



ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

***ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑ ΤΟΥ ΥΠΟΝΟΜΕΥΤΗ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ ΤΥΤΑ
ABSOLUTA ΣΕ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΑ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΑ***



ΣΥΓΓΡΑΦΗ: ΧΡΙΣΤΙΝΑ ΣΚΑΡΜΟΥΤΣΟΥ

ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: Δρ. ΕΜΜΑΝΟΥΗΛ ΡΟΔΙΤΑΚΗΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2010

ΑΝΩΤΑΤΟ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ ΚΡΗΤΗΣ
ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ευαισθησία του υπονομευτή της τομάτας *Tuta absoluta* σε
πειραματικά εντομοκτόνα.

Σπουδάστρια: Χριστίνα Σκαρμούτσου

Εισηγητής: Δρ. Εμμανουήλ Ροδιτάκης

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2010

*Στη μητέρα μου Μαρία...
και στις αδελφές μου Δήμητρα & Δροσίνα...*

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές μου ευχαριστίες προς τον Δρ. Εμμανουήλ Ροδιτάκη για την ανάθεση της μελέτης, την καθοδήγηση και τις πολύτιμες συμβουλές που δέχθηκα κατά τη διάρκεια των πειραμάτων, καθώς και για τις γνώσεις που απέκτησα στο διάστημα της άψογης συνεργασίας μας. Επίσης ευχαριστώ την εταιρεία «Κρόνος Α.Ε.» για την δωρεάν διάθεση φυτικού υλικού.

Στη συνέχεια θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένειά μου, για τη δυνατότητα που μου προσέφεραν να πραγματοποιήσω τις σπουδές μου με κάθε πολυτέλεια και τη συμπαράσταση που μου έδειξαν κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας.

Τέλος, από τις ευχαριστίες δε θα μπορούσα να παραλείψω τους φίλους μου, για την αμέριστη συμπαράστασή τους.

1^Ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ – ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 ΤΟΜΑΤΑ

Η τομάτα είναι ένας από τους πρωταγωνιστές των εξελίξεων που παρατηρούνται στη διατροφή μας τα τελευταία χρόνια. Είναι ένα φρούτο που λόγω του τρόπου χρήσης της συγκαταλέγεται στα λαχανικά και κατέχει υψηλή θέση στην κατανάλωσή τους. Η καλλιέργειά της καταλαμβάνει σε διεθνή κλίμακα την τρίτη θέση μετά την πατάτα και την γλυκοπατάτα. Ενώ στην Ελλάδα έχει τη δεύτερη θέση σε έκταση μετά την πατάτα. Οι λόγοι οι οποίοι χαρακτηρίζουν αυτό το προϊόν τόσο δημοφιλές είναι το ό,τι διαθέτει πράγματι ένα σύνολο ποιοτικών χαρακτηριστικών, που το καθιστούν επιθυμητό έως απαραίτητο, στη μεγάλη πλειοψηφία του πληθυσμού της γης. Το σχήμα, η μορφή και το χρώμα είναι ιδιαίτερα ελκυστικά, όπως επίσης και η γεύση της. Η άμεση χρήση της στα φαγητά, ως νωπή (σαλάτες) ή μαγειρεμένη (σχεδόν σ' όλα τα φαγητά), η δυνατότητα μεταποίησής της σε διάφορα προϊόντα που μπορούν να διατηρηθούν στη διάρκεια του χρόνου, ο μικρός αριθμός θερμίδων που προσφέρει σε συνδυασμό με ένα όχι ευκαταφρόνητο ποσοστό βιταμινών, αλλά με ένα σημαντικό ποσοστό βιταμίνης C, και ανόργανων αλάτων κ.ά., την καθιστούν προϊόν απαραίτητο στο διαιτολόγιο μας όσο κανένα άλλο και κατάλληλο στο σύγχρονο τρόπο διαβίωσης (Ολυμπίου, 2001). Ένα ακόμα χαρακτηριστικό που προκαλεί ενδιαφέρον τα τελευταία χρόνια, είναι η ύπαρξη λυκοπηνίου στον καρπό της. Το λυκοπήνιο είναι μία καροτινοειδής χρωστική που υπάρχει άφθονη στο καρπό της τομάτας, στην οποία οφείλεται το κόκκινο χρώμα της. Εκτός από τις χρωστικές του ιδιότητες, το λυκοπήνιο είναι και ισχυρή αντιοξειδωτική ουσία που εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες οξυγόνου, οι οποίες συσσωρεύονται στα κύτταρα του οργανισμού λόγω στρεσαρισμάτων και μπορούν να προκαλέσουν βλάβες σε αυτά (Γιαννοπολίτης Κ.Ν., 2007).

Ανέκαθεν, η τομάτα αποτελούσε κηπευτικό με μεγάλη οικονομική σημασία, καλλιεργούμενο σε όλη την Ελλάδα, χειμώνα (θερμοκήπια) και καλοκαίρι (υπαίθριες καλλιέργειες).

1.1.1 ΚΑΤΑΓΩΓΗ – ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Η τομάτα ανήκει στην οικογένεια Solanaceae, το γένος της είναι *Lycopersicon*, το οποίο ξεχωρίζει από το πολύ συγγενικό είδος *Solanum* (πιθανός πρόγονος). Τα περισσότερα είδη του γένους *Lycopersicon* είναι θάμνοι ετήσιοι, βραχείας διάρκειας, με βιολογικό κύκλο πέντε ή και λιγότερους μήνες. Όλα τα είδη είναι ενδογενή φυτά της ΝΑ Αμερικής. Η άγρια μορφή της τομάτας *Lycopersicon esculentum var cerasiforme* έχει βρεθεί επίσης στο Μεξικό, στην Κεντρική Αμερική και άλλες περιοχές της Ν. Αμερικής. Αν και αρχικά επικρατούσε η άποψη ότι η χώρα καταγωγής της τομάτας είναι το Περού, σήμερα, με τις πληροφορίες (ιστορικές, αρχαιολογικές, εθνοβοτανικές), γίνεται δεκτό ότι η καταγωγή της καλλιεργούμενης τομάτας είναι το Μεξικό και μάλιστα η περιοχή Vera Cruz – Puebla, απ' όπου αρχικά μεταφέρθηκε τον 16^ο αιώνα στην Ευρώπη και εν συνεχεία διασκορπίστηκε σε αρκετές περιοχές της γης. Στην Ελλάδα η εισαγωγή της έγινε αρχικά στην Αθήνα περίπου το 1818. Όποια και να είναι η γεωγραφική καταγωγή της τομάτας, είναι σήμερα αποδεκτό, ότι άμεσος πρόγονος την καλλιεργούμενης τομάτας είναι η *var cerasiforme*, και με μοναδικό ίσως άλλο διεκδικητή (πρόγονο) την *Lycopersicon pimpinellifolium*, που είναι πιθανό να είναι μάλλον παραπροϊόν, παρά μέλος της γενετικής σειράς. Το *Lycopersicon esculentum* και οι στενοί συγγενείς, είναι γενικά αυτογονιμοποιούμενα είδη. Σταυρογονιμοποιούνται στις περιοχές που αυτοφύονται και σε μερικές άλλες υποτροπικές περιοχές, αλλά σε άλλα μέρη αυτογονιμοποιούνται πλήρως. Αντίθετα, τα άλλα είδη του γένους *Lycopersicon* είναι αυτόστειρα, και επομένως σταυρογονιμοποιούνται πλήρως με διάφορα είδη μελισσών (Ολυμπίου, 2001 & Γιαννοπολίτης, 2007).

Η τομάτα (*L. esculentum*) μπορεί να διασταυρωθεί με όλα τα άλλα είδη του γένους και να δημιουργήσει υβρίδια. Αυτή η διαδικασία χρησιμοποιείται σε μεγάλη έκταση τα τελευταία 50 χρόνια, με αποτέλεσμα αρκετά επιθυμητά χαρακτηριστικά (γόνοι) να έχουν μεταφερθεί και ενσωματωθεί στις καλλιεργούμενες ποικιλίες και υβρίδια. Η

εφαρμογή μοντέρνων μεθόδων γενετικής βελτίωσης, είχε σαν αποτέλεσμα τη διασταύρωση και επιλογή εκατοντάδων ποικιλιών και υβριδίων, κατάλληλων για ποικίλες συνθήκες (τροπικές, υποτροπικές, ψυχρές), και σκοπούς (νωπή κατανάλωση, μεταποίηση, για καλλιέργεια στην ύπαιθρο, στα θερμοκήπια κ.λπ.). η τομάτα είναι φυτό το οποίο εύκολα μπορεί να μεταχειριστεί κανείς τα άνθη του για διασταυρώσεις και παραγωγή υβριδίων. Για παραγωγή υβριδίων χρησιμοποιούνται σήμερα και αρρενόστειρες σειρές. Οι πιο σημαντικές επιτυχίες που επιτεύχθηκαν με τη γενετική βελτίωση στην τομάτα είναι: α) αύξηση της παραγωγής με αύξηση του μεγέθους του καρπού και του αριθμού των καρπών, β) βελτίωση της ποιότητας, σχήματος, χρώματος, αρώματος, υφής και ομοιομορφία σε όλα τα χαρακτηριστικά, γ) οι συνθήκες του φυτού για διευκόλυνση καλλιεργητικών περιποιήσεων και συγκομιδής. Σημαντικό γεγονός αποτελεί η ανακάλυψη γενετικά ελεγχόμενης ανάπτυξης (determinate), δ) βελτίωση της αντοχής του καρπού στις μεταχειρίσεις και στην αποθήκευση, ε) πρωιμότητα στην παραγωγή, στ) δυνατότητα καρπόδεσης σε αντίξοες συνθήκες, ζ) αντοχή στους εχθρούς και στις ασθένειες, η) η δημιουργία υβριδίων των οποίων οι καρποί έχουν μεγάλη διάρκεια ζωής μετά τη συγκομιδή (Long life ή semi long life).

Αξίζει να σημειωθεί βέβαια ότι με τη γενετική βελτίωση έχουν επιτευχθεί και σημαντικές αλλαγές στη μορφολογία του άνθους. Έτσι επιλέχθηκαν άνθη που από μακρόστυλα έγιναν κοντόστυλα, τα οποία εξυπηρετούν την αυτογονιμοποίηση και ευνοούν την καρπόδεση στα θερμοκήπια, όπου ο αέρας και τα έντομα απουσιάζουν (Ολυμπίου, 2001).

1.1.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ – ΒΟΤΑΝΙΚΟΙ ΧΑΡΑΚΤΗΡΕΣ

Φυτό: Το φυτό της τομάτας είναι ποώδες, κατά γενικό κανόνα ετήσιο και διετές, σπανιότερα όμως μπορεί να είναι και πολυετές (Εικ. 1) (Ολυμπίου, 2001).

Ρίζα: Όταν ο σπόρος της τομάτας σπέρνεται απευθείας στη μόνιμη θέση στην οποία θα αναπτυχθεί σε φυτό, τότε το φυτό αναπτύσσει μία ευδιάκριτη κεντρική ρίζα και αρκετές δευτερεύουσες καθώς επίσης και πολλά ριζικά τριχίδια. Επειδή όμως, ως επί το πλείστον, οι τομάτες στην καλλιέργεια θερμοκηπίου μεταφυτεύονται μία ή και περισσότερες φορές, η κεντρική ρίζα καταστρέφεται μερικώς και το φυτό αρχίζει να

παράγει πολλές δευτερεύουσες πλευρικές ρίζες, μερικές από τις οποίες αναπτύσσονται και από τον λαιμό του φυτού, κάτι που θεωρείται σημαντικό πλεονέκτημα αφού με αυτόν τον τρόπο διευκολύνεται η μεταφύτευσή του (Ολυμπίου, 2001).



Εικόνα 1: Φυτά τομάτας ηλικίας τριών εβδομάδων, σε δικτυόκηπο θερμοκηπίου.

Βλαστός: Μετά την οριζοντιοποίηση των κοτυληδονόφυλλων κατά τη διάρκεια του φυτρώματος, αναπτύσσεται ο κεντρικός βλαστός του φυτού ο οποίος φέρει στη συνέχεια τα πραγματικά φύλλα (Εικ. 1), στις μασχάλες των οποίων υπάρχουν οφθαλμοί από όπου εκπύσσονται πλευρικοί βλαστοί. Το σχήμα του βλαστού είναι κυλινδρικό και πλήρες εσωτερικά. Κατά το αρχικό στάδιο της ανάπτυξής του είναι τρυφερός, εύθραυστος, και χυμώδης. Στη συνέχεια όμως σταδιακά γίνεται πιο σκληρός, αποκτά μηχανική αντοχή και εξακολουθεί να είναι σχετικά εύθραυστος. Το μήκος του βλαστού εξαρτάται από τον τύπο κλαδέματος και από γενετικούς παράγοντες οι οποίοι σχετίζονται με τις ποικιλίες. Το μήκος του κεντρικού βλαστού μπορεί να φτάσει τα 10 ή και παραπάνω μέτρα στην περίπτωση μονοστέλεχου συστήματος κλαδέματος (Ολυμπίου, 2001).

Φύλλα: Τα πραγματικά φύλλα της τομάτας είναι σύνθετα και κάθε φύλλο αποτελείται από ζεύγη φυλλαρίων και παράφυλλων, με ένα μόνο φυλλάριο στην άκρη κάθε σύνθετου φύλλου. Ο αριθμός των ζευγών φυλλαρίων σε κάθε φύλλο ποικίλει ανάλογα με την ποικιλία και από τη θέση του φύλλου πάνω στο βλαστό. Υπάρχουν

ποικιλίες με 3, 4 ή 5 ζεύγη φυλλαρίων (Εικ. 2). Τα πρώτα πραγματικά φύλλα έχουν μικρότερο αριθμό ζευγών. Ο αριθμός ζευγών των φυλλαρίων καθώς και το μέγεθος των φύλλων όσον αφορά το μήκος και το πλάτος τους, επηρεάζονται, εκτός από το είδος της ποικιλίας, και από τις συνθήκες και τον τρόπο καλλιέργειας. Στις μεγαλόκαρπες ποικιλίες τα φύλλα είναι πιο μακριά και πιο πλατιά σε σύγκριση με τις μικρόκαρπες ποικιλίες. Τα φύλλα εμφανίζονται σε ελικοειδή διάταξη πάνω στο βλαστό και η επάνω επιφάνειά τους έχει χρώμα σκούρο πράσινο ενώ η κάτω επιφάνεια έχει χρώμα ελαιώδες ανοικτό πράσινο (Ολυμπίου, 2001).



Εικόνα 2: Σύνθετο φύλλο τομάτας.

Άνθος – Ταξιανθία: Τα άνθη της τομάτας διατάσσονται σε ταξιανθίες και έχουν αριθμό από 2, 3 ανά ταξιανθία μέχρι και 20 ή και περισσότερα. Ένας επιθυμητός μέσος αριθμός ανθέων είναι 6-8 άνθη ανά ταξιανθία. Οι ταξιανθίες εμφανίζονται πάνω στο βλαστό του φυτού και διακλαδίζονται συμμετρικά ή ασύμμετρα, ανάλογα την ποικιλία. Στο άκρο της κάθε διακλάδωσης υπάρχει και ένα άνθος. Το άνθος έχει δερματώδη κάλυκα πράσινου χρώματος ο οποίος αποτελείται από πέντε ή περισσότερα σέπαλα, η στεφάνη είναι κίτρινου χρώματος με πέντε ή και περισσότερα ενωμένα πέταλα και πέντε ή περισσότερους στήμονες ενωμένους στη βάση τους με τη στεφάνη του άνθους και ενωμένους κατά μήκος μεταξύ τους, έτσι ώστε να σχηματίζουν ένα κώνο γύρω από το στύλο (ο οποίος συνήθως είναι κοντύτερος από τους στήμονες) εγκλωβίζοντάς τον (Εικ. 3). Η ωοθήκη είναι πολύχωρη, διαθέτει από δύο έως επτά ή και περισσότερους χώρους ο καθένας από τους οποίους έχει πολλά ωάρια (Ολυμπίου, 2001).



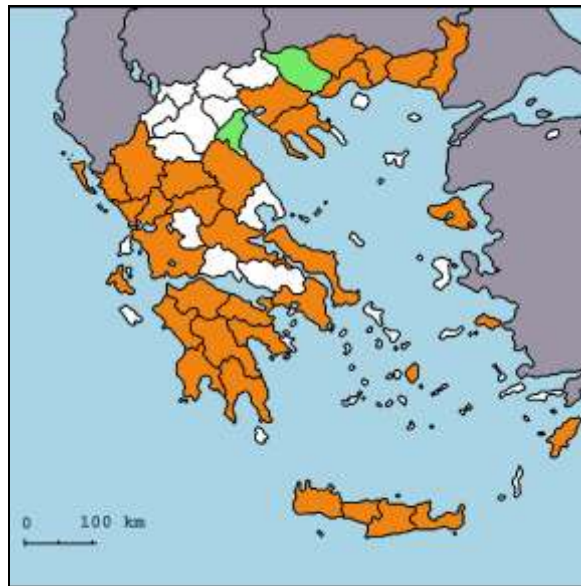
Εικόνα 3: Ανθοταξίες φυτού τομάτας με πλήρως ανοικτά άνθη. Οι στήμονες είναι εμφανείς και ενωμένοι σε σχήμα κώνου γύρω από το στύλο.

Καρπός: Ο καρπός της τομάτας έχει διάφορα σχήματα ανάλογα την ποικιλία και είναι πολύχωρος ράγα. Ο καρπός των ποικιλιών με δύο χώρους είναι συνήθως στρογγυλός, ενώ των ποικιλιών που διαθέτουν 3, 4, 5 ή και περισσότερους χώρους είναι πεπλατυσμένος και συνήθως ακανόνιστου σχήματος (Ολυμπίου, 2001).

Σπόρος: Ο σπόρος της τομάτας είναι ωοειδούς σχήματος, πεπλατυσμένος, χρώματος κίτρινου-καφέ χρυσαφένιου και η επιφάνειά του καλύπτεται με τριχοειδείς αποφύσεις που του αποδίδουν μεταξώδη επιφάνεια (διαφορά από μελιτζάνα και πιπεριά). Το μέγεθος των σπόρων δεν ξεπερνά τη διάμετρο των 3-5 χλστ. Ο σπόρος στο εσωτερικό του φέρει ένα σπειροειδές έμβρυο που περιβάλλεται από ένα μικρό ενδοσπέρμιο. Ένα γραμμάριο σπόρων τομάτας διαθέτει περίπου 450 σπέρματα (Ολυμπίου, 2001).

1.2 Ο ΥΠΟΝΟΜΕΥΤΗΣ ΤΩΝ ΦΥΛΛΩΝ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ *Tuta absoluta*

Ο υπονομευτής της τομάτας, *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917), είναι ένας σοβαρός καταστροφικός εχθρός ο οποίος προσβάλλει το φυτό της τομάτας. Ανήκει στην οικογένεια Gelechiidae της τάξης Lepidoptera. Οι προνύμφες τρέφονται από όλα τα υπέργεια μέρη των φυτών της τομάτας, κυρίως όμως σοβαρές ζημιές προκαλεί στο φύλλωμα, και μπορούν να προκαλέσουν μεγάλη καταστροφή.



Εικόνα 4: Αποτελέσματα επισκοπήσεων για το *T. absoluta*. Οι επισκοπήσεις διενεργούνται με μακροσκοπικούς ελέγχους σε όλη την επικράτεια. Με πορτοκαλί χρώμα παρουσιάζονται οι νομοί στους οποίους έχουν βρεθεί θετικά δείγματα του επιβλαβούς οργανισμού. Με λευκό χρώμα παρουσιάζονται οι νομοί που δεν έχουν διενεργηθεί ακόμα επισκοπήσεις, ενώ με πράσινο χρώμα παρουσιάζονται οι νομοί στους οποίους έχουν πραγματοποιηθεί δειγματοληψίες αλλά δεν υπήρξαν δείγματα του επιβλαβούς οργανισμού. Ο πίνακας αποτελεί δείγμα στατιστικών στοιχείων για τον Νοέμβριο του 2009 (Ροδιτάκης et al, 2009).

Οι προνύμφες δημιουργούν μεγάλες στοές στα φύλλα, ανοίγουν στοές στους βλαστούς, καθώς και στους πράσινους και ώριμους καρπούς. Το *T. absoluta* είναι ικανό να μειώσει έως 80 -100% τη συνολική συγκομιδή. Ο κύριος ξενιστής αυτού του εντόμου είναι η τομάτα, αλλά μπορεί να προσβάλλει επίσης την πατάτα, τη μελιτζάνα, την πιπεριά και άλλα σολανοειδή φυτά, καθώς επίσης και διάφορα αυτοφυή Solanaceae

όπως *Solanum nigrum* (αγριοτοματιά), *Datura sp* (αλκαλοειδές φυτό) κ.α. (EPPO, 2005).

Το λεπιδόπτερο *T. absoluta*, που ήρθε πρόσφατα στην Ευρώπη από την Νότια Αμερική, πρωτοεμφανίστηκε στην Ελλάδα την άνοιξη του 2009 και εξαπλώθηκε ταχύτατα σε ολόκληρη τη χώρα (Εικ. 4) (Χαραντώνης & Γιαννοπολίτης, 2009).

1.2.1 ΚΑΤΑΓΩΓΗ – ΙΣΤΟΡΙΚΟ

Το *T. absoluta* προέρχεται από τη Νότια Αμερική όπου και καταγράφηκε σε πολλές περιοχές της ηπείρου κατά τη διάρκεια των τελευταίων δεκαετιών. Οι προσβολές που για πρώτη φορά εντοπίστηκαν στην Ευρώπη, στην Καταλονία (Ισπανία) ήταν το 2007. Εισήχθη στην Ισπανία κατά πάσα πιθανότητα λίγα χρόνια πριν όπου και έχει εξαπλωθεί από τότε. Το 2008 είχαν αναφερθεί κρούσματα από την Ισπανία, το Μαρόκο και την Αλγερία και το 2009 από τη Νότια Γαλλία και την Ιταλία (van der Straten, 2009). Πιο συγκεκριμένα, στη διάρκεια των δύο ετών του 2008 και 2009 έχει εντοπιστεί στην Ιταλία, τη Γαλλία, στη Μάλτα, το Ηνωμένο Βασίλειο, στην Ελλάδα, την Ιρλανδία, την Πορτογαλία, το Μαρόκο, την Αλγερία, την Τυνησία, τη Λιβύη και την Αλβανία (www.tutaabsoluta.com).

Η επικινδυνότητα αυτού του μικρολεπιδόπτερου είναι η δυνατότητα ταχύτατης εξάπλωσης και η καταστροφή που προκαλεί στην παραγωγή της τομάτας είτε υπαίθριας είτε θερμοκηπιακής καλλιέργειας. Δεδομένης της επιθετικής φύσης του και του δυναμικού καταστροφής του ενάντια στην καλλιέργεια της τομάτας, έχει γίνει βασικός κι επικίνδυνος εχθρός της καλλιέργειας της τομάτας για αυτές τις νέες γεωγραφικές περιοχές (IRAC 2010).

1.2.2 ΒΙΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *T. absoluta*

Το λεπιδόπτερο *T. absoluta* έχει από 10 έως 12 γενεές ανά έτος. Το θηλυκό έχει μεγάλη αναπαραγωγική ικανότητα και γεννά έως και 260 ωά κατά τη διάρκεια της ζωής του. Το *T. absoluta* ωστοκεί ως επί τω πλείστον στην κάτω επιφάνεια του ελάσματος των φύλλων, αλλά και στους νεαρούς βλαστούς και στους ποδίσκους των ανθοταξιών.

Η εκκόλαψη των ωών γίνεται από 4 - 7 ημέρες μετά την ωοθεσία. Οι νεαρές προνύμφες τρυπούν την επιδερμίδα και ορύσσουν ακανόνιστες στοές τρεφόμενες από το μεσόφυλλο και παραμένουν μέσα σε αυτές εκτός από μικρά διαστήματα μεταξύ εκδύσεων κατά τα οποία μπορεί να βρεθούν εκτός των στοών. Επίσης εισχωρούν στους ακραίους οφθαλμούς, τους νεαρούς βλαστούς, τους ποδίσκους των ανθοταξιών καθώς και τους νεαρούς καρπούς, δημιουργώντας επίσης στοές. Υπάρχουν τέσσερα προνυμφικά στάδια (L_1 , L_2 , L_3 , και L_4) και η προνυμφική περίοδος διαρκεί περίπου 13-15 ημέρες, ανάλογα τις ατμοσφαιρικές θερμοκρασίες. Εφόσον υπάρχει τροφή διαθέσιμη, οι προνύμφες παραμένουν δραστήριες και δεν διαπαύουν. Οι ώριμες προνύμφες συνήθως εξέρχονται από τις στοές για τη διαδικασία της νύμφωσης. Η νύμφωση διαρκεί 9-11 ημέρες και μπορεί να γίνει πάνω στα φύλλα ή εντός των στοών ή στο έδαφος σε μικρό βάθος. Όταν η νύμφωση λαμβάνει χώρα εκτός του εδάφους, τότε αυτή πραγματοποιείται μέσα σε ένα κουκούλι το οποίο υφαίνεται από την προνύμφη. Το νυμφικό στάδιο διαρκεί 10 περίπου ημέρες, ενώ ο βιολογικός κύκλος ολοκληρώνεται σε διάστημα 29 έως 38 ημερών, ανάλογα τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Το έντομο διαχειμάζει είτε στο στάδιο του ωού, είτε της νύμφης, είτε σαν ακμαίο. Τα ακμαία είναι δραστήρια μόνο τη νύχτα, ενώ την ημέρα κρύβονται σε διάφορα καταφύγια όπως π.χ. ανάμεσα στα φύλλα των φυτών (EPPO, 2005).

1.2.3 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ *T. absoluta*

Αυγό: Μικρό (0.22mm έως 0.36mm), κυλινδρικό, κρεμώδες λευκό έως υποκίτρινο (Εικ. 5). Τα αυγά εναποτίθενται κυρίως στην κάτω φυλλική επιφάνεια (EPPO, 2005).



Εικόνα 5: Αυγά σε μεγέθυνση, σε φύλλο τομάτας, του λεπιδόπτερου *T. absoluta*.

Προνύμφη: Διακρίνονται τέσσερα προνυμφικά στάδια. Η προνύμφη του σταδίου L₁ και L₂ (Εικ. 6) έχει χρώμα κρεμώδες λευκό. Το χρώμα της προνύμφης του σταδίου L₃ (Εικ. 7) και L₄ (Εικ. 8) ποικίλει από σκούρο πράσινο έως ροζ - πορτοκαλί, καθώς επηρεάζεται από την ηλικία και από τη διατροφή, συνήθως οι προνύμφες αυτών των σταδίων αποκτούν έναν ιδιαίτερο χρωματισμό ο οποίος είναι σκούρος πράσινος ενώ στο κέντρο τους υπάρχει μία ευδιάκριτη ρόδινη απόχρωση. Η κεφαλή της προνύμφης όλων των σταδίων έχει καφετί σκοτεινό χρώμα, ενώ υπάρχει ένα σημείο ακριβώς πίσω από το κεφάλι της το οποίο έχει το σχήμα «κολάρου», έχει χρώμα έντονο σκούρο έως μαύρο και «διαχωρίζει» το κεφάλι από το υπόλοιπο σώμα της. Η προνύμφη του πρώτου σταδίου (L₁) έχει μήκος περίπου 0.9mm, ενώ του τέταρτου φτάνει έως και τα 7,5mm (EPPO, 2005).



Εικόνα 6: Προνύμφη δευτέρου σταδίου (L₂) του λεπιδόπτερου *T. absoluta*, σε φύλλο τομάτας, με ευδιάκριτα τα αποχωρήματά της.



Εικόνα 7: Προνύμφη τρίτου σταδίου (L₃) του λεπιδόπτερου *T. absoluta*.



Εικόνα 8: Προνύμφη τέταρτου σταδίου ανάπτυξης (L₄) του λεπιδόπτερου *T. absoluta*, σε καρπό τομάτας (www.eppo.org).

Πούπα: Έχει ιριδίζοντα χρώματα από πράσινο έως χρυσό-καστανό. Το μήκος της είναι περίπου από 8 έως το πολύ 10-11mm. Στην κορυφή της (κεφαλή αναπτυσσόμενου εντόμου) είναι πιο παχιά και στενεύει κατά μήκος (Εικ. 9).



Εικόνα 9: Πούπα της *T. absoluta* (www.eppo.org).

Ενήλικο: Έχει μήκος περίπου 10mm, χρυσοκαφετί χρώματος με καφέ σκούρες κηλίδες σε όλη την επιφάνεια των πρόσθιων φτερών. Οι κεραίες του έχουν περίπου το μισό μήκος του σώματός του, είναι νηματοειδείς (σε σχήμα χάνδρας) με ασημογκρί απόχρωση και χαρακτηριστική διχρωμία (Εικ. 10) (EPPO, 2005) . Το θηλυκό έχει κοιλιά εμφανώς πιο μεγάλη ενώ το αρσενικό ενήλικο άτομο είναι γενικά μικρότερο σε

μέγεθος, ενώ σε μεγέθυνση στο στερεοσκόπιο είναι ευδιάκριτα τα αναπαραγωγικά τους όργανα (Εικ. 11 & 12).



Εικόνα 10: Ενήλικο άτομο *T. absoluta* (www.eppo.org).



Εικόνα 11: Κοιλιά αρσενικού ενήλικου ατόμου του λεπιδόπτερου *T. absoluta* στο στερεοσκόπιο. Είναι εμφανή τα αναπαραγωγικά του όργανα.



Εικόνα 12: Κοιλιά θηλυκού ενήλικου ατόμου του λεπιδόπτερου *T. absoluta* στο στερεοσκόπιο, με ευδιάκριτα τα αναπαραγωγικά του όργανα.

1.2.4 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΑ ΠΡΟΣΒΟΛΗΣ – ΖΗΜΙΕΣ

1.2.4.1 ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΣΕ ΚΑΡΠΟΥΣ

Η προσβολή συνήθως διαπιστώνεται κάτω από τον κάλυκα του καρπού και δεν είναι ορατή στα αρχικά στάδια, παρά μόνο εάν ανασηκωθούν τα σέπαλα του κάλυκα (Εικ. 13). Η προσβολή είναι ορατή σε προχωρημένο στάδιο καθώς είναι ευδιάκριτες οι στοές και τα σφαιροειδή αποχωρήματα από την τροφική δραστηριότητα της προνύμφης. Προσβολές παρατηρούνται και στην επιφάνεια του καρπού. Σε αρχικά στάδια οι προσβολές είναι μικρές σκουρόχρωμες οπές και στη συνέχεια παρατηρούνται ακανόνιστες στοές (Μ.Φ.Ι., 2010).



Εικόνα 13: Προσβολή από προνύμφη της *T. absoluta* σε πράσινο καρπό τομάτας, όπου είναι ορατή η προνύμφη και τα αποχωρήματά της κάτω από τα σέπαλα του κάλυκα.

1.2.4.2 ΠΡΟΣΒΟΛΗ ΣΕ ΦΥΛΛΑ ΚΑΙ ΣΕ ΣΤΕΛΕΧΗ

Η διαπίστωση της προσβολής στα φύλλα είναι σχετικά δύσκολη, λόγω του ό,τι στα αρχικά στάδια μοιάζει αρκετά με προσβολή από υπονομευτή φύλλων *Lyriomyza* spp. και δύσκολα μπορεί να αξιολογηθεί. Σε προχωρημένο στάδιο η προσβολή μπορεί να διακριθεί πιο εύκολα, καθώς οι στοές είναι πολύ μεγαλύτερες από αυτές που προκαλεί ο

υπονομευτής *Lyriomyza* spp. (Εικ. 14), ενώ συχνά παρατηρούνται ακανόνιστου σχήματος θάλαμοι εντός του παρεγχύματος του φύλλου από την δραστηριότητα της προνύμφης. Τα σφαιροειδή αποχωρήματα είναι ορατά, κάτι δεν παρατηρούνται σε προσβολές από *Lyriomyza* spp. (Μ.Φ.Ι., 2010).



Εικόνα 14: Προσβολή από *T. absoluta* (αριστερά), προσβολή από *Lyriomyza* spp. (δεξιά) σε φύλλο φασολιάς.



Εικόνα 15: Τυπικά συμπτώματα προσβολής με χαρακτηριστικές στοές από *T. absoluta* σε φύλλα φυτού τομάτας.

Οι προσβολές παρατηρούνται κυρίως στα κορυφαία φύλλα του φυτού. Η προνύμφη τρέφεται με το μεσόφυλλο αφήνοντας άθικτη την κάτω και πάνω επιδερμίδα του ελάσματος του φύλλου (Ει. 15 & 16). Προσβολές παρατηρούνται σε νεαρούς βλαστούς (Εικ. 18) και στις μασχάλες των φύλλων. Οι στοές είναι λιγότερο ευδιάκριτες, όμως τα σφαιροειδή αποχωρήματα βοηθούν στο εντοπισμό των προσβολών (Εικ. 16).

Τα παραπάνω συμπτώματα προσομοιάζουν με αυτά που προκαλεί το συγγενές ιθαγενές είδος *Phthorimaea operculella* (Zeller), (Lepidoptera: Gelechiidae) (Εικ. 17) (Μ.Φ.Ι., 2010).



Εικόνα 16: Λεπτομέρεια της προσβολής από *T. absoluta*, όπου σε διερχόμενο φως είναι ορατές οι προνύμφες εντός του μεσόφυλλου και τα σφαιροειδή αποχωρήματά τους.



Εικόνα 17. Προνύμφη του ιθαγενούς είδους *Phthorimaea operculella*. Το βέλος στον προθώρακα υποδεικνύει ένα σχετικά εύκολο χαρακτηριστικό ταξινομικού διαχωρισμού με το *T. absoluta* (φωτογραφία: Δρ. Ροδιτάκης Ε)



Εικόνα 18: Προσβολή από *T. absoluta* σε νεαρό βλαστό φυτού τομάτας, όπου είναι ορατή η προνύμφη και τα αποχωρήματά της (Χαραντώνης & Γιαννοπολίτης, 2009).

1.3 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΚΑΙ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

1.3.1 ΠΡΟΛΗΠΤΙΚΑ ΜΕΤΡΑ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ

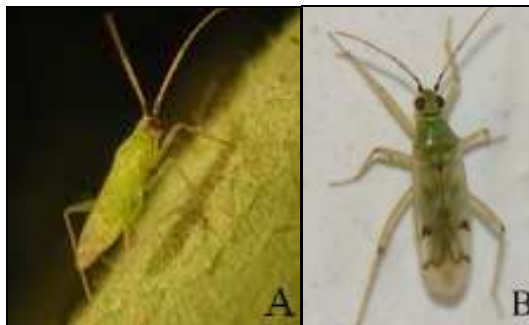
Το μικρολεπιδόπτερο *T. absoluta* μεταδίδεται με τη μεταφορά προσβεβλημένων φυτών, καρπών ή και με τις συσκευασίες. Επίσης μπορεί να μεταφέρεται με την ανθρώπινη επέμβαση και με τον άνεμο εντός μίας περιοχής.

Τα μέτρα κατά του *T. absoluta* συντάχθηκαν από τα Επίσημα Εργαστήρια: Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών Ηρακλείου, Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας σε συνεργασία με το Εργαστήριο Γεωργικής Εντομολογίας, Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο (Μ.Φ.Ι., 2010).

1.3.1.1 ΣΕ ΥΠΟ ΚΑΛΥΨΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

- ❖ Κλείσιμο των ανοιγμάτων με ειδικό εντομοστεγές δίκτυο (τύπος 16x10).
- ❖ Εγκατάσταση προθαλάμου με διπλές πόρτες στα θερμοκήπια.

- ❖ Απομάκρυνση και καταστροφή προσβεβλημένων καρπών, φύλλων, και βλαστών με ασφαλή φυτοϋγειονομική μέθοδο.
- ❖ Καταστροφή των αυτοφυών ξενιστών, στον περιβάλλοντα χώρο, με ασφαλή φυτοϋγειονομική μέθοδο.
- ❖ Επεμβάσεις με εγκεκριμένα φυτοπροστατευτικά προϊόντα.
- ❖ Χρήση κατάλληλων εγκεκριμένων παγίδων για την εκτίμηση των επιπέδων του πληθυσμού (Μ.Φ.Ι., 2010).
- ❖ Για τη βιολογική καταπολέμησή του διατίθενται στην αγορά δύο ωφέλιμα αρπακτικά του υπονομευτή της τομάτας, το *Macrolophus caliginosus* (Hemiptera: Miridae) και το *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae), τα οποία καταστρέφουν τα αυγά και τις νεαρές προνύμφες του *T. absoluta* (Εικ. 19). Σε συστήματα ολοκληρωμένης διαχείρισης, η χρήση των ωφέλιμων μπορεί να συνδυαστεί με χρήση εγκεκριμένων εντομοκτόνων, αλλά σε αυτή τη περίπτωση είναι απαραίτητο το εντομοκτόνο που θα χρησιμοποιηθεί να είναι συμβατό με την βιολογική καταπολέμηση (εκλεκτικό στα ωφέλιμα) (Γιαννοπολίτης, 2010).



Εικόνα 19: *Macrolophus caliginosus* (A), *Nesidiocoris tenuis* (B) αρπακτικά αυγών και νεαρών προνυμφών του *T. absoluta* (A: <http://wikicannaweed.com>, B: www.flickr.com).

1.3.1.2 ΣΕ ΥΠΑΙΘΡΙΕΣ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΕΣ

- ❖ Επεμβάσεις με εγκεκριμένα φυτοπροστατευτικά προϊόντα.
- ❖ Απομάκρυνση και καταστροφή προσβεβλημένων καρπών, φύλλων με ασφαλή φυτοϋγειονομική μέθοδο.
- ❖ Καταστροφή των αυτοφυών ξενιστών, στον περιβάλλοντα χώρο, με ασφαλή φυτοϋγειονομική μέθοδο.

- ❖ Χρήση κατάλληλων εγκεκριμένων παγίδων για την ακριβή εκτίμηση των επιπέδων του πληθυσμού (Μ.Φ.Ι., 2010).

1.3.1.3 ΣΕ ΧΩΡΟΥΣ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ ΚΑΙ ΕΠΑΝΑΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑΣ

- ❖ Απομάκρυνση και καταστροφή προσβεβλημένων καρπών, φύλλων και βλαστών, όπως και συσκευασιών μιας χρήσης με ασφαλή φυτοϋγειονομική μέθοδο.
- ❖ Καθαρισμός των συσκευασιών. Όπου απαιτείται μπορεί να διενεργείται απεντόμωση των επαναχρησιμοποιούμενων μέσων συσκευασίας και των χώρων συσκευασίας, διακίνησης και αποθήκευσης (Μ.Φ.Ι., 2010).

1.3.2 ΧΗΜΙΚΗ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ

Η γεωργική παραγωγή δέχεται πολύ σοβαρές ζημιές από τη δραστηριότητα πολλών επιβλαβών φυτοφάγων εντόμων τα οποία ή μειώνουν σε σημαντικό βαθμό ή καταστρέφουν ολοσχερώς τη γεωργική παραγωγή. Παρακολουθώντας το πρόβλημα σε παγκόσμια κλίμακα, από το ένα εκατομμύριο περίπου διαφορετικών ειδών εντόμων που έχουν προσδιοριστεί, οι δέκα χιλιάδες από αυτά είναι είδη φυτοφάγα τα οποία προκαλούν σοβαρές ζημιές στις γεωργικές καλλιέργειες με σημαντικό οικονομικό αντίκτυπο στον παραγωγό, κάτι το οποίο συνεπάγεται την αύξηση των τιμών, την ποιοτική υποβάθμιση ή την έλλειψη του προϊόντος από την αγορά, που έχουν ως συνέπεια να επηρεάζουν αρνητικά και τον καταναλωτή και γενικά την οικονομία μιας χώρας.

Η αντιμετώπιση των ζωικών εχθρών των καλλιεργειών πραγματοποιείται κυρίως με τη χρήση χημικών ουσιών και σε μικρότερο βαθμό με την εφαρμογή βιολογικών παραγόντων ή βιοτεχνολογικών μέτρων. Όταν όμως επικρατούν συνθήκες που ευνοούν την ανάπτυξη μεγάλων πληθυσμών επιβλαβών εντόμων και ζωικών εχθρών, τότε ίσως η μοναδική μέθοδος αντιμετώπισής τους φαίνεται να είναι η εφαρμογή χημικών μέσων. Η χρήση χημικών εκλεκτικών εντομοκτόνων άρχισε κυρίως στις αρχές της δεκαετίας του '40 κατά την περίοδο του Β' Παγκοσμίου Πολέμου, αρχικά με την ανακάλυψη των

οργανοφωσφορικών ενώσεων και στη συνέχεια άλλων συνθετικών ή φυσικών οργανικών ενώσεων που επιδεικνύουν εντομοτοξική δράση παρεμποδίζοντας εξειδικευμένα σημαντικές κυτταρικές ή φυσιολογικές λειτουργίες των ζωικών εχθρών των φυτών (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2007). Η ανακάλυψη και η χρήση των συνθετικών οργανικών εντομοκτόνων βοήθησε πολύ σημαντικά στην φυτοπροστασία και τη δημόσια υγεία, εφόσον γίνεται χρήση δραστικότερων μορίων για την αντιμετώπιση των φυτικών εχθρών και για την προστασία της ανθρώπινης υγείας. Η ομαδοποίηση των δραστικών ουσιών βασίζεται στον μηχανισμό δράσης αυτών:

- ❖ Εντομοκτόνα στομάχου.
- ❖ Εντομοκτόνα επαφής.
- ❖ Εντομοκτόνα καπνογόνου δράσης ή ασφυκτικά.
- ❖ Εντομοκτόνα πολλαπλής δράσης.

Η αντιμετώπιση του *T. absoluta* σήμερα βασίζεται κατά ένα μεγάλο ποσοστό στη χημική καταπολέμηση (Desneux, 2010). Ειδικότερα σε περιοχές της Λατινικής Αμερικής απ' όπου προήλθε, αρχικά ο έλεγχός του στηρίχθηκε στη χημική αντιμετώπιση (Desneux, 2010). Από το 1980 όμως η αποτελεσματικότητα των οργανοφωσφορικών ενάντια στο *T. absoluta* σταδιακά μειώθηκε σε χώρες όπως η Βολιβία, Βραζιλία και Χιλή (Salazar and Araya 1997 & Siqueira et al. 2000, 2001). Επιπλέον στη Χιλή έχει αναφερθεί ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα οργανοφωσφορικά (organophosphates) και στις πυρεθρίνες (pyrethroids) (Salazar and Araya 1997), ενώ στη Βραζιλία αναπτύχθηκε ανθεκτικότητα στις δραστικές ουσίες abamectin, cartap, methamidophos και permethrin (Siqueira et al. 2000, 2001). Πρόσφατα έχει αναπτυχθεί ανθεκτικότητα στις δραστικές ουσίες deltamethrin και abamectin για τους πληθυσμούς του *T. absoluta* στις υπαίθριες και θερμοκηπιακές καλλιέργειες της Αργεντινής (Lietti et al. 2005). Σε ολόκληρη τη Νότια Ευρώπη και Βόρεια Αφρική το *T. absoluta* αποτελεί πλέον έναν εξαιρετικά σοβαρό εχθρό για την καλλιέργεια της τομάτας. Η ξαφνική εμφάνιση του *T. absoluta* ώθησε πολλούς καλλιεργητές στην αλόγιστη χρήση χημικών εντομοκτόνων προκαλώντας έτσι πλήθος ανεπιθύμητων παρενεργειών. Επιπλέον η εντατική χρήση φυτοπροστατευτικών προϊόντων μπορεί να οδηγήσει σε ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο *T. absoluta*. Αυτή τη στιγμή βρίσκεται σε ανάπτυξη ένα σύστημα ολοκληρωμένης διαχείρισης το οποίο θα περιλαμβάνει βιοτεχνολογικά, βιολογικά και

χημικά μέσα αντιμετώπισης ώστε να περιοριστούν οι επιπτώσεις από την εισβολή του *T. absoluta*. Επιπλέον στόχοι της ανάπτυξης αυτού του συστήματος θα είναι η φιλική μεταχείριση του περιβάλλοντος και η οικονομική διαχείριση καλλιεργειών (Desneux, 2010).

Η χημική αντιμετώπιση του *T. absoluta* στην Ελλάδα καθορίστηκε πρόσφατα, με απόφαση της πολιτικής ηγεσίας του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και τροφίμων. Τα εγκεκριμένα φυτοπροστατευτικά προϊόντα για τα οποία χορηγήθηκε έγκριση για την αντιμετώπιση του εντόμου είναι τα παρακάτω:

Affirm 095 SG: Ανήκει στην ομάδα τρόπου δράσης 6 – Chloride channel activators (chemical class: avermectins, milbemycins) (IRAC, Version 6,3 2009), η οποία δρα στο νευρικό και μυϊκό σύστημα (nerve and muscle action). Οι αβερμεκτίνες (avermectins) και οι μιλμπεμυκίνες (milbemycins) είναι χημικά συγγενείς ενώσεις, φυσικά προϊόντα του δευτερογενούς μεταβολισμού ειδών του γένους *Streptomyces*, που χαρακτηρίζονται από σημαντική ακαρεοκτόνο και εντομοκτόνο δράση. Η δραστική ουσία του σκευάσματος είναι η emamectin benzoate, που είναι αποτελεσματική εναντίον των λεπιδόπτερων και η οποία ανήκει στα συνθετικά παράγωγα των αβερμεκτινών και μιλμπεμυκινών (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2007).

Το Affirm 095 SG έχει εγκριθεί για την υπαίθρια καθώς και την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας. Κάτοχος της έγκρισης για το σκεύασμα είναι η εταιρεία Syngenta Hellas A.E.B.E. Η εγγραμμένη σύνθεση του σκευάσματος είναι Emamectin benzoate 0,95% β/β και Βοηθητικές ουσίες 99% β/β (η πλήρης εγγραμμένη σύνθεση του σκευάσματος έχει κατατεθεί στο φάκελο έγκρισης του προϊόντος). Το εντομοκτόνο δρα διελασματικά, αποικοδομείται ταχέως στην επιφάνεια των φύλλων και δεν είναι διασυστηματικό. Δεν υπάρχουν στοιχεία για το αν παρουσιάζει τοξικότητα στα αρπακτικά Miridae. Δεν είναι φυτοτοξικό εφόσον χρησιμοποιείται με τις συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής. Είναι επιβλαβές στους υδρόβιους οργανισμούς και μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Μέγιστα όρια επιτρεπόμενων υπολειμμάτων (MRLs) του σκευάσματος είναι τα 0,02 mg/kg και η τελευταία επέμβαση πριν τη συγκομιδή είναι οι 3 ημέρες (Υπ. Απ. 2-6-2010, Α.Π. 185188).

Bactospeine 6,4 WG: Είναι βιολογικό σκεύασμα με δραστική ουσία ένα εντομοπαθογόνο βακτήριο (*Bacillus thuringiensis*) το οποίο ασκεί εντομοκτόνο δράση μέσω παραγωγής εντομοκτόνων τοξινών. Συγκεκριμένα παράγει πρωτεϊνικές ενδοτοξίνες (δ – ενδοτοξίνες), μεγέθους 60-70 kD, και νουκλεϊνικές εξωτοξίνες, οι οποίες θανατώνουν το έντομο και χωρίς την παρουσία του βακτηρίου. Το είδος *B. thuringiensis* είναι ένα σύμπλοκο υποειδών που χαρακτηρίζονται όλα από την παραγωγή παρασποριδιακών σωματιδίων κατά τη σποροποίησή τους. Αυτά τα παρασποριδιακά σωματίδια περιέχουν μία ή περισσότερες πρωτεΐνες σε κρυσταλλική μορφή οι οποίες είναι πολύ τοξικές σε πολλά είδη εντόμων. Οι τοξίνες αυτές είναι γνωστές ως ενδοτοξίνες και βρίσκονται στα παρασποριδιακά σωματίδια ως πρωτοξίνες, οι οποίες μετά την κατάποσή τους από το έντομο και την είσοδό τους στον πεπτικό του σωλήνα ενεργοποιούνται μετά από πρωτεόλυση. Οι ενεργοποιημένες τοξίνες καταστρέφουν τα επιθηλιακά κύτταρα του μεσεντέρου και τα έντομα θανατώνονται μετά από 1-2 ημέρες.

Το *B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* το οποίο είναι η δραστική του συγκεκριμένου σκευάσματος, είναι ευρέως χρησιμοποιούμενο υποείδος που παράγει τέσσερις ενδοτοξίνες (Cry 1Aa, Cry 1Ab, Cry 1Ac, Cry 2Aa) σε ένα κρυσταλλικό παρασποριδιακό σωματίδιο (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2007).

Το Bactospeine 6,4 WG έχει εγκριθεί για την υπαίθρια και την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας. Κάτοχος της έγκρισης για το σκεύασμα είναι η Valent BioSciences Corporation ΗΠΑ, υπεύθυνος επικοινωνίας, τελικής συσκευασίας και σήμανσης είναι η εταιρεία ΧΕΛΛΑΦΑΡΜ Α.Ε.. Η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι δ-Endotoxin/Ενεργός πρωτεΐνη υπό μορφή κρυστάλλων του *Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* 6,4% β/β και βοηθητικές ουσίες 93,6% β/β. Είναι βιολογικό εντομοκτόνο στομάχου με εκλεκτική δράση κατά των προνυμφών των λεπιδόπτερων. Εφαρμόζεται με ψεκασμό κάλυψης του φυλλώματος. Είναι σχετικά μη τοξικό για τις μέλισσες. Το σκεύασμα όταν χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις συνιστώμενες δόσεις, χρήσεις και οδηγίες εφαρμογής, δεν παρουσιάζει προβλήματα φυτοτοξικότητας. Συνίσταται να γίνεται εναλλαγή σκευασμάτων με διαφορετικό τρόπο δράσης για την αποφυγή δημιουργίας ανθεκτικότητας του εντόμου (Υπ. Απ. 8-2-2006, Α.Π. 124464 & 3-2-2010, Α.Π. 180921).

Bathurin 16000 WP: Είναι βιολογικό σκεύασμα με δραστική ουσία τον *B. thuringiensis* ssp *kurstaki*, που είναι εντομοπαθογόνο βακτήριο του οποίου τα στελέχη αποτελούν τη δραστική ουσία μεγάλου αριθμού εμπορικών σκευασμάτων για την καταπολέμηση λεπιδόπτερων (βλέπε Bactospreine WG, 1^η και 2^η παράγραφος).

Το Bathurin 16000 WP έχει εγκριθεί για την υπαίθρια και την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας, της εταιρείας ΑΛΦΑ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΕΦΟΔΙΑ Α.Ε.Β.Ε. Η δραστική ουσία του σκευάσματος είναι ο *Bacillus thuringiensis* ssp. *Kurstaki*. Η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι η δ – Endotoxin/ενεργός πρωτεΐνη υπό μορφή κρυστάλλων του *B. thuringiensis* ssp *kurstaki* 3,2% β/β ή 16000 IU/mg, αδρανείς και βοηθητικές ουσίες 82,2% β/β. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσία σε καθαρή δραστική ουσία είναι 15% min ή 80000 IU/mg. Είναι βιολογικό εντομοκτόνο στομάχου με εκλεκτική δράση κατά των προνυμφών των λεπιδόπτερων. Δρα διά καταπόσεως μετά την οποία οι προνύμφες σταματούν να τρέφονται και πεθαίνουν σε μερικές μέρες. Δεν είναι φυτοτοξικό στις καλλιέργειες που αναφέρονται στο φάσμα δράσης και για τις συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής. Δεν παρουσιάζει τοξικότητα στα αρπακτικά και είναι σχετικά μη τοξικό για τις μέλισσες (Υπ. Απ. 29-3-2002, Α.Π. 92442 & 3-2-2010, Α.Π. 180923).

Alverde 24 SC: Ανήκει στην ομάδα τρόπου δράσης 22B (semicarbazones) και η δραστική του ουσία είναι το metaflumizone το οποίο το κατατάσσει στην υποομάδα 22B, η οποία δρα στο νευρικό σύστημα διακόπτοντας το δίκτυο ροής ιόντων νατρίου των νευρικών κυττάρων των εντόμων, εμποδίζοντας, με αυτόν τον τρόπο, τη μετάδοση νευρικών μηνυμάτων (BASF ΕΛΛΑΣ Α.Β.Ε.Ε., 2009 & IRAC, Version 6,3 2009).

Το Alverde 24 SC είναι εντομοκτόνο στομάχου και έχει εγκριθεί για την υπαίθρια καλλιέργεια της τομάτας, δεν εμφανίζει διασταυρωτή ανθεκτικότητα με άλλα εντομοκτόνα (π.χ. πυρεθρίνες, νεονικοτινοειδή, οξαδιαζίνες) και συμβάλλει στην αποφυγή ανθεκτικότητας όταν εφαρμόζεται σε πρόγραμμα εναλλαγής εντομοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης (BASF ΕΛΛΑΣ Α.Β.Ε.Ε., 2009). Ο κάτοχος της έγκρισης του σκευάσματος είναι η εταιρεία BASF ΕΛΛΑΣ Α.Β.Ε.Ε.. Η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι metaflumizone 24% β/ο και βοηθητικές ουσίες 76,6% β/β. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής σε καθαρή δραστική ουσία είναι 94,5% (β/β) min (Υπ. Απ. 2-6-2010, Α.Π. 185186 & 17-2-2009 Α.Π. 125747). Το σκεύασμα

είναι ερεθιστικό και επικίνδυνο για το περιβάλλον, δεν είναι φυτοτοξικό εφόσον χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις οδηγίες και με τις συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής. Είναι τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς και μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Παρουσιάζει τοξικότητα (χαμηλή) σε θηλαστικά, μέλισσες καθώς επίσης και περιορισμένη δράση σε ωφέλιμα έντομα, αρθρόποδα και επικονιαστές (BASF ΕΛΛΑΣ Α.Β.Ε.Ε., 2009). Τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια υπολειμμάτων (MRLs) για τον καρπό της τομάτας είναι τα 0,5 ppm και η τελευταία επέμβαση πριν από την συγκομιδή είναι οι 3 ημέρες (BASF ΕΛΛΑΣ Α.Β.Ε.Ε., 2009).

Altacor 35 WG: Ανήκει στην ομάδα τρόπου δράσης 28 (diamides), η οποία ευθύνεται για την ρύθμιση των υποδοχέων της ρυανοδίνης (ryanodine receptor modulator), και στην χημική οικογένεια των διαμιδίων. Η ομάδα 28, δρα στο νευρικό και μυϊκό σύστημα των εντόμων (IRAC, Version 6,3 2009). Ο τρόπος δράσης της πραγματοποιείται μέσω της ενεργοποίησης των υποδοχέων ρυανοδίνης των εντόμων. Αυτή η ενεργοποίηση προκαλεί την απελευθέρωση ασβεστίου από τις εσωτερικές αποθήκες των μυών των εντόμων, με άμεσο αποτέλεσμα την μειωμένη μυϊκή λειτουργία, παράλυση και κατ' επέκταση θανάτωση των εντόμων (Υπ. Απ., 18-5-2010, Α.Π. 185094). Η εντομοτοξική δράση είναι αργή, καθώς απαιτείται περίπου ένα 24ωρο για τον θάνατο των εντόμων, όμως αυτό που παρατηρείται άμεσα είναι η μειωμένη τροφική δραστηριότητα των εντόμων (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2007).

Η δραστική ουσία του σκευάσματος Altacor 35 WG είναι το chlorantraniliprole. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας σε καθαρή δραστική ουσία είναι 93% β/β min και η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι chlorantraniliprole 35% β/ο και βοηθητικές ουσίες 62,36% β/β (η πλήρης εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος έχει κατατεθεί και βρίσκεται στα αρχεία του τμήματος γεωργικών φαρμάκων του ΥΠΑΑΤ). Πρόκειται για εντομοκτόνο σκεύασμα επαφής και στομάχου. Ο κάτοχος της έγκρισης του σκευάσματος είναι η εταιρεία NTY ΠΟΝΤ ΕΛΛΑΣ Α.Ε.. Δεν είναι φυτοτοξικό εφόσον χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής και τις οδηγίες χρήσης. Είναι επικίνδυνο για το περιβάλλον και πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Τα μέγιστα όρια επιτρεπόμενων υπολειμμάτων (MRLs) για τον

καρπό της τομάτας είναι τα 0,3 mg/kg και η τελευταία επέμβαση πριν από τη συγκομιδή για την υπαίθρια και την θερμοκηπιακή καλλιέργεια είναι η 1 ημέρα (Υπ. Απ., 18-5-2010, Α.Π. 185094).

Belt 24 WG: Ανήκει στην ομάδα τρόπου δράσης 28 (diamides) της οποίας ο μηχανισμός δράσης έχει προαναφερθεί (βλέπε Altacor 35 WG, 1^η παράγραφος).

Το σκεύασμα Belt 24 WG, της εταιρείας Bayer ΕΛΛΑΣ Α.Β.Ε.Ε., έχει εγκριθεί για την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας. Σύμφωνα με τον τρόπο δράσης του δεν εμφανίζει διασταυρωτή ανθεκτικότητα με καμία από τις γνωστές ομάδες εντομοκτόνων. Δρα ενεργοποιώντας τους υποδοχείς της ryanodine (ryanodine receptor modulator) με αποτέλεσμα την παρεμπόδιση της λειτουργίας του μυϊκού συστήματος και στη συνέχεια την παράλυση και το θάνατο των εντόμων. Η δραστική ουσία του σκευάσματος είναι το flubendiamide (χημική ομάδα: φθαλικά διαμιδία). Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας σε καθαρή δραστική ουσία είναι flubendiamide 960g/kg min και η εγγυημένη σύνθεσή του είναι flubendiamide 24% β/β και βοηθητικές ουσίες 75% β/β. Ο κάτοχος της έγκρισης του σκευάσματος είναι η εταιρεία Bayer ΕΛΛΑΣ Α.Β.Ε.Ε.. Το σκεύασμα είναι επιβλαβές, επικίνδυνο για το περιβάλλον και πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς και μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Δεν είναι φυτοτοξικό στις συνιστώμενες καλλιέργειες και δόσεις. Η τελευταία επέμβαση πριν από τη συγκομιδή είναι 3 ημέρες (Υπ. Απ., 30-10-2008, Α.Π. 123596 & 3-2-2010, Α.Π. 180916). Τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια υπολειμμάτων (MRLs) είναι τα 0,2mg/kg (EU Pesticides Database, Regulation EC No 396/2005).

Voliam Targo 63 SC: Το σκεύασμα περιέχει δύο δραστικές ουσίες, το chlorantraniliprole το οποίο ανήκει στην ομάδα μηχανισμού δράσης 28 – ryanodine receptor modulator (diamides) (βλ. altacor 35 WG 1^η παράγραφος) όπου δρα στο μυϊκό και νευρικό σύστημα των εντόμων, και τη δραστική ουσία abamectin η οποία ανήκει στην ομάδα μηχανισμού δράσης 6 (και στη χημική ομάδα των avermectins) η οποία ευθύνεται για την ενεργοποίηση των διαύλων ιόντων χλωρίου (Cl⁻) προκαλώντας το παρατεταμένο άνοιγμά τους αυξάνοντας την πρόσδεση του νευροδιαβαστή GABA (chloride channel activators GABA Agonists) στον υποδοχέα του. Η δράση αυτή προκαλεί αυξημένη ροή και διατάραξη της ισορροπίας των ιόντων χλωρίου στους

μετασυναπτικούς δενδρίτες με αποτέλεσμα το έντομο να παραλύει και να πεθαίνει. (IRAC, Version 6,3 2009, Ζιώγας & Μάρκογλου, 2007). Οι αβερμεκτίνες (avermectines) ή αμπαμεκτίνες (abamectines) είναι δευτερογενείς μεταβολίτες (μακροκυκλικές λακτόνες), μεγάλου μοριακού βάρους, του ακτινομύκητα *Streptomyces avermitilis*, με κύριο εκπρόσωπο την avermectin B₁ ή abamectin. Η εταιρεία Merck ανακάλυψε τις αβερμεκτίνες (1975) μετά από έρευνες, για φυσικές ενώσεις με αντιελμινθική (anthelmintic) δράση. Η avermectin είναι μίγμα των B_{1a} και B_{1b} που εισήχθη στη γεωργία το 1985. Πρόκειται για ακαρεοκτόνο και εντομοκτόνο επαφής και στομάχου, με ικανή διελασματική δράση. Η avermectin B_{1a} έχει εξαιρετικά αποτελεσματική δράση εναντίον των κινητών σταδίων των ακάρεων και εναντίον των μυζητικών εντόμων (κολεόπτερα, λεπιδόπτερα) σε πολλές γεωργικές καλλιέργειες. Η avermectin B_{1b} έχει νηματωδοκτόνο δράση και είναι αποτελεσματική εναντίον των εκτοπαρασίτων των ζώων π.χ. ψύλλοι, τσιμπούρια (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2007). Το chlorantraniliprole είναι μη διασυστηματικό εντομοκτόνο το οποίο προκαλεί το θάνατο των εντόμων μέσω του στομάχου. Είναι πολύ αποτελεσματικό στα λεπιδόπτερα, αλλά και σε κολεόπτερα και δίπτερα, σε πολύ χαμηλές δόσεις (Υπ. Απ. 2-6-2010, Α.Π. 185187).

Το σκεύασμα έχει εγκριθεί από το ΥΠΑΑΤ για την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας. Ο κάτοχος της έγκρισης είναι η εταιρεία Syngenta Hellas A.E.B.E.. Οι δραστικές ουσίες του σκευάσματος είναι το chlorantraniliprole και η abamectin, με διαφορετικό τρόπο δράσης η καθεμία. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας σε καθαρή δραστική ουσία είναι chlorantraniliprole 93% min και abamectin 90% min, η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι chlorantraniliprole 4,5% β/ο, abamectin 1,8% β/ο και βοηθητικές ουσίες 93,49% β/β, η πλήρης εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος έχει κατατεθεί στο φάκελο έγκρισης του προϊόντος. Δεν παρουσιάζει φυτοτοξικότητα εφόσον χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής και τις οδηγίες χρήσης. Είναι επιβλαβές, επικίνδυνο για το περιβάλλον και πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Η τελευταία επέμβαση πριν από τη συγκομιδή είναι οι 3 ημέρες (Υπ. Απ. 2-6-2010, Α.Π. 185187 &

www.agrotypos.gr). Τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια υπολειμμάτων (MRLs) είναι τα 0,6 mg/kg (EU Pesticides Database, Regulation EC No 396/2005).

Laser 480 SC: Ανήκει στην ομάδα τρόπου δράσης 5 – nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) allosteric activators και στην χημική ομάδα των spinosyns (σπινোসίνες) (IRAC, Version 6,3 2009). Πριν από την ανακάλυψη των οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων, η nicotine (νικοτίνη) αποτελούσε το κατεξοχήν εντομοκτόνο επαφής εναντίον των μυζητικών εντόμων, προνυμφών λεπιδόπτερων και νυμφών κοκκοειδών. Όσον αφορά το βιοχημικό μηχανισμό δράσης της, η νικοτίνη μιμείται την ακετυλοχολίνη (acetylcholine) δεσμεύοντας τους μετασυναπτικούς (νικοτινικούς) υποδοχείς στις χολινεργικές συνάψεις, προκαλώντας υπερδιέγερση, νευρικούς σπασμούς, παράλυση με αποτέλεσμα τον θάνατο (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2007). Οι σπινোসίνες (spinosyns), χημική ομάδα στην οποία ανήκει η δραστική ουσία του σκευάσματος, προσκολλώνται σε πρωτεϊνικές υπομονάδες των υποδοχέων της ακετυλοχολίνης, αλλά με διαφοροποιούμενο τρόπο απ' ότι η νικοτίνη και τα νεονικοτινοειδή και δευτερευόντως στους υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA). Αυτή η δράση έχει ως αποτέλεσμα τη μη φυσιολογική μετάδοση των νευρικών σημάτων (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2007). Δρα δηλαδή στο κεντρικό νευρικό σύστημα των εντόμων δεσμεύοντας τους υποδοχείς της ακετυλοχολίνης προκαλώντας την παρατεταμένη ενεργοποίησή τους εξαιτίας της οποίας το έντομο παραλύει λόγω νευρομυϊκής κόπωσης. Η παράλυση είναι μη αναστρέψιμη και στο έντομο επέρχεται ο θάνατος.

Οι σπινোসίνες είναι δευτερογενείς μεταβολίτες του ακτινομύκητα *Saccharopolyspora spinosa* και πρωτοανακαλύφθηκαν το 1982, από την εταιρεία Eli Lilly and Co. Οι πιο σημαντικές ενώσεις είναι οι spinosyns A και D οι οποίες κυκλοφορούν στο εμπόριο με το κοινό όνομα spinosad (η δραστική ουσία του σκευάσματος). Αυτό το μίγμα σπινოსινών A (50-95%) και D (5-50%) είναι αποτελεσματικό σε ευρύ φάσμα εντόμων, όπως λεπιδόπτερων, θυσανόπτερων, δίπτερων και κολεόπτερων, καθώς επίσης έχει αποτελεσματικότητα στον έλεγχο των παρασίτων υγειονομικής σημασίας, εκτοπαρασίτων παραγωγικών ζώων και εναντίον τερμιτών και μυρμηγκιών. Η τοξικότητα που παρουσιάζει σε διάφορους άλλους χερσαίους οργανισμούς, οι οποίοι δεν αποτελούν στόχο εξόντωσης, είναι μικρή, όμως

είναι πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς. Το σκεύασμα Laser 480 SC της εταιρείας ΕΛΑΝΚΟ ΕΛΛΑΣ Α.Ε.Β.Ε. έχει εγκριθεί από το ΥΠΑΑΤ για την θερμοκηπιακή και την υπαίθρια καλλιέργεια της τομάτας με Υπουργική Απόφαση στις 3-2-2010 και Αριθμό Πρωτοκόλλου: 180918. Η κοινή ονομασία της δραστικής του ουσίας σύμφωνα με το ISO (International Organization for Standardization) είναι το spinosad όπως έχει προαναφερθεί στην προηγούμενη παράγραφο. Είναι διασυστηματικό εντομοκτόνο επαφής και στομάχου με προληπτική και θεραπευτική δράση για την αντιμετώπιση των εντόμων των τάξεων Lepidoptera, Diptera, Thysanoptera και κάποια Coleoptera και δευτερευόντως για μυζητικά έντομα και ακάρεα. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας σε καθαρή δραστική ουσία είναι 850g/kg, αποτελούμενη από μίγμα των spinosyn A και spinosyn D σε αναλογία spinosyn A : spinosyn D από 95:5 έως και 50:50. Η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι spinosad 48% β/ο κα βοηθητικές ουσίες 48% β/β (η πλήρης εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος έχει προσδιοριστεί και παραμένει στα αρχεία της αρμόδιας αρχής). Το σκεύασμα δεν είναι φυτοτοξικό στις εγκεκριμένες χρήσεις όταν εφαρμόζεται σύμφωνα με τις οδηγίες χρήσεις και τις συνιστώμενες δόσεις. Είναι επικίνδυνο για το περιβάλλον, πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς και μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Η τελευταία επέμβαση πριν από τη συγκομιδή είναι οι 3 ημέρες (Υπ. Απ. 3-2-2010, Α.Π. 180918 & 13-5-2008, Α.Π. 118687). Τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια υπολειμμάτων (MRLs), σύμφωνα με Ευρωπαϊκές προδιαγραφές, είναι το 1mg/kg (EU Pesticides Database, Regulation EC No 396/2005).

Steward 30 WG: Ανήκει στην ομάδα τρόπου δράσης 22A - Voltage-dependent sodium channel blockers με επίδραση στο κεντρικό νευρικό σύστημα των εντόμων (IRAC, Version 6,3 2009). Η δραστική ουσία του σκευάσματος είναι το indoxacarb το οποίο είναι οργανική συνθετική ένωση με δράση στο νευρικό σύστημα. Ανήκει στην χημική ομάδα των οξαδιαζινών και πρόκειται για εντομοκτόνο επαφής και στομάχου αποτελεσματικό στην καταπολέμηση λεπιδόπτερον. Ο μηχανισμός δράσης του indoxacarb είναι παρόμοιος με τον μηχανισμό δράσης των πυρεθρινοειδών και λαμβάνει χώρα στους διαύλους των ιόντων νατρίου Na^+ στους νευράξονες των νευρικών κυττάρων. Έχει όμως διαφορά με τα πυρεθρινοειδή όσον αφορά την

προσκόλλησή του στις υπομονάδες των διαύλων ιόντων νατρίου και δεν παρουσιάζει διασταυρωτή ανθεκτικότητα με αυτά, όταν ο μηχανισμός ανθεκτικότητας είναι η αλλαγή της θέσης δράσης. Το indoxacarb δρα στα προνυμφικά στάδια των εντόμων, όπου παρατηρείται αναστολή της δραστηριότητάς τους, οι προνύμφες διακόπτουν τη σίτισή τους, παραλύουν και στη συνέχεια πεθαίνουν (Ζιώγας & Μάρκογλου 2007). Η διαφορά του indoxacarb και των πυρεθρινών είναι ότι το indoxacarb δρα ως παρεμποδιστής στη λειτουργία των διαύλων ιόντων νατρίου, ενώ οι πυρεθρίνες δρουν ως διεγέρτες στη συγκεκριμένη λειτουργία προκαλώντας έντονη νευρική διέγερση.

Το σκεύασμα Steward 30 WG της εταιρείας NTY ΠΟΝΤ ΕΛΛΑΣ Α.Ε. έχει εγκριθεί για την θερμοκηπιακή και υπαίθρια καλλιέργεια της τομάτας. Η κοινή του ονομασία σύμφωνα με το ISO είναι το indoxacarb. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας σε καθαρή δραστική ουσία είναι 628g/kg min και η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι indoxacarb 30% β/β και βοηθητικές ουσίες 57,7% β/β (η πλήρης εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος έχει προσδιοριστεί και παραμένει στα αρχεία της αρμόδιας αρχής. Το σκεύασμα δεν είναι φυτοτοξικό όταν οι χρήσεις είναι σύμφωνες με τις οδηγίες χρήσης και τις συνιστώμενες δόσεις. Το σκεύασμα είναι επιβλαβές, επικίνδυνο για το περιβάλλον, πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον και επικίνδυνο για τις μέλισσες. Η τελευταία επέμβαση πριν από τη συγκομιδή, για την καλλιέργεια της τομάτας, είναι η 1 ημέρα (Υπ. Απ. 3-2-2010, Α.Π. 180922 & 16-3-2009, Α.Π. 127235). Τα μέγιστα όρια επιτρεπόμενων υπολειμμάτων, για τον καρπό της τομάτας, είναι τα 0,5mg/kg (EU Pesticides Database, Regulation EC No 396/2005).

Abamectin - ΦΑΡΜΑ ΧΗΜ 1,8 EC: Ανήκει στην ομάδα τρόπου δράσης 6 – Chloride channel activators (chemical class: avermectins, milbemycins) με δράση στο νευρικό και μυϊκό σύστημα (IRAC, Version 6,3 2009). Σύμφωνα με τον βιοχημικό μηχανισμό εντομοτοξικής δράσης των αβερμεκτινών και μιλμπεμυκινών, προκαλούν παρατεταμένο άνοιγμα των διαύλων ιόντων Cl⁻ αυξάνοντας την πρόσδεση του νευροδιαβιβαστή GABA στον υποδοχέα του. Με αποτέλεσμα την αυξημένη ροή και τη διατάραξη της ισορροπίας των ιόντων χωρίου στους μετασυναπτικούς δενδρίτες ώστε να επέρχεται η παράλυση και ο θάνατος του εντόμου. Οι αβερμεκτίνες και μιλμπεμυκίνες είναι χημικά συγγενείς ενώσεις, φυσικά προϊόντα του δευτερογενούς

μεταβολισμού ειδών του γένους *Streptomyces*, που χαρακτηρίζονται από αξιόλογη ακαρεοκτόνο και εντομοκτόνο δράση (Ζιώγας & Μάρκογλου 2007). Οι αβερμεκτίνες (avermectins) ή αμπαμεκτίνες (abamectins) είναι δευτερογενείς μεταβολίτες μεγάλου μοριακού βάρους (μακροκυκλικές λακτόνες) του ακτινομύκητα *Streptomyces avermitilis*, με κύριο εκπρόσωπο την avermectin B₁ ή abamectin της οποίας οι ιδιότητες έχουν αναλυθεί (βλέπε Voliam Targo 063 SC, 1^η παράγραφος).

Το σκεύασμα έχει εγκριθεί για την υπαίθρια και την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας. Πρόκειται για εντομοκτόνο (και ακαρεοκτόνο) στομάχου και επαφής, προκαλεί παράλυση στα έντομα με αποτέλεσμα το θάνατό τους από αστία. Η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι abamectin 1,8% β/ο, βοηθητικές ουσίες 97,84% β/β (περιέχει xylene) και η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας σε καθαρή δραστική ουσία είναι 95% min. Ο κάτοχος της έγκρισης του σκευάσματος είναι η εταιρεία ΦΑΡΜΑ-ΧΗΜ Α.Β.Ε.Ε.. Δεν είναι φυτοτοξικό στις συνιστώμενες δόσεις και χρήσεις. Είναι επιβλαβές, επικίνδυνο για το περιβάλλον και πολύ εύφλεκτο. Είναι πολύ τοξικό για τις μέλισσες και πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Η τελευταία επέμβαση πριν από τη συγκομιδή επιβάλλεται να είναι τουλάχιστον 3 ημέρες για την υπαίθρια καλλιέργεια και 7 ημέρες για την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας (Υπ. Απ. 3-2-2010, Α.Π. 180920 & 24-7-2007, Α.Π. 120546). Τα μέγιστα όρια επιτρεπόμενων υπολειμμάτων για τον καρπό της τομάτας (MRLs) είναι τα 0,02mg/kg (EU Pesticides Database, Regulation EC No 396/2005).

Pyrinex 25 CS: Ανήκει στην ομάδα τρόπου δράσης 1B – acetylcholine esterase inhibitor (AChE) η οποία ευθύνεται για την αναστολή της ακετυλοχολινεστεράσης και δρα στο νευρικό σύστημα (chemical class: organophosphates) (IRAC, Version 6,3 2009). Κάθε αίτιο που προκαλεί αναστολή της δράσης της χολινεστεράσης ή δεσμεύει τους μετασυναπτικούς υποδοχείς της ακετυλοχολίνης, έχει ως αποτέλεσμα την υπερβολική παρουσία ακετυλοχολίνης, με συνέπεια το διαρκή νευρικό ερεθισμό, και εξαιτίας των συνεχών ηλεκτρικών φορτίσεων, ακολουθεί παράλυση του νευρικού κέντρου των εντόμων ή παράλυση του αναπνευστικού συστήματος στα θηλαστικά (Ζιώγας & Μάρκογλου 2007). Η δραστική ουσία του σκευάσματος είναι το chlorpyrifos το οποίο ανήκει στη χημική ομάδα των οργανοφωσφορικών

(organophosphates). Τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα γενικά χαρακτηρίζονται από υψηλή εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο δράση, έχουν ευρύ φάσμα δράσης, μικρή υπολειμματική διάρκεια και σχετικά γρήγορη αποδόμηση σε μεταβολικά προϊόντα μη τοξικά για τον άνθρωπο και τα ζώα (Ζιώγας & Μάρκογλου 2007).

Το σκεύασμα έχει εγκριθεί για την υπαίθρια και την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας. Πρόκειται για οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο επαφής, στομάχου και ατμών, για την καταπολέμηση μυζητικών και μασητικών εντόμων. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας σε καθαρή δραστική ουσία είναι min 750gr/kg και η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι chlorpyrifos 25% β/ο και βοηθητικές ουσίες 76,57% β/β (η πλήρης εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος έχει υποβληθεί από την παρασκευάστρια εταιρεία και παραμένει στα αρχεία της αρμόδιας αρχής). Ο κάτοχος της έγκρισης είναι η εταιρεία ΑΛΦΑ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΕΦΟΔΙΑ Α.Ε.Β.Ε.. Δεν είναι φυτοτοξικό όταν εφαρμόζεται στις συνιστώμενες καλλιέργειες και δόσεις. Είναι ερεθιστικό, επικίνδυνο για το περιβάλλον, πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Είναι πολύ τοξικό για τις μέλισσες, βλαβερό για τα παραγωγικά ζώα, καθώς επίσης είναι βλαβερό και για τα άγρια πουλιά και άγρια ζώα. Η τελευταία επέμβαση πριν από τη συγκομιδή είναι οι 20 ημέρες (Υπ. Απ. 3-2-2010, Α.Π. 180915 & 16-6-2010, Α.Π. 186241). Τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια υπολειμμάτων είναι τα 0,5mg/kg (EU Pesticides Database, Regulation EC No 396/2005).

Zoro 1,8 EW: Ανήκει στην ομάδα τρόπου δράσης 6 – Chloride channel activators (chemical class: avermectins, milbemycins) με δράση στο νευρικό και μυϊκό σύστημα (IRAC, Version 6,3 2009). Η τρόπος δράσης αυτής της ομάδας και η δραστική του σκευάσματος, έχουν ήδη αναλυθεί (βλέπε Abamectin - ΦΑΡΜΑ ΧΗΜ 1,8 EC).

Το σκεύασμα έχει εγκριθεί για την υπαίθρια και την θερμοκηπιακή καλλιέργεια της τομάτας. Η δραστική ουσία του σκευάσματος είναι η abamectin και η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος είναι abactn 1,8% β/ο και βοηθητικές ουσίες 97,99% β/β. Πρόκειται για εντομοκτόνο και ακαρεοκτόνο επαφής και στομάχου, προκαλεί παράλυση στα έντομα με αποτέλεσμα την παράλυσή τους και στη συνέχεια το θάνατό τους. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας σε καθαρή δραστική ουσία είναι 94% min. Ο κάτοχος της έγκρισης είναι η εταιρεία CHEMINOVA A/S,

Δανίας. Δεν είναι φυτοτοξικό στις συνιστώμενες δόσεις και χρήσεις. Είναι επιβλαβές κι επικίνδυνο για το περιβάλλον. Πολύ τοξικό για τις μέλισσες και πολύ τοξικό στους υδρόβιους οργανισμούς, μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον. Η τελευταία επέμβαση πριν από τη συγκομιδή για την υπαίθρια καλλιέργεια της τομάτας είναι οι 3 ημέρες και για την θερμοκηπιακή καλλιέργεια είναι οι 7 ημέρες (Υπ. Απ. 3-2-2010, Α.Π. 180919 & 30-10-2008, Α.Π. 124214). Τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια υπολειμμάτων είναι 0,02mg/kg (EU Pesticides Database, Regulation EC No 396/2005).

Όλα τα παραπάνω εντομοκτόνα σκευάσματα διατέθηκαν με κατ' εξαίρεση έγκριση 120 ημερών για χρήση εναντίον του λεπιδόπτερου *T. absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας.

1.4 ΣΚΟΠΟΣ

Η συγκεκριμένη μελέτη πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια πτυχιακής εργασίας για τη σχολή Τεχνολογίας Γεωπονίας, τμήμα Φυτικής Παραγωγής, σε συνεργασία με το Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας (ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε), ως αποτέλεσμα της ολοκλήρωσης των σπουδών μου.

Σκοπός της μελέτης ήταν να εξεταστεί η ευαισθησία του υπονομευτή της τομάτας *T. absoluta* σε πειραματικά εντομοκτόνα. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν κατά την περίοδο του εαρινού εξαμήνου του έτους 2010.

2^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ – ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

Η μεθοδολογία που ακολουθεί περιγράφει τον τρόπο αξιολόγησης της ευαισθησίας των προνυμφών του λεπιδόπτερου *T. absoluta* σε δύο εντομοκτόνα διαφορετικής ομάδας τρόπου δράσης.

2.1 ΦΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ

Για να πάρουμε το κατάλληλο φυτικό υλικό για τις εργαστηριακές τοξικολογικές βιοδοκιμές και την εκτροφή των προνυμφών του *T. absoluta* αναπτύχθηκαν φυτά απαλλαγμένα από χημικά εντομοκτόνα και μυκητοκτόνα αλλά και από ασθένειες και παρασιτικούς εχθρούς.



Εικόνα 20: Νεαρά φυτά τομάτας ηλικίας τριών εβδομάδων της ποικιλίας Valuro (στάδιο μεταφύτευσης).

Στον θερμοκηπιακό χώρο του ΕΘ.Ι.ΑΓ.Ε. στήθηκαν μικρά μεταλλικά δικτυοκήπια (ύψους 95cm, πλάτους 1,20m και μήκους από 2-3m) όπου καλύφθηκαν με πολύ πυκνό εντομολογικό δίκτυο (πυκνότητα ύφανσης 16 x 10 νήματα / cm), έτσι ώστε να μην επιτρέπεται η είσοδος στα έντομα εντός των δικτυοκηπίων. Χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας ποικιλίας Valuro, από καθαρό πιστοποιημένο σπόρο, με ανθεκτικότητα στον ιό

του κίτρινου καρουλιάσματος των φύλλων (TYLCV). Τα φυτά παραλαμβάνονταν σε ηλικία 2 ή 3 εβδομάδων (Εικ.20), απαλλαγμένα και προστατευμένα από ασθένειες. Σε διάστημα εντός 2 ή 3 ημερών τα φυτά μεταφυτευόντουσαν σε μαύρα πλαστικά γλαστράκια διαμέτρου 13cm και ύψους 15cm (Εικ. 21), η ανάπτυξη των φυτών έγινε εντός των δικτυοκηπίων (Εικ. 22 & 23).



Εικόνα 21: Νεαρά φυτά τομάτας ηλικίας 3 εβδομάδων της ποικιλίας Valuro, σε μαύρα γλαστράκια μετά τη μεταφύτευσή τους.

Οι καλλιεργητικές εργασίες που ακολούθησαν από το χρονικό διάστημα της μεταφύτευσής τους και μετά, ήταν καθημερινό πότισμα ώστε το χώμα του κάθε φυτού να είναι πάντα υγρό και λίπανση ανά 15 ή 18 ημέρες με λίπασμα θρέψης Nutri leaf 18-18-18, αναλογίες που αντιστοιχούν στα στοιχεία της βασικής λίπανσης, φώσφορο (P), κάλιο (K), νάτριο (Na). Η ποσότητα του λιπάσματος σε κάθε ριζοπότισμα ήταν 1000gr/lt.

Τα φυτά θεωρούνταν κατάλληλα για τις εργαστηριακές τοξικολογικές βιοδοκιμές και την εκτροφή του *T. absoluta* ένα μήνα μετά τη μεταφύτευσή τους, ώστε να έχουν το κατάλληλο μέγεθος (Εικ. 23) και να είναι απαλλαγμένα από κάθε είδους υπολειμματική δράση των ψεκασμών που είχαν προηγηθεί πριν τη μεταφύτευσή τους.



Εικόνα 22: Νεαρά φυτά τομάτας ποικιλίας Valuro, μιάμιση εβδομάδα μετά τη μεταφύτευσή τους.



Εικόνα 23: Φυτά τομάτας ποικιλίας Valuro, ένα μήνα μετά τη μεταφύτευσή τους.

Όσο τα φυτά φιλοξενούνταν στους καλυμμένους με δίκτυα κλωβούς προέκυψαν προσβολές από ακάρεα (συνήθως *Tetranychus urticae* Koch), καθώς με τη πάροδο του χρόνου δεν ήταν προστατευμένα από χημικά. Αυτά τα προβλήματα αντιμετωπίστηκαν με αφαίρεση των φύλλων ή και των τμημάτων των φυτών που υπέστησαν προσβολή από ακάρεα.

2.2 ΣΥΛΛΟΓΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ

Οι πληθυσμοί του λεπιδόπτερου *T. absoluta* στους οποίους εφαρμόστηκαν οι εργαστηριακές τοξικολογικές βιοδοκιμές ήταν από θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας τεσσάρων διαφορετικών περιοχών της Ιεράπετρας στο Νομό Λασιθίου

Κρήτης, από τέλη Απριλίου έως μέσα Ιουλίου 2010. Συγκεκριμένα συλλέχθηκαν, ο IER1 από την περιοχή Περιστεράς, ο IER2 από το Στόμιο, ο IER3 από το Βόρειο Κεντρί και ο IER4 από το Νότιο Κεντρί.

Η συλλογή πληθυσμών εφαρμόστηκε με δύο τρόπους. Ο πρώτος τρόπος συλλογής πραγματοποιήθηκε μέσω συσκευής αναρρόφησης η οποία δομήθηκε με βάση τις ανάγκες της συλλογής (Εικ. 24). Η συσκευή ήταν ακίνδυνη για τα λεπιδόπτερα του *T. absoluta* που συλλέγονταν, ώστε κάθε πληθυσμός που εγκαθίσταντο στο χώρο εργαστηρίου να είναι σε άριστη κατάσταση και διαθέσιμος στους χειρισμούς που επρόκειτο να ακολουθήσουν.



Εικόνα 24: Συσκευή αναρρόφησης για συλλογή ενήλικων ατόμων *T. absoluta*.

Ο κύλινδρος ήταν μήκους 60cm και με διάμετρο περίπου 15cm, αποτελούνταν από δύο ανισομεγέθη μέρη, όπου το ένα εφάπτονταν εντός του άλλου περίπου κατά το ήμισυ. Το ένα άκρο του (στόμιο) έμεινε ακάλυπτο ώστε να εισέρχονται ελεύθερα τα λεπιδόπτερα και στο τελείωμα του εσωτερικού του σχημάτιζε μία στένωση η οποία εμπόδιζε την έξοδο των λεπιδόπτερων που είχαν εισέλθει. Στο άλλο άκρο του εφαρμόστηκε ένας ανεμιστήρας που καλύφθηκε από την εσωτερική του πλευρά με πυκνό εντομολογικό δίκτυ, ώστε τα λεπιδόπτερα που εισέρχονταν στο κύλινδρο από την ισχύ του ανεμιστήρα να μη τραυματιστούν ή θανατωθούν από τα περιστρεφόμενα πτερύγιά του. Η συσκευή αυτή λειτουργούσε με ρεύμα. Για την ελευθερία κινήσεων και διαδρομών εντός των θερμοκηπίων υπήρξε προέκταση καλωδίου πολλών μέτρων. Περνώντας από κάθε γραμμή φύτευσης τοποθετούνταν για λίγα λεπτά η συσκευή αυτή σε κάθε φυτό ξεχωριστά συλλέγοντας τα λεπιδόπτερα που υπήρχαν επάνω στο φυτό. Ένας ικανοποιητικός αριθμός πληθυσμού ήταν περίπου τα 500 άτομα και η διάρκεια

της συλλογής εξαρτιόνταν από τον αριθμό των ατόμων που υπήρχε στο θερμοκήπιο (όσα περισσότερα άτομα υπήρχαν στο θερμοκήπιο, τόσο πιο σύντομη ήταν η διάρκεια της συλλογής).

Επόμενο βήμα μετά τη συλλογή των ατόμων του λεπιδόπτερου ήταν η αφαίρεσή τους από το εσωτερικό του κυλίνδρου. Για αυτή τη διαδικασία επιλέχθηκαν διάφανα κυλινδρικά πλαστικά δοχεία (ύψους 24cm και διαμέτρου 14cm) όπου είχαν ανοιχτεί οπές αερισμού καλυμμένες με πυκνό εντομολογικό δίκτυο (πυκνότητα ύφανσης 16x10 νήματα/cm). Ένας ειδικός προσαρμογέας που τοποθετούνταν στο στόμιο επέτρεπε τη σύνδεση της συσκευής αναρρόφησης με το πλαστικό δοχείο (Εικ. 25). Ακολουθούσε η διακοπή της παροχής ρεύματος, έτσι ώστε να σταματήσει ο ανεμιστήρας, και με απαλά χτυπήματα στον κύλινδρο τα λεπιδόπτερα πετούσαν προς το φως και εντός του πλαστικού δοχείου (Εικ. 25). Στη συνέχεια το πλαστικό δοχείο σφραγιζόταν και με αυτόν τον τρόπο οι πληθυσμοί μεταφέρθηκαν με ασφάλεια στο χώρο του εργαστηρίου.



Εικόνα 25: Συσκευή αναρρόφησης για συλλογή ενήλικων ατόμων *T. absoluta*, με εμφανή τον ειδικό προσαρμογέα. Στη φωτογραφία απεικονίζεται η διαδικασία της εξόδου των ενήλικων ατόμων από τη συσκευή αναρρόφησης στο πλαστικό δοχείο.

Ο δεύτερος τρόπος συλλογής πληθυσμών έγινε με συλλογή προσβεβλημένων φύλλων που στο εσωτερικό τους υπήρχαν προνύμφες του λεπιδόπτερου *T. absoluta* διαφόρων σταδίων. Ένας μεγάλος αριθμός προσβεβλημένων φύλλων τοποθετούνταν μέσα σε διάφανες λεπτές νάιλον σακούλες (Εικ. 26). Βασική προϋπόθεση σε αυτόν τον τρόπο συλλογής ήταν τα φύλλα να εξετάζονται σε διερχόμενο φως ώστε να διαπιστωθεί αν όντως υπήρχαν στο εσωτερικό τους προνύμφες (Εικ. 27).



Εικόνα 26: Συλλογή πληθυσμού *T. absoluta* με συλλογή προσβεβλημένου φυτικού υλικού.



Εικόνα 27: Εμφανείς προνύμφες του *T. absoluta* σε φύλλο τομάτας σε διερχόμενο φως.

Μετά τη συλλογή των προσβεβλημένων φύλλων, οι σακούλες σφραγίστηκαν και τρυπήθηκαν με λεπτή καρφίτσα σε διάφορα σημεία ώστε να επιτρέπεται ένας ελάχιστος αερισμός, χωρίς να είναι δυνατή η έξοδος των προνυμφών. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε φορητά ψυγεία από φελιζόλ που στο εσωτερικό τους είχαν ήδη τοποθετηθεί παγοκύστες ώστε να διατηρηθεί ο πληθυσμός με τις προνύμφες σε φυσιολογική σχετική υγρασία και θερμοκρασία 22° – 25° C μέχρι να εγκατασταθούν στον χώρο του εργαστηρίου. Για να μην έρχονται σε απευθείας επαφή οι παγοκύστες με τους φυτικούς ιστούς, είχαν τοποθετηθεί ενδιάμεσα φύλλα χαρτιού.

2.3 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ *Tuta absoluta* ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

Εκτροφή: Από τη στιγμή που οι πληθυσμοί έφτασαν στο εργαστήριο, τα προσβεβλημένα φύλλα με τις προνύμφες τοποθετήθηκαν σε ξύλινους κλωβούς καλυμμένους με πυκνό εντομολογικό δίκτυ (πυκνότητα ύφανσης 16x10 νήματα/cm). Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν στους κλωβούς φυτά τομάτας σε γλαστράκια ώστε οι προνύμφες να ολοκληρώσουν την ανάπτυξή τους (νύμφωση) (Εικ. 28).



Εικόνα 28: Ξύλινος κλωβός καλυμμένος με πυκνό εντομολογικό δίκτυ για εκτροφή πληθυσμών του *T. absoluta*.

Οι κλωβοί αυτοί ονομάστηκαν Αρχικοί Κλωβοί. Μετά από διάστημα περίπου 10 ημερών τα ενήλικα άτομα εξέρχονταν (F_1 γενιά) και ήταν διαθέσιμα για να συλλεχθούν.

Ωοθεσία: Τα ενήλικα άτομα χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά για ελεγχόμενες ωοθεσίες. Χρησιμοποιήθηκαν ενήλικα άτομα που είτε συλλέχθηκαν απευθείας από τα θερμοκήπια είτε προέκυψαν από την εκτροφή πληθυσμών στο εργαστήριο.

Χρησιμοποιήθηκε πλαστικό δοχείο όγκου 2lt αεριζόμενο από μικρές οπές καλυμμένες με πολύ λεπτό ύφασμα. Δύο μικροί υάλινοι δοκιμαστικοί σωλήνες στερεώθηκαν μέσω μικρών οπών στο πλαστικό δοχείο. Ο ένας περιείχε νερό και ο άλλος ζαχαρόνερο 10% και τα στόμιά τους σφραγίστηκαν με απορροφητικό χαρτί ώστε

από εκεί να μυζούν τα ενήλικα άτομα την τροφή τους. Ένα φύλλο τομάτας τοποθετήθηκε σε μικρό πλαστικό σωλήνα που περιείχε νερό και απορροφητικό χαρτί.



Εικόνα 29: Φύλλο τομάτας για εναπόθεση ωοθεσιών, σε μικρό πλαστικό σωλήνα σφραγισμένο με παραφίλμ γύρω από την περιοχή του μίσχου του προς αποφυγή απώλειας νερού.



Εικόνα 30: Διαδικασία νάρκωσης ενήλικων ατόμων μέσω διοχέτευσης CO₂ στο δοχείο αναρρόφησης με τα ενήλικα άτομα.

Το στόμιο του πλαστικού σωλήνα σφραγίστηκε γύρω από το μίσχο με παραφίλμ για την αποφυγή απώλειας υγρασίας (Εικ. 29) και τη διατήρηση του φύλλου σε καλή κατάσταση για ικανό χρονικό διάστημα. Το φύλλο στη συνέχεια τοποθετήθηκε μέσα στο πλαστικό δοχείο μαζί με πλαστικό δίκτυ διαστάσεων 12x17cm για την εναπόθεση ωοθεσίας (Εικ. 31). Η λήψη των ενήλικων ατόμων από τους Αρχικούς Κλωβούς έγινε μέσω δοχείου αναρρόφησης (100 ml), στο πάμα του οποίου στερεώθηκε tip (1 ml) και στη βάση του ένα δεύτερο tip (1 ml) που καλύφθηκε με πολύ λεπτή σήτα. Οι άκρες των

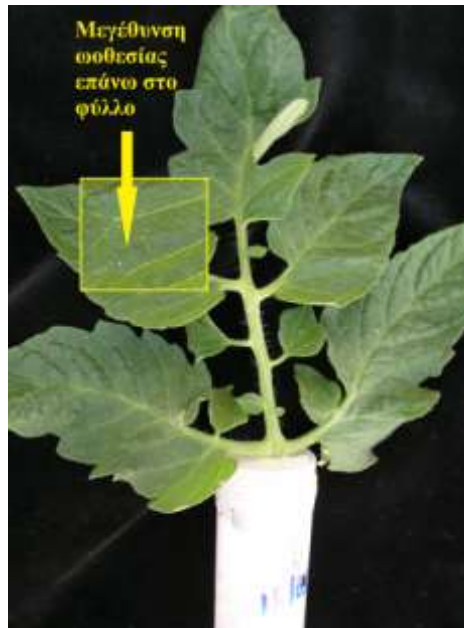
στομίων ήταν διαμέτρου 0,5cm.. Στη συνέχεια τα ενήλικα άτομα τέθηκαν σε νάρκωση με έκθεση σε CO₂ για λιγότερο από ένα λεπτό (Εικ. 30). Η νάρκωση διαρκούσε τρία περίπου λεπτά, στο διάστημα των οποίων μεταφέρονταν τα ενήλικα από το δοχείο αναρρόφησης στο πλαστικό δοχείο με το φύλλο για την έναρξη της ωοθεσίας.



Εικόνα 31: Αεριζόμενο πλαστικό δοχείο με φύλλο τομάτας για εναπόθεση ωοθεσιών. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες που έχουν στερεωθεί στο δοχείο περιέχουν νερό και ζαχαρόνερο για την εκτροφή των ενήλικων ατόμων που βρίσκονται μέσα στο δοχείο.

Το φύλλο για την εναπόθεση ωοθεσιών παρέμενε για ένα ή δύο 24ωρα μέσα στο πλαστικό δοχείο με τα ενήλικα άτομα, χρονικό διάστημα το οποίο ήταν αρκετό για μία ικανοποιητική ωοθεσία (Εικ. 32). Ο αριθμός των ωών που κρίθηκε ικανοποιητικός για τα πειράματα ήταν περίπου 100 ωά ανά φύλλο. Τα ενήλικα άτομα παρέμεναν μέσα στα πλαστικά δοχεία για μία εβδομάδα περίπου και μετά αντικαθίσταντο, λόγω μειωμένης απόδοσης ωοθεσίας, από νέα ενήλικα που λήφθηκαν από τους αρχικούς κλωβούς.

Τα φύλλα με τις ωοθεσίες εγκαθίσταντο σε νέο κλωβό (Κλωβός 1) με φυτά τομάτας σε γλαστράκια (για την εκτροφή των προνυμφών που θα εκκολάπτονταν) και παρέμεναν εκεί μέχρι την εκκόλασή τους και ανάπτυξη των προνυμφών ώσπου να φτάσουν στο στάδιο L₂ το οποίο θεωρείται κατάλληλο για τις εργαστηριακές τοξικολογικές βιοδοκιμές. Η συμπλήρωση του νερού εφαρμόστηκε με σύριγγα για την ενυδάτωση των φύλλων ώστε τα ωά να διατηρούν την υγρασία τους (Εικ. 33) και να συμπληρώσουν το κύκλο τους φυσιολογικά χωρίς απώλειες.



Εικόνα 32: Φύλλο τομάτας μετά την 24ωρη παραμονή του στο πλαστικό αεριζόμενο δοχείο με τα ενήλικα άτομα. Οι ωοθεσίες είναι ευδιάκριτες στη μεγέθυνση.

Όλες οι εργασίες, η εκτροφή και η ανάπτυξη των προνυμφών εφαρμόστηκαν σε ελεγχόμενες συνθήκες φωτισμού, θερμοκρασίας, σχετικής υγρασίας και αερισμού, με διατήρηση της θερμοκρασίας στους 27°-28°C.



Εικόνα 33: Διαδικασία συμπλήρωσης νερού στον πλαστικό σωλήνα με το φύλλο ωοθεσίας.

Κάθε φορά που έγινε αλλαγή του φύλλου ωοθεσίας εφαρμόστηκε αλλαγή και στα πλαστικά δοχεία των ενηλίκων ατόμων για αποφυγή προσβολής του νέου φύλλου από παλαιότερα ωά (τα οποία θα εξελίσσονταν σε προνύμφες). Ο πλαστικός σωλήνας, που διατηρούσε την υγρασία του φύλλου ωοθεσίας, απολυμαίνονταν μετά από κάθε χρήση

με χλώριο 20% για αποφυγή ανάπτυξης βακτηρίων και ασθενειών. Οι δοκιμαστικοί σωλήνες, που τους διέθεταν την τροφή στη διάρκεια των ωθησιών, απολυμαίνονταν με αλκοόλη 70% ανά 5 ημέρες για την αποφυγή ασθενειών και ανάπτυξη μικροβίων στα ενήλικα άτομα.

2.4 ΧΗΜΙΚΑ ENTOMOKTONA

Οι δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στις εργαστηριακές τοξικολογικές βιοδοκιμές δε θα αναφερθούν λόγω συμφωνητικού απορρήτου με την εταιρεία, για τη συγκεκριμένη έρευνα. Θα αναφέρονται ως Προϊόν Α και Προϊόν Β.

2.5 ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΗ ΒΙΟΔΟΚΙΜΗ

Οι τοξικολογικές βιοδοκιμές που ακολούθησαν διεξήχθησαν σε προνύμφες του λεπιδόπτερου *T. absoluta* δευτέρου σταδίου ανάπτυξης (L₂) της πρώτης γενιάς (F₁) (μέθοδος που έχει συσταθεί από τον Dr. Cabello του πανεπιστημίου της Αλμερίας). Η κάθε συγκέντρωση της δραστικής ουσίας θα δοκιμαστεί σε 32 προνύμφες τη κάθε φορά.

Η διαδικασία των τοξικολογικών βιοδοκιμών ήταν η εξής:

Συλλέχθηκαν νωπά φύλλα τομάτας (γνωστό ότι δεν είχαν μολυνθεί από οποιοδήποτε προϊόν) τα φυλλάκια των οποίων τεμαχίστηκαν σε διαστάσεις περίπου 4x4cm το καθένα. Χρησιμοποιήθηκαν δίσκοι τοξικολογικών βιοδοκιμών με 32 κελιά και κολλητικά καπάκια ανά τεσσάρων θέσεων (8 καπάκια ανά δίσκο) (Bioserv Rearing Tray RT32W, closed with lids RTCV4). Ανά κελί τοποθετήθηκαν απορροφητικά χαρτιά τεσσάρων φύλλων που είχαν εμποτιστεί με 1,5ml νερό με τη βοήθεια αυτόματου δοσομετρητή υγρών (dispenser) (Εικ. 34).

Στη συνέχεια πάνω από το απορροφητικό χαρτί τοποθετήθηκαν τα τεμαχισμένα φύλλα, ένα σε κάθε κελί. Ένας δίσκος βιοδοκιμής χρησιμοποιήθηκε για την επέμβαση του Μάρτυρα.

Στον πρώτο πληθυσμό η προκαταρκτική τοξικολογική βιοδοκιμή διεξήχθη με 5 συγκεντρώσεις της δραστικής ουσίας του Προϊόντος Α και του Προϊόντος Β συν το control (οδηγός). Οι συγκεντρώσεις ήταν:

0,3ppm Προϊόντος Α ή Προϊόντος Β,

1ppm Προϊόντος Α ή Προϊόντος Β,

3ppm Προϊόντος Α ή Προϊόντος Β,

10ppm Προϊόντος Α ή Προϊόντος Β,

30ppm Προϊόντος Α ή Προϊόντος Β.

Μάρτυρας (control, επέμβαση με νερό Triton-x100 0,2%).



Εικόνα 34: Εργαστηριακά αντικείμενα που χρησιμοποιήθηκαν στις τοξικολογικές βιοδοκιμές.

Στις επόμενες τοξικολογικές βιοδοκιμές η δόση αυξήθηκε ή μειώθηκε ανάλογα με τα αποτελέσματα της πρώτης βιοδοκιμής. Εάν δηλαδή η 100% θνησιμότητα δεν ήταν διαθέσιμη από την υψηλότερη δόση στην επόμενη βιοδοκιμή οι δόσεις αυξήθηκαν, και αντίστοιχα αν υπήρξε μεγάλο ποσοστό θνησιμότητας στις μικρές δόσεις, τότε οι συγκεντρώσεις της επόμενης βιοδοκιμής μειώθηκαν.

Οι τελικές δόσεις για το Προϊόν Α και το Προϊόν Β αντίστοιχα ήταν:

ΠΡΟΪΟΝ Α	ΠΡΟΪΟΝ Β
3 ppm	0,1 ppm
10 ppm	0,3 ppm
30 ppm	1 ppm
75 ppm	3 ppm
100 ppm	10 ppm
Μάρτυρας	Μάρτυρας

Όλες οι τοξικολογικές βιοδοκιμές επαναλήφθηκαν δύο φορές σε κάθε δοκιμαζόμενο προϊόν ανά πληθυσμό.

Για τις αραιώσεις των διαλυμάτων ακολουθήθηκε η εξής διαδικασία:

Για την προετοιμασία του αρχικού διαλύματος (stock) έγινε ζύγηση του σκευάσματος σε ηλεκτρονική ζυγαριά υψηλής ακριβείας (Εικ. 35) και αραιώθηκε σε κατάλληλο όγκο νερό με Triton-x100. Ακολούθησαν διαδοχικές αραιώσεις για την παρασκευή των τελικών συγκεντρώσεων του πειράματος (Εικ. 36).



Εικόνα 35: Ηλεκτρονική ζυγαριά υψηλής ακριβείας.

Για κάθε συγκέντρωση έγινε εμφύσηση 32 φυλλαρίων ένα – ένα ξεχωριστά, για 5 δευτερόλεπτα, με τη βοήθεια μεταλλικής λαβίδας. Η εμφύσηση πραγματοποιήθηκε μέσα σε γυάλινα τρυβλία (9 cm) στα οποία τοποθετήθηκαν 30ml για κάθε δόση. Τα

φυλλάρια αφέθηκαν να στεγνώσουν επάνω σε απορροφητικό χαρτί για μία ώρα σε θερμοκρασία δωματίου. Στη συνέχεια τοποθετήθηκαν ένα φυλλάριο ανά κελί στο δίσκο βιοδοκιμής. Μετά από αυτή τη διαδικασία ξεκινούσε η μεταφορά των προνυμφών σε κάθε κελί του δίσκου βιοδοκιμής.



Εικόνα 36: Χημικές αραιώσεις για τη δημιουργία των απαιτούμενων συγκεντρώσεων για τις τοξικολογικές βιοδοκιμές.

Προσβεβλημένα φύλλα τομάτας με προνύμφες L_2 τοποθετήθηκαν σε επιφάνεια επάνω από φωτεινή πηγή, ώστε να είναι ορατές μέσα από διερχόμενο φως (Εικ. 37). Οι προνύμφες αφαιρέθηκαν από τα φύλλα με νυστέρι και πινέλο, με πολύ προσεγμένες κινήσεις για την αποφυγή τραυματισμού τους και τοποθετήθηκαν αμέσως μία - μία ανά κελί στους δίσκους βιοδοκιμών.



Εικόνα 37: Εξαγωγή προνυμφών δευτέρου σταδίου από τα προσβεβλημένα φύλλα με τη βοήθεια διερχόμενου φωτός για την χρησιμοποίησή τους σε τοξικολογική βιοδοκιμή.

Η εγκατάσταση των προνυμφών πραγματοποιήθηκε κατά αύξουσα σειρά των συγκεντρώσεων της δραστηκής ουσίας, ξεκινώντας από το control. Το πινέλο και το νυστέρι, μετά από τη χρήση τους σε κάθε δόση, καθαριζόταν καλά με αλκοόλη 90% και τα κελιά στους δίσκους βιοδοκιμής σφραγίζονταν με τα διάφανα καλύμματά τους (κολλητικά καπάκια όπου το καθένα σφράγιζε τέσσερις θέσεις φυλλαρίων με τις προνύμφες). Οι δίσκοι τοξικολογικών βιοδοκιμών με τις δόσεις και τις προνύμφες (Εικ. 38) τοποθετούνταν σε αεριζόμενο χώρο, κάτω από τεχνητό ρυθμιζόμενο φως για τρία 24ωρα, σε ελεγχόμενες συνθήκες δωματίου (θερμοκρασία στους 26^ο-27^οC). Στο δωμάτιο υπήρχε διαθέσιμο ψηφιακό θερμόμετρο μέτρησης της θερμοκρασίας.



Εικόνα 38: Δίσκοι τοξικολογικών βιοδοκιμών με 32 κελιά και κολλητικά καπάκια ανά 4 θέσεων (8 καπάκια ανά δίσκο) (BioServ Rearing Tray RT32W, closed with lids RTCV4).

Η αξιολόγηση της θνησιμότητας, για κάθε δόση πραγματοποιήθηκε 72 ώρες μετά την τοποθέτηση των προνυμφών στους δίσκους τοξικολογικών βιοδοκιμών, και εφαρμόστηκε με βάση α) τον συνολικό αριθμό των προνυμφών (ο συνολικός αριθμός των προνυμφών που χρησιμοποιήθηκε στη βιοδοκιμή κάθε δόσης), β) τον αριθμό ετοιμοθάνατων προνυμφών (οι προνύμφες που κινούνταν αργά, δεν είχαν αυξηθεί ιδιαίτερα σε μέγεθος στο διάστημα των 72 ωρών, ξεκίνησαν να τρώνε μια μικρή ποσότητα και μετά την κατάποση του προϊόντος διέκοψαν τη σίτισή τους) και γ) τον αριθμό των νεκρών προνυμφών (ήταν εντελώς ακίνητες όταν τις αγγίζαμε).

2.6 ΣΤΑΤΙΣΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ

Για την εκτίμηση της θνησιμότητας, όλα τα αποτελέσματα από τις τοξικολογικές βιοδοκιμές διορθώθηκαν σύμφωνα με τον τύπο του Abbott (1925), σύμφωνα με τον οποίο:

$\Delta\Theta = 100 * (1 - \Theta E / \Theta M)$, όπου $\Delta\Theta$: η Διορθωμένη Θνησιμότητα, ΘE : η Θνησιμότητα Επέμβασης και ΘM : η Θνησιμότητα του Μάρτυρα.

Μία Probit ανάλυση κατά Finney (Probit Analysis, 1971 Cambridge Univ. Press) πραγματοποιήθηκε για την ανάλυση της επί τις εκατό (%) θνησιμότητας, χρησιμοποιώντας το λογισμικό Probit 3.3 (Praxeme Version 3.3, Licence 193019) (Raymond et al. 1993). Το λογισμικό αυτό δίνει τη δυνατότητα να δοκιμαστεί κατά πόσο η καμπύλη απόκρισης θνησιμότητας – συγκεντρώσεις αντιστοιχεί σε ευθεία γραμμή (δοκιμή χ^2), την κλίση της ευθείας (slope), τις θανατηφόρες συγκεντρώσεις (lethal concentrations LC), τα όρια εμπιστοσύνης κάθε μιας και τον συντελεστή ανθεκτικότητας RR (Resistance Ratio).

3^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ - ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Τα αποτελέσματα από τις τοξικολογικές βιοδοκιμές επεξεργάστηκαν με το πρόγραμμα Probit Analysis για τον προσδιορισμό της ημίσειας δόσης θνησιμότητας, καθώς επίσης και της δόσης στο 95% της θνησιμότητας. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης για τα Προϊόντα Α και Β παρουσιάζονται στον πίνακα 1 και 2. Με βάση την ανάλυση τα δεδομένα περιγράφονται από το μοντέλο Log (Dose) – Probit (Mortality %) καθώς οι τιμές του X^2 δεν ήταν στατιστικά σημαντικές ($P < 0,05$) σε όλα τα πειράματα.

Για το Προϊόν Α το LC_{50} κυμάνθηκε από 2,04mg/lit έως και 24,61mg/lit. Με βάση την αλληλοεπικάλυψη των ορίων εμπιστοσύνης (95%) παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των πληθυσμών. Ο πληθυσμός με την υψηλότερη ευαισθησία ήταν ο IER1_R2 με LC_{50} 2,04mg/lit και όρια εμπιστοσύνης 0,35mg/lit – 4,36mg/lit, ενώ οι πληθυσμοί με την χαμηλότερη ευαισθησία ήταν ο IER3. Συγκεκριμένα τα αποτελέσματα για τα δύο πειράματα ήταν LC_{50} 18,25mg/lit (12,26 – 27,67)mg/lit για τον IER3_R1 και LC_{50} 24,61mg/lit (15,56 – 46,54)mg/lit για τον IER3_R2. Όλα τα LC_{50} συγκρίθηκαν με το μικρότερο LC_{50} (IER1_R2) για να προσδιοριστεί ο λόγος ανθεκτικότητας εντός της περιοχής που έγιναν τα πειράματα. Διαπιστώθηκαν πληθυσμοί έως και 12 φορές πιο ανθεκτικοί από τον πιο ευαίσθητο πληθυσμό της περιοχής Ιεράπετρας. Με βάση τα όρια εμπιστοσύνης (95%) δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των επαναλήψεων των πληθυσμών. Αυτό μπορεί να διαπιστωθεί παρατηρώντας την Εικ. 39 όπου απεικονίζονται συνοπτικά τα γραμμικά μοντέλα που προσδιορίστηκαν για όλους τους πληθυσμούς και για όλα τα πειράματα. Ειδικότερα στην Εικ. 40 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από την ανάλυση των τοξικολογικών βιοδοκιμών για τον πληθυσμό IER1 για το Προϊόν Α. Ο IER1 είναι ο μόνος πληθυσμός στον οποίο έγιναν τρεις διαδοχικές βιοδοκιμές. Στην Εικ. 40 είναι ευδιάκριτη η αλληλοεπικάλυψη των γραμμικών μοντέλων.

Το LC₉₅ κυμάνθηκε για το Προϊόν Α από 30,61mg/lit για τον πληθυσμό IER1_R1 έως και 625,08mg/lit για τον πληθυσμό IER3_R2. Κατά μέσο όρο το LC₉₅ βρέθηκε 21,2 φορές μεγαλύτερο από το LC₅₀.

Για το Προϊόν Β το LC₅₀ κυμάνθηκε από 0,14mg/lit έως 0,55mg/lit. Με βάση την αλληλοεπικάλυψη των ορίων εμπιστοσύνης (95%) παρουσιάστηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των πληθυσμών. Ο πληθυσμός με την υψηλότερη ευαισθησία ήταν ο IER3_R1 με LC₅₀ 0,14mg/lit και όρια εμπιστοσύνης 0,06mg/lit - 0,22mg/lit, ενώ αυτοί με την χαμηλότερη ευαισθησία είναι οι IER2_R1 και IER1_R3 με LC₅₀ 0,50mg/lit (0,33 – 0,74)mg/lit και LC₅₀ 0,55mg/lit (0,38 – 1,08)mg/lit αντίστοιχα. Και σε αυτή τη περίπτωση, όλα τα LC₅₀ συγκρίθηκαν με το μικρότερο LC₅₀ (IER3_R1) για να προσδιοριστεί ο λόγος ανθεκτικότητας εντός της περιοχής που έγιναν τα πειράματα. Διαπιστώθηκαν πληθυσμοί μέχρι και τέσσερις φορές πιο ανθεκτικοί από τον πιο ευαίσθητο πληθυσμό της περιοχής Ιεράπετρας. Με βάση τα όρια εμπιστοσύνης (95%) δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των επαναλήψεων των πληθυσμών εκτός από τον IER3.(βλέπε Πίνακα 2 και Εικ. 41).

Το LC₉₅ για το Προϊόν Β κυμάνθηκε από 0,97mg/lit για τον πληθυσμό IER4_R1 μέχρι και 5,43mg/lit για τον πληθυσμό IER2_R1. Κατά μέσο όρο το LC₉₅ βρέθηκε 8,3 φορές μεγαλύτερο από το LC₅₀.

Πίνακας 1: Αποτελέσματα ανάλυσης θνησιμότητας και επίπεδα ανθεκτικότητας των πληθυσμών στις τοξικολογικές βιοδοκιμές του Προϊόντος Α. Κατάταξη των πειραμάτων και των πληθυσμών με βάση το LC₅₀.

Δραστική Ουσία Α													
Πληθυσμός	Πείραμα	n	LC ₉₅	LC ₉₅ Range	LC ₅₀	CL ₉₅ for LC ₅₀		slope	SE	P	χ ²	df	RR
IER1	2	182	50,61	27,79 - 233,07	2,04	0,35 - 4,36	a	1,15	0,27	0,97	0,21	3	1
IER4	2	192	72,42	37,719 - 274,12	4,56	2,13 - 7,21	ab	1,37	0,27	0,79	0,48	2	2
IER1	1	192	30,61	18,36 - 90,29	4,79	2,87 - 6,77	ab	2,04	0,42	0,59	0,29	1	2
IER1	3	160	264,28	60,62 - 856885,44	5,46	0,98 - 10,53	abc	0,97	0,35	0,38	0,79	1	3
IER2	2	190	128,56	62,02 - 563,36	7,33	3,98 - 11,27	abc	1,32	0,25	0,94	0,12	2	4
IER4	1	154	237,32	80,67 - 4036,42	9,82	5,27 - 17,31	bcd	1,19	0,29	0,36	2,02	2	5
IER2	1	192	177,03	85,55 - 727,73	11,82	7,44 - 17,62	cd	1,39	0,25	0,80	0,44	2	6
IER3	1	183	225,99	107,85 - 943,34	18,25	12,26 - 27,67	d	1,5	0,26	0,16	3,65	2	9
IER3	2	179	652,08	205, 00 - 10645,97	24,61	15,56 - 46,54	d	1,15	0,25	0,36	2,03	2	12

n = ο αριθμός των χρησιμοποιούμενων προνυμφών σε κάθε τοξικολογική βιοδοκιμή.

LC₉₅ (Lethal concentration for 95% mortality) = η συγκέντρωση του προϊόντος που θανατώνει το 95% του πληθυσμού.

LC₅₀ (Lethal concentration for 50% mortality) = η συγκέντρωση του προϊόντος που θανατώνει το 50% του πληθυσμού.

CL₉₅ = Όρια εμπιστοσύνης στο 95%.

Slope και SE = η κλίση της ευθείας και το τυπικό σφάλμα.

χ² = δοκιμή καλής αντιπροσώπευσης από ευθεία $P < 0,05$

Πίνακας 2: Αποτελέσματα ανάλυσης θνησιμότητας και επίπεδα ανθεκτικότητας των πληθυσμών στις τοξικολογικές βιοδοκιμές του Προϊόντος Β. Κατάταξη των πειραμάτων και των πληθυσμών με βάση το LC₅₀.

Δραστική Ουσία Β													
Πληθυσμός	Πείραμα	n	LC ₉₅	CL ₉₅ for LC ₉₅ 2	LC ₅₀	CL ₉₅ for LC ₅₀		slope	SE	P	χ ²	df	RR
IER3	1	182	1,81	0,97 - 6,60	0,14	0,06 - 0,22	a	1,47	0,30	0,88	0,25	2	1
IER4	1	182	0,97	0,62 - 2,33	0,21	0,15 - 0,28	ab	2,48	0,46	0,58	0,31	1	2
IER4	2	179	1,97	1,14 - 5,53	0,23	0,13 - 0,34	abc	1,75	0,32	0,78	0,50	2	2
IER2	2	187	1,56	0,89 - 4,99	0,25	0,17 - 0,35	abc	2,07	0,41	0,31	1,03	1	2
IER1	2	187	0,89	0,62 - 2,05	0,33	0,23 - 0,43	bcd	3,79	0,91	0,63	0,23	1	2
IER3	2	186	5,42	2,66 - 21,08	0,38	0,23 - 0,56	bcd	1,42	0,25	0,50	1,39	2	3
IER2	1	191	5,43	2,83 - 18,19	0,50	0,33 - 0,74	cd	1,59	0,27	0,46	1,56	2	4
IER1	3	176	3,51	1,55 - 28,18	0,55	0,38 - 1,08	d	2,05	0,48	0,15	2,04	1	4

n = ο αριθμός των χρησιμοποιούμενων προνυμφών σε κάθε τοξικολογική βιοδοκιμή.

LC₉₅ (Lethal concentration for 95% mortality) = η συγκέντρωση του προϊόντος που θανατώνει το 95% του πληθυσμού.

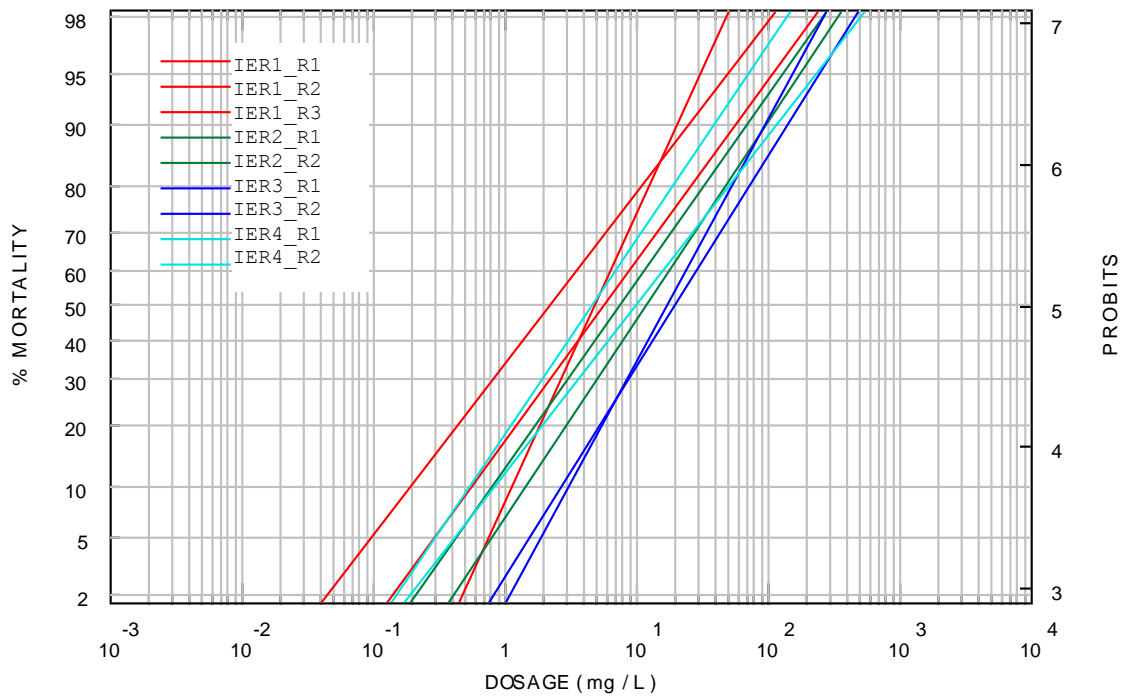
LC₅₀ (Lethal concentration for 50% mortality) = η συγκέντρωση του προϊόντος που θανατώνει το 50% του πληθυσμού.

CL₉₅ = Όρια εμπιστοσύνης στο 95%.

Slope και SE = η κλίση της ευθείας και το τυπικό σφάλμα.

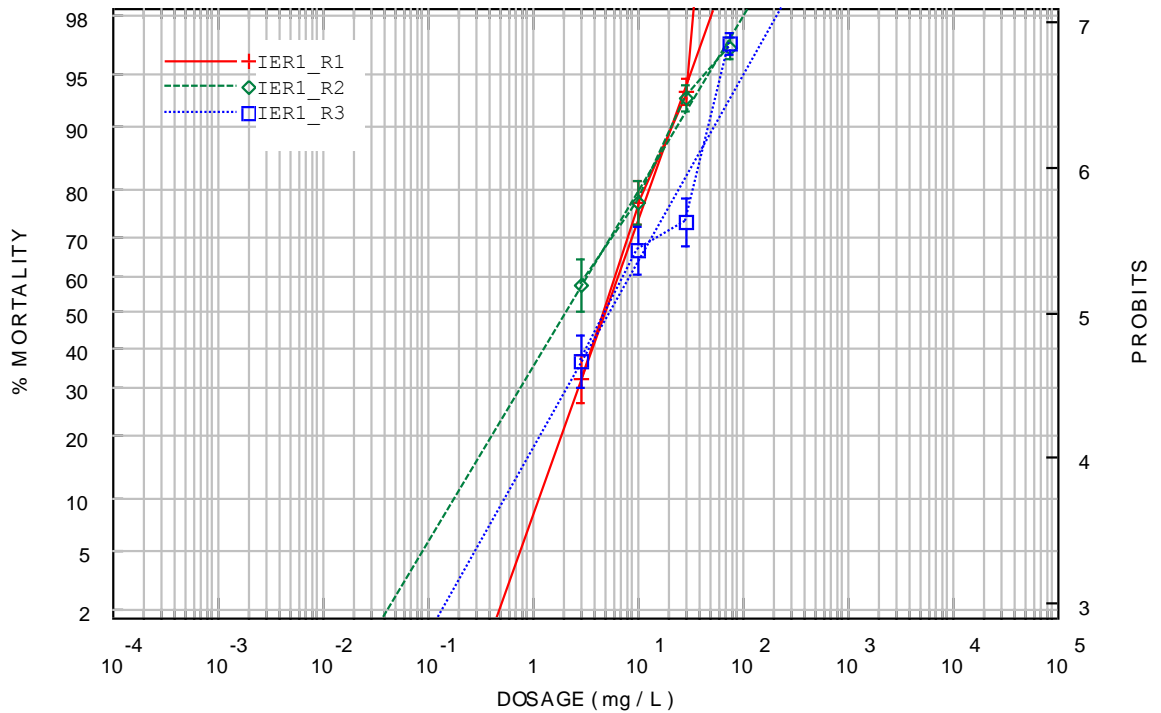
χ² = δοκιμή καλής αντιπροσώπευσης από ευθεία $P < 0,05$

Στην Εικ. 39 παρουσιάζεται η θνησιμότητα των προνυμφών του *T. absoluta* για τους πληθυσμούς IER1, IER2, IER3 και IER4, σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση του Προϊόντος Α.



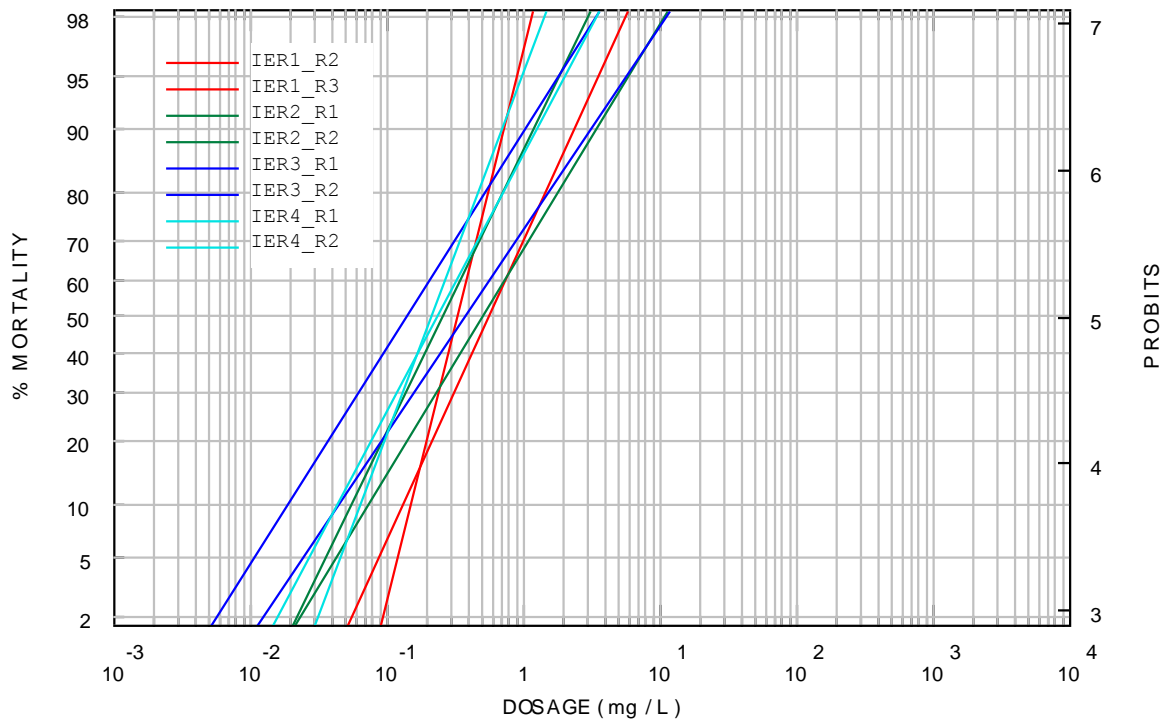
Εικόνα 39: Η θνησιμότητα των προνυμφών του *T. absoluta* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση του Προϊόντος Α. Οι επαναλήψεις των τοξικολογικών βιοδοκιμών των πληθυσμών εμφανίζονται με το ίδιο χρώμα.

Στην Εικόνα 40 παρουσιάζεται η θνησιμότητα των προνυμφών του *T. absoluta* για τον πληθυσμό της IER1 σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση του Προϊόντος Α.



Εικόνα 40: Η θνησιμότητα των προνυμφών του *T. absoluta* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση του Προϊόντος Α στον πληθυσμό IER1. Η κάθε επανάληψη του πληθυσμού εμφανίζεται με διαφορετικό χρώμα.

Στην Εικόνα 41 παρουσιάζεται η θνησιμότητα των προνυμφών του *T. absoluta* για τους πληθυσμούς IER1, IER2, IER3 και IER4, σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση του Προϊόντος Β.



Εικόνα 41: Η θνησιμότητα των προνυμφών του *T. absoluta* σε σχέση με την εφαρμοζόμενη συγκέντρωση του Προϊόντος Β. Οι επαναλήψεις των τοξικολογικών βιοδοκιμών των πληθυσμών εμφανίζονται με το ίδιο χρώμα.

4^ο ΚΕΦΑΛΑΙΟ – ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Οι πληθυσμοί που μελετήθηκαν συλλέχθηκαν από διαφορετικές περιοχές της Ιεράπετρας (Νομός Λασιθίου, Κρήτη) σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας. Οι τοξικολογικές βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε προνύμφες L₂ του *T. absoluta* για τη μελέτη ευαισθησίας του *T. absoluta* σε δύο διαφορετικές δραστικές ουσίες (Προϊόν Α και Προϊόν Β).

Η μέθοδος εφαρμόστηκε για πρώτη φορά και διαπιστώθηκαν διάφορα προβλήματα (βακτηριολογικές ασθένειες, ασύγχρονη ωοθεσία κ.α.). Όλα τα προβλήματα αντιμετωπίστηκαν με κατάλληλες τροποποιήσεις στις επιμέρους εργασίες. Το τελικό πρωτόκολλο της μεθοδολογίας έχει αποσταλεί στον IRAC για την αξιολόγηση των τροποποιήσεων και την ενσωμάτωσή τους στη μεθοδολογία Νο 022, που είναι υπό αναθεώρηση.

Η μεθοδολογία εφαρμόζεται για πρώτη φορά στο *T. absoluta* και γι' αυτό έπρεπε παράλληλα να αξιολογηθεί η επαναληψιμότητα και η αξιοπιστία της μεθόδου. Για το λόγο αυτό όλες οι βιοδοκιμές έγιναν από δύο φορές σε κάθε πληθυσμό και σε κάθε Προϊόν. Από τα αποτελέσματα των επαναλήψεων των τοξικολογικών βιοδοκιμών οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι η μέθοδος που εφαρμόστηκε ήταν έγκυρη. Συγκεκριμένα για το Προϊόν Α, με βάση τα όρια εμπιστοσύνης (95%) δεν βρέθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις μεταξύ των επαναλήψεων, ενώ για το Προϊόν Β διαπιστώθηκαν οριακές διαφοροποιήσεις μόνο για ένα σετ επαναλήψεων (IER3). Επίσης η απόκριση στις διαδοχικές δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν περιγράφηκε καλά από το γραμμικό μοντέλο (Dose) – Probit (Mortality %).

Και για τα δύο Προϊόντα διαπιστώθηκαν σημαντικές διαφοροποιήσεις στην ευαισθησία των πληθυσμών καθώς βρέθηκαν σημαντικές διαφορές στα LC₅₀ που προσδιορίστηκαν από την Probit Analysis. Για το προϊόν Α οι διαφοροποιήσεις ήταν μεγαλύτερες καθώς βρέθηκε πληθυσμός έως και 12 φορές πιο ανθεκτικός από τον πιο ευαίσθητο πληθυσμό των πειραμάτων. Αντίθετα για το Προϊόν Β οι διαφοροποιήσεις ήταν μικρότερες, αφού βρέθηκε πληθυσμός έως και τέσσερις φορές πιο ανθεκτικός από

τον πιο ευαίσθητο πληθυσμό. Θεωρούμε ότι για το Προϊόν Β η διακύμανση που παρατηρήθηκε για τα LC₅₀ είναι στα όρια της φυσικής παραλλακτικότητας. Ενώ για το Προϊόν Α υπάρχουν υποψίες για ανάπτυξη υποβόσκουσας ανθεκτικότητας.

Η θανατηφόρα συγκέντρωση στο 95% (LC₉₅) είναι μία σημαντική παράμετρος που πρέπει να λαμβάνεται υπόψη για την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του σκευάσματος στη γεωργική πράξη. Για το Προϊόν Β το LC₉₅ δεν ήταν πολύ μεγαλύτερο από το LC₅₀ (κατά μέσο όρο x8 φορές). Ενώ για το Προϊόν Α το LC₉₅ ήταν κατά πολύ μεγαλύτερο από το LC₅₀ (κατά μέσο όρο x21 φορές). Ειδικότερα για το LC₉₅ του IER3_R2 βρήκαμε ότι το LC₉₅ ήταν 652,08mg/lit αυξημένο κατά 26 φορές σε σχέση με το LC₅₀. Γνωρίζοντας τις συγκεντρώσεις που συνήθως χρησιμοποιούνται στη γεωργική πράξη για τα περισσότερα φυτοπροστατευτικά σκευάσματα (περίπου 100 – 200mg/lit) η παραπάνω συγκέντρωση είναι ιδιαίτερα υψηλή. Γνωρίζουμε ότι δε μπορεί να γίνει απευθείας αντιστοίχιση πειραματικών αποτελεσμάτων με την αποτελεσματικότητα στο ύπαιθρο. Θεωρούμε όμως ότι στη παραπάνω περίπτωση η εφαρμογή του Προϊόντος Α σε ένα θερμοκήπιο δεν θα δώσει την επιθυμητή αποτελεσματικότητα για τον ικανοποιητικό έλεγχο του *T. absoluta* (συνήθως επιθυμητή θνησιμότητα για το φυτοπαράσιτο από 95 έως 99%).

Η παραπάνω εργασία δείχνει πόσο σημαντική είναι η παρακολούθηση της ευαισθησίας των φυτοπαράσιτων στα χρησιμοποιούμενα εντομοκτόνα. Ειδικότερα δε για το *T. absoluta* που είναι ένας πολύ σημαντικός εχθρός της τομάτας και άλλων καλλιεργειών, η μελέτη αυτή πρέπει να επεκταθεί και σε άλλα φυτοπροστατευτικά προϊόντα.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ**ΕΛΛΗΝΙΚΗ:**

- Αγρότυπος, «Φυτοπροστατευτικά Προϊόντα» www.agrotypos.gr, Τελευταία πρόσβαση: Σεπτέμβριος 2010.
- Basf ΕΛΛΑΣ Α.Β.Ε.Ε. 2009, «Alverde, Το διαφορετικό εντομοκτόνο», O-BASF The Chemical Company, Μάιος 2009, σελ. 2, 11-13, URL: http://www.agro.basf.gr/gr/depoy/media/gr/product_files/environment/Alverde_24_EC.pdf, Τελευταία πρόσβαση: Σεπτέμβριος 2010.
- Γιαννοπολίτης Κ.Ν., 2007, «Αφιέρωμα: Η τομάτα και η καλλιέργειά της», Εκδόσεις Αγρότυπος, Γεωργία-Κτηνοτροφία, τεύχος 10, σελ. 10, 12.
- Γιαννοπολίτης Κ.Ν., 2010, «Η αντιμετώπιση του φυλλορύκτη της τομάτας (*Tuta absoluta*)», Εκδόσεις Αγρότυπος, Γεωργία-Κτηνοτροφία, τεύχος 3, σελ. 26-27.
- Ζιώγας Βασίλειος Ν. και Μάρκογλου Αναστάσιος Ν., 2007, «Γεωργική Φαρμακολογία», Αθήνα 2007, Πρώτη έκδοση, σελ. 285, 306, 317, 363-368, 371-373, 402, 417-419.
- Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, 2010, «Επισκοπήσεις Καλλιεργειών: Μέτρα για την εξάλειψη του επιβλαβούς οργανισμού καραντίνας *Tuta absoluta* και την παρεμπόδιση της εξάπλωσής του», www.bpi.gr, Τελευταία πρόσβαση: Μάιος 2010.
- Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, 2010, «Επισκοπήσεις Καλλιεργειών: Μεθοδολογία επισκόπησης για τη διαπίστωση της παρουσίας ή μη του επιβλαβούς οργανισμού καραντίνας *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)», www.bpi.gr, Τελευταία πρόσβαση: Μάιος 2010.
- Ολυμπίου Χρήστος Μ., 2001, «Η τεχνική της καλλιέργειας των κηπευτικών στα θερμοκήπια», Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, Αθήνα, σελ. 39-44, 52-54, 56.
- Υπουργική Απόφαση, 2002, «Χορήγηση οριστικής έγκρισης κυκλοφορίας στο φυτοπροστατευτικό προϊόν (βιολογικό εντομοκτόνο) BATHURIN 16000 WP» Αθήνα 29-3-2002, Αριθ. Πρωτ. 92442.
- Υπουργική Απόφαση, 2006, «Χορήγηση οριστικής έγκρισης στο φυτοπροστατευτικό προϊόν (εντομοκτόνο) BACTOSPEINE WG», Αθήνα 8-2-2006, Αριθ. Πρωτ. 124464.
- Υπουργική Απόφαση, 2007, «Χορήγηση οριστικής έγκρισης στο φυτοπροστατευτικό προϊόν (εντομοκτόνο – ακαρεοκτόνο) ABAMECTIN ΦΑΡΜΑΧΗΜ 1,8 EC», Αθήνα 24-7-2007, Αριθ. Πρωτ. 120546.
- Υπουργική Απόφαση, 2008, «Χορήγηση προσωρινής έγκρισης διάθεσης στην αγορά στο φυτοπροστατευτικό προϊόν (εντομοκτόνο) BELT 24 WG», Αθήνα 30-10-2008, Αριθ. Πρωτ. 123596.

- Υπουργική Απόφαση, 2008, «Οριστική έγκριση διάθεσης στην αγορά στο φυτοπροστατευτικό προϊόν (εντομοκτόνο) LASER 480 SC», Αθήνα 13-5-2008, Αριθ. Πρωτ. 118687.
- Υπουργική Απόφαση, 2008, «Χορήγηση οριστικής έγκρισης στο φυτοπροστατευτικό προϊόν (εντομοκτόνο – ακαρεοκτόνο) ZORO 1,8 EW», Αθήνα 30-10-2008, Αριθ. Πρωτ. 124214.
- Υπουργική Απόφαση, 2009, «Χορήγηση προσωρινής έγκρισης διάθεσης στην αγορά στο φυτοπροστατευτικό προϊόν (εντομοκτόνο) ALVERDE 24 SC», Αθήνα 17-2-2009, Αριθ. Πρωτ. 125747.
- Υπουργική Απόφαση, 2009, «Χορήγηση οριστικής έγκρισης διάθεσης στην αγορά στο φυτοπροστατευτικό προϊόν STEWARD 30 WG (εντομοκτόνο)», Αθήνα 16-3-2009, Αριθ. Πρωτ. 127235.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) ABAMECTIN ΦΑΡΜΑ ΧΗΜ 1,8 EC, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας (θερμοκηπίου και υπαίθρου), με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97», Αθήνα 3-2-2010, Αριθ. Πρωτ. 180920.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) ALTACOR 35 WG, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας υπαίθρου και θερμοκηπίου, με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97, Αθήνα 18-5-2010, Αριθ. Πρωτ. 185094.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) ALVERDE 24 SC, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας υπαίθρου, με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97», Αθήνα 2-6-2010, Αριθ. Πρωτ. 185186.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) Affirm, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας υπαίθρου και θερμοκηπίου, με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97», Αθήνα 2-6-2010, Αριθ. Πρωτ. 185188.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) BACTOSPEINE WG, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας (θερμοκηπίου και υπαίθρου), με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97», Αθήνα 3-2-2010, Αριθ. Πρωτ. 180921.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) BATHURIN 16000 WP, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας (θερμοκηπίου και υπαίθρου), με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97» Αθήνα 3-2-2010, Αριθ. Πρωτ. 180923.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) BELT 24 WG, για την αντιμετώπιση του

- εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας θερμοκηπίου με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97», Αθήνα 3-2-2010, Αριθ. Πρωτ. 180916.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) LASER 480 SC, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας (θερμοκηπίου και υπαίθρου), με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97, Αθήνα 3-2-2010, Αριθ. Πρωτ. 180918.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) PYRINEX 25 SC, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας (θερμοκηπίου και υπαίθρου), με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97», Αθήνα 3-2-2010, Αριθ. Πρωτ. 180915.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Τροποποίηση της με αριθ. 1903/26.7.2001 οριστικής έγκρισης του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) PYRINEX 25 SC ως προς την εγγυημένη σύνθεση, το εργοστάσιο συσκευασίας, τα μεγέθη συσκευασίας, τη σήμανση και την ημερομηνία λήξης», Αθήνα 16-6-2010, Αριθ. Πρωτ. 186241.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) STEWARD 30 WG, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας (θερμοκηπίου και υπαίθρου), με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97», Αθήνα 3-2-2010, Αριθ. Πρωτ. 180922.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) VOLIAM TARGO 063 SC, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας θερμοκηπίου με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97», Αθήνα 2-6-2010, Αριθ. Πρωτ. 185187.
- Υπουργική Απόφαση, 2010, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) ZORO 1,8 EW, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας (θερμοκηπίου και υπαίθρου), με βάση το άρθρο 8 (παρ. 4) του Π.Δ. 115/97», Αθήνα 3-2-2010, Αριθ. Πρωτ. 180919.
- Χαραντώνης Δ. και Γιαννοπολίτης Κ.Ν., 2009, «Ο φυλλορύκτης της τομάτας *Tuta absoluta*», Εκδόσεις Αγρότυπος, Γεωργία-Κτηνοτροφία, τεύχος 5, σελ. 31-32.

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ:

- Desneux Nicolas, Eric Wajnberg, Kris A. G. Wyckhuys, Giovanni Burgio, Salvatore Arpaia, Consuelo A. Narvaez-Vasquez, Joel Gonzalez-Cabrera, Diana Catalan Ruescas, Elisabeth Tabone, Jacques Frandon, Jeannine Pizzol, Christine Poncet, Tomas Cabello, Alberto Urbaneja, 2010, "Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospects for biological control", J Pest Sci 83:197-215.

- EPPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization), 2005, “*Tuta absoluta*”, 35: 434-435.
- EU Pesticide database, Regulation EC No 396/2005, URL: http://ec.europa.eu/sanco_pesticides/public/index.cfm, Last accessed: September 2010.
- IRAC, 2009 (Insecticide Resistance Action Committee), “Mode of Action Classification”, Version 6.3, IRAC Mode of Action Working Group, July 2009.
- IRAC, 2010 (Insecticide Resistance Action Committee), “The tomato leafminer, *Tuta absoluta*”, www.irac-online.org, Last accessed: September 2010.
- Lietti MMM, Botto E, Alzogaray RA, 2005, “Insecticide Resistance in Argentine Populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)”, Neotrop Entomol 34:113-119.
- Raymond M., Prato G. and Ratsira D., 1993. Probit analysis of mortality assays displaying quantal response, Version 33 License 193019.
- Salazar ER, Araya JE, 1997, “Detección de resistencia a insecticidas en la polilla del tomate”, Simiente 67:8-22.
- Siqueira HA, Guedes RN, Picanco MC, 2000, “Insecticide resistance in population of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)”, Agric For Entomol 2:147-153.
- Siqueira HAA, Guedes RNC, Fragoso DB, Magalhaes LC, 2001, “Abamectin resistance and synergism in Brazilian populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae)”, Int J Pest Manage 47:247-251.
- Tuta absoluta* Information Network, Agri Pest, www.tutaabsoluta.com, Last accessed: September 2010.
- van der Straten, National Reference Laboratory, Plant Protection Service, The Netherlands, April 2009, Agriculture, nature and food quality, pp. 1.