



Ελληνική Δημοκρατία  
Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό  
Ίδρυμα Ηπείρου

# Ολοκληρωμένη Φυτοπροστασία Θεωρία

## Ενότητα 6: Παθολογία & Μικροβιολογία εντόμων

Δρ Δήμητρα Ζωάκη-Μαλισιόβα  
Καθηγήτρια Εντομολογίας



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ  
Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



Τμήμα: Τεχνολόγων Γεωπόνων

**Τίτλος Μαθήματος: Ολοκληρωμένη Φυτοπροστασία  
Θεωρία**

**Ενότητα 6: Παθολογία & Μικροβιολογία εντόμων**

Όνομα Καθηγητή: Δρ Δήμητρα Ζωάκη-Μαλισιόβα

Βαθμίδα Καθηγητή: Καθηγήτρια

Άρτα, 2015



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



# Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.





# Χρηματοδότηση

- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «**Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση**» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.
- Το έργο «**Ανοιχτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο ΤΕΙ Ηπείρου**» έχει χρηματοδοτήσει μόνο την αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στο πλαίσιο του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ  
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ  
*επένδυση στην κοινωνία της γνώσης*  
ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ  
2007-2013  
πρόγραμμα για την ανάπτυξη  
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



# Παθολογία & Μικροβιολογία εντόμων

# Σκοποί ενότητας

- Περιγραφή στοιχείων της παθολογίας και μικροβιολογίας των εντόμων.

# Περιεχόμενα ενότητας

- Παθολογία εντόμων.
- Μικροβιολογία εντόμων.
  - Εντομοπαθογόνα βακτήρια.
  - Εντομοπαθογόνοι μύκητες.
  - Εντομοπαθογόνοι ιοί.
  - Εντομοπαθογόνοι νηματώδεις.
  - Εντομοπαθογόνα πρωτόζωα & άλγη.
- Μικροβιολογική καταπολέμηση των εντόμων.



# Παθολογία εντόμων



# Παθολογία εντόμων: Εισαγωγή

- Όλοι οι ζωικοί οργανισμοί (και τα έντομα) είναι δυνατόν να προσβληθούν από μικροοργανισμούς (βακτήρια, μύκητες, ιοί, πρωτόζωα)
- Αυτοί οι μικροοργανισμοί μπορούν να προκαλέσουν διάφορα συμπτώματα ασθενειών, οι οποίες εκδηλώνονται με διαφορετικό τρόπο (ανάλογα με το παθογόνο αίτιο)
- Αποτέλεσμα είναι οι διαταραχές στην εξέλιξη των εντόμων και τελικά στη θανάτωσή τους

# Παθολογία εντόμων (1)

- **Παθολογία εντόμων** είναι ο Κλάδος της Εντομολογίας, που αναφέρεται στα αίτια που προκαλούν μία ασθένεια στα έντομα, στα συμπτώματα που προκαλούνται από την εξέλιξη της μόλυνσης (ήτοι, συμπτωματολογία), καθώς και στην επιζωοτιολογία (ήτοι, οι μηχανισμοί μετάδοσης του μολύσματος από ασθενή έντομα σε άλλα υγιή)
- Απαιτεί και γνώσεις μυκητολογίας, βακτηριολογίας, ιολογίας, πρωτοζωολογίας και ανοσολογίας



# Παθολογία εντόμων (2)

- **Θεμελιωτής/Πατέρας παθολογίας εντόμων:** ο Pasteur με τις μελέτες του επί των ασθενειών του μεταξοσκώληκα
- **Σκοπός παθολογίας εντόμων:** σήμερα αναζητείται η γνώση στην εφαρμογή μεθόδων βιολογικής καταπολέμηση των εντόμων-εχθρών των καλλιεργειών και γενικά του ανθρώπου με τη χρησιμοποίηση **εντομοπαθογόνων μικροοργανισμών**
- Αυτό ονομάζεται πλέον **μικροβιολογική καταπολέμηση** (Steinhaus, 1949) και αποτελεί σημαντική μέθοδο στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας



# Παθολογία εντόμων (3)

- Σημαντική μείωση των πληθυσμών των φυτοφάγων εντόμων, καθώς και εκείνων που προξενούν προβλήματα στη δημόσια υγεία και στην υγεία των ζώων εκτροφής προκαλείται και από τη δράση εντομοπαθογόνων μικροοργανισμών
- Αυτοί οι μικροοργανισμοί προσβάλλουν τα έντομα προκαλώντας ασθένειες, πολλές φορές θανατηφόρες
- Οι περισσότεροι από αυτούς τους μικροοργανισμούς είναι ακίνδυνοι για τα ανώτερα ζώα και, βεβαίως, για τον άνθρωπο
- Επίσης, παρουσιάζουν εξειδικευμένη δράση και είναι ακίνδυνοι για τα περισσότερα ωφέλιμα έντομα
- Τέλος, δεν αποτελούν φυτοπαθογόνους μικροοργανισμούς



# Προϋποθέσεις εντομοπαθογόνων μικροοργανισμών προς χρήση για βιολογική καταπολέμηση

- Να είναι ακίνδυνοι για τον άνθρωπο και την ωφέλιμη πανίδα
- Να είναι δυνατός ο πολλαπλασιασμός τους
- Να έχουν εξειδικευμένη δραστική ικανότητα
- Να είναι ανθεκτικοί σε συνθήκες φυσικού περιβάλλοντος



# Αίτια παθολογικών καταστάσεων στα έντομα

- Εμφάνιση ανώμαλων καταστάσεων στα έντομα μπορεί να οφείλεται σε αίτια:
  - Φυσικά
  - Μηχανικά
  - Χημικά
  - Βιολογικά
  - Διατροφής



# ΦΥΣΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Κυρίαρχο ρόλο έχουν οι δυσμενείς κλιματολογικές συνθήκες, όπως είναι η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία του περιβάλλοντος, όπου διαβιούν και εξελίσσονται τα έντομα
- Υψηλές θερμοκρασίες (καύσωνας) πάνω από τα ανεκτά όρια για κάθε είδος εντόμου ή, αντίστοιχα, χαμηλές θερμοκρασίες (ψύχος) δημιουργούν ανώμαλες καταστάσεις με παθολογικά συμπτώματα, που πολλές φορές οδηγούν στο θάνατο
- Η σχετική υγρασία του περιβάλλοντος κατέχει καθοριστικό, επίσης, ρόλο και μάλιστα σε συνδυασμό με τη θερμοκρασία



# ΦΥΣΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Υπερβολική υγρή ατμόσφαιρα είναι ευνοϊκή συνθήκη για την ανάπτυξη των μυκήτων, ενώ χαμηλή σχετική υγρασία και μάλιστα με υψηλές θερμοκρασίες αποτελούν πολύ αντίξοες συνθήκες για την επιβίωση των εντόμων
- Οι παθογόνοι μύκητες (μόνο αυτοί), εκτός της μόλυνσης που μπορεί να γίνει δια της στοματικής οδού, προσβάλλουν τα έντομα και από το εξωτερικό σωματικό περίβλημά τους (κονίδιο για να βλαστήσει απαιτεί σταγόνα ύδατος)





# ΦΥΣΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Τα έντομα αναπνέουν με το τραχειακό σύστημα με το οποίο, εκτός των άλλων, εισάγεται και εξάγεται ποσοστό ύδατος υπό μορφή ατμών
- Υπό ξηροθερμικές συνθήκες το έντομο αντιδρά κλείνοντας τα αναπνευστικά τρήματα, για να αποφύγει την αφυδάτωση
- Με την παράταση των δυσμενών συνθηκών το έντομο τελικά θανατώνεται μιας και αυτό δεν δύναται να διαρκέσει για αρκετό χρόνο



# ΦΥΣΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Εμφανή συμπτώματα από τα φυσικά αίτια είναι:
  - Η διακοπή της διατροφής
  - Η μείωση της κινητικότητας
  - Η συρρίκνωση του σώματος
  - Η πλήρης αφυδάτωση και τελικά η κατάληξη του εντόμου



# ΜΗΧΑΝΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Αφορά τυχαίους τραυματισμούς, που συμβαίνουν κατά τη διάρκεια εξέλιξης του βιολογικού κύκλου του εντόμου μιας και το έντομο βρίσκεται εκτεθειμένο σε διάφορους κινδύνους για τη ζωή του
- Η μαλακή σύσταση του εξωτερικού περιβλήματος είναι η αιτία να δημιουργηθεί μία μικρή έστω πληγή με την πρόσκρουσή του σε οποιοδήποτε σκληρό αντικείμενο
- Αν το τραύμα είναι μικρό και δεν μολυνθεί από μικροοργανισμούς, μπορεί να επουλωθεί; Αν είναι μεγάλης έκτασης και έχουν αλλοιωθεί ορισμένοι ιστοί του σώματος ή αν έχει επακολουθήσει μόλυνση από κάποιο μικροοργανισμό, τότε επισυμβαίνει η νέκρωση του εντόμου



# ΧΗΜΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Κάθε χημική οσία που επιδρά στο έντομο προξενώντας διαταραχές σε κυτταρικό επίπεδο και στη συνέχεια στους ιστούς του σώματός του θεωρείται δηλητήριο για το έντομο και έχει ως τελικό αποτέλεσμα τη θανάτωσή του
- Ως επακόλουθο της επίδρασης της χημικής ουσίας είναι η εμφάνιση παθολογικών συμπτωμάτων (διακοπή διατροφής και εξέλιξης, ακινησία, διάρροια, κ.λπ.)
- Υπάρχουν όλες οι χημικές ουσίες, που χρησιμοποιούνται στην καταπολέμηση των εντομολογικών εχθρών (εντομοκτόνα)



# ΧΗΜΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Η δράση αυτών των ουσιών λαμβάνει χώρα είτε δια της στοματικής οδού, είτε δια της αναπνευστικής οδού (τραχειίες)
- Αυτή η δράση εκδηλώνεται συνήθως στο νευρικό σύστημα, που παραλύει, με επακόλουθο τη νέκρωση του εντόμου
- Αν η χημική ουσία είναι χαμηλής τοξικότητας, τότε η δηλητηρίαση είναι ελαφριάς μορφής με την πρόσκαιρη εμφάνιση των παθολογικών συμπτωμάτων (ανορεξία, μείωση κινητικότητας) και μετά από μικρό χρονικό διάστημα το έντομο επανέρχεται στον κανονικό ρυθμό εξέλιξής του



# ΧΗΜΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Στα χημικά αίτια ανήκουν και οι δηλητηριώδεις φυσικές ουσίες ορισμένων φυτών, οι οποίες προσλαμβάνονται με την τροφή από τα έντομα (π.χ. μέλισσες) και δημιουργούν ανωμαλίες στο πεπτικό σύστημα
- Αποτελεί συνηθισμένο φαινόμενο στις αρχές της άνοιξης, όταν οι μέλισσες εξασθενημένες από δυσμενείς συνθήκες διαβίωσης κατά το χειμώνα εξέρχονται να «βοσκήσουν»
- Οι ασθενείς μέλισσες έχουν διογκωμένη κοιλία και ο εντερικός τους σωλήνας περιέχει κίτρινο συμπυκνωμένο υλικό



# ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Στη φύση ζουν και εξελίσσονται τα έντομα και όλα τα έμβια όντα επικρατεί συνεχής ανταγωνισμός, ώστε υφίσταται ισορροπία μεταξύ τους
- Με τις ανθρώπινες όμως επεμβάσεις για την εκμετάλλευση των φυσικών πόρων, αυτή η ισορροπία διαταράχθηκε
- Και οι πληθυσμοί των ζωικών εχθρών διαμορφώνονται ανάλογα με τους φυσικούς ανταγωνιστές τους, εφόσον δεν υφίσταται η ανθρώπινη επέμβαση



# ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Φυσιικοί ανταγωνιστές των ζωικών εχθρών αποτελούν τα εντομοφάγα έντομα & ακάρεα (αρπακτικά ή παρασιτοειδή), καθώς και τα πτηνά, βατράχια, ερπετά που τρέφονται με έντομα
- Τα ανταγωνιστικά αρθρόποδα δημιουργούν παθολογικές αλλοιώσεις οξείας ή χρόνιας μορφής ανάλογα με το είδος του παρασίτου και του τρόπου δράσης του στον ξενιστή (ζωικό εχθρό)
- Μάλιστα, η διάρκεια ζωής του ξενιστή εξαρτάται από τη χρονική διάρκεια που απαιτείται για να ολοκληρώσει το παρασιτοειδές την εξέλιξή του





# ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων ενδοπαρασιτισμός (1)

- Αυτή η ιδιόμορφη ιδιότητα εξασφαλίζεται μέσω της διαδοχικής προσβολής των ιστών και οργάνων του ζωικού εχθρού και μάλιστα αρχίζει με την προσβολή των ιστών που έχουν τα μικρότερη σημασία για την επιβίωση του εντόμου-εχθρού, όπως είναι ο λιπώδης ιστός
- Το έντομο-εχθρός άλλοτε επιζεί και άλλοτε εκδηλώνει ορισμένα συμπτώματα παθολογικά ή όχι, μέχρι το παράσιτο συμπληρώσει την εξέλιξή του
- Τέλος, το παράσιτο εμφανίζεται με την τέλεια μορφή του, ενώ ο εχθρός-ξενιστής νεκρώνονται έχοντας όλα τα εσωτερικά όργανα του σώματός του κατεστραμμένα



# ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων ενδοπαρασιτισμός (2)

- Το παράσιτο προσβάλλει και εγκαθίσταται στη γενική κοιλότητα του σώματος του εντόμου-ξενιστή του ή σε κάποια όργανα φυσιολογικών λειτουργιών του, π.χ. λιπώδης ιστός ή τραχείες
- Το έντομο αντιδρά στην αρχική προσβολή με το αμυντικό μηχανισμό που διαθέτει (φαγοκυττάρωση)
- Ωστόσο, πολλές φορές δεν κατορθώνει να εξουδετερώσει τον αντίπαλό του και υποκύπτει



# ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

## ΕΚΤΟΠΑΡΑΣΙΤΙΣΜΟΣ

- Το εκτοπαράσιτο εξελίσσεται εκτός του σώματος του εντόμου (πάνω στο σώμα ή πλησίον σε επαφή και δια των στοματικών μορίων του απομυζά κυρίως την αιμολέμφο)
- Πολλές φορές αλλάζει και θέσεις προσβολής, για τη μύζηση και διατροφή του
- Σε αυτή την περίπτωση παρατηρείται η εμφάνιση μελανών κηλίδων στα σημεία επούλωσης των πληγών, που το παράσιτο δημιούργησε



# ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Τόσο στον εκτοπαρασιτισμό, αλλά και ενδοπαρασιτισμό, πολλά είδη παρασίτων για να ακινητοποιήσουν το ζωικό εχθρό που προσβάλλουν εγχέουν τοξική ουσία, η οποία παραλύει τον οργανισμό χωρίς να τον νεκρώνει
- Αυτό παρατηρείται συνήθως στα παρασιτοειδή Hymenoptera, που παρασιτούν κάμπιες Lepidoptera
- Στο προσβεβλημένο έντομο εμφανίζονται τα συμπτώματα χρόνιας δηλητηρίασης, ήτοι διακοπή διατροφής, μειωμένη κινητικότητα ή/και ακινησία και μερικές φορές αλλαγή χρώματος της προνύμφης



# ΒΙΟΛΟΓΙΚΑ αίτια παθολογίας εντόμων

- Εκτός όμως από τους ζωικούς οργανισμούς, μεγάλος αριθμός ειδών μικροοργανισμών (μύκητες, βακτήρια, ιοί)
- Οι μικροοργανισμοί δεν ανήκουν στο ζωικό βασίλειο και αποτελούν την αιτία εκδήλωσης παθολογικών συμπτωμάτων στους ζωικούς εχθρούς των καλλιεργειών, θανατηφόρων σε πολλές περιπτώσεις



# Μικροβιολογία εντόμων



# Παθογόνοι μικροοργανισμοί

## Αρχές μικροβιολογίας εντόμων (1)

- Υπάρχουν μικροοργανισμοί που ζουν **σαπροφυτικά** μέσα στο πεπτικό σύστημα των εντόμων
- Άλλοι ονομάζονται **συμβιωτικοί** (μη παθογόνοι) μικροοργανισμοί, γιατί επιτελούν ορισμένη διεργασία στις φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού των εντόμων και κυρίως υποβοηθούν στη διάσπαση οργανικών ουσιών διατροφής του και στη συνέχεια στην πέψη των τροφών
- Οι **παθογόνοι** μικροοργανισμοί (μύκητες, βακτήρια, ιοί, πρωτόζωα κ.λπ.) προκαλούν, μετά από μόλυνση, ασθένειες στα έντομα, που οδηγούν μέχρι και στη θανάτωσή τους



# Παθογόνοι μικροοργανισμοί

## Αρχές μικροβιολογίας εντόμων (2)

- **Μόλυνση:** εννοείται η είσοδος ενός μικροοργανισμού στο σώμα του εντόμου, την εγκατάστασή του, την ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό του σε έναν ή περισσότερους ιστούς του οργανισμού
- Περιλαμβάνει δύο παράγοντες: την προσβολή και την έναρξη εκδήλωσης της ασθένειας
- Είσοδος των μικροοργανισμών στο σώμα του εντόμου συνήθως γίνεται δια της στοματικής οδού; Οι παθογόνοι μύκητες & νηματώδεις εισέρχονται και δια της επιδερμίδας





# Παθογόνοι μικροοργανισμοί

## Αρχές μικροβιολογίας εντόμων (3)

- Διάγνωση των αιτιών μίας ασθένειας στα έντομα απαιτεί τη γνώση μικροβιολογικών τεχνικών
- Καταρχάς πρέπει να διαπιστωθεί η εμφάνιση των συμπτωμάτων μίας ασθένειας; Μερικές φορές δεν είναι εμφανή μακροσκοπικώς



# Παθογόνοι μικροοργανισμοί

## Αρχές μικροβιολογίας εντόμων (4)

- **Συνήθη συμπτώματα:** ανορεξία, συρρίκνωση του σώματος (ιδίως σε προνύμφες Lepidoptera), αργές κινήσεις (ακόμα και ακινησία), αλλαγή χρωματισμού, εμετός, διάρροια, κατάληξη του εντόμου
- Υφίσταται ασθένειες εντόμων οφειλόμενες σε μικροοργανισμό, που δεν είναι ισχυρώς παθογόνες και δεν οδηγούν στο θάνατο
- Αυτές οι περιπτώσεις εμφανίζονται με μη-φυσιολογική κατάσταση στον οργανισμό, όπως βραδεία εξέλιξη, μειωμένη ανάπτυξη, μικρή ωοπαραγωγή, μικρή διάρκεια ζωής, μειωμένης έντασης δραστηριότητες



# Παθογόνοι μικροοργανισμοί

## Αρχές μικροβιολογίας εντόμων (5)

- Η διάγνωση βασίζεται πάντα στη μικροσκοπική εξέταση δειγμάτων περιεχομένου του εντερικού σωλήνα από ασθενές έντομο (όχι νεκρό; αναπτύσσονται πολλοί σαπροφυτικοί), καθώς και δειγμάτων από τα τοιχώματα του εντερικού σωλήνα, λιπώδη ιστό και αιμολέμφο
- Ειδικά παρασκευάσματα σε αντικειμενοφόρους πλάκες και εφαρμογή κατάλληλης χρώσης και παρατήρηση στο μικροσκόπιο
- Από τους ίδιους ιστούς του ασθενούς εντόμου λαμβάνονται δείγματα με τη βακτηριολογική βελόνα και γίνεται διασπορά τους σε τρυβλία Petri με το κατάλληλο θρεπτικό υλικό (π.χ. ΝΑ για βακτήρια), με σκοπό την καλλιέργεια και απομόνωση των μικροοργανισμών



# Παθογόνοι μικροοργανισμοί

## Αρχές μικροβιολογίας εντόμων (6)

- Η διαπίστωση του ότι ο μικροοργανισμός που απομονώθηκε είναι παθογόνος, ακολουθεί εφαρμογή τεχνητής μόλυνσης υγιών εντόμων του ίδιου είδους, για την αναπαραγωγή των συμπτωμάτων της ασθένειας
- Μια ασθένεια μπορεί να αφορά ένα μόνο άτομο ή περισσότερα; Πολλές φορές παρατηρείται το φαινόμενο της **μεταδοτικότητας** της ασθένειας σε πολλά ή σε όλα τα άτομα μίας αποικίας εντόμων του ίδιου είδους



# Παθογόνοι μικροοργανισμοί

## Αρχές μικροβιολογίας εντόμων (7)

- Η μεταδοτική ασθένεια δύναται να έχει μεγάλη εμβέλεια μεταξύ των ατόμων μίας αποικίας (οριζόντια μορφή) με τα χαρακτηριστικά της επιδημίας
- Κατά την κάθετη μετάδοση παρατηρείται η μετάδοση της ασθένειας στους απογόνους των ασθενών εντόμων, εφόσον η ασθένεια δεν είναι θανατηφόρος; Αυτό το φαινόμενο παρατηρείται σε έντομα μολυσμένα από ιούς



## Παράγοντες που επηρεάζουν τη μόλυνση του εντόμου από το μικροοργανισμό και την εκδήλωση στη συνέχεια της ασθένειας (1)

- Κύριος παράγοντας είναι η **μολυσματικότητα/μολυσματική δύναμη** του μικροοργανισμού; Αυτή εξαρτάται από τις ιδιότητες που χαρακτηρίζουν το είδος ή ποικιλία ή φυλή του μικροοργανισμού
- Πληθυσμός του μικροοργανισμού
- Συνθήκες διατροφής του εντόμου
- Κλιματολογικές συνθήκες, κυρίως θερμοκρασίας και υγρασίας
- Αναπτυξιακό στάδιο του εντόμου (οι πρώτες ηλικίες των ατελών σταδίων είναι πιο ευπαθείς από τις μεγαλύτερες ηλικίες, στις οποίες έχουν αναπτυχθεί καλύτερα οι αμυντικοί μηχανισμοί του οργανισμού)
  - Ο ανοσοποιητικός μηχανισμός στα έντομα εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης και από το είδος του εντόμου



## Παράγοντες που επηρεάζουν τη μόλυνση του εντόμου από το μικροοργανισμό και την εκδήλωση στη συνέχεια της ασθένειας (2)

- Οι παράγοντες ανωτέρω έχουν άμεση σχέση είτε με τους μικροοργανισμούς, είτε με τα έντομα που προσβάλλονται από αυτούς
- Δύναται να υφίσταται ταυτόχρονη επίδραση, ευνοϊκή ή δυσμενής, και στους δύο οργανισμούς
- Για παράδειγμα, η χαμηλή σχετική υγρασία του περιβάλλοντος δεν ευνοεί τη βλάστηση των κονιδιοσπορίων των παθογόνων μυκήτων και έτσι δεν επιτυγχάνεται η μόλυνση του εντόμου
- Οι μικροοργανισμοί υπό την επίδραση μεγάλης ηλιοφάνειας επιζούν λίγες ώρες ή μερικά λεπτά της ώρας (η υπεριώδης ακτινοβολία τους καταστρέφει)



# Εντομοπαθογόνα βακτήρια



# Εντομοπαθογόνα βακτήρια

- Αποτελούν τους συχνά απαντώμενους μικροοργανισμούς στα έντομα και έχουν μεγάλο ενδιαφέρον σχετικά με τη χρήση τους στην καταπολέμηση των εντομολογικών εχθρών των καλλιεργειών
- **Ταξινόμηση εντομοπαθογόνων βακτηρίων**
  - **Κλάση:** Schizomycetes
  - **Τάξη:** Eubacteriales
  - **Οικογένειες:** Bacillaceae, Enterobacteriaceae, Bacteriaceae, Lactobacteriaceae, Micrococaceae, Pseudomonadaceae



# Διάκριση εντομοπαθογόνων βακτηρίων

- Υποχρεωτικά παθογόνα (π.χ. *Bacillus popilliae*, *Bacillus fribourgensis* κ.ά.)
- Σπορογόνα κρυσταλλοφόρα (π.χ. οι διάφορες ποικιλίες του *Bacillus thuringiensis*)
- Προαιρετικά παθογόνα (π.χ. *Serratia marcescens*)
- Δυνητικά παθογόνα (π.χ. *Pseudomonas* spp.)



# Γένος *Bacillus* (1)

- Περιλαμβάνει είδη που είναι μολυσματικά για τα έντομα
- Αυτά που είναι **σποριογόνα**, όταν εισέλθουν τα σπόρια δια της στοματικής οδού μέσα στον εντερικό σωλήνα, το σπόριο βλαστάνει, πολλαπλασιάζεται το βακτήριο
- Εισερχόμενο μέσα στη γενική κοιλότητα του εντόμου την κατακλύζει με τα βλαστητικά κύτταρα προκαλώντας **σηψαιμικά φαινόμενα** και το θάνατο του εντόμου



## Γένος *Bacillus* (2)

- Τα **σπορογόνα-κρυσταλλόμορφα** βακτήρια κατά το στάδιο της σπορογονίας τους παράγουν στο σποράγγειο, δίπλα από το σπόριο, ένα **πρωτεϊνικό κρύσταλλο** ρομβοεδρικής ή άλλης μορφής
- Αυτός ο κρύσταλλος είναι **τοξίνη (δ-ενδοτοξίνη)**, η οποία όταν διαλύεται μέσα στο μεσέντερο του εντόμου δρα τοξικώς καταστρέφοντας τα εντερικά τοιχώματα με ταυτόχρονη είσοδο στην γενική κοιλότητα
- Αποτέλεσμα είναι η εκδήλωση συμπτωμάτων **παράλυσης** του εντόμου και ακολουθεί συνήθως ο θάνατος του εντόμου από **τοξαιμία**

# Γένος *Bacillus* (3)

- Εκτός από τη δ-ενδοτοξίνη, οι κρυσταλλοφόροι βάκιλλοι παράγουν και άλλες τοξίνες, όπως τις **α-exotoxin**, **β-exotoxin** (θανατηφόρος για προνύμφες & νύμφες Diptera και μερικών ειδών Lepidoptera) και **γ-exotoxin**
- Αυτές οι εξωτοξίνες παράγονται κατά τον πολλαπλασιασμό του βακίλλου και ανιχνεύονται *in vitro* μετά τη σποροποίηση του βακτηρίου
- Οι εξωτοξίνες έχουν κάποια τοξική επίδραση στα θερμόαιμα (άρα και στον άνθρωπο)



# Γένος *Bacillus* (4)

- Οι εξωτοξίνες παράγονται μόνο από ορισμένες ποικιλίες ή ορροτύπους του *B. thuringiensis*
- Αυτό το είδος έχει μελετηθεί περισσότερο και ε βάση αυτό κυκλοφορούν πολλά σκευάσματα στο εμπόριο
- Αυτά τα μικροβιολογικά σκευάσματα εφαρμόζονται στη γεωργική πρακτική για την καταπολέμηση κυρίως των εχθρών προνύμφες Lepidoptera



# *Bacillus thuringiensis*

- Απομονώθηκε για πρώτη φορά από το γερμανό ερευνητή Berliner το 1911 από ασθενείς προνύμφες του μικρολεπιδοπτέρου *Anagasta (= Ephestia) kriegiella*
- Ονομάστηκε *Bacillus thuringiensis* από τον ίδιο ερευνητή το 1915, γιατί οι ασθενείς προνύμφες προέρχονταν από τη Θουριγγία (βάκιλλος της Θουριγγίας)
- Αυτός ο βάκιλλος έχει πολλές ποικιλίες (varieties) ή (βάσει άλλης κατάταξης) πολλούς ορότυπους
- Άλλοι ερευνητές, το 1958, πρότειναν την ποικιλία *Bacillus thuringiensis var. Thuringiensis* ως την τυπική ποικιλία του είδους



# Χαρακτηριστικά του *Bacillus thuringiensis* (1)

- Είναι αερόβιο, σπορογόνο, κρυσταλλογόνο βακτήριο Gram<sup>+</sup>
- Είναι πολύ συγγενές είδος με το *Bacillus cereus*
- Διαφέρει από αυτό κατά το ότι παράγει κατά το στάδιο της σπορογονίας, δίπλα από το σπόριο, ρομβοεδρικό κρύσταλλο πρωτεϊνικής σύστασης μεγάλου μοριακού βάρους (120-230 kDa)
- Αυτός ο κρύσταλλος είναι τοξίνη και λέγεται δ-ενδοτοξίνη





# Χαρακτηριστικά του *Bacillus thuringiensis* (2)

- Αυτό το βακτήριο καλλιεργείται στα κοινά θρεπτικά υλικά (π.χ. Nutrient Agar, ΝΑ)
- Μετά από 24 ώρες παρατηρείται στο μικροσκόπιο σε μορφή αλυσίδων με 4-8 βακτήρια ή κατά ζεύγη ή/και μονά
- Διαστάσεις του βακίλλου αυτού είναι 1,2-1,5  $\mu\text{m}$  πλάτος και 4,5-7,5  $\mu\text{m}$  μήκος
- Μετά από 36 ώρες διακρίνονται στο μικροσκόπιο τα σποριάγγεια, που περιέχουν στη μία άκρη το σπόριο και στην άλλη τον κρύσταλλο της τοξίνης ρομβοεδρικής μορφής



# Χαρακτηριστικά του *Bacillus thuringiensis* (3)

- Στη συνέχεια με τη λύση του σποραγγείου ελευθερώνονται το σπόριο και ο κρύσταλλος
- Σε αυτή τη μορφή ο βάκιλλος μπορεί να διατηρηθεί και να χρησιμοποιηθεί για την παραγωγή σκευάσματος για πρακτικές εφαρμογές στον αγρό



# Τρόπος δράσης του *Bacillus thuringiensis* (1)

- Για να ενεργοποιηθεί ο βάκιλλος θα πρέπει να καταποθεί από την προνύμφη του εντόμου
- Μέσα στον εντερικό σωλήνα ξεκινά η δραστική ενέργεια του βακτηρίου
- Όταν σχηματισθεί ο κρύσταλλος (αναφέρθηκε, κατά το τελευταίο στάδιο της καλλιέργειας του βακτηρίου) στη συνέχεια διασπάται μέσα στο πεπτικό σύστημα του εντόμου από την ενζυμική δράση των πρωτεασών του περιεχομένου του εντερικού σωλήνα



# Τρόπος δράσης του *Bacillus thuringiensis* (2)

- Με τη διάσπαση του κρυστάλλου εντός πεπτικού συστήματος του εντόμου ελευθερώνονται τοξικά παράγωγα, των οποίων η δράση τους εκδηλώνεται στο επιθήλιο των τοιχωμάτων του εντέρου
- Πρώτο σύμπτωμα από αυτή την τοξική ενέργεια είναι η παράλυση του εντέρου με αποτέλεσμα το έντομο σταματά να τρώει
- Ακολουθεί η καταστροφή του εντερικού σωλήνα και η είσοδος τοξικών ουσιών στην αιμολέμφο, οπότε επέρχεται και ο θάνατος του εντόμου



# Τρόπος δράσης του *Bacillus thuringiensis* (3)

- Για να διαλυθεί ο κρύσταλλος στο μεσέντερο του εντόμου θα πρέπει το περιεχόμενό του να έχει υψηλό pH (αλκαλικό)
- Υφίστανται περιπτώσεις για ορισμένα είδη εντόμων (κυρίως αυτά που έχουν όξινο pH στο μεσέντερο), στα οποία είναι απαραίτητη και η παρουσία των σπορίων του βακίλλου
- Όταν τα σπόρια βλαστήσουν μέσα στον εντερικό σωλήνα παράγονται ένζυμα (λεκιθινάση), που κατέχουν κάποιο ρόλο συνεργιστικό στην τοξική δράση της κρυσταλλικής δ-ενδοτοξίνης



# Παραγωγή βακτηριακών παρασκευασμάτων του *Bacillus thuringiensis* (1)

- Για διάφορα είδη εντόμων, η δράση του *B. thuringiensis* είναι διαφορετική με αποτέλεσμα οι Βιομηχανίες να παράγουν **παρασκευάσματά του, που περιέχουν σπόρια και κρυστάλλους τοξίνης**
- Στα ανωτέρω παρασκευάσματα γίνεται επιλογή φυλών ή ποικιλιών του βακίλλου με ευρύ φάσμα δράσης για όσο το δυνατόν περισσότερα είδη εντόμων
- Πρόκειται λοιπόν για **μικροβιακά εντομοκτόνα** μετά από ειδική επιλογή της καλύτερης φυλής του βακίλλου



# Παραγωγή βακτηριακών παρασκευασμάτων του *Bacillus thuringiensis* (2)

Η «καλύτερη φυλή» του βακίλλου νοείται βάσει της:

- Δραστικής ικανότητας στα έντομα
- Ιδιότητας να μην παράγει εξωτοξίνες (κυρίως α-exotoxin και β-exotoxin), οι οποίες είναι τοξικές για τα θηλαστικά και τον άνθρωπο
- Δυνατότητα συμπύκνωσης και επεξεργασίας του μικροβιακού υλικού για καλύτερη απόδοση
- Ευχρηστία τελικού παρασκευάσματος από τους παραγωγούς



# Παραγωγή βακτηριακών παρασκευασμάτων του *Bacillus thuringiensis* (3)

- Στο εργοστάσιο, η καλλιέργεια του βακτηρίου, για να παραχθεί σε μορφή μικροβιακού εντομοκτόνου, γίνεται υπό ελεγχόμενες και ακριβείς συνθήκες σε ειδικό τεχνητό θρεπτικό υλικό, ώστε να επιτυγχάνεται υψηλής στάθμης παραγωγή σπορίων και κρυστάλλων τοξίνης
- Το θρεπτικό υλικό στη βιομηχανία για την καλλιέργεια του βακίλλου πρέπει να είναι φθηνό, να περιέχει όλες τις απαραίτητες θρεπτικές ουσίες, πλούσιες κυρίως σε άνθρακα και άζωτο και να είναι εύκολο στην εξεύρεσή του (γεωργικά προϊόντα/υποπροϊόντα, π.χ. ιχθυάλευρα)





# Παραγωγή βακτηριακών παρασκευασμάτων του *Bacillus thuringiensis* (4)

- Τα παραγόμενα βιομηχανικά βακτηριακά εντομοκτόνα περιέχουν εκτός του μικροβιολογικού υλικού και ειδικές προσθετικές και προσκολλητικές ουσίες, που δεν επηρεάζουν τη ζωτικότητα των σπορίων του βακίλλου, ούτε αλλοιώνουν τη σύσταση των κρυσταλλικών τοξινών
- Καταβάλλεται ιδιαίτερη προσοχή βεβαίως και λαμβάνει χώρα σχολαστικό έλεγχος, για την αποφυγή επιμολύσεων της καλλιέργειας του *B. thuringiensis* στους κλιβάνους παραγωγής του



# Παραγωγή βακτηριακών παρασκευασμάτων του *Bacillus thuringiensis* (5)



Βιομηχανικές εγκαταστάσεις (άνω; Κλίβανοι παραγωγής) παρασκευής μικροβιακών εντομοκτόνων (δεξιά) από ειδικούς μικροβιολόγους-βιοχημικούς



# Παραγωγή βακτηριακών παρασκευασμάτων του *Bacillus thuringiensis* (6)

- Η θερμοκρασία κατά τη διάρκεια της καλλιέργειας του βακίλλου είναι 28-35°C και απαραίτητος είναι ο αερισμός της (εμπλουτισμός με οξυγόνο)
- Η **δραστική ικανότητα** τέτοιου παρασκευάσματος εκφράζεται με **διεθνείς τοξικές μονάδες (IU) ανά χιλιοστογραμμάριο (mg)**
- Ο υπολογισμός των IU γίνεται με βάση ενός παρασκευάσματος, το οποίο έχει κατατεθεί στο Ινστιτούτο Pasteur στο Παρίσι και έχει χαρακτηριστεί με βιολογικό τίτλο 1000 τοξικών μονάδων



# Τιτλοποίηση βακτηριακών παρασκευασμάτων του *Bacillus thuringiensis* (1)

- Κάθε νέα ποσότητα που παράγεται στους εργοστασιακούς κλιβάνους καλλιέργειας θα πρέπει να τιτλοποιείται και να διαμορφώνεται, έτσι ώστε να έχει πάντα την ίδια τοξική δράση (εγγυημένη σύνθεση) με την προηγούμενη παραγωγή
- Η τιτλοποίηση για κάθε νέο παρασκεύασμα του *B. thuringiensis* ή για μία νέα ποσότητα που έχει παραχθεί γίνεται με τον προσδιορισμό της συγκριτικής τιμής LD<sub>50</sub>

# Τιτλοποίηση βακτηριακών παρασκευασμάτων του *Bacillus thuringiensis* (2)

- Λαμβάνουν χώρα βιοδοκιμές σε «έντομο-test» (π.χ. το *Pieris brassicae*, *Anagasta kuhniella*, *Trichoplusia ni*) και συγκρίνεται αυτή η LD<sub>50</sub> με την τιμή LD<sub>50</sub> του προτύπου (standard) παρασκευάσματος
- Με αυτό τον τρόπο προσδιορίζεται ο βιολογικός τίτλος του νέου παρασκευάσματος (**IU/mg**)
- Για τη διενέργεια αυτών των βιοδοκιμών πρέπει να διατίθεται και εντομοτροφείο για την παραγωγή των εντόμων-test και ειδικοί χώροι για την τιτλοποίηση του παραγόμενου μικροβιακού προϊόντος



# Εμπορικά παρασκευάσματα του *Bacillus thuringiensis* (1)

- Το πρώτο εμπορικό σκεύασμα με *B. thuringiensis* εμφανίσθηκε στη Γαλλία το 1940 περίπου με το όνομα SPOREINE, ενώ από τις αρχές της δεκαετίας 1960 προσφέρεται στο εμπόριο της Γαλλίας το BACTOSPEINE
- Το 1957 παράγεται για πρώτη φορά στις ΗΠΑ το σκεύασμα THURICIDE και το 1959 το BIOTROL-BTB και αργότερα το 1970 το DIPEL
- Τα ανωτέρω παρασκευάσματα είχαν αρχικά ως ενεργό παράγοντα τον ορρότυπο 1, ήτοι την ποικιλία “thuringiensis”, ενώ σήμερα έχουν ως ενεργό παράγοντα τον ορρότυπο 3a & 3b, ήτοι την ποικιλία “kurstaki” (έχει αποδειχθεί καλύτερη ποικιλία)



# Εμπορικά παρασκευάσματα του *Bacillus thuringiensis* (2)

- Στην Ελλάδα κυρίως κυκλοφορούν στο εμπόριο τα προερχόμενα από τις ΗΠΑ και Γαλλίας
  - DIPEL της Εταιρείας Abbott Laboratories (ΗΠΑ)
  - THURICIDE της Εταιρείας Sandoz (ΗΠΑ)
  - BACTOSPEINE της Εταιρείας Biochem Products (Γαλλία)
- Αυτά τα εμπορικά σκευάσματα προσφέρονται σε μορφή βρέξιμης σκόνης ή κοκκώδη ή σε υγρή γαλακτοματοποιήσιμη μορφή



# Προβλήματα με το *Bacillus thuringiensis*

- Παραμονή στον αγρό για 3-4 μέρες
- Οι καιρικές συνθήκες επηρεάζουν την αποτελεσματικότητά του
- Ανάπτυξη ανθεκτικότητας
- Παρεμπόδιση βρώσης μπορεί να συμβεί πριν το έντομο προλάβει να καταναλώσει αρκετή ποσότητα από το σκεύασμα έτσι ώστε να θανατωθεί



# *Bacillus thuringiensis var. israelensis*

- Η ποικιλία ή το υποείδος (subspecies) *israelensis* έχει μεγάλη σημασία για τα Diptera υγειονομικής σημασίας
- Απομονώθηκε το 1977 στο Ισραήλ και επιδεικνύει θανατηφόρο δράση στις προνύμφες των κουνουπιών (*Aedes*, *Anopheles* & *Culex*)
- Χρησιμοποιείται από τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (WHO) για την καταπολέμηση των κουνουπιών-φορέων ασθενειών, όπως είναι η ελονοσία
- Αποτελεσματικό είναι και για την καταπολέμηση των Diptera της Οικογένειας Simuliidae (π.χ. *Simulium bipunctatum*)



# *Bacillus thuringiensis var. israelensis*

- Η καταπολέμηση των προνυμφών γίνεται με τη διάλυση σε στάσιμα ύδατα ορισμένης αναλογίας του παρασκευάσματος
- Αυτό το υποείδος έχει κρύσταλλο σφαιρικού σχήματος, που περιέχει τεσσάρων ειδών τοξικές πρωτεΐνες για τα κουνούπια
- Εγκεκριμένα εμπορικά σκευάσματα με βάση το *Bacillus thuringiensis var. israelensis* είναι το BACTIMOS της Εταιρείας Biochem Products, το TENKAR της Εταιρείας Sandoz και το VECTOBAC της Εταιρείας Abbott Laboratories
- Αυτά τα παρασκευάσματα είναι ακίνδυνα για τον άνθρωπο και το περιβάλλον στις δόσεις που χρησιμοποιούνται



# *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*

- Το 1983 απομονώθηκε νέα φυλή του *B. thuringiensis*, που ανήκει στο νέο παθότυπο C από το *Tenebrio molitor* Tenebrionidae Coleoptera
- Αυτό το νέο υποείδος (*B. thuringiensis* var. *tenebrionis*) είναι σπορογόνο και κρυσταλλογόνο βακτήριο και ο κρύσταλλος στο σποράγγειο έχει πεπλατυσμένη και ορθογώνια μορφή
- Είναι ισχυρώς παθογόνο για τις προνύμφες του *Leptinotarsa decemlineata* Chrysomelidae Coleoptera (δορυφόρος πατάτας) μετά από κατάποση των σπορίων & κρυστάλλων του βακίλλου
- Οι προνύμφες του *Ephesia kuhniella* και του *Plutella xylostella*, καθώς και των κουνουπιών *Aedes aegyptii* δεν είναι ευπαθείς



# *Bacillus thuringiensis var. tenebrionis*

- Με τρεις επεμβάσεις με παρασκεύασμα του εν λόγω υποείδους κατά την καλλιεργητική περίοδο της πατάτας, γίνεται αποτελεσματική καταπολέμηση του δορυφόρου
- Σημαντικό στοιχείο αποτελεί ο σωστός χρόνος επέμβασης, που πρέπει να συμπίπτει με την εκκόλαψη των νεαρών προνυμφών του εντόμου (μεγαλύτερης ηλικίας προνύμφες είναι λιγότερο ευπαθείς στη δράση του βακίλλου)
- Οι προνύμφες του δορυφόρου μετά την επέμβαση με το παρασκεύασμα του βακίλλου σταματούν να διατρέφονται και με την πάροδο των πρώτων ημερών, νεκρώνονται



# *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis*

- Αυτό το υποείδος είναι τοξικό και για άλλα είδη Coleoptera, όπως το δορυφόρο της πατάτας & *Galerucella xanthomelaena*
- Το 1986 απομονώθηκε το ίδιο υποείδος *B. thuringiensis* στην Καλιφόρνια των ΗΠΑ και τού δόθηκε η ονομασία *Bacillus thuringiensis* var. *san diego*
- Το υποείδος *B. thuringiensis* var. *tenebrionis* δεν είναι τοξικό για τα θηλαστικά, πτηνά, ιχθείς, πολλά είδη ωφέλιμων εντόμων (παρασιτοειδή και αρπακτικά, όπως Hymenoptera, Coccinelidae, Neuroptera), καθώς επίσης για μέλισσες (*Apis mellifera*) και άνθρωπο



# ***Bacillus thuringiensis var. kurstaki***

# ***Bacillus thuringiensis var. aizawai***

- *Bacillus thuringiensis var. kurstaki*: καταπολεμεί προνύμφες λεπιδοπτέρων
- *Bacillus thuringiensis var. aizawai*: εναντίον προνυμφών των *Galleria melonella* των κηρηθρών και *Plutella maculipennis* των λαχάνων



# *Bacillus popilliae*

- Αποτελεί το δεύτερο σημαντικό είδος βακίλλου, που χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση εντόμων
- Απομονώθηκε το 1940 από το Dutky από ασθενείς προνύμφες του *Popillia japonica* Scarabaeidae Coleoptera, το οποίο προξενεί σοβαρές ζημιές στους λειμώνες των ΗΠΑ
- Είναι βακτήριο σπορογόνο και κρυσταλλογόνο, αερόβιο ή προαιρετικά αναερόβιο και δύσκολα καλλιεργείται *in vitro*
- Η αντίδραση κατά Gram ποικίλλει, ενώ ο πολλαπλασιασμός του γίνεται σε εκτρεφόμενα έντομα



# *Bacillus popilliae*

- Η ασθένεια που προκαλείται στις προνύμφες του *Popillia japonica* Scarabaeidae Coleoptera, αλλά και άλλων ειδών Scarabaeidae (π.χ. *Melolontha melolontha*) από τη μόλυνσή τους με αυτό το βάκιλλο λέγεται **γαλακτώδης** (milky disease)
- Η προνύμφη έχει λευκό χρωματισμό γάλακτος στο πίσω μέρος του σώματος, στο πυγίδιο, σε αντίθεση με το φυσιολογικό σκούρο χρώμα των υγιών προνυμφών
- Χρησιμοποιείται εναντίον των γαιόβιων προνυμφών του *Popillia japonica* Coleoptera, που καταστρέφουν τις ρίζες ποικίλων φυτών, πιο συχνά φυτών χλοοταπήτων





# *Bacillus popilliae*

- Για να δράσει, πρέπει να καταποθεί από την προνύμφη και διαπερνώντας μέσα στην γενική κοιλότητα πολλαπλασιάζεται στην αιμολέμφο και σποροποιείται
- Κατά την τελική φάση της μόλυνσης προκαλείται ο θάνατος της προνύμφης του εντόμου από **σηψαιμία**
- Η καταπολέμηση των προνυμφών που βρίσκονται μέσα στο έδαφος γίνεται με εγχύσεις και με τις μολυσμένες προνύμφες που αποσυντίθενται διασκορπίζεται ο βάκιλλος υπό μορφή σπορίων και έτσι μολύνονται και άλλες υγιείς προνύμφες

# *Bacillus popilliae*

- Δεν καλλιεργείται *in vitro* σε θρεπτικά υποστρώματα και έτσι πολλαπλασιάζεται σε προνύμφες Scarabaeidae, οι οποίες εκτρέφονται σε εντομοτροφεία και μολύνονται τεχνητά
- Στις ΗΠΑ υφίσταται μία βιομηχανία που προσφέρει στο εμπόριο σχετικό παρασκεύασμα για εφαρμογές καταπολέμησης
- Χρησιμοποιούνται προνύμφες του *Popilliae japonica*, που εκτρέφεται στα εντομοτροφεία, και μολύνονται από το *Bacillus popilliae*



# Λοιπά εντομοπαθγόνα βακτήρια

- ***Bacillus sphaericus***: καταπολεμεί τις προνύμφες κουνουπιών σε λιμνάζοντα νερά (*Culex* spp. και *Anopheles* spp.)
- ***Serratia entomophila***: κατά του *Costelytra zealandica*



# Εντομοπαθογόνοι μύκητες



# Εντομοπαθογόνοι μύκητες

- Από το 19<sup>ο</sup> αιώνα με τους ασθενείς μεταξοσκώληκες αποτέλεσαν την αιτία για τις πρώτες μελέτες αυτών των μυκήτων
- Το 1879 ο Ρώσος Metchnikoff χρησιμοποίησε τον εντομοπαθογόνο μύκητα *Metarrhizium anisopliae* για την καταπολέμηση του εχθρού *Anisoplia austriaca* Scarabaeidae Coleoptera
- Στις ΗΠΑ την ίδια περίοδο αρκετοί ερευνητές ασχολήθηκαν με τους μύκητες Entomophthorales & Laboulbeniales



# Ταξινόμηση σημαντικότερων εντομοπαθογόνων μυκήτων (1)

- **Chromista (ψευδομύκητες, fungal-like)**
  - Entomophthorales
    - *Entomophthora thaxteriana* (παθογόνο αφίδων)
    - *Massospora cicadina*
  - Blastocladales
    - *Coelomomyces stegomyiae*
    - *Coelomomyces tasmaniensis*

# Ταξινόμηση σημαντικότερων εντομοπαθογόνων μυκήτων (2)

- **Ascomycetes**
  - Ascossphaerales
    - *Bettsia* spp.
    - *Ascospaera aris* (παθογόνο μελισσών)
  - Myriangiales
    - *Myriangium* spp. (παθογόνα Coccoidea)
  - Sphaeriales
    - *Cordyceps* spp.
    - *Torrybiella* spp.
    - *Hypocrella* spp. (δεν έχουν επαρκώς μελετηθεί)



# Ταξινόμηση σημαντικότερων εντομοπαθογόνων μυκήτων (3)

- **Deuteromycetes ή Fungi imperfecti (1)**
  - Moniliales
    - *Bauveria bassiana* (παθογόνο πολλών ειδών εντόμων)
    - *Bauveria tenella* (παθογόνο του *Melolontha melolontha*)
    - *Metarrhizium anisopliae* (παθογόνο του *Anisoplia austriaca*)
    - *Nomuraea* (= *Spicaria*) *rileyi* (παθογόνο του *Trichoplusia ni*)
    - *Raecilomyces* spp. (παθογόνα των νηματωδών)
    - *Hirsutella thompsonii* (παθογόνο του ακάρεος *Phyllocorupta oleivora*)





# Ταξινόμηση σημαντικότερων εντομοπαθογόνων μυκήτων (4)

- **Deuteromycetes ή Fungi imperfecti (2)**
  - Moniliales
    - *Lecanicillium (= Verticillium) lecanii* (παθογόνο των αφίδων, αλευρωδών και κοκκοειδών, αλλά και τετρανύχων)
  - Sphaeropsidales
    - *Aschersonia aleurodois* (παθογόνο των Aleyrodidae)
    - *Aschersonia* spp. (παθογόνα των Coccidae)



# Ταξινόμηση εντομοπαθογόνων μυκήτων (1)

- Η Ταξινόμηση των μυκήτων συνεχώς μεταβάλλεται
- Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες ανήκουν στους Mastigomycotina, Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina και Deuteromycotina
- Στους Zygomycotina ανήκει η Κλάση Zygomycetes και Τάξη Entomophthorales, στην οποία ανήκουν τα γένη *Conidiobulus*, *Entomophaga*, *Entomophthora*, *Erynia*, *Massospora*, *Metistacrum* & *Neozygites*



# Ταξινόμηση εντομοπαθογόνων μυκήτων (2)

- Στους Ascomycotina υπάγεται η Κλάση Plectomycetes και η Τάξη Ascospaerales με το μοναδικό γένος *Ascospaera*
- Στην Κλάση Pyrenomycetes των Ascomycotina υπάγεται η Τάξη Sphaeriales με τα γένη *Cordyceps*, *Torrubiella*, *Nectria*, *Hypocrella*, *Calonectria*
- Πολλά γένη εντομοπαθογόνων ειδών περιλαμβάνονται στους Deuteromycotina, όπως *Aschersonia*, *Bauveria*, *Hirsutella*, *Metarrhizium*, *Nomuraea*, *Paecilomyces*, *Lecanicillium*, κ.ά.



# Τρόπος δράσης των εντομοπαθογόνων μυκήτων (1)

- Η δίοδος εισόδου του μύκητα στα έντομα γίνεται δια της στοματικής οδού και από οποιοδήποτε μέρος του σώματος μέσω της επιδερμίδας
- Αρκεί το σπόριο του μύκητα να εντοπίσει την κατάλληλη υγρασία, για να βλαστήσει
- Οι σπουδαιότεροι παράγοντες που συμβάλλουν στην εκδήλωση ασθένειας από μύκητες είναι η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία του περιβάλλοντος (αρκετά υψηλή, 85-90%)



# Τρόπος δράσης των εντομοπαθογόνων μυκήτων (2)

- Όταν το έντομο προσβληθεί από τον παθογόνο μύκητα, αυτός αναπτύσσει σιγά-σιγά στο εσωτερικό του εντόμου το **μυκήλιό** του, κατακλύζοντας όλους τους ιστούς
- Επίσης, με τις **τοξίνες** που παράγει έχει ως αποτέλεσμα τη θανάτωση του εντόμου-ξενιστή του
- Τέλος, ο μύκητας εμφανίζεται εξωτερικά του σώματος του προσβεβλημένου εντόμου με **μυκήλιο & επάνθιση**



# Ευπαθή έντομα στους εντομοπαθογόνους μύκητες (1)

Τα πιο ευπαθή σε μυκητολογικές μολύνσεις έντομα

- Lepidoptera (προνύμφες)
- Homoptera-Hemiptera: οι αφίδες και τα είδη στις Οικογένειες Cicadidae & Coccidae
- Hymenoptera: τα Vespoidea
- Coleoptera: είδη της Οικογένειας Scarabaeidae
- Diptera: είδη του γένους *Hylemia* και τα κουνούπια



# Ευπαθή έντομα στους εντομοπαθογόνους μύκητες (2)

- Μερικά είδη μυκήτων μολύνουν ευρύ φάσμα ειδών εντόμων, ενώ άλλα μολύνουν περιορισμένο αριθμό ειδών εντόμων
- Το *Bauveria bassiana* & το *Metarrhizium anisopliae* μολύνουν πάνω από 100 είδη εντόμων



# Παραγωγή εντομοκτόνων με βάση μύκητες (1)

- Λίγα παρασκευάσματα κυκλοφορούν στο εμπόριο που έχουν ως βάση εντομοπαθογόνους μύκητες
- Ένα από αυτά έχει ως δραστικό παράγοντα το μύκητα *Bauveria bassiana*, του οποίου ο πολλαπλασιασμός γίνεται με τη μορφή των βλαστοσπορίων; Στη Ρωσία παράγεται με το όνομα BOVERIN, ενώ στις ΗΠΑ έχει κυκλοφορήσει παρόμοιο παρασκεύασμα από την Εταιρεία Nutrilite
- Το 1976 η Εταιρεία Abbott Laboratories ανέπτυξε μέθοδο παραγωγής ως βρέξιμη σκόνη με βάση το μύκητα *Hirsutella thompsoni* με μεγάλη περιεκτικότητα σε κονίδια





# Παραγωγή εντομοκτόνων με βάση μύκητες (2)

- Στις ΗΠΑ την ίδια περίπου εποχή κυκλοφόρησαν σκευάσματα με βάση τα *Nomuraea rileyi* & *Entomophthora thaxteri* και στη Ρωσία το *Aschersonia aleyrodis*
- Η Ολλανδική Εταιρεία Koppert κυκλοφορεί στο εμπόριο το μυκητολογικό παρασκεύασμα MYCOTAL σε μορφή βρέξιμης σκόνης, το οποίο έχει ως βάση κονιδιοσπόρια του μύκητα *Lecanicillium lecanii* με μεγάλη δραστική ικανότητα εναντίον του αλευρώδη θερμοκηπίων *Trialeurodes vaporariorum*, αλλά και εναντίον των αφίδων & θριπών στα θερμοκήπια



# Εντομοπαθογόνοι ιοί



# Εντομοπαθογόνοι ιοί (1)

- Στα τέλη του 19<sup>ου</sup> αιώνα είχε παρατηρηθεί η ασθένεια των προνυμφών του μεταξοσκώληκα, ο ίκτερος λόγω του κίτρινου χρώματος που αποκτούσαν οι ασθενείς προνύμφες
- Ο ίκτερος οφείλεται σε ιό του τύπου «πυρηνική πολυέδρωση»
- Ο Bergold το 1947 ήταν αυτός που παρατήρησε στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο την παρουσία του ιού μέσα στο πολυέδρο



# Εντομοπαθογόνοι ιοί (2)

- Μεγάλη ώθηση στη μελέτη των ιώσεων των εντόμων προσέφερε η μέθοδος της καλλιέργειας *in vitro* ιστών εντόμων μαζί με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο
- Περισσότερα από 1100 είδη εντόμων έχουν βρεθεί να είναι ξενιστές ιών
- Ιός αποτελείται από το πρωτεϊνικό καψίδιο, που περιβάλλει το νουκλεϊνικό οξύ (μονοκλωνο ή δίκλωνο RNA ή DNA); Το καψίδιο προσδίδει στον ιό της μορφολογικές και φυσιολογικές του ιδιότητες, ενώ το νουκλεϊνικό οξύ τις γενετικές ιδιότητες

# Ταξινόμηση εντομοπαθογόνων ιών (1)

- Μία κατηγορία εντομοπαθογόνων ιών αποτελούν αυτοί που περικλείονται σε πρωτεϊνικά εγκλειστικά σωμάτια (Baculovirus)
- Αυτά είναι ανθεκτικά στις δυσμενείς συνθήκες και προστατεύουν τα ιοσωμάτια, που περικλείονται σε αυτά
- Μία ομάδα σχηματίζει έγκλειστα μορφής πολυεδρικής, ενώ μία άλλη κοκκώδους μορφής



# Ταξινόμηση εντομοπαθογόνων ιών (2)

- Διάκριση δύο αθροισμάτων ή κατηγοριών ιώσεων με βάση το σχηματισμό ή όχι εγκλείστων
  - Ιώσεις που οι ιοί περικλείονται σε κρυσταλλικά πρωτεϊνικά εγκλειστικά σωμάτια; Υποδιαίρεση σε δύο ομάδες βάσει της μορφής αυτών των εγκλείστων
    - Πολυεδρώσεις με έγκλειστα μορφής πολυέδρου (**Polyhedroses**)
    - Κοκκιώσεις με έγκλειστα κοκκώδους μορφής (**Granuloses**)
  - Ιώσεις που οι ιοί είναι ελεύθεροι, δηλαδή δεν περικλείονται σε έγκλειστα



# Ταξινόμηση εντομοπαθογόνων ιών (3)

- Οι εντομοπαθογόνοι ιοί ανήκουν σε επτά Οικογένειες
  - Baculoviridae
  - Reoviridae
  - Iridoviridae
  - Poxviridae
  - Parvoviridae
  - Picornoviridae
  - Rhabdoviridae



# Baculoviridae (1)

- Ιοί που ανήκουν στις Οικογένειες Baculoviridae & Reoviridae χρησιμοποιούνται στην IPM και είναι ακίνδυνοι για τον άνθρωπο και τα θηλαστικά
- Στην Baculoviridae υπάγονται οι ιοί με DNA και έχουν έγκλειστα πολυεδρικής (υπαγωγή των πυρηνικών πολυεδρώσεων ιών; **Nuclear polyedrosis virus, NPV**) ή κοκκώδους μορφής (υπαγωγή των κοκκιώσεων; **Granulosis virus, GV**)
- Οι NPV εισερχόμενοι στο κύτταρο που προσβάλλουν εγκαθίστανται στον πυρήνα και εκεί αναδιπλασιάζονται και εξελίσσονται
- Σε αυτή την Οικογένεια υπάγονται και ιοί χωρίς έγκλειστα (**Nonoccluded baculoviruses, NOB**)





# Baculoviridae (2)

- Ο αριθμός των καλυμμένων ιολογικών στοιχείων που περικλείονται σε ένα πολυέδρο NPV μπορεί να φθάσει και 200; Αυτός ο αριθμός εξαρτάται από τον τύπο του ιού, τον ξενιστή- έντομο και από το είδος του ιστού που έχει προσβληθεί
- Τα πολυέδρα είναι ορατά στο κοινό μικροσκόπιο, η διάμετρός τους ποικίλλει 0,5-15,0 μm και έχουν μορφή κύβου, τετραέδρου, δωδεκαέδρου ή ακανόνιστη
- Ο αριθμός των πολυέδρων ανά προνύμφη Lepidoptera ποικίλλει και φθάνει στα  $10^9$  πολυέδρα/προνύμφη
- Τα πολυέδρα διασπώνται σε αλκαλικό περιβάλλον και είναι βαρύτερα του ύδατος



# Baculoviridae (3)

- Οι ιοί **GV** μοιάζουν μορφολογικά, βιοχημικά και βιοφυσικά με τις ιώσεις NPV
- Η διαφορά έγκειται στο ότι έχουν συνήθως ένα νουκλεοκαψίδιο σε κάθε κάλυμμα (σπάνια δύο ή περισσότερα)
- Επίσης, διαφέρουν στο μέγεθος & μορφή του εγκλείστου, που είναι πολύ πιο μικρό από εκείνο των NPV (120-300x300-500 nm)



# Baculoviridae (4)

- Οι ιοί του γένους *Baculovirus* έχουν σχήμα βακτηρίας και μέγεθος 100-350 nm μήκος και 40 nm πλάτος
- Τα ιοσωμάτια αποτελούνται από ένα κάλυμμα με τρεις χιτώνες, οι οποίοι περιβάλλουν ένα ή περισσότερα κυλινδρικά νουκλεοκαψίδια
- Το γονιδίωμά τους είναι δίκλωνο DNA, υπερελικοειδές και μοριακού βάρους 58-100 mDa



# Reoviridae (1)

- Στην Reoviridae υπάγονται ιοί που έχουν έγκλειστα επίσης πολυεδρικά (εικοσαεδρικά), αλλά προσβάλλοντας το κύτταρο κάποιου ιστού του σώματος του εντόμου εγκαθίσταται μέσα στο πρωτόπλασμα ή κυτταρόπλασμα και όχι στον πυρήνα
- Αυτές οι ιώσεις ονομάζονται κυτταροπλασματικές πολυεδρώσεις (**Cytoplasmic polyhedrosis virus, CPV**)
- Αυτοί οι ιοί προσβάλλουν κυρίως το κυτταρικό τοίχωμα του μεσεντέρου των προνυμφών Lepidoptera
- Τα ιοσωμάτιά τους έχουν διάμετρο 50-60 nm και έχουν RNA
- Γένη: *Reovirus*, *Orbivirus*, *Rotavirus*, *Phytoreovirus*, *Fijiivirus*, *Cyrovirus*



# Reoviridae (2)

- Ιοί *Reovirus* έχουν εντοπισθεί σε πληθυσμούς δάκου ελιάς
- Εντοπίσθηκαν στα επιθηλιακά κύτταρα του μεσεντέρου και ανευρίσκονται στα αποχωρήματα των εντόμων
- Αυτό το γεγονός δικαιολογεί τη μετάδοση των μολύνσεων από άτομο σε άτομο (οριζόντια μετάδοση), καθώς και από γενεά σε γενεά (κάθετη μετάδοση)
- Ο ιός έχει σχήμα παρασφαιρικό, το νουκλεϊνικό οξύ του ιού είναι RNA και τα ιοσωμάτια έχουν διάμετρο 60 nm

# Reoviridae (3)

- Στο μεταξοσκώληκα παρατηρήθηκε για πρώτη φορά το 1934 να σχηματίζουν οι ιοί στο πρωτόπλασμα των επιθηλιακών κυττάρων του μεσεντέρου κρυσταλλικά εγκλειστικά σωμάτια
- Αυτός ο ιός διαφοροποιείται από τις πυρηνικές πολυεδρώσεις (NPV)
- Τέτοιοι CPV ιοί έχουν απομονωθεί από πολλά είδη εντόμων (250 περίπου) από τα οποία το 80% ανήκει σε Lepidoptera



# Παθολογία & Συμπτωματολογία NPV (1)

- Προνύμφες που μολύνθηκαν με **ιούς NPV** εμφανίζονται τα συμπτώματα της ασθένειας μετά από 2-5 ημέρες και είναι:
  - Προοδευτική αλλαγή του χρωματισμού των προνυμφών
  - Αιμολέμφος αποκτά γαλακτώδες χρώμα
  - Μείωση κινητικότητας
  - Σταμάτημα διατροφής των προνυμφών
  - Νέκρωση μετά από 5-12 ημέρες (η θνησιμότητα μπορεί να εμφανισθεί και νωρίτερα, αν έχουν μολυνθεί προνύμφες νεαρής ηλικίας)



# Παθολογία & Συμπτωματολογία NPV (2)

- Η δράση των ιών NPV σε ένα έντομο ξεκινά με την πρόσληψή τους με την τροφή μέσα στο πεπτικό σύστημα
- Τα ιοσωματίδια (virions) μολύνουν τα επιθηλιακά κύτταρα του μεσεντέρου
- Εισέρχονται τα νουκλεοκαψίδια στα κύτταρα δια μέσου των μικροτριχιδίων (microvillus) της κυτταρικής μεμβράνης, αφού έχει διαλυθεί το πρωτεϊνικό εκλειστικό σωματίδιο
- Περνώντας δια μέσου του πρωτοπλάσματος εισέρχονται μέσα στον πυρήνα των κυττάρων





# Παθολογία & Συμπτωματολογία NPV (3)

- Εκεί αναδιπλασιάζονται και μολύνουν στη συνέχεια τα κύτταρα άλλων ιστών του εντόμου, όπως είναι οι τραχείες, ο λιπώδης ιστός
- Ακολούθως, εισέρχονται στη γενική κοιλότητα μολύνοντας και άλλα τμήματα ιστών του εντόμου και σχηματίζονται τα κρυσταλλικά πρωτεϊνικά εγκλειστικά σωματίδια, που περικλείουν τα νουκλεοκαψίδια
- Τα κύτταρα αποδιοργανώνονται και οι ιστοί καταστρέφονται επιφέροντας το θάνατο του εντόμου και τα πολύεδρα ελευθερώνονται



# Παθολογία & Συμπτωματολογία NPV (4)

- Υπάρχουν περιπτώσεις, που τα συμπτώματα της ασθέειας μετά τη μόλυνση εξελίσσονται με βραδύ ρυθμό και το έντομο συνεχίζει να διατρέφεται και να εξελίσσεται μέχρι το στάδιο του ακμαίου δίνοντας απογόνους
- Αυτή η κατάσταση χαρακτηρίζεται ως **λανθάνουσα ή χρόνια ίωση**
- Δια μέσου των ωών του θήλεος ακμαίου μολύνεται η νέα γενεά (κάθετη μετάδοση ίωσης)



# Παθολογία & Συμπτωματολογία GV (1)

- Τα συμπτώματα ασθένειας που οφείλονται σε **GV** είναι παρόμοια με εκείνα των ιώσεων NPV
- Συνήθως προσβάλλονται στην αρχή τα επιθηλιακά κύτταρα του μεσεντέρου και στη συνέχεια ο λιπώδης ιστός, ο οποίος διογκώνεται
- Αυτή η διόγκωση γίνεται εμφανής στη μολυσμένη προνύμφη, η οποία στη συνέχεια αποκτά υπόλευκο χρώμα, σταματά να διατρέφεται και ακολουθεί ο θάνατός της
- Τα συμπτώματα εμφανίζονται συνήθως 4 ημέρες μετά τη μόλυνση



# Παθολογία & Συμπτωματολογία GV (2)

- Τα έγκλειστα που έχουν μορφή κόκκων διαλύονται μέσα στο μεσέντερο και τα νουκλεοκαψίδια διέρχονται μέσω των μικροτριχιδίων στα επιθηλιακά κύτταρα και εγκαθίστανται στο πυρήνα, όπου αναδιπλασιάζονται
- Στη συνέχεια μολύνουν τα κύτταρα του λιπώδους ιστού
- Οι ιοί των κοκκιώσεων μολύνουν τις προνύμφες Lepidoptera και προσβάλλουν κυρίως το λιπώδη ιστό
- Ιός GV που χρησιμοποιείται στην πράξη είναι ο LpGV (*Laspeyresia pomonella* Granulosis virus) και έχει απομονωθεί από ασθενείς προνύμφες καρπόκαψας



# Παθολογία & Συμπτωματολογία NOB

- Οι **NOB** (απουσία εγκλείστων) έχουν απομονωθεί από διάφορες Τάξεις εντόμων, όπως Hemiptera, Coleoptera, Lepidoptera, Hymenoptera, Diptera
- Ιδιαίτερα έχουν μελετηθεί οι ιοί NOB του *Oryctes rhinocerus* και του *Heliothes zea*
- Προκαλούν μολύνσεις με συμπτώματα οξείας ή χρόνιας μορφής; Αυτό εξαρτάται από τη δόση του μολύσματος, από το στάδιο εξέλιξης και την ηλικία του εντόμου
- Δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν αυτοί οι ιοί για παραγωγή ιολογικών παρασκευασμάτων



# Πλεονεκτήματα χρήσεως εντομοπαθογόνων ιών

- Μεγάλη εκλεκτικότητα, δεν βλάπτουν ωφέλιμα έντομα, θηλαστικά
- Έχουν ικανοποιητική παθογόνο δύναμη και μεγάλη υπολειμματική διάρκεια, πολύ μεγαλύτερη από τα εντομοπαθογόνα βακτήρια



# Μειονεκτήματα χρήσεως εντομοπαθογόνων ιών

- Έχουν σχετικά μεγάλη περίοδο επώασης, που επιτρέπει να συνεχίζεται η βρώση του εντόμου
- Μεγάλο κόστος παραγωγής *in vivo*, που ξεπερνά το κόστος παραγωγής του *B. thuringiensis*
- Το μεγάλο πλεονέκτημα της εκλεκτικότητας, μειώνει το ενδιαφέρον των φαρμακευτικών εταιρειών για την ανάπτυξη τέτοιων σκευασμάτων, διότι οι πωλήσεις προβλέπονται περιορισμένες
- Πρέπει να καταποθούν από το έντομο



# Εντοπαθογόνοι νηματώδεις





# Εντομοπαθογόνοι νηματώδεις (1)

- Πολλοί εντομοπαθογόνοι νηματώδεις εισέρχονται στο έντομο παθητικά, δηλαδή με την τροφή του εντόμου είτε ως ωά, είτε ως ενήλικα θήλεα γεμάτα με ωά
- Άλλα είδη εισέρχονται στο έντομο ενεργητικά από φυσικές του οπές ή διαπερνώντας το δερμάτιό του
- Τα πιο ενδιαφέροντα είδη για καταπολέμηση εντόμων είναι όσα προκαλούν το θάνατο του εντόμου μέσω των συμβιωτικών τους βακτηρίων
- Τα συμβιωτικά των νηματωδών βακτήρια προκαλούν στο έντομο ασθένεια, που εξελίσσεται και το σκοτώνει γρήγορα



# Εντομοπαθογόνοι νηματώδεις (2)

- Σημαντικές είναι οι οικογένειες της τάξεως Rhabditida
  - Steinernematidae (και *Xenorhabdus* spp. συμβιωτικά βακτήρια)
  - Heterorhabditidae (και *Photorhabdus* spp. συμβιωτικά βακτήρια)



# Παραδείγματα βιολογικής καταπολέμησης εντόμων με τη χρήση νηματωδών

- ***Steinernema feltiae***: καταπολεμά τα προνυμφικά στάδια των *Sciara* spp. & *Orfelia* spp., που προσβάλλουν καλλωπιστικά φυτά σε θερμοκήπια, φυτώρια και κήπους
- ***S. carpocapsae***: καταπολεμά την πεταλούδα της αγκινάρας *Platyptilia carduidactyla* και το Λεπιδόπτερο *Chrysoteuchia topiaria*
- ***S. riobravis***: καταπολεμά διάφορα είδη του γένους *Otiorhynchus* spp.
- ***Heterorhabditis bacteriophora***: καταπολεμά διάφορα είδη του γένους *Otiorhynchus* spp.



# Πλεονεκτήματα χρήσεως εντομοπαθογόνων νηματωδών

- Οι νηματώδεις ψάχνουν ενεργητικά για τη λεία τους
- Μπορούν να παραχθούν *in vitro*
- Μπορούν να καταπολεμήσουν έντομα εδάφους
- Συμβατοί στην εφαρμογή τους με τα υπάρχοντα γεωργικά μηχανήματα
- Δεν χρειάζεται να υπάρξει έγκριση για τη χρήση επειδή είναι ζώα
- Είναι ενεργοί σε μεγάλο εύρος θερμοκρασιών (τα συμβιωτικά βακτήρια όμως μπορεί όμως να αδρανοποιηθούν)
- Δεν επηρεάζουν τα σπονδυλωτά



# Μειονεκτήματα χρήσεως εντομοπαθογόνων νηματωδών

- Δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν εναντίον εντόμων φυλλώματος
- Δεν παραμένουν στον αγρό για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά την εφαρμογή; Απαιτείται επανεφαρμογή τους
- Απαιτείται υγρασία για τη δραστηριοποίησή τους
- Η αποτελεσματικότητά τους μειώνεται με το κρύο
- Υψηλό κόστος παραγωγής τους
- Οι Heterorhabditidae δεν παράγονται επιτυχώς σε υγρή μορφή (δυσκολία στην εφαρμογή στον αγρό με άλλη μορφή)



# Εντοπαθογόνα πρωτόζωα & άλγη



# Εντομοπαθογόνα πρωτόζωα (1)

- Όσα είδη παρουσιάζουν πρακτικό ενδιαφέρον για την καταπολέμηση εντόμων έχουν κατά τη διάρκεια της ζωής τους ένα ανθεκτικό στάδιο, της σπορίωσης, το οποίο στις περισσότερες περιπτώσεις είναι και το μολυσματικό
- Το έντομο μολύνεται κατά κανόνα καταπίνοντας τα πρωτόζωα, ορισμένα όμως είδη πρωτοζώων μπορούν να μεταδοθούν από τη μητέρα έντομο στα τέκνα δια του ωαρίου
- Επειδή ορισμένα εντομοπαθογόνα είδη είναι ταξινομικώς κοντά σε παθογόνα σπονδυλωτών, χρειάζεται μεγάλη προσοχή πριν ένα είδος διασπαρεί στον αγρό



# Εντομοπαθογόνα πρωτόζωα (2)

- Μειονεκτήματα που περιορίζουν την χρήση των πρωτοζώων είναι:
  - η ευπάθειά τους στο υπεριώδες φως
  - το ότι είναι υποχρεωτικά παράσιτα (απαιτείται η ύπαρξη ξενιστού για να παραχθούν, συνεπώς αυξημένο κόστος παραγωγής)
  - κυρίως η μικρή τους εντομοπαθογόνος δύναμη
  - η, μάλλον, αργή δράση τους





# Εντομοπαθογόνα πρωτόζωα (3)

- Το σκεύασμα που περιέχει το είδος *Nosema locustae* χρησιμοποιείται ψεκαζόμενο από αέρος με επιτυχία κατά της ακρίδας *Locusta migratoria* σε σχετικά μεγάλες λειβαδικές εκτάσεις
- *Nosema pyrausta*: προσβάλλει αρκετά είδη εντόμων και ειδικά στο *Ostrinia nubilalis* μπορεί να προκαλέσει σημαντική θνησιμότητα
- *Vairimorpha necatrix*: προσβάλλει προνύμφες λεπιδοπτέρων και είναι περισσότερο παθογόνο από τα άλλα είδη; Τα προσβλημένα έντομα πεθαίνουν μέσα σε έξι μέρες από την αρχική προσβολή



# Εντομοπαθογόνα άλγη

- Το *Lagenidium giganteum* είναι ένα άλγος που παρασιτεί τα προνυμφικά στάδια των κουνουπιών
- Το παράσιτο σκοτώνει τα περισσότερα είδη κουνουπιών, που αναπαράγονται σε φρέσκο νερό, σε εύρος θερμοκρασίας 16-32 °C
- Επίσης, προσβάλλει τα συγγενικά είδη του γένους *Chaoborus* spp.



# Μικροβιολογική καταπολέμηση των εντόμων



# Μικροβιολογική καταπολέμηση των εντόμων (1)

- Η μικροβιολογική καταπολέμηση των εντόμων αποτελεί το δεύτερο σκέλος της βιολογικής καταπολέμησης στο πλαίσιο εφαρμογής IPM
- Το πρώτο σκέλος περιλαμβάνει τη χρησιμοποίηση των εντομοφάγων αρθροπόδων, παρασιτοειδών & αρπακτικών, που αποτελούν την ωφέλιμη πανίδα
- Η μικροβιολογική καταπολέμηση των εντόμων επιτυγχάνεται με τα λεγόμενα **βιο-εντομοκτόνα**
- Περιέχουν ως δραστικό παράγοντα παθογόνα, τα οποία προκαλούν ασθένεια στα έντομα



# Μικροβιολογική καταπολέμηση των εντόμων (2)

- Κατηγορίες παθογόνων που εφαρμόζονται στον αγρό με τα βιο-εντομοκτόνα
  - Εντομοπαθογόνοι μύκητες
  - Εντομοπαθογόνα βακτήρια
  - Εντομοπαθογόνοι ιοί
  - Παρασιτικοί νηματώδεις



# Μικροβιολογική καταπολέμηση των εντόμων (3)

- Η παραγωγή ενός μικροβιολογικού παρασκευάσματος και χρήση του στον αγρό περιλαμβάνει δύο στάδια
- Το πρώτο είναι η απομόνωση του μικροοργανισμού από ασθενή έντομα, η καλλιέργειά του και η μελέτη του (π.χ. παθογένεια για τα έντομα, μη-παθογένεια για τα σπονδυλωτά)
- Το δεύτερο είναι η μελέτη συμπεριφοράς του μικροοργανισμού στον αγρό (π.χ. μολυσματικότητα στα διάφορα είδη εχθρών, παθογόνος δράση, αποτελεσματικότητα καταπολέμησης των εχθρών των καλλιεργειών και μάλιστα σε σύγκριση με τα χημικά μέσα)
- Οι ανωτέρω μελέτες γίνονται σε συνδυασμό με τις συνθήκες περιβάλλοντος και τις καλλιεργητικές τεχνικές



# Μικροβιολογική καταπολέμηση των εντόμων (4)

- Αν και έχουν απομονωθεί και μελετηθεί εκατοντάδες εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί (μύκητες, βακτήρια, ιοί, πρωτόζωα, αλλά και νηματώδεις), ωστόσο μόνο ένας μικρός αριθμός τους αποτέλεσε τη βάση (δραστικός παράγοντας), για την παραγωγή μικροβιακών εντομοκτόνων παρασκευασμάτων
- Η αιτία είναι ότι πρέπει να μελετηθούν πολλοί παράγοντες (μικροβιολογικοί, παθολογικοί, τεχνολογικοί), καθώς και υγιεινής (μη-μολυσματικότητα για τα σπονδυλωτά), αλλά και άλλοι που εμπλέκονται στην αλληλεπίδραση μικροοργανισμού-ξενιστή εντόμου



# Μικροβιολογική καταπολέμηση των εντόμων (5)

- Επίσης σχετικό ρόλο κατέχει και ο οικονομικός παράγοντας, γιατί το βιο-εντομοκτόνο θα πρέπει να διαθέτει ανταγωνιστική τιμή προς τα χημικά μέσα
- Εφαρμογή βιο-εντομοκτόνων γίνεται τόσο με έγχυση στο έδαφος (π.χ. ο *Bacillus popilliae* ενάντια στο *Popillia jaronica*), όσο και με ψεκασμό στη φυλλική επιφάνεια του φυτού (π.χ. παρασκευάσματα του *Bacillus thuringiensis*)
- Σε εφαρμογές μικροβιολογικής καταπολέμησης θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη και οι κλιματολογικές συνθήκες και η περίοδος του βιολογικού κύκλου του εντομολογικού πληθυσμού





# Παράγοντες που παίζουν ρόλο στη χρήση μικροβιακών παρασκευασμάτων (1)

1. Η μολυσματική ικανότητα & παθογένεια του εντομοπαθογόνου μικροοργανισμού (δραστικός παράγοντας) του παρασκευάσματος ως προς το καταπολεμούμενο είδος/είδη εντόμων σε συνάρτηση με το είδος της καλλιέργειας, την ένταση της προσβολής και τις συνθήκες περιβάλλοντος
  - Είδη εντόμων με στοματικά μόρια μυζητικού τύπου (π.χ. αφίδες), τα μικροβιακά παρασκευάσματα που δρουν μέσω της κατάποσής τους δεν είναι αποτελεσματικά; Για αυτά τα έντομα δρα μυκητολογικό παρασκεύασμα, που μολύνει το έντομο μέσω της επιδερμίδας
  - Σε μεγάλες και έντονες προσβολές π.χ. κηπευτικών καλλιεργειών χρησιμοποιείται σκεύασμα που δρα άμεσα, γιατί η ζημιά θα είναι ανεπανόρθωτη αν δράσει π.χ. μετά από 5-7 ημέρες



# Παράγοντες που παίζουν ρόλο στη χρήση μικροβιακών παρασκευασμάτων (2)

2. Η εξειδίκευση δράση των μικροβιακών εντομοκτόνων, η οποία μπορεί να φθάνει και μέχρι το είδος του εντόμου ή μέχρι μερικά είδη του ίδιου γένους (ιοί)
  - Αν σε μία καλλιέργεια πρέπει ταυτόχρονα να καταπολεμηθούν 2 ή 3 εντομολογικοί εχθροί, τότε το εξειδικευμένο μικροβιακό εντομοκτόνο δεν θα είναι αποτελεσματικό
  - Θα πρέπει να μελετηθεί πιθανή ανάμειξη δύο δραστικών μικροβιακών παραγόντων (π.χ. *Bt* & ιού ή *Bt* & μύκητα), ώστε να επιτευχθεί σύγχρονη εντομοκτόνος δράση 2 ή περισσότερων εχθρών



# Παράγοντες που παίζουν ρόλο στη χρήση μικροβιακών παρασκευασμάτων (3)

3. Η συνδυαστικότητα των μικροβιακών εντομοκτόνων με τα συνήθη χρησιμοποιούμενα χημικά εντομοκτόνα ή/και μυκητοκτόνα
  - Αν χρησιμοποιηθεί ταυτόχρονα μυκητοκτόνο ενάντια κάποιου μύκητα μαζί με εντομοπαθογόνο μύκητα ενάντια εντομολογικού εχθρού, θα πρέπει το μυκητοκτόνο να μη θανατώνει τον εντομοπαθογόνο μύκητα
  - Δύναται να χρησιμοποιηθούν μείγματα μικροβιακών εντομοκτόνων με χημικά εντομοκτόνα χαμηλής τοξικότητας ή αδιαβάθμητα ως προς την τοξικότητα
  - Μείξη μικροβιακού εντομοκτόνου με άλλες ουσίες για καλύτερη αποτελεσματικότητα, π.χ. με 1% ζάχαρη (ελκυστική ουσία) στο διάλυμα *Bt* ενάντια των προνυμφών της ευδεμίδας στο αμπέλι



# Παράγοντες που παίζουν ρόλο στη χρήση μικροβιακών παρασκευασμάτων (4)

4. Ο ρόλος των κλιματολογικών συνθηκών του περιβάλλοντος, καθώς και αυτός του μικροκλίματος που διαμορφώνεται γύρω από τα φυτά μίας καλλιέργειας κατέχουν σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα κάθε μικροβιακού εντομοκτόνου
  - Δυσμενείς επιπτώσεις παρατηρούνται με την υπεριώδη ακτινοβολία των ηλιακών ακτίνων, με τις ξηροθερμικές συνθήκες και με τις βροχοπτώσεις
  - Απουσία βλάστησης σπορίων μυκήτων σε ξηροθερμικές συνθήκες, καθώς και «ξέπλυμά» τους σε έντονες βροχοπτώσεις
  - Τα σπόρια του *Bacillus thuringiensis* που ψεκάζονται στη φυλλική επιφάνεια εκτείνονται στις υπεριώδεις ακτίνες του ήλιου και καταστρέφονται; Επανάληψη επέμβασης



# Παράγοντες που παίζουν ρόλο στη χρήση μικροβιακών παρασκευασμάτων (5)

5. Η διατήρηση σε κατάλληλους αποθηκευτικούς χώρους των μικροβιακών εντομοκτόνων έχει σημασία για τη ζωτικότητα των μικροοργανισμών (δραστικός παράγοντας παρασκευασμάτων)
- Οι αποθηκευτικοί χώροι πρέπει να έχουν όσο το δυνατό χαμηλή θερμοκρασία, ιδίως κατά τη θερινή περίοδο
  - Σε πολλές περιπτώσεις απαιτείται ψυκτικός θάλαμος, για τη διατήρηση των μικροβιακών παρασκευασμάτων



# Εφαρμογές βιολογικής καταπολέμησης με εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς

## Με εντομοπαθογόνους μύκητες

- Ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρησιμοποίηση σκευασμάτων του μύκητα *Metarhizium anisopliae*, για την καταπολέμηση διαφόρων Coleoptera, κυρίως του Οτιόρυγχου του αμπελιού (*Otiorhynchus sulcatus*) που προσβάλλει και άλλες καλλιέργειες (καλλωπιστικά και θερμοκηπιακές καλλιέργειες)
- Δυνατότητα καταπολέμησης του Αλευρώδη των θερμοκηπίων (*Trialeurodes vaporariorum*) με σκευάσματα του μύκητα *Verticillium lecanii*



# Εφαρμογές βιολογικής καταπολέμησης με εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς

## Με εντομοπαθογόνα βακτήρια

- *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* χρησιμοποιείται ευρύτατα στη γεωργική πράξη για την καταπολέμηση πολλών επιβλαβών Λεπιδοπτέρων

## Με εντομοπαθογόνους ιούς

- Επιτυχείς εφαρμογές έχουν σημειωθεί στην καταπολέμηση του πράσινου σκουληκιού (*Heliothis armigera*) και της Λυμάντριας (*Lymantria dispar*) των δασικών κυρίως δένδρων και θάμνων



# Εφαρμογές βιολογικής καταπολέμησης με εντομοπαθογόνους μικροοργανισμούς

## Με εντομοπαρασιτικούς νηματώδεις

- Είδη του γένους *Heterorhabditis* χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση του Οτιόρυγχου του αμπελιού (*Otiorrhynchus sulcatus*), αλλά και καλλωπιστικών και φράουλας σε θερμοκήπια
- Είδη *Steinernema feltiae* και *S. biblionis* μπορεί να χρησιμοποιηθούν εναντίον προνυμφών ξυλοφάγων λεπιδοπτέρων εντόμων (Ζευζέρα, Κόσσοι, Σέζια) με εμπορική παραγωγή σε ΗΠΑ και Αγγλία





# Συγκριτικές ιδιότητες των εντομοπαθογόνων μικροοργανισμών

	<b>ΒΑΚΤΗΡΙΑ</b> ( <i>Bacillus thuringiensis</i> )	<b>ΜΥΚΗΤΕΣ</b> (Deuteromycetes)	<b>ΙΟΙ</b> (Baculovirus)	<b>ΝΗΜΑΤΩΔΕΙΣ</b> ( <i>Heterorhabdits</i> )	<b>ΠΡΩΤΟΖΩΑ</b> (Microsporidia)
<b>ΦΑΣΜΑ ΔΡΑΣΗΣ ΣΕ ΑΡΘΡΟΠΟΔΑ</b>	Κυρίως Λεπιδοπτερα και Δύττερα	Σε πολυάριθμα είδη, αλλά με εξειδικευμένη δράση	Κυρίως Λεπιδοπτερα & Υμενόπτερα; Διάφορος βαθμός εξειδικευμένης δράσης	Πολυάριθμα είδη διαφόρων οικογενειών	Ευρύ φάσμα σε ορισμένες οικογένειες
<b>ΤΡΟΠΟΣ ΔΙΕΙΣΔΥΣΗΣ</b>	Στοματική οδός	Κυρίως από σωματικό περιβλήμα	Στοματική οδός	Από πολλές εισόδους και δια του σωματικού περιβλήματος	Στοματική οδός
<b>ΧΡΟΝΟΣ ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΟΣ ΓΙΑ ΘΑΝΑΤΩΣΗ</b>	½ της ώρας-2 ημέρες	2 ημέρες	3 ημέρες	1-2 ημέρες	Ασθενεια χρόνια
<b>ΣΤΑΘΕΡΟΤΗΤΑ ΣΤΟ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝ</b>	Σπώρα ευαίσθητα στη UV ακτινοβολία; Κρύσταλλοι μεγάλης αντοχής; Καλή αντοχή στο έδαφος και κατά την προστασία των σπόρων	Ευαίσθητοι στην UV ακτινοβολία; Καλή βιωσιμότητα σπορίων στο έδαφος, αλλά μικρή διάρκεια ζωής στην αποθήκη	Ευαίσθητοι στην UV ακτινοβολία; Μακρά αντοχή των εγκλειστικών σωματίων στο έδαφος και κατά την προστασία των σπόρων	Ευαίσθητοι στην UV ακτινοβολία και στην ξηρασία; Μέτρια αντοχή στο έδαφος, ενώ δεν έχουν δοκιμασθεί ως μέσο μικροβιακού ελέγχου εντόμων αποθηκών	Ευαίσθητοι στην UV ακτινοβολία
<b>ΔΥΝΑΤΟΤΗΤΕΣ ΔΙΑΣΠΟΡΑΣ</b>	Δεν έχουν τέτοιες δυνατότητες	Τα σπώρα διαχέονται με τον αέρα ή με την κίνηση του ξενιστή	Μεταφορά δια της απεκκριτικής οδού ή με παθητικούς φορείς	Διαχέονται τοπικά στο έδαφος; Αναζητούν ξενιστή	Μεταφέρονται και ευθείαν μέσω των αών
<b>ΥΓΡΑΣΙΑ</b>	Μη περιοριστικός παράγοντας	Απαραίτητη υψηλή υγρασία, για τη βλάστηση των σπορίων	Μη περιοριστικός παράγοντας	Απαραίτητη η παρουσία ύδατος για τη διασπορά τους	Μη περιοριστικός παράγοντας
<b>ΜΕΘΟΔΟΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ</b>	<i>In vitro</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>
<b>ΕΠΕΜΒΑΣΗ-ΟΙΚΟΣΥΣΤΗΜΑΤΑ</b>	Γεωργικές καλλιέργειες, αποθήκες και έλη	Έδαφος και καλλιέργειες υπό κάλυψη	Δάση, λιμνώνες, αποθήκες και άλλα σταθερά οικοσυστήματα	Έδαφος και υποστρώματα σήψης	Δάση, λιβάδια και αποθήκες



# Βιβλιογραφία

- Γιαμβριάς Χ., 1994. Μέσα αντιμετώπισης των εντομολογικών εχθρών. Γεωργική Εντομολογία (II), Τεύχος 1ο. Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 72 σελ.
- Γιαμβριάς Χ., 1996. Γεωργική Εντομολογία (III & IV): Παθολογία και μικροβιολογία εντόμων. Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας & Εντομολογίας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, 55 σελ.
- Ηλιόπουλος Α.Γ., 2003. Ολοκληρωμένη Φυτοπροστασία II: μέθοδοι και μέσα ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας. ΤΕΙ Καλαμάτας, 150 σελ.



# Σημείωμα Αναφοράς

Copyright Τεχνολογικό Ίδρυμα Ηπείρου. Δρ Δήμητρα Ζωάκη  
Μαλισιόβα.

Ολοκληρωμένη Φυτοπροστασία Θεωρία. Παθολογία &  
Μικροβιολογία εντόμων.

Έκδοση: 1.0. Άρτα, 2015. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση:  
<<http://eclass.teiep.gr/courses/TEXG104/>>

# Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά Δημιουργού-Μη Εμπορική Χρήση-Όχι Παράγωγα Έργα 4.0 Διεθνές [1] ή μεταγενέστερη. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, Διαγράμματα κ.λπ., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.el>



# Τέλος Ενότητας

**Επεξεργασία: Δρ Αντωνόπουλος Δημήτριος**

*Γεωπόνος-Φυτικής Παραγωγής ΓΠΑ*

*Γεωπόνος-Γεωπονικής Βιοτεχνολογίας ΓΠΑ*

*ΕΠΠΑΙΚ ΑΣΠΑΙΤΕ*

*ΜΔΕ (MPhil) Φυτοπροστασίας ΓΠΑ*

*ΜΔΕ (MSc) Ασφάλειας Τροφίμων WUR*

*ΔΔ (PhD) Φυτοπαθολογίας ΓΠΑ*

*Μετα-ΔΔ (Post-Doc) Φυτοπαθολογίας NCSU USA*

*Μετα-ΔΔ (Post-Doc) Φυτοπαθολογίας ΓΠΑ-ΙΚΥ*

Άρτα, 2015



Ευρωπαϊκή Ένωση  
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ & ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ, ΠΟΛΙΤΙΣΜΟΥ & ΑΘΛΗΤΙΣΜΟΥ  
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης

