

ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ



ΣΧΟΛΗ: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ: ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ: ΦΥΤΩΝ ΜΕΓΑΛΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

**ΞΕΝΑ ΕΙΔΗ: Μελέτη και Βιολογική Αντιμετώπιση της *Tuta absoluta*
(Lepidoptera: Gelechiidae) στην Μεσόγειο**

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΤΗΣ ΙΟΥΛΙΑ ΚΥΡΙΑΚΙΔΟΥ (170/05)



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΥΓΗΤΗΣ: ΠΑΛΑΤΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2013

**ΑΛΕΞΑΝΔΡΕΙΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ**



ΣΧΟΛΗ: ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ: ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΤΟΜΕΑΣ: ΦΥΤΩΝ ΜΕΓΑΛΗΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ

ΞΕΝΑ ΕΙΔΗ: Μελέτη και Βιολογική Αντιμετώπιση της Tuta absoluta
(Lepidoptera: Gelechiidae) στην Μεσόγειο

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΤΗΣ ΙΟΥΛΙΑ ΚΥΡΙΑΚΙΔΟΥ (170/05)
ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΥΓΗΤΗΣ: ΠΑΛΑΤΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ

ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗ 2013

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο εντομολογίας του πανεπιστημίου του Τορίνο όπου επίσης ολοκλήρωσα εξάμηνη πρακτική άσκηση.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέπων καθηγητή Γεώργιο Παλάτο για την καθοδήγηση και την άριστη επικοινωνία που είχαμε κατά το διάστημα αυτό. Θέλω επίσης να ευχαριστήσω θερμά την Δρ. Chiara Ferracini επιβλέπων της πρακτικής μου άσκησης και τον συνεργάτη μου Nicola Boddino για την εξαιρετική συνεργασία μας αλλά και όλα τα υπόλοιπα μέλη του εργαστηρίου. Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ για τα μέλη της εξεταστικής επιτροπής και όλους εσάς που παρευρίσκεστε εδώ σήμερα.

Θα ήθελα, επιπλέον, να ευχηθώ υπομονή σε όλους τους τωρινούς και μελλοντικούς συναδέλφους διότι το έργο που μας έχει ανατεθεί είναι δύσκολο.

Αφιερώνω αυτήν την εργασία στην οικογένεια μου που με στήριξε όλα αυτά τα χρόνια.

Θεσσαλονίκη. Μάρτιος, 2013

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ	1
ABSTRACT	2
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ	3
1.1 Τι είναι τα Ξένα είδη : Η περίπτωση της <i>Tuta absoluta</i> (LEPIDOPTERA:GELECHIIDAE).....	3
1.2 Γενικά Χαρακτηριστικά και δράση της <i>T. absoluta</i>	5
1.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά της <i>T. absoluta</i>	6
1.4 Οικολογία της <i>T. absoluta</i>	7
1.5 Η είσοδος και εξάπλωση της <i>T. absoluta</i> στην Ευρώπη.....	10
1.6 Αντιμετώπιση και καταπολέμηση της <i>T. absoluta</i>	11
1.7 Βιολογική καταπολέμηση της <i>T. absoluta</i> στην Μεσόγειο.....	12
2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ	14
2.1 ΥΛΙΚΑ.....	14
2.1.1 Συλλέκτης εντόμων.....	14
2.1.2 Δοκιμαστικοί σωλήνες.....	14
2.1.3 Εντομολογικοί θάλαμοι.....	15
2.1.4 Θάλαμοι ελεγχόμενων συνθηκών – Θερμοθάλαμοι.....	15
2.1.5 Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.....	16
2.1.6 Ολφακτόμετρο.....	16
2.2 ΜΕΘΟΔΟΙ.....	17
2.2.1 Μεταχείριση, εκτροφή και αναπαραγωγή της <i>T. absoluta</i> (<i>Lepidoptera: Gelechiidae</i>).....	17
2.2.2 Εγκατάσταση πληθυσμών εντόμων-ξενιστών: <i>Cosmopterix pulchrimella</i> (<i>Lepidoptera : Cosmopterigidae</i>).....	18
2.2.3 Παρασιτοειδή: <i>Necremnus near artynes</i> , <i>Necremnus near Tidius</i> (<i>Hymenoptera: Eulophidae</i>).....	22
2.2.4 Εγκατάσταση φυτών-ξενιστών.....	26
3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ	28
3.1 Πειράματα παρασιτισμού – Δημιουργία πληθυσμών και παρατήρηση.....	29
3.2 Πειράματα παρασιτισμού – Συμπεριφορά παρασιτοειδούς.....	31

3.3 Φύλαξη ωών και ενηλίκων.....	32
3.4 Έλεγχος γονιμότητας (MATING TEST).....	32
3.5 Ολφακτομετρική ανάλυση.....	33
4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	34
4.1 Πειράματα παρασιτισμού – Αποτελέσματα παρατηρήσεων.....	34
4.2 Βιομετρία – Στατιστική Ανάλυση.....	37
4.3 Πειράματα παρασιτισμού – Αποτελέσματα ωστοκίας.....	37
4.4 Πειράματα παρασιτισμού – Αποτελέσματα ολφακτομετρικών μετρήσεων.....	38
5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ και ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	39
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	41
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	46

ΙΟΥΛΙΑ ΚΥΡΙΑΚΙΔΟΥ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), ξένο είδος εισβολέας από την Λατινική Αμερική, πρωτοαναφέρθηκε στην Ευρώπη, στην Ισπανία το 2006 και στην νότια Ιταλία το 2008 και ήδη αποτελεί έναν από τους μεγαλύτερους εχθρούς την τομάτας, του κύριου ξενιστή της. Μετά από μελέτες σε πολλά γηγενή είδη της Λατινικής Αμερικής ως προς την βιολογική καταπολέμηση του εχθρού η έρευνα συνεχίζεται και στη Μεσόγειο. Ντόπιοι πληθυσμοί αρπακτικών και παρασιτοειδών μελετήθηκαν στην περιοχή της Μεσογείου και αρκετοί έδειξαν ήδη ικανοποιητικά αποτελέσματα στην καταπολέμηση αυτού του εξωτικού εντόμου. Επιπλέον πρόσφατη βιβλιογραφία (Loni et al. 2011, Rizzo et al. 2011, Zappala et al. 2011) δείχνει την ραγδαία αύξηση των γηγενών ειδών ως προς την προτίμηση τους στον νέο ξενιστή αποκαλύπτοντας ένα γρήγορο ρυθμό προσαρμογής στον νέο οργανισμό.

Σκοπός της εξάμηνης πρακτικής άσκησης που πραγματοποιήσα στο εργαστήριο εντομολογίας του πανεπιστημίου του Τορίνο (DI.VA.R.PA) στην Ιταλία ήταν να αξιολογήσουμε την αποτελεσματικότητα ντόπιων Ιταλικών και κατ' επέκταση Μεσογειακών πληθυσμών, παρασιτοειδών και αρπακτικών, με απώτερο σκοπό την βιολογική αντιμετώπιση της *T. absoluta*. Από τους ντόπιους πληθυσμούς παρασιτοειδών που μελετήθηκαν σε παλαιότερες έρευνες ένα από τα πιο άφθονα είδη, το *Necremnus Near artynes* και το συγγενικό του, το *N. Near tidius* (Walker) (Hymenoptera, Eulophidae) μελετήθηκαν περαιτέρω με εργαστηριακά πειράματα παρασιτισμού και έδειξαν πολύ θετικά αποτελέσματα τα οποία και θα σας παρουσιάσω στην παρούσα εργασία.

Παρ'οτι βέβαια τα εργαστηριακά αποτελέσματα ως αυτή την στιγμή είναι πολύ θετικά για αυτούς τους αυτόχθονους Ιταλικούς πληθυσμούς παρασιτοειδών, υπάρχουν ωστόσο περαιτέρω παράμετροι που θα πρέπει να μελετηθούν για να γνωρίσουμε την πραγματική εφαρμογή βιολογικής καταπολέμησης στον αγρό.

Λέξεις κλειδί: τομάτα, φυλλορρήκτης, Παρασιτοειδή, *T. absoluta*, *N. artynes*, *N. tidius*

Alien species: A study on biological control of Tuta absoluta (Lepidoptera:Gelechiidae) in the Mediterranean area

IOULIA KYRIAKIDOU

ABSTRACT

Tuta absoluta (Lepidoptera: Gelechiidae), an alien species that invaded Europe from Latin America, was first reported in Spain in 2006 and later in South Italy in 2008. Since then *T. Absoluta* became one of the major pests of tomato, its main host-plant. After extensive research in many native Latin American species regarding the biological control of the pest the research continues here, the Mediterranean area. Native parasitoid and predator populations are and have been investigated in the Mediterranean zone. Many of them have shown quite good results for the biological control of *T. Absoluta*. Furthermore, recent literature (Loni et al. 2011, Rizzo et al. 2011, Zappala et al. 2011) indicates a rapid increase of the native species -parasitoid and predators- which have shown a preference in that host, revealing that way a rapid rhythm of adaptation in the new organism.

The purpose of the six-month training position I completed in the laboratory of Entomology of The Turin University (DI.VA.R.PA) in Italy, was to evaluate the effectiveness of native Italian and by extension Mediterranean species with ultimate aim to biologically control *T. Absoluta*. From the native parasitoid populations that have been investigated in previous research of the University one of the most abundant species, *Necremnus near artynes* and its kin *N. near tidius* (Walker) (Hymenoptera, Eulophidae) were studied further with parasitisation trials and gave some very good results which I will present you in that project.

Even though, of course, the laboratory results are very satisfactory until now regarding the efficiency of those native insects, there are also more parameters to take into consideration and more investigation needs to be made before we know the real application possibility of such methods in real agricultural systems.

Key words: tomato, leaf miner, parasitoid, T. absoluta, N. artynes, N. Near tidius

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Τι είναι τα Ξένα είδη :

Η περίπτωση της *Tuta absoluta* (LEPIDOPTERA:GELECHIIDAE)

Τα είδη που εισέρχονται σε ένα οικοσύστημα από ένα άλλο κι εγκαθίστανται, ονομάζονται ξένα ή ξενικά ή αλλόχθονα (*alien, exotic, non-local species*). Το πρόβλημα με αυτά τα είδη εμφανίζεται κυρίως όταν η είσοδος είναι βίαιη ή ξαφνική. Όταν δηλαδή έχουμε εισβολή και τα νέα είδη, χωροκατακτητικά ή χωροεπεκτατικά, αρχίζουν να αναπαράγονται, πιέζοντας ή κι εξαφανίζοντας τα γηγενή- αυτόχθονα είδη (ΚΠΕ Δραπετσώνας).

Η άφιξη ενός νέου είδους σ' ένα οικοσύστημα λέγεται αποικισμός. Βασική προϋπόθεση για να εδραιωθεί το νέο είδος εκεί, είναι η ανάπτυξη φυσικού πληθυσμού. Όταν εδραιωθεί ο πληθυσμός του νεοαφιχθέντος είδους, λέμε ότι εποίκισε το οικοσύστημα και το είδος λέγεται έποικος (ΚΠΕ Δραπετσώνας).

Σε αντίθεση με άλλες ομάδες ζώων και φυτών, καμία λίστα δεν είχε ποτέ δημιουργηθεί σε καμία Ευρωπαϊκή χώρα για τα ξενικά είδη που έχουν εισβάλει στην Ευρώπη από άλλες Ηπείρους έως πρόσφατα, το 2002. Τα ξενικά αυτά είδη έπειτα από καταγραφή του Ευρωπαϊκού προγράμματος DAISIE ξεπερνούν τα 1.296 καθώς ακόμα 221 παγκόσμια είδη δεν έχουν ταυτοποιηθεί ακόμα. Το 94% των ειδών που έχουν εισβάλει σε ένα άλλο οικοσύστημα εκπροσωπούν τα αρθρόποδα έντομα (φύλλο:αρθρόποδα, κλάση: *insecta*) καθώς είναι πολύ εύκολη η "λαθραία" μεταφορά τους μέσω του εμπορίου.

Τα ξένα είδη περιγράφονται από από το συνέδριο βιοποικιλότητας (CBD: <http://www.cbd.int>) ως "είδη, υποείδη ή χαμηλότερης ταξονομίας οργανισμούς που διαδόθηκαν έξω από το περιβάλλον τους (παρελθοντικό ή τωρινό) και που περιλαμβάνουν όργανα αναπαραγωγής για την εξάπλωσή τους" (COP 6, απόφαση VI/23) . Είδη εισβολείς (IAS) περιγράφονται "τα είδη εκείνα που όταν εισάγονται σε ένα νέο περιβάλλον εξαπλώνονται απειλούν την βιοποικιλότητα" (COP 6, απόφαση VI/23).

Υπάρχει μια εμφανής έλλειψη ενημέρωσης και γνώσης ως προς την αντιμετώπιση των αγνώστων αυτών εντόμων και έτσι μόνο ένα μικρο ποσοστό έχει μελετηθεί από τους επιστήμονες. Τα οικονομικά προβλήματα που προκαλούνται δε, είναι πολύ μεγάλα. Τα 1306 αλλόχθονα είδη ταξινομούνται σε 16 διαφορετικές τάξεις. Τα πρωτεία κατέχουν τα Coleoptera και Hemiptera με ποσοστό 29% και 26% αντίστοιχα. Ακολουθούν τα Hymenoptera (15%) και στην τέταρτη θέση τα Lepidoptera (10%) (Roques et al., 2009).

Ως ένα νέο ξενικό είδος εισβολέας, γηγενής πληθυσμός της Ν. Αμερικής η *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) και ποιο συγκεκριμένα με καταγωγή από το Περού έχει υπάρξει ένας από τους σοβαρότερους εχθρούς της τομάτας (*Solanum lycopersicum L.*) οικογένεια: Solanaceae αλλά και σε άλλα είδη της ίδιας οικογένειας από το 1970 και πλέον είναι εξαπλωμένη στην Αργεντινή, Βολιβία, Βραζιλία, Χιλή, Κολομβία, Εκουαδόρ, Παραγουάη, Περού, Ουρουγουάη και Βενεζουέλα (EPPO 2005).

Το 2006 μεταφέρθηκε στην Ισπανία (Urbaneja et al. 2007) και τα τελευταία χρόνια έχει εξαπλωθεί σε όλες τις γειτονικές μεσογειακές χώρες συμπεριλαμβανόμενης και της Ελλάδας. Στην Ιταλία πρωτοεμφανίστηκε το 2008.

Η *T. absoluta* θεωρείται ήδη ένας πολύ σοβαρός εχθρός στην μεσόγειο καθώς εκτός από την τομάτα που είναι και ο κύριος ξενιστής της κρούσματα αναφέρθηκαν και σε πολλά άλλα είδη του γένους *Solanum*. Στους επόμενους πίνακες μπορούμε να δούμε την συστηματική ταξινόμηση του εντόμου (Πίνακας 1) καθώς επίσης και τα φυτά-ξενιστές που προσβάλλει (Πίνακας 2).

Πίνακας 1: συστηματική ταξινόμηση της *T. absoluta*

Πίνακας 2: Λίστα φυτών που προσβάλλει η *T. absoluta*

Βασίλειο	Ζωικό	Κοινό Όνομα	Επιστημονικό Όνομα
Συνομοταξία	Αρθρόποδα	Καπνό	<i>Nicotiana spp</i>
Κλάση	Έντομα	Τομάτα ¹	<i>Solanum lycopersicum L.</i>
Τάξη Λεπιδόπτερα	Λεπιδόπτερα	Μελιτζάνα ²	<i>Solanum melongena L.</i>
Υποτάξη	Glossata	Πιπεριά	<i>Capsicum annum</i>
Οικογένεια	Gelechiidae	Πατάτα ³	<i>Solanum tuberosum</i>
Υποοικογένεια	Gelechiinae	Φασόλι ⁴	<i>Faceolous vulgaris</i>
Γένος	<i>Tuta</i>	Αγριοτοματιά	<i>Solanum Nigrum</i>
Είδος	<i>T. absoluta</i>	Σπαθόχορτο	<i>Solanum eleagnifolium Cav</i>
Πλήρες Όνομα	<i>Tuta absoluta</i> (Meyrick 1917)	Τατούρα	<i>Datura ferox L.</i>
Κοινό όνομα	Φυλλορήκτης της τομάτας	Αγριο Καπνό	<i>Nicotiana glauca Graham</i>

Πηγή: Πηγή: **Tuta USDA, 2012**

Πηγή: **EPPO 2005,2009**

1 Προσβάλλει φύλλα, οφθαλμούς, βλαστούς, στήμονες, άνθος και καρπό.

2 Προσβάλλει τα φύλλα και τους στήμονες. Δεν έχει διαπιστωθεί η ζημία σε καρπό.

3 Φύλλα και κόνδυλο.

4 Παρουσιάζει μια αλλαγή προτίμησης του φυτού ξενιστή από Solanaceae σε Fabaceae.

Η *T. absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) πρωτοπεριγράφηκε το 1917 από τον Meyrick ως *Phthorimaea absoluta*, βάση μεμονωμένων εντόμων που συλλέχθηκαν στο Huancayo (Περού). Αργότερα αναφορά έγινε με τα όνοματα *Gnorimoschema absoluta* (Clarke 1962), *Scrobipalpus absoluta* (Povolny) ή *Scrobipalpuloides absoluta* (Povolny) αλλά τελικά περιγράφηκε στο γένος *Tuta* ως *T. absoluta* από τον Povolny το 1994 (Barrientos et al. 1998).

1.2 Γενικά Χαρακτηριστικά και δράση της *T. absoluta*

Πρόκειται για ένα μικροσκοπικό νυχτόβιο Λεπιδόπτερο το οποίο περνά όλο το στάδιο της λάβρας στο εσωτερικό των φύλλων. Η λάβρα γεννιέται και τρέφεται από το μεσόφυλλο δημιουργώντας έτσι μεγάλες στοές στο πέρασμα της με αποτέλεσμα να μειώνετε η φωτοσυνθετική ικανότητα του φυτού. Στην συνέχεια οι λάρβες εισέρχονται στους ακραίους οφθαλμούς και φρούτο. Η απώλεια μπορεί να φτάσει το 80-100 % καταστρέφοντας την παραγωγή της φρέσκιας τομάτας αλλά και την παραγωγή για μεταποίηση (Desneux et al. 2010). Αφότου ενηλικιωθεί η δραστηριότητα της λαμβάνει μέρος νυχτερινές ώρες, κυρίως τα ξημερώματα πριν την ανατολή του ηλίου. Το ενήλικο θηλυκό εναποθέτει τα ωά του στα φύλλα του φυτού. Υπολογίζετε ότι ένα και μόνο θηλυκό μπορεί να εναποθέσει έως 260 ωά στην ζωή του (EPPO 2005).

Η αντιμετώπιση της *T. absoluta* όπως και όλων των φυλλορήκτων είναι πολύ δύσκολη λόγω του τρόπου δράσης της και της αδυναμίας χρήσης χημικών σκευασμάτων που οφείλετε σε αυτήν. Διαφυλλικοί ψεκασμοί θεωρούνται εξαιρετικά επικίνδυνοι αφού η λάβρα βρίσκεται μέσα στο φύλλο. Επιπλέον εξαιτίας της ανθεκτικότητας που έχει αναπτυχθεί σε πολλά εμπορικά σκευάσματα αλλά και δυσάρεστες παρενέργειες σε πολλούς ωφέλιμους οργανισμούς και στο περιβάλλον γενικότερα μια διαφορετική προσέγγιση, η βιολογική αντιμετώπιση της *T. absoluta*, κρίνεται πλέον απαραίτητη (C. Ferracini et al. 2012).



Εικόνα 1: Ενήλικο έντομο *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae).
(Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)



Εικόνα 2: Ζημιά σε καρπό και φύλλο τομάτας από λάβρα *T. absoluta*
(Πηγή: <http://www.google.it/searchq=tomato+tuta+absoluta>)

1.3 Μορφολογικά χαρακτηριστικά της *T. absoluta*

Η μορφολογική περιγραφή ανά στάδιο του εντόμου και για όλο τον βιολογικό του κύκλο παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα που έχει δοθεί από το Gruppo di lavoro specifico of comitato fitosanitario Nazionale Italiano το 2009.

Πίνακας 3: Μορφολογικά χαρακτηριστικά της *T. absoluta* σε διάφορα στάδια του βιολογικού της κύκλου.

<u>Στάδιο</u>	<u>Μέγεθος</u>	<u>Χρώμα</u>
ωό	Κυλινδρικό 0,22X0,38 mm	Κιτρινοπράσινο διαυγές
Λάρβα 1ου σταδίου	0,4-0,6 mm	Ωχρό-κίτρινο με σκούρη κεφαλή
Λάρβα 2ου - 4ου σταδίου	7-8 mm (στο τέταρτο στάδιο)	Πρασινωπό ή και με αποχρώσεις του ροζ.
Πούπα	4,2 mm στα αρσενικά και 4,8 mm στα θηλυκά.	Πράσινο στην αρχή που στην συνέχεια αλλάζει ως σκούρο καφέ.
Ενήλικο	5,7 mm μήκος σώματος και 9-11 mm άνοιγμα πτερών.	Σκούρες και ανοιχτές αποχρώσεις του καφέ.

Πηγή: Gruppo di lavoro specifico of comitato fitosanitario Nazionale Italiano, 2009

1.4 Οικολογία της *T. absoluta*

Η *T. absoluta* είναι ένα ολομετάβολο τέλειο έντομο. Ο βιολογικός της κύκλος αποτελείται από τέσσερα στάδια: ωό, Λάρβρα, πούπα και ενήλικο. Τα ενήλικα θηλυκά συνήθως εναποθέτουν τα ωά τους στην κάτω επιφάνεια των φύλλων, στους οφθαλμούς ή και τους καρπούς του φυτού. Οι νεαρές λάρβες μετά στην εκκόλαψη τους τρέφονται με το εσωτερικό καρπών και φύλλων δημιουργώντας έτσι στοές που μειώνουν αισθητά την φυλλική επιφάνεια, την φωτοσυνθετική ικανότητα και την ποιότητα του καρπού.



Εικόνα 3: Στοά σε φύλλο τομάτας που προκλήθηκε από *T. absoluta*. (Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)

Η **λάρβρα** έχει τέσσερα καλά διαχωρισμένα στάδια με διαφορετικό μέγεθος και χρώμα και ζει γύρω στις 11 μέρες (Estay, 2000). Έπειτα από την εκκόλαψη του αυγού η λάρβρα περνάει όλη της την ζωή στο εσωτερικό του φύλλου και των καρπών, τρεφόμενη από αυτό και δημιουργώντας μεγάλες στοές στο πέρασμα της. Στο τελευταίο τους στάδιο συνήθως τις βρίσκουμε κρεμασμένες από μέρη του φυτού με μία λεπτή μεταξωτή ίνα, στο έδαφος ή και στο εσωτερικό των φύλλων όπου και νυμφώνεται (Desneux et al. 2010).



Εικόνα 4: Πούπα *T.absoluta*. (Πηγή: <http://www.google.it/searchq=tomato+tuta+absoluta>)

Τα ενήλικα μπορούν να εντοπιστούν σε μεσογειακές συνθήκες κατά την διάρκεια όλου του χρόνου (Vercher et al. 2010). Ο Μ.Ο. Ζωής των ενήλικων υπολογίζεται σύμφωνα με παλαιότερη έρευνα και βιβλιογραφία (Fernandez and Montagne, 1990) που αναφέρει ότι σε εργαστηριακές συνθήκες (θεωρώντας 25°C θερμοκρασία και 75% σχετική υγρασία) τα ενήλικα αρσενικά ζουν περισσότερο από τα θηλυκά. Συγκεκριμένα τα συζευγμένα αρσενικά έζησαν 26.47 ± 7.89 μέρες ενώ τα παρθένα αρσενικά 36.17 ± 6.55 ημέρες. Τα ενήλικα θηλυκά έζησαν λιγότερο με 23.24 ± 5.89 ημέρες για τα συζευγμένα και 27.81 ± 10.78 για τα παρθένα. Σύμφωνα με τον Barrientos et al. το 1998 η διάρκεια του κύκλου της ζωής της εξαρτάται από περιβαλλοντικές και κλιματικές συνθήκες. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζεται ο Μέσος όρος ζωής της *T. absoluta* σε διαφορετική θερμοκρασία περιβάλλοντος.

Πίνακας 4: Μέσος όρος ζωής της *T. absoluta* σε διαφορετική θερμοκρασία περιβάλλοντος

<u>Θερμοκρασία περιβάλλοντος</u>	<u>Μ.Ο. Ζωής</u>
14°C	76.3 μέρες
19.7 °C	39.8 μέρες
27.1 °C	23.8 μέρες

Πηγή: Barrientos et al., 1998

Σε εργαστηριακές συνθήκες η *T. absoluta* ολοκληρώνει μια γενιά σε 28.7 ημέρες (Vargas, 1970). Τα θηλυκά συζευγνύονται μόνο μία φορά την ημέρα και έως 6 φορές κατά την διάρκεια της ζωής τους. Η πρώτη σύζευξη μπορεί να γίνει κι όλας από την πρώτη ημέρα ζωής του ενήλικου και συνήθως λαμβάνει μέρος με την δύση του ηλίου (Vargas, 1970). Σε ιδανικές συνθήκες η εναπόθεση των ωών ανέρχεται σε 7 ημέρες μετά την πρώτη σύζευξη και σε ποσοστό 76% εναπόθεσης των ωών αυτή την πρώτη φορά. Το θηλυκό μπορεί να συνεχίσει την ωοτοκία για 20 ημέρες με χαμηλότερη όμως συχνότητα. Τα ωά κυμαίνονται από 60 έως 120 κατά Μ.Ο. (Torres et al., 2001) ο αριθμός των οποίων όμως μπορεί να φτάσει τα 260 (Uchoa-Fernandes et al. 1995).

Πίνακας 5: Βασική- Ελάχιστη θερμοκρασία ανάλογη του σταδίου της *T. absoluta*

<u>Στάδιο</u>	<u>Ιδανική θερμοκρασία</u>
ωοτοκία	$6.9 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$
Λάρβα	$7.6 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$
Πούπα	$9.2 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$

Πηγή: Barrientos et al., 1998

Η ελάχιστη θερμοκρασία για την εναπόθεση των ωών, την ζωή της λάβρας και της πούπας έχει υπολογιστεί ως 6.9 ± 0.5 , 7.6 ± 0.1 και $9.2 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ αντίστοιχα. Για τα τρία αυτά στάδια στους $8.1 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$ μπορεί ο πληθυσμός να φτάσει τις 10-12 γενιές τον χρόνο.

Εργαστηριακή έρευνα στην Χιλή έδειξε ότι για την εξέλιξη της *T. absoluta* από ωό σε ενήλικο απαιτούνται 76.3 ημέρες στους 14°C (57°F), 39.8 ημέρες στους 19.7°C (67°F), και 23.8 ημέρες στους 27.1°C (81°F). Επίσης σημειώθηκαν ποσοστά επιβίωσης του εντόμου. Στους 14°C 61.9% επιβίωσης έως την ενηλικίωση, στους 19.7°C το 60.7% ενηλικιώθηκε και στους 27.1°C το 44.3% ολοκλήρωσε τον κύκλο ζωής του. Σε αυτή την θερμοκρασία η λάρβα εμφανίζεται σε 4-6 ημέρες, ολοκληρώνει όλα τα στάδια της σε 11-13 ημέρες και το στάδιο της πούπας σε 5-8 ημέρες. Επομένως ο κύκλος ζωής από ωό έως ενήλικο διαρκεί 20-28 ημέρες.

Εργαστηριακή έρευνα στην Βενεζουέλα των Fernandez and Montagne (1990a) έδειξε ότι το στάδιο του ωού της *T. absoluta* διήρκεσε 4.4 – 5.8 ημέρες στους 24.6°C θερμοκρασία και 76.17% σχετική υγρασία. Το στάδιο της λάρβας ολοκληρώθηκε σε 11 – 15 ημέρες στους 24.09°C και 70.64% σχετική υγρασία. Τα ενήλικα αρσενικά έκαναν την εμφάνιση σε 7-8 ημέρες ενώ τα θηλυκά σε 6-8 ημέρες στους 26.3°C και 72.3% σχετική υγρασία. Η συχνότητα θηλυκών – αρσενικών ήταν 1:1.33 αρσενικό: θηλυκό.

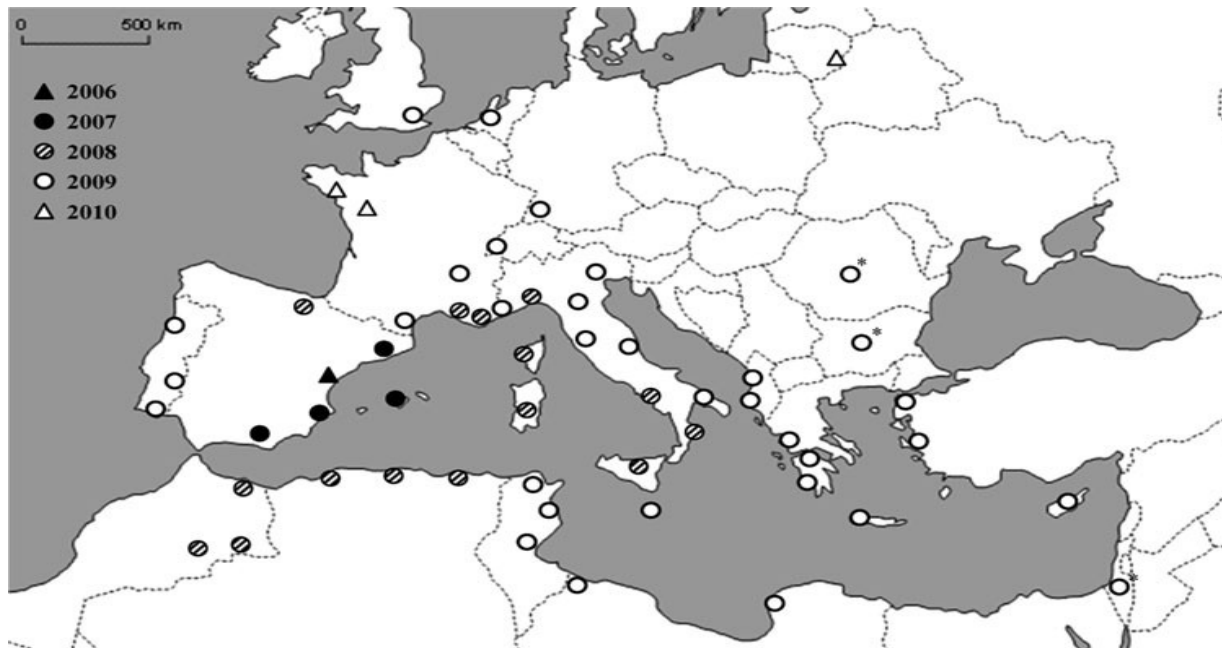
Αξιόλογα αποτελέσματα σχετικά με την σχέση του κύκλου ζωής της *T. absoluta* και την θερμοκρασία του περιβάλλοντος είχαμε και στο εργαστήριο του Πανεπιστημίου του Τορίνο τα οποία θα σας παρουσιάσω στο ομώνυμο κεφάλαιο.

1.5 Η είσοδος και εξάπλωση της *T. absoluta* στην Ευρώπη

Η διαδικασία της εισβολής ενός νέου εχθρού μπορεί να διαχωριστεί σε τρεις φάσεις: άφιξη, εγκατάσταση και εξάπλωση (Mack et al. 2002). Πριν την άφιξη της στη Ευρώπη κατάφερε να εξαπλωθεί από το Περού σε ολόκληρη την Λατινική Αμερική επωφελούμενη από το εμπόριο φρούτων ανάμεσα στις Χώρες της Ηπείρου αλλά και το εύρος των περιβαλλόντων που μπορεί να εγκατασταθεί. Πιο συγκεκριμένα παρ'όλο που η *T. absoluta* προτιμά υψόμετρο έως 1000 m από το επίπεδο της θάλασσας έχει εντοπιστεί στην Κολομβία στα 2600 και 1900 m αλλά και στο Περού στα 3500 m (Ronolny 1975).

Πριν την εισβολή της στην Ευρώπη είχε αναφερθεί αποκλειστικά στην Λ. Αμερική αν και υπάρχουν ανεπίσημες πληροφορίες για προσβολή του *Solanum lyratum* από *T. absoluta* στην Ιαπωνία (Clarke 1962). Παρ'όλη την επικινδυνότητα της *T. absoluta* αυτή δεν είχε – και ούτε έχει συμπεριληφθεί στο Plant Health Directive 2000/29/EC. με αποτέλεσμα το αγροτικό εμπόριο να μην ελέγχεται και κατ' επέκταση η εποίκιση τόσο σοβαρών εχθρών. Η εξάπλωση της στην Ευρώπη ήταν πολύ εύκολη. Έτσι μέσω του εμπορίου αλλά και φυσικής εξάπλωσης όπως πχ. μέσω του ανέμου η *T. absoluta* εξαπλώθηκε μέσα σε μόνο λίγα χρόνια σε όλες σχεδόν τις Μεσογειακές χώρες αλλά και σε άλλες Ευρωπαϊκές χώρες. Σήμερα τυπικοί έλεγχοι γίνονται σε όλες τις εξαγωγές τομάτας και καπνού και σε όλες τις περιοχές της Ισπανίας, Ιταλίας και Γαλλίας.

Μετά την εισβολή της στην Ισπανία η *T. absoluta* εντοπίστηκε το 2009 σε τοματοκαλλιέργειες στην Ιταλία, Γαλλία, Ελλάδα, Πορτογαλία, Μαρόκο, Αλγερία και Τυνησία (Potting 2009). Στην Ιταλία το 2008 είχε εντοπιστεί σε 5 περιοχές της Νότιας Ιταλίας και το 2009 στην κεντρική και Βόρεια. Στην Ελλάδα παρατηρήθηκε στην Πρέβεζα και την Κρήτη (Roditakis et al. 2010).



Εικόνα 5: Ευρωπαϊκή εξάπλωση ανά χρονολογία της *Tuta absoluta*. (Πηγή: Desneux et al., 2010). Τα δεδομένα προέκυψαν από αναφορές οργανισμών αυτοπροστασίας και τον Ευρωπαϊκό και Μεσογειακό οργανισμό αυτοπροστασίας (EPPO). Χώρες που έχουν αστερίσκο είναι όσες δεν έχει περιγραφεί με ακρίβεια η γεωγραφική έκταση του εχθρού.

1.6 Αντιμετώπιση και καταπολέμηση της *T. absoluta*

Στην Λ. Αμερική η καταπολέμηση της *T. absoluta* γίνεται κατά κύριο λόγο με χημικά σκευάσματα. Κατά την δεκαετία του 90 εντομοκτόνα όπως το abamectin, acylurea IGR, spinosad, tebufopozide και chlorfenapyr χρησιμοποιήθηκαν. Πιο πρόσφατα στην Βραζιλία 10 νέα πυρεθροειδή έδειξαν μεγάλη αποτελεσματικότητα με έως 100% θνησιμότητα στο στάδιο της λάρβας (Silverio et al. 2009). Φυτικά προϊόντα έχουν δοκιμαστεί επίσης συμπεριλαμβανομένου έγχυμα του φυτού *Trichilia pallens* (da Cunha et al. 2006) με μικρότερη όμως αποτελεσματικότητα.

Η χρήση χημικών σκευασμάτων έχει αποδειχθεί ακατάλληλη και επικίνδυνη για την καταπολέμηση αυτού του εχθρού αφενός λόγο του βιολογικού του κύκλου και του γεγονότος ότι περνάει μεγάλο μέρος της ζωής του στο εσωτερικό του φυτού -και επομένως αυτό το γεγονός καθιστά την καταπολέμηση του πολύ δύσκολη- και αφετέρου λόγο του πλήθους των περιβαλλοντικών μειονεκτημάτων που έχουμε με τέτοιου τύπου σκευάσματα. Επί πρόσθετα βιβλιογραφία αναφέρει πολύ υψηλή ανθεκτικότητα που παρουσιάστηκε τα τελευταία χρονιά σε πληθυσμούς *T. absoluta* σε στα διάφορα χημικά σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν στο παρελθόν στην Βραζιλία, Αργεντινή και Χιλή. Στην Βραζιλία κάποια θετικά αποτελέσματα έχουν δείξει οι φερομονικές παγίδες με βασικό μειονέκτημα ότι δεν είναι 100% αποτελεσματικές όταν χρησιμοποιούνται χωρίς χημικά σκευάσματα.

Στην Μεσόγειο λαμβάνοντας υπόψη την περιβαλλοντική επιβάρυνση και υποβάθμιση της ποιότητας των προϊόντων μέσω της χημική καταπολέμησης, μια πιο βιολογική προσέγγιση έχει δείξει ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Πειράματα με χρήση βιολογικών εχθρών (αρπακτικών, παρασιτοειδών και παθογόνων οργανισμών) ως προς την καταπολέμηση της έχουν διεξαχθεί στα πλαίσια του προγράμματος "Βιολογική αντιμετώπιση της *T. absoluta*". Επίσης η χρήση ανθεκτικών ποικιλιών (de Resende et al. 2006; Pereira et al. 2008; Campos et al. 2009; Oliveira et al. 2009; Maluf et al. 2010) και φυτικών εντομοκτόνων (Moreira et al. 2004; da Cunha et al. 2005, 2006; Goncalves- Gervasio and Vendramim 2007; da Cunha et al. 2008) θα μπορούσε να είναι ένα πολύτιμο εργαλείο. Παρ'οτι τέτοιες μεθόδους δεν παρατηρούμε συχνά βιβλιογραφία επιβεβαιώνει ότι ο πληθυσμός της *T. absoluta* είναι γενικά μικρότερος σε οργανικές από ότι σε συμβατικές καλλιέργειες (Medeiros 2007; Medeiros et al. 2009b).

1.7 Βιολογική καταπολέμηση της *T. absoluta* στην Μεσόγειο

Ένα πλήθος φυσικών εχθρών της *T. absoluta*, και της καταλληλότητας τους στην βιολογική της καταπολέμηση στην περιοχή της Μεσογείου έχουν καταγραφεί και προσπάθειες γίνονται στην κατανόηση της αποτελεσματικότητάς τους. Μετά από 6 χρονιά εισόδου της *T. absoluta* στην Μεσόγειο 11 είδη παρασιτοειδών και 11 αρπακτικά έχουν εντοπιστεί- μικρός αριθμός σε σύγκριση με την Λατινική Αμερική όπου έχουν περιγραφεί έως τώρα 40 -50 είδη για την βιολογική καταπολέμηση της *T. absoluta*. Παρ' όλα αυτά, θετικά αποτελέσματα προσαρμοστικότητας των γηγενών ειδών δείχνουν ότι οι φυσικοί εχθροί αυτού του εξωτικού εντόμου μπορεί να αυξηθούν τα επόμενα χρόνια (Urbaneja et al. 2012). Είναι πολύ σημαντικό η καταπολέμηση του κάθε εξωτικού εχθρού να γίνεται με ντόπιους και όχι αντίστοιχους εξωτικούς πληθυσμούς στο εκάστοτε οικοσύστημα καθώς σύμφωνα με τον Van Lenteren et al. το 2006 τα περιβαλλοντικά προβλήματα είναι πολύ σοβαρά και το ρίσκο στην διατάραξη του οικοσυστήματος πολύ μεγάλο.

Βιολογική καταπολέμηση μπορεί να γίνει με την χρήση άλλων λεπιδόπτερων παρασιτοειδών, αρπακτικών εντόμων και εντομοπαθογόνων όπως παρουσιάζονται παρακάτω:

- **Αρπακτικά:**

Macrolophus pygmaeus (Rambur), *Nesidiocoris tenuis* Reuter, *Dicyphus errans* Wolff, *D. marrocannus* Wagner και *D. tamaninii* Wagner (Hemiptera: Miridae) εμφανίστηκαν και εντοπίστηκαν στην Μεσόγειο αμέσως μετά την εισβολή της *T. absoluta*. Καταγραφές έχουν γίνει στην Αλγερία, Γαλλία, Ιταλία, Ισπανία, Τυνησία, Ισραήλ, Ελλάδα και Τουρκία. Τα ενήλικα αυτών των ειδών μπορούν να καταναλώσουν έως και 100 αυγά την ημέρα, έκαστο, σε εργαστηριακές συνθήκες. Επίσης επιτίθενται στην λάρβα -όλων των σταδίων – με προτίμηση όμως λάρβα πρώτου σταδίου (Urbaneja et al. το 2012) . Επίσης έρευνα σε διάφορα μη-αναγνωρισμένα αρπακτικά είδη στην πλειοψηφία τους *Braconidae* που επιτίθενται στην *T. absoluta* (Molla et al. 2008; Arno et al. 2009) δείχνει την γρήγορη προσαρμογή των ντόπιων πληθυσμών εντόμων σε ένα ξένο είδος.



Εικόνα 6: Ενήλικο *Macrolophus pygmaeus* (Heteroptera: Miridae)

(Πηγή: <http://www.google.it/searchq=Macrolophus+pygmaeus>)

- **Εντομοπαθογόνα:**

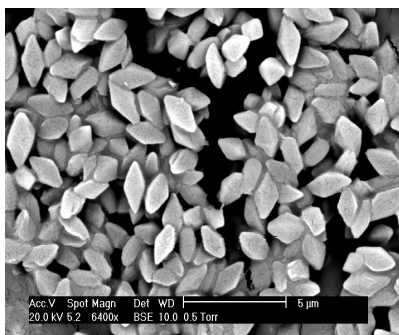
Πέρα της χρήσης αρπакτικών και παρασιτοειδών βιολογική αντιμετώπιση της *T. absoluta* μπορεί να υπάρξει με την χρήση εντομοπαθογόνων όπως το *Beauveria bassiana* (Giustolin et al. 2001a; Rodríguez et al. 2006), ενός μύκητα που προσβάλλει τα έντομα, του οποίου η αποτελεσματικότητα όμως στην Μεσόγειο είναι μικρότερη σε σχέση με την Ν. Αμερική. Αποτελεσματική επίσης έχει αποδειχθεί η χρήση του Βάκιλου Θουριγγίας (*Bacillus thuringiensis*) ενώ ευρέως χρησιμοποιούμενο βακτηρίου στην βιολογική καταπολέμηση.

- **Παρασιτοειδή:**

Παρ'οτι δεν έχουν βρεθεί έως σήμερα παρασιτοειδή που να προσβάλλουν το στάδιο της πούπας και του ενήλικου, υπάρχουν παρασιτοειδή που προσβάλλουν το στάδιο της λάρβας και ωού και αποτελούν ένα πολύτιμο εργαλείο στον έλεγχο του πληθυσμού της *T. absoluta*.

Ενδεικτικά στην εργασία των Urbaneja et al. το 2012 τα παρασιτοειδή *Trichogramma achaeae* Nagaraja & Nagarkatti και άλλα *Trichogramma sp* έχουν δείξει πολύ καλά αποτελέσματα σε πειράματα παρασιτισμού στο στάδιο του ωού. Ένα *Trichogramma achaeae* μπορεί να τραφεί από 26 είδη λεπιδόπτερον και 10 διαφορετικές οικογένειες συμπεριλαμβανομένης της *Gelechiidae*. Αξιοσημείωτη είναι επίσης η δράση του παρασιτοειδούς *Trichogramma achaeae* Nagaraja & Nagarkatti (*Hymenoptera: Trichogrammatidae*) που μετά από έρευνες έδειξε πολύ μεγάλη αποτελεσματικότητα και σημαντική μείωση του πληθυσμού της *T. absoluta* σε θερμοκήπια εμπορικής τομάτας στην Ν. Ισπανία (Cabello et al. 2009b).

Διάφορα άλλα παρασιτοειδή συμπεριλαμβανομένου του *N. near artynes* και *N. near tidius* (*Hymenoptera: Eulophidae*) -το οποίο αύξησε αισθητά τον πληθυσμό του το διάστημα 2008-2009 εμφανίστηκαν στις τοματοκαλλιέργειες στην Ισπανία μετά την εγκατάσταση της *T. absoluta* (Molla et al. 2008; Gabarra and Arno 2010). Το *Necremnus sp* είναι ένα εκτοπαρασιτοειδές της *T. absoluta* και σύμφωνα με πειράματα φαίνεται να παρασιτεί λάρβα *T. absoluta* 2ου -3ου σταδίου. Παρακάτω θα αναλύσουμε περαιτέρω την δράση των δύο εκτοπαρασιτοειδών *Necremnus sp*.



Εικόνα 7: *Bacillus thuringiensis*, μικροφωτογραφία κρυστάλλων (Πηγή: wikipedia)



Εικόνα 8: *N. near artynes* (Hymenoptera: Eulophidae) (Πηγή: <http://www.google.it/search?q=Necremnus+artynes>)

2. ΜΕΘΟΔΟΙ ΚΑΙ ΥΛΙΚΑ

2.1 ΥΛΙΚΑ

2.1.1 Συλλέκτης εντόμων

Υπάρχουν δύο τύποι εργαστηριακού συλλέκτη εντόμων, αυτόματος και χειροκίνητος. Χρησιμοποιήθηκε ο δεύτερος στις περισσότερες εργασίες. Πρόκειται για ένα εργαλείο που κατασκευάσαμε και που όπως εμφανίζεται στην φωτογραφία αποτελείται από δυο λεπτούς πλαστικούς σωλήνες που συνδέονται μεταξύ τους με ένα δοκιμαστικό σωλήνα διαμέτρου 24 mm και μήκους 120 mm. Αυτός ο μηχανισμός λειτουργεί βάση πίεσης και χρησιμοποιείται για τον εγκλωβισμό μικρών εντόμων (ειδικά ιπτάμενων). Το έντομο παραμένει στον δοκιμαστικό σωλήνα, κλείνεται προσεκτικά με βαμβάκι και μεταφέρεται για περαιτέρω μελέτη.



Εικόνα 9: Εργαστηριακός συλλέκτης εντόμων.
(Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)

2.1.2 Δοκιμαστικοί σωλήνες

Γυάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες εργαστηρίου με διάμετρο 24 mm και ύψος 120 mm χρησιμοποιήθηκαν καθ' όλη την διάρκεια των πειραμάτων για διεκπεραίωση διαφόρων εργασιών όπως την εκτέλεση εργαστηριακών πειραμάτων παρασιτισμού, στην αποθήκευση και εκκόλαψη των ωών, την εκτροφή και συντήρηση των εντόμων, την μεταφορά και την αποθήκευσή τους. Οι σωλήνες κλείνονται καλά με βαμβάκι και αποθηκεύονται σε χάρτινα κουτιά. Όταν πρόκειται για συντήρηση των εντόμων προσθέτονται υγρασία και σταγόνες μέλι. Οι σωλήνες έπειτα αποθηκεύονται στο ψυγείο στους 2 °C.



Εικόνα 10: Δοκιμαστικοί σωλήνες.
(Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)

2.1.3 Εντομολογικοί θάλαμοι

Πρόκειται για θαλάμους μικρών (φορητοί) και μεγάλων διαστάσεων (σταθεροί). Οι πρώτοι έχουν διάφορο μέγεθος και σχήμα. Μπορεί να είναι τετράγωνοι, ορθογώνιοι ή "ιγκλού". Το μικρό τους μέγεθος και ελαφρύ υλικό τους καθιστούν πρακτικούς και εύκολους στη μετακίνηση. Πλεξίγκλας, πλαστικό και συνθετικό διαμπερές ύφασμα είναι συνήθως τα υλικά των φορητών θαλάμων. Οι δεύτεροι έχουν διαστάσεις 150 x 150 x 110 εκ. Πρόκειται για σταθερούς θαλάμους που αποτελούνται από μεταλλικό σκελετό και είναι κατασκευασμένοι να κλείνουν με σήτα λεπτού πλέγματος: 0.23 x 0.23 Χιλ. πλέξη.

Οι εντομολογικοί θάλαμοι χρησιμοποιήθηκαν στην αναπαραγωγή και εκτροφή των εντόμων, την απομόνωση τους αλλά και στην μελέτη των συμβιωτικών τους σχέσεων αυτών με τα φυτά-ξενιστές. Προτιμήσαμε κατά τις παρατηρήσεις μας και εκτροφή όλων των πληθυσμών να χρησιμοποιούμε τους μικρούς θαλάμους μέσα στους μεγάλους για περιορισμό του χώρου πτήσης των εντόμων αλλά και για να αποφευχθούν απώλειες. Κάθε φορητός θάλαμος μπορούσε να φιλοξενήσει από 2 έως 8 φυτά σε γλαστράκια ανάλογα το μέγεθος. Κάθε μεγάλος θάλαμος περίπου 4-6 μικρούς θαλάμους.



Εικόνα 11 και 12: Σταθεροί εντομολογικοί θάλαμοι μεγάλων διαστάσεων (αριστερά) και φορητός εντομολογικός θάλαμος μικρών διαστάσεων (δεξιά) . (Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)

2.1.4 Θάλαμοι ελεγχόμενων συνθηκών – Θερμοθάλαμοι

Όλοι οι πληθυσμοί εντόμων που διατηρούμε και τα παρασιτισμένα ωά προς εκκόλαψη διατηρούνται σε θαλάμους με ελεγχόμενες συνθήκες στους $24 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ σχετική υγρασία και φωτοπερίοδο 16:8 (L:D)/h.



Εικόνα 13: Ρύθμιση θερμοκρασίας στους 25°C κατά την διάρκεια της μέρας και 24.3°C κατά την διάρκεια της νύχτας. (Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)

2.1.5 Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο

Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, μοντέλο *wild Heerbrugg*, 246910 με οπτικό ζούμ από 6X έως 50X και ανάλυση 10X21 χρησιμοποιήθηκε καθ'ολη την διάρκεια των εργαστηριακών πειραμάτων παρασιτισμού, την αναγνώριση των εντόμων και παρακολούθηση των δραστηριοτήτων τους.



Εικόνα 14: Ηλεκτρονικό μικροσκόπιο
(Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)

2.1.6 Ολφακτόμετρο

Πραγματοποιήσαμε ολφακτομετρική ανάλυση (*Olfactometer analysis*) στα πλαίσια πειραμάτων προτίμησης ξενιστή από το παρασιτοειδές. Το ολφακτόμετρο είναι μια απλή κατασκευή που λειτουργεί ουσιαστικά βάση πίεσης και αποτελείται από μία αντλία αέρα, δύο γυάλινα δοχεία, ένα γυάλινο σωλήνα σε σχήμα "Y" και σωλήνες σιλικόνης. Η αντλία φιλτράρει τον αέρα σε αποσταγμένο νερό και τον προωθεί μέσω των σωλήνων σιλικόνης να ρεύσει και να διαπεράσει τους δύο γυάλινους θαλάμους στους οποίους υπάρχουν φύλλα με 15 περίπου λάρβες για κάθε ξενιστή. Σε κάθε θάλαμο τοποθετήσαμε και διαφορετικό ξενιστή ώστε να γίνει η σύγκριση. Οι δύο αυτοί θάλαμοι μέσω των σωλήνων συνδέονται με το γυάλινο "Υψιλον". Στο ένα του στέλεχος φτάνει μέσω της ροής του αέρα η οσμή του ενός ξενιστή και στο άλλο στέλεχος του δεύτερου ξενιστή. Το παρασιτοειδές τοποθετείται στον κεντρικό άξονα του "Υψιλον" και βάση της επιλογής του, αν δηλαδή κινηθεί στο δεξί ή το αριστερό στέλεχος, μπορούμε να έχουμε αποτελέσματα της προτίμησης του.

Στα πλαίσια της ολφακτομετρικής ανάλυσης χρησιμοποιήσαμε επίσης φωτόμετρο, ανεμόμετρο, θερμόμετρο, υγρασιόμετρο και χρονόμετρο.



Εικόνα 15,16: Ολφακτόμετρο (αριστερά) και φωτόμετρο (δεξιά)
(Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)

2.2 ΜΕΘΟΔΟΙ

2.2.1 Μεταχείριση, εκτροφή και πολλαπλασιασμό πληθυσμών εντόμων *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)

Προμηθευτήκαμε θηλυκά ενήλικα έντομα *T. absoluta* από το *Bioplanet*, εταιρεία εκτροφής εντόμων (www.bioplanet.it) με σκοπό την εγκατάσταση και διατήρηση πληθυσμών στο εργαστήριο. Η παραλαβή των εντόμων έγινε με συχνότητα 1 φορά/ 30 ημέρες με αφετηρία τις 15-10-12 και η συσκευασία περιελάμβανε περίπου 100 θηλυκά συζευγμένα έντομα. Πριν την παραλαβή και χρήση τους στα πειράματα τα έντομα στο *Bioplanet* ταΐζονταν με σταγόνες μέλι κάθε 48 ώρες και φυλάχθηκαν ξεχωριστά σε γυάλινους εργαστηριακούς σωλήνες (120 mm ύψος με 18 mm διάμετρο). Μετά την παραλαβή τους τα έντομα κατανεμήθηκαν σε τέσσερις διαφορετικούς θαλάμους διάφορων διαστάσεων κατασκευασμένους από πλεξιγκλάς ή διάτρητο συνθετικό κάλυμμα και σε εργαστηριακές συνθήκες με θερμοκρασία $24 \pm 1^\circ\text{C}$, $60 \pm 5\%$ σχετική υγρασία και φωτοπερίοδο 16:8 (L:D)/h. Ως φυτό ξενιστή χρησιμοποιήσαμε τομάτα της οποίας ποσότητα αυξάναμε σταδιακά μια φορά την εβδομάδα (περίπου 2 φυτά τομάτας ανά 40-50 έντομα) ώστε να έχουμε ενήλικα και λάρβες όλων των σταδίων και να διατηρούμε τα επίπεδα των πληθυσμών σταθερά. Έπειτα από προσεχτική παρατήρηση τα πειράματα επαναλήφθηκαν με άλλους ξενιστές της *T. absoluta* όπως την άγρια τομάτα.

Οι θάλαμοι Ονομάστηκαν Θ 1, Θ 2, Θ 3. κτλ. Η απώλεια σε φυλλική επιφάνεια και η καταστροφή του καρπού της τομάτας σε όλα τα πειραματικά κελιά ήταν 100%. Προσβεβλημένα φύλλα τομάτας συλλέχθηκαν με συχνότητα περίπου 4 φορές την εβδομάδα 20 περίπου φύλλα την φορά από τους εντομολογικούς θαλάμους, τοποθετήθηκαν σε εργαστηριακούς σωλήνες και μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο. Όλα τα φύλλα εξετάστηκαν στο μικροσκόπιο και καθαρίστηκαν για να αποκλείσουμε προσβολές άλλων οργανισμών. Έπειτα χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα παρασιτισμού με κάποιο από τα δύο ή και τα δύο είδη *Necremnus sp.*



Εικόνα 17: Προσβεβλημένο φυτό τομάτας από *T. absoluta* στο εντομολογικό θάλαμο εκτροφής του εντόμου. Οι στοές που έχουν δημιουργηθεί από τις λάρβες είναι προφανείς.
(Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)

2.2.2 Εγκατάσταση πληθυσμών εντόμων-ξενιστών: *Cosmopterix pulchrimella* (Lepidoptera : Cosmopterigidae)

Σε όλα τα εργαστηριακά πειράματα παρασιτισμού του *N. near artynes* και *N. near tidius* στην *T. absoluta* χρησιμοποιήσαμε σαν βάση εντόμου-ξενιστή το είδος *Cosmopterix pulchrimella* (Lepidoptera : Cosmopteridae).

Το *C. pulchrimella* συν-χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα παρασιτισμού που κάναμε μαζί με το *T. absoluta* και αυτό γιατί έπειτα από παλαιότερες έρευνες αποφάνθηκε ότι:

- Τα παρασιτοειδή *N. near artynes* και *N. near tidius* παρασιτούν όμοια λάρβες των *T. absoluta* και *C. pulchrimella* (2-3 σταδίου στην πρώτη περίπτωση και 3-4 σταδίου στην δεύτερη) εναποθέτοντας σε αυτές τα ωά τους.
- Δείχνουμε όμως κάποια προτίμηση στην λάρβα *C. pulchrimella* καθώς τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της καθιστούν την παράλυση και εναπόθεση των ωών πιο εύκολη. Συγκεκριμένα η λάρβα του *C. pulchrimella* είναι ελαφρώς μικρότερη από την *T. absoluta* και γενικά πολύ λιγότερο δραστήρια καθιστώντας το ευκολότερη λεία για το παρασιτοειδές.

Έτσι, χάριν ευκολίας των παρατηρήσεων σε εργαστηριακό περιβάλλον τα πειράματα εκτελέστηκαν με προσβεβλημένα φύλλα *Parietaria officinalis* L. από *C. pulchrimella* και τα αποτελέσματα δράσης των παρασιτοειδών σε αυτόν τον τρίτο πληθυσμό αξιολογήθηκαν ως προς την ικανότητα τους να παρασιτήσουν την *T. absoluta*. Όλα τα πειράματα επαναλήφθηκαν με φύλλα τομάτας που είχαν προσβληθεί από *T. absoluta*. Τα αποτελέσματα μας ως προς την ικανότητα, επιτυχία και προτίμηση των παρασιτοειδών παρουσιάζονται στο ομώνυμο κεφάλαιο.

- **Βιολογία και Δράση του *C. Pulchrimella***

Όπως και η *T. absoluta* το *C. pulchrimella* είναι ένα εκτοπαρασιτικό λεπιδόπτερο το οποίο περνάει το στάδιο της λάρβας τρεφόμενο από το εσωτερικό των φύλλων, δημιουργώντας στοές και απώλεια σε φυλλική επιφάνεια.

Το *C. pulchrimella* είναι φυσικός εχθρός της *Parietaria officinalis* L. (Urticaceae: Rosales) ή κοινώς παρθενούλι. Αφότου το ενήλικο θηλυκό εναποθέσει τα ωά του στα φύλλα της *Parietaria*, τέσσερις ημέρες αργότερα η νεαρή λάρβα ξεκινάει να τρέφεται με το μεσόφυλλο. Η λάρβα περνάει από τέσσερα στάδια έως την ενηλικίωση. Μέσα στην στοά βρίσκεται μια μεταξοφαντη κατασκευή στην οποία η λάρβα καταφεύγει όταν δεν τρέφεται. Τα απορρίμματα της λάρβας αποβάλλονται κατά κύριο λόγο έξω από την στοά από μία μικρή εγκοπή στην αρχή της στοάς και από την οποία η λάρβα θα μπορούσε να δραπετεύσει σε περίπτωση που νιώσει να απειλείται.



Εικόνα 18: Ενήλικο έντομο *C. pulchrimella*
(Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)



Εικόνα 19: Στοά σε φύλλο που προκλήθηκε από
λάρβα *C. pulchrimella*.
(Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013)

- **Εύρεση, Συλλογή και Αναπαραγωγή του *C. pulchrimella* : *Parietaria officinalis* L. (Urticaceae: Rosales)**

Εγκαταστήσαμε πληθυσμούς *C. pulchrimella* ξεκινώντας από έναν μικρό πληθυσμό που εντοπίστηκε στο στάδιο λάρβας και πούπας σε φυτά *P. officinalis* που συλλέχθηκαν από ένα συνοικιακό δρόμο στην περιοχή Santa Brigida, Torino. Το *C. pulchrimella* είναι αποκλειστικός εχθρός της *P. officinalis* στην συγκεκριμένη περιοχή και που διευκόλυσε την εύρεση παρασιτισμένων φύλλων.

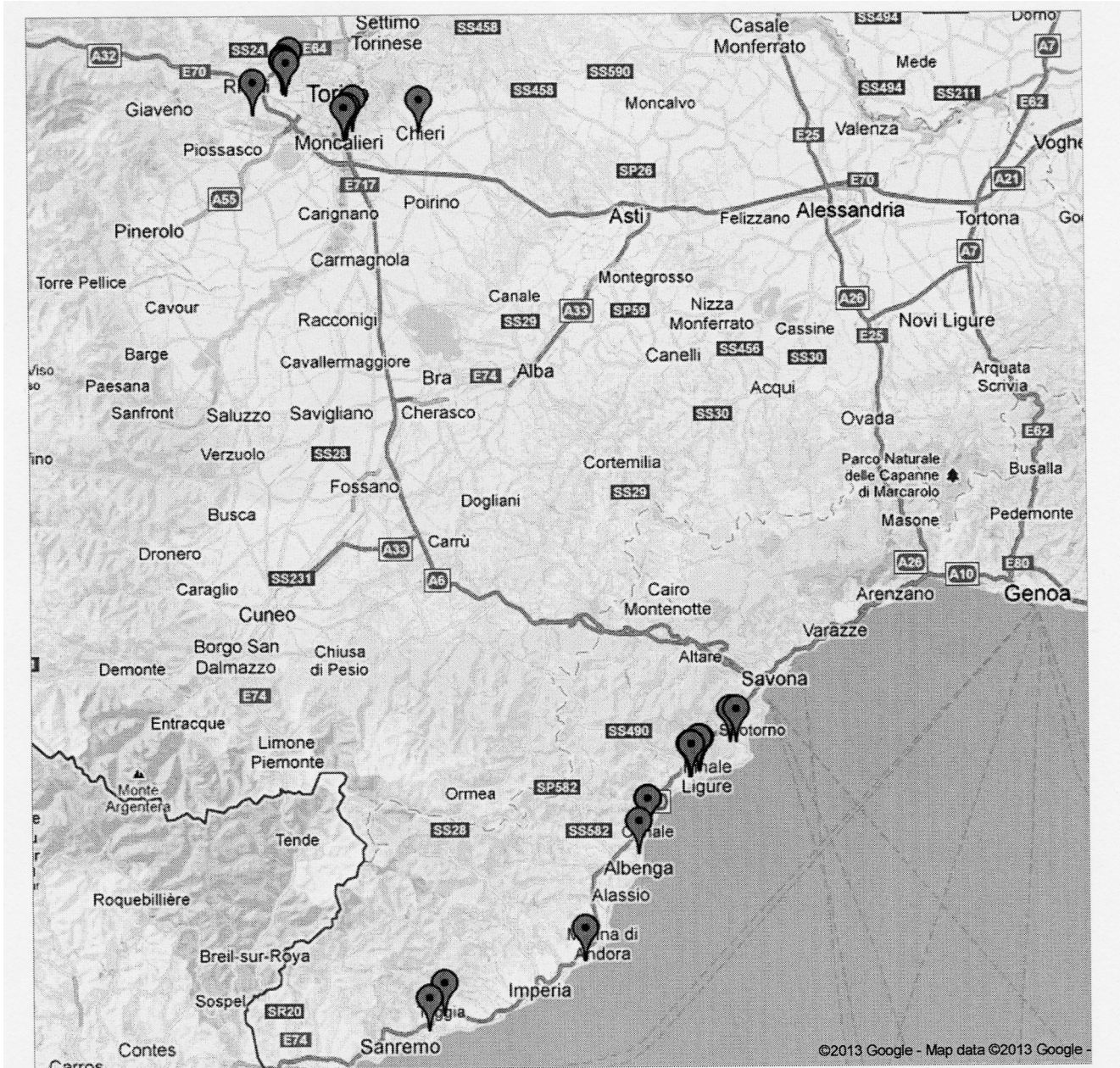
Η *P. officinalis* είναι αυτοφυές φυτό που εντοπίζεται σε δρόμους, σε αστικές περιοχές και ειδικά στις χαραμάδες παλιών πλίνθινων τοίχων. Η *P. officinalis* ανήκει στην ίδια οικογένεια και μορφολογικά μοιάζει με την κοινή τσουκνίδα. Τα φύλλα της παρόλα αυτά δεν προκαλούν κνησμό αν και έχει κατηγορηθεί για αλλεργιογόνο δράση. Επίσης έχει χρησιμοποιηθεί σαν φαρμακευτικό φυτό.



Εικόνα 20: *Parietaria officinalis* L. (Urticaceae: Rosales) (Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. DIVARPA, 2013).

Κεφάλαιο 2- Μέθοδοι και Υλικά

Η *P. officinalis* μαζεύτηκε την περίοδο Οκτωβρίου - Φεβρουαρίου έως το πρώτο ψύχος, με συχνότητα μια φορά την εβδομάδα και από διάφορες Βορειοδυτικές περιοχές εντός και εκτός του Τορίνο, στην περιοχή Rietmonte της Ιταλία όπως παρουσιάζονται στην παρακάτω εικόνα.



Εικόνα 21: Χάρτης περιοχών συλλογής φυτών *P. officinalis*: S.Brigida, Moncalieri, Chieri, Grugliasco, Collegno, Rivalta, Final Borgo, Arma di Taggia, Verezzi, Ceriale, Voze, Cervo, Bussana Vecchia, Albenga, CERSA. Ο χάρτης δημιουργήθηκε μέσω του προγράμματος Google Maps (Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου)

Τα φυτά μαζευτήκαν με την ρίζα όταν ήταν αυτό δυνατόν και τοποθετήθηκαν σε γλαστράκια και μέσα σε μικρούς φορητούς εντομολογικούς θαλάμους ταξινομημένα ως προς τον τόπο και ημερομηνία συλλογής. Τεμαχισμένα φυτά – άρριζα φυλάχθηκαν προσεκτικά στα ίδια κελιά σε βάζα ή πλαστικά πιατάκια για τειχών εμφάνιση ενηλίκων. Άλλοτε όταν τα δείγματα ήταν πολλά συλλέξαμε μόνο μεμονωμένα παρασιτισμένα φύλλα και τα οποία φυλάξαμε σε διαφορετικά σακουλάκια δειγματοληψίας με υγρασία. Τα σακουλάκια όπως και οι εντομολογικοί θάλαμοι ελέγχονταν προσεκτικά για την εμφάνιση εντόμων.

Όλοι οι εντομολογικοί θάλαμοι και δείγματα φυλάχθηκαν στο θερμοκήπιο και σε ελεγχόμενες συνθήκες με θερμοκρασία 25 ± 1 °C και σχετική υγρασία $60 \pm 10\%$. Μια εβδομάδα αργότερα από την πρώτη εγκατάσταση *P. officinalis* εμφανίστηκαν τα πρώτα ενήλικα *C. pulchrimella* (12). Ενώ τα ενήλικα αύξαναν τον πληθυσμό τους αλλά και με την εγκατάσταση όλο και περισσότερων κελιών συγκομισμένης *P. officinalis* 20 μέρες αργότερα είχαμε έναν πληθυσμό περίπου 25 ενηλίκων κατανεμημένα σε 8 κελιά και 35 μέρες αργότερα 50 ενήλικα κατανεμημένα σε 11 αριθμημένα κελιά. Μετά τις πρώτες δυο εβδομάδες και με συχνότητα 4-5 φορές την εβδομάδα όλα τα ενήλικα συλλεγόντουσαν με την βοήθεια του συλλέκτη εντόμων από όλα τα κελιά και τοποθετούνταν σε ένα και μόνο κελί με υγιή *P. officinalis* για να αναπαραχθούν και κατ' επέκταση να δημιουργήσουμε λάρβες διαφόρων σταδίων για τα εργαστηριακά πειράματα παρασιτισμού. Τα υγιή φυτά-ξενιστές παρέμεναν στον εντομολογικό θάλαμο και φιλοξενούσαν τον πληθυσμό εντόμων για συγκεκριμένη χρονική διάρκεια.

Συνεχής αντικατάσταση των φυτών μας εξασφάλισε ελεγχόμενη καταστροφή σε φυλλική επιφάνεια, διασφάλιση της επιβίωσης των φυτών αλλά και ελεγχόμενη ωτοκία με διασφάλιση συλλογής προσβεβλημένων φύλλων λάρβας δευτέρου και τρίτου σταδίου σε καθημερινή βάση. Τα φυτά-ξενιστές ανανεώνονταν κάθε 8-9 μέρες τον πρώτο μήνα, 5 μέρες τον δεύτερο και κάθε 2 μέρες από τον τρίτο και έπειτα.

2.2.3 Παρασιτοειδή: *Necremnus near artynes*, *Necremnus near tidius* (Hymenoptera: Eulophidae)

Για τις ανάγκες των εργαστηριακών πειραμάτων παρασιτισμού προμηθευτήκαμε από το Bioplanet ενήλικα έντομα *Necremnus near artynes* (Hymenoptera: Eulophidae), ένα φυσικό εχθρό που παρασιτεί τόσο την λάρβα της *T. absoluta* όσο και του *C. pulchrimella*. Η παραλαβή των *N. near artynes* έγινε σε χάρτινα κουτιά προσεκτικά κλεισμένα με διάτρητο συνθετικό ύφασμα το οποίο έφερε σταγόνες μέλι και βαμβάκι με υγρασία. Παρασιτοειδή παραλαμβάναμε περίπου 1 φορά τον μήνα με Μ.Ο. 17-19 θηλυκά έντομα και 7-9 αρσενικά την φορά. Πριν από την παραλαβή τους τα έντομα ταΐζονταν ανά 48ώρο και φυλάχθηκαν σε εργαστηριακές συνθήκες. Για μεγαλύτερη επιτυχία όταν τα έντομα στην παραλαβή τους ήταν πολύ νεαρά αφήνονταν σε θερμοκρασία δωματίου ανάμεικτα, θηλυκά με αρσενικά, σε δοκιμαστικούς σωλήνες για ακόμα ένα 48ωρο από την παραλαβή τους πριν χρησιμοποιηθούν στα πειράματα. Με αυτόν τον τρόπο μπορούμε να εξασφαλίσουμε την 100% ικανότητα των θηλυκών να εναποθέσουν γονιμοποιημένα ωά. Το θηλυκό *N. near artynes* μπορεί να εναποθέσει ωά μόνο μετά την πρώτη εβδομάδα ζωής. Γενικά ο κύκλος ζωής του *N. artynes* σε εργαστηριακές συνθήκες ανέρχεται στις 32 ημέρες περίπου ως ένα μέσο όρο που καταγράφηκε σε παλαιότερες έρευνες.

Κατά την διάρκεια των πειραμάτων έπειτα από μετρήσεις που έγιναν παρατηρήσαμε ένα μέσο όρο ζωής λίγο μεγαλύτερο, που άγγιζε τις 40 ημέρες με ελάχιστη διάρκεια ζωής τις 2 ημέρες και μέγιστη τις 65 λαμβάνοντας υπόψη η παραλαβή τους γίνονταν όταν είχαν ηλικία από 5 έως 8 ημέρες. Στον επόμενο πίνακα παρουσιάζεται δείγμα της παραλαβής του *N. near artynes*.

Πίνακας 6: Δείγμα παραλαβής του *N. near artynes*

Ημερομηνία παραλαβής	Πλήθος εντόμων	Ονομασία-Αρίθμηση
17/10/2012	11	1-11
22/11/2012	17	12-28
11/12/2012	20	29-48
25/01/2013	20	49-68

Τα θηλυκά ονομάστηκαν θηλυκό 1, θηλυκό 2 κ.τ.λ. Οι απόγονοι αυτών οι οποίοι εφόσον ήταν θηλυκού γένος συνέχισαν την αρίθμηση αλλά δεν χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα.

Η εύρεση του *N. near tidius* το οποίο είναι και αποκλειστικό παρασιτοειδές του *C. pulchrimella* ήταν δυστυχώς μια πιο περίπλοκη υπόθεση. Μικρή έρευνα έχει διεξαχθεί έως αυτήν την στιγμή για το συγκεκριμένο παρασιτοειδές και για αυτό τον λόγο η εύρεση του στην αγορά δεν ήταν δυνατή. Η εύρεση του έπρεπε να γίνει με μηχανικούς τρόπους. Έπειτα από συλλογή δειγμάτων σε διάφορες περιοχές όπως παρουσιάστηκαν στην παραπάνω εικόνα εντοπίσαμε *N. near tidius* σε παρασιτισμένη λάρβα *C. pulchrimella* σε φύλλα *P. officinalis* που συλλέχθηκαν στην Λιγούρια στα νότια σύνορα Ιταλίας-Γαλλίας.

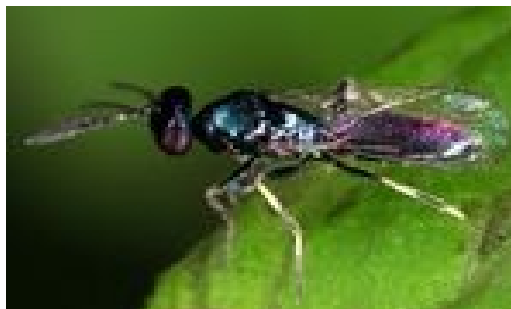
Η πρώτη εμφάνιση ενήλικου *N. tidius* έγινε τον Νοέμβριο του 2012, 2 μήνες αργότερα από την συλλογή του *C. pulchrimella*. Έκτοτε, από τα δύο πρώτα ενήλικα – ένα θηλυκό και ένα αρσενικό- καταφέραμε να δημιουργήσουμε στο εργαστήριο ένα πληθυσμό 16 ενηλίκων με ελεγχόμενο παρασιτισμό λάρβας *C. Pulchrimella* και *T. absoluta*.

Στον παρακάτω πίνακα μπορούμε να δούμε ένα δείγμα της εμφάνισης και εξέλιξης του πληθυσμού *N.tidius*.

Πίνακας 7: Εμφάνιση και εξέλιξη του πληθυσμού *N.tidius*. Δείγμα σημειώσεων.

Όνομα - αρίθμηση	Ημερομηνία εμφάνισης	Τρόπος εμφάνισης
T1 και T2	11/12/2012	Από φυτά <i>P. Officinalis</i> που συλλέχθηκαν στις 28/11/2012
T3	17/12/2012	Από φυτά <i>P. Officinalis</i> που συλλέχθηκαν στις 04/12/2012
T4	20/12/2012	Από φυτά <i>P. Officinalis</i> που συλλέχθηκαν στις 08/12/2012
T5	28/12/2012	Από φυτά <i>P. Officinalis</i> που συλλέχθηκαν στις 09/12/2012
T6	21/01/2013	Από το Θηλυκό T1 που ωοτόκησε στις 08/01/2013
T7	21/01/2013	Από το Θηλυκό T1 που ωοτόκησε στις 08/01/2013
T8	22/01/2012	Από το Θηλυκό T3 που ωοτόκησε στις 09/01/2013

Τα αρσενικά έντομα και στα δύο είδη *Necremnus* απελευθερώνονταν έπειτα από την σύζευξη από τις πρώτες κιόλας μέρες αφού δεν ήταν χρήσιμα στα πειράματα παρασιτισμού που ακολούθησαν. Τα θηλυκά έντομα διατηρήθηκαν στο ψυγείο. τοποθετημένα μεμονωμένα σε γυάλινους σωλήνες 120 mm ύψος και 24 mm διάμετρο, αριθμημένα από το 1 έως το 100 (οι αριθμοί δεν αντικαταστάθηκαν σε περίπτωση απώλειας του εντόμου). Οι γυάλινοι σωλήνες φυλάχθηκαν μέσα σε χάρτινα κουτιά ενισχυμένα με βαμβάκι. Κάθε κουτί έχει χωρητικότητα 7 σωλήνων. Τα έντομα τάζονταν με σταγόνες μέλι και άλλαζαν σωλήνα ανά 48ωρο. Υγρασία συμπληρωνόταν καθημερινά στο βαμβάκι που κλείνει το στόμιο του σωλήνα.



Εικόνα 22 και 23: Θηλυκό ενήλικο *N. artynes* (αριστερά) και αρσενικό ενήλικο *N. tidius* (δεξιά). Στις παραπάνω φωτογραφίες μπορούμε να δούμε την χρωματική διαφορά στα πόδια ανάμεσα στα δύο είδη αλλά και τον διαφορετικό τύπο κεραίας από το θηλυκό στο αρσενικό (Πηγή: <http://www.google.it/search?q=artynes+tidius>).



Εικόνα 24: Παρασιτισμένη λάρβα *T. absoluta* από *N. artynes*. Στην εικόνα μπορούμε να διακρίνουμε το ωό του παρασιτοειδούς που έχει προσκολληθεί στην λάρβα (Πηγή: <http://www.google.it/search?q=artynes+tidius>).

- **Μορφολογία και Βιολογικός κύκλος του *N. artynes* και *N. tidius***

Το ενήλικο *Necremnus* είναι μαύρο με μεταλλικές λάμψεις και μέγεθος 2-3 mm. Η βασική μορφολογική διαφορά των δύο ειδών είναι ότι το ενήλικο *N. artynes* φέρει πόδια λευκού χρώματος ενώ το *N. tidius* εναλλαγή μαύρου με λευκό στα "γόνατα". Στο στάδιο του ωού και λάρβας δεν έχουν καμία μορφολογική διαφορά. Οι κεραίες και των δύο ειδών είναι κοντές ροπαλοειδής στο θηλυκό και μεγαλύτερες με θυσανωτό σχήμα στα αρσενικά. Αυτή είναι και η βασική μορφολογική διαφορά αρσενικού με θηλυκό. Πρόκειται για ολομετάβολο έντομο.

Στην παρακάτω εικόνα μπορούμε να δούμε το στάδιο του ωού επάνω αριστερά (εμφανής επίσης είναι η λάρβα στα αριστερά του) και καθοδικά δεξιόστροφα λάρβα πρώτου σταδίου, λάρβες τελευταίων σταδίων, πούπα, θηλυκό και αρσενικό ενήλικο αντίστοιχα.



Εικόνα 25: Διάφορα στάδια *N. Artynes* (από επάνω αριστερά): ωό, μικρή λάρβα, μεγάλη λάρβα, πούπα, ενήλικο θηλυκό, ενήλικο αρσενικό. Πηγή:(<http://elhocinoadra.blogspot.it/2010/11/necremnus-un-parasito-de-larvas-de-tuta.html>)

- **Δράση του *N. near artynes* και *N. near tidius***

Η ωφέλιμη δράση των ειδών *Necremnus* sp συνοψίζεται σε δύο μέρη. Αρχικά η εκτοπαρασιτική του δράση μπορεί να περιορίσει σημαντικά πληθυσμούς *T. absoluta* και *C. pulchrimella*. Μια συνοπτική παρουσίαση της διαδικασίας παρασιτισμού περιλαμβάνει: αντίληψη της λάρβας, εισχώρηση του ωοθήτη και απελευθέρωση τοξινών για την δηλητηρίαση της, εισχώρηση του ωοθήτη μετά την ακινητοποίηση της για την εναπόθεση ωών (1-4 ωά/λάρβα). Η εναπόθεση ωών γίνεται μέσα στην στοά και κοντά στην λάρβα του ξενιστή από τον οποίο το νέο εκκολαπτόμενο ωό θα τραφεί απομυζώντας όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά για να φτάσει στην ενηλικίωση.

Ο δεύτερος τρόπος δράσης του *Necremnus* sp θυμίζει δράση αρπακτικού. Για την εναπόθεση των ωών του το *Necremnus* sp χρειάζεται μια συγκεκριμένη ενεργειακή κατάσταση και την οποία αποκτά τρυπώντας και απομυζώντας τον ξενιστή πραγματοποιώντας δηλαδή όπως αναφέρεται στην ξένη βιβλιογραφία "*host feeding*". Το *N. artynes* θα καταναλώσει αρκετές φορές τα θύματα του πριν τελικά εναποθέσει σε κάποιο τα ωά του.

Με αυτήν την συνδυασμένη διπλή δράση το *N. artynes* και *N. tidius* και μπορεί να προκαλέσει και 70% θνησιμότητα της *T. absoluta* (Bioplanet).

2.2.4 Εγκατάσταση φυτών-ξενιστών

Όπως προαναφέρθηκε εγκατάσταση φυτών *P. officinalis* χρησιμοποιήθηκαν στην αναπαραγωγή πληθυσμών *C. pulchrimella*, εύρεση του είδους *N. tidius* και χρησιμοποίηση των προσβεβλημένων φύλλων στα εργαστηριακά πειράματα παρασιτισμού της *T. absoluta*.

Πληθυσμοί φυτών τομάτας (ξενιστής της *T. absoluta*) εγκαταστάθηκαν στο θερμοκήπιο εντομολογίας της DIVARPA. 60-80 σπόροι τομάτας φυτεύονταν μηνιαία (περίπου 20 την εβδομάδα) καθ'ολη την διάρκεια των πειραμάτων ώστε να καλύψουμε τις ανάγκες εκτροφής των πληθυσμών *T. absoluta* που εγκαταστήσαμε. Τυχών ελλείψεις φυτών καλύφθηκαν από το εθνικό ινστιτούτο ερευνών στο Τορίνο, από όπου προμηθευτήκαμε υγιή φυτάρια.

Στα συγκεκριμένα πειράματα προτίμησης ξενιστή άλλοι πληθυσμοί φυτών-ξενιστών της *T. absoluta* εγκαταστάθηκαν στο θερμοκήπιο. Φυτεύτηκαν περίπου 20 φυτά (4-5 την εβδομάδα) τον μήνα για κάθε ένα από τα ακόλουθα:

- **Πιπεριά:** γένους *capsicum* (Solanales : Solanaceae)
- **Σολανό:** *Solanum nigrum* (Solanales : Solanaceae)
- **Μελιτζάνα:** *Solanum melongena* (Solanales : Solanaceae)
- **Τομάτα:** *Solanum lycopersicum* (Solanales : Solanaceae),
- **Φασόλι:** *Phaseolus vulgaris* (Fabales: Fabaceae)
- **Φάβα:** *Vicia faba* (Fabales: Fabaceae).
- **Κολοκύθι:** γένους *Cucurbita* (Violales:Cucurbitaceae)

Κεφάλαιο 2- Μέθοδοι και Υλικά

Όλα τα φυτά μεγάλωσαν απαλλαγμένα από άλλες προσβολές και ασθένειες ώστε να μην αλλοιώνεται το πειραματικό αποτέλεσμα σε θερμοκρασία 25 ± 1 °C και 60% υγρασία. Σπορόφυτα όλων των ειδών που χρησιμοποιήθηκαν μεταφυτεύονταν και χρησιμοποιούνταν στα πειράματα εβδομαδιαίως. Προσπαθήσαμε στο πειραματικό θερμοκήπιο και καταφέραμε να έχουμε σε μόνιμη βάση διαθέσιμα φυτά-ξενιστές όλων των σταδίων για τα εργαστηριακά πειράματα.



Εικόνα 26-27: (Αριστερά) Φορητός Εντομολογικός θάλαμος εκτροφής *C. pulchrimella* με φυτό-ξενιστή την *P. officinalis*. (Δεξιά) Φορητός εντομολογικός θάλαμος εκτροφής *T. absoluta* με φυτό-ξενιστή τομάτα. (Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. Τορίνο, 2012)



Εικόνα 28: Φύτευση αναρριχητικού φασολιού και κολοκυθιού στο πειραματικό θερμοκήπιο εντομολογίας. (Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου. Πανεπιστήμιο του Τορίνο, 2012)

3. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

Κατά το πειραματικό μέρος παρατηρήσαμε και αξιολογήσαμε την δυνατότητα καταπολέμησης της *T. absoluta* για κάθε ένα από τα δύο είδη των αρχικών γενεών *Necremus* sp αλλά και τους απογόνους αυτών χρησιμοποιώντας διαφορετικό ξενιστή. Πιο αναλυτικά:

Όπως προαναφέρθηκε η πρώτη γενεά *N. artynes* που χρησιμοποιήθηκε προέρχεται από το Ινστιτούτο αναπαραγωγής εντόμων *Bioplanet* και η αναπαραγωγή του έγινε με την χρήση της *T. absoluta* ως ξενιστή. Αντίθετα το *N. tidius* που εντοπίσαμε στα φυτά *P. officinalis* που συλλέξαμε στην Λιγούρια προήλθε από παρασιτισμό του *C. pulchrimella*.

Έτσι δημιουργήσαμε με ελεγχόμενη ωτοκία απογόνους *N. artynes* που προήλθαν από παρασιτισμό σε *C. pulchrimella* και συγκρίναμε την ικανότητα τους στην καταπολέμηση της *T. absoluta* με την ικανότητα των αρχικών πληθυσμών που προήλθαν από παρασιτισμό της *T. absoluta*.

Ανάλογα πράξαμε και με το *N. tidius*. Συγκρίναμε την δυνατότητα παρασιτισμού της *T. absoluta* στην πρώτη γενεά που προήλθε από παρασιτισμό του *C. pulchrimella* με αυτήν μιας νέας γενιά που δημιουργήσαμε και που προήλθε από παρασιτισμό της *T. absoluta*.

Ταυτόχρονα παρατηρήσεις έγιναν σχετικά με τις προτιμήσεις των πρώτων γενεών στον ξενιστή του και την διαφορετική δράση τους σε διαφορετικό ξενιστή. Στους επόμενους πίνακες παρουσιάζονται όλα τα αποτελέσματα ως προς το είδος δράσης και προτίμησης των παρασιτοειδών.

Όλα τα πειράματα παρασιτισμού για την αξιολόγηση της ικανότητας καταπολέμησης της *T. absoluta* αλλά και την προτίμηση των παρασιτοειδών σε διαφορετικό ξενιστή πραγματοποιήθηκαν σε καθημερινή βάση, σε εργαστηριακές εγκαταστάσεις, με την βοήθεια μικροσκοπίου και σύγχρονο εξοπλισμό. Συνολικά 100 θηλυκά έντομα, 80 *N. artynes* και 20 *N. tidius* αξιολογήθηκαν ως προς την ικανότητα τους να προκαλέσουν θνησιμότητα ή και να παρασιτήσουν λάρβα *C. pulchrimella* και *T. absoluta*. Δέκα περίπου ενήλικα θηλυκά, πέντε από το κάθε είδος, δοκιμάζονταν ημερησίως ως προς την ικανότητα να εναποθέσουν ωά αλλά και ο αριθμός αυτών ημερησίως σε συνάρτηση με τον χρόνο και τις περιβαλλοντικές συνθήκες.

3.1 Πειράματα παρασιτισμού – Δημιουργία πληθυσμών και παρατήρηση

Η αρχική γενεά *N.near artynes* που παραλάβαμε προήλθε από παρασιτισμό της *T. absoluta* και για αυτό τα θηλυκά ονομάστηκαν με τα αρχικά "AT" από τα αρχικά των *artynes* και *Tuta* για παράδειγμα AT 1, AT 2 κτλ. Η αρχική γενεά *N. near tidius* προήλθε από παρασιτισμό *C. pulchrimella* και για αυτό ονομάστηκε "TC" από τα αρχικά των *tidius* και *Cosmopterix* δηλαδή TC 1, TC 2 κτλ.

Οι δύο διασταυρωμένες γενεές που δημιουργήσαμε είναι η "AC" δηλαδή *N. near artynes* με παρασιτισμό του *C. pulchrimella* και η "TT" δηλαδή *N. near tidius* με παρασιτισμό του *T. absoluta*. Οι τέσσερις γενεές φαίνονται παρακάτω:

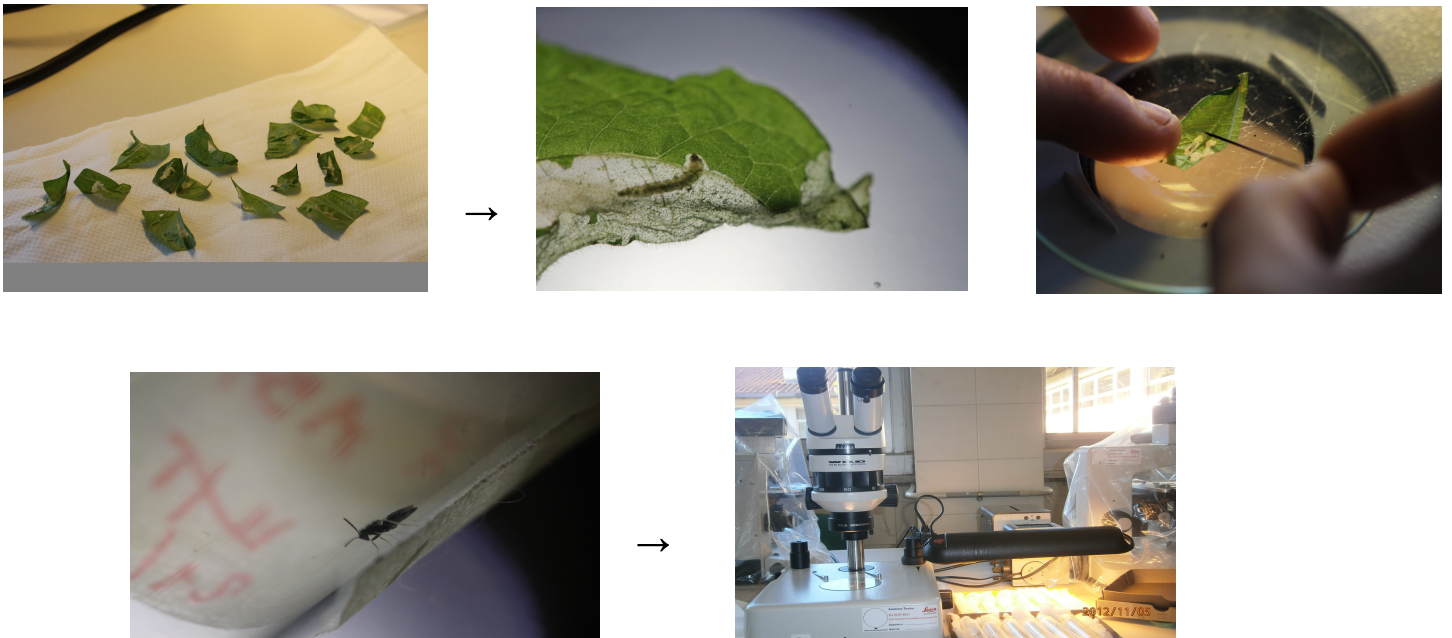
- *Necremus near artynes* - *Tuta absoluta* (AT)
- *Necremus near artynes* - *Cosmopterix pulchrimella* (AC)
- *Necremus near tidius* - *Tuta absoluta* (TT)
- *Necremus near tidius* - *Cosmopterix pulchrimella*(TC)

Διαφορετικές γενιές που προέρχονται από τους δύο αυτούς ξενιστές αξιολογήθηκαν ως προς την ικανότητα να παρασιτίσουν τους ίδιους ξενιστές. Έπειτα από σειρά πειραμάτων και σε διάφορες συνθήκες και τροποποιήσεις μεθόδων προέκυψαν οι συνθήκες, ο τρόποι και τα βήματα εκτέλεσης των πειραμάτων και τα οποία είναι:

- **Συλλογή προσβεβλημένων φύλλων:** Για τα πειράματα παρασιτισμού επιλέχθηκαν προσβεβλημένα φύλλα *Parietaria officinalis* από *C. pulchrimella* με στοά μετρίου μεγέθους και λάρβα 3-4 σταδίου και φύλλα *Solanum lycopersicum* προσβεβλημένα από λάρβα *T. absoluta* 2ου-3ου σταδίου. Στα πολύ μικρά στάδια και στα δύο είδη (λάρβα 1ου-2ου σταδίου), οι λάρβες δεν επαρκούν ως τροφή για την ανάπτυξη και μεταμόρφωση του παρασιτοειδούς.
- **Η ηλικία της λάρβας:** Το μέγεθος και το χρώμα της λάρβας είναι ενδεικτικά της ηλικίας και της κατάστασης της. Λάρβα *T. absoluta* 2-4 σταδίου έχει πράσινο χρώμα ενώ γίνεται έντονο πράσινο - γάλανό με ροζ αποχρώσεις όσο πλησιάζει η νύμφωση. Αντίθετα η λάρβα πρώτου σταδίου και στα δύο είδη είναι κιτρινωπή-ωχροπράσινη με σκούρη κεφαλή. Το μέγεθος επίσης ανάμεσα στα 4 στάδια είναι εύκολα προσδιορίσιμο και ενδεικτικό της ηλικίας.
- **Ξένοι οργανισμοί:** Όλα τα προσβεβλημένα φύλλα καθαρίζονταν σχολαστικά από ακάρεα ή αφίδες που τυχόν υπάρχουν πριν τα πειράματα ξεκινήσουν. Έρευνες έχουν δείξει πως το *Necremnus* sp μπορεί να αλλάξει συμπεριφορά ή να αναβάλει την ωστοκία αν υπάρχει παρών άλλος οργανισμός.
- **Προετοιμασία στοάς:** Η είσοδος της στοάς της λάρβας κλείνεται με μία σταγόνα σιλικόνης. Η σιλικόνη εφαρμόζεται στην μύτη καρφίτσας και με την βοήθεια του μικροσκοπίου. Με τον τρόπο αυτό μειώνουμε τις πιθανότητες διαφυγής της λάρβας για μεγαλύτερη επιτυχία του πειράματος.

- **Επαφή παρασιτοειδούς με τον ξενιστή:** Αφότου τελειώσει η προετοιμασία του φύλλου και της στοάς το φύλλο εισέρχεται σε γυάλινο δοκιμαστικό σωλήνα με το θηλυκό παρασιτοειδές. Η δράση παρατηρείται για αρκετά λεπτά έως ότου επέλθει θνησιμότητα. Η παρατήρηση γίνεται κάτω από έντονο φωτισμό και θερμότητα. Η δράση του παρασιτοειδούς παρατηρείται στο μικροσκόπιο. Σε περίπτωση μη-θνησιμότητας του ξενιστή το πείραμα επαναλαμβάνεται.

Οι παρατηρήσεις έγιναν σε εργαστηριακές συνθήκες με θερμοκρασία 25 ± 1 °C και ισχυρό φωτισμό με λαμπτήρες φθορισμού. Έπειτα από την είσοδο του στον σωλήνα, το *Necremnus* εξερευνεί τον χώρο και έρχεται σε επαφή με το προσβεβλημένο φύλλο. Αφότου ολοκληρωθεί η προετοιμασία των στοών τα φύλλα τοποθετούνται μεμονωμένα σε γυάλινους δοκιμαστικούς σωλήνες μαζί με ένα θηλυκό έντομο *N. artynes/N.tidius*.



Εικόνα 29-33: Διαδικασία πειραμάτων παρασιτισμού (από αριστερά επάνω προς τα δεξιά) συλλογή φύλλων, εμπειρική διάγνωση ξενιστή, κλείσιμο στοάς στο μικροσκόπιο, εισαγωγή φύλλου και παρασιτοειδούς σε δοκιμαστικό σωλήνα, δυνατός φωτισμός και θερμότητα για την παρατήρηση του παρασιτισμού. (Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου, DIVAPRA, 2013)

3.2 Πειράματα παρασιτισμού – Συμπεριφορά παρασιτοειδούς

Τα βήματα που ακολουθεί το παρασιτοειδές από την εισαγωγή του προσβεβλημένου φύλλου έως και την ωτοκία είναι τα εξής:

1. **Ανάπαυση.** Το παρασιτοειδές παραμένει αδρανές και δεν παρουσιάζει κανένα ενδιαφέρον ως προς το φύλλο.
2. **Αναζήτηση.** Το παρασιτοειδές περιφέρεται και εξερευνεί τον χώρο.
3. **Πρώτη επαφή με το φύλλο.** Γίνεται συνήθως τα πρώτα 5 λεπτά. Το παρασιτοειδές προτιμά την ανάβαση από την μύτη του φύλλου.
4. **Τυμπανισμός με τις κεραίες (DRUMMING).** Το παρασιτοειδές πάλλει τις κεραίες του στην επιφάνεια του φύλλου για να αντιληφθεί έτσι την τοποθεσία της λάρβας.
5. **Εισαγωγή του ωothέτη (PROBING).** Το παρασιτοειδές εισάγει πολλές διαδοχικές φορές τον ωothέτη έως ότου τελικά εντοπίσει την λάρβα.
6. **Ωτοκία.** Μετά τον εντοπισμό της λάρβας ο ωothέτης εισάγεται για μερικά δευτερόλεπτα. Συνήθως εναποθέτονται ένα ή δύο ωά, σπανιότερα τρία η περισσότερα. Έπειτα από την έξοδο του ωothέτη το παρασιτοειδές συνεχίζει την ωτοκία σε άλλο σημείο της στοάς ή εγκαταλείπει το φύλλο.
7. **Κατανάλωση ξενιστή (HOST-FEEDING).** Μετά τον εντοπισμό της λάρβας ο ωothέτης εισάγεται για μερικά δευτερόλεπτα με σκοπό να τρυπήσει την λάρβα. Έπειτα από την έξοδο του ωothέτη το παρασιτοειδές καταναλώνει το υγρό της λάρβας. Συνήθως αυτή η ενέργεια έχει μεγαλύτερη διάρκεια από την ωτοκία. Αν και δεν είναι συνηθισμένο το θηλυκό έντομο μπορεί να ωτοκίσει και να καταναλώσει έπειτα την ίδια λάρβα με αποτέλεσμα το ωό να μην αναπτυχθεί ποτέ.

3.3 Φύλαξη ωών και ενηλίκων

Σε εργαστηριακό περιβάλλον τα ωά φυλάσσονταν σε θερμοθάλαμο με θερμοκρασία 25 ± 1 °C και 65% σχετική υγρασία. Τα φύλλα με τα ωά διατηρούνταν μεμονωμένα σε γυάλινους εργαστηριακούς σωλήνες και κλείνονταν καλά με βαμβάκι. Προσθέταμε καθημερινά 1-2 σταγόνες νερού στο βαμβάκι για να εξασφαλίσουμε υγρασία για την ανάπτυξη της λάρβας τόσο όμως όσο να μην αναπτύσσονται μύκητες. Συνήθως, όπως θα δούμε παρακάτω, η εμφάνιση του ενήλικου παρασιτοειδούς σε αυτές τις συνθήκες πραγματοποιείται μετά από 12-13 ημέρες κατά μέσο όρο.

Όλα τα ενήλικα παρασιτοειδή φυλάσσονταν στο ψυγείο στους 2 °C μεμονωμένα σε γυάλινους εργαστηριακούς σωλήνες. Οι σωλήνες κλείνονταν καλά με βαμβάκι όπου προσθέταμε καθημερινά υγρασία και σταγόνες μέλι στα τοιχώματα. Οι σωλήνες αλλάζονταν σε τακτά χρονικά διαστήματα για την σωστή διατήρηση και υγιεινή των εντόμων.



Εικόνα 34: Όλα τα ενήλικα παρασιτοειδή φυλάσσονταν μεμονωμένα σε γυάλινους εργαστηριακούς σωλήνες
(Πηγή: Ιουλία Κυριακίδου, DIVAPRA, 2012)

3.4 Έλεγχος γονιμότητας (MATING TEST)

Όλα τα ενήλικα θηλυκά αφήνονταν με ένα ή δύο αρσενικά για 48 ώρες σε θερμοθάλαμο κατευθείαν μετά την μεταμόρφωση τους για να επιτευχθεί σύζευξη. Για την αποφυγή σφαλμάτων και την διασφάλιση της γονιμότητας και ικανότητας εναπόθεσης ωών η διαδικασία επαναλαμβανόταν άλλη 1 φορά κατά την διάρκεια της ζωής τους. Η συγκεκριμένη τεχνική απέφερε και τα καλύτερα αποτελέσματα καθώς όλα τα ενήλικα θηλυκά που συζεύχθηκαν τουλάχιστον άλλη μια φορά κατά την διάρκεια της ζωής τους έδειξαν μεγαλύτερη δραστηριότητα σε σχέση με εκείνα που συζεύχθηκαν μόνο μία φορά στην αρχή της ζωής τους. Αξίζει να σημειωθεί εδώ ότι η ικανότητα των παρασιτοειδών να ωοτοκήσουν μειώνεται όσο αυξάνεται η ηλικία τους, είναι δηλαδή αντιστρόφως ανάλογη της ηλικίας.

3.5 Ολφακτομετρική ανάλυση (olfactometer analysis)

Για να κατανοήσουμε καλύτερα την προτίμηση του παρασιτοειδούς και την εξειδίκευση του ή μη σε κάποιο συγκεκριμένο ξενιστή εκτελέσαμε ολφακτομετρικές μετρήσεις. Η μελέτη αυτή διεκπεραιώθηκε σε ειδικά διαμορφωμένο και αποστειρωμένο χώρο.

Πιο συγκεκριμένα πριν από την κάθε μέτρηση ελέγχουμε την υγρασία και θερμοκρασία ώστε να είναι περίπου σταθερά στο 28% και 22±1°C αντίστοιχα. Μετρήσαμε επίσης την ένταση φωτός και προσαρμόσαμε τους λαμπτήρες ανάλογα ώστε να έχουμε περίπου 170-180 lux. Η πίεση ροής του αέρα προσαρμόστηκε στα 2 λίτρα/λεπτό.

Για να γίνουν οι ολφακτομετρικές μετρήσεις τα ενήλικα έπρεπε να διανύουν μόλις την δεύτερη ή τρίτη ημέρα της ενήλικης ζωής τους και να έχουν απομονωθεί για 48 ώρες. Κατά την διάρκεια των μετρήσεων το ενήλικο εισάγεται στον σωλήνα "Υψιλον" και παραμένει κατά την διάρκεια 10' για να επιλέξει τον βραχίονα που θα κινηθεί και κατ' επέκταση τον ξενιστή του. Σε περίπτωση καμίας ενέργειας μετά από 10' το πείραμα ακυρώνεται και επαναλαμβάνεται. Χρησιμοποιήσαμε ως ξενιστές παρασιτισμένα φύλλα *P. officinalis* και *S. lycopersicum* από *C. pulchrimella* και *T. absoluta* αντίστοιχα. Παρακάτω σας παρουσιάζω ένα δείγμα των ολφακτομετρικών μετρήσεων.

Πίνακας 8: Δείγμα σημειώσεων ολφακτομετρικών μετρήσεων

Κωδικός	Ημερομηνία και ώρα	Είδος	Ηλικία (ημέρες)	Δεξιός βραχίονας	Αριστερός βραχίονας	Διάρκεια παρατήρησης (Λεπτά)	Βραχίονας που επιλέχθηκε	Ροή αέρα (l/min)	Ένταση φωτός (lux)	Υγρασία (%)	Θερμοκρασία (°C)
TC18	22/02/2012 14:53	tidius	2	C.pulchrimella	T. absoluta	10'	-	2	170	28	22
AT34	22/02/2012 15:12	artynes	2	C.pulchrimella	T. absoluta	7'32"	Αριστερός	2	176	28	22
AT19	22/02/2012 15:32	artynes	2	C.pulchrimella	T. absoluta	5'14"	Αριστερός	2	173	28	23
TC05	25/02/2012 15:32	tidius	2	C.pulchrimella	T. absoluta	2'	Αριστερός	2	179	28	23
AT10	22/02/2012 15:32	artynes	2	C.pulchrimella	T. absoluta	3.14"	-	2	178	28	23

4. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

4.1 Πειράματα παρασιτισμού – Αποτελέσματα παρατηρήσεων

Όλα τα θηλυκά που συμμετείχαν στα πειράματα έζησαν κατά μέσο όρο 40 ημέρες με 65 ημέρες μεγαλύτερη διάρκεια ζωής και μόλις 2 ημέρες την μικρότερη. Γενικά χρησιμοποιήθηκαν τα νεότερα μέλη καθώς όπως προαναφέρθηκε το *Necremnus sp* εναποθέτει το 60-70% των ωών τις δύο-τρεις πρώτες εβδομάδες ζωής. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν κατά την διάρκεια 4 μηνών (15/10/2012 – 15/02/2013). Συνολικά 50 ενήλικα θηλυκά αξιολογήθηκαν και πιο συγκεκριμένα όπως παρουσιάζεται και στον πίνακα 9:

- 35 θηλυκά ΑΤ παρασίτησαν λάρβα *C.pulcrimella* κατά την διάρκεια 93 ημερών,
- 35 θηλυκά ΑΤ παρασίτησαν λάρβα *T. absoluta* κατά την διάρκεια 62 ημερών ,
- 15 θηλυκά ΤC παρασίτησαν λάρβα *C.pulcrimella* κατά την διάρκεια 62 ημερών ,
- 15 θηλυκά ΤC παρασίτησαν λάρβα *T. absoluta* κατά την διάρκεια 31 ημερών.

Πίνακας 9: Γενικές πληροφορίες παρατηρήσεων για κάθε ένα από τους συνδυασμούς παρασιτισμού

ΣΥΝΔΙΑΣΜΟΣ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ*	ΠΕΡΙΟΔΟΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΩΝ	ΣΥΝΟΛΙΚΕΣ ΗΜΕΡΕΣ	ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΡΑΣΙΤΟΕΙΔΩΝ ΠΟΥ ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΗΘΗΚΑΝ
ΑΤC	15/10/2012-15/01/2013	93	35 / 48
ΑΤT	15/12/2012-15/02/2013	62	35/48
ΤC C	15/12/2012-15/02/2013	62	15/15
ΤC T	15/01/2013 – 15/02/2013	31	15/15

*ΙΣΧΥΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΚΑΘΕ ΠΕΡΙΠΤΩΣΗ:

ΑΤC (*N. artynes* που προήλθε από *T. absoluta* και παρασιτεί *C.pulcrimella*)

ΑΤ T (*N. artynes* που προήλθε από *T. Absoluta* και παρασιτεί *T. absoluta*)

ΤC C (*N. tidius* που προήλθε από *C. pulcrimella* και παρασιτεί *C. pulcrimella*)

ΤC T (*N. tidius* που προήλθε από *C. pulcrimella* και παρασιτεί *T. absoluta*).

Η δράση των δύο παρασιτοειδών ήταν διαφορετική σε διαφορετικούς ξενιστές. Πιο συγκεκριμένα στους παρακάτω πίνακες (10,11) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των πειραμάτων παρασιτισμού για κάθε μια από τις τέσσερις περιπτώσεις: ΑΤC, ΑΤT, ΤC C, ΤC T.

Πίνακας 10: Σύνολα ανά συνδυασμό παρασιτισμού και δραστηριότητα

ΣΥΝΔΙΑΣΜΟΣ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ	ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΩΝ	ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΩΟΤΟΚΙΑΣ	ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ "HF" *	ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ "NM" **
ΑΤC	290	107	53	130
ΑΤΤ	150	18	72	60
ΤCС	287	160	57	70
ΤCΤ	95	32	25	38

* HF: Στα αγγλικά, HOST FEEDING, δηλαδή η θανάτωση και κατανάλωση του ξενιστή.

**NM: Στα αγγλικά, NO MORTALITY, δηλαδή η ΜΗ πρόκληση θανάτου είτε ωοτοκόντας είτε καταναλώνοντας την λάρβα. Ο αριθμός αυτός προκύπτει εάν προσθέσουμε τις περιπτώσεις θανάτου του ξενιστή και το αφαιρέσουμε από τον συνολικό αριθμό πειραμάτων που εκτελέστηκαν.

Πίνακας 11: Συνολικά ποσοστά επιτυχίας ανά δραστηριότητα

ΣΥΝΔΙΑΣΜΟΣ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ	ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΩΟΤΟΚΙΑΣ	ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΠΟΣΟΣΤΟ "HF"	ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΠΟΣΟΣΤΟ "NM"	ΣΥΝΟΛΙΚΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΤΥΧΙΑΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗΣ *
ΑΤC	37%	18%	45%	55 %
ΑΤΤ	12%	48%	40%	60 %
ΤCС	55,7%	19,3%	24,5%	75%
ΤCΤ	33,6%	26,4%	40%	60 %

*ΤΟ ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΤΥΧΙΑΣ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ, προκύπτει προσθέτοντας τις περιπτώσεις θανάτωσης του ξενιστή και εξισώνοντας το ποσό στον συνολικό αριθμό πειραμάτων που εκτελέστηκαν. Για παράδειγμα στη πρώτη περίπτωση ισχύει: 107 ΦΟΡΕΣ ΩΟΤΟΚΙΑ + 53 HF = 160 φορές επήλθε θάνατος και 130 όχι. Έπειτα εξισώνεται ο αριθμός επιτυχίας στο 290 που είναι ο συνολικός αριθμός των πειραμάτων και προκύπτει το ποσοστό επιτυχίας.

Όπως συμπεράνουμε από τους δύο προηγούμενους πίνακες φαίνεται πως το *N. artynes* και το *N. tidius* παρασιτούν και προκαλούν γενικά θνησιμότητα με την ίδια επιτυχία σε λάρβα της *T. Absoluta* και παρ' ότι που τα δύο διαφορετικά είδη προήλθαν από διαφορετικό ξενιστή. Όσο για τον παρασιτισμό και θνησιμότητα του *C. pulcrimella* το *N. tidius* προσδιορίζεται ως καταλληλότερο παρασιτοειδές με 75% ποσοστό επιτυχίας και αφού προηγείται κατά 20% από το *N. artynes* με επιτυχία μόλις 55%.

Πιο συγκεκριμένα η ικανότητα παρασιτισμού και ωοτοκίας στις τέσσερις περιπτώσεις ανέρχεται στο 55,7% ή αλλιώς 160 ώα ανά 287 πειράματα με μεγαλύτερη δραστηριότητα το *N. tidius* (C) σε παρασιτισμό *C. pulcrimella*. Ακολουθεί το *N. artynes* (T) σε παρασιτισμό *C. pulcrimella* με 37 % των περιπτώσεων ωοτοκία ή 107 ώα/ 290 πειράματα. Τρίτη θέση κατέχει το *N. tidius* (C) σε παρασιτισμό *T. absoluta* με 33,6% ή 32 ώα/ 95 πειράματα. Τελευταίο έρχεται το *N. artynes* (T) σε παρασιτισμό *T. absoluta* με μόλις 12% ωοτοκία δηλαδή μόνο 18 ώα στις 150 περιπτώσεις.

Το τελευταίο αντιθέτως φάνηκε να είναι ικανότερο αρπακτικό με κατανάλωση του ξενιστή *T. absoluta* στο 48% των περιπτώσεων ή αλλιώς 72 /150 πειράματα. Δεύτερο, το *N. tidius* (C) με θανάτωση και κατανάλωση της λάρβας *T. absoluta* στο 26,4% δηλαδή 25 /95 πειράματα. Τρίτο είναι το *N. tidius* (C) με θανάτωση και κατανάλωση της λάρβας *C. pulcrimella* και ακολουθεί με μικρή διαφορά το *N. artynes* (T) στον ίδιο ξενιστή με 19,3% και 18% επιτυχία αντίστοιχα (57/287 και 53/290 αντίστοιχα).

Μικρότερη δραστηριότητα από τις τέσσερις περιπτώσεις και μη πρόκληση θανάτου ή και παρασιτισμού είχε το *N. artynes* (T) με ξενιστή *C. pulcrimella* και μη αποτελεσματικότητα στο 45% των περιπτώσεων (130/290 πειράματα). Ακολουθούν με ίσο ποσοστό 40% το *N. artynes* (T) με ξενιστή *T. absoluta* και μη πρόκληση θανάτου σε 60/150 πειράματα και το *N. tidius* (C) με ξενιστή *T. absoluta* στις 38/95 περιπτώσεις. Τελευταίο στην μη-πρόκληση θανάτου αποδείχθηκε το *N. tidius* (C) και με ξενιστή *C. pulcrimella* όπου μόλις στο 24,5 % των περιπτώσεων δεν προκάλεσε θάνατο ή παρασιτισμό.

Για την ευκολότερη σύγκριση των παρασιτοειδών και την ικανότητα τους να παρασιτήσουν τα δυο διαφορετικά είδη λεπιδόπτερον παρουσιάζω επίσης την κατά μέσο όρο ανά παρατήρηση ωοτοκία, κατανάλωση και μη-θανάτωση της λάρβας που επήλθαν. Με τον τρόπο αυτό έχουμε μια πιο αντικειμενική σύγκριση των πληθυσμών αφού ο αριθμός των παρατηρήσεων που εκτελέστηκαν δεν ήταν ο ίδιος σε όλους τους συνδυασμούς παρασιτοειδούς- ξενιστή.

Πίνακας 12: Μέσος Όρος αποτελεσμάτων ανά παρατήρηση

ΣΥΝΔΙΑΣΜΟΣ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ	ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΕΩΝ	Μ.Ο. ΩΟΤΟΚΙΑΣ / ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ	Μ.Ο. ΩΩΝ ΠΟΥ ΕΚΤΙΜΗΘΗΚΑΝ/ ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ	Μ.Ο. ΗΦ/ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ	Μ.Ο. ΝΜ/ΠΑΡΑΤΗΡΗΣΗ
ΑΤC	290	0.37	0.39	0.18	0.45
ΑΤT	150	0.12	0.13	0.48	0.40
TCC	287	0.56	0.62	0.20	0.24
TCT	95	0,34	0,38	0,26	0,40

4.2 Βιομετρία - Στατιστική Ανάλυση

Όπως διαπιστώνουμε στον πίνακα 13 και η στατιστική ανάλυση επιβεβαιώνει τα αποτελέσματα μας. Η στατιστική ανάλυση έγινε για να συγκρίνουμε την ικανότητα των δύο παρασιτοειδών *N. tidius* (C) και *N. artypes* (T) να παρασιτήσουν λάρβα *C. pulcrimella*. Η στατιστική ανάλυση έγινε με τα δεδομένα ωτοκίας Ιανουαρίου 2013. Όπως αναμενόμενο αποδείχεται ότι το *N. tidius* (C) είναι πολύ ικανότερο να ωτοκίσει καθώς το *N. artypes* (T) αποδείχεται καλύτερο αρπакτικό με το μεγαλύτερο ποσοστό κατανάλωσης του ξενιστή του. Παρ' όλα αυτά δεν παρουσιάζεται σημαντική διαφορά ως προς την συνολική ικανότητα τους να προκαλέσουν θανάτωση στον ξενιστή με κάποιο από τους δύο τρόπους.

Πίνακας 13: One-way ANOVA. Ο πίνακας δημιουργήθηκε μέσω του προγράμματος SPSS

ANOVA		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Eggs	Between Groups	7,121	1	7,121	32,210	,000
	Within Groups	67,209	304	,221		
	Total	74,330	305			
Ovidep_trial	Between Groups	4,566	1	4,566	34,490	,000
	Within Groups	40,243	304	,132		
	Total	44,809	305			
HF	Between Groups	,057	1	,057	,628	,429
	Within Groups	27,576	304	,091		
	Total	27,633	305			
NM	Between Groups	6,264	1	6,264	33,476	,000
	Within Groups	56,885	304	,187		
	Total	63,149	305			

4.3 Πειράματα παρασιτισμού – Αποτελέσματα ωτοκίας

Όπως φαίνεται από τον παρακάτω πίνακα λάβαμε σύνολο 349 ωά εκ των οποίων τα 107 εξελίχθηκαν σε ενήλικα ενώ τα 242 δεν εξελίχθηκαν με ποσοστό επιτυχίας 30,6%. Το χαμηλό αυτό ποσοστό μπορεί να οφείλεται στις συνθήκες εκκόλαψης, θερμοκρασία, υγρασία ή και άλλους περιβαλλοντικούς παράγοντες. Διαπιστώσαμε οι έπειτα από επέμβαση δική μας και ελαφριά τομή στην στοά από την οποία εξέρχεται το νεαρό ενήλικο η θνησιμότητα ή η μη-μεταμόρφωση της πούπας μειώθηκαν κατά 80%.

Κεφάλαιο 4- Αποτελέσματα

Τα ωά για όλες τις κατηγορίες δεν έφεραν σημαντικές διαφορές ως προς τον χρόνο εκκόλαψης, από την ωοτοκία έως την εμφάνιση του ενηλίκου με ένα μέσο όρο τις 13,5 ημέρες. Η θερμοκρασία παίζει ίσως τον σημαντικότερο ρόλο ως προς τον χρόνο εμφάνισης των ενηλίκων. Στην δική μας περίπτωση τα ωά φυλάσσονταν σε θερμοθάλαμους με θερμοκρασία 25 βαθμούς και ελάχιστη υγρασία, μόλις 1 σταγόνα/24ωρο στο βαμβάκι που κλείνει τον σωλήνα.

Παρατηρούμε επίσης στον πίνακα 14 ότι τα ωά ήταν 349 έναντι του αριθμού που επήλθε ωοτοκία που είναι 317. Αυτό συμβαίνει διότι το *Necremnus sp* μπορεί να ωοτοκίσει ένα, δύο ή και περισσότερα ωά την φορά με γενικό μέσο όρο 1,5 ωό/ωοτοκία και στην δική μας περίπτωση 1,1 ωό/ωοτοκία.

Πίνακας 14: Γενικά αποτελέσματα ωοτοκίας

ΣΥΝΔΙΑΣΜΟΣ ΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΥ	ΩΟΤΟΚΙΑ	ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΩΝ ΩΩΝ	ΣΥΝΟΛΙΚΟΣ ΑΡΙΘΜΟΣ ΩΩΝ ΠΟΥ ΕΠΙΒΙΩΣΑΝ	ΠΟΣΟΣΤΟ ΕΠΙΤΥΧΙΑΣ	Μ.Ο ΗΜΕΡΩΝ ΟΛΟΚΛΗΡΩΣΗΣ ΚΥΚΛΟΥ ΩΟ - ΕΝΗΛΙΚΟ
ΑC	107	113	38	33,6%	13.28
ΑΤ	18	20	7	35%	13.76
ΤC	160	180	50	27.7%	13.38
ΤΤ	32	36	12	33.3%	13.85
ΣΥΝΟΛΑ	317	349	107		
Μ.Ο.				30,6 %	13.5

4.4 Πειράματα παρασιτισμού – Αποτελέσματα Ολφακτομετρικών μετρήσεων

Πολύ ενθαρρυντικά φάνηκαν τα πρόωρα αποτελέσματα των ολφακτομετρικών μετρήσεων που λάβαμε χωρίς όμως να έχουμε ολοκληρώσει την έρευνα. Πιο συγκεκριμένα μελετήσαμε 20 παρασιτοειδή "TC" και "ΑΤ" δηλαδή *N. tidius* και *N. artynes* αντίστοιχα την περίοδο Φεβρουαρίου 2013. Εμφανής ήταν η προτίμηση όλων των παρασιτοειδών στην *T. absoluta* όπως φαίνεται από τα παρακάτω στοιχεία:

- Από τα δείγματα που εκτελέσαμε το 40% των εντόμων κινήθηκε προς κάποια κατεύθυνση κάνοντας έτσι επιλογή του ξενιστή του.
- Το υπόλοιπο 60% δεν έδειξε κανένα ενδιαφέρον.
- Από το 40% δε πολύ ενθαρρυντικό είναι το γεγονός ότι όλα τα παρασιτοειδή επέλεξαν την *T. absoluta* για ξενιστή.

5. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ και ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Στην παρούσα εργασία παρουσιάστηκε η μελέτη παρασιτοειδών εντόμων και η δυνατότητα της αξιοποίησης τους προς όφελος της γεωργίας και του περιβάλλοντος. Τα παρασιτοειδή αποτελούν ένα δυνατό εργαλείο του παραγωγού στην καταπολέμηση επιβλαβών εντόμων (π.χ. Λεπιδόπτερων) καθώς και μία εξαιρετική εναλλακτική λύση στην εφαρμογή βιολογικής γεωργίας και την αποφυγή χρήσης τοξικών ουσιών. Είναι πλέον γεγονός ότι η γεωργική βιομηχανία δεν μπορεί να συνεχίσει τις τακτικές χρήσης χημικών και εντομοκτόνων. Μόλυνση του φυσικού περιβάλλοντος, θανάτωση των ωφέλιμων οργανισμών, ανάπτυξη ανθεκτικότητας από τους βλαβερούς και υποβάθμιση της ποιότητας των παραγόμενων προϊόντων είναι μόνο μερικά μειονεκτήματα της συμβατικής καλλιέργειας. Οι ερευνητές, πλέον και με την επιδοτούμενη υποστήριξη διεθνών προγραμμάτων, έχουν στραφεί στην εύρεση πιο οικολογικών εναλλακτικών λύσεων και ιδιαίτερα στον χώρο της καταπολέμησης εντομολογικών εχθρών, η βιολογική καταπολέμηση είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος.

Υπολογίζεται πως υπάρχουν πάνω από 1 εκ. είδη εντόμων καταγεγραμμένα με το 70% του ζωικού βασιλείου να υπάγεται στα έντομα. Το πραγματικό πλήθος εντόμων δεν έχει αποκαλυφθεί ακόμα. Επιστήμονες παγκοσμίως μελετούν την αλληλεπίδραση των εντόμων μεταξύ τους και με το περιβάλλον τους. Από γεωργικό ενδιαφέρον, έρευνες σε όλα τα μεγάλα πανεπιστήμια και ερευνητικά κέντρα γίνονται γύρω από την οικολογία και βιολογία ωφέλιμων και επιβλαβών εντόμων, την μεταξύ τους σχέση αλλά και την σχέση τους με τα φυτά, καλλιεργούμενα και αυτοφυή αλλά και όλο το γύρω οικοσύστημα. Η απόκτηση επαρκής γνώσης γύρω από την αφανή ζωή και τόσο πολύπλοκη δράση των εντόμων μπορεί να ανοίξει νέους ορίζοντες στον κλάδο της βιολογικής φυτοπροστασίας.

Τα όσα γνωρίζουμε έως τώρα σχετικά με την δράση και οικολογία των εντόμων προέρχεται από εργαστηριακές μελέτες. Λίγα πραγματικά ξέρουμε για τις συνθήκες των εντόμων και στην προκειμένη περίπτωση των παρασιτοειδών εντόμων στο πραγματικό τους περιβάλλον, τον αγρό. Πειράματα σε πραγματικές συνθήκες είναι δύσκολα, σπάνια και επικίνδυνα (J. Casas et al.,2004). Οι ερευνητές ελπίζουν σύντομα να ανακαλύψουν νέους τρόπους να μελετήσουν την αλληλεπίδραση των παρασιτοειδών εντόμων και σε πραγματικές συνθήκες.

Το χρονικό διάστημα Σεπτεμβρίου-Μαρτίου 2012/2013 και στα πλαίσια προγράμματος βιολογικής καταπολέμησης, μελετήσαμε την ικανότητα γηγενών μεσογειακών πληθυσμών παρασιτοειδών να καταπολεμήσουν έναν πολύ σοβαρό εξωτικό είδος, την *T. absoluta*. Οι απώλειες στην παραγωγή τομάτας, πατάτας, πιπεριάς και άλλων λαχανοκομικών εξ' αιτίας αυτού του εχθρού είναι τεράστιες, κάτι που φυσικά συνεπάγεται και τεράστια οικονομική καταστροφή στους παραγωγούς. Η χημική προσέγγιση και εξόντωση του λεπιδόπτερου είναι μεν αποδοτική αλλά και πολύ επικίνδυνη για τον άνθρωπο και τους έμβιους οργανισμούς. Λίγα όμως εντομοκτόνα υπάρχουν διαθέσιμα νόμιμα στην αγορά που θα μπορούσαν να καταπολεμήσουν την *T. absoluta*. Η βιολογική προσέγγιση λοιπόν στην καταπολέμηση εχθρών όπως αυτός κρίνεται απαραίτητη.

Τα εργαστηριακά αποτελέσματα βιολογικής καταπολέμησης που λάβαμε από την δράση των παρασιτοειδών στη καταπολέμηση της *T. absoluta* ήταν πολύ ικανοποιητικά και υποσχόμενα, έτσι, περαιτέρω έρευνα συνεχίζει να διεξάγεται και στο μέλλον. Και τα δύο παρασιτοειδή του γένους *Necremnus sp* έδειξαν υψηλή προσαρμοστικότητα και συνολική θνησιμότητα του ξενιστή είτε τρώγοντας τον είτε παρασιτώντας που έφτασε το 60%. Επιπλέον, όλες οι ολφακτομετρικές μετρήσεις έδειξαν ξεκάθαρα προτίμηση στην *T. absoluta* ως ξενιστή. Στοιχεία που επιβεβαιώνουν πως τα παρασιτοειδή είναι ένας πολύτιμος σύμμαχος του παραγωγού.

Στην Ελλάδα όπως και τις υπόλοιπες μεσογειακές χώρες έχει δημιουργηθεί μεγάλο πρόβλημα στους παραγωγούς από την εξάπλωση της *T. absoluta*. Η *T. absoluta* εισέβαλε στην Ελλάδα το 2009, αρχικά στην Κρήτη καταστρέφοντας ολοσχερώς τις τοματοκαλλιέργειες. Έκτοτε επεκτάθηκε και στον Ηπειρωτικό χώρο σε ολόκληρη την Ελλάδα. Αναφορές για προσβολή από *T. absoluta* έγιναν από 32 Νομούς και 12 περιφέρειες. Η βιολογική καταπολέμηση του λεπιδόπτερου κρίνεται απαραίτητη καθώς μη-εγκεκριμένα και εκτός αγοράς είναι πολλά από τα εντομοκτόνα που είχαν χρησιμοποιηθεί το 2010 για την έκτακτη καταπολέμηση του. Σύμφωνα με Γεωπόνους είναι πολύ λίγα τα όσα μπορούμε να κάνουμε για αποφυγή της καταστροφής. Η πρόληψη είναι ίσως η καλύτερη λύση. Η *T. absoluta* στην χώρα μας περιλαμβάνεται στην λίστα με έντομα σε καραντίνα.

- **Η παρουσία της *T. absoluta* στην Ελλάδα**

Τον Μάιο – Ιούνιο 2009, η εμφάνιση ύποπτων συμπτωμάτων προσβολής σε φυτά μελιτζάνας σε θερμοκήπια του Τυμπακίου Κρήτης ώθησε την εταιρεία Δ. Χαραντώνης να εισάγει από την Ολλανδία (Korperet) ειδική παγίδα φερομόνης η οποία συλλαμβάνει εκλεκτικά το έντομο *T. absoluta*. Σε συνεργασία με τον Αγροτοβιομηχανικό Συνεταιρισμό Τυμπακίου, τοποθετήθηκε μια τέτοια παγίδα σε θερμοκήπιο μελιτζάνας. Στο ίδιο θερμοκήπιο τοποθετήθηκε επίσης μια παγίδα με την ειδική φερομόνη της φθοριμαίας (*Phthorimaea operculella*) η οποία προκαλεί παρόμοια συμπτώματα και κάνει ζημιές στις καλλιέργειες μελιτζάνας της περιοχής. Επίσης πολύ δύσκολη είναι η μορφολογική διαφοροποίηση των δύο αυτών εντόμων. Είναι σχεδόν πανομοιότυπα. Στην παγίδα της *T. absoluta* συνελήφθησαν 8 άτομα, ενώ στην παγίδα της φθοριμαίας συνελήφθησαν γύρω στα 80 άτομα. Δείγματα των συλληφθέντων εντόμων στάλθηκαν στα εργαστήρια της Korperet Ισπανίας όπου ο ειδικός εντομολόγος κ. Jose Eduardo Belda τα ταυτοποίησε ως *T. absoluta* και *P. operculella* αντίστοιχα, με βάση τα χαρακτηριστικά των γεννητικών οργάνων των αρσενικών σε μικροσκοπικά παρασκευάσματα. Φαίνεται, επομένως, ότι το έντομο *T. absoluta* έχει έλθει και στην Ελλάδα αφού υπάρχει στην περιοχή Τυμπακίου. Η παρουσία του διαπιστώθηκε σε θερμοκηπιακή καλλιέργεια μελιτζάνας, σε πληθυσμούς πολύ χαμηλότερους από εκείνους της φθοριμαίας και αυτό μπορεί να εξηγηθεί από το γεγονός ότι η φθοριμαία αποτελεί σοβαρότερο εχθρό για τη μελιτζάνα και έχει προ πολλού εγκατασταθεί στην περιοχή.

Εφαρμογή και χρήση γηγενών ελληνικών πληθυσμών αρπακτικών όπως είναι ο Μακρόλοφος (*Macrolophus rigmaeus*), Νεσιδιοκόρης *Nesidiocoris tenuis* ή και ωφέλιμων εντομοπαθογόνων όπως είναι ο Βάκιλος Θουριγγίας (*Bacillus thuringensis*) ή και συνδυασμός αυτών έχουν δείξει έως στιγμής εκπληκτικά αποτελέσματα (Περδίκης κ.α., 2011)(molla et al., 2009) στην χώρα μας. Η προληπτική και έγκαιρη αντιμετώπιση είναι ίσως η καλύτερη μέθοδος καταπολέμησης. Δύσκολο δε να αναγνωρίσουμε προσβολές της *T. absoluta* όταν πρόκειται σε πρώιμα στάδια. Ένα άλλο έντομο που προκαλεί πανομοιότυπα συμπτώματα στην Ελλάδα με αυτά της *T. absoluta* εκτός από την Φθοριμέα είναι ο Σιδηρόδρομος (*Liriomyza* sp). Οι στοές επίσης που κάνει η λάρβα της *T. absoluta* μπορούν να μπερδευτούν με στοές Σιδηρόδρομου σε πρώιμα στάδια. Για το λόγο αυτό διάγνωση προσβολής από *T. absoluta* θα πρέπει να γίνεται μόνο από εμπειρογνώμονα με παράλληλη ενημέρωση και εκπαίδευση των αγροτών/παραγωγών.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Εικονογραφημένη προβολή της εισβολής της *T. absoluta*

Στις παρακάτω εικόνες περιγράφεται η διαδικασία εισβολής της *T. absoluta* από την Λατινική Αμερική στην Ευρώπη και την Ελλάδα.



Εικόνα 35: Η *T. absoluta* ξεκίνησε την εξάπλωση της το 1970 από το Περού. Σε λίγα μόλις χρόνια κατάφερε να εξαπλωθεί σε ολόκληρη την Λατινική Αμερική και συνέχισε να προκαλεί τεράστιες ζημιές σε παραγωγούς έως και σήμερα.



Εικόνα 36: Το 2007 μέσω του υπερατλαντικού εμπορίου το λεπιδόπτερο εισήλθε λαθραία στην Ευρώπη και εγκαταστάθηκε στην Νότια Ισπανία όπου και προκάλεσε τεράστιες απώλειες στην θερμοκηπιακή τομάτα των γύρω περιοχών.



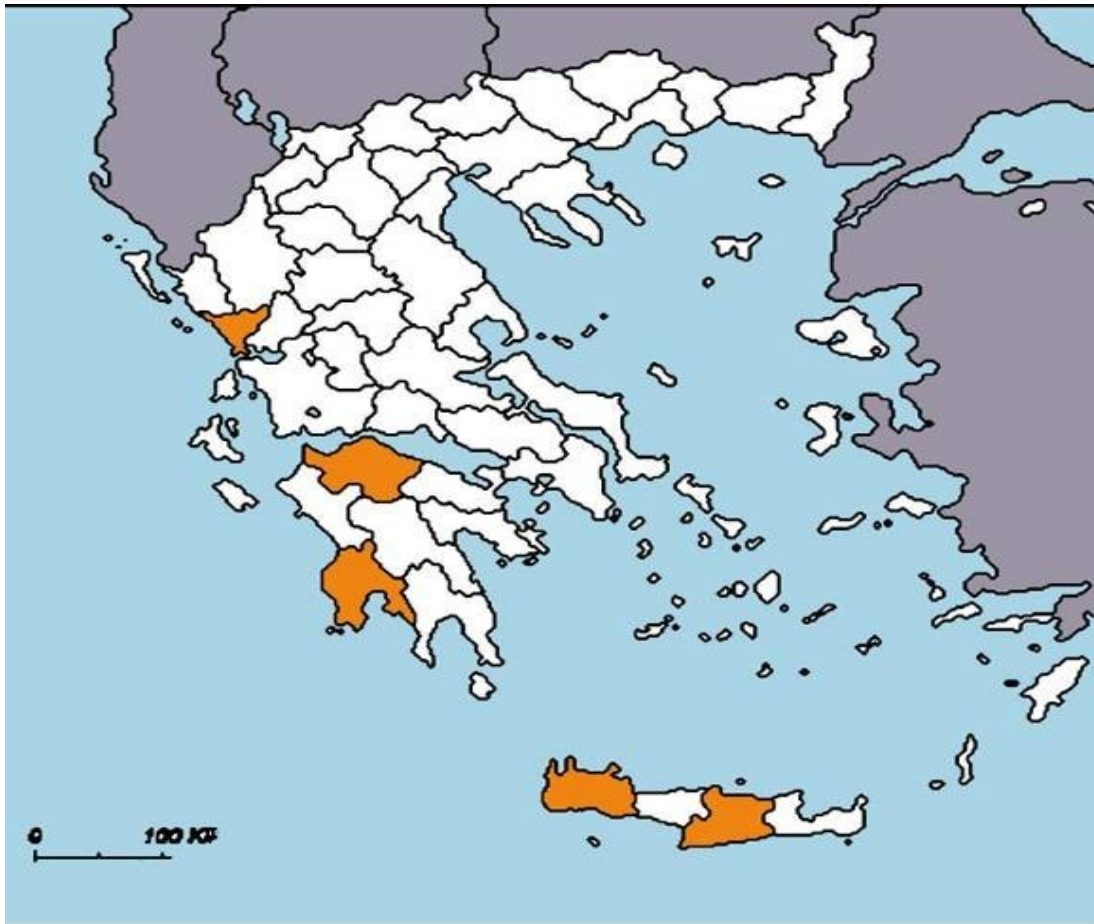
Εικόνα 37: Το 2008, σε μόλις ένα χρόνο από την εισβολή της, η *T. absoluta* εξαπλώθηκε σε ολόκληρη την Ισπανία και Βορειο Δυτική Αφρική.



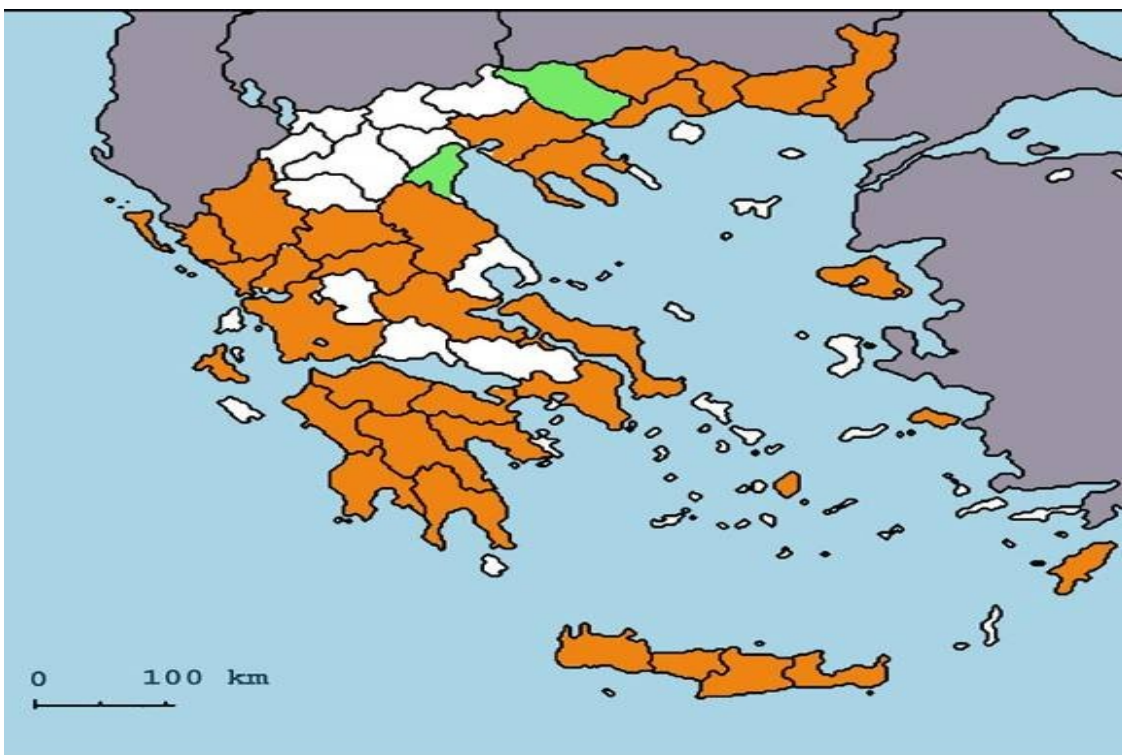
Εικόνα 38: Το 2009 προσβολές του φυλλορήκτη εντοπίστηκαν σε ολοκληρη την Ιβηρική χερσόνησο, την Ιταλία και την Ελλάδα. Παράλληλα πλυθησμοί εγκαταστάθηκαν ακόμα και στην Βόρειο-Δυτική Ευρώπη.



Εικόνα 39: Το 2010 και μόνο μέσα σε τρία χρόνια, προσβολές της *T. absoluta* επεκτάθηκαν σε ολόκληρη την Μεσογειακή λεκάνη από το Μαρόκο εως και το Ισραήλ και από την Πορτογαλία εώς την Ελλάδα.



Εικόνα 40: Στην Ελλάδα πρώτη αναφορά έγινε τον Ιούνιο-Ιουλιο 2009 στην Κρήτη, σε θερμοκηπιακή τομάτα.



Εικόνα 41: Τον Νοέμβριο του 2009 (και μόλις 4 μήνες μετά την εισβολή) προσβολές του λεπιδόπτερου αναφέρθηκαν σε 12 Νομούς και 36 περιφέρειες (!) (Επίσημα αποτελέσματα επισκοπήσεων).

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΙ ΠΑΡΑΠΟΜΠΕΣ **ΞΕΝΕΣ ΠΗΓΕΣ**

- Alain Roques, Wolfgang Rabitsch, Jean-Yves Rasplus, Carlos Lopez-Vaamonde, Wolfgang Nentwig, and Marc Kenis , et al. 2009. Alien Terrestrial Invertebrates of Europe . Chapter 5 . ppg. 63-65
- A. Urbaneja, H. Monton & O. Molla . 2007. Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* . Unidad de Entomología, Centro de Protección Vegetal y Biotecnología, Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), Valencia, Spain
- A. Urbaneja, Joel Gonzalez-Cabrera, Judit Arnob and Rosa Gabarrab . 2012. Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. *Pest Manag Sci* 2012; 68: 1215–1222
- Barrientos ZR, Apablaza HJ, Norero SA, Estay PP (1998) Temperatura base y constante termica de desarrollo de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Ciencia e Investigacion Agraria* 25:133–137
- Bioplanet Via Masiera prima, 1195, 47521 Cesena (FC) -Italy
Tel: +39 0547 632212 Fax: +39 0547 632244 e-mail: info@bioplanet.it
- Cabello T, Gallego JR, Vila E, Soler A, del Pino M, Carnero A, Hernandez-Suarez E, Polaszek A (2009b) Biological control of the South American tomato pinworm. *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae), with releases of *Trichogramma achaeae* (Hym.: Trichogrammatidae) in tomato greenhouses of Spain. *IOBC/WPRS Bull* 49:225–230
- Desneux, N., E. Wajinberg, K.A.G. Wyckhuys, G. Burgio, S. Arpaia, C.A. Narvaez- Vasquez, J. Gonzalez- Cabrera, D. Catalan Ruescas, E. Tabone, J. Frandon, et al. 2010. Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta* : ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *J. Pest Sei.* 83: 197-213.
- da Cunha US, Vendramim JD, Rocha WC, Vieira PC (2006) Fractions of *Trichilia pallens* with insecticidal activity against *Tuta absoluta*. *Pesqui Agropecu Bras* 41:1579–1585
- da Cunha US, Vendramim JD, Rocha WC, Vieira PC (2005) Potential of *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) as a source of substances with insecticidal activity against the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotrop Entomol* 34:667–673
- de Resende JTV, Maluf WR, Faria MV, Pfann AZ, do Nascimento ER (2006) Acylsugars in tomato leaflets confer resistance to the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta* Meyr. *Sci Agric* 63:20–25
- (EPPO) European and mediterranean plant protection organization. 2005. Αρχεία δεδομένων εντομών σε καραντίνα. Τόμος 35: 434-435
- (EPPO) European and mediterranean plant protection organization. 2009. *Tuta absoluta* found on *Phaseolus vulgaris* in Sicilia. (No 8). Eppo, Παρόσι, Γαλλία.
- Estay P (2000) Polilla del Tomate *Tuta absoluta* (Meyrick)
[WWW document]. URL <http://alerce.inia.cl/docs/Informativos/Informativo09.pdf>. Accessed 2 Feb 2010

- Ferracini, B. Letizia Ingegno, P. Navone, E. Ferrari, M. Mosti, L. Tavella and A. Alma. 2012. Adaption of Indigenous Larval Parasitoids to *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in Italy. 2012 Entomological society of America. Ppg. 1311.
- Fernandez S., and A. Montagne. 1990a. Biología del minador del tomate, *Scrobipalpa absoluta* (Meyrick). Bol. Entomol. Venez N. S. 5(12):89-99.
- J. Casas, S. Swarbrick and W. W. Murdoch, 2004. Parasitoid behaviour: Predicting field from laboratory. The royal Entomology Society. Ppg. 657-658
- Gabarra R, Arno J (2010) Resultados de las experiencias de control biológico de la polilla del tomate en cultivo de invernadero y aire libre en Cataluña. Phytoma Espana 217:65–68
- Holt RD, Lawton JH (1994) The ecological consequences of shared natural enemies. Annu Rev Ecol Syst 25:495–520
- J.C. van Lenteren, J. Bale, F. Bigler, H.M.T. Hokkanen and A.J.M. Loomans .2006. Assessing risks of releasing exotic biological control agents of arthropod pests. ppg.609-610
- Mack RN, Barrett SCH, deFur PL, MacDonald WL, Madden LV, Marshall DS, McCullough DG, McEvoy PB, Nyrop JP, Reichard SEH, Rice KJ, Tolin SA (2002) Predicting invasions of nonindigenous plants and plant pests. National Academy of Sciences, Washington, DC
- Medeiros MA, Sujii ER, Rasi GC, Liz RS, de Moraes HC (2009b) Oviposition pattern and life table of South American tomato pinworm *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera, Gelechiidae). Rev Bras Entomol 53:452–456
- Molla O, Monton H, Vanaclocha P, Beitia F, Urbaneja A (2009) Predation by the mirids *Nesidiocoris tenuis* and *Macrolophus pygmaeus* on the tomato borer *Tuta absoluta*. IOBC/WPRS Bull 49:209–214
- Molla O, Monton H, Beitia Crespo FJ, Urbaneja A (2008) La polilla del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick), una nueva plaga invasora. Terralia 69:36–42
- Moreira MD, Picanco MC, Barbosa LCD, Guedes RNC, da Silva LM (2004) Toxicity of leaf extracts of *Ageratum conyzoides* to lepidoptera pests of horticultural crops. Biol Agric Hortic 22:251–260
- Medeiros MA (2007) The role of biodiversity in managing the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). Doctoral Dissertation, University of Brasilia, 145 pp
- Potting R (2009) Pest risk analysis, *Tuta absoluta*, tomato leaf miner moth. Plant protection service of the Netherlands, 24 pp. www.minlnv.nl
- Silverio FO, de Alvarenga ES, Moreno SC, Picanco MC (2009) Synthesis and insecticidal activity of new pyrethroids. Pest Manage Sci 65:900–905
- Vargas, H. 1970. Observaciones sobre la biología enemigos naturales de las polilla del tomate, *Gnorimoschema absoluta* (Meyrick). Depto. Agricultura, Universidad del Norte-Arica 1:75-110.
- Vercher R, Calabuig A, Felipe C (2010) Ecología, muestreos y umbrales de *Tuta absoluta* (Meyrick). Phytoma Espana 217:23–26

ΕΛΛΗΝΙΚΕΣ ΠΗΓΕΣ

- Ροδιτάκης Ε, Παπαχρήστος D, Ροδιτάκης ΝΕ, 2010. Current status of the tomato leafminer *Tuta absoluta* in Greece. ΟΕΡΡ/ΕΡΡΟ Βul 40:163–166
- Περδίκης κ.α., 2011. 14ο εντομολογικό συνέδριο. Ναυπλιο.
- Ναβροζίδης Ε. Ι., 2004. Σημειώσεις Γενικής Εντομολογίας του τμήματος φυτικής παραγωγής. Θεσσαλονίκη.
- Παπαδοπούλου Σ., 2009. Σημειώσεις ειδικής Εντομολογίας – αποθηκευμένων προϊόντων- του τμήματος φυτικής παραγωγής. Θεσσαλονίκη.

ΔΙΑΔΥΚΤΙΑΚΕΣ ΑΝΑΦΟΡΕΣ

- Convention on Biological Diversity (CBD: <http://www.cbd.int>) (COP 6, decision VI/23)(COP 6, decision VI/23).
- ΚΠΕ ΔΡΑΠΕΤΣΩΝΑΣ. 1η Ηλεκτρονική έκδοση. Επιμέλεια: Στροφύλας Διονύσιος (βιολόγος), Παπαδοπούλου Άννα (δασκάλα). Ιούνιος 2010. 2η Ηλεκτρονική έκδοση αναθεωρημένη . Επιμέλεια: Στροφύλας Διονύσιος (βιολόγος) . Ιούνιος 2011
- <http://elhocino-adra.blogspot.it/2010/11/necremnus-un-parasito-de-larvas-de-tuta.html>