλο αυτό το διάστημα. Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω όλα εκείνα τα πρόσωπα που με βοήθησαν να γίνουν «ανεκτοί» οι συμβιβασμοί των τελευταίων χρόνων: την οικογένεια μου, τους φίλους μου, τους συναδέλφους μου. Σε αυτούς, που με την καθημερινή τους συμπαράσταση, την υπομονή τους και την θετική τους σκέψη, συνέβαλαν στην εκπλήρωση του στόχου μου! Σε όλους εκείνους που πιστεύουν ότι η επιστήμη είναι η γνώση των λίγων στην υπηρεσία των πολλών....!

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Τα έντομα αποτελούν ένα από τους σημαντικότερους περιοριστικούς παράγοντες ανάπτυξης των καλλιεργειών και κάθε χρόνο προκαλούν σοβαρή οικονομική ζημία στην παγκόσμια αγροτική παραγωγή. Για την αντιμετώπισή τους, οι παραγωγοί βασίζονται κυρίως στις εφαρμογές συνθετικών εντομοκτόνων, τα οποία είναι πολύ αποτελεσματικά, ωστόσο έχουν οδηγήσει σε διάφορες αρνητικές επιπτώσεις όπως ανάπτυξη ανθεκτικότητας, παρουσία υπολειμμάτων στο τελικό προϊόν, μόλυνση του περιβάλλοντος και σοβαρά προβλήματα υγείας στον άνθρωπο και τα ζώα. Για τους λόγους αυτούς, και καθώς πολλά φυτοφάρμακα έχουν αποσυρθεί από την αγορά, η διαθεσιμότητα αποτελεσματικών δραστικών ουσιών έχει περιοριστεί πάρα πολύ. Συνέπεια αυτού του περιορισμού ήταν η αύξηση του παγκόσμιου ενδιαφέροντος για την εξεύρεση φυσικών ουσιών και παραγόντων που θα μπορούσαν να ελέγχουν επιτυχώς διάφορα φυτοπαρασίτα. Η εφαρμογή τέτοιων ακίνδυνων μεθόδων που σκοτώνουν ή εκτοπίζουν εχθρούς των καλλιεργειών, αποτελεί τη νεότερη τάση στον κλάδο της φυτοπροστασίας.

Η ονομαζόμενη βιολογική αντιμετώπιση εχθρών και ασθενειών των φυτών είναι μια τέτοια εναλλακτική προσέγγιση του προβλήματος που αφορά στον έλεγχο των φυτοπαρασίτων με τη βοήθεια ζωντανών οργανισμών που διατηρούν τα επίπεδα παρουσίας του επιβλαβούς οργανισμού χαμηλότερα σε σχέση με τα επίπεδα που θα επικρατούσαν αν ο βιολογικός παράγοντας ήταν απών (DeBach 1964).

Φυσική βιολογική αντιμετώπιση συμβαίνει όταν πληθυσμοί φυσικών εχθρών αναπτύσσονται και εξελίσσονται παράλληλα με τους επιβλαβείς οργανισμούς χωρίς την παρέμβαση του ανθρώπου. Από την άλλη πλευρά, η εφαρμοσμένη βιολογική αντιμετώπιση αφορά στην επέμβαση του ανθρώπου με στόχο την ενίσχυση της δράσης των φυσικών εχθρών.

Παρά το γεγονός ότι αυτοί οι φυσικοί βοηθοί δεν μπορούν να υποκαταστήσουν πλήρως τα χημικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα, στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας, όπου επιδιώκεται ο περιορισμός της χρήσης των χημικών, ο βιολογικός έλεγχος των φυτοπαρασίτων μπορεί να παρέχει αποτελεσματική υποστήριξη, φιλικότερη προς το περιβάλλον και τους οργανισμούς που ζουν σε αυτό και χωρίς την παρουσία ανεπιθύμητων υπολειμμάτων στο προϊόν.

Η εφαρμοσμένη βιολογική αντιμετώπιση περιλαμβάνει τρεις άξονες: κλασική, διατήρησης και επαύξησης. Η πρώτη περίπτωση (κλασική) αφορά στην εισαγωγή και

εξαπόλυση ενός φυσικού εχθρού σε ένα περιβάλλον που δεν προϋπήρχε, η δεύτερη (διατήρησης) στην εφαρμογή μεθόδων που βοηθούν την επιβίωση, αναπαραγωγή και αποτελεσματικότητα υπάρχοντων φυσικών πληθυσμών και ο τρίτος (επαύξησης) στην εφαρμογή μεθόδων που βοηθούν στην αύξηση της πυκνότητας των πληθυσμών φυσικών ή εισαγόμενων φυσικών εχθρών σε ένα περιβάλλον (Kennis et al. 2019).

Οι εντομοπαθογόνοι νηματώδεις (entomopathogenic nematodes – EPN) εντάσσονται στο πλαίσιο της βιολογικής αντιμετώπισης επαύξησης και μπορούν να αντιμετωπίσουν μεγάλο εύρος εντομολογικών (και όχι μόνο) εχθρών σε διάφορες καλλιέργειες (van Zyl και Malan 2014). Η συγκεκριμένη πτυχιακή εργασία έχει ως σκοπό να αναδείξει τον ρόλο τους στην αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών των καλλιεργειών, είτε με αποκλειστική εφαρμογή τους είτε σε συνδυασμό με ωφέλιμα βακτήρια, ιούς, έντομα και εκχυλίσματα φυτών.

Μεταξύ των σημαντικότερων πλεονεκτημάτων των EPN αναφέρονται:

- Η ικανότητά τους να εντοπίζουν, να προσβάλλουν και να θανατώνουν τους ξενιστές τους μέσα σε 48 ώρες (Poinar 1979)
- Η ικανότητα αναπαραγωγής τους μέσα στο σώμα του νεκρού εντόμου, και η εν συνεχεία απελευθέρωση μιας νέας γενεάς πεινασμένων νηματωδών που διασκορπίζονται για να κυνηγήσουν περαιτέρω θηράματα (Poinar 1979)
- Η απουσία επιπτώσεων σε οργανισμούς – μη στόχους, το περιβάλλον και τον άνθρωπο
- Η ευκολία και το χαμηλό κόστος μαζικής παραγωγής τους
- Η απόλυτη δυνατότητα ενσωμάτωσής τους στα προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης εχθρών και ασθενειών των φυτών
- Η δυνατότητα εφαρμογής τους χρησιμοποιώντας συμβατικά μηχανήματα ψεκασμού και άρδευσης και η συμβατότητα με τα περισσότερα χημικά σκευάσματα (Georgis 1990)
- Η εμμονή τους στο περιβάλλον υπό ευνοϊκές συνθήκες και η υψηλή αποτελεσματικότητά τους, συγκρίσιμη ή και καλύτερη από αυτή των συνθετικών εντομοκτόνων (Ehlers 2003).

Μειονεκτήματα της χρήσης τους αποτελούν η ευαισθησία τους στην ακτινοβολία UV, την χαμηλή υγρασία και τις πολύ υψηλές θερμοκρασίες.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	2
ΠΡΟΛΟΓΟΣ	3
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	5
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ: ΕΙΣΑΓΩΓΗ	6
1.1 Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών	6
1.2 Βιολογική αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών	6
1.2.1 Παρασιτοειδή έντομα	7
1.2.2 Αρπακτικά εντόμων	9
1.2.3 Εντομοπαθογόνοι ιοί και μικροοργανισμοί	11
1.2.4 Εντομοπαθογόνοι νηματώδεις	17
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ	18
2.1 Γενικά για τους νηματώδεις σκώληκες	18
2.2 Μορφολογία νηματωδών	19
2.3 Ανατομία νηματωδών	20
2.4 Δομή σώματος νηματωδών	20
2.5 Πεπτικό Σύστημα νηματωδών	21
2.6 Αναπαραγωγή νηματωδών	22
2.7 Διαβίωση νηματωδών	22
2.8 Διάδοση εντομοπαθογόνων νηματωδών	24
2.9 Βιολογικός κύκλος εντομοπαθογόνων νηματωδών	25
2.10 Οι σημαντικότερες οικογένειες εντομοπαθογόνων νηματωδών	27
2.10.1 Οικογένεια Heterorhabditidae	27
2.10.2 Οικογένεια Steinernematidae	30
2.10 Ιδιότητες εντομοπαθογόνων νηματωδών	32
ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ: Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΣΤΙΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ	34
ΕΠΙΛΟΓΟΣ	46
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	47
ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ	47
ΕΛΛΗΝΙΚΗ	49

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΠΡΩΤΟ: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών

Μέχρι σήμερα, η πιο αποτελεσματική μέθοδος αντιμετώπισης των εντομολογικών – και όχι μόνο – προβλημάτων των καλλιεργειών αλλά και των αποθηκευμένων προϊόντων θεωρείται η χημική, αν και η χρήση της παρουσιάζει μια σειρά σημαντικών μειονεκτημάτων, όπως επιβλαβείς επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου και το περιβάλλον. Αν σε αυτές τις συνέπειες προστεθεί και η αυξανόμενη ανθεκτικότητα των εντόμων στα χημικά σκευάσματα, τονίζεται ακόμα περισσότερο η ανάγκη εύρεσης και εφαρμογής εναλλακτικών μεθόδων για τον έλεγχο των πληθυσμών των βλαβερών εντόμων. Τέτοιες μέθοδοι μπορεί να εφαρμόζονται μεμονωμένα, συνδυαστικά ή ακόμα σε συνδυασμό με χημικές μεθόδους εφόσον το αποτέλεσμα είναι εξίσου ικανοποιητικό αλλά και φιλικό προς το περιβάλλον (Μπουχέλος 1996).

Η ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εχθρών αποτελεί μία προσέγγιση, η οποία εφαρμόζει έναν εναρμονισμένο συνδυασμό μεθόδων υγιεινής, τεχνικών, τεχνολογικών, βιοτεχνολογικών, φυσικών μεθόδων καθώς και μεθόδων βιολογικής και χημικής καταπολέμησης, ο οποίος αποβλέπει στην επίτευξη του επιδιωκόμενου αποτελέσματος και την παράλληλη εξασφάλιση της υγείας του ανθρώπου και της προστασίας του περιβάλλοντος με τον όσο το δυνατόν μεγαλύτερο περιορισμό της εφαρμογής χημικών συνθετικών ουσιών.

1.2 Βιολογική αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών

Το σκέλος της βιολογικής αντιμετώπισης είναι ένα από τα κεντρικά σημεία στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας και αφορά στην άμεση ή έμμεση χρήση βιολογικών παραγόντων για την πρόληψη, μείωση ή θεραπεία ζημιών που προκαλούνται από την επίδραση ζώντων οργανισμών. Η ανάπτυξη και χρήση εντομοπαθογόνων συμπεριλαμβάνονται σε μια σειρά επιτυχιών και ορισμένων αποτυχιών της βιολογίας τα τελευταία χρόνια. Οι περισσότερες έρευνες εστιάζουν στους βακίλους, σημαντικούς παθογόνους παράγοντες ορισμένων παγκοσμίως σημαντικών παρασίτων για τους οποίους ο έλεγχος έχει γίνει δύσκολος είτε λόγω ανθεκτικότητας στα φυτοφάρμακα είτε λόγω της πίεσης για μείωση των υπολειμμάτων φυτοφαρμάκων. Οι βάκιλοι γίνονται αποδεκτοί ως ασφαλείς, μαζικά παραγόμενοι, εξαιρετικά παθογόνοι και εύκολα διαμορφωμένοι και εφαρμοζόμενοι παράγοντες ελέγχου.

Οι παράγοντες που επιστρατεύονται στα πλαίσια της βιολογικής φυτοπροστασίας των αγροτικών γεωργικών προϊόντων για να αντιμετωπιστούν οι απώλειες από τους βιοτικούς παράγοντες, είναι:

- Παρασιτοειδή έντομα
- Αρπακτικά έντομα και ακάρεα
- Εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί και ιοί
- Εντομοπαθογόνοι νηματώδεις.

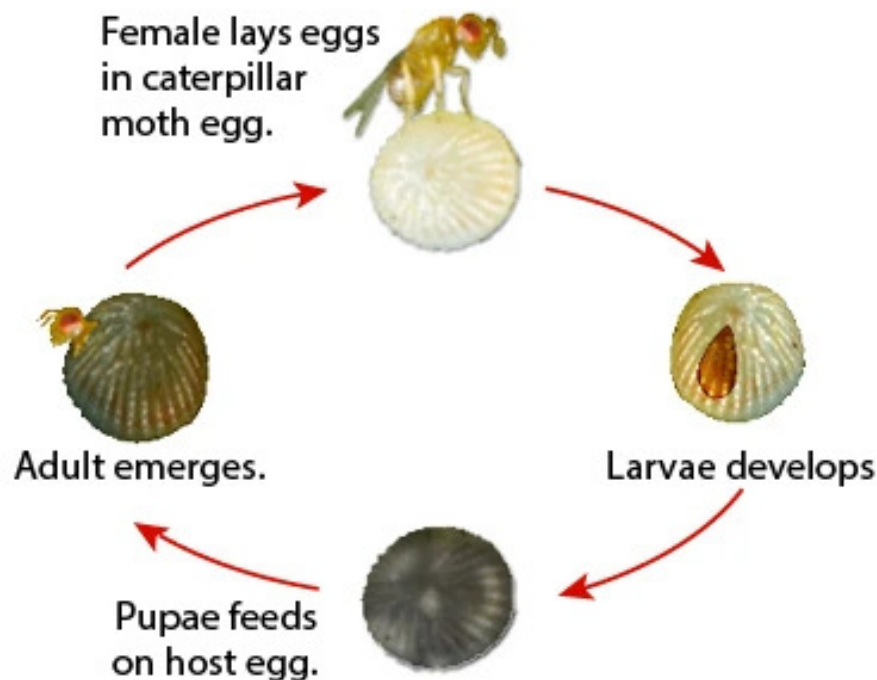
1.2.1 Παρασιτοειδή έντομα

Παρασιτοειδή είναι έντομα των οποίων ο βιολογικός κύκλος ολοκληρώνεται μέσα ή πάνω στο σώμα άλλων εντόμων που αποτελούν τους ξενιστές τους. Τα ενήλικα στάδια των εντόμων αυτών συνήθως τρέφονται με νέκταρ, συντελώντας συχνά και στην επικονίαση, ενώ σπάνια τρέφονται από τον ξενιστή, σε αντίθεση με τα ανήλικα που τρέφονται εξ ολοκλήρου εις βάρος των ξενιστών. Επιβαρύνουν τον οργανισμό του ξενιστή τους, τον οποίο θανατώνουν μέσω διαφόρων διεργασιών (π.χ. έκκριση τοξινών, εξάντληση θρεπτικών στοιχείων). Ορισμένα ενδοπαράσιτα π.χ., προκαλούν μουμιοποίηση των ξενιστών, το σώμα των οποίων διογκώνεται, σκληραίνει και μεταχρωματίζεται. Τα ωφέλιμα παρασιτοειδή έντομα ανήκουν κυρίως στα Hymenoptera. Για παράδειγμα, τα είδη του γένους *Trichogramma* είναι πολύ μικρά έντομα που παρασιτούν σε ωά Λεπιδοπτέρων των οικογενειών Noctuidae, Tortricidae, Pyralidae (Εικ. 1).

Παρασιτοειδή έντομα (άλλων εντόμων) είναι εκείνα των οποίων τα νεαρά στάδια τρέφονται εσωτερικά ή εξωτερικά πάνω στο σώμα άλλων εντόμων. Το έντομο που προσβάλλεται λέγεται ξενιστής και συντηρεί την παρασιτική προνύμφη σε όλη την ανάπτυξη της. Τα παρασιτοειδή είναι πάντα μικρότερα από τους ξενιστές τους, ειδικότερα είναι λίγο μικρότερα αν ένα μόνο άτομο παρασιτοειδούς αναπτύσσεται μέσα σε κάθε άτομο ξενιστή αλλά μπορεί να είναι πολύ μικρότερα όταν πολλά άτομα αναπτύσσονται μέσα σε ένα ξενιστή.

Τα παρασιτοειδή πάντα θανατώνουν τους ξενιστές τους μέχρι τη συμπλήρωση της ανάπτυξης τους, πράγμα που βρίσκεται σε αντίθεση με άλλα παράσιτα ανώτερων ζώων, όπως οι ψύλλοι και οι φθείρες που δεν προκαλούν τον θάνατο, αυτός είναι άλλωστε και ο λόγος για τον οποίο χρησιμοποιείται ο όρος «παρασιτοειδές» σε αντίθεση με τον όρο «παράσιτο» που χρησιμοποιείται για έναν οργανισμό που ζει εις βάρος κάποιου άλλου, χωρίς όμως να τον θανατώνει.

Ο παρασιτισμός στα έντομα είναι πολύ συνηθισμένο φαινόμενο. Τα περισσότερα έντομα έχουν τουλάχιστον ένα και συνήθως περισσότερα είδη παρασιτοειδών, αν και το ποσοστό παρασιτισμού σ' ένα πληθυσμό μπορεί να διαφοροποιείται ανάλογα με τις επικρατούσες συνθήκες.



Εικόνα 1. Βιολογικός κύκλος του εντόμου *Trichogramma* sp. (Πηγή: <https://gardeningzone.com>)

Τα περισσότερα παρασιτοειδή έντομα ανήκουν στα Hymenoptera και τα Diptera, όπως αναλύονται στον παρακάτω πίνακα (Πίν. 1). Τα πιο πολλά έχουν μικρό φάσμα ξενιστών που αφορά συνήθως συγγενικά είδη. Ορισμένα παρασιτοειδή περιορίζονται σε ένα μόνο είδος ξενιστή. Οι περιορισμοί αυτοί είναι πολύ σημαντικοί γιατί εξυπηρετούν τους σκοπούς της εφαρμοσμένης βιολογική αντιμετώπισης εντομολογικών εχθρών κατά την οποία απαιτείται εξειδικευμένη δράση ως προς το φυτοφάγο είδος που επιδιώκουμε να αντιμετωπίσουμε. Ως προς το στάδιο του ξενιστή το οποίο προσβάλλουν, όλα τα παρασιτοειδή είναι εξειδικευμένα. Κάποια προτιμούν τα προνυμφικά στάδια, άλλα περιορίζονται στο στάδιο της νύμφης και κάποια άλλα είναι παρασιτοειδή ωών. Ακμαία έντομα παρασιτίζονται σπάνια. Η εναπόθεση των ωών του παρασιτοειδούς γίνεται συχνά σε ένα στάδιο του ξενιστή, αλλά η ανάπτυξη του ολοκληρώνεται σε επόμενο στάδιο. Τα περισσότερα ζουν και αναπτύσσονται εσωτερικά στο σώμα του ξενιστή τους, αν και υπάρχουν περιπτώσεις που οι προνύμφες κάποιων ειδών ζουν εξωτερικά του ξενιστή και τρέφονται με σωματικά υγρά που εκρέουν από το σώμα του (Καπετανάκης 1999).

Πίνακας 1. Οι κύριες Οικογένειες παρασιτοειδών εντόμων και οι ξενιστές τους.

ΤΑΞΗ	ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ	ΚΥΡΙΟΙ ΞΕΝΙΣΤΕΣ
Hymenoptera	Ichneumonidae	Προνύμφες Ολομετάβολων εντόμων, ιδιαίτερα Λεπιδόπτερων και Υμενόπτερων (στη δεύτερη περίπτωση σαν υπερπαρασίτα).
	Braconidae	Προνύμφες Ολομετάβολων εντόμων, ιδιαίτερα Λεπιδόπτερων και Διπτέρων. Επίσης αφίδες.
	Encyrtidae	Κάμπιες και χρυσαλίδες Λεπιδόπτερων
	Eulophidae	Κοκκοειδή
	Aphelinidae	Αφίδες, κοκκοειδή
	Pteromalidae	Κάμπιες και χρυσαλίδες Λεπιδόπτερων Κολεόπτερα
	Trichogrammatidae	Ωά εντόμων, διάφορων Τάξεων
Diptera	Tachinidae	Κάμπιες Λεπιδόπτερων Κολεόπτερα. Μερικά Ημίπτερα

1.2.2 Αρπακτικά εντόμων

Ως αρπακτικά εντόμων θεωρούνται όλα τα ζώα που συλλαμβάνουν έντομα για να τα καταναλώσουν ως πηγή τροφής (Πίν. 2).

Ορισμένα είναι μεγαλύτερα ζώα που είτε τρέφονται αποκλειστικά με έντομα είτε τα περιλαμβάνουν στη διατροφή τους όπως πουλιά, ερπετά, αμφίβια και μικρά θηλαστικά, τα οποία καταναλώνουν μεγάλους αριθμούς εντόμων αλλά έχουν μικρή σημασία για τον έλεγχο ζημιογόνων ειδών.

Πολλά αρπακτικά εντόμων είναι άλλα έντομα ή είδη που ανήκουν σε άλλη ομάδα αρθροπόδων, π.χ. οι αράχνες, οι οποίες αποτελούν κοντινούς συγγενείς των εντόμων και είναι αποκλειστικά αρπακτικές, ενώ τα έντομα αποτελούν τη βασική τροφή τους. Στην ίδια Κλάση (Arachnida) ανήκουν επίσης τα αρπακτικά ακάρεα που τρέφονται με έντομα ή άλλα ακάρεα και χρησιμοποιούνται συχνά σε προγράμματα αντιμετώπισης ειδών επιβλαβών για τις καλλιέργειες. Τα αρπακτικά έντομα και ακάρεα είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος από τη λεία τους, πρώτα θανατώνουν και έπειτα τρώγουν τα θηράματά τους.

Τα αρπακτικά έντομα και ακάρεα διακρίνονται σε δύο ομάδες ανάλογα με τον τρόπο που συλλαμβάνουν τα θηράματά τους: (i) εκείνα που τα αναζητούν ενεργά π.χ. Cicindelidae (Coleoptera) και (ii) εκείνα που στέκονται ακίνητα και τα περιμένουν να περάσουν από κοντά τους π.χ. *Mantis religiosa* (Mantodea).

Αντίθετα με τα παρασιτοειδή, αρπακτικά έντομα υπάρχουν σε διάφορες Τάξεις: Coleoptera, Diptera, Hemiptera, Hymenoptera, Neuroptera. Ορισμένα διαθέτουν στοματικά μόρια μασητικού τύπου και μπορούν να μασούν και να κόβουν την τροφή τους σε μικρά κομμάτια, ενώ άλλα, όπως και τα αρπακτικά ακάρεα, διαθέτουν στοματικά μόρια μυζητικού τύπου και τρέφονται όπως τα αντίστοιχα φυτοφάγα είδη, διατρυπώντας το σωματικό τοίχωμα του θηράματος και αναρροφώντας τα σωματικά του υγρά.

Τα αρπακτικά διαφοροποιούνται από τα παρασιτοειδή και ως προς τα στάδια τα οποία εκδηλώνουν την αρπακτική τους ιδιότητα. Έτσι, πολλά είναι αρπακτικά, τόσο στην ανήλικη όσο και στην ενήλικη φάση του βιολογικού τους κύκλου, όπως τα Neuroptera και τα Coccinellidae (Coleoptera), ενώ άλλα είναι αρπακτικά μόνο ως ανήλικα (Diptera: Syrphidae) ή μόνο ως ενήλικα (Diptera: Asilidae).



Εικόνα 2. *Rodolia cardinalis* τρεφόμενη με το κοκκοειδές έντομο *Icerya purchasi* (Πηγή: <https://biocontrol.ucr.edu>)

Το φάσμα ξενιστών των αρπακτικών εντόμων και ακάρεων δεν είναι αυστηρά καθορισμένο και μπορεί να ποικίλει ανάλογα με τη διαθεσιμότητα, αν και υπάρχουν κάποια είδη πιο εκλεκτικά, όπως ορισμένα είδη Coccinellidae που καταναλώνουν μόνο συγκεκριμένα είδη αφίδων. Γενικότερα πάντως, τα αρπακτικά έντομα είναι πιο ελαστικά ως προς το φάσμα ξενιστών τους από τα παρασιτικά έντομα.

Τέλος, μια άλλη διαφορά που παρατηρείται σε σχέση με τα παρασιτοειδή, είναι ότι τα αρπακτικά είναι σχεδόν πάντα μεγαλύτερα από τα θύματά τους και ότι ενώ τα παρασιτοειδή χρειάζονται μόνο ένα ξενιστή για να ολοκληρώσουν τον βιολογικό τους κύκλο, τα αρπακτικά καταναλώνουν δεκάδες ή και εκατοντάδες άτομα από το θήραμά τους (Καπετανάκης 1999).

Πίνακας 2. Τα κύρια αθροίσματα αρπακτικών εντόμων και η βορά τους.

ΑΘΡΟΙΣΜΑΤΑ	ΣΤΑΔΙΟ ΠΟΥ ΕΚΔΗΛΩΝΟΥΝ ΑΡΠΑΚΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ	ΚΥΡΙΑ ΒΟΡΑ
INSECTA <u>Coleoptera</u> Coccinellidae Carabidae Staphylinidae Cicindelidae	Προνύμφες, ακμαία Προνύμφες, ακμαία Προνύμφες, ακμαία Προνύμφες, ακμαία	Αφίδες, κοκκοειδή, ακάρεα Διάφορα έντομα εδάφους Διάφορα έντομα εδάφους Διάφορα έντομα στην επιφάνεια του εδάφους
<u>Neuroptera</u>	Προνύμφες, ακμαία	Διάφορα έντομα
<u>Diptera</u> Syrphidae Asilidae	Μόνο προνύμφες Ακμαία, επίσης προνύμφες σε μερικές περιπτώσεις	Αφίδες Διάφορα έντομα
<u>Hymenoptera</u> Πολλά είδη σφηκών και μερμηγκιών	Ακμαία. Η βορά όμως δίδεται στις προνύμφες.	Διάφορα μαλακόσωμα έντομα
<u>Hemiptera</u> Από διάφορες οικογένειες	Νύμφες και ακμαία	Hemiptera Από διάφορες οικογένειες
ARACHNIDA <u>Araneae</u> (Αράχνες) <u>Acarina</u> (Αρπακτικά ακάρεα)	Νεαρά και ακμαία Νεαρά και ακμαία	Διάφορα έντομα, κυρίως ιπτάμενα ακμαία Φυτοφάγα ακάρεα
VERTEBRATA Πουλιά	Διάφορα έντομα, κυρίως εδάφους	Κάμπιες Λεπιδόπτερον Κολεόπτερα. Μερικά Ημίπτερα

1.2.3 Εντομοπαθογόνοι ιοί και μικροοργανισμοί

Εντομοπαθογόνοι ιοί

Οι ιοί είναι μολυσματικά σωματίδια που συντίθενται από ένα νουκλεοξύ (RNA ή DNA) και ένα περίβλημα πρωτεϊνικής σύνθεσης που προστατεύει το νουκλεοξύ από το εξωτερικό περιβάλλον. Οι ιοί είναι υποχρεωτικά παράσιτα, απαιτούν δηλαδή την ύπαρξη ζωντανού ξενιστή για την εγκατάσταση μιας μόλυνσης. Κατά τη διαδικασία αυτή, χρησιμοποιούν τη μεταβολική λειτουργία των κυττάρων του ξενιστή τους ώστε να μπορέσουν να αναπαράγουν τη νουκλεϊνική τους αλυσίδα. Απαραίτητη προϋπόθεση για να νοσήσει ένα

έντομο από έναν ιό είναι να προσλάβει τα ισοωμάτια μέσω της τροφής του (π.χ. ψεκασμένο φύλλωμα). Με την είσοδο του ιού στον πεπτικό σωλήνα του εντόμου, το αλκαλικό pH του περιβάλλοντος, λόγω της παρουσίας του πεπτικού υγρού του εντόμου, αποσυνθέτει την καψιδιακή πρωτεΐνη του ιού απελευθερώνοντας το γενετικό του υλικό. Αυτό χρησιμοποιεί τις διεργασίες του φυτικού κυττάρου για τον διπλασιασμό του και στη συνέχεια δημιουργεί θυγατρικά ισοωμάτια, τα οποία περνούν σε γειτονικά κύτταρα μέσω των πλασμοδεσμάτων και τα μολύνουν, εξαπλώνοντας σταδιακά την προσβολή σε όλα τα κύτταρα του πεπτικού σωλήνα και στη συνέχεια σε όλο το σώμα του εντόμου ξενιστή. Ο χρόνος θανάτωσης του εντόμου κυμαίνεται από λίγες ημέρες (3-7) έως και μερικές εβδομάδες (3-4), διάρκεια που εξαρτάται από την κάθε περίπτωση αλληλεπίδρασης εντόμου - ιού - φυτού.

Μέχρι σήμερα, έχουν αναγνωρισθεί και κατηγοριοποιηθεί δέκα οικογένειες εντομοπαθογόνων ιών, με πιο σημαντική την Baculoviridae (Εικ. 3), στην οποία συγκαταλέγονται τα περισσότερα είδη με πρακτική και εμπορική σημασία για την αντιμετώπιση εντόμων. Οι ιοί αυτής της οικογένειας έχουν εντοπιστεί αποκλειστικά σε πληθυσμούς εντόμων, κυρίων των τάξεων των Υμενόπτερων, Λεπιδόπτερων και Κολεόπτερων (Τζανακάκης 1995).



Εικόνα 3. Σύμπτωμα προσβολής προνύμφης λεπιδοπτερου από τον ιό Nuclear Polyhedrosis Virus (Πηγή: David Cappaert, Bugwood.org)

Σε κάθε περίπτωση ιολογικής ασθένειας, το έντομο παρουσιάζει χαρακτηριστικά συμπτώματα που οδηγούν τελικά στο θάνατό του. Αρχικά παρατηρείται μειωμένη δραστηριότητα του εντόμου που συνοδεύεται από μεταχρωματισμό, παρουσία κηλίδων και λύσεις ιστών, συμπτώματα τα οποία ποικίλλουν ανάλογα με το είδος του εντόμου και του ιού (Μαντζούκας 2012).

Εντομοπαθογόνα πρωτόζωα

Τα πρωτόζωα είναι ενδοκυτταρικά υποχρεωτικά παράσιτα που μολύνουν τον ξενιστή τους συνήθως στο στάδιο της σπορίωσης. Η μόλυνση γίνεται όπως και στην περίπτωση των ιών μέσω της τροφής του εντόμου, άρα το έντομο πρέπει να τα καταπιεί για να νοσήσει. Σε μερικά είδη πρωτόζωων, η μετάδοση μπορεί να γίνει και μέσω των οπών ωτοκίας παρασιτοειδών Υμενοπτέρων. Τα πρωτόζωα προσβάλλουν και θανατώνουν προκαλώντας κυτόλυση, αν και η εντομοπαθογόνος ικανότητά τους είναι μικρή και η δράση τους αργή, χαρακτηριστικά τα οποία τα κατατάσσουν στους λιγότερο συχνά χρησιμοποιούμενους βιολογικούς παράγοντες αντιμετώπισης εντόμων (Τζανακάκης 1995).

Εντομοπαθογόνοι μύκητες

Οι μύκητες συνθέτουν μια μεγάλη ομάδα ευκαρυωτικών οργανισμών, οι οποίοι σήμερα κατατάσσονται σε δύο διακριτά Βασίλεια, το Βασίλειο Chromista όπου περιλαμβάνονται οι ωομύκητες και το Βασίλειο Fungi, όπου ανήκουν όλοι οι ανώτεροι μύκητες. Στο σύνολο των ειδών περιλαμβάνονται περισσότερα από 500 είδη με εντομοπαθογόνο δράση, τα οποία κατατάσσονται σε διάφορα αθροίσματα: Oomycota Zygomycota, Ascomycota, Deuteromycota, και Chytridiomycota.

Τα περισσότερα γένη εντομοπαθογόνων μυκήτων που μελετώνται για τις εντομοπαθογόνες τους ιδιότητες ανήκουν στην Τάξη Entomophthorales των Zygomycota και στους Hyphomycetes των Deuteromycota. Αναφέρεται ότι επιδρούν σε μεγάλο αριθμό εντόμων διαφόρων κατηγοριών, όπως προνύμφες λεπιδοπτέρων, αφίδες και θρίπες, τα οποία προκαλούν εκτεταμένες ζημιές στην παγκόσμια φυτική παραγωγή. Είδη εντομοπαθογόνων μυκήτων με αποτελεσματική δράση και εμπορική εφαρμογή είναι τα *Metarhizium robertsii*, *M. flonoviridae* και *M. album* ενώ και από την τάξη Moniliales τα *Beauveria bassiana* και *Verticillium lecanii* (Εικ. 4).



Εικόνα 4. Έντομα προσβεβλημένα από μύκητες: (i) *Delia radicum* προσβεβλημένο από *Beauveria bassiana* (Goettel et al, 2005) (ii) *Metarhizium anisopliae* (Wikipedia) (iii) *Verticillium lecanii* (<https://connect2india.com>)

Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες συγχρονίζουν τον βιολογικό τους κύκλο με τα ευαίσθητα στάδια του βιολογικού κύκλου του ξενιστή τους, πάντα σε σχέση με τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Συγκεκριμένα, ο βιολογικός κύκλος τους ξεκινά κατά κανόνα με τη βλάστηση ενός αγενούς σπορίου (κονίδιο) και τη δημιουργία της βλαστικής υφής. Η βλαστικότητα των κονιδίων επηρεάζεται από χαρακτηριστικά όπως η παρουσία νερού, λιπαρών οξέων και διάφορων θρεπτικών στοιχείων καθώς και από τη φυσιολογική κατάσταση του εντόμου ξενιστή. Η επιτυχής δηλαδή βλάστηση προϋποθέτει την ύπαρξη κατάλληλων συνθηκών, τη δυνατότητα αξιοποίησης θρεπτικών στοιχείων αλλά και την ανθεκτικότητα του μύκητα σε τυχόν υπάρχουσες τοξικές ουσίες του εντόμου. Στο άκρο της βλαστικής υφής δημιουργείται η πλάκα προσκόλλησης (apressorium), η οποία διευκολύνει την είσοδο του παθογόνου στον ξενιστή και την εγκατάσταση της μόλυνσης. Η διάτρηση του εξωσκελετού του εντόμου γίνεται με τον συνδυασμό της πίεσης που ασκεί η βλαστική υφή και της δράσης λυτικών ενζύμων (πρωτεασών, χιτινασών κ.α.) που παράγονται από τους μύκητες. Εν συνεχεία, οι μυκηλιακές υφές αναπτύσσονται και φτάνουν στο αιμόκοιλο του εντόμου, εξαπλώνονται σε όλους τους ιστούς του σώματός του και τελικά προκαλούν τον θάνατό του μέσα σε χρονικό διάστημα λίγων ημερών (3-14) από το χρονικό σημείο απελευθέρωσης των μολυσματικών κονιδίων (Shahid et al. 2012).

Εντομοπαθογόνα βακτήρια

Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί περισσότερα από 100 είδη εντομοπαθογόνων βακτηρίων αλλά μόνο ορισμένα επιδεικνύουν ικανοποιητικά αποτελέσματα ώστε να μπορούν να θεωρηθούν εργαλεία βιολογικής εντομοπροστασίας. Τα βακτήρια αυτά ανήκουν στο γένος *Bacillus* και διατίθενται ως εμπορικά σκευάσματα. Από αυτά το πιο γνωστό και ευρέως χρησιμοποιούμενο είναι το είδος *B. thuringiensis*.

Bacillus thuringiensis

Το εντομοπαθογόνο βακτήριο *Bacillus thuringiensis* απομονώθηκε για πρώτη φορά στην Ιαπωνία το 1902 αλλά επίσημα κατεγράφη το 1915 από τον Ernst Berliner που το απομόνωσε από το λεπιδόπτερο *Ephestia kuehniella*. Μέχρι σήμερα έχουν αναγνωριστεί διάφορα στελέχη με εξειδικευμένη δράση. Τα σκευάσματα *B. thuringiensis* συγκαταλέγονται στα βιολογικά εντομοκτόνα που είναι τοξικά για επιβλαβή έντομα, ακόμα και για όσα έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα σε χημικές ουσίες, έχουν εκλεκτική δράση και είναι φιλικά προς το περιβάλλον.

Το *B. thuringiensis* είναι θετικό κατά Gram βακτήριο που κατά τη sporίωση, παράγει ένα κρυσταλλικό έγκλειστο σωματίο με εντομοτοξικές κρυσταλλικές πρωτεΐνες (Εικ. 5). Ο βιολογικός του κύκλος χωρίζεται σε τέσσερις φάσεις: I φυτική ανάπτυξη, II μετάβαση στη βλάστηση, III βλάστηση και IV ωρίμανση σπορίων και λύση των κυττάρων (Εικ. 5).



Εικόνα 5. Το βακτηριακό κύτταρο προς το τέλος της sporίωσης. Η μαύρη περιοχή περιέχει τα σπόρια, η πυραμιδοειδής δομή περιέχει τις κρυσταλλικές πρωτεΐνες (Sanchis & Bourguet 2008).

Οι κρυσταλλικές πρωτεΐνες κωδικοποιούνται από γονίδια που βρίσκονται σε μεγάλα πλασμίδια, αν και έχουν σημειωθεί θέσεις και πάνω στο χρωμόσωμα (Lereclus et al. 1982). Κάθε θέση αντιστοιχεί σε μια τοξίνη. Οι κρυσταλλικές πρωτεΐνες είναι δύο τύπων: Cry ή Cyt τοξίνες. Οι Cry βρίσκονται εντός του κρυσταλλικού σωματίου, ενώ οι Cyt έχουν κυτολυτική και αιμολυτική δράση. Οι Cry τοξίνες προσδένονται σε εξειδικευμένους υποδοχείς στη μεμβράνη των κυττάρων του εντόμου-ξενιστή. Ο αριθμός και η συγγένεια των υποδοχέων του μεσεντέρου με τις Cry πρωτεΐνες καθορίζει το βαθμό ευπάθειας του εντόμου. Οι Cyt πρωτεΐνες δεν προϋποθέτουν την ύπαρξη πρωτεϊνικών υποδοχέων για τη δράση τους αλλά προσδένονται απευθείας στα λιπίδια της μεμβράνης του μεσεντέρου. Το αλκαλικό περιβάλλον στο μεσέντερο Λεπιδοπτέρων και Διπτέρων διευκολύνει τη διαλυτοποίηση των Cry τοξινών, οι οποίες στη συνέχεια εισέρχονται στη μεμβράνη του μεσεντέρου που σταδιακά καταστρέφεται και ακολουθεί ο θάνατος του εντόμου.

Τα στελέχη του βακτηρίου χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες ανάλογα με την τοξικότητά τους ως προς τον ξενιστή:

1. Τοξικά για τα Λεπιδόπτερα με υπεύθυνη τοξίνη την πρωτεΐνη P1 (MB 130kb) και μια δεύτερη πρωτεΐνη P2 (MB 66kb) (CryIAa, CryIAb, CryIAc) (*B. thuringiensis* subsp *kurstaki*).
2. Τοξικά για τα Δίπτερα (πρωτεΐνες MB 25 – 140 kb) (*B. thuringiensis* subsp *israelensis*).
3. Τοξικά για τα κολεόπτερα (πρωτεΐνη MB 66kb) (CryIIIa and CryIIIb) (*B. thuringiensis* subsp *tenebrionis*).
4. Τοξικά για Δίπτερα και Λεπιδόπτερα (πρωτεΐνη MB 130kb).



Εικόνα 6. Νεκρή προνύμφη του λεπιδοπτερου *Ephestia kuehniella* προσβεβλημένη από *Bacillus thuringiensis subsp kurstaki*.

Για την εκδήλωση της ασθένειας, οι κρυσταλλικές πρωτεΐνες πρέπει να καταποθούν από τις ευαίσθητες προνύμφες, στη συνέχεια διαλυτοποιούνται στο μεσέντερο λόγω του αλκαλικού περιβάλλοντος (pH 8-12). Η τοξίνη ενεργοποιείται μέσω της δράσης των πρωτεασών του μεσεντέρου, οι οποίες διασπούν την τοξίνη σε μικρότερα, ανθεκτικά στις πρωτεάσες, μόρια. Η τοξίνη επιδρά πολύ γρήγορα και μέσα σε λίγα λεπτά, το στομάχι και τα στοματικά μόρια παραλύουν, με αποτέλεσμα να αναστέλλεται η πρόσληψη τροφής. Το επιθήλιο του μεσεντέρου διογκώνεται και καταρρέει. Μέσα από μια σειρά ιστολογικών αλλαγών τροποποιείται η περατότητα του μεσεντέρου, αυξάνεται η συγκέντρωση K^+ και Na^+ στην αιμολέμφο και περιορίζεται η κανονική μεταφορά K^+ , αυξάνεται το pH στην αιμολέμφο ενώ μειώνεται στο μεσέντερο, αυξάνεται η ποσότητα απορροφόμενης γλυκόζης και η κατανάλωση O_2 και μειώνεται η απορρόφηση ATP. Έτσι τα κύτταρα αρχίζουν να διογκώνονται και υφίστανται κοκκιοποίηση. Ο πυρήνας διογκώνεται, το ενδοπλασματικό δίκτυο σταδιακά μοιάζει με κενοτόπιο και τα κύτταρα λύνονται καταλήγοντας σε εκτεταμένες ζημίες στο μεσέντερο που τελικά προκαλούν τον θάνατο της προνύμφης (Εικ. 6). Σε προνύμφες κουνουπιών τα πρώτα συμπτώματα εκδηλώνονται 30 λεπτά μετά τη μόλυνση.

Η ενεργοποίηση των Cry πρωτεϊνών φαίνεται ότι ξεκινά κατά την έναρξη της βλάστησης, οπότε αρχίζει και η μεταγραφή των Cry γονιδίων. Παράλληλα με τις Cry τοξίνες που παράγει το εντομοπαθογόνο βακτήριο *B. thuringiensis*, παράγονται και μολυσματικοί παράγοντες όπως η φωσφολιπάση C, πρωτεάσες και αιμολυσίνες που θεωρείται ότι ενισχύουν την τοξικότητα του βακτηρίου.

Η ευπάθεια των εντόμων σε παθογόνα επηρεάζεται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος όπως η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία. Συγκεκριμένα, η υψηλή σχετική υγρασία σχετίζεται γενικότερα με αυξημένη θνησιμότητα εντόμων προσβεβλημένων με

μύκητες και ιούς, ενώ η παθογόνος δράση του *B. thuringiensis* αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας. Οι περιβαλλοντικές συνθήκες επηρεάζουν το σύστημα παθογόνου-ξενιστή αφού επηρεάζουν τη βιολογία του παθογόνου, την αντίδραση ανοσοποίησης του ξενιστή αλλά και τον ρυθμό εισόδου του παθογόνου στον ξενιστή. Για παράδειγμα, προνύμφες 5ης ηλικίας του εντόμου *E. kuehniella*, στις οποίες έγινε χειρισμός με βάκιλλο (τράφηκαν με σπόρους σίτου, μολυσμένους με το βακτήριο) σε 3 διαφορετικές τιμές θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας, βρέθηκε ότι ο χρόνος που χρειάστηκαν μέχρι να γίνουν χρυσαλίδες καθώς και το ποσοστό θρόμβων στην αιμολέμφο τους ήταν αυξημένα στην μεγαλύτερη τιμή σχετικής υγρασίας και θερμοκρασίας. Επίσης, το ποσοστό προνυμφών που ολοκλήρωσαν επιτυχώς το στάδιο της χρυσαλίδας ήταν σημαντικά μικρότερο σε σχέση με προνύμφες που δεν είχαν τραφεί με τους μολυσμένους σπόρους (George & Crickmore 2012).

1.2.4 Εντομοπαθογόνοι νηματώδεις

Οι εντομοπαθογόνοι νηματώδεις (entomopathogenic nematodes – EPN) είναι υποχρεωτικά παράσιτα των εντόμων που χρησιμοποιούνται πλέον ευρέως στη βιολογική αντιμετώπιση φυτοφάγων εντόμων. Αρκετά είδη εντόμων παρουσιάζουν ευπάθεια στους EPN με την προϋπόθεση ένα τουλάχιστον μέρος του βιολογικού τους κύκλου να εξελίσσεται εντός του εδάφους. Πολλά έντομα εχθροί των καλλιεργειών (λεπιδόπτερα, κολεόπτερα, δίπτερα κ.α.) μπορούν να αποτελέσουν στόχο των νηματωδών, χωρίς οι EPN να επηρεάζονται αρνητικά τα φυτά, τα ωφέλιμα έντομα ή άλλους οργανισμούς και το περιβάλλον. Οι EPN αναλύονται λεπτομερώς στα επόμενα κεφάλαια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΔΕΥΤΕΡΟ: ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ

Οι εντομοπαθογόνοι νηματώδεις (ΕΠΝ) έχουν πλέον εμπορευματοποιηθεί και χρησιμοποιούνται επιτυχώς σε εμπορική κλίμακα για τον έλεγχο επιβλαβών εντόμων κυρίως στη Βόρεια Αμερική, την Ευρώπη, την Ιαπωνία, την Κίνα και την Αυστραλία. Πολλές άλλες χώρες διεξάγουν επίσης έρευνα σχετικά με την ανάπτυξή τους ως βιολογικών παραγόντων ελέγχου. Σε πολλές περιπτώσεις, συστήματα καλλιέργειας υψηλής αξίας έχουν επιτυχώς προστατευθεί από σημαντικούς εντομολογικούς εχθρούς με αποκλειστική χρήση ΕΠΝ, τόσο μέσω εφαρμογών εδάφους όσο και φυλλώματος. Μερικά από αυτά τα παράσιτα περιλαμβάνουν κολεόπτερα που προσβάλλουν τις ρίζες εσπεριδοειδών και αμπέλου, γρύλους σε χλοοτάπητες, προνύμφες λεπιδοπτέρων σε χλοοτάπητα και ρίζες κηπευτικών (Van Zyl & Malan 2014).

2.1 Γενικά για τους νηματώδεις σκώληκες

Οι νηματώδεις σκώληκες είναι ζωικοί οργανισμοί που χαρακτηρίζονται από απλό, επίμηκες σώμα, εξ ου και ο χαρακτηρισμός «νηματώδεις» που προήλθε από την ελληνική λέξη «νήμα» (thread ή threatworms). Οι νηματώδεις ανήκουν στο Ζωικό Βασίλειο, Υποβασίλειο Metazoa, Φύλο Nemata (ή Nematoda ή Nematelminthes) Cobb 1919 (Chitwood, Filipjev et al., 1959) και αποτελούν την πολυπληθέστερη και πιο ευμετάβολη ομάδα από τα Μετάζωα, μετά τα Αρθρόποδα.

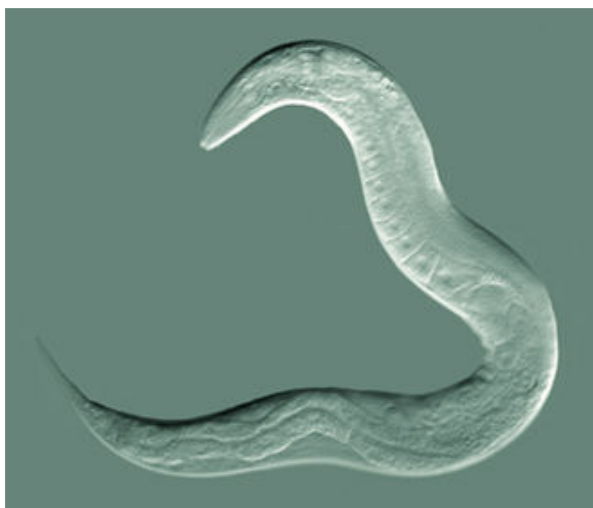
Η ύπαρξη των νηματωδών στη Γη υφίσταται τουλάχιστον από την πρώτη εμφάνιση του ανθρώπινου είδους και συνδέεται με τη διαπίστωση της διαβίωσής τους ως ζωικά παράσιτα, όπως αναφέρεται και στις πρώτες Αιγυπτιακές γραφές από το 4000 π.Χ. Ωστόσο, ο ακριβής χρονικός προσδιορισμός της εμφάνισής τους στον πλανήτη δεν είναι εφικτός, λόγω της απουσίας απολιθωμάτων που αποτελεί συνέπεια της σύστασης του σώματός τους, αν και έχουν βρεθεί σε απολιθώματα ζώων ηλικίας 500.000.000 ετών. Η παρουσία τους διαπιστώνεται και από αναφορές και ενδείξεις για ζωοπαρασιτικούς νηματώδεις που ταιριάζουν στο γένος *Ascaris* σε Κινέζικες γραφές (2700 π.Χ.), στη Βίβλο (προειδοποιήσεις του Μωυσή για την αποφυγή τροφών που περιείχαν είδη «σκουληκιών» που προκαλούσαν αρρώστιες, ενώ και οι Αρχαίοι Έλληνες (Ιπποκράτης, Αριστοτέλης) και Ρωμαίοι εφάρμοζαν διάφορα θεραπευτικά μέτρα εναντίον νηματωδών (*Ascaris*, *Enterobius*, *Dracunculus*, *Neoascaris*, *Parascaris*).

Η διάδοσή τους στη γη είναι ευρεία λόγω της δυνατότητας που τους δίνει η εσωτερική και εξωτερική τους μορφολογία με αποτέλεσμα να προσαρμόζονται σε διάφορα περιβάλλοντα στα οποία είναι δυνατή η ύπαρξη ζωής. Είναι δραστήριοι, σκωληκόμορφοι οργανισμοί που απαντώνται στο έδαφος, στα νερά (γλυκά, θαλάσσια ή υφάλμυρα) και όπου υπάρχει οργανική ουσία, είτε ως ελευθέρως διαβιούντες, είτε ως ζωικά ή φυτικά παράσιτα. Στην πιο πρόσφατη καταγραφή για τη ζωική ποικιλότητα αναφέρεται ότι ο αριθμός των προσδιορισμένων ειδών νηματωδών ανέρχεται στα 25.000, ενώ υπολογίζεται ότι ο πραγματικός αριθμός είναι πολύ μεγαλύτερος. Όσον αφορά την πυκνότητα του πληθυσμού τους, υπολογίζεται ότι, ιδιαίτερα σε καλλιεργούμενα και απλής γονιμότητας εδάφη, με πλούσια χλωρίδα, όπου οι συνθήκες είναι ιδιαίτερα ευνοϊκές για την ανάπτυξή τους, ο πληθυσμός τους ανά m², σε βάθος 30εκ. μπορεί να είναι 150-200εκ. άτομα, τα οποία μπορεί να κατατάσσονται σε 10-30 διαφορετικά είδη. Το μέγεθός τους (μήκος) ποικίλει από 0,3mm έως 4m, αν και τα περισσότερα είδη είναι περίπου 1-2mm και μη ορατά με γυμνό μάτι.

Η ανάπτυξη της επιστήμης της Νηματωδολογίας στην Ευρώπη άρχισε με τη διαπίστωση της ζημιογόνου δράσης του νηματώδη των σακχαρότευτλων που έγινε αιτία να κλείσουν πολλές σακχαροβιομηχανίες στη Γερμανία, το 1850, από τον Schacht. Το είδος αυτό προσδιορίστηκε από τον Schmidt ως το είδος *Heterodera schachtii*. Λίγο αργότερα, το 1885, ο Berkeley βρήκε και προσδιόρισε στην Αγγλία, σε καλλιέργεια αγγουριών σε θερμοκήπια, τον γνωστό σήμερα νηματώδη των ριζοκόμβων (*Meloidogyne* spp.). Η μεγάλη οικονομική σημασία των φυτοπαρασιτικών νηματωδών είναι αποδεδειγμένη σε πολλές περιοχές του κόσμου, και για διάφορες καλλιέργειες (Κολιοπάνος 1999, Κύρου 2004).

2.2 Μορφολογία νηματωδών

Οι νηματώδεις σκώληκες είναι σκωληκόμορφοι, ψευδοκοιλωματικοί ζωικοί οργανισμοί (Εικ. 7) δηλαδή φέρουν μια σωματική κοιλότητα ανάμεσα στον πεπτικό σωλήνα και το τοίχωμα του σώματος που χαρακτηρίζονται από την παρουσία αμφίπλευρης συμμετρίας και την απουσία μεταμέρειας. Το σώμα τους είναι λεπτό, επιμηκές ή κυλινδρικό, μήκους 0,5-2mm, κυκλικό σε εγκάρσια τομή, στενότερο στα άκρα και δε χωρίζεται σε επιμέρους τμήματα, στερείται οφθαλμούς, σκελετό και άκρα. Αποτελείται από δύο σωλήνες, έναν εξωτερικό που αποτελεί την επιδερμίδα τους και έναν εσωτερικό που είναι ο πεπτικός σωλήνας. Τα όργανα του αναπαραγωγικού συστήματος μαζί με διάφορα αδενικά κύτταρα βρίσκονται μεταξύ των δυο σωλήνων.



Εικόνα 7. Ο νηματώδης *Caenorhabditis elegans* (Wikipedia)

Οι νηματώδεις δεν φέρουν κυκλικά διατεταγμένες μυϊκές ίνες, με αποτέλεσμα με τη βοήθεια των επιμηκών μυϊκών ινών οι μόνες κινήσεις που μπορούν να εκτελούν να είναι πλευρικές κάμψεις του σώματος. Για την διευκόλυνση της μελέτης και της περιγραφής τους, χωρίζονται νοητά σε τρία υποτμήματα: την κεφαλή, το κυρίως σώμα και την ουρά. Ως κεφαλή αναφέρεται το μπροστινό άκρο που φέρει το στοματικό άνοιγμα, ως ουρά η περιοχή από την έδρα των θηλυκών ή την αμάρα των αρσενικών μέχρι το οπίσθιο άκρο του σώματος και τέλος το κυρίως σώμα περιλαμβάνει το τμήμα που παρεμβάλλεται μεταξύ κεφαλής και ουράς (Κολιοπάνος 1999, Κύρου 2004).

2.3 Ανατομία νηματωδών

Οι νηματώδεις διαθέτουν νευρικό, πεπτικό και αναπαραγωγικό σύστημα αλλά στερούνται αναπνευστικού και κυκλοφορικού, καθώς και κινητικών οργάνων. Επί της επιδερμίδας παρατηρούνται κάποιοι πόροι με τη μορφή αισθητήριων θηλών οι οποίοι συνδέονται με υποδερμικούς αδένες που με τη σειρά τους σχετίζονται με αισθητήρια όργανα. Ως κοιλιακή περιοχή ονομάζεται η πλευρά που φέρει τον απεκκριτικό πόρο, το γεννητικό άνοιγμα και την έδρα των θηλυκών ή την αμάρα των αρσενικών ενώ ως νωτιαία η αντίθετη προς αυτή. Πιο αναλυτικά, παρατηρούμε τα παρακάτω επί μέρους συστήματα και όργανα.

2.4 Δομή σώματος νηματωδών

Η εξωτερική επιφάνεια του σώματος καλύπτεται από μια ελαστική στιβάδα επιδερματίου, που μπορεί να είναι λεία ή να φέρει αισθητήριες τρίχες. Κάτω από τη στιβάδα

του επιδερματίου διακρίνεται η επιδερμίδα που δεν αποτελείται μεμονωμένα κύτταρα, αλλά αποτελεί έναν συγκυτιακό σχηματισμό. Τον εξωτερικό σκελετό και την προστατευτική ασπίδα του νηματώδη αποτελεί η επιδερμίδα. Σε αυτή συνήθως διακρίνονται τέσσερις επιδερμικές στρώσεις, το πάχος και η δομή των οποίων εξαρτάται από το είδος, τον τρόπο ζωής και το στάδιο ανάπτυξης των νηματωδών. Κάτω από την επιδερμίδα εντοπίζονται οι μυϊκές ίνες, διατεταγμένες παράλληλα με τον κατά μήκος άξονα του σώματος. Δεδομένου ότι όλοι οι σωματικοί κυτταρικοί μύες είναι παράλληλοι στον άξονα του σώματος του νηματώδη, μπορούν να συστέλλονται προς μία μόνο κατεύθυνση. Έτσι, η οφιοειδής κίνησή τους προέρχεται από κύματα μονόπλευρων τοπικών συστολών και συνεπώς το μυϊκό στρώμα με τους εξειδικευμένους μύες που καλύπτουν όλο το μήκος του σώματος είναι υπεύθυνο για την κάμψη και κίνηση των νηματωδών. Επιπλέον δεν υπάρχει τραχειακό σύστημα και η ανταλλαγή των αερίων γίνεται με διάχυση μέσω της επιδερμίδας. Επίσης δεν υπάρχει αναπτυγμένο κυκλοφορικό σύστημα και το σωματικό υγρό κινείται με απλή διάχυση (Κολιοπάνος 1999, Κύρου 2004).

2.5 Πεπτικό Σύστημα νηματωδών

Οι νηματώδεις έχουν πλήρως ανεπτυγμένο πεπτικό σύστημα. Αποτελείται από το στοματικό άνοιγμα, τους χειλικούς λοβούς, την στοματική κοιλότητα, τον οισοφάγο, τον εντερικό σωλήνα και το βραχύ ορθό που διανοίγεται στην κοιλιακή επιφάνεια, στα θηλυκά στην έδρα και στα αρσενικά στην αμάρα.

Το στόμα διαιρείται σε τρία μέρη: το εμπρόσθιο, το μεσαίο και το οπίσθιο που αποτελεί τη στοματική κοιλότητα. Το σχήμα του μπορεί να είναι τριγωνικό, ημισφαιρικό, επίμηκες, κυλινδρικό, λίγο ή πολύ ενσωματωμένο στο μυϊκό σύστημα του οισοφάγου ή τελείως ελεύθερο (Κύρου 2004). Το στοματικό άνοιγμα περιβάλλεται από έξι χείλη, άλλοτε συγχωνευμένα και άλλοτε όχι, ανάλογα με το είδος του νηματώδη. Τα χείλη μπορεί να είναι ευδιάκριτα ή κλεισμένα σε ένα στερεό "πώμα". Ακολουθεί η στοματική κοιλότητα που η δομή και το σχήμα της παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία και πολυπλοκότητα.

Ο οισοφάγος συνδέεται με το οπίσθιο άκρο του στόματος και αποτελείται από μυϊκές ίνες και αδένες. Επίσης, διαθέτει έναν ή περισσότερους χώρους ή βολβούς, οι οποίοι κάποιες φορές φέρουν βαλβίδες. Το εμπρόσθιο κυλινδρικό τμήμα του οισοφάγου ονομάζεται πρόσωμα και το διογκωμένο τμήμα που ακολουθεί ονομάζεται μετάσωμα. Ακολουθεί ο οισοφαγικός ισθμός, ο οποίος συνδέει το μετάσωμα με τον οπίσθιο ή τελικό βολβό. Ο οισοφάγος ενώνεται

με το έντερο μέσω της οισοφαγοεντερικής βαλβίδας. Ο εντερικός σωλήνας είναι ένας μακρύς, ευθύς σωλήνας που φέρει μια στρώση επιθηλιακών κυττάρων και δεν διατρέχεται από μυϊκές ίνες. Χωρίζεται σε τρία μέρη, το πρόσθιο, το μεσαίο και το οπίσθιο. Η αποβολή των τροφών πραγματοποιείται μέσω του ορθού, το οποίο βρίσκεται στο οπίσθιο τμήμα του σώματος του νηματώδη και πρόκειται για την έδρα στα θηλυκά και την αμάρα στα αρσενικά (Κολιοπάνος 1999, Κύρου 2004).

2.6 Αναπαραγωγή νηματωδών

Οι νηματώδεις είναι συνήθως γονοχωριστικοί, δηλαδή χωρίζονται σε θηλυκά και αρσενικά άτομα. Σπανίως έχουν παρατηρηθεί ορισμένα αμφιφυλετικά άτομα, που έχουν δηλαδή εκτός των χαρακτηριστικών γνωρισμάτων του ενός φύλου και 14 δευτερεύοντα χαρακτηριστικά του άλλου φύλου. Σε είδη όπου τα αρσενικά και τα θηλυκά εμφανίζονται με την ίδια περίπου συχνότητα, η αναπαραγωγή συνήθως γίνεται αμφιμικτικά (διασταύρωση φύλων). Σε μερικά είδη όπου τα θηλυκά υπερέχουν των αρσενικών ή τα αρσενικά είναι σπάνια ή απουσιάζουν, η αναπαραγωγή γίνεται παρθενογενετικά. Υπάρχουν και μερικά είδη που είναι ερμαφρόδιτα (ωάρια και σπερματοζωάρια παραγόμενα από το θηλυκό) και αναπαράγονται με αυτογονιμοποίηση.

Το αναπαραγωγικό σύστημα των θηλυκών βρίσκεται συνήθως στο μέσο του σώματός τους, ή σπανιότερα στην ουραία περιοχή και περιλαμβάνει τα εξής τμήματα:

- Μια ή δυο ωοθήκες
- Την σπερματοθήκη
- Την μήτρα
- Τον κόλπο
- Τον γεννητικό πόρο

Το γεννητικό σύστημα των αρσενικών βρίσκεται στην ουραία περιοχή και περιλαμβάνει τα εξής τμήματα:

- Έναν ή δυο όρχεις
- Τις συζευκτικές άκανθες
- Το πηδάλιο (Κολιοπάνος 1999, Κύρου 2004).

2.7 Διαβίωση νηματωδών

Βάση της οικολογικής προσαρμογής τους, οι νηματώδεις διακρίνονται σε:

1. Ελευθέρως διαβιούντες στο έδαφος και το νερό (σαπροφάγους), οι οποίοι συναντώνται σε όλα τα μήκη και τα πλάτη της γης, και τρέφονται με νεκρά οργανικά υλικά
2. Φυτοпараσιτικούς, δηλαδή παράσιτα των φυτών που αποτελούν το κύριο αντικείμενο μελέτης ενός ιδιαίτερου κλάδου της Ζωολογίας, της Νηματωδολογίας και
3. Ζωοπαρασιτικούς (ανθρώπου και ζώων). οι οποίοι παρασιτούν σε όλα τα είδη ζώων, (θηλαστικά, πτηνά, ψάρια, έντομα, μαλάκια).

Στην τελευταία κατηγορία εντάσσονται παράσιτα των ζώων και του ανθρώπου που μπορεί να προκαλέσουν ασθένειες (παρασιτώσεις) σε διάφορες κατηγορίες ζώων. Από τις δεκαοκτώ τάξεις του φύλου Nematoda, επτά περιλαμβάνουν είδη που αποτελούν παράσιτα ή σχετίζονται με ασπόνδυλα ζώα, και έξι περιλαμβάνουν είδη που είναι παράσιτα σπονδυλωτών.

Ως προς τα σπονδυλωτά, υπολογίζεται ότι περίπου 5.000 είδη νηματωδών είναι παράσιτα σπονδυλωτών ζώων και ανθρώπων, τα οποία χαρακτηρίζονται γενικότερα ως παρασιτικά σκουλήκια. Αυτά τα είδη μπορεί να προσβάλουν οικόσιτα ζώα (κατοικίδια ή παραγωγικά) καθώς επίσης και τον άνθρωπο.

Ως προς τα ασπόνδυλα, νηματώδεις αναφέρεται να σχετίζονται με διάφορα Annelida, Mollusca και Arthropoda. Σε ορισμένες περιπτώσεις, το ασπόνδυλο λειτουργεί ως ενδιάμεσος ξενιστής σε έναν κύκλο ζωής που περιλαμβάνει παρασιτισμό σπονδυλωτών. Σε άλλες περιπτώσεις, το ασπόνδυλο, συνήθως κάποιο έντομο, λειτουργεί ως ενεργητικός ή παθητικός φορέας μεταξύ σπονδυλωτών. Μια ιδιαίτερη κατηγορία αποτελούν οι εντομοπαρασιτικούς νηματώδεις και διακρίνονται σε (α) εντομοφιλικούς: παράσιτα εντόμων που τρέφονται από το έντομο-ξενιστή χωρίς να παρεμποδίζουν τις ζωτικές λειτουργίες και να τον θανατώνουν και (β) εντομοπαθογόνους (EIPN): έχουν εξειδικευμένη συμβιωτική σχέση με εντομοπαθογόνα βακτήρια (Enterobacteriaceae), προσβάλλουν κυρίως προνύμφες εντόμων και θανατώνουν το έντομο - ξενιστή πολύ γρήγορα μέσω της δράσης των βακτηρίων. Τα έντομα που προσβάλλονται από αυτά τα είδη αποκτούν κόκκινο, πορτοκαλί ή γαλακτόχρωμο μεταχρωματισμό που οφείλεται στην παρουσία και την δράση των συμβιωτικών βακτηρίων (Χριστοδουλοπούλου 2019).

Οι EIPN είναι διαφανείς νηματώδεις, μικρού μεγέθους (0.4-1.1mm) που αποικίζουν διάφορους εδαφικούς τύπους και μπορούν να προσβάλλουν πάνω από 200 είδη εντόμων σε εργαστηριακές συνθήκες. Στη φύση αρκεί σε κάποιο στάδιο του βιολογικού του κύκλου του εντόμου (κατά προτίμηση ως προνύμφες), τα άτομα του ξενιστή να βρίσκονται επί ή εντός του εδάφους. Οι νηματώδεις μπορούν να δράσουν ως παράσιτα σε οποιοδήποτε ή και σε όλα τα

στάδια του βιολογικού τους κύκλου, ενώ κάποιοι εμφανίζονται ως παράσιτα για μια γενεά και στις επόμενες γενεές ζουν ελεύθεροι (van Zyl & Malan 2014).

Πέρα από το γεγονός ότι οι ΕΠΝ είναι εξαιρετικά αποτελεσματικοί παράγοντες ελέγχου εδαφογενών παρασίτων και μπορούν να μειώσουν τους πληθυσμούς των ξενιστών τους μια-δύο ημέρες μετά την εφαρμογή τους, έχουν επίσης σημαντική ικανότητα καταστολής εντόμων που διαβιούν στα υπέργεια τμήματα των φυτών. Έχουν επίσης τη σημαντική ικανότητα να επιβιώνουν στο έδαφος για δύο με τρεις εβδομάδες σε καλλιεργούμενες εκτάσεις. Σαν συστατικό προγραμμάτων ολοκληρωμένης αντιμετώπισης εχθρών και ασθενειών των καλλιεργειών, μπορούν να εισάγονται περιοδικά, ώστε να επιτυγχάνουν τη διατήρηση των πληθυσμών των εντόμων – στόχων σε χαμηλότερα επίπεδα από αυτά που θα έφταναν απουσία τους (van Zyl & Malan 2014).

Μέχρι σήμερα έχουν ταυτοποιηθεί πολλά είδη ΕΠΝ, τα οποία κατατάσσονται σε 23 διαφορετικές οικογένειες. Από αυτές, μόνο οι οικογένειες Steinernematidae και Heterorhabditidae διαθέτουν ιδιότητες αποτελεσματικών παραγόντων βιολογικού ελέγχου των εντόμων και πιο συγκεκριμένα τα γένη *Steinernema* και *Heterorhabditis* αντίστοιχα. Τα είδη που κατατάσσονται σε αυτά μοιράζονται πολλά κοινά χαρακτηριστικά, συμπεριλαμβανομένων μορφολογικών και οικολογικών χαρακτήρων, όπως τη συμβίωσή τους με βακτήρια από τα γένη *Xenorhabdus* και *Photorhabdus* αντίστοιχα που είναι υπεύθυνα για το θάνατο των εντόμων-ξενιστών (Χριστοδουλοπούλου 2019).

2.8 Διάδοση εντομοπαθογόνων νηματωδών

Οι ΕΠΝ είναι παρόντες σε όλο τον κόσμο, τόσο σε καλλιεργούμενα όσο και σε μη καλλιεργούμενα εδάφη. Τα είδη *Steinernema* απαντώνται σε όλες τις ηπείρους εκτός της Ανταρκτικής, ενώ τα *Heterorhabditis* συνδέονται συχνά με τροπικές περιοχές, αν και κάποιοι ερευνητές έχουν καταγράψει την παρουσία τους και σε ημι-άνυδρες κλιματικές ζώνες. Η παρουσία του *H. bacteriophora* διαπιστώθηκε από τον Poinar, το 1976, στο Brecon της Ν. Αυστραλίας, και εμφανίζεται σε περιοχές ηπειρωτικού και μεσογειακού κλίματος τόσο στο βόρειο όσο και στο νότιο ημισφαίριο (van Zyl & Malan 2014). Όσον αφορά στην παρουσία φυσικών πληθυσμών εντομοπαθογόνων νηματωδών στην Ελλάδα, μέχρι σήμερα δεν έχουν πραγματοποιηθεί σχετικές μελέτες επισκόπησης.

2.9 Βιολογικός κύκλος εντομοπαθογόνων νηματωδών

Ο βιολογικός κύκλος των ΕΠΝ περιλαμβάνει τα βασικά στάδια, όπως σε όλους τους νηματώδεις:

- Ωό
- Τέσσερα προνυμφικά στάδια
- Ενήλικα αρσενικά ή θηλυκά (ή τέλειο ή ακμαία).

Το πέρασμα από το ένα στάδιο στο επόμενο γίνεται με αποβολή της επιδερμίδας και το σχηματισμό νέας (έκδυση), λόγω της αύξησης του μεγέθους του σώματος.

Τα θηλυκά άτομα φωτοκούν από λίγα έως 3.000 ωά σε μια περίοδο ωοτοκίας 40-60 ημερών. Εντός του ωού πραγματοποιείται μια πρώτη έκδυση από την οποία προκύπτει η προνύμφη 1^{ου} σταδίου (J1) και κατά την εκκόλαψη των ωών προκύπτουν οι προνύμφες 2^{ου} σταδίου (J2). Μετά το 2^ο προνυμφικό στάδιο, ακολουθούν άλλα δύο και τέλος το στάδιο του ώριμου ατόμου.

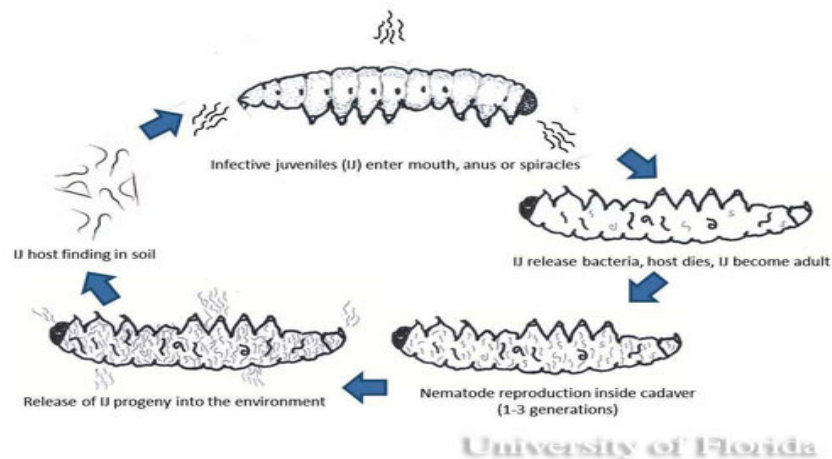
Η διάρκεια κάθε σταδίου, καθώς και ολόκληρου του βιολογικού κύκλου, ποικίλει ανάλογα με το είδος του νηματώδη, τις διατροφικές του προτιμήσεις και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, αλλά συνήθως διαρκεί 20-50 ημέρες. Υπό ορισμένες δυσμενείς συνθήκες περιβάλλοντος (κυρίως έλλειψη υγρασίας ή ξενιστή), το τρίτο στάδιο προνυμφών μερικών ειδών μπορεί να περιπέσει σε ένα είδος νάρκης και να αναβιώσουν όταν δημιουργηθούν ευνοϊκές συνθήκες. Αυτό είναι το μόνο που μπορεί να ζήσει ελεύθερο και είναι αυτό το οποίο προσβάλλει και μολύνει τα έντομα. Όλα τα υπόλοιπα στάδια υπάρχουν μόνο μέσα στο σώμα του ξενιστή. Οι μολυσματικές νεαρές προνύμφες (J) μπορούν να εντοπίζουν τους ξενιστές τους μέσω χημειοδεκτικών αλλά και μηχανοδεκτικών οργάνων που τις βοηθούν να αντιλαμβάνονται την κίνηση εντόμων. Μόλις βρεθεί το κατάλληλο έντομο-ξενιστής, αυτές εισχωρούν στο σώμα του μέσα από τα διάφορα φυσικά ανοίγματα (στοματική κοιλότητα, έδρα, αναπνευστικά τρίμματα) και περνούν στο κυκλοφορικό του σύστημα. Τα βακτηριακά κύτταρα απελευθερώνονται από το έντερο των νηματωδών μέσω της έδρας, μεταφέρονται στην αιμολέμφο του εντόμου, όπου αρχίζουν να πολλαπλασιάζονται ταχύτατα, παράγοντας τοξίνες, αντιμικροβιακούς παράγοντες και διάφορα ένζυμα που θανατώνουν το έντομο εξ αιτίας σηψαιμίας μέσα σε 48 ώρες.

Οι J τρέφονται από το μίγμα βακτηριακών κυττάρων και ιστών του εντόμου και εξελίσσονται σε ενήλικα. Ανάλογα με τη διαθεσιμότητα τροφής, στο σώμα του νεκρού

εντόμου μπορεί να συμπληρωθούν έως και τρεις γενεές EΠN και 12-14 ημέρες μετά την αρχική εισβολή των ΙJ ή εφόσον η διαθέσιμη τροφή εξαντληθεί, οι J2 εξελίσσονται σε ΙJ και εγκαταλείπουν το σώμα του νεκρού εντόμου έτοιμες να ξεκινήσουν την αναζήτηση τους για νέους ξενιστές (Gaugler & Bilgrami 2004).

Μεταξύ του νηματώδη και των βακτηρίων υπάρχει συνεργασία. Ο νηματώδης στηρίζεται στο βακτήριο για να μπορέσει να θανατώσει το έντομο-ξενιστή που θα του προσφέρει στη συνέχεια ένα κατάλληλο περιβάλλον για την ανάπτυξη του με την παραγωγή αντιβιοτικών που καταστέλλουν ανταγωνιστικούς μικροοργανισμούς, και διασπώντας τους ιστούς των εντόμων σε χρησιμοποιήσιμες θρεπτικές ουσίες. Από την άλλη πλευρά, το βακτήριο χρειάζεται τον νηματώδη για την προστασία του από το εξωτερικό περιβάλλον, τη διείσδυση στο έντομο-ξενιστή και ενδεχομένως την παρεμπόδιση των αντιβακτηριακών πρωτεϊνών του εντόμου. Η επιτυχής ωρίμανση και πολλαπλασιασμός των νηματωδών με κατάληξη τις μολυσματικές προνύμφες, εξαρτάται από έναν καθορισμένο πληθυσμό βακτηρίων στην αιμολέμφο του εντόμου. Τα βακτήρια εμφανίζονται σε δύο σημαντικές μορφές. Η αρχική μορφή είναι η ιδανικότερη για την ανάπτυξη των νηματωδών, πιθανώς επειδή τους εφοδιάζει με μια καλή πηγή τροφής και παράγει μια ομάδα αντιβιοτικών που απομακρύνουν τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς, ενώ η δεύτερη δεν παρέχει τόση θρεπτική αξία και δεν παράγει το ίδιο ποσό αντιβιοτικών. Οι δύο μορφές έχουν ευδιάκριτες μορφολογικές διαφορές αλλά δεν παρουσιάζουν διαφορές στην παθογένεια τους.

Τα ελευθέρως διαβιούντα ΙJ είναι αυτά που χρησιμοποιούνται σαν βιολογικός παράγοντας ελέγχου εντομολογικών εχθρών. Το μήκος του σώματός τους κυμαίνεται μεταξύ 418-1283μm και η μοναδική λειτουργία τους είναι να εντοπίζουν και να εισβάλουν στο σώμα του ξενιστή. Τα άτομα αυτά δεν τρέφονται. Έτσι μπορούν να επιβιώνουν για μεγάλες περιόδους, έως και μήνες, με τα ενεργειακά τους αποθέματα, γεγονός που τους παρέχει σημαντική ικανότητα επιβίωσης. Ο χρόνος που τα ανήλικα μπορούν να επιβιώσουν στο έδαφος χωρίς ξενιστή εξαρτάται από τη θερμοκρασία και την υγρασία του εδάφους, την παρουσία φυσικών εχθρών και τον τύπο του εδάφους. Σε γενικές γραμμές, οι πιθανότητες επιβίωσης είναι μεγαλύτερες σε αμμώδη εδάφη με χαμηλή υγρασία και σε θερμοκρασία 15-25°C (van Zyl & Malan 2014).



Εικόνα 9. Βιολογικός κύκλος νηματωδών μέσα στο ξενιστή. Πηγή : Entomology and Nematology University of Florida

2.10 Οι σημαντικότερες οικογένειες εντομοπαθόνων νηματωδών

2.10.1 Οικογένεια Heterorhabditidae

Η οικογένεια αποτελείται από ένα γένος (*Heterorhabditis*) που περιλαμβάνει 18 είδη, με τυπικό εκπρόσωπο το είδος *H. bacteriophora*. Το γένος περιγράφηκε πρώτη φορά το 1976. Η υποχρεωτικά εξειδικευμένη σχέση των *Heterorhabditis* με τα βακτήρια *Photorhabdus*, η ικανότητά τους να εισβάλλουν στο σώμα υγιών εντόμων, η εναλλαγή μεταξύ ερμαφροδιτικών και αμφιμικτικών γενεών και η ιδιαίτερη μορφολογία των ενηλίκων κάνει σαφή τον λόγο για τον οποίο το γένος έχει λάβει καθεστώς οικογένειας. Όλα τα είδη του γένους είναι υποχρεωτικά παράσιτα εντόμων, μερικά από τα οποία χρησιμοποιούνται ως παράγοντες βιολογικού ελέγχου για τον έλεγχο εντομολογικών εχθρών.

Οι νηματώδεις *Heterorhabditis* είναι ικανοί να μολύνουν μια ευρεία ποικιλία εντόμων. Τα μολυσματικά νεαρά, τα οποία φέρουν συμβιωτικά βακτήρια του γένους *Photorhabdus*, εισέρχονται στην σωματική κοιλότητα του ξενιστή τους και να αναπτύσσονται σε ερμαφρόδιτα θηλυκά. Η αναπαραγωγή τους γίνεται με ερμαφροδιτικά ή αμφιγενετικούς αναπαραγωγικά θηλυκά (Χριστοδουλοπούλου 2019).

Μορφολογία

Οι αμφιγενετικοί και οι ερμαφρόδιτοι πληθυσμοί ενηλίκων μπορούν να εντοπισθούν μόνο μέσα σε πτώματα μολυσμένων εντόμων στη φύση. Η κεφαλή τους είναι υποανάπτυκτη ή ελαφρώς στρογγυλεμένη ενώ το στίλετο απουσιάζει. Το στοματικό άνοιγμα περιβάλλεται

από έξι εμφανή χείλη άλλοτε συνενωμένα στη βάση και άλλοτε όχι. Κάθε χείλος φέρει μια χειλική θηλή. Οι χειλικές θηλές είναι επιδερμικές δομές που βρίσκονται γύρω από το στοματικό άνοιγμα και συνδέονται με νεύρα που ξεκινούν από το νευρικό δακτύλιο. Μικρό αμφιδιακό άνοιγμα υπάρχει πίσω από το πλευρικό χείλος. Τη βάση του στόματος περιβάλλει η μπροστινή πλευρά του φάρυγγα η οποία είναι φαρδιά και κυλινδρική και καταλήγει σε στένωση στην περιοχή του ισθμού. Ευδιάκριτος είναι ο νευρικός δακτύλιος ο οποίος βρίσκεται στη μέση του ισθμού στα θηλυκά και στα αρσενικά στον βασικό λοβό.

Όσον αφορά τις μολυσματικές προνύμφες 3^{ου} σταδίου, είναι πιο στενές από τα υπόλοιπα προνυμφικά στάδια και απαντώνται συχνά μέσα στην επιδερμίδα του 2^{ου} σταδίου. Στη ραχιαία πλευρά της κεφαλής φέρουν κάποιο εξάρτημα (προεξοχή ή άγκιστρο) το οποίο διευκολύνει την διείσδυσή τους στο σώμα του ξενιστή και στην πλαγιοκοιλιακή περιοχή παρατηρούνται διαφοροποιήσεις ανάλογα με το είδος. Η επιδερμίδα φέρει ένα επίμηκες ζεύγος γραμμών. Ο φάρυγγας και το έντερο δεν έχουν αναπτυχθεί πλήρως, η ουρά είναι αιχμηρή ενώ ο απεκκριτικός πόρος είναι μπροστά από το επίπεδο του νευρικού δακτυλίου. Σε όλο το μήκος του πεπτικού σωλήνα υπάρχουν κύτταρα του συμβιωτικού βακτηρίου. Οι μολυσματικές νεαρές προνύμφες εξελίσσονται πάντα σε ερμαφρόδιτα θηλυκά (Χριστοδουλοπούλου 2019).

Heterorhabditis bacteriophora

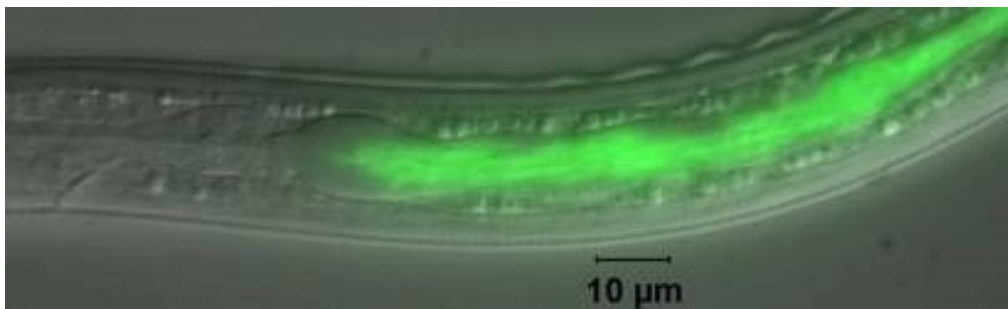
Το είδος *Heterorhabditis bacteriophora* (Εικ. 10) συγκαταλέγεται στους σημαντικότερους εντομοπαθογόνους νηματώδεις. Χαρακτηρίζεται από μεγάλη ικανότητα προσαρμογής και υψηλό βαθμό προσβολής προνυμφών Λεπιδόπτερων και Κολεοπτέρων, ενώ μπορεί να προσβάλλει και πολλά άλλα έντομα, εμφανιζόμενο σε πολλούς παθοτύπους. Είναι είδος των υψηλών θερμοκρασιών, ενώ η δράση του μειώνεται όταν η θερμοκρασία του εδάφους βρίσκεται κάτω από 20°C. Χαρακτηριστικό μειονέκτημά του αποτελεί η διάρκεια ζωής του, ιδιαίτερα στα μολυσματικά ανήλικα τα οποία διατηρούνται ζωντανά μόνο για λίγες μέρες αφότου ελευθερωθούν στον αγρό εάν δεν εντοπίσουν κατάλληλο ξενιστή (Χριστοδουλοπούλου 2019).

Το *H. bacteriophora* συμβιώνει με το βακτήριο *Photorhabdus luminescens*, το οποίο εντοπίζεται σε μια περιοχή στο πίσω μέρος του εντερικού σωλήνα των ανήλικων προνυμφών του νηματώδη που έχει εξελιχθεί σε θάλαμο για τη μεταφορά των κυττάρων του (Εικ. 11). Μόλις το μολυσματικό ανήλικο βρεθεί στον ξενιστή, ενεργοποιούνται αγνώστου ταυτότητας σήματα, με τα οποία ξεκινά η απελευθέρωση του βακτηρίου. Τα βακτήρια που έχουν μηχανισμό καταστολής ή αποφυγής του αμυντικού συστήματος του εντόμου,

πολλαπλασιάζονται και, εντός 48-72 ωρών από την μόλυνση, προκαλούν σηψαιμία στο έντομο. Στο σημείο αυτό, όλα τα εσωτερικά όργανα του εντόμου έχουν μετατραπεί σε μια βακτηριομάζα μέσω της δράσης υδρολυτικών ενζύμων του βακτηρίου (πρωτεάσες, λιπάσες κ.α.).



Εικόνα 10. Μολυσματικές προνύμφες του εντομοπαθογόνου νηματώδη *Heterorhabditis bacteriophora* (Πηγή Poinar & Grewal 2012 αριστερή φωτογραφία, <http://www.biocontrol.entomology.cornell.edu> δεξιά φωτογραφία)



Εικόνα 11. Το συμβιωτικό βακτήριο *Photorhabdus luminescens* εντός του νηματώδη διαφαίνεται με το φωσφορίζον φως (Ciche 2007).

Ο αριθμός των ανήλικων που εγκαταλείπουν το νεκρό έντομο είναι μερικές χιλιάδες ανάλογα με το μέγεθος και το είδος του ξενιστή και η διάρκεια του κύκλου από την είσοδο των ΙJ μέχρι την έξοδο από το νεκρό έντομο εξαρτάται από το είδος και τις περιβαλλοντικές συνθήκες, συνήθως διαρκεί 7-10 ημέρες στους 25°C.

Χαρακτηριστικό της οικογένειας Heterorhabditidae είναι ότι όλα τα ανήλικα της πρώτης γενεάς εξελίσσονται σε ερμαφρόδιτα ενήλικα, έτσι η είσοδος έστω και ενός μόνο

ανήλικου επαρκεί για να αρχίσει η αναπαραγωγή του και να θανατωθεί το έντομο. Στη δεύτερη γενεά απαντώνται τόσο ερμαφροδιτικά όσο και αμφιμικτικά ενήλικα.

Οι νηματώδεις *Heterorhabditis* κινούνται κάθετα στο έδαφος και μπορεί να είναι αποτελεσματικοί σε διάφορα βάθη, σε αντίθεση με άλλα είδη (π.χ. *S. feltiae*) που κινούνται οριζοντίως. Ο παρασιτισμός μπορεί να επηρεαστεί από διάφορους παράγοντες, όπως το βάθος στο οποίο βρίσκονται οι ξενιστές, η υγρασία εδάφους κ.α.

Ο εντοπισμός του ξενιστή τους γίνεται ενεργητικά αξιοποιώντας στοιχεία που προδίδουν την παρουσία του σε κοντινή απόσταση, όπως η συγκέντρωση CO₂ και η παρουσία άλλων ουσιών όπως το τερπένιο (E)-beta-caryophyllenem, που απελευθερώνεται από τις ρίζες φυτών που δέχονται επίθεση από φυτοφάγα έντομα (Ciche 2007).



Εικόνα 12. Προνύμφη *E. kuehniella* που έχει προσβληθεί από τον νηματώδη *H. bacteriophora*. Ο ερυθρός μεταχρωματισμός είναι συμπτωματικός της δράσης του νηματώδη.

2.10.2 Οικογένεια Steinernematidae

Η οικογένεια Steinernematidae περιλαμβάνει επίσης νηματώδης της τάξης Rhabditida που είναι υποχρεωτικά παράσιτα εντόμων και κατοικούν στο έδαφος. Οι νηματώδεις της οικογένειας αυτής συμβιώνουν με βακτήρια του γένους *Xenorhabdus*. Στον βιολογικό κύκλο της οικογένειας Steinernematidae, μολυσματικές προνύμφες είναι επίσης αυτές του 3^{ου} σταδίου. Το μολυσματικό ανήλικο είναι ικανό να επιζήσει στο περιβάλλον, να εισέλθει στην σωματική κοιλότητα ενός πλήθους εντόμων και κατόπιν να αναπτυχθεί σε θηλυκό ή αρσενικό. Μια ή περισσότερες γενεές μπορούν να αναπτυχθούν μέσα στον ξενιστή (Χριστοδουλοπούλου 2019).

Μορφολογία

Τα ενήλικα της οικογένειας απαντώνται μόνο μέσα στο νεκρό σώμα προσβεβλημένων εντόμων και αναπαράγονται αμφιγενετικά. Έχουν έξι χείλη μερικώς ή εντελώς ανεπτυγμένα, τα οποία έχουν μια χειλική θηλή στο άκρο. Διαθέτουν τέσσερις κεφαλικές θηλές από τις οποίες οι δύο είναι συχνά ασαφής. Υπάρχουν επίσης πλευρικά αμφίδια ενώ το στίλετο απουσιάζει.

Η κεφαλή είναι στρογγυλεμένη, το επιδερμίδιο τραχύ και το στόμα τους στο πίσω μέρος καταλήγει σε ένα τμήμα αποτελούμενο από φαρυγγικό πλέγμα. Φέρουν ευδιάκριτο χειλιοραβδοειδή, χονδρό δακτύλιο. Ο φάρυγγας είναι μυώδης με κυλινδρικό πρόσωμα, διογκωμένο χωρίς βαλβίδα. Εμφανής είναι ο κοιλιακός απεκκριτικός πόρος και ο νευρικός δακτύλιος ο οποίος περιέχει τμήμα του ισθμού από τον φάρυγγα.



Εικόνα 13. *Steinernema* sp. (μολυσματική νεανική): στοματική κοιλότητα και οπίσθιο τμήμα του φάρυγγα (Wageningen University & Research, Εργαστήριο Νηματολογίας)

Το μολυσματικό τρίτο στάδιο συχνά περιβάλλεται από το επιδερμίδιο του 2^{ου} σταδίου και είναι στενότερο από τα υπόλοιπα προνυμφικά στάδια. Κατά μήκος του σώματος παρατηρούνται τέσσερις έως οκτώ ραβδώσεις. Η ουρά είναι αιχμηρή στην απόληξή της και ο απεκκριτικός πόρος προηγείται του νευρικού δακτυλίου. Η στοματική χώρα δεν έχει ραχιαίο άγκιστρο. Τα κύτταρα του συμβιωτικού βακτηρίου βρίσκονται στην πρόσθια μοίρα του εντέρου. Η συγκεκριμένη οικογένεια περιλαμβάνει πολλά είδη μεταξύ των οποίων τα *Steinernema carpospae* και *S. feltiae* που χρησιμοποιούνται ευρέως σε εφαρμογές βιολογικής αντιμετώπισης εντόμων (Χριστοδουλοπούλου 2019).



Εικόνα 14. Αιχμηρή απόληξη ουράς *Steinernema* sp. (Wageningen University & Research, Εργαστήριο Νηματολογίας)

Steinernema carposcapsae

Το είδος αυτό είναι το πιο μελετημένο από όλους τους εντομοπαθογόνους νηματώδεις. Σημαντικά χαρακτηριστικά του είδους περιλαμβάνουν την ευκολία μαζικής παραγωγής και την ικανότητα σχηματισμού σε μερικώς αφυδατωμένη κατάσταση, η οποία παρέχει δυνατότητα αποθήκευσης μεγάλης διάρκειας σε θερμοκρασία δωματίου. Τα αρσενικά χαρακτηρίζονται από την ύπαρξη μιας μικρής θηλής στην απόληξη της ουράς (συνήθως από 1 - 4 μm του μήκους) και από γκριζοπράσινες συζευκτικές άκανθες. Τα μολυσματικά νεαρά άτομα μπορούν να αναγνωριστούν από το μήκος τους και το εμπρόσθιο τμήμα του απεκκριτικού πόρου (Χριστοδουλοπούλου 2019).

Steinernema feltiae

Αυτός ο νηματώδης είναι μοναδικός γιατί διατηρεί τη μολυσματικότητα του σε θερμοκρασίες εδάφους μέχρι και 10°C. Το είδος χαρακτηρίζεται από την ουρά των αρσενικών που καταλήγει σε μια θηλή και έχει μήκος 4 - 13 μm . Οι συζευκτικές άκανθες είναι πορτοκαλοκίτρινες, ενώ τα ανήλικα μπορούν να διακριθούν από αυτά του *S. carposcapsae* λόγω της θέσης του απεκκριτικού πόρου (στον *S. feltiae* είναι πιο πίσω). Τα μολυσματικά ανήλικα μπορούν να διακριθούν και αυτά από το μήκος τους και τον λόγο (μήκος φάρυγγα/ολικό μήκος σώματος) (Χριστοδουλοπούλου 2019).

2.10 Ιδιότητες εντομοπαθογόνων νηματωδών

- Οι εντομοπαθογόνοι νηματώδεις μπορούν να σκοτώσουν τα έντομα ξενιστές τους μέσα σε 24-48 ώρες.

- Η θανάτωση των εντόμων ξενιστών επιτυγχάνεται μέσω ασθένειας που προκαλείται από τα συμβιωτικά βακτήρια που αποικίζουν το πεπτικό σύστημα του νηματώδη.
- Φυσικό τους περιβάλλον είναι το έδαφος, όπως άλλωστε ισχύει για όλους τους νηματώδεις.
- Έχουν ευρεία κλίμακα ξενιστών που περιλαμβάνει την πλειοψηφία των τάξεων και οικογενειών των εντόμων.
- Μπορούν να καλλιεργηθούν σε μεγάλη κλίμακα πάνω ή μέσα σε τεχνητό στερεό ή υγρό υπόστρωμα.
- Σχηματίζουν ένα ανθεκτικό μολυσματικό στάδιο το οποίο μπορεί να αποθηκευτεί για μεγάλες χρονικές περιόδους, να εφαρμοστεί με συμβατικούς τρόπους και να παραμείνει βιώσιμο στο φυσικό περιβάλλον.
- Το μολυσματικό στάδιο είναι ανθεκτικό στα περισσότερα αγροχημικά, γεγονός που επιτρέπει την χρήση τους σε προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης εχθρών και ασθενειών των καλλιεργειών.
- Είναι ευαίσθητοι σε ξηροθερμικές συνθήκες και ιδιαίτερα στην υπεριώδη ακτινοβολία. Για το λόγο αυτό, εκτός εδάφους μπορούν να ζήσουν μόνο για μικρό χρονικό διάστημα (6-24 ώρες) και έχουν περιορισμένη δραστηριότητα.
- Τα έντομα δεν αναπτύσσουν φαινόμενα ανθεκτικότητας.
- Τα φυτά και τα θηλαστικά δεν επηρεάζονται, γι' αυτό η χρήση τους είναι απόλυτα συμβατή με άλλους ωφέλιμους οργανισμούς, όπως έντομα, ακάρεα, μύκητες, βακτήρια κ.α. και παρέχουν απόλυτη ασφάλεια στον χρήστη και τον καταναλωτή
- Η χρήση τους είναι εύκολη.
- Εμφανίζουν πολύ υψηλή αποτελεσματικότητα, που σήμερα θεωρείται μεγαλύτερη από των συμβατικών εντομοκτόνων.
- Δεν έχουν υπολειμματικότητα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ ΤΡΙΤΟ: Η ΕΞΕΛΙΞΗ ΣΤΙΣ ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Η πρώτη καταγραφή παρασιτισμού ασπόνδυλων από νηματώδεις έγινε το 1623 στο σύγγραμμα του Aldrovandus «De Animalibus Insectis». Ο επιστήμονας κατέγραψε την παρουσία σκωλήκων που ξεπρόβαλαν από το σώμα νεκρών ακρίδων. Το 1742, ο Γάλλος φυσιδίφης Reaumur πρόσεξε την παρουσία νηματωδών στο σωματικό κοίλωμα βομβίνων, στους οποίους έκανε τομές για να παρατηρήσει τη διαδικασία ωοπαραγωγής. Τότε βέβαια δεν ήξερε τι ήταν αυτό που έβλεπε αλλά αργότερα βρέθηκε ότι επρόκειτο για τον νηματώδη *Sphaerularia bombi* Dufour, 1837, ένα ευρέως διαδεδομένο παράσιτο των βομβίνων (Stock 2005). Το 1947 περιεγράφηκαν οι συνέπειες της προσβολής μυρμηγκιών από ΕΠΝ (Gould 1947) και το 1758, ο Λινναίος κατέταξε 8 γένη σκωλήκων που σχετίζονταν με σπονδυλωτούς ή ασπόνδυλους ξενιστές στο σύγγραμά του «Systema Naturae» (van Zyl & Malan 2014).

Πάνω από 30 οικογένειες νηματωδών έχουν συσχετιστεί με ασπόνδυλα ζώα. Οι οικογένειες αυτές κατατάσσονται σε πέντε ομάδες Rhabditina, Tylenchina, Myolaimina, Spirurina και Mermithina. Η κυρίαρχη ομάδα είναι τα Rhabditina, που περιλαμβάνουν τις οικογένειες Oxyuridae, Heterorhabditidae και Steinernematidae, εκ των οποίων οι δύο τελευταίες είναι οι πιο μολυσματικές και περιλαμβάνουν είδη που είναι πλέον διεθνώς εμπορικά διαθέσιμα (Stock 2005).

Ο πρώτος εντομοπαθογόνος νηματώδης περιγράφηκε το 1923 από τον Steiner ως *Aplectana kraussei* (σήμερα είναι γνωστός ως *Steinernema kraussei*) και εκείνη την εποχή θεωρήθηκε απλώς σαν μια περίεργη ανακάλυψη με προβληματική συστηματική θέση. Δεύτερο διαπιστωμένο είδος ήταν το *Neoaplectana glaseri* Steiner, το οποίο ο Steiner κατέταξε στην οικογένεια Oxyuridae. Αργότερα, το 1955, σε μια μελέτη του Jaroslav Weiser (Εικ. 8) που έλαβε χώρα στην Βορειοανατολική Αμερική, απομονώθηκε το στέλεχος DD-136 ενός μη περιγραφέντος είδους του γένους *Steinernema* από προνύμφες σκώρων και στη συνέχεια ξεκίνησε μια σειρά από πιο σοβαρές μελέτες σχετικά με την παθογένεια των ΕΠΝ. Για τον διαχωρισμό και την ταυτοποίηση των διαφορετικών ειδών *Steinernema*, τα πρώτα χρόνια χρησιμοποιήθηκε η μορφολογία της ουράς των αρσενικών και τα χαρακτηριστικά των μολυσματικών προνυμφών. Επίσης, λαμβάνοντας υπόψη το γενικότερο πλαίσιο που αφορά τα βιολογικά είδη, διαπιστώθηκε πληθώρα γεωγραφικών στελεχών. Με την πάροδο των ετών έχουν καταγραφεί περί τα 36 είδη *Steinernema*, για τα οποία παρατηρούνται επικαλύψεις των

χαρακτήρων τους και για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται και δεδομένα γενωματικής (Poinar & Grewal 2012, Ciche 2007).

Το συμβιωτικό βακτήριο που βρέθηκε να σχετίζεται με το *S. carrocapsae* ονομάστηκε τότε *Achromobacter nematophilus* και περιεγράφηκε από τους Poinar και Thomas το 1965. Στη συνέχεια αποδείχθηκε η σημασία αυτών των βακτηρίων για τις νεαρές μολυσματικές προνύμφες χρησιμοποιώντας οπτικά μικροσκόπια και αργότερα ηλεκτρονική μικροσκοπία. Ο ρόλος του βακτηρίου στην ανάπτυξη των νηματωδών και τον θάνατο του εντόμου διευκρινίστηκε από τους Poinar και Thomas και το βακτήριο τοποθετήθηκε σε ένα νέο γένος, το *Xenorhabdus* (Poinar & Grewal 2012).

Το γένος *Heterorhabditis* περιεγράφηκε για πρώτη φορά το 1976, ενώ το συμβιωτικό του βακτήριο χαρακτηρίστηκε ως *Xenorhabditis luminescence* το 1979. Το συναρπαστικό χαρακτηριστικό των συμβιωτικών βακτηρίων των *Heterorhabditis* spp. είναι η ικανότητά τους να φθορίζουν, έτσι ώστε το μολυσμένο νεκρό έντομο λάμπει στο σκοτάδι. Το είδος μεταφέρθηκε αργότερα στο γένος *Photorhabdus*. Ο εντοπισμός των βακτηριακών κυττάρων στο σώμα των προνυμφών αποδείχτηκε με ηλεκτρονική μικροσκοπία, ενώ η σημασία της συμπεριφοράς τους αποσαφηνίστηκε από τον Milstead το 1977 (Poinar & Grewal 2012).



Εικόνα 8. Ο κορυφαίος νηματωδολόγος Jaroslav Weiser που περιέγραψε το είδος *Steinernema carrocapsae* in 1955 (Poinar & Grewal, 2012).

Όπως και με τους *Steinernema*, υπάρχουν πολλά είδη και γεωγραφικά στελέχη *Heterorhabditis* και η παγκόσμια διάδοση και των δύο γενών δείχνει ότι η παρουσία τους υφίστατο από την εποχή της Παγγαίας. Η αρχαιότατη προέλευση των

Heterorhabditis αποδείχτηκε πρόσφατα όταν ανακαλύφτηκε ένα απολίθωμα σε κεχριμπάρι, ηλικίας 100 εκ. ετών, του είδους *Proheterorhabditis burmanicus* (Poinar 2011). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι το *Heterorhabditis* είναι συγγενές με παρασιτικά είδη σπονδυλωτών (Strongylidae) και ότι και οι δύο ομάδες εξελίχθηκαν ανεξάρτητα από τα ελευθέρως διαβιούντα είδη των Rhabditida.

Σήμερα είναι πια αποδεδειγμένη η συμβιωτική σχέση των *Steinernema* με τα βακτήρια *Xenorhabdus* και των *Heterorhabditis* με τα *Photorhabdus*. Η αποσαφήνιση της συμβιωτικής σχέσης των ΕΠΝ με τα βακτήρια αυτά ήταν η μεγάλη στροφή στην εξέλιξη της ανάπτυξης βιολογικών σκευασμάτων με νηματώδεις για την αντιμετώπιση των εντόμων (Akhurst & Boemare, 1990, Boemare 2002).

Επιπλέον, οι αντιβιοτικές ιδιότητες του συμβιωτικού βακτηρίου του *S. carpopapae* έγιναν αντιληπτές το 1959, γεγονός το οποίο εξήγησε πως ήταν δυνατή η θανάτωση άλλων βακτηρίων που εισέβαλαν στον νεκρό σώμα των εντόμων που περιείχε τους αναπτυσσόμενους νηματώδεις. Από εκείνη την ανακάλυψη και έπειτα πολλά αντιβιοτικά απομονώθηκαν από καλλιέργειες *Xenorhabdus* και *Photorhabdus*, όπως ξενοραβδίνες, ξενοκαουμασίνες, υδροξυστιλβένια και παράγωγα του ινδολίου και της ανθρακινόνης (Webster et al. 2002).

Το 1980, σε μια καλλιέργεια *Xenorhabdus* βρέθηκε ότι υπήρχαν δύο ή περισσότερες διαφορετικές φάσεις στην ανάπτυξή τους που διέφεραν ως προς τη μορφολογία και το χρώμα της αποικίας των βακτηρίων, καθώς και προς τις αντιμικροβιακές τους ιδιότητες. Η αρχική φάση ανάπτυξης των βακτηριακών κυττάρων προκαλούσε ταχεία ανάπτυξη των νηματωδών και παραγωγή αντιβιοτικών. Η φάση αυτή μετέπιπτε απότομα στη δεύτερη φάση, κατά την οποία η ανάπτυξη των νηματωδών ήταν αργή και η παραγωγή αντισωμάτων περιορισμένη. Αυτό το σημείο καμπής ήταν περιοριστικός παράγοντας στην εμπορική εκμετάλλευση των ΕΠΝ. Η αιτία που πυροδοτούσε αυτή την μετάπτωση παρέμεινε άγνωστη μέχρι τη στιγμή που διαπιστώθηκε η ύπαρξη ενός βακτηριοφάγου που επιτίθονταν στα βακτηριακά κύτταρα μόνο κατά την πρώτη φάση ανάπτυξης. Η μετάπτωση λοιπόν στη δεύτερη φάση ήταν η στρατηγική επιβίωσης των *Xenorhabdus* (Poinar & Grewal 2012).

Από την πλευρά τους, τα έντομα διαθέτουν μια σειρά από μηχανισμούς άμυνας σε εισβάλλοντα παράσιτα. Όσον αφορά στους νηματώδεις, οι πιο εξειδικευμένοι μηχανισμοί αυτού του τύπου είναι η μελανοποίηση και η ενκαψυλίωση. Συνήθως τα βακτήρια σκοτώνουν το έντομο ξενιστή πριν την εκδήλωση της αντίδρασης άμυνας από το έντομο, αν και σε κάποιες περιπτώσεις ταχεία μελανοποίηση θανατώνει τον εισβολέα πριν την απελευθέρωση των βακτηρίων, όπως παρατηρήθηκε σε πειράματα με κουνούπια. Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι εάν

τα εισβάλλοντα άτομα *S. carpocapsae* δε διαθέτουν συμβιωτικά βακτήρια, τα έποντα αναπτυσσόμενα στάδια ενκαψυλιώνονται και θανατώνονται ακόμα και αν ο ξενιστής είναι το είδος *Galleria mellonella*, το οποίο αποτελεί τον πιο κοινό ξενιστή που χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια ΕΠΝ (Poinar & Grewal 2012).

Έναν άλλο περιοριστικό παράγοντα για τους νηματώδεις αποτελούν φυσικοί εχθροί όπως πρωτόζωα και μύκητες. Έχει παρατηρηθεί ότι όταν προνύμφες εντόμων είναι μολυσμένες από σπόρια τέτοιων πρωτοζώων ή μυκήτων και εν συνεχεία προσβάλλονται από νηματώδεις *S. carpocapsae*, η μόλυνση μεταφέρεται και στους νηματώδεις. Εξάλλου φυσικοί πληθυσμοί νηματωδών μπορούν επίσης να μολυνθούν από μικροσπορίδια, ενώ οι μολυσματικές προνύμφες είναι επιρρεπής στην προσβολή από διάφορα είδη μυκήτων του εδάφους. Για το λόγο αυτό είναι σημαντικό, πριν την εφαρμογή ΕΠΝ στο έδαφος να γίνεται έλεγχος για την παρουσία τέτοιων παθογόνων (Poinar & Grewal 2012).

Ενώ ο πρώτος εντομοπαθογόνος νηματώδης, *S. kraussei* Steiner, περιεγράφηκε το 1923, η δυνατότητα χρησιμοποίησης αυτών των νηματωδών στη βιολογική αντιμετώπιση εντόμων μελετήθηκε για πρώτη φορά το 1930 από τους Glaser και Fox που μελέτησαν την προσβολή του ιαπωνικού κάνθαρου που είχε εισβάλει στο New Jersey. Ο νηματώδης αυτός βρέθηκε ότι άνηκε στο είδος *Neoplectana* (συν. *Steinernema*) *glaseri* Steiner 1929, που ο Glaser κατάφερε να καλλιεργήσει σε άγαρ και να δημοσιεύσει την πρώτη αναφορά μαζικής καλλιέργειας ΕΠΝ και εφαρμογής τους ως αποτελεσματικά μέσα βιολογικού ελέγχου. Παρ' όλ' αυτά, η μέθοδος δεν έτυχε καλής αποδοχής καθώς εκείνη την εποχή επικράτησαν τα φυτοφάρμακα. Το ενδιαφέρον επανήλθε στην επιφάνεια τη δεκαετία του 1960, όταν άρχισαν να διαπιστώνονται οι σοβαρότατες αρνητικές συνέπειες από τη χρήση των παρασιτοκτόνων (Poinar & Grewal 2012).

Ο Glaser δοκίμασε να καλλιεργήσει τον νηματώδη σε διάφορα υποστρώματα ανάπτυξης, ενώ εκείνη την εποχή ήταν ακόμη άγνωστη η συμβιωτική σχέση νηματώδη – βακτηρίου με αποτέλεσμα τα βακτήρια να θανατώνονται κατά τις διαδικασίες αποστείρωσης. Για καλή τους τύχη, ο *S. glaseri* είναι ένα από τα πιο καθοδικά είδη ΕΠΝ με αποτέλεσμα να μπορεί να αναπτύσσεται σε πολλά είδη βακτηριών, ακόμη και σε ζύμες, απουσία του συμβιώτη του. Σε αυτή την περίπτωση, η ικανότητα του νηματώδη να εισβάλει στον ξενιστή του, να τον σκοτώνει και να αναπαράγεται είναι μικρότερη, αλλά εξακολουθεί να υφίσταται. Τελικά η μαζική παραγωγή σε τεχνητά υποστρώματα επετεύχθη και έγιναν μαζικές εξαπολύσεις νηματωδών χρησιμοποιώντας ένα μηχανοκίνητο βυτίο. Η ύπαρξη του συμβιωτικού βακτηρίου

ανακαλύφθηκε αργότερα σε έναν πληθυσμό *S. glaseri* από τη βόρεια Καρολίνα (Poinar & Grewal 2012).

Για την παραγωγή των πρώτων νηματωδών για δοκιμές στο πεδίο χρησιμοποιήθηκαν ζωντανά έντομα. Το 1970, η εταιρεία Nutrilite Corporation στο Lakeview, CA χρησιμοποίησε προνύμφες κηρόσκωρου (*Galleria mellonella*) και παρήγαγε το προϊόν Biotrol NCS-DD-136 για πειραματική χρήση. Το 1981, η επονομαζόμενη “The Nematode Farm” στο Berkeley παρήγαγε διάφορα είδη ΕΠΝ (*S. carpocapsae*, *S. glaseri* και *H. bacteriophora*) σε *Galleria mellonella* για εμπορική χρήση εναντίον διαφόρων εντόμων σε κήπους. Την ίδια χρονιά, η εταιρεία BR Supply στο Exeter, CA, παρήγαγε *S. carpocapsae* σε γρύλους και δημιούργησε ένα σκεύασμα, το Neocide, για εφαρμογές εναντίον του ξυλοφάγου λεπιδοπτέρου *Cossus cossus*. Το 1982, η εταιρεία Biosys, στο Palo Alto, CA ήταν η πρώτη που έκανε μαζική παραγωγή διαφόρων ειδών *Steinernema* και τα προϊόντα της (BioSafe, BioVector, κ.α.), προορίζονταν για χρήση εναντίον διαφόρων εντόμων που πρόσβαλαν χλοοτάπητες και κήπους. Το 1983, η εταιρεία Biotechnology Australia παρήγαγε νηματώδεις οι οποίοι φέρονταν σε σπογγώδη σωματίδια στα οποία ήταν ενσωματωμένη τεχνητή τροφή, βασιζόμενη σε μια μέθοδο που αναπτύχθηκε το 1981 (Poinar & Grewal 2012). Το προϊόν ονομάστηκε Otinem και προοριζόταν για εφαρμογές εναντίον του μαύρου κάνθαρου της αμπέλου (*Otiiorhynchus sulcatus*) στην Αυστραλία και την Ευρώπη. Η εμπορική παραγωγή νηματωδών σε υγρό μέσο τελειοποιήθηκε αργότερα από μια ομάδα επιστημόνων στην εταιρεία Biosys Inc (Friedman 1990), ενώ πολλές άλλες μικρές εταιρείες έκαναν την εμφάνισή τους στα μέσα της δεκαετίας του '80 (Poinar & Grewal 2012).

Το πρώτο είδος που χρησιμοποιήθηκε επιτυχώς στη βιολογική αντιμετώπιση κάποιου εντόμου ήταν το *S. carpocapsae*, πριν από 40 περίπου χρόνια, από την εταιρεία CSIRO (Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization) στην Αυστραλία. Το σκεύασμα χρησιμοποιήθηκε για την αντιμετώπιση του *Otiiorhynchus sulcatus* Fabricius, σε καλλωπιστικά και του *Synanthedon tipuliformis* Clerk, σε φραγκοστάφυλλο (Poinar & Grewal 2012). Σήμερα πολλά είδη ΕΠΝ παράγονται μαζικά και είναι πλέον διαθέσιμα σε εμπορική μορφή παγκοσμίως, όπως *S. carpocapsae* Weiser, 1955, *S. feltiae* Filipjev, 1934, *S. scapterisci* Nguyen and Smart, 1990, *S. glaseri* Steiner, 1929, *S. riobravis* Cabanillas, Poinar and Raulston, 1994 και *H. bacteriophora* (Ehlers 2003).

Μεταξύ των παραγόντων που επηρεάζουν την επιβίωση και κατά συνέπεια την αποτελεσματικότητα των ΕΠΝ συγκαταλέγονται η θερμοκρασία, η υγρασία και η διαθεσιμότητα οξυγόνου.

Η βέλτιστη θερμοκρασία για την ανάπτυξη και αναπαραγωγή των διαφόρων ειδών ΕΠΝ διαφοροποιείται από είδος σε είδος. Μερικά είδη είναι πιο προσαρμοσμένα σε χαμηλές θερμοκρασίες, όπως το *S. feltiae* που είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό σε $\Theta < 15^{\circ}\text{C}$. Αντίθετα το *S. riobravisi* έχει μεγαλύτερη αντοχή σε υψηλότερες θερμοκρασίες και είναι πιο αποτελεσματικό σε $\Theta \geq 29^{\circ}\text{C}$. Από την άλλη, το *H. bacteriophora* είναι ανεκτικό στην κατάψυξη αφού μπορεί να επιβιώνει στους -19°C για μικρό χρονικό διάστημα, όπως και το *H. zealandica*, το οποίο δημιουργεί μια προστατευτική ασπίδα που το προστατεύει από Θ έως και -32°C . Για τα είδη *Heterorhabditis* αναφέρεται ότι η μέση θερμοκρασία βέλτιστης αποτελεσματικότητας είναι 25°C . Ακραίες θερμοκρασίες μπορεί να οδηγήσουν σε αφυδάτωση, αύξηση του μεταβολικού ρυθμού και ταχεία εξάντληση των ενεργειακών αποθεμάτων των ΕΠΝ, με συνέπεια μικρότερη διάρκεια γενεάς και μειωμένη διεισδυτική ικανότητα και μολυσματικότητα. Παρότι το έδαφος λειτουργεί σαν ρυθμιστικό διάλυμα στις εναλλαγές θερμοκρασιών, η θερμοκρασία μπορεί πάντα να επηρεάσει σε μεγάλο βαθμό την αποτελεσματικότητα των ΕΠΝ ως βιολογικοί παράγοντες ελέγχου εντόμων. Για το λόγο αυτό πρέπει πάντα να γίνεται προσπάθεια επιλογής του κατάλληλου στελέχους και εφαρμογή την κατάλληλη εποχή του έτους (van Zyl & Malan 2014).

Η επαρκής εδαφική υγρασία είναι απαραίτητη για την κίνηση των νηματώδων, την επιβίωση και την εκδήλωση της μολυσματικότητάς τους στον αγρό, και εξασφαλίζεται με παροχή άρδευσης πριν και μετά την εφαρμογή τους. Ωστόσο, τα υποβέλτιστα επίπεδα υγρασίας είναι επιθυμητά για την δημιουργία σκευασμάτων ΕΠΝ. Για τον σκοπό αυτό, κατά την δημιουργία σκευασμάτων η περιεχόμενη σε αυτά υγρασία μειώνεται σταδιακά ώστε οι νηματώδεις να μεταπέσουν σε κατάσταση μερικής ανυδροβίωσης. Σε αυτή τη φάση, ο μεταβολισμός του νηματώδη σταματά και τον οδηγεί σε μείωση της κατανάλωσης των ενεργειακών του αποθεμάτων αυξάνοντας το προσδόκιμο ζωής. Η προσθήκη νερού πριν την εφαρμογή του σκευάσματος ενυδατώνει τους τροποποιημένους νηματώδεις που ανακτούν τη μολυσματικότητά τους σαν ΙΙ και είναι έτοιμα να εφαρμοστούν στο έδαφος (Georgis & Kaya 1998, van Zyl & Malan 2014).

Όσον αφορά στην παροχή οξυγόνου, καθώς οι νηματώδεις είναι αερόβιοι οργανισμοί, η έλλειψή του οδηγεί αυτόματα στον θάνατό τους. Έτσι, τα βαριά σύστασης εδάφη (πλούσια σε άργιλο ή οργανική ουσία) μπορεί να μην αποτελούν κατάλληλο περιβάλλον για τους ΕΠΝ. Η άροση του εδάφους μπορεί να διευκολύνει την κίνηση του αέρα και να αυξήσει την περιεκτικότητα αυτών των εδαφών σε οξυγόνο. Το ίδιο σημαντικό για την διατήρηση της καλής ποιότητας ενός σκευάσματος ΕΠΝ, είναι και η τυποποίησή τους με τέτοιο τρόπο ώστε

να υπάρχει επαρκής ανταλλαγή αερίων, αφού οι νηματώδεις του σκευάσματος είναι ζωντανοί (van Zyl & Malan 2014).

Ένα από τα σοβαρότερα προβλήματα στην εμπορευματοποίηση των νηματωδών εκτός από τη μαζική παραγωγή ήταν και η ικανότητα αποθήκευσης και διατήρησης της βιωσιμότητας σε συνδυασμό με τη μολυσματικότητά τους. Η ψύξη ήταν μια κατάλληλη μέθοδος αλλά όχι πάντα πρακτική για τους μεταπωλητές και τους παραγωγούς που επιθυμούσαν να προμηθεύονται και να εφαρμόζουν το προϊόν για μεγάλα χρονικά διαστήματα.

Έτσι ξεκίνησε μια σειρά από μελέτες για την δυνατότητα αφυδάτωσης των νηματωδών ώστε να μπορούν να αποθηκεύονται σε θερμοκρασία δωματίου. Το 1973, οι Simons και Poinar ανακάλυψαν ότι τα μολυσματικά στάδια *S. carrocapsae* αφυδατώνονταν αργά και έμπαιναν σε μια κατάσταση ανυδροβίωσης, ενώ μπορούσαν γρήγορα να επανέλθουν και να ανακτήσουν τη μολυσματικότητά τους με προσθήκη νερού. Με βάση αυτή την ανακάλυψη, αναπτύχθηκε μια μέθοδος κατά την οποία οι νηματώδεις τοποθετούνταν ανάμεσα σε δύο στρώσεις αργίλου (clay sandwich), ώστε να προκαλείται μερική ανυδροβίωση με την απορρόφηση του επιφανειακού νερού του σώματός τους. Η ανυδροβίωση χρησιμοποιήθηκε περαιτέρω για να εντείνει τη σταθερότητα κατά τη διάρκεια αποθήκευσης σε συνθήκες περιβάλλοντος (Poinar & Grewal 2012).

Το 1987, δημιουργήθηκε ένα κοκκώδες σκεύασμα στο οποίο οι νηματώδεις ήταν εγκλεισμένοι σε άλευρο από μίγμα σπόρων σίτου και τριφυλλιού, ενώ σύμφωνα με τον Georgis (1990), οι επιστήμονες της Biosys ανέπτυξαν μια μέθοδο κατά την οποία χρησιμοποιούνταν φύλλα πλαστικού με επικάλυψη αλγινικού ασβεστίου που ενσωμάτωνε και διατηρούσε τους νηματώδεις. Το 1993 σχεδιάστηκε ένα σύστημα στο οποίο οι νηματώδεις διασπείρονταν σε μια μάζα από γλουτένη σίτου που περιείχε ένα φίλτρο και ένα υγραντικό μέσο για την βελτίωση της επιβίωσης των νηματωδών και ένα χρόνο μετά δημιουργήθηκε ένα νέο σκεύασμα από λάσπη αναμεμειγμένη με σκόνη αφυδατωμένης πολυακρυλαμίδης. Η μεγάλη εξέλιξη στα σκεύασματα νηματωδών ήρθε το 1995, όταν αναπτύχθηκε ένα κοκκώδες σκεύασμα στο οποίο οι νηματώδεις ενσωματώνονταν σε ένα υδατοδιαλυτό υλικό από κόκκους διαμέτρου 10-20mm, αποτελούμενους από ένα μίγμα πυριτίου, αργίλου, κυτταρίνης, λιγνίνης και αμύλου, με το οποίο ο χρόνος ημιζωής του *S. carrocapsae* αυξήθηκε στους 7 μήνες (Poinar & Grewal 2012).

Οι εφαρμογές εναντίον ιπτάμενων εντόμων αποτελούν πάντα ένα πρόβλημα αφού οι νηματώδεις αφυδατώνονται πολύ γρήγορα και η αποτελεσματικότητά τους ελαχιστοποιείται,

αν και έγιναν προσπάθειες χρησιμοποίησης ενός υγρού που καθυστερούσε την αφυδάτωση για διαφυλλικές εφαρμογές σε έντομα φυλλώματος (Poinar & Grewal 2012).

Τα μολυσματικά στάδια των ΕΠΝ μπορούν εύκολα να εφαρμοστούν με τα συμβατικά ψεκαστικά μηχανήματα φυτοπροστασίας, ενώ η ταυτόχρονη εφαρμογή τους με άλλους παράγοντες μειώνει το κόστος εργατικών. Έχει αναφερθεί ότι το *S. carrocapsae* μπορεί να αναμιχθεί με συγκεκριμένα εντομοκτόνα και με υγρά λιπάσματα, ενώ έχουν γίνει πολλές ενδεδειγμένες μελέτες σχετικά με τον συνδυασμό *Steinernema* και *Heterorhabditis* με διάφορα φυτοπροστατευτικά, καθώς η συμβατότητα των σκευασμάτων στα προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης είναι πολύ σημαντική (Poinar & Grewal 2012).

Διάφορες μέθοδοι εφαρμογής έχουν κατά καιρούς προταθεί από τους επιστήμονες, με στόχο την καλύτερη αποτελεσματικότητα των σκευασμάτων ΕΠΝ. Για παράδειγμα έχει προταθεί η χρήση ενός περιστρεφόμενου δίσκου για διαφυλλικές εφαρμογές, η στάγδην άρδευση, χρησιμοποίηση συστήματος άρδευσης κεντρικού άξονα ή άρδευση με κανάλια και υποεπιφανειακή εφαρμογή με τροποποιημένο σποροδιανομέα. Επίσης έχει προταθεί η εμφύσηση μολυσματικών ή και ριζών σε αιώρημα νηματωδών για εξοικονόμηση των δόσεων εφαρμογής (Poinar & Grewal 2012). Ο Georgis (1990) δοκίμασε τη χρήση μιας γέλης βραδείας αποδέσμευσης για εφαρμογές σε εσπεριδοειδή και μια παρόμοια μέθοδος δοκιμάστηκε σε ελαιοκράμβη (Poinar & Grewal 2012). Νεκρά έντομα μπορούν επίσης να χρησιμοποιηθούν ως παράγοντες βραδείας αποδέσμευσης νηματωδών, με ή χωρίς επικάλυψη με αμυλούχο σκόνη που ελαττώνει την κολλώδη υφή τους (Poinar & Grewal 2012).

Τα προβλήματα στις εφαρμογές νηματωδών αποτελούν συχνό φαινόμενο κι έτσι αρκετές μελέτες εστιάζουν στην εκτίμηση της επίδρασης διαφόρων παραγόντων όπως το μέγεθος των σταγονιδίων εφαρμογής, η πίεση εφαρμογής, τα μπεκ, η ανάδευση κ.α. και πολλές μέθοδοι έχουν αναπτυχθεί για την εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των εμπορικών σκευασμάτων, καθώς και της βιωσιμότητας, της μολυσματικότητας και γενικότερα της ποιότητας των νηματωδών (Poinar & Grewal 2012).

Ένας άλλος σημαντικός παράγοντας που σχετίζεται με τον τρόπο δράσης των νηματωδών είναι ο τρόπος με τον οποίο οι μολυσματικές προνύμφες κινούνται και εντοπίζουν τον ξενιστή τους. Οι Reed και Wallace (1965) περιέγραψαν τρεις διαφορετικούς τρόπους κίνησης των προνυμφών του *S. carrocapsae*: άλμα, γεφύρωση και ολίσθηση. Οι μολυσματικές προνύμφες γλιστρούν για να βρεθούν στην επιφάνεια του εδάφους. Η γεφύρωση αφορά μια συμπεριφορά που έχει διαπιστωθεί για διάφορα είδη Rhabditida που σχετίζονται με έντομα, κατά την οποία οι νηματώδεις στέκονται στην ουρά τους και κινούν το άνω άκρο του σώματός

τους. Η εκπληκτική ικανότητα άλματος προκύπτει από την περιέλιξή τους γύρω από σταγονίδια νερού και την εν συνεχεία απότομη απελευθέρωση του σταγονιδίου που τα εκτοξεύει οριζοντίως λόγω των τάσεων που αναπτύσσονται. Το άλμα αυτό είναι τόσο γρήγορο που δεν μπορεί να το ανιχνεύσει το γυμνό μάτι. Πέραν αυτών, είναι προφανές ότι οι νηματώδεις χρησιμοποιούν διάφορους τρόπους για να εντοπίσουν τους ξενιστές τους, όπως έχει παρατηρηθεί για τις ΙJ του *S. carrocapsae* που μπορούν να εντοπίσουν τον ξενιστή τους από απειροελάχιστες διαφοροποιήσεις της θερμοκρασίας, και τα *S. carrocapsae* και *S. glaseri* που αντιδρούν στην παρουσία πτητικών ουσιών (Poinar & Grewal 2012).

Οι συμπεριφορές που σχετίζονται με την εξεύρεση ξενιστών εξαρτώνται επίσης και από τις τακτικές οριζόντιας και κάθετης διάδοσης στο έδαφος που ακολουθεί κάθε είδος νηματώδη. Για παράδειγμα αναφέρεται ότι το *S. carrocapsae* δεν τροποποιεί ιδιαίτερα τη θέση του σε σχέση με το σημείο αρχικής εφαρμογής, ενώ το *S. glaseri* μπορεί να μετακινείται σε μεγάλες αποστάσεις οριζοντίως. Έχει επίσης δειχθεί ότι η υφή του εδάφους διαφοροποιεί τη διάδοση του *S. carrocapsae* και τη μολυσματικότητα του *S. glaseri*, ενώ έχει μελετηθεί και η κάθετη διάδοση των *Heterorhabditis* spp. και η οριζόντια κίνηση των μολυσματικών προνυμφών του *S. Carrocapsae* (Poinar & Grewal 2012).

Μια σειρά μελετών που διεξήχθησαν στο εργαστήριο του Gaugler, περιέγραψε τις δύο διαφορετικές τακτικές εξεύρεσης ξενιστή, τις οποίες χαρακτήρισε ως «ενέδρα» και «καταδρομή». Οι νηματώδεις που στήνουν ενέδρα είναι καλύτερα προσαρμοσμένοι στο να εντοπίζουν ιδιαίτερα δραστήριους ξενιστές που εποικίζουν την επιφάνεια του εδάφους, ενώ οι καταδρομείς είναι πιο αποτελεσματικοί στο να εντοπίζουν ξενιστές που είναι καθηλωμένοι στο έδαφος. Οι Gaugler και Campbell (1991) πρότειναν ότι η τακτική ενέδρας μπορεί να εξηγήσει την περιορισμένη μετακίνηση ορισμένων νηματωδών στο έδαφος. Για το είδος *H. bacteriophora* έχει βρεθεί ότι ακολουθεί την τακτική καταδρομής, το *S. carrocapsae* της ενέδρας (Van Zyl και Malan 2014) και τα *S. feltiae* και *S. riobrave* έναν ενδιάμεσο τύπο (Poinar & Grewal 2012). Αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι η εξέλιξη των διαφορετικών τακτικών εξεύρεσης ξενιστών πιθανόν παραλληλίζεται με την εξέλιξη διαφόρων παραμέτρων που σχετίζονται με τον τρόπο διαβίωσης των ξενιστών. Οι συμπεριφορές αυτές σχετίζονται και με άλλα χαρακτηριστικά των ΕΠΝ. Για παράδειγμα το *H. bacteriophora* έχει υψηλότερο μεταβολικό ρυθμό σε σχέση με το *S. feltiae*, αφού παρουσιάζει μεγαλύτερη δραστηριότητα λόγω του ενεργού τρόπου εξεύρεσης ξενιστή. Επιπροσθέτως, οι ΙJ του *H. bacteriophora* είναι μικρότερες (588 μm) σε σχέση με του *S. feltiae* (879 μm) και έτσι έχουν λιγότερα ενεργειακά αποθέματα με συνέπεια χαμηλότερο προσδόκιμο ζωής. Αυτό βέβαια αντικατοπτρίζεται και

στο μικρότερο χρόνο αποθήκευσης των σκευασμάτων *H. bacteriophora* (Poinar & Grewal 2012).

Οι ΕΠΝ διαφοροποιούν τη συμπεριφορά τους και ως αντίδραση σε εξωτερικά ερεθίσματα, όπως χημικά, ηλεκτρικά, μαγνητικά, μηχανικά και το φως, μέσω των αισθητηρίων οργάνων τους. Έτσι μπορεί να έλκονται ή να απωθούνται από συγκεκριμένες πηγές, να αλληλεπιδρούν με άλλα (ή το ίδιο) είδη. Άλλες τακτικές επιβίωσης αφορούν στον συγχρονισμό του βιολογικού τους κύκλου με αυτόν του ξενιστή τους, τη μετάπτωση σε συνθήκες ανυδροβίωσης, ή τη συσπείρωση του σώματός τους με στόχο την προστασία τους από την αφυδάτωση (Gaugler & Bilgrami 2004, van Zyl & Malan 2014).

Για την διαπίστωση της παρουσίας ΕΠΝ στο έδαφος χρησιμοποιούν οι προνύμφες του λεπιδοπτέρου *Galleria mellonella* (L.) με αποτέλεσμα να μην υπάρχουν αρκετά δεδομένα ως προς το φυσικό φάσμα ξενιστών τους. Πάντως είναι διαπιστωμένο ότι παρουσιάζουν προτιμήσεις και δεν είναι το ίδιο αποτελεσματικοί εναντίον όλων των εντόμων (Popiel & Homnick 1992). Παρότι αναφέρεται ότι έχουν ευρύ φάσμα ξενιστών, προσβάλλοντας περισσότερα από 200 διαφορετικά είδη εντόμων (Ehlers 2003), οι αναφορές αυτές προκύπτουν από εργαστηριακές μελέτες. Μια αναλυτική επισκόπηση των φυσικών ξενιστών των *Heterorhabditis* και *Steinernema* έχει δημοσιευτεί το 1996 (Peters 1996).

Αν και για αρκετά είδη ΕΠΝ έχει καταγραφεί το φυσικό φάσμα ξενιστών, μόνο λίγα έχουν αναπτυχθεί εμπορικά και χρησιμοποιούνται σήμερα ως βιολογικά εντομοκτόνα. Για να επιτευχθεί η βέλτιστη καταστολή φυτοπαρασίτων, η επιλογή του καταλληλότερου ΕΠΝ για κάθε παράσιτο-στόχο είναι βασικής σημασίας. Η μολυσματικότητα προς τον ξενιστή και η συμπεριφορά εξεύρεσης αυτού είναι οι σημαντικότεροι παράγοντες που πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την επιλογή ενός είδους ΕΠΝ ως παραγόντα βιοελέγχου έναντι συγκεκριμένου στόχου (Lewis 2002).

Όσον αφορά στην επίδραση των ΕΠΝ σε άλλους οργανισμούς, ο Poinar (1979) συνόψισε τις πρώιμες μελέτες που αφορούσαν την επίδραση του *S. carrocapsae* σε σπονδυλωτά και άλλα ασπόνδυλα πλην των εντόμων και αργότερα δείχτηκε ότι οι ΕΠΝ είναι ασφαλείς για τα ασπόνδυλα του εδάφους. Εκτός από τις αρνητικές συνέπειες που έχουν αναφερθεί για το *S. carrocapsae* σε ανήλικες μέλισσες, το είδος έχει ελάχιστη επίδραση σε ασπόνδυλους οργανισμούς μη στόχους. Παρ' όλ' αυτά, πέραν από την ευρεία χρήση τους για την αντιμετώπιση εντόμων, η επίδρασή τους σε ορισμένους άλλους οργανισμούς, ήταν ένα δώρο. Για παράδειγμα έχει αποδειχτεί ότι διάφορα είδη κροτώνων είναι ευαίσθητα στην

προσβολή από εντομοπαθογόνους νηματώδεις, αν και δεν υπάρχουν ενδείξεις ότι μπορούν να αναπαράγονται στο σώμα τους (Poinar & Grewal 2012).

Ιδιαίτερης σημασίας είναι και το γεγονός ότι πολλά αρθρόποδα που αποτελούν φορείς ανθρώπινων νόσων είναι επίσης ευαίσθητα στους εντομοπαθογόνους νηματώδεις, για παράδειγμα το είδος *Ctenocephalides felis*, το *Pediculus humanus humanus*, το *P. humanus capitis* καθώς και οι προνύμφες των φλεβοτόμων που μεταδίδουν την ασθένεια λεισημανίαση (Poinar & Grewal 2012).

Κάποιες αναφορές έχουν γίνει και σχετικά με προσβολές σπονδυλωτών από εντομοπαθογόνους νηματώδεις, όπως στην περίπτωση πρόκληση θνησιμότητας σε διάφορα είδη γυρίνων από μολυσματικές προνύμφες *Heterorhabditis* και *Steinernema*. Βέβαια ενώ η παρουσία μολυσματικών προνυμφών σε στάσιμα νερά όπου διαβιούν γυρίνοι, τα οποία έχουν προκύψει λόγω απορροής, είναι πιθανή, η πιθανότητα να έρθουν σε επαφή οι προνύμφες αυτές με αμφίβια στάδια των βατράχων είναι ελάχιστη (Poinar & Grewal 2012).

Αν και η παρουσία φυσικών πληθυσμών εντομοπαθόγονων νηματωδών είναι καλά προσαρμοσμένη στο φυσικό τους περιβάλλον και τους ξενιστές μέσω φυσικής επιλογής, επιπρόσθετα χρήσιμα χαρακτηριστικά θα μπορούσαν να δημιουργηθούν στο γονιδίωμά τους για να τους καταστήσουν ακόμη πιο αποτελεσματικούς έναντι άλλων ξενιστών σε διαφορετικά περιβάλλοντα. Ο Poinar (1991) έθεσε σε συζήτηση επιθυμητά τέτοια χαρακτηριστικά που θα μπορούσαν να εισαχθούν στους νηματώδεις μέσω τεχνολογιών ανασυνδυασμένου DNA. Ήδη από το 1980, επετεύχθη η ανάπτυξη ενός επιλεκτικού προς τη θερμοκρασία στελέχους *S. carpopasae* του οποίου οι μολυσματικές προνύμφες έλκονταν από συγκεκριμένες θερμοκρασίες που τους προκαλούσαν εξέλιξη, ενώ αναφέρεται και η δημιουργία μεταλλαγμένων στελεχών *S. carpopasae*, ανθεκτικών σε αντιελμινθικά σκευάσματα, καθώς και η εφαρμογή μικροεμβολιασμού για τη δημιουργία διαγονιδιακού στελέχους *H. bacteriophora* με ένα γονίδιο από το *Caenorhabditis elegans*. Εξάλλου, επιλεκτικά προγράμματα αναπαραγωγής (breeding) έχουν κατορθώσει να βελτιώσουν την ικανότητα εντοπισμού ξενιστών. Πάντως, παρά το γεγονός ότι τα πλεονεκτήματα της γενετικής επιλογής έχουν αποδειχτεί, η μοναδική περίπτωση εφαρμογής επιλεγμένου στελέχους στο πεδίο ήταν αυτή του στελέχους Karow του *S. carpopasae* που δημιούργησε ο Jim Lindgren. Αυτό το στέλεχος δημιουργήθηκε χρησιμοποιώντας τις πρώτες προνύμφες που εξέρχονταν από το νεκρό σώμα του ξενιστή τους με στόχο να μολύνουν νέους ξενιστές. Οι μολυσματικές προνύμφες αυτού του στελέχους ήταν πιο δραστήριες από το αρχικό στέλεχος και χρησιμοποιήθηκαν στο πεδίο για την αντιμετώπιση του λεπιδοπτέρου *Amyelois transitella* σε

αμυγδαλέωνες στην Καλιφόρνια. Η γενετική τροποποίηση των συμβιωτικών βακτηρίων είναι επίσης δυνατή και αρκετές μελέτες έχουν αφοσιωθεί στο γονιδίωμα του *Photorhabdus luminescens* ((Poinar & Grewal 2012).

ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Η παραγωγή ΕΠΝ για τη βιολογική αντιμετώπιση επιβλαβών εντόμων έχει μελετηθεί εκτενώς. Ωστόσο, η ενίσχυση και ο εξορθολογισμός των υπάρχουσών πρακτικών μπορούν να συμβάλουν στην πιο αποτελεσματική, οικονομικά αποδοτική και πρακτική διαδικασία παραγωγής / μαζικής εκτροφής.

Η επιλογή συγκεκριμένων στελεχών ΕΠΝ που είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικοί εναντίον συγκεκριμένων εντόμων ξενιστών, μπορεί να συμβάλει στην επίτευξη υψηλότερων επιπέδων μολυσματικότητας και υψηλότερης απόδοσης των νηματωδών.

Η επιλογή της πιο πρακτικής και αποτελεσματικής σύνθεσης των σκευασμάτων για την καλύτερη και πιο μακροπρόθεσμη συντήρηση των ΕΠΝ θα εξασφαλίσει την επιτυχή παράδοση μολυσματικών ΙΙ σε διάφορες περιοχές εφαρμογής, ακόμη και σε πιο απομακρυσμένες.

Καθ' όλη τη διαδικασία παραγωγής ΕΠΝ, οι αβιοτικοί παράμετροι όπως η θερμοκρασία, η υγρασία και η διαθεσιμότητα οξυγόνου, που είναι κρίσιμες για την επιβίωση των νηματωδών, μπορούν να προσαρμοστούν για να δημιουργήσουν ένα βέλτιστο περιβάλλον για τη δραστηριότητα και την επιβίωση των νηματωδών.

Τέλος, με τα κατάλληλα μέτρα ποιοτικού ελέγχου, υψηλής ποιότητας ενδημικά είδη ΕΠΝ μπορούν να παραχθούν σε μικρή κλίμακα για ερευνητικά εργαστήρια, εξειδικευμένες αγορές και συνεταιρισμούς οργανικών καλλιεργητών ή σε μεγαλύτερη κλίμακα και εφαρμογές σε μεγάλες εκτάσεις.

Η τρέχουσα κατάσταση στη γεωργία, η οποία αποσκοπεί στην ευνοϊκή υιοθέτηση περιβαλλοντικά καλοήθων προσεγγίσεων για τον έλεγχο των επιβλαβών εντόμων, είναι ιδιαίτερα ευνοϊκή για τη χρήση των ΕΠΝ.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ

- Akhurst RJ, Boemare NE. 1990. Biology and Taxonomy of *Xenorhabdus*, Pp. 75–90 in R. Gaugler, and H. K. Kaya, eds. Entomopathogenic nematodes in Biological Control. Boca Raton: CRC Press.
- Boemare NE. 2002. Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. Pp. 35–56 in R. Gaugler, ed. Entomopathogenic Nematology. Wallingford, UK: CABI Publishing.
- Ciche T. 2007. The biology and genome of *Heterorhabditis bacteriophora* in WormBook, ed. The *C. elegans* Research Community <http://www.wormbook.org>
- DeBach P, Rosen D, Kennett CE. 1971. Biological Control of Coccids by Introduced Natural Enemies. In: Huffaker C.B. (eds) Biological Control. Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-6528-4_7
- Ehlers RU. 2003. Biocontrol Nematodes. In: Hokkanen HMT, Hajek AE (eds) Environmental Impacts of Microbial Insecticides – Need and Methods for Risk Assessment. Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, pp 177–220
- Friedman MJ. 1990. Commercial production and development. Pp. 153–172 in R. Gaugler, and H. K. Kaya, eds. Entomopathogenic nematodes in Biological Control. Boca Raton, CRC Press.
- Gaugler R, Bilgrami A. 2004. Introduction and Overview. In: R. Gaugler & A. Bilgrami (Eds) Nematode Behaviour. 11–24. CABI Publishing, Wallingford, U.K.
- Gaugler R, Campbell JF. 1991. Selection for enhanced host-finding of scarab larvae (Coleoptera: Scarabaeidae) in an entomopathogenic nematode. Environmental Entomology. 20:700–706.
- George Z. Crickmore N. 2012. *Bacillus thuringiensis* Applications in Agriculture. 10.1007/978-94-007-3021-2-2.
- Georgis R, Kaya HK. 1998. Formulation of entomopathogenic nematodes. In: H.D. Burges (Ed.) Formulation of Microbial Biopesticides. 289–308. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.

- Georgis R. 1990. Formulation and application technology. Pp. 173–191 in R. Gaugler, and H. K. Kaya, eds. *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Boca Raton: CRC Press.
- Goettel M, Eilenberg J, Glare T. 2005. Entomopathogenic fungi and their role in regulation of insect populations. *Comprehensive Molecular Insect Science*. 6. 361-406.
- Kenis M, Hurley BP, Colombari F, Lawson S, Sun J, Wilcken C, Weeks R, Sathyapala S. 2019. Guide to the classical biological control of insect pests in planted and natural forests, FAO Forestry Paper No. 182. Rome, FAO. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Lewis EE. 2002. Behavioural ecology. In: R. Gaugier (Ed.) *Entomopathogenic Nematology*. 205–223. CABI Publishing, Wallingford, U.K.
- Peters A. 1996. The Natural Host Range of *Steinernema* and *Heterorhabditis* spp. and Their Impact on Insect Populations. *Biocontrol Science and Technology - BIOCONTROL SCI TECHNOL*. 6. 389-402. 10.1080/09583159631361. Poinar GO, Jr. 1979. *Nematodes for Biological Control of Insects*. CRC Press, Boca Raton. 277 pp.
- Poinar GO, Jr. 1990. Taxonomy and biology of Steinernematidae and Heterorhabditidae. Pg. 23–61 in R. Gaugler and H. K. Kaya, eds. *Entomopathogenic Nematodes in Biological Control*. Boca Raton: CRC Press.
- Poinar GO, Jr. 1991. Genetic engineering of nematodes for pest control. Pg. 77–93 in K. Maramorosch, ed. *Biotechnology for Biological Control of Pests and Vectors*. Boca Raton: CRC Press.
- Poinar, GO, Jr, Grewal PS. 2012. History of entomopathogenic nematology. *Journal of nematology*, 44(2), 153–161.
- Popiel, I. & Hominick, W.H. (1992). Nematodes as biological control agents: Part II. *Advances in Parasitology*, 31: 381–433. Reed EM, Wallace HR. 1965. Leaping locomotion by an insect-parasitic nematode. *Nature*. 206:210–211.
- Shahid AA, Rao AQ, Bakhsh A, Husnain T. 2012. Entomopathogenic fungi as biological controllers: new insights into their virulence and pathogenicity. *Archives of Biological Sciences*. Archives of Biological Sciences. 10.2298/ABS1201021S.
- Stock SP, Hunt DJ. 2005. Morphology and systematics of Nematodes used in Biocontrol. In Grewal, P. S., Ehlers, R-U., and Shapiro-Ilan, D. I. *Nematodes as biocontrol agents*. Wallingford: CABI Publishing.

- van Zyl C, Malan AP. 2014. The Role of Entomopathogenic Nematodes as Biological Control Agents of Insect Pests, with Emphasis on the History of Their Mass Culturing and *in vivo* Production. *African Entomology*, 22(2), 235-249.
- Webster JM, Chen G, Hu K, Li J. 2002. Bacterial metabolites. Pp. 99–114 in R. Gaugler, ed. *Entomopathogenic Nematology*. Oxon, UK: CAB International.

ΕΛΛΗΝΙΚΗ

- Καπετανάκης Ε. 1999. Σημειώσεις του μαθήματος Γεωργική Εντομολογία. Τ.Ε.Ι. Ηρακλείου
- Κολιοπάνος ΚΝ. 1999. Φυτοпараσιτικοί Νηματώδεις Σκώληκες. Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 136 σελ.
- Κύρου Ν. 2004. Φυτοпараσιτικοί Νηματώδεις. Εκδόσεις Αγρότυπος.
- Μαντζούκας Σ. 2012. Διερεύνηση της επίδρασης του εκχυλίσματος κρόκου στην αύξηση εντομοπαθογόνων μυκήτων, με τη μέθοδο των ημικλεκτικών υποστρωμάτων και στην αποτελεσματικότητα τους επί των προνυμφών του εντόμου *Sesamia nonagrioides*. Διατμηματικό Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών, Πανεπιστήμιο Πατρών.
- Μπουχέλος ΘΚ. 1990. Σημειώσεις γεωργικής εντομολογίας. Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών. Αθήνα, p. 36-51
- Τζανακάκης ΜΕ, Κωβαίος ΔΣ. 2018. Εντομολογία, Β΄ έκδοση, Εκδόσεις University Studio Press.
- Χριστοδουλοπούλου ΑΜ. 2019. Επίδραση διαφορετικών δόσεων τριών εντομοπαθογόνων νηματωδών στη θνησιμότητα του κολεοπτέρου *Trogoderma granarium*. Πτυχιακή Εργασία. ΤΕΙ Δυτικής Ελλάδας.