



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

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ**

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Συγκριτική αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας τριών ειδών Εντομοπαθογόνων Νηματωδών (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) έναντι ώριμων προνυμφών και νυμφών της Μύγας Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

Άννα Α. Χρονοπούλου

Επιβλέπων Καθηγητής:

Διονύσιος Περδίκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Αθήνα
2019

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

Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία

Συγκριτική αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας τριών ειδών Εντομοπαθογόνων Νηματωδών (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) έναντι ώριμων προνυμφών και νυμφών της Μύγας Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

“Comparative effectiveness evaluation of three species of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) against mature larvae and pupae of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)”

Άννα Α. Χρονοπούλου

Εξεταστική Επιτροπή:

Διονύσιος Περγίκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ (επιβλέπων)

Ιωάννης Γιαννακού, Αναπληρωτής Καθηγητής ΓΠΑ

Απόστολος Καπράνας, Εντεταλμένος Ερευνητής Γ' ΜΦΙ

Συγκριτική αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας τριών ειδών Εντομοπαθογόνων Νηματωδών (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) έναντι ώριμων προνυμφών και νυμφών της Μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

ΠΜΣ Επιστήμες & Συστήματα Φυτικής Παραγωγής
Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής
Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της διατριβής είναι η διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των εντομοπαθογόνων νηματωδών (ΕΠΝ) για την αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου (MM), *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae). Η MM, κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης της μπορεί να περάσει ένα σημαντικό χρονικό διάστημα στο έδαφος, είτε ως νύμφη εντός του εδάφους, είτε μέσα στα υπολείμματα των φρούτων στην επιφάνεια του εδάφους, τα οποία μάλιστα μπορούν να φιλοξενήσουν ένα σημαντικό αριθμό ατόμων. Επομένως, ο έλεγχος των σταδίων της MM που βρίσκονται στην επιφάνεια ή εντός του εδάφους, πιθανόν να μπορούσε να ενταχθεί σε ένα ολοκληρωμένο πρόγραμμα διαχείρισης της και εκτός της καλλιεργητικής περιόδου.

Στην εργασία πραγματοποιήθηκε, εργαστηριακή διερεύνηση της αποτελεσματικότητας των εμπορικά διαθέσιμων εντομοπαθογόνων νηματωδών (ΕΠΝ) (*Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema carocapsae*, και *Steinernema feltiae*). Συγκεκριμένα διερευνήθηκε 1) η αποτελεσματικότητα τους έναντι των ώριμων προνυμφών και των νυμφών της MM σε βιοδοκιμές με τρυβλία, 2), η αποτελεσματικότητα, και η υπολειμματική τους δράση σε υπόστρωμα εδάφους παρόμοιο με αυτό ενός οπωρώνα, και 3) η ικανότητα εισχώρησης των ΕΠΝ εντός των καρπών που έχουν πέσει στο έδαφος, και ο παρασιτισμός των προνυμφών της MM, και αν αυτή η ικανότητα των ΕΠΝ διαφέρει ανά είδος ΕΠΝ και καρπού (πορτοκάλια ή μήλα).

Γενικά, τα αποτελέσματα των πειραμάτων υποδεικνύουν ότι ο *S. feltiae*, είναι το πιο αποτελεσματικό είδος έναντι των ώριμων προνυμφών της MM, καθών παρουσίασε τη μακρύτερη υπολειμματική διάρκεια μετά την εφαρμογή του στο υπόστρωμα. Επίσης, έχει την ιδιότητα να κινείται μέσα στους καρπούς και να παρασιτεί προνύμφες τόσο σε μήλα όσο και σε πορτοκάλια. Άρα, το *S. feltiae* είναι το καλύτερο είδος εντομοπαθογόνου νηματώδη για εφαρμογή εκτός καλλιεργητικής περιόδου, μεταξύ αυτών που δοκιμάστηκαν, και σύμφωνα με τις συνθήκες που χρησιμοποιήθηκαν.

Επιστημονική περιοχή: Μύγα Μεσογείου

Λέξεις κλειδιά: Μύγα Μεσογείου, αντιμετώπιση, Εντομοπαθογόνοι νηματώδεις, βιοδοκιμές, αποτελέσματα

Comparative effectiveness evaluation of three species of Entomopathogenic Nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) against mature larvae and pupae of the Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)

*MSc Faculty of Crop Sciences & Systems
Department of Faculty of Crop Science
Laboratory of Agricultural Zoology & Entomology*

ABSTRACT

In this thesis, we assess the efficacy Entomopathogenic Nematodes (EPN) for the control of Mediterranean Fruit Fly (*Ceratitis capitata* Wiedemann). Mediterranean fruit fly (or medfly) can pass a significant period of time in the soil during its development: The flies pupate in the soil and they can also be found as larvae in rotten fruits and residues in the soil which can harbor a significant number of overwintering flies. Therefore, controlling medfly stages that are in the soil during their over-wintering phase can incorporate in an integrated, offseason, pest management program of the medfly.

Initially, the thesis describes characteristics of the biology and ecology of the Mediterranean fly and the entomopathogenic nematodes. Then, various studies that examine the use of entomopathogenic nematodes for the control of fruit flies, in the laboratory and to a lesser extent in the field, are reviewed. In the experimental part, the culturing of medfly and EPN are described. Then the experiments investigating the efficacy of commercially available entomopathogenic nematodes (*Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema carpocapsae*, and *Steinernema feltiae*). Specifically, I investigated 1) the efficacy against the mature larvae and the pupae of medfly in petri-dish bioassays 2) the efficacy and residual activity of EPN on soil substrate similar to an orchard and 3) the ability of EPN to move into fruit that fell into the soil and parasitize larvae of MM, and if this capacity differs according to EPN and fruit type (oranges-apples).

Generally, the experimental results indicate that *S. feltiae* is the most effective EPN species in controlling mature medfly larvae, and in addition, it has the longest residual activity after its application on the substrate. Also, it can move inside the fruits and parasitize medfly larvae in apples and oranges. Therefore, the best EPN species for off-season control of the medfly is the *S. feltiae*.

Scientific area: Mediterranean Fruit Fly

Keywords: Mediterranean Fruit Fly, Biological control, Entomopathogenic Nematodes, bioassays, results

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Βιολογικής Καταπολέμησης του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου. Η διεξαγωγή και η ολοκλήρωση της αποτέλεσε ένα μακρύ προσωπικό αγώνα, που χωρίς την βοήθεια κάποιων ανθρώπων δεν θα μπορούσε να ολοκληρωθεί. Έτσι, θα ήθελα ευχαριστήσω:

Τον κ. Διονύσιο Περδίκη, Αναπληρωτή Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για το ότι δέκτηκε να είναι ο επιβλέπωντας μου, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε, για την ανάγνωση και διόρθωση αυτής της διατριβής, για την υπομονή του, για τις πολύτιμες συμβουλές του, και τη στήριξη του τόσο σε θέματα της διατριβής όσο και γενικότερα.

Τον κ. Ιωάννη Γιαννακού, Αναπληρωτή Καθηγητή του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών, μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής για τη διδασκαλία του, τη κατανόηση και τη στήριξη του.

Τον κ. Απόστολο Καπράνα, Εντεταλμένο Ερευνητή Γ' του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, μέλος της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής για την εισήγηση του θέματος της μελέτης, για την ανάγνωση και διόρθωση αυτής της διατριβής, για τις πολύτιμες συμβουλές του, για την απερίγραπτη υπομονή του και για την εμπιστοσύνη και στήριξη του στη διατριβή, αλλά και σε γενικότερες δυσκολίες που παρουσιάστηκαν.

Τον κ. Παναγιώτη Μυλωνά, Τακτικό Ερευνητή Α' του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, που δέκτηκε την εκπόνηση αυτής της διατριβής στο Εργαστήριο Βιολογικής Καταπολέμησης του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, γίνοντας για λίγο μέλος αυτής της όμορφης οικογένειας του Ινστιτούτου.

Τον κ. Δημήτριο Κοντοδήμα, Τακτικό Ερευνητή Α' του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για τις εποικοδομητικές συζητήσεις και γνώσεις του, την εμπιστοσύνη και τη στήριξη του, και δείχνοντας μου ότι ο αγώνας της ζωής είναι ανθρώπινος.

Τον κ. Δημήτριο Παπαχρήστο, Τακτικό Ερευνητή Α' του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, για τις πολύτιμες συμβουλές του, τον εποικοδομητικό του χρόνο, καθώς και για τις μοναδικές, αξέχαστες καινοτόμες ιδέες του.

Θερμές ευχαριστίες, σε όλο το προσωπικό του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου για το ευχάριστο, φιλικό και ήρεμο περιβάλλον, για τη πολύτιμη βοήθεια τους, τη παρέα τους, καθώς και τη συμπαράστασή τους.

Ειλικρινείς ευχαριστίες στους καθηγητές του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών για τη διδασκαλία τους, τις συμβουλές τους, τη κατανόηση και τη στήριξη τους.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους πολυαγαπημένους μου γονείς που με στηρίζουν και μου συμπαραστέκονται σε κάθε δύσκολο βήμα της ζωής, και να τους πω, μέσα από τα βάθη της καρδιάς μου, ότι “μετά από μια καταιγίδα, πάντα βγαίνει ο Ήλιος”.

Με την άδεια 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

“Υγεία τίμιον αλλ' ευμετάστατον”
Πλούταρχος (Αρχαίος Έλληνας ιστορικός)
47-120 μ.Χ.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΕΙΣΑΓΩΓΗ	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η ΜΥΓΑ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ, <i>Ceratitis capitata</i> Wiedemann (Diptera:Tephritidae)	9
1.1. ΓΕΝΙΚΑ	9
1.2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΑ	11
1.3. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ	15
1.4. ΖΗΜΙΕΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ	16
1.5. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	18
1.5.1. ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	18
1.5.2. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ	18
1.5.3. ΜΑΖΙΚΗ ΠΑΓΙΔΕΥΣΗ	18
1.5.4. ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΤΕΙΡΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ	21
1.5.5. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ	21
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΟΙ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae)	23
2.1. ΓΕΝΙΚΑ	23
2.2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ	23
2.3. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ - ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ	25
2.4. ΔΙΑΣΠΟΡΑ	26
2.5. ΑΝΑΚΥΚΛΩΣΗ (ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ)	27
2.6. ΜΑΖΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ	28
2.7. Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΕΠΝ	30
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ ΔΙΠΤΕΡΩΝ Tephritidae ΜΕ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥΣ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ	31
3.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ	31
3.2. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΕΔΑΦΟΣ	31
ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	35

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ 36

4.1. ΕΚΤΡΟΦΕΣ 36

4.1.1. ΕΚΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Ceratitis capitata* Wiedemann 36

4.1.2. ΕΚΤΡΟΦΗ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ (ΕΠΝ) 39

4.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ 43

4.2.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ ΤΥΠΟΥ Petri 43

4.2.2. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΚΛΩΒΟΥΣ 45

4.2.3. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΦΡΟΥΤΑ 48

4.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ 52

4.3.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ ΤΥΠΟΥ Petri 52

4.3.2. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΚΛΩΒΟΥΣ 52

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ 53

5.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ ΤΥΠΟΥ Petri 53

5.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΣΤΟΥΣ ΚΛΩΒΟΥΣ 55

5.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΣΕ ΦΡΟΥΤΑ 57

ΣΥΖΗΤΗΣΗ 60

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ 63

ΓΕΝΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

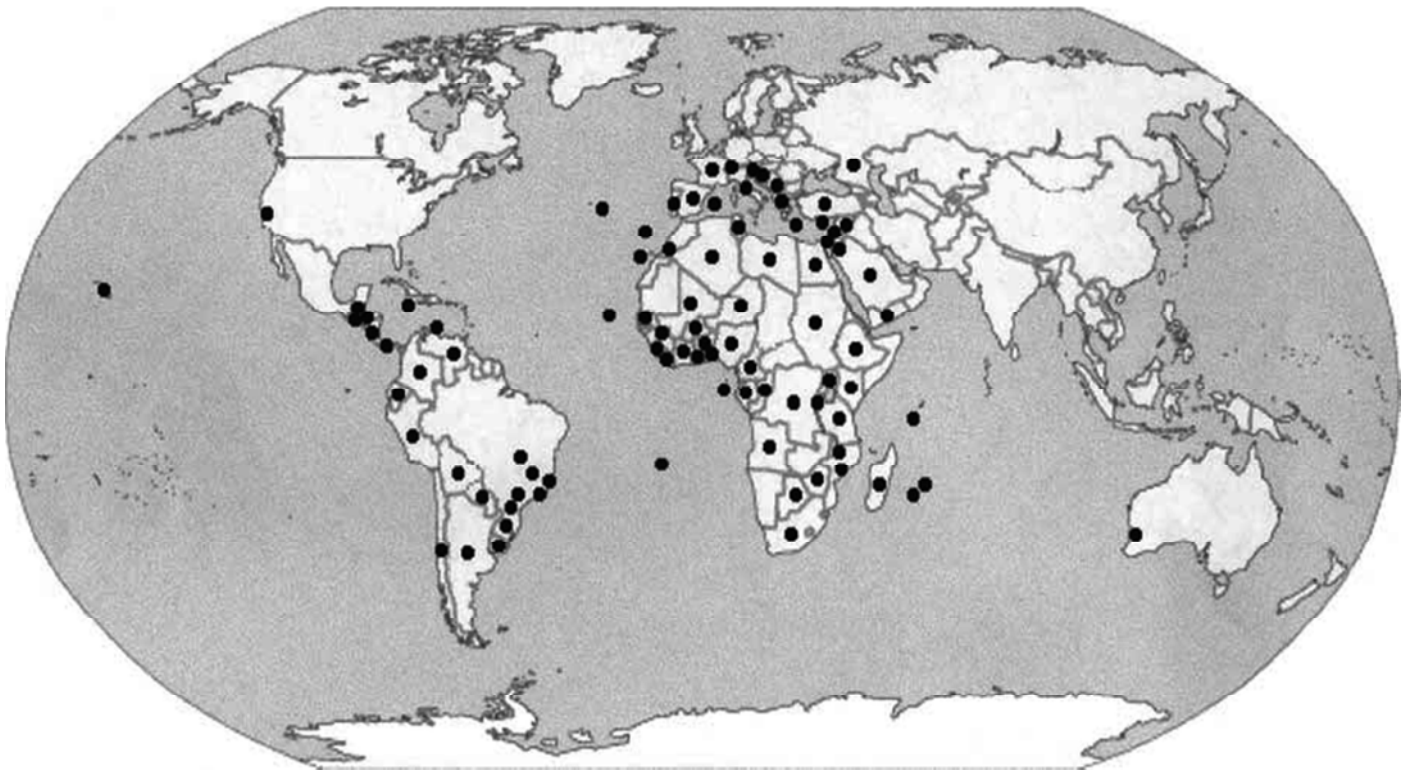
ΕΙΣΑΓΩΓΗ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: Η ΜΥΓΑ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ, *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera:Tephritidae)

1.1 ΓΕΝΙΚΑ

Η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) (MM) έχει ένα εξαιρετικά μεγάλο εύρος ξενιστών, υψηλό οικονομικό αντίκτυπο, και παγκόσμια εξάπλωση (Malacrida et al., 2006), με τη βοήθεια του εμπορίου, μέσω των μολυσμένων καρπών (Copeland et al., 2002; Dekker and Messing, 2005). Προέρχεται από την υποσαχάρια Αφρική (Camargo et al., 1996), και η πρώτη της καταγραφή, εκτός της περιοχής καταγωγής της, αναφέρεται να έγινε στην Αλγερία στα τέλη του 1850 και στην Τυνησία το 1855 (CABI, 2019).

Η παρουσία της στην Ευρώπη αναφέρθηκε στη Πορτογαλία το 1898, ενώ στην Ελλάδα πολύ αργότερα, το 1915 (CABI, 2019). Συνεχίστηκε στη Βραζιλία το 1901 (CABI, 2019), και από εκεί στη Χαβάη το 1907 (Gasparich et al., 1997). Έφτασε και στην Αυστραλία, όπου εξαπλώθηκε στο Κουίνσλαντ το 1909 (Permkam and Hancock, 1994). Επίσης, από τη Βραζιλία συνέχισε κεντρικά στη Κόστα Ρίκα το 1955, στη Γουατεμάλα το 1976, και στο Μεξικό το 1977 (CABI, 2019). Στη Βόρεια Αμερική σημειώθηκε στο Τέξας και τη Καλιφόρνια, το 1966 και το 1975, αντίστοιχα (Gasparich et al., 1997). Τέλος, πέρασε από την Ευρώπη στη Μέση Ανατολή, με πρώτη καταγραφή στην επαρχία Mazandaran του Ιράν, το 1977 (CABI, 2019).



Εικόνα 1: Παγκόσμια κατανομή του είδους *C. capitata*, έως το 2002.

Πηγή: (https://www.researchgate.net/figure/Global-distribution-of-the-species-C-capitata_fig1_10987964)

1.2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Η MM είναι ένα πολυφάγο είδος με ξενιστές που έχουν καταγραφεί από τις οικογένειες Anacardiaceae, Cucurbitaceae, Loganiaceae, Meliaceae, Oleaceae, Podocarpaceae, Rosaceae, Rubiaceae, Sapotaceae και Solanaceae (Mau and Kessing, 1992). Προσβάλλει από ημιώριμους, αλλά και ώριμους καρπούς, και στην Ελλάδα προκαλεί σημαντικές ζημιές σε εσπεριδοειδή, μήλα, αχλάδια, ροδάκινα, σύκα και άλλους καρπούς (Τζανακάκης, 1998). Τα θηλυκά άτομα της μύγας της Μεσογείου με τον ωοθέτη τους ανοίγουν μια οπή, και εναποθέτουν 1-6 ωά στο επικάρπιο ή βαθύτερα στο μεσοκάρπιο των καρπών (CABI, 2019). Τα ωά είναι λευκά, στενόμακρα, με διαστάσεις 0,9-1,1 x 0,2 mm (Εικ. 2), (Τζανακάκης, 1998). Οι προνύμφες που εξέρχονται από τα ωά, είναι ακέφαλες, χρώματος λευκοκίτρινου, και φθάνουν τα 7,9 x 1,5-2 mm (Εικ. 3), διανοίγουν σήραγγες, καταναλώνοντας τη σάρκα των φρούτων (Τζανακάκης, 1998). Η MM διαχειμάζει ως προνύμφη μέσα στους προσβεβλημένους καρπούς ή αν ο χειμώνας είναι ήπιος ένα μικρό ποσοστό του πληθυσμού διαχειμάζει και ως ενήλικο (π.χ., στη Κρήτη) (Τζανακάκης, 1998), ενώ το προνυμφικό της στάδιο μπορεί να διαρκέσει από 6 έως 33 ημέρες, ανάλογα με το είδος του ξενιστή και τη θερμοκρασία ανάπτυξης της. Για παράδειγμα, στα πορτοκάλια για να φτάσει στο στάδιο της νύμφης μπορεί να χρειαστεί 14 ημέρες στους 25°C, και 26 ημέρες στους 21°C, ενώ στα ροδάκινα από 10 (στους 25°C) έως 15 ημέρες (στους 21°C) (Christenson and Foote, 1960; Mau and Kessing, 1992).

Ακόμα, στα μήλα το προνυμφικό στάδιο μπορεί να διαρκέσει από 23 ημέρες στους 25°C, και 33 ημέρες στους 21°C (Papadopoulos and Katsoyannos, 2002). Οι ώριμες προνύμφες, όταν είναι έτοιμες να νυμφωθούν, εξέρχονται από τους καρπούς, πέφτουν στο έδαφος, όπου και νυμφώνονται (Thomas et al., 2001). Οι νύμφες είναι ελλειψοειδής, χρώματος από ανοιχτό καστανό έως σκούρο (Εικ. 4) και διαστάσεων 4-4,5 x 2-2,5 mm (Τζανακάκης, 1998). Το βάθος νύμφωσης μιας προνύμφης κυμαίνεται από 2 έως 20 cm, ανάλογα αν το έδαφος είναι αργιλώδες ή αμμώδες. Ωστόσο βρέθηκε ότι, το αργιλώδες έδαφος δεν ευνοεί τόσο την νύμφωση του *C. Capitata*, όσο το αμμώδες έδαφος (Ahmed et al., 2007). Τα ενήλικα άτομα (Εικ. 5), έχουν μήκος 4-6 mm και πλάτος 1,2-2 mm, με μαύρες, κίτρινες, και καστανές κηλίδες στο θώρακα και τις πτέρυγες, και με άνοιγμα η κάθε μια 4,5 mm (Τζανακάκης, 1998). Η κοιλιά τους είναι πορτοκαλοκίτρινη με δύο καστασανέρυθρες εγκάρσιες ζώνες και πολλά στίγματα. Το μήκος της κοιλιάς του θηλυκού είναι λίγο μεγαλύτερο του πλάτους της και ο εξέχων ωοθέτης είναι κιτρινέρυθρος, και μήκους 0,9-1,3 mm.

Τα ενήλικα άτομα τρέφονται με ζαχαρούχες ουσίες όπως, χυμούς ώριμων

φρούτων, νέκταρ, μελιτώδη απεκκρίσματα κοκκοειδών και αζωτούχες ουσίες πλούσιες σε πρωτεΐνες όπως, τα περιττώματα των πουλιών (Mau and Kessing, 1992; Τζανακάκης, 1998). Σε ιδανικές συνθήκες μπορούν να ζήσουν για αρκετούς μήνες (Carey et al., 2008). Αφού ωριμάσουν αναπαραγωγικά και συζευχθούν, τα θηλυκά ξεκινούν την ωοτοκία. Στην Ελλάδα έχει το έτος από 3 γενεές στη Βόρεια Ελλάδα και 7 γενεές στη Νότια Ελλάδα, ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες και τη διαθεσιμότητα των ξενιστών (Τζανακάκης, 1998).



Εικόνα 2: Ωά του είδους *C. capitata*.

Πηγή:

https://www.researchgate.net/publication/273295914_The_Mediterranean_fruit_fly_-_Know_your_enemy



Εικόνα 3: Οι προνύμφες του είδους *C. capitata*.

Πηγή:

https://www.researchgate.net/publication/273295914_The_Mediterranean_fruit_fly_-_Know_your_enemy



Εικόνα 4: Νύμφες του είδους *C. capitata*.

Πηγή:

https://www.researchgate.net/publication/273295914_The_Mediterranean_fruit_fly_-_Know_your_enemy



Εικόνα 5: Το ενήλικο άτομο του είδους *C. capitata*.

Πηγή:

<https://www.researchgate.net/publication/273295914> The Mediterranean fruit fly - Know your enemy



Εικόνα 6: Εικόνες προβολής του είδους *C. capitata* σε εσπεριδοειδή.

Πηγή:

https://www.researchgate.net/publication/273295914_The_Mediterranean_fruit_fly_-_Know_your_enemy

1.3. ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ

Η ΜΜ προέρχεται από δασικά οικοσυστήματα, όπου εξελίχθηκε και έχει προσαρμοστεί επιτυχώς σε καλλιεργούμενες και αστικές περιοχές. Το εύρος των ξενιστών της, της δίνει την ικανότητα να χρησιμοποιεί σχεδόν οποιοδήποτε είδος καρπού για την ανάπτυξη των προνυμφών. Ζει σε μεσογειακά κλίματα, στα οποία καλλιεργούνται τα εσπεριδοειδή. Παρόλο που είναι σε θέση να ανέχεται χαμηλές θερμοκρασίες, η επέκτασή της στην Βόρεια Ευρώπη φαίνεται να παρεμποδίστηκε λόγω των χαμηλών θερμοκρασιών. Η χαμηλότερη θερμοκρασία ανάπτυξης που έχει καταγραφεί για τη δραστηριότητα των προνυμφών είναι 10,2°C (Duyck and Quilici, 2002), ενώ η υψηλότερη θερμοκρασία είναι 30°C, όπου η δραστηριότητα των ενήλικων ατόμων μειώνεται ή αναστέλλεται (Cayol, 1996).

1.4. ΖΗΜΙΕΣ ΚΑΙ ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ

Γενικά, σε παγκόσμιο επίπεδο η MM θεωρείται ένα έντομο καραντίνας (Karongo et al., 2007), λόγω της ικανότητας επιβίωσης της σε ψυχρότερα κλίματα σε σχέση με άλλα είδη μυγών των φρούτων και του μεγάλου εύρους ξενιστών της, το οποίο ανέρχεται στα 350 είδη φυτών (Papadopoulos and Katsoyannos, 2002). Οι καρποί που προσβάλλονται συνήθως φέρουν ευδιάκριτα νύγματα ωτοκίας, ενώ στους προσβεβλημένους καρπούς αναπτύσσονται δευτερογενώς και μύκητες (Cayol et al., 1994). Ακόμα, όταν οι καρποί σαπίζουν, ωτοκοούν εκεί και άλλα είδη εντόμων όπως, *Drosophila* spp., και *Carpophilus* spp., όπου οι προνύμφες τους επιτείνουν τη βλάβη (Τζανακάκης, 1998). Η ζημιά στις καλλιέργειες φρούτων είναι υψηλή και μπορεί να φτάσει και το 100% (CABI, 2019), ενώ δαπανούνται εκατομμύρια δολάρια ετησίως για τον έλεγχο του πληθυσμού της και τη παρεμπόδιση διάδοσής της (Mau and Kessing, 1992). Στην Ελλάδα η δυναμική του πληθυσμού έχει μελετηθεί σε περιοχές της Χίου (Papadopoulos and Katsoyannos, 2003), στη Βόρεια Ελλάδα (Papadopoulos et al., 1996; Papadopoulos and Katsoyannos, 2002), στην Αττική (Μουρίκης, 1965), αλλά και στη Κρήτη (Mavrikakis et al., 2000).

Πρόσφατες μελέτες στη βόρεια Ελλάδα δείχνουν ότι τα γιγαρτόκαρπα, τα πυρηνόκαρπα (ιδιαίτερα οι ποικιλίες που ωριμάζουν αργά το καλοκαίρι και το φθινόπωρο), τα σύκα και οι λωτοί αποτελούν σημαντικούς ξενιστές του εντόμου *C. capitata*. Επίσης, στα παράλια του Ν. Μαγνησίας το έντομο προσβάλλει εκτός από γιγαρτόκαρπα και πυρηνόκαρπα, και νεράντζια, πορτοκάλια, μανταρίνια, κυδώνια, κεράσια (Μάϊο) και σταφύλια. Τέλος, και στη περιοχή της Κρήτης έχει αναφερθεί προσβολή των σταφυλιών από την μύγα της Μεσογείου (Παπαδόπουλος και συνεργάτες, 2010).



Εικόνα 7: Προσβολή των καρπών από το είδος *C. capitata*.

Πηγή:

<https://www.researchgate.net/publication/273295914> The Mediterranean fruit fly -
Know your enemy)

1.5. ANTIMETΩΠΙΣΗ

1.5.1. ΧΗΜΙΚΗ ANTIMETΩΠΙΣΗ

Οι πιο ενδεικνυόμενοι τρόποι καταπολέμησης είναι οι δολωματικοί ψεκασμοί και οι ψεκασμοί κάλυψης. Οι δολωματικοί ψεκασμοί είναι μια πιο φιλική μεθοδος προς το περιβάλλον, γιατί έχουν τη μικρότερη δυνατή επίπτωση σε ωφέλιμα έντομα (παρασιτοειδή και αρπακτικά), σε σχέση με τους ψεκασμούς κάλυψης (Τζανακάκης, 1998). Οι δολωματικοί ψεκασμοί αποτελούνται από ένα εντομοκτόνο, αναμεμιγμένο με ένα δόλωμα 2% υδρολυμένης πρωτεΐνης, το οποίο προσελκύει τα ενήλικα άτομα (Τζανακάκης, 1998). Τα εντομοκτόνα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν σύμφωνα με το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, φέρουν τις δραστικές ουσίες Malathion (έγκριση έως 30/4/2021), Phosmet (έγκριση έως 31/12/2019), και Deltamethrin (έγκριση έως 31/10/2020), (ΥΠΑΑΤ, 2019).

Ψεκάζονται οι φράκτες και οι θάμνοι στη περίμετρο του σπωρώννα, το εσωτερικό και το επάνω μέρος της κόμης των δένδρων, καθώς και κλαδιά που δεν έχουν καρπούς. Οι ψεκασμοί κάλυψης καλό είναι να αποφεύγονται γιατί ελαττώνουν τους φυσικούς εχθρούς άλλων επιβλαβών εντόμων, όπως του λεκανίου (Τζανακάκης, 1998). Επίσης, ένα εντομοκτόνο που χρησιμοποιείται σήμερα για τον έλεγχο της ΜΜ στους σπωρώννες είναι το spinosad, το οποίο προέρχεται από προϊόν ζύμωσης του βακτηρίου *Saccharopolyspora spinosa*, και είναι ευρέος φάσματος με χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά και μπορεί να χρησιμοποιηθεί και στη βιολογική καλλιέργεια (Gazit et al., 2013). Το spinosad έχει έγκριση από το Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων έως 30/4/2019, όπου και θα τεθεί υπό αξιολόγηση για ανανέωση της ισχύς του (ΥΠΑΑΤ, 2019).

1.5.2. ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ

Μια μέθοδος μείωσης του πληθυσμού των διαχειμαζόμενων σταδίων της ΜΜ, είναι η κοπή των μολυσμένων φρούτων από τα δέντρα. Στη συνέχεια, από τα μολυσμένα φρούτα συλλέγονται πλήρως αναπτυγμένες προνύμφες, οι οποίες θανατώνονται σε ζεστό νερό και τοποθετούνται σε 70% ισοπροπενόλη (Thomas et al., 2001).

1.5.3. ΜΑΖΙΚΗ ΠΑΓΙΔΕΥΣΗ

Γενικά, η μαζική παγίδευση χρησιμοποιείται στις περιοχές της Μεσογείου για τον έλεγχο του *C. capitata* Wiedemann σε εσπεριδοειδή. Η τεχνική βασίζεται στην τοποθέτηση παγίδων με προσελκυστικό (Martinez-Ferrer et al., 2011), για τη συλλογή

των ενήλικων ατόμων (Gazit, 2015).

Τοποθετούνται 42 παγίδες ανά εκτάριο, σε οπωρώνες με ώριμους καρπούς (Ros et al., 2002). Τα αρσενικά άτομα της MM προσελκύονται από το συνθετικό υλικό, το trimedlure, το οποίο βασίζεται στο άρωμα του σπορέλαιου *Angelica archangelica Radix* (Gazit, 2015). Το trimedlure αντικαθίσταται κάθε δύο μηνες (Ros et al., 2002). Αυτό ενσωματώνεται σε παγίδες τύπου Steiner (αποτελείται από δύο ημισφαίρια τύπου χοάνης και στο εσωτερικό έχει μια μικρή φιάλη που περιέχει το trimedlure και εντομοκτόνο), και τύπου Jackson (είναι ένα χαρτόνι σε τριγωνικό σχήμα, το οποίο περιέχει ένα στόμιο με το trimedlure και ένα μικρό πλαστικό καλάθι με μια κολλώδη πλάκα στον πυθμένα του). Η παγίδα τύπου Jackson (Εικ. 8) προσελκύει περίπου δύο φορές περισσότερες μύγες από τη τύπου Steiner (Εικ. 9), αλλά η κολλητική πλάκα με το στόμιο πρέπει να αντικαθίστανται συχνά. Επιπλέον, γεμίζει σκόνη και άμμο (Gazit, 2015). Άλλη παγίδα είναι του τύπου McPhail (Εικ. 10) σε βελτιωμένη έκδοση, στην οποία μπορεί να τοποθετηθούν τρεις χημικές ουσίες (οξεικό αμμώνιο, 1,4-διαμινοβουτάνιο και τριμεθυλαμίνη), και προσελκύει τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά άτομα της MM (Τζανακάκης, 1998).



Εικόνα 8: Παγίδα τύπου Jackson.

Πηγή:

https://www.researchgate.net/publication/273295914_The_Mediterranean_fruit_fly_-

Know your enemy)



Εικόνα 9: Παγίδα τύπου Steiner.

Πηγή:

(<https://www.researchgate.net/publication/273295914> The Mediterranean fruit fly -
Know your enemy)



Εικόνα 10: Παγίδα τύπου McPhail.

Πηγή: (<https://share24.gr/pagidepste-dako-tis-elias-viologikes-pagides-ke-prostatefstis-elies-sas-diavaste-ola-osa-prepi-na-xerete/>)

1.5.4. ΜΕΘΟΔΟΣ ΣΤΕΙΡΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ

Μια άλλη τεχνική ελέγχου είναι η απελευθέρωση στείρων αρσενικών ατόμων, τα οποία συζευγνύονται με τα άγρια θηλυκά, τα οποία εναποθέτουν στείρα ωά.

Αυτή η μέθοδος δοκιμάστηκε σε περιοχές της Κύπρου, Ισραήλ, Ιταλίας, Ισπανίας, Μεξικό, κεντρική Αμερική και Περού, μόνη της ή και σε συνδυασμό με κάποιο εντομοκτόνο. Στην Ισπανία, δοκιμάστηκε χωρίς τη βοήθεια εντομοκτόνου, με τα αποτελέσματα της να παρέχουν μια αποτελεσματική, γρήγορη και οικονομική τεχνητή μέθοδο στείρωσης των αρσενικών ατόμων της MM, έτοιμη για χρήση σε όλα τα SIT προγράμματα (Sterile Insect Technique), (Juan-Blasco et al., 2013).

Επίσης, στην Ελλάδα δοκιμάστηκε τις περιόδους 1994 – 1996 (σε πειραματικό στάδιο), σε πορτοκαλεώνες της κοιλάδας του Φόδελε στο Ηράκλειο Κρήτης με ενθαρρυντικά αποτελέσματα (Τζανακάκης, 1998).

1.5.5. ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Ο βιολογικός έλεγχος έχει δοκιμαστεί με την απελευθέρωση κάποιων παρασιτοειδών (Hymenoptera), όπως *Diachasmimorpha tryoni*, (Wharton and Marsh, 1978), και *Aganaspis daci* (Εικ. 11), το οποίο καταγράφηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα (Χίο) και συγκεκριμένα να παρασιτεί τη μύγα της Μεσογείου (Paradopoulos and 21

Katsoyannos, 2003). Αυτή η μέθοδος έχει από μόνη της μια μερική επιτυχία (Montoya et al., 2012). Επίσης, για την αντιμετώπιση της MM έχουν δοκιμαστεί και οι εντομοπαθογόνοι μύκητες με αρκετά υποσχόμενα αποτελέσματα, όπως *Beauveria bassiana* και *Metarhizium anisopliae*, τα οποία έχουν χρησιμοποιηθεί με τη μορφή σπρέυ κάλυψης, αποτελούμενο από εναιώρημα κονιδίων (Quesada-Moraga et al., 2006).

Τέλος, οι εντομοπαθογόνοι νηματώδεις *Steinernema spp.* και *Heterorhabditis spp.*, έχουν χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση των μυγών των φρούτων, όπως στην δυτική μύγα των κερασιών (Stark and Lacey, 1999), στο έντομο *Bactrocera oleae* Rossi (Sirjani et al., 2009), και στο έντομο *Anastrepha ludens* Loew (Toledo et al., 2006). Οι ΕΠΝ έχουν δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα για την αντιμετώπιση της MM, όπου αναλύονται στο επόμενο κεφάλαιο.



Εικόνα 11: Το παρασιτοειδές έντομο *A. daci*.

Πηγή:

http://www.waspweb.org/Cynipoidea/Figitidae/Eucoilinae/Aganaspis/Aganaspis_specie_s.htm

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae)

2.1. ΓΕΝΙΚΑ

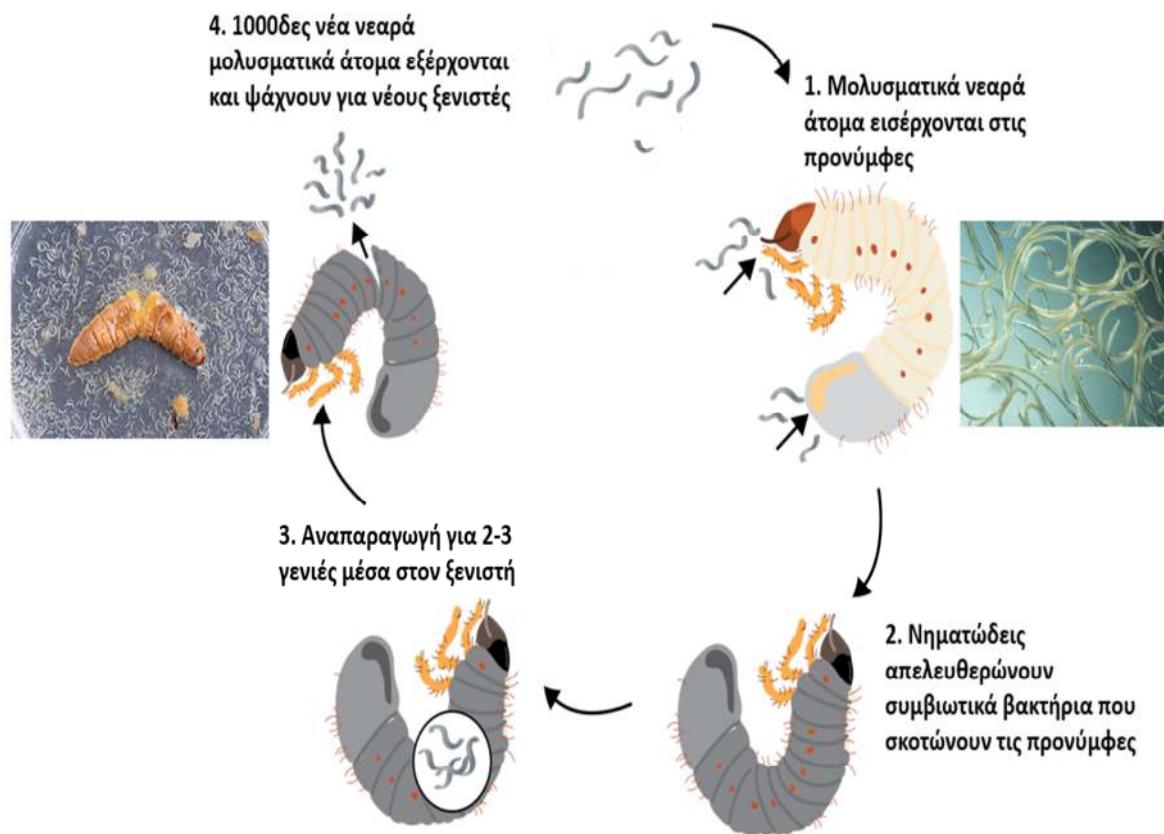
Από όλα τα είδη των εντομοπαθογόνων νηματωδών (ΕΠΝ) που μελετήθηκαν, ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι οικογένειες των Steinernematidae και Heterorhabditidae. Τα νεαρά μολυσματικά άτομα, διαθέτουν ιδιότητες παρασιτοειδών και αρπακτικών εντόμων (διαθέτουν χημειοϋποδοχείς και κινούνται), καθώς και των εντομοπαθογόνων παραγόντων (είναι επιθετικοί, σκοτώνουν γρήγορα τους ξενιστές τους, μπορούν εύκολα να καλλιεργηθούν *in vivo* και έχουν υψηλό αναπαραγωγικό δυναμικό), (Gaugler, 1981, 1988). Ακόμα, οι ΕΠΝ έχουν ένα ευρύ φάσμα ξενιστών, είναι ασφαλείς για τους μη στόχους οργανισμούς και τα φυτά (Poinar, 1989; Kaya and Gaugler, 1993), και εφαρμόζονται εύκολα με τη χρήση ψεκασμού (Kaya and Gaugler, 1993). Επίσης, είναι φορείς των βακτηρίων του γένους *Xenorhabdus* και γι'αυτό ονομάζονται εντομοπαθογόνοι (Kaya and Gaugler, 1993). Ο νηματώδης βασίζεται στο συμβιωτικό βακτήριο (symbiont), όπου μέσω της παραγωγής αντιβιοτικών καταστέλει τους ανταγωνιστικούς δευτερογενείς μικροοργανισμούς, που πιθανόν να αναπτυχθούν στον ξενιστή, και κατόπιν σταδιακά διασπά τους ιστούς του ξενιστή σε χρήσιμα θρεπτικά συστατικά για τον νηματώδη. Το βακτήριο εξασφαλίζει από τον νηματώδη προστασία, καθώς και την αναστολή των αντιβακτηριακών πρωτεϊνών του ξενιστή (Akhurst, 1980; Kaya and Gaugler, 1993).

2.2. ΒΙΟΛΟΓΙΑ

Οι ανήλικοι ΕΠΝ, τρίτης ηλικίας ή μολυσματικά ανήλικα (infective juveniles - IJs) των *Steinernema* spp. φέρουν στο πεπτικό τους σύστημα βακτήρια του γένους *Xenorhabdus* spp (Murfin et al., 2015), ενώ αυτά των *Heterorhabditis* spp. φέρουν βακτήρια του γένους *Photorhabdus* spp. (Blackburn et al., 2016). Όταν βρεθεί ο κατάλληλος ξενιστής, ο ΕΠΝ εισέρχεται στο εσωτερικό του μόνο μέσω του στόματος, του πρωκτού ή από πιθανά τραύματα που μπορεί να έχει το έντομο, και ελευθερώνει το βακτήριο (Bedding and Molyneux, 1982), το οποίο μετά την ελευθέρωση του προκαλεί σηψαιμία στο ξενιστή εντός 48 ωρών. Οι ΕΠΝ τρέφονται με τους αποσυντιθεμένους ιστούς του ξενιστή και ολοκληρώνουν 2 έως 3 γενεές εντός του νεκρού σώματος του ξενιστή, από όπου τελικά θα εξέλθουν ως μολυσματικά ανήλικα (infective juveniles), τα οποία θα αναζητήσουν άλλο ξενιστή(-ες) (Shapiro-Ilan and Gaugler, 2002). Ο αριθμός των ΕΠΝ που εξέρχονται από έναν ξενιστή, μπορεί να κυμαίνεται από δεκάδες έως

εκατοντάδες (Shapiro-Ilan and Gaugler, 2002). Οι ΕΠΝ δεν τρέφονται εκτός του ξενιστή και βασίζονται στα αποθέματα ενέργειας τους, τα οποία κρίνονται κρίσιμα για την επιτυχία της επιβίωσης και διασποράς τους ως προς την αναζήτηση νέων ξενιστών και το ξεκίνημα μιας νέας μόλυνσης. Συγκεκριμένα, τα επίπεδα λιπιδίων και γλυκογόνου στο σώμα των μολυσματικών ανήλικων (infective juveniles) έχουν συνδεθεί με τη μολυσματικότητα σε διάφορα είδη ΕΠΝ (Patel et al., 1997; Menti et al., 2000).

Βιολογία Εντομοπαθογόνων νηματωδών Steinernematidae & Heterorhabditidae



Εικόνα 12: Βιολογία εντομοπαθογόνων νηματωδών.

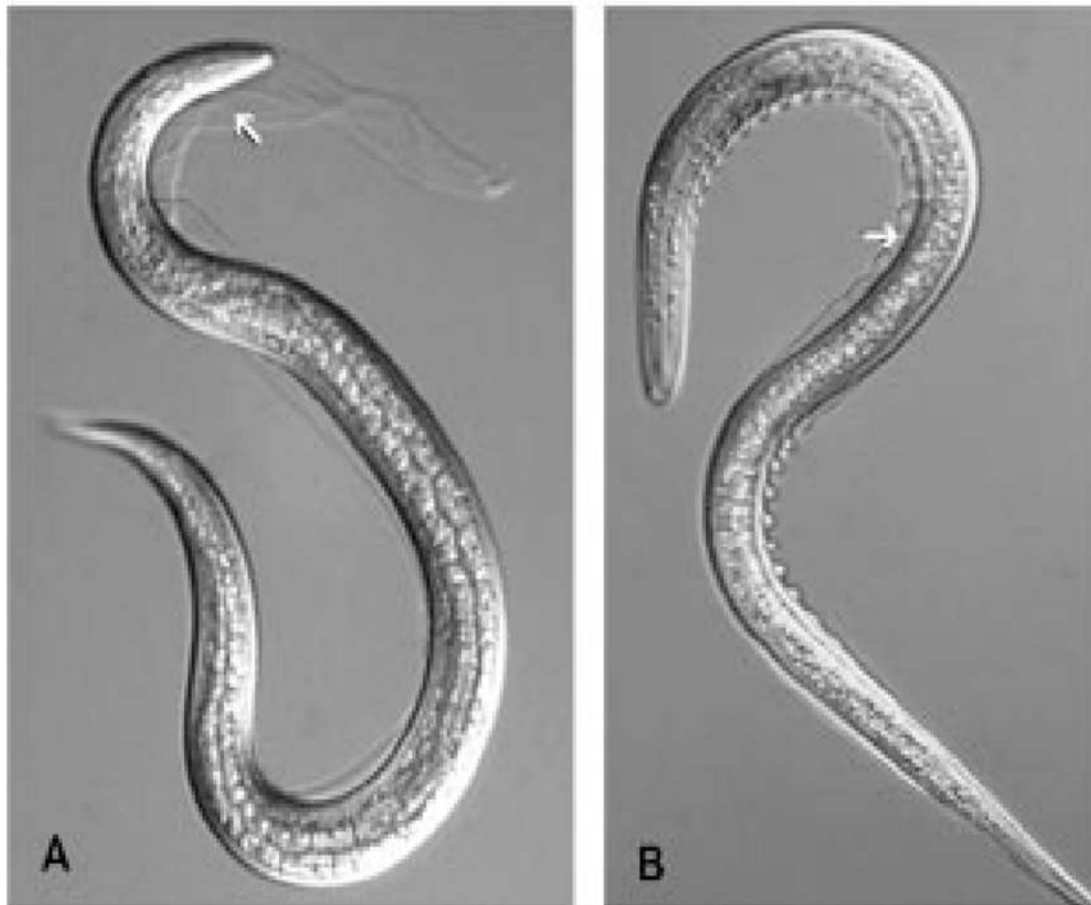
Πηγή: Απόστολος Καπράνας

2.3. ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ – ΟΙΚΟΛΟΓΙΑ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ

Για να αυξήσουν την πιθανότητα επιτυχίας στην αναζήτηση και εντοπισμό του κατάλληλου ξενιστή, οι ΕΠΝ χρησιμοποιούν δύο στρατηγικές.

Αρχικά βασίζονται, σε δονήσεις που προέρχονται από τη δραστηριότητα των ξενιστών στο έδαφος ή σε άλλο υπόστρωμα (Burman and Pye, 1980; Byers and Poinar, 1982), στη θερμοκρασία του εδάφους (Burman and Pye, 1980; Byers and Poinar, 1982; Torr et al., 2004), το παραγόμενο CO₂ ή και άλλες χημικές ουσίες (Dillman et al., 2012). Δεύτερη στρατηγική, είναι η διάκριση τους ως προς την μέθοδο που ακολουθούν στην αναζήτηση τροφής και διακρίνονται σε ενέδρας και περιπολίας.

Ως ενέδρας χαρακτηρίζεται το είδος *Steinernema carpopopsae* (Weiser) Wouts, Mráček, Gerdin and Bedding (Εικ. 10α.), ενώ το *Steinernema feltiae* ως ενέδρας και περιπολίας μαζί. Τα είδη ενέδρας παραμένουν στην επιφάνεια του εδάφους και ανυψώνουν το σώμα τους στον αέρα, και όταν διαβεί προς το μέρος τους ο ξενιστής (Campbell and Gaugler, 1993; Campbell and Kaya, 1999, 2002; Campbell and Gaugler, 1997), τον οποίο καταλαβαίνουν μέσω των παραγόμενων του χημικών ουσιών ή CO₂ (Dillman et al., 2012), πηδούν προς το μέρος του και προσκολλούνται πάνω του. Τα είδη *Heterorhabditis* spp. χαρακτηρίζονται ως περιπολίας, τα οποία κινούνται έρποντας μέσα στο έδαφος αναζητώντας τον ξενιστή (Campbell and Gaugler, 1993; Campbell and Kaya, 1999; Campbell and Gaugler, 1997). Πολύ σημαντικό είναι ότι οι ΕΠΝ ενέδρας είναι πιο επιτυχείς σε ξενιστές που κινούνται, παρά οι ΕΠΝ περιπολίας (Gaugler et al., 1997). Τέλος, μελέτες που πραγματοποιήθηκαν για τη βιωσιμότητα όλων των ειδών των ΕΠΝ σε υγρό περιβάλλον (Lindegren et al., 1981; Miller and Bedding, 1982), υπέδειξαν ότι οι εντομοπαθογόνοι νηματώδεις δεν μπορούν να επιβιώσουν σε άλλο περιβάλλον, εκτός του φυσικού τους περιβάλλον που είναι το έδαφος, και έτσι η χρήση τους περιορίστηκε στο έδαφος (Kaya and Gaugler, 1993).



Εικόνα 13: α. Οι ΕΠΝ *S. carposcapsae* (αριστερά), και β. *H. bacteriophora* (δεξιά)

Πηγή: [https://www.semanticscholar.org/paper/Entomopathogenic-Nematodes-\(Steinernematidae-and-\)-Hazir-Kaya/4679ee3eb677749d1cb0943532ee0731b8141468/figure/2](https://www.semanticscholar.org/paper/Entomopathogenic-Nematodes-(Steinernematidae-and-)-Hazir-Kaya/4679ee3eb677749d1cb0943532ee0731b8141468/figure/2)

2.4. ΔΙΑΣΠΟΡΑ

Η διασπορά των νηματωδών είναι απαραίτητος για την επιβίωση τους, διότι αν δεν διασκορπιστούν στο έδαφος, δεν θα μπορέσουν να βρουν ξενιστές για να ολοκληρώσουν το βιολογικό τους κύκλο (Epsky et al., 1988; Timper et al., 1988). Παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν τον διασκορπισμό τους, είναι οι αβιοτικοί παράγοντες, οι οποίοι περιλαμβάνουν το έδαφος, την υγρασία και τη θερμοκρασία. Όσο αφορά το έδαφος, γενικά, τα αμμώδη εδάφη ευνοούν τη μετακίνηση των νηματωδών (Korpenhöfer & Fuzy, 2006). Ακόμα, επηρεάζονται από την ακτινοβολία, και όταν έρθουν αντιμέτωποι με το υπεριώδες φως, οι απώλειες τους μπορούν να κυμανθούν μεταξύ 40 και 90%, εντός ολίγων ωρών ή ημερών μετά από την εφαρμογή τους (Smits, 1996).

Τέτοιο παράδειγμα, είναι το *S. carposcapsae* (Weiser) Wouts, Mrácek, Gerdin and Bedding (Rhabditida: Steinernematidae), το οποίο μπορούσε να υποστεί μια απότομη πτώση εντός 4 ημερών μετά την εφαρμογή του, λόγω ότι ως ΕΠΝ ενέδρας παρέμενε

πολύ ώρα ακίνητο κοντά στην επιφάνεια του εδάφους (Elmowitz et al., 2013).

2.5. ΑΝΑΚΥΚΛΩΣΗ (ΠΕΡΑΙΤΕΡΩ ΑΝΑΠΑΡΑΓΩΓΗ)

Μετά την μείωση του αρχικού αριθμού των εφαρμοζόμενων νηματωδών λόγω ότι, κάποιιοι θα πεθάνουν από την ακτινοβολία, τη θερμοκρασία, και τη πείνα, οι πληθυσμοί τους μπορούν να ενισχυθούν και να διατηρηθούν με ανακύκλωση (περαιτέρω αναπαραγωγή), σε ξενιστές στόχους και μη στόχους. Σύμφωνα με το Smits (1996), ο πληθυσμός διατηρεί ένα αρκετά σταθερό επίπεδο "ίσως 10.000-40.000 άτομα /m²". Τα περισσότερα είδη ΕΠΝ μπορούν να χρησιμοποιήσουν ένα αρκετά ευρύ φάσμα ξενιστών, και εφόσον περισσότερα από 100.000 Ijs (infective juveniles) μπορούν να παραχθούν από ένα μεγάλο ξενιστή (Lindegren et al., 1993), ένας μεγάλος πληθυσμός ευπαθών εντόμων-ξενιστών μπορεί να συμβάλει σημαντικά στην διατήρηση των πληθυσμών τους (Griffin, 2015). Η χρονική διάρκεια η οποία απαιτείται για την ανακύκλωση τους κυμαίνεται από μόλις 1 μήνα (McGraw et al., 2010), έως αρκετά χρόνια (Ferguson et al., 1995; Dillon et al., 2008).

Μερικά αγρονομικά συστήματα συμβάλλουν περισσότερο στην ανακύκλωση των ΕΠΝ από κάποια άλλα. Σε καλλιέργειες του αγρού, η μακρύτερη διάρκεια του *Heterorhabditis bacteriophora* Poinar ήταν 23 μήνες και αυτό μετά την εφαρμογή σπόρων σιταριού και κόκκινου τριφυλιού (Susurluk and Ehlers, 2007). Ομοίως, η εμφάνιση των ΕΠΝ αυξήθηκε, από την άνοιξη έως το φθινόπωρο, σε καλλιέργειες με υψηλές πυκνότητες πιθανών ξενιστών (Griffin, 2015).

Οι ΕΠΝ που αναδύονται από τους ξενιστές, μπορεί να διαφέρουν από τους εμπορικά παραγόμενους ΕΠΝ στο εργαστήριο και σε βιοαντιδραστήρες, ως προς τη φυσιολογία, το μέγεθος, τη συμπεριφορά, το ρυθμό και τη κίνηση στο έδαφος (Grewal et al., 1999; Dillon et al., 2006; Ebssa and Korpenhofer, 2012). Οι ΕΠΝ που παρήχθησαν στο κηρόσκωρο, *Galleria mellonella* έχουν αυξημένη διασπορά και μολυσματικότητα (Shapiro and Glazer, 1996; Shapiro and Lewis, 1999). Αυτό μπορεί να οφείλεται είτε στη φυσιολογική κατάσταση των ΕΠΝ, είτε στη παρουσία ερεθισμάτων που προσδίδουν τον ξενιστή όπως, η αμμωνία ή οι φερομόνες (Shapiro and Glazer, 1996; San-Blas et al., 2008; Kaplan et al., 2012).

2.6. ΜΑΖΙΚΗ ΠΑΡΑΓΩΓΗ

Η μαζική παραγωγή εντομοπαθογόνων νηματωδών περιλαμβάνει:

Πρώτον, τη μέθοδο καλλιέργειας *in vivo*, η οποία στηρίζεται στη μέθοδο δολώματος του κηρόσκωρου (Galleria bait method) (Shapiro and Gaugler, 2002), και τη τοποθέτηση των πτωμάτων σε White trap (ειδικές παγίδες συλλογής ΕΠΝ) (White, 1927), οι οποίες εκμεταλλεύονται τη φυσική μετανάστευση των απογόνων των ΕΠΝ από το πτώμα του ξενιστή. Η πρακτική συνίσταται τη μόλυνση, τη συγκομιδή, τη συμπύκνωση και αν χρειαστεί και την απολύμανση. Οι ξενιστές μολύνονται σε τρυβλία με διηθητικό χαρτί ή κάποιο άλλο υπόστρωμα που ευνοεί τη μόλυνση, όπως το έδαφος. Μετά από περίπου 2-5 ημέρες, τα μολυσμένα έντομα μεταφέρονται σε White trap (ειδικές παγίδες συλλογής νηματωδών) (Shapiro-Ilan et al., 2001), οι οποίες αποτελούνται από ένα τρυβλίο ή δίσκο που περιστοιχίζεται από νερό. Μετά από περίπου μια βδομάδα, οι ΕΠΝ μετακινούνται από τα πτώματα των ξενιστών προς το νερό όπου συγκομίζονται.

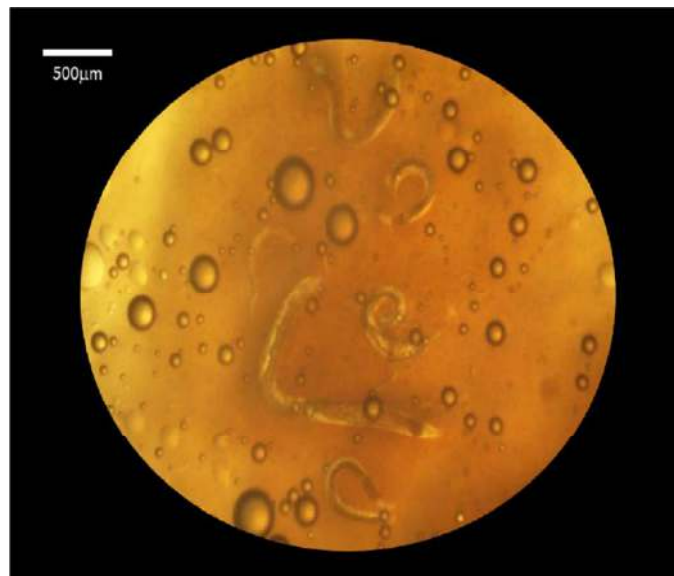
Παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση της *in vivo* καλλιέργειας είναι η δόσολογία των νηματωδών και η πυκνότητα των ξενιστών (Boff et al., 2000; Shapiro-Ilan et al., 2002a). Μια δόση που είναι πολύ χαμηλή μπορεί να οδηγήσει σε χαμηλή θνησιμότητα του ξενιστή, ενώ μια δόση που είναι υπερβολικά υψηλή μπορεί να οδηγήσει στον ανταγωνισμό (Shapiro-Ilan et al., 2012). Επιπλέον, οι περιβαλλοντικοί παράγοντες (θερμοκρασία, αερισμός και υγρασία) μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση της (Burman and Pye, 1980; Grewal et al., 1994; Shapiro-Ilan et al., 2002a; Dolinski et al., 2007).

Δεύτερον, είναι η μέθοδος *in vitro* στερεής καλλιέργειας (Εικ.14), η οποία βασίζεται στην εισαγωγή των νηματωδών σε ένα θρεπτικό μέσο ή αλλιώς στερεή καθαρή καλλιέργεια (Lunau et al., 1993). Η στερεή καλλιέργεια περιλαμβάνει τη καλλιέργεια των ΕΠΝ αναμειγμένα με αφρό πολυεθέρα (Bedding, 1981), ο οποίος έχει αποστειρωθεί και μολυνθεί πρωτίτερα με τα συμβιωτικά τους βακτήρια (Bedding, 1981, 1984). Παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση της *in vitro* στερεάς καλλιέργειας είναι ο ρυθμός εισαγωγής των ΕΠΝ (Han et al., 1992; Wang and Bedding, 1998), ο χρόνος καλλιέργειας δηλαδή αν είναι μεγαλύτερης διάρκειας μπορεί να υπάρχει καλύτερη απόδοση αλλά να οδηγήσει στη θνησιμότητα των νηματωδών (Han et al., 1992), και η σύνθεση του μέσου (Shapiro-Ilan et al., 2012).

Επίσης, υπάρχει και η μέθοδος *in vitro* υγρής καλλιέργειας (Εικ.15), στην οποία πρώτα εισάγονται τα συμβιωτικά βακτήρια και μετά οι νηματώδεις (Buecher and Popiel,

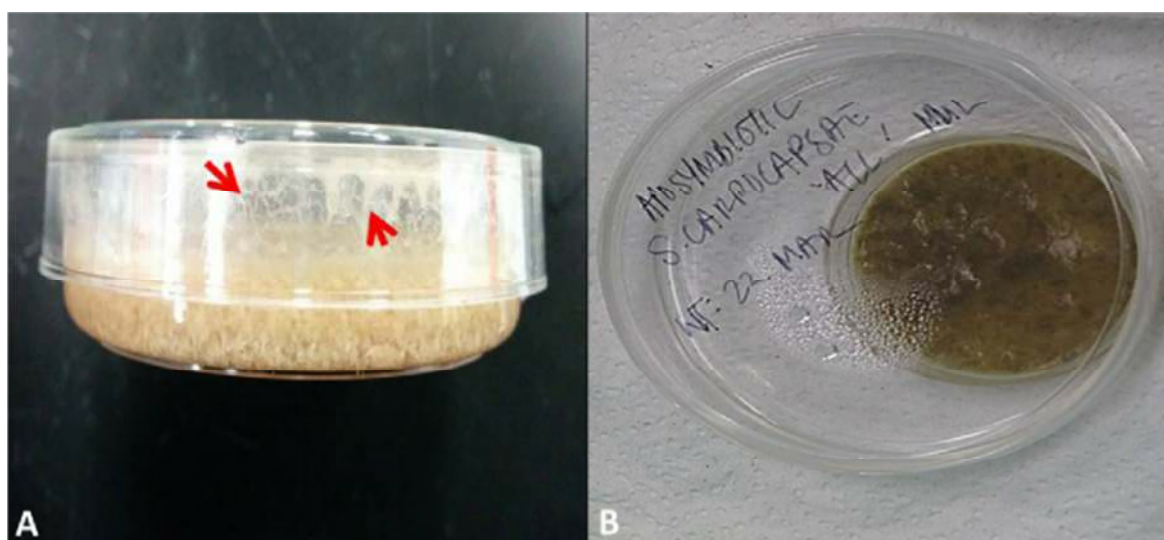
1989; Surrey and Davies, 1996; Strauch and Ehlers, 2000), σε μέσον όπως ο κρόκος αυγού, η σκόνη γάλακτος, εκχύλισμα από ήπαρ κ.α. (Surrey and Davies, 1996; Ehlers et al., 2000; Yoo et al., 2000).

Παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την απόδοση της *in vitro* υγρής καλλιέργειας, είναι ο καλός αερισμός, το CO₂, η περιεκτικότητα σε λιπίδια και η θερμοκρασία (Ehlers et al., 2000; Strauch and Ehlers, 2000, Yoo et al., 2000).



Εικόνα 14: Μέθοδος *in vitro* στερεής καλλιέργειας σε άγαρ.

Πηγή: (https://www.researchgate.net/figure/Liver-kidney-agar-plate-Image-A-on-the-left-shows-a-dish-with-successful-growth-of_fig3_266623234)



Εικόνα 15: Μέθοδος *in vitro* υγρής καλλιέργειας σε μέσον ήπατος.

Πηγή: (<https://www.researchgate.net/figure/Liver-kidney-agar-plate-Image-A-on-the-left->

2.7. Η ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΤΩΝ ΕΠΝ

Οι εντομοπαθογόνοι νηματώδεις (ΕΠΝ) μπορούν να εφαρμοστούν με απλούς ψεκασθήρες, με φυσητήρες ομίχλης και με αεροψεκασμούς (Shapiro-Ilan et al., 2006a). Η μέθοδος εφαρμογής εξαρτάται από το είδος της καλλιέργειας και τις περιβαλλοντικές συνθήκες (Fife et al., 2005; Shapiro-Ilan et al., 2006a). Όσο αφορά το τρόπο εφαρμογής τους μπορεί να είναι είτε σε ένα απλό υδάτινο εναιώρημα, είτε σε εναιώρημα νερού με διασκορπισμένους κόκκους από πηλό, τύρφη, βερμικουλίτη κ.α. (Kaya and Gaugler, 1993).

Παράγοντες που μπορούν να επηρεάσουν την επιτυχία της εφαρμογής τους είναι η δόση τους (Kaya and Gaugler, 1993), ο ανταγωνισμός τους με άλλους εντομοπαθογόνους και με αρπακτικά έντομα (Griffin, 2015), η προστασία τους από την υπεριώδη ακτινοβολία, η επαρκής υγρασία του εδάφους, η θερμοκρασία (Kaya, 1990, Shapiro-Ilan et al., 2006a), και η υφή του εδάφους (Kaya and Gaugler, 1993). Ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας είναι και η εφαρμογή λιπασμάτων και εντομοκτόνων.

Γενικά, σε μελέτες που πραγματοποιήθηκαν, εφαρμόζοντας τα λιπάσματα στη συνιστώμενη δόση, είχαν μικρή επίδραση στην αποτελεσματικότητα των ΕΠΝ (Shapiro et al., 1996b; Bednarek and Gaugler, 1997), σε σχέση με μια υψηλότερη δόση και τη κοπριά (Shapiro et al., 1996b; Bednarek and Gaugler, 1997; Shapiro et al., 1999b). Τέλος, ορισμένα παρασιτοκτόνα μπορεί να είναι τοξικά για τους ΕΠΝ (π.χ. abamectin, acephate, aldicarb, dodine, fenamiphos, methomyl, parathion και Teflubenuron), ενώ κάποια άλλα τείνουν να είναι πιο δραστικά όταν εφαρμόζονται μαζί με τους ΕΠΝ (π.χ. carbaryl, chlorpyrifos, dimethoate, endosulfan, fonofos, tefluthrin, imidicloprid) (Alumai and Grewal, 2004; Koppenhofer and Fuzy, 2008; Shapiro -Ilan et al., 2011b).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: Η ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΔΙΠΤΕΡΩΝ ΤΗΣ ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΣ Tephritidae ΜΕ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΥΣ ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ

Γενικά, οι ΕΠΝ ως οργανισμοί του εδάφους εξαρτώνται και από τις επικρατέστερες συνθήκες του εδάφους. Η υγρασία είναι ένας κρίσιμος παράγοντας. Σε πολύ υγρά ή ξερά εδάφη, το οξυγόνο μπορεί να είναι σε έλλειψη και έτσι, η μετακίνηση των νηματωδών να είναι περιορισμένη (Stuart et al., 2015). Η θερμοκρασία του εδάφους είναι ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας για την επιβίωση τους. Κάποια είδη ΕΠΝ είναι ανεκτικά στη θερμότητα, και άλλα στο κρύο (Glazer et al., 1991). Το pH του εδάφους μπορούν να επηρεάσουν τους ΕΠΝ. Βρέθηκε ότι τα είδη *H. bacteriophora* και *S. carrocapsae* ήταν αποτελεσματικότερα σε pH 6,9 και 8,0 από ό, τι σε pH 5,6 (Stuart et al., 2015).

3.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ

Αρχικά, οι ερευνητικές μελέτες των Malan and Manrakhan (2009), οι οποίοι εξέτασαν την αποτελεσματικότητα των ΕΠΝ *H. bacteriophora*, *H. zealandica* και *S. khoisanae* έναντι του προνυμφικού σταδίου, του σταδίου της νύμφης και των ενήλικων ατόμων τόσο του *C. capitata* Wiedemann όσο και του *C. rosa* Karsch, σε βιοδοκιμές που πραγματοποιήθηκαν στο εργαστήριο, και τα οποία έδειξαν ότι υπήρχε κάποια αποτελεσματικότητα στο στάδιο της προνύμφης και όχι τόσο στο στάδιο της νύμφης. Οι Rohde et al. (2012) εξέτασαν τη παθογένεια των ΕΠΝ, *S. carrocapsae* και *Heterorhabditis* sp., έναντι του προνυμφικού σταδίου και της νύμφης της ΜΜ, σε συγκεντρώσεις 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 και 400 Ij / έντομο. Έδειξαν ότι, στο στάδιο της προνύμφης προκάλεσαν υψηλή θνησιμότητα έως και 85%, έναντι της νύμφης με 35 – 44%, και ότι οι καλύτερες συγκεντρώσεις ήταν οι μικρότερες ξεκινώντας από 100 Ij ανά άτομο.

3.2. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΕΔΑΦΟΣ

Οι Gazit et al. (2000), χρησιμοποιώντας πλαστικά δοχεία (11 x 20 x 20 cm με επιφάνεια 400 cm²), αξιολόγησαν τη μολυσματικότητα των ΕΠΝ σε διάφορους τύπους εδάφους (αμμώδες και αργιλώδες), θερμοκρασίας (17, 22 και 27 °C) και υγρασίας (10% (w/w)). Προστέθηκαν οι ΕΠΝ *S. riobrave* Texas, *S. feltiae* SF, *S. carrocapsae* Mexican, *S. carrocapsae* ALL, *S. glaseri*, *Heterorhabditis* sp. IS-5, IS12, IS-21, IS23, IS-25 και *H. bacteriophora* HP88, όπου οι *S. riobrave* Texas και *Heterorhabditis* sp. IS-5 βρέθηκαν να είναι τα πιο αποτελεσματικά, με το *S. riobrave* Texas να έχει μεγαλύτερη

μολυσματικότητα και καλύτερη αντοχή στις περιβαλλοντικές συνθήκες που δοκιμάστηκαν. Η μεγαλύτερη υπολειμματική διάρκεια που παρουσίασε ήταν έως 10 ημέρες.

Επιπλέον, οι μελέτες των Rohde et al. (2010, 2012), που πραγματοποιήθηκαν στη ΜΜ σε πλαστικά δοχεία (12 cm x 6 cm), με εναιώρημα νηματωδών 125 l / cm², καθώς και των Karagoz et al., (2009), σε γλαστράκια επιφάνειας 113 cm² με εναιώρημα νηματωδών 100 l/cm², έδειξαν ότι τα είδη *Steinernema* spp. (συγκεκριμένα το *S. feltiae*), είχαν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα από τα *Heterorhabditis* spp.

ΠΙΝΑΚΑΣ 1. Διερεύνηση ερευνητικών μελετών αποτελεσματικότητας των ΕΠΝ έναντι των μυγών των φρούτων (Diptera: Tephritidae)

ΜΕΛΕΤΕΣ	ΕΙΔΟΣ ΞΕΝΙΣΤΗ	ΤΥΠΟΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ	ΕΙΔΟΣ ΕΡΝ	ΠΙΟ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΙΚΑ
Gazit et al., 2000	<i>C. capitata</i>	Βιοδοκιμές εδάφους	<i>S. riobrave</i> (Texas) <i>S. feltiae</i> (SF) <i>S. carpocapsae</i> (Mexican) <i>S. carpocapsae</i> (ALL) <i>S. glaseri</i> <i>Heterorhabditis</i> sp. (IS-5, IS12, IS-21, IS23, IS-25) <i>H. bacteriophora</i> (HP88)	<i>S. riobrave</i> (Texas)
Karagoz et al., 2009	<i>C. capitata</i>	Βιοδοκιμές εδάφους	<i>S. feltiae</i> <i>S. carpocapsae</i> <i>S. weiseri</i> <i>Heterorhabditis</i> sp.	<i>S. feltiae</i>
Minas et al., 2016	<i>C. capitata</i>	Βιοδοκιμές εδάφους Αγρός (μόνο το LPP7) - Καλλιέργεια: Guava	<i>S. carpocapsae</i> <i>Heterorhabditis</i> sp. (LPP2, LPP14, LPP17) <i>H. indica</i> (LPP1) <i>H. baujardi</i> (LPP7) <i>H. bacteriophora</i> (HP88) <i>H. baujardi</i> (LPP7)- μόνο στον αγρό	<i>Heterorhabditis</i> sp. (LPP17) <i>H. baujardi</i> (LPP7)
Rohde et al., 2010	<i>C. capitata</i>	Βιοδοκιμές εδάφους	<i>S. carpocapsae</i> (ALL) <i>Heterorhabditis</i> sp.	<i>S. carpocapsae</i> (ALL)

			(RSC01)	
Rohde et al., 2012	<i>C. capitata</i>	Βιοδοκιμές τρυβλίων	<i>S. feltiae</i> (Sn) <i>S. carpocapsae</i> (ALL) <i>S. glaseri</i> (Na) <i>S. riobrave</i> (355) <i>S. arenarium</i> <i>Heterorhabditis</i> sp. (PI, RSC01, RSC02, RSC03, RSC05, JPM3, JPM3.1, JPM4) <i>H. bacteriophora</i> (HP88)	<i>S. carpocapsae</i> (ALL) <i>Heterorhabditis</i> sp. (RSC01)
Barbosa-Negrisoni et al., 2009	<i>Anastrepha fraterculus</i>	Βιοδοκιμές εδάφους Αγρός- Καλλιέργεια: Ροδάκινων	<i>H. bacteriophora</i> (RS33, RS56, RS57, RS58, RS72, RS88, RS107) <i>S. feltiae</i> (RS76) <i>S. glaseri</i> (RS38) <i>S. rarum</i> (RS47, RS55, RS70, RS89, RS90, RS102, RS106) <i>S. riobrave</i> (RS59) <i>Steinernema</i> sp. (RS69, RS92)	<i>S. riobrave</i> (RS59) <i>H. bacteriophora</i> (RS88)
Malan and Manrakhan, 2009	<i>C. capitata</i> <i>C. rosa</i>	Βιοδοκιμές τρυβλίων	<i>H. bacteriophora</i> (SF1, SF134, SF286) <i>H. zealandica</i> (SF41) <i>S. khoisanae</i> (SF87)	<i>H. bacteriophora</i> (SF1, SF134, SF286)- (<i>C.</i> <i>capitata</i>) <i>H. zealandica</i> (SF41)- (<i>C.</i> <i>rosa</i>)
Heve et al., 2016	<i>Anastrepha suspensa</i>	Βιοδοκιμές τρυβλίων Βιοδοκιμές εδάφους	<i>S. riobrave</i> <i>S. carpocapsae</i> (ALL) <i>S. glasseri</i> -group <i>S. glasseri</i> (Sg-Na) <i>S. rarum</i> <i>S. feltiae</i> <i>S. diaprepesi</i> <i>H. indica</i> (Bartow) <i>H. indica</i> (Homestead) <i>H. zealandica</i> <i>H. floridensis</i> <i>H. bacteriophora</i>	<i>S. feltiae</i> <i>H. bacteriophora</i>

Kamali et al., 2013	<i>Dacus ciliatus</i>	Βιοδοκιμές τρυβλίων Βιοδοκιμές εδάφους Βιοδοκιμές καρπών (αγγούρια)	<i>H. bacteriophora</i> <i>S. carpocapsae</i>	<i>S. carpocapsae</i>
Kepenekci et al., 2015	<i>Rhagoletis cerasi</i> L.	Βιοδοκιμές εδάφους	<i>S. carpocapsae</i> <i>S. feltiae</i> <i>H. bacteriophora</i> <i>H. marelatus</i>	<i>S. feltiae</i>
Hertz et al., 2006	<i>Rhagoletis cerasi</i> L.	Βιοδοκιμές εδάφους σε Καλλιέργεια κερασιών	<i>S. feltiae</i>	<i>S. feltiae</i>
Torrini et al., 2017	<i>Bactrocera oleae</i>	Βιοδοκιμές εδάφους	<i>S. carpocapsae</i> (ItS-CAO1) <i>H. bacteriophora</i> (ItH-LU1)	<i>S. carpocapsae</i> (ItS-CAO1)
Langford et al., 2014	<i>Bactrocera tryoni</i>	Βιοδοκιμές εδάφους	<i>S. feltiae</i> (T319) <i>S. carpocapsae</i> (BW) <i>H. bacteriophora</i> (NJ)	<i>S. feltiae</i> (T319)
Sirjani et al., 2009	<i>Bactrocera oleae</i>	Βιοδοκιμές εδάφους Βιοδοκιμές καρπών (ελιάς)	<i>S. feltiae</i> <i>S. carpocapsae</i> <i>S. riobrave</i> <i>S. glaseri</i> <i>H. bacteriophora</i> <i>H. marelatus</i>	<i>S. feltiae</i>
Toledo et al., 2005,2006	<i>Anastrepha ludens</i>	Βιοδοκιμές εδάφους Βιοδοκιμές καρπών (μάνγκο) Αγρός- Καλλιέργεια: Μάνγκο(Mango)	<i>H. bacteriophora</i>	<i>H. bacteriophora</i>
Yee and	<i>Rhagoletis</i>	Βιοδοκιμές	<i>S. carpocapsae</i> <i>S. feltiae</i>	<i>S. carpocapsae</i> <i>S. feltiae</i>

Lacey, 2003	<i>indifferens</i>	εδάφους	<i>S. intermedium</i>	
Fetoh et al., 2011	<i>Bactrocera zonata</i> <i>Dacus ciliatus</i>	Βιοδοκιμές εδάφους	<i>H. bacteriophora</i> (Poinar) <i>S. carpocapsae</i> (ALL)	<i>H. bacteriophora</i> (Poinar)

ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Προηγούμενες μελέτες με την MM, αλλά και με άλλες μύγες των φρούτων επικεντρώνονται στην χρήση των ΕΠΝ εντός της καλλιεργητικής περιόδου. Για παράδειγμα, ο Minas et al. (2016) δοκίμασαν την αποτελεσματικότητα του *H. baujardi* (LPP7) για την αντιμετώπιση της MM σε καλλιέργεια γκουάβας, σε περιοχή τροπικού κλίματος στην Βραζιλία, με ικανοποιητικά αποτελέσματα.

Έκαναν τεχνητές μολύνσεις στον αγρό εντός της καλλιεργητικής περιόδου με εξαιρετικές χαμηλές δόσεις (2.5 ΕΠΝ/1cm³ ή 10 ΕΠΝ/προνύμφη), όμως με επαναλαμβανόμενες εφαρμογές ΕΠΝ σε συνθήκες εξαιρετικά υψηλής υγρασίας. Παρομοίως, σε παρόμοιες κλιματικές συνθήκες, οι Barbosa-Negrisoni et al. (2009) δοκίμασαν εάν οι ΕΠΝ μπορούν να μολύνουν προνύμφες του είδους *Anastrepha fraterculus* Wiedemann μέσα σε φρούτα στο έδαφος με απευθείας εφαρμογή εναιωρήματος εντομοπαθογόνων νηματωδών σε τεχνητά ή φυσικά μολυσμένα ροδάκινα με θετικά αποτελέσματα. Οι Toledo et al. (2005, 2006) δοκίμασαν την αποτελεσματικότητα του ΕΠΝ *H. bacteriophora* κατά του είδους *Anastrepha ludens* Loew σε καλλιέργεια μάνγκο στο Μεξικό με ενθαρρυντικά αποτελέσματα (50-75% μόλυνση), αλλά σε δόσεις αρκετά υψηλές (250-500 ΕΠΝ/ προνύμφη ή 345 ΕΠΝ/cm³) και μερικές φορές επαναλαμβανόμενες.

Αυτό που δεν έχει διερευνηθεί, είναι αν οι ΕΠΝ μπορούν να εφαρμοστούν μετά το πέρας της καλλιεργητικής περιόδου με σκοπό τη μείωση του αριθμού των προς διαχείμαση προνυμφών της MM (προνύμφες που πέφτουν στο έδαφος για να νυμφωθούν χωρίς ή μαζί με τον προσβεβλημένο καρπό) σε περιοχές με μεσογειακό κλίμα. Ο σκοπός είναι να εξεταστεί εάν οι ΕΠΝ μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε χαμηλές δόσεις ή/και με μία μόνο εφαρμογή.

Η παρούσα μεταπτυχιακή μελέτη έρχεται να συμβάλει σε αυτό το σκοπό με α) την εργαστηριακή αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των εμπορικά διαθέσιμων ΕΠΝ *Steinernema carpocapsae*, *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) και *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida:Heterorhabditidae), κατά των ώριμων προνυμφών και των νυμφών του *C. Capitata* Wiedemann, στην Ελλάδα, και ευρύτερα στις κλιματικές συνθήκες της Μεσογείου, β) την διερεύνηση της αποτελεσματικότητας και της υπολειμματικής τους δράσης, σε εδαφικό υπόστρωμα, γ) την εξέταση της

ικανότητας εισόδου και μετακίνησης των ΕΠΝ εντός των καρπών (που έχουν πέσει στο έδαφος), και το παρασιτισμό των προνυμφών της ΜΜ, και τέλος, δ) αν αυτή η ικανότητά του παρασιτισμού εξαρτάται από το είδος του καρπού (πορτοκάλι και μήλο), και εάν διαφέρει για τα τρία είδη των ΕΠΝ.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

4.1. ΕΚΤΡΟΦΕΣ

4.1.1. ΕΚΤΡΟΦΗ ΤΟΥ ΕΙΔΟΥΣ *Ceratitis capitata* Wiedemann

Η εργαστηριακή αποικία του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, είχε αναπτυχθεί από συλλογή μολυσμένων με προνύμφες καρπών νερατζιάς (*Citrus aurantium* L.) από διάφορες περιοχές της Αττικής. Όταν εμφανίστηκαν τα ενήλικα άτομα, τοποθετήθηκαν σε κλωβούς (Εικ. 14) διαστάσεων 30x30x30cm και εφοδιάζονταν με νερό και τροφή (μίγμα 1:4 υδρολυμένης ζύμης και ζάχαρης). Κατά προσέγγιση, τοποθετήθηκαν 100 ενήλικα άτομα σε κάθε ένα κλωβό.

Μετά τη σύζευξη των ενήλικων ατόμων, τα θηλυκά εναπόθεταν τα ωά τους σε ένα τρυβλίο (με διάμετρο 9cm), όπου το οποίο στην επάνω επιφάνεια του είχε τοποθετηθεί ένα πλαστικό κοίλο εσωτερικά κούφιο, ημισφαιρικό καπάκι (με διάμετρο 5 cm), χρώματος κόκκινου, και έχει πάνω του μικρές οπές (Εικ. 13α.) (Diamantidis et al., 2009). Για τη παροχή τροφή της αποικίας, στο κάτω μέρος του τρυβλίου της ειδικής κατασκευής τοποθετούνταν 5 ml φρέσκου χυμού πορτοκαλιού.

Εν συνεχεία, τα ωά συλλέγονταν από αυτό το τρυβλίο με τη βοήθεια μιας μικρής, λεπτής βούρτσας και τοποθετούνταν μέσα σε γυάλινα τρυβλία (με διάμετρο 9mm), σε ειδικό μίγμα τροφής (Εικ. 13β.), που περιείχε νερό (500ml), ζάχαρη (100g), ζυθοζύμη (100g), σόγια (50g), ασκορβικό οξύ (8g), κιτρικό οξύ (8g), προπιονικό νάτριο (1,5g), και άλατα (2g). Επιπροσθέτως, τα γυάλινα τρυβλία (με διάμετρο 9 cm) τοποθετούνταν σε λεκάνη με διαστάσεις 30x30x30 cm, με διηθητικό χαρτί στο πάτο τους και καλύπτονταν με ένα διαφανές διάρρητο ύφασμα (τούλι). Η εκτροφή πραγματοποιούνταν σε εργαστηριακό δωμάτιο υπό σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας (25- 27°C), σχετικής υγρασίας (65%) και 16 ωρών φωτόφασης.



Εικόνα 16: Τρυβλίο εναπόθεσης ωών.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 17: Ανάπτυξη προνυμφών σε ειδικό μίγμα τροφής.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 18: Εκτροφή του εντόμου *Ceratitis capitata*.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα

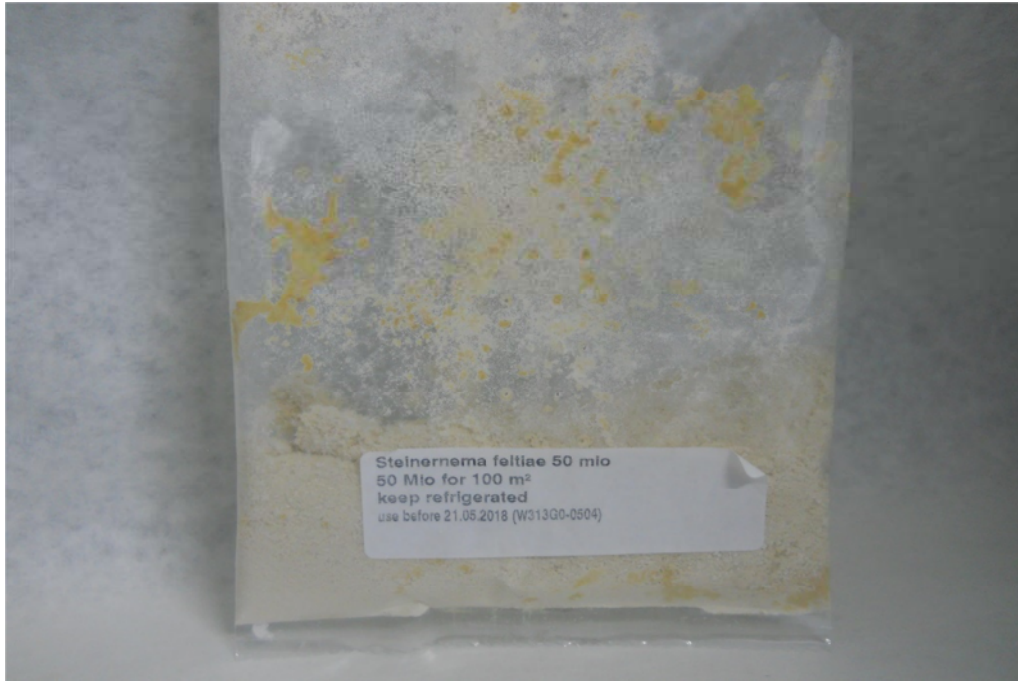
4.1.2. ΕΚΤΡΟΦΗ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΝΗΜΑΤΩΔΩΝ (ΕΠΝ)

Η εταιρεία Bio-insecta προμήθευσε στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, τρία είδη ΕΠΝ, τα *S. carposapsae*, *S. feltiae* και *H. bacteriophora*, μέσα σε φακελάκι με αδρανές υλικό (βερμικουλίτη) και άλλα υλικά (Εικ. 19). Σε ένα δοχείο με νερό (12,5 x12,5 x 6cm), τοποθετείτο διηθητικό χαρτί, στην επιφάνεια του οποίου τοποθετείτο το περιεχόμενο από ένα φακελάκι με ΕΠΝ και αδρανές υλικό για διάστημα οκτώ ωρών (Εικ. 20).

Τα μολυσματικά νεαρά άτομα (infective juveniles - Ijs) των νηματωδών, διαπερνώντας το διηθητικό χαρτί, συγκεντρώνονταν στο νερό. Ακολούθως, αυτό το υδάτινο εναιώρημα χρησιμοποιήθηκε στην *in vivo* εκτροφή των εντομοπαθογόνων νηματωδών με τη μέθοδο δολώματος του κηρόσκωρου (Galleria bait method) (Εικ. 21). Σε τρυβλία τύπου Petri (9cm), με τις δυο τους εσωτερικές όψεις επικαλυμμένες με διηθητικό χαρτί (filter papers, της εταιρείας whatman), διανεμήθηκε ομοιόμορφα με τη βοήθεια πιπέτας, 1ml του υδατινού εναιωρήματος, σε συγκέντρωση 1000-2000 Ij/ml. σύμφωνα με τους McMullen and Stock (2014). Ύστερα, προστέθηκαν 5-6 προνύμφες του τελευταίου σταδίου του είδους του εντόμου *G. mellonella* σε κάθε τρυβλίο, ώστε να επιτευχθεί μία δόση των 100-200 Ijs/προνύμφη. Κατόπιν, τα τρυβλία σφραγίστηκαν με parafilm (για διατήρηση της υγρασίας) και στο πάνω μέρος του αναγράφησαν πληροφορίες όπως, το όνομα του είδους του ΕΠΝ, ο αριθμός των προνυμφών του εντόμου *G. mellonella*, και η ημερομηνία της μόλυνσης. Στη συνέχεια, διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου στους $22 \pm 1^\circ\text{C}$, με σχετική υγρασία 49%, και ελεγχόντουσαν καθημερινά. Ύστερα από 3-4 ημέρες, αφαιρέθηκαν οι νεκρές προνύμφες του εντόμου με προσοχή και με εμφανή τα σημάδια της μόλυνσης τους από τους εντομοπαθογόνους νηματώδεις και τοποθετήθηκαν σε white trap.

Το white trap (Εικ. 22), αποτελείται από ένα δοχείο (διαστάσεων 12,5 x12,5 x 6 cm), όπου στο πάτο του βρίσκεται αναποδογυρισμένο ένα τρυβλίο (τύπου petri), διαμέτρου 45 mm, και από πάνω του εισάγεται ένα ελαφρώς βρεγμένο διηθητικό χαρτί (διαμέτρου 90 mm), στο οποίο τοποθετούμε τις παρασιτισμένες προνύμφες του εντόμου (*G. mellonella*). Κατόπιν, στο δοχείο προστίθεται νερό (μέχρι ύψους 1 cm), και κλείνεται με πώμα και πάνω στο πώμα αναγράφονται το όνομα του είδους του ΕΠΝ, η ημερομηνία μόλυνσης και η ημερομηνία της παγίδευσης. Μετά από μια βδομάδα, παρατηρήθηκε η έναρξη της εξόδου των εντομοπαθογόνων νηματωδών στο νερό, και το υδάτινο εναιώρημα συλλέχθηκε με πιπέτα (όγκου 10ml). Μετά από καθαρισμό με νερό (3 πλύσεις ακολουθούμενες από κατακρήμνιση), τα εναιωρήματα τοποθετήθηκαν σε φιάλες κυτταροκαλλιέργειας (400ml) (Εικ. 23), και αποθηκεύτηκαν σε ειδικό θάλαμο

συντήρησης στους $10 \pm 1^{\circ}\text{C}$ και σχετικής υγρασίας 72%. Για την προετοιμασία των εναιωρημάτων και των δόσεων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα οι ΕΠΝ μετρήθηκαν κάτω από στερεοσκόπιο με εύρος μεγέθυνσης 0,8x-4x και 0,67x-4,5x, σε χαραγμένα τρυβλία καταμέτρησης (counting dish- Εικ. 24).



Εικόνα 19: Ο ΕΠΝ *S. feltiae* μέσα σε φακελάκι με αδρανές υλικό (βερμικουλίτη).
Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 20: Υδάτινα εναιωρήματα νηματωδών.
Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 21: Η μέθοδος δολώματος του κηρόσκωρου (*Galleria* bait method).

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



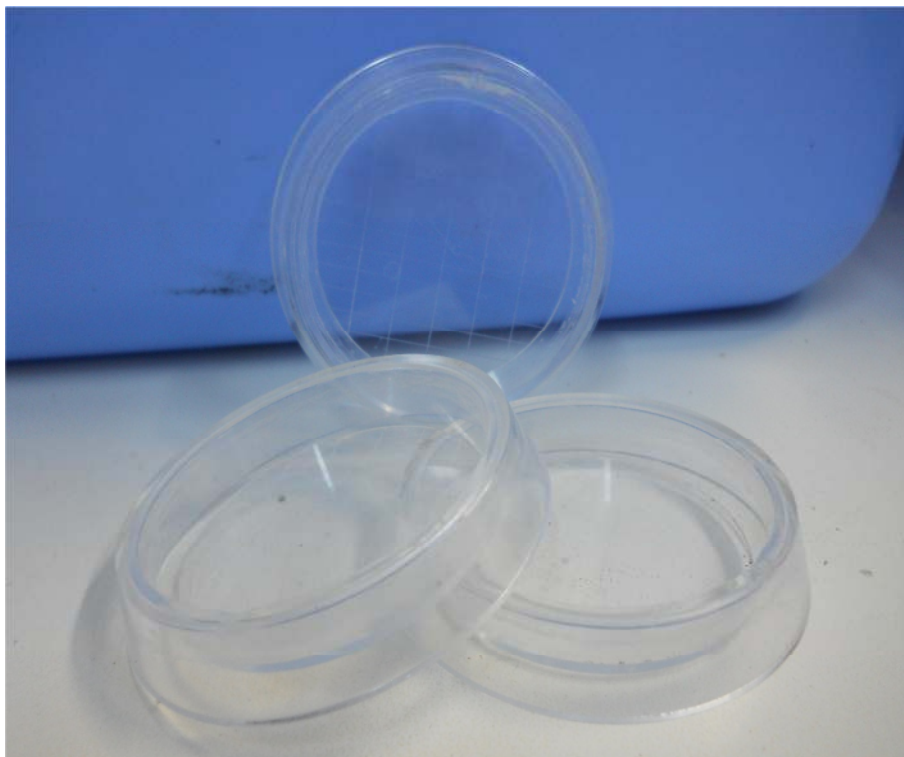
Εικόνα 22: White trap.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 23: Φιάλες κυτταροκαλλιέργειας.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 24: Χαραγμένα τρυβλία καταμέτρησης

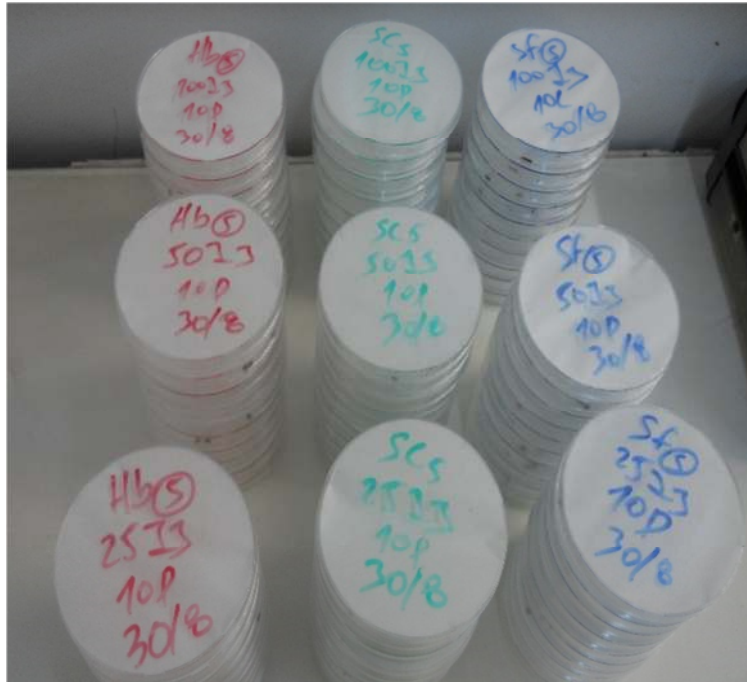
Πηγή: Χρονοπούλου Άννα

4.2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΑ

4.2.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ ΤΥΠΟΥ Petri

Για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των ειδών των ΕΠΝ *S. carpospsae*, *S. feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae), και *H. bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae), στον έλεγχο της προνύμφης και νύμφης του είδους *C. Capitata* Wiedemann, έγιναν βιοδοκιμές σε τρυβλία (Εικ. 25, 26). Αρχικά, το εσωτερικό του τρυβλίου (90 mm) καλύφθηκε από διηθητικό χαρτί και στις δύο πλευρές του. Προστέθηκε 2 ml εναιωρήματος ΕΠΝ σε κάθε πλευρά, και αντίστοιχα νερό για το μάρτυρα. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν 10 προνύμφες σε κάθε ένα από τα 5 τρυβλία, και σε άλλα 5 τρυβλία τοποθετήθηκαν 10 νύμφες, άρα σύνολο 10 τρυβλία για το κάθε είδος ΕΠΝ της κάθε μεταχείρισης, και 10 για το μάρτυρα, οπότε χρησιμοποιήθηκαν 100 τρυβλία σε κάθε μεταχείριση. Οι διαφορετικές μεταχειρίσεις των ΕΠΝ που χρησιμοποιήθηκαν ήταν των 100 lj, 50 lj και 25 lj/προνύμφη ή νύμφη, ενώ για το μάρτυρα χρησιμοποιήθηκε μόνο νερό. Οι αξιολογήσεις ξεκίνησαν μετά από τρεις ημέρες και κατόπιν καθημερινά ώστε να επιβεβαιωθεί η θνησιμότητα τόσο του προνυμφικού σταδίου όσο και του σταδίου της νύμφης, και έως να ολοκληρωθεί η εμφάνιση των ενήλικων ατόμων της ΜΜ.

Κάθε πειραματικό σετ αποτελούνταν από πέντε επαναλήψεις από κάθε μεταχείριση. Συνολικά για κάθε στάδιο (προνύμφη/νύμφη) έγιναν έξι πειραματικά σετ, οπότε για κάθε μεταχείριση υπήρξαν συνολικά 30 επαναλήψεις. Τα πειράματα έγιναν σε θερμοκρασία δωματίου $22 \pm 1^\circ\text{C}$ και σχετικής υγρασίας 49%.



Εικόνα 25: Βιοδοκιμές τρυβλίων.
Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 26: Βιοδοκιμές τρυβλίων.
Πηγή: Χρονοπούλου Άννα

4.2.2. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΚΛΩΒΟΥΣ

Στο δεύτερο πειραματικό σκέλος, για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της υπολειμματικής δράσης των ειδών των ΕΠΝ *S. carpospae*, *S. feltiae*, και *H. bacteriophora*, στον έλεγχο της προνύμφης και νύμφης του είδους *C. capitata*, έγιναν βιοδοκιμές σε κλωβούς (Εικ. 27).

Το πείραμα διεξήχθη σε τρεις φάσεις σε ειδικό θάλαμο φωτοπεριόδου του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, υπό ελεγχόμενες συνθήκες, με θερμοκρασία δωματίου $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ και σχετικής υγρασίας 49%. Η αποτελεσματικότητα και υπολειμματική δράση των ΕΠΝ αξιολογήθηκε σε συνθήκες που προσομοιάζουν την φθινοπωρινή περίοδο, όπου αναπτυγμένες προνύμφες εξέρχονται από τα φρούτα και πέφτουν στο έδαφος για να νυμφωθούν και να διαχειμάσουν. Για αυτό το λόγο χρησιμοποιήσαμε υπόστρωμα με σύσταση 7:3 άμμου-εδαφικού μείγματος (τύρφη), σε πλαστικά δοχεία (διαστάσεων 20x20), και όγκου 400 cm², τα οποία τοποθετήθηκαν σε εντομολογικούς κλωβούς (διαστάσεων 30x30x30 cm). Σε κάθε δοχείο προστέθηκε 160ml εναιωρήματος με 60.000 Ij από κάθε νηματώδη και ακολούθως προστέθηκαν 100 προνύμφες MM, οι οποίες παρατηρήθηκε να εισέρχονται άμεσα στο υπόστρωμα. Η δόση που χρησιμοποιήθηκε, ήταν σύμφωνα με από τους Gazit, et al., (2000), όπου βρέθηκε ότι, η μέγιστη δραστηριότητα των ΕΠΝ ήταν σε πυκνότητα 150 Ij/cm² άρα $150\text{Ij/cm}^2 * 400\text{cm}^2 = 60.000\text{ Ij}$. Μετά από δύο βδομάδες στο ίδιο δοχείο προστέθηκαν άλλες 100 προνύμφες MM, και μετά από τέσσερις βδομάδες άλλες 100 προνύμφες πάλι στο ίδιο δοχείο. Οπότε, συνολικά προστέθηκαν 300 προνύμφες της MM σε διάστημα 4 βδομάδων. Κάθε βδομάδα γινόταν επίσης, εφαρμογή περίπου 100 ml νερού με σκοπό τη διατήρηση της υγρασίας του υποστρώματος περίπου στο 10-15% που είναι και το ποσοστό που μπορούν να έχουν βέλτιστη δράση, ενώ σε κορεσμένα εδάφη οι ΕΠΝ αδρανοποιούνται (Griffin, 2015). Συνολικά έγιναν οκτώ επαναλήψεις (δοχεία) ανά μεταχείριση. Μετά από 19 περίπου ημέρες από την τοποθέτηση των προνυμφών, τα ενήλικα άτομα της MM άρχισαν να εξέρχονται από το υπόστρωμα και να παρατηρούνται στους κλωβούς. Τα ενήλικα άτομα MM συλλέγονταν με τη βοήθεια αναρροφητήρα (Εικ. 28) ανά κλωβό, αποθηκεύονταν σε φυγοκεντρικούς σωλήνες τύπου falcon (Εικ. 29), και καταμετρούνταν.



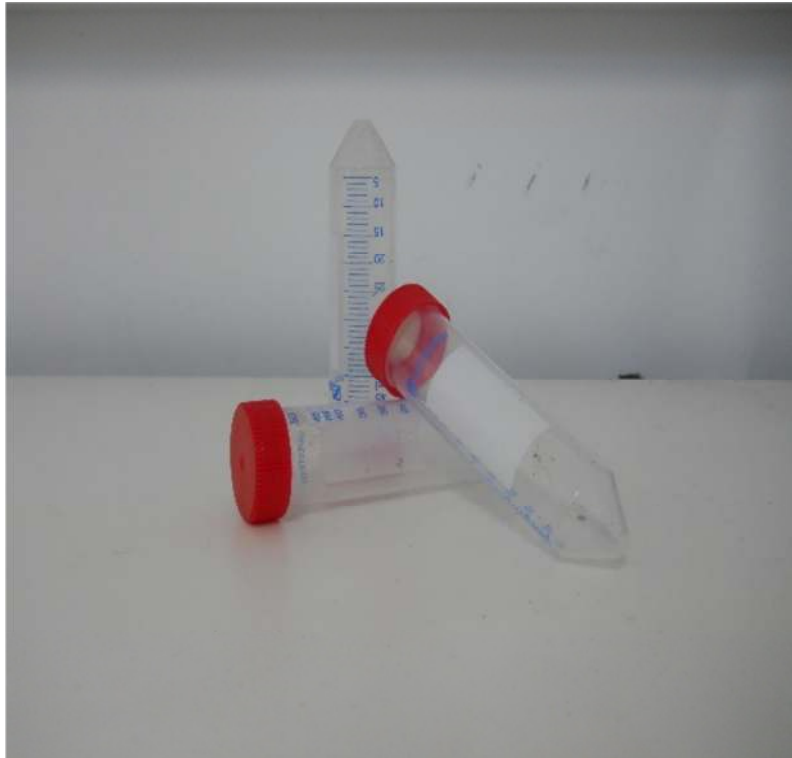
Εικόνα 27: Βιοδοκιμές σε κλωβούς.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 28: Αναρροφητήρας.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 29: Φυγοκεντρικοί σωλήνες τύπου falcon.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα

4.2.3. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΚΑΡΠΟΥΣ

Στο τρίτο πειραματικό σκέλος για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της διερεύνησης της ικανότητας μετακίνησης των ειδών των ΕΠΝ *S. carrocapsae*, *S. feltiae*, και *H. bacteriophora*, στον έλεγχο της προνύμφης και νύμφης του είδους *C. capitata*, έγιναν βιοδοκιμές σε καρπούς. Το πείραμα διεξήχθει, σε ειδικό θάλαμο φωτοπεριόδου του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, υπό ελεγχόμενες συνθήκες, με θερμοκρασία δωματίου $21 \pm 1^{\circ}\text{C}$ και σχετικής υγρασίας 49%. Πορτοκάλια (Εικ. 30) και μήλα (Εικ. 31) προσβλήθηκαν τεχνητά με 50 ωά ή νέο-εκκολαφθείσες προνύμφες της MM ανοίγοντας μια μικρή τομή (στο πορτοκάλι βαθιά μέχρι την σάρκα) και μεταφέροντας τις προνύμφες στο σημείο αυτό με ένα λεπτό πινέλο, κάτω από το στερεοσκόπιο.

Κατόπιν τα προσβεβλημένα φρούτα τοποθετήθηκαν στην επιφάνεια υποστρώματος με σύσταση 7:3 άμμου-εδαφικού μείγματος (τύρφη), μέσα σε πλαστικά δοχεία (διαστάσεων 12x12cm), και όγκου 144 cm^2 , στο οποίο είχε γίνει προηγουμένως εφαρμογή με 80ml εναιωρήματος, δηλαδή με 21.600 νηματώδεις ($150 \text{ Ij/cm}^2 * 144 \text{ cm}^2 = 21.600 \text{ Ij}$). Συνολικά έγιναν έξι επαναλήψεις (τρεις επαναλήψεις με πορτοκάλι και τρεις με μήλο) για το κάθε ένα είδος ξεχωριστά (*S. carrocapsae*, *S. feltiae* και *H. bacteriophora*), και έξι επαναλήψεις με 80 ml νερό μόνο για μάρτυρες. Η αξιολόγηση πραγματοποιήθηκε μετά από 26 μέρες για τα πορτοκάλια, ενώ τα μήλα χρειάστηκαν άλλη μια βδομάδα. Οι καρποί διαμελίστηκαν με προσοχή και διερευνήθηκαν εξονυχιστικά για την εύρεση τυχόν υγείων ή προσβεβλημένων από νηματώδεις προνυμφών. Τέλος, το μίγμα εδάφους ελέγχθηκε επισταμένως, και καταγράφηκε ο αριθμός των εξερχόμενων νυμφών της MM, ώστε να επιβεβαιωθεί το ποσοστό θνησιμότητας τους.



Εικόνα 30: Βιοδοκιμές σε παρτοκάλια.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 31: Βιοδοκιμές σε μήλα.

Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 32: Προσβεβλημένη προνύμφη από τον ΕΠΝ *S. feltiae* σε πορτοκάλι.
Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 33: Προσβεβλημένη προνύμφη από τον ΕΠΝ *S. carpospsae* σε μήλο.
Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 34: Προσβεβλημένες προνύμφες από το ΕΠΝ *H. bacteriophora* σε πορτοκάλι.
Πηγή: Χρονοπούλου Άννα



Εικόνα 35: Προσβεβλημένες προνύμφες από το ΕΠΝ *H. bacteriophora*.
Πηγή: Χρονοπούλου Άννα

4.3. ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

4.3.1. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ ΤΥΠΟΥ Petri

Συνήθως, τα δεδομένα των βιοδοκιμών σε βιοκτόνα αναλύονται αφού πρώτα τα αποτελέσματα από τις διάφορες μεταχειρίσεις, διορθώνονται χρησιμοποιώντας τον τύπο του Abbott, εφόσον η θνησιμότητα στο μάρτυρα είναι 5-20%. Ωστόσο στα πειραματά μας παρατηρήθηκε επανειλημμένα ότι η θνησιμότητα στο μάρτυρα ξεπερνούσε κατά πολύ το 20% (προνύμφη ~26%, Νύμφη~32%). Για αυτό το λόγο επιλέξαμε να προχωρήσουμε σε απευθείας σύγκριση των διάφορων μεταχειρίσεων (είδος νηματώδη και δόση) συμπεριλαμβανομένου του μάρτυρα, μεταξύ τους. Για να το πετύχουμε αυτό, εφαρμόσαμε Γενικευμένα Γραμμικά Μοντέλα (Generalized Linear Models), και συγκεκριμένα για να μελετήσουμε την επίδραση των διαφορετικών μεταχειρίσεων. Στη θνησιμότητα των προνυμφών και των νυμφών της MM χρησιμοποιήσαμε τη λογιστική παλινδρόμηση, η οποία είναι κατάλληλη για αναλογικά δεδομένα (ποσοστά θνησιμότητας στην περίπτωση μας, x άτομα νεκρά/10), όπου υπήρχε στατιστικώς σημαντική επίδραση των μεταχειρίσεων στην θνησιμότητα. Προχωρήσαμε σε δοκιμασία πολλαπλών συγκρίσεων (post-hoc test) με τη μέθοδο Bonferroni (Sokal & Rohlf, 1995). Η ανάλυση έγινε με το στατιστικό λογισμικό SPSS v.21 (IBM, Armonk, NY, USA).

4.3.2. ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ ΣΕ ΚΛΩΒΟΥΣ

Τα δεδομένα μας ακολουθούσαν κανονική κατανομή και έτσι, εφαρμόσαμε ανάλυση παραλλακτικότητας δύο παραγόντων, ώστε να διερευνηθεί, κατά πόσο η έξοδος των ενήλικων ατόμων της MM επηρεάζεται από τη μεταχείριση (μάρτυρας, *H. bacteriophora*, *S. carprocapsae* και *S. feltiae*) και το χρόνο προσθήκης των προνυμφών μετά την εφαρμογή, της εκάστοτε μεταχείρισης (0, 2 και 4 βδομάδες), καθώς και από την αλληλεπίδραση τους.

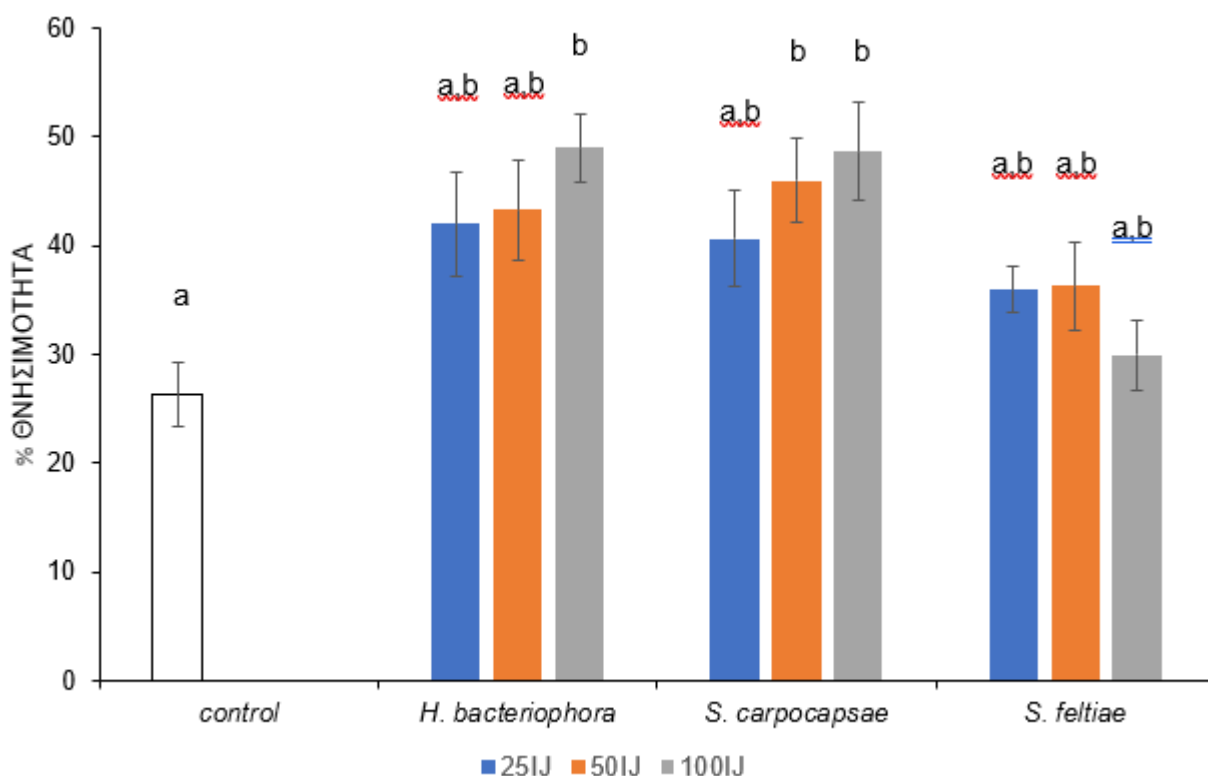
Για την περαιτέρω σύγκριση των μέσων όρων κάθε παράγοντα προχωρήσαμε σε δοκιμασία Least Significant Difference (L.S.D). Κατόπιν, προχωρήσαμε σε μονο-παραγοντική σύγκριση των μέσων όρων όλων των επεμβάσεων για κάθε συνδυασμό μεταχείρισης και χρόνου με Tukey-Kramer.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

5.1. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΣΕ ΤΡΥΒΛΙΑ ΤΥΠΟΥ Petri

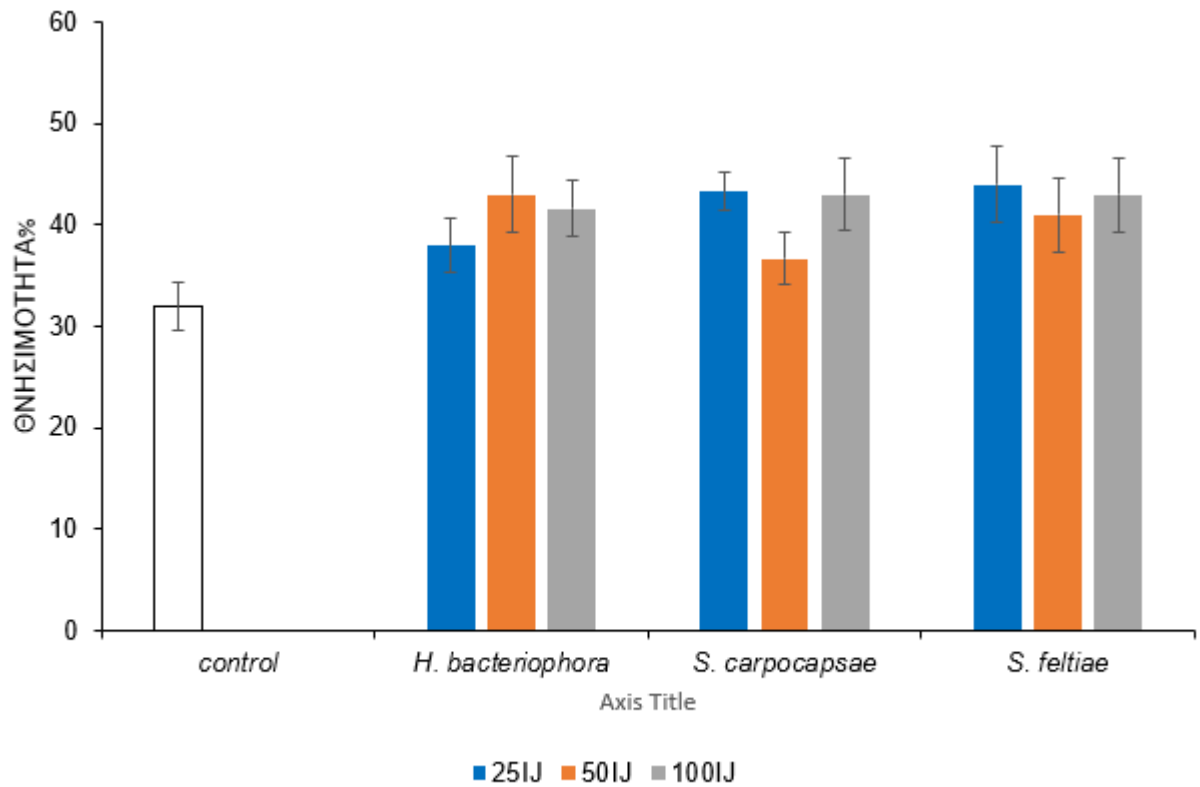
Γενικά, οι διάφορες μεταχειρίσεις των ΕΠΝ, *H. bacteriophora*, *S. carrocapsae* και *S. feltiae*, στις δόσεις των 100 Ij, 50 Ij και 25 Ij/προνύμφη, είχαν στατιστικά σημαντική επίδραση στην θνησιμότητα των προνυμφών της ΜΜ ($F_{9,290} = 3.573$, $P < 0.001$), όπως φαίνεται στο ιστόγραμμα 1.

Σε σχέση με το μάρτυρα μόνο το *H. bacteriophora* στην ανώτερη δόση των 100Ij/προνύμφη, και το *S. carrocapsae* σε δόση 50 και 100Ij/προνύμφη διέφεραν σημαντικά. Αντίθετα, οι διάφορες μεταχειρίσεις δεν επηρέασαν σημαντικά την θνησιμότητα των νυμφών της ΜΜ ($F_{9,290} = 1.525$, $P = 0.138$).



Control = Μάρτυρας

Ιστόγραμμα 1: Θνησιμότητα προνυμφών της Μύγας της Μεσογείου, *C. capitata* σε διαφορετικές δόσεις από τους εντομοπαθογόνους νηματώδεις *H. bacteriophora*, *S. carrocapsae* και *S. feltiae* σε βιοδοκιμές σε τρυβλία petri. Οι στήλες που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (Bonferroni, post-hoc test πολλαπλών συγκρίσεων, $\alpha = 0,05$).



Control = Μάρτυρας

Ιστόγραμμα 2: Θνησιμότητα νυμφών της Μύγας της Μεσογείου, *C. capitata* σε διαφορετικές δόσεις από τους εντομοπαθογόνους νηματώδεις *H. bacteriophora*, *S. carpocapsae* και *S. feltiae* σε βιοδοκιμές σε τρυβλία petri.

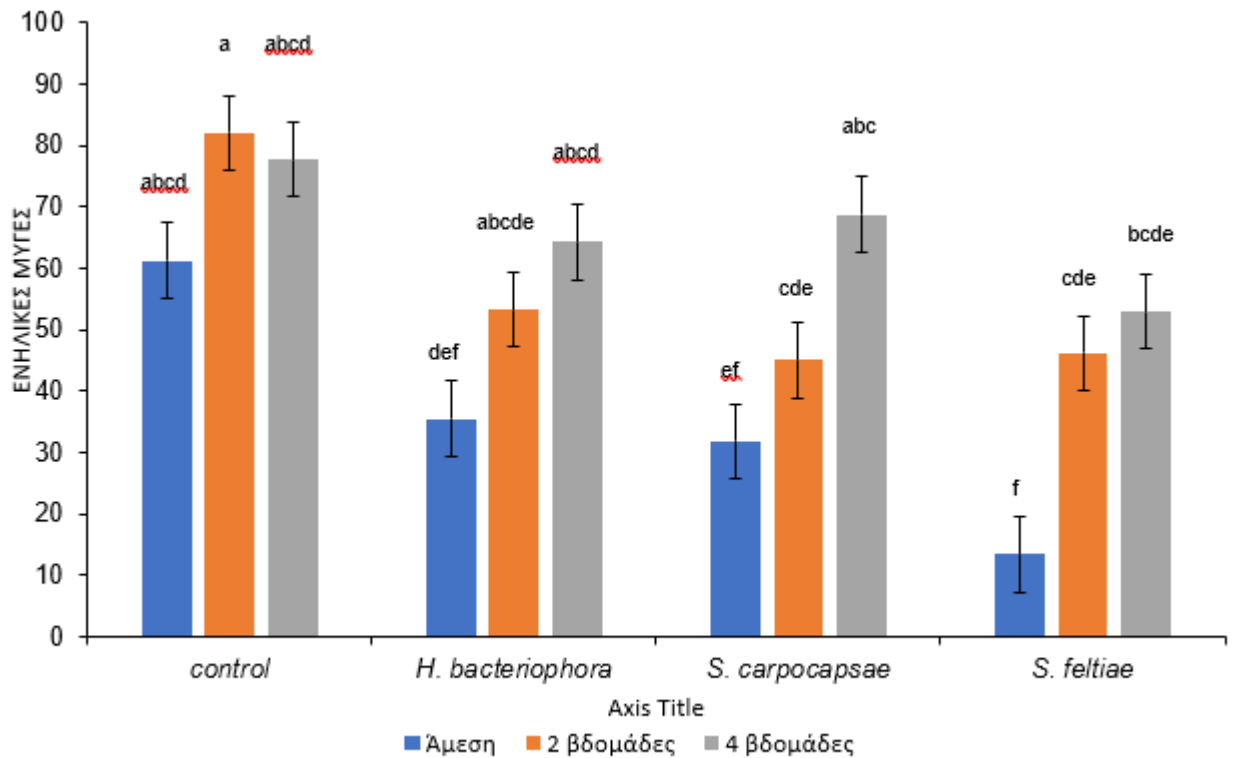
5.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΣΕ ΚΛΩΒΟΥΣ

Τόσο η μεταχείριση, όσο και το χρονικό διάστημα μεταξύ της εφαρμογής της κάθε μεταχείρισης (*H. bacteriophora*, *S. carpospsae* και *S. feltiae*) και της πρόσθεσης προνυμφών (κάθε 0, 2, και 4 βδομάδες), επηρέασαν σημαντικά τον αριθμό των ενήλικων της MM που παρατηρήθηκαν στους κλωβούς, ενώ η αλληλεπίδραση αυτών των παραγόντων δεν ήταν σημαντική (Πίνακας 2).

Πίνακας 2. Ανάλυση Παραλλακτικότητας εξόδου ενήλικων της MM					
Εξαρτημένη μεταβλητή: ανήλικα <i>C. capitata</i>					
Πηγή παραλλακτικότητας	Άθροισμα τετραγώνων	Βαθμοί ελευθερίας	Μέσο τετράγωνο	F	P
Μοντέλο	34581,281 ^a	11	3143,753	10,662	<0.001
Σημείο τομής	266177,344	1	266177,344	902,720	<0.001
Μεταχείριση	16568,115	3	5522,705	18,730	<0.001
Χρόνος	15506,437	2	7753,219	26,294	<0.001
Μεταχείριση* Χρόνος	2506,729	6	417,788	1,417	0.218
Σφάλμα	24768,375	84	294,862		
Σύνολο	325527,000	96			
Διόρθωση συνόλου	59349,656	95			
a. συντελεστής προσδιορισμού R= ,583 (Διορθωμένος συντελεστής προσδιορισμού = ,528)					

Το είδος του ΕΠΝ που οδήγησε στο μικρότερο αριθμό ενήλικων MM ήταν το *S. feltiae* (37.45 ± 3.5), ακολουθούμενο από τα *H. bacteriophora* (51 ± 3.5) και *S. carpospsae* (48.54 ± 3.5), τα οποία δεν διέφεραν σημαντικά, ενώ στο μάρτυρα (73.62 ± 3.5) παρατηρήθηκε σημαντικά μεγαλύτερος αριθμός ενήλικων MM σε σύγκριση με όλες τις μεταχειρίσεις. Επίσης, ο αριθμός των ενήλικων επηρεάστηκε σημαντικά και από το χρονικό διάστημα, όπου οι προνύμφες εκτέθηκαν στις μεταχειρίσεις. Περισσότερα 55

ενήλικα της MM παρατηρήθηκαν όσο το διάστημα εφαρμογής-έκθεσης αυξανόταν. Στο ιστόγραμμα 3 παρουσιάζεται ο αριθμός των ενηλίκων της MM, που παρατηρήθηκαν στους κλωβούς ανά συνδυασμό μεταχείρισης και χρονικού διαστήματος.



Control = Μάρτυρας

Ιστόγραμμα 3: Έξοδος ενηλίκων της Μύγας της Μεσογείου, *C. capitata* σε κλωβούς με διαφορετικές μεταχειρίσεις. Οι στήλες που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (Tukey Kramer post-hoc test πολλαπλών συγκρίσεων, $\alpha = 0,05$).

5.3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ ΣΕ ΚΑΡΠΟΥΣ

Γενικά, οι περισσότερες MM αναπτύχθηκαν στο πορτοκάλι παρά στο μήλο. Στο μάρτυρα αναπτύχθηκαν περισσότερες MM από ότι στους ΕΠΝ (Πίνακας 2, 3). Μάλιστα σε μερικές επαναλήψεις με ΕΠΝ δεν βρήκαμε ούτε μια προνύμφη ή νύμφη MM. Σε μερικές μεταχειρίσεις με ΕΠΝ παρατηρήθηκαν νεκρές παρασιτισμένες προνύμφες, οι οποίες έδειχναν ένα χαρακτηριστικό μεταχρωματισμό, ενδεικτικό της προσβολής τους από ΕΠΝ. Πιο συχνά βρήκαμε παρασιτισμένες προνύμφες από ΕΠΝ στις μεταχειρίσεις με το *S. feltiae* (Πίνακας 3, 4).

Πίνακας 3. Αριθμός ανηλίκων της MM που βρέθηκαν σε πορτοκάλια και μήλα, σε διαφορετικές μεταχειρίσεις (σύνολο νυμφών που βρέθηκαν στο έδαφος και προνυμφών που βρέθηκαν μέσα σε φρούτα ζωντανές και νεκρές), μέσος όρος ± Σ.Φ.

	Μάρτυρας	<i>H. bacteriophora</i>	<i>S. caropcapsae</i>	<i>S. feltiae</i>
Μήλο	35.33 ± 7.53	3 ± 1.52	4.66 ± 2.40	7.3 ± 4.66
Πορτοκάλι	41.66 ± 4.05	6.66 ± 3.38	4.33 ± 2.6	18.33 ± 7.31

Πίνακας 4. Αναλυτικά αποτελέσματα από βιοδοκιμές σε καρπούς.

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΗ	ΦΡΟΥΤΟ	ΧΩΜΑ	ΝΕΚΡΕΣ	ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΕΝΕΣ	ΣΥΝΟΛΟ
			ΝΥΜΦΕΣ-ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ-ΦΡΟΥΤΟ	ΠΡΟΝΥΜΦΕΣ-ΦΡΟΥΤΟ	
Μάρτυρας	πορτοκάλι	35	0	0	35
Μάρτυρας	πορτοκάλι	36	13	0	49
Μάρτυρας	πορτοκάλι	12	29	0	41
Μάρτυρας	μήλο	31	0	0	31
Μάρτυρας	μήλο	36	14	0	50
Μάρτυρας	μήλο	25	0	0	25
<i>H. bacteriophora</i>	πορτοκάλι	6	1	4	11
<i>H. bacteriophora</i>	πορτοκάλι	3	6	0	9
<i>H. bacteriophora</i>	πορτοκάλι	0	0	0	0
<i>H. bacteriophora</i>	μήλο	4	0	0	4
<i>H. bacteriophora</i>	μήλο	3	2	0	5
<i>H. bacteriophora</i>	μήλο	0	0	0	0
<i>S. carposae</i>	πορτοκάλι	9	0	0	9
<i>S. carposae</i>	πορτοκάλι	4	0	0	4

<i>S. carpocasae</i>	πορτοκάλι	0	0	0	0
<i>S. carpocasae</i>	μήλο	7	0	1	8
<i>S. carpocasae</i>	μήλο	6	0	0	6
<i>S. carpocasae</i>	μήλο	0	0	0	0
<i>S. feltiae</i>	πορτοκάλι	15	0	1	16
<i>S. feltiae</i>	πορτοκάλι	6	0	1	7
<i>S. feltiae</i>	πορτοκάλι	32	0	0	32
<i>S. feltiae</i>	μήλο	15	0	1	16
<i>S. feltiae</i>	μήλο	4	0	2	6
<i>S. feltiae</i>	μήλο	0	0	0	0

ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στη παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή πραγματοποιήθηκε διερεύνηση της αποτελεσματικότητας εντομοπαθογόνων νηματωδών στον έλεγχο της μύγας της Μεσογείου. Σκοπός της μελέτης ήταν, πρώτον, να διερευνηθεί στο εργαστήριο η αποτελεσματικότητα των εμπορικά διαθέσιμων ΕΠΝ (*Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema Carpocapsae*, και *Steinernema feltiae*), κατά ώριμων προνυμφών και νυμφών της MM στην Ελλάδα, δεύτερον, να διερευνηθεί η υπολειμματική τους δράση σε υπόστρωμα εδάφους παρόμοιο με αυτό ενός σπρωρόνα, και τρίτον, να εξεταστεί κατά πόσο οι νηματώδεις μπορούν να εισχωρήσουν και να παρασιτήσουν σε προνύμφες της MM μέσα σε καρπούς που έχουν πέσει στο έδαφος, και αν αυτή η ικανότητά τους διαφέρει ανά είδος ΕΠΝ και καρπού (πορτοκάλι-μήλο).

Στο πρώτο πείραμα μας, αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα των *S. carpocapsae*, *S. feltiae* και *H. bacteriophora*, έναντι των προνυμφών και των νυμφών της MM. Η εφαρμογή έγινε σε συγκεντρώσεις των 100 IJ, 50 IJ και 25 IJ/προνύμφη ή νύμφη. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν, έδειξαν ότι υπήρχε σημαντική αποτελεσματικότητα στο στάδιο της προνύμφης και όχι τόσο στο στάδιο της νύμφης, από τα είδη *H. bacteriophora* και *S. carpocapsae*, κάτι στο οποίο συμφωνούν και οι Malan and Manrakhan (2009) για τα είδη *Heterorhabditis* spp., χωρίς να καταγράψουν και εκείνοι κάποια μόλυνση στις νύμφες. Επίσης, οι Rohde et al. (2012), έδειξαν ότι οι *H. bacteriophora* και *S. carpocapsae* προκάλεσαν, επίσης, υψηλή ή παρόμοια θνησιμότητα σε προνύμφες συμφωνώντας με το πείραμα μας. Ωστόσο, επειδή υπήρχε μεγάλη θνησιμότητα στο μάρτυρα στη δικιά μας μελέτη, δεν μπορούμε να εξαγάγουμε ακριβή συμπεράσματα ως προς την αποτελεσματικότητα ή να συγκρίνουμε τις δύο μελέτες. Πιθανώς, τα βρεγμένα διηθητικά χαρτιά (filter papers) να ευνοούν την ανάπτυξη μικροοργανισμών (βακτηρίων και μυκήτων), οι οποίοι είναι βλαβεροί για τις προνύμφες της MM (προσωπικές παρατηρήσεις), ή το τρυβλίο να μην προσφέρει ένα περιβάλλον κατάλληλο για την επιβίωση των προνυμφών της MM (π.χ., έλλειψη αερισμού).

Ακολούθως, διερευνήσαμε την αποτελεσματικότητα και υπολειμματική δράση των ΕΠΝ σε υπόστρωμα με σύσταση 7:3 (άμμου:τύρφη), του οποίου τα ποιοτικά χαρακτηριστικά (περιεκτικότητα σε οργανική ουσία και υγρασία) είναι παρόμοια με αυτά ενός σπρωρόνα. Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών έδειξαν ξεκάθαρα ότι το *S. feltiae* και σε λιγότερο βαθμό το *S. carpocapsae*, είχαν μεγαλύτερη υπολειμματική διάρκεια έως και δύο βδομάδων, με μία τάση, αν και όχι στατιστικώς σημαντική, ο *S. feltiae* να έχει κάποια αποτελεσματικότητα και έως τέσσερις βδομάδες. Έτσι, συγκριτικά με την ερευνητική μελέτη των Gazit et al. (2000), όπου αξιολογήθηκαν οι ΕΠΝ για τον έλεγχο

του εντόμου *C. capitata* σε υπόστρωμα χώματος και άμμου, στην παρούσα μελέτη βρέθηκαν παρόμοια αποτελέσματα καθώς τα είδη *Steinernema* spp., είχαν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και καλύτερη αντοχή από τα *Heterorhabditis* spp. Όμως, οι Gazit et al. (2000) αναφέρουν ότι αυτό μειώθηκε μετά από 10 ημέρες και χάθηκε τελείως μετά από 14 ημέρες.

Διαπίστωσαν ότι αυτό ίσως να μπορούσε να αποφευχθεί και να συνεχίσει να υπάρχει αποτελεσματικότητα, εάν υπήρχαν επανειλημμένες εφαρμογές. Η μεγαλύτερη υπολειμματική δράση των *Steinernema* spp. στα δικά μας πειράματα, πέραν των 14 ημερών, πιθανόν να οφείλεται στην προσθήκη ξενιστών σε τακτά χρονικά διαστήματα (πρώτα μετά από δύο βδομάδες και μετά από τέσσερις βδομάδες), που είχε ως αποτέλεσμα έως ένα βαθμό, στην ανακύκλωση (περαιτέρω αναπαραγωγή), και αύξηση του πληθυσμού των ανήλικων μολυσματικών ΕΠΝ στο υπόστρωμα. Η καλύτερη αποτελεσματικότητα του *S. feltiae* η οποία έχει αναφερθεί και σε άλλες μελέτες (Rohde et al. 2010, 2012, Karagoz et al., 2009), οφείλεται στο ότι είναι ένας νηματώδης ενέδρας και περιπολίας μαζί, οπότε μπορούσε να κινηθεί καλύτερα στο έδαφος και να σκοτώσει τις προνύμφες σε σύγκριση με τα υπόλοιπα είδη. Εντούτοις, και το *S. carposapsae* είχε αρκετά ικανοποιητική υπολειμματική δράση πιθανώς λόγω του μεγαλύτερου βαθμού ανακύκλωσης του. Επίσης σε άλλα είδη καρποφάγων διπτέρων ο *S. feltiae* έδειξε αυξημένη αποτελεσματικότητα και υπολειμματική δράση που έφθασε την μια εβδομάδα στους 25 °C (Keremekci et al., 2015; Yee and Lacey, 2003), ενώ στους 3-12 °C η υπολειμματική του δράση έφτασε έως και τις 5 εβδομάδες (Sirjani et al., 2009).

Στο τελευταίο μέρος του πειράματος μας, αξιολογήθηκε η ικανότητα των τριών ειδών των ΕΠΝ για μετακίνηση εντός των προσβεβλημένων καρπών που έχουν πέσει στο έδαφος, καθώς και ο ρόλος του κάθε είδους καρπού. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, οι περισσότερες προνύμφες της MM αναπτύχθηκαν στο πορτοκάλι παρά στο μήλο, διότι το μήλο δεν είναι τόσο ευνοϊκό για την ανάπτυξη της MM όσο άλλοι ξενιστές, όπως τα σύκα, τα ροδάκινα και τα πορτοκάλια (Papadopoulos and Katsoyannos, 2002). Στο μάρτυρα αναπτύχθηκαν περισσότερες προνύμφες της MM από ότι στις επεμβάσεις με τους νηματώδεις, και βρέθηκαν παρασιτισμένες προνύμφες από *S. feltiae* και *H. bacteriophora* (με πιο συχνή εμφάνιση στις μεταχειρίσεις του *S. feltiae*). Προνύμφες παρασιτισμένες από *S. carposapsae* μέσα σε καρπούς παρατηρήθηκαν σε μικρότερο βαθμό, αν και οι επαναλήψεις μας ήταν περιορισμένες σε αριθμό. Παρόλα αυτά, δεν είδαμε σημαντική διαφορά μεταξύ πορτοκαλιών και μήλων. Αντίστοιχα, οι Toledo et al., (2006) βρήκαν παρασιτισμένες προνύμφες του *Anastrepha ludens* Loew από *H. bacteriophora* εντός καρπών μάνγκο, αν και σε χαμηλό ποσοστό (10-15%), ενώ οι

Kamali et al., (2013) εντός καρπών αγγουριού βρήκαν παρασιτισμένες προνύμφες του *Dacus ciliatus* Loew από το *S. Carpocapsae* σε ποσοστό 4.5%, έναντι του *H. bacteriophora* με 3.3%. Επίσης, οι Sirjani et al. (2009), βρήκαν με δειγματοληψίες από το πεδίο ή σε δοκιμές που έκαναν, παρασιτισμένες προνύμφες του *Bactrocera oleae* Rossi εντός του ελαιοκάρπου με το *S. feltiae* να είναι το πιο αποτελεσματικό είδος σε σχέση με το *S. carpocapsae* (All strain), *S. riobrave*, *S. glaseri* (Steiner), *H. bacteriophora* Poinar, και *H. marelatus* Liu and Berry. Τόσο το *S. feltiae* όσο και το *H. bacteriophora* έχουν συμπεριφορά περιπολίας που πιθανώς, να τους επιτρέπει τη κίνηση μέσα στους καρπούς.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στις βιοδοκιμές των τρυβλίων για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας των *S. carpocapsae*, *S. feltiae* και *H. bacteriophora*, έναντι των προνυμφών και των νυμφών της MM, υπήρχε γενικά σημαντική αποτελεσματικότητα στο στάδιο της προνύμφης, αλλά όχι τόσο στο στάδιο της νύμφης.

Στις βιοδοκιμές των κλωβών για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας και της υπολειμματικής δράσης των τριών ειδών των ΕΠΝ, στον έλεγχο της προνύμφης και νύμφης της MM, το *S. feltiae* είχε αποτελεσματικότητα, αλλά και τη μεγαλύτερη υπολειμματική διάρκεια έως και τεσσάρων βδομάδων. Τέλος, για την αποτελεσματικότητα και τη διερεύνηση της ικανότητας μετακίνησης των τριών ειδών των ΕΠΝ εντός του καρπού, στον έλεγχο της προνύμφης και νύμφης της MM, βρέθηκαν παρασιτισμένες προνύμφες από *S. feltiae* και *H. bacteriophora* (με πιο συχνή εμφάνιση στις μεταχειρίσεις του *S. feltiae*). Άρα, το *S. feltiae* προκαλεί μεγάλη θνησιμότητα, έχει μεγάλη υπολειμματική διάρκεια και έχει την ιδιότητα να παρασιτεί προνύμφες εντός των καρπών. Ακόμα, αντέχει σε χαμηλές θερμοκρασίες, οπότε μπορεί να χρησιμοποιηθεί, και εκτός καλλιεργητικής περιόδου.

BIBΛIOΓΡΑΦΙΑ

Akhurst, R.J. (1980). Morphological and functional dimorphism in *Xenorhabdus* spp., bacteria symbiotically associated with the insect pathogenic nematodes *Neoaplectana* and *Heterorhabditis*. *Journal of General Microbiology*, 121(1), 303-309.

Ali Ahmed, D., Soltani, N. Kellouche, A., and Mazouzi, F. (2007). Effects of the soil texture and the burying depth of the larvae on some biological parameters of *Ceratitis capitata* (Diptera: Trypetidae). *African Journal of Agricultural Research*, 2(3), 105-111.

Alumai, A., and Grewal, P.S. (2004). Tank-mix compatibility of the entomopathogenic nematodes, *Heterorhabditis bacteriophora*, and *Steinernema carpocapsae*, with selected chemical pesticides used in turfgrass. *Biocontrol Science and Technology*, 14(7), 725–730.

Barbosa-Negrisoni, C.R.C., Garcia, M.S., Dolinski, C., Negrisoni, A.S., Bernardi, D., and Nava, D.E. (2009). Efficacy of indigenous entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae), from the Rio Grande, do Sul Brazil, against *Anastrepha fraterculus* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) in peach orchards. *Journal of Invertebrate Pathology*, 102(1), 6–13.

Bedding, R.A. (1981). Low cost in vitro mass production of *Neoaplectana* and *Heterorhabditis* species (Nematoda) for field control of insect pests. *Nematologica*, 27(1), 109–114.

Bedding, R.A., and Molyneux, A.S. (1982). Penetration of insect cuticle by infective juveniles of *Heterorhabditis* spp. (Heterorhabditidae: Nematoda). *Nematologica*, 28(1), 354-359.

Bedding, R.A. (1984). Large scale production, storage, and transport of the insect-parasitic nematode *Neoaplectana* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Annals of Applied Biology*, 104(1), 117–120.

Bednarek, A., and Gaugler, R. (1997). Compatibility of soil amendments with entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology*, 29(2), 220–227.

Blackburn, D., Wood, P.L., Burk, T.J., Crawford, B., Wright, S.M., & Adams, B.J. (2016). Evolution of virulence in *Photorhabdus* spp., entomopathogenic nematode symbionts. *Systematic and Applied Microbiology*, 39(3), 173–179.

Boff, M., Wieggers, G.L., Gerritsen, L.J.M., and Smits, P.H. (2000). Development of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis megidis* strain NLH-E 87.3 in *Galleria mellonella*. *Nematology*, 2(3), 303–308.

Buecher, E.J., and Popiel, I. (1989). Liquid culture of the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* with its bacterial symbiont. *Journal of Nematology*, 21(4), 500–504.

Burman, M., and Pye, A.E. (1980). *Neoaplectana carpocapsae*: Movements of nematode populations on a thermal gradient. *Experimental Parasitology*, 49(1), 258–265.

Byers, J.A., and Poinar, G.O. (1982). Location of insect hosts by the nematode *Neoaplectana carpocapsae*, in response to temperature. *Behaviour*, 79(1), 1–11.

CABI, (2019). *Ceratitis capitata* (Mediterranean fruit fly) (Online). Accessed March 2019 at <https://www.cabi.org/isc/datasheet/12367>.

Camargo, C.A., Odell, E., and Jiron, L.F. (1996). Interspecific interactions and host preference of *Anastrepha obliqua* and *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), two pests of mango in Central America. *Florida Entomology*, 79(2), 266–268.

Campbell, J., and Gaugler, R. (1993). Nictation behavior and its ecological implications in the host search strategies of entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae). *Behaviour*, 126(3-4), 155–169.

Campbell, J.F., and Gaugler, R. (1997). Interspecific variation in the entomopathogenic nematode foraging strategy: Dichotomy or variation along a continuum. *Fundamental Applied Nematology*, 20(4), 393–398.

Campbell, J.F., and Kaya, H.K. (1999). How and why parasitic nematode jumps. *Nature*, 397(1), 485–486.

Carey, J.R., Papadopoulos, N.T., Müller, H.G., Katsoyannos, B.I., Kouloussis, N.A.,
64

Wang, J.L., Wachter, K., Yu, W., and Liedo, P. (2008). Age structure changes and extraordinary lifespan in wild medfly populations. *Aging Cell*, 7(1), 426-437.

Cayol, J.P., Causse, R., Louis, C., and Barthes, J. (1994). Medfly *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Trypetidae) as a rot vector in laboratory conditions. *Journal of Applied Entomology*, 117(4), 338-343.

Cayol, J.P. (1996). Boxthorn, key early-season host of the Mediterranean fruit fly. *International Journal of Pest Management*, 42(4), 325-329.

Christenson, L.D., and Foote, R.H. (1960). Biology of fruit flies. *Annual Review of Entomology*, 5(1), 171-192.

Copeland, R., Wharton, R., Luke, Q., and Meyer, M. (2002). Indigenous Hosts of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Kenya. *Annals of the Entomological Society of America*, 95(6), 672-694.

Dekker, L., and Messing, R. (2005). "Introduction to Managing Fruit Flies in Hawaii" (On-line). Accessed September 2018 at http://www.extento.hawaii.edu/kbase/reports/fruit_pest.htm.

Diamantidis, A.D., Carey, J.R., and Papadopoulos, N.T. (2009). Life-history evolution of an invasive tephritid. *Journal of Applied Entomology*, 132(9-10), 695–705.

Dillman, A.R., Guillermin, M.L., Lee, J.H., Kim, B., Sternberg, P.W., and Hallem, E.A. (2012). Olfaction shapes host-parasite interactions in parasitic nematodes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(1), E2324–E2333.

Dillon, A.B., Ward, D., Downes, M.J., and Griffin, C.T. (2006). Suppression of the large pine weevil *Hylobius abietis* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) in pine stumps by entomopathogenic nematodes with different foraging strategies. *Biological Control*, 38(1), 217–226.

Dillon, A.B., Rolston, A.N., Meade, C.V., Downes, M.J., and Griffin, C.T. (2008). Establishment, persistence, and introgression of entomopathogenic nematodes in a forest ecosystem. *Ecological Applications*, 18(3), 735–747.

Dolinski, C., Del Valle, E.E., Burla, R.S., and Machado, I.R. (2007). Biological traits of two native Brazilian entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae: Rhabditida). *Nematologia Brasileira Piracicaba (SP) Brazil*, 31(3), 180–185.

Duyck, P.F., and Quilici, S. (2002). Survival and development of different life stages of three *Ceratitis* spp. (Diptera: Tephritidae) reared at five constant temperatures. *Bulletin of Entomological Research*, 92(6), 461-469.

Ebssa, L., and Koppenhofer, A.M. (2012). Entomopathogenic nematodes for the management of *Agrotis ipsilon*: Effect of instar, nematode species, and nematode production method. *Pest Management Science*, 68(6), 947–957.

Ehlers, R.U., Niemann, I., Hollmer, S., Strauch, O., Jende, D., Shanmugasundaram, M., Mehta, U.K., Easwaramoorthy, S.K., and Burnell, A. (2000). Mass production potential of the bacto-helminthic biocontrol complex *Heterorhabditis indica-Photorhabdus luminescens*. *Biocontrol Science and Technology*, 10(5), 607–616.

Elmowitz, D.E., Ebssa, L., and Koppenhofer, A.M. (2013). Overwintering behavior of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei* and *Heterorhabditis bacteriophora* and their white grub hosts. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 148(3), 246–258.

Epsky, N.D., Walter, D.E., and Capinera, J.L. (1988). Potential role of nematophagous microarthropods as biotic mortality factors of entomogenous nematodes (Rhabditida: Steinernematidae, Heterorhabditidae). *Journal of Economic Entomology*, 81(3), 821-25.

Fetoh, B.E.A., Gawad, A.A.A, Shalaby, F. F., and Elyme, M.F. (2011). Pathogenic and lethal effects of the entomopathogenic nematodes on the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* saunders, and the cucurbit fruit fly, *Dacus ciliatus* Loew, Diptera: tephritidae. *Egypt Journal Agriculture Research*, 89 (2).

Ferguson, C.S., Schroeder, P.C., and Shields, E.J. (1995). Vertical distribution, persistence, and activity of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Heterorhabditidae and Steinernematidae) in alfalfa snout beetle (Coleoptera: Curculionidae) infested fields. *Environmental Entomology*, 24(1), 149–158.

Fife, J.P., Ozkan, H.E., Derksen, R.C., Grewal, P.S., and Krause, C.R. (2005). Viability of a biological pest control agent through hydraulic nozzles. *Transactions of the*
66

ASAE, 48(1), 45–54.

Gasparich, G.E., Silva, J.G., Han, H.Y., McPheron, B.A., Steck, G.J., and Sheppard W.S. (1997). Population genetic structure of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) and implications for worldwide colonization patterns. *Annals of the Entomological Society of America*, 90(6), 790-797.

Gaugler, R. (1981). Biological control potential of neoaplectanid nematodes. *Journal of Nematology*, 13(3), 241-249.

Gaugler, R. (1988). Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insect pests with entomopathogenic nematodes. *Agriculture Ecosystems Environment*, 24(1-3), 351-360.

Gaugler, R., and Georgis, R. (1991). Culture method and efficacy of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae and Heterorhabditidae). *Biological Control*, 1(4), 269–274.

Gaugler, R., Lewis, E., and Stuart, R.J. (1997). Ecology in the service of biological control: The case of entomopathogenic nematodes. *Oecologia*, 109(4), 483–489.

Gazit, Y., Rossler, Y., and Glazer, I. (2000). Evaluation of entomopathogenic nematodes for the Control of Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology*, 10(2), 157–164.

Gazit, Y., Gavriel, S., Akiva, R., and Timar, D. (2013). Toxicity of baited spinosad formulations to *Ceratitis capitata*: From the laboratory to the application. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 147(2), 120–125.

Gazit, Y. (2015). The Mediterranean fruit fly – Know your enemy (Online). Accessed September 2018 at https://www.researchgate.net/publication/273295914_The_Mediterranean_fruit_fly_-_Know_your_enemy.

Glazer, I., Liran, N., and Steinberger, Y. (1991). A survey of entomopathogenic nematodes (Rhabditida) in the Negev desert. *Phytoparasitica*, 19(4), 291–300.

Grewal, P.S., Selvan, S., and Gaugler, R. (1994). Thermal adaptation of entomopathogenic nematodes: Niche breadth for infection, establishment, and reproduction. *Journal of Thermal Biology*, 19(4), 245–253.

Grewal, P.S., Converse, V., and Georgis, R. (1999). Influence of production and bioassay methods on infectivity of two ambush foragers (Nematoda: Steinernematidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 73(1), 40–44.

Griffin, C.T. (2015). “Behaviour and population dynamics of entomopathogenic nematodes following application”. *Sustainability in plant and crop protection*. Springer, Switzerland, 3, 57-95 pp.

Han, R., Cao, L., and Liu, X. (1992). Relationship between medium composition, inoculum size, temperature and culture time in the yields of *Steinernema* and *Heterorhabditis* nematodes. *Fundamental and Applied Nematology*, 15(3), 223–229.

Herz, A., Köppler, K., Vogt, H., Elias, E., Katz, P., and Peters, A., (2006). Biological control of the cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera, Tephritidae) by use of entomopathogenic nematodes: first experiences towards practical implementation. In: Boos, Markus (Ed.) *ecofruit - 12th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit-Growing: Proceedings to the Conference from 31st January to 2nd February 2006 at Weinsberg/Germany*, Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO), Traubenplatz 5, D-74189 Weinsberg, pp. 67-72.

Heve, W.K., El-Borai, F.E., Carrillo, D., and Duncan, L.W. (2016). Biological control potential of entomopathogenic nematodes for management of Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa* Loew (Tephritidae). *Pest Management Science*, 73(6), 1220–1228.

Juan-Blasco, M., Urbaneja, A., San Andrés, V., Castañera, P., and Sabater-Muñoz, B. (2013). Improving the sterile sperm identification method for its implementation in the area-wide Sterile Insect Technique Program against *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Spain. *Journal of Economic Entomology*, 106(6), 2541–2547.

Kamali, S., Karimi, J., Hosseini, M., Campos-Herrera, R., and Duncan, L.W. (2013). Biocontrol potential of the entomopathogenic nematodes *Heterorhabditis bacteriophora*

and *Steinernema carpocapsaeon* cucurbit fly, *Dacus ciliatus* (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology*, 23(11), 1307–1323.

Kaplan, F., Alborn, H.T., von Reuss, S.H., Ajredini, R., Ali, J.G., Akyazi, F., et al. (2012). Interspecific nematode signals regulate dispersal behavior. *Plos One*, 7(6), e38735.

Kapongo, J.P, Kevan, P.G., and Giliomee, J.H. (2007). Control of Mediterranean Fruit Fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) with the Parasitoid *Muscidifurax raptor* (Hymenoptera: Pteromalidae) in Vineyards. *HortScience*, 42(6), 1400-1404.

Karagoz, M., Gulcu, B., Hazir, C., Kaya, H.K., and Hazir, S. (2009). Biological control potential of Turkish entomopathogenic nematodes against the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. *Phytoparasitica*, 37(2), 153–159.

Kaya, H.K., and Gaugler, R. (1993). Entomopathogenic nematodes. *Annual Review Entomology*, 38(1), 181-206.

Kepenekci, I., Hazir, S., and Özdem, A. (2015). Evaluation of native entomopathogenic nematodes for the control of the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera: Tephritidae) larvae in soil. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39(1), 74-79.

Koppenhofer, A.M., and Fuzy, E.M. (2006). Effect of soil type on infectivity and persistence of the entomopathogenic nematodes *Steinernema scarabaei*, *Steinernema glaseri*, *Heterorhabditis zealandica*, and *Heterorhabditis bacteriophora*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 92(1), 11–22.

Koppenhofer, A.M., and Fuzy, E.M. (2008). Early timing and new combinations to increase the efficacy of neonicotinoid–entomopathogenic nematode (Rhabditida: Heterorhabditidae) combinations against white grubs (Coleoptera: Scarabaeidae). *Pest Management Science*, 64(7), 725–735.

Langford, E.A., Nielsen, U.N., Johnson, S.N., and Riegler, M. (2014). Susceptibility of Queensland fruit fly, *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae), to entomopathogenic nematodes. *Biological Control*, 69(1), 34–39.

Lindegren, J.E., Yamashita, T.T., and Barnett, W.W. (1981). Parasitic nematodes may control carpenterworms in fig trees. *California Agriculture*, 35(1-2), 25-26.

Lindegren, J.E., Valero, K.A., and Mackey, B.E. (1993). Simple in vivo production and storage methods for *Steinernema carpocapsae* infective juveniles. *Journal of Nematology*, 25(2), 193–197.

Lunau, S., Stoessel, S., Schmidt-Peisker, A.J., and Ehlers, R.U. (1993). Establishment of monoxenic inocula for scaling up in vitro cultures of the entomopathogenic nematodes *Steinernema* spp. and *Heterorhabditis* spp. *Nematologica*, 39(1), 385–399.

Malacrida A.R., Gomulski L.M., Bonizzoni M., Bertin S., Gasperi G., and Guglielmino C.R. (2006). Globalization and fruit fly invasion and expansion: the medfly paradigm. *Genetica*, 131(1), 1-9.

Malan, A.P., and Manrakhan, A. (2009). Susceptibility of the Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) and the Natal fruit fly (*Ceratitis rosa*) to entomopathogenic nematodes. *Journal of Invertebrate Pathology*, 100(1), 47–49.

Martinez-Ferrer, M.T., Campos, J.M., and Fibla, J.M. (2011). Field efficacy of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) mass trapping technique on clementine groves in Spain. *Journal of Applied Entomology*, 136(3), 181–190.

Mau, R., and Kessing, J. (1992). *Ceratitis capitata* (Weidmann) (On-line). Accessed September, 2018 at <http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/Type/ceratiti.htm>.

Mavrikakis, P.G., Economopoulos, A.P. and Carey, J.R. (2000). Continuous winter reproduction and growth of the Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) in Heraklion, Crete, southern Greece. *Environmental Entomology*, 29(6), 1180-1187.

McGraw, B.A., Vittum, P.J., Cowles, R.S., and Koppenhofer, A.M. (2010). Field evaluation of entomopathogenic nematodes for the biological control of the annual bluegrass weevil, *Listronotus maculicollis* (Coleoptera: Curculionidae), in golf course turfgrass. *Biocontrol Science and Technology*, 20(2), 149–163.

McMullen, J.G., and Stock, S.P. (2014). In vivo and In vitro rearing of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae). *Journal of*

Visualized Experiments, (91).

Menti, H., Wright, D.J., and Perry, R.N. (2000). Infectivity of populations of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis megidis* in relation to temperature, age and lipid content. *Nematology* 2(5), 515–521.

Miller, L.A., and Bedding, R.A. (1982). Field testing of the insect parasitic nematode, *Neoaplectana bibionis* (Nematoda: Steinernematidae) against currant borer moth, *Synanthedon tipuliformis* (Lepidoptera: Sesiidae) in blackcurrants. *Entomophaga*, 27(1), 109-14.

Minas, R. dos S., Souza, R.M., Dolinski, C., Carvalho, R. da S., and Burla, R. da S. (2016). Potential of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae) to control Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) soil stages. *Nematoda*, 3, e02016.

Montoya, P., Cancino, J., and Ruiz, L. (2012). Packing of fruit fly parasitoids for augmentative releases. *Insects*, 3(3), 889–899.

Murfin, K.E., Lee, M.M., Klassen, J.L., McDonald, B.R., Larget, B., Forst, S., and Goodrich-Blair, H. (2015). *Xenorhabdus bovienii* strain diversity impacts coevolution and symbiotic maintenance with *Steinernema spp.* *Nematode Hosts*. *MBio*, 6(3), e00076-15.

Μουρίκης, Π.Α. (1965). Στοιχεία επί της αναπτύξεως των ατελών σταδίων της μύγας της Μεσογείου (*Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera : Trypetidae)) επί διαφόρων καρπών-ξενιστών και επί τεχνητού θρεπτικού υλικού υπό εργαστηριακές συνθήκες. *Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο*, 7, 64-11.

Papadopoulos, T.N., Carey, R.J., Katsoyannos, I.B., and Kouloussis, A.N. (1996). Overwintering of the Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) in Northern Greece. *Annals of the Entomological Society of America*, 89(4), 526–534.

Papadopoulos, T.N., Katsoyannos, I.B., Kouloussis, A.N., Hedrichs, J., Carey, R.J., and Heath, R.R. (2001). Early detection and population monitoring of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in a mixed – Fruit Orchard in Northern Greece. *Journal of Economy Entomology*, 94(4), 971-978.

Papadopoulos, N.T., and Katsoyannos, B.I. (2003). Field parasitism of *Ceratitidis*

capitata larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. *BioControl* 48(1), 191-195.

Papadopoulos, N.T., and Katsoyannos, B.I. (2002). Development of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in three apple varieties in the laboratory. Proceedings of 6th International Fruit Fly Symposium of economic importance, Stellenbosch South Africa 6 – 10 May, p.p. 19 – 22.

Παπαδόπουλος, Ν., Σταυρίδης, Δ., και Ζάρπας, Κ. (2010). Η μύγα της Μεσογείου στην Ελλάδα: Υφιστάμενη κατάσταση και σχεδιασμός της αντιμετώπισής της. Από πρακτικά 5ης συνάντησης φυτοποροστασίας, σελ. 23- 30.

Patel, M.N., Perry, R.N., and Wright, D.J. (1997). Desiccation survival and water contents of entomopathogenic nematodes, *Steinernema* spp. (Rhabditida: Steinernematidae). *International Journal for Parasitology*, 27(1), 61–70.

Permkam S., and Hancock D.L. (1994). Australian *Ceratitinae* (Diptera: Tephritidae). *Invertebrate Systematics*, 8(6), 1325.

Poinar, G.O. Jr. (1989). Non-insect hosts for the entomogenous rhabditoid nematodes *Neoaplectana* (Steinernematidae) and *Heterorhabditis* (Heterorhabditidae). *Revue Nematology*, 12(4), 423-428.

Quesada-Moraga, E., Ruiz-Garcia A., and Santiago-Ávarez C. (2006). Laboratory evaluation of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* against puparia and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 99(6), 1955.

Rohde, C., Moino Jr, A., Silva, M.A.T. da, Carvalho, F.D., and Ferreira, C.S. (2010). Influence of soil temperature and moisture on the infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Heterorhabditidae, Steinernematidae) against larvae of *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). *Neotropical Entomology*, 39(4), 608–611.

Rohde, C., Moino Jr, A., Carvalho, F.D., and Silva, M.A.T. Da. (2012). Selection of entomopathogenic nematodes for the control of the fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Revista Brasileira de Ciências Agrárias Recife*, 7(1), 797-802.

Ros, J.P., Gomila, J., Reurer, M., Pons, P., and Castillo, E. (2002). The use of mass-trapping against Medfly (*Ceratitidis capitata* (Wied.)) in a sustainable agriculture system on Minorca Island, Spain. Proceedings of the 6th International Symposium on Fruit Fly of economic importance, Stellenbosch, South Africa, 6-10 May, pp.361-364.

San-Blas, E., Gowen, S.R., and Pembroke, B. (2008). *Steinernema feltiae*: Ammonia triggers the emergence of their infective juveniles. *Experimental Parasitology*, 119(1), 180–185.

Shapiro, D.I., and Glazer, I. (1996). Comparison of entomopathogenic nematode dispersal from infected hosts versus aqueous suspension. *Environmental Entomology*, 25(6), 1455–1461.

Shapiro, D.I., Tylka, G.L., and Lewis, L.C. (1996b). Effects of fertilizers on virulence of *Steinernema carpocapsae*. *Applied Soil Ecology*, 3(1), 27–34.

Shapiro, D.I., and Lewis, E.E. (1999). Comparison of entomopathogenic nematode infectivity from infected hosts versus aqueous suspension. *Environmental Entomology*, 28(5), 907–911.

Shapiro, D.I., Obrycki, J.J., Lewis, L.C., and Abbas, M. (1999b). The effects of fertilizers on black cutworm, *Agrotis ipsilon*, (Lepidoptera: Noctuidae) suppression by *Steinernema carpocapsae*. *Journal of Nematology* 31(4s), 690–693.

Shapiro-Ilan, D.I., Lewis, E.E., Behle, R.W., and McGuire, M.R. (2001). Formulation of entomopathogenic nematode-infected cadavers. *Journal of Invertebrate Pathology*, 78(1), 17–23.

Shapiro-Ilan, D.I., and Gaugler, R. (2002). Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 28(3), 137–146.

Shapiro-Ilan, D.I., Gaugler, R., Tedders, W.L., Brown, I., and Lewis, E.E. (2002a). Optimization of inoculation for in vivo production of entomopathogenic nematodes. *Journal of Nematology*, 34(4), 343–350.

Shapiro-Ilan, D.I., Gouge, D.H., Piggott, S.J., and Patterson Fife, J. (2006a). Application technology and environmental considerations for use of entomopathogenic

nematodes in biological control. *Biological Control*, 38(1), 124–133.

Shapiro-Ilan, D.I., Cottrell, T.E., and Wood, B.W. (2011b). Effects of combining microbial and chemical insecticides on mortality of the pecan weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 104(1), 14–20.

Shapiro-Ilan, D.I., Han, R., and Dolinski, C. (2012). Entomopathogenic nematode production and application technology. *The Journal of Nematology*, 44(2), 206-217.

Sirjani, F.O., Lewis, E.E., and Kaya, H.K. (2009). Evaluation of entomopathogenic nematodes against the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Biological Control*, 48(1), 274-280.

Smits, P.H. (1996). Post-application persistence of entomopathogenic nematodes. *Biocontrol Science and Technology*, 6(3), 379–388.

Sokal, R.R., and F.J. Rohlf. (1995). *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*. 3rd edition. W.H. Freeman, New York.

Stark, J.E.P., and Lacey, L.A. (1999). Susceptibility of western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74(1), 206-208.

Strauch, O., and Ehlers, R.U. (2000). Influence of the aeration rate on the yields of the biocontrol nematode *Heterorhabditis megidis* in monoxenic liquid culture. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54(1) 9–13.

Stuart, R.J., Barbercheck, M.E., and Grewal, P.S. (2015). “Entomopathogenic nematodes in the soil environment: Distributions, interactions and the influence of biotic and abiotic factors”. *Sustainability in plant and crop protection*. Springer, Switzerland, 4, 96-137 pp.

Surrey, M.R., and Davies, R.J. (1996). Pilot-Scale Liquid Culture and Harvesting of an entomopathogenic nematode, *Heterorhabditis bacteriophora*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 67(1), 92–99.

Susurluk, A., and Ehlers, R.U. (2007). Field persistence of the entomopathogenic nematode *Heterorhabditis bacteriophora* in different crops. *BioControl*, 53(4), 627–641.

Thomas M.C., Heppner J.B., Woodruff R.E., Weems H. V., Steck G.J., and Fasulo T.R. (2001). Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Insecta: Diptera: Tephritidae). IFAS Extension, University of Florida, EENY-214.

Timper, P., Kaya, H.K., and Gaugler, R. (1988). Dispersal of the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* (Rhabditida: Steinernematidae) by infected adult insects. *Environmental Entomology*, 17(3), 546–550.

Toledo, J., Ibarra, J.E., Liedo, P., Gómez, A., Rasgado, M.A., and Williams, T. (2005). Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. *Biocontrol Science and Technology*, 15(6), 627–634.

Toledo, J., Rasgado, M.A., Ibarra, J.E., Gomez, A., Liedo, P., and Williams, T. (2006). Infection of *Anastrepha ludens* following soil applications of *Heterorhabditis bacteriophora* in a mango orchard. *The Authors Entomologia Experimentalis et Applicata*, 119(1), 155–162.

Torr, P., Heritage, S., and Wilson, M.J. (2004). Vibrations as a novel signal for host location by parasitic nematodes. *International Journal for Parasitology*, 34(9), 997–999.

Torrini, G., Mazza, G., Benvenuti, C., and Roversi, P.F. (2017). Susceptibility of olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) pupae to entomopathogenic nematodes. *Journal of Plant Protection Research*, 57(3), 318–320.

Τζανακάκης, Μ.Ε., και Κατσόγιαννος, Β.Ι. (1998). Έντομα Καρποφόρων Δέντρων Και Αμπέλου. Αθήνα, Εκδόσεις ΑγροΤύπος, 359 σελ..

Wang, J.X., and Bedding, R.A. (1998). Population dynamics of *Heterorhabditis bacteriophora* and *Steinernema carpocapsae* in in vitro solid culture. *Fundamentals and Applied Nematology*, 21(2), 165–171.

Wharton, R.A., and Marsh, P.M. (1978). New world Opiniinae (Hymenoptera: Braconidae) parasitic on Tephritidae (Diptera). *Journal of the Washington Academy of Sciences*, 68(4), 147–167.

White, G.F. (1927). A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. *Science*, 66(1709), 302–303.

Yee, W.L., and Lacey, L.A. (2003). Stage-specific mortality of *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) exposed to three species of *Steinernema* nematodes. *Biological Control*, 27(1), 349–356.

Yoo, S.K., Brown, I., and Gaugler, R. (2000). Liquid media development for *Heterorhabditis bacteriophora*: Lipid source and concentration. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 54(6), 759–763.