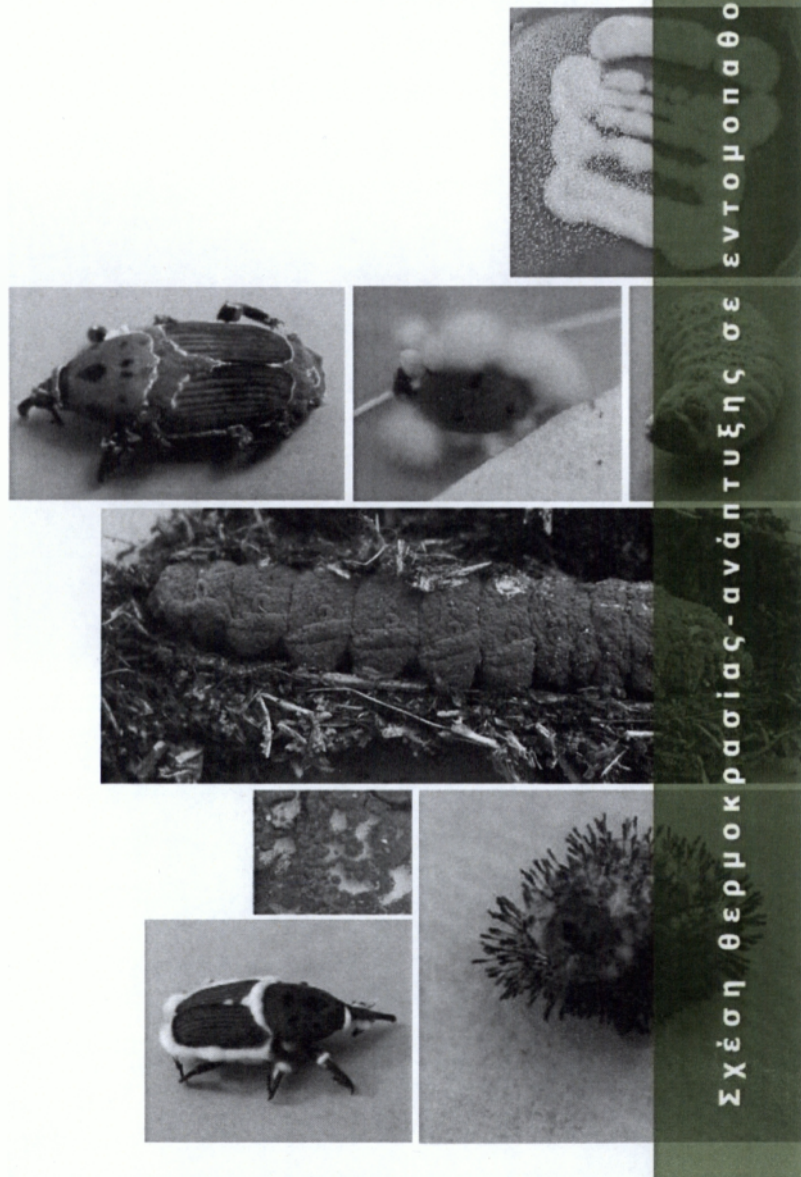


Ανώτατο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καλαμάτας
Σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας
Τμήμα Βιολογικών Θερμοκηπιακών
Καλλιεργειών και Ανθοκομίας
Τρισεύγενη Γκότση



Καλαμάτα 2011

**ΠΑΣΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗ
ΧΩΡΙΖΟΜΕΝΗ ΔΙΚΑΙΟΣΥΝΗΣ
ΚΑΙ ΤΗΣ ΑΛΛΗΣ ΑΡΕΤΗΣ ΠΑΝΟΥΡΓΙΑ,
ΟΥ ΣΟΦΙΑ ΦΑΙΝΕΤΑΙ**

(Μενέξενος Πλάτωνος, 247-Α)

Πρόλογος

Η πτυχιακή μελέτη αποτελεί μέρος των υποχρεώσεων των φοιτητών και είναι το επιστέγασμα των σπουδών τους.

Στην χρήση εντομοπαθογόνων μυκήτων στη φυτοπροστασία ως Βιολογική Αντιμετώπιση, η θερμοκρασία αποτελεί έναν από τους σπουδαιότερους παράγοντες.

Πολλοί συγγραφείς συνυπολογίζουν την επίδραση της θερμοκρασίας όταν μελετούν την εντομοπαθογόνα ικανότητα των μυκήτων στην προσπάθεια αντιμετώπισης εντόμων. Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε ο ρυθμός ανάπτυξης τριών εντομοπαθογόνων μυκήτων σε επτά διαφορετικές θερμοκρασίες. Σκοπός της πτυχιακής μου μελέτης, είναι η αξιολόγηση της ανάπτυξης εντομοπαθογόνων μυκήτων σε διαφορετικές θερμοκρασίες σε εργαστηριακό περιβάλλον και η μελέτη της σχέσης θερμοκρασίας και ανάπτυξης τους.

Η παρούσα πτυχιακή μελέτη εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου και οι εργασίες της μελέτης έγιναν στο πλαίσιο του προγράμματος της Γενικής Γραμματείας Έρευνας και Τεχνολογίας (Γ.Γ.Ε.Τ) που αφορούσε στην απομόνωση και αξιολόγηση εντομοπαθογόνων μυκήτων.

Πρωτίστως θα ήθελα να ευχαριστήσω τους ανθρώπους που χωρίς την βοήθεια τους δεν θα ήταν εφικτή η ολοκλήρωση αυτής της μελέτης.

Ευχαριστώ ιδιαίτερος τον Δρ. Δημήτριο Κοντοδήμα, Εντομολόγο-Ερευνητή, για την συμβολή του σε όλο το φάσμα της μελέτης, την παροχή βιβλιογραφίας και φωτογραφικού υλικού καθώς και για την αγάπη που μου μετέδωσε για τα έντομα και την φυτοπροστασία με χρήση βιολογικών μεθόδων αντιμετώπισης όπως επίσης και για το παράδειγμα ήθους και εργασίας που αποτελεί για εμένα.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω επίσης την παρασκευάστρια-τεχνική βοηθό Κα Σταυρούλα Παπανικολάου καθώς και όλους του συναδέλφους μου στο Ινστιτούτο για την πολύτιμη υποστήριξή τους.

Ευχαριστώ θερμά τον καθηγητή μου Δρ. Δημόπουλο Βασίλειο για την ανάθεση, διόρθωση και εξέταση της πτυχιακής μου εργασίας καθώς και για όσα με δίδαξε κατά την διάρκεια της φοίτησης μου στο Τεχνολογικό Εκπαιδευτικό Ίδρυμα Καλαμάτας.

Επίσης την Περιβαλλοντολόγο-Εντομολόγο, φίλη μου, Δρ Μαρτίνου Αγγελική για τις συμβουλές της όσον αφορά την συγγραφή αυτής της μελέτης και τη φίλη Κουλούρη Αθηνά για την βοήθεια στην επιμέλεια του εξωφύλλου.

Δεν θα μπορούσα να παραλείψω τον καθηγητή μου Δρ. Βλαχόπουλο Ευάγγελο και τους φίλους Κουλούρη Ταρσή και Μηλιώνη Ιωάννα υπεύθυνη του γραφείου δημοσίων σχέσεων του Τ.Ε.Ι Καλαμάτας για την ενθάρρυνση και στήριξή τους καθ' όλη τη διάρκεια σπουδών μου.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερος τους γονείς μου που όλα αυτά τα χρόνια αποτέλεσαν τον σημαντικότερο συμπαράστατή μου σε όλες μου τις προσπάθειες όπως και την υπόλοιπη οικογένεια μου για την αγάπη τους που μου δείχνουν αφειδώς.

Περίληψη

Μελετήθηκε η μη γραμμική σχέση θερμοκρασίας – ανάπτυξης, των εντομοπαθογόνων μυκήτων *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *Metarhizium anisopliae* και *Paecilomyces tenuipes*. Χρησιμοποιήθηκαν οι απομονώσεις: *B. bassiana* από Αμαρούσιον, Ελλάς (από έδαφος) και από Τατόι, Ελλάς (από *Malacosoma neustria*), *Paecilomyces fumosoroseus* από Αγ. Στέφανο (Αττική, Ελλάς) και Reading, Ηνωμένο Βασίλειο (από *Pieris brassicae*) και *Metarhizium anisopliae* από Μαραθώνα, Ελλάς (από έδαφος) και από Siedlce, Πολωνία (από *Melolontha melolontha* και από Elateridae).

Η μελέτη διεξήχθη με *in vitro* καλλιέργεια των ως άνω απομονώσεων σε τρυβλία, σε θρεπτικά υποστρώματα *Sabouraud Dextrose Agar (SDA)* και *Potato Dextrose Agar (PDA)* σε θερμοκρασίες 18, 20, 25, 27.5, 30, και 32.5°C (φωτοπερίοδος: 16h ημέρα). Στις συνθήκες αυτές γινόταν καθημερινή παρατήρηση της αύξησης της διαμέτρου των αναπτυσσομένων αποικιών (cfu, colony forming units). Η παρατηρούμενη αύξηση προσεγγίστηκε με μη γραμμική παλινδρόμηση, με τη βοήθεια των προγραμμάτων SAS, SPSS και Excel, με το μαθηματικό υπόδειγμα

Lactin (Kontodimas et al 2004), $y = e^{r \cdot temp} - e^{\left(e^{-r} \frac{T_m - temp}{\Delta} \right)} + \lambda$, όπου, y : η ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: η θερμοκρασία, e : η βάση των νεπερίων λογαρίθμων (2,718) και T_m , ρ , Δ , και λ : παράμετροι.

Παρατηρήθηκε πως η ταχύτητα ανάπτυξης στο *Potato Dextrose Agar (PDA)* ήταν συνήθως λίγο μεγαλύτερη σε σχέση με την αντίστοιχη στο *Sabouraud Dextrose Agar (SDA)* στους μύκητες *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* και *Paecilomyces fumosoroseus*. Τα *Paecilomyces tenuipes* και *Metarhizium anisopliae* είχαν υψηλότερες ταχύτητες αναπτύξεως.

Οι μέγιστες ταχύτητες αναπτύξεως που παρατηρήθηκαν ήταν 2.3-2.5mm/ημέρα για το *P. tenuipes*, 2.2-3.3mm/ημέρα για το *M. anisopliae*, 1.0-1.5mm/ημέρα για το *Beauveria bassiana* και 1.3-1.7mm/ημέρα για το *Paecilomyces fumosoroseus*. Το *Paecilomyces tenuipes* παρουσίασε τα μικρότερα θερμοκρασιακά όρια.

Τα αποτελέσματα αυτά προσφέρουν σημαντική πληροφορία, απαραίτητη για την ανάπτυξη στρατηγικής για τη χρήση αυτών των εντομοπαθογόνων μυκήτων στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση.

Περιεχόμενα

Εισαγωγή.....	6
1.1. Γενικά.....	6
1.2. Ιστορική Καταγραφή	8
1.3. Η ολοκληρωμένη παραγωγή.....	10
1.4. Η Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση.....	12
1.5. Η Βιολογική Αντιμετώπιση	14
1.5.1. Οι Φυσικοί Εχθροί των επιβλαβών εντόμων	15
1.5.2. Εντομοπαθογόνοι ιοί.....	16
1.5.3. Εντομοπαθογόνα βακτήρια	17
1.5.4. Εντομοπαθογόνα πρωτόζωα	18
1.5.5. Εντομοπαθογόνοι νηματώδεις	19
1.5.6. Οι μύκητες ως εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί.....	20
1.5.6.1. Παράγωγα μυκήτων – μυκοτοξίνες	22
1.5.6.2. Ο Μύκητας <i>Beauveria bassiana</i>	23
1.5.6.3. Ο Μύκητας <i>Metarhizium anisopliae</i>	25
1.5.6.4. Ο Μύκητας <i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	27
2. Υλικά και Μέθοδοι	28
2.1. Προέλευση των απομονώσεων των Εντομοπαθογόνων Μυκήτων	28
2.2. Το Potato Dextrose Agar (PDA) και το Sabouraud Dextrose Agar (SDA).....	33
2.3. Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη των εντομοπαθογόνων μυκήτων που απομονώθηκαν	34
3. Αποτελέσματα & Συζήτηση.....	36
3.1. Απομόνωση εντομοπαθογόνων μυκήτων	36
3.2. Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη.....	47
3.3 Συζήτηση.....	58
Παράρτημα.....	59
4. Βιβλιογραφία	60

1. Εισαγωγή

1.1. Γενικά

Τα σημερινά επίπεδα ανταγωνισμού επιβάλουν την ανάγκη αξιοποίησης κάθε δυνατού συγκριτικού πλεονεκτήματος για τη διατήρηση και αύξηση της ανταγωνιστικότητας των εγχώριων παραγόμενων αγροτικών προϊόντων.

Η εντατικοποίηση των καλλιεργειών έχει οδηγήσει στην αύξηση της χρήσης των χημικών φυτοφαρμάκων. Αυτό έχει ως συνέπεια προβλήματα ρύπανσης του περιβάλλοντος αλλά σε ορισμένες περιπτώσεις και την παρουσία υπολειμμάτων στο τελικό προϊόν.

Τόσο η διεθνής όσο και η Ευρωπαϊκή τάση σήμερα είναι να μειωθεί η χρήση φυτοφαρμάκων τόσο για την προστασία του περιβάλλοντος όσο και για την προστασία του καταναλωτή. Ιδιαίτερη βαρύτητα για τη χώρα μας έχει η σημασία που δίνει η Ευρωπαϊκή Ένωση για την επίτευξη του στόχου της μείωσης της χρήσης φυτοφαρμάκων.

Η όλη προσπάθεια εντάσσεται στο πλαίσιο της **Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης Εχθρών (Integrated Pest Management IPM)** που είναι η μέθοδος Αντιμετώπισης εχθρών που χρησιμοποιείται πλέον στη φυτοπροστασία.

Τα τελευταία χρόνια αναζητήθηκαν γενικά στη φυτοπροστασία νέες μέθοδοι αντιμετώπισης με έμφαση στη χρήση βιολογικών μέσων (όπως φυσικών εχθρών, μικροβιακών παραγόντων, φυσικών ουσιών) (Anagnou et al. 2003a,b).

Μέθοδοι που εφαρμόζονται για την Αντιμετώπιση των εντόμων είναι α) η χημική μέθοδος στην οποία χρησιμοποιούνται εκλεκτικά εντομοκτόνα, τέτοια που να μην εξοντώνουν τα ωφέλημα εντομοφάγα αρθρόποδα. Αν δεν υπάρχει εκλεκτικό εντομοκτόνο για την περίπτωσή μας και η χημική επέμβαση είναι αναγκαία, θα επιδιώξουμε με τη μικρότερη δυνατή δόση και την κατάλληλη, τοπικά και χρονικά, εφαρμογή ενός μη εκλεκτικού εντομοκτόνου μικρής υπολειμματικής δράσης, να έχουμε εκλεκτικό αποτέλεσμα. Ανάμεσα στα εντομοκτόνα που είναι εκλεκτικά ή μπορούν να χρησιμοποιηθούν κατά τρόπο που να δίνουν αποτέλεσμα εκλεκτικό είναι τα μικροβιακά, ορισμένα ορμονικής δράσης και ορισμένα κλασσικά μικρής συνήθως διάρκειας, οργανοφωσφορούχα ή καρβαμιδικά, β) η Βιολογική μέθοδος στην οποία χρησιμοποιούνται φυσικοί εχθροί των βλαβερών αρθρόποδων και άλλων βλαβερών ζωικών οργανισμών και κυρίως εντομοφάγα έντομα και ακάρεα (αρπακτικά ή παρασιτοειδή), εντομοπαρασιτικοί νηματώδεις, εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί

(βακτήρια, μύκητες) και ιοί, γ) Βιοτεχνολογικές μέθοδοι όπου στην κατηγορία αυτή υπάγονται μέθοδοι και τεχνικές που εκμεταλλεύονται ορισμένα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς των εντόμων. Μεταξύ των μεθόδων αυτών συγκαταλέγονται οι εντομοπαγίδες όταν χρησιμοποιούνται για άμεση Αντιμετώπιση με «μαζική παγίδευση». Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει η χρησιμοποίηση φερομόνων φύλου για Αντιμετώπιση, κυρίως με τη μέθοδο «παρεμπόδισης συνάντησης και σύζευξης των δυο φύλων».

Άλλη μία μέθοδος που μπορεί να εφαρμοσθεί στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των εχθρών καλλιεργειών είναι η χρήση γενετικά τροποποιημένων εντόμων ή φυτών που όμως εκτός από τις δυσκολίες τεχνικής φύσεως αντιμετωπίζει και θέμα κοινωνικής αποδοχής.

Στην ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση χρησιμοποιούνται όπου ενδείκνυται μηχανικά, καλλιεργητικά και άλλα μέτρα. Η αποτελεσματικότητα των μεθόδων και μέτρων Αντιμετώπισης επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, μεταξύ των οποίων και η γνώση της ταυτότητας των βλαβερών εντόμων, ο βαθμός βλαβερότητας τους, η γνώση του τρόπου ζωής, ανάπτυξης και συμπεριφορά τους στο φυτό που μας ενδιαφέρει αλλά και σε γειτονικά φυτά ξενιστές, οι διακυμάνσεις του πληθυσμού τους, η πιθανή ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε ορισμένα εντομοκτόνα, η καταλληλότητα και η σωστή εφαρμογή των μέτρων Αντιμετώπισης ακάρεων, μυκήτων, βακτηρίων ή άλλων φυτοπαθογόνων οργανισμών.

Η χρήση φυσικών εχθρών ή μικροβιακών παραγόντων για τον έλεγχο των εχθρών των καλλιεργειών ονομάζεται Βιολογική Αντιμετώπιση (ή Βιολογική Καταπολέμηση)

1.2. Ιστορική Καταγραφή

Η πρώτη αναφορά για αντιμετώπιση εχθρών εμφανίστηκε το 950 π.Χ. στην Αρχαία Ελλάδα όπως αναφέρει ο Όμηρος στο έργο του «Όμηρικοί Ύμνοι», όπου χρησιμοποιούσαν θειούχα σκευάσματα ως μια αποτελεσματική μέθοδο καταπολέμησης των ζωικών εχθρών (Debach, 1974). Κατόπιν ο Ρωμαίος Cato ο λογοκρίτης, το 200π.Χ. συνέστησε ψεκασμούς με πετρέλαιο για τον έλεγχο των εντόμων εχθρών.

Όμως η πρώτη καταγεγραμμένη εφαρμογή της βιολογικής αντιμετώπισης πραγματοποιήθηκε στην Κίνα, το 300 μ.Χ., όπου επιστρατεύτηκαν μυρμήγκια θηρευτές του γένους *Oecophylla smaragdina* για τον έλεγχο των εχθρών των εσπεριδοειδών. Επίσης το 1500 μ.Χ. οι αγρότες και φυσιολόγοι εκείνης της εποχής παρατήρησαν είδη *Coccinellidae* και ιδιαίτερα το αρπακτικό *Cycloneda munda* L., αλλά και μεγάλα σκαθάρια του εδάφους, του γένους *Carabidae*, να τρέφονται με άλλα έντομα (Jahn et al., 2001).

Το 1758 ο Ληγαίος ιδρύει το διωνυμικό σύστημα ονοματολογίας και με αυτόν τον τρόπο περιέγραψε πάρα πολλά έντομα θηρευτές και ήταν εκείνος που το 1763 χρησιμοποιώντας το ψευδώνυμο C.N. Nelin συνέστησε την συλλογή και εξαπόλυση *Carabidae*, *Coccinellidae*, *Chrysopidae* και *Aphidiidae* ως σημαντικό παράγοντα επιτυχίας για τον ορθό έλεγχο των ζωικών εχθρών των καλλιεργειών (Jahn et al., 2001).

Στις αρχές του 19^{ου} αιώνα εμφανίστηκαν τα πρώτα συγγράμματα αφιερωμένα εξ' ολοκλήρου στην βιολογική αντιμετώπιση και τον έλεγχο των εντόμων εχθρών. Το 1874, στην Ζηλανδία, έγινε η πρώτη διεθνής παρουσίαση του αρπακτικού *Coccinella undecimpunctata* L. Το 1878 στη Γαλλία χρησιμοποιήθηκε το παρασιτοειδές *Tyroglyphus phylloxerae* εναντίον του *Viteus vitifoliae* (Debach, 1971). Στα τέλη του 19^{ου} αιώνα και συγκεκριμένα το 1888, στην Αμερική, χρησιμοποιήθηκε το αρπακτικό *Rodolia cardinalis*, που εισήχθη από την Αυστραλία, για να επιτευχθεί έτσι ο έλεγχος του κοκκοειδούς *Icerya purchasi* (Dreistadt et al., 1994). Τη δεκαετία του 1920 στην Αυστραλία, κατορθώθηκε ο έλεγχος της εξάπλωσης του κάκτου *Opuntia cactus* με την απελευθέρωση του φυτοφάγου εντόμου *Cactoblastis cactorum* γεγονός που καταγράφηκε ως μια από τις μεγαλύτερες επιτυχίες της βιολογικής καταπολέμησης του αιώνα μας (Essig, 1931).

Το 1940 ο C.P. Clausen, συνέγραψε ένα κλασικό βιβλίο για τα εντομοφάγα έντομα, συνοψίζοντας την βιβλιογραφία στην βιολογία των παρασιτοειδών και των αρπακτικών. Το 1943 ο W.R. Thompson άρχισε να κατηγοριοποιεί τα παρασιτοειδή και τα αρπακτικά ανάλογα με τον ξενιστή τους και τα θηράματα τους (Steinhaus, 1956). Στις επόμενες δεκαετίες η βιολογική αντιμετώπιση εξελίχθηκε και εκτός από τη χρησιμοποίηση θηρευτών, εφαρμόστηκαν σκευάσματα που η δραστική τους ουσία προερχόταν από μύκητες, βακίλους και άλλες φυσικές ουσίες. Την δεκαετία του '70, συγκεκριμένα το 1972 παρουσιάστηκε το πρώτο σκεύασμα βασιζόμενο στο *Bacillus thuringiensis*, που χρησιμοποιήθηκε για τον έλεγχο των λεπιδοπτέρων. Αυτή την τάση που είναι και σήμερα επίκαιρη περιγράφει ο Barry Commoner στο βιβλίο του το 1971 «Κλείνοντας τον κύκλο» με μια χαρακτηριστική φράση «...η φύση δεν είναι ο εχθρός, αλλά ο ουσιαστικός σύμμαχός μας...» (Kogan, 1998).

Τα τελευταία 25-30 χρόνια η πρόοδος στην εφαρμοσμένη παθολογία των εντόμων ήταν αρκετά γρήγορη και κατέληξε σε λίγες, αλλά εντυπωσιακές προσπάθειες καταπολέμησης εντόμων με παθογόνους για αυτά μικροοργανισμούς. Σήμερα η μικροβιακή καταπολέμηση είναι μια αξιόλογη και αναπτυσσόμενη βιολογική μέθοδος, που εφαρμόζεται στη γεωργική πράξη εναντίον περισσότερων από 100 ειδών επιβλαβών εντόμων. Χρησιμοποιώντας μικροοργανισμούς επιδιώκουμε να προκαλέσουμε επιζωοτία στον πληθυσμό του βλαβερού εντόμου και κατά προτίμηση θανατηφόρο επιζωοτία. (Τζανακάκης, 1995)

1.3. Η ολοκληρωμένη παραγωγή

Η γεωργία και η κτηνοτροφία είναι οι πιο παλιές δραστηριότητες του ανθρώπου, που επηρεάζουν το περιβάλλον και επηρεάζονται από αυτό και σε χώρες όπως η Ελλάδα, διαμόρφωσαν το χώρο και τη ζωή μέσα σε αυτόν. Η διάταξη των χωραφιών και των καλλιεργειών γύρω από τα χωριά, οι αναβαθμίδες για να καλλιεργηθούν οι πλαγιές, οι φυτοφράκτες για να προστατευτούν τα χωράφια, τα βοσκοτόπια και οι στάνες, διαμόρφωσαν το χώρο γύρω από τα χωριά και αποτελούν την ύπαιθρο όπως την αντιλαμβανόμαστε. Η ύπαιθρος σε κάθε τόπο έχει διαφορετική μορφή ανάλογα με τις καλλιέργειες που ασκούνται στην κάθε περιοχή, τον τρόπο που είναι χωρισμένα τα χωράφια, τον τρόπο που είναι κλαδεμένα τα δέντρα, τα είδη και τις ποικιλίες που καλλιεργούνται, την κλίση του εδάφους, την ύπαρξη νερού ή όχι κλπ. Αυτές τις μορφές, που διαμορφώνονται από τη γεωργία και την κτηνοτροφία, τις ονομάζουμε αγροτικά τοπία για να τα ξεχωρίσουμε από άλλα τοπία μιας περιοχής, όπως τα δασικά. Η γεωργία εκτός από δικά της ξεχωριστά τοπία, διατηρεί και προσφέρει τροφή και καταφύγιο σε πολλά άγρια ζώα και φυτά.

Η γεωργία και η κτηνοτροφία έχουν αλλάξει σημαντικά με την πάροδο του χρόνου, λύνοντας πολλά προβλήματα και δημιουργώντας, όμως, άλλα. Οι αλλαγές που έφερε η μαζική χρήση των λιπασμάτων, των γεωργικών μηχανημάτων, των νέων αρδευτικών συστημάτων καθώς και η εγκατάλειψη παραδοσιακών τρόπων καλλιέργειας και εκτροφής των ζώων, έδωσαν νέα ώθηση στη γεωργία, η οποία αύξησε μεν το γεωργικό εισόδημα, αλλά παράλληλα δημιούργησε προβλήματα τόσο στην αγροτική εκμετάλλευση, όσο και στο ευρύτερο περιβάλλον της και επομένως στο κοινωνικό σύνολο.

Ο ρόλος του αγρότη, ο οποίος αναγνωρίζεται σε όλο του το εύρος, δεν περιορίζεται μόνο στην παραγωγή αλλά επεκτείνεται και στην προστασία του περιβάλλοντος, της πολιτιστικής κληρονομιάς και του χώρου της υπαίθρου.

Ο αγρότης θα πρέπει με τις δράσεις του να στοχεύει στην μείωση των προβλημάτων που δημιουργούν η γεωργία και η κτηνοτροφία, αλλά και στην διατήρηση των καλών υπηρεσιών της γεωργίας προς το κοινωνικό σύνολο.

Για την αντιμετώπιση των προβλημάτων που έχει δημιουργήσει η γεωργική δραστηριότητα και την συνέχιση των θετικών λειτουργιών της, οι αγρότες θα πρέπει

να εφαρμόζουν ορισμένες πρακτικές, οι οποίες ονομάστηκαν Κώδικες Ορθής Γεωργικής Πρακτικής. (Κ.Ο.Γ.Π.).

Οι πρακτικές αυτές, σχεδόν όλες παλιές, που η έρευνα έδειξε, ότι ήταν αποτελεσματικές εμπλουτίστηκαν, όπου χρειάστηκε με νέες και αποσκοπούν:

- στην αειφορική διαχείριση των γεωργικών γαιών και των φυσικών πόρων
- στην προστασία και διαφύλαξη του αγροτικού τοπίου και των χαρακτηριστικών του
- στην προστασία της υγείας των αγροτών και των καταναλωτών.

Για την επίτευξη των παραπάνω στόχων οι Κώδικες παρεμβαίνουν στις ακόλουθες γεωργικές δραστηριότητες:

1. Κατεργασία του εδάφους
2. Αμειψισπορά
3. Λίπανση
4. Διαχείριση υδάτινων πόρων
5. Φυτοπροστασία
6. Διαχείριση αυτοφυούς χλωρίδας
7. Συγκομιδή
8. Διαχείριση υπολειμμάτων καλλιέργειας
9. Διαχείριση απορριμμάτων.

Η πρακτική της αμειψισποράς αφορά μόνο τις ετήσιες καλλιέργειες, αροτραίες και κηπευτικά. Όλες οι άλλες δραστηριότητες αφορούν όλους τους τύπους των καλλιεργειών.

Οι Κώδικες Ορθής γεωργικής Πρακτικής αφορούν, επίσης, στις παρακάτω κτηνοτροφικές δραστηριότητες:

1. Την διαχείριση των βοσκοτόπων
2. Την υγιεινή και καλή διαβίωση των ζώων
3. Την διαχείριση αποβλήτων της κτηνοτροφικής εκμετάλλευσης.

1.4. Η Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση

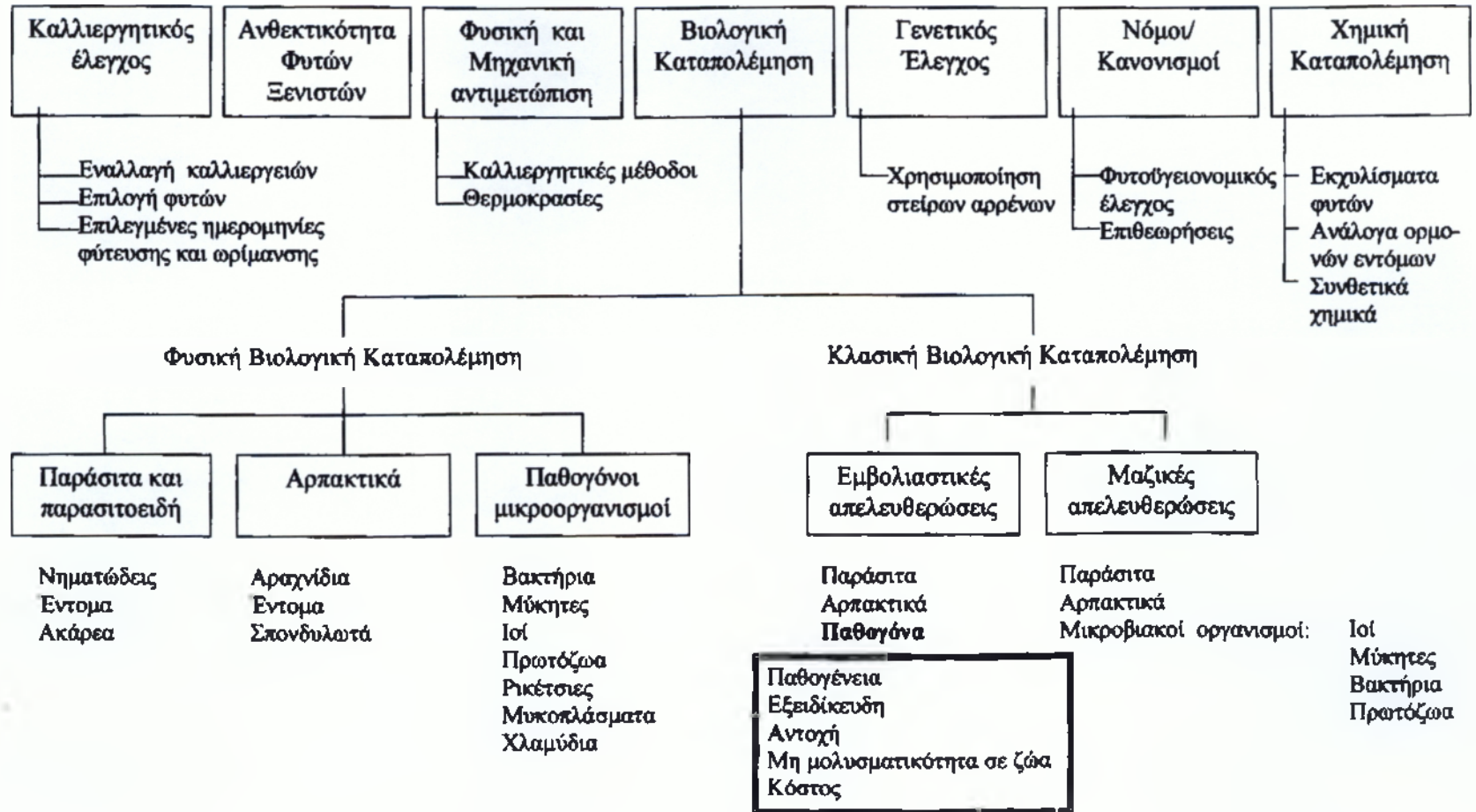
Η ολοκληρωμένη αντιμετώπιση των εχθρών των καλλιεργειών (**Integrated Pest Management, IPM**), σύμφωνα με τους Smith & Reynolds (1966), είναι ένα σύστημα αντιμετώπισης εχθρών, στο πλαίσιο κάποιων συγκεκριμένων περιβαλλοντολογικών συνθηκών και της δυναμικής πληθυσμών του εχθρού, το οποίο χρησιμοποιεί όλες τις κατάλληλες μεθόδους και τεχνικές κατά τον πλέον εναρμονιζόμενο τρόπο και επιτυγχάνει τη διατήρηση του πληθυσμού του εχθρού κάτω από το επίπεδο που δύναται να προξενήσει οικονομική ζημία στην καλλιέργεια. (Λυκουρέσης, 1995).

Είναι δηλαδή, μια οικολογικά βασισμένη στρατηγική αντιμετώπισης εχθρών των καλλιεργειών που στηρίζεται κυρίως σε φυσικούς παράγοντες θνησιμότητας όπως είναι οι φυσικοί εχθροί και οι περιβαλλοντικοί παράγοντες και αναζητεί να εφαρμόζει τακτικές οι οποίες να μην διαταράσσουν ή να διαταράσσουν όσο γίνεται λιγότερο αυτούς τους παράγοντες.

Σήμερα χρησιμοποιούνται σήμερα διάφορα προϊόντα τα οποία, έχουν διαφορετικούς τρόπους δράσης: ωοκτόνα ή προνυμφιοκτόνα, δια στομάχου, δι' επαφής και ασφυκτικά ή καπνογόνου δράσης. Επίσης διακρίνονται σε προϊόντα που παραμένουν στην επιφάνεια, ή εισέρχονται εντός του φυτού (διασυστηματικά), με μεγάλη ή μικρή διάρκεια δράσης. Ορισμένα από αυτά δεν είναι βλαβερά για την ωφέλιμη πανίδα, ενώ η αποτελεσματικότητά τους μπορεί να διαφέρει ανάλογα με την γενεά του εντόμου.

Για την αποτελεσματική αντιμετώπιση των βλαβερών προς την καλλιέργεια εντόμων και ταυτόχρονα την προστασία των ωφέλιμων εντόμων, θα πρέπει να προσδιορίζεται με ακρίβεια η κατάλληλη στιγμή επεμβάσεων, ανάλογα με τον τρόπο δράσης του προϊόντος που έχει επιλεγεί. Ειδικότερα, για τα προϊόντα με εξειδικευμένο τρόπο δράσης, όπως είναι τα βιολογικά και εκλεκτικά μέσα, η επιτυχία της καταπολέμησης κατά κύριο λόγο εξαρτάται από τη στιγμή της εφαρμογής τους. Έτσι η προειδοποίηση ή η ακριβής πρόγνωση για επικείμενο κίνδυνο από τον εχθρό είναι πρωταρχικής σημασίας. (Μπρούμας, 1996β).

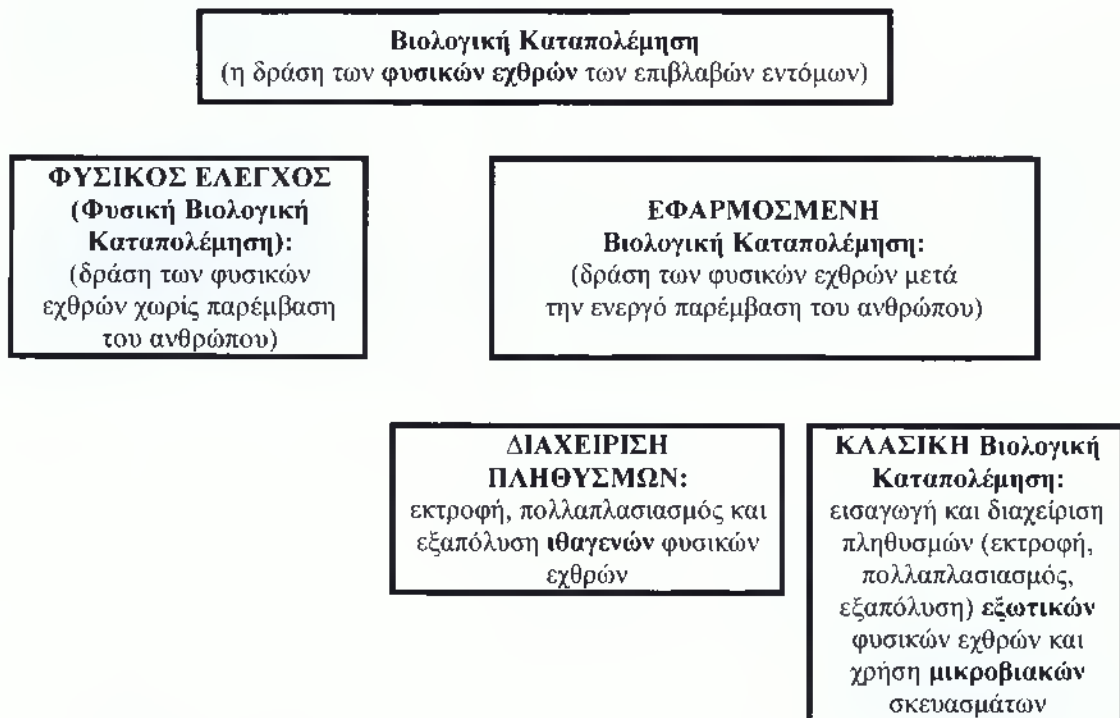
Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση Εχθρών



Εικόνα 1.4.1: Η Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση Εχθρών

1.5. Η Βιολογική Αντιμετώπιση

Η βιολογική αντιμετώπιση (ή βιολογική καταπολέμηση) ορίζεται ως η δράση των φυσικών εχθρών των επιβλαβών εντόμων (παρασιτοειδή, αρπακτικά, παθογόνα). Διακρίνεται σε φυσική βιολογική καταπολέμηση (δράση των φυσικών εχθρών χωρίς παρέμβαση του ανθρώπου) και σε εφαρμοσμένη βιολογική καταπολέμηση (δράση των φυσικών εχθρών μετά την ενεργό παρέμβαση του ανθρώπου). Η εφαρμοσμένη βιολογική καταπολέμηση διακρίνεται σε διαχείριση πληθυσμών (εκτροφή, πολλαπλασιασμός και εξαπόλυση ιθαγενών φυσικών εχθρών) και σε κλασική βιολογική καταπολέμηση (εισαγωγή και διαχείριση πληθυσμών εξωτικών φυσικών εχθρών και χρήση μικροβιακών σκευασμάτων) (Εικόνα 1.5.1) (Katsoyannos 1996, Κοντοδήμας 2004).



Εικόνα 1.5.1: Η Βιολογική Αντιμετώπιση (ή Βιολογική Καταπολέμηση)

1.5.1. Οι Φυσικοί Εχθροί των επιβλαβών εντόμων

Φυσικοί Εχθροί των επιβλαβών εντόμων, όπως αναφέρθηκε είναι τα παρασιτοειδή, τα αρπακτικά και τα παθογόνα.

Αρπακτικό είναι «ακυρίως ένα έντομο ή και άλλος οργανισμός του ζωικού βασιλείου, το οποίο ζει ελεύθερα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του, είναι συνήθως μεγαλύτερο σε μέγεθος από τη λεία του και για να συμπληρώσει την ανάπτυξή του απαιτούνται περισσότερα του ενός άτομα από τη λεία του (πολλές φορές εκατοντάδες ή χιλιάδες)» (Λυκουρέσης 1995).

Παρασιτοειδές θεωρείται «ένα έντομο το οποίο έχει συνήθως, όχι πάντοτε, το ίδιο μέγεθος περίπου με τον ξενιστή του, απαιτεί δε ένα μόνο ξενιστή για τη συμπλήρωση της αναπτύξεως του τον οποίον και τελικά θανατώνει» (Λυκουρέσης 1995)

Παθογόνο είναι ένας μικροοργανισμός που μπορεί να διεισδύσει στο σώμα-ξενιστή και να προκαλέσει νόσο. Στα παθογόνα των αρθροπόδων κατατάσσονται και ορισμένα είδη νηματωδών.

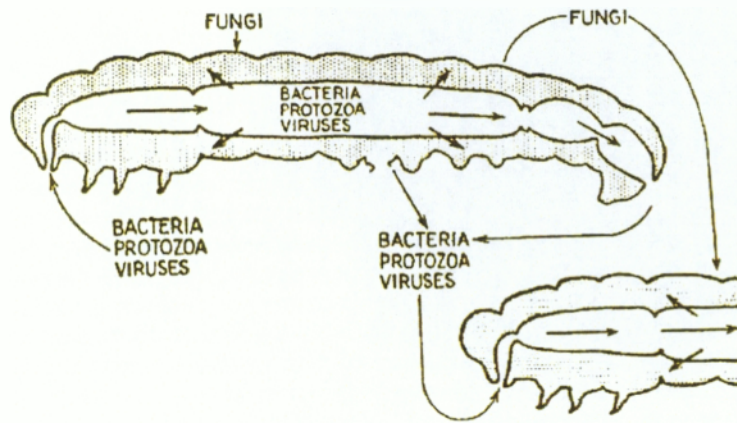
Οι κατηγορίες των φυσικών εχθρών διαφέρουν σημαντικά στην βιολογία και συμπεριφορά τους και ως εκ τούτου στην ικανότητα να ελέγξουν τον πληθυσμό των εχθρών σε κάθε περιβάλλον. Για τη σωστή αλλά και έγκαιρη χρήση των φυσικών εχθρών χρειάζεται καλή γνώση :

- του βιολογικού κύκλου των εχθρών και
- των ανταγωνιστών των εχθρών (βιολογία, που και πως διαχειμάζουν, κ.α.).

Με τις γνώσεις αυτές μπορεί να καταρτιστεί ένα ολοκληρωμένο πρόγραμμα αντιμετώπισης των πιθανών εχθρών.

Η παθογένεια η οποία προκαλείται από τους μικροοργανισμούς δεν είναι ίδια σε όλα τα έντομα και διαφέρει ακόμα και σε κάθε στάδιο του εντόμου. Συνήθως είναι μεγαλύτερη στα νεαρά στάδια του εντόμου, ιδιαίτερα στο στάδιο της προνύμφης (Steinhaus, 1949).

Το σημείο εισόδου ή ανάπτυξης ενός παθογόνου διαφέρει, ανάλογα με το έντομο και το εκάστοτε παθογόνο. Συνήθως η είσοδος των παθογόνων γίνεται από την στοματική οδό, ενώ οι μύκητες έχουν τη δυνατότητα να εισβάλλουν στον ξενιστή τους από την επιδερμίδα του εντόμου.



Εικόνα 1.5.1.1: Τα σημεία εισόδου του παθογόνου μύκητα στο έντομο.

1.5.2. Εντομοπαθογόνοι ιοί

Οι ιοί είναι μικροοργανισμοί οι οποίοι καταγράφονται σε κάθε τάξη εντόμων και είναι οι μικρότεροι των εντομοπαθογόνων μικροοργανισμών. Το μέγεθος τους κυμαίνεται από 0.01 μm μέχρι και 15 μm (Lacey and Brooks, 1997). Ιοί παθογόνοι ως προς τα έντομα συναντώνται σε αρκετές διαφορετικές οικογένειες, όπως τους Iridoviridae, Parvoviridae, Poxviridae, Reoviridae και Baculoviridae. Επιδεικνύουν πολύ μεγάλη εκλεκτικότητα, μίας και για ορισμένους ιούς μόνο ένας έντομο-ξενιστής έχει καταγραφεί μέχρι σήμερα (Huber, 1990).

Οι ιοί οι οποίοι προκαλούν ασθένειες στα έντομα είναι γενικά όμοιοι με τους υπόλοιπους Ιούς στις βασικές ιδιότητες. Οι περισσότεροι εξ αυτών όμως έχουν ορισμένες ιδιότητες που τους ξεχωρίζουν από τους Ιούς που προκαλούν ασθένειες στα ανώτερα θηλαστικά ή τα φυτά. Μία από αυτές είναι η ιδιότητα τους να παράγουν περίεργα κρυσταλλόμορφα σώματα, τα οποία ονομάζονται πολύεδρα μέσα στα κύτταρα των ιστών που προσβάλλουν. (Steinhaus, 1949).

Ένα έντομο, μετά την προσβολή του από έναν Ιό παρουσιάζει μειωμένη δραστηριότητα για κάποιο χρονικό διάστημα, μέχρι να επέλθει ο θάνατος. Αν και δεν προκαλούν οξεία και άμεση θνησιμότητα, πολλές φορές οι Ιοί προκαλούν δραματικές μειώσεις στον πληθυσμό των ξενιστών τους.

Μεταχρωματισμοί, λύσεις ιστών, δημιουργία κηλίδων, ακόμα και αποσύνθεση ολόκληρου σώματος του εντόμου είναι τα συνήθη σημεία που εμφανίζονται, ανάλογα φυσικά με το είδος του Ιού και του εντόμου (Lacey and Brooks, 1997).

1.5.3. Εντομοπαθογόνα βακτήρια

Τα βακτήρια αποτελούν τον πιο πολυπληθή τύπο μικροοργανισμών που έχουν δράση παθογόνο στα έντομα. Δεν αποτελεί έκπληξη λοιπόν το γεγονός ότι μεγάλος αριθμός από τους μικροοργανισμούς αυτούς μπορεί να προκαλεί μολύνσεις στα έντομα σε ένα μεγάλο εύρος συνθηκών. Τα βακτήρια είναι μονοκύτταροι φυτοειδείς μικροοργανισμοί οι οποίοι πολλαπλασιάζονται με διαίρεση. Τα εντομοπαθογόνα βακτήρια είναι σε γενικές γραμμές, όμοια με τα υπόλοιπα βακτήρια, όσον αφορά τα γενικά χαρακτηριστικά τους. Από τους υπόλοιπους μικροοργανισμούς ξεχωρίζουν κυρίως λόγω του πολύ μικρότερου μεγέθους τους (Steinhaus, 1949). Αυτό είναι της τάξης των 0.5 – 50 μm. Το σχήμα τους ποικίλει ανάλογα με το είδος. Συναντώνται μεμονωμένα ή σε αλυσίδες, μπορεί να είναι είτε θετικά είτε αρνητικά κατά Gram και αερόβια ή αναερόβια (Lacey and brooks, 1997).

Τα βακτήρια ανήκουν στη τάξη Schizomycetes, η οποία υποδιαιρείται σε πέντε ή και παραπάνω τάξεις, ανάλογα με το σύστημα ταξινόμησης που ακολουθείται. Ο μεγαλύτερος αριθμός των βακτηρίων που εμφανίζει παθογόνες ως προς τα έντομα ιδιότητες ταξινομείται στις ακόλουθες έξι οικογένειες: Basillaceae, Enterobacteriaceae, Lactobacteriaceae, Micrococcaceae και Pseudomonadaceae (Steinhaus, 1949).

Γενικά, τα έντομα που είναι προσβεβλημένα από βακτήρια παρουσιάζουν δυσκολίες στην κίνηση, μειωμένη όρεξη, στοματικές και εντερικές εκκρίσεις. Μετά το θάνατο το σώμα (ειδικά των προνυμφών) σκουραίνει γρήγορα παίρνοντας καφέ ή μαύρο χρώμα. Γίνεται εντελώς υδαρές και αλλοιώνεται σε μεγάλο βαθμό το σχήμα του. Τελικά το σώμα του εντόμου ξηραίνεται εντελώς. Σε ένα νεκρό ή ετοιμοθάνατο έντομο εξαιτίας κάποιας βακτηριολογικής ασθένειας, αν εξετάσουμε τους ιστούς του που θα διαπιστώσουμε την έντονη παρουσία των ευθυνόμενων για το θάνατο βακτηρίων. (Steinhaus, 1949).

Πολλά από τα εντομοπαθογόνα βακτήρια δεν είναι αρχικά θανατηφόρα για τα έντομα-ξενιστές και μπορούμε να εντοπίσουμε σημεία και συμπτώματα σε ζώντα έντομα. Τέτοια παραδείγματα είναι η προσβολή εντόμων της οικογένειας Scarabaeidae (Coleoptera) από *Bacillus popilliae* (milky disease) και από *Seratia entomophila* (Honey disease) (Lacey and brooks, 1997).

Η διάκριση πολλές φορές μιας βακτηριολογικής προσβολής σε έντομα γίνεται από το χρώμα το οποίο αποκτά το νεκρωμένο σώμα τους. Κόκκινος χρωματισμός είναι ενδεικτικός της παρουσίας του *Serratia marcescens*. Οι προνύμφες των μελισσών που είναι προσβεβλημένες από *Bacillus alvei* γίνονται κίτρινες ή γκριζες, ενώ αυτές που γίνονται σκούρες καφέ. Στις περισσότερες άλλες των βακτηριακών μολύνσεων ο ξενιστής γίνεται καφέ – μαύρος, χρώμα χαρακτηριστικό της βακτηριακής αποσύνθεσης (Poinar and Thomas, 1978).

Μια κατηγορία βακτηρίων οι ρικέτσιες, οι οποίες συναντώνται σε ευρύ φάσμα εντόμων, μπορούν σε ορισμένες περιπτώσεις να προκαλέσουν αξιοπρόσεχτες μολύνσεις σε ορισμένους πληθυσμούς. Έχουν πολύ μικρό μέγεθος (0.2-0.6μm) και σχήμα ραβδοειδές, είναι αρνητικές κατά Gram, μοιάζουν με βακτήρια και συμπεριφέρονται ως ιοί. Είδη του γένους *Rickettiella* και *Wolbachia* είναι εντομοπαθογόνα και η παρουσία τους έχει αναφερθεί σε Κολεόπτερα, Δίπτερα, Λεπιδόπτερα, Ορθόπτερα και άλλες τάξεις εντόμων.

1.5.4. Εντομοπαθογόνα πρωτόζωα

Όσα είδη παρουσιάζουν πρακτικό ενδιαφέρον για καταπολέμηση εντόμων έχουν κατά την ζωή τους ένα ανθεκτικό στάδιο, εκείνο της σπορίωσης. Στις πλείστες περιπτώσεις το στάδιο αυτό είναι και το μολυσματικό. Το έντομο μολύνεται κατά κανόνα καταπίνοντας τα πρωτόζωα, ορισμένα όμως είδη πρωτόζωων μπορεί να μεταδοθούν από την μητέρα έντομο στα τέκνα δια του ωαρίου. Λιγότερο συχνή, αλλά όχι σπάνια, είναι η είσοδος του πρωτοζώου από οπές ωοτοκίας παρασιτικών υμενοπτέρων. Οι κυρίως προσβαλλόμενοι ιστοί και όργανα είναι το λιπόσωμα, οι σωλήνες Malpighi και το εντερικό επιθήλιο. Η προσβολή καταλήγει σε κυττόλυση. Επειδή ορισμένα εντομοπαθογόνα είδη είναι ταξινομικός κοντά σε παθογόνα σπονδυλωτών, χρειάζεται μεγάλη προσοχή πριν ένα είδος διασπαρεί στον αγρό.

Μειονεκτήματα που περιορίζουν την πρακτική χρησιμότητα των πρωτοζώων είναι η ευπάθεια τους στο υπεριώδες φως, αλλά προπαντός η μικρή τους εντομοπαθογόνος δύναμη και η μάλλον αργή δράση τους. Επίσης η αναπαραγωγή τους για εμπορική χρήση είναι εξαιρετικά δύσκολη, μιας και δεν αναπαράγονται σε τεχνητά υποστρώματα (Steinhaus, 1949).

Στην Ευρωπαϊκή αγορά κυκλοφορούν σκευάσματα από δύο είδη πρωτοζώων της κατηγορίας *Microsporidium*. Το ένα περιέχει το *Nosema locustae* και

χρησιμοποιείται με επιτυχία κατά της ακρίδας *Locusta migratoria* σε σχετικά μεγάλες λιβαδικές εκτάσεις στη Δ. Αφρική, Ινδία, Β. και Ν. Αμερική, ψεκαζόμενο από αέρος, αλλά και σε δημόσια και ιδιωτικά πάρκα όπου η χρήση συνθετικών εντομοκτόνων είναι ιδιαίτερα ανεπιθύμητη (Τζανακάκης, 1995).

Το δεύτερο περιέχει το *Vairimorpha necatrix* και χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση των λεπιδοπτέρων (Copping, 2001).

1.5.5. Εντομοπαθογόνοι νηματώδεις

Οι νηματώδεις τυπικά δεν είναι μικροβιακά στοιχεία, είναι κυλινδρικοί πολύκυτταροι σκώληκες. Όντας σχεδόν μικροσκοπικοί σε μέγεθος χρησιμοποιούνται όπως τα υπόλοιπα μικροβιακά εντομοκτόνα. Οι νηματώδεις είναι η μεγαλύτερη ζωική μονάδα. Τα περισσότερα είδη δεν παρουσιάζουν κανένα απολύτως ενδιαφέρον. Ο βιολογικός κύκλος των εντομοπαθογόνων νηματωδών είναι σε γενικές γραμμές ίδιος με κάθε άλλης ομάδας νηματωδών.

Η συμβίωση εντόμων και νηματωδών δεν είναι πάντα θανατηφόρος για το έντομο, καθότι σε αρκετές περιπτώσεις οι νηματώδεις τρέφονται δίχως να παρεμποδίζουν τις ζωτικές λειτουργίες του εντόμου. (Welch, 1963).

Οι νηματώδεις προσβάλλουν έντομα από όλες τις τάξεις, αρκεί σε κάποιο στάδιο του βιολογικού τους κύκλου (κατά προτίμηση ως προνύμφες) να βρίσκονται επί ή εντός του εδάφους (Steinhaus, 1949).

Οι νηματώδεις μπορούν να δράσουν ως παράσιτα σε οποιοδήποτε ή και σε όλα τα στάδια του βιολογικού τους κύκλου, ενώ κάποιοι νηματώδεις εμφανίζονται ως παράσιτα για μια γενιά και στις επόμενες γενιές ζουν ελεύθεροι.

Κατατρώγοντας το εσωτερικό του εντόμου, προκαλούν μουμιοποίηση. Τα έντομα που παρασιτούνται από είδη των Steinernematidae και Heterorhabditidae αποκτούν κόκκινο, πορτοκαλί ή γαλακτόχρωμο μεταχρωματισμό ο οποίος οφείλεται στην παρουσία και την δράση των συμβιούντων βακτηρίων (Enterobacteriaceae) (Lacey and Brooks, 1997). Τα είδη των πιο πάνω οικογενειών καταφέρνουν, εξαιτίας της συμβίωσης αυτής, να θανατώνουν πιο γρήγορα τους ξενιστές τους.

Έντομα εδάφους και νερού τα οποία θανατώνονται από νηματώδεις αποσυντίθεται γρήγορα ενώ συχνά οι νηματώδεις απομακρύνονται από το νεκρό έντομο

καθιστώντας δύσκολη την παρατήρηση για προσβολές νηματωδών. (Nickle and Welch, 1984).

Για να πούμε με σιγουριά ότι υπάρχει προσβολή από νηματώδεις πρέπει να τους δούμε στο εσωτερικό του ξενιστή ή να εξέρχονται από αυτόν. (Tanada, 1963).

1.5.6. Οι μύκητες ως εντομοπαθογόνοι μικροοργανισμοί

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

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

Οι τάξεις των μυκήτων που προκαλούν ασθένεια στα έντομα, περιλαμβάνονται στον Πίνακα 1. Στους εντομοπαθογόνους αυτούς μύκητες, χαρακτηριστικό είναι ότι τα έντομα προσβάλλονται, όχι μόνο στο στάδιο της προνύμφης ή νύμφης, αλλά και στο στάδιο του ακμαίου.

Η εισχώρηση του μύκητα στα έντομα δεν γίνεται μόνο δια της στοματικής οδού, αλλά πραγματοποιείται και από την επιδερμίδα σε οποιοδήποτε μέρος του σώματος, αρκεί το σπóριο του μύκητα να βρει την κατάλληλη υγρασία για να βλαστήσει. Συχνά οι μύκητες εξαρτώνται πολύ από το περιβάλλον, κυρίως όσον αφορά τα αρχικά στάδια μόλυνσης. Έτσι, οι πιο σημαντικοί παράγοντες που παίζουν ρόλο στην εκδήλωση ασθένειας από τα παθογόνα αυτά, είναι η θερμοκρασία και η υγρασία. Η σχετική υγρασία περιβάλλοντος στις περισσότερες περιπτώσεις θα πρέπει να είναι πολύ αυξημένη, δηλαδή, μεγαλύτερη από 85-90%, ώστε να επιτυγχάνεται αποτελεσματική δράση των εντομοπαθογόνων μυκήτων.

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

Όταν ένα έντομο προσβληθεί από ένα μύκητα παθογόνο, ο μύκητας αυτός διαπερνά την επιδερμίδα και αναπτύσσει σιγά-σιγά στο εσωτερικό του εντόμου το μυκηλίο του, κατακλύζοντας έτσι όλους τους ιστούς και με τις τοξίνες που παράγει, έχει σαν αποτέλεσμα τη θανάτωση του ξενιστή. Στη συνέχεια ο μύκητας εμφανίζεται εξωτερικά με μυκήλιο και επανθίσεις και παρατηρούνται στην επιδερμίδα του εντόμου κονιδιοφόροι από τους οποίους γίνεται η διασπορά του παθογόνου. Σε ορισμένες περιπτώσεις, οι μύκητες εντοπίζονται σε συγκεκριμένα όργανα του ξενιστή τους, όπως για παράδειγμα οι μύκητες *Massospora cicadina* και *Strongwellsea castrans* που απαντώνται μόνο στην κοιλιακή χώρα των ενήλικων εντόμων (Poinar, 1977).

Πίνακας 1.5.6.1: Τάξεις και μερικά είδη εντομοπαθογόνων μυκήτων

ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΜΥΚΗΤΩΝ	ΤΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΕΙΔΗ ΕΝΤΟΜΟΠΑΘΟΓΟΝΩΝ ΜΥΚΗΤΩΝ
A. ΦΥΚΟΜΥΚΗΤΕΣ	Entomophthorales <ul style="list-style-type: none"> - <i>Entomophthora</i> spp., <i>Zoophthora</i> spp., <i>Erynia</i> spp. - <i>Massospora</i> (<i>M. cicadina</i>), - <i>Conidiobolus</i> spp. Blastocladales <ul style="list-style-type: none"> - <i>Coelomyces</i> spp. (<i>C. stegomyiae</i>, <i>C. tasmaniensis</i>, παθογόνα κουνουπιών) Lagenidiiales <ul style="list-style-type: none"> - <i>Lagenidium giganteum</i> (παθογόνο κουνουπιών)
B. ΑΣΚΟΜΥΚΗΤΕΣ	Ascosphaerales <ul style="list-style-type: none"> <i>Bettsia</i> sp. <i>Ascospaera</i> (παθογόνα μελισσών) (<i>A. apis</i>) Myriangiales <ul style="list-style-type: none"> <i>Myriangium</i> spp. (παθογόνα Coccoidae) Sphaeriales <ul style="list-style-type: none"> <i>Cordyceps</i> spp. <i>Torrubiella</i> spp. <i>Hypocrella</i> spp.
Γ. ΑΤΕΛΕΙΣ ΜΥΚΗΤΕΣ	Moniliales <ul style="list-style-type: none"> <i>Beauveria</i> spp. (<i>B. bassiana</i>, παθογόνο πολλών ειδών εντόμων), (<i>B. tenella</i>=<i>B. brongniarti</i>) (παθογόνο του <i>Melolontha melolontha</i>) <i>Metarrhizium</i> (<i>M. anisopliae</i>) [παθογόνο του <i>Anisopliae</i>]

austriaca
(Scarabaeidae)]
Nomuraea (= *Spicaria*) (*N. rileyi*) (παθογόνο του *Trichoplusia*
ni κ.α
Noctuidae)
Paecilomyces spp.
Hirsutella (*H. thompsonii*) (παθογόνο του ακάρεως
Phyllocoptuta
oleivora)
Culicomycetes clavosporus
Lecanicillium lecanii
Tolyptocladium cylindrosporum
Sphaeropsidales
- *Aschersonia* (*A. aleurodis*) (παθογόνο των Aleurodidae)

1.5.6.1. Παράγωγα μυκήτων – μυκοτοξίνες

Οι μυκοτοξίνες είναι φυσικά απαντώμενες φυσικές ουσίες, χημικής σύνθεσης, που παράγονται από μύκητες που προσβάλλουν φυτικούς ή ζωικούς οργανισμούς. Απαντώνται αρκετά συχνά στα ζώα αλλά και στον άνθρωπο και μπορούν να προκαλέσουν τοξικά σύνδρομα. Σε εργαστηριακό επίπεδο έχουν περιγραφεί πάνω από 300 μυκοτοξίνες (Smith et al., 1994).

Σχεδόν όλες οι συνθέσεις που θεωρούνται μυκοτοξίνες και δοκιμάζονται στα έντομα, έχει αποδειχθεί ότι έχουν παρόμοιες επιδράσεις στα περισσότερα, όπως π.χ. τη μείωση του βαθμού ανάπτυξης καθώς και μορφολογικές, ιστολογικές και αναπαραγωγικές αλλαγές.

Η σχετική τοξικότητα μιας συγκεκριμένης μυκοτοξίνης ποικίλει σημαντικά από έντομο σε έντομο. Ακόμη, η συνύπαρξη διαφορετικών μυκοτοξινών σε φυτικά υλικά μπορεί να καταλήξει σε αθροιστικές επιδράσεις σε έντομα που τρέφονται από αυτά (Smith et al., 1994).

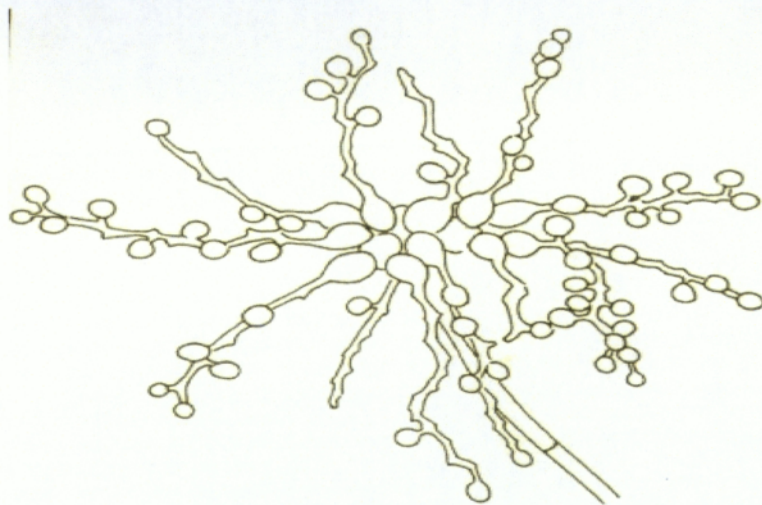
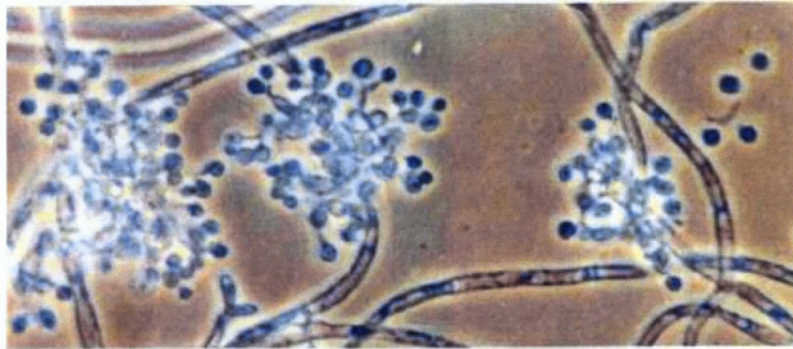
Αν και τα έντομα είναι πιθανόν η μόνη ομάδα μικροοργανισμών η οποία φέρει μια εκτεταμένη αντίσταση στις μυκοτοξίνες, αρκετά πειράματα έχουν δώσει αρκετά καλά αποτελέσματα.

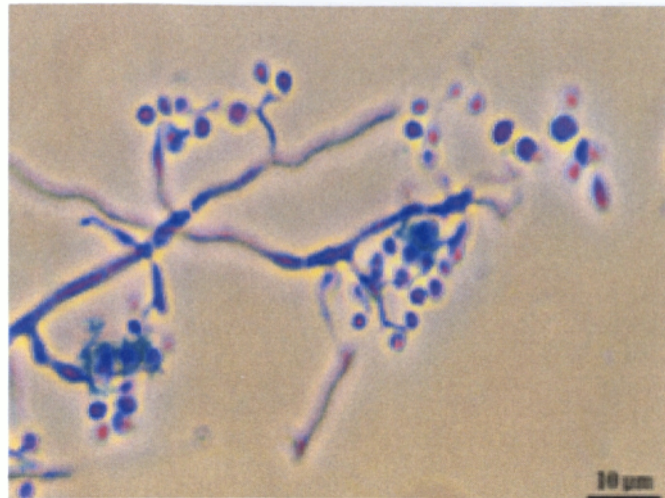
Μίξη από trichothecens και non-trichothecens sesquiterpenes από το *Fusarium graminearum*, σε χαμηλές μάλιστα συγκεντρώσεις, έχει δείξει ότι μπορεί να ενεργήσει εναντίων των *Spodoptera fudgiperda* (Lepidoptera) και των *Heliothis zea* (Lepidoptera).

Στα ίδια Λεπιδόπτερα, ο συνδυασμός των deoxynivalend (DON) σε 25 mg/g με dihydroxycalonetrin (DHCAL) σε 10 mg/g έδειξε σε διάστημα 7 ημερών θνησιμότητα 29.3 % στη *Spondoptera fudgiperda* και 61.5 % στο σκουλήκι του καλαμποκιού (Smith et al., 1994).

1.5.6.2. Ο Μύκητας *Beauveria bassiana*

Ο μύκητας *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Moniliales) συνίσταται για την καταπολέμηση αφίδων, θριπών, αλευρωδών, κολεοπτέρων, ημιπτέρων κ.α.. Το όνομα του, το πήρε από τον Ιταλό εντομολόγο Agostino Bassi, οποίος και την ανακάλυψε το 1835 ως αίτιο για την άσπρη επίστρωση (μούχλας) που βρέθηκε πάνω στο *Bombyx mori*.

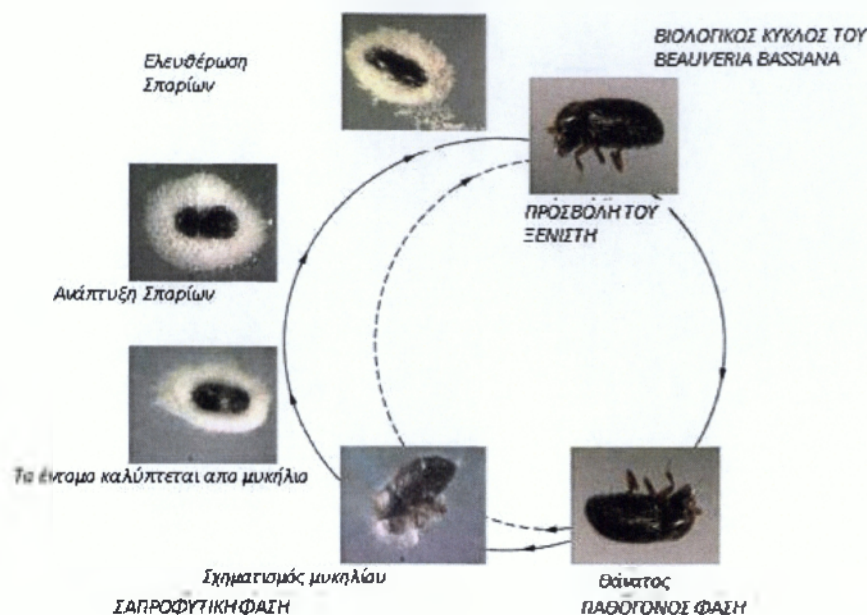




Εικόνα 1.5.6.2.1: Ο μύκητας *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin

Ο εντομοπαθογόνος αυτός μύκητας εισβάλλει στο σώμα του εντόμου. Τα κονίδια του έρχονται σε επαφή με την επιδερμίδα του εντόμου και αφού βλαστήσουν, διαπερνούν την επιδερμίδα και πολλαπλασιάζοντας μέσα στο σώμα του εντόμου. Τα κονίδια του μύκητα είναι μονοκύτταρα, απλοειδή και υδρόφοβα (Rehner & Buckley, 2005). Η υψηλή υγρασία είναι απαραίτητη για τον πολλαπλασιασμό των κονιδίων και η μόλυνση ολοκληρώνεται μέσα σε 24-48 ώρες αναλόγως της θερμοκρασίας. Το έντομο μπορεί να επιζήσει μέχρι και 3-5 μέρες αφού μολυνθεί.

Στην Ευρώπη κυκλοφορούν εμπορικά σκευάσματα όπως τα Naturalis-L, Bio-power, Botanigard κ.α. Ο μύκητας αυτός δεν παρουσιάζει φυτοτοξικότητα ούτε δημιουργεί τοξικότητες σε πτηνά, ζώα και ψάρια (Copping, 2001)



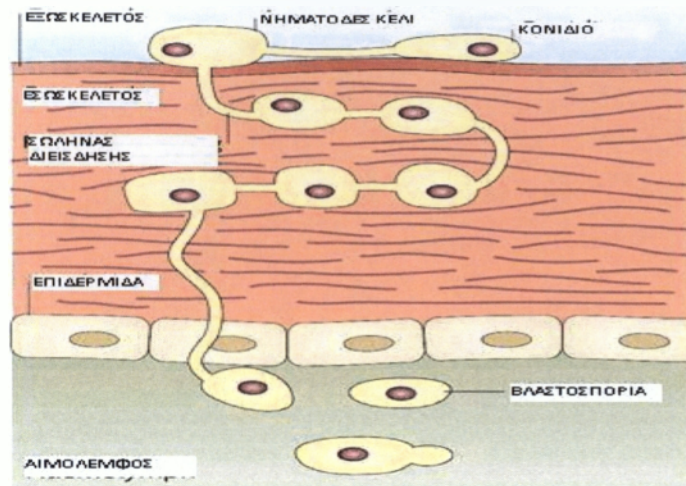
Εικόνα 1.6.6.2.2: Βιολογικός Κύκλος του *Beauveria bassiana*

1.5.6.3. Ο Μύκητας *Metarhizium anisopliae*

Ο *Metarhizium anisopliae* (Moniliales) γνωστός παλαιότερα ως *Entomophthora anisopliae*, είναι ένας μύκητας που απαντάται σε ολόκληρο τον κόσμο. Απέκτησε το όνομα του όταν το 1879 ο I.I. Mechnikov, τον απομόνωσε από σκαθάρι *Anisoplia austriaca*. Στην συνέχεια τον χρησιμοποίησε για τον έλεγχο του κολεοπτέρου *Cleonus punctiventris* και ο οποίος τελικά το συνέστησε για τη βιολογική αντιμετώπιση των εντόμων. Έχει αναφερθεί ότι προσβάλλει περίπου 200 είδη εντόμων (McCoy et al., 1988) και άλλων αρθροπόδων. Αν και παρουσιάζει μεγάλα ποσοστά θνησιμότητας στα έντομα δεν αποτελεί κίνδυνο για τα θηλαστικά παρά μόνο μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις σε ευαίσθητα άτομα.

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

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



Εικόνα 1.5.6.3.1: Τρόπος διείσδυσης του *M. anisopliae* στο εσωτερικό του εντόμου

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

Το Bioblast είναι μία εμπορική διαθέσιμη μορφή του εντομοπαθογόνου μύκητα *M. anisopliae* που χρησιμοποιείτε για το έλεγχο των τερμιτών του γένους *Reticulitermes* spp. Ο μύκητας εφαρμόζεται πάνω στο ξύλο όπου είναι γνωστό ότι οι τερμίτες διατηρούν τις στοές τους. Οι τερμίτες που βρίσκονται μέσα στις στοές είναι εκτεθειμένη σε άμεση επαφή με τα κονίδια του μύκητα. Παράλληλα με αυτήν την μέθοδο προκαλούμε εξάπλωση του παθογόνου μύκητα σε υγιείς, μη μολυσμένα άτομα της αποικίας. Μελέτες έχουν δείξει ότι ο θάνατος επέρχεται σε 4 έως 10 ήμερες ανάλογα με την θερμοκρασία.

1.5.6.4. Ο Μύκητας *Paecilomyces fumosoroseus*

Το *Paecilomyces fumosoroseus*, θεωρείται πολύ ελπιδοφόρος βιολογικός παράγοντας για τον έλεγχο βλαβερών εντόμων. Στην Ευρώπη κυκλοφορεί το εμπορικό σκεύασμα PreFeRal με ένδειξη εναντίον του *Trialeurodes vaporariorum* σε τομάτα και αγγούρι.

Το *P. fumosoroseus*, ακριβώς όπως το *B. bassiana*, παράγει κονίδια σε στερεό υπόστρωμα και βλαστοσπόρια σε υγρό υπόστρωμα. Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στην ερευνητική μονάδα USDA-ARS (Illinois) διαπιστώθηκε ότι τα βλαστοσπόρια βλαστάνουν ταχύτερα και σε μεγαλύτερο ποσοστό στην επιδερμίδα του αλευρώδη σε σχέση με τα κονίδια. Η διαπίστωση αυτή δείχνει ότι η χρήση των βλαστοσπορίων για την ανάπτυξη των εμπορικών σκευασμάτων θα ήταν συμφέρουσα συγκριτικά με τη χρήση των κονιδίων. Διάφορα γεωργικά προϊόντα έχουν εξεταστεί ως συστατικά σκευασμάτων και μερικά υπόσχονται τη διατήρηση της βιωσιμότητας των βλαστοσπορίων στο πέρασμα του χρόνου.



Εικόνα 1.5.6.4.1: Προσβολή κολεοπτέρου από *Paecilomyces fumosoroseus*



Εικόνα 1.5.6.4.2: Καλλιέργεια *Paecilomyces fumosoroseus* σε θρεπτικό μέσο

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1. Προέλευση των απομονώσεων των Εντομοπαθογόνων Μυκήτων

Έγινε επισκόπηση για την ανεύρεση εντομοπαθογόνων μυκήτων σε διάφορα περιβάλλοντα σε Ελλάδα και Πολωνία. Πραγματοποιήθηκαν δειγματοληψίες νεκρών αρθροπόδων και δειγματοληψίες χώματος χρησιμοποιώντας γεωγραφικά πληροφοριακά συστήματα (GIS) και παγκόσμια συστήματα θέσης (GPS) ώστε να είναι δυνατός ο εντοπισμός του κάθε σημείου δειγματοληψίας και στο μέλλον.

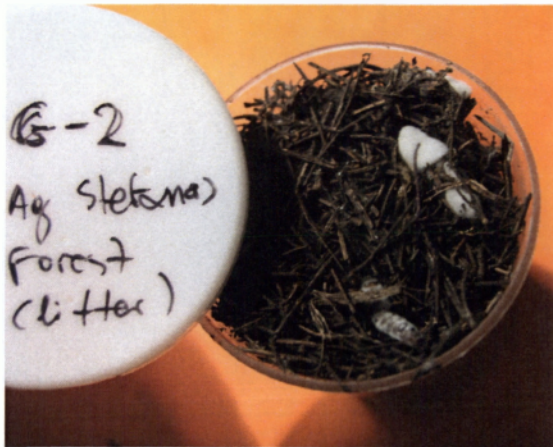
Τα νεκρά αρθρόποδα που ανευρέθηκαν, τοποθετήθηκαν σε τρυβλία σε συνθήκες απόλυτης υγρασίας, ώστε να αναπτυχθούν τα μυκήλια των εντομοπαθογόνων μυκήτων.

Οι δειγματοληψίες χώματος (300 gr/δείγμα) έγιναν από βάθος 10cm. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν αρχικά σε πλαστικές σακούλες και στην συνέχεια μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο όπου τοποθετήθηκαν σε πλαστικά τρυβλία τύπου Petri. Η συλλογή των δειγμάτων πραγματοποιήθηκε κατά το τελευταίο τρίμηνο του 2008. Τα σημεία της δειγματοληψίας καταγράφηκαν με χρήση συσκευής GPS Garmin Ehtrex.

Στα δείγματα χώματος, για την εξακρίβωση της παρουσίας και την απομόνωση των εντομοπαθογόνων μυκήτων, εφαρμόστηκαν η δολωματική μέθοδος με χρήση του *Galleria mellonella* (*Galleria* bait method) και η χρησιμοποίηση

ημικλεκτικών υποστρωμάτων ανάπτυξης. Η δολωματική μέθοδος είναι μια απλή τεχνική, η οποία αρχικά χρησιμοποιούνταν επιτυχημένα σε οικολογικές μελέτες για τον προσδιορισμό των παρασιτικών νηματωδών των εντόμων (Mracek 1980,1982; Akhurst and Brooks 1984), και ακολουθεί την εξής διαδικασία:

Οι προνύμφες του *Galleria mellonella* εμβαπτίστηκαν σε ζεστό νερό θερμοκρασίας 45°C για μερικά δευτερόλεπτα. Στη συνέχεια έπειτα τοποθετήθηκαν (5, 10 ή 15 από αυτές ανάλογα με το μέγεθος τους) στα τρυβλία που περιείχαν τα δείγματα εδάφους, φροντίζοντας να έχουν υψηλή, αλλά όχι υπερβολική υγρασία. Τα τρυβλία αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου (25±1°C) για 14 – 20 ημέρες. Κατά τις πρώτες 4 ημέρες τα τρυβλία αναποδογυρίζονταν κάθε μέρα ώστε οι προνύμφες να μπορούν κινούνται μέσα στα δείγματα (Keller et al 2000). Ο έλεγχος της θνησιμότητας έγινε στις 7, 12, και 14 ημέρες (Mietiewski et al. 1996). Οι νεκρές ή μумιοποιημένες προνύμφες απομακρύνθηκαν και εν συνεχεία αποστειρώθηκαν σε 1% υποχλωριώδες νάτριο για μερικά δευτερόλεπτα.



Εικόνα 2.1.1: Η μέθοδος της χρήσης ως δολώματος του εντόμου *Galleria mellonella*

Εν συνεχεία οι προνύμφες που εμφάνισαν τα συμπτώματα του εντομοπαθογόνου μύκητα τοποθετήθηκαν σε πλαστικά τρυβλία τύπου Petri που είχαν υψηλή υγρασία (moist chamber). Αυτό επιτεύχθηκε με εναπόθεση ορισμένων σταγόνων νερού πάνω σε χαρτί, κυκλικού σχήματος μέσα στα τρυβλία.

Στο τέλος, μετά από την πάροδο 48 ωρών σε θερμοκρασία δωματίου, περνούμε δείγματα από τις προσβεβλημένες προνύμφες. Ακολουθώντας καλλιεργούμε τα κονίδια των μυκήτων, που απομακρύνουμε από τις προνύμφες, σε υπόστρωμα S.D.A ή P.D.A με τη χρήση εστίας νηματικής ροής



Εικόνα 2.1.2: Διαδικασία για την απομόνωση των εντομοπαθογόνων μυκήτων από τις νεκρές προνύμφες του *Galleria mellonella*



Εικόνα 2.1.3: Μουμιοποιημένες προνύμφες *G. mellonella* λόγω της δράσης του *B. bassiana* (ρόδινο χρώμα) και επάνθηση μυκηλίου *B. bassiana* (λευκό μυκήλιο)



Εικόνα 2.1.4: Επάνθηση μυκηλίου *M. anisopliae* (με πράσινο ή λευκό-πράσινο χρώμα) σε προνύμφες *G. mellonella* και μουμιοποιημένες προνύμφες *G. mellonella* λόγω της δράσης του *B. bassiana* (ρόδινο χρώμα)



Εικόνα 2.1.5: Εστία νηματικής ροής

Από τις απομονώσεις που αποκτήθηκαν με τις μεθόδους που περιγράφηκαν πιο πάνω (βλ. Αποτελέσματα), χρησιμοποιήθηκαν για την παρούσα μελέτη οι:

Εντομοπαθογόνος μύκητας	Περιοχή
<i>Beauveria bassiana</i>	Αμαρούσιον, Ελλάς (από έδαφος) και από Τατόι, Ελλάς (από <i>Malacosoma neustria</i>)
<i>Raecilomyces fumosoroseus</i>	Αγ. Στέφανος (Αττική, Ελλάς)
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Μαραθώνα, Ελλάς (από έδαφος) και από Siedlce, Πολωνία (από <i>Melolontha melolontha</i>).
<i>Raecilomyces fumosoroseus</i>	Αγ. Στέφανος (Αττική, Ελλάς) και,
<i>Raecilomyces tenuipes</i>	από Białowieża, Πολωνία (από Lepidoptera).

Επίσης για το πειραματισμό χρησιμοποιήθηκε και μία απομόνωση *Raecilomyces fumosoroseus* από *Pieris brassicae* από το Reading, Ηνωμένο Βασίλειο, που παραχωρήθηκε από τον κο Ευάγγελο Μπερή.

2.2. Το Potato Dextrose Agar (PDA) και το Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

Η σύσταση και ο τρόπος παρασκευής του PDA περιγράφεται ακολούθως:

Υλικά:

1. Άγαρ (Agar-Agar) σε τελική συγκέντρωση 1.5% w/v.
2. Γλυκόζη (alpha-D-Glucose) σε τελική συγκέντρωση 0.1 M.
3. Τρυβλία (petri)
4. 200γρ πατάτας

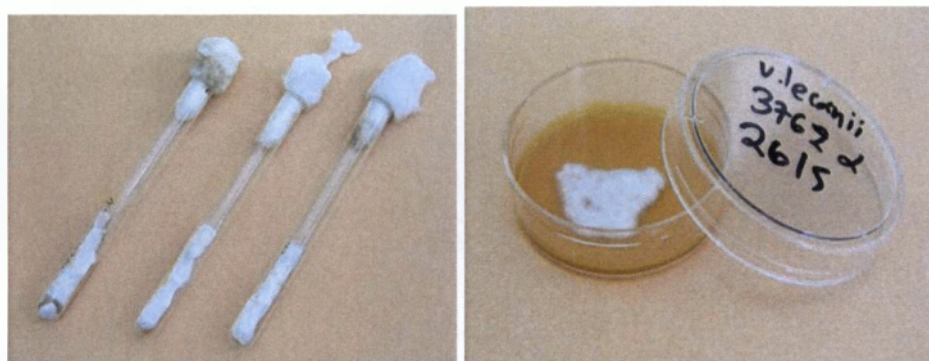
Πορεία για την παρασκευή 1 L θρεπτικού υλικού:

- Οι πατάτες καθαρίζονται και πλένονται με απιονισμένο-απεσταγμένο νερό (dH₂O).
- Για την παρασκευή του PDA επιλέγονται πατάτες βιολογικής καλλιέργειας, διότι οι κοινές πατάτες του εμπορίου μπορεί να προκαλέσουν μεταλλάξεις στους υπό εξέταση μύκητες, εάν τα πιθανώς χρησιμοποιημένα φυτοφάρμακα είναι ακόμα ενεργά.
- Οι πατάτες κόβονται σε μικρούς κύβους (200 g πατάτας για κάθε λίτρο τελικού όγκου θρεπτικού υλικού).
- Οι πατάτες βράζονται σε 800 ml dH₂O σε μέτρια ένταση μέχρι οι κύβοι της πατάτας να μαλακώσουν.
- Το προκύπτον υγρό φιλτράρεται και συμπληρώνεται με dH₂O μέχρι τελικού όγκου 1L.
- Στη συνέχεια, το υλικό αδειάζεται σε κωνική φιάλη διπλάσιου όγκου από το προς αποστείρωση διάλυμα.
- Προστίθενται 18 g άνυδρη γλυκόζη
- Προστίθενται 15 g άγαρ
- Η αποστείρωση γίνεται σε αυτόκαυστο (autoclave) για 15 min. Η θερμοκρασία που αναπτύσσεται είναι περίπου 121 °C σε πίεση 15 lb/in² (1.1 atm).
- Μετά το τέλος της αποστείρωσης αφήνεται το υλικό μέχρι να πέσει λίγο η θερμοκρασία του και στη συνέχεια μοιράζεται υπό ασηπτικές συνθήκες σε τρυβλία ανά 25 ml περίπου και αφήνεται μέχρι να στερεοποιηθεί και να φύγουν οι πολλοί υδρατμοί.

Η σύσταση και ο τρόπος παρασκευής του SDA περιγράφεται ακολούθως:

Το Sabouraud Dextrose Agar, είναι μια τροποποίηση του Dextrose Agar που περιγράφηκε απ' τον Sabouraud και χρησιμοποιείται για την καλλιέργεια εντομοπαθογόνων μυκήτων.

Για να παρασκευαστεί το μέσο ανάπτυξης, προστίθενται 65 gr απ' το Sabouraud Dextrose Agar σε 1000 ml κρύου αποστειρωμένου νερού και θερμαίνονται με βράσιμο για να διαλυθεί το μέσο εντελώς. Έπειτα διανέμεται στους δοκιμαστικούς σωλήνες και στις κωνικές φιάλες κι αποστειρώνεται στο κλίβανο για 15 λεπτά σε 15% πίεση (121 βαθμούς Κελσίου). Η τελική αντίδραση του μέσου είναι: PH 5,6.



Εικόνα 2.2.1: Ανάπτυξη του *Verticillium lecanii* επί Sabouraud Dextrose Agar (SDA)

2.3. Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη των εντομοπαθογόνων μυκήτων που απομονώθηκαν

Για τη μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη των εντομοπαθογόνων μυκήτων *B. bassiana*, *P. tenuipes* και *M. anisopliae*, έγινε πειραματισμός με καλλιέργεια τους σε θρεπτικό υπόστρωμα Sabouraud Dextrose Agar (SDA) και σε Potato Dextrose Agar (PDA) σε θερμοκρασίες 18, 20, 25, 27.5 30, και 32.5°C και καθημερινή παρατήρηση της αύξησης της διαμέτρου των αναπτυσσομένων αποικιών (cfu, colony forming units). Για το *P. fumosoroseus* η μελέτη διεξήχθη στις θερμοκρασίες 15, 20, 25, 27.5, 30, και 32.5°C



Εικόνα 2.3.1: Καλλιέργεια *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* και *Metarhizium anisopliae* σε θρεπτικό μέσο SDA (Sabouraud Dextrose Agar).

Η παρατηρούμενη αύξηση προσεγγίστηκε με μη γραμμική παλινδρόμηση με το μαθηματικό υπόδειγμα Lactin (Kontodimas et al., 2004) με τη βοήθεια των προγραμμάτων SAS, SPSS και Excel.

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left(\rho \cdot T_m \frac{T_m - temp}{\Delta} \right)} + \lambda$$

Όπου,

y : η ταχύτητα αναπτύξεως,

$temp$: η θερμοκρασία

e : η βάση των νεπερίων λογαρίθμων (2,718)

και T_m , ρ , Δ , και λ : παράμετροι

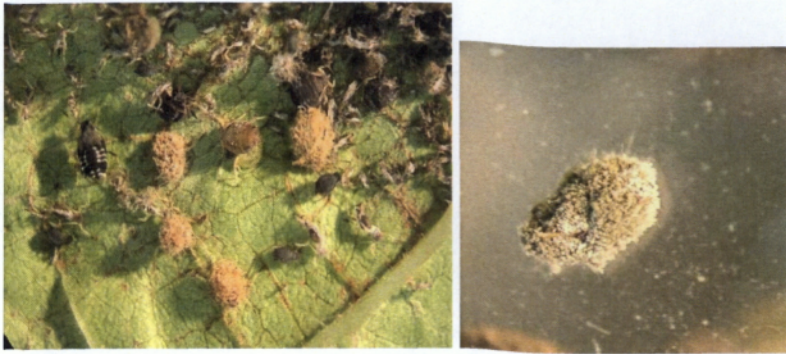
3. Αποτελέσματα & Συζήτηση

3.1. Απομόνωση εντομοπαθογόνων μυκήτων

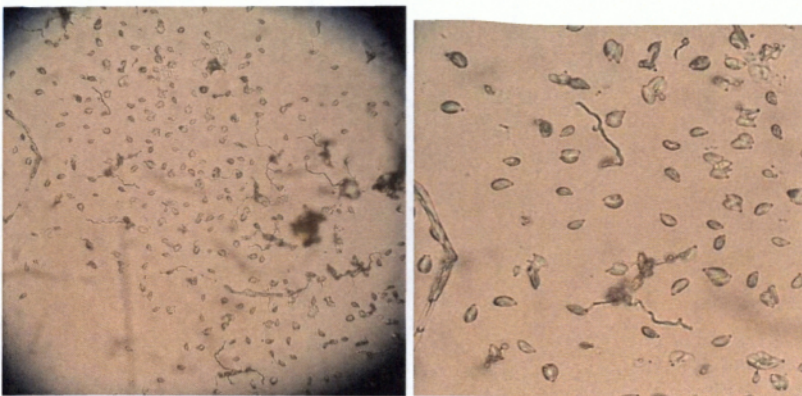
Τα αποτελέσματα της επισκόπησης για την ανεύρεση απομονώσεων εντομοπαθογόνων μυκήτων παρουσιάζονται στους παρακάτω πίνακες και εικόνες.

Πίνακας 3.1.1. Εντομοπαθογόνοι Μύκητες που βρέθηκαν σε διάφορα αρθρόποδα στην Ελλάδα

Μύκητας	Ξενιστής	Περιοχή	Γεωγρ. Πλάτος	Γεωγρ. Μήκος
Entomophthorales				
<i>Erynia conica</i>	Diptera	Τατόι	38° 9'44.87"N	23°47'32.09"E
<i>Pandora neoaphidis</i>	<i>Aphis fabae</i>	Αγ. Στέφανος	38°10'20.94"N	23°52'9.52"E
Hyphomycetales				
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Malacosoma neustria</i>	Τατόι	38° 9'44.87"N	23°47'32.09"E
<i>Beauveria bassiana</i>	Heteroptera	Τατόι	38° 9'44.87"N	23°47'32.09"E
<i>Beauveria bassiana</i>	Coleoptera	Τατόι	38° 9'44.87"N	23°47'32.09"E
<i>Beauveria bassiana</i>	Dermaptera	Τατόι	38° 9'44.87"N	23°47'32.09"E
<i>Beauveria bassiana</i>	Hymenoptera (ant)	Τατόι	38° 9'44.87"N	23°47'32.09"E
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>	Γούβες (Κρήτη)	35° 19' 28,7" N	25° 18' 30,9" E
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>	Ελληνικό (Αττική)	37° 53'15"N	23°43'42.24"E
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Coccinella septempunctata</i>	Κιθαιρών	38° 11'3.12"N	23°14'58.2"E
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Zabrus tenebrioides</i>	Θήβα	38°21'6.03"N	23° 9'59.76"E
<i>Hirsutella thompsonii</i>	<i>Abacarus sp.</i> (Eriophyidae)	Κηφισιά	38° 4'52.85"N	23°48'44.98"E
<i>Lecanicillium cf. psalliotae</i>	Collembola	Τατόι	38° 9'44.87"N	23°47'32.09"E
<i>Metarhizium anisopliae</i>	<i>Rhynchophorus ferrugineus</i>	Γούβες (Κρήτη)	35° 19' 28.7" N	25° 18' 30.9" E
<i>Syspastospora parasitica</i>	mycoparasite of <i>B. bassiana</i>	Κιθαιρών	38° 11'3.12"N	23°14'58.2"E



Εικόνα 3.1.1: *Aphis fabae* προσβεβλημένη από *Pandora neiarhidis*.



Εικόνα 3.1.2: Μικροσκοπική παρατήρηση του *Pandora neiarhidis*.



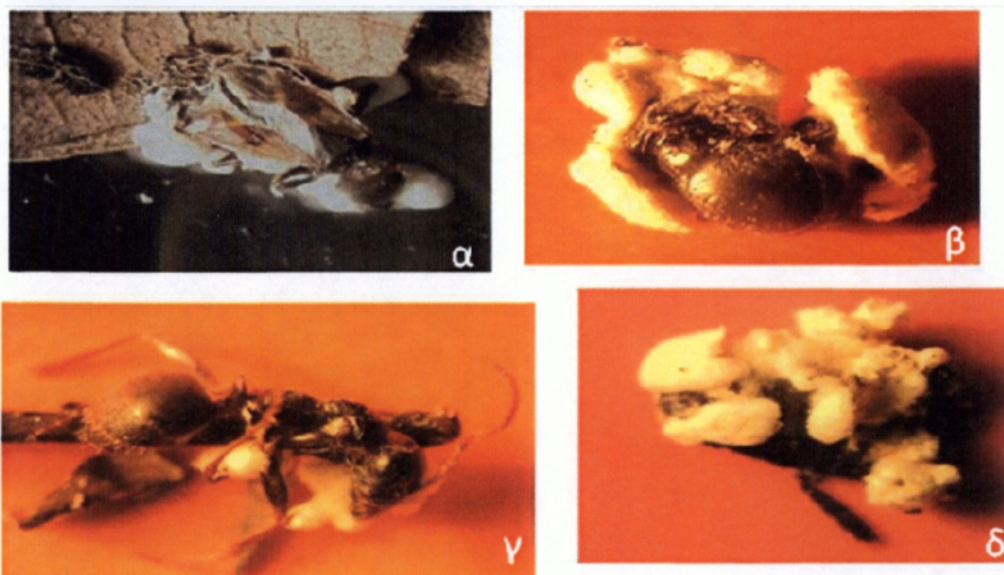
Εικόνα 3.1.3: *Hirsutella thompsonii* σε *Eriophyid* mite



Εικόνα 3.1.4: Δίπτερα προσβεβλημένα από *Entomophthora variabilis* (αριστερά) και το *Malacosoma neustria* προσβεβλημένο από *Beauveria bassiana* (δεξιά)



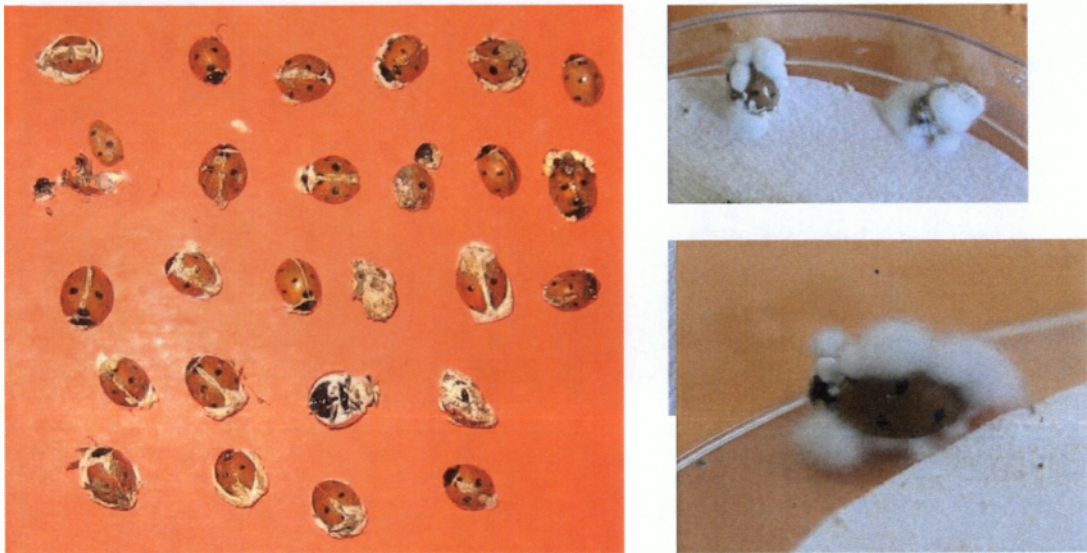
Εικόνα 3.1.5: *Beauveria bassiana* σε *Zabrus tenebrioides*



Εικόνα 3.1.6: *Beauveria bassiana* σε α)Heteroptera, β)Coleoptera, γ)Dermaptera δ)Hymenoptera αντίστοιχα.



Εικόνα 3.1.7: *Beauveria bassiana* σε *Rhynchophorus ferrugineus*.



Εικόνα 3.1.8: *Beauveria bassiana* σε *Coccinella septempunctata*.

Πίνακας 3.1.2. Αποτελέσματα της επισκόπησης με τη χρήση ως δολώματος του *Galleria mellonella*, στο Εργαστήριο στην Ελλάδα

Νομός	Περιοχή	Σημείο	% προν. <i>Galleria</i> με <i>B.bassiana</i>	Παρατηρήσεις	N	E
Αττική	Αγ. Στέφανος	A	33,3%	Λάχανο -Βιολ. -υπαίθριο	38°10'17.54"	23°52'16.76"
Αττική	Μαραθών	B	28,6%	Λάχανο - υπαίθριο	38° 8'35.55"	23°58'33.46"
Αττική	Μαραθών	C	34,8%	Λάχανο -Βιολ. -υπαίθριο	38° 8'33.65"	23°58'28.64"
Αττική	Μαραθών	D	36,4%	Μπρόκολο -Βιολ. - υπαίθριο	38° 8'33.65"	23°58'28.64"
Αττική	Μαραθών	E	40,0%	Αγροναπ. -Βιολ. - υπαίθριο	38° 8'33.65"	23°58'28.64"
Αττική	Αγ. Στέφανος	F	37,5%	Δασικό έδαφος	38°10'18.38"	23°52'17.23"
Αττική	Αγ. Στέφανος	G	48,0%	Δασικό έδαφος - χούμος	38°10'18.38"	23°52'17.23"
Αττική	Αγ. Στέφανος	H	42,9%	Λάχανο -Βιολ. -υπαίθριο	38°10'20.94"	23°52'9.52"
Αττική	Αγ. Στέφανος	FRAGMA	30,0%	Δασικό έδαφος	38° 9'31.61"	23°53'41.05"
Αττική	Καλέντζι	Olives	15,0%	Ελιά	38°10'22.08"	23°54'46.46"
Αττική	Καλέντζι	Forest	47,5%	Δασικό έδαφος	38°10'18.11"	23°54'44.39"
Αττική	Αμαρούσιον	IGE-1	29,2%	Δασικό έδαφος	38° 3'38.69"	23°48'57.54"
Αττική	Αμαρούσιον	IGE-2	13,0%	Δασικό έδαφος	38° 3'38.69"	23°48'57.54"
Αττική	Αμαρούσιον	IGE-3	57,1%	Δασικό έδαφος - χούμος	38° 3'38.69"	23°48'57.54"
Αττική	Αμαρούσιον	IGE-4	39,1%	Δασικό έδαφος - χούμος	38° 3'38.69"	23°48'57.54"
Αττική	Αμαρούσιον	IGE-5	41,7%	Δασικό έδαφος	38° 3'38.69"	23°48'57.54"
Αττική	Αμαρούσιον	IGE-6	28,6%	Δασικό έδαφος	38° 3'38.69"	23°48'57.54"
Αττική	Αμαρούσιον	IGE-7	64,3%	Δασικό έδαφος	38° 3'38.69"	23°48'57.54"
Αττική	Κηφισιά	BPI	12,5%	Μ.Φ.Ι - Κήπος	38° 4'52.85"	23°48'44.98"
Αττική	Κηφισιά	Mustang	33,3%	Δασικό έδαφος	38° 4'31.06"	23°50'4.36"
Αττική	Ντράφι	Drafi	36,4%	Δασικό έδαφος	38° 2'19.75"	23°55'22.14"
Αττική	Πικερμι	Pikermi	40,0%	Αμπέλι - Οργανικό	38° 0'22.77"	23°55'41.44"
Βοιωτία	Θήβα	INS	22,5%	Λάχ. -Βιολ. -Θερμοκήπ.	38°21'6.03"	23° 9'59.76"
Βοιωτία	Θήβα	OUT	37,5%	Κρεμμύδι -Βιολ. - υπαίθριο	38°21'6.03"	23° 9'59.76"
Αχαΐα	Πάτρα	P1	10,0%	Αστικός κήπος	38°15'10.11"	21°45'33.71"
Αρκαδία	Λαγκάδια	L2	52,9%	Δασικό έδαφος	37°41'2.69"	22° 2'15.84"
Αρκαδία	Λαγκάδια	L3	29,4%	Δασικό έδαφος	37°40'38.91"	22° 2'5.06"
Αρκαδία	Δημητσάνα	D1	33,3%	Δασικό έδαφος	37°38'10.11"	22° 5'23.12"
Αρκαδία	Κάγια	K1	18,2%	Δασικό έδαφος	37°43'31.02"	22°14'10.80"
Δωδ/νησα	Ρόδος	R1	25,0%	Δασικό έδαφος	36° 5'31.50"	28° 1'46.84"
Λασιίθι	Βαϊ	V1	16,7%	Φοινικόδασος	35°15'18.22"	26°15'40.48"
Λασιίθι	Βαϊ	V2	25,0%	Φοινικόδασος	35°15'18.22"	26°15'40.48"

Πίνακας 3.1.3: Αποτελέσματα της επισκόπησης με τη χρήση ως δολώματος του *Galleria mellonella*, στο Εργαστήριο στην Πολωνία

Παράγοντας Θνησιμότητας	Περιοχή								
	A	B	C	D	E	F	G	H	
Εντομο- παθογόνος Μύκητας	<i>B. bassiana</i>	20.0	53.3	35.7	14.2	50.0	23.0	56.7	86,2
	<i>M. anisopliae</i>	30.0	-	17.8	71.4	10.0	-	10.0	-
	<i>P. fumosoroseus</i>	3.3	-	-	-	-	-	3.3	-
	Σύνολο	53.3	53.3	53.5	85.6	60.0	23.0	70.0	86.2
Μύκητες με ανεξα- κρίβωτη εντομο- παθογόνο ικανότητα	<i>Acremonium</i> sp.	-	10.0	-	-	-	-	-	-
	<i>Aspergillus</i> sp.	6.7	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Fusarium</i> sp.	16.7	23.3	7.1	3.6	3.3	-	-	3,4
	<i>Mucor</i> sp.	3.3	-	3.6	-	-	-	-	-
	Μυκήλιο που δεν παρήγαγε σπόρια	10.0	6.7	3.6	3.6	3.3	1.0	16.7	-
Άλλα Αίτια	Νηματώδης	-	-	-	-	10.0	-	-	-
	Μη αναγνωρισμένα αίτια	10.0	6.7	32.1	7.1	23.4	1.0	13.3	7.0

*A – Λάχανο, Αγ. Στέφανος, Βιολογική καλλιέργεια, κοντά σε δάσος; B – Λάχανο, Μαραθών, Συμβατική καλλιέργεια ; C – Λάχανο, Μαραθών, Βιολογική καλλιέργεια; D – Μπρόκολο, Μαραθών, Βιολογική καλλιέργεια; E – Αγρανάπαυση, Μαραθών, Βιολογική καλλιέργεια F – Αγ. Στέφανος, δασικό έδαφος ; G – Αγ. Στέφανος, Πάνω τμήμα χόρτου Δάσους; H – Λάχανο, Αγ. Στέφανος,

Πίνακας 3.1.4: Απομόνωση εντομοπαθογόνων μυκήτων από διάφορα εδάφη με χρήση ημικλεκτικών υλικών, στο Εργαστήριο στην Πολωνία

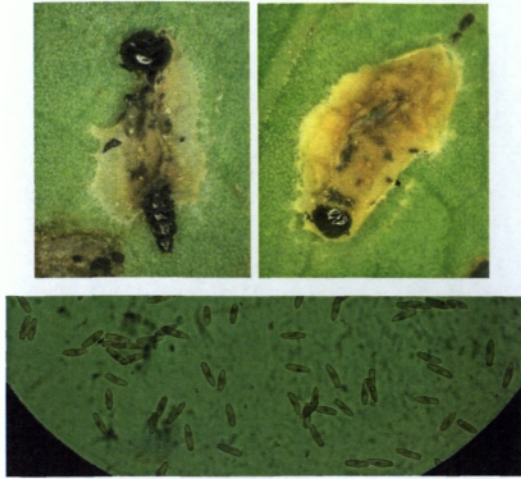
Σημείο Δειγματοληψίας	<i>B. bassiana</i> (CFU** x 10 ³ g ⁻¹)	<i>M. anisopliae</i> (CFU x 10 ³ g ⁻¹)	<i>P. fumosoroseus</i> (CFU x 10 ³ g ⁻¹)	<i>Conidiobolus</i> sp. (CFU x 10 ³ g ⁻¹)	Συνολικά (CFU x 10 ³ g ⁻¹)
A*	1.7	4.1	-	-	5.8
B	-	-	-	2.8	2.8
C	0.5	11.4	0.2	-	12.1
D	0.6	24.2	-	-	24.8
E	3.9	8.5	-	-	12.4
F	6.0	-	0.2	-	6.2
G	6.1	-	-	-	6.1
H	-	-	-	1.1	1.1

* A –Λάχανο, Αγ. Στέφανος, Βιολογική καλλιέργεια, κοντά σε δάσος; B –Λάχανο, Μαραθών, Συμβατική καλλιέργεια ; C – Λάχανο, Μαραθών, Βιολογική καλλιέργεια; D –Μπρόκολο, Μαραθών, Βιολογική καλλιέργεια; E – Αγρανάπαυση, Μαραθών, Βιολογική καλλιέργεια F – Αγ. Στέφανος, δασικό έδαφος ; G – Αγ. Στέφανος, Πάνω τμήμα χόρτου Δάσους; H – Λάχανο, Αγ. Στέφανος.

** colony forming units

Πίνακας 3.1.5: Εντομοπαθογόνοι Μύκητες που βρέθηκαν σε διάφορα αρθρόποδα στην Πολωνία.

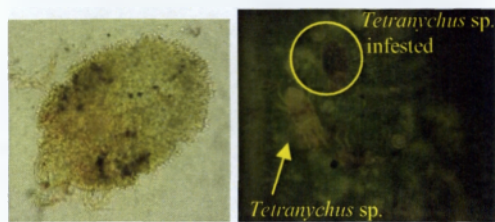
Εντομοπαθογόνος Μύκητας	Ξενιστής	Τοποθεσία
Entomophthorales		
<i>Entomophthora muscae</i>	Diptera	Białowieża
<i>Entomophthora planchoniana</i>	Aphids	Siedlce
<i>Neozygites floridana</i>	<i>Tetranychus urticae</i>	Siedlce
<i>Neozygites parvispora</i>	Thrips	Siedlce
<i>Pandora neoaphidis</i>	Aphids	Siedlce
<i>Zoophthora dipterigena</i>	Diptera	Siedlce
<i>Zoophthora giardii</i>	Orthoptera	Białowieża
<i>Zoophthora occidentalis</i>	Aphids	Białowieża
<i>Zoophthora cf. phalloides</i>	Aphids	Białowieża
<i>Zoophthora cf. phalloides</i>	Aphids	Białowieża
<i>Zoophthora sciarae</i>	Sciarid flies	Siedlce, Poznań
<i>Zoophthora sp</i>	<i>Gastrophysa viridula</i>	Siedlce
Hyphomycetales		
<i>Beauveria bassiana</i>	Curculionidae	Poznań
<i>Beauveria bassiana</i>	<i>Sitona lineatus</i>	Poznań
<i>Gibellula leipous</i>	Spiders	Białowieża
<i>Gibellula pulchra</i>	Spiders	Białowieża
<i>Hirsutella aphidis</i>	Aphids	Białowieża
<i>Hirsutella kirchneri</i>	<i>Abacarus hystrix</i>	Siedlce
<i>Hirsutella rostrata</i>	Coleoptera larvae	Siedlce
<i>Hirsutella thompsonii</i>	<i>Abacarus hystrix</i>	Siedlce
<i>Isaria farinosa</i>	Lepidoptera	Białowieża
<i>Isaria tenuipes</i>	Lepidoptera	Białowieża
<i>Lecanicillium cf. muscarium</i>	Spider	Białowieża
Clavicipitales		
<i>Cordyceps gracilis (Isaria dubia)</i>	Elateridae	Siedlce



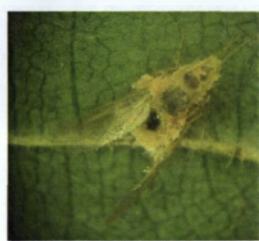
Εικόνα 3.1.9: *Zoophthora sp* on *Gastrophysa sp*



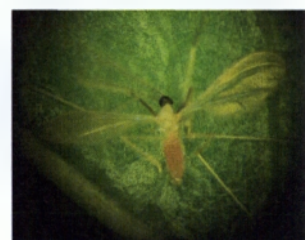
Εικόνα 3.1.10: *Tetranychus sp* infested by *Neozygites floridana*



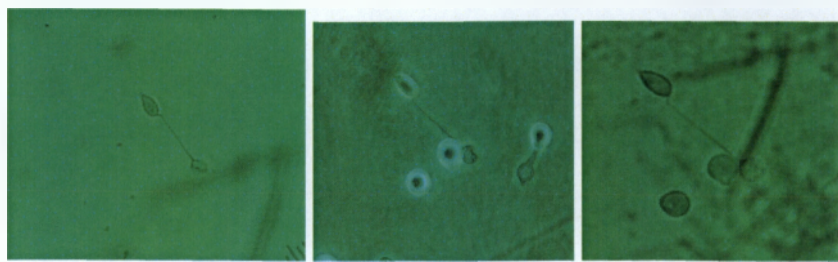
Εικόνα 3.1.11: *Orthoptera* infested by *Zoophthora*



Εικόνα 3.1.12: *Diptera* infested by *Zoophthora*



Εικόνα 3.1.13: *Diptera* infested by *Entomophthorales*



Εικόνα 3.1.14: *Capili* –*Conidia* of *Zoophthora sp*



Εικόνα 3.1.15: Aphids infested by *Entomophthora planchoniana*



Εικόνα 3.1.16: Aphid infested by *Hirsutella aphidis*



Εικόνα 3.1.17: Aphid by *Pandora neoaphidis*



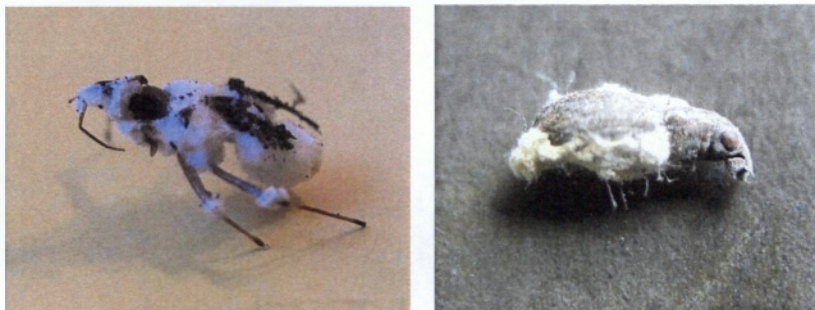
Εικόνα 3.1.18: *Paecilomyces tenuipes* lepidopterous pupae



Εικόνα 3.1.19: *Gibelulla* on spider



Εικόνα 3.1.20: *Elateridae* infested by *Isaria nipponica*



Εικόνα 3.1.21: *Curculionidae* infested (δεξιά), *Sitona lineatus* infested by *Beauveria bassiana*

3.2. Μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη

Τα αποτελέσματα που αφορούν στη μελέτη της επίδρασης της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη των εντομοπαθογόνων μυκήτων *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces tenuipes*, *Paecilomyces fumosoroseus* και *Metarhizium anisopliae*, παρουσιάζονται στους πίνακες και τα διαγράμματα που ακολουθούν.

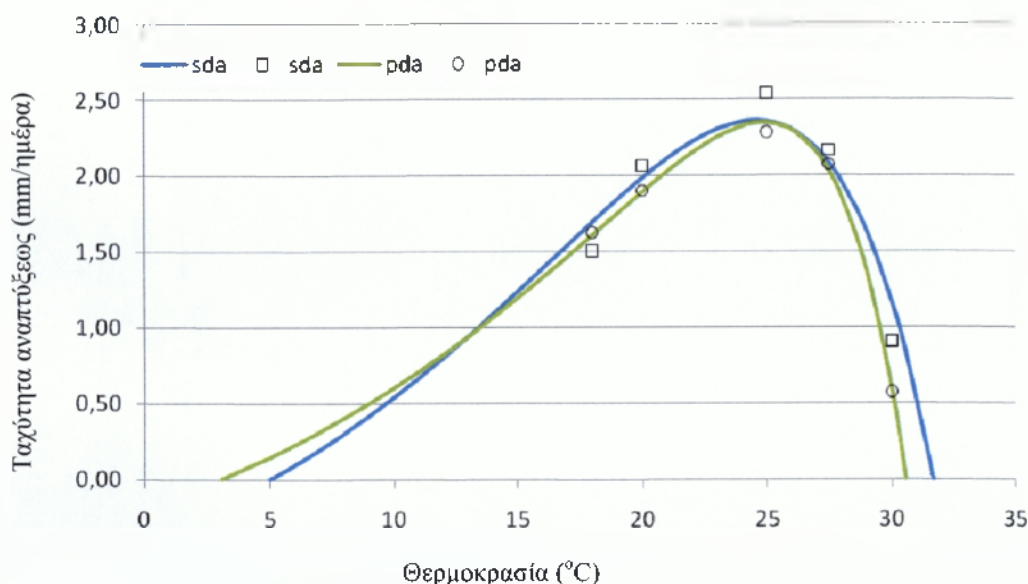
Η μέγιστη ταχύτητα αναπτύξεως παρατηρήθηκε στους 25°C για το *Paecilomyces tenuipes* (2.5 και 2.3mm/ημέρα επί SDA και PDA αντίστοιχα) και το *Beauveria bassiana* που απομονώθηκε από το έδαφος (1.2 και 1.5mm/ημέρα επί SDA και PDA αντίστοιχα). Για το *Beauveria bassiana* που απομονώθηκε από *Malacosoma neustria* η μέγιστη ταχύτητα αναπτύξεως παρατηρήθηκε στους 25°C επί PDA (1.4mm/ημέρα) και στους 25°C και 27.5°C επί SDA (1.0mm/ημέρα).

Για τα *Paecilomyces fumosoroseus* και *Metarhizium anisopliae* η μέγιστη ταχύτητα αναπτύξεως παρατηρήθηκε στους 27.5°C (1.5 και 1.3mm/ημέρα επί SDA και PDA αντίστοιχα για το *P. fumosoroseus* που απομονώθηκε από το έδαφος, 1.6 και 1.7mm/ημέρα επί SDA και PDA αντίστοιχα για το *P. fumosoroseus* που απομονώθηκε από *Pieris brassicae*, 2.2 και 2.7mm/ημέρα επί SDA και PDA αντίστοιχα για το *M. anisopliae* που απομονώθηκε από *M. melolontha* και 3.2 και 3.3mm/ημέρα επί SDA και PDA αντίστοιχα για το *M. anisopliae* που απομονώθηκε από *M. melolontha*). Οι συγκρίσεις των μέσων όρων με τη μέθοδο Tukey – Kramer παρουσιάζονται στο Παράρτημα.

Από την εξίσωση Lactin υπολογίστηκαν τα θερμοκρασιακά όρια και ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης. Το κατώτερο θερμοκρασιακό όριο κυμάνθηκε για τα *B. bassiana*, *P. tenuipes*, *P. fumosoroseus* και *M. anisopliae* αντίστοιχα από 6,9-11,8°C, 3,1-5,0°C, 6,0-7,5°C και 3,7-9,3°C. Το ανώτερο θερμοκρασιακό όριο υπολογίστηκε αντίστοιχα 32,3-33,2°C, 30,5-31,7°C, 32,8-34,0°C και 33,4-33,9°C. Η ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης κυμάνθηκε αντίστοιχα 25,0-26,3°C, 24,6-24,9°C, 25,5-25,6°C και 25,6-26,9°C.

Πίνακας 3.2.1: Ταχύτητα αναπτύξεως (mm/ημέρα) του εντομοπαθογόνου μύκητα *Raecilomyces tenuipes*

Θερμοκρασία (°C)	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	SDA	PDA
18	1,5053a ± 0,1576	1,6250a ± 0,1391
20	2,0667a ± 0,0422	1,9000a ± 0,0309
25	2,5417a ± 0,0768	2,2857a ± 0,2857
27.5	2,1650a ± 0,2249	2,0714a ± 0,1452
30	0,8889a ± 0,1405	0,5741a ± 0,0310



Εικόνα 3.2.1: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Raecilomyces tenuipes*

Πίνακας 3.2.2: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Raecilomyces tenuipes*: Τιμές των παραμέτρων της εξίσωσης Lactin

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left[\frac{\rho \cdot T_m \cdot (T_m - temp)}{\Delta} \right]} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ και λ : παράμετροι

Sabouraud Dextrose Agar				Potato Dextrose Agar			
ρ	0,1073 ± 0,0151	t_{min}	5,0	ρ	0,0589 ± 0,0012	t_{min}	3,1
T_m	32,6943 ± 0,0002	t_{max}	31,7	T_m	31,3847 ± 0,1070	t_{max}	30,5
Δ	7,0539 ± 0,0748	t_{opt}	24,6	Δ	3,1215 ± 0,2269	t_{opt}	24,9
λ	-1,0490 ± 0,0001			λ	-1,1962 ± 0,0001		
R^2	0,8679			R^2	0,9967		
RSS	0,1510 × 10 ⁻⁴			RSS	0,0060 × 10 ⁻⁴		

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left[\frac{\rho \cdot T_m \cdot (T_m - temp)}{\Delta} \right]} + \lambda$$

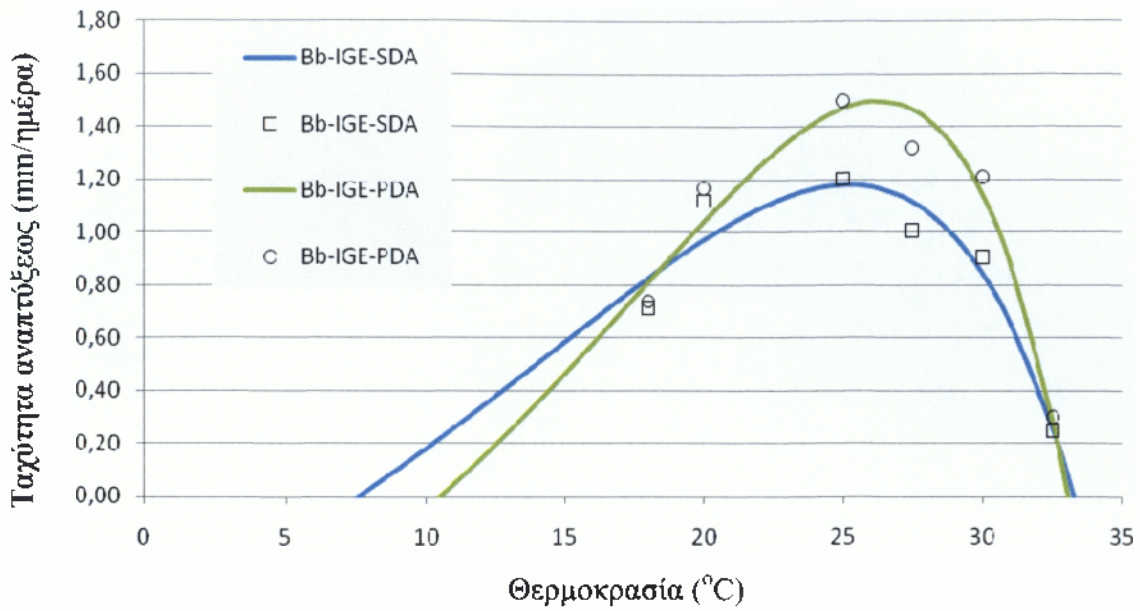
y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ και λ : παράμετροι

Πίνακας 3.2.3: Ταχύτητα αναπτύξεως (mm/ημέρα) του εντομοπαθογόνου μύκητα *Beauveria bassiana* (απομόνωση από το έδαφος)

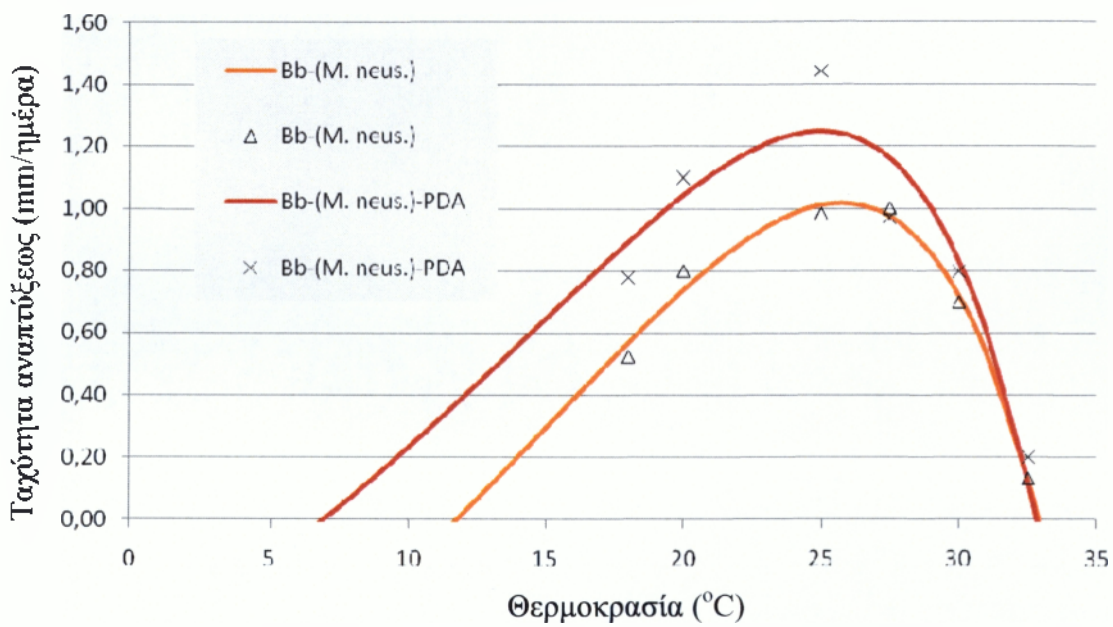
Θερμοκρασία (°C)	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	SDA	PDA
18	0,7143 ± 0,0508	0,7381 ± 0,0398
20	1,1200 ± 0,1157	1,1695 ± 0,1108
25	1,2045 ± 0,1232	1,5000 ± 0,2236
27,5	1,0080 ± 0,1196	1,3214 ± 0,1493
30	0,9074 ± 0,0310	1,2100 ± 0,0789
32,5	0,2499 ± 0,0304	0,3000 ± 0,0365

Πίνακας 3.2.4: Ταχύτητα αναπτύξεως (mm/ημέρα) του εντομοπαθογόνου μύκητα *Beauveria bassiana* (απομόνωση από *Malacosoma neustria*)

Θερμοκρασία (°C)	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	SDA	PDA
18	0,5250 ± 0,0303	0,7800 ± 0,0792
20	0,8000 ± 0,0365	1,1000 ± 0,0365
25	0,9826 ± 0,0759	1,4433 ± 0,1647
27,5	1,0000 ± 0,0365	0,9708 ± 0,1529
30	0,7000 ± 0,0690	0,8000 ± 0,0502
32,5	0,1333 ± 0,0211	0,2000 ± 0,0365



Εικόνα 3.2.2: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Beauveria bassiana* (απομόνωση από το έδαφος)



Εικόνα 3.2.3: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Beauveria bassiana* (απομόνωση από *Malacosoma neustria*)

Πίνακας 3.2.5: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Beauveria bassiana* (απομόνωση από το έδαφος). Τιμές των παραμέτρων της εξίσωσης Lactin

$$y = e^{\rho \cdot \text{temp}} - e^{\left(\rho \cdot T_m \cdot \frac{T_m - \text{temp}}{\Delta} \right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, temp : θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m, ρ, Δ και λ : παράμετροι

Sabouraud Dextrose Agar			Potato Dextrose Agar		
ρ	$0,0719 \pm 0,0233$	t_{min} 7,6	ρ	$0,1073 \pm 0,0016$	t_{min} 10,5
T_m	$35,8219 \pm 0,6813$	t_{max} 33,2	T_m	$34,7829 \pm 0,1755$	t_{max} 33,1
Δ	$8,3054 \pm 0,7504$	t_{opt} 25,2	Δ	$7,7994 \pm 0,0001$	t_{opt} 26,3
λ	$-1,2841 \pm 0,0001$		λ	$-1,2301 \pm 0,0001$	
R^2	0,9161		R^2	0,9520	
RSS	$0,0506 \times 10^{-4}$		RSS	$0,0479 \times 10^{-4}$	

$$y = e^{\rho \cdot \text{temp}} - e^{\left(\rho \cdot T_m \cdot \frac{T_m - \text{temp}}{\Delta} \right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, temp : θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m, ρ, Δ και λ : παράμετροι

Πίνακας 3.2.6: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Beauveria bassiana* (απομόνωση από *Malacosoma neustria*). Τιμές των παραμέτρων της εξίσωσης Lactin

$$y = e^{\rho \cdot \text{temp}} - e^{\left(\rho \cdot T_m \cdot \frac{T_m - \text{temp}}{\Delta} \right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, temp : θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m, ρ, Δ και λ : παράμετροι

Sabouraud Dextrose Agar			Potato Dextrose Agar		
ρ	$0,0714 \pm 0,0061$	t_{min} 11,8	ρ	$0,0588 \pm 0,0214$	t_{min} 6,9
T_m	$36,1257 \pm 0,0001$	t_{max} 32,9	T_m	$35,2754 \pm 0,0001$	t_{max} 32,3
Δ	$7,9276 \pm 0,3418$	t_{opt} 25,7	Δ	$6,6973 \pm 2,5431$	t_{opt} 25,0
λ	$-1,7068 \pm 0,0001$		λ	$-1,3886 \pm 0,0001$	
R^2	0,9858		R^2	0,8869	
RSS	$0,0076 \times 10^{-4}$		RSS	$0,0981 \times 10^{-4}$	

$$y = e^{\rho \cdot \text{temp}} - e^{\left(\rho \cdot T_m \cdot \frac{T_m - \text{temp}}{\Delta} \right)} + \lambda$$

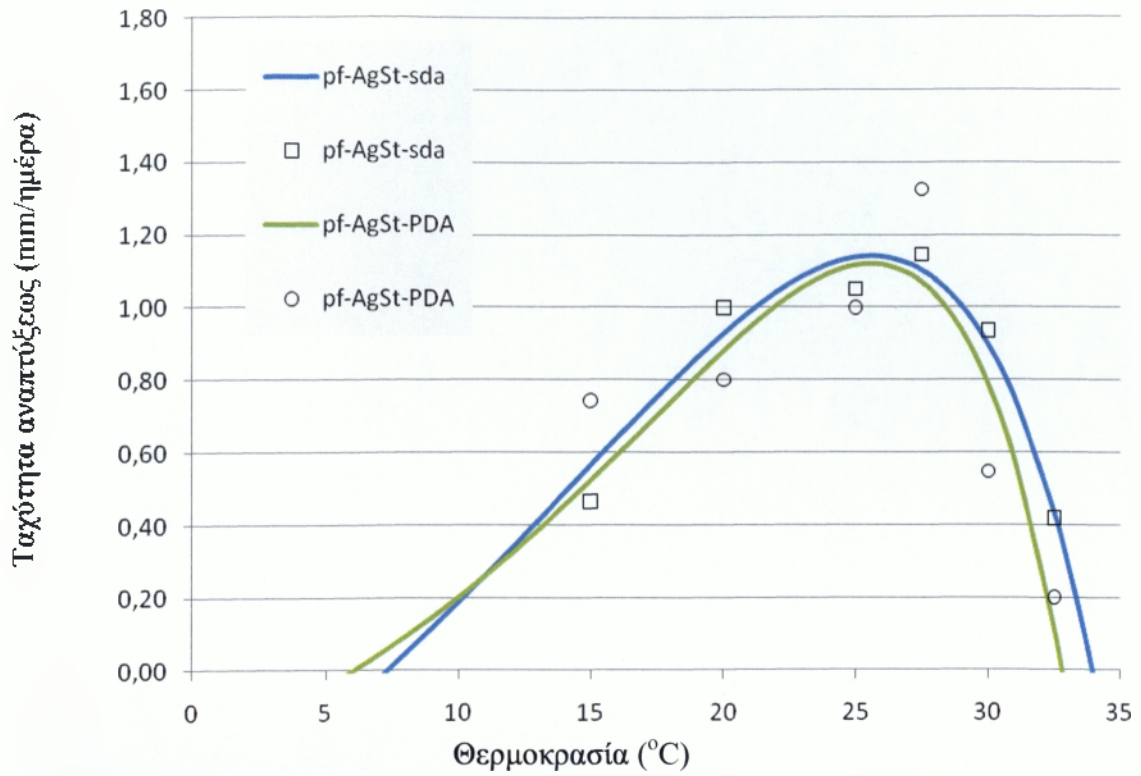
y : ταχύτητα αναπτύξεως, temp : θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m, ρ, Δ και λ : παράμετροι

Πίνακας 3.2.7: Ταχύτητα αναπτύξεως (mm/ημέρα) του εντομοπαθογόνου μύκητα *Paecilomyces fumosoroseus* (απομόνωση από το έδαφος)

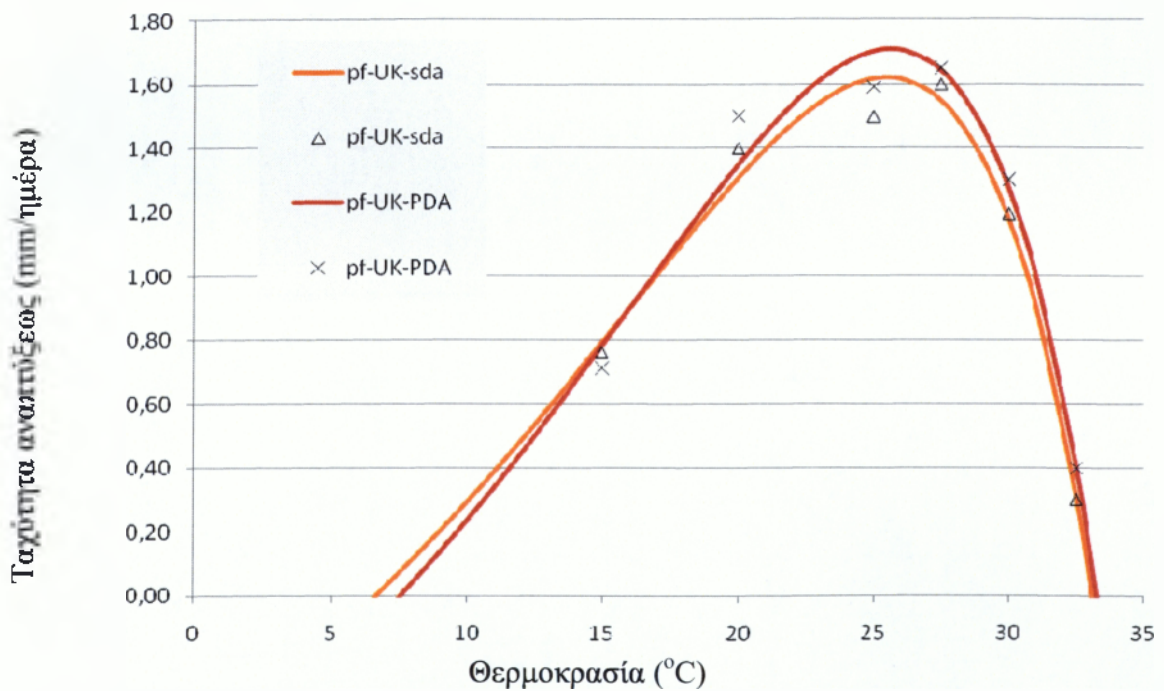
Θερμοκρασία (°C)	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	SDA	PDA
15	0,4650 ± 0,0157	0,7438 ± 0,0747
20	1,0000 ± 0,0258	1,0000 ± 0,0516
25	1,0500 ± 0,0408	1,0000 ± 0,0516
27.5	1,1456 ± 0,0788	1,3263 ± 0,1630
30	0,9366 ± 0,0692	0,5479 ± 0,0434
32,5	0,4197 ± 0,0312	0,2000 ± 0,0365

Πίνακας 3.2.8: Ταχύτητα αναπτύξεως (mm/ημέρα) του εντομοπαθογόνου μύκητα *Paecilomyces fumosoroseus* (απομόνωση από *Pieris brassicae*)

Θερμοκρασία (°C)	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	SDA	PDA
15	0,7667 ± 0,0919	0,7000 ± 0,0632
20	1,4000 ± 0,1065	1,5000 ± 0,1826
25	1,5000 ± 0,0365	1,5908 ± 0,2930
27.5	1,6000 ± 0,1653	1,6500 ± 0,1727
30	1,1952 ± 0,2901	1,3000 ± 0,1095
32,5	0,3000 ± 0,0365	0,4000 ± 0,0365



Εικόνα 3.2.4: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Paecilomyces fumosoroseus* (απομόνωση από το έδαφος).



Εικόνα 3.2.5: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Paecilomyces fumosoroseus* (απομόνωση από *Pieris brassicae*).

Πίνακας 3.2.9: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Raecilomyces fumosoroseus* (απομόνωση από έδαφος). Τιμές των παραμέτρων της εξίσωσης Lactin

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left(\rho \cdot T_m \cdot \frac{T_m - temp}{\Delta}\right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ και λ : παράμετροι

Sabouraud Dextrose Agar			Potato Dextrose Agar		
ρ	$0,0674 \pm 0,4537$	t_{min} 7,3	ρ	$0,1146 \pm 0,0001$	t_{min} 6
T_m	$36,6817 \pm 0,4537$	t_{max} 34	T_m	$33,9262 \pm 0,3120$	t_{max} 32,8
Δ	$8,4849 \pm 0,0001$	t_{opt} 25,6	Δ	$7,9584 \pm 0,0001$	t_{opt} 25,6
λ	$-1,2641 \pm 0,0001$		λ	$0,5283 \pm 0,0001$	
R^2	0,9509		R^2	0,7455	
RSS	$0,0265 \times 10^{-4}$		RSS	$0,1998 \times 10^{-4}$	

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left(\rho \cdot T_m \cdot \frac{T_m - temp}{\Delta}\right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ και λ : παράμετροι

Πίνακας 3.2.10: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Raecilomyces fumosoroseus* (απομόνωση από *Pieris brassicae*). Τιμές των παραμέτρων της εξίσωσης Lactin

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left(\rho \cdot T_m \cdot \frac{T_m - temp}{\Delta}\right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ και λ : παράμετροι

Sabouraud Dextrose Agar			Potato Dextrose Agar		
ρ	$0,0643 \pm 0,9215$	t_{min} 6,6	ρ	$0,0775 \pm 0,5785$	t_{min} 7,5
T_m	$35,0913 \pm 0,9214$	t_{max} 33	T_m	$3335,234 \pm 0,3749$	t_{max} 33,2
Δ	$35,0913 \pm 0,9214$	t_{opt} 25,5	Δ	$7,3338 \pm 0,5962$	t_{opt} 25,6
λ	$-1,4242 \pm 0,2860$		λ	$-1,4436 \pm 0,5785$	
R^2	0,9787		R^2	0,9692	
RSS	$0,0268 \times 10^{-4}$		RSS	$0,0411 \times 10^{-4}$	

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left(\rho \cdot T_m \cdot \frac{T_m - temp}{\Delta}\right)} + \lambda$$

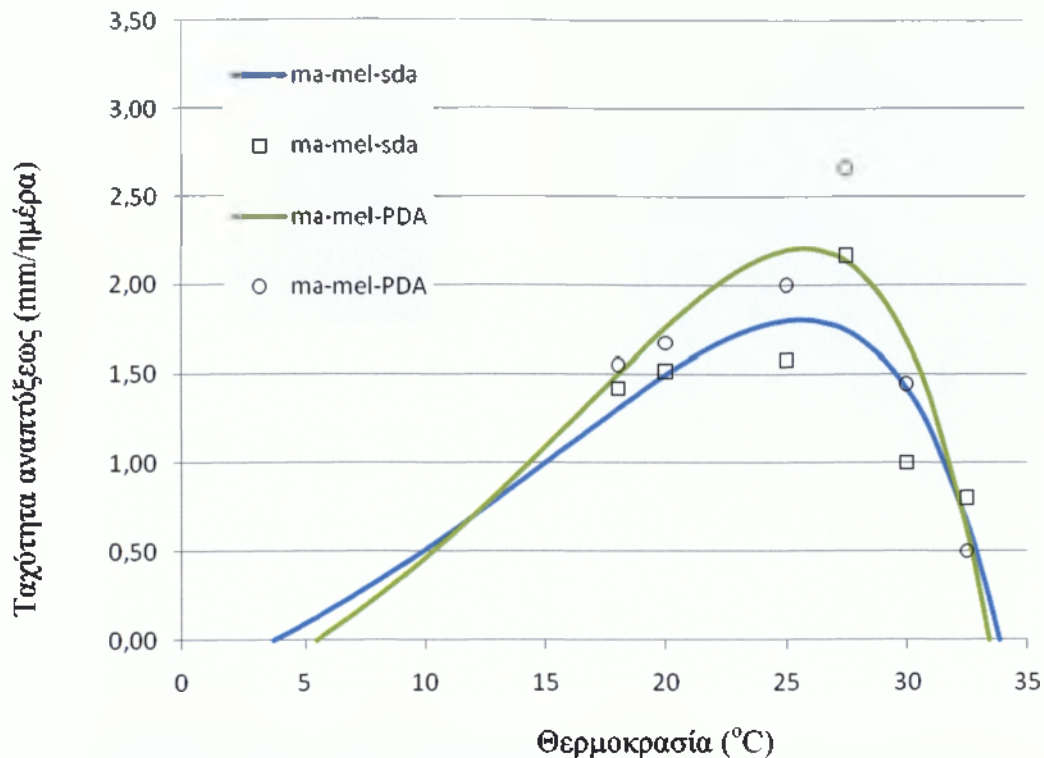
y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ και λ : παράμετροι

Πίνακας 3.2.11: Ταχύτητα αναπτύξεως (mm/ημέρα) του εντομοπαθογόνου μύκητα *Metarhizium anisopliae* (απομόνωση από *M. melolontha*)

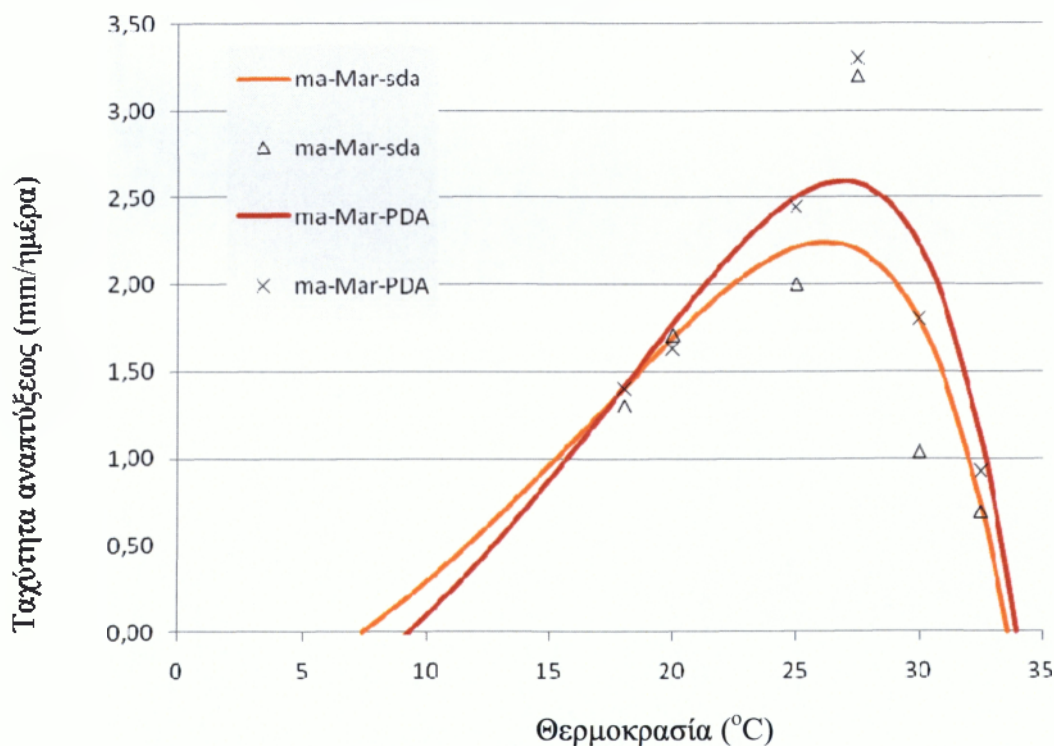
Θερμοκρασία (°C)	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	SDA	PDA
15	1,4156 ± 0,0378	1,5511 ± 0,0630
20	1,5183 ± 0,2374	1,6667 ± 0,1054
25	1,5800 ± 0,1696	2,0000 ± 0,0516
27.5	2,1667 ± 0,2277	2,6675 ± 0,4999
30	1,0000 ± 0,0516	1,4433 ± 0,1647
32,5	0,8000 ± 0,0577	0,5000 ± 0,0258

Πίνακας 3.2.12: Ταχύτητα αναπτύξεως (mm/ημέρα) του εντομοπαθογόνου μύκητα *Metarhizium anisopliae* (απομόνωση από το έδαφος)

Θερμοκρασία (°C)	Θρεπτικό υπόστρωμα	
	SDA	PDA
15	1,3000 ± 0,0577	1,4000 ± 0,0365
20	1,7073 ± 0,0663	1,6338 ± 0,0436
25	2,0000 ± 0,0516	2,4433 ± 0,1410
27.5	3,2000 ± 0,1880	3,3000 ± 0,0816
30	1,0350 ± 0,1298	1,8000 ± 0,0577
32,5	0,6900 ± 0,1132	0,9250 ± 0,0946



Εικόνα 3.2.6: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Metarhizium anisopliae* (απομόνωση από το έδαφος)



Εικόνα 3.2.7 Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Metarhizium anisopliae* (απομόνωση από *M. melolontha*)

Πίνακας 3.2.13: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Metarhizium anisopliae* (απομόνωση από *M. melolontha*): Τιμές των παραμέτρων της εξίσωσης Lactin

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left(\rho T_m \frac{T_m - temp}{\Delta} \right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ , και λ : παράμετροι

Sabouraud Dextrose Agar			Potato Dextrose Agar		
ρ	$0,0674 \pm 0,1449$	t_{min} 3,7	ρ	$0,0853 \pm 0,0035$	t_{min} 5,5
T_m	$35,5341 \pm 0,0001$	t_{max} 33,8	T_m	$34,8452 \pm 0,0001$	t_{max} 33,4
Δ	$6,9872 \pm 12,9342$	t_{opt} 25,6	Δ	$7,2 \pm 0,0001$	t_{opt} 25,7
λ	$-1,1698 \pm 0,0001$		λ	$-1,2641 \pm 0,0001$	
R^2	0,6273		R^2	0,8538	
RSS	$0,4339 \times 10^{-4}$		RSS	$0,4099 \times 10^{-4}$	

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left(\rho T_m \frac{T_m - temp}{\Delta} \right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ , και λ : παράμετροι

Πίνακας 3.2.14: Επίδραση της θερμοκρασίας στην ανάπτυξη του εντομοπαθογόνου μύκητα *Metarhizium anisopliae* (απομόνωση από το έδαφος): Τιμές των παραμέτρων της εξίσωσης Lactin

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left(\rho T_m \frac{T_m - temp}{\Delta} \right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ , και λ : παράμετροι

Sabouraud Dextrose Agar			Potato Dextrose Agar		
ρ	$0,0858 \pm 0,0731$	t_{min} 7,4	ρ	$0,0923 \pm 0,0378$	t_{min} 9,3
T_m	$35,1320 \pm 0,0001$	t_{max} 33,6	T_m	$35,4188 \pm 0,0001$	t_{max} 33,9
Δ	$7,0569 \pm 3,2299$	t_{opt} 26,2	Δ	$6,8791 \pm 1,4187$	t_{opt} 26,9
λ	$-1,4849 \pm 0,0001$		λ	$-1,7641 \pm 0,0001$	
R^2	0,6129		R^2	0,8252	
RSS	$1,6383 \times 10^{-4}$		RSS	$0,7580 \times 10^{-4}$	

$$y = e^{\rho \cdot temp} - e^{\left(\rho T_m \frac{T_m - temp}{\Delta} \right)} + \lambda$$

y : ταχύτητα αναπτύξεως, $temp$: θερμοκρασία, e : 2,718, και T_m , ρ , Δ , και λ : παράμετροι

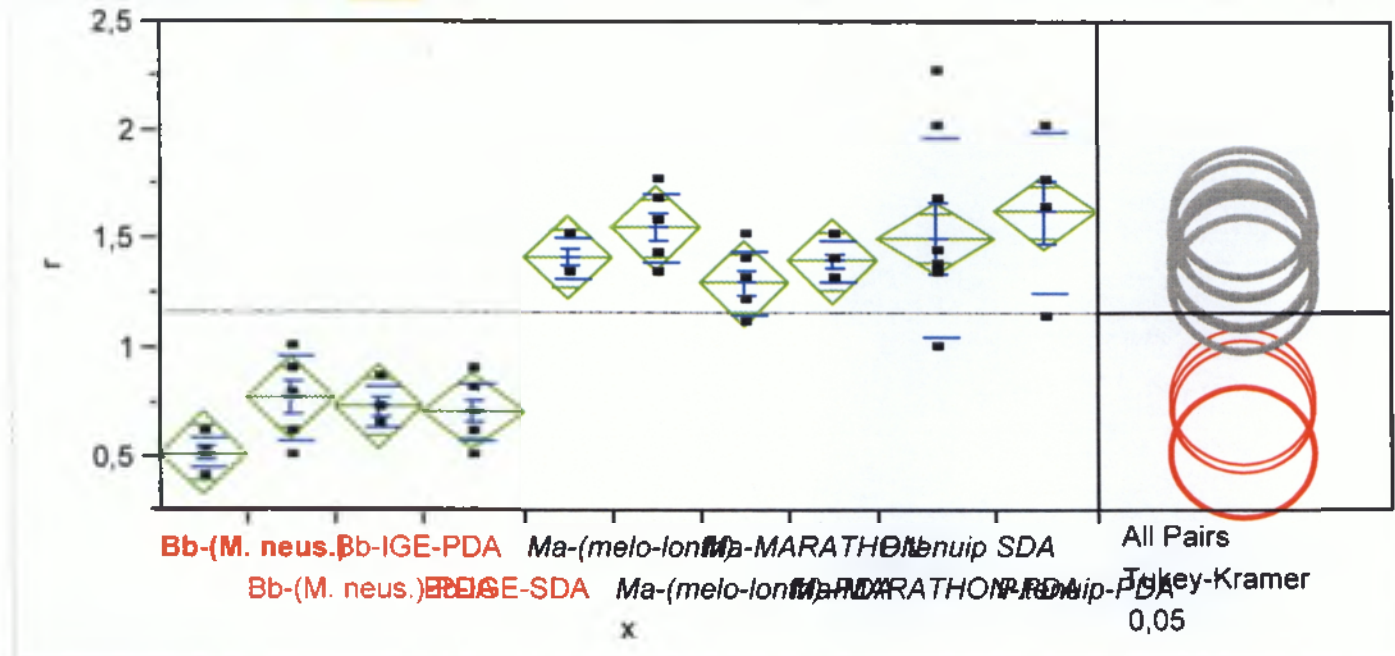
3.3 Συζήτηση

Από τα αποτελέσματα που αποκτήθηκαν από την παρούσα μελέτη διαπιστώθηκε ότι:

- Η εξίσωση Lactin έδωσε καλή προσαρμογή στα δεδομένα (R^2 από 0,6129 έως 0,9967) και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την περιγραφή της επίδρασης της θερμοκρασία στην ανάπτυξη των εντομοπαθογόνων μυκήτων και τον υπολογισμό των θερμοκρασιακών ορίων και της ιδανικής θερμοκρασίας ανάπτυξης.
- Η ταχύτητα ανάπτυξης στο Potato Dextrose Agar (PDA) ήταν συνήθως λίγο μεγαλύτερη σε σχέση με την αντίστοιχη στο Sabouraud Dextrose Agar (SDA) στους μύκητες *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* και *Paecilomyces fumosoroseus*. Το αντίστροφο παρατηρήθηκε στο μύκητα *P.tenuipes*.
- Τα *Paecilomyces tenuipes* και *Metarhizium anisopliae* είχαν υψηλότερες ταχύτητες αναπτύξεως. Οι μέγιστες ταχύτητες αναπτύξεως που παρατηρήθηκαν ήταν 2.3-2.5mm/ημέρα για το *P. tenuipes*, 2.2-3.3mm/ημέρα για το *M. anisopliae*, 1.0-1.5mm/ημέρα για το *Beauveria bassiana* και 1.3-1.7mm/ημέρα για το *Paecilomyces fumosoroseus*.
- Το *Paecilomyces tenuipes* (που ενδημεί σε χώρες της Κεντρικής και Βόρειας Ευρώπης) παρουσίασε τα μικρότερα θερμοκρασιακά όρια (κατώτερο θερμοκρασιακό όριο 3,1-5,0°C, ανώτερο θερμοκρασιακό όριο 30,5-31,7°C και ιδανική θερμοκρασία ανάπτυξης 24,6-24,9°C).
- Η μέγιστη ταχύτητα αναπτύξεως παρατηρήθηκε στο *Metarhizium anisopliae*, στην απομόνωση από το έδαφος του Μαραθώνα (3.2-3.3mm/ημέρα). Η αντίστοιχη ταχύτητα αναπτύξεως που παρατηρήθηκε στο *M. anisopliae* που απομονώθηκε από *M. melolontha* (στην Πολωνία) ήταν 2.2-2.7mm/ημέρα.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ
(Στατιστική επεξεργασία με τη μέθοδο Tukey – Kramer)

Oneway Analysis of r By x [18°C]



Oneway Anova

Summary of Fit

Rsquare	0,776215
Adj Rsquare	0,738918
Root Mean Square Error	0,230847
Mean of Response	1,166805
Observations (or Sum Wgts)	64

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
x	9	9,981426	1,10905	20,8115	<.0001
Error	54	2,877669	0,05329		
C. Total	63	12,859096			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	6	0,52500	0,09424	0,3361	0,7139
Bb-(M. neus.)-PDA	6	0,78000	0,09424	0,5911	0,9689
Bb-IGE-PDA	6	0,73810	0,09424	0,5492	0,9270
Bb-IGE-SDA	7	0,71429	0,08725	0,5394	0,8892
Ma-(melo-lonh)	6	1,41550	0,09424	1,2266	1,6044
Ma-(melo-lonh)-PDA	6	1,55112	0,09424	1,3622	1,7401
Ma-MARATHON	6	1,30000	0,09424	1,1111	1,4889
Ma-MARATHON-PDA	6	1,40000	0,09424	1,2111	1,5889
P.tenuip SDA	8	1,50528	0,08162	1,3416	1,6689
P.tenuip-PDA	7	1,62500	0,08725	1,4501	1,7999

Std Error uses a pooled estimate of error variance

Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	6	0,52500	0,074162	0,03028	0,4643	0,5857

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)-PDA	6	0,78000	0,193907	0,07916	0,6213	0,9387
Bb-IGE-PDA	6	0,73810	0,097551	0,03983	0,6583	0,8179
Bb-IGE-SDA	7	0,71429	0,134519	0,05084	0,6124	0,8162
Ma-(melo-lonth)	6	1,41550	0,092572	0,03779	1,3397	1,4913
Ma-(melo-lonth)-PDA	6	1,55112	0,154363	0,06302	1,4248	1,6775
Ma-MARATHON	6	1,30000	0,141421	0,05774	1,1842	1,4158
Ma-MARATHON-PDA	6	1,40000	0,089443	0,03651	1,3268	1,4732
P.tenuip SDA	8	1,50528	0,445859	0,15763	1,1892	1,8213
P.tenuip-PDA	7	1,62500	0,367990	0,13909	1,3461	1,9039

Means Comparisons

Dif=Mean[i]-Mean[j]	P.tenuip-PDA	Ma-(melo-lonth)-PDA	P.tenuip SDA	Ma-(melo-lonth)	Ma-MARATHON-PDA	Ma-MARATHON	Bb-(M. neus.)-PDA	Bb-IGE-PDA	Bb-IGE-SDA	Bb-(M. neus.)
P.tenuip-PDA	0,00000	0,07388	0,11972	0,20950	0,22500	0,32500	0,84500	0,88690	0,91071	1,10000
Ma-(melo-lonth)-PDA	-0,07388	0,00000	0,04584	0,13562	0,15112	0,25112	0,77112	0,81302	0,83683	1,02612
P.tenuip SDA	-0,11972	-0,04584	0,00000	0,08978	0,10528	0,20528	0,72528	0,76718	0,79099	0,98028
Ma-(melo-lonth)	-0,20950	-0,13562	-0,08978	0,00000	0,01550	0,11550	0,63550	0,67740	0,70121	0,89050
Ma-MARATHON-PDA	-0,22500	-0,15112	-0,10528	-0,01550	0,00000	0,10000	0,62000	0,66190	0,68571	0,87500
Ma-MARATHON	-0,32500	-0,25112	-0,20528	-0,11550	-0,10000	0,00000	0,52000	0,56190	0,58571	0,77500
Bb-(M. neus.)-PDA	-0,84500	-0,77112	-0,72528	-0,63550	-0,62000	-0,52000	0,00000	0,04190	0,06571	0,25500
Bb-IGE-PDA	-0,88690	-0,81302	-0,76718	-0,67740	-0,66190	-0,56190	-0,04190	0,00000	0,02381	0,21310
Bb-IGE-SDA	-0,91071	-0,83683	-0,79099	-0,70121	-0,68571	-0,58571	-0,06571	-0,02381	0,00000	0,18929
Bb-(M. neus.)	-1,10000	-1,02612	-0,98028	-0,89050	-0,87500	-0,77500	-0,25500	-0,21310	-0,18929	0,00000

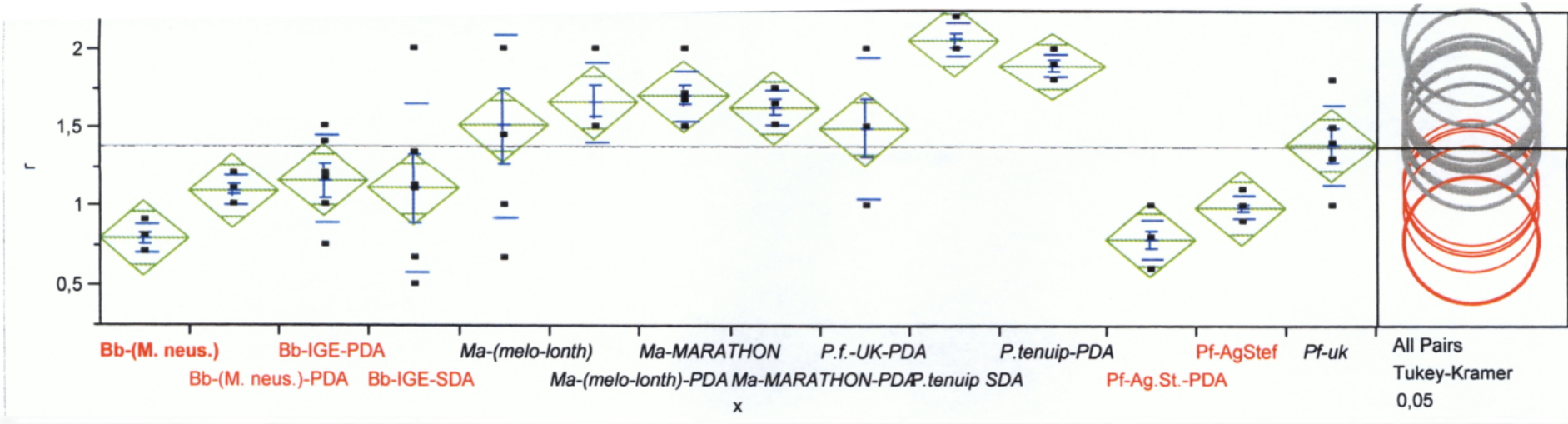
Alpha=
0,05

Comparisons for all pairs using Tukey-Kramer HSD

q*
3,29923

Abs(Dif)-LSD	P.tenuip-PDA	Ma-(melo-lonth)-PDA	P.tenuip SDA	Ma-(melo-lonth)	Ma-MARATHON-PDA	Ma-MARATHON	Bb-(M. neus.)-PDA	Bb-IGE-PDA	Bb-IGE-SDA	Bb-(M. neus.)
P.tenuip-PDA	-0,4071	-0,34984	-0,27445	-0,21422	-0,19872	-0,09872	0,421276	0,463176	0,503613	0,676276
Ma-(melo-lonth)-PDA	-0,34984	-0,43972	-0,36548	-0,3041	-0,2886	-0,1886	0,331397	0,373297	0,413107	0,586397
P.tenuip SDA	-0,27445	-0,36548	-0,38081	-0,32154	-0,30604	-0,20604	0,313956	0,355856	0,396816	0,568956
Ma-(melo-lonth)	-0,21422	-0,3041	-0,32154	-0,43972	-0,42422	-0,32422	0,195781	0,237681	0,277490	0,450781
Ma-MARATHON-PDA	-0,19872	-0,2886	-0,30604	-0,42422	-0,43972	-0,33972	0,180281	0,222181	0,261990	0,435281
Ma-MARATHON	-0,09872	-0,1886	-0,20604	-0,32422	-0,33972	-0,43972	0,080281	0,122181	0,161990	0,335281
Bb-(M. neus.)-PDA	0,421276	0,331397	0,313956	0,195781	0,180281	0,080281	-0,43972	-0,39782	-0,35801	-0,18472
Bb-IGE-PDA	0,463176	0,373297	0,355856	0,237681	0,222181	0,122181	-0,39782	-0,43972	-0,39991	-0,22662
Bb-IGE-SDA	0,503613	0,413107	0,396816	0,277490	0,261990	0,161990	-0,35801	-0,39991	-0,4071	-0,23444
Bb-(M. neus.)	0,676276	0,586397	0,568956	0,450781	0,435281	0,335281	-0,18472	-0,22662	-0,23444	-0,43972

Positive values show pairs of means that are significantly different.



Oneway Anova

Summary of Fit

Rsquare	0,690172
Adj Rsquare	0,633443
Root Mean Square Error	0,280947
Mean of Response	1,390512
Observations (or Sum Wgts)	85

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
x	13	12,483715	0,960286	12,1661	< 0001
Error	71	5,604124	0,078931		
C. Total	84	18,087839			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	6	0,80000	0,11470	0,5713	1,0287
Bb-(M. neus.)-PDA	6	1,10000	0,11470	0,8713	1,3287
Bb-IGE-PDA	6	1,16945	0,11470	0,9408	1,3981
Bb-IGE-SDA	6	1,12000	0,11470	0,8913	1,3487
Ma-(melo-lonth)	6	1,51833	0,11470	1,2896	1,7470
Ma-(melo-lonth)-PDA	6	1,66667	0,11470	1,4380	1,8954
Ma-MARATHON	6	1,70733	0,11470	1,4786	1,9360
Ma-MARATHON-PDA	6	1,63380	0,11470	1,4051	1,8625
P.f.-UK-PDA	6	1,50000	0,11470	1,2713	1,7287
P.tenuip SDA	6	2,06667	0,11470	1,8380	2,2954
P.tenuip-PDA	7	1,90000	0,10619	1,6883	2,1117
Pf-Ag.St.-PDA	6	0,80000	0,11470	0,5713	1,0287
Pf-AgStef	6	1,00000	0,11470	0,7713	1,2287
Pf-uk	6	1,40000	0,11470	1,1713	1,6287

Std Error uses a pooled estimate of error variance

Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	6	0,80000	0,089443	0,03651	0,7272	0,8728
Bb-(M. neus.)-PDA	6	1,10000	0,089443	0,03651	1,0272	1,1728
Bb-IGE-PDA	6	1,16945	0,271297	0,11076	0,9486	1,3903
Bb-IGE-SDA	6	1,12000	0,531070	0,21681	0,6877	1,5523
Ma-(melo-lonth)	6	1,51833	0,581461	0,23738	1,0450	1,9917
Ma-(melo-lonth)-PDA	6	1,66667	0,258199	0,10541	1,4565	1,8768

	6	1,00000	0,100013	0,04361	1,5469	1,7207
P.f.-UK-PDA	6	1,50000	0,447214	0,18257	1,1360	1,8640
P.tenuip SDA	6	2,06667	0,103280	0,04216	1,9826	2,1507
P.tenuip-PDA	7	1,90000	0,081650	0,03086	1,8385	1,9615
Pf-Ag.St.-PDA	6	0,80000	0,126491	0,05164	0,6970	0,9030
Pf-AgStef	6	1,00000	0,063246	0,02582	0,9485	1,0515
Pf-uk	6	1,40000	0,260768	0,10646	1,1877	1,6123

Means Comparisons

Dif=Mean(i)-Mean(j)	P.tenuip SDA	P.tenuip-PD A	Ma-MARATHO N	Ma-(melo-lonh)-PDA	Ma-MARATHON-PDA	Ma-(melo-lonh)-PDA	P.f.-UK-PD A	Pf-uk	Bb-IGE-PD A	Bb-IGE-SD A	Bb-(M. neus.)-PDA	Pf-AgStef	Pf-Ag.St.-PD A	Bb-(M. neus.)-PDA
P.tenuip SDA	0,00000	0,16667	0,35933	0,40000	0,43287	0,54833	0,56667	0,66667	0,89722	0,94667	0,96667	1,06667	1,26667	1,26667
P.tenuip-PDA	-0,16667	0,00000	0,19267	0,23333	0,26620	0,38167	0,40000	0,50000	0,73055	0,78000	0,80000	0,90000	1,10000	1,10000
Ma-MARATHON	-0,35933	-0,19267	0,00000	0,04067	0,07353	0,18900	0,20733	0,30733	0,53788	0,58733	0,60733	0,70733	0,90733	0,90733
Ma-(melo-lonh)-PDA	-0,40000	-0,23333	-0,04067	0,00000	0,03287	0,14833	0,16667	0,26667	0,49722	0,54667	0,56667	0,66667	0,86667	0,86667
Ma-MARATHON-PDA	-0,43287	-0,26620	-0,07353	-0,03287	0,00000	0,11547	0,13380	0,23380	0,46435	0,51380	0,53380	0,63380	0,83380	0,83380
Ma-(melo-lonh)	-0,54833	-0,38167	-0,18900	-0,14833	-0,11547	0,00000	0,01833	0,11833	0,34888	0,39833	0,41833	0,51833	0,71833	0,71833
P.f.-UK-PDA	-0,56667	-0,40000	-0,20733	-0,16667	-0,13380	-0,01833	0,00000	0,10000	0,33055	0,38000	0,40000	0,50000	0,70000	0,70000
Pf-uk	-0,66667	-0,50000	-0,30733	-0,26667	-0,23380	-0,11833	-0,10000	0,00000	0,23055	0,28000	0,30000	0,40000	0,60000	0,60000
Bb-IGE-PDA	-0,89722	-0,73055	-0,53788	-0,49722	-0,46435	-0,34888	-0,33055	-0,23055	0,00000	0,04945	0,06945	0,16945	0,36945	0,36945
Bb-IGE-SDA	-0,94667	-0,78000	-0,58733	-0,54667	-0,51380	-0,39833	-0,38000	-0,28000	-0,04945	0,00000	0,02000	0,12000	0,32000	0,32000
Bb-(M. neus.)-PDA	-0,96667	-0,80000	-0,60733	-0,56667	-0,53380	-0,41833	-0,40000	-0,30000	-0,06945	-0,02000	0,00000	0,10000	0,30000	0,30000
Pf-AgStef	-1,06667	-0,90000	-0,70733	-0,66667	-0,63380	-0,51833	-0,50000	-0,40000	-0,16945	-0,12000	-0,10000	0,00000	0,20000	0,20000
Pf-Ag.St.-PDA	-1,26667	-1,10000	-0,90733	-0,86667	-0,83380	-0,71833	-0,70000	-0,60000	-0,36945	-0,32000	-0,30000	-0,20000	0,00000	0,00000
Bb-(M. neus.)	-1,26667	-1,10000	-0,90733	-0,86667	-0,83380	-0,71833	-0,70000	-0,60000	-0,36945	-0,32000	-0,30000	-0,20000	0,00000	0,00000

Alpha=
0,05

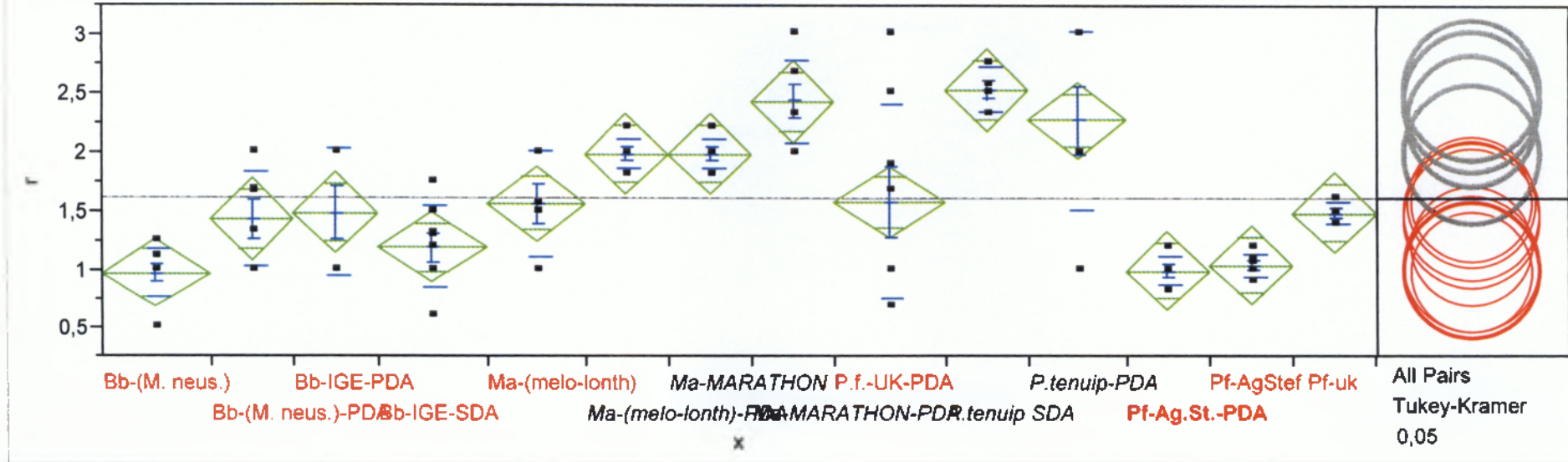
Comparisons for all pairs using Tukey-Kramer HSD

q*
3,47258

Abs(Dif)-LSD	P.tenuip SDA	P.tenuip-PD A	Ma-MARATHO N	Ma-(melo-lonh)-PDA	Ma-MARATHON-PDA	Ma-(melo-lonh)-PDA	P.f.-UK-PD A	Pf-uk	Bb-IGE-PD A	Bb-IGE-SD A	Bb-(M. neus.)-PDA	Pf-AgStef	Pf-Ag.St.-PD A	Bb-(M. neus.)-PDA
P.tenuip SDA	-0,56327	-0,37611	-0,20394	-0,16327	-0,1304	-0,01494	0,003398	0,103398	0,333948	0,383398	0,403398	0,503398	0,703398	0,703398
P.tenuip-PDA	-0,37611	-0,52149	-0,35011	-0,30945	-0,27658	-0,16111	-0,14278	-0,04278	0,187770	0,237220	0,257220	0,357220	0,557220	0,55722
Ma-MARATHON	-0,20394	-0,35011	-0,56327	-0,5226	-0,48974	-0,37427	-0,35594	-0,25594	-0,02539	0,024064	0,044064	0,144064	0,344064	0,34406
Ma-(melo-lonh)-PDA	-0,16327	-0,30945	-0,5226	-0,56327	-0,5304	-0,41494	-0,3966	-0,2966	-0,06605	-0,0166	0,003398	0,103398	0,303398	0,30339
Ma-MARATHON-PDA	-0,1304	-0,27658	-0,48974	-0,5304	-0,56327	-0,4478	-0,42947	-0,32947	-0,09892	-0,04947	-0,02947	0,070531	0,270531	0,27053
Ma-(melo-lonh)	-0,01494	-0,16111	-0,37427	-0,41494	-0,4478	-0,56327	-0,54494	-0,44494	-0,21439	-0,16494	-0,14494	-0,04494	0,155064	0,15506
P.f.-UK-PDA	0,003398	-0,14278	-0,35594	-0,3966	-0,42947	-0,54494	-0,56327	-0,46327	-0,23272	-0,18327	-0,16327	-0,06327	0,136731	0,13673
Pf-uk	0,103398	-0,04278	-0,25594	-0,2966	-0,32947	-0,44494	-0,46327	-0,56327	-0,33272	-0,28327	-0,26327	-0,16327	0,036731	0,03673
Bb-IGE-PDA	0,333948	0,187770	-0,02539	-0,06605	-0,09892	-0,21439	-0,23272	-0,33272	-0,56327	-0,51382	-0,49382	-0,39382	-0,19382	-0,1938
Bb-IGE-SDA	0,383398	0,237220	0,024064	-0,0166	-0,04947	-0,16494	-0,18327	-0,28327	-0,51382	-0,56327	-0,54327	-0,44327	-0,24327	-0,2432
Bb-(M. neus.)-PDA	0,403398	0,257220	0,044064	0,003398	-0,02947	-0,14494	-0,16327	-0,26327	-0,49382	-0,54327	-0,56327	-0,46327	-0,26327	-0,2632
Pf-AgStef	0,503398	0,357220	0,144064	0,103398	0,070531	-0,04494	-0,06327	-0,16327	-0,39382	-0,44327	-0,46327	-0,56327	-0,36327	-0,3632
Pf-Ag.St.-PDA	0,703398	0,557220	0,344064	0,303398	0,270531	0,155064	0,136731	0,036731	-0,19382	-0,24327	-0,26327	-0,36327	-0,56327	-0,5632
Bb-(M. neus.)	0,703398	0,557220	0,344064	0,303398	0,270531	0,155064	0,136731	0,036731	-0,19382	-0,24327	-0,26327	-0,36327	-0,56327	-0,5632

Positive values show pairs of means that are significantly different.

Oneway Analysis of r By x [25°C]



Oneway Anova Summary of Fit

Rsquare	0,623579
Adj Rsquare	0,560842
Root Mean Square Error	0,424193
Mean of Response	1,632096
Observations (or Sum Wgts)	92

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
x	13	23,250780	1,78852	9,9396	<.0001
Error	78	14,035264	0,17994		
C. Total	91	37,286044			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	8	0,98264	0,14997	0,6841	1,2812
Bb-(M. neus.)-PDA	6	1,44333	0,17318	1,0986	1,7881
Bb-IGE-PDA	6	1,50000	0,17318	1,1552	1,8448
Bb-IGE-SDA	8	1,20446	0,14997	0,9059	1,5030
Ma-(melo-lonh)	7	1,58000	0,16033	1,2608	1,8992
Ma-(melo-lonh)-PDA	6	2,00000	0,17318	1,6552	2,3448
Ma-MARATHON	6	2,00000	0,17318	1,6552	2,3448
Ma-MARATHON-PDA	6	2,44333	0,17318	2,0986	2,7881
P.f.-UK-PDA	8	1,59075	0,14997	1,2922	1,8893

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
P.tenuip SDA	6	2,54167	0,17318	2,1969	2,8864
P.tenuip-PDA	7	2,28571	0,16033	1,9665	2,6049
Pf-Ag.St.-PDA	6	1,00000	0,17318	0,6552	1,3448
Pf-AgStef	6	1,05000	0,17318	0,7052	1,3948
Pf-uk	6	1,50000	0,17318	1,1552	1,8448

Std Error uses a pooled estimate of error variance

Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	8	0,98264	0,214620	0,07588	0,8316	1,1337
Bb-(M. neus.)-PDA	6	1,44333	0,403518	0,16474	1,1154	1,7713
Bb-IGE-PDA	6	1,50000	0,547723	0,22361	1,0548	1,9452
Bb-IGE-SDA	8	1,20446	0,348401	0,12318	0,9592	1,4497
Ma-(melo-lonh)	7	1,58000	0,448850	0,16965	1,2423	1,9177
Ma-(melo-lonh)-PDA	6	2,00000	0,126491	0,05164	1,8972	2,1028
Ma-MARATHON	6	2,00000	0,126491	0,05164	1,8972	2,1028
Ma-MARATHON-PDA	6	2,44333	0,345350	0,14099	2,1626	2,7240
P.f.-UK-PDA	8	1,59075	0,828788	0,29302	1,0074	2,1741
P.tenuip SDA	6	2,54167	0,188193	0,07683	2,3887	2,6946
P.tenuip-PDA	7	2,28571	0,755929	0,28571	1,7169	2,8545
Pf-Ag.St.-PDA	6	1,00000	0,126491	0,05164	0,8972	1,1028
Pf-AgStef	6	1,05000	0,100000	0,04082	0,9687	1,1313
Pf-uk	6	1,50000	0,089443	0,03651	1,4273	1,5727

Means Comparisons

Dif=Mean[i]-Mean[j]	P.tenuip SDA	Ma-MARATHON-PDA	P.tenuip-PDA	Ma-(melo-lonh)-PDA	Ma-MARATHON	P.f.-UK-PDA	Ma-(melo-lonh)	Pf-uk	Bb-IGE-PDA	Bb-(M. neus.)-PDA	Bb-IGE-SDA	Pf-AgStef	Pf-Ag.St.-PDA	Bb-(M. neus.)
P.tenuip SDA	0,00000	0,09833	0,25595	0,54167	0,54167	0,95092	0,96167	1,04167	1,04167	1,09833	1,33720	1,49167	1,54167	1,55903
Ma-MARATHON-PDA	-0,09833	0,00000	0,15762	0,44333	0,44333	0,85258	0,86333	0,94333	0,94333	1,00000	1,23887	1,39333	1,44333	1,46070
P.tenuip-PDA	-0,25595	-0,15762	0,00000	0,28571	0,28571	0,69496	0,70571	0,78571	0,78571	0,84238	1,08125	1,23571	1,28571	1,30308
Ma-(melo-lonh)-PDA	-0,54167	-0,44333	-0,28571	0,00000	0,00000	0,40925	0,42000	0,50000	0,50000	0,55667	0,79554	0,95000	1,00000	1,01736
Ma-MARATHON	-0,54167	-0,44333	-0,28571	0,00000	0,00000	0,40925	0,42000	0,50000	0,50000	0,55667	0,79554	0,95000	1,00000	1,01736
P.f.-UK-PDA	-0,95092	-0,85258	-0,69496	-0,40925	-0,40925	0,00000	0,01075	0,09075	0,09075	0,14742	0,38629	0,54075	0,59075	0,60811
Ma-(melo-lonh)	-0,96167	-0,86333	-0,70571	-0,42000	-0,42000	-0,01075	0,00000	0,08000	0,08000	0,13667	0,37554	0,53000	0,58000	0,59736
Pf-uk	-1,04167	-0,94333	-0,78571	-0,50000	-0,50000	-0,09075	-0,08000	0,00000	0,00000	0,05667	0,29554	0,45000	0,50000	0,51736
Bb-IGE-PDA	-1,04167	-0,94333	-0,78571	-0,50000	-0,50000	-0,09075	-0,08000	0,00000	0,00000	0,05667	0,29554	0,45000	0,50000	0,51736
Bb-(M. neus.)-PDA	-1,09833	-1,00000	-0,84238	-0,55667	-0,55667	-0,14742	-0,13667	-0,05667	-0,05667	0,00000	0,23887	0,39333	0,44333	0,46070
Bb-IGE-SDA	-1,33720	-1,23887	-1,08125	-0,79554	-0,79554	-0,38629	-0,37554	-0,29554	-0,29554	-0,23887	0,00000	0,15446	0,20446	0,22182
Pf-AgStef	-1,49167	-1,39333	-1,23571	-0,95000	-0,95000	-0,54075	-0,53000	-0,45000	-0,45000	-0,39333	-0,15446	0,00000	0,05000	0,06736
Pf-Ag.St.-PDA	-1,54167	-1,44333	-1,28571	-1,00000	-1,00000	-0,59075	-0,58000	-0,50000	-0,50000	-0,44333	-0,20446	-0,05000	0,00000	0,01736
Bb-(M. neus.)	-1,55903	-1,46070	-1,30308	-1,01736	-1,01736	-0,60811	-0,59736	-0,51736	-0,51736	-0,46070	-0,22182	-0,06736	-0,01736	0,00000

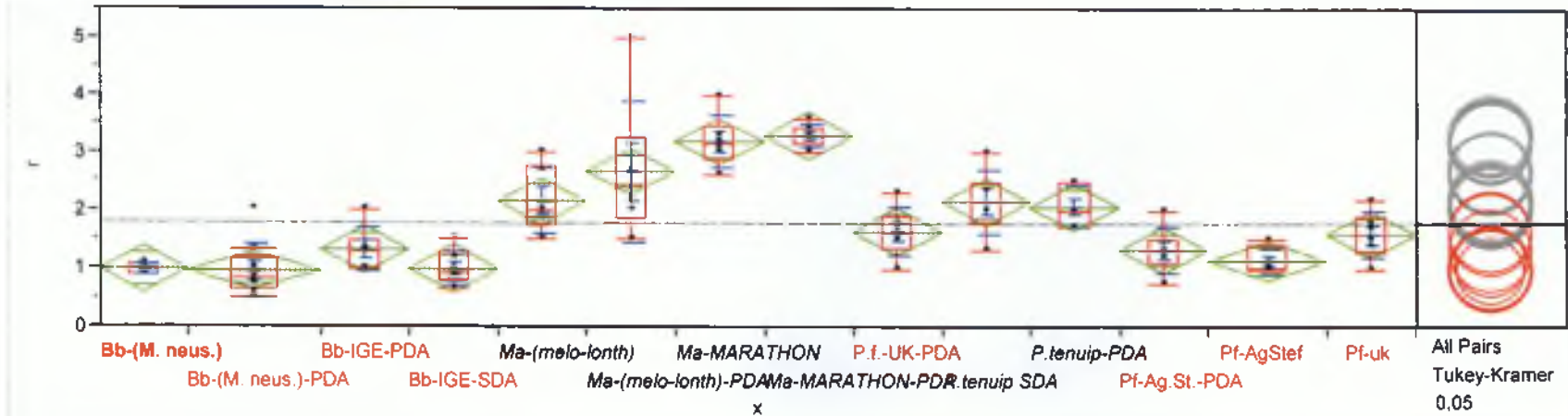
Alpha=0,05

Comparisons for all pairs using Tukey-Kramer HSD

q*
3,46180

Abs(Dif)-LSD	P.tenuip SDA	Ma-MARATHON -PDA	P.tenuip-PD A	Ma-(melo-lonth)- PDA	Ma-MARATHO N	P.f.-UK-PD A	Ma-(melo-lonth) h)	Pf-uk	Bb-IGE-PD A	Bb-(M. neus.)-PDA	Bb-IGE-SD A	Pf-AgStef	Pf-Ag.St.-PD A	Bb-(M neus.
P.tenuip SDA	-0,84782	-0,74949	-0,56103	-0,30615	-0,30615	0,157853	0,144686	0,193846	0,193846	0,250513	0,544141	0,643846	0,693846	0,765966
Ma-MARATHON -PDA	-0,74949	-0,84782	-0,65936	-0,40449	-0,40449	0,059520	0,046353	0,095513	0,095513	0,152180	0,445807	0,545513	0,595513	0,667632
P.tenuip-PDA	-0,56103	-0,65936	-0,78493	-0,53127	-0,53127	-0,06504	-0,07921	-0,03127	-0,03127	0,025401	0,321247	0,418734	0,468734	0,543072
Ma-(melo-lonth)- PDA	-0,30615	-0,40449	-0,53127	-0,84782	-0,84782	-0,38381	-0,39698	-0,34782	-0,34782	-0,29115	0,002474	0,102180	0,152180	0,224299
Ma-MARATHON	-0,30615	-0,40449	-0,53127	-0,84782	-0,84782	-0,38381	-0,39698	-0,34782	-0,34782	-0,29115	0,002474	0,102180	0,152180	0,224299
P.f.-UK-PDA	0,157853	0,059520	-0,06504	-0,38381	-0,38381	-0,73423	-0,74925	-0,70231	-0,70231	-0,64565	-0,34795	-0,25231	-0,20231	-0,12612
Ma-(melo-lonth)	0,144686	0,046353	-0,07921	-0,39698	-0,39698	-0,74925	-0,78493	-0,73698	-0,73698	-0,68031	-0,38447	-0,28698	-0,23698	-0,16264
Pf-uk	0,193846	0,095513	-0,03127	-0,34782	-0,34782	-0,70231	-0,73698	-0,84782	-0,84782	-0,79115	-0,49753	-0,39782	-0,34782	-0,2757
Bb-IGE-PDA	0,193846	0,095513	-0,03127	-0,34782	-0,34782	-0,70231	-0,73698	-0,84782	-0,84782	-0,79115	-0,49753	-0,39782	-0,34782	-0,2757
Bb-(M. neus.)-PDA	0,250513	0,152180	0,025401	-0,29115	-0,29115	-0,64565	-0,68031	-0,79115	-0,79115	-0,84782	-0,55419	-0,45449	-0,40449	-0,33237
Bb-IGE-SDA	0,544141	0,445807	0,321247	0,002474	0,002474	-0,34795	-0,38447	-0,49753	-0,49753	-0,55419	-0,73423	-0,6386	-0,5886	-0,51241
Pf-AgStef	0,643846	0,545513	0,418734	0,102180	0,102180	-0,25231	-0,28698	-0,39782	-0,39782	-0,45449	-0,6386	-0,84782	-0,79782	-0,7257
Pf-Ag.St.-PDA	0,693846	0,595513	0,468734	0,152180	0,152180	-0,20231	-0,23698	-0,34782	-0,34782	-0,40449	-0,5886	-0,79782	-0,84782	-0,7757
Bb-(M. neus.)	0,765966	0,667632	0,543072	0,224299	0,224299	-0,12612	-0,16264	-0,2757	-0,2757	-0,33237	-0,51241	-0,7257	-0,7757	-0,73423

Positive values show pairs of means that are significantly different.



Quantiles

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
Bb-(M. neus.)	0,9	0,9	0,9	1	1,1	1,1	1,1
Bb-(M. neus.)-PDA	0,5	0,5	0,65715	0,84	1,1665	2	2
Bb-IGE-PDA	1	1	1	1,303563	1,491069	2	2
Bb-IGE-SDA	0,6667	0,6667	0,8095	0,92855	1,250025	1,5	1,5
Ma-(melo-lonth)	1,5	1,5	1,749975	2	2,750025	3	3
Ma-(melo-lonth)-PDA	1,5	1,5	1,875	2,419	3,251	5	5
Ma-MARATHON	2,6	2,6	2,9	3,15	3,475	4	4
Ma-MARATHON-PDA	3	3	3,15	3,3	3,45	3,6	3,6
P.f.-UK-PDA	1	1	1,375	1,65	1,925	2,3	2,3
P.tenuip SDA	1,33	1,33	1,825	2,165	2,505	3	3
P.tenuip-PDA	1,714286	1,714286	1,714286	2	2,5	2,5	2,5
Pf-Ag.St.-PDA	0,75	0,75	1,104	1,326	1,49975	2	2
Pf-AgStef	1	1	1	1,02	1,40625	1,5	1,5
Pf-uk	1	1	1,3	1,6	1,9	2,2	2,2

Oneway Anova

Summary of Fit

Rsquare	0,74178
Adj Rsquare	0,697022
Root Mean Square Error	0,491827
Mean of Response	1,78382
Observations (or Sum Wgts)	89

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
x	13	52,116003	4,00892	16,5731	< 0001
Error	75	18,142033	0,24189		
C. Total	88	70,258036			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	6	1,00000	0,20079	0,6000	1,4000
Bb-(M. neus.)-PDA	9	0,97081	0,16394	0,6442	1,2974
Bb-IGE-PDA	6	1,32142	0,20079	0,9214	1,7214
Bb-IGE-SDA	6	1,00793	0,20079	0,6079	1,4079
Ma-(melo-lonth)	6	2,16667	0,20079	1,7667	2,5667
Ma-(melo-lonth)-PDA	6	2,66767	0,20079	2,2677	3,0677
Ma-MARATHON	6	3,20000	0,20079	2,8000	3,6000

P.f.-UK-PDA	6	3,30000	0,20079	2,9000	3,7000
P.tenuip SDA	6	1,65000	0,20079	1,2500	2,0500
P.tenuip-PDA	6	2,16500	0,20079	1,7650	2,5650
Pf-Ag.St.-PDA	6	2,07143	0,20079	1,6714	2,4714
Pf-AgStef	8	1,32617	0,20079	0,9262	1,7262
Pf-uk	8	1,14562	0,17389	0,7992	1,4920
Pf-uk	6	1,60000	0,20079	1,2000	2,0000

Std Error uses a pooled estimate of error variance

Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	6	1,00000	0,08944	0,03651	0,9273	1,0727
Bb-(M. neus.)-PDA	9	0,97081	0,45866	0,15289	0,6662	1,2754
Bb-IGE-PDA	6	1,32142	0,36561	0,14926	1,0241	1,6188
Bb-IGE-SDA	6	1,00793	0,29303	0,11963	0,7696	1,2462
Ma-(melo-lonth)	6	2,16667	0,55778	0,22771	1,7130	2,6203
Ma-(melo-lonth)-PDA	6	2,66767	1,22447	0,49989	1,6718	3,6635
Ma-MARATHON	6	3,20000	0,46043	0,18797	2,8255	3,5745
Ma-MARATHON-PDA	6	3,30000	0,20000	0,08165	3,1373	3,4627
P.f.-UK-PDA	6	1,65000	0,42308	0,17272	1,3059	1,9941
P.tenuip SDA	6	2,16500	0,55081	0,22487	1,7170	2,6130
P.tenuip-PDA	6	2,07143	0,35571	0,14522	1,7821	2,3607
Pf-Ag.St.-PDA	6	1,32617	0,39923	0,16298	1,0015	1,6508
Pf-AgStef	8	1,14562	0,22283	0,07878	0,9887	1,3026
Pf-uk	6	1,60000	0,40497	0,16533	1,2706	1,9294

Means Comparisons

Dif=Mean(i)-Mean(j)	Ma-MARATHON-PDA	Ma-MARATHON	Ma-(melo-lonth)-PDA	Ma-(melo-lonth)	P.tenuip SDA	P.tenuip-PDA	P.f.-UK-PDA	Pf-uk	Pf-Ag.St.-PDA	Bb-IGE-PDA	Pf-AgStef	Bb-IGE-SDA	Bb-(M. neus.)	Bb-(M. neus.)-PDA
Ma-MARATHON-PDA	0,00000	0,10000	0,63233	1,13333	1,13500	1,22857	1,65000	1,70000	1,97383	1,97858	2,15438	2,29207	2,30000	2,3291
Ma-MARATHON	-0,10000	0,00000	0,53233	1,03333	1,03500	1,12857	1,55000	1,60000	1,87383	1,87857	2,05437	2,19207	2,20000	2,2291
Ma-(melo-lonth)-PDA	-0,63233	-0,53233	0,00000	0,50100	0,50267	0,59624	1,01767	1,06767	1,34150	1,34624	1,52204	1,65973	1,66767	1,6968
Ma-(melo-lonth)	-1,13333	-1,03333	-0,50100	0,00000	0,00167	0,09524	0,51667	0,56667	0,84050	0,84524	1,02104	1,15873	1,16667	1,1958
P.tenuip SDA	-1,13500	-1,03500	-0,50267	-0,00167	0,00000	0,09357	0,51500	0,56500	0,83883	0,84358	1,01938	1,15707	1,16500	1,1941
P.tenuip-PDA	-1,22857	-1,12857	-0,59624	-0,09524	-0,09357	0,00000	0,42143	0,47143	0,74526	0,75000	0,92580	1,06350	1,07143	1,1006
P.f.-UK-PDA	-1,65000	-1,55000	-1,01767	-0,51667	-0,51500	-0,42143	0,00000	0,05000	0,32383	0,32857	0,50437	0,64207	0,65000	0,6791
Pf-uk	-1,70000	-1,60000	-1,06767	-0,56667	-0,56500	-0,47143	-0,05000	0,00000	0,27383	0,27858	0,45437	0,59207	0,60000	0,6291
Pf-Ag.St.-PDA	-1,97383	-1,87383	-1,34150	-0,84050	-0,83883	-0,74526	-0,32383	-0,27383	0,00000	0,00474	0,18054	0,31823	0,32617	0,3553
Bb-IGE-PDA	-1,97858	-1,87857	-1,34624	-0,84524	-0,84358	-0,75000	-0,32857	-0,27858	-0,00474	0,00000	0,17580	0,31349	0,32142	0,3506
Pf-AgStef	-2,15438	-2,05437	-1,52204	-1,02104	-1,01938	-0,92580	-0,50437	-0,45437	-0,18054	-0,17580	0,00000	0,13769	0,14562	0,1748
Bb-IGE-SDA	-2,29207	-2,19207	-1,65973	-1,15873	-1,15707	-1,06350	-0,64207	-0,59207	-0,31823	-0,31349	-0,13769	0,00000	0,00793	0,0371
Bb-(M. neus.)	-2,30000	-2,20000	-1,66767	-1,16667	-1,16500	-1,07143	-0,65000	-0,60000	-0,32617	-0,32142	-0,14562	-0,00793	0,00000	0,0291
Bb-(M. neus.)-PDA	-2,32919	-2,22919	-1,69686	-1,19586	-1,19419	-1,10062	-0,67919	-0,62919	-0,35536	-0,35061	-0,17481	-0,03712	-0,02919	0,0000

Alpha=

0,05

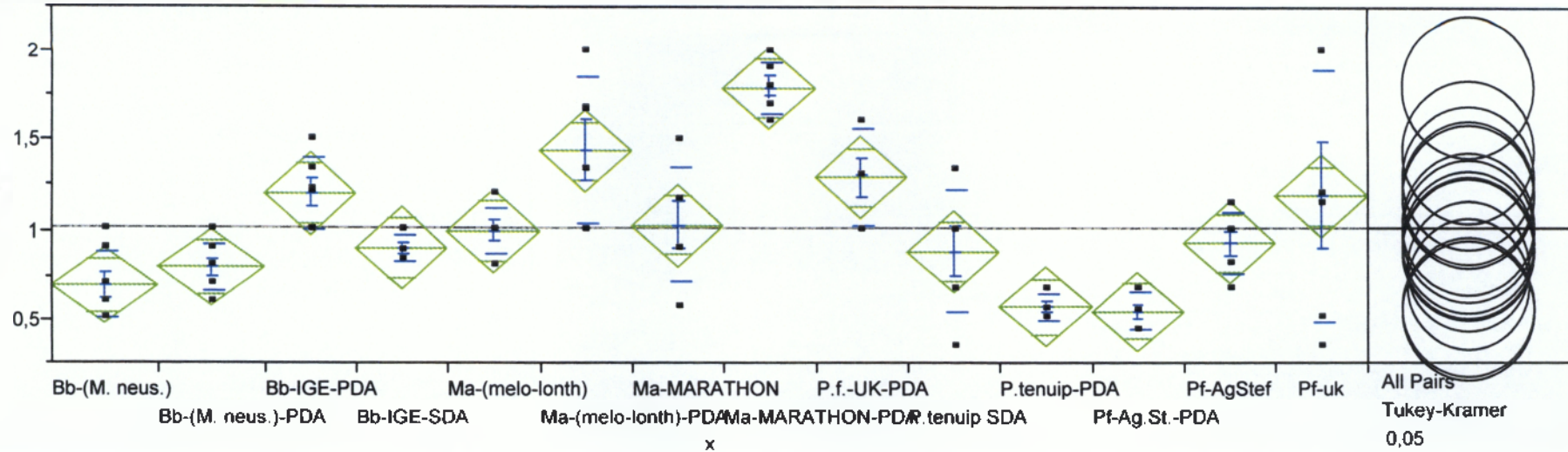
Comparisons for all pairs using Tukey-Kramer HSD

q*
3,46617

Abs(Dif)-LSD	Ma-MARATHON -PDA	Ma-MARATHON N	Ma-(melo-lonth)- PDA	Ma-(melo-lont h)	P.tenuip SDA	P.tenuip-PD A	P.f.-UK-PD A	Pf-uk	Pf-Ag.St.-PD A	Bb-IGE-PD A	Pf-AgStef	Bb-IGE-SD A	Bb-(M. neus.)	Bb-(M. neus.)-PD
Ma-MARATHON -PDA	-0,98424	-0,88424	-0,35191	0,14909	0,15076	0,24433	0,66576	0,71576	0,98959	0,99433	1,23370	1,30783	1,31576	1,4307
Ma-MARATHON -PDA	-0,88424	-0,98424	-0,45191	0,04909	0,05076	0,14433	0,56576	0,61576	0,88959	0,89433	1,13370	1,20783	1,21576	1,3307
Ma-(melo-lonth)- PDA	-0,35191	-0,45191	-0,98424	-0,48324	-0,48157	-0,38800	0,03343	0,08343	0,35726	0,36200	0,60137	0,67549	0,68343	0,7983
Ma-(melo-lonth)	0,14909	0,04909	-0,48324	-0,98424	-0,98257	-0,88900	-0,46757	-0,41757	-0,14374	-0,13900	0,10037	0,17449	0,18243	0,2973
P.tenuip SDA	0,15076	0,05076	-0,48157	-0,98257	-0,98424	-0,89067	-0,46924	-0,41924	-0,14541	-0,14067	0,09870	0,17283	0,18076	0,2957
P.tenuip-PDA	0,24433	0,14433	-0,38800	-0,88900	-0,89067	-0,98424	-0,56281	-0,51281	-0,23898	-0,23424	0,00513	0,07925	0,08719	0,2021
P.f.-UK-PDA	0,66576	0,56576	0,03343	-0,46757	-0,46924	-0,56281	-0,98424	-0,93424	-0,66041	-0,65567	-0,41630	-0,34217	-0,33424	-0,2193
Pf-uk	0,71576	0,61576	0,08343	-0,41757	-0,41924	-0,51281	-0,93424	-0,98424	-0,71041	-0,70567	-0,46630	-0,39217	-0,38424	-0,2693
Pf-Ag.St.-PDA	0,98959	0,88959	0,35726	-0,14374	-0,14541	-0,23898	-0,66041	-0,71041	-0,98424	-0,97950	-0,74013	-0,66601	-0,65807	-0,5431
Bb-IGE-PDA	0,99433	0,89433	0,36200	-0,13900	-0,14067	-0,23424	-0,65567	-0,70567	-0,97950	-0,98424	-0,74487	-0,67075	-0,66282	-0,5478
Pf-AgStef	1,23370	1,13370	0,60137	0,10037	0,09870	0,00513	-0,41630	-0,46630	-0,74013	-0,74487	-0,85238	-0,78298	-0,77505	-0,6535
Bb-IGE-SDA	1,30783	1,20783	0,67549	0,17449	0,17283	0,07925	-0,34217	-0,39217	-0,66601	-0,67075	-0,78298	-0,98424	-0,97631	-0,8613
Bb-(M. neus.)	1,31576	1,21576	0,68343	0,18243	0,18076	0,08719	-0,33424	-0,38424	-0,65807	-0,66282	-0,77505	-0,97631	-0,98424	-0,8693
Bb-(M. neus.)-PDA	1,43070	1,33070	0,79837	0,29737	0,29570	0,20213	-0,21930	-0,26930	-0,54313	-0,54787	-0,65355	-0,86136	-0,86930	-0,8036

Positive values show pairs of means that are significantly different.

Oneway Analysis of r By x [30°C]



Oneway Anova

Summary of Fit

Rsquare	0,621798
Adj Rsquare	0,553511
Root Mean Square Error	0,281892
Mean of Response	1,017804
Observations (or Sum Wgts)	86

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
x	13	9,406385	0,723568	9,1057	< 0001
Error	72	5,721337	0,079463		
C. Total	85	15,127722			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	7	0,70000	0,10655	0,4876	0,9124
Bb-(M. neus.)-PDA	7	0,80000	0,10655	0,5876	1,0124
Bb-IGE-PDA	6	1,21000	0,11508	0,9806	1,4394
Bb-IGE-SDA	6	0,90740	0,11508	0,6780	1,1368
Ma-(melo-lonlh)	6	1,00000	0,11508	0,7706	1,2294
Ma-(melo-lonlh)-PDA	6	1,44333	0,11508	1,2139	1,6727
Ma-MARATHON	6	1,03500	0,11508	0,8056	1,2644
Ma-MARATHON-PDA	6	1,80000	0,11508	1,5706	2,0294
P.f.-UK-PDA	6	1,30000	0,11508	1,0706	1,5294
P.tenuip SDA	6	0,88889	0,11508	0,6595	1,1183
P.tenuip-PDA	6	0,57407	0,11508	0,3447	0,8035
Pf-Ag.St.-PDA	6	0,54800	0,11508	0,3186	0,7774

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
Pf-AgStef	6	0,93667	0,11508	0,7073	1,1661
Pf-uk	6	1,19517	0,11508	0,9658	1,4246

Std Error uses a pooled estimate of error variance

Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	7	0,70000	0,182574	0,06901	0,5624	0,8376
Bb-(M. neus.)-PDA	7	0,80000	0,129099	0,04880	0,7027	0,8973
Bb-IGE-PDA	6	1,21000	0,193287	0,07891	1,0527	1,3673
Bb-IGE-SDA	6	0,90740	0,075915	0,03099	0,8456	0,9692
Ma-(melo-lonth)	6	1,00000	0,126491	0,05164	0,8971	1,1029
Ma-(melo-lonth)-PDA	6	1,44333	0,403518	0,16474	1,1149	1,7717
Ma-MARATHON	6	1,03500	0,317915	0,12979	0,7763	1,2937
Ma-MARATHON-PDA	6	1,80000	0,141421	0,05774	1,6849	1,9151
P.f.-UK-PDA	6	1,30000	0,268328	0,10954	1,0816	1,5184
P.tenuip SDA	6	0,88889	0,344265	0,14055	0,6087	1,1691
P.tenuip-PDA	6	0,57407	0,075903	0,03099	0,5123	0,6358
Pf-Ag.St.-PDA	6	0,54800	0,106437	0,04345	0,4614	0,6346
Pf-AgStef	6	0,93667	0,169335	0,06913	0,7989	1,0745
Pf-uk	6	1,19517	0,710609	0,29010	0,6169	1,7735

Means Comparisons

Dif=Mean[i]-Mean[j]	Ma-MARATHON-PDA	Ma-(melo-lonth)-PDA	P.f.-UK-PDA	Bb-IGE-PDA	Pf-uk	Ma-MARATHON	Ma-(melo-lonth)	Pf-AgStef	Bb-IGE-SDA	P.tenuip SDA	Bb-(M. neus.)-PDA	Bb-(M. neus.)	P.tenuip-PDA	Pf-Ag.St.-PDA
Ma-MARATHON-PDA	0,00000	0,35667	0,50000	0,59000	0,60483	0,76500	0,80000	0,86333	0,89260	0,91111	1,00000	1,10000	1,22593	1,25200
Ma-(melo-lonth)-PDA	-0,35667	0,00000	0,14333	0,23333	0,24817	0,40833	0,44333	0,50667	0,53593	0,55444	0,64333	0,74333	0,86926	0,89533
P.f.-UK-PDA	-0,50000	-0,14333	0,00000	0,09000	0,10483	0,26500	0,30000	0,36333	0,39260	0,41111	0,50000	0,60000	0,72593	0,75200
Bb-IGE-PDA	-0,59000	-0,23333	-0,09000	0,00000	0,01483	0,17500	0,21000	0,27333	0,30260	0,32111	0,41000	0,51000	0,63593	0,66200
Pf-uk	-0,60483	-0,24817	-0,10483	-0,01483	0,00000	0,16017	0,19517	0,25850	0,28777	0,30628	0,39517	0,49517	0,62109	0,64717
Ma-MARATHON	-0,76500	-0,40833	-0,26500	-0,17500	-0,16017	0,00000	0,03500	0,09833	0,12760	0,14611	0,23500	0,33500	0,46093	0,48700
Ma-(melo-lonth)	-0,80000	-0,44333	-0,30000	-0,21000	-0,19517	-0,03500	0,00000	0,06333	0,09260	0,11111	0,20000	0,30000	0,42593	0,45200
Pf-AgStef	-0,86333	-0,50667	-0,36333	-0,27333	-0,25850	-0,09833	-0,06333	0,00000	0,02927	0,04778	0,13667	0,23667	0,36259	0,38867
Bb-IGE-SDA	-0,89260	-0,53593	-0,39260	-0,30260	-0,28777	-0,12760	-0,09260	-0,02927	0,00000	0,01851	0,10740	0,20740	0,33333	0,35940
P.tenuip SDA	-0,91111	-0,55444	-0,41111	-0,32111	-0,30628	-0,14611	-0,11111	-0,04778	-0,01851	0,00000	0,08889	0,18889	0,31481	0,34089
Bb-(M. neus.)-PDA	-1,00000	-0,64333	-0,50000	-0,41000	-0,39517	-0,23500	-0,20000	-0,13667	-0,10740	-0,08889	0,00000	0,10000	0,22593	0,25200
Bb-(M. neus.)	-1,10000	-0,74333	-0,60000	-0,51000	-0,49517	-0,33500	-0,30000	-0,23667	-0,20740	-0,18889	-0,10000	0,00000	0,12593	0,15200
P.tenuip-PDA	-1,22593	-0,86926	-0,72593	-0,63593	-0,62109	-0,46093	-0,42593	-0,36259	-0,33333	-0,31481	-0,22593	-0,12593	0,00000	0,02607
Pf-Ag.St.-PDA	-1,25200	-0,89533	-0,75200	-0,66200	-0,64717	-0,48700	-0,45200	-0,38867	-0,35940	-0,34089	-0,25200	-0,15200	-0,02607	0,00000

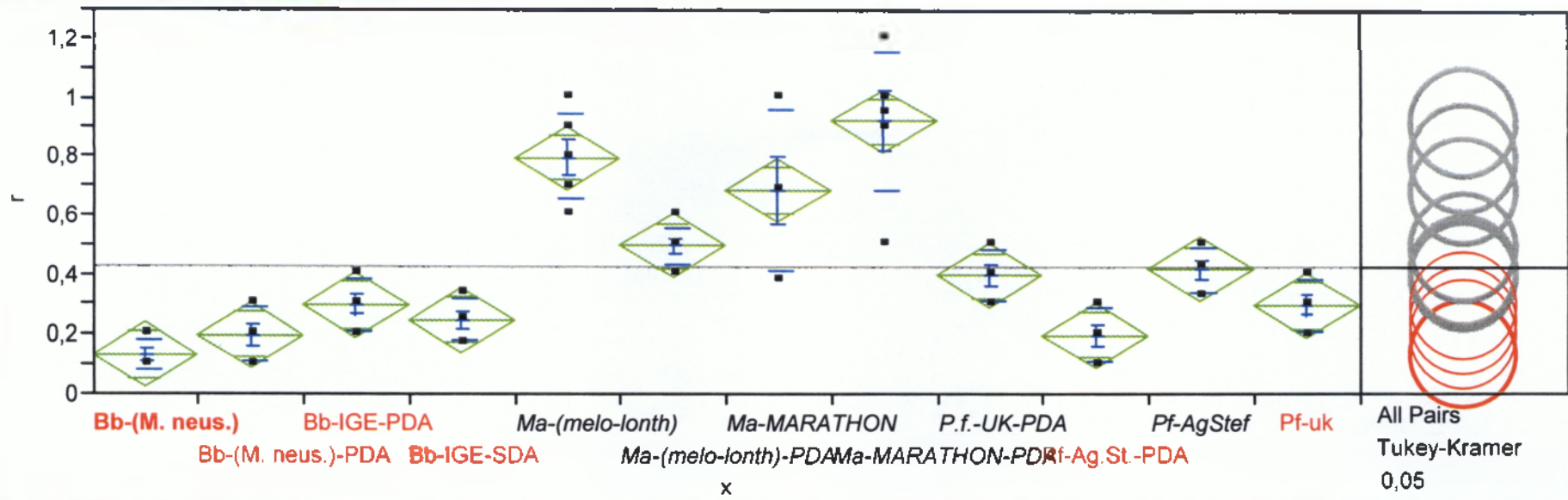
Alpha=
0,05

Comparisons for all pairs using Tukey-Kramer HSD

q*
3,47091

Abs(Dif)-LSD	Ma-MARATHO N-PDA	Ma-(melo-lonlh)-PDA	P.f.-UK-PDA	Bb-IGE-PDA	Pf-uk	Ma-MARATHON	Ma-(melo-lonlh)	Pf-AgStef	Bb-IGE-SDA	P.tenuip SDA	Bb-(M.neus.)-PDA	Bb-(M.neus.)	P.tenuip-PDA	Pf-Ag.St.-PDA
Ma-MARATHO N-PDA	-0,56489	-0,20822	-0,06489	0,025109	0,039942	0,200109	0,235109	0,298442	0,327709	0,346220	0,455657	0,555657	0,661035	0,687109
Ma-(melo-lonlh)-PDA	-0,20822	-0,56489	-0,42156	-0,33156	-0,31672	-0,15656	-0,12156	-0,05822	-0,02896	-0,01045	0,098991	0,198991	0,304368	0,330442
P.f.-UK-PDA	-0,06489	-0,42156	-0,56489	-0,47489	-0,46006	-0,29989	-0,26489	-0,20156	-0,17229	-0,15378	-0,04434	0,055657	0,161035	0,187109
Bb-IGE-PDA	0,025109	-0,33156	-0,47489	-0,56489	-0,55006	-0,38989	-0,35489	-0,29156	-0,26229	-0,24378	-0,13434	-0,03434	0,071035	0,097109
Pf-uk	0,039942	-0,31672	-0,46006	-0,55006	-0,56489	-0,40472	-0,36972	-0,30639	-0,27712	-0,25861	-0,14918	-0,04918	0,056201	0,082276
Ma-MARATHON	0,200109	-0,15656	-0,29989	-0,38989	-0,40472	-0,56489	-0,52989	-0,46656	-0,43729	-0,41878	-0,30934	-0,20934	-0,10397	-0,07789
Ma-(melo-lonlh)	0,235109	-0,12156	-0,26489	-0,35489	-0,36972	-0,52989	-0,56489	-0,50156	-0,47229	-0,45378	-0,34434	-0,24434	-0,13897	-0,11289
Pf-AgStef	0,298442	-0,05822	-0,20156	-0,29156	-0,30639	-0,46656	-0,50156	-0,56489	-0,53562	-0,51711	-0,40768	-0,30768	-0,2023	-0,17622
Bb-IGE-SDA	0,327709	-0,02896	-0,17229	-0,26229	-0,27712	-0,43729	-0,47229	-0,53562	-0,56489	-0,54638	-0,43694	-0,33694	-0,23157	-0,20549
P.tenuip SDA	0,346220	-0,01045	-0,15378	-0,24378	-0,25861	-0,41878	-0,45378	-0,51711	-0,54638	-0,56489	-0,45545	-0,35545	-0,25008	-0,224
Bb-(M.neus.)-PDA	0,455657	0,098991	-0,04434	-0,13434	-0,14918	-0,30934	-0,34434	-0,40768	-0,43694	-0,45545	-0,52299	-0,42299	-0,31842	-0,29234
Bb-(M.neus.)	0,555657	0,198991	0,055657	-0,03434	-0,04918	-0,20934	-0,24434	-0,30768	-0,33694	-0,35545	-0,42299	-0,52299	-0,41842	-0,39234
P.tenuip-PDA	0,661035	0,304368	0,161035	0,071035	0,056201	-0,10397	-0,13897	-0,2023	-0,23157	-0,25008	-0,31842	-0,41842	-0,56489	-0,53882
Pf-Ag.St.-PDA	0,687109	0,330442	0,187109	0,097109	0,082276	-0,07789	-0,11289	-0,17622	-0,20549	-0,224	-0,29234	-0,39234	-0,53882	-0,56489

Positive values show pairs of means that are significantly different.



**Oneway Anova
Summary of Fit**

Rsquare	0,804433
Adj Rsquare	0,768579
Root Mean Square Error	0,131873
Mean of Response	0,426492
Observations (or Sum Wgts)	72

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Ratio	Prob > F
x	11	4,2919872	0,390181	22,4363	<.0001
Error	60	1,0434337	0,017391		
C. Total	71	5,3354209			

Means for Oneway Anova

Level	Number	Mean	Std Error	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	6	0,133333	0,05384	0,02564	0,2410
Bb-(M. neus.)-PDA	6	0,200000	0,05384	0,09231	0,3077
Bb-IGE-PDA	6	0,300000	0,05384	0,19231	0,4077
Bb-IGE-SDA	6	0,249900	0,05384	0,14221	0,3576
Ma-(melo-lonth)	6	0,800000	0,05384	0,69231	0,9077
Ma-(melo-lonth)-PDA	6	0,500000	0,05384	0,39231	0,6077
Ma-MARATHON	6	0,690000	0,05384	0,58231	0,7977
Ma-MARATHON-PDA	6	0,925000	0,05384	0,81731	1,0327
P.f.-UK-PDA	6	0,400000	0,05384	0,29231	0,5077
Pf-Ag.St.-PDA	6	0,200000	0,05384	0,09231	0,3077
Pf-AgStef	6	0,419667	0,05384	0,31198	0,5274
Pf-uk	6	0,300000	0,05384	0,19231	0,4077

Std Error uses a pooled estimate of error variance

Means and Std Deviations

Level	Number	Mean	Std Dev	Std Err Mean	Lower 95%	Upper 95%
Bb-(M. neus.)	6	0,133333	0,051640	0,02108	0,09116	0,1755
Bb-(M. neus.)-PDA	6	0,200000	0,089443	0,03651	0,12696	0,2730
Bb-IGE-PDA	6	0,300000	0,089443	0,03651	0,22696	0,3730

Ma-(melo-lonh)	6	0,249900	0,074551	0,03044	0,18902	0,3108
Ma-(melo-lonh)-PDA	6	0,800000	0,141421	0,05774	0,68451	0,9155
Ma-MARATHON	6	0,500000	0,063246	0,02582	0,44835	0,5516
Ma-MARATHON-PDA	6	0,690000	0,277272	0,11320	0,46357	0,9164
P.f.-UK-PDA	6	0,925000	0,231840	0,09465	0,73567	1,1143
Pf-Ag.St.-PDA	6	0,400000	0,089443	0,03651	0,32696	0,4730
Pf-AgStef	6	0,200000	0,089443	0,03651	0,12696	0,2730
Pf-uk	6	0,419667	0,076369	0,03118	0,35730	0,4820
Bb-IGE-SDA	6	0,300000	0,089443	0,03651	0,22696	0,3730

Means Comparisons

Dif=Mean[i]-Mean[j]	Ma-MARATHON-PDA	Ma-(melo-lonh)	Ma-MARATHON	Ma-(melo-lonh)-PDA	Pf-AgStef	P.f.-UK-PDA	Bb-IGE-PDA	Pf-uk	Bb-IGE-SDA	Bb-(M. neus.)-PDA	Pf-Ag.St.-PDA	Bb-(M. neus.)
Ma-MARATHON-PDA	0,000000	0,125000	0,235000	0,425000	0,505333	0,525000	0,625000	0,625000	0,675100	0,725000	0,725000	0,791667
Ma-(melo-lonh)	-0,125	0,000000	0,110000	0,300000	0,380333	0,400000	0,500000	0,500000	0,550100	0,600000	0,600000	0,666667
Ma-MARATHON	-0,235	-0,11	0,000000	0,190000	0,270333	0,290000	0,390000	0,390000	0,440100	0,490000	0,490000	0,556667
Ma-(melo-lonh)-PDA	-0,425	-0,3	-0,19	0,000000	0,080333	0,100000	0,200000	0,200000	0,250100	0,300000	0,300000	0,366667
Pf-AgStef	-0,50533	-0,38033	-0,27033	-0,08033	0,000000	0,019667	0,119667	0,119667	0,169767	0,219667	0,219667	0,286333
P.f.-UK-PDA	-0,525	-0,4	-0,29	-0,1	-0,01967	0,000000	0,100000	0,100000	0,150100	0,200000	0,200000	0,266667
Bb-IGE-PDA	-0,625	-0,5	-0,39	-0,2	-0,11967	-0,1	0,000000	0,000000	0,050100	0,100000	0,100000	0,166667
Pf-uk	-0,625	-0,5	-0,39	-0,2	-0,11967	-0,1	-5,6e-17	0,000000	0,050100	0,100000	0,100000	0,166667
Bb-IGE-SDA	-0,6751	-0,5501	-0,4401	-0,2501	-0,16977	-0,1501	-0,0501	-0,0501	0,000000	0,049900	0,049900	0,116567
Bb-(M. neus.)-PDA	-0,725	-0,6	-0,49	-0,3	-0,21967	-0,2	-0,1	-0,1	-0,0499	0,000000	0,000000	0,066667
Pf-Ag.St.-PDA	-0,725	-0,6	-0,49	-0,3	-0,21967	-0,2	-0,1	-0,1	-0,0499	-5,6e-17	0,000000	0,066667
Bb-(M. neus.)	-0,79167	-0,66667	-0,55667	-0,36667	-0,28633	-0,26667	-0,16667	-0,16667	-0,11657	-0,06667	-0,06667	0,000000

Alpha=
0,05

Comparisons for all pairs using Tukey-Kramer HSD

q*
3,40012

Abs(Dif)-LSD	Ma-MARATHON-PDA	Ma-(melo-lonh)	Ma-MARATHON	Ma-(melo-lonh)-PDA	Pf-AgStef	P.f.-UK-PDA	Bb-IGE-PDA	Pf-uk	Bb-IGE-SDA	Bb-(M. neus.)-PDA	Pf-Ag.St.-PDA	Bb-(M. neus.)
Ma-MARATHON-PDA	-0,25888	-0,13388	-0,02388	0,166125	0,246458	0,266125	0,366125	0,366125	0,416225	0,466125	0,466125	0,532791
Ma-(melo-lonh)	-0,13388	-0,25888	-0,14888	0,041125	0,121458	0,141125	0,241125	0,241125	0,291225	0,341125	0,341125	0,407791
Ma-MARATHON	-0,02388	-0,14888	-0,25888	-0,06888	0,011458	0,031125	0,131125	0,131125	0,181225	0,231125	0,231125	0,297791
Ma-(melo-lonh)-PDA	0,166125	0,041125	-0,06888	-0,25888	-0,17854	-0,15888	-0,05888	-0,05888	-0,00878	0,041125	0,041125	0,107791
Pf-AgStef	0,246458	0,121458	0,011458	-0,17854	-0,25888	-0,23921	-0,13921	-0,13921	-0,08911	-0,03921	-0,03921	0,027458
P.f.-UK-PDA	0,266125	0,141125	0,031125	-0,15888	-0,23921	-0,25888	-0,15888	-0,15888	-0,10878	-0,05888	-0,05888	0,007791
Bb-IGE-PDA	0,366125	0,241125	0,131125	-0,05888	-0,13921	-0,15888	-0,25888	-0,25888	-0,20878	-0,15888	-0,15888	-0,09221
Pf-uk	0,366125	0,241125	0,131125	-0,05888	-0,13921	-0,15888	-0,25888	-0,25888	-0,20878	-0,15888	-0,15888	-0,09221
Bb-IGE-SDA	0,416225	0,291225	0,181225	-0,00878	-0,08911	-0,10878	-0,20878	-0,20878	-0,25888	-0,20898	-0,20898	-0,14231
Bb-(M. neus.)-PDA	0,466125	0,341125	0,231125	0,041125	-0,03921	-0,05888	-0,15888	-0,15888	-0,20898	-0,25888	-0,25888	-0,19221
Pf-Ag.St.-PDA	0,466125	0,341125	0,231125	0,041125	-0,03921	-0,05888	-0,15888	-0,15888	-0,20898	-0,25888	-0,25888	-0,19221
Bb-(M. neus.)	0,532791	0,407791	0,297791	0,107791	0,027458	0,007791	-0,09221	-0,09221	-0,14231	-0,19221	-0,19221	-0,25888

Positive values show pairs of means that are significantly different.

4. Βιβλιογραφία

- Ανάγνου-Βερονίκη, Μ. 1992. Μελέτη ιώσεων του Δάκου της ελιάς, *Bactrocera (Dacus) oleae* (Gmelin), στην Ελλάδα. Διδακτορική Διατριβή, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 163 σελ.
- Ανάγνου-Βερονίκη, Μ. 1996., Παθογένεση τριών τύπων ιών στο έντομο Δάκος της ελιάς (*Bactrocera oleae*) Στο: *Ελληνική Ιολογία*, 1(1) σελ: 42-45
- Abdel – Razek, A. S. (1998). "Biological efficacy of some commercial and isolated varieties of *Bacillus thuringiensis* on the development of *Candria cautella* (Walker) and *Tribolium confusum* Jacqueline du Val on stored crushed corn." *I.O.B.C bulletin* 21(3): 67 – 74.
- Anagnou-Veroniki, M., Kontodimas, D.C., Adamopoulos, A.D., Tsimboukis, N.D. and Voulgaropoulou, A., 2005. Effects of two fungal based biopesticides on *Bactrocera (Dacus) oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae). *IOBC/WPRS Bulletin* 28(9): 49-51.
- Anagnou-Veroniki, M. and Kontodimas, D.C., 2003. Laboratory tests of the effect of *Bacillus thuringiensis* on grape berry moth *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae) and on the pseudococcids' predator *Nephus includens* (Coleoptera: Coccinellidae). *IOBC/WPRS Bulletin*, 26(8): 117-119.
- Anagnou-Veroniki, M., 1994. Impact of entomopathogenic agents on the olive fruit fly. In: *IOBC/WPRS Bulletin*, vol 17(3), p: 279-282.
- Anagnou-Veroniki, M., Kontodimas, D.C., Chaleplidi, S., Georgiadou, A.G and Menti, H., 2005. Laboratory evaluation of microbial control products on the Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). *IOBC/WPRS Bulletin*, 28(3): 169-172.
- Balazy, S 1993. *Fungi*. Vol XXIV P 79, 102, 136, 176, 195
- Barbara, D.J. & Clewes, E. (2003). "Plant pathogenic *Verticillium* species: how many of them are there?" *Molecular Plant Pathology* 4(4).297-305. Blackwell Publishing.
- Bateman, R.P., Carey, M., Batt, D., Prior, C., Abraham, Y., Moore, D., Jenkins, N. and Fenlon, J. 1996 Screening for virulent isolates of entomopathogenic fungi against the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål). *Biocontrol Science and Technology* 6: 549-560.
- Bourtzis K. and O'Neill S.L. 1998. *Wolbachia* infections and arthropod reproduction. *Bioscience* 48: 287-293.
- Bourtzis K. and H.R. Braig 1999. The many faces of *Wolbachia*. In: D. Raoult, T. Hackstadt, eds. *The Biology of Rickettsiales*. Elsevier, Amsterdam.
- Bourtzis K. Dobson S.L., Braig H.R. and O'Neill S.L. 1998. Rescuing *Wolbachia* have been overlooked. *Nature* 391: 852-853.
- Burges H.D. 1981. *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*. Academic Press, London, 949 p.
- Burges, H.D. (ed.) 1998 *Formulation of Microbial Biopesticides, beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments* Publ. Kluwer Academic, Dordrecht, 412 pp.
- Cameron, J. W. M. 1973. Insect pathology. In *History of Entomology*. Ann. Rev. Entomol. pp. 285-300.
- Canning, E. U. (1953). A new microsporidian, *Nosema locustae* n. sp., from the fat body of the African migratory locust *Locusta migratoria migratorioides* R. and F. *Parasitology* 43, 287-290.

- Copping, L.G. 2001. *The BioPesticide manual, Second edition*. British crop protection council, U.K., p: XIV-XIVII, 3-154, 161-3, 494-6.
- Cornell Extension Service. Retrieved on 2006-12-14
- Cloyd, Raymond A. The Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae*, Midwest Biological Control News, Vol VI No 7.
- Γιαμβριάς , Χ. 1991. Σημειώσεις Γεωργικής εντομολογίας, Β' τεύχος. Εκδ: Γεωργικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, σελ: 1-19.
- Donald G. McNeil Jr., Fungus Fatal to Mosquito May Aid Global War on Malaria, The New York Times, 10 June 2005
- DeBach, P. 1974. Chaps. 4 and 5 in *Biological control by natural enemies*. Cambridge Univ. Press. pp. 71-154.
- DeBach, P. 1971. The use of imparted natural enemies in insect pest management ecology. Proc. Tall Timbers Conference on Ecol. and Animal Control by Habitat Management 3:211-33.
- Doutt, R. L. 1958. Vice, virtue and the Vedalia. Bull. Entomol. Soc. Am. 4:119-23.
- Doutt, R. L. 1964. The historical development of biological control. ch. 2 in P. DeBach ed. *Biological control of insect pests and weeds*. pp. 21-42.
- Driver, F., Milner, R. J., Trueman, W. H.A. 2000 A Taxonomic revision of *Metarhizium* based on sequence analysis of ribosomal DNA. *Mycological Research* 104: 135-151
- Essig, E. O. 1931. *A History of Entomology*. Macmillan co., NY. 1029 pp.
EPA Factsheet. Retrieved on 2006-12-14.
- Fargues, J., P.-H. Robert and O. Reisinger, 1979. Formulation des productions de masse de l'hyphomycète entomopathogène *Beauveria* en vue des applications phytosanitaires. *Ann. zool. ecol. anim.* 11: 247-257.
- Ferron, P., 1981. Pest control by the fungi *Beauveria* and *Metarhizium*. In: H.D. Burges (ed), *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*. Academic Press, London. pp. 465-482.
- Francisco Posada, Fernando E. Vega, Stephen A. Rehner, Meredith Blackwell, Donald Weber, Sung-Oui Suh. and Richard A. Humber. *Sypastospora parasitica*, a mycoparasite of the fungus *Beauveria bassiana* attacking the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*: A tritrophic association. *J Insect Sci.* 2004; 4: 24.
- Frei, E. and K. Peyer, 1984. Böden. Blatt 7a. In: Inst. Kartographie ETHZ (ed), *Atlas der Schweiz*. Bundesamt für Landestopographie, 2. Ausgabe, Bern.
- Freimoser, F. M., Screen, S., Bagga, S., Hu, G and St. Leger, R.J. 2003. EST analysis of two subspecies of *Metarhizium anisopliae* reveals a plethora of secreted proteins with potential activity in insect hosts. *Microbiology* 149: 239-247.
- Granadow , R. A. & Ferecidi B. A. (1986b). " The Biology of *Bacilovirus*." *Vol II Biological Properties and Molecular Biology*. Crc Press, Boca Raton, FL.
- Huber, J. 1990. Viral insecticides: Profits, Problems, and Prospects. In: *Pesticides and alternatives, innovative chemical and biological approaches to pest control*, Ed: Cassida, J., Elsevier Science Publishers, Amsterdam, Oxford, N.Y., p: 117-121.
- Index Fungorum record Synonyms of *B. bassiana*
- James, R. R. (2001). "Effects of exogenous nutrients on conidial germination and virulence against the Silver Whitefly for two *Hyphomycetes*." *J. of Invert. Path.* 77: 99 – 107.
- Jeffrey, C L. (2001). "Desiccant dusts synergize the effect of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) on Stored – grain beetles." *J. Econ. Entomol.* 94(20):367 – 372.
- Kleespies, R. G., Vossbrinck, C. R., Lange, M. & Jehle, J. A. (2003). Morphological and molecular investigation of a microsporidium infecting the European grapevine moth, *Lobesia botrana* Den. et

- Schiff., and its taxonomic determination as *Cystosporogenes legeri* nov. comb. J. Invert. Pathol. 83, 240-248.
- Keller, S., A.-I. David-Henriet and C. Schweizer, 2000. Insect pathogenic soil fungi from *Melolontha melolontha* control sites in the canton Thurgau. *Bull. IOBC/WPRS* 23(8): 73-78.
- Keller S., P. Kessler and C. Schweizer, 2003. Distribution of insect pathogenic soil fungi in Switzerland with special reference to *Beauveria brongniartii* and *Metharhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology* 48: 307-319
- Keller, S. and C. Schweizer, 2001. Ist das Drahtwurm-Problem ein Pilz-Problem? *Agrarforschung* 7(8): 248-251.
- Keller, S., C. Schweizer, E. Keller and H. Brenner, 1997. Control of white grubs (*Melolontha melolontha* L.) by treating adults with the fungus *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* 7: 105-116.
- Keller, S., C. Schweizer and P. Shah, 1999. Differential susceptibility of two *Melolontha* populations to infections by the fungus *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology* 9: 441-446.
- Keller, S. and G. Zimmermann, 1989. Mycopathogens of soil insects. In: N. Wilding, N.M. Collins, P.M. Hammond and J.F. Webber (eds), *Insect-Fungus*
- Hagen, K. S. 1973. A history of biological control. In *History of Entomology*. Ann. Rev. Entomol. pp. 433-76. Interactions Academic Press, London. pp. 239-270.
- Kleespies, R., H. Bathon and G. Zimmermann, 1989. Untersuchungen zum natürlichen Vorkommen von entomopathogenen Pilzen und Nematoden in verschiedenen Böden in der Umgebung von Darmstadt. *Gesunde Pflanzen* 41(10): 350-355.
- Kontodimas, D.C., Anastasopoulou, O., and Anagnou-Veroniki, M., 2005. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* and azadirachtin compounds against *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera, Tortricidae). *International Symposium on Organic Agriculture in the Mediterranean - Problems and Perspectives*. Chania, Crete, Greece, November 9-11, 2005. 30
- Kontodimas, D.C., Anastasopoulou, O., Chaleplidi, S. and Anagnou-Veroniki, M., 2005. Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* compounds on the grape berry moth *Lobesia botrana* (Denis & Schiffermüller) (Lepidoptera, Tortricidae) and the mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). *COST 862 Meeting: "Bacterial Toxins for Insect Control"*, Nitra, Slovakia, September 14th-18th 2005.
- Kontodimas, D.C., Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G. and Anagnou-Veroniki, M., 2005. Insecticidal effect of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin against *Sitophilus oryzae* (L.) after short exposures on treated wheat. *10th European Meeting of the IOBC/WPRS Working Group "Insect Pathogens and Insect Parasitic Nematodes": "Invertebrate Pathogens in Biological Control: Present and Future"*, 10 - 15 June, 2005, Locoronto, Bari, Italy.
- Kontodimas, D.C., Kavallieratos, N.G., Mantzoukas, S.D., Athanassiou, C.G. & Anagnou-Veroniki, M., 2004. Effect of *Beauveria bassiana*, *Verticillium lecanii*, *Bacillus thuringiensis* subsp. *tenebrionis* and azadirachtin compounds on *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium confusum* Du Val in stored rye. *37th Annual Meeting of the Society for Invertebrate Pathology, 7th International Conference on Bacillus thuringiensis*, August 1-6, 2004, Helsinki, Finland.
- Klingen, I., 2000. Natural occurrence of insect pathogenic fungi and their pathogenicity on different host species with emphasis on *Delia radicum* and *Delia floralis*. *Ph.D. Thesis 2000: 24*, Agr. Univ. Norway
- Kucera, M. 1980. Proteases from the fungus *Metarhizium anisopliae* toxic for *Galleria melonella* larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 35: 304-310.
- Kurstak, E. 1982. *Microbial and Viral Pesticides*. Markel Dekker, Ink., New York and Basel, 720 pp.
- Κατσόγιαννος, Π., 1992. Η Βιολογική Καταπολέμηση. Σημειώσεις Εκπαιδευσεως Γεωπόνων, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, Κηφισιά, 5 σελ.

- Katsoyannos, P., 1996. Integrated Insect Pest Management for Citrus in Northern Mediterranean Countries. Benaki Phytopathological Institute. 110 p.
- Κοντοδήμας, Δ.Χ. και Ανάγνου-Βερονίκη, Μ., 2003. Πρόληψη & έλεγχος εχθρών αστικού και περιαστικού πρασίνου. *Εις Πρακτικά Ημερίδας: "Αστικό & Περιαστικό Πράσινο"* – Πάτρα, 10 Μαΐου 2003. Διοργάνωση: ΓΕΩΤ.Ε.Ε., Παράρτημα Πελοποννησίου & Δ. Στερεάς και Σύλλογος Γεωπόνων Αχαΐας, Κεφαλληνίας & Ζακύνθου: 50-59.
- Lacey, L.A. and Brooks, W.A. 1997. *Biological techniques series – Manual of techniques in insect pathology*. Academic press, London. p:8-11.
- Li Z. Z., C. R. Li, B. Huang, M. Z. Fan (2001). "Discovery and demonstration of the teleomorph of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill., an important entomogenous fungus". *Chinese Science Bulletin* 46: 751–753.
- Lomer C.J., Bateman R.P., Johnson D.L., Langwald, J. and Thomas, M. 2001 Biological Control of Locusts and Grasshoppers. *Annual Review of Entomology* 46: 667-702.
- Luz C, Rocha LF, Nery GV, Magalhaes BP, Tigano MS. Activity of oil-formulated *Beauveria bassiana* against *Triatoma sordida* in peridomestic areas in Central Brazil Mem Inst Oswaldo Cruz, March 2004, 99(2):211-8.
- Λυκουρέσης, 1995. *Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εντόμων –εχθρών καλλιέργειών*. Πανεπιστημιακές παραδόσεις. Γεωπονικό πανεπιστήμιο Αθηνών, Αθήνα, 121 σελ.
- Manousis, T. and Moore, N.F. 1987. Cricket Paralysis Virus, a Potential Control Agent for the Olive Fruit Fly, *Dacus oleae* Gmel. In: *Applied and Environmental Microbiology*, January, p: 142-148.
- Menti H.; Wright D.J & Perry R.N., 2000. Infectivity of populations of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis megidis* in relation to temperature, age and lipid content. *Nematology*, 2(5): 515-521.
- Menti H., Wright D.J & Perry R.N., 1997. Desiccation survival of populations of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis megidis* from Greece and the UK. *Journal of Helminthology*, 71(1): 41-46.
- Menti H., Patel M.N., Wright D.J. & Perry R.N., 2003. Lipid utilisation during storage of the entomopathogenic nematodes *Steinernema feltiae* and *Heterorhabditis megidis* from Greece and the UK. *Nematology*, 5(1): 31-37
- Mietkiewski, R.T., J.K. Pell and S.J. Clark, 1997. Influence of pesticide use on the natural occurrence of entomopathogenic fungi in arable soils in the UK: Field and laboratory comparisons. *Biocontrol Science and Technology* 7: 565–575.
- McNeil, Donald G. Jr., Fungus Fatal to Mosquito May Aid Global War on Malaria, *The New York Times*, 10 June 2005
- Μιχαλάκη Μ., Αθανασίου Χ. και Μπουχέλος Κ. Αξιολόγηση της εντομοκτόνου δράσης του μύκητα *Raecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown and Smith (Deuteromycota: Hyphomycetes) και της γης διατόμων κατά του *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) σε αποθηκευμένο σιτάρι. *11^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Καρδίτσα, 11-14 Οκτωβρίου 2005*.
- Μιχαλάκη, Μ. Π., Ν. Γ. Καβαλλιεράτος, Χ. Γ. Αθανασίου, Γ. Ν. Μπαλωτής, Η. Α. Ρηγάτος, Φ. Γ. Πασχαλίδου και Υ. Α. Batta 2004. Μελέτη της συνδυασμένης δράσεως του εντομοπαθογόνου μύκητα *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) και της γης διατόμων κατά των προνυμφών του κολεοπτέρου των αποθηκευμένων προϊόντων *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). *Περίληψεις 12^{ου} Πανελληνίου Φυτοπαθολογικού Συνεδρίου, Καστοριά, 12-15 Οκτωβρίου 2004*, σελ. 148.
- Nickle, W.R and Welch H.E, 1984. Insect Nematodes. In: *Plant and Insect Nematodes*. Ed: W.R. Nickle, Marcel Dekker, Inc., New York and Basel, p: 627-650.

- Phillips, D. H. & Burdekin, D. A. (1992). *Diseases of Forest and Ornamental Trees*. Macmillan. ISBN 0-333-49493-8.
- Pinna, M., 1992., Impiego di *Verticillium lecanii* (Zimm) per il controllo biologico di *Aphis gossypii* (Glover) su cetriolo in coltura protetta. *Informatore Fitopatologico*, 10/1992: 56-58.
- Poinar Jr., G.O. and Thomas, G.M., 1978. *Diagnostic manual for the identification of insect pathogens*. E.d.: Plenum Press, N.Y. and London, p: 1-151
- Prior, C., Jollands, P. and Le Patourel, G. 1988 Infectivity of oil and water formulations of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina; Hyphomycetes) to the cocoa weevil pest *Pantorhytes plutus* (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Invertebrate Pathology* 52: 66-72.
- Prior, C., Greathead, D.J., 1989 Biological control of locusts: the potential for the exploitation of pathogens. *FAO Plant Protection Bulletin* 37: 37-48
- Roditakis E., Couzin I.D., Balrow, K., Franks, N.R. & Charnley A.K., 2000. Improving secondary pick up of insect fungal pathogen conidia by manipulating host behaviour. *Annals of Applied Biology*, 137(3): 329-335.
- Rehner, S. A., & Buckley, E. (2005). "A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs". *Mycologia* 97: 84-98.
- Rowe, Aaron Fungi Make Biodiesel Efficiently at Room Temperature, *Wired Science*, 20 August 2007
- Screen, S.E., Hu, G. and St. Leger, R. J. 2002. Transformants of *Metarhizium anisopliae* sf. *anisopliae* overexpressing chitinase from *Metarhizium anisopliae* sf. *acidum* show early induction of native chitinase but are not altered in pathogenicity to *Manduca sexta*. *Journal of Invertebrate Pathology* 78: 260-266.
- Simmonds, F. J., J. M. Franz and R. I. Sailer. 1976. History of Biological Control. Ch. 2 In Huffaker, C. B. and P. S. Messenger (eds). *Theory and Practice of Biological Control*. Academic Press, NY. 788 pp.
- Smith, J.E., Lewis, C.W., Anderson, J.G. and Solomons, G.L., 1994. *Mycotoxins in human nutrition and health*. Ed: EUR 16048 En Directorate – General, p: VIII, 138-139.
- Solomon, Eldra, Linda Berg, Diana Martin. 2002. *Biology*. Brooks/Cole.
- Steinhaus, E. A. 1949. *Principles of Insect Pathology*. McGraw-Hill Book Company, Inc., N.Y., U.S.A., p: 166-177, 228-9, 318-9, 417-421, 633-7.
- Steinhaus, E. A. 1956. Microbial control - the emergence of an idea. *Hilgardia* 26(2):107-60.
- Steinhaus, E. A. 1964. Microbial diseases of insects, In: *Biological Control of Insects Pests and Weeds*, Ed: DeBach, P., London, p: 521-2.
- Suzuki, A., S. Kuyama, Y. Kodair, and S. Tamura. 1966. Structural elucidation of destruxin A. *Agric. Biol. Chem. (Tokyo)* 30: 517-518.
- Suzuki, A., H. Taguchi, and S. Tamura. 1970. Isolation and structure elucidation of three new insecticidal cyclodepsipeptides, destruxins C and D and desmethyldestruxin B, produced by *Metarhizium anisopliae*. *Agric. Biol. Chem. (Tokyo)* 34: 813-816.
- Suzuki, A., K. Kawakami, and S. Tamura. 1971. Detection of destruxins in silkworm larvae infected with *Metarhizium anisopliae*. *Agric. Biol. Chem. (Tokyo)* 35: 1641-1643.
- Tanada, Y. 1993. *Epizootiology of infectious diseases*, In: *Insect Pathology*, Ed: Steinhaus E, Academic press, Inc, USA., p: 461-468.
- Thomas, M.H., Blandford, S 2003 Thermal biology in insect-parasite interactions. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 344-350

- Tucker D. L., C. H. Beresford, and L. Sigler, Disseminated *Beauveria bassiana* Infection in a Patient with Acute Lymphoblastic Leukemia. *Journal of Clinical Microbiology*, November 2004. 5412 - 5414.
- Τζανακάκης, Μ.Ε. 1995. *Εντομολογία*. University studio press, Θεσσαλονίκη, 385 σελ.
- Van den Bosch, R., P. S. Messenger and A. P. Gutierrez. 1982. Chapter 3 in *Biological Control*. Plenum Press, NY and Lond. pp. 21-36.
- Van Driesche, R. G. and T. S. Bellows. 1996. Chapter 1 in *Biological Control*. Chapman and Hall, NY. 539 pp.
- Welch, H.E. 1963. *Nematode Infections*. In: *Insect Pathology, An Advanced Treatise, Volume 2*, Ed: Steinhaus, E, Academic Press, London, p: 364-365.
- Werren J.H. 1997. Biology of *Wolbachia*. *Annu. Rev. Entomol.* 42: 587- 609
- Zare,R. and Gams, W. (2001). A revision of *Verticillium* sect. *Prostrata*. III. Generic classification. *Nova Hedwigia.* 72. 329-337.
- Zimmermann, G., 1986. The *Galleria* bait method for detection of entomopathogenic fungi in soil. *J. Appl. Ent.* 102: 213–215.
- Wagner, B. L., and L. C. Lewis. 2000. Colonization of corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Applied and Environmental Microbiology* 66:3468-3473.
- Welch, H.E. 1963. *Nematode Infections*. In: *Insect Pathology, An Advanced Treatise, Volume 2*, Ed: Steinhaus. E. Academic Press, London, p: 364-365.