

Εντομοπαθογόνοι Μύκητες για την  
Αντιμετώπιση Εντόμων – Εχθρών των  
Αποθηκευμένων Προϊόντων



**ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ  
ΙΔΡΥΜΑ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ**

**ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΟΙ ΜΥΚΗΤΕΣ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ  
ΕΝΤΟΜΩΝ-ΕΧΘΡΩΝ  
ΤΩΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ**

**Επιβλέπων καθηγητής:  
Βλαχόπουλος Ευάγγελος  
Καλαμάτα 2010**

"Δε μπορείς να ανακαλύψεις νέους ωκεανούς

αν δεν έχεις το κουράγιο

να χάσεις την ακτή από τα μάτια σου"

**Πλάτωνας**

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Γεωργικής Εντομολογίας του Μπενάκειου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου και έχει ως αντικείμενο την επίδραση των εντομοπαθογόνων μυκήτων *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* και *Metarhizium anisopliae* στο έντομο *Sitophilus oryzae* (Coleoptera:Curculionidae) εχθρό πολλών αποθηκευμένων προϊόντων.

Σκοπός αυτής της μελέτης είναι να δώσει λύσεις στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων αποφεύγοντας την χρήση φαρμάκων και χημικών.

Για την επιτυχή πραγματοποίηση αυτής της μελέτης θα ήθελα να ευχαριστήσω όσους συνέβαλαν και με βοήθησαν με οποιοδήποτε τρόπο, και συγκεκριμένα:

Τον εισηγητή της πτυχιακής εργασίας Δρ. Βλαχόπουλο Ευάγγελο Καθηγητή του τμήματος Βιολογικών Θερμοκηπιακών Καλλιέργειών και Ανθοκομίας του Ανώτατου Τεχνολογικού Ιδρύματος Καλαμάτας, για την ανάθεση και σωστή καθοδήγηση της μελέτης μου.

Τον Δρ. Κοντοδήμα Χ. Δημήτρη, Ειδικό Τεχνικό Επιστήμονα του Εργαστηρίου Μικροβιολογίας και Παθολογίας Εντόμων, για το αμέριστο ενδιαφέρον, την καθοδήγηση και επίβλεψη της πτυχιακής μου μελέτης.

Επίσης θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Δρ. Καβαλλιεράτο για την παροχή βιβλιογραφίας και πληθυσμού του εντόμου *Sitophilus oryzae* που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμά μου. Τον συνάδελφό μου Ευάγγελο Μπερή για την πολύτιμη βοήθειά του καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας.

Τέλος ευχαριστώ την οικογένεια μου που βρίσκεται πάντα στο πλευρό μου και στηρίζει κάθε μου προσπάθεια.



## ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

	Σελίδα
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	6
ABSTRACT.....	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1.1. Έντομα αποθηκευμένων προϊόντων.....	9
1.2. Κολεόπτερα αποθηκευμένων προϊόντων στην Ελλάδα.....	9
1.3. Παράγοντες προσβολής.....	11
1.4. Αντιμετώπιση εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων.....	13
1.4.1. Προληπτικά μέτρα κατά την αποθήκευση.....	13
1.4.2. Χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης.....	14
1.4.3. Μηχανικές μέθοδοι αντιμετώπισης.....	15
1.4.4. Φυσικές μέθοδοι αντιμετώπισης.....	15
1.4.5. Βιοτεχνικές μέθοδοι αντιμετώπισης.....	16
1.4.6 Βιολογικές μέθοδοι αντιμετώπισης.....	17
1.5. Το <i>Sitophilus oryzae</i> .....	18
1.5.1 Γενικά .....	18
1.5.2. Συμπτώματα και ζημιές.....	19
1.5.3. Περιγραφή.....	19
1.5.4. Βιολογικός κύκλος.....	21
1.5.5. Οικολογία – Φυσικοί εχθροί .....	21
1.6. Εντομοπαθογόνοι Μύκητες.....	23
1.6.1. Γενικά.....	23
1.6.2. Ο μύκητας <i>Beauveria bassiana</i> .....	25
1.6.3. Ο μύκητας <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> .....	27
1.6.4. Ο μύκητας <i>Metarhizium anisopliae</i> .....	28

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	30
2.1. Τεχνητή εκτροφή του <i>Sitophilus oryzae</i> .....	30
2.2. Προέλευση και καλλιέργεια αποιονώσεων εντομοπαθογόνων μυκήτων.....	31
2.3 Παρασκευή των διαλυμάτων.....	34
2.4 Βιοδοκιμές επί του <i>Sitophilus oryzae</i> .....	36
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	38
4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	48
5. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	52
Το Οικοσύστημα των Αποθηκών	
Ολοκληρωμένη Προστασία	
Αποθηκευμένων Γεωργικών Προϊόντων	
Βασικά Χαρακτηριστικά των	
Σημαντικότερων Παθογόνων	

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η αποτελεσματικότητα των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B. bassiana*, *M. anisopliae* και *P. fumosoroseus* για την αντιμετώπιση του εχθρού των αποθηκευμένων προϊόντων *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Δοκιμάστηκαν διαλύματα πυκνότητας  $1,77 \times 10^7$  κονίδια/ml έως  $2,11 \times 10^8$  κονίδια/ml σε ακμαία *S. oryzae* με τρεις τρόπους [ακμαία τα οποία ψεκάστηκαν με διαλύματα κονιδίων χωρίς χορήγηση τροφής, ακμαία τα οποία ψεκάστηκαν με διαλύματα κονιδίων και χορήγηση τροφής (σιτάρι), και ακμαία τα οποία δεν ψεκάστηκαν, αλλά σε αυτά χορηγήθηκε τροφή (σιτάρι), η οποία είχε ψεκαστεί με τα διαλύματα κονιδίων]. Διαπιστώθηκε η επιτυχής δράση των απομονώσεων που δοκιμάστηκαν επί των ακμαίων του *Sitophilus oryzae*. Η θνησιμότητα ήταν μεγαλύτερη στην απουσία τροφής. Με την προσθήκη τροφής η θνησιμότητα μειώνεται αλλά παραμένει σε υψηλά επίπεδα. Τα ανέκαστα έντομα πάνω σε ψεκασμένο σιτάρι παρουσίασαν τα μικρότερα ποσοστά θνησιμότητας. Από τα αποτελέσματα που αποκτήθηκαν από την παρούσα μελέτη διαπιστώνουμε ότι οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *B. bassiana*, *M. anisopliae* και *P. fumosoroseus* μπορούν να αποτελέσουν παράγοντες αντιμετώπισης του *Sitophilus oryzae*. Περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη ώστε να καθοριστούν οι ιδανικές πυκνότητες κονιδίων και η κατάλληλη μορφή σκευάσματος.

## ABSTRACT

In this study, the effectiveness of entomopathogenic fungi *B. bassiana*, *M. anisopliae* and *P. fumosoroseus* to tackle the enemy of stored product *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). Tested solutions of density  $1,77 \times 10^7$  nits / ml to  $2,11 \times 10^8$  nits / ml in thriving *S. oryzae* in three ways [flourishing which were sprayed with solutions nits without feeding, thriving, which were sprayed with solutions of nits and feeding (wheat), and flourishing not sprayed, but they received food (wheat), which was sprayed the solutions nits]. It showed a successful effect of isolates tested on the flourishing of *Sitophilus oryzae*. Mortality was greater in the absence of food. By adding food, mortality is declining but remains high. The not sprayed insects on sprayed wheat showed smaller rates of mortality. From the results obtained from this study found that entomopathogenic fungi *B. bassiana*, *M. anisopliae* and *P. fumosoroseus* may be players tackle *Sitophilus oryzae*. Further research is needed to determine the optimal concentrations nits and proper form preparation.

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Με την αύξηση του πληθυσμού της γης παρουσιάζεται στο προσκήνιο ολοένα και πιο έντονο το πρόβλημα της διατροφής του ανθρώπου, με την έρευνα να στέφεται πλέον πέρα από την προσπάθεια για αύξηση και βελτίωση των γεωργικών προϊόντων, αλλά και στην διακίνηση και αποθήκευσή τους, με όσο το δυνατόν λιγότερες απώλειες και ζημιές από έντομα και άλλες παθήσεις ή ασθένειες. Το πρόβλημα όμως ξεκίνησε από την ανάγκη του ανθρώπου να αποθηκεύσει περισσότερη τροφή από αυτή που χρειάζεται για να τραφεί προκειμένου να την αποθηκεύσει για το χειμώνα ή για να την ανταλλάξει με άλλα τρόφιμα ή αγαθά. Και τότε η παρουσία των εντόμων και η προσβολή τους στα αποθηκευμένα προϊόντα ήταν πολύ έντονη όπως και όταν άνοιξαν τα απέραντα λιβάδια της Βορείου Αμερικής και αναπτύχθηκε το μεγάλο εξαγωγικό εμπόριο των σιτηρών.

Μάλιστα πριν από κάποιες δεκαετίες έλεγαν ότι ακόμα και στα προηγμένα κράτη της Αγγλίας οι προσβολές από έντομα στα σιτηρά, τον καπνό και το κακάο, θεωρούνταν αναπόφευκτες και κατά κάποιο τρόπο φυσική συνέπεια καθώς υπήρχε η δοξασία ότι τα προϊόντα «γεννούσαν» την προσβολή και το φαινόμενο καλυπτόταν νομικώς ως «εγγενής ανωμαλία» των προϊόντων.

Σύμφωνα με υπολογισμούς του F.A.O. (Οργανισμός Τροφίμων και Γεωργίας των Ηνωμένων Εθνών), οι απώλειες σε έτοιμο προϊόν κατά την αποθήκευση ανέρχονται στο 17% περίπου της παγκόσμιας παραγωγής (10% από έντομα και 7% από ακάρεα, τρωκτικά και ασθένειες). Οι ποσότητες που καταναλίσκονται από τα έντομα στις αποθήκες και τις καλλιέργειες μόνο των σιτηρών θα μπορούσαν να αποτρέψουν λιμούς που σχεδόν μόνιμα απειλούν τις περισσότερες χώρες της Αφρικής και της Ασίας. Είναι γνωστό ότι τα τέλεια των Κολεοπτέρων και οι προνύμφες των Λεπιδοπτέρων καταναλώνουν σε μια εβδομάδα προϊόν ανώτερο ή πολλαπλάσιο του βάρους τους. Για παράδειγμα, μια προνύμφη *Ephestia* sp. κατατρώγει φυτόρα 50 περίπου σπόρων μέχρι την νύμφωση της

## **1.1. Έντομα αποθηκευμένων προϊόντων**

“Έντομο αποθηκών” θεωρείται κάθε είδος εντόμου που προσβάλλει και ζημιώνει αμέσως ένα προϊόν και μπορεί να αναπτυχθεί και να αναπαραχθεί σε μία αποθήκη ή χώρο που φιλοξενεί για αρκετό χρονικό διάστημα γεωργικά προϊόντα ή τρόφιμα. Υπάρχουν έντομα τα οποία δεν τρέφονται από αυτά αλλά από διάφορους μύκητες, τα αρπακτικά και τα παράσιτα των εντόμων και άλλων αρthropόδων στους ίδιους χώρους. Αυτά τα έντομα θεωρούνται χρήσιμοι δείκτες για προσβεβλημένα προϊόντα ή προϊόντα που βρίσκονται σε κακή κατάσταση καθώς η παρουσία τους και μόνο υποβιβάζει την ποιότητα των τροφίμων.

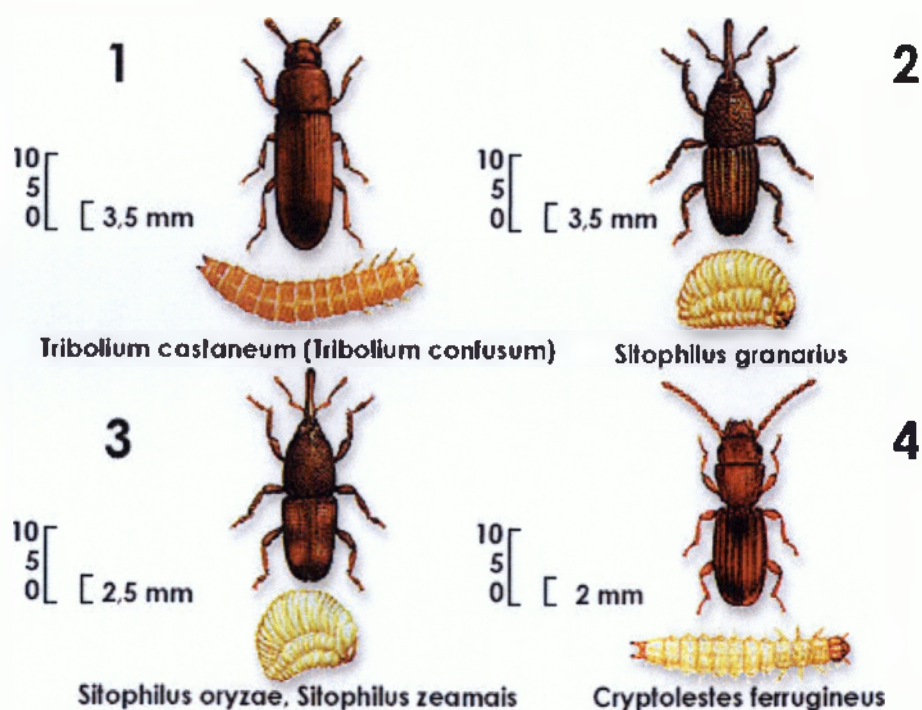
Κοινό χαρακτηριστικό των περισσότερων εντόμων που σχετίζονται με τα αποθηκευμένα γεωργικά προϊόντα και τρόφιμα είναι η ευρεία γεωγραφική τους εξάπλωση. Είναι άλλωστε γεγονός ότι ακόμα και τα έντομα τα οποία έχουν χάσει την ικανότητά τους να πετούν είναι μεγάλοι ταξιδιώτες καθώς μπορούν να βρεθούν χιλιόμετρα μακριά και να ταξιδέψουν σε όλον τον κόσμο με την βοήθεια του ανθρώπου. Τον ρόλο του μεταφορέα αναλαμβάνει το διεθνές εμπόριο, δηλαδή τα αμπάρια των πλοίων, τα containers, τα βαγόνια των τραινών, τα αεροπλάνα κ.τ.λ. και μάλιστα τις περισσότερες φορές μεταφέρονται αφού ήδη έχουν προσβάλει τα προϊόντα πριν ακόμα και από την φόρτωση. Άλλωστε μέσα στους μεγάλους σωρούς οι συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας δεν αλλάζουν γρήγορα με αποτέλεσμα τα έντομα να απολαμβάνουν για μεγάλο χρονικό διάστημα το μικροκλίμα που τα ευνοεί ακόμα και σε καινούριο περιβάλλον στον τόπο του προορισμού τους. (Μπουχέλος, 1996).

## **1.2. Κολεόπτερα αποθηκευμένων προϊόντων στην Ελλάδα**

Στην Ελλάδα, σε σχετική έρευνα που πραγματοποιήθηκε προκειμένου να αναγνωριστούν τα είδη των κολεοπτέρων που προσβάλλουν τα αποθηκευμένα δημητριακά και τα προϊόντα τους, ελήφθησαν 4419 δείγματα, βάρους 200gr. Το καθένα, από τις περισσότερες περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας και την Κρήτη. Τα δείγματα ήταν αποθηκευμένο σιτάρι, κριθάρι, αραβόσιτος, άλευρα, πίτυρα και άχυρα. Βρέθηκαν συνολικά 72 είδη κολεοπτέρων, τα 22 από τα οποία αποτελούν νέες καταγραφές για τη χώρα. Τα 25 είδη προσβάλλουν απευθείας τα αποθηκευμένα προϊόντα, ενώ τα υπόλοιπα είναι κυρίως μυκητοφάγα ή αρπακτικά. Επιπλέον, βρέθηκαν



και 20 είδη κολεοπτέρων που δεν θεωρούνται αποθηκών και είναι κυρίως ξυλοφάγων, σαπροφάγα ή προσβάλλουν το προϊόν μόνο στον αγρό. Το *Sitophilus oryzae* βρέθηκε να είναι το πολυπληθέστερο είδος σε αποθήκες σιταριού, κριθαριού και αραβοσίτου, με μεγάλη διαφορά από τα υπόλοιπα είδη. Στα προϊόντα αυτά σημαντική είναι και η παρουσία των *S. granarius*, *Rhyzopertha dominica*, *Cryptolestes ferrugineus* και *Oryzaephilus surinamensis*. Αντίθετα, στα άλευρα και στα πίτυρα τα πολυπληθέστερα είδη είναι τα *C. ferrugineus*, *Tribolium confusum* και *T. castaneum*. Στα άχυρα βρέθηκαν μικροί αριθμοί ακμαίων, αλλά μεγάλος αριθμός ειδών κυρίως μυκητοφάγων. Από τις νέες καταγραφές, σημαντικότερα είδη είναι τα *Sitophilus zeamais* και *Attagenus unicolor* που φαίνονται ότι έχουν σημαντική εξάπλωση στη χώρα. Επίσης σημαντική είναι και η καταγραφή του *Trogoderma variabile*, το οποίο βρέθηκε μόνο σε μικρό αριθμό δειγμάτων σιταριού. (Αθανασίου Χ.Γ., Μπουχέλος Κ.Θ., 2003)



Εικόνα 1. Σχετικά μεγέθη των πιο σημαντικών κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων



### 1.3. Παράγοντες προσβολής

Από τους σοβαρότερους οικολογικούς παράγοντες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό των εντόμων αποθηκών είναι η θερμοκρασία και η υγρασία που για τα περισσότερα έντομα ισχύουν οριακές τιμές και ο ρυθμός αναπαραγωγής τους είναι ανάλογος των τιμών αυτών των παραγόντων στο ίδιο το προϊόν και τους αποθηκευτικούς χώρους. Έχει αποδειχθεί ότι θερμοκρασίες ανώτερες των 35<sup>0</sup>C και κατώτερες των 21<sup>0</sup>C έχουν δυσμενή επίδραση στην ανάπτυξη και εξάπλωσή τους.

Παρακάτω αναφέρονται διάφορες χαρακτηριστικές τιμές θερμοκρασίας για τα έντομα:

Γύρω στους 15,5<sup>0</sup>C:έχουμε εναπόθεση λίγων μόνο ωών

Γύρω στους 12<sup>0</sup>C:δεν γίνονται συζεύξεις

Γύρω στους 9,5<sup>0</sup>C:αρχίζει η ωοτοκία

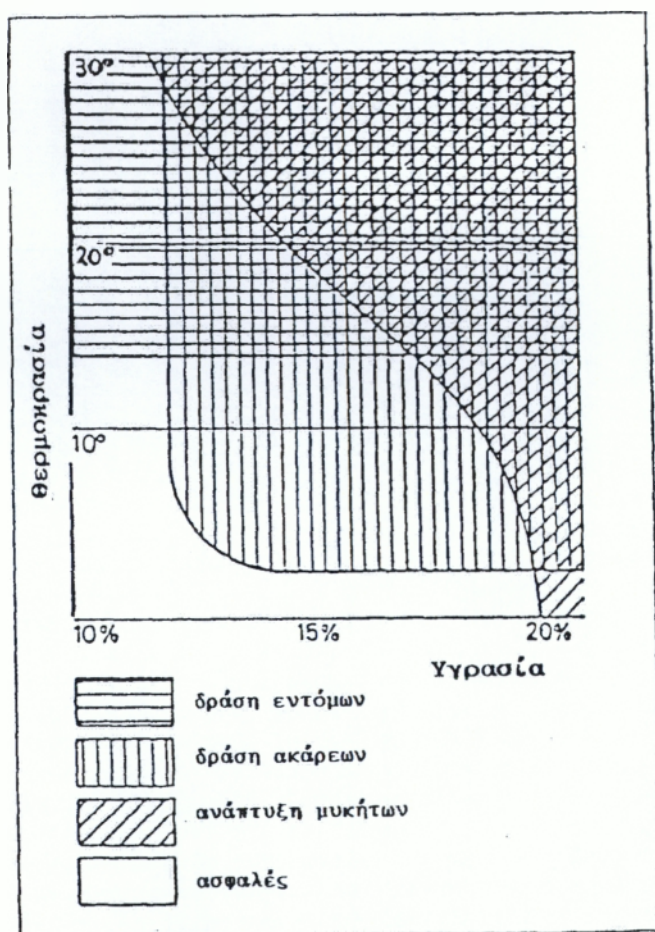
Από 18-15<sup>0</sup>C:λίγα μόνο έντομα διαχειμάζουν και επιζούν

Ως προς τις απαιτήσεις σε υγρασία (MC)τα περισσότερα είδη, όπως τα *Tribolium spp.* ζουν και αναπαράγονται σε προϊόντα μικρής περιεκτικότητας σε υγρασία (άλευρα , γαλέτα) και άλλα όπως τα *Sitophilus spp.* δεν μπορούν να αναπαραχθούν σε σπόρους με υγρασία κατώτερη του 8%. Αρκετά έντομα (*Lasioderma*, *Rtinus* κ.α.) χρειάζονται υγρασία προϊόντος (MC) τουλάχιστον 10%.

Ένας ακόμα σημαντικός παράγοντας που ευνοεί τα έντομα αποθηκών στο να γίνουν ζωικοί εχθροί και να προσβάλλουν τα γεωργικά προϊόντα είναι το μέγεθος αλλά και το σχήμα του σώματος τους, τα οποία είναι τέτοια ώστε να τα ευνοούν στην είσοδο αλλά την εγκατάσταση τους στους αποθηκευτικούς χώρους. Το μήκος του σώματος των τελείων ποικίλει από 1mm μέχρι 12 mm περίπου ενώ η πλειονότητά τους δεν ξεπερνά τα 5mm. Έτσι, μια στενή ρωγμή ή σχισμή στην εσωτερική κατασκευή του αποθηκευτικού χώρου γίνεται πολλές φορές καταφύγιο πληθυσμών εντόμων, ικανών να ξεκινήσουν σοβαρές προσβολές στα φιλοξενούμενα προϊόντα. Το μικρό τους μέγεθος, παρέχει σε αυτά τη δυνατότητα να αποφεύγουν εύκολα τους φυσικούς τους εχθρούς και πολλές φορές και την επίδραση των εντομοκτόνων. Παράδειγμα, τα μικροκαμωμένα και πεπλατυσμένα *Oryzaephilus sp.* που χάρη στα «προσόντα» τους αυτά, έχουν σήμερα μεγάλη εξάπλωση και προσβάλλουν μεγάλο αριθμό προϊόντων.

Τα περισσότερα είδη εντόμων αποθηκών ανήκουν στην τάξη Κολεόπτερα με επόμενη την τάξη Λεπιδόπτερα. Από την τάξη Υμενόπτερα τα περισσότερα έντομα που απαντώνται στους αποθηκευτικούς χώρους ανήκουν στις οικογένειες Ichneumonidae, Braconidae, Pteromalidae και παρασιτούν πληθυσμούς εντόμων αποθηκών. Ελάχιστα είναι τα Ημίπτερα (κυρίως οικ. Reduviidae και Anthocoridae) που είναι αρπακτικά διαφόρων ειδών που ζουν στους αποθηκευτικούς χώρους ενώ ύπαρξη ειδών άλλων τάξεων κρίνεται μάλλον συμπτωματική.

Υπάρχουν επίσης και είδη εντόμων όπως τα Κολεόπτερα της οικογένειας Bruchidae, που ενώ είναι εχθροί των καλλιεργειών και αναπτύσσονται στους αγρούς και τους ωριμασμένους σπόρους εντούτοις είναι ικανά να διαχειμάσουν στο ξηρό αποθηκευμένο προϊόν, χρησιμοποιώντας την αποθήκη για να περάσουν στην επόμενη καλλιεργητική περίοδο. Αρκετά από τα έντομα αυτά, με μικρές αλλαγές στις συνθήκες τους, έχουν γίνει γνήσια έντομα αποθηκών. (Μπουχέλος 1996)



**Εικόνα 2** Στο παραπάνω διάγραμμα φαίνονται οι συνδυασμοί τιμών θερμοκρασίας ( $^{\circ}\text{C}$ ) και υγρασίας σπόρων (%) στους οποίους το αποθηκευμένο σιτάρι είναι ασφαλές και εκείνοι στους οποίους δραστηριοποιούνται έντομα, ακάρεα ή μύκητες.

#### **1.4. Αντιμετώπιση εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων**

Για την αντιμετώπιση των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων έχουν δοκιμαστεί κατά το παρελθόν τεχνικές και μέθοδοι όλων των ειδών, αν και τελευταία υπάρχει μεγάλη τάση για στροφή σε βιολογικές μεθόδους αντιμετώπισης ακόμη και στα έντομα αποθηκευμένων προϊόντων χρησιμοποιώντας κυρίως φυσικές ουσίες και εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς. Παρακάτω παρατίθεται μία βιβλιογραφική ανασκόπηση των κυριότερων μεθόδων αντιμετώπισης, όπως: Χημικές, Μηχανικές, Φυσικές, Βιοτεχνικές και Βιολογικές μέθοδοι αντιμετώπισης.

##### **1.4.1. Προληπτικά μέτρα κατά την αποθήκευση**

Ο χώρος που προορίζεται για την αποθήκευση των γεωργικών προϊόντων προς κατανάλωση θα πρέπει να πληρεί κάποιες προϋποθέσεις που θα εξασφαλίζουν την συντήρηση των προϊόντων όσο το δυνατόν πιο υγιεινά.

Τα μέτρα ξεκινούν:

- Από την κατασκευή και τα υλικά των αποθηκών, τα οποία θα μας διατηρήσουν την υγρασία, την θερμοκρασία και τον αερισμό σε ευνοϊκές συνθήκες αποθήκευσης.
- Μόνωση της οροφής για την αποφυγή υψηλών θερμοκρασιών κατά τους θερινούς μήνες.
- Στεγανοποίηση δαπέδων και τοίχων για την διατήρηση της υγρασίας σε χαμηλά επίπεδα ακόμα και σε υγρές περιοχές.
- Την κάλυψη των παραθύρων με πυκνό πλέγμα για την αποφυγή εισόδου στο εσωτερικό του χώρου.
- Την σχολαστική καθαριότητα του χώρου και του εξοπλισμού που χρησιμοποιείται.

#### 1.4.2. Χημικές μέθοδοι αντιμετώπισης

Μεγάλος αριθμός χημικών ουσιών έχει χρησιμοποιηθεί κατά το παρελθόν για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων. Πριν την αποθήκευση μπορεί γίνει χημική απεντόμωση με ψεκάσμο στο δάπεδο, στους τοίχους, στην οροφή, στους σάκους και στον εξοπλισμό της αποθήκης. Ο ψεκάσμος πρέπει να γίνεται 2-3 εβδομάδες πριν την είσοδο του προϊόντος στην αποθήκη. Στη συνέχεια ακολουθεί μετά την αποθήκευση μία επέμβαση στην επιφάνεια του προϊόντος. Προσφάτως, αξιολογημένα αποτελέσματα θνησιμότητας έδειξε το spinosad ακόμα και σε χαμηλές δόσεις επί των *S. oryzae*, *R. dominica* και *T. confusum* (Kavallieratos et al., 2010).

Μια ευρέως εφαρμοσμένη στην πράξη χημική μέθοδος είναι η χρήση ασφυκτικών αερίων, των καπνογόνων (Φωσφίνη, Dichlorvos, CH<sub>3</sub>Br). Τα καπνογόνα είναι χημικές ενώσεις, οι οποίες επενεργούν τοξικά με ατμούς στα παράσιτα που προσβάλλουν τα αποθηκευμένα γεωργικά προϊόντα. Ο τρόπος εφαρμογής και η αποτελεσματικότητα του υποκαπνισμού εξαρτάται από τις φυσικές ιδιότητες του καπνογόνου. Το μεγάλο πλεονέκτημα τους είναι ότι εξαπλώνονται πολύ γρήγορα και διεισδύουν σε θέσεις και χώρους όπου άλλοι μέθοδοι αντιμετώπισης είναι αδύνατον να εφαρμοστούν.

Άλλη κατηγορία εντομοκτόνων με εφαρμογή σε αποθηκευτικούς χώρους είναι τα πυρεθρινοειδή εντομοκτόνα. Εντομοκτόνα αυτής της ομάδας (π.χ. deltamethrin, permethrin, cyrenethrin) χρησιμοποιούνται σε αρκετά μεγάλη κλίμακα για την καταπολέμηση εντόμων αποθηκών γιατί παρουσιάζουν γρήγορη δράση και ικανότητα κατάρριψης (knock-down). Είναι εντομοκτόνα επαφής, εισέρχονται στο εσωτερικό του εντόμου και δρουν επί του κεντρικού νευρικού συστήματός του. Έχουν μεγάλο φάσμα δράσης εναντίον πολλών αρθροπόδων, και παρουσιάζουν μικρή τοξικότητα στα θηλαστικά και τον άνθρωπο. Ένα ακόμη πλεονέκτημά τους είναι ότι χρησιμοποιούνται στη πράξη σε μικρές δόσεις. Η χρήση τους όμως ευνοεί τον πολλαπλασιασμό των ακάρεων.

### 1.4.3. Μηχανικές μέθοδοι αντιμετώπισης

α) Πίεση: Γίνεται χρήση υψηλών πιέσεων όπου θανατώνονται κυρίως τέλεια έντομα. Χρησιμοποιείται και πεπιεσμένος ξηρός αέρας για καθαρισμό μηχανών, δαπέδων και τοίχων.

β) Ξήρανση: Με την απαλλαγή της πλεονάζουσας υγρασίας από τα αποθηκευμένα γεωργικά προϊόντα εμποδίζεται η βιολογική εξέλιξη των επιβλαβών εντόμων

γ) Κενό: Πλήρες ή υψηλό και παρατεταμένο κενό θανατώνει πολλά είδη εντόμων. Με την έλλειψη ατμοσφαιρικού αέρα προκαλείται συγκέντρωση CO<sub>2</sub> και ο χώρος γίνεται ασφυκτικός.

δ) Ασφυξία: Για την δημιουργία ασφυκτικών συνθηκών στα έντομα χρησιμοποιούνται διάφορα καθαρά, λευκά έλαια (παραφίνη) ή γαλακτώματα ορυκτελαίων που αναμιγνύονται με τους προσβεβλημένους σπόρους. Έτσι εμποδίζεται η αναπνοή των εντόμων.

ε) Πλύσιμο με νερό: Χρησιμοποιείται άφθονο νερό υπό ισχυρή πίεση, οπότε πραγματοποιείται μηχανική απομάκρυνση.

στ) Φυγοκέντρωση: Επιτυγχάνεται με μια συσκευή που ονομάζεται entoleter. Αυτή περιστρέφεται με μεγάλη ταχύτητα και εκσφενδονίζει τους σπόρους (σιτηρών) στο τοίχωμα της συσκευής, προκαλώντας τη θανάτωση των εντόμων (ακμαίων και ατελών σταδίων) που προσβάλλουν τους σπόρους αλλά και των αυγών τους. Τέτοια μηχανήματα λειτουργούν σε διάφορους αλευρόμυλους

### 1.4.4. Φυσικές μέθοδοι αντιμετώπισης

α) Θερμοκρασία: Θερμοκρασίες 52-55°C επί 3 περίπου ώρες ή μεγαλύτερες με αντιστρόφως ανάλογες χρονικές εκθέσεις, καταστρέφουν όλα τα στάδια των εντόμων αποθηκών προκαλώντας πήξη των λευκωμάτων τους. Προτιμάται θερμό ρεύμα αέρος για προϊόντα και θερμό νερό ή ατμός για μέσα μεταφοράς, εργαλεία και μηχανήματα προκειμένου να αποφευχθεί η δημιουργία πολύ υψηλών θερμοκρασιών.



β) Ψύχος: Η επίδραση του ψύχους παρεμποδίζει την εξέλιξη των βιολογικών σταδίων των εντόμων και την εγκατάσταση νέων προσβολών. Συνήθως χρειάζεται έκθεση του προϊόντος σε -5 έως -10°C επί πολλές ημέρες, το οποίο επιτυγχάνεται με συσκευές ψύξεως και ρεύματα ψυχρού αέρα. Χρησιμοποιείται και ως τρόπος συντήρησης του προϊόντος σε ψυκτικού; θαλάμους.

γ) Ηλεκτροστατικό πεδίο: Με διοχέτευση ρεύματος υψηλής συχνότητα; και μεγάλης ισχύος, αυξάνεται σε ελάχιστα δευτερόλεπτα η θερμοκρασία των ζωικών παρασίτων χωρίς να αυξηθεί στον ίδιο βαθμό και η θερμοκρασία του προϊόντος

δ) Ιονίζουσες ακτινοβολίες: Οι ιονίζουσες ακτινοβολίες, συνήθως ακτίνες γ, εφαρμόζονται κατευθείαν στα αποθηκευμένα προϊόντα για την αποστείρωσή τους χωρίς να αφήνουν κατάλοιπα. Το κυριότερο μειονέκτημα της μεθόδου είναι το υψηλό κόστος των εγκαταστάσεων της

#### 1.4.5. Βιοτεχνικές μέθοδοι αντιμετώπισης

α) Ελκυστικές παγίδες και Φερομονικές παγίδες: Χρησιμοποιούνται για την παγίδευση δολώματα, ελκυστικές ουσίες ή αντικείμενα που προσελκύουν τα έντομα μέσα σε δοχεία από τα οποία δεν μπορούν να εξέλθουν ή σε κολλητική επιφάνεια. Κατά περιπτώσεις χρησιμοποιούνται πολλές μορφές ή συνδυασμός παγίδων όπως τροφικές, κολλητικές, φωτοπαγίδες κ.λπ. Με τη χρήση των παγίδων αποσκοπούμε στον έλεγχο του πληθυσμού του εντόμου, στον προσδιορισμό της εξόδου των ακμαίων και συνεπώς στον προσδιορισμό του χρόνου επεμβάσεως με εντομοκτόνα, αλλά και στη μείωση και εξόντωση του πληθυσμού με την μαζική παγίδευση (Buchelos and Levinson, 1993, Jones, 1998, Αθανασίου κ.α., 1999, Athanassiou and Buchelos, 2001)

Οι φερομόνες είναι ουσίες που παράγονται από έντομα ή άλλα ζώα, ελευθερώνονται στην επιφάνεια του σώματός τους ή στο περιβάλλον, και προκαλούν χαρακτηριστικές αντιδράσεις συμπεριφοράς ή φυσιολογίας σε άλλα άτομα του ίδιου κατά κανόνα είδους (Τζανακάκης, 1995). Οι ουσίες αυτές συντίθενται χημικά και χρησιμοποιούνται στις παγίδες. Έχουν εξειδικευμένη δράση με αποτέλεσμα να προστατεύεται η ωφέλιμη πανίδα, δεν παρουσιάζουν τοξική υπολειμματικότητα, δεν μολύνουν το περιβάλλον, η χρήση τους είναι εύκολη και ακίνδυνη αλλά το κόστος σύνθεσής; τους είναι υψηλό.

Οι αποθηκευτικοί χώροι προσφέρονται περισσότερο από τους εξωτερικούς για την χρήση φερομονών, διότι αποτελούν ένα κλειστό σύστημα, με σχετικά σταθερές συνθήκες (μέτριες τιμές θερμοκρασίας, υγρασίας, φωτισμού) και σχετικά μικρά

ρεύματα αέρα, τα οποία ευνοούν βιοτεχνολογικούς χειρισμούς; των εντόμων που βρίσκονται μέσα σε αυτούς. Οι φερομονικές παγίδες για τα μικρολεπιδόπτερα είναι κολλητικές ταινίες (μυγόχαρτα) στις οποίες επισυνάπτεται η φερομόνη μέσα σε πλαστική κάψουλα. Στην Ελλάδα έχουν δοκιμαστεί φερομόνες για το *E. kuehniella* σε αλευρόμυλους. Οι πρώτες εφαρμογές για παρακολούθηση του εντόμου με φερομονικές παγίδες έγιναν κατά τα έτη 1977-78 και 1978-79 (Μπουχέλος, 1993).

β) Ρυθμιστές ανάπτυξης: Σ'αυτή την ομάδα εντομοκτόνων ανήκουν i) οι μιμητές της ορμόνης νεότητας (fenoxycarb, pyriproxifen) και ii) οι παρεμποδιστές βιοσύνθεσης της χιτίνης ( diflubenzuron, triflumuron, buprofezin). Με τη χρήση των μιμητών της ορμόνης νεότητας το έντομο παραμένει σε προνυμφικό στάδιο, δηλαδή εμποδίζεται το έντομο να περάσει στο νυμφικό στάδιο με αποτέλεσμα να μην μεταμορφώνεται και να πεθαίνει. Με τη χρήση των παρεμποδιστών οι προVΥμφες των εντόμων παρεμποδίζονται στο μηχανισμό έκδυσης, δηλαδή παρεμποδίζεται η αποβολή του χιτίνινου σωματικού περιβλήματος με αποτέλεσμα το έντομο να μην διέρχεται σε μεγαλύτερη ηλικία και να πεθαίνει. Οι ρυθμιστές ανάπτυξης παρουσιάζουν μηδενική τοξικότητα για τον άνθρωπο και τα θερμόαιμα και παρουσιάζουν εξειδικευμένη δράση με αποτέλεσμα να προστατεύονται οι ωφέλιμοι μικροοργανισμοί.

#### 1.4.6 Βιολογικές μέθοδοι αντιμετώπισης

Με τις βιολογικές μεθόδους γίνεται χρήση των φυσικών εχθρών των επιβλαβών εντόμων για την γεωργία με σκοπό τον έλεγχό τους. Οι φυσικοί εχθροί διακρίνονται σε δύο μεγάλες κατηγορίες στα ωφέλιμα αρθρόποδα και στους εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς. Επίσης φυσικές ουσίες χρησιμοποιούνται ευρέως για την αντιμετώπιση των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων. Κάποιες από τις ουσίες που έχουν δείξει αξιοσημείωτα αποτελέσματα είναι το Azadirachtin (Kavallieratos et al., 2007), Abamectin (Kavallieratos et al., 2009) και Diatomaceous earth (Athanasioiu et al., 2006; Kavallieratos et al., 2010). Όσον αφορά τους εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς μελέτες έχουν δείξει την αποτελεσματικότητα των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B.bassiana* και *M. anisopliae*. Οι μύκητες αυτοί μπορούν να επιζήσουν πάνω στα σιτηρά και να αναπαραχθούν παράγοντας μεγαλύτερο αριθμό παθογόνων σπορίων (Athanasioiu et al., 2008). Σε δημοσιευμένες βιοδοκιμές έχουν δοκιμαστεί διάφορα είδη μυκήτων παρουσιάζοντας συχνά αμφιταλαντευόμενα αποτελέσματα. Ο μύκητας *B.bassiana* δείχνει να είναι ο πιο αποτελεσματικός έναντι εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων (Vassilakos et al., 2006).



## 1.5. Το *Sitophilus oryzae*

### 1.5.1 Γενικά

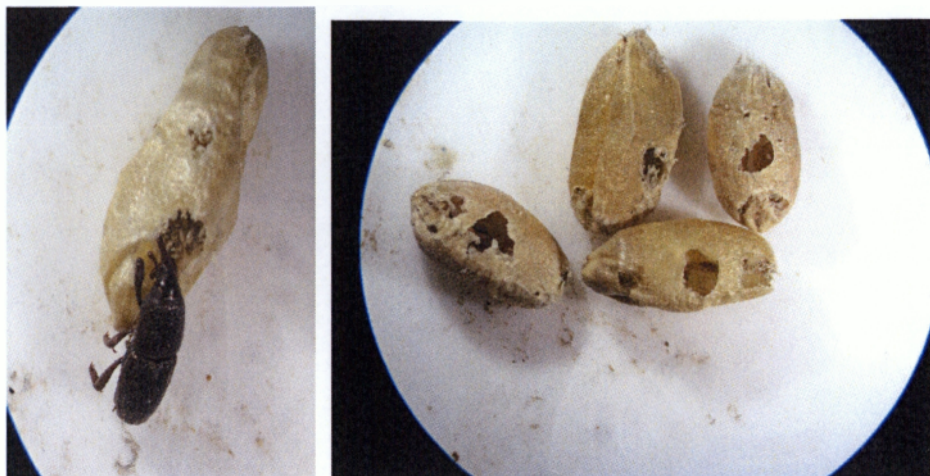
Το *Sitophilus oryzae* είναι ένα από τα πιο καταστροφικά έντομα αποθηκευμένων σιτηρών παγκοσμίως (Sinha and Matters, 1985) Απαντάει συχνότερα σε ζεστά, τροπικά και υποτροπικά κλίματα.

Τρέφεται αδηφάγα στο σιτάρι, κριθάρι και καλαμπόκι προκαλώντας σημαντική οικονομική ζημιά. Οι προνύμφες και τα ακμαία τρέφονται σε ολόκληρους σπόρους προκαλώντας μείωση του βάρους του σπόρου, ποιοτική υποβάθμιση, αύξηση του λιπαρούς οξέως και ευπάθεια σε δευτερογενείς προσβολές μυκήτων. Η εισβολή του *S. oryzae* σε αποθήκη σιτηρών μπορεί επίσης να προκαλέσει αύξηση της θερμοκρασίας των σπόρων και να διευκολύνει την εγκατάσταση αποικιών μυκήτων, εντόμων και ακάρεων. (Koehler, 2008 , Sinha and Matters, 1985)

Το *Sitophilus oryzae* είναι έντομο μέτριας ανθεκτικότητας σε κρύες συνθήκες και απαιτεί σχετικά υψηλή υγρασία για να αναπτυχθεί. Απαντάτε συχνότερα σε τροπικά και ζεστά κλίματα και συνήθως δεν επεκτείνεται σε κρύες περιοχές. Δεν ευδοκμεί σε περιοχές με πολύ υψηλή θερμοκρασία το καλοκαίρι και συχνά μετατοπίζεται σε υγρές και ζεστές περιοχές.

Στην Κεντρική Αμερική ολοκληρώνει 4-5 γενεές τον χρόνο, στις Νότιες περιοχές της Ρωσίας 4-7 και στον Καναδά 1 γενεά ανά έτος.

Συνήθως οι λάρβες και τα ακμαία τρέφονται με ολόκληρο τον σπόρο των σιτηρών, όπως σιτάρι, ρύζι, κριθάρι, καλαμπόκι, αράπικο φιστίκι, φασόλι και σόργο. Το *S. oryzae* μπορεί να μολύνει ώριμους σπόρους και ειδικά το καλαμπόκι στον αγρό.



Εικόνα 3 .Προσβολή σπόρων σίτου από *Sitophilus oryzae*

### 1.5.2. Συμπτώματα και ζημιές

Η άποδη προνύμφη του *S.oryzae* τρέφεται και αναπτύσσεται στον εσωτερικό πυρήνα του σπόρου χωρίς να γίνει αντιληπτή εξωτερικά. Με τις δυνατές σταγόνες, οι προνύμφες ανοίγουν μεγάλες ακανόνιστες τρύπες στο εσωτερικό του σπόρου. Όταν βγει το ακμαίο από την νύμφη, ανοίγει τρύπα 1,5 χιλ. διαμέτρου, εξέρχεται από τον σπόρο και επιτίθεται σε νέο σπόρο.

Συνήθως είναι χαρακτηριστικό το σχήμα των τρυπών στους σπόρους από το *S.oryzae* όπως επίσης και το να αναπτύσσονται δύο έντομα στον πυρήνα του. Ένα έντομο μπορεί να καταστρέψει περίπου το 30% του πυρήνα του σπόρου σε όλο το βιολογικό του κύκλο. Σε βαριά προσβολή, το μόνο μέρος του σπόρου που παραμένει είναι το κέλυφος.

### 1.5.3. Περιγραφή

Το ακμαίο έχει μέγεθος 2,5-4 χιλ., είναι κόκκινο καφέ ή σκούρο καφέ, μένα μακρύ στενό ρύγχος, μυζητικά στοματικά μόρια, οκτώ κοιλιακά μέρη, έχει γωνιώδες

σώμα και ροπαλοειδής κεραίες. Τα ακμαία του *S.oryzae* και *S.zeamais* μπορούν εύκολα να διαχωριστούν από τα ακμαία του *S.granarius*, από την παρουσία κοντινών κυκλικών οπών (αντί των οβάλ που έχουν τα *S.granarius*) πάνω στον θώρακα και δύο κόκκινο καφέ περιοχές σε κάθε έλυτρο. Μόνο τα εσωτερικά χαρακτηριστικά από τα αρσενικά όπως ο αιδιαγός, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να ξεχωρίσουν τα δύο είδη. Στο *S.oryzae* , η άνω επιφάνεια του αιδιαγού είναι ομοιόμορφα κυρτή ενώ το *S.zeamais* είναι επίπεδη και έχει δύο σαφής διαμήκης αποτυπώματα. Τα υπόλοιπα στάδια του *S.zeamais* καρπού. Τα ωά είναι λευκά, αδιαφανής και ωοειδές σε σχήμα αχλαδιού. Η προνύμφη είναι λευκή, παχιά, άποδη και ολοκληρώνει όλα τα στάδια μέσα στον σπόρο. Η νύμφη είναι λευκή και σε αυτήν διακρίνονται τα πόδια, οι πτέρυγες και το ρύγχος του ακμαίου.

Το *S.oryzae* είναι σχεδόν όμοιο με τα εξωτερικά χαρακτηριστικά του *S.zeamais*. Παρόλα αυτά, το *S.oryzae* σπάνια πετάει, ενώ το *S.zeamais* πετάει συχνά. Το *S.oryzae* φαίνεται να προτιμά μικρότερους σπόρους όπως του ρυζιού, ενώ το *S.zeamais* προτιμά μεγαλύτερους σπόρους, όπως το καλαμπόκι.

Η ζημιά που προκαλεί το *S.cerealalla* ,είναι όμοια με του *S.oryzae*. Η διαφορά είναι εμφανής από τις οπές εξόδου των ακμαίων.



**Εικόνα 3** Ακμαίο *Sitophilus oryzae*



Εικόνα 4 Νύμφη *Sitophilus oryzae*

#### 1.5.4. Βιολογικός κύκλος

Το θηλυκό ανοίγει τρύπα σε επιλεγμένη θέση στον σπόρο είτε στον αγρό είτε στην αποθήκη. Τότε εναποθέτει ένα αυγό στον σπόρο και σφραγίζει την τρύπα μένα ζελατινώδες πάμα. Το θηλυκό γεννάει 2 ή 3 αυγά ανά ημέρα και περίπου 500 αυγά σε όλη του τη ζωή.

Μετά την εκκόλαψη, η προνύμφη τρέφεται και αναπτύσσεται μέσα στον πυρήνα του σπόρου. Η μέση διάρκεια ζωής του κάθε σταδίου είναι :αυγό 4-6,5 ημέρες, προνύμφη 18-22 ημέρες, νύμφη 8-14 ημέρες και συνολικά τα ανώριμα στάδια 34-40 ημέρες στους 25°C και σε 70% σχετική υγρασία.

Τα φυσικά όρια για επιτυχή ανάπτυξη είναι 17-34°C και 45-100% σχετική υγρασία. Η άριστη θερμοκρασία είναι 26-31°C και 70% σχετική υγρασία. Η δραστηριότητα του *S.oryzae* διακόπτεται στους 40°C. Το *S.oryzae* είναι λιγότερο ευαίσθητο σε υψηλή θερμοκρασία από το *S.granarius*.

#### 1.5.5. Οικολογία – Φυσικοί εχθροί

Εργαστηριακές μελέτες φανέρωσαν πως το *S. oryzae* έχει χαρακτηριστική συμπεριφορά διασποράς σε μεγάλες ποσότητες αποθηκευμένων σπόρων. Η μεταναστευτική αναλογία είναι μεγαλύτερη σε πυκνούς πληθυσμούς σε σύγκριση με αραιούς πληθυσμούς. Σε μεγάλη ποσότητα σιταριού αποθηκευμένο σε 14% ΣΥ και 30°C, το *S. oryzae* διασπείρετε σε μικρή έκταση από το σημείο εισαγωγής του, ασχέτως

του σημείου εισαγωγής του. Τα ακμαία απομακρύνονται γρήγορα μόνο όταν η θερμοκρασία ανέβει στους 32 °C ή ψηλότερα.

Σε σύγκριση με το *S. zeamais* καλλιεργούμενα σε σιτάρι και καλαμπόκι σε 29 °C και 70% ΣΥ, το *S. oryzae* ήταν πιο παραγωγικό είδος στο σιτάρι, ενώ το *S. zeamais* στο καλαμπόκι. Όταν το *S. oryzae* εκτράφηκε σε σύγκριση με το *Rhizopertha dominica* σε διάφορες ποικιλίες φυτών σε 30 °C και 70% ΣΥ, το *S. oryzae* αναπτύσσεται καλύτερα και έχει πιο αναπαραγωγικές γενεές. Η αύξηση της θερμοκρασίας επιταχύνει την αναλογία ανάπτυξης και την αναλογία ωοαποθέτησης και έτσι ο πληθυσμός αυξάνεται σημαντικά. Επιπρόσθετα, σε άριστη θερμοκρασία και υγρασία τα ακμαία διασπείρονται από το αρχικό σημείο προσβολής, το οποίο αρχίζει να προσβάλλεται από μύκητες αποθηκευμένων προϊόντων (*Aspergillus*, *Absidia*) ακτινομύκητες και βακτήρια. (Sinha and Matters, 1985).

Το *S. oryzae* είναι ξενιστής για τα παρακάτω Υμενόπτερα, χωρίς όμως να μπορούν να ελέγξουν ικανοποιητικά τον πληθυσμό του χωρίς χρήση εντομοκτόνων:

*Anisopteromalus calandrae*

*Choetospila elegans*

*Holepyris sylvanidis*

*Lariophagus distinguendus*

*Cephalonomia tarsalis*

*Cerocephala dinodiri*

*Meraparus requisitus*

*Dibrachys cavus*.



## 1.6. Εντομοπαθογόνοι μύκητες

### 1.6.1. Γενικά

Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες σε αντίθεση με τους άλλους εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς (βακτήρια, ιοί κλπ.) προσβάλλουν τα έντομα δια της επαφής και δεν απαιτούν την βρώση τους από τα έντομα για να προκληθεί η μόλυνση. Η αποτελεσματικότητα αυτών των παθογόνων σε συγκεκριμένα είδη επιβλαβών εντόμων συνδέεται απόλυτα με τις κλιματολογικές συνθήκες (θερμοκρασία, ατμοσφαιρική υγρασία, φωτισμό κτλ.) (Copping 2001, Hassanlou et al., 2006)

Οι μύκητες, αυτές οι μικρές μικροβιακές μονάδες φυτικού χαρακτήρα που δεν περιέχουν χλωροφύλλη, υπόσχονται ευρεία χρησιμοποίηση στις βιολογικές καταπολεμήσεις. Περισσότερα από 400 είδη παθογόνων μυκήτων έχουν απομονωθεί από έντομα, αλλά μέχρι σήμερα ένας μικρός αριθμός τους έχει αξιοποιηθεί ως βιοεντομοκτόνα, εξαιτίας της εξάρτησής από υψηλή σχετική υγρασία στο περιβάλλον και της έλλειψης γνώσεων σχετικά με τους παράγοντες που επηρεάζουν την τοξικότητά τους.

Στη μειωμένη αξιοποίησή τους, συμβάλλουν και οι τοξίνες που παράγουν αυτά τα παθογόνα και που μπορεί να είναι επιβλαβείς για τον άνθρωπο και τα ζώα. Επιπλέον, μερικοί μύκητες είναι πολύ απαιτητικοί ως προς την καλλιέργειά τους και παρουσιάζουν δυσκολίες για τη μαζική παραγωγή τους, ενώ όσοι είναι εύκολο να καλλιεργηθούν, εμφανίζουν εξασθένηση ύστερα από μακροχρόνια παραγωγή σε τεχνητά μέσα

. Συχνά οι μύκητες εξαρτώνται πολύ από το περιβάλλον, κυρίως όσον αφορά τα αρχικά στάδια μόλυνσης. Έτσι, οι πιο σημαντικοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στην εκδήλωση ασθένειας από τα παθογόνα αυτά, είναι η θερμοκρασία και η υγρασία. Η σχετική υγρασία περιβάλλοντος στις περισσότερες περιπτώσεις θα πρέπει να είναι πολύ αυξημένη, δηλαδή, μεγαλύτερη από 85-90%, ώστε να επιτυγχάνεται αποτελεσματική δράση των εντομοπαθογόνων μυκήτων.

Η εισχώρηση του μύκητα στα έντομα δεν γίνεται μόνο δια της στοματικής οδού, αλλά πραγματοποιείται και από την επιδερμίδα σε οποιοδήποτε μέρος του σώματος, αρκεί το σπόριο του μύκητα να βρει την κατάλληλη υγρασία για να βλαστήσει. Στους εντομοπαθογόνους αυτούς μύκητες, χαρακτηριστικό είναι ότι τα έντομα

προσβάλλονται, όχι μόνο στο στάδιο της προνύμφης ή νύμφης, αλλά και στο στάδιο του ακμαίου.

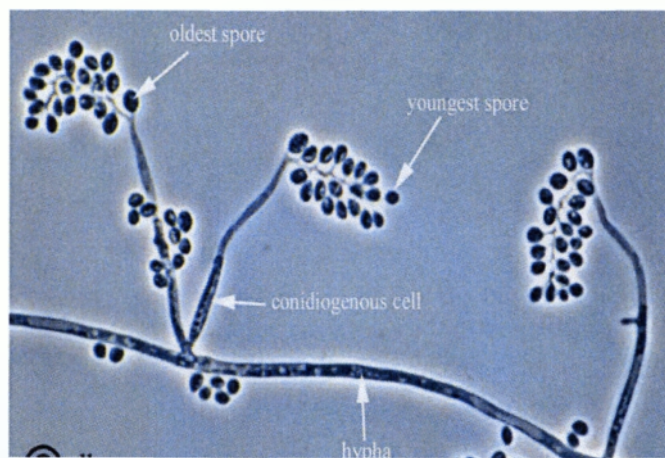
Από τα διάφορα είδη εντόμων, τα πιο ευπαθή σε μυκητολογικές μολύνσεις, είναι τα Λεπιδόπτερα (προνύμφες), από τα Ημίπτερα (και ειδικότερα από τα Homoptera) οι αφίδες, είδη που ανήκουν στις Οικογένειες *Cicadidae* και *Coccidae*, από τα Υμενόπτερα τα *Vespoidea*, από τα Κολεόπτερα είδη της οικογένειας *Scarabeidae* και από τα Δίπτερα είδη του γένους *Hylemyia* και τα κουνούπια.

Όταν ένα έντομο προσβληθεί από ένα μύκητα παθογόνο, ο μύκητας αυτός διαπερνά την επιδερμίδα και αναπτύσσει σιγά-σιγά στο εσωτερικό του εντόμου το μυκηλίο του, κατακλύζοντας έτσι όλους τους ιστούς και με τις τοξίνες που παράγει, έχει σαν αποτέλεσμα τη θανάτωση του ξενιστή. Στη συνέχεια ο μύκητας εμφανίζεται εξωτερικά με μυκήλιο και επανθίσεις και παρατηρούνται στην επιδερμίδα του εντόμου κονιδιοφόροι από τους οποίους γίνεται η διασπορά του παθογόνου. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι μύκητες εντοπίζονται σε συγκεκριμένα όργανα του ξενιστή τους, όπως για παράδειγμα οι μύκητες *Massospora cicadina* και *Strongwellsea castrans* που απαντώνται μόνο στην κοιλιακή χώρα των ενήλικων εντόμων .



### 1.6.2. Ο Μύκητας *Beauveria bassiana*

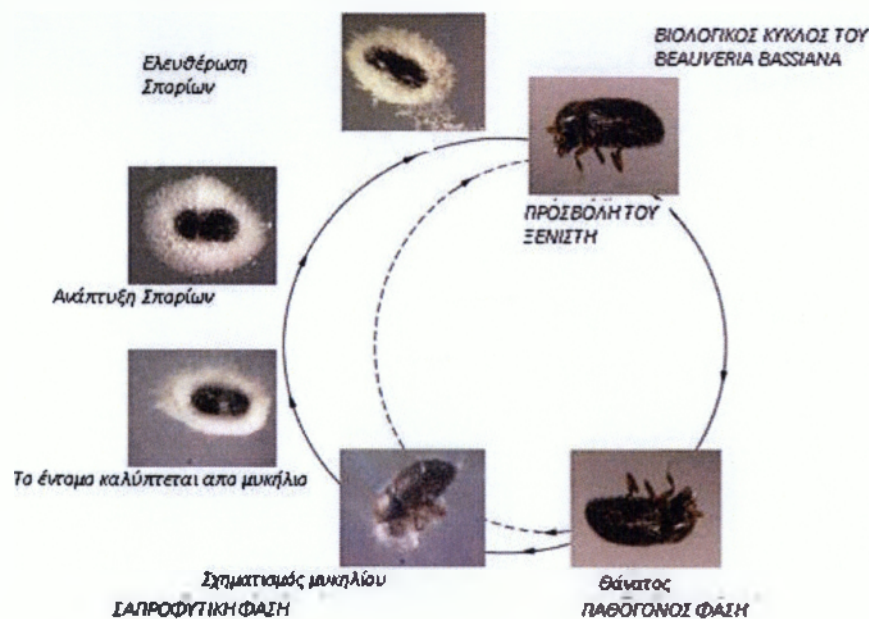
Ο εντομοπαθογόνος μύκητας *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycota: Hyphomycetes) είναι ένας μιτοσπορικός εντομοπαθογόνος μύκητας που παρασιτεί σε ένα μεγάλο εύρος αρθρόποδων. Το όνομα του, το πήρε από τον Ιταλό εντομολόγο Agostino Bassi, οποίος και την ανακάλυψε το 1835 ως αίτιο για την άσπρη επίστρωση (μούχλας) που βρέθηκε πάνω στο *Bombyx mori*.



Εικόνα 5. Κονίδια *Beauveria bassiana*

Η παθογενετική του ικανότητα εναντίον εντόμων έχει μελετηθεί ευρέως τα τελευταία χρόνια. (Cheung & Grula, 1982, Fargues et al., 1997)

Συνίσταται για την καταπολέμηση αφίδων, θριπών, αλευρωδών, κολεοπτέρων, ημιπτέρων κ.α.. Επίσης δύναται να προσβάλλει προνύμφες λεπιδοπτέρων (Hassanloui et al., 2006). Ο εντομοπαθογόνος αυτός μύκητας εισβάλλει στο σώμα του εντόμου. Τα κονίδια του έρχονται σε επαφή με την επιδερμίδα του και αφού βλαστήσουν, την διαπερνούν και αναπτύσσουν υφές παράγοντας τοξίνες ξηραίνοντας τα από υγρασία και θρεπτικά στοιχεία και τελικά θανατώνοντας τα. Η υψηλή υγρασία είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό των κονιδίων και η μόλυνση ολοκληρώνεται μέσα σε 24-48 ώρες αναλόγως της θερμοκρασίας. Το έντομο μπορεί να επιζήσει μέχρι και 3-5 μέρες αφού μολυνθεί. Όταν ο μύκητας τελικά σκοτώσει το έντομο αναπτύσσει μία λευκή εξάνθηση γύρω από το σώμα του η οποία παράγει εκατομμύρια νέα σπόρια τα οποία απελευθερώνονται στο περιβάλλον. Τα κονίδια του μύκητα είναι μονοκύτταρα, απλοειδή και υδρόφοβα (Rehner and Buckley, 2005). Στην Ευρώπη κυκλοφορούν εμπορικά σκευάσματα με βάση τον μύκητα *Beauveria bassiana* όπως τα Naturalis-L, Bio-power, Botanigard κ.α.



Εικόνα 6 Βιολογικός Κύκλος του *Beauveria bassiana*

### 1.6.3. Ο Μύκητας *Paecilomyces fumosoroseus*

Ο εντομοπαθογόνος μύκητας *Paecilomyces fumosoroseus* έχει παρόμοιο τρόπο δράσης με αυτόν του *B. bassiana* και θεωρείται πολύ ελπιδοφόρος βιολογικός παράγοντας για τον έλεγχο βλαβερών εντόμων. Ο μύκητας αυτός είναι ένας από τους πιο σημαντικούς φυσικούς εχθρούς πολλών ειδών αλευρωδών παγκοσμίως (Wraight et al., 2000).

Το *P. fumosoroseus*, ακριβώς όπως το *B. bassiana*, παράγει κονίδια σε στερεό υπόστρωμα και βλαστοσπόρια σε υγρό υπόστρωμα. Τα βλαστοσπόρια βλαστάνουν ταχύτερα και σε μεγαλύτερο ποσοστό στην επιδερμίδα του αλευρώδη σε σχέση με τα κονίδια καθιστώντας την χρήση τους σε εμπορικά σκευάσματα, πολύ συμφέρουσα σε σχέση με την χρήση κονιδίων. Έχουν εξεταστεί διάφορα γεωργικά προϊόντα ως συστατικά σκευασμάτων και μερικά από αυτά υπόσχονται τη διατήρηση της βιωσιμότητας των βλαστοσπορίων στο πέρασμα του χρόνου.

Εμπορικά σκευάσματα βασισμένα στο μύκητα *P. fumosoroseus* έχουν χρησιμοποιηθεί ευρέως εναντίον αλευρωδών τόσο σε θερμοκήπια όσο και στον αγρό (Wraight et al., 2000). Στην Ευρώπη κυκλοφορεί το εμπορικό σκεύασμα PreFeRal με ένδειξη εναντίον του *Trialeurodes vaporariorum* σε τομάτα και αγγούρι.



**Εικόνα 8** Ο μύκητας *Paecilomyces fumosoroseus* σε προνύμφη *Rhynchophorus ferrugineus*

#### 1.6.4. Ο Μύκητας *Metarhizium anisopliae*

Ο *Metarhizium anisopliae* (Moniliales) γνωστός παλαιότερα ως *Entomophthora anisopliae* πήρε το όνομα του όταν το 1879 ο I.I. Mechnikov, τον απομόνωσε από σκαθάρι *Anisoplia austriaca*

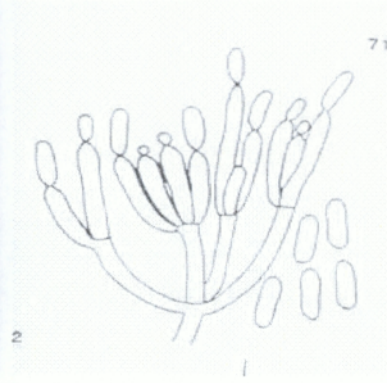
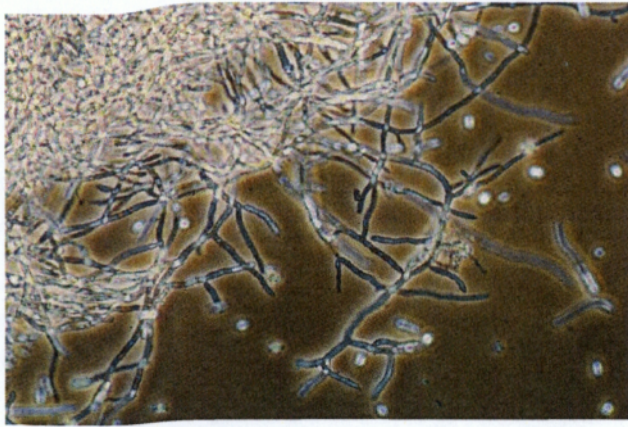
Έχει αναφερθεί ότι προσβάλλει περίπου 200 είδη εντόμων και άλλων αρθροπόδων. Αν και παρουσιάζει μεγάλα ποσοστά θνησιμότητας στα έντομα δεν αποτελεί κίνδυνο για τα θηλαστικά παρά μόνο μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις σε ευαίσθητα άτομα.

Ο μύκητας εισέρχεται από τους πόρους του τραχειακού συστήματος (Solomon et.al., 2002). Μόλις εισέρθει στο εσωτερικό του εντόμου παράγει κονίδια που σε ηλεκτρονικό μικροσκόπιο φαίνονται σαν μακρές, διακλαδιζόμενες υφές και σχηματίζουν νηματοειδή κελία. Στους μύκητες το μυκήλιο είναι ο κύριος τρόπος ανάπτυξης. Η ραγδαία ανάπτυξη του έχει ως αποτέλεσμα το έντομο να γεμίσει μυκήλια, τα οποία θα καταστρέφουν τα εσωτερικά όργανά του. Ο *M. anisopliae* θρέφεται από τα λιπίδια που αποτελείται η επιδερμίδα του εντόμου. Επίσης είναι ικανός να απελευθερώνει σπόρια υπό χαμηλές συνθήκες υγρασίας (<50%). Επιπλέον μπορεί να παράγει δευτερογενής μεταβολίτες, που είναι ουσίες τοξικές για τα έντομα αλλά και πρωτεϊνολυτικά ένζυμα (Suzuki et al., 1966, 1970, και 1971).

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

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





Εικόνα 9. Υφές και κονίδια *Metarhizium anisopliae*

Και το *M. anisopliae* χρησιμοποιείται υπό τη μορφή εμπορικών σκευασμάτων όπως το Bioblast που χρησιμοποιείτε για το έλεγχο των τερμιτών του γένους *Reticulitermes* spp. Ο μύκητας εφαρμόζεται πάνω στο ξύλο όπου είναι γνωστό ότι οι τερμίτες διατηρούν τις στοές τους. Με αποτέλεσμα να έρχονται σε άμεση επαφή με τα κονίδια του μύκητα.. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο θάνατος επέρχεται σε 4 έως 10 ημέρες ανάλογα με την θερμοκρασία.



Εικόνα 10 Ο Μύκητας *Metarhizium anisopliae* σε προνύμφη και ακμαίο *R. ferrugineus*

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1. Τεχνητή εκτροφή του *Sitophilus oryzae*

Τα ακμαία του *S.oryzae* που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές αποκτήθηκαν από την εκτροφή του εργαστηρίου της γεωργικής εντομολογίας και ζωολογίας το Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου η οποία διατηρούνταν σε ολόκληρο σιτάρι στους 27 °C και 65± 5% σχετική υγρασία.



Εικόνα 11 Τεχνητή εκτροφή του *Sitophilus oryzae* στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο

## 2.2. Προέλευση και καλλιέργεια απομονώσεων εντομοπαθογόνων μυκήτων.

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

Οι εντομοπαθογόνοι αυτοί μύκητες απομονώθηκαν με την μέθοδο της χρήσης ως δολώματος του εντόμου *Galleria mellonella* (*Galleria* Bait Method) (Zimmermann 1986). Η δολωματική μέθοδος είναι μια απλή τεχνική, η οποία αρχικά χρησιμοποιούνταν επιτυχημένα σε οικολογικές μελέτες για τον προσδιορισμό των παρασιτικών νηματωδών των εντόμων. Το χώμα που συλλέξαμε τοποθετήθηκε σε μικρά πλαστικά δοχεία. Στην πράξη όμως μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε οποιοδήποτε μέγεθος αλλά και σχήματος δοχείου, ακόμα και τρυβλία τύπου Petri τα οποία ήταν επιλογή μας. Είναι σημαντικό οι προνύμφες να κινούνται μέσα στο δείγμα μας. Κατόπιν εμβαπτίστηκαν σε ζεστό νερό θερμοκρασίας 45°C για μερικά δευτερόλεπτα και έπειτα τοποθετήθηκαν 5, 10 ή 15 από αυτές (ανάλογα με το μέγεθος τους) σε τρυβλία τύπου Petri με δείγματα εδάφους με υψηλή, αλλά όχι υπερβολική υγρασία. Τα τρυβλία αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου (25±1 °C) για 14 – 20 ημέρες και για τις πρώτες 4 ημέρες τα τρυβλία αναποδογυρίζονταν κάθε μέρα ώστε οι προνύμφες να μπορούν κινούνται μέσα στα δείγματα (Keller et al 2000). Ο έλεγχος της θνησιμότητας παρακολουθήθηκε για 7, 12, και 14 ημέρες αντίστοιχα (Mietiewski et al. 1996). Οι νεκρές ή μωμιοποιημένες προνύμφες απομακρύνθηκαν και εν συνεχεία αποστειρώθηκαν σε 1% υποχλωριώδες νάτριο για μερικά δευτερόλεπτα.





**Εικόνα 12** Η μέθοδος της χρήσης ως δολώματος του εντόμου *Galleria mellonella*

Εν συνέχεια οι προνύμφες που εμφάνισαν τα συμπτώματα του εντομοπαθογόνου μύκητα τοποθετήθηκαν σε πλαστικά τρυβλία τύπου Petri που είχαν υψηλή υγρασία (moist chamber). Αυτό επιτεύχθηκε με εναπόθεση ορισμένων σταγόνων νερού πάνω σε χαρτί, κυκλικού σχήματος μέσα στα τρυβλία. Στο τέλος, μετά από την πάροδο 48 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου, περνούμε δείγματα από τις προσβεβλημένες προνύμφες. Ακολούθως καλλιεργούμε τα κονίδια των μυκήτων, που απομακρύνουμε από τις προνύμφες, σε υπόστρωμα S.D.A ή P.D.A με τη χρήση εστίας νηματικής ροής



**Εικόνα 13** Επάνθηση μυκηλίου *B. bassiana* (με λευκό χρώμα) σε προνύμφες *G. mellonella* και μουμιοποιημένες προνύμφες *G. mellonella* λόγω της δράσης του (ρόδινο χρώμα)



**Εικόνα 14** Επάνθηση μυκηλίου *M. anisopliae* (με πράσινο ή λευκό-πράσινο χρώμα) σε προνύμφες *G. mellonella* και μουμιοποιημένες προνύμφες *G. mellonella* λόγω της δράσης του *B. bassiana* (ρόδινο χρώμα)



Εικόνα 15 Εστία νηματικής ροής

Με τη μέθοδο που περιγράφηκε πιο πάνω απομονώθηκαν:

<u>Εντομοπαθογόνος μύκητας</u>	<u>Περιοχή</u>
<i>Beauveria bassiana</i>	Τατόϊ
<i>Raecilomyces fumosoroseus</i>	Αγ. Στέφανος
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Μαραθόνας



Εικόνα 16 Καλλιέργεια *Beauveria bassiana*, *Raecilomyces fumosoroseus* και *Metarhizium anisopliae* σε θρεπτικό μέσο SDA (Sabouraud Dextrose Agar).

### 2.3. Παρασκευή των διαλυμάτων

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

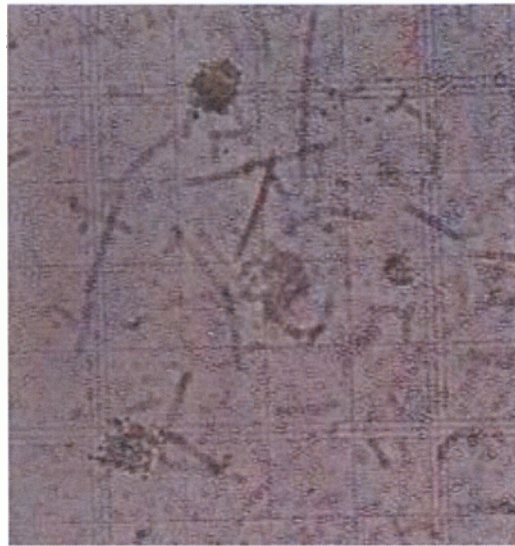
Τα κονίδια του μύκητα αποσπάστηκαν και συγκομίστηκαν με την βοήθεια scraper έχοντας πρώτα ποτιστεί με 20ml από το παραπάνω διάλυμα . Το διάλυμα με τα σπόρια και τις υφές που συλλέχθηκε, τοποθετήθηκε σε ποτήρι ζέσεως όπου ανακινήθηκε με την βοήθεια ενός μαγνητικού αναδευτήρα ώστε να αποσπαστούν τα σπόρια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



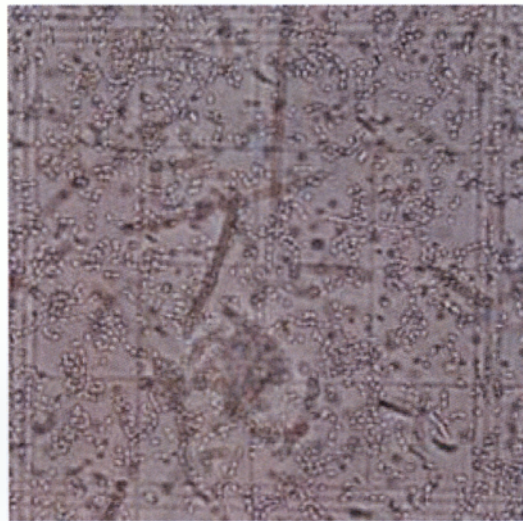
Εικόνα 17 Παρασκευή των διαλυμάτων των εντομοπαθογόνων μυκήτων

Το διάλυμα στην συνέχεια πέρασε από ειδική σίτα ώστε να μείνουν μόνο τα σπόρια, μετρήθηκε με την βοήθεια αιματοκυτταρόμετρου για να υπολογιστεί η συγκέντρωση των κονιδίων ανά ml διαλύματος.





*Beauveria bassiana*



*Paecilomyces fumosoroseus*



*Metarhizium anisopliae*

**Εικόνα 18** Αρχικά διαλύματα κονιδίων όπως φαίνονται στο αιματοκυτταρόμετρο ( $\sim 10^8$  κονίδια/ml) των εντομοπαθογόνων μυκήτων που χρησιμοποιήθηκαν για τις βιοδοκιμές

#### 2.4. Βιοδοκιμές επί του *Sitophilus oryzae*

Για τη διεξαγωγή των βιοδοκιμών επί του *Sitophilus oryzae*, λαμβάνονταν ακμαία του εντόμου από την τεχνητή εκτροφή. Για κάθε απομόνωση και συγκέντρωση εντομοπαθογόνου μύκητα, τοποθετούνταν σε πλαστικά τρυβλία τύπου Petri :

- ✓ 5x10 ακμαία τα οποία ψεκάστηκαν με διαλύματα κονιδίων χωρίς τροφή,
- ✓ 5x10 ακμαία τα οποία ψεκάστηκαν με διαλύματα κονιδίων με τροφή (5x10gr σιτάρι), και
- ✓ 5x10 ακμαία τα οποία δεν ψεκάστηκαν, αλλά σε αυτά χορηγήθηκε τροφή (5x10gr σιτάρι), η οποία είχε ψεκαστεί με διαλύματα κονιδίων.

Επίσης ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν:

- αφέκαστα έντομα σε αφέκαστο σιτάρι
- αφέκαστα έντομα σε αφέκαστο διηθητικό χαρτί

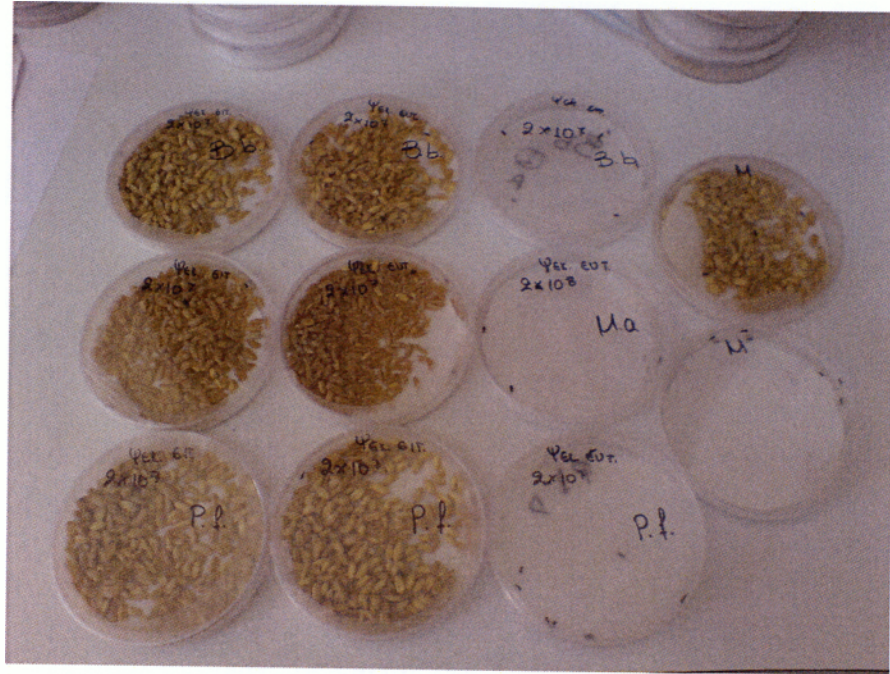
Σε όλα τα τρυβλία τοποθετήθηκε διηθητικό χαρτί προκειμένου να ελέγχεται η υγρασία η οποία διατηρούνταν με την προσθήκη απεσταγμένου νερού. Στα τριβλία που τοποθετήθηκε σιτάρι η ποσότητα μετρήθηκε σε ζυγό ακριβείας 10gr/τριβλίο. Σε κάθε τριβλίο τοποθετήθηκαν 10 ακμαία *S.oryzae*. Τα τρυβλία σφραγίζονταν με ειδική ταινία (PARAFILM) η οποία εξασφάλιζε στα έντομα επαρκή αερισμό. Το πείραμα επαναλήφθηκε πέντε φορές.

Μετρήσεις θνησιμότητας καταγράφονταν κάθε: 24 ώρες, 2, 6, 7, 10 και 14 ημέρες.

Χρησιμοποιήθηκαν οι εξής συγκεντρώσεις

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





Εικόνα 19 Βιοδοκιμή επί του *Sitophilus oryzae*

### 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ & ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών παρουσιάζονται στις εικόνες και τα διαγράμματα που ακολουθούν. Διαπιστώθηκε η επιτυχής δράση των απομονώσεων που δοκιμάστηκαν επί των ακμαίων του *Sitophilus oryzae*. Η θνησιμότητα ήταν μεγαλύτερη στην απουσία τροφής. Το γεγονός αυτό είναι αναμενόμενο καθώς το *S. oryzae* δεν ζει μεγάλο χρονικό διάστημα χωρίς τροφή. Σε σχετική μελέτη που πραγματοποιήθηκε τον περασμένο χρόνο από τον Ηλιόπουλο και την Παππά, αξιολογήθηκε η διάρκεια ζωής του ακμαίου του *Sitophilus oryzae* (Coleoptera:Curculionidae) σε διάφορα τροφικά υποστρώματα. Συγκεκριμένα μελετήθηκαν οι εξής τροφικές συνθήκες: σπόροι σιταριού, καλαμποκιού, κριθαριού, ρυζιού, σπασμένοι σπόροι καλαμποκιού, μέλι νερό και χωρίς τροφή (τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε θάλαμο με ελεγχόμενες συνθήκες). Τα αποτελέσματα από αυτή τη μελέτη έδειξαν ότι τα ακμαία που τράφηκαν με σπόρους σιταριού, καλαμποκιού, κριθαριού, ρυζιού και σπασμένους σπόρους καλαμποκιού έζησαν περισσότερο από ότι όταν τράφηκαν με μέλι, νερό ή όταν έμειναν νηστικά. Η μικρότερη διάρκεια ζωής, με σημαντική διαφορά, μετρήθηκε στα ακμαία που έζησαν σε πλήρη ασιτία. Σ' αυτή τη διαπίστωση καταλήξαμε κι εμείς με το πείραμα που πραγματοποιήσαμε. Με την προσθήκη τροφής η θνησιμότητα μειώνεται αλλά παραμένει σε υψηλά επίπεδα. Τα αφέκαστα έντομα πάνω σε ψεκασμένο σιτάρι παρουσίασαν τα μικρότερα ποσοστά θνησιμότητας.



Εικόνα 20 . Επάνθιση μυκηλίου του *P. fumosoroseus*

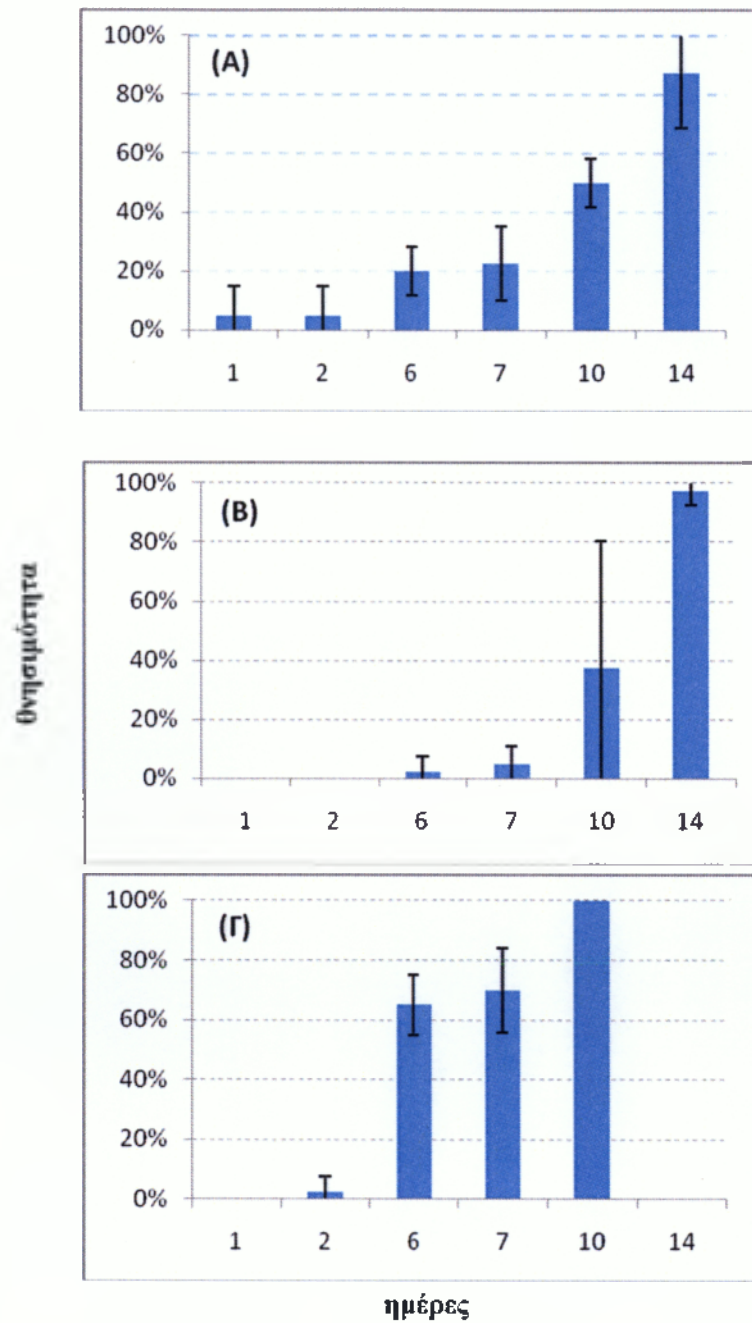


Εικόνα 21 Επάνθιση μυκηλίου του *B. bassiana*.



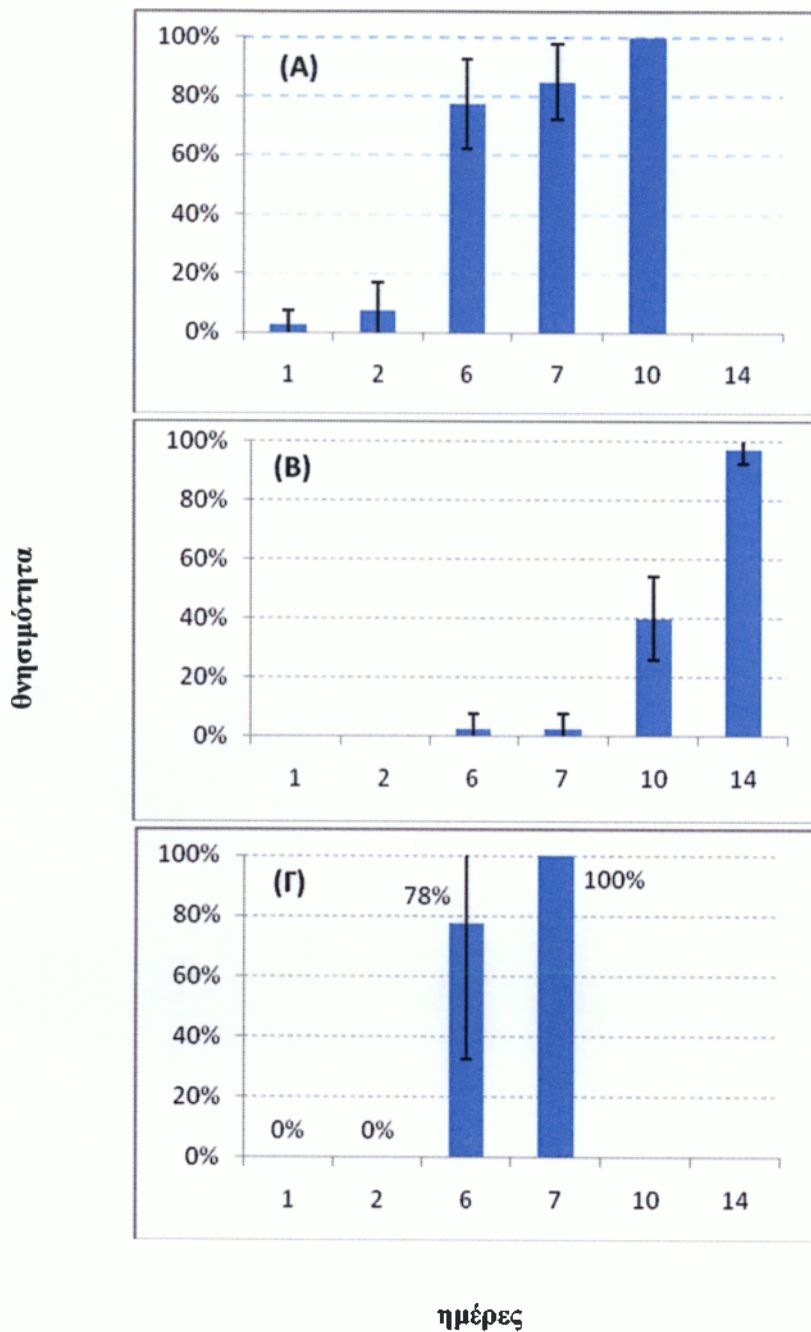


Εικόνα 22 Επάνθιση μυκηλίου του *M. anisopliae*.

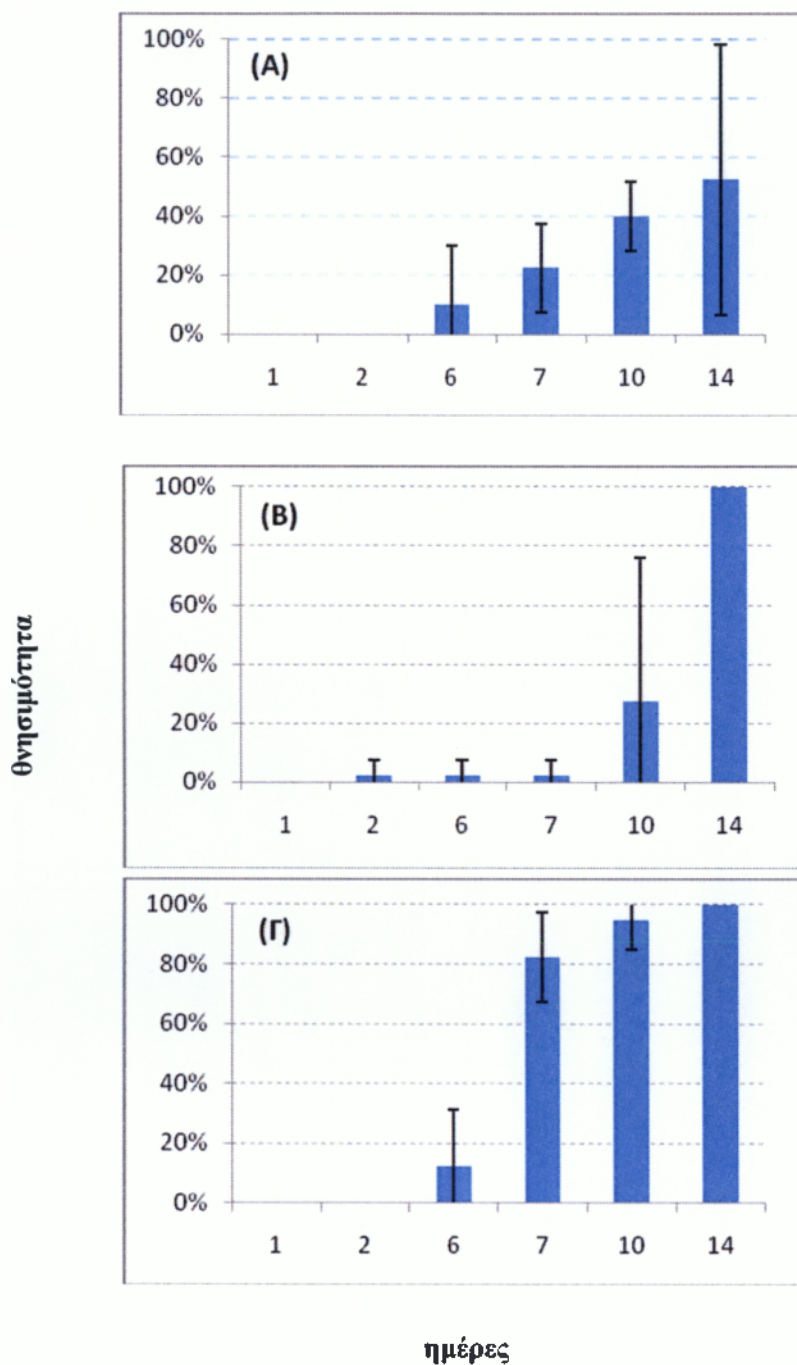


**Εικόνα. 23** Θνησιμότητα ακμαίων *Sitophilus oryzae*, έπειτα από επέμβαση με διάλυμα κονιδίων ( $10^7$ ) *B. bassiana*. (A): με τροφή (σιτάρι), (B): με τροφή (σιτάρι) που έχει ψεκαστεί, (Γ): χωρίς τροφή.

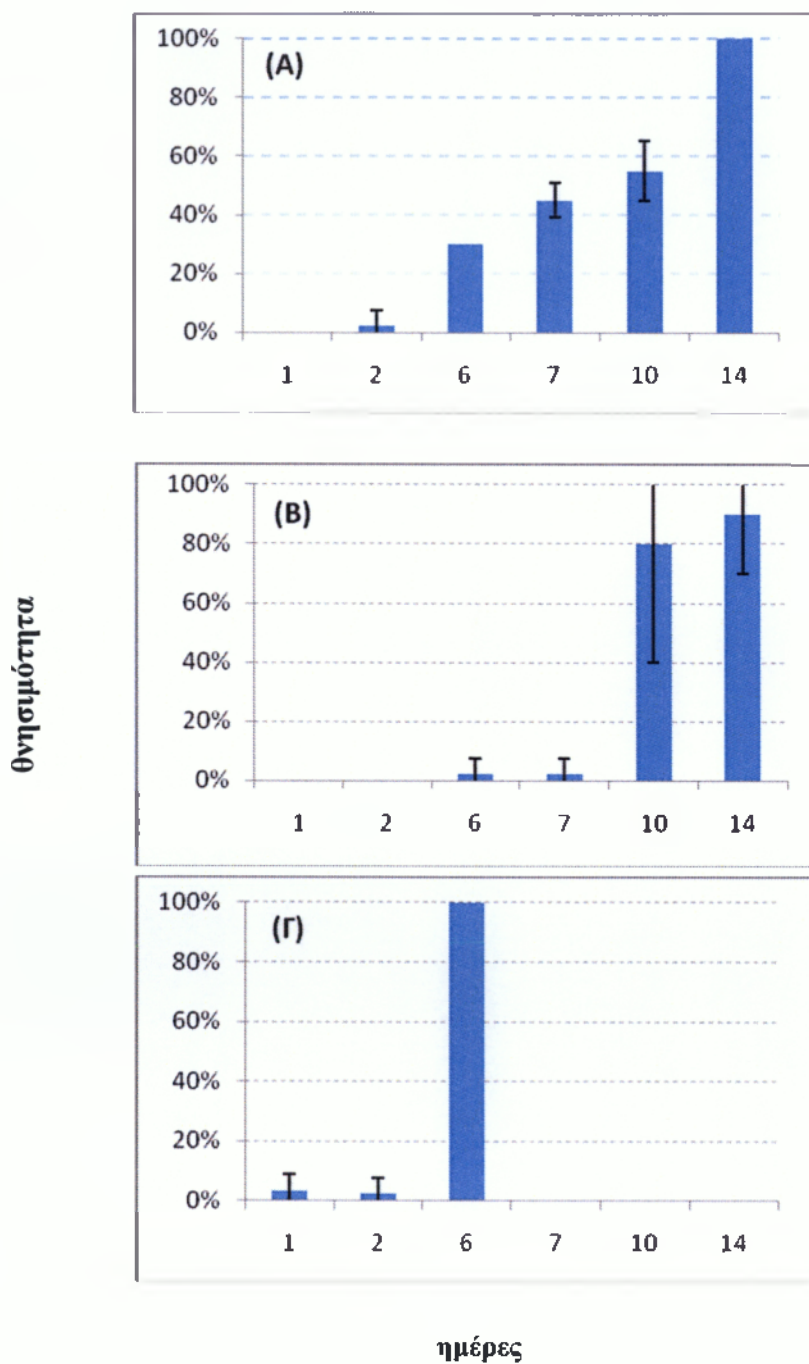




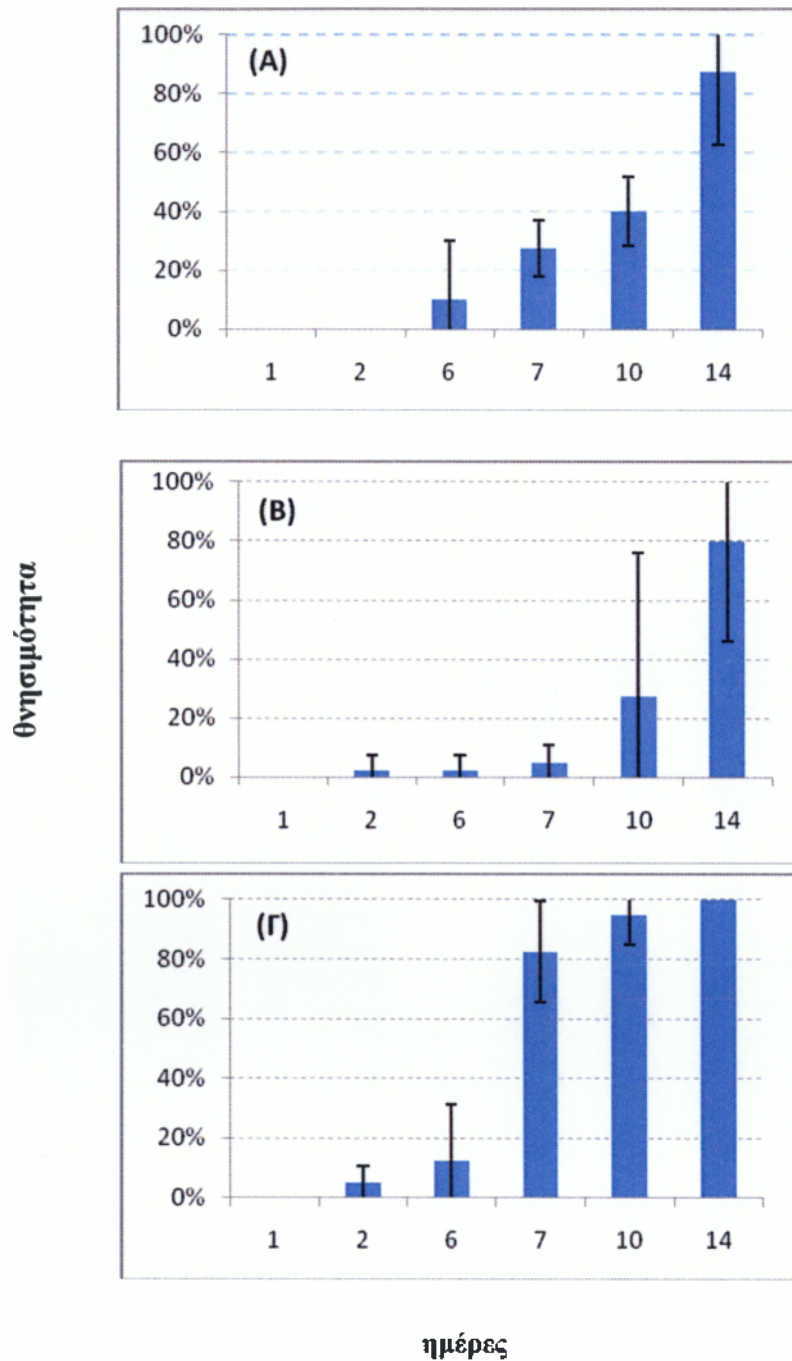
**Εικόνα. 24** Θνησιμότητα ακμαίων *Sitophilus oryzae*, έπειτα από επέμβαση με διάλυμα κονιδίων ( $10^8$ ) *B. bassiana*. (Α): με τροφή (σιτάρι), (Β): με τροφή (σιτάρι) που έχει ψεκαστεί, (Γ): χωρίς τροφή.



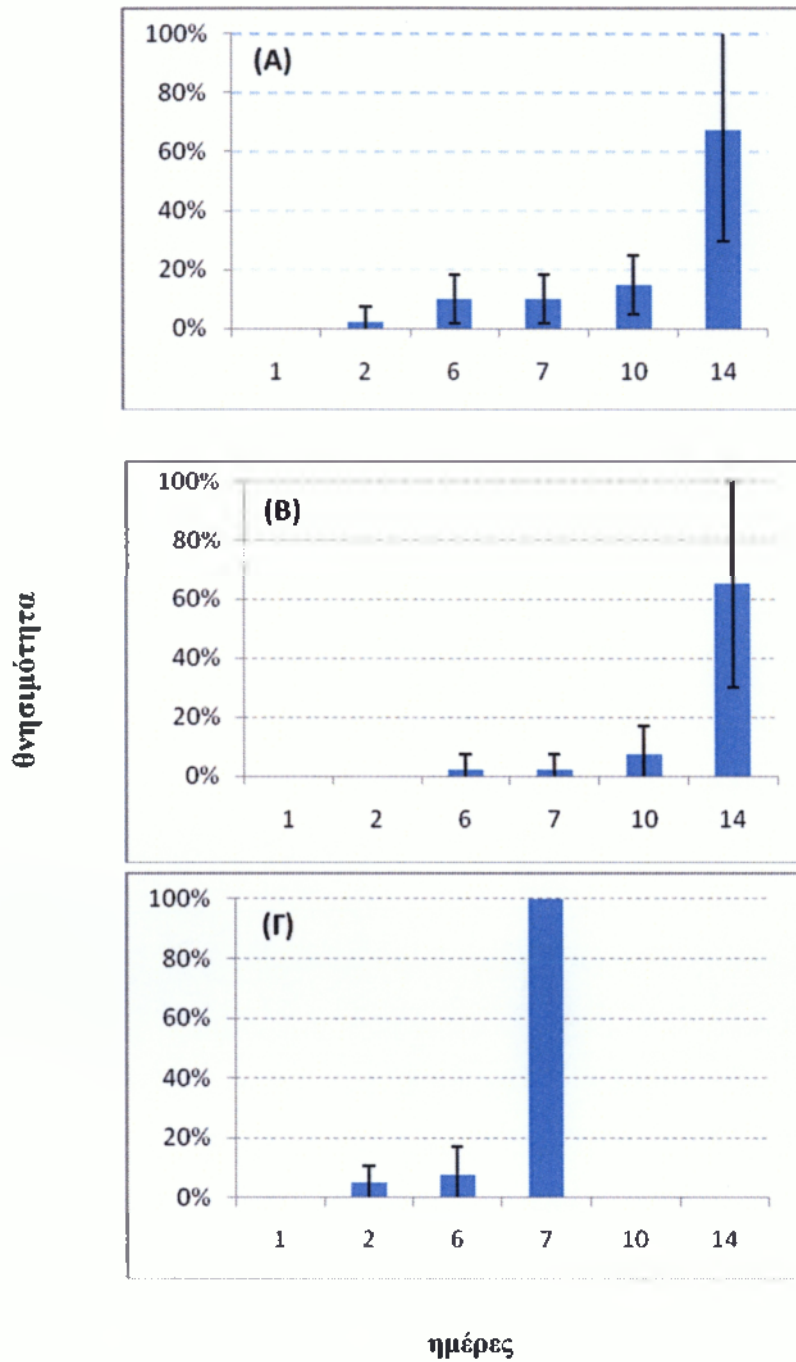
**Εικόνα.25** Θνησιμότητα ακμαίων *Sitophilus oryzae*, έπειτα από επέμβαση με διάλυμα κονιδίων ( $10^7$ ) *M. anisopliae*. (A): με τροφή (σιτάρι), (B): με τροφή (σιτάρι) που έχει ψεκαστεί, (Γ): χωρίς τροφή.



**Εικόνα. 26** Θνησιμότητα ακμαίων *Sitophilus oryzae*, έπειτα από επέμβαση με διάλυμα κονιδίων ( $10^8$ ) *M. anisopliae*. (A): με τροφή (σιτάρι), (B): με τροφή (σιτάρι) που έχει ψεκαστεί, (Γ): χωρίς τροφή.



**Εικόνα. 27** Θνησιμότητα ακμαίων *Sitophilus oryzae*, έπειτα από επέμβαση με διάλυμα κονιδίων ( $10^7$ ) *P. fumosoroseus*. (Α): με τροφή (σιτάρι), (Β): με τροφή (σιτάρι) που έχει ψεκαστεί, (Γ): χωρίς τροφή.



**Εικόνα. 28** Θνησιμότητα ακμαίων *Sitophilus oryzae*, έπειτα από επέμβαση με διάλυμα κονιδίων ( $10^8$ ) *P. fumosoroseus*. (Α): με τροφή (σιτάρι), (Β): με τροφή (σιτάρι) που έχει ψεκαστεί, (Γ): χωρίς τροφή.



Από τα αποτελέσματα που αποκτήθηκαν από την παρούσα μελέτη διαπιστώνουμε ότι οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *B. bassiana*, *M. anisopliae* και *P. fumosoroseus* μπορούν να αποτελέσουν παράγοντες αντιμετώπισης του *Sitophilus oryzae*. Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με αυτά που έχουν αποκτηθεί σε παρόμοιες μελέτες (Kontodimas et al. 2004, 2005, Kavallieratos et al. 2006, Vassilakos et al. 2006, Michalaki et al. 2006, Athnassiou et al. 2008).

Περαιτέρω έρευνα είναι απαραίτητη ώστε να καθοριστούν οι ιδανικές πυκνότητες κονιδίων και η κατάλληλη μορφή σκευάσματος. Σε σχετικές εργασίες προτείνεται η εφαρμογή των κονιδίων υπό μορφή σκόνης που παρασκευάζεται με την ανάμιξη διαλύματος κονιδίων με αλεύρι, στάχτη, κιμωλία και άνθρακα (Kavallieratos et al. 2006, Michalaki et al. 2006, Athnassiou et al. 2008).

Ανακεφαλαιώνοντας με όσα προαναφέραμε στην παρούσα εργασία, οι εντομοπαθογόνοι μύκητες μας είναι απαραίτητοι για την χρησιμοποίησή τους στην βιολογική καταπολέμηση των εντόμων-εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων γιατί:

- Μπορούν να αποτελέσουν διαλύματα με χαμηλή έως ελάχιστη τοξικότητα απέναντι στο περιβάλλον και τους άλλους ζωντανούς οργανισμούς. Η ιδιότητά αυτή τους κατατάσσει στα πλέον κατάλληλα για χώρους με κατοικίδια και μικρά παιδιά.
- Η υπολειμματικότητάς τους στα τρόφιμα είναι ελάχιστη επιτρέποντας την, σχεδόν, άμεση κατανάλωσή τους. Ακολουθώντας πάντα βέβαια τους χρόνους που προβλέπονται από την τελευταία εφαρμογή μέχρι την κατανάλωση
- Ο τρόπος δράσης τους είναι κατά κανόνα εντομοκτόνα επαφή, δηλαδή παραμένουν στην επιφάνεια των προϊόντων κι έτσι μένα απλό πλύσιμο τα πιθανά υπολείμματά τους μπορούν να απομακρυνθούν άμεσα.
- Και το σπουδαιότερο, φυσικά, είναι ότι αναφερόμαστε σε εντομοπαθογόνους μύκητες που προέρχονται από την φύση και δεν είναι προϊόν γενετικής τροποποίησης.

#### 4. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Αθανασίου Χ.Γ., και Μπουχέλος Κ.Θ., (2003) "Κολεόπτερα αποθηκευμένων δημητριακών και συναφών προϊόντων στην Ελλάδα". 8<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο., Χαλκίδα 2-5 Νοεμβρίου 1999., σελ. 215
- Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Dimizas C.B., Vayias B.J., and Tomanovic Z., (2005). "Factors affecting the insecticidal efficacy of the diatomaceous earth formulation SilicoSec against adults of the rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L) (Coleoptera:Curculionidae)" *Appl. Entomol. Zool.* 41 (2):Pages 201-207
- Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Dimizas C.B., Vayias B.J., Tsakiri J.B., Mikeli N.H., Meletsis C.M., Tomanovic Z., (2008). "Persistence and efficacy of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina:Hyphomycetes) and diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera:Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera:Bostrychidae) on wheat and maize", *Crop Protection* 27:Pages 1303-1311
- Cheung, P.Y.K., Grula, E.A., (1982). "In vivo events associated with entomopathology of *Beauveria bassiana* for the corn earworm (*Heliothis Zia*)". *Journal of Invertebrate Pathology* 39, p.p 303-313.
- Copping, L.G. 2001. *The BioPesticide manual, Second edition*. British crop protection council, U.K., p: XIIV-XIVII, 3-154, 161-3, 494-6.
- Copping, L.G., (2001). "The biopesticide manual", Second edition. British crop protection council, U.K., p: XIIV-XIVII, 3-154, 161-163, 494-496.
- Fargues, J., P.-H. Robert and O. Reisinger, 1979. Formulation des productions de masse de l'hyphomycète entomopathogène *Beauveria* en vue des applications phytosanitaires. *Ann. zool. ecol. anim.* 11:Pages 247-257.
- Hassanloui, R.T., Pakdel, A.K., Goettel, M. and Mozaffari, J., (2006). "Variation in virulence of *Beauveria bassiana* isolates and its relatedness to some morphological characteristics". *Biocontrol Science & Technology*, 2006, 16(5/6). p.p. 525-534.

- Ηλιόπουλος Π.Α., και Παππά Α., (2009). "Μελέτη βιολογικών παραμέτρων του *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) σε διάφορα τροφικά υποστρώματα". 13<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο. Αλεξανδρούπολη 3-6 Νοεμβρίου 2009., σελ. 45
- Kavallieratos N.G., Athanassiou C.G., Michalaki M.P., Batta Y.A., Rigatos H.A., Pashalidou F.G., Balotis G.N., Tomanovic Z., Vayias B.J., (2006). "Effect of the combined use of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin and diatomaceous earth for the control of three stored-product beetle species", Crop Protection 25 :Pages 1087-1094
- Kavallieratos N.G., Athanassiou C.G., Saitanis C.J., Kontodimas D.C., Roussos A.N., Tsoutsas M.S., and Anastassopoulou U.A., (2007). "Effect of Two Azadirachtin Formulations against Adults of *Sitophilus oryzae* and *Tribolium confusum* on Different Grain Commodities", Journal of Food Protection, Vol. 70, No. 7, Pages 1627-1632.
- Kavallieratos N.G., Athanassiou C.G., Vayias B.J., Kotzamanidis S., Synodis S.D., (2010). "Efficacy and adherence ratio of diatomaceous earth and spinosad in three wheat varieties against three stored-product insect pests", Journal of Stored Products Research (2010), Pages 1-8.
- Kavallieratos N.G., Athanassiou C.G., Vayias B.J., Mihail S.B., and Tomanovic Z., (2009). "Insecticidal Efficacy of Abamectin Against Three Stored-Product Insect Pests: Influence of Dose Rate, Temperature, Commodity, and Exposure Interval", J. Econ. Entomol. 102 (3):Pages 1352-1359
- Keller, S., A.-I. David-Henriet and C. Schweizer, 2000. Insect pathogenic soil fungi from *Melolontha melolontha* control sites in the canton Thurgau. *Bull. IOBC/WPRS* 23(8): 73–78.
- Koehler P.G., (2008) "Rice Weevil, *Sitophilus oryzae* (Coleoptera:Curculionidae). Univ. of Florida. IFAS Extension ENY261.
- Kontodimas, D.C., Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G. and Anagnou-Veroniki, M., 2005. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against *Sitophilus oryzae* (L.) after short exposures on treated wheat. 10<sup>th</sup> European Meeting of the IOBC/WPRS Working Group "Insect Pathogens and Insect

*Parasitic Nematodes*': "Invertebrate Pathogens in Biological Control: Present and Future", 10 – 15 June, 2005, Locoronto, Bari, Italy.

Kontodimas, D.C., Kavallieratos, N.G., Mantzoukas, S.D., Athanassiou, C.G. & Anagnou-Veroniki, M., 2004. Effect of *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* and azadiractin compounds on *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium confusum* Du Val in stored rye. *37th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, 7th International Conference on Bacillus thuringiensis, August 1-6, 2004, Helsinki, Finland.*

Mietkiewski, R.T., J.K. Pell and S.J. Clark, 1997. Influence of pesticide use on the natural occurrence of entomopathogenic fungi in arable soils in the UK: Field and laboratory comparisons. *Biocontrol Science and Technology* 7: Pages 565–575.

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

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

Sinha, R.N & F.L. Watters, 1985. Insect pests of flourmills, grain elevators and feed mills and their control. *Canadian Government Publishing Center, Ottawa, Canada.* pp.290.

Solomon, Eldra, Linda Berg, Diana Martin. 2002. *Biology*. Brooks/Cole.

Suzuki, A., H. Taguchi, and S. Tamura. 1970. Isolation and structure elucidation of three new insecticidal cyclodepsipeptides, destruxins C and D and desmethyldestruxin B, produced by *Metarrhizium anisopliae*. *Agric. Biol. Chem. (Tokyo)* 34:Pages 813-816.

Suzuki, A., K. Kawakami, and S. Tamura. 1971. Detection of destruxins in silkworm larvae infected with *Metarrhizium anisopliae*. *Agric. Biol. Chem. (Tokyo)* 35: Pages 1641-1643

Suzuki, A., S. Kuyama, Y. Kodair, and S. Tamura. 1966. Structural elucidation of destruxin A. *Agric. Biol. Chem. (Tokyo)* 30: Pages 517-518.

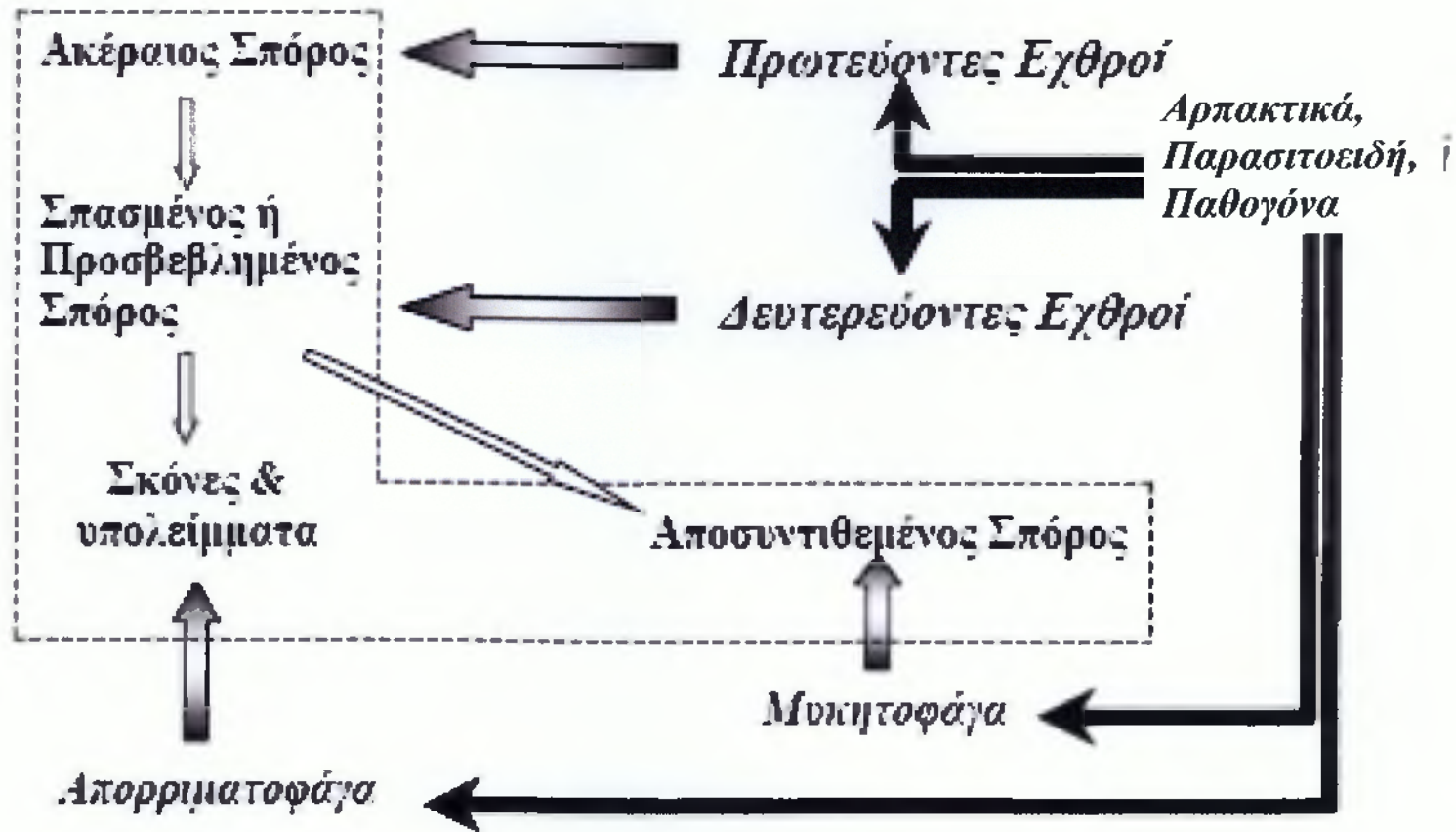


- Tanada, Y. 1993. *Epizootiology of infectious diseases*, In: Insect Pathology, Ed: Steinhaus E, Academic press, Inc, USA., p: 461-468.
- Τζανακάκης, Μ.Ε. 1995. *Εντομολογία*. University studio press, Θεσσαλονίκη, 385 σελ.
- Vassilakos T.N., Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Dimizas C.B., Vayias B.J., (2006). "Influence of temperature on the insecticidal effect of *Beauveria bassiana* in combination with diatomaceous earth against *Rhyzopertha dominica* and *Sitophilus oryzae* on stored wheat"., *Biological Control* 38., Pages 270-281
- Zimmermann, G., 1986. The *Galleria* bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. *J. Appl. Ent.* 102: Pages 213–215.

## **5. ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ**

### Το Οικοσύστημα των αποθηκών

Γενικό πλέγμα τροφικών σχέσεων των εχθρών των αποθηκευμένων σιτηρών (Haines, 1991)



## ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ

### *Προληπτικά μέτρα*

- Δομή και κατασκευή της αποθήκης
- Υγιεινή
- Ψύξη
- Ξήρανση
- Ερμητική αποθήκευση
- Μικρός χρόνος αποθηκεύσεως
- Συσκευασία  
INSECT - PROOF

### *Εγκαιρη διαπίστωση προσβολής*

- Οπτικός έλεγχος
- Έλεγχος σε :
  - θερμοκρασία
  - υγρασία
  - πυκνότητα προϊόντος
  - κίνηση εντόμων
  - απώλεια προϊόντος
  - συγκέντρωση CO<sub>2</sub>
- χρήση παγίδων

### *Θεραπευτικά μέτρα*

- Φυσικές μέθοδοι
- Βιολογική Καταπολέμηση
- Βιοτεχνολογικές μέθοδοι
- Χημική Καταπολέμηση

(Adler, 1996)



**Βασικά Χαρακτηριστικά των Σημαντικότερων Παθογόνων  
με Δυνητική Ικανότητα Ελέγχου των Εντόμων Αποθηκών (Brower *et al.*, 1996)**

Παθογόνο	Τρόπος Προσβολής	Τρόπος Δράσης	Τρόπος Εκτροφής	Συνηθέστερες μορφές χρησιμοποιούμενες για Βιολ.Κατ.	Παρούσα Κατάσταση
Βακτήρια	Απορρόφηση	Διείσδυση στο κυκλοφορικό σύστημα, παραγωγή τοξινών	Ζύμωση	Σπόρια	Το <i>B. l.</i> έχει εγκριθεί ως προστατευτικά σπορίων. Σταθερότητα. Προβλήματα ανθεκτικότητας. Δυνατότητα δημιουργίας κολών φυλών με διαφορετική παθογένεια σε διάφορους ξενιστές. Κυρίως για Λεπιδοπτερα.
Ιοί	Απορρόφηση	Διείσδυση στα κύτταρα	Υποχρεωτικά παράσιτα, παράγονται σε ζωντανά έντομα ή μέσω καλλιέργειας κυττάρων	Προσβεβλημένα έντομα	Πολλά είδη απομονωμένα κυρίως από Λεπιδοπτερα. Σχετικά σταθερά. Αποτέλεσματικά σε αρκετές περιπτώσεις. Μακρόχρονη προστασία. Επιτυχείς προσπάθειες μαζικής εξαελεύσεως.
Πρωτόζωα	Απορρόφηση	Διείσδυση στα κύτταρα	Υποχρεωτικά παράσιτα, παράγονται σε ζωντανά έντομα, μικρής κλίμακας, (μόνο εργαστηριακή εφαρμογή)	Σπόρια	Πολλές περιγραφικές μελέτες και απομονώσεις. Πολλά ενδιαφέροντα είδη δεν έχουν μελετηθεί. Κατάλληλα για περιοδικές εξαελεύσεις.
Μύκητες	Επαφή ή Απορρόφηση	Ανάπτυξη μυκηλίσσας, παραγωγή μεταβολιτών	Ζύμωση	Σπόρια	Ευρύ φάσμα ξενιστών. Επιτυχής μαζική εκτροφή. Περίοδος αποθηκώσεως μικρή. Ελάχιστες μελέτες αξιολόγησής. Το <i>Beauveria bassiana</i> χρησιμοποιείται στο εμπόριο.
Νηματώδεις	Επαφή ή Απορρόφηση	Διάτρηση της δερμίδας	Συνθετικό υπόστρωμα, ζωντανά έντομα	Παθογόνα Στάδια	Λίγες απομονώσεις. Καμία μελέτη αξιολόγησής. Απαιτούν πολύ υψηλή σχετική υγρασία.