



Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Παραδοτέο Π.4.2.1: Αποτελέσματα επιλογής σε φυσικούς εχθρούς με επιλεγμένα ΦΠ

Πληροφορίες για το έγγραφο

Αριθμός παραδοτέου: **Π.4.2.1**

Ενότητα εργασίας: **ΕΕ4**

Επικεφαλής δικαιούχος: **[ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ]**

Συγγραφείς: **[Άρης Ηλίας, Μαρία Παππά, Γιώργος Μπρούφας]**

Έκδοση: **1.1**

Είδος Παραδοτέου: **[Έκθεση]**

Ημερομηνία παράδοσης: **[31 - 12 - 2025]**

Στοιχεία Πράξης

Τίτλος: Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος

Τίτλος (EN): InnoPP-Innovations in Plant Protection for sustainable and environmentally friendly pest control

Κωδικός πράξης: ΤΑΕDR-0535675

Ακρωνύμιο έργου: InnoPP

Ημερομηνία έναρξης: 15 Μαΐου 2023

Διάρκεια: 28 Μήνες

Συντονιστής Φορέας: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Συντονιστής/ Επιστημονικός Υπεύθυνος: Ιωάννης Βόντας

Πίνακας Περιεχομένων

1	ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ	3
2	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ	4
2.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	4
2.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ	4
3	ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	16
4	ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι- Βιβλιογραφικές Αναφορές	18

Περίληψη του Έργου

Το έργο «Καινοτόμες λύσεις για τη βιώσιμη και περιβαλλοντικά φιλική φυτοπροστασία των οπωροκηπευτικών της Ελλάδας, στην Ευρώπη του μέλλοντος» στοχεύει στην ανάπτυξη σύγχρονων και καινοτόμων μεθόδων για την προστασία των καλλιεργειών όπως τα κηπευτικά, τα εσπεριδοειδή και το επιτραπέζιο σταφύλι. Περιλαμβάνει τη δημιουργία προηγμένων διαγνωστικών εργαλείων για την ανίχνευση εχθρών και παθογόνων με τεχνολογίες αιχμής, όπως ηλεκτρονικές παγίδες και βιοαισθητήρες, καθώς και πλατφόρμες αλληλούχησης για τον πλήρη προσδιορισμό των ιωμάτων. Επιπλέον, θα αναπτυχθούν μοντέλα πρόβλεψης επιδημιών και καινοτόμα βιοφυτοπροστατευτικά προϊόντα, τα οποία θα αξιολογηθούν για την ασφάλεια τους σε μη στόχους οργανισμούς. Τέλος, οι νέες τεχνολογίες θα ενσωματωθούν σε συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης φυτοπροστασίας και θα δοκιμαστούν σε πραγματικές συνθήκες, ενώ θα αξιολογηθούν οι κοινωνικοοικονομικές και περιβαλλοντικές επιπτώσεις τους.

Σύνοψη της ΕΕ4

Στην ΕΕ4 θα αναπτυχθούν δράσεις που θα ενισχύσουν την αποτελεσματικότητα της βιολογικής καταπολέμησης. Θα γίνει βελτίωση της αρμοστικότητας των ωφέλιμων αρπακτικών και ενίσχυση της δράσης τους, καθώς επίσης και αξιοποίηση της λειτουργικής βιοποικιλότητας για την ανάπτυξη καλύτερα προσαρμοσμένης βιολογικής καταπολέμησης. Θα αναπτυχθούν βελτιωμένα προϊόντα για τη βιολογική καταπολέμηση, θα διερευνηθεί η αξιοποίηση άγριων αυτοφυών φυτών για την ενίσχυση των οικοσυστημικών υπηρεσιών για την αντιμετώπιση επιβλαβών οργανισμών μέσω της βιολογικής καταπολέμησης και θα ενισχυθεί η δράση παρασιτοειδών με χρήση ουσιών φυσικής προέλευσης ή/και «ωφέλιμων ιών». Θα αναπτυχθούν βελτιωμένες μέθοδοι για

την αντιμετώπιση των εχθρών μέσω της χρήσης βακτηρίων και μικροοργανισμών. Θα αναπτυχθούν τέλος καινοτόμες μέθοδοι για την αντιμετώπιση των ζιζανίων, μέσω προσεγγίσεων αξιοποίησης της βιοποικιλότητας και καλλιεργητικών πρακτικών.

Συνοπτική παρουσίαση του παραδοτέου Π4.1.2

Σκοπός του παραδοτέου Π4.2.1 είναι να παρουσιάσει τα αποτελέσματα της έρευνας που εστιάζει στην ικανότητα των αρπακτικών ακάρεων (*Euseius stipulatus* και *Euseius finlandicus*) και εντόμων (*Nesidiocoris tenuis*) να αναπτύσσουν ανθεκτικότητα στο εντομοκτόνα/ακαερεοκτόνα καθώς και στις επιπτώσεις αυτής σε βασικά χαρακτηριστικά της βιολογίας τους.

Τα σημαντικότερα αποτελέσματα περιλαμβάνουν την δημιουργία με επιλογή στο εργαστήριο φυλής του *E. finlandicus* με αυξημένη ανθεκτικότητα σε εντομοκτόνα, και την αποτίμηση του κόστους ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε βασικές παραμέτρους της βιολογίας του αρπακτικού που σχετίζονται με την προσαρμοστική του ικανότητα εστιάζοντας σε δημογραφικές παραμέτρους ανάπτυξης των πληθυσμών του. Διαπιστώθηκε ότι η αύξηση της αντοχής κατά περίπου 3,5 φορές σε πέντε κύκλους επιλογής δεν επηρέασε βασικές παραμέτρους της βιολογίας που καθορίζουν την ενδογενή ταχύτητα αύξησης (r_m). Επιπλέον, σε συμπληρωτικές δοκιμές αποτίμησης της τοξικότητας 13 διαφορετικών δραστικών ουσιών διαπιστώθηκε ότι ο επιλεγμένος ανθεκτικός πληθυσμός του θηρευτή, παρουσίασε αυξημένη ανθεκτικότητα σε τρεις ακόμη δραστικές ουσίες στις οποίες δεν είχε εκτεθεί, υποδεικνύοντας τη δυνατότητα αξιοποίησης του πληθυσμού στην ανάπτυξης αποτελεσματικότερων και πιο βιώσιμων στρατηγικών συνδυαστικά με τη χημική καταπολέμηση. Στο αρπακτικό έντομο *N. tenuis* οι εργαστηριακές επιλογές για έξι γενεές με τα εντομοκτόνα abamectin και flupyradifurone δεν οδήγησαν σε μικρή αύξηση της ανθεκτικότητας, (2,2 και 1,4 φορές αντίστοιχα), σε σχέση με τον πατρικό πληθυσμό από τον οποίο προήλθαν, υποδεικνύοντας ότι τα δύο αυτά σκευάσματα δεν άσκησαν ισχυρή εξελικτική πίεση υπό τις εφαρμοζόμενες συνθήκες. Στο αρπακτικό άκαρι *E. stipulatus* η αξιολόγηση εννέα δραστικών ουσιών ανέδειξε εξαιρετικά υψηλή θνησιμότητα με abamectin, pyridaben και spirotetramat, ενώ τα υπόλοιπα σκευάσματα εμφάνισαν από χαμηλή έως μηδενική δράση. Η καθαρή αυτή διαφοροποίηση δεν επέτρεψε την επιλογή σκευασμάτων για περαιτέρω εργαστηριακή επιλογή, ωστόσο τα δεδομένα παρέχουν σαφείς ενδείξεις για την επιλεκτικότητά τους.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Ανάμεσα στις πιο υποσχόμενες προσεγγίσεις της IPM συγκαταλέγεται η ενίσχυση των πληθυσμών ωφέλιμων αρπακτικών ακάρεων, κυρίως της οικογένειας *Phytoseiidae*, σε συνδυασμό με τη χρήση εκλεκτικών εντομοκτόνων. Ενδεικτικό παράδειγμα αποτελεί το αρπακτικό άκαρεα *Euseius finlandicus* (σημαντικός φυσικός εχθρός του *Panonychus ulmi* στη ροδακινιά) και *Euseius stipulatus* (σημαντικός φυσικός εχθρός των *Panonychus citri* και *Tetranychus urticae* στα εσπεριδοειδή) και το αρπακτικό έντομο *N. tenuis* (σημαντικός φυσικός εχθρός των αλευρωδών στη τομάτα). Τα παραπάνω είδη απαντώνται σε δένδρωδες καλλιέργειες και καλλιέργειες κηπευτικών όπου η χρήση

εκλεκτικών εντομοκτόνων για τη διαχείριση σημαντικών εντομολογικών εχθρών θα επέτρεπε μέσω της προστασίας των πληθυσμών τους, την ταυτόχρονη βιολογική καταπολέμηση των φυτοφάγων εχθρών. Απουσία εκλεκτικών εντομοκτόνων ο παραπάνω συνδυασμός της χημικής με τη βιολογική καταπολέμηση μπορεί να επιτευχθεί με την αναζήτηση και τον εντοπισμό φυσικών πληθυσμών αρπακτικών που έχουν ήδη αναπτύξει ανθεκτικότητα σε ορισμένες δραστικές ουσίες, ή εναλλακτικά με τη δημιουργία και αξιοποίηση ανθεκτικών πληθυσμών με επιλογή στο εργαστήριο. Ωστόσο, ένα κρίσιμο ζήτημα στην αξιοποίηση της παραπάνω ανθεκτικότητας ανεξάρτητα του τρόπου ανάπτυξης αυτής, αφορά το ενδεχόμενο κόστος προσαρμογής (fitness cost) που συχνά τη συνοδεύει. Σε πολλές περιπτώσεις, η αυξημένη ανθεκτικότητα σε φυτοπροστατευτικές ουσίες ή φυτικούς αμυντικούς μηχανισμούς ενδέχεται να συνεπάγεται μειωμένη αναπαραγωγική ή προσαρμοστική ικανότητα του επιλεγμένου πληθυσμού. Για τον λόγο αυτό, είναι απαραίτητο οι ανθεκτικοί πληθυσμοί να αξιολογούνται συστηματικά πριν από την εξαπόλυσή τους στο πεδίο, ώστε να διασφαλίζεται η αποτελεσματικότητα και η σταθερότητά τους σε πραγματικές συνθήκες καλλιέργειας.

Ο σκοπός του παρόντος εγγράφου είναι η παρουσίαση των αποτελεσμάτων του παραδοτέου Π4.2.1, αξιολογήθηκε η τοξικότητα επιλεγμένων ευρέως χρησιμοποιούμενων φυτοπροστατευτικών στα ωφέλιμα και η ικανότητα τους να αναπτύσσουν ανθεκτικότητα μέσω εργαστηριακής επιλογής. Παράλληλα, συγκρίνονται βασικά χαρακτηριστικά της βιολογίας ανθεκτικών και ευαίσθητων πληθυσμών, ώστε να εκτιμηθούν οι πιθανές συνέπειες της ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε παραμέτρους που διαμορφώνουν την αρμοστικότητα πληθυσμών του θηρευτή. Τα ευρήματα συμβάλλουν στη βελτιστοποίηση στρατηγικών ολοκληρωμένης διαχείρισης.

Το παρόν έγγραφο **ακολουθεί την παρακάτω δομή:**

- 1. Εισαγωγή και Στόχοι:** Παρουσιάζεται το πλαίσιο της έρευνας και οι στόχοι του εγγράφου.
- 2. Περιγραφή των Εργασιών:** 2.1. Υλικά και Μέθοδοι, 2.2. Αποτελέσματα και Συζήτηση.
- 3. Σύνοψη και Συμπεράσματα:** Βασικά ευρήματα της έρευνας και σχετικά συμπεράσματα.
- 4. Παράρτημα:** Βιβλιογραφικές αναφορές.

2 ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ

2.1 Υλικά και Μέθοδοι

Euseius finlandicus

Για τη διεξαγωγή των βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκαν φύλλα από φυτά φασολιάς (*Phaseolus vulgaris* L.). Σε πλαστικές λεκάνες, με τρύπες στη βάση τους για την απορροή της περίσσιας υγρασίας, τοποθετούνταν ένα στρώμα περλίτη. Επάνω από αυτό τοποθετούταν ένα στρώμα τύρφης. Στη συνέχεια επάνω στην τύρφη τοποθετούταν 50

σπόροι φασολιού. Για την κάλυψη των σπόρων φασολιού χρησιμοποιούνταν ένα δεύτερο στρώμα περλίτη επιφανειακά. Μετά τη σπορά γινόταν εφαρμογή του μυκητοκτόνου Previcur Energy SL στη συνιστώμενη δόση εφαρμογής, που έχει δραστικές ουσίες το propanoicarb 53% β/ο και το foseetyl 31% β/ο. Τα φυτά αναπτύσσονταν σε σταθερή θερμοκρασία $25 \pm 2^\circ\text{C}$ και φωτοπερίοδο 16:8 (Φ:Σ). Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν τα δύο πρώτα πραγματικά φύλλα.

Αποικίες αρπακτικών ακάρεων

Μέλη της ομάδας του έργου πραγματοποίησαν συλλογή αρπακτικών ακάρεων του είδους *E. finlandicus* από διάφορες περιοχές της Βόρειας Ελλάδας και από διαφορετικούς ξενιστές. Εγκαταστάθηκαν 4 πληθυσμοί του ακάρεως από εμπορικούς οπωρώνες στις περιοχές Όρμα (Πέλλα) και Νάουσα (Ημαθία) και ένας από καλλωπιστικά δέντρα στην Ορεστιάδα (Έβρος). Ο πληθυσμός της Ορεστιάδας εκτιμάται ότι δεν είχε εκτεθεί σε κάποια εντομοκτόνο ή ακαρεοκτόνο δραστική ουσία, και χρησιμοποιήθηκε ως ο ευαίσθητος πληθυσμός αναφοράς.

Οι πληθυσμοί διατηρούνταν στο εργαστήριο σε ελεγχόμενες συνθήκες $25 \pm 2^\circ\text{C}$, σχετική υγρασία $60 \pm 15\%$ και φωτοπερίοδο 16:8. Οι αρένες εκτροφής περιλάμβαναν φύλλα φασολιάς που βρίσκονταν σε επαφή με υγρό βαμβάκι μέσα σε πλαστικό κύπελο με νερό. Ως τροφή χρησιμοποιήθηκε γύρη από το φυτό *Typha angustifolia* L..

Εντομοκτόνο (pirimicarb)

Το φυτοπροστατευτικό προϊόν που χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να μελετηθεί η ανθεκτικότητα των ατόμων των πληθυσμών ακάρεων του είδους *E. finlandicus* στη δραστική ουσία pirimicarb, ήταν το εμπορικό σκεύασμα Pirimor 50 WG. Το Pirimor 50 WG είναι εκλεκτικό εντομοκτόνο επαφής και στομάχου και περιλαμβάνει τη δραστική ουσία pirimicarb σε περιεκτικότητα 50% w/w.

Υπολογισμός LC₅₀

Προκειμένου να διερευνηθεί η παραλλακτικότητα μεταξύ των πληθυσμών του *E. finlandicus* ως προς την αντοχή τους στο pirimicarb υπολογίστηκαν οι τιμές της LC₅₀ για τη δραστική ουσία και για κάθε πληθυσμό. Για τον σκοπό αυτό η βιοδοκιμές περιλάμβαναν την εμφάνιση κυκλικών δίσκων φύλλων φασολιάς διαμέτρου 5cm σε διάλυμα το pirimicarb σε σειρά διαφορετικών συγκεντρώσεων. Οι δακτύλιοι αφού στέγνωσαν τοποθετήθηκαν σε βαμβάκι σε επαφή με νερό με την πάνω πλευρά τους να εφάπτεται με το βαμβάκι. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκε γύρη από του φυτού *T. angustifolia* ως τροφή και 15 νεαρά ενήλικα θηλυκά άτομα (ηλικίας 5-7 ημερών) του αρπακτικού ανά δακτύλιο. Μετά από 24 ώρες καταγράφηκε η θνησιμότητα του αρπακτικού στις διαφορετικές δόσεις. Με βάση τα αποτελέσματα υπολογίστηκαν οι καμπύλες δόσης-θνησιμότητας και οι τιμές LC₅₀ των υπό αξιολόγηση πληθυσμών του ακάρεως.

Επιλογή ανάπτυξης ανθεκτικών πληθυσμών του *E. finlandicus*

Από τους αρχικούς πληθυσμούς του ακάρεως που συλλέχθηκαν από τον αγρό, ο πληθυσμός της Νάουσας με την υψηλότερη τιμή LC₅₀ χρησιμοποιήθηκε ως πληθυσμός εκκίνησης για την επιλογή αύξησης της ανθεκτικότητας στο pirimicarb σε διαδοχικούς κύκλους επιλογής. Η ένταση/πίεση της επιλογής σε κάθε κύκλο ρυθμιζόνταν με τη

βοήθεια προκαταρκτικών βιοδοκιμές ως δόση επιλογής να χρησιμοποιείται σε κάθε κύκλο αυτή που θα προκαλούσε θνησιμότητα περίπου στο 80% του πληθυσμού. Ως στάδιο έκθεσης του αρπακτικού χρησιμοποιήθηκε αυτό του νεαρού ενήλικου θηλυκού. Η διαδικασία επιλογής περιλάμβανε τη χρήση φύλλων φασολιάς ως αρένων επιλογής που εμβαπτιζόνταν στη δόση επιλογής του pirimicarb για 5 δευτερόλεπτα και στη συνέχεια μεταφέρονταν σε διηθητικό χαρτί για να στεγνώσουν (περίπου για 15 λεπτά). Στη συνέχεια τα φύλλα, τοποθετούνταν σε επαφή υγρό βαμβάκι για διατήρηση της υγρασίας του φύλλου με την πάνω επιφάνεια του να εφάπτεται με το βαμβάκι. Σε κάθε φύλλο μεταφέρονταν 25 νεαρά ενήλικα θηλυκά άτομα ηλικίας 5-7 ημερών του ακάρεος μαζί με μικρή ποσότητα γύρης *T. angustifolia*. Μετά από 24 ώρες καταγραφόταν το ποσοστό θνησιμότητας και τα ζωντανά άτομα μεταφέρονταν σε νέα αρένα για την αποτελέσουν τη βάση για την ανάπτυξη της πρώτης γενεάς επιλογής (Strain1 ή S1). Για την S1 γενεά ακολούθησαν νέες βιοδοκιμές, με υπολογισμός της LC_{50} και στη συνέχεια, νέος κύκλος επιλογής με έκθεση σε νωπά υπολείμματα του pirimicarb που προκαλούσαν θνησιμότητα μεγαλύτερη ή ίση με 80% με σκοπό τη δημιουργία της επόμενης επιλεγμένης γενεάς S2. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε σε έξι διαδοχικού κύκλους επιλογής αν και ήδη μετά τον τρίτο κύκλο δεν καταγράφηκε σημαντική μεταβολή στην τιμή της LC_{50} . Σε κάθε κύκλο επιλογής τουλάχιστον 500 άτομα του ακάρεως εκτέθηκαν στον παράγοντα επιλογής (νωπά υπολείμματα του εντομοκτόνου).

Υπολογισμός της ενδογενούς ταχύτητας αύξησης (r_m)

Ως δείκτης της αρμοστικής ικανότητας του ακάρως και πώς αυτή επηρεάστηκε στην πορεία ανάπτυξης ανθεκτικότητας μέσα από τους διαδοχικούς κύκλους επιλογής χρησιμοποιήθηκε η τιμή της ενδογενούς ταχύτητας αύξησης (r_m). Για τον υπολογισμό της ενδογενούς ταχύτητας αύξησης, ως αρένες βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκαν δίσκοι φύλλων φασολιάς διαμέτρου 3 cm σε επαφή με βρεγμένο βαμβάκι εντός τρυβλίου Petri διαμέτρου 5 cm. Πάνω σε κάθε δακτύλιο τοποθετήθηκε ένα αυγό ηλικίας <12 ωρών και γύρη του φυτού *T. angustifolia* ως τροφή. Ακολούθησε παρατήρηση και καταγραφή της επιβίωσης και του σταδίου ανήλικης ανάπτυξης του ακάρεως, κάθε 12 ώρες από την τοποθέτηση του αυγού έως και την ενηλικίωση του ατόμου. Αμέσως μετά την ενηλικίωση των ακάρεων έγινε καταγραφή της αναλογίας φύλου και τα άτομα μεταφέρθηκαν σε νέους δακτυλίους ανά ζεύγη (ένα θηλυκό και ένα αρσενικό άτομο). Ακολούθησε καταγραφή της επιβίωσης τους και της ωοτοκίας των θηλυκών ατόμων ανά 24 ώρες για τις πρώτες 10 ημέρες ωοτοκίας (το διάστημα προωοτοκίας ήταν 1-2 ημέρες). Τα αυγά που απόθεσε κάθε θηλυκό συλλέγονταν καθημερινά και μεταφέρθηκαν σε νέες αρένες εκτροφής, επιθεωρούνταν καθημερινά μέχρι την ενηλικίωση και στη συνέχεια καταγράφονταν η αναλογία φύλου των απογόνων. Ο υπολογισμός της ενδογενούς ταχύτητας αύξησης (r_m) του ακάρεως προέκυψε από την εξίσωση:

$r_m = (\text{καθαρός ρυθμός αναπαραγωγής}) \times \exp((-r_m) \times (\text{χρονική περίοδος από αυγό σε αυγό})), \text{ όπου καθαρός ρυθμός αναπαραγωγής} = (\text{μέγιστος ρυθμός ωοτοκίας}) \times (\text{επιβίωση κατά τη χρονική περίοδο από αυγό σε αυγό}) \times (\text{αναλογία φύλου}).$

Τοξικότητα επιλεγμένων εντομοκτόνων

Σε μια τελευταία ενότητα πειραμάτων αξιολογήθηκε η τοξικότητα σειράς εμπορικά διαθέσιμων εντομοκτόνων τόσο στο αρχικό πληθυσμό του *E. finlandicus* S0 όσο και

στον ανθεκτικό S6που προέκυψε μετά τη συμπλήρωση έξι διαδοχικών κύκλων επιλογής. Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκε κατάλληλα τροποποιημένο το σχετικό πρωτόκολλο του IOBC (International Organization for Biological Control) για τον υπολογισμό του συνολικού συντελεστή τοξικής δράσης (%E). Συγκεκριμένα, ως αρένες βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκαν δίσκοι φύλλων φασολιάς (*Phaseolous vulgaris* L.) διαμέτρου 5 cm οι οποίοι εμβάπτιστηκαν σε διάλυμα στη μέγιστη συνιστώμενη δόση εφαρμογής κάθε δραστικής ουσίας. Οι δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν ήταν οι: flonicamid, pirimicarb, fatty acid potassium salt, flupyradifurone, abamectin, deltamethrin, pyriproxyfen, difenoconazole, acetamiprid, boscalid + pyraclostrobin και tau-fluvalinate (στις μεταχειρίσεις του μάρτυρα η εμβάπτιση γίνονταν σε νερό). Οι δακτύλιοι αφού στέγνωσαν τοποθετούνταν σε βαμβάκι σε επαφή με νερό με την πάνω πλευρά τους να εφάπτεται με το βαμβάκι. Στη συνέχεια, σε κάθε δακτύλιο μεταφέρονταν γύρη (*T. angustifolia*) και 15 πρωτονύμφες του αρπακτικού ακάρεως. Καθημερινά γινόταν καταγραφή της επιβίωσης των ατόμων, ενώ μετά την ενηλικίωσή τους καταγραφόταν η αναλογία φύλου, η ωοπαραγωγή και ο αριθμός νεαρών προνυμφών την 1η, 3η, 5η και 7η ημέρα μετά την ενηλικίωση των αρπακτικών. Μετά από κάθε μέτρηση απομακρύνονταν οι νεαρές προνύμφες και τα νεκρά άτομα. Με βάση τις μετρήσεις υπολογίστηκε το αθροιστικό ποσοστό θνησιμότητας. Σε όλες τις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκε ο τύπος της διορθωμένης θνησιμότητας βάσει της παρατηρούμενης θνησιμότητας στο μάρτυρα.

Με βάση τα παραπάνω στοιχεία υπολογίστηκε ο συντελεστής της συνολικής τοξικής δράσης (%E) για κάθε εντομοκτόνο:

$$E=100\%-(100\%-M)\times R_t / R_c$$

όπου M η διορθωμένη θνησιμότητα και R_t και R_c ο μέσος συνολικός αριθμός απογόνων ανά θηλυκό άτομο στις διαφορετικές μεταχειρίσεις και το μάρτυρα, αντίστοιχα. Για την κατάταξη των δραστικών ουσιών σε κλάσεις τοξικότητας χρησιμοποιήθηκε η σχετική κλίμακα που προτείνεται από τον IOBC.

Nesidiocoris tenuis

Στο *N. tenuis* αρχικά διενεργήθηκαν τοξικολογικές δοκιμές σε 4 φυσικούς πληθυσμούς του είδους. Η επίδραση της τοξικότητας αξιολογήθηκε με την μέθοδο της εμβάπτισης φύλλων (leaf dip). Πραγματοποιήθηκαν τοξικολογικές βιοδοκιμές με τα ακαρεοκτόνα/εντομοκτόνα abamectin (Vertimec 18EC), flupyradifurone (Sivanto Prime 200SL) και spiromesifen (Oberon 200SC) χρησιμοποιώντας διαγνωστικές συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής (RD): 18, 200, 144 ppm αντίστοιχα. Αναλυτικότερα, φύλλα τομάτας (το κορυφαίο μερίστωμα και δύο πλήρως ανεπτυγμένα φύλλα) εμβάπτιστηκαν σε 100ml διαλύματος των υπό διερεύνηση σκευασμάτων, ενώ στην επέμβαση του μάρτυρα τα φύλλα εμβάπτιστηκαν σε επιονισμένο νερό. Εν συνεχεία τα εμβάπτιση φύλλα τοποθετήθηκαν σε αυτοσχέδιους κλωβούς από πλαστικό ποτήρι με τρύπα στη μέση του πάτου του ποτηριού, προκειμένου οι μίσχοι των φύλλων να είναι βυθισμένοι σε νερό προς διατήρηση της ευρωστίας τους). Ακολούθως στους κλωβούς προστέθηκαν ενήλικα (για τα abamectin και flupyradifurone) και νύμφες (spiromesifen) *N. tenuis*. Το πάνω μέρος του κλωβού καλύφθηκε με ένα κομμάτι τούλι προκειμένου να επιτρέπεται ο αερισμός και ωά *Ephestia kuehniella* χορηγήθηκαν ως πηγή τροφής.

Σε κάθε κλωβό βιοδοκιμής τοποθετήθηκαν δέκα άτομα *N. tenuis* και πραγματοποιήθηκαν τουλάχιστον 3 επαναλήψεις ανά επέμβαση. Οι πειραματικοί κλωβοί τοποθετήθηκαν σε δωμάτιο με ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας (25 ± 0.5 °C), σχετικής υγρασίας (60%) και φωτοπεριόδου 16:8 (L:D). Η καταμέτρηση της θνησιμότητας πραγματοποιήθηκε μετά από 72 ώρες.

Εν συνεχεία για τον πιο ανθεκτικό πληθυσμό (Nt762) στα σκευάσματα abamectin και flupyradifurone διενεργήθηκαν εργαστηριακές επιλογές έξι γενεών στην συνιστώμενη συγκέντρωση εφαρμογής με την μεθοδολογία που περιγράφεται παραπάνω. Μετά το πέρας των εργαστηριακών επιλογών πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμες δόσης απόκρισης (full dose) και καταγράφηκε ο Συντελεστής Ανθεκτικότητας (ΣΑ) σε σύγκριση με τον πατρικό πληθυσμό που προήλθαν με το πρόγραμμα PoloPC.

Euseius stipulatus

Στο *E. stipulatus* στις τοξικολογικές δοκιμές χρησιμοποιήθηκε φυσικός πληθυσμός του αρπακτικού ακάρεος που ήταν διαθέσιμος στο εργαστήριο (αποστολή από εργαστήριο Εντομολογίας ΔΠΘ). Πραγματοποιήθηκαν τοξικολογικές βιοδοκιμές με τα ακαρεοκτόνα/εντομοκτόνα abamectin (Vertimec 18EC), pyridaben (Nexter 10SC), pyriproxifen (Admiral 10 EC), acequinocyl (Canemite 15SC), acetamiprid (Profil 20SG), cyflumetofen (Nealta 20SC), fenpyroximate (Kento 5.12SC), spirotetramat (Movento 1500D) και hexythiazox (Nissorun 25SC). χρησιμοποιώντας διαγνωστικές συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής (RD): 18, 200, 75, 196.8, 50, 100, 102.4, 90, 75ppm αντίστοιχα. Για τα abamectin, pyridaben, pyriproxifen, acequinocyl, acetamiprid, cyflumetofen, και fenpyroximate πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές ενηλίκων χρησιμοποιώντας 25 θηλυκά άτομα 2–3 ημερών, τα οποία μεταφέρθηκαν στην άνω επιφάνεια τετράγωνων δίσκων φύλλων εσπεριδοειδών (9 cm^2) τοποθετημένων πάνω σε υγρό βαμβάκι. Για τις βιοδοκιμές με τα hexythiazox και spirotetramat 20 ενήλικα θηλυκά εναποτέθηκαν για να ωτοκλήσουν σε δίσκο φύλλου για 24 ώρες και η εφαρμογή με τα σκευάσματα έγινε στο στάδιο του ωού ή της λάρβας αντίστοιχα. Η εφαρμογή στους φυλικούς δίσκους εφαρμόστηκε ψεκασμός ψεκάστηκαν με 1 ml ψεκαστικού υγρού σε πίεση 1 bar με τη συσκευή Potter Spray Tower (Burkard Scientific, UK), ώστε να επιτευχθεί ομοιόμορφη κατανομή του ψεκαστικού υγρού. Μετά τον ψεκασμό, οι δίσκοι φύλλων τοποθετήθηκαν σε συνθήκες $25 \pm 0,5$ °C, 60% σχετική υγρασία και φωτοπερίοδο 16:8 h (φως:σκότος). Τρεις επαναλήψεις εφαρμόστηκαν ανά δόση και ως μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε αποϊονισμένο νερό.

Η θνησιμότητα αξιολογήθηκε μετά από 72 ώρες για τα ακμαιοκτόνα. Τα ενήλικα ακάρεα θεωρήθηκαν ζωντανά εάν μπορούσαν να περπατήσουν απόσταση διπλάσια του σωματικού τους μήκους. Στη βιοδοκιμή με τα hexythiazox και spirotetramat νεκρά θεωρήθηκαν τα ακάρεα διαφορετικού αναπτυξιακού σταδίου από τον μάρτυρα (νερό) κατά την καταμέτρηση (7-10 ημέρες μετά την εφαρμογή).

2.2 Αποτελέσματα και Συζήτηση

Euseius finlandicus

Από την ανάλυση των δεδομένων προέκυψαν σαφείς διαφοροποιήσεις μεταξύ των πληθυσμών του *E. finlandicus* ως προς την ευαισθησία τους στη δραστική ουσία pirimicarb. Από τους πέντε πληθυσμούς που αρχικά συλλέχθηκαν και εξετάστηκαν, δύο

παρουσίασαν ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τις εργαστηριακές βιοδοκιμές και τη συνέχιση των πειραμάτων: ο πληθυσμός Νάουσας, ο οποίος εμφάνισε τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα, και ο πληθυσμός Ορεστιάδας, που χρησιμοποιήθηκε ως ευαίσθητος πληθυσμός αναφοράς, καθώς προήλθε από καλλωπιστικά φυτά χωρίς ιστορικό χημικών επεμβάσεων (Πίνακας 4.2.1-1).

Η ανάλυση των καμπυλών δόσης - θνησιμότητας έδειξε σημαντικές διαφορές στις τιμές LC_{50} μεταξύ των πληθυσμών (Πίνακας 4.2.1-1). Συγκεκριμένα, ο πληθυσμός Νάουσας παρουσίασε την υψηλότερη τιμή LLC_{50} (123,27 ppm), η οποία ήταν σχεδόν διπλάσια από εκείνη των πληθυσμών Όρμα 1, Όρμα 2, Όρμα 3 και Ορεστιάδας, για τους οποίους οι σχετικές τιμές κυμάνθηκαν μεταξύ 53,6–66,9ppm. Οι διαφορές αυτές είναι στατιστικώς σημαντικές, γεγονός που επιβεβαιώνει την ύπαρξη αυξημένης ανθεκτικότητας του πληθυσμού Νάουσας στη δραστική ουσία pirimicarb. Ο πληθυσμός αυτός χρησιμοποιήθηκε στην συνέχεια στο πρόγραμμα επιλογής για περαιτέρω αύξηση της αντοχής στο pirimicarb. Αντίθετα, οι τρεις πληθυσμοί της Όρμας και ο πληθυσμός της Ορεστιάδας παρουσίασαν παρόμοια επίπεδα ευαισθησίας, χωρίς στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους.

Πίνακας 4.2.1-1: Τιμές LC_{50} της δραστικής ουσίας pirimicarb στους διαφορετικούς πληθυσμούς του *Euseius finlandicus*.

Πληθυσμός	N ¹	Slope (\pm SE)	LC_{50} (ppm) (95% CL)	df	χ^2
Naousa	448	2,220 (\pm 0,179)	123,267 (103,411 - 145,743) a ²	5	8,439
Orma 1	448	1,787 (\pm 0,171)	56,733 (44,274 - 70,058) b	5	3,375
Orma 2	452	1,520 (\pm 0,153)	53,627 (39,696 - 68,467) b	5	6,013
Orma 3	443	1,810 (\pm 0,167)	66,889 (52,757 - 82,155) b	5	4,205
Orestiada	446	1,718 (\pm 0,161)	65,901 (51,423 - 81,554) b	5	4,945

¹ Αριθμός ατόμων που ελέγχθηκαν; ² Τιμές στην ίδια στήλη που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό δέν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά βάσει των σχετικών ορίων εμπιστοσύνης

Επιλογές ατόμων για αύξηση της ανθεκτικότητας

Μετά από έκθεση των ενήλικων θηλυκών ατόμων *E. finlandicus* στη δόση της δραστικής ουσίας pirimicarb που προκάλεσε περίπου το 80% (LC_{80}) θνησιμότητας επιλεγόταν η επόμενη γενεά. Στον Πίνακα 4.2.1-2 παρουσιάζονται οι δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε κύκλο επιλογής.

Πίνακας 4.2.1-2: Ποσοστό επιβίωσης ατόμων *Euseius finlandicus* διαδοχικών γενεών μετά από έκθεση τους σε LC_{80} του pirimicarb για την επιλογή επόμενης γενεάς.

Πληθυσμός	N ¹	Δόση Έκθεσης	Ποσοστό Ζωντανών Ατόμων
-----------	----------------	--------------	-------------------------

	(ppm)	(%)
Naousa S ₀	480 375	24,16
Naousa S ₁	454 400	21,14
Naousa S ₂	454 500	23,12
Naousa S ₃	454 600	24,66
Naousa S ₄	454 650	14,75
Naousa S ₅	477 725	12,58

¹ Αριθμός ατόμων που ελέγχθηκαν;

Η ανάλυση των καμπυλών δόσης-θνησιμότητας (Εικόνα 4.2.1-1) έδειξε συστηματική αύξηση των τιμών LC₅₀ με την πρόοδο των κύκλων επιλογής, γεγονός που επιβεβαιώνει την αποτελεσματικότητα της διαδικασίας τεχνητής επιλογής. Η αρχική τιμή LC₅₀ του πληθυσμού S₀ (123,3 ppm) αυξήθηκε προοδευτικά σε 398,9 ppm στην έκτη επιλεγμένη γενεά (S₆), αντιστοιχώντας σε αύξηση κατά 3,24 φορές σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό (Πίνακας 4.2.1-3).

Πίνακας 4.2.1-3: Τιμές LC₅₀ της δραστικής ουσίας pirimicarb στις επιλεγμένες γενεές του *Euseius finlandicus*

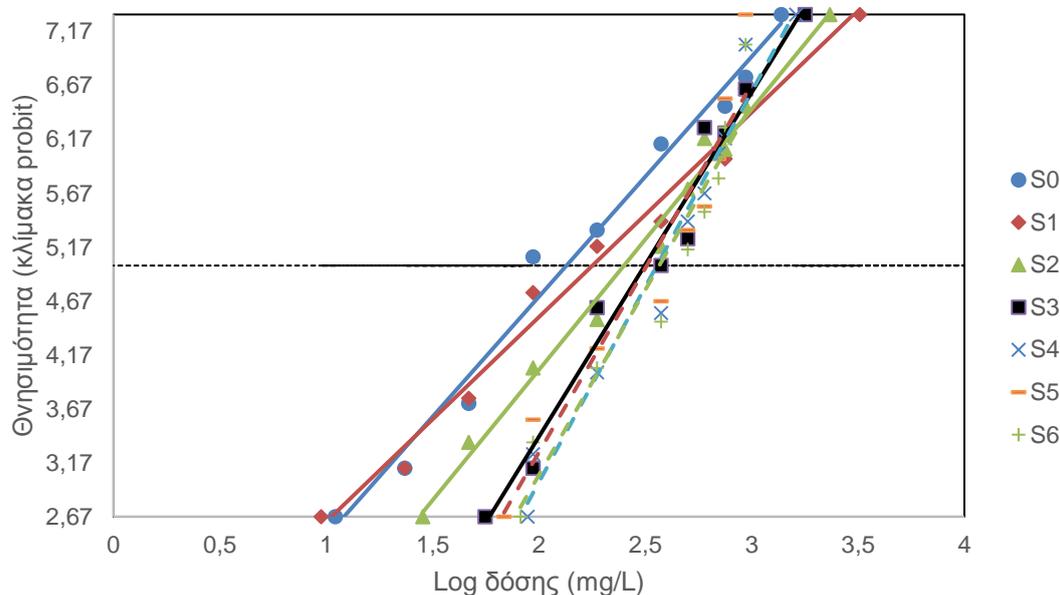
Πληθυσμός	N ¹	Slope (±SE)	LC ₅₀ (ppm) (95% CL)	df	χ ²	Resistance Ratio
Naousa S ₀	480	2,220 (±0,179)	123,267 (103,411 - 145,743) c ²	5	8,43	1
Naousa S ₁	480	1,838 (±0,156)	174,611 (144,685 - 209,947) c	5	7,05	1,42
Naousa S ₂	540	2,432 (±0,196)	257,135 (221,976 - 294,068) b	6	5,01	2,08
Naousa S ₃	480	3,092 (±0,277)	315,311 (228,357 - 401,332) ab	5	13,77	2,56
Naousa S ₄	540	3,687 (±0,315)	377,802 (340,537 - 413,898) a	6	10,58	3,07
Naousa S ₅	540	3,281 (±0,275)	350,668 (255,483 - 441,492) ab	6	21,94	2,84
Naousa S ₆	540	3,381 (±0,289)	398,920 (303,301 - 492,785) a	6	20,41	3,24

¹ Αριθμός ατόμων που ελέγχθηκαν; ² Τιμές στην ίδια στήλη που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά βάσει των σχετικών ορίων εμπιστοσύνης.

Η μεγαλύτερη αύξηση καταγράφηκε στους πρώτους τέσσερις κύκλους επιλογής (S₁–S₄), ενώ μετά την τέταρτη γενεά η ανθεκτικότητα του πληθυσμού εμφάνισε σταθεροποίηση, καθώς οι τιμές LC₅₀ των γενεών S₄–S₆ δεν διέφεραν στατιστικώς σημαντικά. Οι κλίσεις (slope) των καμπυλών θνησιμότητας παρουσίασαν σταδιακή αύξηση, γεγονός που υποδηλώνει ομογενοποίηση του πληθυσμού ως προς την ανθεκτικότητα, ένδειξη ότι, μετά από επαναλαμβανόμενους κύκλους επιλογής, το χαρακτηριστικό σταθεροποιήθηκε γενετικά (Πίνακας 4.2.1-3, Εικόνα 4.2.1-1).

Η αύξηση του Resistance Ratio (RR= 3,24) υποδεικνύει μέτρια, αλλά ουσιαστική ενίσχυση της ανθεκτικότητας, η οποία θα μπορούσε να έχει πρακτική σημασία σε προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης εφόσον συνοδεύεται από διατήρηση της

βιολογικής αρμοστικότητα (fitness) του πληθυσμού.



Εικόνα 4.2.1-1: Καμπύλες Log δόσης – θνησιμότητας στη δραστική ουσία pirimicarb για τους επιλεγμένους πληθυσμούς του *Euseius finlandicus*

Ενδογενής ταχύτητα αύξησης (r_m) στις επιλεγμένες γενεές

Μελετώντας διάφορες δημογραφικές παραμέτρους ανάμεσα στις επιλεγμένες ανθεκτικές γενεές του *E. finlandicus* και συγκρίνοντας τες τόσο μεταξύ τους, όσο και με τις αντίστοιχες παραμέτρους της αρχικής γενεάς, παρατηρήθηκε ότι οι επιλογές στις περισσότερες περιπτώσεις δεν προκάλεσαν σημαντική επίδραση σε στοιχεία βιολογίας, του ακάρεος.

Η διάρκεια της ανήλικης ανάπτυξης παρέμεινε σταθερή στις περισσότερες γενεές και μετά την επιλογή σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό (S_0). Η μοναδική εξαίρεση παρατηρήθηκε στη γενεά S1, όπου καταγράφηκε μικρότερη διάρκεια ανάπτυξης (4,63 ημέρες έναντι 4,96 στην S0). Από τη S2 και μετά, οι τιμές δεν εμφάνισαν στατιστικά σημαντικές διαφορές, γεγονός που υποδηλώνει ότι η διαδικασία επιλογής για ανθεκτικότητα δεν είχε συστηματική επίδραση στο ταχύτητα ανάπτυξης του ακάρεος (Πίνακας 4.2.1-4).

Πίνακας 4.2.1-4: Συνολική διάρκεια ανήλικης ανάπτυξης (ημέρες) των διαφορετικών επιλεγμένων πληθυσμών *Euseius finlandicus*

Πληθυσμός	Διάρκεια ανήλικης ανάπτυξης		t	df	P
	S_v	S_0			
Naousa S ₁	4,63 a ¹ ± 0,06	4,96 b ± 0,06	-3,866	114	<0,001
Naousa S ₂	4,98 a ± 0,04	4,95 a ± 0,04	0,482	107	0,316
Naousa S ₃	4,99 a ± 0,01	5,00 a ± 0,03	-0,460	110	0,323
Naousa S ₄	5,04 a ± 0,03	5,03 a ± 0,02	0,349	113	0,364
Naousa S ₅	5,06 a ± 0,03	5,06 a ± 0,02	0	110	0,500

Naousa S₆ 5,05 a ± 0,02 5,03 a ± 0,02 1,011 109 0,157

¹ Μέσοι όροι στην ίδια γραμμή που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (t-test, $P > 0,05$).

Τα ποσοστά ενηλικίωσης διατηρήθηκαν σε υψηλά επίπεδα μετά από όλους τους κύκλους επιλογής (90–98,3%), χωρίς στατιστικά σημαντικές διαφορές από τον αρχικό πληθυσμό (Πίνακας 4.2.1-5).

Πίνακας 4.2.1-5: Ποσοστό ενηλικίωσης (%) του *Euseius finlandicus*

Πληθυσμός	Ποσοστό ενηλικίωσης	
	S _v	S ₀
Naousa S ₁	98,33% a ¹	95,00% a
Naousa S ₂	90,00% a	91,67% a
Naousa S ₃	90,00% a	96,67% a
Naousa S ₄	93,33% a	98,33% a
Naousa S ₅	93,33% a	93,33% a
Naousa S ₆	93,33% a	91,67% a

¹ Ποσοστά στην ίδια γραμμή που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (χ^2 test, $P > 0,05$).

Η επιβίωση των ατόμων του *E. finlandicus* μετά την ενηλικίωση παρέμεινε επίσης σταθερά υψηλή (84–92%). Οι διαφορές που παρατηρήθηκαν μεταξύ των επιλεγμένων πληθυσμών και της S₀ (Πίνακας 4.2.1-6).

Πίνακας 4.2.1-6: Ποσοστό επιβίωσης (%) ενηλικιών του *Euseius finlandicus*

Πληθυσμός	Ποσοστό επιβίωσης	
	S _v	S ₀
Naousa S ₁	84,00% a ¹	88,00% a
Naousa S ₂	84,00% a	88,00% a
Naousa S ₃	88,00% a	88,00% a
Naousa S ₄	88,00% a	92,00% a
Naousa S ₅	88,00% a	92,00% a
Naousa S ₆	88,00% a	92,00% a

¹ Ποσοστά στην ίδια γραμμή που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (χ^2 test, $P > 0,05$).

Η μέση συνολική ωοπαραγωγή των θηλυκών παρέμεινε επίσης σε παρόμοια επίπεδα μεταξύ των διαδοχικών επιλογών και του αρχικού πληθυσμού. Μόνο η S₄ εμφάνισε στατιστικά σημαντική, αλλά περιορισμένη, μείωση στη μέση ωοτοκία (18,23 αυγά/θηλυκό έναντι 19,52 στην S₀). Η συγκεκριμένη διαφοροποίηση δεν φαίνεται να έχει ουσιαστική βιολογική σημασία, καθώς δεν παρατηρήθηκε παρόμοια τάση στις υπόλοιπες γενεές, γεγονός που δείχνει ότι η αναπαραγωγική ικανότητα του ακάρεος παρέμεινε σταθερή στη διάρκεια της διαδικασίας επιλογής.

Πίνακας 4.2.1-7: Μέση συνολική ωοπαραγωγή του *Euseius finlandicus*

Πληθυσμός	Ωοπαραγωγή		t	df	P
	S _v	S ₀			
Naousa S ₁	18,57 a ¹ ± 0,64	19,45 a ± 0,50	-1,099	41	0,14
Naousa S ₂	18,38 a ± 0,63	19,59 a ± 0,45	-1,574	41	0,62

Naousa S ₃	18,36 a ± 0,63	19,55 a ± 0,47	-1,506	42	0,07
Naousa S ₄	18,23 a ± 0,54	19,52 b ± 0,41	-1,912	43	0,03
Naousa S ₅	18,59 a ± 0,56	19,43 a ± 0,43	-1,190	43	0,12
Naousa S ₆	18,23 a ± 0,50	18,87 a ± 0,45	-0,960	43	0,17

¹ Μέσοι όροι στην ίδια γραμμή που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά (t-test, $P > 0,05$).

Οι τιμές της ενδογενούς ταχύτητας αύξησης (r_m) παρέμειναν σχεδόν αμετάβλητες μεταξύ των επιλογών και της S₀, κυμαινόμενες μεταξύ 0,264 και 0,289. Η απουσία σαφούς τάσης μεταβολής καταδεικνύει ότι η επιλογή για ανθεκτικότητα στο pirimicarb δεν επηρέασε σημαντικά τη συνολική ικανότητα αύξηση του πληθυσμού του *E. finlandicus*. Το r_m αποτελεί ένα ολοκληρωμένο δείκτη αποτύπωσης της προσαρμοστικής ικανότητας, και η σταθερότητά του στις διαδοχικές γενεές φανερώνει ότι η αυξημένη ανθεκτικότητα δεν συνοδεύτηκε από εμφανές «κόστος ανθεκτικότητας».

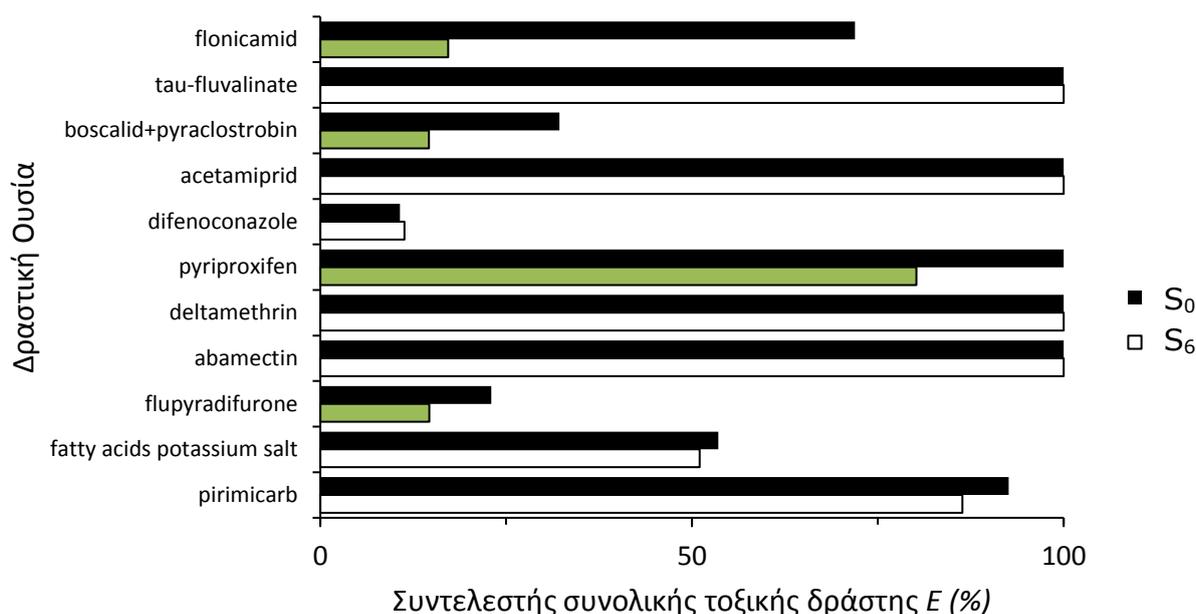
Πίνακας 4.2.1-8. Τιμές ενδογενούς ταχύτητας αύξησης (r_m) του *Euseius finlandicus*

Πληθυσμός	r_m (S _v)	r_m (S ₀)
Naousa S ₁	0,2894	0,2749
Naousa S ₂	0,2641	0,2701
Naousa S ₃	0,2743	0,2740
Naousa S ₄	0,2707	0,2732
Naousa S ₅	0,2720	0,2661
Naousa S ₆	0,2666	0,2672

Τοξικότητα επιλεγμένων εντομοκτόνων

Η αξιολόγηση της τοξικότητας 13 δραστικών ουσιών έδειξε ότι οι περισσότερες από αυτές παρουσίασαν παρόμοια τοξική δράση μεταξύ του αρχικού πληθυσμού (S₀) και του επιλεγμένου πληθυσμού (S₆). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα του συνολικού συντελεστή τοξικής δράσης (%E), οι ουσίες pirimicarb, fatty acids potassium salt, flupyradifurone, abamectin, deltamethrin, difenoconazole, acetamiprid, tau-fluvalinate και boscalid + pyraclostrobin ταξινομήθηκαν στις ίδιες κλάσεις τοξικότητας για αμφότερους τους πληθυσμούς, καταδεικνύοντας συντηρημένη ευαισθησία του αρπακτικού παρά την επιλογή για ανθεκτικότητα στο pirimicarb.

Αντίθετα, ελαφρές διαφοροποιήσεις παρατηρήθηκαν σε ορισμένες δραστικές ουσίες. Συγκεκριμένα, το flonicamid παρουσίασε μείωση της τοξικότητας από Κλάση 2 στον αρχικό πληθυσμό (S₀) σε Κλάση 1 στον επιλεγμένο πληθυσμό (S₆), γεγονός που φανερώνει αυξημένη ανθεκτικότητα του πληθυσμού μετά τη διαδικασία επιλογής. Παρόμοια, το pyriproxyfen μετακινήθηκε από Κλάση 4 σε Κλάση 3, ενώ το μείγμα boscalid + pyraclostrobin από Κλάση 2 σε Κλάση 1, υποδεικνύοντας περιορισμένη προσαρμογή του ανθεκτικού πληθυσμού σε ορισμένες μη στοχευμένες δραστικές ουσίες.



Εικόνα 4.2.1-2: Συνολικός συντελεστής τοξικής δράσης (E) σε 13 δραστικές ουσίες ανάμεσα σε αρχική (S₀) και επιλεγμένη γενεά (S₆) *Euseius finlandicus*

Συνολικά, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι ο επιλεγμένος πληθυσμός S₆ του *E. finlandicus*, παρότι παρουσίασε αυξημένη ανθεκτικότητα στο pirimicarb, δεν εμφάνισε διασταυρούμενη ανθεκτικότητα σε άλλες δραστικές ουσίες διαφορετικών χημικών ομάδων, διατήρησε παρόμοιο ή ελαφρώς βελτιωμένο προφίλ ανεκτικότητας, σε ορισμένα φυτοπροστατευτικά προϊόντα. Η συνδυασμένη χρήση του ανθεκτικού πληθυσμού με επιλεγμένα εντομοκτόνα χαμηλής τοξικότητας μπορεί να αποτελέσει πρακτικά εφαρμόσιμη στρατηγική ολοκληρωμένης διαχείρισης (IPM), εξασφαλίζοντας την προστασία του φυσικού εχθρού χωρίς μείωση της αποτελεσματικότητάς του στη βιολογική καταπολέμηση.

Nesidiocoris tenuis

Για το *N. tenuis* και στους τέσσερις φυσικούς πληθυσμούς που ελέγχθηκαν παρατηρήθηκε μικρή τοξικότητα του spiromesifen σε νύμφες 1ου σταδίου (23%-32%). Αντιθέτως, παρατηρήθηκε μεγάλη διαφοροποίηση στην τοξικολογική απόκριση μεταξύ των πληθυσμών για τα abamectin (19%-60%) και flupyradifurone (35%-84%). Ωστόσο, όπως παρατηρείται στην Πίνακα 4.2.1-9, ο πληθυσμός Nt762 εμφάνισε την μικρότερη θνησιμότητα στην συνιστώμενη συγκέντρωση εφαρμογής για στα σκευάσματα abamectin και flupyradifurone με θνησιμότητα 18.9% και 34.8% αντίστοιχα (Πίνακας 4.2.1-9). Ενδιαφέρον παρουσιάζει ότι ο συγκεκριμένος πληθυσμός προήλθε από τον Αμπελούζο, Νότιο Ηράκλειο, από θερμοκηπιακή καλλιέργεια τομάτας που δεν εφαρμόζονται συμβατικά φυτοπροστατευτικά.

Πίνακας 4.2.1-9. Θνησιμότητα πληθυσμών *Nesidiocoris tenuis* σε συνιστώμενες δόσεις των εντομοκτόνων abamectin, flupyradifurone και spiromesifen.

Πληθυσμός	abamectin	flupyradifurone	spiromesifen
-----------	-----------	-----------------	--------------

Nt752	60.3	77.3	25.5
Nt753	48.2	64.4	23.6
Nt757	50.0	84.0	32.1
Nt762	18.9	34.8	23.4

Για τον πληθυσμό Nt762, που υπέδειξε την μικρότερη ευαισθησία στα φυτοπροστατευτικά ακολούθησαν εργαστηριακές επιλογές για έξι γενεές με τα flupyradifurone και abamectin. Μετά το πέρας των επιλογών ακολούθησε βιοδοκιμή δόσης απόκρισης (full dose) τόσο στα επιλεγμένα στελέχη όσο και στο πατρικό στέλεχος από το οποίο προήλθαν (το οποίο παρέμεινε σε εργαστηριακές συνθήκες χωρίς καμία εφαρμογή ΦΠ). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι εργαστηριακές επιλογές με flupyradifurone και abamectin μικρή αύξηση της ανθεκτικότητας (2.2 και 1.4 φορές αντίστοιχα) σε σχέση με το πατρικό στέλεχος από τον οποίο προήλθαν (Πίνακας 10).

Πίνακας 4.2.1-10. Αποτελέσματα βιοδοκιμών δόσης-απόκρισης με τα εντομοκτόνα flupiradifurone και abamectin στα επιλεγμένα εργαστηριακά στελέχη *N. tenuis*.

Πληθυσμός	N	n	LC50	95% FL	Slope	SE	ΣΑ	
flupyradifurone								
Nt762_flup_S6	140	7	763.6	532.0	1274.1	1.8	0.3	2.2
Nt762_parental	186	6	354.4	153.1	465.2	3.2	1.2	1
abamectin								
Nt762_aba_S6	259	9	207.2	147.0	318.7	1.6	0.2	1.4
Nt762_parental	217	7	150.8	91.4	390.6	1.2	0.2	1

N = αριθμός εξετασθέντων ατόμων, n = αριθμός δόσεων συμπεριλαμβανομένου του μάρτυρα (νερό).
LC₅₀ = μέση θανατηφόρος συγκέντρωση σε mgL⁻¹, FL = όρια εμπιστοσύνης 95%.
ΣΑ = Συντελεστής Ανθεκτικότητας σε σχέση με το πατρικό στέλεχος.

Euseius stipulatus

Στο *E. stipulatus* αξιολογήθηκε η τοξικότητα εννιά συμβατικών ΦΠ σε ακμαία θηλυκά (abamectin, pyridaben, pyriproxifen, acequinocyl, acetamiprid, cyflumetofen και fenpyroximate), λάρβες (spirotetramat) και ωά (hexythiazox).

Τα abamectin, spirotetramat και pyridaben έδειξαν εξαιρετικά υψηλή τοξικότητα (θνησιμότητα > 93%) σε ακμαία θηλυκά (abamectin, pyridaben) και λάρβες (spirotetramat) του *E. stipulatus*. Αντίθετα, τα υπόλοιπα σκευάσματα είχαν χαμηλή έως καθόλου επίδραση (<11%) σε ακμαία θηλυκά και ωά του αρπακτικού ακάρεος. (Πίνακας 4.2.1-11). Στο *E. stipulatus* δεν επιλέχθηκε κάποιο σκευάσμα για περαιτέρω εργαστηριακή επιλογή καθώς τα σκευάσματα που εξετάστηκαν παρουσίαζαν είτε πολύ υψηλή (>93%) είτε πολύ χαμηλή (< 11%) θνησιμότητα. Ωστόσο, τα τοξικολογικά δεδομένα εννιά εγκεκριμένων στα εσπεριδοειδή σκευασμάτων είναι εξαιρετικά χρήσιμα για την πιθανή χρήση τους παρουσία των ωφέλιμων αρπακτικών.

Πίνακας 4.2.1-11. Θνησιμότητα *E. stipulatus* σε συνιστώμενες δόσεις των εγκεκριμένων εντομοκτόνων/ακαρεοκτόνων σε εσπεριδοειδή.

Σκεύασμα	% θνησιμότητα (ΣΔ)
abamectin	93.3
pyridaben	100
pyriproxifen	2.1
acequinocyl	6.1
acetamiprid	10.8
cyflumetofen	6.2
fenpyroximate	6.1
spirotetramat	100
hexythiazox	0.00

3 ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη ανέδειξε σημαντική παραλλακτικότητα στην ευαισθησία των πληθυσμών του αρπακτικού ακάρεος *E. finlandicus* στη δραστική ουσία pirimicarb. Ο πληθυσμός της Νάουσας παρουσίασε τη μικρότερη ευαισθησία και επιλέχθηκε ως καταλληλότερος για τη διαδικασία επιλογής στο εργαστήριο με σκοπό την ενίσχυση της ανθεκτικότητάς του. Μέσω επαναλαμβανόμενων βιοδοκιμών προσδιορισμού LC50 και διαδοχικών εκθέσεων σε δόσεις LC80, τεκμηριώθηκε σταδιακή αύξηση της ανθεκτικότητας, η οποία σταθεροποιήθηκε μετά από τέσσερις γενεές επιλογής, οδηγώντας σε αύξηση του δείκτη LC50 κατά 3,24 φορές σε σχέση με τον αρχικό πληθυσμό (S0). Το αποτέλεσμα αυτό καταδεικνύει τη δυνατότητα ταχείας προσαρμογής του *E. finlandicus* υπό συνθήκες έντονης πίεσης επιλογής.

Η ανάλυση των δημογραφικών παραμέτρων και της ενδογενούς ταχύτητας αύξησης (r_m) μεταξύ των πληθυσμών που προέκυψαν από τις διαδοχικές επιλογές και του αρχικού πληθυσμού δεν αποκάλυψε σημαντικές διαφοροποιήσεις. Παράμετροι όπως η συνολική διάρκεια ανήλικης ανάπτυξης, το ποσοστό ενηλικίωσης, η επιβίωση των ενηλίκων και η μέση ωοπαραγωγή διατηρήθηκαν σταθερές, ενώ οι τιμές του r_m παρέμειναν σχεδόν αμετάβλητες. Η σταθερότητα αυτών των δεικτών υποδηλώνει ότι η αυξημένη ανθεκτικότητα δεν συνοδεύτηκε από εμφανές κόστος προσαρμογής, διασφαλίζοντας τη διατήρηση της λειτουργικής και αναπαραγωγικής ικανότητας του ακάρεος.

Παράλληλα, η εκτίμηση του συνολικού συντελεστή τοξικής δράσης (%E) σε 13 δραστικές ουσίες ανέδειξε παρόμοια επίπεδα τοξικότητας μεταξύ αρχικού (S0) και επιλεγμένου πληθυσμού (S6) για τις περισσότερες δραστικές ουσίες, με περιορισμένες διαφοροποιήσεις σε ορισμένες μόνο εξ αυτών (flonicamid, pyriproxifen, boscalid + pyraclostrobin). Το εύρημα αυτό δείχνει ότι η ανθεκτικότητα που αναπτύχθηκε απέναντι στο pirimicarb δεν συνδέεται με διασταυρούμενη ανθεκτικότητα σε άλλες δραστικές ουσίες διαφορετικών χημικών ομάδων.

Συνολικά, τα αποτελέσματα τεκμηριώνουν ότι το *E. finlandicus* διαθέτει υψηλή προσαρμοστική ικανότητα και μπορεί να αναπτύξει ανθεκτικότητα στο pirimicarb χωρίς σημαντικό δημογραφικό ή αναπαραγωγικό κόστος. Η ιδιότητα αυτή καθιστά τον ανθεκτικό πληθυσμό της Νάουσας πολύτιμο εργαλείο για την υποστήριξη στρατηγικών ολοκληρωμένης διαχείρισης εχθρών (IPM), επιτρέποντας τη συνδυασμένη χρήση βιολογικών και χημικών μέσων με ελάχιστο κίνδυνο παρενεργειών στον συγκεκριμένο θηρευτή.

Η τοξικολογική αξιολόγηση των φυσικών πληθυσμών του *Nesidiocoris tenuis* αποκάλυψε χαμηλή και σχετικά σταθερή τοξικότητα του spiromesifen, αλλά σημαντική διαφοροποίηση στην ευαισθησία απέναντι στα abamectin και flupyradifurone. Ένας πληθυσμός εμφάνισε τη μικρότερη θνησιμότητα στις συνιστώμενες δόσεις, παρότι προήλθε από καλλιέργεια χωρίς συμβατικές εφαρμογές ΦΠ. Οι εργαστηριακές επιλογές για αριθμό γενεών δεν οδήγησαν σε ουσιαστική αύξηση της ανθεκτικότητας, υποδεικνύοντας ότι τα δύο αυτά σκευάσματα δεν άσκησαν ισχυρή εξελικτική πίεση υπό τις εφαρμοζόμενες συνθήκες. Για το *Euseius stipulatus*, η αξιολόγηση εννέα δραστικών ουσιών ανέδειξε εξαιρετικά υψηλή θνησιμότητα με abamectin, pyridaben και spirotetramat, ενώ τα υπόλοιπα σκευάσματα εμφάνισαν από χαμηλή έως μηδενική δράση. Η καθαρή αυτή διαφοροποίηση δεν επέτρεψε την επιλογή σκευασμάτων για περαιτέρω εργαστηριακή επιλογή, ωστόσο τα δεδομένα παρέχουν σαφείς ενδείξεις για την επιλεκτικότητά τους.

Συνολικά, τα αποτελέσματα συνιστούν κρίσιμη πληροφορία για τη βελτίωση της ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας (IPM). Τα δεδομένα επιτρέπουν την ορθολογική επιλογή φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων που ελαχιστοποιούν τον κίνδυνο διατάραξης των ωφέλιμων οργανισμών, όπως τα αρπακτικά ακάρεα, ενώ παράλληλα υποστηρίζουν τη διαχείριση της ανθεκτικότητας σε φυσικούς εχθρούς-κλειδιά όπως το *N. tenuis*. Τα αποτελέσματα καταδεικνύουν ότι η επιλογή φυτοπροστατευτικών προϊόντων πρέπει να γίνεται με κριτήριο όχι μόνο την αποτελεσματικότητά τους στους εχθρούς, αλλά και τη συμβατότητά τους με τους ωφέλιμους οργανισμούς, προκειμένου να διασφαλιστεί η βιώσιμη εφαρμογή της ολοκληρωμένης διαχείρισης στις καλλιέργειες τομάτας και εσπεριδοειδών

4 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

Βιβλιογραφικές Αναφορές