



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

**Παραδοτέο Π.3.11.2:** Αναφορά σχετικά με επίδραση επιλεγμένων αναστολέων στην ενεργότητα ανασυνδυασμένων cytochrome P450s και ανθεκτικότητα εχθρών καλλιεργειών

### Πληροφορίες για το έγγραφο

Αριθμός παραδοτέου: Π3.11.2

Ενότητα εργασίας: ΕΕ3

Επικεφαλής δικαιούχος: ΙΤΕ

Συγγραφείς: Γιάννης Βόντας, Κώστας Μαυρίδης

Έκδοση: 1.0

Είδος Παραδοτέου: Έκθεση

Ημερομηνία παράδοσης: 10 Δεκεμβρίου 2024

### 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: TAEDR-0535675

Ακρωνύμιο έργου: InnoPP

Ημερομηνία έναρξης: 15 Μαΐου 2023

Διάρκεια: 28 Μήνες

Συντονιστής Φορέας: Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

Συντονιστής/ Επιστημονικός Υπεύθυνος: Ιωάννης Βόντας

## Πίνακας Περιεχομένων

<b>1</b>	<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ</b> .....	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΤΩΝ ΕΡΓΑΣΙΩΝ</b> .....	<b>5</b>
2.1	ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	5
2.2	ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ .....	6
<b>3</b>	<b>ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....	<b>16</b>
<b>4</b>	<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι- Βιβλιογραφικές Αναφορές</b> .....	<b>17</b>

## 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 αλληλούχισης 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 ΕΕ3

Στο πλαίσιο της ΕΕ3 του έργου, στόχος είναι η ανάπτυξη και αξιολόγηση καινοτόμων βιοφυτοπροστατευτικών προϊόντων που απευθύνονται σε εχθρούς, ασθένειες και ζιζάνια υψηλής δυσκολίας καταπολέμησης, τα οποία επηρεάζουν τα κύρια οπωροκηπευτικά της χώρας. Οι ερευνητικές δραστηριότητες περιλαμβάνουν 13 υποενότητες, καθεμία από τις οποίες καλύπτει διαφορετικές πτυχές της φυτοπροστασίας. Η υποενότητα 3.11 - Αναστολείς Ανθεκτικότητας Φυσικής Προέλευσης, στην οποία ανήκει και το παραδοτέο Π3.11.2 εστιάζει στην ταυτοποίηση, ανάπτυξη και αξιολόγηση φυσικών ουσιών που μπορούν να λειτουργήσουν ως αναστολείς μηχανισμών ανθεκτικότητας εντόμων, όπως η υπερέκφραση ενζύμων αποτοξίνωσης. Τα προϊόντα αυτά στοχεύουν στη διαχείριση της ανθεκτικότητας σε συνδυασμό με συμβατικά φυτοπροστατευτικά μέσα, όπως τα εντομοκτόνα, συμβάλλοντας στη μείωση της δόσης και της εξάρτησης από τα χημικά εντομοκτόνα.

## Συνοπτική παρουσίαση του παραδοτέου Π3.11.2

Σκοπός του παραδοτέου Π3.11.2 είναι να παρουσιάσει τα αποτελέσματα της έρευνας. Το παραδοτέο Π3.11.2 αποσκοπεί στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων έρευνας που εστιάζει στη χρήση φυσικών προϊόντων και συνθετικών παραγώγων ως αναστολέων του ενζύμου BtCYP6CM1, με στόχο τη διαχείριση της ανθεκτικότητας του *Bemisia tabaci* και την ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών στρατηγικών βιοεντομοκτονίας.

Τα σημαντικότερα αποτελέσματα περιλαμβάνουν την ταυτοποίηση και αξιολόγηση της κουρκουμίνης και του συνθετικού παραγώγου DM96 ως ισχυρών αναστολέων του ενζύμου BtCYP6CM1, το οποίο συνδέεται με μηχανισμούς ανθεκτικότητας. Επιπλέον, η συνεργιστική δράση του DM96 με το εντομοκτόνο imidacloprid οδήγησε σε σημαντική αύξηση της θνησιμότητας του εντόμου, υποδεικνύοντας τη δυνατότητα ανάπτυξης αποτελεσματικότερων και πιο βιώσιμων στρατηγικών για την καταπολέμηση της ανθεκτικότητας.

## 1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΚΑΙ ΣΤΟΧΟΙ

Η χρήση συνθετικών εντομοκτόνων παραμένει η κύρια στρατηγική για τη διαχείριση εντομολογικών απειλών, τόσο στη γεωργία όσο και στη δημόσια υγεία. Ωστόσο, η υπερβολική χρήση τους έχει οδηγήσει στην εμφάνιση ανθεκτικότητας, προκαλώντας σημαντικές απώλειες σε γεωργικές καλλιέργειες και αυξάνοντας το κόστος διαχείρισης. Το *Bemisia tabaci*, ένα έντομο με τεράστια οικονομική σημασία, έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα σε πολλές κατηγορίες εντομοκτόνων μέσω διαφόρων μηχανισμών, όπως οι μεταλλάξεις στις θέσεις στόχου και η αυξημένη μεταβολική αποδόμηση, που συνδέονται κυρίως με την υπερέκφραση ενζύμων κυτοχρώματος P450. Η ανάγκη για καινοτόμες, βιώσιμες στρατηγικές διαχείρισης της ανθεκτικότητας είναι επιτακτική. Στο πλαίσιο αυτό, το παρόν έγγραφο εξετάζει τη δυνατότητα αξιοποίησης αναστολέων κυτοχρώματος P450, όπως το συνθετικό ανάλογο μονοκαρβονυλικής κουρκουμίνης DM96, για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας εντομοκτόνων. Η προσέγγιση αυτή στοχεύει στη μείωση της εξάρτησης από τα χημικά εντομοκτόνα και στην προώθηση φιλικών προς το περιβάλλον πρακτικών.

**Ο σκοπός του παρόντος εγγράφου** είναι η παρουσίαση των αποτελεσμάτων καινοτόμου έρευνας στα πλαίσια του παραδοτέου Π3.11.2, που αφορά τη χρήση φυσικών προϊόντων και συνθετικών αναλόγων ως αναστολέων του ενζύμου BtCYP6CM1, το οποίο σχετίζεται με την ανθεκτικότητα της *Bemisia tabaci* στα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα. Η έρευνα αυτή εξετάζει τη συνεργιστική δράση της κουρκουμίνης και των παραγώγων της με το εντομοκτόνο imidacloprid, καθώς και τη συμβολή τους στη διαχείριση της ανθεκτικότητας.

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

Η παρούσα έρευνα υλοποιήθηκε με τη χρήση εξειδικευμένων χημικών ουσιών και μεθόδων. Συγκεκριμένα, τα βασικά χημικά περιλάμβαναν οξειδωμένη γλουταθειόνη, NADPH, 7-ethoxycoumarin και γλουταθειόνη αναγωγάση, τα οποία προμηθεύτηκαν από τη Sigma-Aldrich (Merck, ΗΠΑ). Επιπλέον, διάφορες φυσικές ενώσεις, όπως ρεσβερατρόλη, γαλλικό οξύ, κουρκουμίνη και παράγωγά της, διαλύθηκαν σε αιθανόλη ή DMSO, ανάλογα με τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες, για χρήση στις πειραματικές δοκιμές. Οι παραγόμενες συνθέσεις παρασκευάστηκαν βάσει μεθοδολογιών που περιγράφονται σε προηγούμενες δημοσιεύσεις.

Η έκφραση του ενζύμου BtCYP6CM1 πραγματοποιήθηκε σε βακτήρια *Escherichia coli* BL21(DE3), τα οποία είχαν μετασχηματιστεί με κατάλληλα πλασμίδια. Ακολούθησε καθαρισμός του ενζύμου χρησιμοποιώντας πρωτόκολλα ανασυνδυασμένων πρωτεϊνών, ενώ η συγκέντρωση των πρωτεϊνών προσδιορίστηκε με τη μέθοδο του Bradford.

Οι δοκιμασίες αναστολής του BtCYP6CM1 πραγματοποιήθηκαν με τη χρήση του 7-ethoxycoumarin ως υποστρώματος, αξιολογώντας την αναστολή της ενζυμικής δραστηριότητας σε αντιδράσεις με φυσικές ενώσεις και παράγωγα κουρκουμίνης. Οι ενώσεις διαλύθηκαν σε κατάλληλους διαλύτες, και οι αντιδράσεις διεξήχθησαν σε ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών, pH 7.2, στους 30°C για 30 λεπτά. Οι αναλύσεις περιλάμβαναν την καταγραφή φθορισμού και τον υπολογισμό τιμών IC50 με χρήση του λογισμικού GraphPad Prism.

Για την κατανόηση της μοριακής αλληλεπίδρασης των ενώσεων με το BtCYP6CM1, δημιουργήθηκε ένα τρισδιάστατο μοντέλο του ενζύμου με χρήση του εργαλείου AlphaFold2. Προσομοιώσεις docking πραγματοποιήθηκαν με το λογισμικό GOLD, επιτρέποντας την αξιολόγηση των δεσμών και της γεωμετρίας των ενώσεων στο ενεργό κέντρο του ενζύμου.

Τέλος, πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές για την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας και της επιβίωσης του *Bemisia tabaci* απέναντι στο νεονικοτινοειδές εντομοκτόνο imidacloprid, καθώς και της συνεργιστικής δράσης του με την κουρκουμίνη και το παράγωγο DM96. Οι βιοδοκιμές περιλάμβαναν μεθόδους όπως το leaf-dip και το tarsal contact, που διεξήχθησαν υπό ελεγχόμενες συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτοπεριόδου. Τα αποτελέσματα ανέδειξαν τη δυνατότητα των παραγώγων κουρκουμίνης να ενισχύουν την αποτελεσματικότητα του εντομοκτόνου, συμβάλλοντας στη διαχείριση της ανθεκτικότητας.

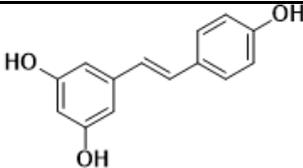
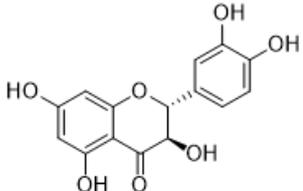
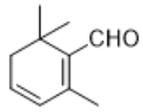
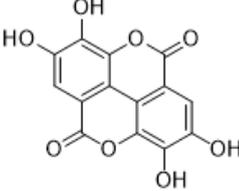
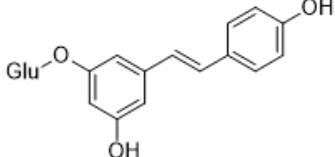
## 2.2 Αποτελέσματα και Συζήτηση

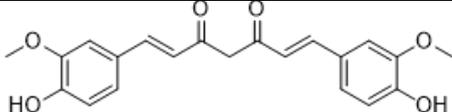
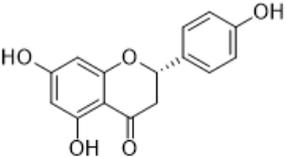
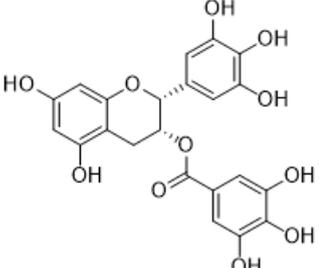
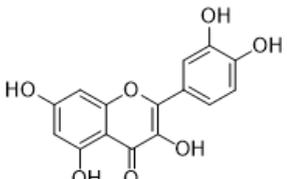
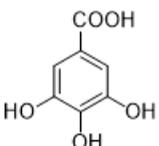
Η παρούσα έρευνα ανέδειξε την αποτελεσματικότητα φυσικών προϊόντων και συνθετικών παραγώγων ως αναστολέων του ενζύμου BtCYP6CM1, καθώς και τη συνεργιστική δράση τους με το νεονικοτινοειδές εντομοκτόνο imidacloprid.

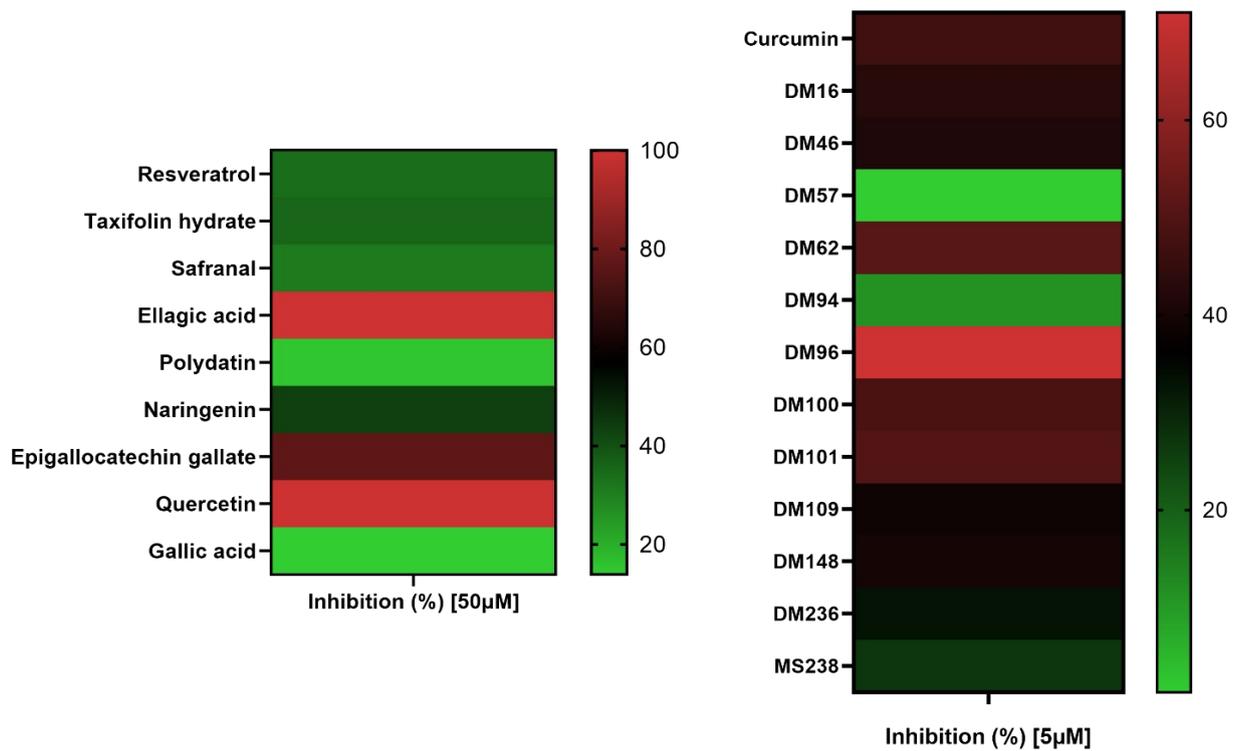
### Αρχική Αξιολόγηση Αναστολέων

Η αρχική αξιολόγηση περιλάμβανε μια σειρά φυσικών προϊόντων, όπως πολυφαινόλες, που δοκιμάστηκαν για την ικανότητά τους να αναστέλλουν το BtCYP6CM1. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η κουρκουμίνη, η κουερσετίνη και το ελλαγικό οξύ παρουσίασαν υψηλή αναστολή σε συγκέντρωση 50  $\mu\text{M}$ , με ποσοστά αναστολής έως και 100%. Οι πιο ισχυροί αναστολείς δοκιμάστηκαν περαιτέρω σε συγκέντρωση 5  $\mu\text{M}$ , όπου η κουρκουμίνη διατήρησε σημαντική αναστολή ( $46,86 \pm 2,44\%$ ), επιβεβαιώνοντας την ισχύ της ως βασικού υποψήφιου για περαιτέρω μελέτες.

**Πίνακας 1:** Ποσοστά αναστολής (%) κατά BtCYP6CM1 από φυσικά προϊόντα σε συγκεντρώσεις 50  $\mu\text{M}$  και 5  $\mu\text{M}$ . Οι τιμές αντιπροσωπεύουν μέσες τιμές  $\pm$  SD.

Compound		Molecular Weight (g/mol)	Enzyme Inhibition (%)
Resveratrol		228.24	$33.7 \pm 4.2$
Taxifolin hydrate		304.25	$35.5 \pm 3.8$
Safranal		150.2	$31.36 \pm 2.5$
Ellagic acid		302.2	100
Polydatin		390.4	$15.4 \pm 0.2$

Compound		Molecular Weight (g/mol)	Enzyme Inhibition (%)
Curcumin		368.4	100
Naringenin		272.3	43.27 ± 1.2
Epigallocatechin gallate		458.4	76.53 ± 0.7
Quercetin		302.2	99.63 ± 1.1
Gallic acid		170.1	13.99 ± 3.1



**A**

**B**

**Εικόνα 1:** Heat map depiction of the inhibition (%) against BtCYP6CM1 of A. natural products at 50 μM final concentration, and B. curcumin derivatives at 5 μM final concentration.

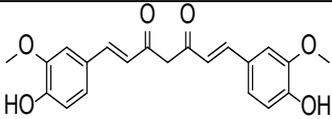
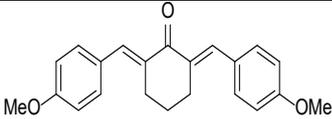
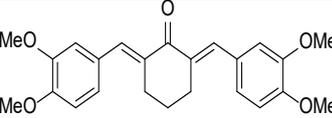
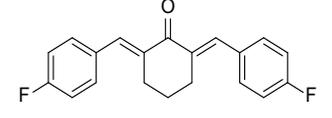
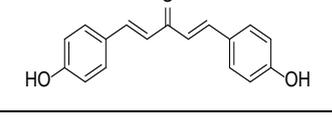
## Σύγκριση της Κουρκουμίνης με Συνθετικά Παράγωγα

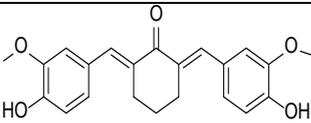
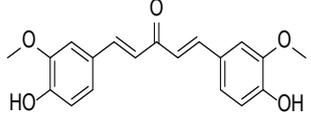
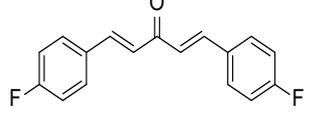
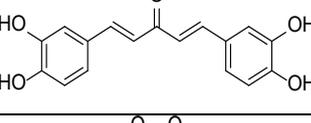
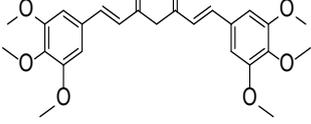
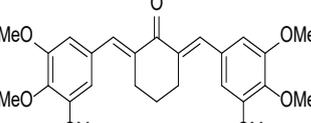
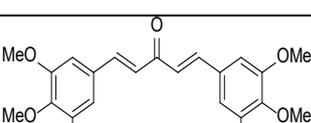
Μια βιβλιοθήκη από 13 συνθετικά παράγωγα κουρκουμίνης αξιολογήθηκε για την αναστολή του BtCYP6CM1. Το DM96 παρουσίασε την υψηλότερη αναστολή ( $71,02 \pm 0,15\%$ ) και επιλέχθηκε για περαιτέρω μελέτες. Οι τιμές IC<sub>50</sub> για την κουρκουμίνη και το DM96 υπολογίστηκαν σε  $6,82 \pm 0,54 \mu\text{M}$  και  $2,41 \pm 0,24 \mu\text{M}$ , αντίστοιχα.

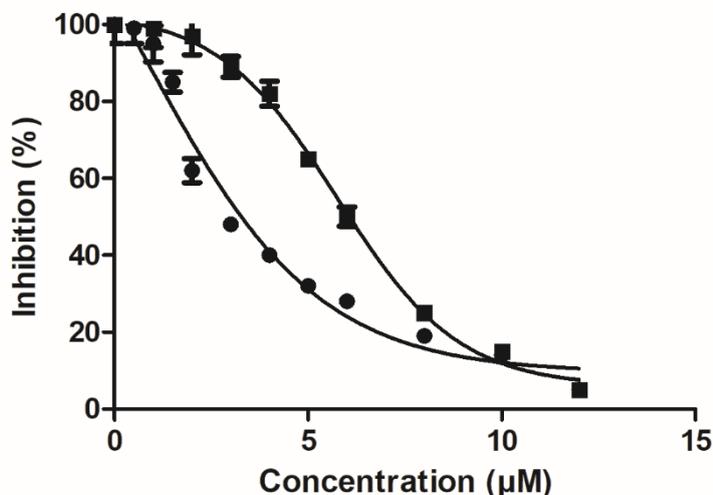
**Πίνακας 2:** Ποσοστά αναστολής (%) και τιμές IC<sub>50</sub> για την κουρκουμίνη και τα παράγωγά της κατά BtCYP6CM1.

Compound	Enzyme
	Inhibition (%)
Ellagic acid	$16.4 \pm 0.7$
Curcumin	$46.9 \pm 2.4$
Quercetin	$45.0 \pm 3.7$

**Πίνακας 3:** Αξιολόγηση της ανασταλτικής ικανότητας παραγώγων κουρκουμίνης κατά του BtCYP6CM1 [Αναστολή (%)  $\pm$  Τυπική Απόκλιση, N=3]. Κάθε παράγωγο κουρκουμίνης δοκιμάστηκε σε τελική συγκέντρωση 5  $\mu\text{M}$ .

Curcumin derivative	Compound code	Molecular Weight (g/mol)	Enzyme Inhibition (%)
	Curcumin	368.38	$46.9 \pm 2.4$
	DM46	334.4	$41.1 \pm 2.4$
	DM57	394.46	$1.3 \pm 0.3$
	DM62	310.34	$50.9 \pm 1.1$
	DM96	266.29	$71.0 \pm 0.1$

Curcumin derivative	Compound code	Molecular Weight (g/mol)	Enzyme Inhibition (%)
	<b>DM100</b>	366.41	48.7±0.7
	<b>DM101</b>	326.34	50.0 ± 2.9
	<b>DM109</b>	270.27	38.6±0.6
	<b>DM148</b>	298.29	39.7±0.4
	<b>MS238</b>	456.49	27.0±0.7
	<b>DM16</b>	454.51	42.6±0.3
	<b>DM94</b>	414.45	11.32±2.8



**Εικόνα 2:** Καμπύλες δόσης-απόκρισης για τον προσδιορισμό των IC<sub>50</sub> τιμών της κουρκουμίνης και του DM96 κατά BtCYP6CM1.

### Μοριακή Μοντελοποίηση και Δομική Ανάλυση

Η μοριακή μοντελοποίηση αποκάλυψε ότι τα φυσικά προϊόντα και τα συνθετικά παράγωγα κουρκουμίνης παρουσιάζουν καλές αλληλεπιδράσεις με το ενεργό κέντρο του BtCYP6CM1. Τα αποτελέσματα υποδεικνύουν ότι η κουρκουμίνη είχε την υψηλότερη προβλεπόμενη συμπληρωματικότητα με βάση το σκορ docking (41,4 Chemscore Units), ενώ ορισμένα παράγωγα παρουσίασαν ελαφρώς χαμηλότερα σκορ, χωρίς όμως σημαντικές αποκλίσεις.

**Πίνακας 4:** Υψηλότερα σκορ από τις 50 λύσεις docking για κάθε ένωση, μέσος όρος σκορ και ποσοστά αναστολής ενζυμικής δραστηριότητας που προέκυψαν πειραματικά.

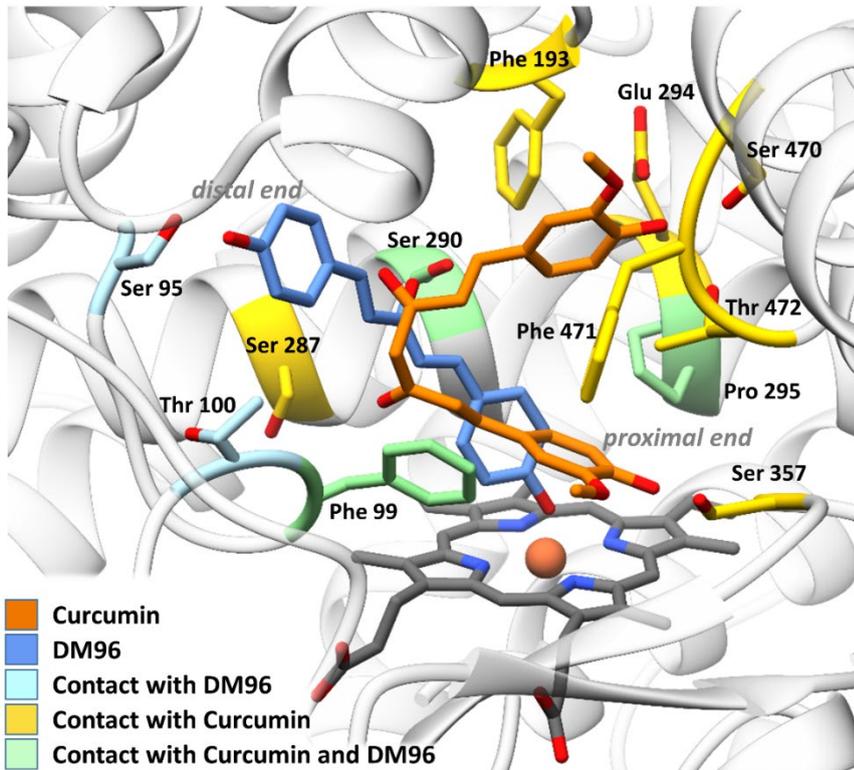
Ligand	Best R17	Mean R17	Enz. Inhib %
Curcumin	41.4	35.6	100.0
Resveratrol	33.2	32.1	33.7
Quercetin	32.8	31.8	99.6
Naringenin	32.7	29.6	43.3
Taxifolin hydrate	30.9	29.2	35.5
Safranal	28.6	28.5	31.4
Epigallocatechin gallate	35.0	28.4	76.5
Polydatin	32.6	27.5	15.4

Ligand	Best R17	Mean R17	Enz. Inhib %
Ellagic Acid	26.5	25.1	100.0
Gallic Acid	24.3	22.8	14.0

Η ανάλυση των συνθετικών παραγώγων κουρκουμίνης έδειξε ότι το DM96 είχε την υψηλότερη πειραματική αναστολή (71%), ενώ τα σκορ docking (30,8 Chemscore Units) επιβεβαιώνουν τη σταθερότητα της αλληλεπίδρασής του με το ένζυμο.

**Πίνακας 5:** Υψηλότερα σκορ docking για παράγωγα κουρκουμίνης, μέσος όρος σκορ και ποσοστά αναστολής ενζυμικής δραστηριότητας για κάθε παράγωγο.

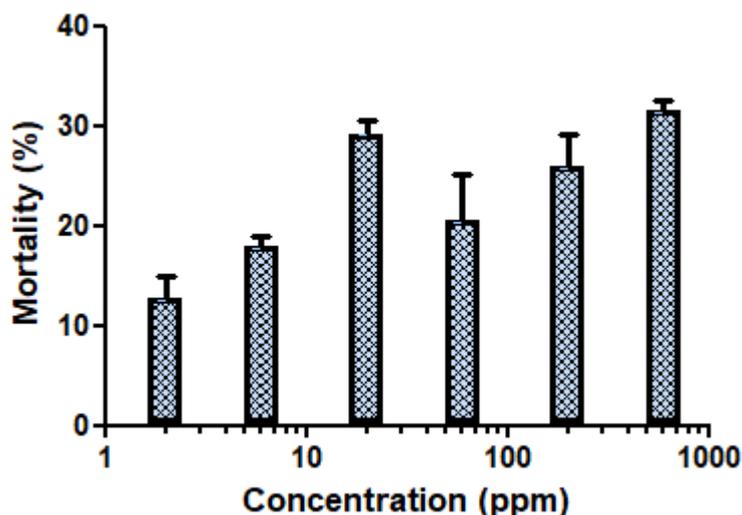
Ligand	Best R17	Mean R17	Enz. Inhib %
DM62	38.2	37.7	50.9
MS238	39.0	37.1	27.0
DM46	37.6	37.0	41.1
DM57	36.5	35.3	1.3
DM109	35.1	34.3	38.6
DM16	34.7	33.6	-
DM100	35.2	33.4	48.7
DM95	33.5	31.8	-
DM94	34.9	31.3	11.3
DM151	34.2	30.9	-
DM101	32.1	30.8	50.0
DM96	30.8	30.0	71.0
DM148	29.8	27.0	39.7



**Εικόνα 3:** Το ενεργό κέντρο του *BtCYP6CM1* με τις καλύτερες λύσεις *docking* για το DM96 (μπλε) και την κουρκουμίνη (πορτοκαλί).

### Βιοδοκιμές Συνεργιστικής Δράσης

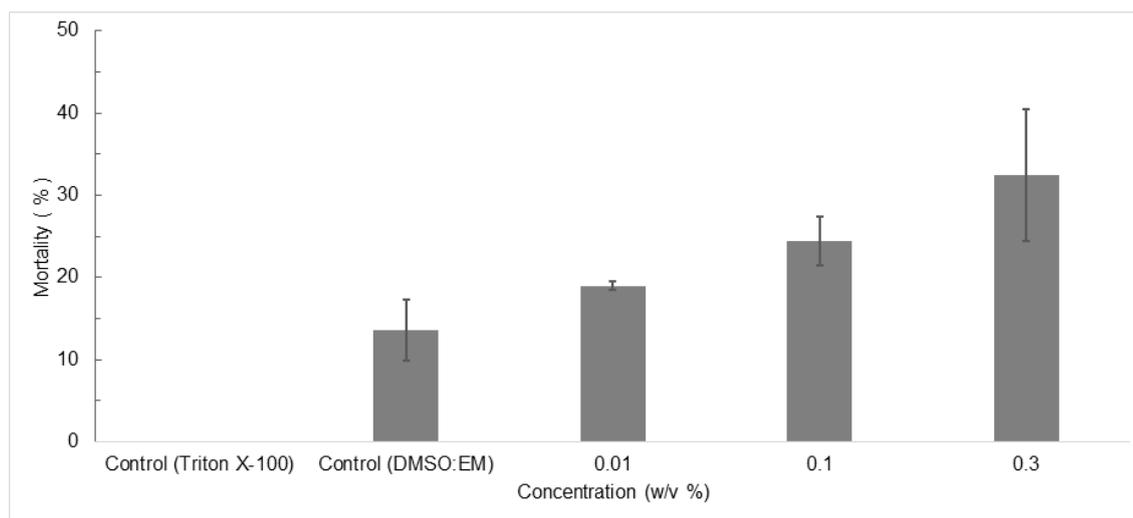
Πειράματα έδειξαν ότι το imidacloprid παρουσίασε χαμηλή αποτελεσματικότητα όταν χρησιμοποιήθηκε μόνο του (2-600 ppm), ενώ η προσθήκη του DM96 αύξησε σημαντικά τα ποσοστά θνησιμότητας του *Bemisia tabaci*. Η συνεργιστική δράση αναδείχθηκε ιδιαίτερα σε συγκεντρώσεις υποθανατηφόρες.



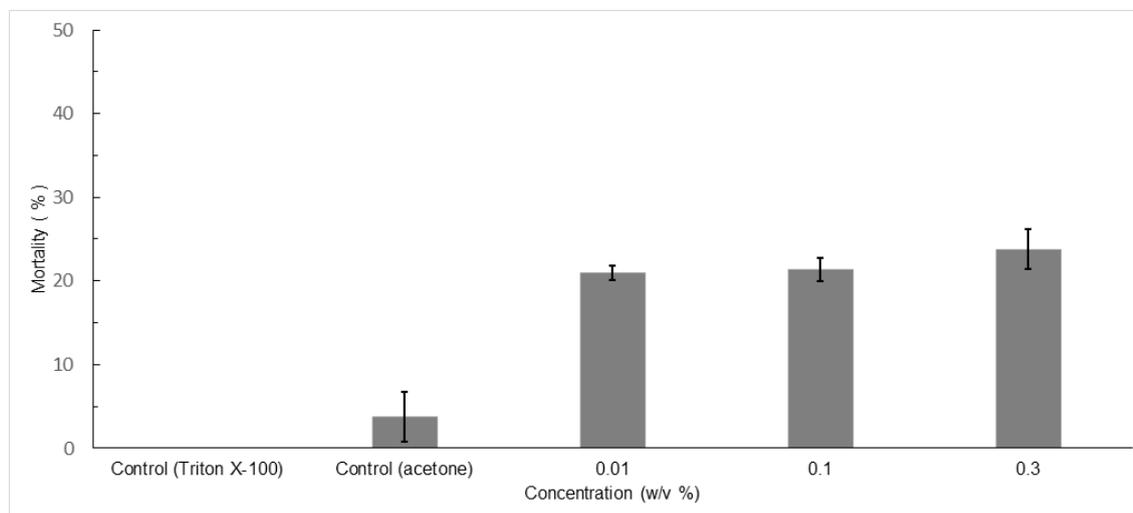
**Εικόνα 5:** Επίδραση της συγκέντρωσης imidacloprid στη θνησιμότητα του *Bemisia tabaci* (%).

Η προσθήκη DM95 αξιολογήθηκε περαιτέρω σε υποθανατηφόρες συγκεντρώσεις με χρήση leaf-dip και tarsal contact bioassays, όπου παρατηρήθηκε βελτιωμένη θνησιμότητα όταν συνδυάστηκε με το εντομοκτόνο.

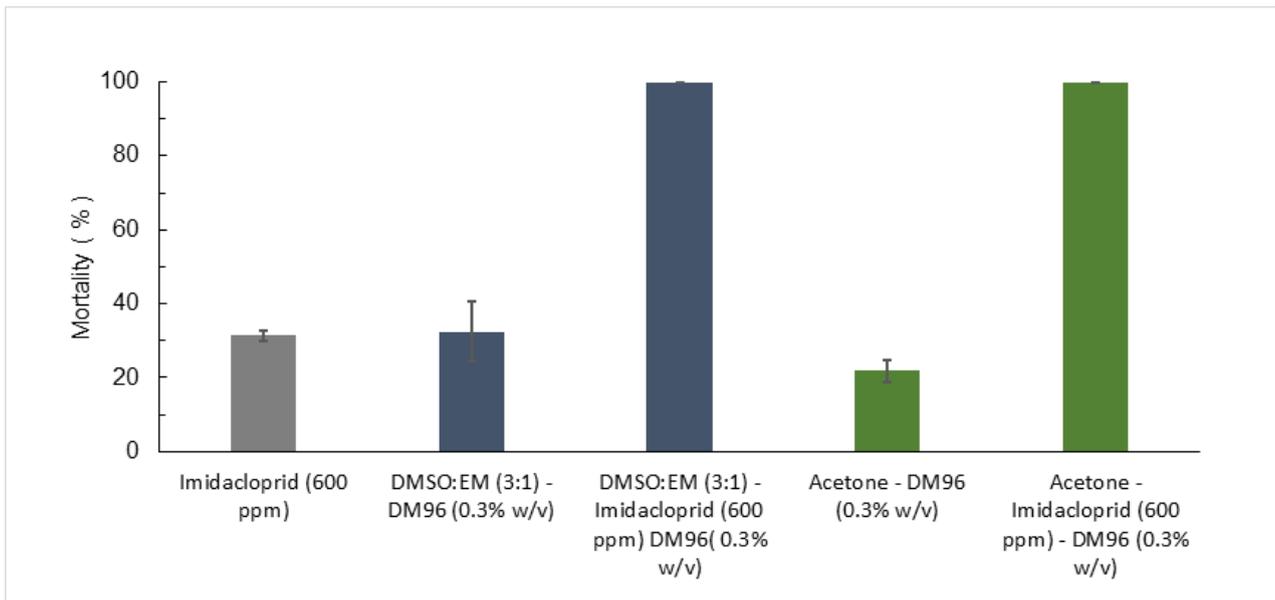
### A



### B



**Εικόνα 6:** Προσδιορισμός υποθανατηφόρων συγκεντρώσεων του DM95 με bioassays leaf-dip (A) και tarsal contact (B).



**Εικόνα 7:** Μέση θνησιμότητα του *Bemisia tabaci* σε bioassays leaf-dip. Διαφορετικά γράμματα υποδηλώνουν στατιστικά σημαντικές διαφορές (ANOVA).

Τα παραπάνω ευρήματα επιβεβαιώνουν τη δυνατότητα χρήσης παραγώγων κουρκουμίνης για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας του imidacloprid στη διαχείριση της ανθεκτικότητας του *Bemisia tabaci*.

### 3 ΣΥΝΟΨΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα μελέτη ανέδειξε τη δυνατότητα χρήσης φυσικών προϊόντων και συνθετικών παραγώγων κουρκουμίνης ως αναστολέων του ενζύμου BtCYP6CM1, το οποίο αποτελεί βασικό παράγοντα ανθεκτικότητας στα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα στο *Bemisia tabaci*. Τα αποτελέσματα της έρευνας κατέδειξαν ότι η κουρκουμίνη και το συνθετικό ανάλογο DM96 παρουσιάζουν σημαντική ανασταλτική ικανότητα in vitro, με το DM96 να αποτελεί τον πιο ισχυρό αναστολέα.

Οι μελέτες μοριακής μοντελοποίησης παρείχαν πληροφορίες για τα δομικά χαρακτηριστικά που καθορίζουν τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του BtCYP6CM1 και αυτών των αναστολέων, διερευνώντας τον πιθανό τους ρόλο στη μείωση της μεταβολικής ανθεκτικότητας. Επιπλέον, οι βιοδοκιμές αντίστασης και επιβίωσης αξιολόγησαν την τοξικότητα του DM96 σε ανθεκτικά στελέχη *Bemisia tabaci*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το imidacloprid (σε συγκεντρώσεις 2-600 ppm) ή το DM96 (σε συγκεντρώσεις 0,01%-0,3% w/v) προκάλεσαν θνησιμότητα 12,5%-31,3% και 19%-32,5% αντίστοιχα. Ωστόσο, ο συνδυασμός υποθανατηφόρων συγκεντρώσεων imidacloprid (600 ppm) και DM96 (0,3% w/v) οδήγησε σε δραματική αύξηση της θνησιμότητας (3-4 φορές), φτάνοντας το 100%.

Η συνεργιστική δράση της κουρκουμίνης με ένα συμβατικό εντομοκτόνο, όπως το imidacloprid, υποδεικνύει ότι θα μπορούσε να αξιοποιηθεί στην ανάπτυξη πιο αποτελεσματικών στρατηγικών διαχείρισης ανθεκτικότητας εντομοκτόνων. Τα ευρήματα προσφέρουν σημαντικά εργαλεία για την ανάπτυξη φιλικών προς το περιβάλλον βιοεντομοκτόνων, που μειώνουν την εξάρτηση από παραδοσιακά χημικά εντομοκτόνα και συμβάλλουν στη μείωση της εμφάνισης ανθεκτικότητας στους πληθυσμούς παρασίτων.

## 4 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ Ι

### Βιβλιογραφικές Αναφορές

1. Nauen, R., Bass, C., Feyereisen, R., & Vontas, J. (2022). The Role of Cytochrome P450s in Insect Toxicology and Resistance. *Annual Review of Entomology*, 67(1), 105–124. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-070621-061328>
2. Pantiora, P., Furlan, V., Matiadis, D., et al. (2023). Monocarbonyl Curcumin Analogues as Potent Inhibitors against Human Glutathione Transferase P1-1. *Antioxidants*, 12(1), 63. <https://doi.org/10.3390/antiox12010063>
3. Yang, X., Deng, S., Wei, X., et al. (2020). MAPK-directed activation of the whitefly transcription factor CREB leads to P450-mediated imidacloprid resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(19), 10246–10253. <https://doi.org/10.1073/pnas.1913603117>
4. Jumper, J., Evans, R., Pritzel, A., et al. (2021). Highly accurate protein structure prediction with AlphaFold. *Nature*, 596(7873), 583–589. <https://doi.org/10.1038/s41586-021-03819-2>
5. Roy, D., Biswas, S., Biswas, A., et al. (2022). Can insecticide mixtures be considered to surmount neonicotinoid resistance in *Bemisia tabaci*? *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 25(2), 101901. <https://doi.org/10.1016/j.aspen.2022.101901>
6. Cui, G., Yuan, H., He, W., et al. (2022). Synergistic effects of botanical curcumin-induced programmed cell death on the management of *Spodoptera litura* Fabricius with avermectin. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 229, 113097. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.113097>
7. Karunker, I., Benting, J., Lueke, B., et al. (2008). Over-expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 38(6), 634–644. <https://doi.org/10.1016/j.ibmb.2008.03.008>
8. Roditakis, E., Morou, E., Tsagkarakou, A., et al. (2011). Assessment of the *Bemisia tabaci* CYP6CM1vQ transcript and protein levels in laboratory and field-derived imidacloprid-resistant insects. *Insect Science*, 18(1), 23–29. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7917.2010.01384.x>