



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ &
ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΚΑΙ
ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Επίδραση του *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* στην κατανάλωση
ωών του *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) από το
αρπακτικό έντομο *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae)

Νικόλαος Β. Οικονόμου

Επιβλέπων καθηγητής:

Διονύσιος Περδίκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

ΑΘΗΝΑ

2021

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ &
ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Επίδραση του *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* στην κατανάλωση
ωών του *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) από το
αρπακτικό έντομο *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae)

“Effect of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in the consumption of
Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs by the predator
Nesidiocoris tenuis (Reuter) (Hemiptera: Miridae)”

Νικόλαος Β. Οικονόμου

Εξεταστική Επιτροπή:

Διονύσιος Περδίκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Γεώργιος Παπαδούλης, Καθηγητής ΓΠΑ

Αργυρώ Φαντινού, Καθηγήτρια ΓΠΑ

Επίδραση του *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* στην κατανάλωση ωών του *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) από το αρπακτικό έντομο *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae)

Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής

Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας

Περίληψη

Το έντομο *Tuta absoluta* αποτελεί στη χώρα μας αλλά και παγκοσμίως ένα σημαντικότερο εχθρό της καλλιέργειας τομάτας. Η διαχείρισή του είναι πολύ δύσκολη, λόγω των πολλών γενεών του, αλλά και της ανθεκτικότητας που αναπτύσσει σε πολλές δραστικές ουσίες εντομοκτόνων. Το αρπακτικό έντομο *Nesidiocoris tenuis* και το εντομοπαθογόνο βακτήριο *Bacillus thuringiensis* συνδυάζονται συχνά σε προγράμματα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης του *T. absoluta* στη χώρα μας και διεθνώς. Ωστόσο δεν έχει μελετηθεί εάν υπάρχει κάποια αλληλεπίδραση μεταξύ τους σε σχέση με την αντιμετώπιση του *T. absoluta*.

Στην παρούσα μελέτη, μελετήθηκε η κατανάλωση ωών του *T. absoluta* από το αρπακτικό έντομο *N. tenuis* σε σχέση με τρεις παράγοντες: 1) το χρόνο εμφάνισης φυλλαρίου τομάτας σε διάλυμα που περιείχε το εντομοπαθογόνο βακτήριο *Bt* (1 ώρα, 1 ημέρα και 4 ημέρες), 2) πυκνότητες ωών στην επιφάνεια του φυλλαρίου (4, 8, 16, 32 και 64 ωών) και 3) το χρονικό διάστημα μετά την επέμβαση με το βακτήριο (30 λεπτά, 1 ώρα και 2 ώρες).

Τα αποτελέσματα έδειξαν πως η κατανάλωση ωών του *T. absoluta* από το αρπακτικό *N. tenuis* αυξάνεται μετά τον ψεκάσμο των ωών με το *Bt*. Μάλιστα όταν είχε παρέλθει διάστημα 24 ωρών από την επέμβαση το αρπακτικό κατανάλωσε και πιο γρήγορα τη λεία του.

Η συνδυασμένη χρήση αυτών των δυο βιολογικών παραγόντων δίνει ενθαρρυντικά αποτελέσματα για την αντιμετώπιση του επίσημου εντόμου *T. absoluta*. Είναι πιθανό οι βοηθητικές ουσίες του εμπορικού σκευάσματος *Bt* να δρουν προσελκυστικά στο αρπακτικό.

Επιστημονική περιοχή: Γεωργική εντομολογία

Λέξεις κλειδιά: *Tuta absoluta*, *Nesidiocoris tenuis*, *Bacillus thuringiensis*, ολοκληρωμένη αντιμετώπιση, πυκνότητες ωών, αρπακτικότητα, βιολογική αντιμετώπιση

Effect of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in the consumption of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs by the predator *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera: Miridae)

Department of Crop Science

Laboratory of Agricultural Zoology & Entomology

Abstract

Tuta absoluta is serious pest of tomato crops in Greece and worldwide due to its voltinism, feeding habits but also due fast resistance development to many active ingredients. The predator *Nesidiocoris tenuis* and the bacterium *Bacillus thuringiensis* are often used in integrated management programs against *T. absoluta*.

In this study, the consumption of *T. absoluta* eggs treated with *Bt* by starved 5th instar nymphs of the predator *N. tenuis* was studied in relation to three factors: 1) the post treatment interval (1 hour, 1 day and 4 days), 2) the egg density offered on a tomato leaflet (4, 8, 16, 32 and 64 eggs) in Petri dishes and 3) the time interval after the introduction of the predator in the dish (30 minutes, 1 hour and 2 hours).

The results showed that the combined use of *Bt* with the predator *N. tenuis* provides positive results in the control of *T. absoluta*. When tomato leaflet was dipped in *Bt* solution for 1 day, the predator consumed its prey faster. The combined use of these two biological agents gives encouraging results in the control of the harmful pest *T. absoluta*.

Scientific area: Agricultural entomology

Key words: *Tuta absoluta*, *Nesidiocoris tenuis*, *Bacillus thuringiensis*, integrated pest management, prey density, predation, biological control

Ευχαριστίες

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας του Τμήματος Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, στο πλαίσιο της μεταπτυχιακής μου διατριβής, υπό την επίβλεψη του Αναπληρωτή Καθηγητή Διονύσιου Περδίκη.

Θα ήθελα θερμά να ευχαριστήσω τον κ. Διονύσιο Περδίκη, για την αμέριστη συμπαράσταση και καθοδήγησή της, καθώς και τις πολύτιμες συμβουλές που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της πτυχιακής μου διατριβής. Ακόμη θα ήθελα να ευχαριστήσω και τα υπόλοιπα μέλη της επιτροπής, τον Καθηγητή Γεώργιο Παπαδούλη και την Καθηγήτρια Αργυρώ Φαντινού, τόσο για την συμμετοχή τους στην επιτροπή, όσο και για τις υποδείξεις τους.

Ευχαριστώ ειλικρινά τους γονείς μου και τον αδερφό μου, για την συμπαράσταση και υπομονή τους καθ' όλη τη διάρκεια του κύκλου σπουδών μου. Επίσης, ευχαριστώ θερμά τους φίλους μου, που στάθηκαν σαν δεύτερη οικογένεια στο πλευρό μου στις εύκολες και στις δύσκολες στιγμές, κατά την πάροδο όλων αυτών των ετών. Θα ήθελα επίσης να ευχαριστήσω την Υποψήφια Διδάκτωρ του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας Σοφία Δερβίσογλου, για τη βοήθεια και τη συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης αυτής της μελέτης, καθώς και την πολύτιμη καθοδήγησή της.

«Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της»

Περιεχόμενα

Περίληψη	3
Abstract.....	4
Ευχαριστίες	5
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή.....	8
1.1 Συστήματα διαχείρισης κι αντιμετώπισης εχθρών των καλλιεργειών	8
1.1.1 Χημική καταπολέμηση	8
1.1.2 Βιολογική καταπολέμηση.....	9
1.1.3 Ολοκληρωμένη καταπολέμηση	10
1.2 Θήρευση	11
1.3 Το έντομο <i>Tuta absoluta</i> (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae).....	14
1.3.1 Στοιχεία βιολογίας του <i>T. absoluta</i>	16
1.3.2 Ζημιές που οφείλονται στο έντομο <i>T. absoluta</i>	19
1.3.3 Αντιμετώπιση του εντόμου <i>T. absoluta</i>	22
1.3.3.1 Προληπτικά μέτρα.....	22
1.3.3.2 Δημιουργία ανθεκτικών ποικιλιών	23
1.3.3.3 Μέτρα αντιμετώπισης του εντόμου, βασισμένα στη χρήση σεξουαλικών φερομονών για παρακολούθηση πληθυσμού	23
1.3.3.4 Μαζική παγίδευση	24
1.3.3.5 Παρεμπόδιση σύζευξης.....	24
1.3.3.6 Χημική αντιμετώπιση	25
1.3.3.7 Βιολογική αντιμετώπιση του εντόμου <i>T. absoluta</i>	26
1.4 Η οικογένεια Miridae	28
1.4.1 Γενικά χαρακτηριστικά	29
1.4.2 Το αρπακτικό έντομο <i>Nesidiocoris tenuis</i> Reuter	30
1.5 Το εντομοπαθογόνο βακτήριο <i>Bacillus thuringiensis</i>	33
1.5.1 Γενικά χαρακτηριστικά	33

1.5.2 Ενδιαιτήματα και μολυσματικότητα του βακτηρίου	34
1.5.3 Μηχανισμός δράσης	36
1.6 Σκοπός του πειράματος	38
Κεφάλαιο 2. Υλικά και μέθοδοι.....	39
2.1 Υλικά.....	39
2.1.1 Φυτά τομάτας	39
2.1.2 Εκτροφή του αρπακτικού εντόμου <i>N. tenuis</i>	39
2.1.3 Η εκτροφή του εντόμου <i>T. absoluta</i>	40
2.1.4 Σκεύασμα <i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i>	41
2.1.5 Προετοιμασία τρυβλίων για τις βιοδοκιμές	42
2.1.6 Λοιπά αντικείμενα για πραγματοποίηση πειράματος.....	42
2.2 Πειραματική διαδικασία	43
2.3 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων	46
Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα	47
Κεφάλαιο 4. Συζήτηση – Συμπεράσματα.....	54
Κεφάλαιο 5. Βιβλιογραφία	57

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

1.1 Συστήματα διαχείρισης κι αντιμετώπισης εχθρών των καλλιεργειών

Τα φυτά αποτελούν μια από τις βασικές πηγές τροφής του ανθρώπου. Προσβάλλονται, όμως, από ένα μεγάλο αριθμό φυτοπαρασίτων. Από την αρχαιότητα, διάφοροι πολιτισμοί όπως ο Αιγυπτιακός, ο Ελληνικός, ο Ρωμαϊκός είχαν προβλήματα με επιδημίες εντόμων κι ασθενειών. Ο Αριστοτέλης (384-322 π.Χ.) και ο μαθητής του Θεόφραστος (370-286 π.Χ.) ήταν οι πρώτοι που έθεσαν τα θεμέλια της φυτοπροστασίας, με τον τελευταίο μάλιστα με τα έργα του «*Περί Φυτών Αιτιών*» και «*Περί Φυτών Ιστορία*» να αναφέρεται σε οικολογικές έννοιες. Κάποιες από αυτές ήταν η ευαισθησία των φυτών στα παράσιτα, η χρήση βιολογικών κύκλων για την αντιμετώπιση φυτοπαρασίτων και άλλα.

Ο άνθρωπος, από την αρχαιότητα χρησιμοποιούσε χημικές ενώσεις για τη διαχείριση κι αντιμετώπιση εντόμων και ασθενειών, όπως για παράδειγμα το θείο σε μίγμα με έλαια ως εντομοαπωθητικό. Ο Δημόκριτος (470 π.Χ.) συνιστούσε ψεκασμό των φυτών με υγρά απόβλητα ελαίων για την προστασία από το ωίδιο. Αυτά αποτελούν μερικά μόνο παραδείγματα για να αποδείξουν ότι η διαχείριση κι αντιμετώπιση εχθρών κι ασθενειών των φυτών αποτελούσε ανέκαθεν πρωταρχικό στόχο του ανθρώπου που από την αρχαιότητα προσπαθεί να βρει τρόπους ώστε να καταφέρει να προστατέψει τη γεωργική παραγωγή.

1.1.1 Χημική καταπολέμηση

Κατά τον 21^ο αιώνα, η χημική αντιμετώπιση των ασθενειών των φυτών έχει γίνει αναπόσπαστο κομμάτι της γεωργικής παραγωγής, σε περιοχές με ανεπτυγμένη γεωργία. Οι χημικές ενώσεις αυτές μπορεί να είναι συνθετικές (ανόργανες ή οργανικές) ή φυσικής προέλευσης, δηλαδή προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού φυτών, εντόμων και μικροοργανισμών. Όσον αφορά τα έντομα,

ιδιαίτερα σημαντική κρίνεται η χρήση ενώσεων που διακόπτουν τη διατροφή των εντόμων κι επηρεάζουν τη συμπεριφορά τους, καθώς και τον σεξουαλικό αποπροσανατολισμό (Λυκουρέσης, 1995).

1.1.2 Βιολογική καταπολέμηση

Τις τελευταίες δεκαετίες είναι ιδιαίτερα εμφανής η παγκόσμια τάση αλλαγής του τρόπου καλλιέργειας των φυτών λόγω της αλόγιστης χρήσης γεωργικών φαρμάκων, με αποτέλεσμα να αυξηθούν οι φωνές υπέρ της βιολογικής καταπολέμησης. Πρόκειται για ένα σύστημα οικολογικά προσανατολισμένης διαχείρισης ή χειρισμού των πληθυσμών των επιβλαβών οργανισμών που βασίζεται στους φυσικούς τους εχθρούς. Χρησιμοποιεί τεχνικές και μεθόδους με τρόπο τέτοιο ώστε η πυκνότητα του πληθυσμού τους να συγκρατείται σε επίπεδα κατώτερα από εκείνα που θα μπορούσαν να προκαλέσουν οικονομική ζημιά στην καλλιέργεια.

Για να επιτευχθεί αυτό χρησιμοποιούνται αρπακτικά έντομα (predators), παρασιτοειδή (parasitoids) και εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί (pathogens) για τον έλεγχο του πληθυσμού του εχθρού.

Ο όρος «βιολογική καταπολέμηση» (biological control) εισήχθη πάνω από έναν αιώνα πριν, το 1919, από τον Smith και στόχο είχε να επισημάνει τη σημασία της χρήσης των φυσικών εχθρών, είτε των εισαγομένων είτε με άλλους τρόπους χειριζόμενων, για την καταπολέμηση των εντόμων-εχθρών. Παρότι πολλοί επιστήμονες και συγγραφείς συμπεριέλαβαν στον όρο βιολογική καταπολέμηση των εντόμων εχθρών και άλλες μεθόδους, όπως χρήση ανθεκτικών ποικιλιών, αλλαγή γεωργικών πρακτικών, εξαπόλυση στειρών αρσενικών εντόμων, φερομονών και άλλων γενετικών μεθόδων, ποτέ καμία από αυτές τις μεθόδους δεν έγινε γενικά αποδεκτή, καθώς υπήρξαν φωνές όπως του Doult (1972) που ανέφερε πως: «μια τέτοια προέκταση του όρου θα είχε αρνητική επίδραση, διότι θα καθιστούσε ασαφή άλλα και μικρότερης σημασίας τη μοναδική λειτουργική και οικολογική βάση της βιολογικής καταπολέμησης».

Η ευρύτερη βιολογική καταπολέμηση περιλαμβάνει τρεις ομάδες ενεργειών. Αυτές είναι οι: «κλασική βιολογική καταπολέμηση», «επαύξηση των φυσικών εχθρών μέσω των πολλαπλών απελευθερώσεων» και διατήρηση των υπαρχόντων φυσικών

εχθρών αλλά και την αύξηση της δράσης τους με τη βοήθεια των κατάλληλων χειρισμών».

Η κλασική βιολογική καταπολέμηση που συνίσταται σε μια σειρά ενεργειών που περιλαμβάνουν την εισαγωγή, εξαπόλυση κι εγκατάσταση ενός φυσικού εχθρού που εισήλθε κι εγκαταστάθηκε σε μια περιοχή, όπως για παράδειγμα η εισαγωγή κι εξαπόλυση του παρασιτοειδούς *Cales noaki* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) για την αντιμετώπιση του *Aleurothrixus floccosus* Maskell (Hemiptera: Aleyrodidae).

Η επαύξηση των φυσικών εχθρών με τη μέθοδο της μαζικής απελευθέρωσης χρησιμοποιείται σε καλλιέργειες υπό κάλυψη, όπου οι φυσικοί εχθροί απουσιάζουν ή οι πληθυσμοί τους είναι χαμηλοί καθώς και μη ικανοί να διατηρήσουν την πληθυσμιακή πυκνότητα του εχθρού κάτω από το οικονομικό όριο, ενώ ταυτόχρονα καλλιεργητικοί ή άλλοι χειρισμοί δε συμβάλλουν στην αύξηση της δράσης τους. Για να επιτευχθεί το παραπάνω, απαιτούνται περισσότερες από μια εξαπολύσεις για την επίτευξη του τελικού στόχου.

Η διατήρηση και αύξηση των φυσικών εχθρών περιλαμβάνει διάφορες ενέργειες, που στόχο έχουν τη μη λήψη μέτρων που θα οδηγούσαν σε καταστροφή ή μείωση των φυσικών εχθρών, με ταυτόχρονη αύξηση της διάρκειας ζωής και αναπαραγωγής των φυσικών εχθρών (Λυκουρέσης, 1995).

1.1.3 Ολοκληρωμένη καταπολέμηση

Οι Flint και Van den Bosch (1981) έδωσαν τον εξής ορισμό για την ολοκληρωμένη αντιμετώπιση: «Η ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εχθρών (integrated pest management, IPM) είναι μια οικολογικά βασισμένη στρατηγική αντιμετώπισης εχθρών των καλλιεργειών, που στηρίζεται κατά κύριο λόγο σε φυσικούς παράγοντες θνησιμότητας, όπως είναι οι φυσικοί εχθροί και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες και αναζητεί να εφαρμόζει τακτικές οι οποίες να μη διαταράσσουν ή να διαταράσσουν όσο το δυνατόν λιγότερο αυτούς τους παράγοντες».

Σύμφωνα με τους Flint και van den Bosch (1981) στην ολοκληρωμένη καταπολέμηση γίνεται χρήση εντομοκτόνων μόνο όταν γίνεται συστηματική παρακολούθηση των εντόμων εχθρών και διαπιστωθεί ότι οι δράση των υπαρχόντων

φυσικών εχθρών δεν επαρκεί για την αντιμετώπιση. Για να θεωρηθεί ένα τέτοιο πρόγραμμα ιδανικό, τότε πρέπει κανείς να λαμβάνει υπόψη του όλες τις οικολογικά συμβατές μεθόδους και μέσα αντιμετώπισης. Στόχος είναι η προστασία της γεωργικής παραγωγής και του τελικού προϊόντος που θα φτάσει στον καταναλωτή, καθώς και η προστασία του περιβάλλοντος. Η χρήση φυσικών εχθρών θεωρείται η κύρια μέθοδος της ολοκληρωμένης αντιμετώπισης.

Απαραίτητα στοιχεία για ανάπτυξη κι εφαρμογή ενός προγράμματος ολοκληρωμένης αντιμετώπισης εντόμων εχθρών είναι η κατανόηση του αγροοικοσυστήματος. Αυτό περιλαμβάνει τον προσδιορισμό των κύριων εχθρών της καλλιέργειας (βιοοικολογία τους, παράγοντες που ελέγχουν και καθορίζουν την πυκνότητα των πληθυσμών τους), προσδιορισμό την ύπαρξης φυσικών εχθρών των εντόμων-εχθρών μιας καλλιέργειας, γνώση των απαιτήσεων και τεχνικών της καλλιέργειας, η επίδραση των κλιματολογικών παραγόντων και τέλος η σημασία της ίδιας της καλλιέργειας.

Τα μοντέλα πρόγνωσης των πληθυσμών των εντόμων-εχθρών αποτελούν εργαλεία λήψης αποφάσεων για επέμβαση στην καλλιέργεια. Επιπρόσθετα, ο καθορισμός των επιζήμιων πληθυσμιακών πυκνοτήτων και των οικονομικών ορίων, η παρακολούθηση των πληθυσμών και η χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων αποτελούν κι αυτά με τη σειρά τους σημαντικά εργαλεία. Η χρήση εντομοκτόνων στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση, γίνεται μόνο όταν οι πληθυσμοί των εντόμων ή και άλλων εχθρών υπερβούν το οικονομικό όριο και η δράση των πυκνοεξαρτημένων παραγόντων θνησιμότητας δεν οδηγεί σε μείωση των πληθυσμών τους. Ιδιαίτερη σημασία έχουν όμως οι αρνητικές επιπτώσεις στους βιολογικούς παράγοντες θνησιμότητας των εχθρών, καθώς και η τυχόν ανάπτυξη ανθεκτικότητας του εντόμου-εχθρού. (Λυκουρέσης, 1995)

1.2 Θήρευση

Η θήρευση αποτελεί μια σχέση αλληλεπίδρασης μεταξύ δύο ειδών, κατά τη διάρκεια της οποίας το ένα είδος τρέφεται καταναλώνοντας εξ ολοκλήρου ή μερικός το άλλο, παρατηρείται, λοιπόν, ροή ενέργειας στο σύστημα, από το θήραμα, που βλάπτεται από τη σχέση αυτή, προς το θηρευτή, ο οποίος εν τέλει επωφελείται. Η

αποτελεσματική θήρευση επιφέρει την πληθυσμιακή αύξηση του θηρευτή και μειώνει πληθυσμιακά το θήραμα. Επομένως, η θήρευση καθορίζει σε πολλές περιπτώσεις την αφθονία των ειδών (θηρευτές και θηράματα) σε ένα οικοσύστημα. Από τις πληθυσμιακές αυξομειώσεις του θηρευτή και του θηράματος επηρεάζονται ουσιαστικά και άλλοι οργανισμοί που δε λαμβάνουν μέρος στη θήρευση. Σε περιπτώσεις έντονου ανταγωνισμού μεταξύ ατόμων του ίδιου είδους, παρατηρείται κανιβαλισμός. Η θήρευση αποτελεί θεμελιώδες στοιχείο συμπεριφοράς των οργανισμών και συμβάλλει στην εξέλιξη των ζώων, καθώς το φαινόμενο αυτό είναι ιδιαίτερα διαδεδομένο στη φύση (Darwin, 1871; Ricklefs, 1969; Dawkins & Krebs 1979, Resh & Cardé, 2009).

Οι βασικοί τρόποι κατηγοριοποίησης των θηρευτών είναι δύο. Η πρώτη είναι η ταξινομική κατηγοριοποίηση (taxonomic classification) και περιλαμβάνει τρεις κατηγορίες:

- Τους σαρκοφάγους θηρευτές, οι οποίοι καταναλώνουν ζωικούς οργανισμούς
- Τους φυτοφάγους θηρευτές, οι οποίοι καταναλώνουν αποκλειστικά φυτικούς οργανισμούς
- Τους πολυφάγους θηρευτές, οι οποίοι καταναλώνουν ύλη από διάφορα τροφικά επίπεδα.

Η δεύτερη είναι η λειτουργική κατηγοριοποίηση (functional classification), η οποία λαμβάνει υπόψη της τη βλάβη που προκαλεί ο θηρευτής στον ξενιστή του κι αποτελεί μια πιο οικολογική προσέγγιση (Thompson, 1982). Χωρίζονται σε τέσσερις κατηγορίες:

- Σαρκοφάγα ή πραγματικοί θηρευτές. Έχουν μέγεθος μεγαλύτερο από τη λεία τους, ενώ έχουν την ανάγκη να καταναλώνουν περισσότερα του ενός άτομα της λείας τους για να ολοκληρώσουν την ανάπτυξή τους. Οι οργανισμοί που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία ονομάζονται αρπακτικά. Οι σημαντικότερες τάξεις εντόμων που ανήκουν σε αυτή την κατηγορία είναι τα Hemiptera, Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Mantodea, Thysanoptera. Στην τάξη Hemiptera, οι κυριότερες οικογένειες αρπακτικών είναι οι Miridae, Anthocoridae, Pentatomidae, Nabidae, Lygaeidae και Reduviidae (Λυκουρέσης, 1995, Resh & Cardé, 2009). Δεν εκδηλώνουν όλα τα

αρπακτικά έντομα την αρπακτική τους δραστηριότητα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Για παράδειγμα, τα Miridae εκδηλώνουν την αρπακτική τους δραστηριότητα καθ' όλη τη διάρκεια του βιολογικού τους κύκλου, ενώ τα Cecidomyiidae μόνο κατά τη διάρκεια των ατελών σταδίων του βιολογικού τους κύκλου. Έχει αποδειχτεί πως σε περιόδους απουσίας ξενιστή για τροφή, μερικά είδη έχουν την ικανότητα να επιβιώνουν καταναλώνοντας φυτικό χυμό ή γύρη κι έτσι να επιβιώνουν (Ehler et al., 1978; Luff, 1983; Bugg et al., 1987; Resh & Cardé, 2009), επομένως σε περιόδους έλλειψης τροφής ο πληθυσμός τους έχει την ικανότητα να διατηρηθεί (Ehler, 1990; Resh & Cardé, 2009).

- Φυτοφάγοι θηρευτές. Αυτοί καταναλώνουν φυτικά είδη και η σχέση μεταξύ τους δεν είναι συμβιωτική. Η ζημιογόνος προσβολή του δεν είναι θανατηφόρα κατά κύριο λόγο. Δεν καταναλώνουν μόνο ένα είδος, αλλά περισσότερα. Τέτοια είδη είναι τα μηρυκαστικά και τα φυτοφάγα έντομα.
- Τα παράσιτα. Προσβάλλουν ένα ή ελάχιστα άτομα κατά τη διάρκεια της ζωής τους και ως επί το πλείστον εξειδικεύονται στον ξενιστή που προσβάλλουν. Αναπτύσσονται κυρίως στο εσωτερικό του ξενιστή τους και βρίσκονται σε στενή σχέση με αυτόν και δεν προκαλούν την άμεση θανάτωσή του.
- Τα παρασιτοειδή. Έχουν μέγεθος μικρότερο του ξενιστή τους και απαιτούν ένα άτομο του ξενιστή για ολοκλήρωση της ανάπτυξής τους, στον οποίο εν τέλει επέρχεται η θανάτωση και αυτή αποτελεί τη βασική τους διαφορά με τα παράσιτα (Thompson, 1982). Ο μεγαλύτερος αριθμός παρασιτοειδών εντόμων ταξινομείται στις τάξεις Hymenoptera και Diptera.

Στη βιολογική διαχείριση εχθρών και με βάση το βαθμό τροφικής εξειδίκευσής τους, το χρόνο ανάπτυξής τους σε σχέση με τον ξενιστή τους και το αναπαραγωγικό δυναμικό τους, οι θηρευτές κατηγοριοποιούνται σε δυο κατηγορίες, τους εξειδικευμένους (specialists) και τους γενικευμένους (generalists). Οι εξειδικευμένοι θηρευτές παρουσιάζουν υψηλή γονιμότητα, υψηλή εξειδίκευση και συγκρίσιμο αναπτυξιακό χρόνο ανάπτυξης σε σχέση με τη λεία. Η εισαγωγή

παρασιτοειδών που έχουν οδηγήσει σε επιτυχείς βιολογικούς ελέγχους καταγράφει την ικανότητά τους να ρυθμίζουν τις πληθυσμιακές πυκνότητες και καταδεικνύει την σπουδαιότητά τους στη βιολογική καταπολέμηση (Debach & Rosen, 1991; Hawkins et al., 1997). Οι γενικευμένοι θηρευτές δεν διακρίνονται για τα χαρακτηριστικά που περιγράφουν τους εξειδικευμένους θηρευτές. Διαθέτουν ευρύτερη διατροφική συμπεριφορά και μπορεί να έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής σε σχέση με το θήραμά τους. Η πιθανή καθυστέρηση στην ανταπόκρισή τους στις πληθυσμιακές αυξήσεις της λείας τους, μπορεί να μην επιφέρει τα επιθυμητά αποτελέσματα και να μην επιτευχθεί ο περιορισμός των εχθρών (Debach & Rosen, 1991). Υπάρχουν φορές που έχει αναφερθεί πως οι γενικευμένοι θηρευτές μπορεί να μη συνεισφέρουν στη διαχείριση των εχθρών (Snyder & Wise, 2001), καθώς έχει παρατηρηθεί το φαινόμενο της ενδοσυντεχνιακής θήρευσης (Intraguild predation, IGP), οι οποίοι τρέφονται όχι μόνον από άλλους θηρευτές, αλλά και με παρασιτοειδή (Polis et al., 1989; Rosenheim et al., 1993; Resh & Cardé, 2009). Παρ' όλ' αυτά, πολλοί γενικευμένοι θηρευτές έχουν αναφερθεί ως αποτελεσματικοί σε υπό κάλυψη καλλιέργειες κηπευτικών (Snyder & Wise, 2001; Resh & Cardé, 2009).

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ φυτοφάγων εντόμων, των φυτών ξενιστών τους καθώς και των φυσικών εχθρών τους πλέον μπορούν να κατανοηθούν ευκολότερα σε τριτροφικό επίπεδο (Tapia et al., 2010). Οι παράγοντες που επηρεάζουν την συμπεριφορά αντίχενωσης που έχουν οι θηρευτές, συμπεριλαμβάνουν τα χαρακτηριστικά του περιβάλλοντος, την καλλιέργεια, τα χαρακτηριστικά του φυτού ξενιστή και τα ίδια χαρακτηριστικά αυτών (Inbar & Gerling, 2008).

1.3 Το έντομο *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)

Το έντομο *T. absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) ή υπονομευτής της τομάτας θεωρείται ο σοβαρότερος εχθρός της καλλιέργειας της τομάτας παγκοσμίως, καθώς μπορεί να προκαλέσει ζημιά που επιφέρει μείωση στην παραγωγή κατά 80-100% (Desneux et al., 2010; Biondi et al., 2018).

Η συστηματική κατάταξη του εντόμου *T. absoluta* είναι η εξής:

Κλάση: Insecta

Τάξη: Lepidoptera
Οικογένεια: Gelechiidae
Γένος: *Tuta*
Είδος: *Tuta absoluta*

Το μικρολεπιδόπτερο αυτό, έχει καταγωγή από το Περού και αρχικά καταγράφηκε το 1917 από το Meyrick ως *Phthorimaea absoluta*, ενώ αργότερα του δόθηκαν τα ονόματα *Gnorimoschema absoluta* και *Scrobipalpula absoluta*. Το τελικό όνομα *T. absoluta* δόθηκε από τον Ronolny, το 1994. Στις αρχές της δεκαετίας του 2000 ξεκίνησε η διασπορά του εκτός της Νότιας Αμερικής (Campos et al., 2017). Το 2004, το *T. absoluta* προστέθηκε από τον Ευρωπαϊκό και Μεσογειακό Οργανισμό Φυτοϋγείας (EPPO) στην Α1 λίστα εχθρών για κανονισμούς καραντίνας (εχθροί που δεν έχουν εμφανιστεί τοπικά). Το 2009 μεταφέρθηκε στην Α2 λίστα εχθρών για κανονισμούς καραντίνας (εχθροί που έχουν εμφανιστεί τοπικά στη Μεσόγειο). Ο υπονομευτής της τομάτας σημειώθηκε στην Ευρώπη το 2006 στην Ανατολική Ισπανία, το 2009 στην Ελλάδα (στην Τριφυλία, στην Κρήτη και στην Πρέβεζα) (Roditakis et al., 2010) και επεκτάθηκε ταχύτατα στις χώρες της Μεσογείου, στη Μέση Ανατολή, στην Αφρική και την Ασία (Desneux et al., 2010; Desneux et al., 2011; Santana et al., 2019). Στην Ινδία, για πρώτη φορά παρατηρήθηκε το 2014 (Shidhar et al., 2014), ενώ στην Αφρική οι πρώτες χώρες που έγινε αναφορά του ήταν η Τυνησία και το Μαρόκο το 2008 (Abbes et al., 2012; Ouardi et al., 2012). Σημαντικό στοιχείο της εξάπλωσής του λεπιδοπτέρου αποτελεί η τυχαία καταγραφή του εντόμου στη Δανία σε παγίδα φωτός (Buhl et al., 2010). Η Δανία είναι μια χώρα που δεν παράγει τομάτες, κι έτσι καταδεικνύεται η εμπλοκή του ανθρώπου μέσω του διεθνούς εμπορίου και του τουρισμού στη διασπορά του εντόμου. Αξιοσημείωτο στοιχείο αποτελεί η ταχύτατη εξάπλωση του εντόμου στη Μεσογειακή λεκάνη. Κατά προσέγγιση, η ταχύτητα εξάπλωσής του ήταν 4000 km/5 έτη, πράγμα που έρχεται να ενισχύσει τη θεωρία περί εμπλοκής του ανθρώπου στην υποβοήθηση εξάπλωσής του μέσω του διεθνούς εμπορίου. Ωστόσο πιθανή θεωρείται και η μεταφορά κι εξάπλωσή του μέσω πτήσεως, αλλά και παθητικά μέσω του ανέμου (Desneux et al., 2011).

Η τομάτα θεωρείται ως ο καταλληλότερος ξενιστής του εντόμου και έχει υψηλότερη διατροφική αξία γι' αυτό σε σχέση με την πατάτα (Pereyra & Sanchez, 2006). Στη Μεσογειακή λεκάνη η καλλιέργεια της τομάτας είναι κύρια καλλιέργεια σε πολλές χώρες και επομένως η εγκατάσταση και αναπαραγωγή του εντόμου είναι

εύκολη, λόγω διαθεσιμότητας τροφής. Επίσης και σε πιο ψυχρά κλίματα, η παρουσία υπό κάλυψη καλλιεργειών τομάτας ευνοεί την εγκατάστασή του. Σημαντικό στοιχείο αναφοράς αποτελεί η μελέτη των κλιματικών δεδομένων μιας περιοχής, εν συγκρίσει με περιοχές που έχει ήδη εγκατασταθεί το έντομο, με σκοπό την αξιολόγηση της εγκατάστασης του είδους σε μια νέα περιοχή. Οι χαμηλές θερμοκρασίες περιορίζουν την εξάπλωση κι επιτυχή εγκατάσταση του εντόμου, γι' αυτό και η εγκατάσταση σε υψηλότερα γεωγραφικά πλάτη είναι λιγότερο πιθανή (Potting, 2009).



Εικόνα 1. Το μικρολεπιδόπτερο *T. absoluta* (πηγή: <https://www.agronews.gr/earines-kalliergeies/183598/tuta-absoluta-o-fulloruktis-tis-tomatas/>)

1.3.1 Στοιχεία βιολογίας του *T. absoluta*

- Μορφολογία

Το έντομο *T. absoluta* είναι ένα ολομετάβολο έντομο, συνεπώς ο βιολογικός του κύκλος αποτελείται από τέσσερα στάδια ανάπτυξης: ωό, προνύμφη, νύμφη και

ενήλικο. Το ωό είναι μικρού μεγέθους, 0,22-0,36 mm, κυλινδρικό με χρώμα κρεμώδες έως λευκό ή υποκίτρινο (EPPO, 2005). Οι προνύμφες είναι ευκέφαλες άποδες και έχουν τέσσερα (4) προνυμφικά στάδια (Desneux et al., 2010). Οι προνύμφες πρώτης και δεύτερης ηλικίας έχουν τεφρό χρωματισμό (0,8-0,9 mm) και η κεφαλή φέρει μαύρο πρόνωτο. Από την τρίτη ηλικία κι ύστερα, αποκτούν πράσινο ή και πρασινωπό χρωματισμό, στο κέντρο των οποίων υπάρχει μια ρόδινη ευδιάκριτη ζώνη. Στην τρίτη και τέταρτη ηλικία οι προνύμφες αποκτούν δύο μαύρες ταινίες στο πρόνωτο, χαρακτηριστικό που τις ξεχωρίζει μορφολογικά από αυτές της φθοριμαίας. Η προνύμφη, πριν νυμφωθεί αποκτά λευκό κρεμώδες έως κιτρινωπό χρώμα (EPPO, 2005). Η νύμφη έχει αρχικά πρασινωπό χρώμα, που σταδιακά μετατρέπεται σε καστανό. Τέλος, τα ενήλικα άτομα έχουν μήκος έως 10 mm, νηματοειδείς κεραίες και τεφρόγκριζες πτέρυγες. (EPPO, 2005)

- Φυτά ξενιστές

Κύριος ξενιστής του εντόμου θεωρείται η τομάτα (*Solanum lycopersicum* L.) αλλά δείχνει προτίμηση και σε άλλα γένη και είδη της οικογένειας Solanaceae. Ξενιστές, λοιπόν, του εντόμου μπορεί να είναι η πατάτα (*Solanum tuberosum* L.), μελιτζάνα (*Solanum melongena* L.), πεπίνιο (*Solanum muricatum* L.), καπνός (*Nicotiana tobacco* L.), και άλλα άγρια είδη όπως η αγριοντοματιά (*Lycopersicon hirsutum* L.), ντάτουρας (*Datura stramonium* L.) και άλλα (EPPO, 2005; Urbaneja et al., 2007). Στην πατάτα επιτίθεται μόνο στα υπέργεια τμήματα του φυτού, χωρίς να προσβάλλει κονδύλους (Pereyra & Sanchez, 2006). Προσβάλλει και το κοινό φασόλι (*Phaseolus vulgaris* L.) και το ζιζάνιο περικοκλάδα (*Convolvulus arvensis* L.) (Cherif & Verheggen, 2019). Η παρουσία πολλών εναλλακτικών ξενιστών, εκτός της τομάτας, είναι που καθιστά το έντομο πολύ επικίνδυνο, καθώς εξασφαλίζει τη μόνιμη παρουσία του (Barrientos et al., 1998; Pereyra & Sanchez, 2006).

- Βιολογικός κύκλος

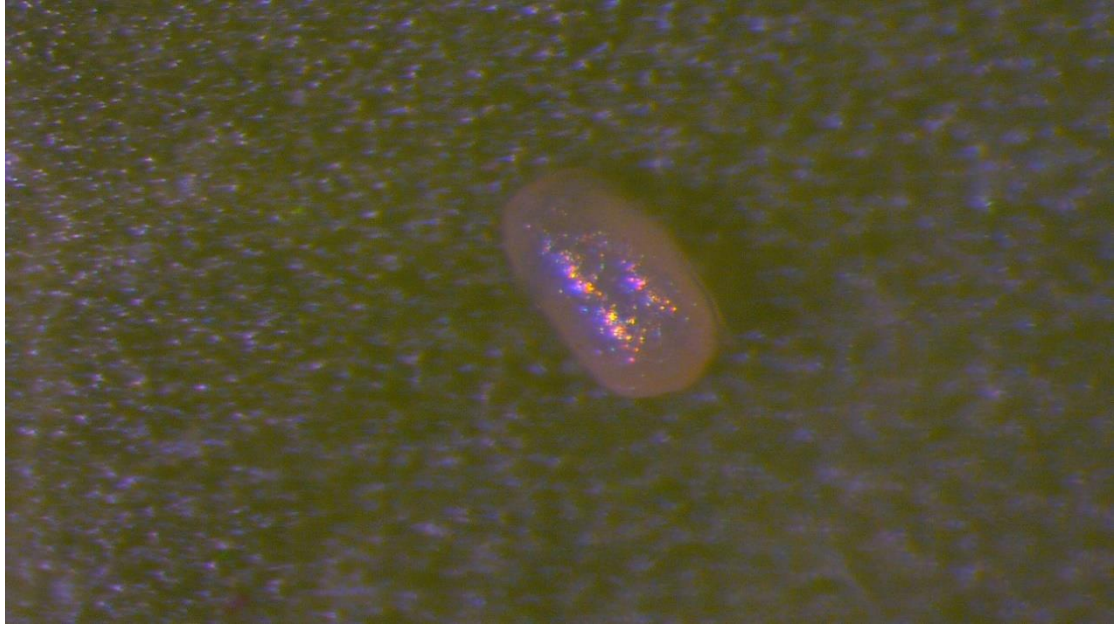
Το θηλυκό εναποθέτει τα ωά του μεμονωμένα ή πιο σπάνια κατά ομάδες, κυρίως στο κορυφαίο και στο μεσαίο τμήμα του φυτού και κατά κύριο λόγο στην κάτω επιφάνεια των φύλλων. Επίσης, μπορεί να ωοτοκήσει και στους βλαστούς και σε μικρότερο βαθμό σε καρπούς. Μετά ακολουθεί η εκκόλαψη της προνύμφης που

διέρχεται από τις τέσσερις προνυμφικές ηλικίες (L1 η πρώτη, L2 η δεύτερη, L3 η τρίτη και L4 η τέταρτη). Οι προνύμφες συνήθως εκκολάπτονται πρωινές ώρες και αφού περιπλανηθούν για 5-40 λεπτά, ξεκινούν να ορύσσουν στοές. Οι προνύμφες πρώτου (L1) και δεύτερου (L2) σταδίου, τρέφονται, ορύσσοντας στοές εντός του φυτού και στα επόμενα στάδια τρίτου (L3) και τέταρτου σταδίου (L4) αποσύρονται από τις στοές, έτσι ώστε να βρουν νέες θέσεις να τραφούν ορύσσοντας νέες. Εφόσον υπάρχει διαθέσιμη τροφή και οι κλιματικές συνθήκες είναι κατάλληλες, οι προνύμφες τρέφονται σχεδόν ακατάπαυστα και δεν διαπαύουν. Η νύμφωση πραγματοποιείται στο έδαφος κατά κύριο λόγο αλλά και στα φύλλα συναρτήσεως των περιβαλλοντικών συνθηκών, ενώ σπανιότερα πραγματοποιείται σε προφυλαγμένες θέσεις στις μασχάλες των φύλλων ή στους βλαστούς ή σπανιότερα στους καρπούς (Fernandez & Montagne, 1990; Uchoa-Fernandez et al, 1995; Veggiani et al., 2009; Tropea Grazia et al., 2012).

Το έντομο παρουσιάζει γενικώς νυκτόβια συμπεριφορά και τα ενήλικα παραμένουν κρυμμένα ανάμεσα στη βλάστηση κατά τη διάρκεια της ημέρας (Fernandez & Montagne, 1990; Uchoa-Fernandez et al, 1995).

Το έντομο *T. absoluta* παρουσιάζει έντονη ικανότητα προσαρμογής σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών. Ο μέσος χρόνος ανάπτυξης από ωό έως ενήλικο έχει υπολογιστεί σε 76,3 ημέρες στους 14 °C, 31,8 ημέρες στους 19,7 °C και 23,8 ημέρες στους 27,1 °C (Tropea Garzia et al., 2012). Το κατώτατο όριο ανάπτυξης ωών, προνυμφών και νυμφών του εντόμου έχει υπολογιστεί στους 6,9±0,5 , 7,6±0,1 και 9,2±1 °C αντίστοιχα (Tropea Garzia et al., 2012). Το κατώτερο όριο ανάπτυξής του με βάση τα παραπάνω υπολογίζεται στους 8,2±0,2 °C. Το έντομο απαιτεί 453,6±3,9 ημεροβαθμούς (DD), ώστε να ολοκληρώσει την ανάπτυξή του. (Martins et a., 2016; Barrientos et al., 1998)

Όσον αφορά τη Μεσογειακή λεκάνη, στην Ιταλία αναφέρθηκαν 9 γενεές ανά έτος (Sannino & Espinosa, 2010), ενώ στην Ισπανία παρατήρησαν ότι μπορεί να ολοκληρώσει έως και 13 γενεές ανά έτος (Vercher et al., 2010). Σε περιοχές της Μεσογείου με θερμό κλίμα, παρατηρούνται ενήλικα ακόμη και καθ' όλη τη διάρκεια του έτους (Vercher et al., 2010).



Εικόνα 2. Ωό του *T. absoluta*.

- Αναπαραγωγή του εντόμου

Η περίοδος από την πρώτη εμφάνιση των ενηλίκων έως τη σύζευξή τους είναι σύντομη, μερικές ώρες για το αρσενικό και 20-22 ώρες για το θηλυκό. Τα θηλυκά συζευγνύονται μία φορά την ημέρα, έως 6 φορές στη διάρκεια της ζωής τους. Κάθε σύζευξη διαρκεί περίπου 4-5 ώρες. Τα θηλυκά επιβιώνουν για 10-15 ημέρες, ενώ τα αρσενικά για 6-7 ημέρες (Estay, 2000). Τα θηλυκά επιβιώνουν περισσότερες ημέρες από τα αρσενικά έχοντας αρκετό χρόνο να ωριμάσουν αναπαραγωγικά μέχρι να εμφανιστούν τα αρσενικά (Fernandez & Montagne, 1990). Τα περισσότερα ωά εναποτίθενται εντός 5-7 ημερών μετά τις πρώτες συζεύξεις κι ένα θηλυκό μπορεί να εναποθέσει έως και το 70% των ωών του κατά τις απογευματινές έως και τις πρωινές ώρες. Κατά τη διάρκεια της ζωής του το θηλυκό μπορεί να εναποθέσει έως 260 ωά στους 30 °C. (Uchoa-Fernandez et al., 1995; Martins et al., 2016) Η εναπόθεση των ωών γίνεται μεμονωμένα ή κατά ομάδες (σπανιότερα) κυρίως στο κορυφαίο και στο μεσαίο τμήμα του φυτού (Tropea Garzia, 2012).

1.3.2 Ζημιές που οφείλονται στο έντομο *T. absoluta*

Η κατανομή του πληθυσμού επάνω στο φύλλωμα του φυτού ξενιστή εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης του εντόμου, αλλά και από το φαινολογικό στάδιο του ίδιου του φυτού. Έχει παρατηρηθεί πως οι στοές είναι άμεσα συνδεδεμένες με ανεπτυγμένα φύλλα στο μέσο του ύψους του φυτού, ενώ προτιμά να εναποθέτει τα ωά του σε ανεπτυγμένα φύλλα στην κορυφή του φυτού (Gomide et al., 2001). Οι Torres et al. (2001) αναφέρουν πως πριν την ανθοφορία οι επιλεγμένες θέσεις ωοτοκίας ήταν κυρίως στην κάτω επιφάνεια νεαρών φύλλων της κορυφής, ενώ μετά την ανθοφορία δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ της άνω και κάτω επιφάνειας των φύλλων, όπως επίσης και στον αριθμό των ωών που εναποτέθηκαν μεταξύ κορυφής και μέσου τμήματος των φυτών, σε όλα τα φαινολογικά στάδια του φυτού. Οι προνύμφες 4^{ου} σταδίου (L4) ισοκατανέμονται σε ολόκληρη την κόμη του φυτού. (Tropea Garzia et al., 2012)

Στην τομάτα, οι προνύμφες ορύσσουν στοές στο μεσόφυλλο του φύλλου. Ως εκ τούτου, επηρεάζεται η φωτοσυνθετική ικανότητα του ίδιου του φυτού. Σε μεγάλες πυκνότητες, στοές σε βλαστούς μειώνουν ή και αναστέλλουν την ανάπτυξη του φυτού. Το έντομο καταστρέφει τους ιστούς του φυτού σε όλα τα φαινολογικά στάδιά του κι έτσι δημιουργούνται σοβαρά προβλήματα και σε νεαρά φυτάρια. (Desneux et al., 2010). Επίσης, καταστρέφουν και το κορυφαίο μερίστωμα σε νεαρά φυτά, με αποτέλεσμα την αναστολή ανάπτυξής τους. Προβλήματα δημιουργούνται και σε καρπούς, ύστερα από το στάδιο της καρπόδεσης. Οι προνύμφες εισέρχονται μέσω μικρών στοών κάτω από τα σέπαλα κι έτσι μπορούν να δημιουργηθούν δευτερογενείς προσβολές από παθογόνους μικροοργανισμούς. (Tropea Garzia, 2012; Kaoud, 2014)

Το *T. absoluta* αποτελεί απειλή για την παραγωγή τομάτας και σχετικά λιγότερο για την πατάτα, τη μελιτζάνα και άλλα είδη φυτών της οικογένειας Solanaceae (Biondi et al., 2018). Ο οικονομικός αντίκτυπος του *T. absoluta* αντανακλάται άμεσα στο αυξανόμενο κόστος της παραγωγής καλλιεργειών τομάτας, συγκεκριμένα στο πρόσθετο κόστος για τη διαχείριση επιβλαβών οργανισμών, τη μείωση των εμπορεύσιμων προϊόντων και την πιθανή απώλεια εμπορικών εταίρων μέσω περιορισμών στις εξαγωγές σε μη μολυσμένες χώρες. Όπως παρατηρείται σε πολλές χώρες, είναι πολύ δύσκολο να ελεγχθεί και να περιοριστεί η εξάπλωση του *T. absoluta*. Ο οικονομικός αντίκτυπος που βασίζεται στις απώλειες των καλλιεργειών εκτιμάται μεταξύ 5 και 25 εκατομμυρίων ευρώ ετησίως στις Κάτω Χώρες (Potting et al., 2013). Στην Τουρκία, το ετήσιο κόστος χημικού ελέγχου της *T. absoluta* ήταν περίπου 160,7 εκατομμύρια ευρώ (Oztemiz, 2014). Στη Νότια Αμερική, η εισαγωγή

του *T. absoluta* σε χώρες που συνορεύουν με τη χώρα προέλευσής του, η χρήση εντομοκτόνων σε αγρούς ντομάτας διπλασιάστηκε ανά περίοδο καλλιέργειας. Ο αυξανόμενος αριθμός εφαρμογών εντομοκτόνων οφείλεται κυρίως στα προβλήματα που συνδέονται με την ανθεκτικότητα που παρουσιάζονται σε εντομοκτόνα στους πληθυσμούς *T. absoluta* (Campos et al., 2014; Roditakis et al., 2015). Στις περισσότερες χώρες της Ασίας που έχει εμφανιστεί το έντομο, δεν υπάρχουν διαθέσιμες πληροφορίες σχετικά με τις οικονομικές απώλειες που προκαλούνται από το έντομο. Στο Ιράν, η καταστροφή της καλλιέργειας της τομάτας λόγω του *T. absoluta* άγγιξε το 100% και τα 35 εκατομμύρια αμερικανικά δολάρια (Han et al., 2019).

Τα τελευταία χρόνια, σε όλες τις χώρες που έχει παρατηρηθεί η εισβολή του εντόμου, το κόστος παραγωγής της τομάτας έχει αυξηθεί, λόγω της ανάγκης φυτοπροστασίας για το έντομο *T. absoluta*, τόσο στην καλλιέργεια όσο και μετά τη συγκομιδή (Sannino & Espinosa, 2010; USDA, 2011). Η συνεχόμενη κι αυξημένη χρήση εντομοκτόνων από τους καλλιεργητές φέρει τον κίνδυνο ανάπτυξης ανθεκτικότητας του εντόμου σε αυτά, καθώς και μείωση των πληθυσμών ωφέλιμων εντόμων σε συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης εχθρών (Arno & Gabbara, 2011).



Εικόνα 3. Προσβολή φυτού τομάτας από το έντομο *T. absoluta* (πηγή: <https://blog.farmacon.gr/katigories/texniki-arthrografia/fytoprosthasia/item/2111-tuta-absoluta-toyta-o-yponomeftis-ton-fyllon-tis-tomatas>)

1.3.3 Αντιμετώπιση του εντόμου *T. absoluta*

1.3.3.1 Προληπτικά μέτρα

Σημαντικό προληπτικό μέτρο είναι ο αυστηρός και συνεχής έλεγχος του πολλαπλασιαστικού υλικού στα φυτώρια κάθε χώρας, καθώς και στους χώρους αποθήκευσης (Benvenega et al., 2007). Επιπρόσθετα, θα πρέπει να γίνεται αφαίρεση και καταστροφή αυτοφυών εναλλακτικών ξενιστών του εντόμου, καθώς μπορεί αποτελούν εστία μόλυνσης. Η ολική αφαίρεση και καταστροφή του προσβεβλημένου φυτού, καθώς και η τοποθέτηση εντομοστεγών δικτύων στα θερμοκήπια (π.χ. 10x8/cm² ή 9x6 cm²) για παρεμπόδιση εισόδου ενηλίκων εντός του θερμοκηπίου.

Επίσης χρήση εντομοστεγών δικτύων εμποτισμένων με πυρεθρίνη και χρήση προθαλάμων εισόδου με διπλές πόρτες δίνουν ικανοποιητικά αποτελέσματα (Biondi et al., 2015).

1.3.3.2 Δημιουργία ανθεκτικών ποικιλιών

Η παραγωγή ανθεκτικών ποικιλιών τομάτας αποτελούσε στόχο από τις αρχές της δεκαετίας του 1990. Η προσοχή εστιάστηκε στην επίδραση της πυκνότητας των αδενωδών τριχών του φυλλώματος της τομάτας στο βαθμό προσβολής από το έντομο. Η ενσωμάτωση πυκνότερου τριχώματος σε διάφορες εμπορικές ποικιλίες δεν ήταν εύκολη και είχε αρνητικές επιδράσεις στην τελική παραγωγή, τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά. Γι' αυτούς τους λόγους, οι ερευνητές εστίασαν κυρίως στα αλληλοχημικά που παράγει το φυτό και στις αλληλεπιδράσεις τους με τα έντομα, και πιο συγκεκριμένα στην παραγωγή αλκυλοσακχάρων. Αυτό αποτελεί μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική διαχείρισης του εντόμου στο μέλλον, αν και εξακολουθεί να είναι θέμα διερεύνησης. (Biondi et al., 2018)

1.3.3.3 Μέτρα αντιμετώπισης του εντόμου, βασισμένα στη χρήση σεξουαλικών φερομονών για παρακολούθηση πληθυσμού

Οι σεξουαλικές φερομόνες αποτελούν ουσίες που δρουν ως χημικά σήματα που απελευθερώνονται από έναν οργανισμό, με σκοπό να προσελκυστεί ένα άτομο του ίδιου είδους αλλά διαφορετικού φύλου. Το μεγαλύτερο ποσοστό των σεξουαλικών φερομονών αποτελείται από ένα μείγμα 2 ή παραπάνω ουσιών. Αυτές οι ουσίες εκτός από το να προσελκύουν τα αρσενικά, επάγουν και τη συμπεριφορά ερωτοτροπίας (Linn et al., 1987). Η σεξουαλική φερομόνη του εντόμου *T. absoluta* αποτελείται από δύο ενώσεις την TDTA ή (3E, 8Z, 11Z)-3,8,11-tetradecatrien-1-yl σε ποσοστό 90% (Attygalle et al., 1996; Svatos et al., 1996) και την TDDA ή (3E, 8Z)-3,8-tetradecadien-1-yl σε ποσοστό 10% (Svatos et al., 1996).

Η παρακολούθηση του πληθυσμού γίνεται με τη χρήση παγίδων τύπου «δέλτα» με φερομόνη φύλου, οι οποίες πρέπει να τοποθετούνται δυο εβδομάδες πριν τη φύτευση σε ύψος 0,8-1,2 m από την επιφάνεια του εδάφους, με σκοπό τον έγκαιρο εντοπισμό εμφάνισης ενηλίκων ατόμων εντός της καλλιέργειας (IRAC, 2017). Με

βάση τον αριθμό των αρσενικών που παγιδεύονται σε αυτές τις παγίδες συσχετίζεται και η αύξηση ή μείωση του πληθυσμού των προνυμφών κι επομένως και της παραγωγής της καλλιέργειας (Monserat, 2008). Η αρσενική πυκνότητα τείνει να συσχετίζεται αρνητικά με την παραγωγή ντομάτας, αλλά τα οικονομικά όρια βάσει των αρσενικών συλλήψεων δεν είναι αξιόπιστα επειδή η παγίδευση επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, όπως η πυκνότητα του πληθυσμού και οι τύποι παγίδων και φερομονών (Carattos Megido et al., 2013). Σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες έχει προταθεί πυκνότητα 4-5 παγίδων ανά εκτάριο και τοποθέτησή τους κοντά στις εισόδους του θερμοκηπίου, ενώ σε υπαίθριες καλλιέργειες 2-3 παγίδες ανά εκτάριο (Al-Zaidi, 2009).

1.3.3.4 Μαζική παγίδευση

Οι παγίδες μαύρου χρώματος φαίνεται να είναι οι πιο αποτελεσματικές και να προσελκύουν τα αρσενικά άτομα του εντόμου (Polat, 2019). Επίσης, η χρήση δοχείου με νερό με φερομόνη φύλου επιτυγχάνει τη σταθερή προσέλκυση και παγίδευση μεγάλου αριθμού εντόμων, καθώς η χρήση 48 δοχείων ανά εκτάριο επέτρεψε μεγαλύτερη μείωση της προσβολής των φύλλων σε σύγκριση σε συμβατικά εντομοκτόνα σε καλλιέργειες ντομάτας της Αργεντινής (Carde et al., 2007; Lobos et al., 2013; Ettaib et al, 2016).

1.3.3.5 Παρεμπόδιση σύζευξης

Η εφαρμογή της μεθόδου στοχεύει στη δημιουργία σύγχυσης στα αρσενικά, μέσω του κορεσμού της ατμόσφαιρας του αγρού με συνθετικές σεξουαλικές φερομόνες, με τελικό στόχο τις μειώσεις συζεύξεων των αρσενικών με τα θηλυκά κι εν τέλει τη μείωση του πληθυσμού (Carde, 2007; Cocco et al., 2013). Η εφαρμογή της μεθόδου γίνεται μέσω τοποθέτησης διαχυτήρων φερομόνης στο θερμοκήπιο. Τα αρσενικά αδυνατούν να εντοπίσουν τα θηλυκά κι έτσι επιτυγχάνεται μείωση του πληθυσμού κι εν γένει της ζημιάς. Η μέθοδος συνδυάζεται με άλλες μεθόδους για υψηλότερη αποτελεσματικότητα, εφαρμόζεται στην αρχή της καλλιέργειας και μειώνει σε μεγάλο βαθμό τα ποσοστά προσβολής (Vacas et al., 2011; Cocco et al., 2013).

1.3.3.6 Χημική αντιμετώπιση

Το οικονομικό κατόφλι ζημιάς σχετίζεται με την πυκνότητα των στοών και των προνυμφών και είναι 4-5 προνύμφες ανά φυτό (Cocco et al., 2015; Ghaderi et al., 2019). Ο ψεκασμός με εντομοκτόνα απαιτείται όταν βρεθούν περισσότερα από δυο φύλλα με ζωντανές προνύμφες, σε κάθε ένα από 20 φυτά, ανά 7 ημέρες (IRAC, 2017).

Τα εντομοκτόνα έχουν κεντρικό ρόλο στην αντιμετώπιση του εντόμου *T. absoluta*. Οι δραστικές ουσίες για την αντιμετώπιση του εντόμου ανήκουν σε 4 κατηγορίες: τα διαμίδια, τις αβερμεκτίνες, τις σπινοσίνες και τις οξαδιαζίνες (Roditakis et al., 2017). Η εκτεταμένη χρήση των παραπάνω ενώσεων έχει προκαλέσει προβλήματα ανθεκτικότητας σε πληθυσμούς του εντόμου (Roditakis et al., 2015; Campos et al., 2014; Siqueira et al., 2001; Guedes et al., 2019). Γι' αυτό, η χρήση των παραπάνω πρέπει να γίνεται πάντα σύμφωνα με τις οδηγίες της ετικέτας.

Τέλος, η εφαρμογή ορυκτών, όπως του καολίνη έδωσε ενθαρρυντικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση του εντόμου. Με τη χρήση καολίνη, φαίνεται να δημιουργείται προστατευτικό επίστρωμα πάνω στη φυτική επιφάνεια, το οποίο απωθεί τα θηλυκά άτομα (Boari et al., 2016).

Abamectin (aka avermectin)
Acibenzolar-s-methyl
Azadirachtin
Bacillus thuringiensis subsp. Kurstaki strain EG 2348
Bacillus thuringiensis subsp. Aizawai strain ABTS-1857
Bacillus thuringiensis subsp. Aizawai strain GC-91
Bacillus thuringiensis subsp. kurstaki strain ABTS 351
Bacillus thuringiensis subsp. Kurstaki strain PB 54
Bacillus thuringiensis subsp. Kurstaki strain SA 11
Bacillus thuringiensis subsp. Kurstaki strain SA12
Chlorantraniliprole
Cyantraniliprole
Deltamethrin
Emamectin
Fatty acid potassium salt
Indoxacarb
Metaflumizone
Phthorimaea operculella Granulovirus (PhopGV, isolate DSMZ GV-0019)
Pyrethrins
Spinetoram
Spinosad
Thiacloprid

Εικόνα 4. Δραστικές ουσίες εγκεκριμένες στην Ελλάδα κατά το μήνα Φεβρουάριο 2021 για την αντιμετώπιση του *T. absoluta*.

1.3.3.7 Βιολογική αντιμετώπιση του εντόμου *T. absoluta*

Στη βιολογική αντιμετώπιση, χρησιμοποιούνται πληθυσμοί ιθαγενών φυσικών εχθρών, οι οποίοι ανταγωνίζονται και μειώνουν τον πληθυσμό του εντόμου *T. absoluta*. Για την βιολογική αντιμετώπιση του εντόμου, γίνεται χρήση βιολογικών παραγόντων, δηλαδή αρπακτικών, παρασιτοειδών και εντομοπαθογόνων μικροοργανισμών.

- Παρασιτοειδή: Στη μεσογειακή λεκάνη, το ωοπαρασιτοειδές *Trichogramma achaeae* (Hymenoptera: Trichogrammatidae) έχει αποδειχτεί ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση του *T. absoluta*, καθώς παρασιτούν τα ωά του (Desneux et al., 2010). Όπως φάνηκε σε ερευνητικές εργασίες στη νότιο Ισπανία, το ωοπαρασιτοειδές αυτό αποδείχτηκε ιδιαίτερα αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση του *T. absoluta*, τόσο σε πειραματικές, όσο και σε εμπορικής κλίμακας θερμοκηπιακές εγκαταστάσεις. Ερευνητικές εργασίες έδειξαν πως το *T.*

achaeae είναι ιδιαίτερα αποδοτικό σε πειραματικούς αγρούς και θερμοκήπια στη νότιο Ισπανία. Συγκεκριμένα 75 ενήλικα/m² εξαπολύονταν κάθε 3 ή 4 ημέρες για διάστημα ενός μήνα, με αρχικό επίπεδο προσβολής να αναφέρεται από τους συγγραφείς η ύπαρξη τεσσάρων ενηλίκων *T. absoluta* ανά φυτό τομάτας. (Densneux et al., 2010; Cabello et al., 2009b; Cascone et al., 2015). Το ωοπαρασιτοειδές αυτό ήταν το πρώτο που χρησιμοποιήθηκε σε εμπορική κλίμακα στη Μεσόγειο, για την αντιμετώπιση του *T. absoluta* (Urbaneja et al., 2012). Η επιτυχής εγκατάσταση του εντόμου σε νέες περιοχές δύναται να επιφέρει προβλήματα ανταγωνισμού με άλλα παρασιτοειδή *Trichogramma*, καθώς και να παρασιτήσει κι άλλα έντομα μη στόχους (Romeis et al., 2005). Εκτός από τα ωοπαρασιτοειδή, στη Μεσόγειο υφίστανται και τα παρασιτοειδή προνυμφών, τα οποία ανήκουν στις οικογένειες Eulophidae, Braconidae και Ichneumonidae. Το *Necremnus artynes* (Hymenoptera: Eulophidae) είναι ένα εκτοπαρασιτοειδές που παρασιτεί προνύμφες 2^{ης} (L2) και 3^{ης} (L3) ηλικίας του *T. absoluta* (Molla et al., 2008; Gabbara et al., 2010). Το *Bracon nigrans* (Hymenoptera: Braconidae) παρασιτεί ώριμες προνύμφες 4^{ης} (L4) ηλικίας του *T. absoluta* (Zappala et al., 2011). Η καταλληλότητα του ως βιολογικός παράγοντας αντιμετώπισης του *T. absoluta* εμπορικά είναι υπό διερεύνηση (Zappala et al., 2011). Τα παρασιτοειδή συνιστάται να εισάγονται συνδυαστικά με άλλους βιολογικούς παράγοντες, όπως τα αρπακτικά (*Macrolophus pygmaeus* και *Nesidiocoris tenuis*) και το εντομοπαθογόνο βακτήριο *Bacillus thuringiensis* (Cabello et al., 2009; Urbaneja et al., 2012).

- Εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί: Σκευάσματα βασισμένα στο βακτήριο *Bacillus thuringiensis* χρησιμοποιούνται ευρέως για την αντιμετώπιση του *T. absoluta*. Μεταξύ διαφορετικών σκευασμάτων παρατηρούνται διαφορετικά ποσοστά αποτελεσματικότητας στη θνησιμότητα του εντόμου, καθώς η αποτελεσματικότητα του στελέχους *Bt* σε σχέση με το έντομο εξαρτάται από τον πρωτεϊνικό χαρακτήρα, αλλά και από την αναλογία τοξινών στο σκεύασμα, καθώς και από τις βοηθητικές ουσίες αυτού. (Hernandez et al., 2003; Askew et al., 2001). Συνδυασμός του *Bacillus thuringiensis* με τον μύκητα *Beauveria bassiana* αυξάνει τα ποσοστά θνησιμότητας του *T. absoluta*, συγκριτικά με την εφαρμογή του κάθε ενός μεμονωμένα (Torres et al., 2009). Σε ερευνητική εργασία, ο ψεκασμός με νηματώδεις *Steinernema faltiae* (Nematoda: Steinernematidae) και *Steinernema carpocapsae* (Nematoda: Steinernematidae) προκάλεσε θνησιμότητα σε ποσοστό

100% σε προνύμφες 1^{ης} ηλικίας (L1), 6 ημέρες μετά τον ψεκάσμό τους στο φυτό (Jacobson & Martin, 2011).

- Αρπακτικά: Τόσο τα ενήλικα, όσο και οι νύμφες των εντόμων *M. pygmaeus* (Rambur) (Hemiptera: Miridae) και *N. tenuis* τρέφονται με ωά του *T. absoluta*. Σε εργαστηριακές συνθήκες, ενήλικα άτομα των παραπάνω αρπακτικών φάνηκε να είναι ικανά να καταναλώσουν άνω των 100 ωών ημερησίως, καθώς επίσης κατανάλωσαν (σε μικρότερο βαθμό) προνύμφες 1^{ης} (L1) ηλικίας (Arno et al., 2009; Urbaneja et al., 2009). Αυτά τα έντομα είναι ιθαγενή και στη χώρα μας, όσο και στη Μεσόγειο (Arno et al., 2010), εκτρέφονται μαζικώς κι εξαπολύονται σε θερμοκήπια για τον έλεγχο του *T. absoluta*, αλλά και για πληθυσμούς αλευροδών, αφίδων, θριπών, λεπιδοπτέρων και ακάρεων (Perdikis & Lykouressis, 2002b; Perdikis & Lykouressis, 2004b). Τα πολυφάγα αυτά αρπακτικά έχουν υψηλή θηρευτική ικανότητα, λοιπόν, κατά κύριο λόγο έναντι των ωών και λιγότερο έναντι νεαρών προνυμφών του *T. absoluta* (Molla et al., 2014). Η εξαπόλυσή τους σε υπό κάλυψη καλλιέργειες τομάτας δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα, μέσω της επιτυχούς εγκατάστασής τους μέχρι το τέλος της καλλιέργειας (Nannini et al., 2012). Τέλος, προγράμματα βιολογικού ελέγχου έναντι του *T. absoluta* στηρίζονται στη διατήρηση παρασιτοειδών και αρπακτικών που αποικίζουν αυτοφυή βλάστηση, γύρω από την καλλιέργεια (Biondi et al., 2012; Perdikis et al., 2015; Naselli et al., 2017). Το *M. pygmaeus* και το *N. tenuis* μπορούν να εξαπολυθούν πρώιμα στην καλλιέργεια, με σκοπό την επιτυχή εγκατάστασή τους στην καλλιέργεια (Trottin-Caudal et al., 2012; Perdikis et al., 2015). Η συνδυαστική χρήση εντομοκτόνων σκευασμάτων σε προγράμματα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης του εντόμου *T. absoluta*, με συμμετοχή των παραπάνω αρπακτικών εντόμων πραγματοποιείται με χρήση εκλεκτικών και μόνο εντομοκτόνων (De Backer et al., 2014). Η συνδυασμένη χρήση του εντομοπαθογόνου βακτηρίου *Bacillus thuringiensis* και των αρπακτικών εντόμων *M. pygmaeus* και *N. tenuis* δε φαίνεται να παρουσιάζει αρνητική σχέση και πως οι πληθυσμοί των αρπακτικών δεν μειώνονται (Gonzalez-Carbera et al., 2009; Molla et al., 2011).

1.4 Η οικογένεια Miridae

1.4.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Η οικογένεια Miridae ταξινομείται στην τάξη Hemiptera και στην υπεριοικογένεια Miridoidea. Αποτελεί την μεγαλύτερη οικογένεια στα Heteroptera καθώς περιλαμβάνει 1200 γένη και 10000 είδη εντόμων (Schuh and Slater., 1995), ενώ οι Henry & Wheeler (1988) αναφέρουν πως ο αριθμός των ειδών που εντάσσονται σε αυτή την οικογένεια μπορεί να ξεπεράσουν τα 20000. Ως επί το πλείστον είναι φυτοφάγα είδη, ενώ παράλληλα σε 25 γένη έχουμε είδη που συμπεριφέρονται ως γενικευμένοι θηρευτές (Albajes et al., 1999).

Είναι μαλακόσωμα έντομα, με μήκος σώματος που κυμαίνεται από 2-15 mm, σχήμα σώματος στενό ωοειδές ή επίμηκες. Έχουν χρώμα πράσινο, καστανό ή και μαύρο, ενώ κάποιες περιοχές του σώματός τους έχουν χρώμα ερυθρό, πορτοκαλί ή λευκό. Μορφολογικά, η κεφαλή τους είναι σχεδόν τριγωνική, ενώ οι κεραίες τους αποτελούνται από 4 άρθρα. Το 3^ο και 4^ο άρθρο έχουν διάμετρο μικρότερη από το 2^ο. Διαθέτουν σύνθετους οφθαλμούς και το ρύγχος τους αποτελείται από 4 άρθρα. Το πρόνωτό τους έχει σχήμα τραπεζοειδές, ενώ στην πρόσθια πλευρά του σχηματίζεται ένας υπανάπτυκτος δακτύλιος. Στο νοτιαίο πρόσθιο τμήμα του προνώτου υφίστανται δυο μη ευδιάκριτες ανυψωμένες περιοχές. Το επιθωράκιο είναι τριγωνικό, ενώ το πρόσθιο μέρος του επικαλύπτεται από την οπίσθια πλευρά του προνώτου. Στα ημιέλυτρα διακρίνονται τέσσερα τμήματα: το clavus, το corium, το cuneus και το μεμβρανώδες τμήμα (Wheeler & Henry, 1992; Schuh & Slater, 1995)

Φέρουν μακριούς πόδες κι έχουν συνήθως ταρσούς με τρία άρθρα. Επίσης διαθέτουν παράμερα, τα οποία αποτελούν βοηθητικά όργανα σύζευξης του αρσενικού. Το θηλυκό φέρει ευμεγέθη πριονωτό ωοθέτη, που βοηθά στην εισαγωγή των ωών εντός του φυτικού ιστού (Schuh & Slatter, 1995). Διαχειμιάζουν ως ενήλικα ή στο στάδιο του ωού κι εμφανίζουν 1 γενιά ανά έτος ή και περισσότερες, αναλόγως το είδος. Τα είδη με 2 γενιές ανά έτος είναι μονοφάγα, ενώ τα είδη με πολλές γενιές ανά έτος είναι πολυφάγα. Ο βιολογικός τους κύκλος ολοκληρώνεται σε 6 περίπου εβδομάδες, ενώ η ατελής τους μορφή αποτελείται από 5 νυμφικές ηλικίες πριν εμφανιστεί το ακμαίο (Henry & Wheeler, 1988).

Ο μεγαλύτερος αριθμός των ατόμων της οικογένειας Miridae συμπεριφέρονται ως φυτοφάγα και είναι ζημιογόνα για διάφορες καλλιέργειες.

Υπάρχουν όμως και πολλά αρπακτικά, τα οποία αποτελούν το ένα τρίτο των ειδών που έχουν μελετηθεί (Alomar & Wiedenmann, 1996).

Τα ζωοφυτοφάγα Miridae, όπως και τα φυτοφάγα έντομα έχουν περιορισμένο εύρος φυτών ξενιστών. Η διατροφή όμως με φυτά στην οικογένεια αυτή δεν έχει την ίδια θρεπτική αξία συγκριτικά με τη διατροφή με θηράματα.

1.4.2 Το αρπακτικό έντομο *Nesidiocoris tenuis* Reuter

Το αρπακτικό είδος *N. tenuis* Reuter είναι ένα πολυφάγο έντομο, ανήκει στην οικογένεια Miridae και ταξινομείται ως εξής:

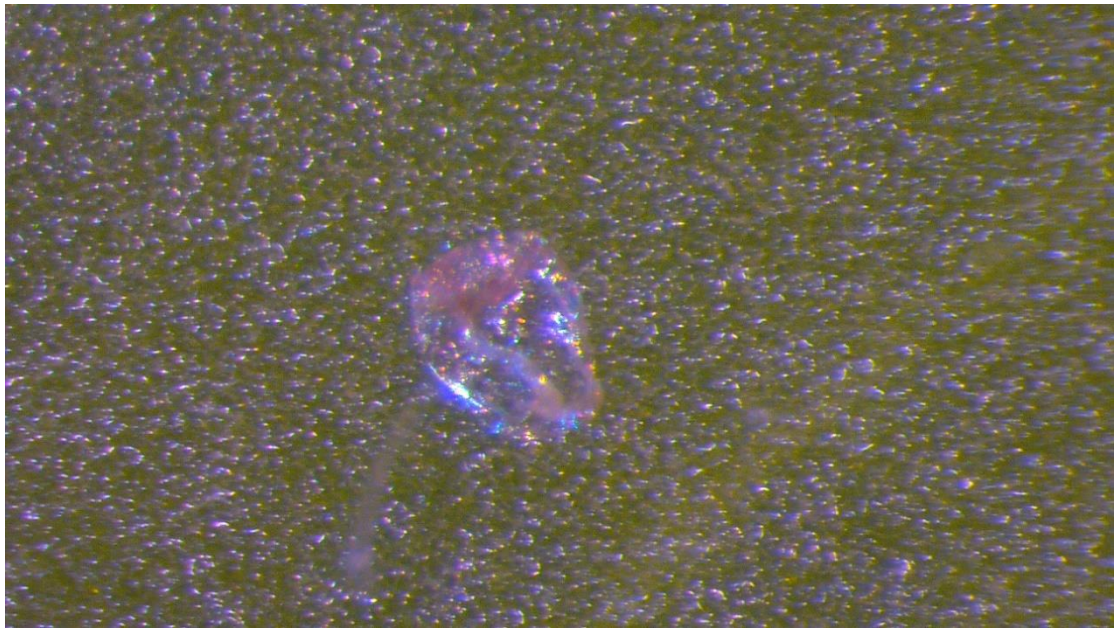
Τάξη: Hemiptera
Υποτάξη: Heteroptera
Υπεροικογένεια: Miridoidea
Οικογένεια: Miridae
Υποοικογένεια: Bryocorinae
Φυλή: Dicyphini
Γένος: *Nesidiocoris*
Είδος: *Nesidiocoris tenuis*

Έχει βρεθεί σε φυτά *Dittrichia viscosa* (Asteraceae), *Solanum nigrum* (Solanaceae) (Alomar et al., 1994) καθώς και στο *Ecballium elaterium* (Cucurbitaceae) (Lykouressis et al., 2000). Τρέφεται με μαλακόσωμα ακμιαία ή νύμφες εντόμων και άλλα αρθρόποδα, όπως ωά και προνύμφες λεπιδοπτέρων, αφίδες, θρίπτες, ακάρεα, φυλλορύκτες και αλευρώδεις (Carnero et al., 2000; Arno et al., 2009; Urbaneja et al., 2009). Σε περιπτώσεις απουσίας λείας τρέφεται με απομύζηση φυτικών χυμών (Lykouressis et al., 2000).. Όταν δεν υπάρχει λεία για να τραφεί, έχει παρατηρηθεί σε νεαρή βλάστηση δημιουργία νεκρωτικών κηλίδων σε φύλλα άνθη και βλαστούς (Calvo et al., 2009). Η συχνότητα εμφάνισης νεκρωτικών κηλίδων σε στελέχη του φυτού μειώνεται όσο αυξάνεται η παρουσία θηράματος (Arno et al., 2006). Το έντομο αυτό, λοιπόν, μπορεί να θεωρηθεί και επιβλαβές σε πολλές καλλιέργειες (Malezieux et al., 1995; Arno et al., 1996). Εντοπίζεται πολύ συχνά σε καλλιέργειες τομάτας κι εγκαθίσταται εύκολα σε αυτές (Goula & Alomar, 1994; Malaus & Trottin- Caudal, 1996).

Όσον αφορά τα μορφολογικά του χαρακτηριστικά, ως μέλος της οικογένειας Miridae, είναι ημιμετάβολο έντομο με πέντε νυμφικά στάδια και παρουσιάζει αρκετά κοινά χαρακτηριστικά με το αρπακτικό *M. pygmaeus*. Το ακμαίο έχει μήκος 3,5-4,5 mm, σώμα επίμηκες πράσινο ως ανοιχτό πράσινο με καστανές ή μαύρες περιοχές. (Goula & Alomar, 1994). Στο πίσω μέρος της κεφαλής υφίσταται μία μαύρη ευδιάκριτη ταινία. Η απόσταση των οφθαλμών από την πρόσθια πλευρά του pronότου είναι μικρότερη από το πλάτος τους. Στις πτέρυγες υπάρχουν σκούρες περιοχές και στα άρθρα των κεραιών (τόσο των νυμφών, όσο και των ακμαίων) μαύρες περιοχές. Στις κεραιές υπάρχουν λιγοστά σκουρόχρωμα τριχίδια (Tarja & Tellez, 2006).

Το ωό τοποθετείται εντός του φυτικού ιστού, με σκοπό την ύπαρξη κατάλληλης υγρασίας και εναποτίθενται κατά κανόνα μεμονωμένα στους βλαστούς των φυτών. Το μόνο μέρος του ωού που φαίνεται είναι το αναπνευστικό κεράτιο. Οι νύμφες του *N. tenuis* διαθέτουν σκούρες περιοχές στις κεραιές, έντονο διαχωρισμό πράσινου και πιο ανοιχτού πράσινου χρώματος στα κοιλιακά τμήματα. Στα άκρα των πτεροθηκών στην 4^η και 5^η νυμφική ηλικία έχουν σκούρο καστανό χρώμα. Η επώαση του ωού διαρκεί 6-7 ημέρες στους 25 °C. Από τη εναπόθεση του ωού ως την εμφάνιση του ακμαίου μεσολαβούν 22-25 ημέρες στους 25 °C και το ενήλικο μπορεί να ζήσει 30-35 ημέρες (Sohrabi & Hosseini, 2015). Η διάρκεια του 2^{ου} νυμφικού σταδίου διαρκεί περισσότερο από τα υπόλοιπα νυμφικά στάδια.

Το αρπακτικό *N. tenuis*, όπως προαναφέρθηκε, τρέφεται με ωά και pronύμφες λεπιδοπτέρων. Το έντομο προτιμά τις νεαρές pronύμφες λεπιδοπτέρων, και κατά συνέπεια του *T. absoluta*, ενώ καταναλώνει pronύμφες 2^{ου} σταδίου (L2) κατά τη διάρκεια ή μετά την έκδυσή τους (Sohrabi & Hosseini, 2015). Η συμβολή του *Nesidiocoris tenuis* στη χώρα μας, για την αντιμετώπιση του *T. absoluta* έχει αποδειχτεί πολύ σημαντική (Perdikis et al., 2009). Το *N. tenuis* δεν δείχνει προτίμηση σε κάποιο συγκεκριμένο νυμφικό στάδιο του αλευρώδη *Trialeurodes vaporariorum*, καθώς τρέφεται με όλα (Kajita, 1978). Η εξαπόλυση του εντόμου στο θερμοκήπιο, όπως και του *M. pygmaeus*, δίνει ικανοποιητικά αποτελέσματα μέσω της επιτυχούς εγκατάστασής τους και διατήρησης των πληθυσμών έως την περάτωση της καλλιέργειας. Ωστόσο, μετά την εξαπόλυσή τους, απαιτείται η χρήση εκλεκτικών εντομοκτόνων και μυκητοκτόνων (Urbaneja et al., 2009; Nannini et al., 2012; Calvo et al., 2012).



Εικόνα 5. Πλήρως μυζημένο ωό *T. absoluta*, ύστερα από κατανάλωση από το *N. tenuis*.



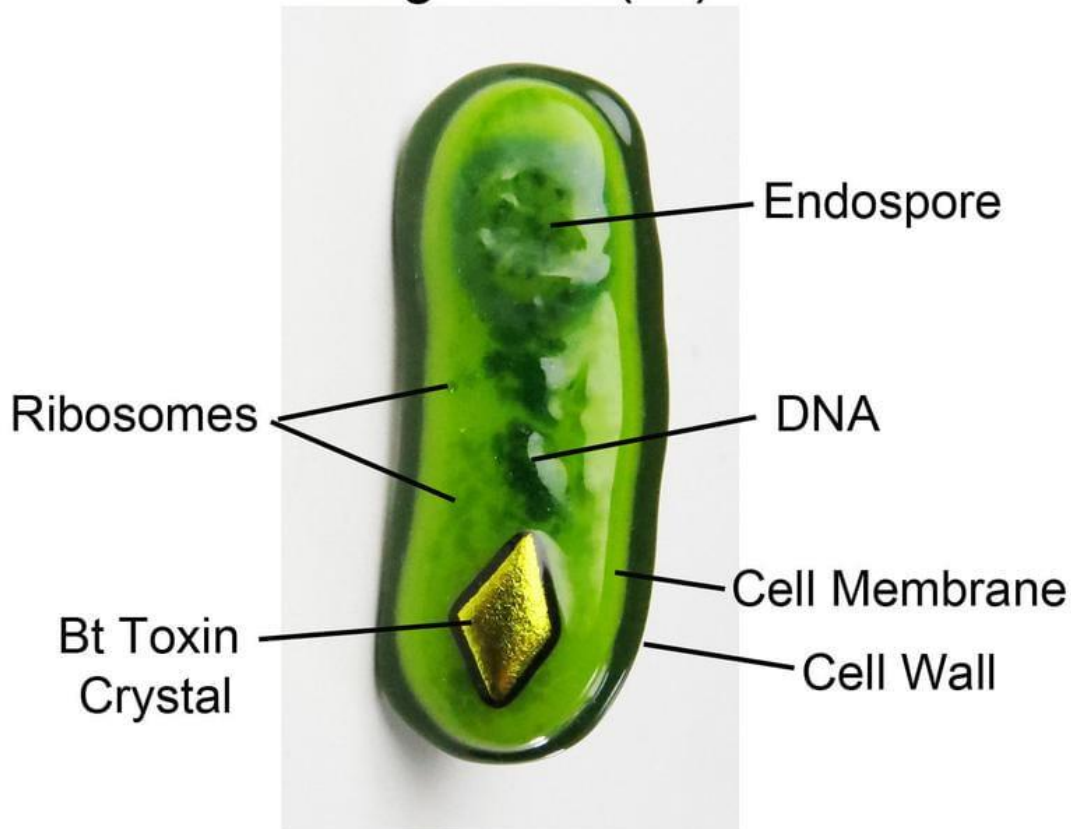
Εικόνα 6. Το αρπακτικό έντομο *N. tenuis*. (πηγή: <https://agritrop.cirad.fr/587311/1/ID%20223.pdf>)

1.5 Το εντομοπαθογόνο βακτήριο *Bacillus thuringiensis*

1.5.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Οι εντομοκτόνες ιδιότητες του βακτηρίου *B. thuringiensis* (Berliner) αναγνωρίστηκαν πολλά χρόνια πριν από την ταυτοποίηση του βακτηρίου, καθώς κάποια χειρόγραφα που έχουν διασωθεί υποδηλώνουν ότι τα σπόρια του *Bt* ενδέχεται να χρησιμοποιούνταν στην αρχαία Αίγυπτο (Assaeedi et al., 2011). Σήμερα, το *Bt* είναι ένα ευρύτερα χρησιμοποιούμενο βιοκτόνο (Glare & O'Callaghan, 2000). Εφαρμόστηκε πρώτη φορά στο περιβάλλον το 1933, ενώ στη Γαλλία κυκλοφόρησε το 1938. Σημαντικές εφαρμογές του έχουν πραγματοποιηθεί στη Βόρεια Αμερική για τον έλεγχο περισσότερων από 40 παρασίτων σε αγρούς, δάση, οπωρώνες, αμπελώνες και αστικά πάρκα (Burgess & Daoust, 1986). Πρόκειται για ένα θετικό κατά Gram, σποροποιητικό βακτήριο, που σχηματίζει έγκλειστα κρυσταλλικών πρωτεϊνών κατά τη σποριοποίησή του. Το βακτήριο αρχικά είχε χαρακτηριστεί εντομοπαθογόνο και η δράση του σχετιζόταν με τους εξωσποριακούς κρυστάλλους που σχηματίζει. Έτσι, η παραπάνω παραδοχή οδήγησε στη σύνθεση εντομοκτόνων, βασισμένων στο *Bt* για τον έλεγχο εντόμων από διάφορες τάξεις (Lepidoptera, Coleoptera, Diptera) (Beegle & Yamamoto, 1992; Feitelson, 1993). Το 1989 οι Hofte & Whiteley αναθεώρησαν τα γνωστά cry γονίδια, τα οποία είναι η αιτία για την έκφραση των κρυσταλλικών πρωτεϊνών. Στη συστηματική καταγραφή τους, λοιπόν, τα γονίδια που κωδικοποιούν τις Cry και Cyt πρωτεΐνες αυξήθηκαν από 14 σε 100. Τα περισσότερα γονίδια τοξινών του βακτηρίου βρίσκονται στα πλασμίδια (Kronstad & Whiteley, 1984; Lereclus et al., 1984), ενώ πολλά cry γονίδια βρίσκονται σε πλασμίδια που προέρχονται από βακτηριακή σύζευξη (Gonzalez et al., 1984). Το βακτήριο έχει αναπτύξει πολλούς μοριακούς μηχανισμούς για να παράγει αρκετά μεγάλο αριθμό τοξινών κατά τη φάση στασιμότητας της ανάπτυξής του. Η συνέκφραση πολλαπλών γονιδίων τοξινών θεωρείται πως σχετίζεται με πολλούς ξενιστές του στελέχους του βακτηρίου, είτε με την ύπαρξη πληθυσμών βακτηρίων που πραγματοποιούν ανταλλαγή γονιδίων τοξινών (Jarrett & Stephenson, 1990). Ωστόσο, υπάρχουν στελέχη *Bt* που παράγουν κρυστάλλους που δεν έχουν εντομοκτόνες ιδιότητες (Abulreesh et al., 2012).

Bacillus thuringiensis (Bt)



Εικόνα 7. Το βακτήριο *Bt* (Ριβοσώματα, Ενδοσπόρια, γενετικό υλικό, κυτταρική μεμβράνη, κυτταρικό τοίχωμα και *Cry* τοξίνη) (πηγή: <https://u.osu.edu/cmifsud7588/2019/05/18/bacillus-thuringiensis/>)

1.5.2 Ενδιαιτήματα και μολυσματικότητα του βακτηρίου

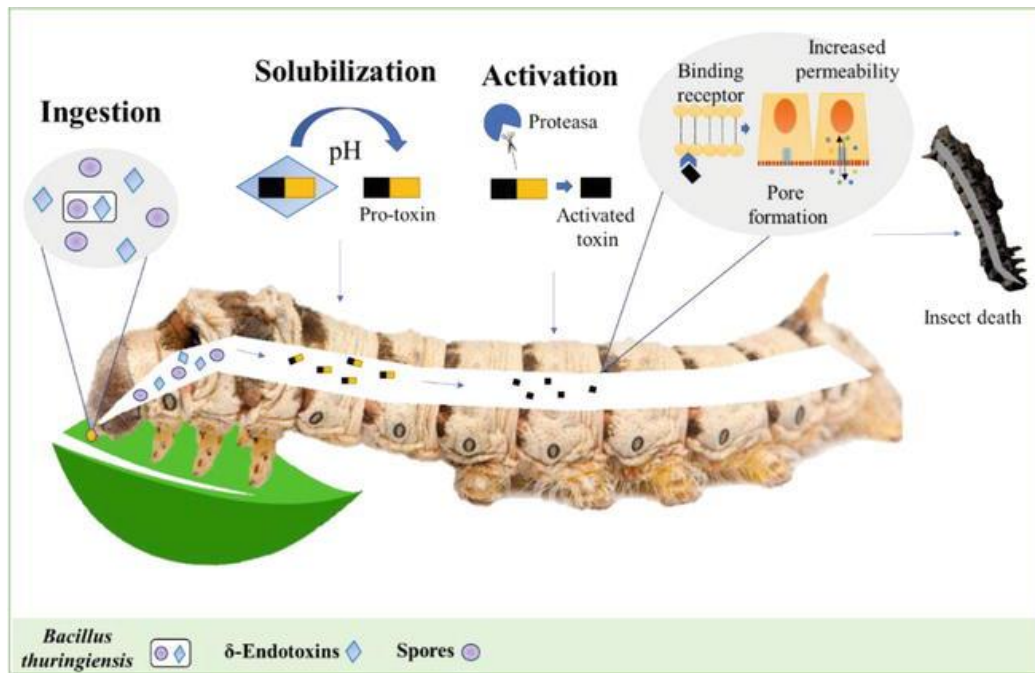
Το βακτήριο *Bt* βρίσκεται σε αρκετά ενδιαιτήματα. Στελέχη του, κατά καιρούς, έχουν απομονωθεί από εδάφη, πτώματα εντόμων (Corozzi et al., 1991), σκόνη αποθηκευμένων προϊόντων (Meadows, 1993), φύλλα φυτών (Smith & Couche, 1991) καθώς και σε υδάτινα περιβάλλοντα (Iriarte et al. 2000). Η απομόνωση του βακτηρίου περιλαμβάνει κάποιες θερμικές επεξεργασίες, με σκοπό την επιλογή των σπορίων (είναι ανθεκτικά σε υψηλές θερμοκρασίες), ή την επιλογή μέσω χρήσης εκλεκτικών αντιβιοτικών (Delucca et al., 1981; Travers et al. 1987). Τα σπόρια του *Bt*

μπορούν να επιβιώσουν για πολλά χρόνια μετά τους ψεκασμούς, με σημαντικές μειώσεις στους πληθυσμούς και την τοξικότητά τους (Petras et al., 1985; West et al., 1985). Έχει αναφερθεί ότι το *Bt* μπορεί να αναπτυχθεί και να αναπτύξει πληθυσμούς στην αμολέμφο των εντόμων και πρόκληση σηψαιμίας (Heimpe 1955). Επιπρόσθετα έχει ανιχνευθεί και η παρουσία εξωκυτταρικών ουσιών που έχουν σχέση με τη μολυσματική ικανότητα του *Bt*. Τέτοιες ουσίες είναι οι φωσφολιπάσες, τοξίνες και διάφορες β-εξωτοξίνες (Levinson 1990; Zhang et al., 1994), ενώ και διάφορες πρωτεάσες, χιτινάσες, και παραγόμενες βλαστητικές εντομοκτόνες πρωτεΐνες (vegetative insecticidal proteins, VIPs) εμπλέκονται σε μηχανισμούς ικανότητας. Συνολικά, 9 διαφορετικές τοξίνες έχουν περιγραφεί σε στελέχη του *Bt* όπως οι: α-εξωτοξίνη (φωσφολιπάση C), β-εξωτοξίνη, γ-εξωτοξίνη, δ-ενδοτοξίνη. Σε εμπορική κλίμακα, η δ-ενδοτοξίνη έχει λάβει τη μεγαλύτερη προσοχή. Δομικά, οι δ-ενδοτοξίνες ανήκουν σε 2 διαφορετικές ομάδες: 1) Οικογένεια Cry, με συγκεκριμένη κυτταρολυτική δραστηριότητα, όπως οι Cry1Aa1, Cry1Ba1, Cry2Aa1 και άλλες και 2) Οικογένεια Cyt με μη ειδική κυτταρολυτική και αμολυτική δραστηριότητα, όπως Cyt1Aa1, Cyt2Aa1 και άλλες. Οι Cry τοξίνες, όμως, αποτελούν τους σημαντικότερους παράγοντες μολυσματικότητας του βακτηρίου. Ένα άλλο χαρακτηριστικό των τοξινών Cry είναι ότι οι πρόδρομες πρωτεΐνες τους συν-κρυσταλλώνονται σε διάφορες μορφές και σχήματα όπως αποδεικνύεται από ηλεκτρονική μικροσκοπία. (Rowe & Margartis, 1987; WHO, 1999; Osman et al., 2015). Οι Cry τοξίνες κωδικοποιούνται από γονίδια cry, τα οποία βρίσκονται κυρίως σε μεγάλα πλασμίδια, ωστόσο τα Cry γονίδια μπορούν να ενσωματωθούν και στο χρωμόσωμα. Τα Cry γονίδια ταξινομήθηκαν σε 4 κατηγορίες, με βάση την πρωτεϊνική τοξικότητά τους στα έντομα και την πρωτογενή αντίδραση με αντίστοιχα γονίδια, την Cry I (ειδική για λεπιδόπτερα) την Cry II (ειδική για λεπιδόπτερα και δίπτερα), την Cry III (ειδική για κολεόπτερα) και τέλος την Cry IV (ειδική για δίπτερα) (Osman et al. 2015). Σύμφωνα με τους Crickmore et al., (1998) προτάθηκε μια άλλη μορφή ονοματολογίας, με βάση την ομοιότητα αλληλουχίας αμινοξέων. Τα Cry γονίδια, λοιπόν, χωρίζονται σε 51 ομάδες και υποομάδες και οι Cry τοξίνες σε 6 κύριες τάξεις που σχετίζονται με τον ξενιστή: ομάδα 1 για λεπιδόπτερα (Cry1, Cry9 και Cry15), ομάδα 2 για λεπιδόπτερα και δίπτερα (Cry2), ομάδα 3 για κολεόπτερα (Cry3, Cry7 και Cry8), ομάδα 4 για δίπτερα (Cry4, Cry10, Cry11, Cry16, Cry17, Cry19 και Cry20), ομάδα 5 για λεπιδόπτερα και κολεόπτερα (CryII) και τέλος ομάδα 6 για νηματώδεις (Cry6) (Crickmore et al., 1988; Osman et al., 2015).

1.5.3 Μηχανισμός δράσης

Ο μηχανισμός δράσης των Cry πρωτεϊνών περιλαμβάνει: 1) την διαλυτοποίηση των κρυστάλλων στο στόμαχο των εντόμων, 2) την πρωτεόλυση των προτοξινών από πρωτεάσες του, 3) τη δέσμευση των Cry τοξινών σε υποδοχείς επιθηλιακών κυττάρων του και 4) την εισαγωγή της τοξίνης στο άνω μέρος της μεμβράνης του κυττάρου, με τελικό στόχο τη δημιουργία ιοντικών καναλιών και πόρων.

Πιο αναλυτικά, προτού εμφανιστεί η προτοξίνη, πρέπει να υποβληθεί σε πρωτεολυτική επεξεργασία, παρουσία αλκαλικού περιβάλλοντος (Andrews et al., 1985). Οι κρύσταλλοι αποτελούνται από προτοξίνες και για να ενεργοποιηθούν απαιτείται οι κρυσταλλικές δομές να καταναλωθούν από τα έντομα (Schnepf et al., 1998). Η μείωση της διαλυτότητας πιστεύεται πως αποτελεί μηχανισμό ανεκτικότητας που αναπτύσσουν τα έντομα. Οι Cry τοξίνες βοηθούν τόσο στην πρόσδεση σε υποδοχείς, όσο και δημιουργία ιοντικών καναλιών στη μεμβράνη των κυττάρων. Η πρόσδεση πραγματοποιείται σε εξειδικευμένους υποδοχείς στη μεμβράνη του άνω μέρους των κυττάρων του επιθηλίου του στομάχου (Hofmann & Luthy, 1986), ενώ μελέτες έχουν δείξει ότι ορισμένες πρωτεΐνες Cry δεσμεύονται σε περισσότερες από μία θέσεις. Η εισαγωγή των Cry τοξινών εντός της μεμβράνης πραγματοποιείται ύστερα από την πρόσδεση, στοιχείο που καθιστά τις τοξίνες ανθεκτικές σε πρωτεάσες και μονοκλωνικά αντισώματα, κι επομένως επάγεται η δημιουργία ιοντικών καναλιών και ακανόνιστων πόρων (Knowles & Ellar, 1987).



Εικόνα 8. Απεικόνιση του μηχανισμού δράσης του Bt. (πηγή: <https://www.intechopen.com/books/protecting-rice-grains-in-the-post-genomic-era/toxic-potential-of-em-bacillus-thuringiensis-em-an-overview>)

1.6 Σκοπός του πειράματος

Η καλλιέργεια της τομάτας, σήμερα, αποτελεί το δεύτερο πιο διαδεδομένο κηπευτικό προϊόν παγκοσμίως μετά την πατάτα, επομένως γίνεται εύκολα αντιληπτή η οικονομική σημασία της καλλιέργειας αυτής. Μετά την είσοδο του επιζήμιου εντόμου *T. absoluta* στη Μεσόγειο (2006) και στη χώρα μας (2009) μια από τις μεθόδους που αναπτύχθηκαν για την αντιμετώπισή του ήταν η χημική καταπολέμηση. Η μείωση χρήσης φυτοπροστατευτικών προϊόντων τα τελευταία χρόνια, όμως, γίνεται όλο και πιο επιτακτική ανάγκη, καθώς το *T. absoluta* έχει αναπτύξει μηχανισμούς ανθεκτικότητας σε δραστικές ουσίες, διαφόρων χημικών ομάδων και κατά συνέπεια δημιουργείται πρόβλημα στη διαχείριση του εντόμου. Το εντομοπαθογόνο βακτήριο *Bt* αποτελεί ένα πολύ καλό τρόπο βιολογικής αντιμετώπισης του εντόμου, καθώς δεν παρουσιάζει υπολείμματα στο περιβάλλον και στο τελικό προϊόν και είναι πολύ αποτελεσματικό έναντι του *T. absoluta*.

Το αρπακτικό έντομο *N. tenuis* είναι ένα πολυφάγο είδος που παρουσιάζει πολλά επιθυμητά χαρακτηριστικά στην αντιμετώπιση του *T. absoluta* (Urbaneja et al., 2009; Molla et al., 2011).

Επομένως, οι δύο αυτοί παράγοντες βιολογικής αντιμετώπισης μπορούν να συνδυάζονται με πολύ καλά αποτελέσματα καθώς το βακτήριο δεν σκοτώνει το αρπακτικό και έτσι θεωρείται ότι έχουν προσθετική επίδραση στους πληθυσμούς του *T. absoluta* και η συνδυασμένη χρήση τους είναι συνιστάμενο μέτρο στην Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση. Ωστόσο, δεν έχει μελετηθεί εάν υπάρχει κάποια αλληλεπίδραση μεταξύ τους. Από προηγούμενη πτυχιακή μελέτη του Εργαστηρίου μας (Σαρακατσάνη, 2017) είχε βρεθεί ότι το *M. pygmaeus* παρουσιάζει σχετικά αυξημένη κατανάλωση λείας που μόλις είχε ψεκαστεί με *Bt*. Επόμενη μελέτη του Εργαστηρίου μας (Χαρβαλάκης, 2019) είχε δείξει ότι το *M. pygmaeus* έδειξε προτίμηση σε φύλλα τομάτας που είχαν ψεκαστεί με *Bt* σε σχέση με τον μάρτυρα.

Σκοπός της παρούσας μελέτης ήταν να διευκρινιστεί εάν ο ψεκασμός με *Bt* αυξάνει την κατανάλωση λείας από το *N. tenuis* και αυτό το φαινόμενο για πόσο χρόνο παρατηρείται μετά τον ψεκασμό και πως σχετίζεται με την πυκνότητα λείας.

Κεφάλαιο 2. Υλικά και μέθοδοι

2.1 Υλικά

2.1.1 Φυτά τομάτας

Στη μελέτη αυτή χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας ποικιλίας «ΕΛΠΙΔΑ» F1, από τον Αγροτικό Οίκο Σπύρου. Παραλήφθηκαν από το φυτώριο στο στάδιο των 2-3 πραγματικών φύλλων, μεταφυτεύτηκαν σε ατομικά γλαστράκια διαμέτρου 12 cm και ύψους 10 cm. Τα φυτάρια αναπτύσσονταν σε φυσικές συνθήκες φωτισμού στο θερμοκήπιο του εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας, σε ρυθμιζόμενες συνθήκες θερμοκρασίας 25 ± 1 °C και σχετικής υγρασίας $65\pm 5\%$, σε εντομολογικούς κλωβούς διαστάσεων 100x80x70 cm. Ο σκελετός των κλωβών ήταν ξύλινος και πάνω σε αυτόν ήταν προσαρμοσμένη λεπτή μουσελίνα. Οι εντομολογικοί κλωβοί είχαν τοποθετηθεί πάνω σε μεταλλικούς πάγκους, ύψους περίπου 80 cm. Το θερμοκήπιο ήταν υαλόφρακτο, εφοδιασμένο με θερμοκουρτίνες. Τα φυτάρια αρδεύονταν τακτικά, τουλάχιστον 2 φορές την εβδομάδα. Καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος δεν έγινε καμία εφαρμογή φυτοπροστατευτικού προϊόντος. Για τις εκτροφές χρησιμοποιήθηκαν φυτάρια αφού είχαν αναπτύξει το 5^ο πραγματικό φύλλο, ενώ για τις πειραματικές διαδικασίες φυτά που είχαν αποκτήσει ύψος περίπου 40 cm. Τα φυτά που χρησιμοποιήθηκαν στις πειραματικές διαδικασίες διατηρούνταν σε θερμοκρασία δωματίου.

2.1.2 Εκτροφή του αρπακτικού εντόμου *N. tenuis*

Η εκτροφή του *N. tenuis* διατηρούνταν σε φυτά τομάτας. Τα φυτάρια μετά την έκπτυξη του 5^{ου} πραγματικού φύλλου τοποθετούνταν σε ξύλινους εντομολογικούς κλωβούς διαστάσεων 100x80x70 cm στο θερμοκήπιο του εργαστηρίου. Τα άτομα *N. tenuis* προέρχονταν από το σκεύασμα NESIBUG της εταιρείας KOPPERT BIOLOGICAL SYSTEMS. Η διατροφή των εντόμων γινόταν με τη χρήση του σκευάσματος με το εμπορικό όνομα ENTOFOOD της εταιρείας KOPPERT BIOLOGICAL SYSTEMS. Το σκεύασμα αυτό περιείχε μείγμα ωών του εντόμου

Ephestia kuhniela Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), με κύστες καρκινοειδών του γένους *Artemia* sp. (Branchiopoda: Artemiidae). Η προσθήκη τροφής γινόταν 2 φορές την εβδομάδα.



Εικόνα 9. Εκτροφή του αρπακτικού εντόμου *N. tenuis* σε φυτά τομάτας στο θερμοκήπιο.

2.1.3 Η εκτροφή του εντόμου *T. absoluta*

Η εκτροφή του εντόμου *T. absoluta* πραγματοποιήθηκε στο εντομοτροφείο του εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας, σε κλωβό μικρών διαστάσεων και οι προνύμφες του εντόμου είχαν συνεχή παροχή φυταρίων τομάτας, 5 πραγματικών φύλλων κι άνω. Οι συνθήκες εκτροφής ήταν σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος, με φωτοπερίοδο 16Φ:8Σ, θερμοκρασία 25 ± 1 °C και σχετική υγρασία $65\pm 5\%$.



Εικόνα 10. Κλωβός εκτροφής του εντόμου *T. absoluta*.

2.1.4 Σκεύασμα *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*

Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκε το εμπορικό σκεύασμα Bactospeine WG, στη μορφή βρέξιμων (εναιωρηματοποιήσιμων) κόκκων με δραστική ουσία το *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* strain ABTS-351 και με εγγυημένη σύνθεση: δραστική ουσία 64% (β/β) ή 32000 IU/mg και με βοηθητικές ουσίες: έως 100% β/β. Το σκεύασμα κυκλοφορεί από την εταιρία ΧΕΛΛΑΦΑΡΜ Α.Ε. Σε όλους τους χειρισμούς χρησιμοποιήθηκε η μέγιστη συνιστάμενη δόση των 2g/L ψεκαστικού υγρού για θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας, πάντα σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή. Η παρασκευή του υγρού μείγματος γινόταν με ανάμειξη των εναιωρηματοποιήσιμων κόκκων με απιονισμένο νερό. Για την εμβάπτιση των φύλλων της τομάτας που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα, το υγρό, ύστερα από την ανάμειξη, τοποθετούνταν σε μικρό ογκομετρικό δοχείο.

2.1.5 Προετοιμασία τρυβλίων για τις βιοδοκιμές

Για την πειραματική διαδικασία, προετοιμάστηκαν πλαστικά τρυβλία Petri. Για εξασφάλιση σωστού αερισμού, στο καπάκι δημιουργήθηκε οπή διαμέτρου 4 cm, η οποία καλύφθηκε με λευκού χρώματος μουσελίνα για αποφυγή της διαφυγής των προς μελέτη εντόμων. Σε όλες τις πειραματικές διαδικασίες, πριν τη διενέργειά τους, το εσωτερικό του τρυβλίου καλυπτόταν με λεπτό στρώμα νοτισμένου βάμβακος, καλά στραγγισμένου.

2.1.6 Λοιπά αντικείμενα για πραγματοποίηση πειράματος

Για τη συλλογή των νυμφών του αρπακτικού εντόμου *N. tenuis* κατασκευάστηκε αυτοσχέδιος αναρροφητήρας. Επίσης για την τοποθέτηση των φυτών που χρησιμοποιήθηκαν για τις πειραματικές διαδικασίες, κατασκευάστηκαν κυλινδρικοί κλωβοί. Σκοπός ήταν η προστασία από άλλα έντομα. Τέλος, για την συλλογή των ωών του *T. absoluta*, καθώς και την τοποθέτηση των αρπακτικών νυμφών *N. tenuis* στο τρυβλίο Petri, χρησιμοποιήθηκε πινέλο μεγέθους 000.



Εικόνα 11. Αυτοσχέδιος αναρροφητήρας συλλογής νυμφών *N. tenuis*.



Εικόνα 12. Αυτοσχέδιος κλωβός για τοποθέτηση φυτών τομάτας που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα.

2.2 Πειραματική διαδικασία

Η πειραματική διαδικασία ξεκινούσε με τη συλλογή νυμφών 4^{ης} ηλικίας, του *N. tenuis* που τοποθετούνταν αυστηρά ανά δύο σε τρυβλίο Petri, εντός του οποίου τοποθετούνταν φυλλάριο τομάτας, που στην επιφάνειά του περιείχε τροφή για τα αρπακτικά και στην άκρη του μικρό τεμάχιο υγραμένου βάμβακος, με σκοπό τη διατήρησή του σε καλή κατάσταση. Τα τρυβλία σφραγίζονταν εξωτερικά με λεπτό φύλλο παραφίνης, με σκοπό την αποφυγή διαφυγής των εντόμων. Στη συνέχεια, μεταφέρονταν στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών για 24 ώρες.

Την επόμενη ημέρα, τα τρυβλία ελέγχονταν και οι νύμφες 5^{ης} ηλικίας τοποθετούνταν ατομικά σε τρυβλίο Petri με φυλλάριο τομάτας, αλλά χωρίς παροχή τροφής και διατηρούνταν στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών για τις επόμενες 24

ώρες. Την ίδια ημέρα, γινόταν εισαγωγή καθαρών φυτών τομάτας στην εκτροφή του εντόμου *T. absoluta* με σκοπό την επόμενη ημέρα να συλλεχθούν ωά του εντόμου για να χρησιμοποιηθούν στη πειραματική διαδικασία.

Την επόμενη μέρα, καθαρά φυτά τομάτας εμβαπτίζονταν σε απιονισμένο νερό ή στο διάλυμα του βακτηρίου για 30 δευτερόλεπτα, και ύστερα τοποθετούνταν στους αυτοσχέδιους κυλινδρικούς κλωβούς. Από αυτά τα φυτά αποκόπτονταν φυλλάρια που χρησιμοποιούνταν στην πειραματική διαδικασία. Τα φυλλάρια αποκόπτονταν σε διάστημα ανάλογο της αντίστοιχης επέμβασης (1 ώρα, 1 ημέρα και 4 ημέρες από την εμβάπτιση). Ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό.

Κατά την έναρξη του πειράματος, το κάθε φυλλάριο τοποθετείτο ατομικά σε τρυβλίο όπως περιεγράφηκε προηγουμένως. Ωά του *T. absoluta*, ηλικίας μικρότερης των 24 ωρών τοποθετούνταν επάνω στο φυλλάριο σε διάφορες πυκνότητες (4, 8, 16, 32 και 64 ωά/φυλλάριο). Στη συνέχεια γινόταν η εισαγωγή μιας νύμφης 5^{ης} ηλικίας του *N. tenuis* που δεν είχε λάβει τροφή (Entofood) τις προηγούμενες 24 ώρες. Η εισαγωγή της στο τρυβλίο γινόταν πολύ προσεκτικά εντός του θαλάμου ελεγχόμενων συνθηκών, με πινέλο και με τρόπο τέτοιο ώστε να μη διαταραχθεί το έντομο και επηρεαστεί η συμπεριφορά του. Κατόπιν το τρυβλίο καλύπτονταν με καπάκι.

Τα τρυβλία παρέμεναν στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών για 2 ώρες. Στη διάρκεια αυτών των 2 ωρών λαμβάνονταν μετρήσεις κατανάλωσης ωών από το αρπακτικό στα 30 λεπτά, στη 1 ώρα και στις 2 ώρες. Η διαδικασία αυτή γινόταν με τη μέθοδο της οπτικής παρακολούθησης, με τη βοήθεια μεγεθυντικού φακού. Με σκοπό να επηρεάζεται όσο το δυνατό λιγότερο η αρπακτική συμπεριφορά των εντόμων, για κάθε τέτοια βιοδοκιμή στο θάλαμο υπήρχαν μέχρι 4 τρυβλία. Με το πέρας των 2 ωρών, η νύμφη αφαιρούνταν και η τελική κατανάλωση ωών καταμετρούνταν στο στερεοσκόπιο του εργαστηρίου. Η διαδικασία επαναλήφθηκε 10 φορές (νύμφες) για κάθε πυκνότητα.



Εικόνα 13. Τοποθέτηση νύμφης του αρπακτικού εντόμου *N. tenuis* με πινέλο σε τρυβλίο με φυλλάριο τομάτας, όπου είχαν τοποθετηθεί ωά του *T. absoluta*, για διεξαγωγή πειραμάτων.



Εικόνα 14. Θάλαμος ελεγχόμενων συνθηκών του εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας.



Εικόνα 15. Τοποθέτηση των τρυβλίων στο θάλαμο σταθερών συνθηκών για διεξαγωγή πειραμάτων.

2.3 Στατιστική επεξεργασία δεδομένων

Τα δεδομένα που αφορούσαν τα καταναλωθέντα άτομα λείας από το *N. tenuis* στις διάφορες πυκνότητες ωών, αναλύθηκαν με τη μέθοδο της ανάλυσης διασποράς (ANOVA) με παράγοντες το διάστημα από την εμφάνιση, την πυκνότητα λείας και το διάστημα από την εισαγωγή του αρπακτικού στο τρυβλίο. Οι αναλύσεις δεδομένων έγιναν με τη χρήση του στατιστικού πακέτου JMP (SAS Institute, 2012), ενώ οι συγκρίσεις των μέσων έγιναν με τη δοκιμασία των Tukey – Kramer.

Κεφάλαιο 3. Αποτελέσματα

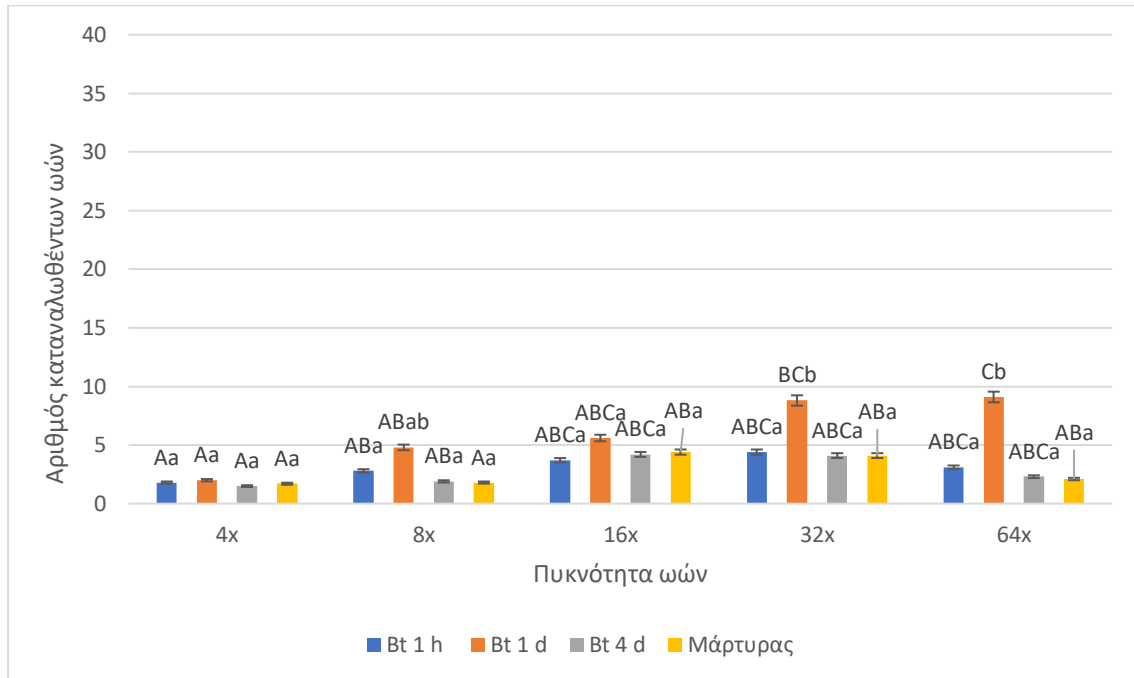
Η ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι η κατανάλωση λείας από το αρπακτικό επηρεάστηκε σημαντικά από τις αλληλεπιδράσεις των παραγόντων: “επέμβαση” και “χρονικό διάστημα από την εισαγωγή στο τρυβλίο”, “επέμβαση” και “πυκνότητα”, “χρονικό διάστημα από την εισαγωγή στο τρυβλίο” και “πυκνότητα” ($F=5,23$, $df=6,540$, $P<0,001$, $F=10,46$, $df=12,540$, $P<0,001$, $F=266,77$, $df=6,540$, $P<0,001$, αντίστοιχα).

Στο ραβδόγραμμα 1 δίνεται η κατανάλωση λείας στα πρώτα 30 λεπτά από την είσοδο του αρπακτικού στο τρυβλίο. Η κατανάλωση ήταν πολύ υψηλότερη στα φυλλάρια που είχαν εμβαπτιστεί στο διάλυμα του βακτηρίου 24 ώρες πριν την εισαγωγή του αρπακτικού σε σχέση με τις άλλες επεμβάσεις (δηλαδή όταν το διάστημα από την εμβάπτιση ήταν 1 ώρα, 4 ημέρες και στον μάρτυρα). Η διαφορά τους ήταν σημαντική στις πυκνότητες των 32 και 64 ωών ανά τρυβλίο όπου έφθασαν τα 8,8 και 9,1 άτομα κατά μ.ό., αντίστοιχα. Μεταξύ των άλλων επεμβάσεων δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφορές. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι στην πυκνότητα των 64 ατόμων η κατανάλωση μειώθηκε σε σχέση με τις πυκνότητες των 16 και 32 ατόμων.

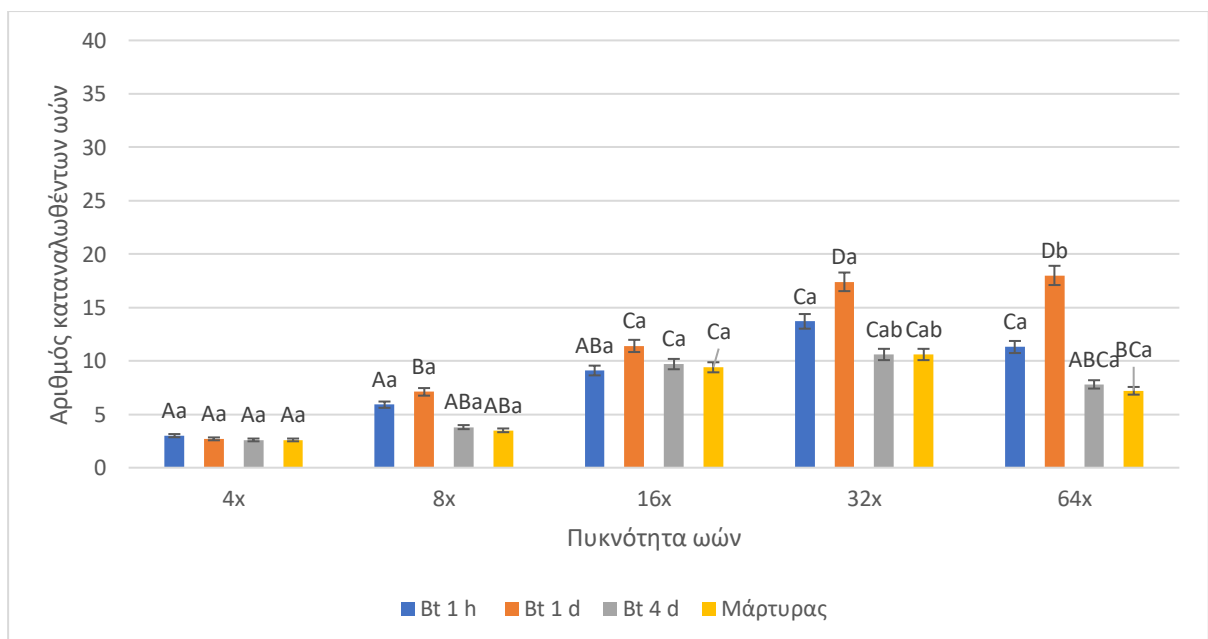
Στο ραβδόγραμμα 2 δίνεται η κατανάλωση λείας στη 1 ώρα από την είσοδο του αρπακτικού στο τρυβλίο. Η κατανάλωση ήταν υψηλότερη στα φυλλάρια που είχαν εμβαπτιστεί στο διάλυμα του βακτηρίου 24 ώρες πριν την εισαγωγή του αρπακτικού σε σχέση με τις άλλες επεμβάσεις, στις πυκνότητες των 32 και 64 ωών ανά τρυβλίο, όπου έφθασαν τα 17,4 και 18 άτομα κατά μ.ό. Μεταξύ των άλλων επεμβάσεων, η κατανάλωση ήταν υψηλότερη στα 16 και 32 άτομα στη 1 ώρα από την εμβάπτιση. Για την επέμβαση της 1 ημέρας ήταν παρόμοια στις πυκνότητες των 32 και 64 ατόμων. Στις άλλες δύο επεμβάσεις δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των πυκνοτήτων 16 και 32 ατόμων. Στις άλλες δύο επεμβάσεις, δηλαδή του μάρτυρα και της εμβάπτισης 4 ημερών πριν, υπήρξε μείωση στην πυκνότητα 64 σε σχέση με την 32.

Η συνολική κατανάλωση μετά το διάστημα των δύο ωρών δίνεται στο ραβδόγραμμα 3. Εδώ η κατανάλωση δεν διαφέρει μεταξύ των επεμβάσεων

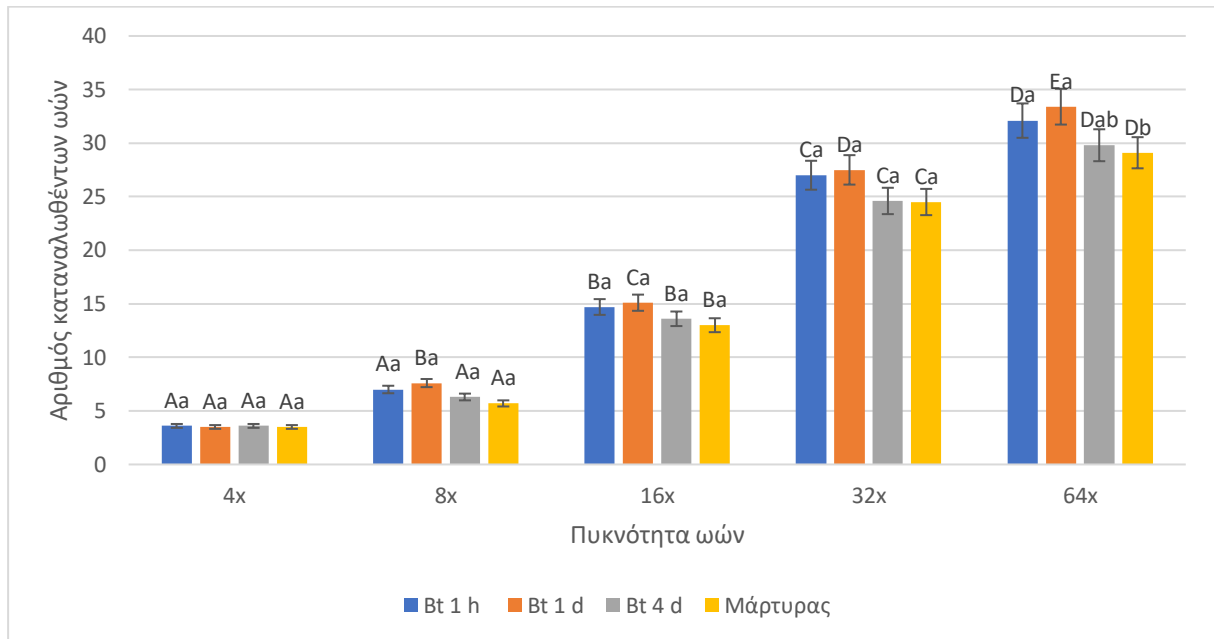
σε κάθε πυκνότητα. Παρατηρείται επίσης σημαντική αύξηση στην κατανάλωση με την αύξηση της πυκνότητας της λείας.



Ραβδόγραμμα 1. Αριθμός καταναλωθέντων ωών (μ.ό. ± τ.σ.) *T. absoluta* από το *N. tenuis*, στα πρώτα 30 λεπτά παρατήρησης.



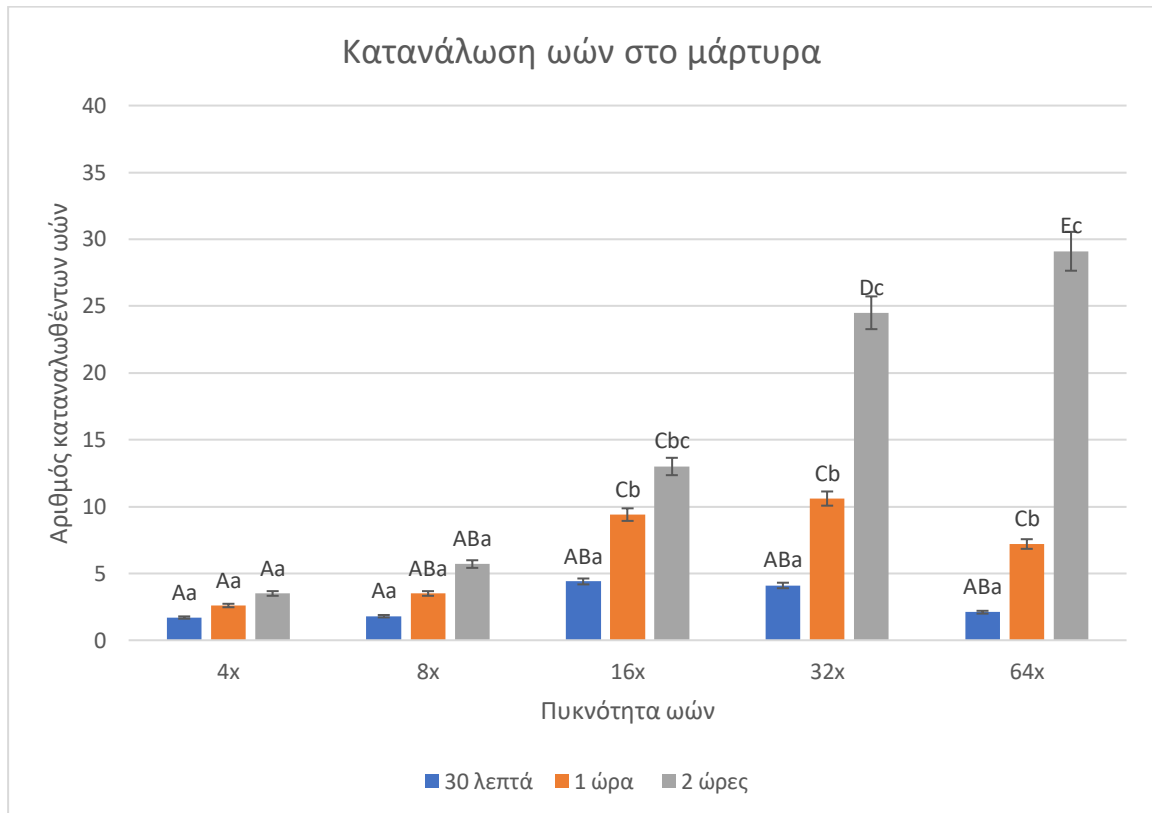
Ραβδόγραμμα 2. Αριθμός καταναλωθέντων ωών (μ.ό. ± τ.σ.) *T. absoluta* από το *N. tenuis*, στη 1 ώρα παρατήρησης.



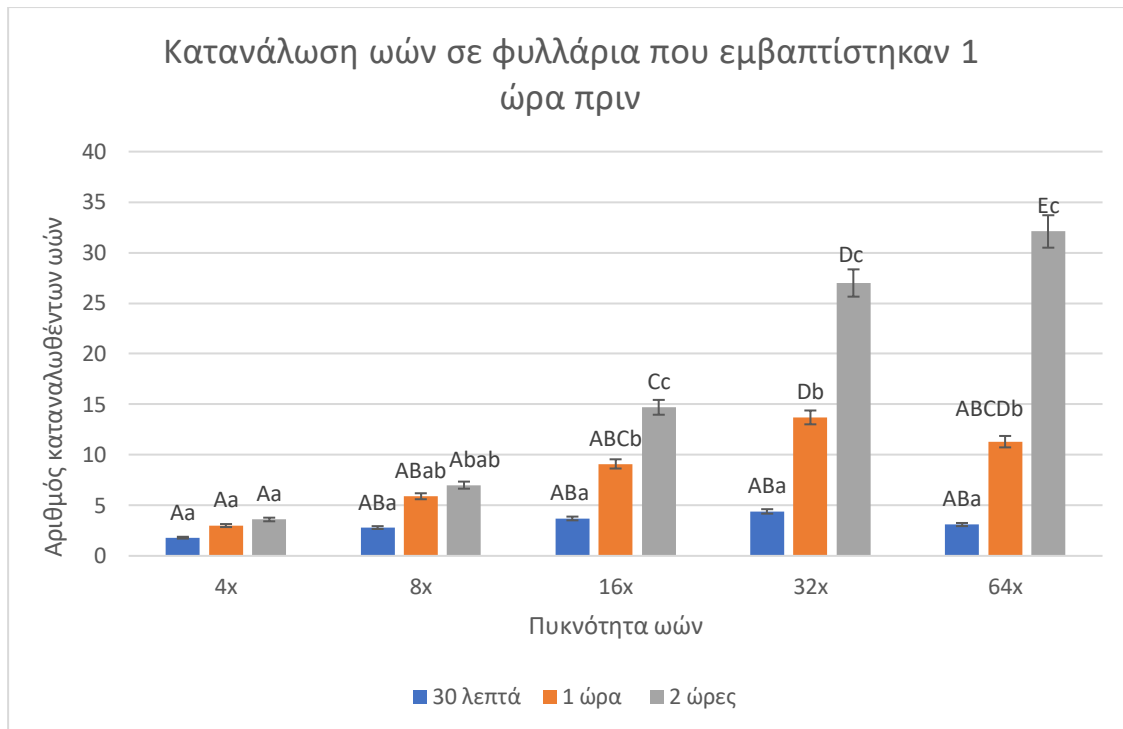
Ραβδόγραμμα 3. Αριθμός καταναλωθέντων ωών (μ.ό. ± τ.σ.) *T. absoluta* από το *N. tenuis*, στις 2 ώρες παρατήρησης.

Στα ραβδογράμματα 4,5, 6 και 7 παρουσιάζεται η κατανάλωση λείας ανά επέμβαση. Στην περίπτωση του μάρτυρα, γενικά σε όλες τις πυκνότητες η κατανάλωση αυξανόταν με την αύξηση του χρόνου από την εισαγωγή του αρπακτικού στο τρυβλίο και ήταν υψηλότερη όταν είχε παρέλθει χρονικό διάστημα 2 ωρών. Στην περίπτωση των 30 λεπτών και της 1 ώρας από την εισαγωγή του αρπακτικού στο τρυβλίο η κατανάλωση αυξήθηκε με την αύξηση της πυκνότητας λείας αλλά μειώθηκε σημαντικά στην μέγιστη πυκνότητα λείας σε σχέση με τα 32 άτομα λείας. Στην τελική μέτρηση (2 ώρες) η κατανάλωση αυξανόταν σταθερά με την αύξηση της λείας (ραβδόγραμμα 4). Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και στην επέμβαση όπου είχε παρέλθει 1 ώρα από την εμφάνιση του φυλλαρίου, χωρίς ωστόσο οι διαφορές μεταξύ των 32 και 64 ατόμων να είναι σημαντικές στα 30 λεπτά και στη 1 ώρα (ραβδόγραμμα 5). Μετά την παρέλευση 1 ημέρας από την εμφάνιση η κατανάλωση αυξανόταν σταθερά με την αύξηση της λείας (ραβδόγραμμα 6). Όταν το διάστημα από την εμφάνιση μέχρι την έναρξη του πειράματος ήταν 4 ημέρες τότε και πάλι η κατανάλωση στα 64 άτομα λείας

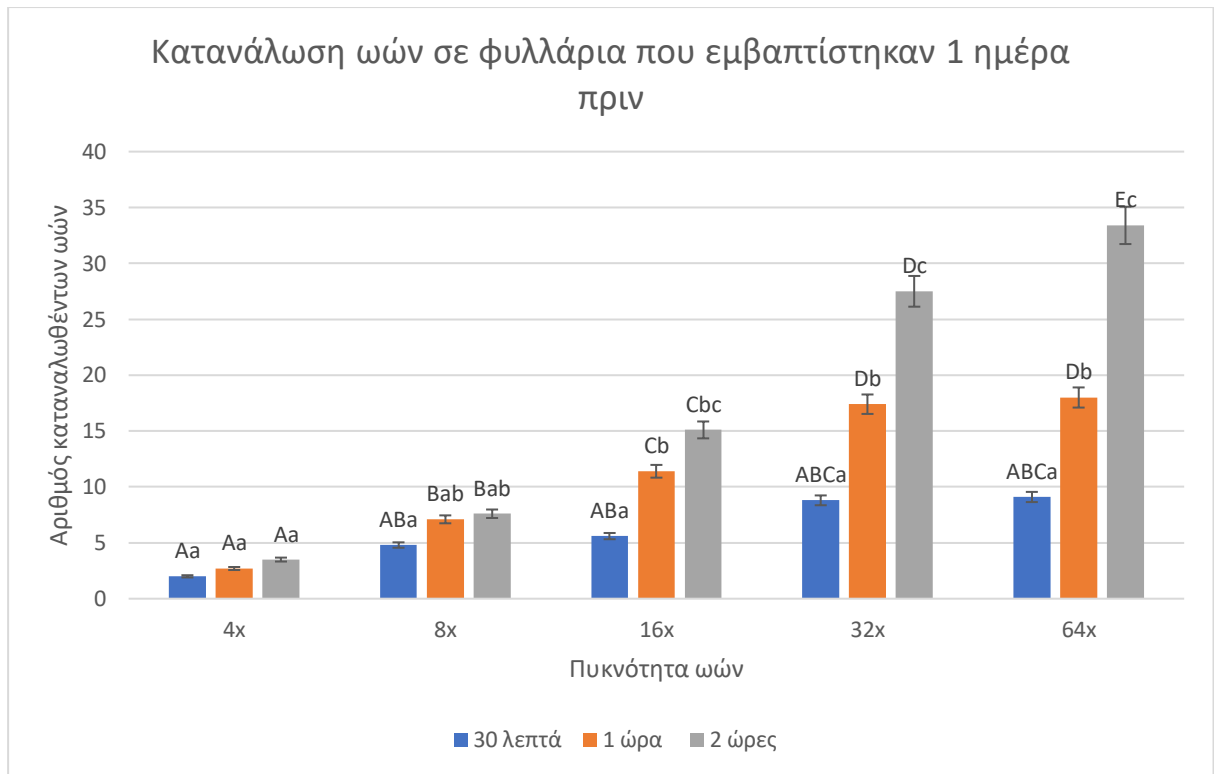
(4,1 και 10,6 άτομα κατά μ.ό.) μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με τα 32 άτομα λείας (2,3 και 7,8 άτομα κατά μ.ό.) στις μετρήσεις των 30 λεπτών και της 1 ώρας από την εισαγωγή του αρπακτικού (ραβδόγραμμα 7).



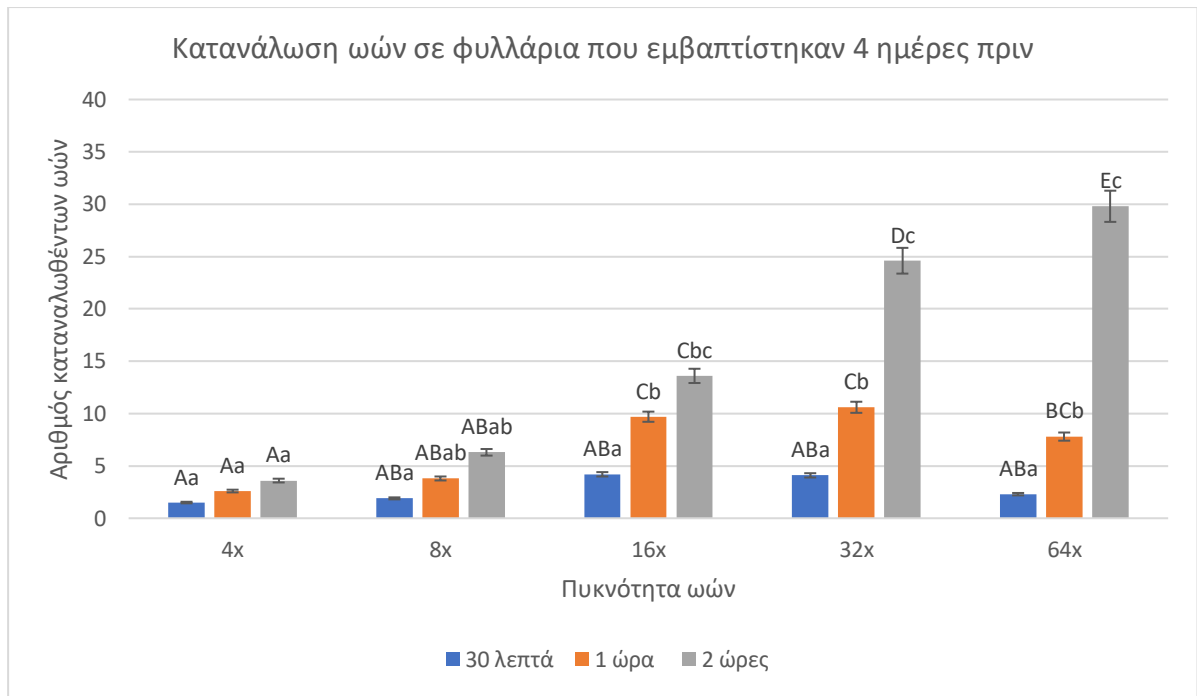
Ραβδόγραμμα 4. Αριθμός καταναλωθέντων ωών του *T. absoluta* στις πυκνότητες 4, 8, 16, 32, 64 από το *N. tenuis*, στους χρόνους παρατήρησης 30 λεπτά, 1 ώρα και 2 ώρες, όταν το φυλλάριο τομάτας εμβαπτίστηκε σε απιονισμένο νερό.



Ραβδόγραμμα 5. Αριθμός καταναλωθέντων ωών του *T. absoluta* στις πυκνότητες 4, 8, 16, 32, 64 από το *N. tenuis*, στους χρόνους παρατήρησης 30 λεπτά, 1 ώρα και 2 ώρες, όταν το φυλλάριο τομάτας εμβαπτίστηκε σε διάλυμα Bt 1 ώρα πριν.



Ραβδόγραμμα 6. Αριθμός καταναλωθέντων ωών του *T. absoluta* στις πυκνότητες 4, 8, 16, 32, 64 από το *N. tenuis*, στους χρόνους παρατήρησης 30 λεπτά, 1 ώρα και 2 ώρες, όταν το φυλλάριο τομάτας εμβαπτίστηκε σε διάλυμα Bt 1 ημέρα πριν.



Ραβδόγραμμα 7. Αριθμός καταναλωθέντων ωών του *T. absoluta* στις πυκνότητες 4, 8, 16, 32, 64 από το *N. tenuis*, στους χρόνους παρατήρησης 30 λεπτά, 1 ώρα και 2 ώρες, όταν το φυλλάριο τομάτας εμβαιπίστηκε σε διάλυμα Bt 4 ημέρες πριν.

Κεφάλαιο 4. Συζήτηση – Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κατανάλωση ωών του *T. absoluta* από το αρπακτικό *N. tenuis* επιταχύνεται σημαντικά σε σχέση με τον μάρτυρα, 1 ώρα και μία ημέρα μετά τον ψεκάσμό. Προηγούμενες μελέτες έχουν αναφέρει ότι ο συνδυασμός του *N. tenuis* και του *Bt* προσφέρει πολύ ικανοποιητικά αποτελέσματα στον έλεγχο του *T. absoluta* καθώς το βακτήριο δεν προκαλεί θνησιμότητα στο αρπακτικό και επίσης το αρπακτικό τρέφεται κυρίως με ωά ενώ το βακτήριο παρασιτεί νεαρές προνύμφες του *T. absoluta* (Gonzalez-Cabera et al., 2011). Ωστόσο, τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής δείχνουν ότι μπορεί να υπάρχει ένας συνεργισμός στη δράση αυτών των δύο παραγόντων βιολογικής αντιμετώπισης του *T. absoluta*, καθώς μετά τον ψεκάσμό ενοείται η αρπακτική δράση του *N. tenuis*. Σε προηγούμενες πτυχιακές μελέτες στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γ.Π.Α., ένα άλλο αρπακτικό της οικογένειας Miridae, το *M. pygmaeus*, έδειξε σχετικά αυξημένη κατανάλωση λείας που μόλις είχε ψεκάσει με *Bt* (Σαρακατσάνη, 2017) ενώ έδειξε προτίμηση σε φύλλα τομάτας που είχαν ψεκάσει με *Bt* (Χαρβαλάκης, 2019). Η αυξημένη δραστηριότητα του *N. tenuis* μπορεί να οφείλεται σε πτητικές ουσίες που παράγονται από το βακτήριο ή στα έκδοχα που περιέχει το σκεύασμα του βακτηρίου.

Τα βακτήρια γενικά, παράγουν πτητικά οργανικά μόρια που συνήθως προέρχονται από προϊόντα όπως διάφορα λιπαρά οξέα, αρωματικά αμινοξέα (τρυπτοφάνη, τυροσίνη) αλλά και από υδατάνθρακες. Έχουν καταγραφεί περισσότερες από 300 πτητικές ουσίες που παράγονται από ομάδες βακτηρίων, 75 εκ των οποίων είναι παράγωγα λιπαρών οξέων, οι 50 αρωματικές ενώσεις, 74 αζωτούχες ενώσεις, 96 τερπενοειδή και άλλα (Leroy et al., 2011). Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί ότι καλλιέργειες των βακτηρίων *Bacillus cereus*, *Bacillus thuringiensis* και *Pseudomonas fluorescens* (Pseudomonadales: Pseudomonaceae) προσελκύουν γονιμοποιημένα θηλυκά *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) και διεγείρουν τη συμπεριφορά ωοτοκίας τους (Poonam et al., 2002). Τα βακτήρια *Klebsiella pneumoniae* (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae), *Erwinia herbicola*

(Enterobacteriales: Enterobacteriaceae), *Citrobacter freundii* (Enterobacteriales: Enterobacteriaceae), όπως επίσης και δυο του *Bacillus thuringiensis* (subsp. *finitimus* και subsp. *kurstaki*) δρουν προσελκυστικά για το δίπτερο *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) (Lee et al., 1995).

Μια πιθανή εξήγηση της προσέλκυσης του *N. tenuis* στην περίπτωση ψεκασμού με εμπορικό σκεύασμα, είναι και αυτή της επίδρασης των βοηθητικών ουσιών του σκευάσματος και ίσως σε συνδυασμό με τις πτητικές ενώσεις που παράγονται από το *Bt*. Είναι γνωστό πως διάφορες οργανικές και ανόργανες ουσίες δρουν ως τροφικά ελκυστικά για αρκετά δίπτερα, όπως για το *Bactrocera oleae* Rossi (Diptera: Tephritidae) και το *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). Αρκετές ουσίες χρησιμοποιούνται είτε για την παρακολούθηση πληθυσμών είτε για τον έλεγχό τους. Κάποιες από αυτές είναι διάφορα διαλύματα υδρολυόμενων πρωτεϊνών, αζωτούχες ενώσεις (1,4 βουτανοδιαμίνη, τριμεθυλαμίνη) και διάφορα αμμωνιακά άλατα (διττανθρακικό αμμώνιο ή θειικό αμμώνιο) (Broumas et al., 1994; Holler et al., 2006). Σε σχέση με τα ωφέλιμα έντομα, δεν έχει διερευνηθεί σε μεγάλο βαθμό εάν με τη χρήση ελκυστικών ουσιών αυξάνεται η αποτελεσματικότητά τους. Οι Urbaneja et al. (2013) δοκίμασαν την εγκατάσταση του *N. tenuis* σε θερμοκήπια εμπορικής κλίμακας, τοποθετώντας ωά του *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) ως λεία, σε διάφορες πυκνότητες ανά φυτό. Ύστερα πρόσθεσαν σάκχαρα και διαπίστωσαν την πιο εύκολη εγκατάσταση του *N. tenuis*, ακόμη και με τη μισή ποσότητα ωών του *E. kuehniella* ως λεία. Οι βοηθητικές ουσίες του σκευάσματος *Bt* που χρησιμοποιήσαμε στο πείραμα, πιθανώς να περιέχουν κάποια σάκχαρα για την επιβίωση του βακτηρίου κατά την αποθήκευση του φυτοπροστατευτικού προϊόντος. Θα μπορούσε, λοιπόν, να διερευνηθεί περαιτέρω η επίδραση τέτοιων ουσιών από το *Bt*, τόσο στην οσφρητική απόκριση όσο και στην λειτουργική απόκριση του *N. tenuis*, και η πιθανή μελλοντική χρήση τους γι' την αύξηση της δράσης ή της προσέλκυσής του σε καλλιέργειες τομάτας ή και σε άλλα είδη της οικογένειας Miridae που χρησιμοποιούνται σε συστήματα βιολογικής και ολοκληρωμένης αντιμετώπισης.

Τα αποτελέσματα έδειξαν επίσης ότι η αρπακτική ικανότητα του *N. tenuis* δεν αυξάνει με την πυκνότητα λείας για ένα σύντομο χρονικό διάστημα.

Πιο συγκεκριμένα σε διάστημα 30 λεπτών και μιας ώρας από την εισαγωγή του στο τρυβλίο η κατανάλωση λείας μειωνόταν σημαντικά στη μέγιστη πυκνότητα λείας σε σχέση με την αμέσως μικρότερη. Το θέμα αυτό θα μπορούσε να εξεταστεί περαιτέρω σε μελλοντικές μελέτες.

Κεφάλαιο 5. Βιβλιογραφία

- Abbes K, Harbi A, Chermiti B (2012). The tomato leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) in Tunisia: Current status and management strategies. EPPO Bull 42:226–233.
- Abulreesh, H.H., Osman, G.E.H., and Assaeedi, A.S.A. (2012). Characterization of insecticidal genes of *Bacillus thuringiensis* strains isolated from arid environments Ind. J. microbiol. 52 (3): 500-503.
- Al-Zaidi S., (2009). Recommendations for the detection and monitoring of *Tuta absoluta*. Russell IPM agriculture (16/8/12).
- Albajes R. & Alomar O. (1999) Current and potential use of polyphagous predators. pp. 265–275 in Albajes, R., Lodovica Gullino, M., van Lenteren, J.C. & Elad, Y. (Eds) Integrated pest disease management in greenhouse crops. Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publishers.
- Alomar O., Goula M. and Albajes R. (1994). Mirid bugs for biological control: identification, survey in non-cultivated winter plants and colonization of tomato fields. Bulletin IOBC/WPRS, 17(5): 217-223.
- Alomar, O. and R. N. Wiedenmann (eds.). 1996. Zoophytophagous Heteroptera: Implications for Life History and Integrated Pest Management. Lanham, MD: Entomological Society of America. 1-202.
- Andrews, R. E., M. M. Bibilops, L. and Bulla, A. (1985). Protease activation of the entomocidal protoxin of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. Appl. Environ. Microbiol. 50: 737-742.
- Arno J., Castane C., Riudavets J., Roig J. and Gabarra R. (2006). Characterization of damage to tomato plants produced by the zoophytophagous predator *Nesidiocoris tenuis*. IOBC/WPRS Bulletin 29(4):249-254.
- Arnó, J., & Gabarra, R. (2011). Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). Journal of Pest Science, 84(4), 513-520.
- Arno J., Sorribas R., Prat M., Matas M, Pozo C. & Rodriguez D. (2009). *Tuta absoluta*, a new pest in IPM tomatoes in the northeast of Spain. Integrated Control in Protected Crops: Mediterranean Climate, 49, 203–208.
- Arno J. & Gabarra R. (2010). Controlling *Tuta absoluta*, a new invasive pest in Europe. Training in integrated pest management – No. 5. ENDURE Network.
- Arno J. & Gabarra R. (2011). Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). J. Pest Sci. 84(4):513-520.
- Assaeedi, A.S.A., Osman, G.E.H., and Abulreesh, H.H. (2011). The occurrence and insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* in the arid environments. Aust. J. Crop Sci. 5:1185-1190.
- Askew, R.R., Blasco-Zumeta, J. & Pujade-Villar, J. (2001). Chalcidoidea and Mymarommatoidea (Hymenoptera) of a *Juniperus thurifera* L. Forest of Los Monegros Region, Zaragoza. Monografias Sociedad Entomológica Aragonesa 4:26.

- Attygalle A.B., Jham, G.N., Svatos A., Frighetto R.T.S., Ferrara F.A., Vilela E.F., Uchoa-Fernandes M.A. & Meinwald J. (1996). (3E,8Z,11Z)-3,8,11-Tetradecatrienyl Acetate, major sex pheromone component of tomato pest *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bioorg. Med. Chem.* 4:305–314.
- Barrientos Z.R., Apablaza H.J. Norero A.s & Estay P.P. (1998). Threshold temperature and thermal constant for the development of the South American tomato moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Cienc Investig Agrar* 25: 133-137.
- Beegle C.C. and Yamamoto T. (1992). History of *Bacillus thuringiensis*. Berliner research and development. *Can Entomol.* 124:587-616.
- Benvenega S.R., Fernandes O.A. & Gravena S. (2007). Decision making for integrated pest management of the South American tomato pinworm based on sexual pheromone traps. *Hortic. Bras.* 25: 164-169.
- Biondi A., Mommaerts V., Smaghe G., Vinuela E., Zappala L. & Desneux N. (2012). The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. *Pest Management of Science*, 68: 1523-1536.
- Biondi A., Zappala L., Desneux N., Aparo A., Siscaro G., Rapisarda C., Martin T. & Tropea-Garzia G. (2015). Potential toxicity of a-Cypermethrin-Treated Nets on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology*, 1-7.
- Biondi A., Guedes R.N.C., Wan Fang-Hao & Desneux N (2018). Ecology, Worldwide Spread, and Management of the Invasive South American Tomato Pinworm, *Tuta absoluta*: Past, Present, and Future. *Annual Review of Entomology* 63:239-258.
- Boari F., Donadio A., Pace B., Schiattone M. I. & Cantone V. (2016). Kaolin improves salinity tolerance, water use efficiency and quality of tomato. *Agricultural Water Management*, 167:29-37.
- Broumas, T., & Haniotakis, G. E. (1994). Comparative field studies of various traps and attractants of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae*. *Entomologia experimentalis et applicata*, 73(2), 145-150.
- Bugg, R. L., Wäckers, F. L., Brunson, K. E., Dutcher, J. D., & Phatak, S. C. (1991). Cool-season cover crops relay intercropped with cantaloupe: influence on a generalist predator, *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae). *Journal of Economic Entomology*, 84(2), 408-416.
- Buhl O, Falck P, Karsholt O, Larsen K & Vilhelmsen F (2010) [Records of microlepidoptera from Denmark in 2009 (Lepidoptera)]. *Entomologiske Meddelelser* 78, 101–116.
- Burges, H.D., and Daoust, R.A. (1986). Current status of the use of bacteria as biocontrol agents. In: *Fundamental and applied aspects of invertebrate pathology* (Edited by R.A. Samson, J.M. Vlak and D. Peters). *Soc. Invertebr. Pathol. Wageningen.* 514-517.
- Cabello T., Gallego J.R., Vila E., Soler A., del Pino M., Carnero A., Hernandez-Suarez E., Polaszek A. (2009b) Biological control of the South American tomato pinworm *Tuta absoluta* (Lep. :Gelechiidae), with releases of *Trichogramma achaeae* (Hym.:Trichogrammatidae) in tomato greenhouses of Spain. *IOBC/WPRS Bull* 49:225–230.
- Calvo J., Bolckmans K., Stansly P. & Urbaneja A. (2009). Predation by *Nesidiocoris tenuis* on *Bemisia tabaci* and injury to tomato. *BioControl* 54: 237–246.

- Calvo, F. J., Lorente, M. J., Stansly, P. A., & Belda, J. E. (2012). Preplant release of *Nesidiocoris tenuis* and supplementary tactics for control of *Tuta absoluta* and *Bemisa tabaci* in greenhouse tomato. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 143(2), 111-119.
- Campos M. R., Rodrigues A.R. S., Silva W. M., Silva T. B. M., Silva V. R. F., Guedes R. N. C., Siqueira H.A.A (2014). Spinosad and the tomato borer *Tuta absoluta*: a bioinsecticide, an invasive pest threat, and high insecticide resistance. *PloSone*, 9(8), p.e103235.
- Campos, M.R., Biondi, A., Adiga, A., Guedes, R.N.C. & Desneux, N. (2017): From the western palaeartic region to beyond: *Tuta absoluta*, 10 years after invading Europe. – *Journal of Pest Science* 90 (3): 787–796
- Caparros Megido R, Haubruge E, Verheggen FJ. (2013). Pheromone-based management strategies to control the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). A review. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 17:475–82
- Carde R. T. (2007). Using pheromones to disrupt mating of moth pests. In: *Perspectives in ecological theory and integrated pest management*. Ed. by Kogan M, Jepson P. - Cambridge University Press, Cambridge, 122–169.
- Carnero-Hernández A., Díaz-Hernández S., Amador-Martín S., Hernández-García M., Hernández-Suárez E. 2000. Im-pact of *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Hemiptera: Miridae) on whitefly populations in protected tomato crops. *IOBC/WPRS Bulletin* 23 (1): 259.
- Carozzi, N. B., V. C. Kramer, G. Warren, W. Evola, S., and Koziel, M. G. (1991). Prediction of insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains by polymerase chain reaction product profiles. *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (11): 3057-3061.
- Cascone P., Iodice L., Maffei M.E., Bossi S., Gen-Ichiro Arimura & Guerrieri E. (2015) Tobacco overexpressing β -ocimene induces direct and indirect responses against aphids in receiver tomato plants. *J Plant Physiol* 173:28–32.
- Cherif A. & Verheggen F. (2019). A review of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) host plants and their impact on management strategies. *Biotechnology, Agronomy, Society and Environment* 23(4):270-278.
- Christensen, T. A., & Hildebrand, J. G. (2002). Pheromonal and host-odor processing in the insect antennal lobe: how different?. *Current opinion in neurobiology*, 12(4), 393-399.
- Cocco A., Serra G., Lentini A., Deliperi A., Delrio G. (2015). Spatial distribution and sequential sampling for *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in greenhouse tomato crops. *Pest Management of Science*, 71:1311-1323.
- Crickmore, N., Zeigler, D.R., Feitelson, J., Schnepf, E., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J. and Dean D. H. (1998). Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62: 807-813.
- Damos P & Savopoulou-Soultani M. (2012). Temperature-Driven Models for Insect Development and Vital Thermal Requirements. *Psyche*: pp 1-13.
- Darwin C. (1871). *On the origin of species*. Murray, London.
- DeLucca II A.J., Simonson, J.G., & Larson, A.D. (1981). *Bacillus thuringiensis* distribution in soils of the United States. *Canadian Journal of Microbiology*, 27(9), 865-870.

- DeBach, P., & Rosen, D. (1991). Biological control by natural enemies. CUP Archive.
- De Backer L., Caparros Megido R., Haubruge E. & Verheggen F. (2014) *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) as an efficient predator of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) in Europe A review. *Biotechnol. Agron. So.c Environ.* 18: 536–543.
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 52, 81-106.
- Desneux N., Wajnberg E., Burgio G., Arpaia S., Wyckhuys Kris AG., Narvaez-Vasquez C.A., Gonzalez-Cabrera J., Tabone E., Frandon J., Pizzol J., Poncet C. & Urbaneja A. (2010). Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion, and prospects for biological control. *J Pest Sci* 83:197–215.
- Dudareva, N., Negre, F., Nagegowda, D. A., & Orlova, I. (2006). Plant volatiles: recent advances and future perspectives. *Critical reviews in plant sciences*, 25(5), 417-440.
- Ehler, L. E., & Miller, J. C. (1978). Biological control in temporary agroecosystems. *Entomophaga*, 23(3), 207-212.
- Ehler, L. E. (1990). Introduction strategies in biological control of insects. *Critical issues in biological control/edited by Manfred Mackauer and Lester E. Ehler, Jens Roland.*
- El-Dessouki S.A., El-Kifl A.H., Helal H.A. (1976). Life circle, hosts plants and symptoms of damage of the tomato bug, *Nesidiocoris tenuis* Reut. (Heteroptera: Miridae), in Egypt. *Journal of Plant Diseases and Protection* 83: 204–220.
- EPPO (2005) Data sheets on quarantine pests: *Tuta absoluta*. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*35, 434–435.
- Estay P. (2000) Polilla del Tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) [www document]. URL: <http://alerce.inia.cl/docs/Informativos/Informativo09.pdf>.
- Ettaib R., Sadok B.M., Ali B.B., Faouzi A., Jean V.F. & Rudy C.M. (2016). Effectiveness of pheromone traps against *Tuta absoluta*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(6):841-844.
- Feitelson J. and Kim L. (1993). *Advanced Engineered Pesticides*, New York: Marcel Dekker. pp. 63–72.
- Fernandez, S.A. and Montagne. 1990. *Biología del minador del tomate, Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Boletín de Entomología Venezolana* 5:89–99.
- Gabarra R & Arno J. (2010). Resultados de las experiencias de control biológico de la polilla del tomate en cultivo de invernadero y aire libre en Cataluña. *Phytoma España* 217:65–68.
- Ghaderi A., Fathipour Y., Asgari S. & Reddy V.P.G. (2019). Economic injury level and crop loss assessment for *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) on different tomato cultivars. *Journal of Pest Science*, 1453 (5).
- Glare, T.R. and O’Callaghan, M. (2000). *Bacillus thuringiensis*: biology, ecology and safety. Chichester: J. Wiley. 350 p.
- Gomide E.V.A., Vilela E.F. & Picanco M. (2001). Comparison of sampling procedures for *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato crop. *Neotropical Entomology* 30: 697-705 (in Portuguese).

- González-Cabrera J., Mollá O., Montón H. & Urbaneja A. (2011). Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) for controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *BioControl* 56:71–80.
- González, Jr., and Carton, B. J. (1984). A large transmissible plasmid is required for crystal toxin production in *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. *Plasmid* 11: 28-38.
- Goula M. and Alomar J. (1994). Mirids (Heteroptera Miridae) of interest in integrated pest management of tomato. An identification guide. *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas* 20 (1): 131-143.
- Guedes R. N. C., Roidakis E., Campos M.R., Haddi K., Bielza P., Siqueira H.A.A., Tsagkarakou A., Vontas J. & Nauen R. (2019). Insecticide resistance in the tomato pinworm *Tuta absoluta*: patterns, spread, mechanisms, management and outlook. *Journal of Pest Science*, 92: 1329-1342.
- Han Peng, Bayram, Y., Shaltiel-Harpaz, L., Sohrabi, F., Anitha Saji, Esenali, U. T., Jalilov, A., Ali, A., Shashank, P. R., Ismoilov, K., Lu ZhaoZhi, Wang Su, Zhang GuiFen, Wan FangHao, Biondi, A. & Desneux, N. (2019). *Tuta absoluta* continues to disperse in Asia: damage, ongoing management and future challenges. *Journal of Pest Science*, 92(4), 1317-1327.
- Hawkins, B. A., & Marino, P. C. (1997). The colonization of native phytophagous insects in North America by exotic parasitoids. *Oecologia*, 112(4), 566-571.
- Heimpel, A. M. (1955). Investigations of the Mode of Action of Strains of *Bacillus cereus* FR. and FR. Pathogenic for the Larch Sawfly, *Pristiphora erichsonii* (HTG.). *Canadian journal of zoology*, 33(4), 311-326.
- Henry T. J., and A.G. Wheeler Jr. (1988). Family Miridae Hahn, 1833 (Capsidae Burmeister, 1835). The plant bugs. pp. 251–507 in T. J. Henry and R. C. Froeschner (eds.), *Catalog of the Heteroptera, or true bugs, of Canada and continental United States*. E. J. Brill, Leiden, The Netherlands. Pp. 251-507.
- Hernández, C. S., Martínez, C., Porcar, M., Caballero, P., & Ferré, J. (2003). Correlation between serovars of *Bacillus thuringiensis* and type I β -exotoxin production. *Journal of invertebrate pathology*, 82(1), 57-62.
- Hofmann, C., & Lüthy, P. (1986). Binding and activity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin to invertebrate cells. *Archives of microbiology*, 146(1), 7-11.
- Höfte, H., & Whiteley, H. R. (1989). Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 53(2), 242-255.
- IRAC Tuta IRM Task Team (2017) (v6)- Best Management Practices to Control *Tuta absoluta* and Recommendations to Manage Insect Resistance.
- Jacobson, R.J. & Martin, G. A. (2011). Potential role for entomopathogenic nematodes within IPM of *Tuta absoluta* (Meyrick) on organic crops. *IOBC/WPRS Bulletin*, 68, 71-74.
- Inbar, M., & Gerling, D. (2008). Plant-mediated interactions between whiteflies, herbivores, and natural enemies. *Annu. Rev. Entomol.*, 53, 431-448.

- Iriarte, J. M., Porcar, M., Lecadet, M. –M. and Caballero, P. (2000). Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains from aquatic environments in Spain. *Curr. Microbiol.* 40: 402-408.
- Jarrett, P., & Stephenson, M. (1990). Plasmid transfer between strains of *Bacillus thuringiensis* infecting *Galleria mellonella* and *Spodoptera littoralis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 56(6), 1608-1614.
- Kajita H. (1978). The feeding behaviour of *Cyrtopeltis tenuis* Reuter on the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood). *Rostria* (Transactions of the Hemipteran Society of Japan) 29: 235-238.
- Kaoud H.A. (2014). Alternative methods for the control of *Tuta absoluta*. *Glob. J. Mul. App. Sci*, 2 (2): 41-46.
- Kronstad, J. W., & Whiteley, H. R. (1986). Three classes of homologous *Bacillus thuringiensis* crystal-protein genes. *Gene*, 43(1-2), 29-40.
- Knowles, B. H., & Ellar, D. J. (1987). Colloid-osmotic lysis is a general feature of the mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins with different insect specificity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 924(3), 509-518.
- Lee, C. J., DeMilo, A. B., Moreno, D. S., & Martinez, A. J. (1995). Analysis of the volatile components of a bacterial fermentation attractive to the mexican fruit fly (*Anastrepha ludens*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43(5), 1348-1351.
- Leroy, P. D., Sabri, A., Verheggen, F. J., Francis, F., Thonart, P., & Haubruge, E. (2011). The semiochemically mediated interactions between bacteria and insects. *Chemoecology*, 21(3), 113-122.
- Levinson, B. L., Kasyan, K. J., Chiu, S. S., Currier, T. C., & Gonzalez, J. M. (1990). Identification of beta-exotoxin production, plasmids encoding beta-exotoxin, and a new exotoxin in *Bacillus thuringiensis* by using high-performance liquid chromatography. *Journal of bacteriology*, 172(6), 3172-3179.
- Linn J.C.E., Campbell M.G. & Roelofs W.L., (1987). Pheromone components and active spaces: what do moths smell and where do they smell it? *Science*, 237(4815), 650-652.
- Lobos E, Occhionero M, Werenitzky D, Fernandez J, Gonzalez LM, et al. 2013. Optimization of a trap for *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) and trials to determine the effectiveness of mass trapping. *Neotropical Entomol.* 42:448–57.
- Luff, M. L. (1983). The potential of predators for pest control. *Agriculture, ecosystems & environment*, 10(2), 159-181.
- Lykouressis D., Perdakis D. and Tsagarakis A. (2000). Polyphagus mirids in Greece: Host plants and abundance in traps placed in crops. *Bollentino Laboratorio di Entomologia Agraria ‘Fillippo Silvestri’* 56: 57-68.
- Malausa J.C. and Trottin-Caudal Y. (1996). Advances in the strategy of use of the predaceous bug *Macrolophus caliginosus* (Heteroptera: Miridae) in glasshouse crops. In “Zoophytophagus Heteroptera: Implications for Life History and Integrated Pest Management” (O. Alomar and R.N. Wiedenmann, Eds.), pp 178-189. Tomas Say Publ. Entomol., Lanham, MD.
- Malezieux S., Girardet C., Navez B. and Cheyrias J.M. (1995). Contre d’ aleurode des serres en culture de tomates sous abris, utilisation et de

- veloppement de *Macrolophus caliginosus* associe a *Encarsia formosa*. *Phytoma* 471: 29-32.
- Martins J., Picanco M.C., Bacci L., Guedes R.N.C., Santana Jr P.A., Ferreira O. & Chediak M. (2016). Life table determination of thermal requirements of the tomato borer *Tuta absoluta*. *Journal of pest Science*, vol 89, issue 4, pp 897-908.
- Meadows, M. P. (1993). *Bacillus thuringiensis* in the environment: ecology and risk assessment. In *Bacillus thuringiensis*, an Environmental Biopesticide: Theory and Practice. P. F. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey and S. Higgs eds. John Wiley and Sons, New York, N.Y., 193-220.
- Molla O., Monton H., Beitia Crespo F.J. & Urbaneja A. (2008). La polilladel tomate *Tuta absoluta* (Meyrick), una nueva plaga invasora. *Terralia* 69:36–42.
- Molla O., Gonzalez-Cabrera J. & Urbaneja A. (2011). The combined use of *Bacillus thuringiensis* and *Nesidiocoris tenuis* against the tomato borer *Tuta absoluta*. *Biocontrol* 56:883–891.
- Molla O., Biondi A., Alonso Valiente M. & Urbaneja A. (2014). A comparative life history study of two mirid bugs preying on *Tuta absoluta* and *Ephesthia kuehniella* eggs on tomato crops: implications for biological control.
- Monserrat D.A. (2008) [The South American tomato pinworm (*Tuta absoluta*) in the Murcia Region: bases for its control]. Consejería de Agricultura y Agua, Region de Murcia (in Spanish).
- Nannini M., Atzori F., Murgia G., Pisci R. and Sanna F. (2012). Use of predatory mirids for control of the tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) in Sardinian greenhouse tomatoes. – *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 42(2).
- Naselli M., Biondi A., Tropea-Garzia G., Desneux N., Russo A., Siscaro G. & Zappala L. (2017). Insights into food webs associated with the South American tomato pinworm. – *Pest Management of Science*, 73: 1352-1357.
- Osman, G. E. H., Already, R., Assaeedi, A. S. A., Organji, S. R., El-Ghareeb, D., Abulreesh, H. H., & Althubiani, A. S. (2015). Bioinsecticide *Bacillus thuringiensis* a comprehensive review. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 25(1), 271.
- Ouardi K., Chouibani M., Rahel M.A. & El Akel, M. (2012): Stratégie Nationale de lutte contre la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* Meyrick. – *EPPO Bulletin* 42: 281–290.
- Oztemiz, S. (2014). *Tuta absoluta* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae), the exotic pest in Turkey. *Rom. J. Biol. Zol*, 59, 47-58.
- Paré P.W. and Tumlinson J.H. (1999). Plant volatiles as a defense against insect herbivores. *Plant Physiol* 121: 325–331
- Perdikis D.C. & Lykouressis D.P. (2002b). Life table and biological characteristics of *Macrolophus pygmaeus* when feeding on *Myzus persicae* and *Trialeurodes vaporariorum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102, 261– 272.
- Perdikis D.C., & Lykouressis D.P. (2004b). *Myzus persicae* (Homoptera: Aphididae) as a suitable prey for *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae) population increase on pepper plant. *Environmental Entomology*, 33, 499–505.

- Perdikis D., Fantinou A., Garantonakis N., Kitsis P., Maselou D. and Panagakis S. (2009). Studies on the damage potential of the predator *Nesidiocoris tenuis* on tomato plants. *Bulletin of Insectology*, 62: 41-46.
- Perdikis D. Ch., Arvaniti K., Paraskevopoulos A. & Grigoriou A. (2015). Pre-plant release enhanced the earlier establishment of *Nesidiocoris tenuis* in open field tomato. *Entomologia Hellenica*, 24(1):11-21.
- Pereyra P.C. & Sanchez N.E. (2006). Effect of two solanaceous plants on developmental and population parameters of the tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotrop Entomol* 35(5):671-676.
- Petras, S. F., & Casida, L. E. (1985). Survival of *Bacillus thuringiensis* spores in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 50(6), 1496-1501.
- Polat B. (2019). Efficacy of mass trapping of tomato leafminer (*Tuta absoluta*) with different types and colors of traps in open field tomato. *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(6):15721-15730.
- Polis, G. A., Myers, C. A., & Holt, R. D. (1989). The ecology and evolution of intraguild predation: potential competitors that eat each other. *Annual review of ecology and systematics*, 20(1), 297-330.
- Poonam, S., Paily, K. P., & Balaraman, K. (2002). Oviposition attractancy of bacterial culture filtrates: response of *Culex quinquefasciatus*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97(3), 359-362.
- Potting R. (2009). Pest risk analysis, *Tuta absoluta*, tomato leaf miner moth. Plant protection service of the Netherlands Ministry of Economic Affairs, Agriculture and Innovation, pp 24.
- Potting R.P.J., Van Der Gaag D.J., Loomans A., Van der Straten M., Anderson H., Macleod A., Castrillón J.M.G. & Cambra G.V. (2013). *Tuta absoluta*, Tomato leaf miner moth or South American tomato moth. Utrecht, The Netherlands: Ministry of Agriculture, Nature and Food Quality, Plant Protection Service of the Netherlands.
- Rendon, P., Sivinski, J., Holler, T., Bloem, K., Lopez, M., Martinez, A., & Aluja, M. (2006). The effects of sterile males and two braconid parasitoids, *Fopius arisanus* (Sonan) and *Diachasmimorpha krausii* (Fullaway)(Hymenoptera), on caged populations of Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata* (Wied.)(Diptera: Tephritidae) at various sites in Guatemala. *Biological Control*, 36(2), 224-231.
- Resh, V. H., & Cardé, R. T. (Eds.). (2009). *Encyclopedia of insects*. Academic press. pp. 837-838.
- Roditakis E., Vasakis E., Grispuou M., Stavrakaki M., Nauen R., Gravouil M., Bassi A. (2015). First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides. *Journal of Pest science*, 88(1): 9-16.
- Roditakis E., Vasakis E., Garcia-Vidal L., Martinez-Aguirre M.D.R., Rison J., L., Haxaire-Lutun M. O., Nauen R., Tsagkarakou A. & Bielza P. (2017). A four-year survey on insecticide resistance and likelihood of chemical control failure for tomato leaf miner *Tuta absoluta* in the European/Asian region. *Journal of Pest Science* 91: 421-435.
- Romeis, J., Babendreier, D., Wäckers, F. L., & Shanower, T. G. (2005). Habitat and plant specificity of *Trichogramma* egg parasitoids—underlying mechanisms and implications. *Basic and Applied Ecology*, 6(3), 215-236.

- Rosenheim, J. A., Wilhoit, L. R., & Armer, C. A. (1993). Influence of intraguild predation among generalist insect predators on the suppression of an herbivore population. *Oecologia*, 96(3), 439-449.
- Rowe, G. E., Margaritis, A., & Dulmage, H. T. (1987). Bioprocess developments in the production of bioinsecticides by *Bacillus thuringiensis*. *Critical reviews in biotechnology*, 6(1), 87-127.
- Sannino L. & Espinosa B. (2010) [*Tuta absoluta*, guide to knowledge and recent acquisitions for a suitable control]. *L'Informatore Agrario* 46 (suppl 1),1–113 (in Italian).
- Santana PA Jr, Kumar L, Da Silva RS, Picanço MC (2019) Global geographic distribution of *Tuta absoluta* as affected by climate change. *J Pest Sci.* vol 92, 1373–1385.
- Schuh R.T. and J.A. Slater. (1995). True bugs of the world (Hemiptera: Heteroptera): Classification and natural history. Cornell University Press, Ithaca, New York. 336 pp.
- Sohrabi, F., & Hosseini, R. (2015). *Nesidiocoris tenuis* (Reuter)(Heteroptera: Miridae), a predatory species of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick)(Lepidoptera: Gelechiidae) in Iran. *Journal of plant protection research*.
- Shidhar V, Chakravarthy A.K., Asokan R., Vinesh L.S., Rebijith K.B. & Venilla S. (2014). New record of the invasive South American tomato leaf miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in India. *Pest Management in Horticultural Ecosystems*, Vol. 20, No. 2 pp 148-154.
- Siqueira H. A. A., Guedes R. N. C., Fragoso D.D.B., Magalhaes L. C. (2001). Abamectin resistance and synergism in Brazilian populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *International Journal of Pest Management*, 47(4): 247-251.
- Smith, R.A., and Couche, G.A. (1991). Cellular organization and ferritin uptake in the midgut epithelium of the moth *Ephestia kuehniella*. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 311-315.
- Schnepf, E., Crickmore, N. V., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., ... & Dean, D. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and molecular biology reviews*, 62(3), 775-806.
- Snyder, W. E., & Wise, D. H. (2001). Contrasting trophic cascades generated by a community of generalist predators. *Ecology*, 82(6), 1571-1583.
- Svatoš A., Attygalle A.B., Jham G.N., Frighetto R.T.S., Vilela E.F., Saman D. & Meiwald J. (1996). Sex pheromone of tomato pest *Scrobipalpuloides absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *J. Chem. Ecol.*, 22(4), 787-800.
- Stark, J. D., Banks, J. E., & Acheampong, S. (2004). Estimating susceptibility of biological control agents to pesticides: influence of life history strategies and population structure. *Biological control*, 29(3), 392-398.
- Tapia G.M. and Tellez M.M. (2006). *Nesidiocoris tenuis* Reuter, a polyphagous predator. *Horticultura, Revista de Industria, Distribucion y Socio economia Horticola*. 193: 62-65.
- Tapia, D. H., Morales, F., & Grez, A. A. (2010). Olfactory cues mediating prey-searching behaviour in interacting aphidophagous predators: are semiochemicals key factors in predator-facilitation?. *Entomologia experimentalis et applicata*, 137(1), 28-35.

- Tavella L., Alma A. and Sargiotto C. (1997). Samplings of Miridae Dicyphinae in tomato crops of Northwestern Italy. *Bull. IOBC/WPRS* 20(4): 249-256.
- Torres Gregorio J., Argente J., Diaz M.A. & Yuste A (2009) Aplicacion de *Beauveria bassiana* en la lucha biologica contra *Tuta absoluta*. *Agricola Vergel: Fruticultura, Horticultura, Floricul-tura* 326:129-132.
- Travers, R. S., Martin, P. A., & Reichelderfer, C. F. (1987). Selective process for efficient isolation of soil *Bacillus spp.* *Applied and Environmental Microbiology*, 53(6), 1263-1266.
- Tropea Garzia G., Siscaro G. & Zappala L. (2012). *Tuta absoluta*, a South American pest of tomato now in the EPPO region: biology, distribution, and damage. *EPPO Bulletin*, volume 42, issue 2, p. 205–210.
- Trottin-Caudal Y., Baffert V., Leyre J.M. & Hulas N. (2012). Experimental studies on *Tuta absoluta* (Meyrick) in protected tomato crops in France: biological control and integrated crop protection. *EPPO Bull.*, 42(2), 234-240.
- Uchoa-Fernandez M.A. & Vilela E.F., (1994). Field trapping of the tomato worm *Scrobipalpula absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae). *Ann Soc. Entomol. Bras.*, 23, 271-277.
- Urbaneja A., Monton H. & Molla O. (2009). Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis*. *J. Appl. Entomol.* 133: 292–296.
- Urbaneja A., González-Cabrera J., Arnó J. & Gabarra R. (2012). Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. *Pest Manage. Sci.*, 68(9), 1215-1222.
- Urbaneja-Bernat, P., Alonso, M., Tena, A., Bolckmans, K., & Urbaneja, A. (2013). Sugar as nutritional supplement for the zoophytophagous predator *Nesidiocoris tenuis*. *BioControl*, 58(1), 57-64.
- USDA (2011) New Pest Response Guidelines: Tomato Leafminer (*Tuta absoluta*). http://www.aphis.usda.gov/import_export/plants/manuals/emergency/downloads/Tuta-absoluta.pdf
- Vacas S., Alfaro C., Primo J. & Navarro-Llopis V., (2011). Studies on the development of a mating disruption system to control the tomato leafminer, *Tuta absoluta* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). *Pest Manage. Sci.*, 67(11), 1473-1480.
- van der Blom, J., Robledo, A., Torres, S., & Sánchez, J. A. (2009). Consequences of the wide scale implementation of biological control in greenhouse horticulture in Almeria, Spain. *Biological Control*, 11(49), 8.
- Vercher R., Calabuig A. & Felipe C. (2010) [Ecology, sampling and economic threshold of *Tuta absoluta* (Meyrick)]. *Phytoma Espana* 217,23–26 (in Spanish).
- Viggiani G., Filella F., Delrio G., Ramassini W., Foxi C. (2009). *Tuta absoluta*, nuovo lepidottero segnalato anche in Italia. *L’Informat. Agr.*, 65, pp. 66-68.
- Visser, J. H. (1986). Host odor perception in phytophagous insects. *Annual review of entomology*, 31, 121-144.
- West, A. W., Burges, H., Dixon, T. J., & Wyborn, C. H. (1985). Survival of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* spore inocula in soil: effects of pH, moisture, nutrient availability and indigenous microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 17(5), 657-665.

- Wheeler, A. G., & Henry, T. J. (1992). A synthesis of the Holarctic Miridae (Heteroptera): distribution, biology, and origin, with emphasis on North America. Entomological Society of America.
- World Health Organization. (1999). Microbial pest control agent: *Bacillus thuringiensis*. World Health Organization.
- Zhang, J., Ichikawa, H., Halberg, R., Kroos, L., & Aronson, A. I. (1994). Regulation of the transcription of a cluster of *Bacillus subtilis* spore coat genes. *Journal of molecular biology*, 240(5), 405-415.
- Λυκουρέσης Π.Δ. (1995). Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εντόμων-εχθρών καλλιεργείων. (Πανεπιστημιακές παραδόσεις) Γ.Π.Α.
- Χαβαλάκης Γ.Α. (2019). Επίδραση της προσβολής φυτών τομάτας από το *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) και του ψεκασμού τους με B.t. στην οσφρητική αντίδραση του *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) (Hemiptera: Miridae). Πτυχιακή μελέτη Γ.Π.Α.
- http://www.minagric.gr/syspest/SYSPEST_ENEMY_dron.aspx