

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας
ΠΜΣ «Φυτοπροστασία & Περιβάλλον»



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

<<Επίδραση εντομοπαθόνων μυκήτων σε έντομα
εχθρούς του αστικού πρασίνου>>

ΚΩΣΤΑΚΙΩΤΗΣ Β. ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

Επιβλέπων Καθηγητής: κ. Παπαδούλης Γεώργιος

ΑΘΗΝΑ 2017

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας
ΠΜΣ «Φυτοπροστασία & Περιβάλλον»



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

<<Επίδραση εντομοπαθόνων μυκήτων σε έντομα
εχθρούς του αστικού πρασίνου>>

ΚΩΣΤΑΚΙΩΤΗΣ Β. ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ

Επιβλέπων Καθηγητής: κ. Παπαδούλης Γεώργιος

ΑΘΗΝΑ 2017

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας
ΠΜΣ «Φυτοπροστασία & Περιβάλλον»

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

<<Επίδραση εντομοπαθογόνων μυκήτων σε έντομα εχθρούς
του αστικού πρασίνου>>

ΚΩΣΤΑΚΙΩΤΗΣ Β. ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ Επιβλέπων

Καθηγητής: Παπαδούλης Γεώργιος

Τριμελής εξεταστική επιτροπή: 1. Παπαδούλης Γεώργιος, Καθηγητής
Γ.Π.Α.

2. Περδίκης Διονύσιος, Επίκουρος
Καθηγητής Γ.Π.Α.

3. Κοντοδήμας Δημήτριος, Ερευνητής
Β' Μ.Φ.Ι

ΑΘΗΝΑ 2017

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες σε όσους συνέβαλαν στην επιτυχή πραγματοποίηση αυτής της μελέτης, στην έρευνα και τη συγγραφή της.

Στον εισηγητή της μελέτης Καθηγητή Παπαδούλη Γεώργιο του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γ.Π.Α. για την ανάθεση, επίβλεψη και διόρθωση της μελέτης.

Στον Επίκουρο Καθηγητή Περδίκη Διονύσιο του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γ.Π.Α. για την καθοδήγηση σε όλα τα στάδια της μελέτης και την διόρθωσή της.

Στον Δρ. Κοντοδήμα Δημήτρη, Ερευνητή Β' του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας και Παθολογίας Εντόμων του Μ.Φ.Ι. για το αμέριστο ενδιαφέρον, την καθοδήγηση και επίβλεψη της πτυχιακής μελέτης, το φωτογραφικό υλικό και τη βιβλιογραφία που μου παρείχε και τη διόρθωση της εργασίας αυτής.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου και τους φίλους μου που ήταν κοντά μου και με την κατανόησή τους με βοήθησαν να ολοκληρώσω την παρούσα μελέτη.

Περιεχόμενα

Περίληψη.....	3
Εισαγωγή.....	7
Κεφάλαιο 1	
1.1 <i>Rhynchoforus ferrungineus</i>	10
1.2 <i>Thaumatococcus ptyocampa</i>	17
1.3 <i>Xanthogaleruca luteola</i>	24
Κεφάλαιο 2	
2.1 Εντομοπαθογόνοι μύκητες.....	30
2.2 <i>Beauveria bassiana</i>	37
2.3 <i>Metarhizium anisopliae</i>	40
2.4 <i>Raecilomyces fumosoroseus</i>	42
Κεφάλαιο 3	
3.1 Υλικά και Μέθοδοι.....	45
3.1.1 Προέλευση & καλλιέργεια απομονώσεων εντομοπαθογόνων μυκήτων.....	45
3.1.2 Παρασκευή των διαλυμάτων.....	46
3.1.3 Βιοδοκιμές επί <i>T. ptyocampa</i>	49
3.1.4 Βιοδοκιμές επί <i>X. luteola</i>	50
3.1.5 Βιοδοκιμές επί <i>R. ferrungineus</i>	51
3.2 Αποτελέσματα.....	53
3.3 Συζήτηση.....	65
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	70

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι εντομολογικοί εχθροί απασχολούν μεγάλο μέρος της φυτοπροστασίας στο Αστικό Πράσινο. Στις προηγούμενες δεκαετίες η φυτοπροστασία στο αστικό πράσινο αντιμετωπιζόταν με χρήση χημικών εντομοκτόνων, όπως και στον γεωργικό τομέα. Στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας και της μείωσης της χρήσης χημικών εντομοκτόνων στο αστικό περιβάλλον, έχει επικρατήσει η τάση να αντικατασταθούν τα χημικά εντομοκτόνα με βιολογικούς παράγοντες οι οποίοι αφενός δεν είναι βλαβεροί για τον άνθρωπο και το περιβάλλον και αφετέρου συντελούν στη διατήρηση της βιοποικιλότητας και της ισορροπίας μεταξύ ωφέλιμων και παθογόνων οργανισμών και εχθρών.

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε εργαστηριακά η αποτελεσματικότητα των εντομοπαθογόνων μυκήτων *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* και *Raecilomyces fumosoroseus* για την αντιμετώπιση τριών εχθρών του αστικού πρασίνου, του *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), εχθρού των πεύκων, του *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae), εχθρού της φτελιάς και του *Rhynchoforus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae), εχθρού των φοινικοειδών.

Τα πειράματα αυτά έγιναν με στόχο την ανάδειξη της σημασίας των εντομοπαθογόνων οργανισμών ως παραγόντων αντιμετώπισης των εντόμων - εχθρών του αστικού πρασίνου.

Δοκιμάστηκαν σε συνθήκες εργαστηρίου διαλύματα των μυκήτων σε πυκνή και αραιή συγκέντρωση:

- *Beauveria bassiana*: $2,11 \times 10^7$ και $2,11 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Raecilomyces fumosoroseus*: $1,81 \times 10^7$ και $1,81 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Metarhizium anisopliae*: $1,77 \times 10^7$ και $1,77 \times 10^8$ κονίδια/ml

Οι δοκιμές έγιναν σε προνύμφες *T. pityocampa*, προνύμφες *X. luteola* και ακμαία *R. ferrugineus* μέσω εμφάνισης των ατόμων στα διαλύματα κονιδίων. Κατά τη διάρκεια των δοκιμών χορηγούνταν τροφή στα υπό δοκιμή άτομα και διατηρούνταν υψηλή υγρασία εντός των τρυβλίων μέσω ψεκασμού τους με νερό ανά 2-3 ημέρες. Τα

τρυβλία διατηρούνταν σε εντομολογικούς θαλάμους με συνθήκες θερμοκρασίας $27 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, σχετική υγρασία $65 \pm 5\%$ και αναλογία φωτός/σκότος, 16:8 ώρες.

Διαπιστώθηκε η επιτυχής δράση των μυκήτων και στα τρία έντομα. Οι πυκνότερες δόσεις επέφεραν μεγαλύτερο τελικό ποσοστό θνησιμότητας και είχαν επίσης γρηγορότερη δράση σε σύγκριση με τις αραιές δόσεις σε όλα τα πειράματα, δηλαδή είχαν μια διαφορά 10-50% υψηλότερη θνησιμότητα από αυτή των αραιών δόσεων στην αντίστοιχη ημέρα της δοκιμής. Οι προνύμφες *T. pityocampa* αποδείχθηκαν ευάλωτες στη δράση και των τριών εντομοπαθογόνων μυκήτων στην αραιή και στην πυκνή δόση τους. Ο *P. fumosoroseus* στην πυκνή δόση βρέθηκε να είναι ο πιο αποτελεσματικός εντομοπαθογόνος μύκητας και στα τρία έντομα της δοκιμής. Κατά τη βιοδοκιμή στις προνύμφες *X. luteola* παρατηρήθηκε ότι η καταπόνηση που επέφερε η διαδικασία στις προνύμφες ενεργοποιούσε το μηχανισμό νύμφωσης ακόμα και σε προνύμφες που δεν είχαν φτάσει το τελευταίο προνυμφικό στάδιο. Επίσης όσες προνύμφες νυμφώθηκαν δεν επηρεάστηκαν από τη δράση των εντομοπαθογόνων μυκήτων, ενηλικιώθηκαν και επέζησαν. Τέλος, οι αραιές δόσεις και των τριών μυκήτων δεν απέφεραν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας στα ενήλικα *R. ferrungineus*, έφτασαν μέχρι το 70-80% και αυτό αφού είχαν παρέλθει 12-15 ημέρες από την επέμβαση. Στις πυκνές δόσεις καλά αποτελέσματα έφεραν ο *Beauveria bassiana* και ο *Paecilomyces fumosoroseus* με ποσοστά θνησιμότητας άνω του 90% από την 9^η ημέρα.

Από τα αποτελέσματα που αποκτήθηκαν από την παρούσα μελέτη διαπιστώνουμε ότι οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *B. bassiana*, *M. anisopliae* και *P. fumosoroseus* θα μπορούσαν να αποτελέσουν παράγοντες αντιμετώπισης των εντομολογικών εχθρών στο αστικό πράσινο όπου η αντιμετώπιση των εντόμων παρουσιάζει αρκετές ιδιαιτερότητες. Περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη ώστε να καθοριστούν οι ιδανικές πυκνότητες κονιδίων, η κατάλληλη μορφή σκευάσματος και κυρίως να διερευνηθεί η αποτελεσματικότητα των διαλυμάτων στο πεδίο.

ABSTRACT

In the context of integrated pest management the effort of reducing the use of chemical pesticides in the urban environment, with biological control agents has been prioritized.

In the present study, efficacy of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces fumosoroseus* to control three pests of urban green, *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera: Thaumetopoeidae), *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae), and *Rhynchoforus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae), that infest pine, elm and palm trees, respectively, was studied under laboratory conditions.

These experiments were designed to evaluate the following entomopathogenic organisms as - urban green - pest control agents.

Fungal solutions in dense and sparse concentration were tested in laboratory:

- *Beauveria bassiana*: $2,11 \times 10^7$ και $2,11 \times 10^8$ conidia/ml
- *Paecilomyces fumosoroseus*: $1,81 \times 10^7$ και $1,81 \times 10^8$ conidia/ml
- *Metarhizium anisopliae*: $1,77 \times 10^7$ και $1,77 \times 10^8$ conidia/ml.

Tests were performed on larvae of *T. pityocampa*, larvae of *X. luteola* and adults of *R. ferrugineus* by immersion of the individuals in conidia solutions. During the tests, food was available and high humidity maintained within the dish through spraying water every 2-3 days. Dishes were maintained at insect chambers at temperature 27 ± 0.1 ° C, $65 \pm 5\%$ RH and 16: 8 h L:D.

Successful action of fungi over the three insects was indicated. The denser doses caused greater mortality rate and also had a faster action compared to the sparse doses in all experiments. Larvae of *T. pityocampa* proved vulnerable to the action of the three entomopathogenic fungi in sparse as well as in dense doses. *P. fumosoroseus* in dense dose was found to be the most effective among the entomopathogenic fungi tested.

During the bioassay on *X. luteola* larvae, it was observed that the stress brought about by the process, triggered the mechanism of pupation in larvae that had not reached the last larval stage at the time of treatment. Also the larvae that pupated were not affected by the action of entomopathogenic fungi. Finally, sparse doses of all three fungi did not cause high mortality in adult *R. ferrugineus* (70-80% after 12 to 15 days). In dense doses, *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus* gave good results with mortality rates exceeding 90%, 9 days after treatment.

The results obtained from this study indicate that the entomopathogenic fungi *B. bassiana*, *M. anisopliae* and *P. fumosoroseus* are promising in insect control in urban green in which presents several particularities. Further research is needed to determine the most effective conidial concentrations, appropriate formulation form and especially to investigate the effectiveness of the solutions in the field.

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Όπως και στον γεωργικό τομέα, πληθώρα εντομολογικών εχθρών δημιουργούν προβλήματα και στο αστικό και περιαστικό πράσινο της χώρας μας. Αρκετά είδη εντομολογικών εχθρών έχουν καταγραφεί τα τελευταία 20 έτη από το Τμήμα Εντομολογίας & Γεωργικής Ζωολογίας του Μ.Φ.Ι. και περιλαμβάνουν αυτόχθονα αλλά και αλλόχθονα είδη. Μερικά από τα σημαντικότερα είναι τα παρακάτω.

- Αφίδες: *Aphis fabae*, *Aphis gossypii*, *Myzus persicae*, *Toxoptera aurantii*, *Aphis spiraecola* (σε εσπεριδοειδή), *Aphis craccivora* (σε ψευδακακία, *Robinia pseudacacia*), *Aphis hederæ* (σε κισσό, *Hedera helix*), *Aphis nerii* (σε πικροδάφνη *Nerium oleander*), *Aphis sambuci* (σε *Sambucus nigra*), *Chaitophorus* spp. (σε λεύκες, *Populus* spp.), *Eriosoma lanuginosum* και *Tetraneura ulmi* (σε φτελιές, *Ulmus* spp.), *Brachycaudus helichrysi* και *B. cardui* (σε καλλωπιστική δαμασκηλιά και είδη Asteraceae)
- Κοκκοειδή: Diaspididae: *Aonidella aurantii*, *Aspidiotus nerii*, *Parlatoria* spp., *Philippia* spp., *Quadraspidotus* spp., *Parthenolecanium corni*, *Pseudalacaspis pentagona*, *Lepidosaphes* spp., *Pulvinaria* spp., *Aulacaspis rosae*, *Aonidia lauri*, *Unaspis euonymi* κ.α., είδη Coccidae: *Saissetia oleae*, *Coccus* spp., *Ceroplastes* spp. κ.α., είδη Pseudococcidae: *Planococcus citri*, *Pseudococcus longispinus* κ.α., Margarodidae: *Icerya purchasi*, *Marchalina hellenica*
- Εριώδης αλευρώδης, *Aleurothrixus floccosus*
- Φυλλορύκτης των εσπεριδοειδών, *Phyllocnistis citrella*
- Εχθροί χλοοταπήτων: *Spodoptera exigua*, *Agrotis ipsilon*, *Agrotis segetum*, *Agrotis exclamationis*, *Agrotis spinifera*, *Spodoptera littoralis*, *Autographa gamma*, *Chrysodeixis chalcites*, *Plusia festucae*, *Emmelia trabealis*, *Macdounnoughia confusa* και *Mythimna unipuncta*, *Melolontha melolontha*.
- Εχθροί του πεύκου: *Thaumatorhoea pityocampa*, *Marchalina hellenica*.
- Εχθροί των φοινικοειδών: *Rhynchophorus ferrugineus*, *Paysandisia archon*.

- Ξυλοφάγα έντομα: *Trichoferus fasciculatus*, *Phloeosinus bicolor*, *Capnodis tenebrionis*, *Cossus cossus*, *Zeuzera pyrina*.
- Ακάρεα: *Tetranychus urticae*, *Panonychus citri*, *Eutetranychus orientalis*.

Η μη λογική χρήση των συνθετικών εντομοκτόνων έχει δημιουργήσει σοβαρά προβλήματα στο περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία με συνέπεια η ανάπτυξη και χρήση αποτελεσματικών παραγόντων βιολογικού ελέγχου να είναι αναγκαία.

Η ανάδειξη των παραγόντων αυτών ως πιθανά εργαλεία για την αντιμετώπιση των εντόμων, θα έχει ως αποτέλεσμα την μείωση της χρήσης φυτοφαρμάκων και συνεπώς την ελάττωση των δυσμενών επιδράσεων αυτών τόσο στο περιβάλλον όσο και στον άνθρωπο. Επιπλέον, ο περιορισμός της χρήσης των φυτοφαρμάκων ίσως συμβάλλει στη διατήρηση ή και αύξηση της βιοποικιλότητας σε αγροτικά οικοσυστήματα.

Προς το παρόν τα σκευάσματα που έχουν έγκριση για την αντιμετώπιση εχθρών του Αστικού Πράσινου στην Ελλάδα είναι:

- Τα παραφινέλαια, οι ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων και τα άλατα καλίου λιπαρών οξέων για το *Marchalina hellenica*,
- Το εντομοπαθογόνο βακτήριο *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* για το *Thaumetopoea pityocampa* και επιπλέον κάποια πυρεθρινοειδή για λεπιδόπτερα καλλωπιστικών φυτών,
- Τα παραφινέλαια, τα άλατα καλίου λιπαρών οξέων, το φυσικό πύρεθρο, οι αβερμεκτίνες, το οργανοφωσφορικό dimethoate και κάποια πυρεθρινοειδή για τις αφίδες,
- Τα παραφινέλαια και τα άλατα καλίου λιπαρών οξέων για τα κοκκοειδή,
- Τα παραφινέλαια, τα άλατα καλίου λιπαρών οξέων και οι αβερμεκτίνες για τα ακάρεα,
- Το πυρεθρινοειδές lamda-cyhalothrin για το *Rhynchoforus ferrungineus* των φοινικοειδών (Ιστότοπος Υπ.Α.Α.Τ., 2016)

Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες είναι υποσχόμενοι παράγοντες βιολογικού ελέγχου και θεωρούνται από αρκετούς συγγραφείς ως τα πιο σημαντικά παθογόνα μεταξύ

ωφέλιμων εντόμων και μικροοργανισμών. Σε αντίθεση με τους ιούς και τα βακτήρια τα οποία πρέπει να καταποθούν και να μολύνουν μέσω του πεπτικού συστήματος, οι μύκητες σχεδόν πάντα μολύνουν τον ξενιστή τους με απευθείας διάτρηση του εξωσκελετού (Mohamed et al. 1978, St. Leger 1990, Humber 1991, Gupta et al. 1992).

Αρκετά είδη μυκήτων έχουν αναφερθεί ως άριστοι παράγοντες αντιμετώπισης επιζήμιων εντόμων εχθρών στις καλλιέργειες. Μύκητες του γένους *Myriangum* προσβάλλουν τα κοκκοειδή, ο *Aschersonia aleurodis* προσβάλλει είδη Aleurodidae, ο *Lagenidium giganteum* είδη κουνουπιών, ο *Beauveria bassiana* προσβάλλει διάφορα είδη εντόμων (Τσαπικούνης, 1999).

Τα χημικά σκευάσματα παρουσιάζουν μειονεκτήματα όσον αφορά στη χρήση τους στο Αστικό Περιβάλλον. Ψεκασμοί χημικών εντομοκτόνων σε σημεία όπου κοντά διαβιούν ή κυκλοφορούν άνθρωποι μπορεί να προκαλέσουν προβλήματα υγείας ιδιαίτερα σε ευαίσθητες ομάδες όπως παιδιά, ηλικιωμένοι και έγκυες γυναίκες. Επίσης οργανισμοί μη στόχοι όπως ωφέλιμα έντομα, πτηνά, κατοικίδια και άγρια πανίδα μπορεί να εκτεθούν στα χημικά και να υποστούν βλάβη και κατ' επέκταση να διαταραχθεί η βιοποικιλότητα του οικοσυστήματος. Τέλος η μεγάλη υπολειμματικότητα των χημικών σκευασμάτων προκαλεί μόλυνση και υποβάθμιση του εδάφους, του υδροφόρου ορίζοντα και του ατμοσφαιρικού περιβάλλοντος (Racke, 1993).

Η χρήση των εντομοπαθογόνων μυκήτων ως εντομοκτόνα στο κρίσιμο πεδίο του αστικού περιβάλλοντος, όπου η χρήση χημικών εντομοκτόνων αντενδείκνυται, θα αποτελέσει ένα σημαντικό πλεονέκτημα για την καταπολέμηση των εντόμων εχθρών του αστικού πρασίνου.

Στην Ελλάδα υπάρχει μόνο ένα εγκεκριμένο σκεύασμα εντομοπαθογόνου μύκητα που κυκλοφορεί με την εμπορική ονομασία Naturalis και περιέχει ζωντανά σπόρια του μύκητα *Beauveria bassiana*.

Κεφάλαιο 1

1.1 *Rhynchoforus ferrungineus* (Olivier, 1790)



Εικόνα 1. Ενήλικο *R. ferrungineus*

Κοινές ονομασίες: Κόκκινος ρυγχωτός κάρθαρος των φοινικοειδών, Asiatic palm weevil, palm weevil, red strip weevil, coconut weevil (αγγλικά), picudo rojo de las palmeras (ισπανικά), charancon asiatique du palmier (γαλλικά), indomalaiischer palmen-russler (γερμανικά).

Ταυτότητα

Το *R. ferrungineus* ανήκει στην Οικογένεια Curculionidae της Τάξης Coleoptera. Πρόκειται για ένα ρυγχοφόρο σκαθάρι το οποίο μαζί με άλλα έξι από τα δέκα είδη του γένους *Rhynchoforus* παρασιτεί τα φοινικοειδή (Booth et al., 1990).

Ξενιστές

Το *R. ferrungineus* είναι κυρίως εχθρός των φοινικοειδών, αφού έχουν καταγραφεί προσβολές στα είδη *Areca catechu*, *Arenga pinnata*, *Borassus flabellifer*, *Calamus merillii*, *Caryota maxima*, *Caryota cumingii*, *Cocos nucifera*, *Corypha gebanga*, *Corypha elata*, *Elaeis guineensis*, *Livistona decipiens*, *Metroxylon sagu*, *Oreodoxa regia*, *Phoenix canariensis*, *Phoenix dactylifera*, *Phoenix sylvestris*, *Sabal*

umbraculifera, *Trachycarpus fortunei*, *Washingtonia sp.*, κ.α. Έχει βρεθεί επίσης ότι προσβάλλει την αγαύη (*Agave Americana*) και το ζαχαροκάλαμο (*Saccharum officinarum*) (Erra, 1977). Στην Ελλάδα έχει παρατηρηθεί σαφής προτίμηση του εντόμου στον κανάριο φοίνικα (*Phoenix canariensis*) κάτι που επιβεβαιώνει τα διεθνή δεδομένα (Ροδιτάκης κ.ά., 2010). Επίσης το *R. ferrugineus* προσβάλλει τα φοινικοειδή *Trachycarpus fortunei*, *Phoenix roebelenii*, *Chamaerops humilis*, *Phoenix dactylifera*, *Washingtonia filifera* αλλά και το ενδημικό είδος της Κρήτης *Phoenix theophrasti* (Ροδιτάκης κ.ά., 2010).

Τα κύρια είδη φοινικόδεντρων στην περιοχή της Μεσογείου είναι η χουρμαδιά (*Phoenix dactylifera*) και ο κανάριος φοίνικας (*Phoenix canariensis*). Το *Phoenix canariensis* χρησιμοποιείται ευρύτατα ως διακοσμητικό φυτό, ενώ το *Phoenix dactylifera* καλλιεργείται ευρέως για τον γλυκό καρπό του, τους χουρμάδες (http://ec.europa.eu/food/plant/organisms/emergency/docs/111024_red_palm_weevil_el.pdf).

Γεωγραφική εξάπλωση

Η πρώτη αναφορά για το κόκκινο σκαθάρι των φοινικοειδών έγινε το 1891 στην Ινδία. Το 1906 περιγράφεται ως εχθρός του κοκοφοίνικα και το 1917 αναφέρεται ως σοβαρός εχθρός της χουρμαδιάς στην Ινδία. Από το 1985 επισημάνθηκε στις χώρες της αραβικής χερσονήσου και έκτοτε κατέστη πολύ σοβαρός εχθρός των φοινικοειδών σε όλες τις χώρες της Μ. Ανατολής. Το 1992 επισημάνθηκε στην Αίγυπτο από όπου μεταφέρθηκε με αθρόες εισαγωγές φοινικοειδών στην Ισπανία το 1993. Παρά τις επανειλημμένες παρεμβάσεις των ισπανικών αρχών στην ΕΕ να κηρυχθεί ως έντομο καραντίνας άμεσα, η αρμόδια επιτροπή της ΕΕ προέβη στην έκδοση της σχετικής οδηγίας στα κράτη μέλη μετά από 14 χρόνια, με αποτέλεσμα λόγω της καθυστέρησης να εξαπλωθεί εκτός από τη νότια Ισπανία και σε όλη την Ευρώπη (Ροδιτάκης κ.ά., 2010).

Στην Κρήτη επισημάνθηκε για πρώτη φορά το 2005 στην περιοχή της Χερσονήσου λόγω των εισαγωγών προσβεβλημένων φοινικοειδών. Η πλημμελής εφαρμογή των προβλεπόμενων μέτρων καραντίνας στη συνέχεια, είχε ως αποτέλεσμα

την εξάπλωσή του σε όλη την Κρήτη το 2009 αλλά και στην υπόλοιπη Ελλάδα (Ρόδο, Πελοπόννησο, Αττική, Ήπειρο) (Ροδιτάκης κ.ά., 2010)

Περιγραφή



Εικόνα 2. Τα τέσσερα βιολογικά στάδια του εντόμου (Πηγή: Ροδιτάκης κ.ά., 2010)

Ωό

Το ωό του είναι λευκό, γυαλιστερό, επιμήκες, 2.62×1.12 χιλ. (Menon & Pandalai, 1960). Για την εκκόλαψη των ωών χρειάζονται τρεις ημέρες (Reginald, 1973).

Προνύμφη

Η προνύμφη είναι ευκέφαλη, άποδη, με λευκό σώμα αποτελούμενο από 13 τμήματα και καφέ κεφαλή. Οι γνάθοι είναι καλά ανεπτυγμένοι. Το μέσο μήκος μιας πλήρως ανεπτυγμένης προνύμφης είναι 50 χιλ. και το πλάτος 20 χιλ.

Νύμφη

Οι διαστάσεις της νυφικής θήκης είναι $50-95 \times 25-40$ χιλ.. Το χρώμα της νύμφης είναι αρχικά κρεμ και στη συνέχεια καφέ, και φέρει πολλές αυλακώσεις και οι διαστάσεις του είναι 35×15 χιλ. Το νυμφικό στάδιο διαρκεί 12 με 20 ημέρες.

Ενήλικο

Το ενήλικο έχει χρώμα κοκκινωπό – καφέ, με σκούρα σημάδια στην πάνω πλευρά του θώρακα και διαστάσεις 35 × 10 χιλ. Έχει μακρύ καμπυλωτό ρύγχος και το κεφάλι με το ρύγχος αποτελούν το 1/3 του σώματός του.

Στα αρσενικά το ακραίο μισό του ρύγχους καλύπτεται από κοντές καφέ τρίχες. Στα θηλυκά το ρύγχος είναι γυμνό, πιο λεπτό, μακρύ και πιο καμπυλωτό από το αντίστοιχο του αρσενικού (Menon & Pandalai, 1960).



Εικόνα 3. Ενήλικο και οπές εισόδου
(Πηγή: Ροδιτάκης κ.ά., 2010)

Βιολογία

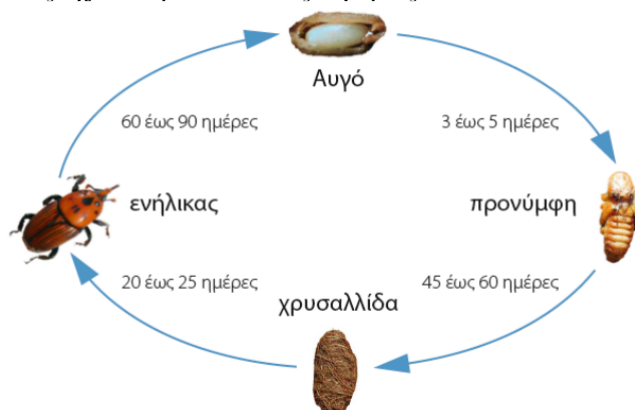
Τα ενήλικα του *R. ferrungineus* είναι δραστήρια κατά την ημέρα και την νύχτα, αλλά οι πτήσεις και οι μετακινήσεις γίνονται την ημέρα. Ο Leefmans (1920) αναφέρει ότι τα ενήλικα είναι ικανά για πτήσεις μεγάλων αποστάσεων και ότι μπορούν να εντοπίσουν φυτά-ξενιστές από απόσταση τουλάχιστον 900 μέτρων. Η σύζευξη γίνεται καθ' οποιαδήποτε ώρα της ημέρας και αρσενικά και θηλυκά άτομα συζευγνύονται πολλές φορές κατά τη διάρκεια της ζωής τους. Η περίοδος προ της πρώτης ωοθεσίας για τα θηλυκά διαρκεί 1-7 ημέρες. Η ωοτοκία περιορίζεται στα πιο μαλακά μέρη του φοίνικα, συνήθως σε πληγές του κορμού ή στο μίσχο των φύλλων και διαρκεί περίπου 45 ημέρες. Σε αυτή την περίοδο το θηλυκό εναποθέτει κατά μέσο όρο 204 αυγά. Μετά την εκκόλαψη οι προνύμφες κινούνται προς το εσωτερικό του φοίνικα όπου και τρέφονται. Σε φοίνικες ηλικίας έως 5 ετών οι προνύμφες βρίσκονται συνήθως στον κορμό και την στεφάνη του δέντρου, ενώ σε φοίνικες μεγαλύτερης ηλικίας οι προνύμφες βρίσκονται πιο συχνά κοντά στο σημείο όπου εκφύονται τα νέα φύλλα (Faleiro, 2006).

Η προνυμφική περίοδος διαρκεί κατά μέσο όρο 55 ημέρες (Nirula et al., 1953). Πριν τη νύμφωση οι προνύμφες κατασκευάζουν μία ωοειδή ινώδη νυμφική

θήκη από τις φυτικές ίνες του φοίνικα (Menon & Pandalai, 1960). Ο βιολογικός κύκλος του εντόμου διαρκεί κατά μέσο όρο 82 ημέρες στην Ινδία (Menon & Pandalai, 1960). Μετά την έξοδο από το νυμφικό έκδυμα, το ενήλικο παραμένει στο κουκούλι για 4-17 ημέρες (Menon & Pandalai, 1960) και γίνεται σεξουαλικά ώριμο κατά τη διάρκεια αυτής της ανενεργής περιόδου (Hutson, 1933). Τα ενήλικα ζουν 2-3 μήνες ανεξαρτήτως φύλου. Απουσία παραγόντων ελέγχου ένα μόνο ζεύγος προνυμφών μπορεί θεωρητικά να δώσει περισσότερους από 53 εκατομμύρια απογόνους στη διάρκεια της ζωής τους (Leefmans, 1920; Menon & Pandalai, 1960).

Στην Αίγυπτο ο El Azaby (1997) αναφέρει ότι το έντομο έχει τρεις γενιές ανά έτος, με μικρότερη την πρώτη με διάρκεια 100,5 ημέρες και μεγαλύτερη την τρίτη με 127,8. Επίσης το ανώτατο όριο θερμοκρασίας που αντέχει το ωό είναι 40 °C.

Ο βιολογικός κύκλος έχει διάρκεια 3 έως 4 μήνες.



Εικόνα 4. Βιολογικός κύκλος του *R. ferrungineus*
(Πηγή: Ροδιτάκης κ.ά., 2010)

Συμπτώματα προσβολής

Είναι δύσκολο να διαγνωστεί η προσβολή από *R. ferrungineus* σε αρχικά στάδια. Συνήθως η προσβολή διαπιστώνεται όταν ο φοίνικας έχει υποστεί πλέον σοβαρή ζημιά. Ωστόσο μια προσεκτική παρατήρηση μπορεί να αποκαλύψει κάποια σημάδια που είναι ενδεικτικά της προσβολής: οπές στον κορμό και στην στεφάνη του φοίνικα από τις οποίες απορρίπτονται μασημένες ίνες (που μπορεί να συνοδεύεται από παχύρευστο καφέ υγρό) και τοποθετώντας το αυτί στον κορμό ή την στεφάνη, ακούγεται ο ήχος που παράγεται από το ροκάνισμα των τρεφόμενων προνυμφών. Επίσης φαγώματα στα φύλλα και ειδικά στα νέο-εκφυόμενα είναι χαρακτηριστικά της προσβολής του εντόμου (Gomez & Ferry, 1998).



Εικόνα 5. Προσβεβλημένος φοίνικας

Σημασία

Οι φοίνικες είναι δέντρα με υψηλή περιβαλλοντική, αισθητική, οικονομική και πολιτιστική σημασία στις Μεσογειακές χώρες της ΕΕ. Τους απαντά κανείς σε πόλεις και ιδιωτικούς κήπους και το κοινό ενδιαφέρεται ιδιαίτερα για τη διαφύλαξή τους. Επίσης ορισμένα φοινικοδάση έχουν χαρακτηριστεί ως παγκόσμια κληρονομιά, όπως για παράδειγμα το φοινικοδάσος Βάι στην Κρήτη (Ελλάδα), το οποίο είναι το μεγαλύτερο σε έκταση στην Ευρώπη με έκταση 250 στρέμματα ή το φοινικοδάσος στο Elche (Ισπανία) το οποίο είναι το πολυπληθέστερο στην Ευρώπη με παραπάνω 200,000 φοίνικες (http://ec.europa.eu/food/plant/organisms/emergency/docs/111024_red_palm_weevil_el.pdf).

Οι προνύμφες του *R. ferrugineus* τρέφονται με τους αναπτυσσόμενους ιστούς του φοίνικα και αυτό προξενεί την καταστροφή του φυτού. Η ζημιά που προκαλείται από την καταστροφή των φοινίκων είναι πολυδιάστατη. Η επέλαση του εντόμου έχει επιφέρει την καταστροφή φυσικών μνημείων (φοινικοδάση), αισθητική υποβάθμιση ιδιωτικών και δημοσίων χώρων πρασίνου, ενώ οι δαπάνες που έχουν καταβληθεί για τον έλεγχο του εντόμου αλλά και για τη ζημιά που έχει προκαλέσει είναι ανυπολόγιστες.



Εικόνα 6. Φοινικοδάσος

Αντιμετώπιση

Φυτοϋγειονομικά μέτρα

1. Απαγόρευση εισαγωγής φυτών φοινικοειδών με διάμετρο κορμού μεγαλύτερη των 5cm από χώρες (ή περιοχές χωρών) στις οποίες έχει καταγραφεί το έντομο αυτό. Τα επιτρεπόμενα προς εισαγωγή φοινικοειδή πρέπει να προέρχονται μόνο από περιοχές όπου δεν έχει εμφανιστεί το συγκεκριμένο πρόβλημα.
2. Απαγόρευση διακίνησης φυτών φοινικοειδών από τις περιοχές της χώρας μας στις οποίες διαπιστώνεται το έντομο αυτό.
3. Υποχρεωτική καταστροφή όλων των προσβεβλημένων φοινικοειδών (ή φυτοϋγειονομικά ασφαλής αφαίρεση της προσβολής), που θα συνοδεύεται με πλήρη και λεπτομερή καταγραφή των ευρημάτων (τοποθεσία, ξενιστές, σημεία προσβολών επί των φοινικοδένδρων, σύνθεση του ευρισκόμενου πληθυσμού του *R. ferrugineus*) και ενημέρωση του Μ.ΦΙ.
4. Επεμβάσεις στα γειτονικά φοινικοειδή με εντομοπαθογόνους νηματώδεις ή άλλα εγκεκριμένα σκευάσματα ή μεθόδους.
5. Εγκατάσταση εκτεταμένου και συστηματικού δικτύου παγίδευσης του εντόμου (μόνο στα σημεία που έχουν παρατηρηθεί προσβολές) (Κοντοδήμας, 2010).

Χημική

Η χρήση εντομοκτόνων γίνεται προληπτικά και θεραπευτικά. Εφαρμόζονται διασυστηματικά εντομοκτόνα στην κορυφή του φοίνικα, με ριζοπότισμα, με εγχύσεις στον κορμό, και με κάλυψη των πλεγών με μείγμα εντομοκτόνου σε μορφή σκόνης με άμμο. Εργαστηριακές δοκιμές έδειξαν ότι το imidacloprid ήταν πιο αποτελεσματικό σε όλα τα στάδια προνυμφών του εντόμου από το oxamyl (Cabello et al., 1997).

Βιολογική

Φαίνεται ότι οι φυσικοί εχθροί του εντόμου δεν παίζουν σημαντικό ρόλο στην καταπολέμησή του (Reginald, 1973). Κάποιες προσπάθειες που έγιναν στην Ινδία

εργαστηριακά και στο πεδίο με χρήση του αρπακτικού *Chelisoches morio* δεν είχαν σημαντική επίδραση στον πληθυσμό των προνυμφών (Abraham & Kurian, 1973). Από τα βιολογικά μέσα αντιμετώπισης του κόκκινου σκαθαριού μόνο οι εντομοφιλικοί νηματώδεις σε χιτοζάνη έχουν καλές προοπτικές στην πράξη, όπως προκύπτει από τη διεθνή βιβλιογραφία, με εφαρμογές που έχουν πραγματοποιηθεί στην περιοχή της πόλης Elche και στην πόλη Sagunto στην Ισπανία. Άλλα βιολογικά μέσα, όπως εντομοπαθογόνοι μύκητες κ.λπ. αντιμετώπισης του *R. ferrugineus*, δεν έχουν δείξει ικανοποιητική αποτελεσματικότητα σε συνθήκες πεδίου παρά τα ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε συνθήκες εργαστηρίου (Ροδιτάκης, 2010).

1.2 *Thaumetopoea pityocampa* (Denis & Schiffermüller)



Εικόνα 7. Ενήλικο *T. pityocampa*

Κοινές ονομασίες: Πιτυοκάμπη , Pine processionary Moth

Ταυτότητα

Το είδος αρχικά κατατάχθηκε από τους Denis & Schiffermüller το 1776 στο γένος *Bombyx*. Το 1822, ο Hübner δημιούργησε το γένος για όλα τα είδη που βρίσκονται σήμερα στην οικογένεια *Thaumetopoeidae*. Ανήκει στην Τάξη των Λεπιδοπτέρων. Είναι έντομο - εχθρός των πευκοειδών.

Ξενιστές

Όλα τα είδη πεύκου και κέδρου ξενίζουν το έντομο. Τα είδη ωστόσο διαφέρουν ως προς την ευπάθεια τους κυρίως λόγω φυσικών παραγόντων όπως η μορφολογία και οι διαστάσεις των βελονών που τις καθιστούν λιγότερο ή περισσότερο

κατάλληλες για ωοτοκία (Demolin, 1969a). Η παρακάτω λίστα παραθέτει τα είδη πεύκου σε φθίνουσα σειρά ευπάθειας στην προσβολή του εντόμου.

- *Pinus nigra* var. *austriaca*
- *Pinus sylvestris*
- *Pinus pinaster*
- *Pinus pinea*
- *Pinus canariensis*
- *Pinus halepensis*
- *Cedrus atlantica*
- *Larix decidua*

Το φυτό - ξενιστής επηρεάζει την ανάπτυξη των προνυμφών. Δοκιμές πεδίου στη Θεσσαλονίκη έδειξαν ότι οι προνύμφες αναπτύσσονταν γρηγορότερα σε *P. radiata* παρά σε *P. pinea* (Αβτζής, 1986). Βέβαια αυτές οι διαφορές δεν πρέπει να θεωρείται ότι ισχύουν και εκτός της περιοχής όπου έγινε η δοκιμή. Για παράδειγμα το *P. pinaster* δεν προσβάλλεται τόσο έντονα στην Κορσική, νότια Γαλλία και Ισπανία, αλλά υπόκειται σε μεγάλες ζημιές στην περιοχή Les Landes της Γαλλίας. Ο κέδρος είναι απρόσβλητος στο Mont Ventoux της Γαλλίας αλλά φέρει υψηλούς πληθυσμούς στη Βόρεια Αφρική (Geri, 1980).

Βιολογία

Ο βιολογικός κύκλος του *T. pityocampa* είναι ετήσιος, αν και σε υψηλά υψόμετρα ή βόρεια γεωγραφικά πλάτη διαρκεί συνήθως 2 ή και περισσότερα έτη για ένα μέρος ή ολόκληρο τον πληθυσμό. Ο βιολογικός κύκλος χωρίζεται σε δύο φάσεις, την εναέρια που περιλαμβάνει τα στάδια ενήλικο, αυγό και προνύμφη και την υπόγεια με το στάδιο της νύμφης.

Η ανάπτυξη των προνυμφών διαρκεί 6 μήνες. Η διάρκεια του σταδίου της νύμφης μπορεί να επιμηκυνθεί μέσω της διάπαυσης, η οποία φαίνεται να επηρεάζεται από το υψόμετρο και το γεωγραφικό πλάτος της εκάστοτε περιοχής (Demolin, 1969b). Τα ενήλικα αναδύονται ημερομηνιακά νωρίτερα σε βόρεια γεωγραφικά πλάτη και υψηλά υψόμετρα. Στις περισσότερες περιοχές η εμφάνιση των ενηλίκων γίνεται κατά τον Ιούλιο και διαρκεί περίπου ένα μήνα.

Λίγες ώρες μετά τη σύζευξη, τα θηλυκά ωοτοκούν σε κοντινά πεύκα. Μπορούν ωστόσο να πετάξουν αρκετά χιλιόμετρα και να εξαπλώσουν τον πληθυσμό σε αρκετά μεγάλη περιοχή.

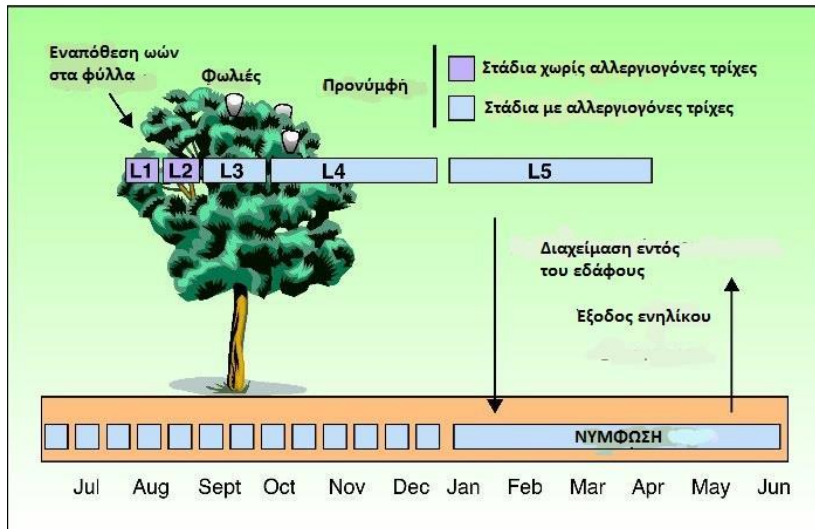
Η εναπόθεση των αυγών γίνεται σε κυλινδρική μάζα, ελικοειδούς διάταξης πάνω σε ζεύγη βελονών. Η πλειονότητα των συστοιχιών των αυγών εναποτίθεται περιφερειακά της κόμης του δέντρου και περιέχουν 70-100 αυγά, ανάλογα με τις συνθήκες διατροφής της κάμπιας (Gerl, 1980).

Μετά από 30-45 ημέρες οι νεαρές προνύμφες συγκεντρώνονται σε αποικίες και υφαίνουν μεταξένια κουκούλια τα οποία μεγαλώνουν μέχρι την 4^η ηλικία της προνύμφης, όπου φτάνει το τελικό μέγεθος για να φιλοξενήσει τις προνύμφες το χειμώνα. Τα κουκούλια αυτά βρίσκονται στα κλαδιά του ανώτερου μέρους της κόμης του δένδρου (Demolin, 1963).

Η διαδικασία της νύμφωσης, η οποία ξεκινά τέλη χειμώνα με αρχές άνοιξης είναι εντυπωσιακή έκφραση κοινωνικής συμπεριφοράς. Η κάμπια στην κορυφή της «λειτανίας» οδηγεί την αποικία σε κατάλληλο σημείο στο έδαφος για τη εκσκαφή υπόγειου τούνελ για τη νύμφωση στο έδαφος.

Σε υψηλές θερμοκρασίες οι κάμπιες ακολουθούν σκιερά μονοπάτια και μπορεί να θαφτούν κοντά στη βάση του δέντρου από το οποίο ξεκίνησαν (Demolin, 1969c).

Η νύμφωση λαμβάνει χώρα σε βάθος 10 εκ. και οι νύμφες μπαίνουν σε διάπαυση η οποία λήγει ένα μήνα πριν την ανάδυση των ενηλίκων.



Εικόνα 8. Βιολογικός κύκλος του *T. pityocampa*
(Πηγή: Vega et al., 2011)

Περιγραφή

Ωό

Οι τυπικές κυλινδρικές συστοιχίες ωών έχουν μήκος 4-5 εκ. και είναι καλυμμένες με τα λέπια του εδρικού θυσσάνου του θηλυκού.

Προνύμφη

Η προνύμφη διέρχεται από πέντε ηλικίες που ξεχωρίζουν από το μέγεθος της κεφαλής της προνύμφης. Μία πλήρως αναπτυγμένη κάμπια έχει μήκος 40 χιλ. και η κεφαλή της έχει μαύρο χρώμα.

Το σώμα της προνύμφης 1^{ης} ηλικίας είναι πράσινο. Μετά την 2^η ηλικία η προνύμφη λαμβάνει την τελική μορφή της και εμφανίζονται σε ζεύγη σε κάθε κοιλιακό της τμήμα οι κοκκινωπές ραχιαίες αλλεργιογόνες τρίχες. Η επιδερμίδα και οι τρίχες που καλύπτουν το σώμα ποικίλουν ανάλογα με την προέλευση. Γενικά, η επιδερμίδα είναι σκουρότερη σε ψυχρές περιοχές και κυμαίνεται από γκρι έως μαύρη. Οι πλευρικές τρίχες είναι λευκές έως σκούρες κίτρινες και οι νωτιαίες κίτρινες έως σκούρες πορτοκαλί.



Εικόνα 9. Προνύμφες *T. pityocampa*

Νύμφη

Η νύμφωση λαμβάνει χώρα στο έδαφος σε ένα οβάλ, υπόλευκο μεταξένιο κουκούλι. Η νύμφη έχει μήκος περίπου 20χιλ., είναι οβάλ και αρχικά έχει καφέ-κίτρινο χρώμα που αργότερα αλλάζει σε σκούρο κοκκινωπό-καφέ.

Ενήλικο

Η θηλυκή πεταλούδα έχει άνοιγμα πτερύγων 36-49 χιλ. ενώ το αρσενικό 31-39 χιλ. Οι κεραίες είναι νηματοειδείς στα θηλυκά και κτενοειδείς στα αρσενικά. Και τα δύο έχουν τριχωτό θώρακα. Οι πρόσθιες πτέρυγες έχουν σκούρο γκριζό χρωματισμό, ενώ οι νευρώσεις, η περίμετρος και τρεις εγκάρσιες λωρίδες είναι πιο σκούρες. Οι οπίσθιες πτέρυγες είναι λευκές, με γκριζούς κροσσούς κρόσσια και με χαρακτηριστική σκουρόχρωμη κηλίδα στην εδρική περιοχή.

Γεωγραφική εξάπλωση

Αλβανία, Αλγερία, Αυστρία, Βουγαρία, Γαλλία, Ελβετία, Ελλάδα, Ισπανία, Ισραήλ, Ιταλία, Κροατία, Κύπρος, Λίβανος, Λιβύη, Μαρόκκο, Πορτογαλία, Σερβία, Συρία, Τουρκία, Τυνησία.

Σημασία

Στην περιοχή της Μεσογείου το *T. pityocampa* θεωρείται ένα από τα σημαντικότερα δασικά παράσιτα (Cadahía et al., 1975).

Η ζημιά από την αποφύλλωση που προκαλούν οι προνύμφες είναι αρκετά σοβαρή σε νεο-αναδασωμένες περιοχές, όπου τα νεαρά δενδρύλλια μπορούν να ξεραθούν είτε μόνο από την προσβολή της πιτυοκάμπης ή συνδυαστικά με προσβολές από ξυλοφάγα έντομα. Σε υπάρχοντα δάση είναι σπάνιο να ξεραθούν δέντρα από

προσβολή από το έντομο, αλλά επιφέρει σημαντική μείωση στην ανάπτυξη του δέντρου.

Μελέτες έχουν δείξει ότι προσβολές από το έντομο μπορούν να προκαλέσουν 60% μείωση στην ανάπτυξη σε ύψος του *P. nigra* (Calas, 1897). Νεαρά δάση από *P. radiata* με χαμηλή και υψηλή προσβολή έδειξαν μείωση του όγκου της ξυλείας κατά 14% και 33% αντίστοιχα. Επιπλέον, η αποφύλλωση των πεύκων και η παρουσία πληθυσμού καμπιών σε κατοικημένες περιοχές προκαλεί αισθητική υποβάθμιση και αυξημένα κόστη συντήρησης.

Επιπλέον οι κάμπιες από το 3^ο στάδιο και μετά διαθέτουν αλλεργιογόνες τρίχες (Demolin, 1963), οι οποίες μπορούν να προκαλέσουν αλλεργίες με συνέπεια επιπεφυκίτιδα και αναπνευστικά προβλήματα (Zirzkowski & Roland, 1966). Αυτή η δράση υπάρχει όχι μόνο παρουσία των καμπιών, αλλά και κατά τη διάρκεια του επόμενου καλοκαιριού εξαιτίας της διατήρησης των αλλεργιογόνων τριχών στα υπολείμματα των κουκουλιών. Οι αλλεργιογόνες αυτές τρίχες μεταφέρονται με τον αέρα και μπορούν να προκαλέσουν αναφυλακτικές αντιδράσεις και αλλεργικές αντιδράσεις υπερευαισθησίας όταν ο ασθενής εκτίθεται επαναλαμβανόμενα σε αυτές (Bonnet, 2008, Mestre 2012).

Συμπτώματα προσβολής

Σε προσβεβλημένα πευκοδάση είναι εύκολο να αναγνωριστεί η προσβολή από *T. pityocampa* από την παρουσία κυλινδρικών συστοιχιών αυγών στα χαμηλά κλαδιά των πεύκων και από τις ζημιές στις πευκοβελόνες των προνυμφών της 1^{ης} και 2^{ης} ηλικίας. Κατά τη διάρκεια του χειμώνα η αποφύλλωση γίνεται εντονότερη και οι φωλιές είναι εμφανείς πάνω στα δέντρα.



Εικόνα 7. Πρώιμη προσβολή (Πηγή: Robredo & Obama, 1991)

Αντιμετώπιση

Η χημική και βιολογική καταπολέμηση γίνεται κυρίως με αεροψεκασμούς υπέρμικρου όγκου (ULV) με περιστροφικά ακροφύσια παροχής 5 L/ώρα. Οι δόσεις των δραστικών ουσιών είναι οι ακόλουθες (Robredo, 1980; Robredo & Obama, 1987): 45-56 g/ha του ρυθμιστή ανάπτυξης εντόμων (IGR) diflubenzuron, 1.7-2.6 g/ha του πυρεθροειδούς cypermethrin, 0.65-1.00 g/ha του πυρεθροειδούς deltamethrin, και *Bacillus thuringiensis* σε δόση που προτείνει ο κάθε παρασκευαστής. Όλα τα προνυμφικά στάδια είναι ευαίσθητα σε αυτές τις μεταχειρήσεις αλλά στο 4^ο και 5^ο στάδιο εφαρμόζονται οι μεγάλες δόσεις. Σε αυτά τα στάδια ανάπτυξης, κατά τη διάρκεια του χειμώνα, το αντίκτυπο των πυρεθροειδών στα ωφέλιμα έντομα είναι ελάχιστο (Robredo & Obama, 1991).

Σε μικρές περιοχές ή σε μικρή πυκνότητα πληθυσμού, συνιστάται η μηχανική καταπολέμηση με καταστροφή των κουκουλιών με απομάκρυνση και καύση. Επίσης μπορούν να χρησιμοποιηθούν και φερομονικές παγίδες φύλου για έλεγχο αλλά και για μαζική παγίδευση (Cadahía et al., 1975; Montoya, 1984; 1988).

Τα σημαντικότερα παρασιτοειδή και αρπακτικά του *T. pityocampa* σύμφωνα με τους Biliotti, 1958; Biliotti et al., 1965; Cadahía et al., 1967; Demolin & Delmas, 1967; Demolin, 1969c; και Du Merle, 1969 είναι τα εξής:

Ωοπαρασιτοειδή της πιτυοκάμπης είναι τα: *Tetrastichus servadei* (Hymenoptera: Eulophidae), *Oencyrtus pityocampae* (Hymenoptera: Encyrtidae), *Trichogramma* sp. (Hymenoptera: Trichogrammatidae), *Anastatus bifasciatus*

(Hymenoptera: Eupelmidae), και τα αρπακτικά *Ephippiger ephippiger* (Orthoptera: Tettigoniidae), *Barbitiste fischeri* (Orthoptera: Tettigoniidae).

Τα παρασιτοειδή προνύμφης είναι τα *Phryxe caudata* (Diptera: Larvaevoridae), *Compsilura concinnata* (Diptera: Tachinidae), *Ctenophora pavida* (Diptera: Tachinidae), *Erigorgus femorator* (Hymenoptera: Ichneumonidae), *Meteorus versicolor* (Hymenoptera: Braconidae) και το αρπακτικό *Xantandrus comtus* (Diptera: Syrphidae).

Τα παρασιτοειδή νύμφης είναι τα *Villa brunnea* (Diptera: Bombyliidae), *V. quinquefasciata* (Diptera: Bombyliidae), *Coelichneumon rudis* (Hymenoptera: Ichneumonidae).

Οι σημαντικότερες ασθένειες (Vago, 1958; Atger, 1964) προκαλούνται από τους ιούς *Borrelina* sp. και *Smithiavirus pityocampae*, τα βακτήρια *Bacillus thuringiensis* και *Clostridium* sp., και τους μύκητες *Aspergillus flavus*, *Beauveria bassiana*, *Cordyceps* sp., *Metarhizium anisopliae*, *Paecilomyces farinosus*, *P. fumosoroseus* και *Scopulariopsis* sp.

1.3 *Xanthogaleruca luteola*



Εικόνα 8. Ενήλικο *X. luteola*

(Πηγή: Βαμβακάς & Μαλτέζου, 2007)

Ταυτότητα

Το σκαθάρι της φτελιάς, *Xanthogaleruca* (=Pyrrhalta) *luteola*, είναι φυλλοφάγος εχθρός των δέντρων φτελιάς ειδικά των ευρωπαϊκών ειδών. Αμερικάνικα και Ασιατικά είδη φτελιάς δεν προσβάλλονται πολύ σοβαρά. (Dreistadt, 1990). Είναι κολεόπτερο της οικογένειας Chrysomelidae. Το είδος *Xanthogaleruca luteola* έχει περιγραφεί από τον Muller το 1766, ενώ ο Warchalowski έχει αναφέρει την παρουσία του στην Ελλάδα, Βουλγαρία και Τουρκία από το 1976. (Βαμβακάς & Μαλτέζου, 2007)

Ξενιστές

Το σκαθάρι της φτελιάς παρασιτεί μόνο είδη δενδρών φτελιάς (*Ulmus* sp.). Πολλές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί για να εκτιμηθεί η επίδραση αυτού του εντόμου στα διάφορα είδη φτελιάς της Βόρειας Αμερικής (Luck and Scriven, 1979; Hall, 1986; Hall and Young, 1986; Young and Hall, 1986; Hall et al., 1987; Miller and Ware, 1997; 1999; 2001a,b; 2002; Miller et al., 2003). Οι μελέτες έδειξαν ότι η Σιβηρική φτελιά (*Ulmus pumila* L.) και τα υβρίδιά της καθώς και τα περισσότερα Ευρωπαϊκά είδη φτελιάς όπως τα *U. glabra* Huds. και *U. hollandica* Mill. είναι εξαιρετικά κατάλληλα για την ωτοκία και διατροφή του σκαθαριού της φτελιάς (Miller and Ware, 2002) και ως εκ τούτου υπόκεινται σε μεγάλη ζημιά από αυτό το παράσιτο. Οι Ασιατικές φτελιές, όπως για παράδειγμα η Κινέζικη φτελιά (*U. parvifolia* Jacq.), έχουν υψηλή ανθεκτικότητα στη διατροφή και αναπαραγωγή του παρασίτου και αποτελούν καλές υποψήφιες για προγράμματα καλλιέργειας (Bosu and Wagner, 2007). Οι Αμερικανικές φτελιές φαίνεται να έχουν μέτρια ανθεκτικότητα, ωστόσο η Αμερικάνικη φτελιά ‘Valley Forge’ φαίνεται να δείχνει μεγάλη ανθεκτικότητα στην αποφύλλωση που προκαλεί το έντομο (Miller and Ware 2002; Bosu et al., 2007).

Βιολογία

Το σκαθάρι της φτελιάς είναι ολομετάβολο έντομο. Διαχειμάζει ως γονιμοποιημένο θηλυκό σε σχισμές του φλοιού, σε σωρούς από ξυλεία και μέσα σε κτίρια πάντα κοντά σε δέντρα φτελιάς. Την άνοιξη πετούν στο φύλλωμα των δένδρων φτελιάς και μασούν φύλλα, και τα θηλυκά εναποθέτουν ωά, σε σειρές στην κάτω επιφάνεια των φύλλων. Η εκκόλαση διαρκεί 7-10 ημέρες. Από τα αυγά εξέρχονται προνύμφες οι οποίες διέρχονται από τρεις προνυμφικές ηλικίες συνήθως σε περίοδο μερικών εβδομάδων, και είναι και αυτές φυλλοφάγες. Κατά τον Δεκέμβριο – Ιανουάριο οι ώριμες προνύμφες κινούνται προς τη βάση του κορμού, συστρέφονται και γίνονται αδρανείς και έπειτα νυμφώνονται, συνήθως σε μεγάλους αριθμούς, γύρω από τη βάση του δέντρου. Μετά από περίπου δέκα ημέρες εξέρχονται τα ενήλικα και πετούν στο φύλλωμα για να τραφούν και, κατά τη διάρκεια της άνοιξης και του καλοκαιριού, να εναποθέσουν ωά (Dreistadt, 1990).

Ο βιολογικός κύκλος του εντόμου ολοκληρώνεται σε 35-40 ημέρες και έχει 2-3 γενεές στην Ελλάδα. (Μ. Βαμβακάς & Π. Μαλτέζου, 2007)

Περιγραφή

Ενήλικο

Το ενήλικο έχει μήκος περίπου 6 χιλ., είναι χρώματος κιτρινωπού-λαδί με μαύρες επιμήκεις λωρίδες στο κέντρο και κατά μήκος της ράχης τους.

Ωό

Τα ωά εναποτίθενται σε συστοιχίες των δύο σειρών στην κάτω πλευρά των φύλλων. Έχουν κιτρινωπό χρώμα και γίνονται γκριζωπά πριν την εκκόλαψη.

Προνύμφες

Η προνύμφη είναι μαύρη αρχικά, ενώ αφού τραφεί γίνεται κιτρινωπή-λαδί και φέρει σειρές από μικρά μαύρα φυμάτια στη νωτιαία επιφάνειά της.

Το μήκος της προνύμφης 3^{ης} ηλικίας είναι περίπου 8,4 χιλ. και έχει πλευρικά πυκνές σειρές από σκουρόχρωμα φυμάτια που μοιάζουν με λωρίδες.

Η νύμφη έχει πορτοκαλί έως ανοικτό κίτρινο χρώμα. (Dreistadt, 1990)



Εικόνα 9. Νεαρές προνύμφες (Πηγή: Dreistadt, 1990)

Σημασία

Οι προνύμφες του *X. luteola* προκαλούν «σκελετοποίηση» των φύλλων της φτελιάς. Καταναλώνουν τα μεσονεύρια τμήματα του φύλλου αφήνοντας μόνο τα νεύρα του φύλλου καταστρέφοντας την όψη του δέντρου. Τα φύλλα γίνονται καφέ και πέφτουν πρόωρα. Τα ενήλικα και οι προνύμφες μαζί μπορούν να προκαλέσουν έντονη αποφύλλωση στο δέντρο, η οποία μπορεί να αποδυναμώσει ώριμα δέντρα και να μειώσει την αισθητική αξία τους, ενώ αφαιρεί την πολύτιμη σκίαση που προσφέρουν το καλοκαίρι. Οι φτελιές που υπόκεινται κατ' επανάληψη σε προσβολές

από το σκαθάρι είναι ευάλωτες σε ασθένειες και προσβολές από άλλα έντομα. Παρ' όλο που μια σοβαρή προσβολή από το σκαθάρι της φτελιάς μπορεί να αποφυλλώσει πλήρως το δέντρο, αυτό θα ξαναβγάλει φύλλα την επόμενη περίοδο. Ωστόσο, η αποφύλλωση θα επηρεάσει την ανάπτυξη του δέντρου και μπορεί τελικά να επιφέρει τη μάρανση του δέντρου μετά από μερικά έτη (Βαμβακάς & Μαλτέζου, 2007).



**Εικόνα 10. Σκελετοποίηση του φυλλώματος
(Πηγή: Βαμβακάς & Μαλτέζου, 2007)**

Συμπτώματα προσβολής

Τα ενήλικα μασούν μέχρι και την κάτω επιδερμίδα του φύλλου και επομένως προκαλούν οπές στα φύλλα που μοιάζουν σαν να έχουν τρυπηθεί από σκάγια. Οι προνύμφες σκελετοποιούν την επιφάνεια του φύλλου και καταστρέφουν το φύλλωμα το οποίο γίνεται καφέ έως άσπρο. (Dreistadt, 1990)

Αντιμετώπιση

Για την αντιμετώπιση του εχθρού αυτού υπάρχει πληθώρα επιλογών.

1. Η έγχυση διασυστηματικού εντομοκτόνου (π.χ. του Imidacloprid) θεωρείται η πιο αποτελεσματική και περιβαλλοντικά συμβατή μέθοδος. Το εντομοκτόνο εγχύεται απευθείας στον κορμό και μεταφέρεται στα φύλλα όπου σκοτώνει τα σκαθάρια και τις προνύμφες. Η διάμετρος του δέντρου πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 20 εκ.
2. Ριζοπότισμα με διασυστηματικό εντομοκτόνο. Η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί σε δέντρα οποιασδήποτε διαμέτρου κορμού. Η επέμβαση αυτή απαιτεί έως 100 λ νερού ανά δέντρο και δεν προτείνεται όταν η υγρασία του εδάφους είναι χαμηλή. Το ριζοπότισμα είναι εξαιρετικά επιβλαβές για τη χλωρίδα και την πανίδα του εδάφους.

Εφαρμογές κοντά σε ποτάμια, ρυάκια και ιδιωτικούς κήπους είναι επισφαλείς για τα ασπόνδυλα και τους ανθρώπους. Η δράση του ριζοποτίσματος και της έγχυσης στον κορμό διαρκεί για 2-3 χρόνια (Department of Primary Industries, Parks Water and Environment, 2013) .

3. Ψεκασμός φυλλώματος με εντομοκτόνο. Συνήθως δεν είναι πρακτική μέθοδος λόγω του μεγάλου μεγέθους της κόμης της φτελιάς, αλλά μπορεί να βρει εφαρμογή σε νεαρά δέντρα. Ο ψεκασμός πρέπει να γίνεται κάθε χρόνο (Department of Primary Industries, Parks Water and Environment, 2013).

4. Συλλογή των νυμφών. Είναι μια μέθοδος ασφαλής, μη χημική. Η συλλογή γίνεται με μηχανήμα αναρρόφησης φύλλων και επικεντρώνεται γύρω από τη βάση του κορμού. Οι Βαμβακάς & Μαλτέζου (2007) από μία συστάδα δένδρων φτελιάς συνέλεξαν 1595 νύμφες στους μήνες Μάιο , Ιούνιο, Σεπτέμβριο και Οκτώβριο. Ποσοστό άνω του 55% αυτών των νυμφών είχε συλλεχθεί τον Ιούνιο. Επιπρόσθετα μπορούν να τοποθετηθούν κολλώδεις ταινίες γύρω από τον κορμό για την παγίδευση προνυμφών και τη διακοπή του βιολογικού κύκλου του εντόμου. Η τοποθέτησή τους πρέπει να γίνει εγκαίρως, την περίοδο της καθόδου των προνυμφών από το δέντρο προς το έδαφος για τη νύμφωση.

5. Εξαπόλυση φυσικών εχθρών. Οι Βαμβακάς & Μαλτέζου (2007) εντόπισαν αρκετά μεγάλους πληθυσμούς αρπακτικών εντόμων της Τάξης των Hemiptera, καθώς και νύμφες της Τάξης των Neuroptera. Επίσης παρατήρησαν μεγάλο ποσοστό παρασιτισμού των ωών κατά τους μήνες Ιούνιο και Οκτώβριο από το υμενόπτερο παρασιτοειδές *Oomyzus galerucae* (Eulophidae). Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός, που διαπιστώθηκε μετά από επισταμένες παρατηρήσεις, της πλήρους απέχθειας των πτηνών προς όλα τα στάδια του *Xanthogaleruca luteola*, που πιθανότατα συνδέεται με την αφόρητη δυσοσμία που αυτά αναδύουν. (Βαμβακάς & Μαλτέζου, 2007)

Οι βιολογικοί παράγοντες και οι φυσικοί εχθροί που παρασιτούν το σκαθάρι της φτελιάς βρίσκονται υπό έρευνα και αξιολόγηση. Ενδεικτικά στα παρασιτοειδή περιλαμβάνονται το *Oomyzus gallerucae* (Υμενόπτερα) και το *Erynniopsis antennata* (Δίπτερα).

Επίσης έχει δοκιμαστεί σκεύασμα με το βακτήριο *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* και έχει βρεθεί ότι είναι δραστικό κατά των προνυμφών του *X. luteola* (Wells et al., 1994).

Κεφάλαιο 2

2.1 Εντομοπαθογόνοι μύκητες (ΕΠΜ)

Γενικά

Ο μεγάλος αριθμός εντομοπαθογόνων που υπάρχει στη φύση μας προσφέρει μια διευρυμένη γενετική βάση με την οποία μπορούμε να εντοπίσουμε αποτελεσματικά παθογόνα στελέχη αλλά και δευτερογενείς μεταβολίτες χρήσιμους ως εντομοκτόνα. Μετά την εγκατάστασή τους, οι εντομοπαθογόνοι οργανισμοί αποτελούν μέρος του βιολογικού δυναμικού του περιβάλλοντος ελέγχοντας εντομολογικούς εχθρούς και επιβάλλοντας την ισορροπία.

Είναι επίσης σημαντικό να αναφερθεί ότι τα εντομοπαθογόνα δεν καταλήγουν στην τροφική αλυσίδα και οι πιθανότητες ανάπτυξης ανθεκτικότητας είναι μικρές δημιουργώντας έτσι συνθήκες για μακροπρόθεσμο έλεγχο των παρασίτων.

Η χρήση τους μας παρέχει ευελιξία καθώς μπορούν να συνδυαστούν με άλλα βιολογικά ή χημικά σκευάσματα και καλλιεργητικές τεχνικές (Institute of Biology and Pedology, 2008).

Οι μυκητολογικές ασθένειες είναι κοινές και ευρέως διαδεδομένες μεταξύ των εντόμων. Πάνω από 700 είδη μυκήτων προκαλούν ασθένειες σε έντομα, όμως μόνο 10 είδη χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο κάποιων από αυτά. Ιδιαίτερα σημαντικοί είναι για την τάξη των Κολεοπτέρων καθώς ιολογικές και βακτηριολογικές ασθένειες είναι σπάνιες σε αυτή την κατηγορία των εντόμων.

Η πλειονότητα των εντομοπαθογόνων μυκήτων ανήκει στους *Entomophthorales* (τάξη *Zygomycetes*) και στην τάξη *Hyphomycetes*. Οι *Entomophthorales* χαρακτηρίζονται από υψηλή εξειδίκευση προς τον ξενιστή, οι δε *Hyphomycetes* έχουν μεγαλύτερο φάσμα ξενιστών. (Τσαπικούνης, 1999)

Οι μύκητες μολύνουν είδη εντόμων από όλες τις τάξεις. Σε μερικές τάξεις τα ανήλικα στάδια μολύνονται συχνότερα σε αντίθεση με τα ενήλικα, ενώ σε κάποιες άλλες τάξεις συμβαίνει το αντίθετο. Το ωό και το νυμφικό στάδιο σπάνια προσβάλλονται. Στα προνυμφικά στάδια τα νεότερα είναι τα πιο ευαίσθητα και κυρίως κατά την περίοδο μετά την έκδυση (Tanada and Kaya 1993).

Οι *Beauveria*, ο *Paecilomyces* και ο *Metarhizium* έχουν ένα πολύ ευρύ φάσμα ξενιστών τα οποία προσβάλλουν, συμπεριλαμβανομένων εκατοντάδων ειδών εντόμων των τάξεων Ορθόπτερα, Κολεόπτερα, Λεπιδόπτερα, Ημίπτερα και Υμενόπτερα. Επιπλέον αναπτύσσονται γρήγορα σε εργαστηριακές συνθήκες, κάνοντάς τα ελκυστικά ως υποψήφιους βιολογικούς παράγοντες καταπολέμησης εχθρών (Deacon, 1997).

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΥΚΗΤΩΝ	ΤΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΕΙΔΗ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ
Α. ΦΥΚΟΜΥΚΗΤΕΣ	Entomophthorales - <i>Entomophthora</i> spp., <i>Zoophthora</i> spp., <i>Erynia</i> spp. - <i>Massospora</i> (<i>M. cicadina</i>), - <i>Conidiobolus</i> spp. Blastocladales - <i>Coelomomyces</i> spp. (<i>C. stegomyiae</i> , <i>C. tasmaniensis</i> , παθογόνα κουνουπιών) Lagenidiiales - <i>Lagenidium giganteum</i> (παθογόνο κουνουπιών)
Β. ΑΣΚΟΜΥΚΗΤΕΣ	Ascosphaerales <i>Bettsia</i> sp. <i>Ascosphaera</i> (παθογόνα μελισσών) (<i>A. apis</i>) Myriangiales <i>Myriangium</i> spp. (παθογόνα Coccoidae) Sphaeriales <i>Cordyceps</i> spp. <i>Torrubiella</i> spp. <i>Hypocrella</i> spp.
Γ. ΑΤΕΛΕΙΣ ΜΥΚΗΤΕΣ	Moniliales <i>Beauveria</i> spp. (<i>B. bassiana</i> , παθογόνο πολλών ειδών εντόμων), (<i>B. tenella</i> = <i>B. brongniarti</i>) (παθογόνο του <i>Melolontha melolontha</i>) <i>Metarhizium</i> (<i>M. anisopliae</i>) [παθογόνο του <i>Anisopliae austriaca</i> (Scarabaeidae)] <i>Nomuraea</i> (= <i>Spicaria</i>) (<i>N. rileyi</i>) (παθογόνο του <i>Trichoplusia ni</i> κ.α Noctuidae) <i>Paecilomyces</i> spp. <i>Hirsutella</i> (<i>H. thompsonii</i>) (παθογόνο του ακάρεως <i>Phyllocoptuta oleivora</i>) <i>Culicomycetes clavosporus</i> <i>Lecanicillium lecanii</i> <i>Tolypocladium cylindrosporum</i>
	Sphaeropsidales

Πίνακας 1. Τάξεις και μερικά είδη εντομοπαθογόνων μυκήτων (Tanada and Kaya 1993)

Η μόλυνση του εντόμου γίνεται μέσω επαφής του με σπόρια του μύκητα τα οποία διαδίδονται με τον αέρα ή τη βροχή (Hall, 1981). Ο κύκλος ανάπτυξης των εντομοπαθογόνων μυκήτων περιλαμβάνει τα ακόλουθα: προσκόλληση των κονιδίων στο δερμάτιο του ξενιστή, σχηματισμός του βλαστικού σωλήνα, διάτρηση του δερματίου, παραγωγή ενζύμων προς διευκόλυνση της διαδικασίας εισβολής, βλαστική ανάπτυξη μέσα στον ξενιστή, χρήση των θρεπτικών συστατικών και εγκατάσταση, παραγωγή τοξινών και μολυσματικών παραγόντων για την καταστολή του συστήματος άμυνας και παραγωγή εξωτερικών κονιδιοφόρων μετά το θάνατο του εντόμου (Hung et al. 1993, Khachatourians 1996).

Η αναγνώριση του ευαίσθητου ξενιστή εξαρτάται τόσο από χημικά όσο και από χαρακτηριστικά του δερματίου του ξενιστή (Hajek and St. Leger 1994). Το δερμάτιο έχει επίδραση στην συμπεριφορά βλάστησης, την παθογένεια ενός ΕΠΜ και καθορίζει επίσης την εξειδίκευση του ΕΠΜ (Hall and Papieroc 1982, Butt et al. 1995).

Η διείσδυση του ΕΠΜ μπορεί να γίνει από την κεφαλή, το θώρακα, την κοιλία, τα αναπνευστικά τρήματα, τα σιφώνια (προνούμφες κουνουπιών), την έδρα, τις τραχείες και τις μεμβράνες. Ο βλαστικός σωλήνας σε συνδυασμό με εξωκυτταρικά αποικοδομιτικά ένζυμα του δερματίου όπως πρωτεάσες, λιπάσες και χιτινάσες διατρύπα το δερμάτιο σχεδόν απευθείας και σπάνια από πληγές ή αισθητήρια όργανα. (Pecrul and Grula 1978, Mohamed et al. 1979, Brey et al. 1986, Butt 1990, St Leger et al. 1991)

Μετά τη διείσδυση ο μύκητας αναπτύσσεται στο αιμόκοιλο και προσβάλλει όλους τους ιστούς του ξενιστή (Latge and Papierok 1988). Η διείσδυση στη σωματική κοιλότητα και την αιμολέμφο ακολουθείται από κυτταρικές αντιδράσεις άμυνας ενώ ο μύκητας παράγει πολλαπλασιαστικές μονάδες, τοξικούς μεταβολίτες, όπως τα κυκλοδεσιπεπίδια και οι κυκλοσπορίνες, και αλληλεπιδρά με το μηχανισμό άμυνας (Hung et al. 1993, Pendland et al 1993). Η είσοδος του παθογόνου στο εσωτερικό του εντόμου καταλήγει στην αποδιοργάνωση των φυσιολογικών του λειτουργιών και στην ανάπτυξη ασθένειας. Οι θέσεις προτίμησης ποικίλουν και μπορεί να

προτιμηθούν προσβολές σε μύες, αιμολέμφο, ιστούς και όργανα, λιπώδη ιστό, νεύρα κ.ά. Ο ξενιστής πεθαίνει συνήθως 3-6 ημέρες μετά την αρχική μόλυνση. Οι αιτίες που προκαλούν το θάνατο του ξενιστή είναι:

1. Η καταστροφή των ιστών
2. Οι τοξίνες του μύκητα.
3. Η προκαλούμενη από το μύκητα ασιτία.



Διάγραμμα 1. Γενικά στάδια μόλυνσης ενός ΕΙΠΜ (Charnley 1989)

Επίδραση διατροφής εντόμου – ανάπτυξη εντομοπαθογόνου μύκητα

Η ανάπτυξη των εντομοπαθογόνων μυκήτων μέσα στους ξενιστές επηρεάζεται όχι μόνο από τους μηχανισμούς άμυνας του εντόμου αλλά και από την τροφή που βρίσκει μέσα σε αυτό ο μύκητας.

Ο Goettel et al. (1993) αναφέρει ότι η μέλισσα, *Megachile rotundata*, εκτρεφόμενη σε φυσικό υπόστρωμα ήταν γενικά λιγότερο ευαίσθητη στον *Ascospheera aggregata* συγκρινόμενη με άτομα εκτρεφόμενα σε τεχνητά υλικά. Η προσθήκη αλκαλοειδών ή μιας ποικιλίας φυτικών εκχυλισμάτων σε θρεπτικά μέσα περιόρισαν την ανάπτυξη του *B. bassiana* (Costa and Gaugler 1988 και Raghavaiah and Jayaramaiah 1987) και του *N. rileyi* (Gallardo et al. 1990).

Η άμυνα των εντόμων

Τα έντομα στερούνται ανοσοποιητικού συστήματος κατά των μικροοργανισμών όπως αυτό των θηλαστικών, δηλαδή εξειδικευμένα αντισώματα, ανοσολογική μνήμη, μακροπρόθεσμη ανοσοποίηση (Gotz and Boman 1995) ωστόσο έχουν αναπτύξει κάποιους μηχανισμούς προστασίας. Το πρώτο σημαντικό μέσο άμυνάς τους είναι ο εξωσκελετός, που αποτελεί μηχανικό εμπόδιο για προσβολές από μικροοργανισμούς. Στο εσωτερικό τους μηχανισμούς άμυνας των εντόμων αποτελούν η φαγοκύττωση, ο εγκλεισμός, η παραγωγή αντιβακτηριακών πρωτεϊνών και η παραγωγή παρεμποδιστών πρωτεάσης (Panayidou et al., 2013). Σύμφωνα με τους Pendland και Boucias(1986) τα σακχαρίδια και άλλα συστατικά που εκκρίνονται από τον μύκητα για τη σύνθεση των κυτταρικών τοιχωμάτων είναι τα κλειδιά-προκλήσεις για την αντίδραση του αμυντικού μηχανισμού. (Τσαπικουνής, 1999)

Το εμπόδιο του δερματίου

Τα αρθρόποδα περιβάλλονται από ένα προστατευτικό περίβλημα, το δερμάτιο, το οποίο είναι σχετικά παχύ και αποτελείται από πολλές στρώσεις. Το δερμάτιο παρέχει μια αρκετά αποτελεσματική προστασία κατά της εισόδου βακτηρίων και ιών, όπως κάνει και το επιθήλιο του στομάχου τους. Μόνο οι ΕΠΙΜ μπορούν να διαπεράσουν το δερμάτιο (Charnley and St. Leger 1991).

Τα σπόρια των ΕΠΙΜ κολλάνε στον εξωσκελετό των ξενιστών και βλαστάνουν σχηματίζοντας ειδικές δομές όπως το appressorium και οι υφές διείδυσης. Η είσοδος γίνεται με συνδυασμό μηχανικής πίεσης και δράσης υδρολυτικών ενζύμων που λύουν

την πρωτεΐνη, τη χιτίνη, και τα λιπίδια που αποτελούν τη σύσταση του δερματίου. Τα σημεία εισόδου είναι κυρίως οι μεμβράνες που βρίσκονται στους συνδέσμους και μεταξύ των τμημάτων του σώματος των εντόμων και δευτερευόντως οι πληγές και τα αισθητήρια όργανα (Vega et Kaya, 2012).

Η αντίσταση του ξενιστή

Τα αρθρόποδα έχουν κάποιους μηχανισμούς αντίστασης που μπορεί να είναι αποτελεσματικοί είτε στο δερμάτιο είτε στο εσωτερικό του σώματός τους (Charnley 1984; Charnley and St. Leger 1991). Η αντίδραση των αρθροπόδων στις πληγές είναι η παραγωγή μιας μαύρης χρωστικής, της μελανίνης, που δημιουργείται από την οξείδωση και τον πολυμερισμό φαινολικών συμπλόκων. Σε αρκετά αρθρόποδα τα πρώτα σημάδια μιας μόλυνσης είναι σκούρα σημάδια στο δερμάτιο, που περιβάλλουν την υφή που διεισδύει ή καλύπτουν όλη την περιοχή της μόλυνσης. Αυτά τα μαυρισμένα σημεία εμπλέκονται στην αντίσταση του ξενιστή και στον περιορισμό της εξάπλωσης της μόλυνσης. Η δράση τους αυτή ενδεχομένως οφείλεται 1) στο ότι περιέχουν μυκητοτοξικές ουσίες, 2) παρέχουν ένα φυσικό εμπόδιο για την ανάπτυξη του μύκητα, 3) περιορίζουν τη διάχυση των κυττολυτικών ενζύμων και τοξινών των μυκήτων και τη διαθεσιμότητα των θρεπτικών στοιχείων, νερού και οξυγόνου του ξενιστή.

Αν ο μύκητας διαπεράσει το δερμάτιο και εισέλθει στο εσωτερικό τότε εμπλέκεται η αιμολέμφο στην άμυνα του ξενιστή. Σε κάποια αρθρόποδα τα κύτταρα της αιμολέμφου συγκεντρώνονται κοντά στον μύκητα που διαπερνά την επιδερμίδα και δρουν σαν φαγοκύτταρα, καταναλώνοντας και καταστρέφοντας τις μυκηλιακές δομές (φαγοκύττωση). Εναλλακτικά, συγκεντρώνονται γύρω από κάποια μυκηλιακή δομή, σχηματίζοντας μία κάψουλα που μηχανικά απομονώνει το μύκητα και δεν του επιτρέπει περαιτέρω εξάπλωση (ενθυλάκωση). Οι μοριακοί μηχανισμοί της ενθυλάκωσης δεν έχουν γίνει πλήρως κατανοητοί, αλλά η N-γλυκόζη που βρίσκεται στη μεμβράνη των κυττάρων της αιμολέμφου έχει ρόλο κλειδί για το έναυσμα της ενθυλάκωσης (Mortimer et al., 2012). Παράλληλα με το κυτταρικό μηχανισμό άμυνας, τα έντομα συνθέτουν μεγάλο αριθμό αντιμυκητιακών πεπτιδίων ως αντίδραση στη μόλυνση. Τα πεπτίδια αυτά παράγονται στο συκώτι και εκκρίνονται στην αιμολέμφο, όπου καταστρέφουν την κυτταρική δομή του μύκητα (Lemaitre et Hoffman, 2007). Σακχαρίδια και άλλα συστατικά που εκκρίνει ο μύκητας για τη

σύνθεση των κυτταρικών τοιχωμάτων φαίνεται να είναι τα κλειδιά – προκλήσεις για την αντίδραση του αμυντικού συστήματος των εντόμων (Pendland and Boucias 1986).

Το ανοσοποιητικό σύστημα των εντόμων μπορεί να επηρεάσει ακόμα και τη συμπεριφορά του εντόμου. Ένα καλά μελετημένο παράδειγμα είναι ο συμπεριφορικός πυρετός. Τα έντομα αναζητούν περιβάλλοντα με θερμοκρασίες ανώτερες από τις ιδανικές με σκοπό να ανέβει η θερμοκρασία του σώματός τους και να περιορίσουν την ανάπτυξη του παθογόνου. Η μεταναστευτική ακρίδα *Locusta migratoria* μπορεί να ξεπεράσει τη μόλυνση από *Metarhizium* εκθέτοντας το σώμα της στον ήλιο και ανεβάζοντας τη θερμοκρασία σε επίπεδα πυρετού (Ouedraogo et al., 2003)

Πιθανές στρατηγικές με τις οποίες οι ΕΠΜ ξεπερνούν τις εσωτερικές αντιδράσεις άμυνας του είναι: 1. Τα κύτταρα του ΕΠΜ πιθανώς φέρουν περίβλημα ουδέτερο προς τα κυκλοφορούντα αιμοκύτταρα, 2. Ο μύκητας παράγει ουσίες με τις οποίες καταστέλλει το κυτταρικό σύστημα άμυνας και 3. Τα κύτταρα του μύκητα πιθανόν είναι ανεκτικά προς το σύστημα άμυνας του εντόμου (Boucias and Latge 1986, Boucias and Pendland 1991, Hung et al. 1993). Πολύ πιθανόν είναι οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας να οφείλονται σε τοξικούς μεταβολίτες παραγόμενους από τους ΕΠΜ όπως οι δεστρουξίνες (Khachatourians, 1996).

Χαρακτηριστικά προσβεβλημένων εντόμων

Η προσβολή εντόμων από παθογόνους μικροοργανισμούς συνοδεύεται από αλλαγές στη συμπεριφορά τους. Οι αλλαγές αυτές συνίστανται σε:

- μείωση της διατροφής του εντόμου, η οποία είναι μια αγνοημένη ωφέλεια της χρήσης εντομοπαθογόνων μυκήτων,
- νωθρότητα στην μετακίνηση
- διαταραχές στην ωοτοκία και σε άλλες φυσιολογικές λειτουργίες

Το πιο εμφανές χαρακτηριστικό μιας μυκητολογικής προσβολής είναι η παρουσία μυκηλίου επάνω ή εντός του προσβεβλημένου εντόμου. Στα πρώτα στάδια της προσβολής, το έντομο μπορεί να δείξει κάποιες γενικές επιδράσεις ασθένειας όπως

παύση διατροφής, αδυναμία και αποπροσανατολισμός. Ο ξενιστής συχνά αλλάζει χρώμα, και το δερμάτιο ίσως έχει σκούρα σημάδια που καταδεικνύουν διείσδυση από μύκητα. Τελικά το παρασιτισμένο έντομο πεθαίνει και γεμίζει εσωτερικά και εξωτερικά με βλαστάνουσες υφές του μύκητα.

Μακροσκοπική αναγνώριση του μολυσματικού μύκητα

Υπάρχουν διάφορα στοιχεία για το είδος του μύκητα που προκάλεσε τη μόλυνση στον ξενιστή. Ένα έντομο καλυμμένο με κονιώδη άσπρα σπόρια μύκητα εξετάζεται πρώτα για μόλυνση από *Beauveria bassiana*. Αντίστοιχα πράσινα σπόρια καταδεικνύουν μόλυνση από *Metarrhizium anisopliae* και κίτρινα σπόρια το γένος *Raecilomyces*. Εκτός από το χρώμα ενδείξεις για τον ΕΠΜ μύκητα που παρασίτισε το έντομο είναι η στάση του ξενιστή κατά το θάνατό του και η συνεκτικότητα του σώματος.

Μέθοδοι εξέτασης

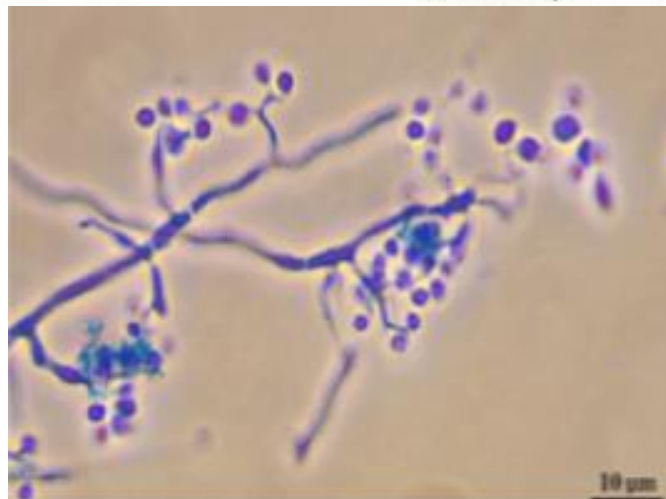
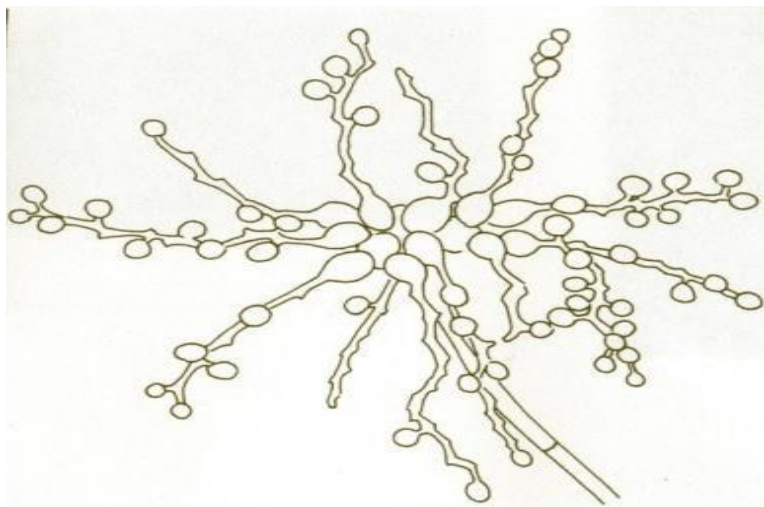
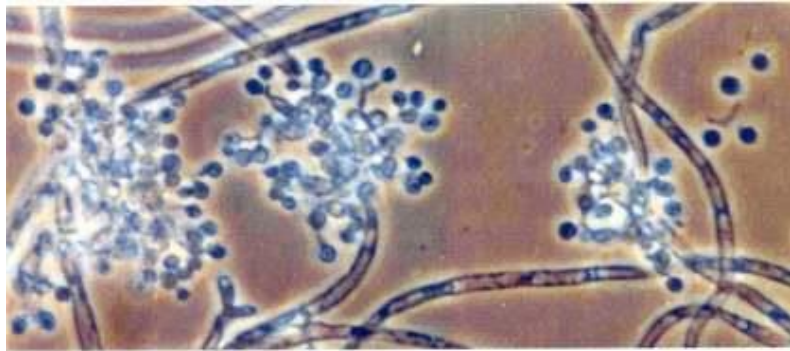
Βλέποντας ένα έντομο καλυμμένο με μύκητα είναι δύσκολο να γνωρίζουμε αν ο μύκητας αυτός είναι ΕΠΜ ή σαπροφυτικός, γι' αυτό είναι καλύτερα να κάνουμε αναγνώριση όλων των μυκήτων που υπάρχουν στο έντομο.

Τα σπόρια των μυκήτων ή το μυκήλιο, μεταφέρονται με σταγόνα νερού σε μια καλυπτρίδα και εξετάζονται στο μικροσκόπιο. Τα χαρακτηριστικά που εξετάζονται είναι το μέγεθος και το σχήμα των σπορίων, η προσκόλληση στις υφές και η παρουσία ή μη κυτταρικών μεμβρανών. Η διάγνωση γίνεται με βάση διαγνωστικές κλείδες για εντομοπαθογόνους μύκητες από τη βιβλιογραφία (Poinar and Thomas, 1978).

2.2 Ο μύκητας *Beauveria bassiana*

Ο μύκητας *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Moniliales) συνιστάται για την καταπολέμηση αφίδων, θριπών, αλευρωδών, κολεοπτέρων, ημιπτέρων κ.ά. Το όνομα του, το πήρε από τον Ιταλό εντομολόγο Agostino Bassi, οποίος και τον

ανακάλυψε το 1835 ως αίτιο για την άσπρη εξάνθηση που βρέθηκε στο *Bombyx mori*.



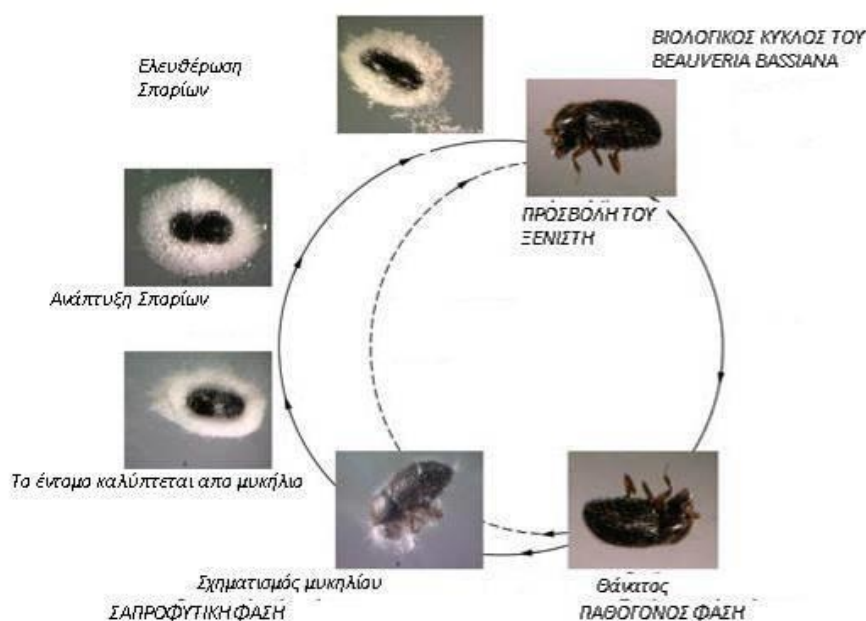
Εικόνα 11. Ο μύκητας *Beauveria bassiana* (*Balsamo*) *Vullemin* (Πηγή: Rehner and Buckley, 2005)

Ανήκει στους Δευτερομύκητες. Είναι παθογόνος σε πάνω από 700 είδη εντόμων, μεταξύ των οποίων και είδη οικονομικής σημασίας για τον άνθρωπο όπως ο μεταξοσκώληκας και η μέλισσα. Εισέρχεται με διάτρηση της επιδερμίδας από το βλαστικό σωλήνα με χρήση μηχανικής πίεσης και κυτταρολυτικών ενζύμων. Τα

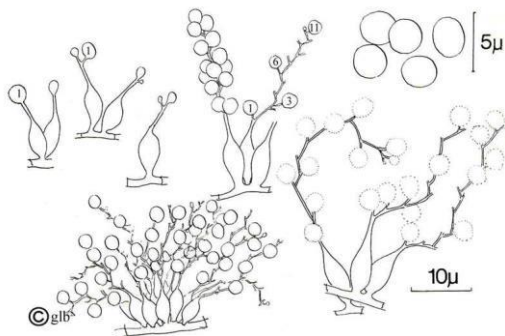
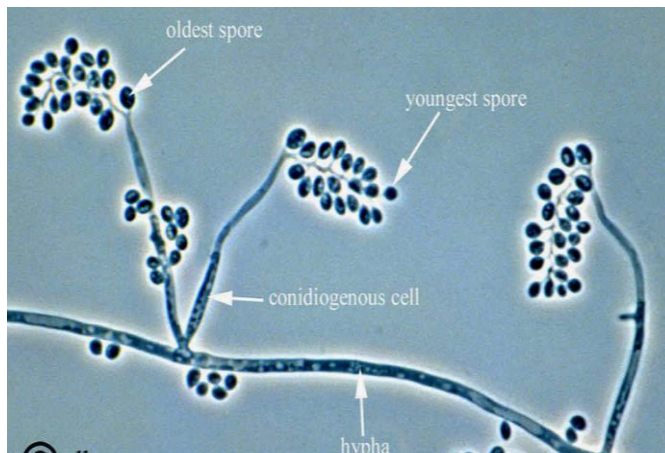
μυκηλιακά νημάτια καταναλώνουν τη χιτίνη και έπειτα εξαπλώνονται μέσα στο σώμα του ξενιστή, και τελικά οι υφές του μύκητα διασπείρονται σε όλα τα μέρη του εντόμου καταστρέφοντας όλα τα εσωτερικά όργανά του. Ο θάνατος του εντόμου προκαλείται είτε από τοξίνες που παράγει ο μύκητας είτε από το αυξημένο ιξώδες της αιμολέμφου. Μετά το θάνατό του το έντομο σκληραίνει και γίνεται πιο σκούρο. Οι υφές του μύκητα αναδύονται στην εξωτερική επιφάνεια του πτώματος μέσα σε 24-48 ώρες από το θάνατο του εντόμου και κάτω από συνθήκες υψηλής υγρασίας παράγουν κονίδια. (Landecker, 1996).

Το έντομο μπορεί να επιζήσει μέχρι και 3-5 μέρες αφού μολυνθεί. Όταν ο μύκητας τελικά σκοτώσει το έντομο αναπτύσσει μία λευκή εξάνθηση γύρω από το σώμα του η οποία παράγει εκατομμύρια νέα σπόρια τα οποία απελευθερώνονται στο περιβάλλον. Τα κονίδια του μύκητα είναι μονοκύτταρα, απλοειδή και υδρόφοβα (Rehner and Buckley, 2005). Στην Ευρώπη κυκλοφορούν εμπορικά σκευάσματα με βάση τον μύκητα *Beauveria bassiana* όπως τα Naturalis-L, Bio-power, Botanigard κ.α.

Ο μύκητας αυτός δεν παρουσιάζει φυτοτοξικότητα ούτε δημιουργεί τοξικότητες σε πτηνά, ζώα και ψάρια (Copping, 2001)



Εικόνα 12. Βιολογικός κύκλος του *Beauveria bassiana* (Πηγή: Copping, 2001)



Εικόνα 13. Κονίδια Beauveria bassiana (Πηγή: Copping, 2001)

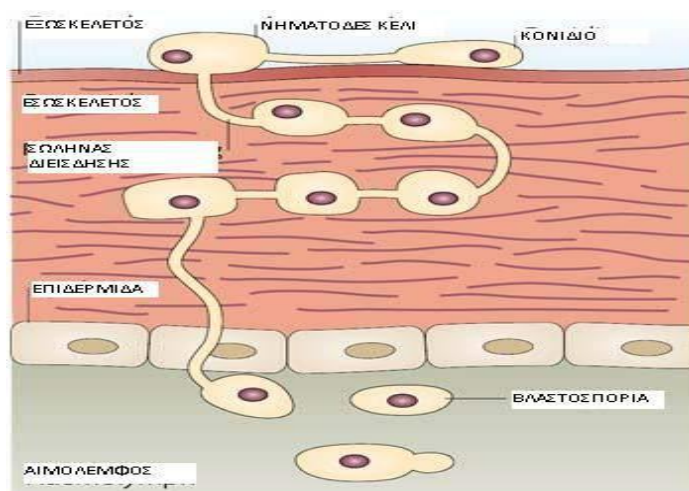
2.3 Ο μύκητας *Metarhizium anisopliae*

Ο *Metarhizium anisopliae* (Moniliales) γνωστός παλαιότερα ως *Entomophthora anisopliae*, είναι ένας μύκητας που απαντάται σε ολόκληρο τον κόσμο. Απέκτησε το όνομα του όταν το 1879 ο I.I. Mechnikov, τον απομόνωσε από σκαθάρι *Anisoplia austriaca*. Στην συνέχεια τον χρησιμοποίησε για τον έλεγχο του κολεοπτέρου *Cleonus punctiventris* και ο οποίος τελικά το συνέστησε για τη βιολογική αντιμετώπιση των εντόμων. Έχει αναφερθεί ότι προσβάλλει περίπου 200 είδη εντόμων (McCoy et al., 1988) και άλλων αρθροπόδων. Αν και παρουσιάζει μεγάλα ποσοστά θνησιμότητας στα έντομα δεν αποτελεί κίνδυνο για τα θηλαστικά παρά μόνο μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις σε ευαίσθητα άτομα.

Ο μύκητας εισέρχεται από τους πόρους του τραχειακού συστήματος (Solomon et al., 2002). Μόλις εισέρθει στο εσωτερικό του εντόμου παράγει κονίδια που σε

ηλεκτρονικό μικροσκόπιο φαίνονται σαν μακρές, διακλαδιζόμενες υφές και σχηματίζουν νηματοειδή κελιά. Ο *M. anisopliae* θρέφεται από τα λιπίδια που αποτελείται η επιδερμίδα του εντόμου. Επίσης είναι ικανός να απελευθερώνει σπόρια υπό χαμηλές συνθήκες υγρασίας (<50%). Επιπλέον μπορεί να παράγει δευτερογενείς μεταβολίτες, που είναι ουσίες τοξικές για τα έντομα αλλά και πρωτεϊνολυτικά ένζυμα (Suzuki et al., 1966, 1970, και 1971).

Εάν η υγρασία είναι αρκετά υψηλή, εμφανίζεται μια λευκή εξάνθηση στο σώμα του εντόμου που σιγά – σιγά αυξάνεται και σε σύντομο χρονικό διάστημα μεταχρωματίζεται σε πράσινη (Tanada and Kaya, 1993).



Εικόνα 14. Τρόπος διείσδυσης του *M. anisopliae* στο εσωτερικό του εντόμου (Πηγή: Tanada and Kaya, 1993)

Μερικά έντομα έχουν αναπτύξει μηχανισμούς για να περιοριστούν οι λοιμώξεις που προκαλούνται από τον *M. anisopliae*. Για παράδειγμα το *Schistocerca gregaria* (η ακρίδα της ερήμου) παράγει αντί – μυκητιακές τοξίνες οι οποίες αναστέλλουν την βλάστηση των σπορίων. Επιπλέον ορισμένα είδη εντόμων μπορούν να ξεφύγουν από την προσβολή αναπτύσσοντας ταχύτατα ένα νέο κέλυφος, πριν τα κονίδια του μύκητα διαπεράσουν την επιδερμίδα (Dillon et Charnley, 1986).

Ο *Metarrhizium anisopliae* παράγει κάποιες μυκοτοξίνες, τις δεστρουξίνες, μία ομάδα δευτερογενών μεταβολιτών, οι οποίες θεωρούνται από τα πιο σημαντικά νέας γενιάς εντομοκτόνα (Tanada and Kaya 1993). Ο *Metarrhizium anisopliae* όπως και ο *Beauveria bassiana* διαθέτουν μια σειρά από εξωκυτταρικά πρωτεολυτικά ένζυμα τα οποία αποδομούν το πρωτεϊνούχο δερμάτιο των εντόμων (St. Leger et al. 1992, Paterson et al. 1994).

Το Bioblast είναι μία εμπορική διαθέσιμη μορφή του εντομοπαθογόνου μύκητα *M. anisopliae* που χρησιμοποιείται για το έλεγχο των τερμιτών του γένους *Reticulitermes* spp. Ο μύκητας εφαρμόζεται πάνω στο ξύλο όπου είναι γνωστό ότι οι τερμίτες διατηρούν τις στοές τους και καθώς αναπτύσσουν τις στοές τους έρχονται σε επαφή με τα κονίδια του μύκητα. Παράλληλα με αυτήν την μέθοδο προκαλούμε εξάπλωση του παθογόνου μύκητα σε υγιή, μη μολυσμένα άτομα της αποικίας. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο θάνατος επέρχεται σε 4 έως 10 ημέρες ανάλογα με την θερμοκρασία.

Εάν η υγρασία είναι αρκετά υψηλή, εμφανίζεται μια λευκή εξάνθηση στο κουφάρι του εντόμου που σιγά – σιγά αυξάνεται και σε σύντομο χρονικό διάστημα μεταχρωματίζεται σε πράσινη (Tanada and Kaya, 1993).



Εικόνα 15. Υφές και κονίδια *Metarhizium anisopliae* (Πηγή: Wraight et al., 2000)

2.4 Ο μύκητας *Paecilomyces fumosoroseus*

Ο *Paecilomyces fumosoroseus* είναι ένας από τους πιο σημαντικούς φυσικούς εχθρούς πολλών ειδών αλευρωδών παγκοσμίως (Wraight et al., 2000).

Θεωρείται πολύ ελπιδοφόρος βιολογικός παράγοντας για τον έλεγχο βλαβερών εντόμων. Στην Ευρώπη κυκλοφορεί το εμπορικό σκεύασμα PreFeRal με ένδειξη εναντίον του *Trialeurodes vaporariorum* σε τομάτα και αγγούρι.

Το *P. fumosoroseus*, ακριβώς όπως το *B. bassiana*, παράγει κονίδια σε στερεό υπόστρωμα και βλαστοσπόρια σε υγρό υπόστρωμα. Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στην ερευνητική μονάδα USDA-ARS (Illinois) διαπιστώθηκε

ότι τα βλαστοσπόρια βλαστάνουν ταχύτερα και σε μεγαλύτερο ποσοστό στην επιδερμίδα του αλευρώδη σε σχέση με τα κονίδια. Η διαπίστωση αυτή δείχνει ότι η χρήση των βλαστοσπορίων για την ανάπτυξη των εμπορικών σκευασμάτων θα ήταν συμφέρουσα συγκριτικά με τη χρήση των κονιδίων. Διάφορα γεωργικά προϊόντα έχουν εξεταστεί ως συστατικά σκευασμάτων και μερικά υπόσχονται τη διατήρηση της βιωσιμότητας των βλαστοσπορίων στο πέρασμα του χρόνου (Fernando et al., 1999).



Εικόνα 16. Προσβολή κολεοπτέρου από *Paecilomyces fumosoroseus* (Πηγή: Fernando et al., 1999).



Εικόνα 17. Καλλιέργεια *Paecilomyces fumosoroseus* σε θρεπτικό μέσο (Πηγή: Fernando et al., 1999).

Σκοπός

Σκοπός της μελέτης ήταν να εξεταστεί εργαστηριακά η επίδραση των εντομοπαθογόνων μυκήτων *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* και *Raecilomyces fumosoroseus* σε προνύμφες *Thaumetopoea pityocampa*, προνύμφες *Xanthogaleruca luteola* και ακμαία *Rhynchoforus ferrugineus*.

Δοκιμάστηκαν διαλύματα των μυκήτων σε πυκνή και αραιή συγκέντρωση:

- *Beauveria bassiana*: $2,11 \times 10^7$ και $2,11 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Raecilomyces fumosoroseus*: $1,81 \times 10^7$ και $1,81 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Metarhizium anisopliae*: $1,77 \times 10^7$ και $1,77 \times 10^8$ κονίδια/ml

Τα υπό δοκιμή έντομα εμβαπτίστηκαν σε διαλύματα κονιδίων. Κατά τη διάρκεια των δοκιμών χορηγούνταν τροφή στα υπό δοκιμή άτομα και διατηρούνταν υψηλή υγρασία εντός των τρυβλίων μέσω ψεκάσμού τους με νερό ανά 3 ημέρες. Τα τρυβλία διατηρούνταν σε εντομολογικούς θαλάμους με συνθήκες θερμοκρασίας $27 \pm 0.1^\circ\text{C}$, σχετική υγρασία $65 \pm 5\%$ και αναλογία φωτός/σκότος, 16:8 ώρες.

Στη συνέχεια καταγράφονταν η θνησιμότητα των εντόμων ανά 3 ημέρες και η ανάπτυξη εξανθήσεων των μυκήτων μακροσκοπικά και στο μικροσκόπιο.

3.1.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

3.1.1 Προέλευση και καλλιέργεια απομονώσεων εντομοπαθογόνων μυκήτων.

Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *Bauveria bassiana* (τόπος συλλογής: Τατόϊ), *Raecilomyces fumosoroseus* (τόπος συλλογής: Άγιος Στέφανος) και *Metarhizium anisopliae* (τόπος συλλογής: Μαραθώνας) αποκτήθηκαν από τις μητρικές εκτροφές του Μπανάκειου Φ.Ι. και καλλιεργήθηκαν σε τρυβλία Petri (9 cm διαμέτρου) με Sabouraux Dextrose Agar (S.D.A.). Η απομόνωση έγινε με την βοήθεια ειδικής λαβίδας σε αποστειρωμένο θάλαμο (LAMINAR) έπειτα τα τρυβλία αυτά τοποθετήθηκαν σε επωαστικό θάλαμο στους 25°C με 75 ±5% υγρασία και παρέμειναν σε αυτές τις συνθήκες για 15 ημέρες ώστε το μυκήλιο και τα σπόρια του μύκητα να καλύψουν περίπου τα ¾ της επιφάνειας του τρυβλίου.



Εικόνα 18. Εστία νηματικής ροής



Εικόνα 19. Καλλιέργεια *B. bassiana*, *P. fumosoroseus* και *M. anisopliae* σε θρεπτικό μέσο SDA (Sabouraud Dextrose Agar)

3.1.2 Παρασκευή των διαλυμάτων

Για την παρασκευή των διαλυμάτων των εντομοπαθογόνων μυκήτων χρησιμοποιήθηκε διάλυμα του γαλακτωματοποιητή Tween 80 σε απεσταγμένο νερό και σε συγκέντρωση 0,05%.

Τα κονίδια του μύκητα αποσπάστηκαν και συγκομίστηκαν με την βοήθεια scraper έχοντας πρώτα ποτιστεί με 20ml από το παραπάνω διάλυμα. Το διάλυμα με τα σπόρια και τις υφές που συλλέχθηκε, τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως όπου ανακινήθηκε με την βοήθεια ενός μαγνητικού αναδευτήρα ώστε να αποσπαστούν τα σπόρια από τις υφές αλλά και τα σπόρια μεταξύ τους στην περίπτωση που σχηματίζουν αλυσίδες.



Εικόνα 20. Παρασκευή των διαλυμάτων των εντομοπαθογόνων μυκήτων



Εικόνα 21. Διαλύματα *P. fumosoroseus*, *B. bassiana* και *M. anisopliae*

Στη συνέχεια μέσω ειδικής σίτας αποσπάστηκαν τα σπόρια του διαλύματος και με την βοήθεια αιματοκυτταρόμετρου υπολογίστηκε η συγκέντρωση των κονιδίων ανά ml διαλύματος.



Εικόνα 22. Κονίδια *Beauveria bassiana* σε αιματοκυτταρόμετρο



Εικόνα 23. Κονίδια *Paecilomyces fumosoroseus* σε αιματοκυτταρόμετρο



Εικόνα 24. Κονίδια *Metarhizium anisopliae* σε αιματοκυτταρόμετρο

Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν

- ✓ Προνύμφες *X. luteola* 2^{ης} ηλικίας οι οποίες συλλέχθηκαν στις 6-11/5/14 από προσβεβλημένα δένδρα φτελιάς του Γ.Π.Α.
- ✓ Προνύμφες *T. pityocampa* 5^{ης} ηλικίας που συλλέχθηκαν στις 15/2/14 από παγίδες που είχαν στηθεί στο Μ.Φ.Ι. Επρόκειτο για παγίδα-εκτροφή η οποία αποτελούνταν από προσβεβλημένα από πευκοκάμπιες κλαδιά πεύκων, τα οποία είχαν κοπεί από τα δέντρα και αφεθεί στο έδαφος και τα οποία ήταν κλεισμένα σε τούλι ώστε να μη μπορούν οι προνύμφες να διαφύγουν.

- ✓ Ενήλικα *R. ferrungineus* που συλλέχθηκαν στις 25/9/14 από εκτροφή σε κλωβό που διατηρείται στο Μ.Φ.Ι. Στα έντομα αυτά χορηγούνταν μήλο ως τροφή τόσο κατά την εκτροφή τους όσο και κατά τη διάρκεια της βιοδοκιμής.

3.1.3 Βιοδοκιμές επί του *T. pityocampa*

Για τη διεξαγωγή των βιοδοκιμών επί του *T. pityocampa*, λαμβάνονταν προνύμφες του εντόμου από την τεχνητή εκτροφή. Για τις τρεις απομονώσεις των εντομοπαθογόνων μυκήτων και τις δύο συγκεντρώσεις διαλυμάτων τους, τοποθετούνταν σε πλαστικά τρυβλία τύπου Petri :

- ✓ 5x10 προνύμφες οι οποίες εμβαιπίστηκαν σε διαλύματα κονιδίων *Beauveria bassiana*, *Raecilomyces fumosoroseus* και *Metarhizium anisopliae* σε δύο συγκεντρώσεις για κάθε διάλυμα μύκητα.

Σε όλα τα τρυβλία τοποθετήθηκε διηθητικό χαρτί προκειμένου να διατηρείται η υγρασία με την προσθήκη κάθε 3η ημέρα απεσταγμένου νερού σε υψηλά επίπεδα (90%). Στα τρυβλία τοποθετήθηκαν φρέσκες πευκοβελόνες οι οποίες αντικαθιστούνταν κάθε 2^η ημέρα. Τα τρυβλία σφραγίζονταν με ειδική ταινία (PARAFILM) η οποία εξασφάλιζε στα έντομα επαρκή αερισμό. Το πείραμα επαναλήφθηκε δυο φορές. Τα τρυβλία παρέμεναν σε θαλάμους με συνθήκες θερμοκρασίας $27 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, σχετική υγρασία $65 \pm 5\%$ και αναλογία φωτός/σκότος, 16:8 ώρες.

Μετρήσεις θνησιμότητας καταγράφονταν κάθε: 24 ώρες, 3, 6, 9, 12 και 15 ημέρες.

Χρησιμοποιήθηκαν οι εξής συγκεντρώσεις:

- *Beauveria bassiana*: $2,11 \times 10^7$ και $2,11 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Raecilomyces fumosoroseus*: $1,81 \times 10^7$ και $1,81 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Metarhizium anisopliae*: $1,77 \times 10^7$ και $1,77 \times 10^8$ κονίδια/ml



Εικόνα 25. Προνύμφες *T. pityocampa* μέσα σε παγίδα τοποθετημένη σε χώρο του Μ.Φ.Ι

3.1.4 Βιοδοκιμές επί του *X. luteola*

Για τη διεξαγωγή των βιοδοκιμών επί του *X. luteola*, λαμβάνονταν προνύμφες του εντόμου που συλλέχτησαν από προσβεβλημένα δέντρα φτελιάς του Γ.Π.Α. Για τις τρεις απομονώσεις των εντομοπαθογόνων μυκήτων και τις δύο συγκεντρώσεις διαλυμάτων τους, τοποθετούνταν σε πλαστικά τρυβλία τύπου Petri :

- 5 τρυβλία με 10 προνύμφες οι οποίες εμβαπτίστηκαν σε διαλύματα κονιδίων *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* και *Metarhizium anisopliae* σε δύο συγκεντρώσεις για κάθε διάλυμα μύκητα.

Επίσης ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν:

- 5 τρυβλία με 10 προνύμφες που εμβαπτίστηκαν σε deltamethrin 2,5%.
- 5 τρυβλία με 10 προνύμφες που εμβαπτίστηκαν σε γαλακτωματοποιητή 0,05%
- 5 τρυβλία με 10 προνύμφες που δεν υπέστησαν καμία μεταχείριση.

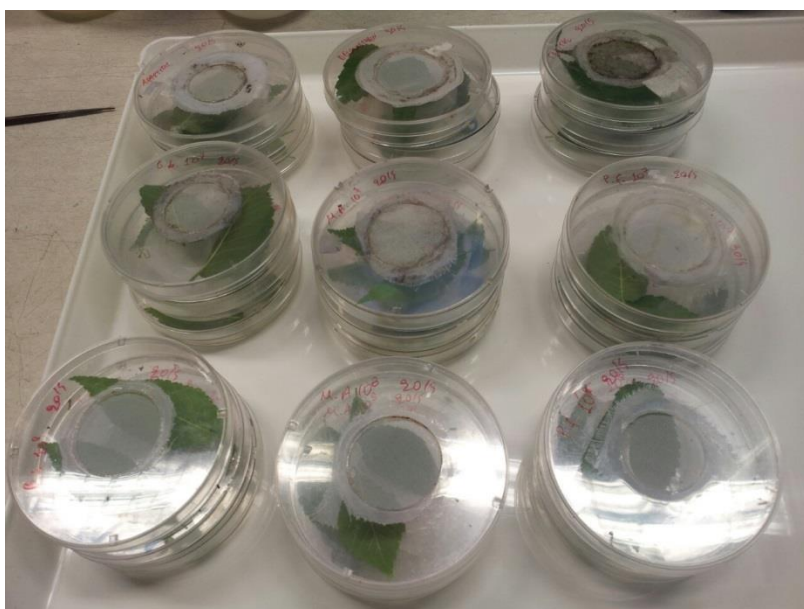
Σε όλα τα τρυβλία τοποθετήθηκε διηθητικό χαρτί προκειμένου να διατηρείται η υγρασία με την προσθήκη απεσταγμένου νερού σε υψηλά επίπεδα (90%). Στα τρυβλία τοποθετήθηκε φρέσκο φύλλο φτελιάς το οποίο αντικαθίσταντο κάθε 2^η ημέρα. Τα τρυβλία σφραγίζονταν με ειδική ταινία (PARAFILM) η οποία εξασφάλιζε στα έντομα

επαρκή αερισμό. Το πείραμα επαναλήφθηκε δυο φορές. Τα τρυβλία παρέμεναν σε θαλάμους με συνθήκες θερμοκρασίας $27 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, σχετική υγρασία $65 \pm 5\%$ και αναλογία φωτός/σκότος, 16:8 ώρες.

Μετρήσεις θνησιμότητας καταγράφονταν κάθε: 24 ώρες, 3, 6, 9, 12 και 15 ημέρες.

Χρησιμοποιήθηκαν οι εξής συγκεντρώσεις

- *Beauveria bassiana*: $2,11 \times 10^7$ και $2,11 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Raecilomyces fumosoroseus*: $1,81 \times 10^7$ και $1,81 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Metarhizium anisopliae*: $1,77 \times 10^7$ και $1,77 \times 10^8$ κονίδια/ml



Εικόνα 26. Βιοδοκιμές επί του *X. luteola*

3.1.5 Βιοδοκιμές επί του *R. ferrungineus*

Τα ακμαία του *R. ferrungineus* που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές αποκτήθηκαν από την εκτροφή του εργαστηρίου Γεωργικής εντομολογίας και Ζωολογίας το Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου η οποία διατηρούνταν σε κλωβό στους 27°C και $65 \pm 5\%$ σχετική υγρασία.

Για τη διεξαγωγή των βιοδοκιμών επί του *R. ferrungineus*, λαμβάνονταν ακμαία του εντόμου από την τεχνητή εκτροφή. Για τις τρεις απομονώσεις των

εντομοπαθογόνων μυκήτων και τις δύο συγκεντρώσεις διαλυμάτων τους τοποθετούνταν σε πλαστικά τρυβλία τύπου Petri :

- 5 τρυβλία με 5 ακμαία τα οποία εμβαπτίστηκαν σε διαλύματα κονιδίων *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* και *Metarhizium anisopliae* σε δύο συγκεντρώσεις για κάθε διάλυμα μύκητα.

Σε όλα τα τρυβλία τοποθετήθηκε διηθητικό χαρτί προκειμένου να διατηρείται η υγρασία με την προσθήκη κάθε 3^η ημέρα απεσταγμένου νερού σε υψηλά επίπεδα (90%). Τα τρυβλία σφραγίζονταν με ειδική ταινία (PARAFILM) η οποία εξασφάλιζε στα έντομα επαρκή αερισμό. Το πείραμα επαναλήφθηκε δυο φορές. Τα τρυβλία παρέμεναν σε θαλάμους με συνθήκες θερμοκρασίας $27 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$, σχετική υγρασία $65 \pm 5\%$ και αναλογία φωτός/σκότος, 16:8 ώρες.

Μετρήσεις θνησιμότητας καταγράφονταν κάθε: 24 ώρες, 3, 6, 9, 12 και 15 ημέρες.

Χρησιμοποιήθηκαν οι εξής συγκεντρώσεις

- *Beauveria bassiana*: $2,11 \times 10^7$ και $2,11 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Paecilomyces fumosoroseus*: $1,81 \times 10^7$ και $1,81 \times 10^8$ κονίδια/ml
- *Metarhizium anisopliae*: $1,77 \times 10^7$ και $1,77 \times 10^8$ κονίδια/ml



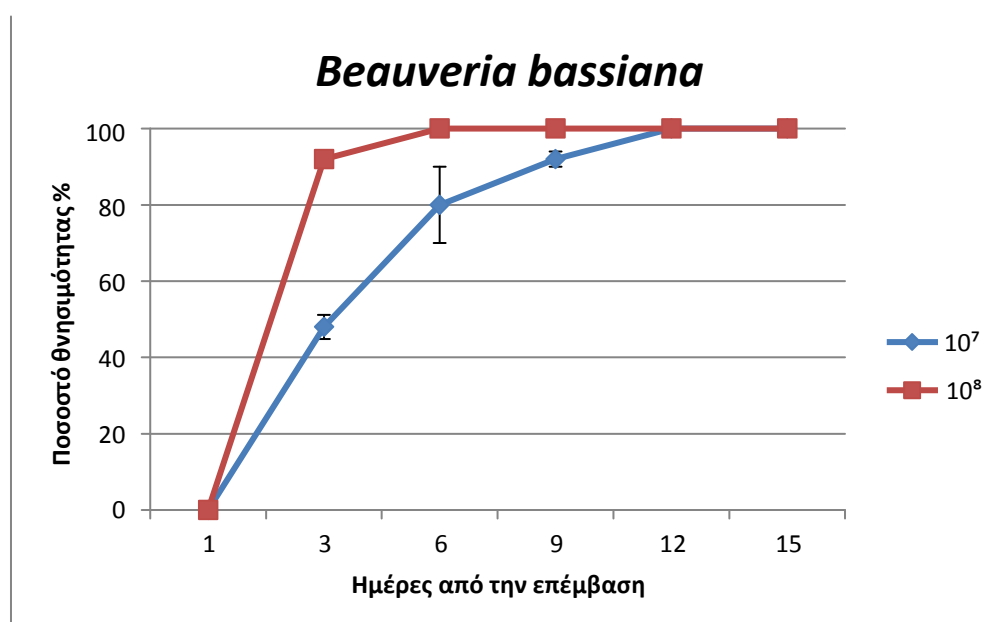
Εικόνα 27. Βιοδοκιμή επί του *R. ferrugineus*

3.2 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών παρουσιάζονται στις εικόνες και τα διαγράμματα που ακολουθούν.

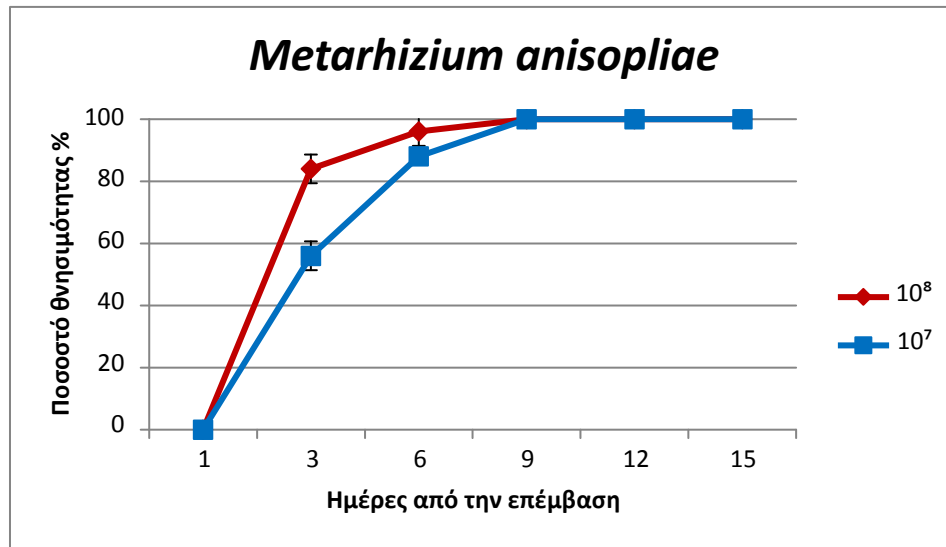
Thaumetopoea pityocampa

Στο διάγραμμα 1 ο μύκητας *Beauveria bassiana* στην υψηλή συγκέντρωση σπορίων επέφερε 100% θνησιμότητα στις προνύμφες *Thaumetopoea pityocampa* από μόλις την 6^η ημέρα, ενώ ήδη από την 3^η ημέρα το ποσοστό θνησιμότητας ξεπερνά το 90%. Η αραιή δόση του μύκητα επέφερε 100% θνησιμότητα από την 12^η ημέρα, με σταδιακή αύξηση της θνησιμότητας από την 3^η ημέρα.



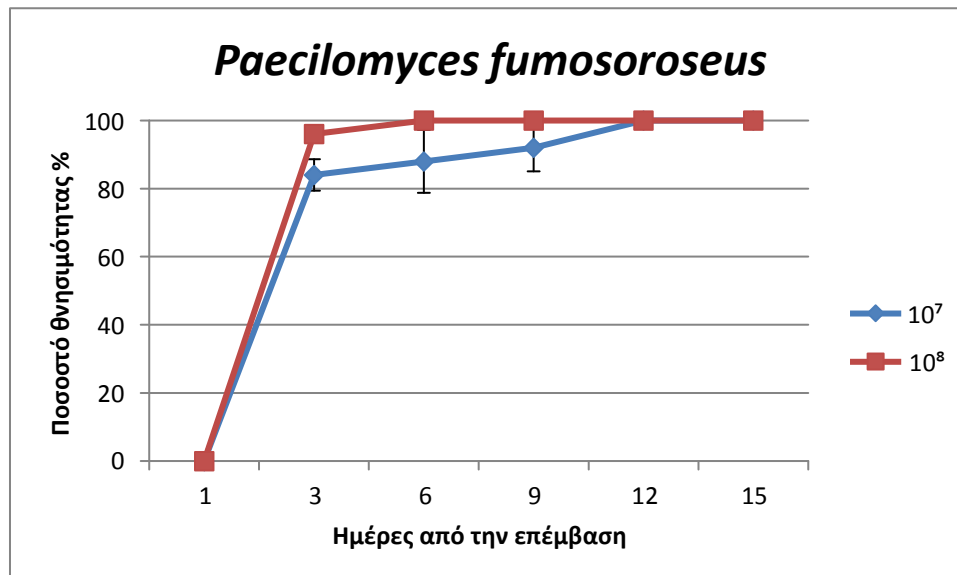
Διάγραμμα 1. Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών *Thaumetopoea pityocampa* μετά από εμφάνιση σε αραιό και πυκνό διάλυμα κονιδίων *Beauveria bassiana*.

Στο διάγραμμα 2, η υψηλή συγκέντρωση του μύκητα *Metarhizium anisopliae* επέφερε 100% θνησιμότητα στις προνύμφες *Thaumetopoea pityocampa* από την 9^η ημέρα, ενώ από την 3^η ημέρα το ποσοστό ήδη ξεπερνούσε το 80%. Στην αραιή δόση, 100% θνησιμότητα είχαμε επίσης από την 9^η ημέρα αλλά με μικρότερα ποσοστά τις προηγούμενες ημέρες, το ποσοστό 80% θνησιμότητας έφτασε την 6^η ημέρα.



Διάγραμμα 2. Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών *Thaumetopoea pityocampa* μετά από εμφάνιση σε αραιό και πυκνό διάλυμα κονιδίων *Metarhizium anisopliae*.

Στο διάγραμμα 3 ο μύκητας *Paecilomyces fumosoroseus* στην υψηλή δόση επέφερε σχεδόν 100% θνησιμότητα στις προνύμφες *Thaumetopoea pityocampa* από μόλις την 3^η ημέρα και μέχρι την 6^η ημέρα φτάνει το 100%, ενώ και στην αραιή του δόση, ποσοστό άνω του 80% έχουμε από την 3^η ημέρα και πλήρη θνησιμότητα έχουμε κατά την 12^η ημέρα.



Διάγραμμα 3. Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών *Thaumetopoea pityocampa* μετά από εμφάνιση σε αραιό και πυκνό διάλυμα κονιδίων *Paecilomyces fumosoroseus*.



**Εικόνα 28. Εξάνθηση *B. bassiana* σε
προνύμφη *T. ptyocampa***



**Εικόνα 29. Εξάνθηση *M. anisopliae* σε
προνύμφη *T. ptyocampa***

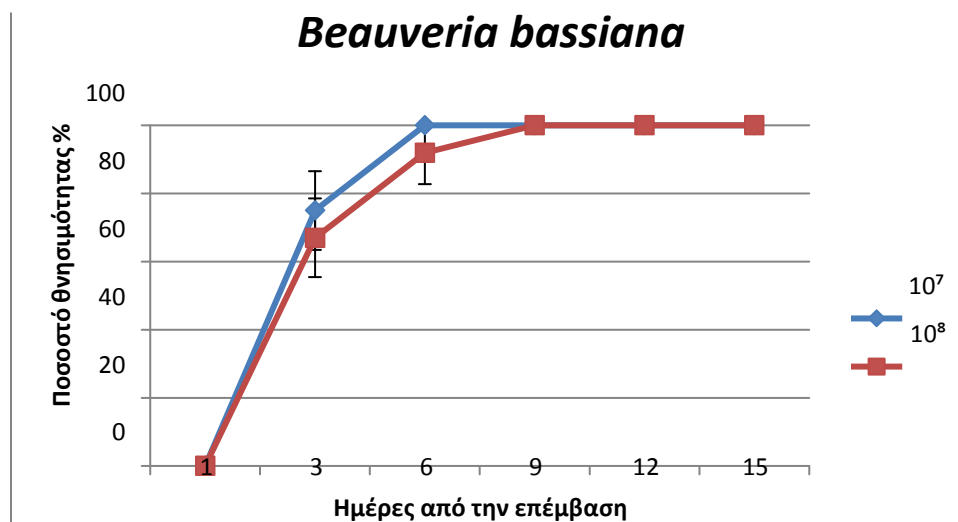


**Εικόνα 30. Εξάνθηση *P. fumosoroseus* σε
προνύμφη *T. ptyocampa***

Xanthogaleruca luteola

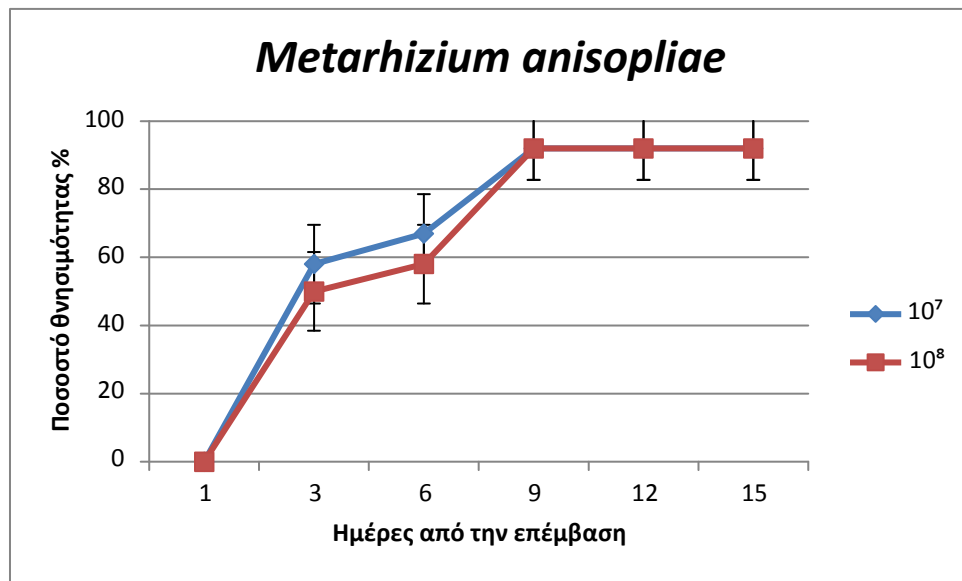
Στο διάγραμμα 4 δίδεται ότι ο *Beauveria bassiana* είχε την ίδια επίδραση τόσο στην αραιή όσο και στην υψηλή συγκέντρωση στις προνύμφες *Xanthogaleruca*

luteola, δηλαδή επέφερε θνησιμότητα άνω του 90% από την 6^η ημέρα και έπειτα. Στην 3^η ημέρα τα ποσοστά ήταν υψηλά και στις δύο συγκεντρώσεις και έφτασαν περίπου το 75%.



Διάγραμμα 4. Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών *Xanthogaleruca luteola* μετά από εμφάνιση σε αραιό και πυκνό διάλυμα κονιδίων *Beauveria bassiana*.

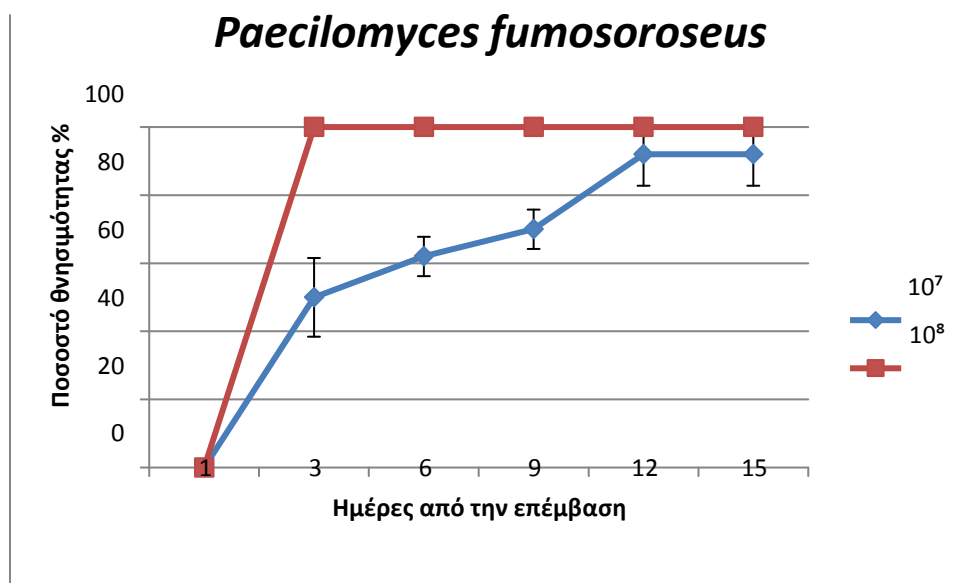
Στο διάγραμμα 5 παρουσιάζεται ότι ο *Metarhizium anisopliae* είχε επίσης την ίδια επίδραση στην πυκνή και αραιή συγκέντρωση σπορίων, με σταδιακή αύξηση της θνησιμότητας, μέχρι του ποσοστού του 90% την 9^η ημέρα στις προνύμφες *Xanthogaleruca luteola*. Στην 3^η και 6^η ημέρα η θνησιμότητα δεν αυξήθηκε σε μεγάλο ποσοστό καθώς τις τρεις αυτές ημέρες κυμάνθηκε από 50% έως 65% και για τις δύο συγκεντρώσεις.



Διάγραμμα 5. Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών *Xanthogaleruca luteola* μετά από εμφύσηση σε αραιό και πυκνό διάλυμα κονιδίων *Metarhizium*

anisopliae.

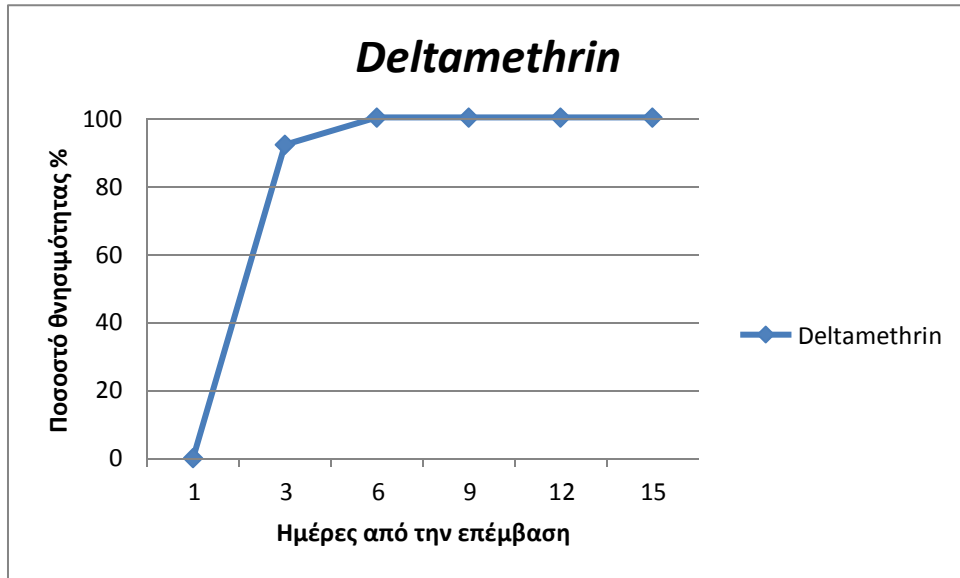
Στο διάγραμμα 6 δίδεται ότι ο *Paecilomyces fumosoroseus* στην αραιή δόση επέφερε σταδιακά θνησιμότητα έως 90% του δείγματος μέχρι τη 12^η ημέρα, ενώ στην υψηλή συγκέντρωση επέφερε θνησιμότητα 100% από μόλις την 3^η ημέρα στις προνύμφες *Xanthogaleruca luteola*. Στην αραιή δόση από την 3^η έως την 9^η ημέρα το ποσοστό θνησιμότητας δεν αυξήθηκε πολύ καθώς από 50% έφτασε μέχρι 70% σε διάστημα 6 ημερών.



Διάγραμμα 6. Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών *Xanthogaleruca luteola*

μετά από εμβάπτιση σε αραιό και πυκνό διάλυμα κονιδίων *Raecilomyces fumosoroseus*.

Στο διάγραμμα 7 το Deltamethrin επέφερε θνησιμότητα 90% στις προνύμφες *Xanthogaleruca luteola* την 3^η ημέρα και 100% την 6^η ημέρα.



Διάγραμμα 7. Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών *Xanthogaleruca luteola* μετά από εμβάπτιση σε deltamethrin 2,5%.

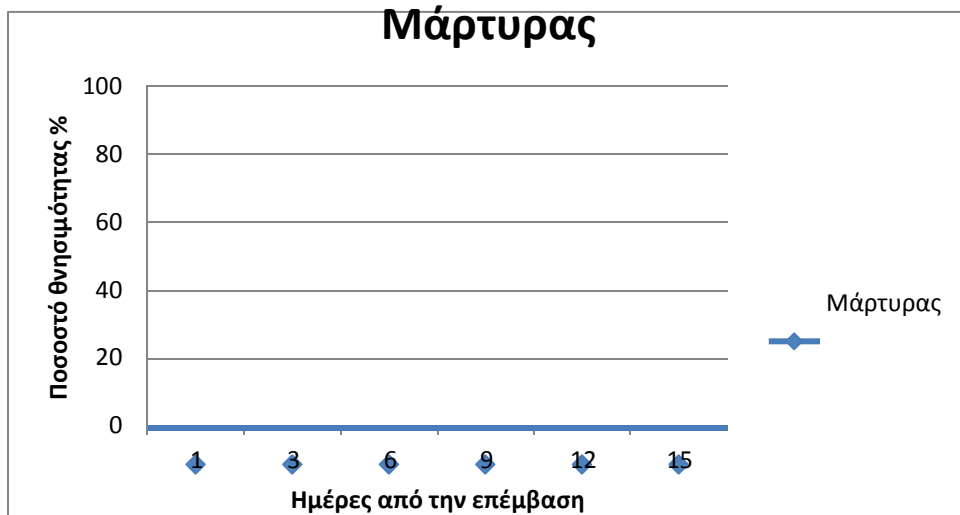
Στο διάγραμμα 8 ο γαλακτωματοποιητής επέφερε θνησιμότητα περίπου 30% στις προνύμφες *Xanthogaleruca luteola* από την 6^η ημέρα.



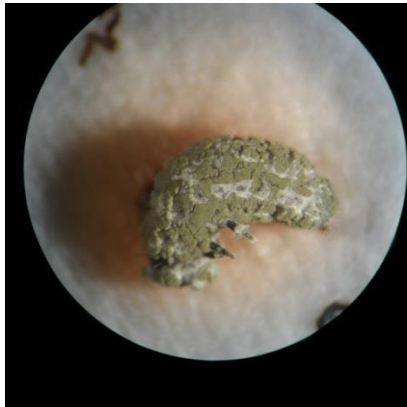
Διάγραμμα 8. Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών *Xanthogaleruca luteola*

μετά από εμβάπτιση σε γαλακτωματοποιητή 0,05%.

Στο διάγραμμα 9 ο μάρτυρας, δηλαδή τα αμεταχειρίιστα προνυμφών *Xanthogaleruca luteola* επέζησαν όλα κατά τη διάρκεια της δοκιμής.



Διάγραμμα 9. Ποσοστό θνησιμότητας προνυμφών *Xanthogaleruca luteola* που δεν δέχτηκαν κάποια επέμβαση.



Εικόνα 31. Εξάνθηση *M. anisopliae* σε προνύμφη *X. luteola*



Εικόνα 32. Εξάνθηση *B. bassiana* σε προνύμφη *X. luteola*



Εικόνα 33. Εξάνθηση *P. fumosoroseus* σε προνύμφη *X. luteola*



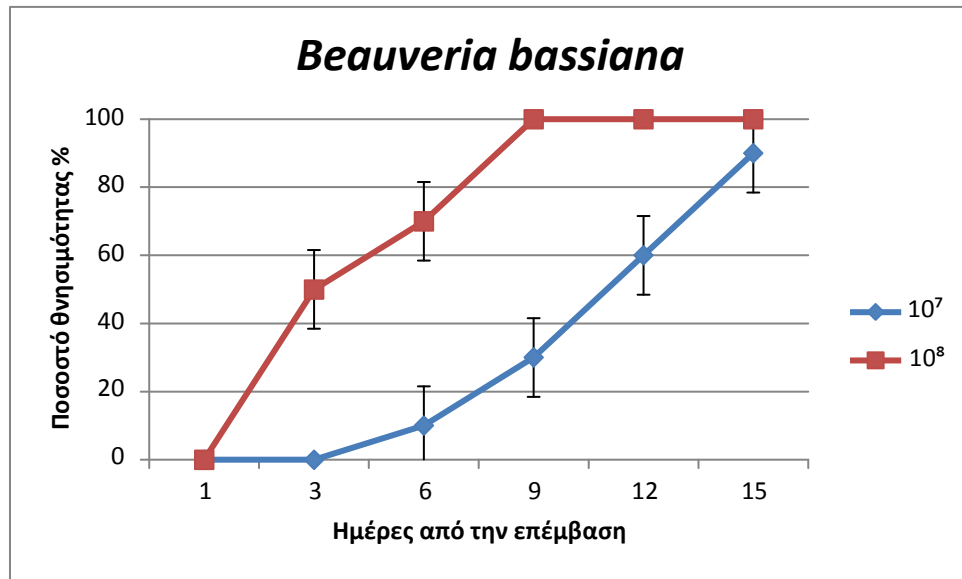
Εικόνα 34. Νύμφη *X. luteola*



Εικόνα 35. Ενήλικα *X. luteola*

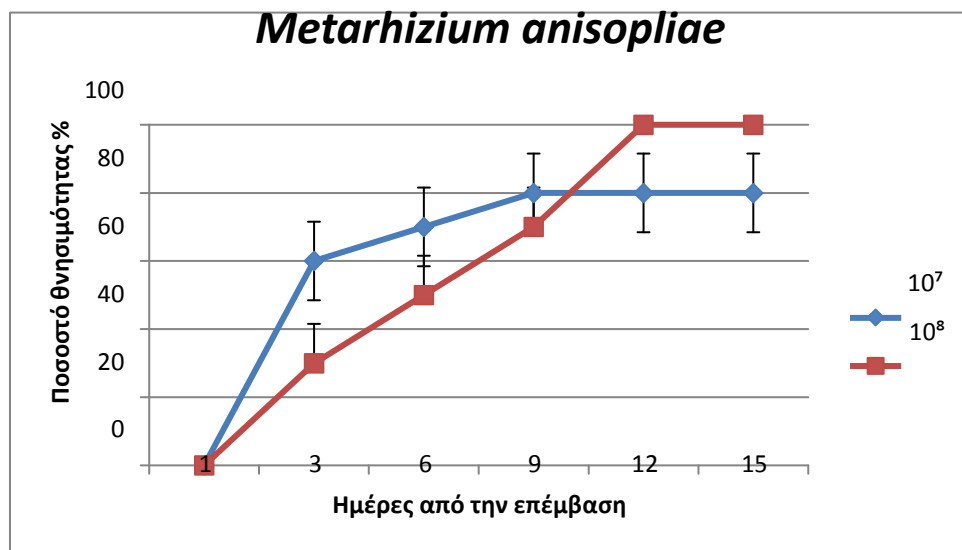
Rhynchoforus ferrungineus

Στο διάγραμμα 10 ο *Beauveria bassiana* στην αραιή δόση επέφερε θνησιμότητα στα ακμαία *Rhynchoforus ferrungineus* από την 6^η ημέρα και έπειτα, με σταδιακή αύξηση του ποσοστού έως 90% την 15^η ημέρα της δοκιμής. Στην πυκνή συγκέντρωση δίδεται θνησιμότητα 50% από την 3^η ημέρα, ενώ 100% θνησιμότητα φτάνει την 9^η ημέρα της δοκιμής.



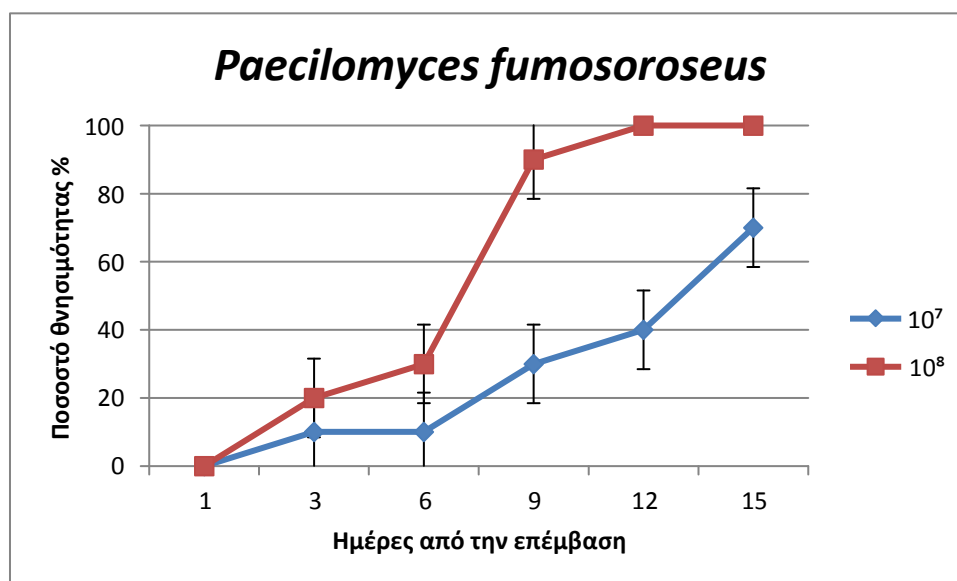
Διάγραμμα 10. Ποσοστό θνησιμότητας ακμαίων *Rhynchoforus ferrungineus* μετά από εμφύσηση σε αραιό και πυκνό διάλυμα κονιδίων *Beauveria bassiana*.

Στο διάγραμμα 11, ο *Metarhizium anisopliae* στην αραιή συγκέντρωση επιφέρει θνησιμότητα 60% στα ακμαία *Rhynchoforus ferrungineus* από την 3^η ημέρα και φτάνει έως 80% την 9^η ημέρα, ενώ στην πυκνή δόση η θνησιμότητα φτάνει σταδιακά το 100% τη 12^η ημέρα, ενώ ξεκινάει με χαμηλότερα ποσοστά θνησιμότητας σε σχέση με την αραιή δόση στις προηγούμενες αντίστοιχες ημέρες.



Διάγραμμα 11. Ποσοστό θνησιμότητας ακμαίων *Rhynchoforus ferrungineus* μετά από εμφύσηση σε αραιό και πυκνό διάλυμα κονιδίων *Metarhizium anisopliae*.

Στο διάγραμμα 12 η αραιή συγκέντρωση του *Paecilomyces fumosoroseus* έχει επιφέρει ένα μικρό ποσοστό θνησιμότητας στα ακμαία *Rhynchoforus ferrungineus*, 10%, την 3^η ημέρα, και μέχρι την 15^η ημέρα σταδιακά αυτό το ποσοστό φτάνει μέχρι το 70%. Στην πυκνή δόση η θνησιμότητα την 3^η και 6^η ημέρα παραμένει σε χαμηλό ποσοστό, 20% και 30% αντίστοιχα, ενώ από την 9^η ημέρα φτάνει το 90% και την 12^η ημέρα φτάνει το 100% θνησιμότητας στο δείγμα.



Διάγραμμα 12. Ποσοστό θνησιμότητας ακμαίων *Rhynchoforus ferrungineus* μετά από εμφάνιση σε αραιό και πυκνό διάλυμα κονιδίων *Paecilomyces fumosoroseus*.



Εικόνα 36. Εξάνθηση *B. bassiana*



Εικόνα 37. Εξάνθηση *P. fumosoroseus*



Εικόνα 38. Εξάνθηση *M. anisopliae*

3.3 ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Από τα αποτελέσματα που αποκτήθηκαν από την παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι:

- Και οι τρεις εντομοπαθογόνοι μύκητες (ΕΠΜ) που χρησιμοποιήθηκαν επέφεραν θνησιμότητα στα έντομα του πειράματος.
- Στις μεγάλες δόσεις διαλύματος οι ΕΠΜ ήταν πιο αποτελεσματικοί όσον αφορά στην ταχύτητα δράσης αλλά και στο ποσοστό θνησιμότητας.
- Οι πυκνότερες συγκεντρώσεις διαλύματος έχουν πιο γρήγορη δράση και επιφέρουν μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας στα έντομα σε σχέση με τις αραιότερες.
- Ο *P. fumosoroseus* έχει γρήγορη δράση και υψηλά ποσοστά θνησιμότητας και στα τρία έντομα των δοκιμών, στην υψηλή συγκέντρωση διαλύματος, σε σχέση με τους άλλους δύο ΕΠΜ των δοκιμών.
- Σε εργαστηριακές βιοδοκιμές των Hashim και Ibrahim (2003) με τους ΕΠΜ *P. fumosoroseus*, *B. bassiana* και *M. anisopliae* σε συγκέντρωση 2×10^7 mL και για τους τρεις μύκητες, κατά της φυλλοφάγου κάμπιας του λάχανου *Crocidolomia binotalis* Zeller (*Lepidoptera: Pyralidae*), σε συνθήκες $27 \pm 2^\circ\text{C}$, $80 \pm 10\%$ RH και 12:12 ημέρα:σκότος, βρέθηκε ότι το EC50 του *P. fumosoroseus* ήταν σημαντικά μικρότερο από του *B. bassiana* και του *M. anisopliae* δεδομένο που συμφωνεί με τα ευρήματα της παρούσης μελέτης καθώς ο *P. fumosoroseus* επέφερε μεγαλύτερη θνησιμότητα σε πιο σύντομο χρόνο στις προνύμφες *Thaumetopoea pityocampa* τόσο στην αραιή όσο και στην πυκνή δόση σε σύγκριση με τους άλλους δύο ΕΠΜ.

Thaumetopoea pityocampa

- Στις προνύμφες του *T. pityocampa* η θνησιμότητα ξεπερνάει το 80% από την 3^η ημέρα στις μεγάλες δόσεις και των τριών Ε.Μ.Π., ενώ και στις αραιότερες δόσεις η θνησιμότητα έφτασε αργότερα το 100%. Από αυτό προκύπτει ότι οι προνύμφες *T. pityocampa* είναι γενικά ευάλωτες στους Ε.Μ.Π. του πειράματος.
- Οι προνύμφες του *T. pityocampa* φαίνεται να είναι πιο ευάλωτες στον *P. fumosoroseus* σε σχέση με τους άλλους μύκητες καθώς ακόμα και στην αραιή δόση η θνησιμότητα ξεπερνάει το 80% από την 3^η μόλις ημέρα.
- Οι Er et al. σε δοκιμές 13 εντομοπαθογόνων μυκήτων κατά προνυμφών του *T. pityocampa*, με εμβάπτισή τους σε διαλύματα σπορίων συγκέντρωσης 1×10^5 αναφέρουν ότι τα ποσοστά θνησιμότητας που επέφεραν στο δείγμα οι *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* και *Paecilomyces fumosoroseus* ήταν σημαντικά υψηλότερα σε σχέση με των άλλων μυκήτων και ότι οι μύκητες αυτοί ανέπτυξαν το μυκήλιό τους και καρποφόρησαν σε σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό νεκρών ατόμων σε σχέση με τους άλλους μύκητες. Επίσης αναφέρουν ότι σε δοκιμές δόσεων – θνησιμότητας, ο *Paecilomyces fumosoroseus* αποδείχθηκε ο πιο υποσχόμενος ΕΠΜ για υποψήφιος βιολογικός παράγοντας καταπολέμησης των προνυμφών *T. pityocampa* με $LC_{50} 3,4 \times 10^6$ κονίδια/ml. Τα δεδομένα αυτά είναι αντίστοιχα με τα ευρήματα της παρούσας εργασίας τόσο ως προς την αποτελεσματικότητα των μυκήτων της δοκιμής, τη συσχέτιση της αποτελεσματικότητας αραιών – πυκνών συγκεντρώσεων, αλλά και την υψηλή αποτελεσματικότητα του *P. fumosoroseus* ο οποίος από την 3^η ημέρα της δοκιμής επέφερε θνησιμότητα 100% στην μεγάλη δόση και άνω του 80% στην μικρή δόση στα άτομα της παρούσας δοκιμής.

Xanthogaleruca luteola

- Η πυκνότητα των διαλυμάτων του *Beauveria bassiana* και του *Metarhizium anisopliae* δεν φαίνεται να επηρεάζει τη δραστηριότητα των μυκήτων ως προς τις προνύμφες του *X. luteola* καθώς εμφανίζουν μικρές διαφορές στο ποσοστό θνησιμότητας και την ταχύτητα δράσης των μυκήτων. Ο *P. fumosoroseus* είναι πιο αποτελεσματικός στην πυκνή δόση και γενικά είναι πιο αποτελεσματικός από τους άλλους δύο καθώς φτάνει το 100% νεκρών ατόμων από την 3^η ημέρα σε αντίθεση με τον *Beauveria bassiana* και τον *Metarhizium anisopliae* που φτάνουν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας από την 6-7^η ημέρα και έπειτα.
- Τα πειράματα που έγιναν σε μάρτυρες προνύμφες του *X. luteola* με πυρεθρινοειδές εντομοκτόνο, γαλακτωματοποιητή και αμεταχείριστα άτομα έφεραν αναμενόμενα αποτελέσματα.
- Κατά τη βιοδοκιμή στις προνύμφες *X. luteola* διαφόρων σταδίων παρατηρήθηκε ότι η καταπόνηση που επέφερε η διαδικασία στις προνύμφες ενεργοποιούσε το μηχανισμό νύμφωσης ακόμα και σε προνύμφες που δεν είχαν φτάσει το τελευταίο προνυμφικό στάδιο. Πιθανώς αποτελεί κάποιο μηχανισμό άμυνας του εντόμου. Συνθήκες ασιτίας ενεργοποίησαν πρόωρα το μηχανισμό νύμφωσης σε προνύμφες του *Psacotha hilaris* subsp. (Coleoptera: Cerambycidae) (Munyiri et al., 2004).
- Σε μελέτη των Marannino et al. (2006) κατά την οποία έγινε δοκιμή 8 απομονώσεων των *M. anisopliae* και *B. bassiana* κατά προνυμφών του *Capnodis tenebrionis* L. (Coleoptera; Buprestidae) με εμβάπτισή τους σε διάλυμα συγκέντρωσης 10⁸ κονίδια/ml, μετά την πάροδο 10 ημερών η θνησιμότητα κυμαίνονταν σε ποσοστά 23,5% με 100% με ταυτόχρονη ανάπτυξη μυκηλίου που κάλυψε το σώμα των προνυμφών. Αντίστοιχα υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, 90-100% κατά την 9^η ημέρα, έφεραν οι πυκνές δόσεις

(10^8 κονίδια/ml διαλύματος) των *M. anisopliae* και *B. bassiana* στις προνύμφες του κολεόπτερου *X. luteola* της δοκιμής.

- Κανείς από τους τρεις εντομοπαθογόνους μύκητες δεν επέφερε θνησιμότητα σε προνύμφες *X. luteola* που νυμφώθηκαν κατά τη διάρκεια των δοκιμών. Τα άτομα αυτά μετά από λίγες ημέρες έγιναν ενήλικα και επέζησαν.

Rhynchoforus ferrungineus

- Στα ενήλικα *R. ferrungineus* υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, άνω του 80%, και σε διάστημα 6-7 ημερών καταγράφονται στις δοκιμές με *P. fumosoroseus* και *B. bassiana* στην πυκνή δόση διαλύματος.
- Οι αραιές δόσεις και των τριών μυκήτων δεν έφεραν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας στα ενήλικα *R. ferrungineus*.
- Οι Shawir και Al-Jabr πραγματοποίησαν εργαστηριακές δοκιμές για την επίδραση των *M. anisopliae* και *B. bassiana* ενάντια σε προνύμφες και ενήλικα *R. ferrungineus* με εμβάπτισή τους σε διαλύματα συγκεντρώσεων 1×10^7 , 1×10^8 και 1×10^9 κονίδια/ml με διαθεσιμότητα τροφής (κομμάτια ζαχαροκάλαμου). Κατέγραψαν τη θνησιμότητά τους μετά από 10 ημέρες. Η θνησιμότητα στα ενήλικα άτομα έφτασε το 40-55% για τον *Beauveria bassiana* και 35-50% για τον *Metarhizium anisopliae* στις αραιές δόσεις (1×10^7) με αύξηση των ποσοστών θνησιμότητας στις δοκιμές με τις πυκνότερες συγκεντρώσεις σπορίων δεδομένα που συμφωνούν με την παρούσα μελέτη.
- Σε εργαστηριακές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν από τους Gindin et al. (2006) για την επίδραση των *M. anisopliae* και *B. bassiana* ενάντια σε προνύμφες και ενήλικα *R. ferrungineus* αναφέρεται μεταξύ άλλων ότι

ποσοστό 100% θνησιμότητας στα ενήλικα του *R. ferrungineus* επετεύχθη σε 2-3 εβδομάδες από τη μόλυνσή τους με σπόρια των μυκήτων, δεδομένο που συμφωνεί με τα ευρήματα της παρούσης δοκιμής όπου για τους συγκεκριμένους μύκητες 100% θνησιμότητα στο *R. ferrungineus* επετεύχθη από τη 10^η ημέρα και έπειτα.

Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα που αποκτήθηκαν από την παρούσα μελέτη αποδεικνύουν ότι οι ιθαγενείς εντομοπαθογόνοι μύκητες που αξιολογήθηκαν (*Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* και *Metarhizium anisopliae*) μπορούν να αποτελέσουν σημαντικούς παράγοντες βιολογικής αντιμετώπισης εχθρών του αστικού πρασίνου.

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο μύκητας *P. fumosoroseus* ο οποίος στην πυκνή δόση διαλύματος $1,81 \times 10^8$ κονίδια/ml, είχε ταχεία δράση, 3-6 ημέρες, και υψηλή αποτελεσματικότητα και στα τρία έντομα της δοκιμής.

Ο *Metarhizium anisopliae* ήταν αποτελεσματικός στις προνύμφες *Thaumetopoea pityocampa* αλλά είχε μέτρια αποτελέσματα κατά των προνυμφών *Xanthogaleruca luteola* και των ακμαίων *Rhynchoforus ferrungineus*, καθώς δεν επέφερε γρήγορη και υψηλή θνησιμότητα.

Ο *Beauveria bassiana* ήταν αρκετά αποτελεσματικός στα τρία έντομα της δοκιμής καθώς επέφερε υψηλή θνησιμότητα τόσο στην αραιή όσο και στην υψηλή συγκέντρωση και συγκεκριμένα στη μεγάλη συγκέντρωση σπορίων επέφερε υψηλά ποσοστά θνησιμότητας σε σύντομο χρονικό διάστημα (3-6 ημέρες).

Εάν η υψηλή αποτελεσματικότητα που παρατηρήθηκε στην παρούσα μελέτη διαπιστωθεί και στο πεδίο, τότε οι απομονώσεις που αξιολογήθηκαν, μπορούν να τύχουν ευρύτερης εφαρμογής και να αξιοποιηθούν περαιτέρω στη φυτοπροστασία στο αστικό πράσινο. Έπομένως έρευνα σε συνθήκες αγρού πρέπει να ακολουθήσει ως συνέχεια της παρούσας εργασίας.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Κοντοδήμας Δ., 2010, Οι Εχθροί του Αστικού Πρασίνου και η αντιμετώπισή τους στο αστικό περιβάλλον, http://worldagronomists.blogspot.gr/2013/05/blogpost_2140.html

Ιστότοπος Υπ.Α.Α.Τ., 2016,
http://www.minagric.gr/syspest/syspest_ENEMY_crops.aspx

Gupta, S., Montillot, C., Hwang, Y.S., 1994. Isolation of novel beauvericin analogues from the fungus *Beauveria bassiana*. *J. Nat. Prod.* 58, Mohamed, A.K.A., Sikorowski, P.P., Bell, J.V., 1978. Histopathology of *Nomuraea rileyi* in larvae of *Heliothis zea* and in vitro enzymatic activities. *J. Invertebr. Pathol.* 31, Humber, R.A., 1997. Fungi: identification. In: Lacey, L.A. (Ed.), *Manual of Techniques in Insect Pathology*. Academic Press, San Diego

Booth et. al., 1990. *Coleoptera IIE. Guides to insects of importance to man*. Cambridge: Cambridge University Press

Ροδιτάκης et al, 2000. Improving secondary pick up of insect fungal pathogen conidia by manipulating host behavior. *Ann. appl. Biol.* (2000), 137:329–335

K. D. Racke, 1993, Urban pest control scenarios and chemicals. *Pesticides in Urban Environments*, Chapter 1, pp 2–9

Menon & Pandalai, 1960. *The Coconut Palm* Indian Central Coconut Committee, Ernakulam, South India.

Reginald, C. 1973. Principal insect pests. In: *Coconuts*. Tropical Agriculture Series. Longmans, London (GB)

Leefmans, S. 1920. De palmsnuitkever (*Rhynchophorus ferrugineus* Olivier). *Mededelingen van Institute voor Plantenziekten, Buitenzorg*

J.R. Faleiro, 2006, A review of the issues and management of the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Rhynchophoridae) in coconut and date palm during the last one hundred years. *International Journal of Tropical Insect Science*, September 2006, pp. 135-154

Nirula, K.K. 1956. Investigations on the pests of coconut palm. Part .*Rhynchophorus ferrugineus*. Indian Coconut Journal

Hutson JC (1933) The red weevil of coconut. Department of Agriculture of Ceylon. Leaflet, No. 22., 35-38 Coconut Research Institute, Lunuwila (LK).

El Ezaby FA (1997) Injection as a method to control *Rhynchophorus ferrugineus*. Arab Journal of Plant Protection 15, 31–38.

Gomez & Ferry, 1998, The red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* Olivier, has become the most important pest of the date palm in the world. Vol. 46, 101-103 No 4, *Palms*(formerly *Principes*), Journal of the International Palm Society

Cabello T, de la Pena J, Barranco P & Belda J (1997) Laboratory evaluation of imidacloprid and oxamyl against *Rhynchophorus ferrugineus*. Tests of Agrochemicals & Cultivars 0(18): 6-7, Sept

Abraham VA & Kurian C (1973) *Chelisoche moris* (Forficulidae: Dermaptera), a predator on eggs and early instar grubs of *Rhynchophorus ferrugineus*. Journal of Plantation Crops 1, 147–152

Kontodimas & Kallinikou 2010. First record of the sisal weevil *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Curculionidae) in Greece. *Entomologia Hellenica*, 19: 39-41.

Avtzis, N. (1986) Development of *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) in relation to food consumption. *Forest Ecology and Management* 15, 65-68.

Geri, C. (1980) Application des méthodes d'études demecologiques aux insectes défoliateurs forestiers. Cas de *Diprion pini* L. (Hymenoptère, Diprionidae). Dynamique des populations de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptère, Thaumetopoeidae) dans l'île de Corse. *Thèse présentée à l'Université de Paris-Sud Centre d'Orsay pour l'obtention du grade de Docteur Es-Sciences*.

Demolin, G. (1969b) [Bioecology of the pine processionary, *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Incidence of climatic factors]. *Boletín del Servicio de Plagas Forestales* **23**, 1-13.

Cadahía, D.; Enriquez, L.; Sanchez, A. (1975) [Sexual attraction in *Thaumetopoea pityocampa* Schiff.]. *Boletín del Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica* **1**, 1-11.

Ziprkowski, L.; Roland, F. (1966) Study of the toxin from the poison hairs of *Thaumetopoea wilkinsoni* caterpillars. *Journal of Investigative Dermatology* **46**, 439-445.

Marti Morera, A.; Barri Baya, P.N. (1959) [Contribution to study of allergic diseases: clinical study of the disease originated to equine and ovine stocks by the pine and oak processionary caterpillars (*Thaumetopoea pityocampa*, *Th. processionea*). *Noticias Neosanitarias* **95**, 33-50.

Robredo, F.; Obama, E. (1987) Soybean oil as ULV carrier in forest spraying using *Bacillus thuringiensis*. *Proceedings of 29th International Symposium on Crop Protection, Gent, May 5th 1987*.

Cadahía, D.; Enriquez, L.; Sanchez, A. (1975) [Sexual attraction in *Thaumetopoea pityocampa* Schiff.]. *Boletín del Servicio de Defensa contra Plagas e Inspección Fitopatológica* **1**, 1-11. Montoya, R. (1984) [Description of a new trap model for capturing males of the pine processionary moth]. *Boletín de la Estación Central de Ecología* **13**, 99-103.

Biliotti, E. (1958) Parasites et prédateurs de *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera). *Entomophaga* **3**, 23-24.

Biliotti, E.; Demolin, G.; Du Merle, P. (1965) Parasitisme de la processionnaire du pin par *Villa quinquefasciata* Wied. apud Meig. (Diptère, Bombyliidae). Importance du comportement de ponte du parasite. *Annales des Epiphyties* **16**, 279-288. Cadahía, D.;

Demolin, G.; Biliotti, E. (1967) [*M. versicolor* var. *decoloratus*, a new parasite of *T. pityocampa*]. *Entomophaga* **12**, 355-361. Demolin, G. (1963) Les 'miroires' de la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Revue de Zoologie Agricole Appliquée* Nos 11-12, 8 pp.

Demolin, G. (1969a) Comportement des adultes de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. Dispersion spatiale, importance économique. *Annales des Sciences Forestières* **26**, 81-102. Du Merle, P. (1969) Le complexe parasitaire hypogé de *Thaumetopoea pityocampa* Schiff (Lepidoptera). *Boletín del Servicio de Plagas Forestales* **13**, 131-132.

Mestre, João. *Forest Health and Climate Changes*. Universidade de Trás-os-Montes is Alto Douro, 2012.

Bonnet, Catherine and Jean-Claude Martin and René Mazet (August–October 2008). "La Processionnaire du Pin"(PDF). *Stantari No. 14*. INRA. pp. 29–33

Vago, C. (1958) Virose intestinal chez la processionnaire du pin *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. (Lepidoptera). *Entomophaga* **3**, 35-37, Atger, P. (1964) Rôle d'un enchaînement virus-bactérie dans le déclenchement d'épizootie chez *Thaumetopoea pityocampa* Schiff. *Comptes Rendus de l'Académie des Sciences Série D* **258**, 2430-2432.

Dahlsten, D. L., D. L. Rowney, and A. B. Lawson. 1998. IPM helps control elm leaf beetle. *Calif. Agric.* 52(2):18–24. Univ. Calif. Agric. Nat. Res.

Βαμβακάς & Μαλτέζου 2007. Ένας σοβαρός εχθρός της φτελιάς στην Αττική. *Γεωργία-Κτηνοτροφία* 2/2007: 38-40.

H. Dreistadt, 1990, UC IPM Program, UC Davis; and A. B. Lawson, Entomology, California State University, Fresno.

Department of Primary Industries, Parks Water and Environment, 2013, Biosecurity fact sheet, *Xanthogaleruca luteola*

Institute of Biology and Pathology, Kyrgyzstan, Bishek, 2008, Secondary metabolites of fungi for pesticides.

Wells A.J, Kwong R.M, Field R, 1994, Elm leaf beetle control using the biological insecticide, Novodor (*Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis*) [*Pyrrhalta luteola*]

Yoshinori Tanada, Harry K. Kaya 1993. Insect Pathology

Hall R.A. 1981, The fungus *Verticillium lecanii* as a microbial insecticide against aphids and scales. *Annals of Applied Biology*,55-58

Khachatourians GG 1996, Heat-shock response of the entomopathogenic fungus *Beauveria brongiartii*

Hajek, A.E., St. Leger, R.J., 1994. Interaction between fungal pathogens and insect hosts. *Annu. Rev. Entomol.* 39

Hall R. A. and Papieroc B 1982, Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance.

Pekrul, S. and Grula, E. A. 1979. Mode of infection of the Corn Earworm (*Heliothis zea*) by *Beauveria bassiana* as Revealed by Scanning Electron Microscopy. *Journal of Invertebrate Pathology*, vol. 34, 25-27

Mohamed, A.K.A., Sikorowski, P.P., Bell, J.V., 1978. Histopathology of *Nomuraea rileyi* in larvae of *Heliothis zea* and in vitro enzymatic activities. *J. Invertebr. Pathol.* 3142. Brey et al 1986

Dillon R.J, Charnley A.K, 1986a, Inhibition of *Metarhizium anisopliae* by the gut bacterial flora of the desert locust, *Schistocerca gregaria*, evidence for an anti-fungal toxin. *Journal of Invertebrate Pathology*, 47, 350-360

ST. LEGER R.S. 1993: Biology and mechanisms of insect-cuticle invasion by Deuteromycete fungal pathogens. In Beckage N.E., Thompson S.N. & Federici B.A. (eds): *Parasites and Pathogens of Insects. Vol. 2: Pathogens.* Academic Press, San Diego, pp. 211–229

Stavria Panayidou, Eleni Ioannidou & Yiorgos Apidianakis, 2013, Human pathogenic bacteria, fungi, and viruses in *Drosophila*, 253-269

Pendland, J. C., Hung, S. Y. & Boucias, D. G. (1993). Evasion of host defense by in vivo-produced protoplast-like cells of the insect mycopathogen *Beauveria bassiana*. *journal of bacteriology* 1993 Sep; 175(18): 5962–5969.

CHARNLEY A.K. 1989: Mechanisms of fungal pathogenesis in insects. In Whipps J.M. & Lumsden R.D. (eds): *The Biotechnology of Fungi for Improving Plant*

Growth. Cambridge University, London, European Journal of Entomology 104 (1): 67-72

Goettel, M. S., D. L. Johnson, and G. D. Inglis. 1995. The role of fungi in the control of grasshoppers. *Can. J. Bot.* 73

Costa, S. D., and Gaugler, R. 1989a. Influence of Solanum host plants on Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) susceptibility to the entomopathogen *Beauveria bassiana*. *Environmental entomology*, ISSN : 0046-225X, 121-122

Raghavaiah, G., and Jayaramaiah, M. 1987. Antifungal activity of selected plant extracts against the white muscardine fungus. *Current Research University of Agricultural Sciences Bangalore* 17(5): 62-64

Gallardo, M. R. A. ; Castro, H. C., 1990. Comparative evaluation of nutritive value of millet (*Panicum miliaceum*). *Revista Argentina de Produccion Animal* 10(2): 121-126

Gotz P and Boman H. G. 1995. *Insect immunity*.

Vega F.E., Kaya H. F., 2012, *Insect Pathology*, Academic Press.508

Gupta, S., Montillot, C., Hwang, Y.S., 1994. Isolation of novel beauvericin analogues from the fungus *Beauveria bassiana*.

Nathan T. Mortimer ,Balint Z. Kacsoh,Erin S. Keebaugh,Todd A. Schlenke, 2012, Mgat1-dependent N-glycosylation of Membrane Components Primes *Drosophila melanogaster* Blood Cells for the Cellular Encapsulation Response, 2012, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002819>

Lemaitre B., Hoffmann J. 2007 The Host Defense of *Drosophila melanogaster*. *Annual Review of Immunology* 25(1), 697-743

Ouedraogo RM¹, Cusson M, Goettel MS, Brodeur J. Inhibition of fungal growth in thermoregulating locusts, *Locusta migratoria*, infected by the fungus *Metarhizium anisopliae varacridum* *J Invertebr Pathol.* 2003 Feb;82(2):103-9

Pendland Jc et Boucias DG, 1986, Lectin binding characteristics of several entomogenous hyphomycetes: possible relationship to insect hemagglutinins 649-654.

Charnley A.K. and St. Leger R.J.,1991. The role of cuticle degrading enzymes in fungal pathogenesis in insects. *The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals*, pp 267-286

George Poinar and Gerard M. Thomas, 1978. Diagnostic manual for the identification of insect pathogens

Elizabeth Moore-Landecker, 1996. Fundamentals of the fungi.

Rehner and Buckley, 2005. A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF-x sequences; evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* 97.

Copping L.G., 2001. The biopesticide manual, British Crop Protection Council, Farnham.

McCoy, C. W., R. A. Samson, and D. G. Boucias. 1988. Entomogenous fungi

Suzuki A., Kuyama S., Koidara Y. and Tamura S. 1966, Structural elucidation of destruxin A. *Agric. Biol. Chem Tokyo*, Suzuki A., Taguchi and Tamura S., 1970, Isolation and structure elucidation of three new insecticidal cyclodepsipeptides, destruxins C and D and desmethyldestruxin B, produced by *Metarrhizium anisopliae*, *Agric. Biol. Chem Tokyo*, Suzuki A., Kawakami K. and Tamura S., 1971, Detection of destruxins in silkworm larvae infected with *Metarrhizium anisopliae*, *Agric. Biol. Chem. Tokyo*.

Fernando E. Vega, Mark A. Jackson & Michael R. McGuire USDA, Agricultural Research Service, National Center for Agricultural Utilization Research, Peoria, Illinois 61604, USA, 1999, Germination of conidia and blastospores of *Paecilomyces fumosoroseus* on the cuticle of the silverleaf whitefly, *Bemisia argentifolii*

St. Leger et al. 1992, *Invertebrate pathology*, 60,89, Paterson I.C. et al, 1994, *Microbiology*, 140,185.

Wraight et al., 2000, Absence of toxicity of *Bacillus thuringiensis* pollen to black swallowtails under field conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 98:11931-6

Zimmermann G. 1986, The Galleria bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil, *Journal of Applied Entomology*, 102, 213-215.

Mietiewski RT, Pell JK, Clark SJ, 1996, Influence of pesticide use on the natural occurrence of entomopathogenic fungi in arable soils in UK: Field and laboratory comparisons. *Biocontrol Sci. Technol.* 3, 321-336.

M. K. Er, H. Tunaz, A. Gökçe, 2007, Pathogenicity of entomopathogenic fungi to *Thaumetopoea pityocampa* (Schiff.) (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) larvae in laboratory conditions, *Agris*, 2013

M.S. Shawir, A.M. Al-Jabr, 2010, THE INFECTIVITY OF ENTOMOPATHOGENIC FUNGI *BEAUVARIA BASSIANA* AND *METARHIZIUM ANISOPLIAE* TO *RHYNCHOPHORUS FERRUGINEUS* (OLIVIER) STAGES UNDER LABORATORY CONDITIONS, *Acta Hort. (ISHS)* 882:431-436

Steve H. Dreistadt, Donald L. Dahlsten, 1990, Insecticide Bark Bands and Control of the Elm Leaf Beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) in Northern California, *J Econ Entomol* (2014) 83 (4): 1495-1498

Florence Njeri Munyiri, Wataru Asano, Yoshinori Shintani, Yukio Ishikawa, 2004, Threshold weight for starvation-triggered metamorphosis in the yellow-spotted longicorn beetle, *Psacotha hilaris* (Coleoptera: Cerambycidae) *Applied Entomology and Zoology* Vol. 38 (2003) No. 4 P 509-515

N., Hashim and Y. B., Ibrahim (2003) *Efficacy of entomopathogenic fungi, paecilomyces fumosoroseus, beauveria bassiana and metarhizium anisopliae var. majus against crocidolomia binotalis (Lepidoptera; Pyralidae)*. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 26 (2). pp. 103-108

G. Gindin, S. Levski, I. Glazer, V. Soroker, 2006, Evaluation of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against the red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*, *Entomology, Phytoparasitica, August 2006, Volume 34, Issue 4, pp 370-379*

Pierdomenico Marannino, Cándido Santiago-Álvarez, Enrico de Lillo, Enrique Quesada-Moraga, A new bioassay method reveals pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against early stages of *Capnodis tenebrionis* (Coleoptera; Buprestidae), *Journal of Invertebrate Pathology*, Volume 93, Issue 3, November 2006, Pages 210–213

