

ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΚΟ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΙΔΡΥΜΑ
ΚΡΗΤΗΣ
ΤΜΗΜΑ ΤΕΧΝΟΛΟΓΩΝ
ΓΕΩΠΟΝΩΝ



TECHNOLOGICAL
EDUCATIONAL
INSTITUTE of CRETE
DEPARTMENT of Agriculture

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

«ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ ΤΟΥ ΥΠΟΝΟΜΕΥΤΗ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ *TUTA*
ABSOLUTA ΣΤΟ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟ *CHLORPYRIFOS* »



ΣΠΟΥΔΑΣΤΗΣ: ΤΣΙΡΙΚΟΣ ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ
ΕΙΣΗΓΗΤΗΣ: ΚΟΛΛΑΡΟΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ

ΜΑΡΤΙΟΣ 2016

ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΑΘ.

ΚΑΘ.

ΚΑΘ.

**ΤΟ ΕΡΓΟ ΑΥΤΟ ΥΛΟΠΟΙΗΘΗΚΕ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΣΤΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ
ΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ ΦΥΤΩΝ ‘ΕΛΓΟ ΔΗΜΗΤΡΑ’ ΤΟΥ ΗΡΑΚΛΕΙΟΥ ΚΡΗΤΗΣ ΜΕ ΤΗΝ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΗ
ΥΠΟΣΤΗΡΙΞΗ ΤΟΥ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΤΟΥ ΤΜΗΜΑΤΟΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΤΗΣ ΣΧΟΛΗΣ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΤΟΥ ΤΕΙ ΚΡΗΤΗΣ**

ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Η παρούσα διατριβή ξεκίνησε και ολοκληρώθηκε στο εργαστήριο εντομολογίας του Ινστιτούτου Προστασίας Φυτών Ηρακλείου, ΕΛΓΟ Δήμητρα. Αυτή τη στιγμή που το έργο έχει ολοκληρωθεί, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον καθηγητή κ. Ροδιτάκη Εμμανουήλ για την ευκαιρία που μου έδωσε να εργαστώ στο εργαστήριό του και να προσπαθήσω να φέρω σε πέρας ένα, όπως αποδείχθηκε, δύσκολο έργο.

Επιπρόσθετα, θα ήθελα να ευχαριστήσω την εταιρία ‘Κρόννος Α.Ε.’ για τη δωρεάν διάθεση φυτικού υλικού. Επιπλέον θα πρέπει να ευχαριστίσω τον Δρ. Ηλία Άρη, την Σταυρακάκη Μαριάννα, την Παπαδάκη Δέσποινα, την Αναγνωστάκη Ηρώ, την Κατσούλη Ελένη και την Καρπουζιά Χαρά. Απεριόριστες ευχαριστίες θα πρέπει να εκφράσω στον καλό μου φίλο Βασάκη Μάνο για την βοήθεια στα πειράματα και για την εξαιρετική συνεργασία κατά τη περίοδο την πρακτικής μου άσκησης. Τέλος, αναμφίβολα πολλά ευχαριστώ αξίζουν στην οικογένεια μου για την ψυχολογική στήριξη αλλά και στους καλούς μου φίλους.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ	2
ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ	3
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	4
1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ	5
1.1 Η ΤΟΜΑΤΑ LYCOPERSICON ESCULENTUM	5
1.1.1 ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ.....	6
1.1.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΚΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ	7
1.2 ΕΧΘΡΟΙ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ	10
1.3 Ο ΥΠΟΜΟΝΕΥΤΗΣ ΤΗΣ ΤΟΜΑΤΑΣ TUTA ABSOLUTA	11
1.3.1 ΙΣΤΟΡΙΚΟ ΤΟΥ TUTA ABSOLUTA	12
1.3.2 ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ TUTA ABSOLUTA	13
1.3.3 ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ ΤΟΥ TUTA ABSOLUTA.....	16
1.3.4 ΣΥΜΠΤΩΜΑΤΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ TUTA ABSOLUTA.....	17
1.2.5 ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΟΥ TUTA ABSOLUTA.....	20
1.4 ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΚΑΙ Η ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΤΗΣ	27
1.5 ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ	29
2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	30
2.1 ΦΥΤΙΚΟ ΥΛΙΚΟ.....	30
2.2 ΣΥΛΛΟΓΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ	31
2.3 ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ TUTA ABSOLUTA ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ	32
2.4 ΕΠΙΛΟΓΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΑΤΟΜΩΝ (SELECTIONS)	35
2.5 ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΕΣ ΒΙΟΔΟΚΙΜΕΣ	37
3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	39
3.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ ΣΕ ΟΡΓΑΝΟΦΩΣΦΟΡΙΚΟ ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟ	39
3.2 ΈΛΕΓΧΟΣ ΔΙΑΣΤΑΥΡΩΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ	40
4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ	42
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	44
ΕΛΛΗΝΙΚΗ:	44
ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ:	45
5 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	49

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Ο υπονομευτής της τομάτας, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) αποτελεί ίσως τον σημαντικότερο εχθρό της τομάτας με καταστροφικές επιπτώσεις. Είναι ένας εχθρός παγκοσμίου βεληνεκούς με καταγωγή τη Λατινική Αμερική, ο οποίος σήμερα έχει παγκόσμια εξάπλωση. Στην Ελλάδα βρέθηκε πρώτη φορά στον Πλατανιά Χανίων το 2009. Ο υπονομευτής προκαλεί ζημιές είτε σε θερμοκηπιακές είτε σε υπαίθριες καλλιέργειες.

Το *T. absoluta* έχει αναφερθεί να αναπτύσσει ανθεκτικότητα σε πολλές δραστικές ουσίες, ενώ πρόσφατα αναφέρθηκε για πρώτη φορά ανθεκτικότητα στα διαμύδια στην Ελλάδα. Παράλληλα υπάρχουν ενδείξεις για ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο chlorpyrifos και στην οξειδιαζίνη indoxacarb. Προκαταρτικές μελέτες έδειξαν μια συσχέτιση στα επίπεδα ευαισθησίας των 2 εντομοκτόνων η οποία χρήζει διερεύνησης.

Σκοπός της παρούσας πτυχιακής διατριβής είναι να προσδιοριστεί η διασταυρωτή ανθεκτικότητα (cross resistance) μεταξύ δυο χημικών ουσιών. Ο πληθυσμός που πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα συλλέχθηκε από την Ιεράπετρα της Κρήτης σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας. Για αυτό το σκοπό έγινε επιλογή (selection) του πληθυσμού με το εντομοκτόνο chlorpyrifos και στην συνέχεια προσδιορίστηκε απόκριση του μητρικού (parental) αλλά και του επιλεγμένου πληθυσμού (chlorpyrifos selected) στα δυο εντομοκτόνα με τοξικολογικές βιοδοκιμές βάσει της μεθοδολογίας του IRAC Method N° 022. Συγκεκριμένα θα προσδιοριστούν ή ημίσεια δόση θανάτωσης LC_{50} και ο λόγος ανθεκτικότητας σε σχέση με τον πληθυσμό αναφοράς. Στην συνέχεια θα γίνουν οι σχετικές συγκρίσεις μεταξύ του μητρικού και του επιλεγμένου πληθυσμού, ώστε να διαπιστωθεί η ύπαρξη ή μη της διασταυρωτής ανθεκτικότητας.

1 ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η Τομάτα *Lycopersicon esculentum*

Η τομάτα (*Lycopersicon esculentum* Mill.) είναι ένα ετήσιο κατά κανόνα λαχανικό το οποίο κατέχει μια πολύ σημαντική θέση στη μεσογειακή διατροφή. Σε παγκόσμια κλίμακα ανέρχεται στην τρίτη θέση σε καλλιεργουμένη έκταση (πίσω από την πατάτα και την γλυκοπατάτα), ενώ στην Ελλάδα είναι δεύτερη. Η τομάτα μπορεί να καταναλωθεί με διάφορους τρόπους (π.χ. πολτοποίηση, κ.α.) κυρίως όμως καταναλώνεται νωπή. Η κατανάλωσή της αυξήθηκε κατά τον 20^ο αιώνα διότι μέχρι τότε στις περιοχές της Μεσογείου, Β. Ευρώπης και Β. Αμερικής υπήρχαν διάφορες φοβίες, γύρω από τη κατανάλωση της τομάτας, συγκεκριμένα πίστευαν πως περιέχονται τοξικές ουσίες (γλυκοαλκαλοειδή), τα συγκεκριμένα γλυκοαλκαλοειδή όμως περιέχονται στα φύλλα και στους καρπούς άλλων ειδών της οικογένειας της τομάτας έτσι η συγκεκριμένη ιδεοληψία ξεπεράστηκε (Ολυμπίου, 2001). Με το πέρασμα των χρόνων τελικά ξεπεράστηκε η λανθασμένη ιδεοληψία με αποτέλεσμα την αύξηση της κατανάλωσης. Η τομάτα είναι από τα δημοφιλέστερα λαχανικά στον κόσμο, καθώς έχει πολλά σημαντικά χαρακτηριστικά, όπως οι βιταμίνες, το ελκυστικό χρώμα και το άρωμα που την κάνει ιδιαίτερα ελκυστική για τον καταναλωτή. Το φυτό αν και προτιμά κλίματα θερμά κι εδάφη με καλή αποστράγγιση, η εξέλιξη της βιοτεχνολογίας έχει καταφέρει να την εγκλιματίσει σε ποικίλα κλίματα και εδάφη. Η καλλιέργειά της καταλαμβάνει ένα μεγάλο εύρος που ξεκινά από τις τροπικές περιοχές έως και μερικές μοίρες από τον αρκτικό κύκλο, όπως φαίνεται από τον πίνακα 1 & 2, όπου σε κάθε περιοχή, ανάλογα τη διάρκεια της θερμής περιόδου, καλλιεργείται είτε υπαίθρια είτε σε θερμοκήπιο (Ολυμπίου, 2001).

Πίνακας 1: Παγκόσμια κατάταξη σε καλλιεργουμένη έκταση τομάτα και η θέση της Ελλάδας (Fao, 2012).

ΘΕΣΗ	ΧΩΡΑ	ΈΚΤΑΣΗ (HA)
1.	ΚΙΝΑ (ΗΠΕΙΡΩΤΙΚΗ ΧΩΡΑ)	1.000.000
2.	ΙΝΔΙΑ	870.000
3.	ΤΟΥΡΚΙΑ	300.000
4.	ΝΙΓΗΡΙΑ	270.000
5.	ΑΙΓΥΠΤΟ	216.395
37	ΕΛΛΑΔΑ	16.000

Πίνακας 2: Παγκόσμια κατάταξη παραγωγής τομάτας και η θέση της Ελλάδας (Fao, 2012).

ΘΕΣΗ	ΧΩΡΑ	ΠΑΡΑΓΩΓΗ (TN)
1.	ΚΙΝΑ (ΗΠΕΙΡΩΤΙΚΗ ΧΩΡΑ)	50.000.000
2.	ΙΝΔΙΑ	17.500.000
3.	Η.Π.Α	13.206.950
4.	ΤΟΥΡΚΙΑ	11.350.000
19.	ΕΛΛΑΔΑ	979.600

1.1.1 Ιστορικό της Τομάτας

Η τομάτα προέρχεται από ένα από τα 8-10 είδη του γένους *Lycopersicon* με πιθανότερο πρόγονό του το είδος *Solanum*. Είναι ιθαγενές της την ΝΑ Αμερική, όπου η άγρια μορφή της, η *L. esculentum* var. *cerasiforme* έχει βρεθεί και στο Μεξικό, στη Κεντρική Αμερική και σε περιοχές της Ν. Αμερικής. Αρχικά ‘πατρίδα’ της τομάτας θεωρείτο το Περού ωστόσο ο ερευνητής Jenkins το 1948 το ανέτρεψε και απέδειξε πως η καταγωγή της ήταν το Μεξικό και πιο συγκεκριμένα η περιοχή Vera Cruz-Puebia. Στην Ευρώπη εισήλθε τον 18^ο αιώνα, ενώ η εισαγωγή στην Ελλάδα και στην Αθήνα υπολογίζεται περίπου το 1818. Το φυτό

της τομάτας είναι ένα σταυρογονιμοποιούμενο φυτό συνεπώς επικονιάζεται με διάφορα είδη μελισσών αλλά τα τελευταία χρόνια κυρίως με βομβίνους (*Bombus terrestris*) διότι δίνει καλύτερα αποτελέσματα γονιμοποίησης.

Με την ανάπτυξη της τεχνολογίας και την εφαρμογή σύγχρονων μεθόδων γενετικής βελτίωσης, έγινε εφικτό να διασταυρωθούν εκατοντάδες ποικιλίες με αποτέλεσμα να βελτιωθεί ο εγκλιματισμός της αλλά και οι τρόποι κατανάλωσης, όπως επίσης βελτιώθηκε ο τρόπος καλλιέργειας (ανθεκτικότητα σε ασθένειες) αλλά και πολλά ποιοτικά χαρακτηριστικά. Με τη πάροδο του χρόνου τα παραγόμενα υβρίδια αντικαθίστανται συνεχώς από άλλα. Όμως παρά την βελτίωση των υβριδίων έχει παρατηρηθεί η υποβάθμιση των οργανοληπτικών χαρακτηριστικών του καρπού, δηλαδή η γεύση και το άρωμα κάτι που αποτελεί σημείο περαιτέρω έρευνας της βελτίωσης.

1.1.2 Μορφολογικά Χαρακτηριστικά της Τομάτας

Η τομάτα είναι ένα φυτό ποώδες, ετήσιο, διετές και σπανιότερα πολυετές. Έχει την ικανότητα να αναπτύσσει πολύ εύκολα δευτερεύουσες πλευρικές ρίζες, μέχρι και από το λαιμό του φυτού μπορεί να υπάρξει έκπτυξη ριζών. Λόγω της ικανότητας να εκπτύσσει δευτερογενείς ρίζες ταχύτατα, απορροφά νερό και θρεπτικές ουσίες σε μικρό χρονικό διάστημα κι έτσι ξεπερνά εύκολα το μεταφυτευτικό stress.



Εικόνα 1: Ρίζα φυτού ντομάτας

Μετά την οριζοντιοποίηση των κοτυληδονόφυλλων παράγεται ο κεντρικός βλαστός.

Ο κεντρικός βλαστός φέρει τα πραγματικά φύλλα, στις μασχάλες των οποίων υπάρχουν οφθαλμοί που δίνουν πλευρικούς βλαστούς. Το σχήμα του κεντρικού βλαστού είναι κυλινδρικό και συμπαγές εσωτερικά, ωστόσο σε ορισμένες περιπτώσεις εσωτερικά είναι κενός, κάτι το οποίο αποτελεί μια ανωμαλία του βλαστού, που μπορεί να οφείλεται σε μικροοργανισμούς, όπως κάποια βακτήρια. Στα αρχικά στάδια του βλαστού είναι τρυφερός, εύθραυστος, χυμώδης, μαλακός και αργότερα γίνεται πιο σκληρός, ώστε να έχει μηχανική αντοχή, όμως χωρίς να ξυλοποιείται με αποτέλεσμα να είναι σχετικά εύθραυστος. Τέλος το μήκος του καθορίζεται από γενετικούς παράγοντες και υπάρχει διάκριση στις ποικιλίες οι οποίες έχουν απεριόριστη ανάπτυξη βλαστών όπου το φυτό μπορεί να φθάσει μέχρι και πάνω από δέκα μέτρα και οι ποικιλίες με καθορισμένο μήκος (Ολυμπίου, 2001).

Τα πραγματικά φύλλα της τομάτας είναι σύνθετα με το κάθε φύλλο να αποτελείται από αρκετά ζεύγη φυλλαρίων και παράφυλλων, με ένα μόνο φυλλάριο στην άκρη. Ο αριθμός ζευγών εξαρτάται από την ποικιλία και από τη θέση του φύλλου πάνω στον βλαστό. Τα πρώτα φύλλα που εκπτύσσονται έχουν πάντα μικρότερο αριθμό ζευγών. Όπως ο αριθμός ζευγών έτσι και το μέγεθος αποτελεί χαρακτηριστικό ποικιλίας, το οποίο όμως μπορεί να επηρεαστεί και από τις συνθήκες καλλιέργειας. Τα φύλλα εμφανίζονται σε ελικοειδή διάταξη πάνω στον βλαστό. Το χρώμα της πάνω επιφάνειας είναι λαμπερό βαθύ πράσινο και της κάτω επιφάνειας ελαιώδες ανοικτό πράσινο (Ολυμπίου, 2001).



Εικόνα 2: Τυπικό φύλλο τομάτας σε πλήρη ανάπτυξη

Τα άνθη της τομάτας εμφανίζονται σε ταξιανθία από 2-3 άνθη/ ταξιανθία και μπορεί να φτάσει μέχρι 20 κι άνω. Ο επιθυμητός αριθμός ανθέων που θα καρποδέσει είναι 6-8 άνθη. Οι ταξιανθίες εμφανίζονται επί των βλαστών του φυτού και αναλόγως την ποικιλία

διακλαδίζονται συμμετρικά ή ασύμμετρα και στην άκρη κάθε διακλάδωσης υπάρχει και ένα άνθος. Το άνθος έχει πράσινο δερματώδη κάλυκα, ο οποίος αποτελείται από 5 ή περισσότερα σέπαλα, έχει κίτρινη στεφάνη με 5 ή περισσότερα πέταλα και 5 ή περισσότερους στήμονες ενωμένους στην βάση τους με τη στεφάνη και ενωμένους κατά μήκος μεταξύ τους, ώστε να σχηματίζουν κώνο γύρω από το στύλο που είναι συνήθως πιο κοντός και εγκλωβισμένος από τους ανθήρες. Τέλος η ωθήκη είναι πολύχωρη και κάθε χώρος έχει πολλές σπερματικές βλάστες (Ολυμπίου, 2001).



Εικόνα 3: Άνθη τομάτας σε πλήρη ανάπτυξη.

Ο καρπός της τομάτας είναι μια πολύχωρος ράγα με ποικίλα σχήματα που εξαρτώνται από διάφορους παράγοντες (ποικιλία, καλ. τεχνικές). Ο καρπός των ποικιλιών με δυο χωρίσματα είναι συνήθως στρογγυλός, ενώ με περισσότερα χωρίσματα είναι συνήθως πεπλατυσμένος και ακανόνιστος (Ολυμπίου, 2001).



Εικόνα 4: Καρπός τομάτας μεγαλόκαρπης ποικιλίας

Ο σπόρος είναι ωοειδής, πεπλατυσμένος με κιτρινοκαφετί χρυσαφένιο χρώμα και επιφανειακά καλύπτεται με τριχοειδείς αποφύσεις, όπου σε αυτό οφείλεται η μεταξωτή επιφάνεια και τον κάνει να διαφέρει από αυτόν της μελιτζάνας και της πιπεριάς. Έχει μικρό μέγεθος διαμέτρου 3-5mm. Εσωτερικά φέρει κυρτό έμβρυο που περιβάλλεται από ένα μικρό ενδοσπέρμιο. Υπό κανονικές συνθήκες αποθήκευσης, σε χαμηλή θερμοκρασία και με χαμηλή περιεκτικότητα των σπόρων σε υγρασία, μπορεί να διατηρηθεί εύκολα η βλαστική ικανότητά του πάνω από 10 χρόνια. Ένα γραμμάριο σπόρων ισοδυναμεί με περίπου 450 σπέρματα (Ολυμπίου, 2001).



Εικόνα 5: Σπόρος τομάτας

1.2 Εχθροί της Τομάτας

Οι εχθροί αποτελούσαν, αποτελούν και θα αποτελούν έναν από τους σημαντικότερους παράγοντες για τη βέλτιστη παραγωγή καρπού, δηλαδή όσο το δυνατό καλύτερη ποιότητα και όσο το δυνατό μέγιστη παραγωγή. Στον παρακάτω πίνακα παρουσιάζονται οι εχθροί της τομάτας που προσβάλλουν την τομάτα είτε στο ύπαιθρο είτε στο θερμοκήπιο.

Πίνακας 3: Εχθροί της τομάτας στον Ελλαδικό χώρο (Ολυμπίου, 2015).

Κοινή ονομασία	Λατινική ονομασία	Προσβαλλόμενο μέρος
Σιδηροσκώληκες	<i>Agriotes obscures</i>	Τα νεαρά φυτά στη βάση του βλαστού λίγο κάτω από την επιφάνεια του εδάφους
Αφίδες	<i>Aphis persicae, Aphis gossypii</i>	Τα φύλλα και τους νεαρούς βλαστού
Θρίπες	<i>Thrips tabaci</i>	Τα φύλλα, σημαντικός φορέας ιώσεων
Φυλλορύκτες της τομάτας	<i>Liriomyza solani</i> <i>Tuta absoluta</i>	Στοές στα φύλλα και στους καρπούς
Αλευρώδης	<i>Trialeurodes vaporariorum</i>	Τα φύλλα και φορέας ιώσεων
Τετράνυχτοι	<i>Tetranychus urticae & T.telarius</i>	Κυρίως τα φύλλα
Γυμνοσάλιαγκες και σαλιγκάρια		Τα φύλλα και τους καρπούς

Στην παρούσα πτυχιακή θα υπάρχει εκτεταμένη αναφορά στο *Tuta absoluta* το οποίο για πολλούς ερευνητές και παραγωγούς αποτελεί το σημαντικότερο εχθρό της τομάτας.

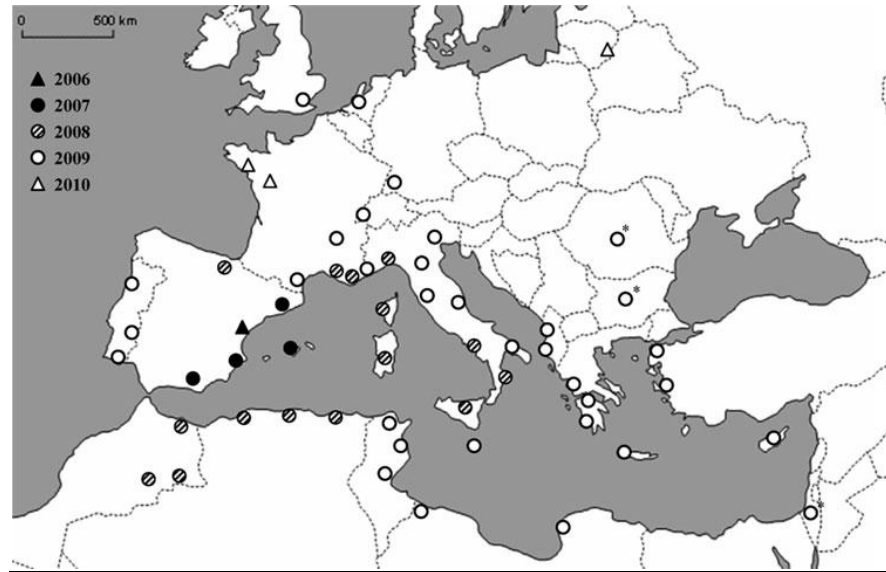
1.3 Ο Υπονομευτής της Τομάτας *Tuta absoluta*

Ο υπονομευτής της τομάτας *Tuta absoluta* (Meyrick) αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους εχθρούς της τομάτας. Ανήκει στην οικογένεια Gelechiidae και στην τάξη των λεπιδόπτερων (Lepidoptera). Σύμφωνα με το EPPO στην παγκόσμια βιβλιογραφία αναφέρεται και ως *Scrobipalpuloides absoluta* Povolny, *Scrobipalpula absoluta* Povolny, *Gnorimoschema absoluta* Clarke, *Phthorimaea absoluta* Meyrick. Ο υπονομευτής της τομάτας έχει ως ζημιογόνο στάδιο την προνύμφη, η οποία προκαλεί στοές σε όλα τα μέρη του φυτού της τομάτας, με σοβαρότερες ζημιές στο φύλλωμα και στη συνέχεια στον καρπό γεγονός που τον καθιστά μη εμπορεύσιμο και πηγή εισόδου δευτερευόντων παρασίτων. Εκτός της τομάτας προσβάλλει μεγάλη γκάμα της οικογένειας των Σολανωδών (Solanaceae) όπως την πατάτα, την μελιτζάνα, κλπ. αλλά και αρκετά είδη του γένους *Datura* και είδη του γένους *Nicotiana*. Το *T.absoluta* προσελκύεται από τα φυτά, λόγω κάποιων πτητικών ελκυστικών ενώσεων που παράγονται από αυτά και ονομάζονται καϊρομόνες (Ροδιτάκης & Σίμογλου, 2015). Σύμφωνα με τον FAOSTAT από το 2006 έως το 2011 έχει μολυνθεί το 27,2% της παγκόσμιας παραγωγής τομάτας. Το *T.absoluta* μπορεί να προκαλέσει μείωση παραγωγής 80-100% σε μια καλλιέργεια τομάτας, ωστόσο σε περίπτωση που εφαρμοστούν

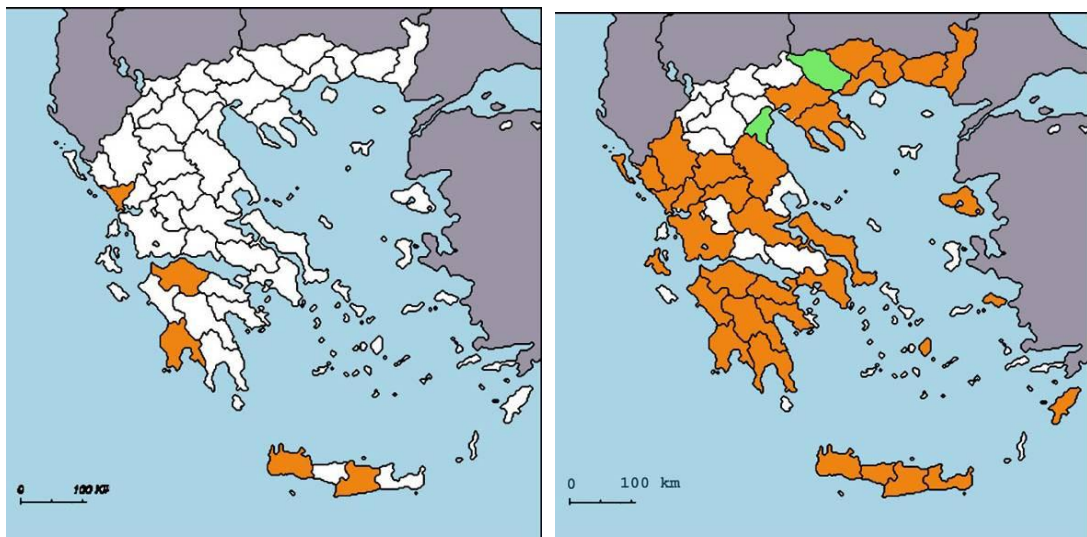
έγκαιρα μέτρα προστασίας (προληπτικά – κατασταλτικά) τότε μπορούν οι ζημιές να περιοριστούν σε 1-5% (NVA, 2013)

1.3.1 Ιστορικό του *Tuta absoluta*

Ο υπονομευτής της τομάτας αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους εχθρούς της τομάτας με καταγωγή από τη Β. Αμερική, ο οποίος εξαπλώθηκε ταχύτατα στις αρχές της δεκαετίας του 80 από την Αργεντινή, τη Βραζιλία και τη Βολιβία, στις Ευρωπαϊκές και στις Μεσογειακές χώρες (Braham & Hajji, 2012). Το 2004 ο ΕΡΡΟ το ένταξε στην λίστα Α1 με τα φυτοπαράσιτα καραντίνας και το 2009 μεταφέρθηκε στη λίστα Α2 λόγω της μεγάλης μετανάστευσης που παρουσίαζε (Roditakis et al, 2010). Η πρώτη επίσημη καταγραφή του *T.absoluta* στην Ευρωπαϊκή ήπειρο ήταν στην Ισπανία το 2007 κι ύστερα καταγράφηκαν στην Γαλλία, στην Ιταλία, στην Μάλτα, στην Ολλανδία, στο Ηνωμένο Βασίλειο ενώ παράλληλα πραγματοποιήθηκαν καταγραφές στη Βόρεια Αφρική (Αλγερία, Μαρόκο, Τυνησία), ενώ ταυτόχρονα υπήρχαν ανεπίσημες αναφορές σε αρκετές χώρες της Ευρώπης και της Αφρικής (Roditakis et al, 2010). Στην Ελληνική επικράτεια εμφανίστηκε για πρώτη φορά σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας στον Πλατανιά Χανίων, όπου η ταυτοποίηση έγινε από το Εθνικό Ίδρυμα Αγροτικής Έρευνας, βάσει μορφολογικών χαρακτηριστικών των προνυμφών και των ακμαίων εντόμων. Η μεγάλη επικινδυνότητα που διαθέτει αυτό το μικρολεπιδόπτερο έντομο είναι λόγω της πολύ μεγάλης μεταναστευτικότητας μέσω καρπών, μολυσμένου φυτικού υλικού κ.α. και η μεγάλη επιθετικότητα που παρουσιάζει το έντομο. Αυτά το καθιστούν από τους σημαντικότερους εχθρούς της καλλιέργειας, είτε υπαίθριας είτε θερμοκηπιακής τομάτας (IRAC, 2011).



Εικόνα 6: Γεωγραφική απεικόνιση της μεταναστευτικότητας από το 2006 έως το 2010 στις μεσογειακές περιοχές (Desneux et al, 2010)



Εικόνα 7: Αριστερά πρώτες αναφορές του *Tuta absoluta* στην Ελλάδα τον Ιούνιο-Ιούλιο 2009. Δεξιά εξάπλωση του *Tuta absoluta* μέχρι τον Νοέμβριο 2009 (Σίμογλου, 2011).

1.3.2 Μορφολογία του *Tuta absoluta*

Το *T. absoluta* είναι μια σταχτοκαφετί πεταλούδα (μικρολεπιδόπτερο), που δραστηριοποιείται τη νύχτα και την ημέρα κρύβεται στα φύλλα. Στην περίπτωση που ενοχληθεί τότε εντοπίζεται να πετά σε χαμηλό ύψος, όπου ο παραγωγός μπορεί με δυσκολία να κάνει την αναγνώρισή του (Ροδιτάκης & Σίμογλου, 2015). Είναι ένα ολομετάβολο έντομο με τα εξής βιολογικά στάδια: α) Αυγό, β) Προνύμφη, γ) Νύμφη, δ) Ακμαίο και πιο συγκεκριμένα :

Αυγό: μικρού μεγέθους 0,36mm μήκους και 0,22mm πλάτους, κυλινδρικού σχήματος με κρεμώδη υφή και χρώματος λευκόχρυσου, τα αυγά συνήθως εναποθέτονται στην κάτω επιφάνεια του φύλλου και η εκκόλασή του γίνεται περίπου σε 4-5 ημέρες. (EPPO, 2005).



Εικόνα 8: Αυγά του *Tuta absoluta*

Προνύμφη: Η νεαρή προνύμφη είναι μήκους 8-9mm με ημιδιάφανο έως κιτρινωπό χρώμα ενώ η ανεπτυγμένη έχει κιτρινοπράσινο χρώμα με χαρακτηριστική μαύρη γραμμή στον προθώρακα πίσω από την κεφαλή. Ακόμα, στη ράχη των αναπτυγμένων προνυμφών φέρει απόχρωση ρόδινου χρώματος (Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2012). Μέσω της προνύμφης μπορεί να γίνει εύκολα ο διαχωρισμός από την Φθοριμαία (*Phthorimea operculella*), το χρώμα στο κεφάλι και στον προθώρακα είναι ομοιόμορφα σκούρο – καφέ για την Φθοριμαία σε αντίθεση με την *Tuta absoluta* που φέρει χαρακτηριστικό μαύρο στίγμα στον προθώρακα. (Ροδιτάκης & Σίμογλου, 2015). Η προνυμφική διάρκεια διακρίνεται σε τέσσερα στάδια L₁, L₂, L₃, L₄. Τέλος χρονική διάρκεια από την δημιουργία προνύμφης έως το στάδιο της νύμφης είναι 13-15 ημέρες (EPPO, n.d.).



Εικόνα 9: Τα τέσσερα προνυμφικά στάδια του *Tuta absoluta*

Νύμφη: είναι επιμήκης, καφετί χρώματος, βρίσκεται συνήθως στο έδαφος σε διάφορα μέρη του θερμοκηπίου, σε διάφορες στοές και σπανιότερα σε φύλλα (IRAC, 2011). Διαρκεί 9-11 ημέρες.



Εικόνα 10 : Νύμφη της *Tuta absoluta* (www.tutaabsoluta.com, n.d.).

Ακμαίο: Είναι χρώματος σταχτοκαφετί με μήκος 6-7mm και άνοιγμα φτερών 10mm, έχει νηματοειδεί κεραίες και μαύρα στίγματα στα φτερά.



Εικόνα 11: Ακμαίο άτομο του *Tuta absoluta* (www.tutaabsoluta.com, n.d.).

1.3.3 Βιολογικός κύκλος του *Tuta absoluta*

Το *Tuta absoluta* έχει πολλές γενεές το έτος (10-12), όπου κάθε γενεά ολοκληρώνει τον βιολογικό κύκλο σε 24-38 ημέρες αναλόγως με τη θερμοκρασία (Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2012). Το θηλυκό έχει έντονη αναπαραγωγική ικανότητα, δηλαδή μπορεί να γεννήσει έως και 260 αυγά κατά τη διάρκεια της ζωής του, τα οποία εναποθέτει τις περισσότερες φορές στην κάτω μεριά των φύλλων (EPPO,2005). Τα ενήλικα έντομα δραστηριοποιούνται κατά τη διάρκεια της νύχτας, ενώ την ημέρα κρύβονται ανάμεσα στα φύλλα (Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2012). Διαχειμάζει με τη μορφή αυγού, νύμφης ή ακόμα κι όταν είναι ενήλικο, όμως όταν βρίσκεται σε θερμοκήπιο όπου οι θερμοκρασίες είναι ευνοϊκές, καθόλη τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου, τότε συνεχίζει την ανάπτυξη του (Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2012). Σύμφωνα με τους Barrientos et al. μετά από μελέτες που έγιναν παρατηρήθηκε πως σε 14 °C ο βιολογικός κύκλος ολοκληρώνεται σε 76,3 ημέρες, σε 19,7 °C σε 39,8 ημέρες και σε 27,1 °C, τότε ο βιολογικός κύκλος ολοκληρώνεται σε μόλις 23,8 ημέρες. Σε θερμοκρασίες από 9 °C και μικρότερες αναστέλλεται η ανάπτυξη των εντόμων. Σύμφωνα με τον IRAC ο υπονομευτής της τομάτας σε υπαίθριες καλλιέργειες εμφανίζεται μέχρι και 1000 μέτρα υψόμετρο, όμως στο Περού συλλέχτηκαν βιότυποι *T.absoluta* στα 3500 μέτρα (Desneux et al, 2010)

1.3.4 Συμπτωματολογία του *Tuta absoluta*

Η προσβολή του *T. absoluta* προκαλείται από τις προνύμφες, οι οποίες προσβάλλουν το φυτό σε όλα τα στάδιά του, από το στάδιο που είναι σπορόφυτο μέχρι και όταν είναι ώριμο (IRAC, 2011). Λόγω των ευνοϊκών κλιματικών συνθηκών για το *T. absoluta* στο θερμοκήπιο, μπορεί να υπάρχει προσβολή της καλλιέργειας σε όλη τη διάρκεια μιας καλλιεργητικής περιόδου και να προκληθεί καταστροφή της καλλιέργειας μέχρι και 100%, εάν δεν υπάρχουν τα σωστά μέτρα καταστολής του εντόμου (IRAC, 2011). Η προσβολή γίνεται αποκλειστικά από την προνύμφη, η οποία δημιουργεί στοές στο φύλλο (οι οποίες σε αρχικά στάδια προσβολής μοιάζουν με της λυριόμυζας *Lyriomyza solani*) τρώγοντας το μεσόφυλλο και αφήνοντας άθικτη την επιδερμίδα. Οι προνύμφες δεν σταματούν να τρέφονται όσο υπάρχει “διαθέσιμο φαγητό” (www.tutaabosluta.com, 2009). Ο διαχωρισμός των στοών από την λυριόμυζα γίνεται εύκολα σε επόμενα στάδια όπως συμπεραίνεται και από τον Πίνακα 4 καθώς η λυριόμυζα εναποθέτει τα αποχωρήματά της στο κέντρο των στοών ενώ το *T. absoluta* τα εναποθέτει στην άκρη της στοάς ή και έξω από αυτήν (Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2012). Ακόμα, οι στοές του *T. absoluta* γίνονται πλατιές και ακανόνιστου μεγέθους. Αποτέλεσμα των στοών αυτών είναι η μάρανση των φύλλων ή και ακόμα ολόκληρου του φυτού.



Εικόνα 12: Τυπικές στοές *Tuta absoluta* προχωρημένης προσβολής

Στον βλαστό οι προσβολές είναι σπανιότερες, οι προνύμφες εισέρχονται στο εσωτερικό του βλαστού από την κορυφή του φυτού και γίνεται κατά μήκος η διάνοιξη στοάς, με αποτέλεσμα να επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη του φυτού, όπου μπορεί να προκληθεί και θάνατος του φυτού. Στον καρπό η προσβολή συνήθως γίνεται όταν τα φύλλα δεν

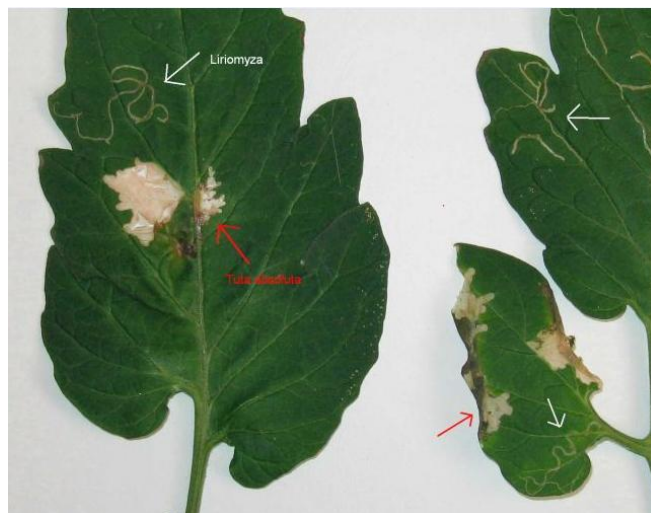
επαρκούν πλέον για τη διατροφή του *T. absoluta*. Συνήθως η προσβολή γίνεται όταν οι καρποί είναι ακόμα πράσινοι, με άνοιγμα μιας οπής από τη μεριά του κάλυκα. Το αποτέλεσμα των προσβολών είναι να καθιστούν τους καρπούς μη εμπορεύσιμους. γεγονός που αποτελεί έναν πολύ σοβαρό κατασταλτικό παράγοντα των ελληνικών εξαγωγών στους καρπούς τομάτας. Τέλος, οι πληγές που προκαλούνται αποτελούν άριστες πηγές εισόδων δευτερογενών φυτοπαράσιτων ώστε να προκαλέσουν δευτερογενείς μολύνσεις και συνεπώς την σήψη του καρπού είτε προσυλλεκτικά είτε μετασυλλεκτικά. Τέλος σε αρχικά συμπτώματα προσβολής μπορεί να υπάρξει λανθασμένη διάγνωση από προσβολές από τη λυριόμυζα, αλλά και από τη φθοριμαία, για αυτό το λόγο η Περιφέρεια Στερεάς Ελλάδας έκδωσε κλείδες αναγνώρισης όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 4.



Εικόνα 13: Προσβολή του βλαστού από *Tuta absoluta* όπου διακρίνονται τα αποχωρήματα και η κατά μήκος στοά (www.tutaabsoluta.com, n.d.).



Εικόνα 14: Προσβολή από *Tuta absoluta* σε πράσινο καρπό στην πλευρά του κάλυκα (www.tutaabsoluta.com, n.d.).



Εικόνα 15: Στοές από προσβολή σε φύλλο από *Tuta absoluta* (με κόκκινο βέλος) και από *Lyriomyza solani* (λευκό βέλος)

Πίνακας 4: Κλείδες διάκρισης του *Tuta absoluta* από άλλους εχθρούς με παρόμοια συμπτώματα σύμφωνα με την Περιφέρεια Στερεάς Ελλάδας.

ΚΛΕΙΔΑ / ΕΧΘΡΟΣ	<i>Tuta absoluta</i>	<i>Lyriomyza solani</i>	<i>Phthorimaea operculella</i>
Αρχικά στάδια προνύμφης	Μικρές στοές σε πλάτος με σφαιροειδή αποχωρήματα στην άκρη της στοάς ή έξω απ' αυτή.	Στοές μικρές σε πλάτος σφαιροειδή αποχωρήματα τοποθετημένα κατά μήκος της στοάς.	Τα ίδια με <i>Tuta absoluta</i>
Προχωρημένη προσβολή	Στοές μεγαλύτερες, σε πλάτος και μήκος, ακανόνιστες	Στοές μικρές σε πλάτος και σε μεγάλο μήκος.	-
Προνύμφη	Σκούρα γραμμή πίσω απ' το κεφάλι στον προθώρακα	-	Ομοιόμορφο σκούρο καφέ στο κεφάλι και στο θώρακα
Ακμαία	Νηματοειδείς κεραιές σε σχήμα χάνδρας, ασημογκρί απόχρωση με χαρακτηριστικές μαύρες κηλίδες στις επάνω πτερυγες	-	-

1.2.5 Αντιμετώπιση του *Tuta absoluta*

Το λεπιδόπτερο *Tuta absoluta* έχει γίνει ίσως ο μεγαλύτερος εχθρός της καλλιέργειας της τομάτας, καθώς η καταπολέμησή του γίνεται πάρα πολύ δύσκολα, επειδή πολλαπλασιάζεται ταχύτατα και παράλληλα στο στάδιο της προνύμφης βρίσκεται προστατευμένο μέσα στις στοές του φυτού (Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2012). Το πρωταρχικό βήμα για τη σωστή καταπολέμηση του εντόμου είναι η αποφυγή εισόδου και εγκατάστασης, του στην καλλιέργεια με προληπτικά μέτρα όπως είναι:

- Με καλό κλείσιμο των ανοιγμάτων με ειδικό εντομοστεγές δίχτυ (Ροδιτάκης & Σίμογλου, 2015).
- Με εγκατάσταση προθαλάμου στα θερμοκήπια και δίπλες πόρτες (Ροδιτάκης & Σίμογλου, 2015).
- Με υγιές φυτωριακό υλικό (Ροδιτάκης & Σίμογλου, 2015).
- Με αποφυγή φύτευσης δεύτερης ευπαθούς καλλιέργειας σε θερμοκήπιο όπου υπήρχε ιστορικό προσβολής (Ροδιτάκης & Σίμογλου, 2015).

- Καταστροφή υπολειμμάτων της καλλιέργειας και ζιζανίων που ανήκουν στην οικογένεια των Σολανωδών με αναστροφή του εδάφους ή κάψιμο.
- Σε αρχικά στάδια απομάκρυνση και καταστροφή προσβεβλημένων φύλλων και καρπών, τηρώντας τους υγειονομικούς κανονισμούς.

Παράλληλα είναι απαραίτητο να υπάρχει και συστηματική παρακολούθηση της πορείας του πληθυσμού του εντόμου ώστε να υπάρξει έγκαιρη λήψη μέτρων εναντίον του, πριν εγκατασταθεί στην καλλιέργεια (Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2012). Για αυτό τον σκοπό συνήθως προτείνεται η χρήση παγίδων φερομονών τύπου δέλτα ή νερού, όπου σε αυτές προστίθενται ειδικές κάψουλες που ελκύουν τα αρσενικά έντομα (Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2012). Όμως, όταν τελικά εγκατασταθεί το έντομο στην καλλιέργεια τότε προτείνεται η βιολογική ή χημική αντιμετώπιση. Ωστόσο, τα καλύτερα αποτελέσματα λαμβάνουν χώρα όταν συνδυάζονται αυτές οι μέθοδοι. Αναλυτικά:

A)Βιολογική μέθοδος

Η βιολογική μέθοδος είναι η μέθοδος στην οποία για την αντιμετώπιση του φυτοπαράσιτου χρησιμοποιούνται φυσικοί εχθροί του εντόμου, όπως είναι άλλα έντομα ή μικροοργανισμοί, συνήθως βακτήρια (Πιν. 5) ή χρησιμοποίηση άλλων μεθόδων, οι οποίες είναι φιλικές προς το οικοσύστημα. Η βιολογική αντιμετώπιση έχει δώσει καλά αποτελέσματα σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες είτε με διάφορα αρπακτικά είτε με παγίδες τύπου Tutasan οι οποίες μπορούν να παγιδεύσουν έως και 300 ενήλικα αρσενικά έντομα την ημέρα και τοποθετούνται 2-5 παγίδες ανά στρέμμα ανάλογα με τις συνθήκες (Χαραντώνης & Γιαννοπολίτης, 2009). Η εγκατάσταση των αρπακτικών με επανειλημμένες εξαπολύσεις στις πρώτες εβδομάδες της καλλιέργειας με μια συνολική δόση 1-2 ατόμων ωφελίμων ανά τετραγωνικό μέτρο του θερμοκηπίου. Καθυστέρηση της αποφύλλωσης ευνοεί τον πολλαπλασιασμό και των δύο αρπακτικών. Σε υπαίθριες καλλιέργειες θα πρέπει να αποφεύγεται η χρήση εντομοκτόνων ευρέως φάσματος, τα οποία μπορούν να βλάψουν τα ιθαγενή ωφέλιμα αρπακτικά.

Πίνακας 5: Φυσικοί εχθροί του *Tuta absoluta*.

Οικογένεια	Είδος	Στάδιο προτίμησης	Πηγή
Miridae	<i>Nesidiocoris tenuis*</i>	Αυγό, νεαρές προνύμφες	Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2010
Miridae	<i>Macrolophus caliginosus</i>	Αυγό, νεαρές προνύμφες	Ναβροζίδης & Ανδρεάδης, 2010
Bacillaceae	<i>Bacillus thuringensis var.kurstaki</i>	Προνύμφες**	Χαραντώνης & Γιαννοπολίτης, 2009
Eulophidae	<i>Necremnus artynes</i>	Προνύμφες L2-L3	Desneux et al, 2010
Eulophidae	<i>Hemiptarsenus zilahisebessi</i>	Προνύμφες L2-L3	Desneux et al, 2010
Braconidae	<i>Braconidae sp.</i>	Προνύμφες L2-L3	Desneux et al, 2010
Trichogrammatidae	<i>Trichogramma sp.</i>	Αυγά	Desneux et al, 2010
Miridae	<i>Dicyphys marrocannus</i>	Αυγά, νεαρές προνύμφες	Desneux et al, 2010
Nabidae	<i>Nabis pseudoferus</i>	Προνύμφες	Desneux et al, 2010
Vespidae	Απροσδιόριστα είδη	Προνύμφες	Desneux et al, 2010
Phytoseiidae	<i>Amblyseius swirskii</i>	Αυγά***	Desneux et al, 2010
Phytoseiidae	<i>Amblyseius cucumeris</i>	Αυγά***	Desneux et al, 2010

* Μπορεί να προκαλέσει προβλήματα όταν βρίσκονται σε πολύ υψηλό πληθυσμό και δεν υπάρχουν θηράματα (Ροδιτάκης & Σίμογλου, 2015).

**Μόνο όταν οι pronύμφες βρίσκονται εκτός στοών

*** Σε καλλιέργεια Μελιτζάνας

B) Χημική

Η παγκόσμια γεωργική παραγωγή καθημερινά έρχεται απέναντι σε διάφορους

εχθρούς (φυτοπαρασιτικά είδη) οι οποίοι μπορούν να προκαλέσουν από μικρή μείωση έως καθολική καταστροφή στην παράγωγή του γεωργού. Πιο συγκεκριμένα υπάρχουν περίπου 1.000.000 είδη εντόμων και περίπου τα 10.000 που προκαλούν ζημιές στα φυτά. Οι ζημιές που προκαλούνται εκτός από τη μείωση της παραγωγής είναι και η ποιοτική υποβάθμιση του προϊόντος, η αύξηση τιμής λόγω της μικρής παραγωγής και η απουσία του προϊόντος από την αγορά. Όλα αυτά επηρεάζουν αρνητικά τον καταναλωτή και γενικότερα την οικονομία μίας χώρας.

Η αντιμετώπιση των εντόμων βασίζεται κατά κύριο λόγο στην χημική καταπολέμηση και λιγότερο στη βιολογική μέθοδο. Τα τελευταία χρόνια, όμως, υπάρχει η τάση να στραφεί η γεωργία σε μεθόδους αντιμετώπισης με φιλικότερες προς το περιβάλλον και τον άνθρωπο μεθόδους, κάνοντας ορθολογική χρήση των χημικών, αλλά και με συνδυασμό των δυο μεθόδων. Την περίοδο του Β' Παγκοσμίου Πολέμου κι έπειτα έγιναν τεράστια άλματα στην γεωργική φαρμακοβιομηχανία, καθώς παράχθηκαν με χαμηλό κόστος οργανικά φυτοφάρμακα κι έτσι η περίοδος 1940-60 χαρακτηρίστηκε ως "Περίοδος Της Χημικής Φυτοπροστασίας" (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2010). Η ανακάλυψη των οργανικών χημικών ενώσεων αποτέλεσε ένα πολύ σημαντικό κι αποτελεσματικό "όπλο" του παραγωγού στην αντιμετώπιση των φυτοπαράσιτων, αλλά και στη χρησιμοποίηση κατά εντόμων υγειονομικής σημασίας (DDT ελονοσία) (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2010). Λόγω των ποικίλων εντομοκτόνων έγινε ομαδοποίηση με κριτήριο το σημείο δράσης στο έντομο. Έτσι έχουμε:

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

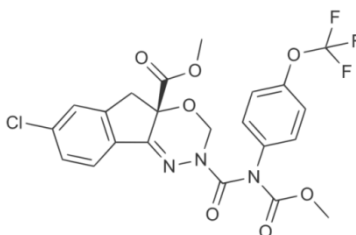
Η αντιμετώπιση του *Tuta absoluta* βασίζεται στη χημική καταπολέμηση όπως αναφέρουν οι Desneux et al και σύμφωνα με την Ελληνική νομοθεσία επιτρέπονται οι παρακάτω δραστικές ουσίες όπου αναφέρεται ο Πίνακας 6 αλλά και το πεδίο εφαρμογής δηλαδή αν είναι εγκεκριμένο για θερμοκηπιακή ή υπαίθρια καλλιέργεια:

Πίνακας 6: Εγκεκριμένες δραστικές ουσίες για την αντιμετώπιση του *Tuta absoluta* (Ροδιτάκης & Σίμογλου, 2015).

<u>ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ</u>	<u>ΕΓΚΕΚΡΙΜΕΝΟ ΣΚΕΥΑΣΜΑ</u>	<u>ΥΠΑΙΘΡ/ΘΕΡΜ</u>
abamectin	Cal Ex	ΥΠΑΙΘΡ & ΘΕΡΜ
<i>Bacillus thuringiensis var kurstaki</i>	Belthirul 32000WP, Bactoil SC, Bactospeine 6,4WG	ΥΠΑΙΘΡ & ΘΕΡΜ
chlorantraniliprole	Altacor 35 WG	ΥΠΑΙΘΡ & ΘΕΡΜ
chlorantraniliprole+abamectin	Voliam Targo 063SC	ΘΕΡΜ
chlorantraniliprole+λ-cyhalothrin	Ampligo 150ZC	ΥΠΑΙΘΡ
emamectin benzoate	Affirm 095 SG	ΥΠΑΙΘΡ & ΘΕΡΜ
flubendiamide	Belt 24WG	ΘΕΡΜ
indoxacarb	Steward 30WG, Bolero 30WG	ΥΠΑΙΘΡ & ΘΕΡΜ
metaflumizone	Alverde 24SC	ΘΕΡΜ
methomyl	Lannate 20SL/25WP	ΥΠΑΙΘΡ
spinosad	Laser 480 SC	ΥΠΑΙΘΡ & ΘΕΡΜ

Πιο συγκεκριμένα στο πείραμα θα χρησιμοποιηθούν οι παρακάτω δραστικές ουσίες:

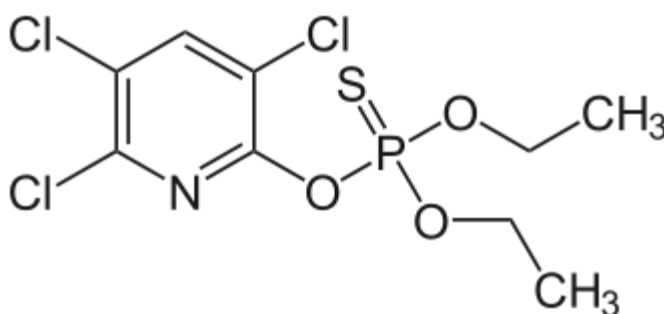
indoxacarb: ανήκει στην ομάδα των οξαδιαζινών. Πρόκειται για εντομοκτόνο στομάχου και επαφής, αποτελεσματικό στην καταπολέμηση λεπιδόπτερων σε πολλές καλλιέργειες (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2010). Ο μηχανισμός δράσης εντοπίζεται στις διαύλους ιόντων νατρίου (Na^+) στους νευράξονες των νευρικών κυττάρων (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2010). Έχει δράση στα προνυμφικά στάδια των εντόμων, όπου παρατηρείται αναστολή της δραστηριότητάς τους, οι προνύμφες σταματούν να τρέφονται, παραλύουν και τελικά θανατώνονται (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2010).



Εικόνα 16: Χημική ένωση του indoxacarb (www.wikipedia.com)

Στο πείραμα θα χρησιμοποιηθεί το indoxacarb με εμπορική ονομασία Steward 30 WG® που τη διάθεσή του στην Ελλάδα κάνει η εταιρεία NTY ΠΟΝΤ ΕΛΛΑΣ Α.Ε. Έχει έγκριση σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας κατά των λεπιδόπτερων. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας είναι 628gr/kg και η εγγραμμένη σύνθεση είναι indoxacarb 30% β/β με επιπλέον βοηθητικές ουσίες 57,7 %β/β (Η πλήρης εγγραμμένη σύνθεση του σκευάσματος προσδιορίζεται στο τμήμα J της αίτησης με ημερομηνία 20/4/2007 (Αρ. Πρ. ΥΓ 118536) αναγράφεται στο Part C της έκθεσης αξιολόγησης και παραμένει στα αρχεία της Αρμόδιας Αρχής). Το σκεύασμα δεν είναι φυτοτοξικό στις συνιστώμενες χρήσεις και δόσεις στις Ελληνικές εδαφοκλιματικές συνθήκες. Το σκεύασμα είναι επιβλαβές σε περίπτωση καταπόσεως και τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς. Μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον και είναι επικίνδυνο για τις μέλισσες. Για την διαχείριση της ανθεκτικότητας συνιστάται για μέχρι 3 εφαρμογές / καλλιεργητική περίοδο. Τέλος, τελευταία εφαρμογή, πριν την συγκομιδή, ορίζεται η 1 ημέρα (Υπ. Απ.3-2-2010, Α.Π. 180922 & 16-3-2009, Α.Π. 127235) και 0,5mg/kg επιτρεπόμενα υπολείμματα για τον καρπό τομάτας (EU Pesticides Database, Regulation EC No 396/2005).

chlorpyrifos: εμφανίστηκε στην φυτοπροστασία στα μέσα της δεκαετίας του '60. Πρόκειται για μη διασυστηματικό εντομοκτόνο επαφής, στομάχου και ασφυκτικό, ευρέως φάσματος, αποτελεσματικό κατά κολεόπτερων, δίπτερων, ομόπτερων και λεπιδόπτερων σε πολλές καλλιέργειες, αλλά και στον έλεγχο εντόμων υγειονομικής σημασίας και εκτοπαρασίτων των οικιακών ζώων (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2010).

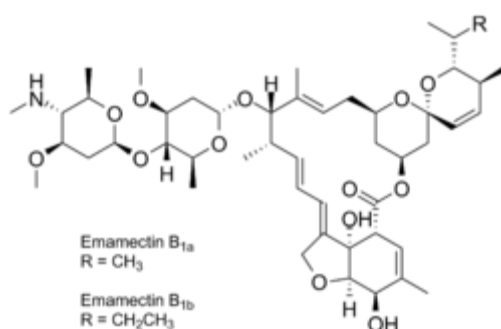


Εικόνα 17: Χημική σύνθεση του chlorpyrifos (www.wikipedia.com)

Στο πείραμα θα χρησιμοποιηθεί το chlorpyrifos με εμπορική ονομασία Pyrinex 48ec που στην Ελλάδα τη διάθεσή του στην αγορά κάνει η εταιρεία ΑΛΦΑ ΓΕΩΡΓΙΚΑ ΕΦΟΔΙΑ ΑΕΒΕ. Πρόκειται για ένα οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο επαφής, στομάχου και ατμών για

την αντιμετώπιση μυζητικών και μασητικών εντόμων. Έχει έγκριση στην θερμοκηπιακή καλλιέργεια. Η περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας είναι chlorpyrifos 48% β/ο και άλλες βοηθητικές ουσίες 53,76% β/β (η εγγυημένη σύνθεση του σκευάσματος όπως προσδιορίζεται βάσει της ελάχιστης περιεκτικότητας της τεχνικά καθαρής δραστικής ουσίας σε καθαρή δραστική ουσία είναι σύμφωνη με την κατατεθειμένη πρόταση DPD). Μπορεί να προκαλέσει φυτοτοξικότητα σε πρώιμες ποικιλίες ροδακινιάς. Προκαλεί βλάβες σε περίπτωση εισπνοής και σε περίπτωση κατάποσης, είναι ερεθιστικό για τα μάτια και προκαλεί ευαισθητοποίηση αν έρθει σε επαφή με το δέρμα, είναι πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς, μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον, ενώ είναι πολύ τοξικό για τις μέλισσες. Για τη διαχείριση της ανθεκτικότητας συνιστάται για μέχρι 2 εφαρμογές / καλλιεργητική περίοδο. Τέλος, τελευταία εφαρμογή πριν την συγκομιδή ορίζονται οι 20 ημέρες και 0,5mg/kg επιτρεπόμενα υπολείμματα για τον καρπό τομάτας (EU Pesticides Database, Regulation EC No 839/2008).

emamectin benzoate: ανήκει στην χημική ομάδα των αβερμεκτίνων (avermectin) (Ζιώγας & Μάρκογλου, 2010). Πρόκειται για μη διασυστηματικό εντομοκτόνο για την καταπολέμηση λεπιδόπτερων λαχανικών και όχι μόνο. Δρα κυρίως με κατάποση και προσδένεται στους υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA) και ενεργοποιεί το κανάλι ιόντων χλωρίου (Υπ. Απ., 3-4-2012). Η συνεχής ροή των ιόντων χλωρίου στο μυϊκό ιστό οδηγεί στην παράλυση και τελικά τον θάνατο των εντόμων.



Εικόνα 18: Χημική ένωση του emamectin benzoate (www.wikipedia.com)

Στο πείραμα θα χρησιμοποιηθεί το emamectin benzoate με εμπορική ονομασία Affirm 095SG όπου η διάθεση του στην Ελλάδα πραγματοποιείται από την εταιρία Syngenta Hellas AEBE. Έχει έγκριση κατά λεπιδόπτερων θερμοκηπιακών καλλιεργειών. Η περιεκτικότητα της καθαρής δραστικής ουσίας είναι 950g/Kg η εγγυημένη σύνθεση είναι emamectin benzoate 0,95 % β/β με επιπλέον βοηθητικές ουσίες 99% (Η πλήρης εγγυημένη σύνθεση του

σκευάσματος προσδιορίζεται από το Τμήμα J της αίτησης με ημερομηνία 28-7-2008 (Αρ. Πρ. ΥΑΑκΤ 121221) αναγράφεται στο Part C της έκθεσης αξιολόγησης της Αρμόδιας Αρχής). Το σκεύασμα δεν είναι φυτοτοξικό στις εγκεκριμένες καλλιέργειες, στις συνιστώμενες χρήσεις και δόσεις στις Ελληνικές εδαφοκλιματικές συνθήκες. Είναι επικίνδυνο για το περιβάλλον αλλά και πολύ τοξικό για τους υδρόβιους οργανισμούς. Μπορεί να προκαλέσει μακροχρόνιες δυσμενείς επιπτώσεις στο υδάτινο περιβάλλον ενώ είναι και πολύ τοξικό για τις μέλισσες. Για ορθολογική διαχείριση της ανθεκτικότητας συνιστάται για μέχρι 3 εφαρμογές / καλλιεργητική περίοδο (Υπ. Απ., 3-4-2012).. Τέλος, τελευταία εφαρμογή πριν τη συγκομιδή ορίζονται οι 3 ημέρες και 0,02 mg/kg επιτρεπόμενα υπολείμματα για τον καρπό της τομάτας (Eu pesticides Database, 2015)

1.4 Ανθεκτικότητα και η αντιμετώπισή της

Η ανθεκτικότητα ενός εντόμου σε ένα εντομοκτόνο όπως και κάθε οργανισμού σε μια τοξική ουσία ποικίλλει από άτομο σε άτομο μέσα σε έναν πληθυσμό. Ο βαθμός ανθεκτικότητας καθορίζεται από τις ιδιότητες του εντόμου σχετικά με ένα ή περισσότερα στάδια της διαδρομής του εντομοκτόνου έως το σημείο δράσης. Στη φαρμακολογία στην περίπτωση που υπάρξει μειωμένη ευαισθησία ενός οργανισμού σε ένα φάρμακο μετά από επανειλημμένες εφαρμογές, ο εθισμός απαιτεί ένα αξιόλογο χρονικό διάστημα για να δημιουργηθεί (Τζανακάκης, 1995). Όταν η λήψη φαρμάκου διακοπεί, τότε ο οργανισμός ανακτά την ευαισθησία. Στην γεωργία όμως όταν αναφερόμαστε σε ανθεκτικότητα (resistance) και ειδικότερα σε έντομα, τότε είναι διαφορετικά τα πράγματα. Δεν εθίζεται ένα άτομο αλλά ολόκληρος ο πληθυσμός με την πάροδο των γενεών με επιλογή ανθεκτικών γονιδίων προς το εντομοκτόνο, που ο πληθυσμός ήδη έχει. Η επιλογή αυτή μπορεί να γίνει θανατώνοντας τα ευαίσθητα και επιλέγοντας μόνο τα ανθεκτικά. Σε έναν πληθυσμό τα άτομα που έχουν γονίδια ανθεκτικότητας σε ένα εντομοκτόνο είναι σπάνια, της τάξεως του 10^{-5} με 10^{-8} . Στον αγρό όταν γίνεται καταπολέμηση ενός εντόμου τότε εφαρμόζεται η κατάλληλη θανατηφόρος δόση η οποία σκοτώνει το πλείστο του πληθυσμού, στην περίπτωση όμως αυτή επιβιώνουν και λίγα από τα οποία τα περισσότερα είναι ανθεκτικά. Έτσι, η θυγατρική γενεά θα έχει μεγαλύτερο ποσοστό σε ανθεκτικά άτομα από τη μητρική καθώς το γονίδιο της ανθεκτικότητας είναι κληρονομήσιμο. Στη συνέχεια που θα εφαρμοστεί το ίδιο εντομοκτόνο στην ίδια δόση θα ξαναεπιβιώσουν τα ανθεκτικά. Αυτή η διαδικασία μπορεί να φτάσει έναν

πληθυσμό με τα περισσότερα άτομα να είναι ανθεκτικά. Τότε λέμε πως ο πληθυσμός ανέπτυξε ανθεκτικότητα (Τζανακάκης, 1995).

Η ανθεκτικότητα λέγεται σταθερή όταν διατηρεί την έντασή της σε πολλές γενεές του εντόμου, αφού σταματήσει η επίδραση της τοξικής ουσίας. Ακόμα, η ανθεκτικότητα χαρακτηρίζεται ως διασταυρούμενη (cross resistance) ή πολλαπλή ανθεκτικότητα (multiresistance). Η διασταυρούμενη αναφέρεται στην ικανότητα ενός μηχανισμού να δίνει ανθεκτικότητα σε μια σειρά εντομοκτόνων, συνήθως της ίδιας χημικής ομάδας. Αντίθετα, ως πολλαπλή ορίζεται η παρουσία στο έντομο δυο ή περισσότερων μηχανισμών, ο καθένας με συγκεκριμένο τύπο διασταυρούμενης ανθεκτικότητας.

Για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας εφαρμόζονται προληπτικά μέτρα, ώστε να αποφεύγεται η ανάπτυξη ή να υπάρχει καθυστέρηση ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Μερικά από αυτά είναι (Τζανακάκης, 1995):

- ✚ Περιορισμός του αριθμού των επεμβάσεων στο ελάχιστο δυνατό
- ✚ Περιορισμός της δόσης στην ελάχιστη δυνατή
- ✚ Τοπικές επεμβάσεις και όχι γενικευμένες
- ✚ Χρήση εντομοκτόνων με μικρή υπολειμματική διάρκεια
- ✚ Εναλλαγή εντομοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης
- ✚ Μίγματα εντομοκτόνων
- ✚ Ενίσχυση των φυσικών εχθρών

1.5 Σκοπός της Πτυχιακής Εργασίας

Η συγκεκριμένη μελέτη πραγματοποιήθηκε στα πλαίσια της πτυχιακής εργασίας για τη σχολή Τεχνολόγων Γεωπόνων, τμήματος Φυτικής Παραγωγής, σε συνεργασία με το Ελληνικό Γεωργικό Οργανισμό 'Δήμητρα' (ΕΛΓΟ 'Δήμητρα) ως απόρροια της περάτωσης των σπουδών μου.

Ύστερα από ενδείξεις διασταυρωτής ανθεκτικότητας μεταξύ chlorpyrifos και indoxacarb, καθώς υπήρχαν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας και στα δυο εντομοκτόνα ταυτόχρονα και αναλύονται στη συνέχεια, έρχομαι λόγος περαιτέρω διερεύνησης. Σκοπός της παρούσας πτυχιακής διατριβής είναι να διερευνηθεί η περίπτωση διασταυρωτής ανθεκτικότητας (cross resistance) του chlorpyrifos με τα εγκεκριμένα χημικά εντομοκτόνα indoxacarb και emamectin bazoate στον υπονομευτή της τομάτας *Tuta absoluta* για την ορθολογική διαχείριση της ανθεκτικότητας. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν κατά την περίοδο του εαρινού εξαμήνου του έτος 2015.

2 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Φυτικό Υλικό

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων αλλά και την εκτροφή των πληθυσμών χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας ποικ. Valuro από καθαρό πιστοποιημένο σπόρο με ανθεκτικότητα στον ιό του κίτρινου καρουλιάσματος των φύλλων. Τα φυτά παραλήφθηκαν στην ηλικία δύο ή τριών εβδομάδων, απαλλαγμένα από εντομοκτόνα και μυκητοκτόνα και κατά την παραλαβή έγινε έλεγχος για τυχόν προσβολές από εχθρούς (κυρίως από *T.absoluta* και δευτερευόντως από *Thrips* sp. και *Lyriomyza solani*) αλλά και από ασθένειες. Έπειτα έμπαιναν σε μια μορφής καραντίνα για 4-5 ημέρες, ώστε τυχόν αυγά από *T.absoluta* να εκκολαφθούν και να απομακρυνθούν. Μετά το πέρας των απαιτούμενων ημερών καραντίνας γινόταν η μεταφύτευση σε πλαστικά γλαστράκια διαμέτρου 13cm και ύψους 15cm και τοποθετούνταν στον θερμοκηπιακό χώρο του ΕΛ.Γ.Ο Δήμητρα μέσα σε μικρά μεταλλικά δικτυοκήπια (ύψους 95cm, πλάτους 1,2m και με μήκος 2-3m) καλυμμένα με πολύ πυκνό εντομολογικό δίκτυο (πυκνότητα ύφανσης 16x10 νήματα/cm), ώστε να αποτρέπεται η είσοδος στα έντομα εντός των δικτυοκηπίων.



Εικόνα 19: Φυτά τομάτας 2-3 εβδομάδων κατά των έλεγχο προσβολών.

Από τη στιγμή όπου τα φυτά τοποθετήθηκαν στο θερμοκήπιο, η καλλιεργητική φροντίδα που πραγματοποιήθηκε ήταν το καθημερινό πότισμα, έτσι ώστε το χώμα να έχει την κατάλληλη υγρασία για την βέλτιστη ανάπτυξη, αλλά και να μην υπάρχει μαρασμός από την υπερβολική υγρασία. Παράλληλα, κάθε 15 ημέρες πραγματοποιήθηκε λίπανση με Nutri leaf 18-18-18 αναλογίες που αντιστοιχούν στα στοιχεία της βασικής λίπανσης.

Τα φυτά θεωρούνταν κατάλληλα για τα εργαστηριακά πειράματα και για την εκτροφή των πληθυσμών ένα μήνα τουλάχιστον μετά τη μεταφύτευση, ώστε να έχουν αποκτήσει επαρκή αριθμό πραγματικών φύλλων και να είναι απαλλαγμένα από κάθε είδους υπολειμματικότητα από ψεκασμούς που πραγματοποιήθηκαν πριν τη μεταφύτευση.

Όσο τα φυτά φιλοξενούνταν στους καλυμμένους με δίκτυα κλωβούς, προέκυψαν προσβολές από ακάρεα (*Tetranychus urticae* Koch) διότι με την πάροδο του χρόνου δεν ήταν προστατευμένα από χημικά. Τα προβλήματα αυτά αντιμετωπίστηκαν με αφαίρεση των προσβεβλημένων τμημάτων.



Εικόνα 20: Φυτά τομάτας σε δικτυοκήπιο στο θερμοκηπιακό χώρο του ΕΛΓΟ ‘Δήμητρα’

2.2 Συλλογή Πληθυσμών

Οι πληθυσμοί του λεπιδόπτερου *T.absoluta* στους οποίους εφαρμόστηκαν τα selection

και οι τοξικολογικές βιοδοκιμές ήταν από θερμοκηπιακές καλλιέργειες τομάτας στην περιοχή της Ιεράπετρας το 2014.

Η διαδικασία της συλλογής των πληθυσμών περιείχε την συλλογή προσβεβλημένων από το λεπιδόπτερο φύλλων όπου στο εσωτερικό υπήρχαν οι προνύμφες διαφόρων σταδίων, με προτίμηση προνύμφες τελικού σταδίου, για συντόμευση των εργαστηριακών μεθόδων. Όταν συλλέγονταν ένας μεγάλος αριθμός προσβεβλημένων φύλλων, τοποθετούνταν σε διαφανείς νάilon σακούλες με βρεγμένες χαρτοπετσέτες, ώστε να μην μαραθούν κατά τη μεταφορά στο εργαστήριο. Βασική προϋπόθεση των δειγμάτων ήταν οι προνύμφες να παρθούν και να διατηρηθούν ζωντανές.

Μετά τη συλλογή των προσβεβλημένων φύλλων, οι σακούλες σφραγίστηκαν και τρυπήθηκαν με λεπτή βελόνα σε διάφορα σημεία, ώστε να επιτρέπεται ο ελάχιστος αερισμός αλλά να μην επιτρέπεται σε καμία περίπτωση η διαφυγή των προνυμφών από τη σακούλα. Στη συνέχεια, τοποθετήθηκαν σε φορητά ψυγεία από φελιζόλ, όπου στο εσωτερικό είχαν τοποθετηθεί παγοκύστες, ώστε να διατηρηθεί ο πληθυσμός των προνυμφών σε φυσιολογική σχετική υγρασία και θερμοκρασία από 22-25 °C, μέχρι να εγκατασταθούν στο εργαστήριο. Για να μην έρχονται απευθείας σε επαφή οι παγοκύστες με τα δείγματα, είχαν τοποθετηθεί επιπλέον φύλλα χαρτιού.

2.3 Ανάπτυξη πληθυσμών *Tuta absoluta* στο εργαστήριο

Η ανάπτυξη του πληθυσμού του υπονομευτή διακρίνεται σε 3 διαδοχικά στάδια τα οποία περιγράφονται στη συνέχεια:

1^ο Εκτροφή: όταν τα δείγματα καταφθάνουν στο εργαστήριο τα προσβεβλημένα φύλλα τοποθετούνται σε ξύλινους κλωβούς καλυμμένους με πυκνό εντομολογικό δίκτυο (πυκνότητα ύφανσης 16x10 νήματα/cm) (ΕΙΚ. 21). Στη συνέχεια τοποθετούνται καθαρά φυτά τομάτας, ώστε οι προνύμφες να ολοκληρώσουν την ανάπτυξή τους.

Οι κλωβοί αυτοί ονομάστηκαν Αρχικοί Κλωβοί. Μετά από διάστημα 10-12 ημερών εξέρχονται τα ενήλικα άτομα (F1 γενεά) και είναι διαθέσιμα να συλλεχθούν.



Εικόνα 21: Εκτροφή πληθυσμού *Tuta absoluta* στον εργαστηριακό χώρο του ΕΛΓΟ 'Δήμητρα'

2^ο Ωοθεσία: Τα ενήλικα άτομα από τον Αρχικό Κλωβό χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά για ελεγχόμενες ωοθεσίες.

Τα ενήλικα άτομα τοποθετήθηκαν σε διαφορετικό ξύλινο κλωβό, επίσης καλυμμένο με πυκνό εντομολογικό δίχτυ, όπως οι αρχικοί κλωβοί. Μέσα τοποθετήθηκαν 2 καθαρά φυτά τομάτας απαλλαγμένα από φυτοφάρμακα (ΕΙΚ. 22). Η λήψη των ενήλικων ατόμων από τους Αρχικούς Κλωβούς έγινε μέσω δοχείου αναρρόφησης 100ml, στο πώμα του οποίου στερεώθηκε με θερμόκολλα tip 1ml και στη βάση δεύτερο tip 1,5ml, καλυμμένο από λεπτή σήτα. Οι άκρες των στομιών ήταν διαμέτρου 0,5cm. Στη συνέχεια συλλέχθηκαν περίπου 80-100 ενήλικα άτομα και τοποθετήθηκαν στον κλωβό ωοθεσίας, ώστε να ξεκινήσει η ωοθεσία στα καθαρά φυτά. Ανά τακτά διαστήματα, αναλόγως το μέγεθος του πληθυσμού της εκτροφής προσθέταμε ενήλικα άτομα προς στην ωοθεσία για ικανοποιητική σταθερή απόδοση ωοθεσιών.



Εικόνα 22: Ωοθεσία του πληθυσμού *Tuta absoluta* στον εργαστηριακό χώρο του ΕΛΓΟ ‘Δήμητρα’

3^ο Εκκόλαψη Αυγών: μετά το πέρας δυο 24ώρων, το οποίο αποτελεί ένα χρονικό διάστημα κατάλληλο για ικανοποιητική ωοθεσία, τα φυτά της ωοθεσίας μεταφέρονταν σε τρίτο διαφορετικό κλωβό, όμοια κατασκευασμένο με τους προηγούμενους (ΕΙΚ. 23). Τα φυτά παρέμεναν σε αυτό τον κλωβό για περίπου 5-6 ημέρες δηλαδή κατάλληλο χρονικό διάστημα ώστε τα αυγά να εκκολαφθούν και οι προνύμφες να φτάσουν το στάδιο L₂, το οποίο θεωρείται το κατάλληλο στάδιο για την επιλογή ανθεκτικών πληθυσμών και τις εργαστηριακές τοξικολογικές βιοδοκιμές, βάσει της μεθοδολογίας του IRAC Method N^ο 022.



Εικόνα 23: Εκκόλαψη των αυγών του *T.absoluta* μετά την ωοθεσία μέχρι το επιθυμητό στάδιο L₂ στον εργαστηριακό χώρο του ΕΛΓΟ «Δήμητρα»

2.4 Επιλογή ανθεκτικών ατόμων (*Selections*)

Για την μελέτη της ανθεκτικότητας και κυρίως της διασταυρωτής ανθεκτικότητας αποτελεί κρίσιμο παράγοντα η ύπαρξη ενός ομοιόμορφου ανθεκτικού πληθυσμού. Για να επιτευχθεί, λοιπόν, αυτός ο πληθυσμός πραγματοποιήθηκαν επιλογές (*selections*) στον ελληνικό πληθυσμό IEP 14-3 τον προερχόμενο από την Ιεράπετρα της Κρήτης, με αρχική ημίσεια δόση θανάτωσης στο chlorpyrifos LC₅₀ 255,61.

Για να αναπτύξει ανθεκτικότητα έγιναν δυο επιλογές σε τρεις διαφορετικές δόσεις. Η διαδικασία του *selection* περιελάμβανε την εμφύτευση 8-10 ολόκληρων εύρωστων φύλλων τομάτας, τα οποία τοποθετούνταν σε πλαστικά ή γυάλινα φιαλίδια με νερό και τα οποία σφραγίζονταν με parafilm ώστε να εξασφαλίζουν την απαιτούμενη υγρασία και να διατηρούνται για 2 ημέρες μέσα σε πλαστικά κουτιά. Στη συνέχεια σε δυο με τρία φύλλα (αναλόγως την δυναμική της ωοθεσίας) τοποθετήθηκαν 25 προνύμφες του *T.absoluta* σταδίου L₂ με σκοπό να μπορεί να υπολογιστεί εύκολα το ποσοστό θνησιμότητας. Ταυτόχρονα στα υπόλοιπα φύλλα τοποθετούνταν 40-50 προνύμφες. Μετά το πέρας 48ωρών γινόταν η καταμέτρηση της θνησιμότητας και η καταμέτρηση των ζωντανών προνυμφών κι

έμπαιναν σε καινούριο κλωβό εκτροφής με καθαρά φυτά κι ονομάστηκε IEP 14-3 S1. Η διαδικασία αυτή επαναλαμβάνονταν για περίπου 20 ημέρες.



Εικόνα 24: Φύλλα τομάτας κατά τη διαδικασία του Selection. Δεξιά κατά την προσθήκη των προνυμφών κι αριστερά μετά το πέρας 48 ωρών.

Μετά από περίπου έναν μήνα οι νέες γενεές χρησιμοποιήθηκαν με την ίδια μεθοδολογία για το Selection 2 με τη διαφοροποίηση ότι για την δημιουργία του IEP 14-3 Selected 2 εφαρμόστηκαν δυο δόσεις αρχικά 3000ppm και μετά λόγω του πολύ υψηλού ποσοστού θνησιμότητας εφαρμόστηκε η συγκέντρωση των 1000ppm (ΠΙΝ. 7).

Πίνακας 7: Συγκεντρώσεις ανά επιλογή στον πληθυσμό IEP 14-3 reverted με το εντομοκτόνο chlorpyrifos.

<u>Επιλογές</u>	<u>Συγκέντρωση (ppm)</u>
S1	300
S2	1000

2.5 Τοξικολογικές Βιοδοκιμές

Αφού είχε δημιουργηθεί ο ομοιόμορφος πληθυσμός (IEP 14-3 Selected 2 chlorpyrifos), πραγματοποιήθηκαν οι τοξικολογικές βιοδοκιμές βάσει της μεθοδολογίας του IRAC Method N° 022 σε προνύμφες δευτέρου προνυμφικού σταδίου για τη διερεύνηση πιθανότητας διασταυρωτής ανθεκτικότητας. Εφαρμόστηκαν πέντε δόσεις για κάθε δραστική ουσία και επίσης μια δόση με control (νερό+Triton X-100 περιεκτικότητας 0,2% v/v). Η διαδικασία περιλάμβανε την κοπή 32/δόση καθαρών φύλλων τομάτας σε μικρά τετράγωνα τα οποία και εμβαπτίζονταν για 3 δευτερόλεπτα περίπου μέσα σε γυάλινο τριβλίο όγκου 30ml που περιείχε τη κατάλληλη περιεκτικότητα και έπειτα τοποθετούνταν σε χαρτί μέχρι να στεγνώσουν πλήρως. Έπειτα, τα στεγνά φύλλα έμπαιναν στους δίσκους τοξικολογικών βιοδοκιμών 32 θέσεων (EIK 25.) που σε κάθε θέση υπήρχε κατάλληλο διηθητικό χαρτί βρεγμένο με 1,25ml νερό με τη βοήθεια του αυτόματου δοσομετρητή υγρών (EIK 25.) ώστε το φύλλο να είναι υδαρές για τα απαιτούμενα δυο 24ωρα έως την μέτρηση των βιοδοκιμών. Για την ασφάλεια των φύλλων ανά τέσσερα φύλλα σφραγίζονταν με ειδικό αυτοκόλλητο όπου βέβαια υπήρχε η δυνατότητα ελάχιστου απαιτούμενου αερισμού για τη διατήρηση των φύλλων και την μη θανάτωση των προνυμφών έλλειψη αερισμού.



Εικόνα 25: Αριστερά ο δίσκος τοξικολογικών βιοδοκιμών 32 θέσεων με τα εμβαπτισμένα φύλλα σφραγισμένα με τα αυτοκόλλητα και δεξιά ο αυτόματος δοσομετρητής υγρών.

Οι δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στις τοξικολογικές βιοδοκιμές είναι το chlorpyrifos με εμπορική ονομασία Pyrinex 48EC, το indoxacarb με εμπορική ονομασία

Steward 30 WG® και το μείγμα δραστικών ουσιών emamectin benzoate με εμπορικό όνομα Affirm 095 SG. Οι αναλυτικές δόσεις ανά φάρμακο παρουσιάζονται στον Πίνακα 8.

Πίνακας 8: Δοσολογίες εφαρμογής εργαστηριακών τοξικολογικών βιοδοκιμών ανά δραστική ουσία στον πληθυσμό IEP 14-3 Selected 2 chlorpyrifos.

chlorpyrifos	Indoxacarb	Emamectin benzoate
CONTROL	CONTROL	CONTROL
100 ppm	1 ppm	0,1 ppm
300 ppm	3 ppm	0,3 ppm
1000 ppm	10 ppm	1 ppm
3000 ppm	30 ppm	3 ppm
10000 ppm	100 ppm	10 ppm

Ύστερα αφού είχαν στεγνώσει τα φύλλα και είχαν τοποθετηθεί στους δίσκους τοξικολογικών βιοδοκιμών, σειρά είχε η τοποθέτηση των προνυμφών. Όπως προαναφέραμε οι προνύμφες ήταν σταδίου L2, οι οποίες αφαιρέθηκαν με ειδική λαβίδα και πινέλο (στην αρχή κάθε δόσης καθαρίζονταν καλά με αλκοόλη 90%) με πολύ μεγάλη προσοχή για αποφυγή τραυματισμού, από τα φύλλα που είχαν τοποθετηθεί πάνω σε ειδικά κατάλληλη μηχανή, η οποία έκπεμπε φως και βοήθουσε στην εύρεση της προνύμφης αλλά και για τον προσδιορισμό του κατάλληλου μεγέθους. Οι προνύμφες αμέσως μόλις έβγαιναν από τα φύλλα έμπαιναν στο κατάλληλο κελί του τοξικολογικού δίσκου. Κατά τη διαδικασία της εξαγωγής και τοποθέτησης των προνυμφών ήταν σημαντικό να ξεκινάμε με αύξουσα σειρά των συγκεντρώσεων στη δραστική ουσία ξεκινώντας από το control.

Μετά το πέρας της διαδικασίας οι δίσκοι των τοξικολογικών βιοδοκιμών τοποθετούνταν σε αεριζόμενο χώρο κάτω από τεχνητά ρυθμιζόμενο φως για 48 ώρες με ελεγχόμενες συνθήκες δωματίου (Θ 25-27°C)

Έπειτα από το προαπαιτούμενο χρονικό διάστημα που τοποθετηθήκαν οι προνύμφες, στις δύο ημέρες πραγματοποιούνταν η αξιολόγηση της θνησιμότητας για κάθε δόση ξεχωριστά. Υπήρχαν τρία επίπεδα αξιολόγησης α)η ζωντανή προνύμφη (alive) β)οι ετοιμοθάνατες (moribund) γ)και οι νεκρές (dead). Η διαφορά των ετοιμοθάντων από τις ζωντανές είναι πως ή έχουν ξεκινήσει να τρώνε το φύλλο και μετά κινούνται ελάχιστα έως καθόλου ή δεν έχουν φάει καθόλου αλλά εάν ενοχληθούν κινούνται ελάχιστα δηλαδή δεν

μπορούν να βγουν εκτός ενός νοητού κύκλου.

Τα αποτελέσματα από τις τοξικολογικές βιοδοκιμές επεξεργάστηκαν με το πρόγραμμα Probit Analysis για τον προσδιορισμό της ημίσειας δόσης θανάτωσης, καθώς επίσης και της δόσης στο 95% της θνησιμότητας. Το λογισμικό αυτό δίνει τη δυνατότητα να δοκιμαστεί κατά πόσο η καμπύλη απόκρισης θνησιμότητας – συγκεντρώσεις αντιστοιχεί σε ευθεία γραμμή, την κλίση της ευθείας (slope), τις θανατηφόρες συγκεντρώσεις (lethal concentration LC).

3 ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 *Επιλογή Ανθεκτικού Πληθυσμού σε οργανοφωσφορικό εντομοκτόνο*

Όταν συλλέχθηκε ο πληθυσμός IEP-14-3 από θερμοκήπιο της Ιεράπετρας διαπιστώθηκε πως υπήρχε ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα chlorpyrifos και indoxacarb. Συγκεκριμένα ο συντελεστής ανθεκτικότητας σε σχέση με τον πληθυσμό αναφοράς του εργαστηρίου ήταν 21 φορές πάνω για το chlorpyrifos και 9 φορές πάνω για το indoxacarb (ΠΠΝ. 10). Μετά από ένα περίπου χρόνο σε συνθήκες εκτροφής στο εργαστήριο και χωρίς περαιτέρω έκθεση σε εντομοκτόνα παρατηρήθηκε πτώση της ανθεκτικότητας ταυτόχρονα και στις δυο δραστικές ουσίες. Το φαινόμενο κρίθηκε ύποπτο και για αυτό το λόγο πραγματοποιήθηκαν πειράματα επιλογής με το εντομοκτόνο chlorpyrifos στο συγκεκριμένο πληθυσμό.

Όπως προαναφέρθηκε παραπάνω έγιναν 2 επιλογές (selections) με αύξηση της δόσης από 300ppm σε 1000ppm. Η πρώτη δόση εφαρμογής επιλέχθηκε ύστερα από τοξικολογική βιοδοκιμή που έγινε στον πληθυσμό και βρέθηκε πώς περίπου το 50% των προνυμφών επιβίωσε, ποσοστό ικανοποιητικό για την δημιουργία του πρώτου σταδίου του ανθεκτικού πληθυσμού. Για την επιλογή της μεγαλύτερης δόσης πραγματοποιήθηκε τοξικολογική βιοδοκιμή στον επιλεγμένο πληθυσμό με την δόση 300 ppm και έτσι επιλέχθηκε η δόση 1000ppm για τη δεύτερη επιλογή. Εδώ αξίζει να αναφερθεί ότι είχαν γίνει και 2 εφαρμογές σε 3000ppm όμως λόγω της πολύ υψηλής θνησιμότητας αναγκαστήκαμε και συνεχίσαμε στα 1000ppm, όπως παρουσιάζονται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9: Συγκεντρώσεις και ποσοστό βιωσιμότητας ανά επιλογή στον πληθυσμό IEP 14-3 reverted με το εντομοκτόνο chlorpyrifos

<u>Επιλογές</u>	<u>Συγκέντρωση (ppm)</u>	<u>Ποσοστό βιωσιμότητας</u>
S1	300	49,33
S2	1000	37,93

3.2 Έλεγχος Διασταυρωτής Ανθεκτικότητας

Μετά τη δημιουργία του σταθερού ανθεκτικού πληθυσμού στο chlorpyrifos πραγματοποιήθηκαν οι τοξικολογικές βιοδοκιμές με τα άλλα δυο εντομοκτόνα το indoxacarb (οξιδιαζίνη) και του emamectin benzoate (αβερμεκτίνη). Πρώτα πραγματοποιήθηκαν τα πειράματα στο μητρικό πληθυσμό IEP 14-3 reverted, ώστε να μπορούμε να ξέρουμε το LC₅₀ την ίδια χρονική διάρκεια που θα κάναμε και στον ανθεκτικό πληθυσμό. Στο Πίνακα 10 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα κάθε τοξικολογικής βιοδοκιμής, όπως επίσης φαίνεται και το ιστορικό του πληθυσμού από τη περίοδο που συλλέχθηκε από το θερμοκήπιο και φαίνεται στον πίνακα η μεγάλη αύξηση του chlorpyrifos και του indoxacarb σε σχέση με τον πληθυσμό αναφοράς του εργαστηρίου, επίσης φαίνεται και η μεταβολή στο LC₅₀ την περίοδο που ξεκίνησαν τα πειράματα.

Πίνακας 10: Σχετική τοξικότητα των εντομοκτόνων στον πληθυσμό αναφοράς, στον IEP 14-3 της στιγμή που συλλέχθηκε και στον IEP 14-3 κατά τη διάρκεια του πειράματος.

	n	slope	LC ₅₀ ($\mu\text{g a.i. /mL}$)	CL 95 %	RR	SR	χ^2
Chlorpyrifos							
Πληθυσμός Αναφοράς	183	1,87	100,4	51,85 – 150,92	-	-	1,5
IEP 14-3	190	1,2	2068,9	1172,5 – 3566,5	21	-	0,2
IEP 14-3 reverted	192	1,1	255,6	110,72 - 481,66	2,5	-	1,5
IEP 14-3 S2	192	1,44	1362	775-2151	13,56	5,3	3,74
Indoxacarb							
Πληθυσμός Αναφοράς	183	1,69	0,75	0,35 – 1,20	-	-	1,7
IEP 14-3	192	1,19	6,42	3,87 – 10,96	9	-	0,5
IEP 14-3 reverted	192	2,38	3,17	2,25- 4,35	4,2	-	3,7
IEP 14-3 S2	192	1,06	2,25	1,29-3,75	3	0,7	0,92
emamectin bezoate							
Πληθυσμός Αναφοράς	184	1,6	0,05	0,03 – 0,08	-	-	3,3
IEP 14-3	191	1,27	0,16	0,09 – 0,26	3	-	1,8
IEP 14-3 reverted	192	2,4	0,25	0,13-0,36	5	-	4,68
IEP 14-3 S2	192	1,94	0,22	0,10-0,37	4,4	0,88	3,68

n= ο αριθμός των προνυμφών που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε τοξικολογική βιοδοκιμή.

slope= η κλίση της ευθείας .

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

χ^2 =δοκιμή καλής αντιπροσώπευσης από ευθεία P<0,05

SR= συντελεστής επιλογής

RR= συντελεστής ανθεκτικότητας

CL 95%= όρια LC₅₀

4 ΣΥΖΗΤΗΣΗ - ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η παρούσα διατριβή αποτέλεσε αντικείμενο έρευνας ύστερα από κάποιες ενδείξεις που είχαν προκύψει από μία ερευνητική μελέτη από τον κ. Ροδιτάκη Εμμανουήλ και τους συνεργάτες του (2013) όπου παρατηρήθηκε πως όταν το chlorpyrifos είχε αυξημένο το LC₅₀ τότε και το LC₅₀ indoxacarb είχε τάση προς αύξηση. Ακόμα αναφορές για ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα έχουν από τους Marcela et al το 2005 στην Αργεντινή, επίσης μέσω της βάσης δεδομένων του Scopus υπάρχει μεγάλο πλήθος αναφορών ανθεκτικότητας στα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα μερικές από αυτές τις αναφορές είναι από τους Silva et al το 2016 που αποτελεί τη πιο πρόσφατη καταγραφή, αναφέρθηκαν σε πληθυσμούς της Βραζιλίας και έδειξαν ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα όπως επίσης έδειξαν αυξητική τάση της ανθεκτικότητας στη δραστική indoxacarb αλλά όμως η θανατηφόρα δόση LC₈₀ που όριζε το Υπουργείο γεωργίας της Βραζιλίας ήταν εντός ορίων. Παλαιότερα οι Sillva et al. (2000) κατέγραψαν ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα, επίσης οι Guedes & Picanço (2012) κατέγραψαν ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά στη Βραζιλία. Ο Khalid (2012) τη περίοδο 2008-2011 κατέγραψε σε πληθυσμούς που συλλέχτηκαν από την Ισπανία υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στο chlorpyrifos. Για το εντομοκτόνο indoxacarb ύστερα από έρευνες των Yalçin et al (2015) αναφέρθηκε ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε τούρκικους πληθυσμούς. Τέλος στο εντομοκτόνο emamectin benzoate για το *Tuta absoluta* δεν υπάρχουν επίσημες αναφορές ανθεκτικότητας όμως έχουν αναφερθεί από τους Lebedev et al (2013) υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στο Ισραήλ στον θρίπα.

Αναφορές για διασταυρωτή ανθεκτικότητα μεταξύ οργανοφωσφορικών και οξιδιαζινών στο *Tuta absoluta* δεν έχει αναφερθεί στο παρελθόν στην Ελλάδα όπως και σε παγκόσμια κλίμακα. Παρομοίως δεν έχει υπάρξει διασταυρωτή ανθεκτικότητα μεταξύ οργανοφωσφορικών και αβερμεκτινών στο *Tuta absoluta* είτε στην Ελλάδα είτε σε παγκόσμια κλίμακα. Διασταυρωτή ανθεκτικότητα όμως έχει αναφερθεί στο παρελθόν και συγκεκριμένα οι Cahill et al (1995) κατέγραψαν διασταυρωτή ανθεκτικότητα μεταξύ οργανοφωσφορικών και πυρεθροειδών εντομοκτόνων στο έντομο *Bemisia tabaci*. Στον Ελλαδικό χώρο έχει ανακαλυφθεί διασταυρωτή ανθεκτικότητα μεταξύ οργανοφωσφορικού εντομοκτόνου, πυρεθροειδών και ρυθμιστών ανάπτυξης στο πλαίσιο διδακτορικής διατριβής

από τον Κ. Βουδούρη (2009) στην καρπόκαψα της μηλιάς.

Μετά το πέρας των πειραμάτων διάρκειας περίπου έξι μηνών τελικώς παρατηρήσαμε πως ο προβληματισμός μας που αφορούσε τη περίπτωση διασταυρωτής ανθεκτικότητας μεταξύ οραγανοφωσφορικών και οξειδιαζίνων δεν επιβεβαιώθηκε για τον πληθυσμό που μελετήθηκε που προερχόταν από θερμοκηπιακή καλλιέργεια της Ιεράπετρας. Επίσης δεν βρέθηκε διασταυρωτή ανθεκτικότητα μεταξύ οραγανοφωσφορικών και αβερμεκτίνων.

Σημαντική παρατήρηση που πρέπει να αναφερθεί είναι πως το *chlorpyrifos* δεν έχει έγκριση για την αντιμετώπιση του *T.absoluta*, όμως έχει έγκριση για άλλα ζημιογόνα έντομα όπως π.χ. αφίδες, πράσινο σκουλήκι κ.α., όπου όταν γίνει λανθασμένη εφαρμογή του τότε θα επηρεαστεί και το *T.absoluta* με αποτέλεσμα ανάπτυξη ανθεκτικότητας στο *chlorpyrifos* και ίσως να επηρέαζε και τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που μελετήθηκαν στην παρούσα πτυχιακή. Ο πληθυσμός που επιλέχτηκε ώστε να πραγματοποιηθούν τα πειράματα είχε εμφανίσει κάποιες ενδείξεις ανθεκτικότητας στο *chlorpyrifos*.

Το *T. absoluta* είναι ένα σχετικά νέο έντομο στην Ελλάδα για τις θερμοκηπιακές καλλιέργειες, με καταστρεπτικές επιπτώσεις, όπου εάν δεν γίνει σωστή και έγκαιρη αντιμετώπιση μπορεί να επιφέρει έως και ολοκληρωτική καταστροφή της παραγωγής. Το *T. absoluta* κατά την εγκατάσταση στον ελλαδικό χώρο είχε εμφανίσει ήδη ανθεκτικότητα στο *chlorpyrifos* και ήδη στο εξωτερικό είχε παρουσιαστεί ανθεκτικότητα στις πυρεθρίνες με αποτέλεσμα να στραφούν για την αντιμετώπιση στην αμπαμεκτίνη. Για την μη ανάπτυξη ανθεκτικότητας είναι υποχρεωτικό να γίνονται εναλλαγές των χημικών ομάδων σε ένα πρόγραμμα ορθολογικής αντιμετώπισης ενός επιζήμιου οργανισμού. Η παρούσα μελέτη έδειξε ότι το *chlorpyrifos* είναι συμβατό με τα παραπάνω εγκεκριμένα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται στην ορθολογική διαχείριση του *Tuta absoluta*.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

ΕΛΛΗΝΙΚΗ:

- Βουδούρης Κ.Χ., 2009, Μελέτη της βιο-οικολογίας της καρπόκαυας του μήλου *Cydia pomonella* και της ανθεκτικότητας της σε εντομοκτόνα, Λάρισα, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας Σχολή Επιστημών Υγείας Τμήμα Βιοχημείας & Βιοτεχνολογίας.
- Ελληνική Δημοκρατία, Περιφέρεια Στερεάς Ελλάδας Γενική Διεύθυνση Περιφερειακής Αγροτικής Οικονομίας & Κτηνιατρικής δ/νση Αγροτικής Οικονομίας & Κτηνιατρικής Περιφερειακής Ενότητας Εύβοιας τμήμα : Ποιοτ. & Φυτοϋγειονομικού Ελεγχου, 2013, «Μέτρα καταστολής του εντόμου *Tuta absoluta*», Χαλκίδα 05 – Ιουνίου 2013, Αρ.Πρωτ 7891.
- Ζιώγας Β. & Μάρκογλου Α., 2010, Γεωργική Φαρμακολογία, Αθήνα, Δεύτερη έκδοση, σελ.333,334,438-448,451-458,462, 365,366,437-442.
- Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο,2012, Οδηγίες φυτοπροστασίας Βαμβάκι-Βιομηχανική Τομάτα- Καλαμπόκι, έκδοση 6^η, σελ. 100.
- Ναβροζίδης Ε. & Ανδρεάδης Σ., 2012, Ειδική Γεωργική Εντομολογία, Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις Public City. Σελ.233-237.
- Ολυμπίου Χ., 2001, Η Τεχνική της Καλλιέργειας των Κηπευτικών στα Θερμοκήπια, Αθήνα, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, σελ. 39-44,52-54, 56.
- Ολυμπίου Χ., 2015. Η Τεχνική της Καλλιέργειας των Υπαίθριων Κηπευτικών, Αθήνα, Εκδόσεις Αθ. Σταμούλης, σελ. 122
- Ροδιτάκης Ε., Βασάκης Ε., Γρίσπου Μ., Σταυρακάκη Μ., Bassi Α., Αγγελετάκης Α., Καζαντζίδου Α., Nauen R., Αχείμαστου Κ., 2015, Η αντιμετώπιση του *Tuta absoluta* και ο κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα διαμύδια, εκδόσεις Αγρότυπος, Γεωργία-Κτηνοτροφία, Τεύχος 2, σελ. 60-63.
- Ροδιτάκης Ε., Σταυρακάκη Μ., Bassi Α., Rison J.L., 2013, Επίδραση εντομοκτόνων στον υπονομευτή της ντομάτας *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): μια πολύπλευρη προσέγγιση, 15^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Οκτώβριος 22-25 2013, διαθέσιμο στο http://www.entsoc.gr/kavala2013/attachments/article/78/perilipseisgr_web_lr.pdf,

τελευταία πρόσβαση 5/3/2015

- Ροδιτάκης Ε. & Σίμογλου Κ., 2015, *Tuta absoluta* ο υπονομευτής των φύλλων της τομάτας.
- Σίμογλου Β. Κ., 2011, Ο υπονομευτής της τομάτας *Tuta absoluta*, ΔΑΟ & Κ Δράμας, Τμήμα Ποιοτικού και Φυτοϋγειονομικού Ελέγχου, Δράμα, διαθέσιμο στο: http://www.geotee-anmak.gr/img/ekdiloseis/Tuta_absoluta.pdf.
- Τζανακάκης Μίνως, 1995, Εντομολογία, Θεσσαλονίκη, Εκδόσεις University Studio Press, σελ. 231-242.
- Υπουργική απόφαση, 2009, «Τροποποίηση της με αριθμό 1508 οριστικής έγκρισης του φυτοπροστατευτικού προϊόντος PYRINEX 48 EC (εντομοκτόνο) ως προς τον παρασκευαστή της δ. ο., το εργοστάσιο παρασκευής της δ.ο., την περιεκτικότητα της τεχνικά καθαρής δ. ο. σε καθαρή δ. ο., τα εργοστάσια παρασκευής του σκευάσματος, το εργοστάσιο συσκευασίας του σκευάσματος, την εγγυημένη σύνθεση, τα μεγέθη και υλικά συσκευασίας, τη σήμανση του σκευάσματος και την ημερομηνία λήξης», Αθήνα 17-2-2009, Αριθμ. Πρωτ. 125777.
- Υπουργική απόφαση, 2012, «Χορήγηση κατ' εξαίρεση έγκρισης διάθεσης στην αγορά του φυτοπροστατευτικού προϊόντος (εντομοκτόνο) STEWARD 30WG, για την αντιμετώπιση του εντόμου *Tuta absoluta* στην καλλιέργεια της τομάτας υπαίθρου και θερμοκηπίου, με βάση το άρθρο 8 (παρ.4) Π.Δ.115/97», Αθήνα 3-2-2010, Αριθμ. πρωτ. 180922.
- Υπουργική απόφαση, 2012, «Χορήγηση προσωρινής έγκρισης διάθεσης στην αγορά στο φυτοπροστατευτικό προϊόν (εντομοκτόνο) AFFIRM 095 SG», Αθήνα 3-4-2012, Αριθμ. Πρωτ. 3645/41598.
- Χαραντώνης Δ. & Γιαννοπολίτης Κ.Ν., 2009, «Ο Φυλλορύκτης της τομάτας *Tuta absoluta*», Εκδόσεις Αγρότυπος, Γεωργία κτηνοτροφία, τεύχος 5, σελ. 31-34.

ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΗ:

- Barrientos ZR, Apablaza HJ, Norero SA & Estay PP (1998) [Threshold temperature and thermal constant for development of the South American tomato moth, *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae).] *Ciencia e Investigacion Agraria* 25, 133–137 (in Spanish).
- Braham M. & Hajji L., 2012. Management of *Tuta absoluta* (Lepidoptera, Gelechiidae)

with Insecticides on Tomatoes, Insecticides - Pest Engineering, Available from: <http://www.intechopen.com/books/insecticides-pest-engineering/managementof-tuta-absoluta-lepidoptera-gelechiidae-with-insecticides-on-tomatoes>, pp. 333-354.

- Bueno V.H.P., Van Lenteren J.C., Lins Jr J.C., Calixto A.M., Montes F.C., Silva D.B., Santiago L.D. & Perez L.M., 2012, New records of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) predation by Brazilian Hemipteran predatory bugs, Journal of Applied Entomology 137, pp. 29-34.
- Cahill, M., Byrne, F.J., Gorman, K., Denholm, I., Devonshire, A.L., 1995, Pyrethroid and organophosphate resistance in the tobacco whitefly *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae), Bulletin of Entomological Research, Volume 85, Issue 2, Pages 181-187
- Campos MR, Rodrigues ARS, Silva WM, Silva TBM, Silva VRF, Guedes RNC and Siqueira HAA, 2014, Spinosad and the tomato borer *Tuta absoluta*: A bioinsecticide, an invasive pest threat, and high insecticide resistance. PLoS ONE 9:e103235 .
- Desneux N., Wajnberg E., Wyckhuys KAG, Burgio G, Arpaia S., Narva 'ez-Vasquez CA., Gonzalez-Cabrera J., Ruescas DC., Tabone E., Frandon J., Poncet C., Cabello T., Urbaneja A., 2010, Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, geographic expansion and prospect for biological control. J.Pest.Sci. 83, pp.197-215
- EPPO, European & Mediterranean Plant Protection Organization, X.X. “*Tuta absoluta*”, Data Sheets on Quarantine Pests, p.p 434-435
- EPPO, European and Agriculture Organization of the United Nations, X.X., “*Tuta absoluta*”, Data Sheets on Quarantines pests, pp. 1-2
- EPPO, European & Mediterranean Plant Protection Organization, X.X. “*Tuta absoluta*”, Data Sheets on Quarantine Pests, p.p 434-435
- European commission, Health and Food Safety, 2016, http://ec.europa.eu/dgs/health_food-safety/index_en.htm, τελευταία πρόσβαση 10/01/2016
- FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2015, <http://www.faostat3.fao.org/home/E>, τελευταία πρόσβαση 25/09/2015
- Guedes, R.N.C., Picanço M.C., 2012, The tomato borer *Tuta absoluta*: Insecticide resistance and control failure, Agricultural and Biological Sciences

- Environmental Science: Nature and Landscape Conservation
Veterinary, Volume 7, 2012, Article number 55, Pages 1-7
- IRAC, Insecticide Resistance Action Committee, [online] available from < <http://www.irac-online.org>> [accessed 25/2/2015]
- IRAC, 2011, *Tuta absoluta*-The Tomato Leafminer or Tomato Borer: Recommendations for sustainable and effective resistance management. <http://www.irac-online.org/documents/tuta-absolutairm-booklet/>. Accessed Oct 2015
- Khalid H., 2011, Studies On Insecticide Resistance In *Tuta Absoluta* (Meyrick), With Special Emphasis On Characterisation Of Two Target Site Mechanisms, University OF Catania Faculty Of Agriculture Department Of Agri-Food And Environmental Systems Management,
- Khalid H., Larine P. Mendonça, Milaine F. Dos Santos, Raul Narciso C. Guedes, Eugênio E. Oliveira, 2015, Metabolic and Behavioral Mechanisms of Indoxacarb Resistance in *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae), Journal of Economic Entomology, pp. 362-369.
- Lebedev G, Abo-Moch F, Gafni G, Ben-Yakir D, Ghanim M., 2013, High-level of resistance to spinosad, emamectin benzoate and carbosulfan in populations of Thrips tabaci collected in Israel., Pest Manag Sci., 69(2):274-7.
- Marcela M.M. Lietti, Eduardo Botto, Raúl A. Alzogaray, 2005, Insecticide resistance in Argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae), Neotrop. Entomol. vol.34 no.1.
- NAPPO, North American Plant Protection Organization, Surveillance Protocol for the Tomato Leaf Miner, *Tuta absoluta* , For NAPPO Member Countries, pp.18
- NVWA, Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority Ministry of Economic affairs, 2013, Pest Risk Analysis for *Tuta absoluta*, pp. 28
- Silva T.B.M., Silva W.M., Campos M.R., Silva J.E., Ribeiro L.M.S. Siqueira H.A.A., 2015, Susceptibility levels of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to minor classes of insecticides in Brazil, Crop Protection, Volume 79, Pages 80–86
- Roditakis E, Papachristos D, Roditakis NE (2010) Current status of tomato leafminer *Tuta absoluta* in Greece. EPPO Bulletin 40: 163- 166.

- Roditakis E, Skarmoutsou C, Staurakaki M, del Rosario Martinez- Aguirre M, Garcia-Vidal L, Bielza P, Haddi K, Rapisarda C, Rison J-L, Bassi A, Teixeira LA., 2013 Determination of baseline susceptibility of European populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) to indoxacarb and chlorantraniliprole using a novel dip bioassay method. *Pest Manage Sci* 69: 217-227.
- Roditakis E, Vasakis E, Grispou M, Stavrakaki M, Nauen R, Gravouil M, Bassi A (2015) First report of *Tuta absoluta* resistance to diamide insecticides. *J Pest Sci*: in press, DOI 10.1007/s10340-015-0643-5.
- Tome H.V.V., Martins J.C., Correra A.S., Galdino T.V.S., Pinanco M.C., Guedes R.N.C., 2012, Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato leafminer *Tuta absoluta*, *Crop Protection* 46(2013) pp. 63-69.
- Trottin-Caudal Y., Baffert V., Leyre J-M, Hulas N., 2012, Experimental studies on *Tuta absoluta* (Meyrick) in protected tomato crops in France: biological control and integrated crop protection, 42:234-240.
- Tuta absoluta*, 2015, [online] available from: < <http://www.tutaabsoluta.com>> [accessed 23/10/2015].
- Urbaneja A., Molla O., Alonso M., Gonzalez-Cabrera J., 2012, Basis for integrating *Bacillus thuringiensis* and *Nesidiocoris tenuis* for biological control of *Tuta absoluta*, available from:
<https://conference.ifas.ufl.edu/TSTAR/presentations/Tuesday/am/9%2000am%20A%20Urbaneja.pdf>
- USDA, United States of Agriculture, 2011, New Pest Response Guidelines Tomato Leafminer (*Tuta absoluta*), pp. 176.
- Wikipedia, Wikipedia The Free Encyclopedia, 2016, https://en.wikipedia.org/wiki/Main_Page, τελευταία πρόσβαση 30/09/2015.
- YALÇIN M., MERMER S., KOZACI L.D., TURGUT C., 2015, Insecticide resistance in two populations of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) from Turkey, *Turkish Journal of Entomology*, vol. 39, pp. 137-145

5 ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Probit ανάλυση για το chlorpyrifos στον πληθυσμό ΙΕΡ 14-3

*** PriProbit ver.1.63 ***

Distribution Function, Model (Activated Parameters) and Variances

1: Normal, 2: All / Nothing (a, b, C:Natural Response Rate),

1: SAS Equivalent

Configuration

1 Preparations

1 Variates

6 Dose Groups, of which:

6 refer to ier14_3_chlor

Optimization Algorithm

Davidon-Fletcher-Powell (Variable Metric Method)

The Maximum Log-Likelihood

$\hat{L} = -73.5296573$ Iterations : 6

Akaike's Information Criterion

AIC= 153.0593146 m = 3

Observed and Expected Frequencies

1. ier14_3_chlor

#	Dose	Log(Dose)	n	r.obs	r.exp	Dev.	p.obs	p.exp
1	0.0000e+000	-	32	2	2.121	-0.121	0.0625	0.0663
2	3.0000e+001	1.47712	24	6	4.962	1.038	0.2500	0.2067
3	1.0000e+002	2.00000	24	8	8.878	-0.878	0.3333	0.3699
4	3.0000e+002	2.47712	24	12	13.486	-1.486	0.5000	0.5619
5	1.0000e+003	3.00000	24	20	18.285	1.715	0.8333	0.7619
6	3.0000e+003	3.47712	24	21	21.374	-0.374	0.8750	0.8906

Pearson Chi-square Test on Sum of Squares

	DF	SS	MS	p
Heterogeneity	3	1.5284734	0.5094911	0.6757144

Likelihood Ratio Chi-square Test

	DF	LR	MLR	p
Heterogeneity	3	1.5689110	0.5229703	0.6664594

* Chi-square Test on SS (Pearson Test) is adopted.

* Since heterogeneity is small ($p > 0.050$), a normal deviate is used.

Parameter Estimates

#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
a1	-2.6771113	0.6301007	18.0514843	0.0000	ier14_3_chlor
b	1.1119527	0.2325212	22.8690251	0.0000	RegressionCoefficient
C	0.0662956	0.0452361			Natural Response Rate

Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)

	a1	b	C
a1	0.397027	(-0.969050)	(-0.426765)
b	-0.141977	0.054066	(0.332112)
C	-0.012164	0.003493	0.002046

Parameter Estimates

#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
m1	2.4075766	0.1471563	267.6716047	0.0000	ier14_3_chlor
s	0.8993188	0.1880572	22.8690251	0.0000	RegressionCoefficient
C	0.0662956	0.0452361			Natural Response Rate

Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)

	m1	s	C
m1	0.021655	(-0.310372)	(0.507142)
s	-0.008589	0.035365	(-0.332112)
C	0.003376	-0.002825	0.002046

Normal or t-Deviate (Both Tails) and Index of Regression Significance, g

u (0.100) = 1.644850, g (0.100) = 0.118306
 u (0.050) = 1.959960, g (0.050) = 0.167976
 u (0.010) = 2.575830, g (0.010) = 0.290126

Effective Dose Estimates

#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation
1	2.0675e+000(4.6968e-002,1.0621e+001)	0.31545(-1.32820, 1.02615)	ier14_3_chlor
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	8.4787e+000(4.9769e-001,2.9801e+001)	0.92833(-0.30305, 1.47423)	ier14_3_chlor
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	1.7991e+001(1.7342e+000,5.2175e+001)	1.25505(0.23909, 1.71746)	ier14_3_chlor
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	2.5561e+002(1.1072e+002,4.8166e+002)	2.40758(2.04422, 2.68274)	ier14_3_chlor
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	3.6316e+003(1.5815e+003,1.9875e+004)	3.56010(3.19907, 4.29830)	ier14_3_chlor
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	7.7059e+003(2.8274e+003,6.7820e+004)	3.88682(3.45138, 4.83136)	ier14_3_chlor
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	3.1601e+004(8.0779e+003,7.0579e+005)	4.49971(3.90730, 5.84867)	ier14_3_chlor

Effective Dose Estimates

#	ED80 (95% Limits)	Log(ED80) (95% Limits)	Preparation
1	1.4604e+003(7.4523e+002,4.7212e+003)	3.16446(2.87229, 3.67405)	ier14_3_chlor

Natural Response and Immunity Rate Estimates

#	Proportion (95% Limits)	Description
C	0.066296(0.000000,0.154957)	Natural Response Rate

Probit ανάλυση για το chlorpyrifos στον πληθυσμό IEP 14-3 Selected 2

*** PriProbit ver.1.63 ***

Distribution Function, Model (Activated Parameters) and Variances

1: Normal, 2: All / Nothing (a, b, C:Natural Response Rate),

1: SAS Equivalent

Configuration

1 Preparations

1 Variates

6 Dose Groups, of which:

6 refer to ier_chlor_s2_chloropyrifos

Optimization Algorithm

Davidon-Fletcher-Powell (Variable Metric Method)

The Maximum Log-Likelihood

$\hat{L} = -86.7354904$ Iterations : 8

Akaike's Information Criterion

AIC= 179.4709809 m = 3

Observed and Expected Frequencies

1. ier_chlor_s2_chloropyrifos

#	Dose	Log(Dose)	n	r.obs	r.exp	Dev.	p.obs	p.exp
1	0.0000e+000	-	32	2	1.939	0.061	0.0625	0.0606
2	1.0000e+002	2.00000	32	4	3.460	0.540	0.1250	0.1081
3	3.0000e+002	2.47712	32	5	7.084	-2.084	0.1563	0.2214
4	1.0000e+003	3.00000	32	15	14.656	0.344	0.4688	0.4580
5	3.0000e+003	3.47712	32	26	22.675	3.325	0.8125	0.7086
6	1.0000e+004	4.00000	32	27	28.828	-1.828	0.8438	0.9009

Pearson Chi-square Test on Sum of Squares

	DF	SS	MS	p
Heterogeneity	3	3.7416721	1.2472240	0.2907439

Likelihood Ratio Chi-square Test

	DF	LR	MLR	p
Heterogeneity	3	3.7986664	1.2662221	0.2840413

* Chi-square Test on SS (Pearson Test) is adopted.

* Since heterogeneity is small ($p > 0.050$), a normal deviate is used.

Parameter Estimates					
#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
a1	-4.5286537	0.8550261	28.0530132	0.0000	ier_chlor_s2_chloropyrifos
b	1.4448433	0.2547813	32.1592824	0.0000	RegressionCoefficient
C	0.0605911	0.0377956			Natural Response Rate
Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)					
	a1	b	C		
a1	0.731070	(-0.985305)	(-0.495368)		
b	-0.214644	0.064914	(0.432244)		
C	-0.016008	0.004162	0.001429		
Parameter Estimates					
#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
m1	3.1343563	0.1055421	881.9519469	0.0000	ier_chlor_s2_chloropyrifos
s	0.6921166	0.1220467	32.1592824	0.0000	RegressionCoefficient
C	0.0605911	0.0377956			Natural Response Rate
Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)					
	m1	s	C		
m1	0.011139	(-0.287795)	(0.513949)		
s	-0.003707	0.014895	(-0.432244)		
C	0.002050	-0.001994	0.001429		
Normal or t-Deviates (Both Tails) and Index of Regression Significance, g					
u	(0.100) = 1.644850,	g	(0.100) = 0.084129		
u	(0.050) = 1.959960,	g	(0.050) = 0.119451		
u	(0.010) = 2.575830,	g	(0.010) = 0.206314		
Effective Dose Estimates					
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation		
1	3.3439e+001(3.5623e+000,1.0309e+002)	1.52425(0.55173, 2.01320)	ier_chlor_s2_chloropyrifos		
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation		
1	9.9066e+001(1.8283e+001,2.3670e+002)	1.99593(1.26205, 2.37420)	ier_chlor_s2_chloropyrifos		
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation		
1	1.7676e+002(4.3391e+001,3.7150e+002)	2.24737(1.63740, 2.56996)	ier_chlor_s2_chloropyrifos		
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation		
1	1.3626e+003(7.7502e+002,2.1511e+003)	3.13436(2.88931, 3.33267)	ier_chlor_s2_chloropyrifos		

#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	1.0504e+004(5.8506e+003,2.9471e+004)	4.02134(3.76720, 4.46939)	ier_chlor_s2_chloropyrifos
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	1.8741e+004(9.3287e+003,6.8847e+004)	4.27279(3.96982, 4.83788)	ier_chlor_s2_chloropyrifos
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	5.5521e+004(2.1725e+004,3.4839e+005)	4.74446(4.33696, 5.54206)	ier_chlor_s2_chloropyrifos
Effective Dose Estimates			
#	ED80 (95% Limits)	Log(ED80) (95% Limits)	Preparation
1	5.2102e+003(3.2136e+003,1.0915e+004)	3.71686(3.50699, 4.03802)	ier_chlor_s2_chloropyrifos
Natural Response and Immunity Rate Estimates			
#	Proportion (95% Limits)	Description	
C	0.060591(0.000000,0.134669)	Natural Response Rate	

Probit ανάλυση για το emamectin benzoate στον πληθυσμό IEP 14-3

*** PriProbit ver.1.63 ***

Distribution Function, Model (Activated Parameters) and Variances

1: Normal, 2: All / Nothing (a, b, C:Natural Response Rate),

1: SAS Equivalent

Configuration

1 Preparations

1 Variates

5 Dose Groups, of which:

5 refer to ier_14_3_aff

Optimization Algorithm

Davidon-Fletcher-Powell (Variable Metric Method)

The Maximum Log-Likelihood

$\hat{L} = -73.5188034$ Iterations : 6

Akaike's Information Criterion

AIC= 153.0376068 m = 3

Observed and Expected Frequencies									
1. ier_14_3_aff									
#	Dose	Log(Dose)	n	r.obs	r.exp	Dev.	p.obs	p.exp	
1	0.0000e+000	-	32	3	4.291	-1.291	0.0938	0.1341	
2	3.0000e-002	-1.52288	32	7	4.648	2.352	0.2188	0.1452	
3	1.0000e-001	-1.00000	32	6	8.867	-2.867	0.1875	0.2771	
4	3.0000e-001	-0.52288	32	23	20.043	2.957	0.7188	0.6264	
5	1.0000e+000	0.00000	32	29	29.878	-0.878	0.9063	0.9337	
Pearson Chi-square Test on Sum of Squares									
	DF	SS	MS	p					
Heterogeneity	2	4.6797412	2.3398706	0.0963401					
Likelihood Ratio Chi-square Test									
	DF	LR	MLR	p					
Heterogeneity	2	4.6832249	2.3416125	0.0961724					
* Chi-square Test on SS (Pearson Test) is adopted.									
* Since heterogeneity is small (p> 0.050), a normal deviate is used.									
Parameter Estimates									
#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description				
a1	1.4284879	0.3211047	19.7906368	0.0000	ier_14_3_aff				
b	2.4019558	0.6057845	15.7214891	0.0001	RegressionCoefficient				
C	0.1340838	0.0468742			Natural Response Rate				
Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)									
	a1	b	C						
a1	0.103108	(0.796866)	(0.143879)						
b	0.155007	0.366975	(0.450062)						
C	0.002166	0.012780	0.002197						
Parameter Estimates									
#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description				
m1	-0.5947186	0.0917179	42.0450484	0.0000	ier_14_3_aff				
s	0.4163274	0.1049997	15.7214891	0.0001	RegressionCoefficient				
C	0.1340838	0.0468742			Natural Response Rate				

Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)

	m1	s	C
m1	0.008412	(-0.473867)	(0.526296)
s	-0.004564	0.011025	(-0.450062)
C	0.002263	-0.002215	0.002197

Normal or t-Deviates (Both Tails) and Index of Regression Significance, g

u (0.100) = 1.644850, g (0.100) = 0.172091
u (0.050) = 1.959960, g (0.050) = 0.244343
u (0.010) = 2.575830, g (0.010) = 0.422027

Effective Dose Estimates

#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	2.5426e-001(1.3658e-001,3.6621e-001)	-0.59472(-0.86461,-0.43627)	ier_14_3_aff

Effective Dose Estimates

#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	2.5426e-001(1.3658e-001,3.6621e-001)	-0.59472(-0.86461,-0.43627)	ier_14_3_aff

Effective Dose Estimates

#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	2.5426e-001(1.3658e-001,3.6621e-001)	-0.59472(-0.86461,-0.43627)	ier_14_3_aff

Effective Dose Estimates

#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation
1	2.7338e-002(1.9938e-003,6.8556e-002)	-1.56324(-2.70032,-1.16396)	ier_14_3_aff

#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	5.2539e-002(7.1419e-003,1.0786e-001)	-1.27952(-2.14619,-0.96715)	ier_14_3_aff

#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	7.4428e-002(1.4032e-002,1.3799e-001)	-1.12826(-1.85287,-0.86015)	ier_14_3_aff

#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	2.5426e-001(1.3658e-001,3.6621e-001)	-0.59472(-0.86461,-0.43627)	ier_14_3_aff

#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	8.6861e-001(5.7188e-001,2.2591e+000)	-0.06117(-0.24269, 0.35394)	ier_14_3_aff

#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	1.2305e+000(7.4867e-001,4.3380e+000)	0.09008(-0.12571, 0.63729)	ier_14_3_aff

#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	2.3649e+000(1.2009e+000,1.5241e+001)	0.37380(0.07951, 1.18300)	ier_14_3_aff

Effective Dose Estimates		
#	ED80 (95% Limits)	Log(ED80) (95% Limits) Preparation
1	5.6973e-001(3.9544e-001,1.0701e+000)	-0.24433(-0.40292, 0.02942) ier_14_3_aff
Natural Response and Immunity Rate Estimates		
#	Proportion (95% Limits)	Description
C	0.134084(0.042212,0.225955)	Natural Response Rate

Probit ανάλυση για το emamectin benzoate στον πληθυσμό IEP 14-3 Selected 2								
*** PriProbit ver.1.63 ***								
Distribution Function, Model (Activated Parameters) and Variances								
1: Normal, 2: All / Nothing (a, b, C:Natural Response Rate),								
1: SAS Equivalent								
Configuration								
1	Preparations							
1	Variates							
6	Dose Groups, of which:							
6	refer to ier_chlor_s2_affirm							
Optimization Algorithm								
Davidon-Fletcher-Powell (Variable Metric Method)								
The Maximum Log-Likelihood								
^L = -54.3292418 Iterations : 9								
Akaike's Information Criterion								
AIC= 114.6584836 m = 3								
Observed and Expected Frequencies								
1. ier_chlor_s2_affirm								
#	Dose	Log(Dose)	n	r.obs	r.exp	Dev.	p.obs	p.exp
1	0.0000e+000	-	27	3	3.390	-0.390	0.1111	0.1255
2	1.0000e-001	-1.00000	28	12	9.478	2.522	0.4286	0.3385
3	3.0000e-001	-0.52288	24	12	15.430	-3.430	0.5000	0.6429
4	1.0000e+000	0.00000	28	26	25.402	0.598	0.9286	0.9072
5	3.0000e+000	0.47712	24	24	23.688	0.312	1.0000	0.9870
6	1.0000e+001	1.00000	24	24	23.985	0.015	1.0000	0.9994

Pearson Chi-square Test on Sum of Squares

	DF	SS	MS	p
Heterogeneity	3	3.6832759	1.2277586	0.2977581

Likelihood Ratio Chi-square Test

	DF	LR	MLR	p
Heterogeneity	3	3.8977881	1.2992627	0.2727148

* Chi-square Test on SS (Pearson Test) is adopted.

* Since heterogeneity is small ($p > 0.050$), a normal deviate is used.

Parameter Estimates

#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
a1	1.2474417	0.2567611	23.6038138	0.0000	ier_chlor_s2_affirm
b	1.9423796	0.4386430	19.6085666	0.0000	RegressionCoefficient
C	0.1255431	0.0696092			Natural Response Rate

Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)

	a1	b	C
a1	0.065926	(0.599493)	(-0.132757)
b	0.067519	0.192408	(0.393165)
C	-0.002373	0.012005	0.004845

Parameter Estimates

#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
m1	-0.6422234	0.1245860	26.5725840	0.0000	ier_chlor_s2_affirm
s	0.5148324	0.1162634	19.6085666	0.0000	RegressionCoefficient
C	0.1255431	0.0696092			Natural Response Rate

Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)

	m1	s	C
m1	0.015522	(-0.528033)	(0.598546)
s	-0.007648	0.013517	(-0.393165)
C	0.005191	-0.003182	0.004845

Normal or t-Deviates (Both Tails) and Index of Regression Significance, g

u (0.100) = 1.644850, g (0.100) = 0.137977

u (0.050) = 1.959960, g (0.050) = 0.195906

u (0.010) = 2.575830, g (0.010) = 0.338367

Effective Dose Estimates			
#	ED (95% Limits)	Log(ED) (95% Limits)	Preparation
1	1.4458e-002(8.8250e-004,4.4559e-002)	-1.83990(-3.05429,-1.35106)	ier_chlor_s2_affirm
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation
1	3.2430e-002(3.6801e-003,7.9701e-002)	-1.48905(-2.43414,-1.09853)	ier_chlor_s2_affirm
#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	4.9888e-002(7.8333e-003,1.0929e-001)	-1.30201(-2.10606,-0.96140)	ier_chlor_s2_affirm
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	2.2792e-001(1.0125e-001,3.7001e-001)	-0.64222(-0.99460,-0.43179)	ier_chlor_s2_affirm
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	1.0413e+000(6.3058e-001,2.5998e+000)	0.01756(-0.20026, 0.41493)	ier_chlor_s2_affirm
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	1.6018e+000(9.0482e-001,5.2884e+000)	0.20460(-0.04344, 0.72333)	ier_chlor_s2_affirm
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	3.5930e+000(1.6841e+000,2.1192e+001)	0.55546(0.22638, 1.32618)	ier_chlor_s2_affirm
Effective Dose Estimates			
#	ED80 (95% Limits)	Log(ED80) (95% Limits)	Preparation
1	6.1812e-001(3.8156e-001,1.1743e+000)	-0.20893(-0.41844, 0.06977)	ier_chlor_s2_affirm
Natural Response and Immunity Rate Estimates			
#	Proportion (95% Limits)	Description	
C	0.125543(0.000000,0.261974)	Natural Response Rate	

Probit ανάλυση για το indoxacarb στον πληθυσμό IEP 14-3	
*** PriProbit ver.1.63 ***	
Distribution Function, Model (Activated Parameters) and Variances	
1: Normal, 2: All / Nothing (a, b, C:Natural Response Rate),	
1: SAS Equivalent	
Configuration	
1	Preparations
1	Variates
6	Dose Groups, of which:
6 refer to	ier_14_3_incox

Optimization Algorithm

Davidon-Fletcher-Powell (Variable Metric Method)

The Maximum Log-Likelihood

 $\hat{L} = -56.8113518$ Iterations : 7

Akaike's Information Criterion

AIC= 119.6227035 m = 3

Observed and Expected Frequencies

1. ier_14_3_incox

#	Dose	Log(Dose)	n	r.obs	r.exp	Dev.	p.obs	p.exp
1	0.0000e+000	-	32	1	0.869	0.131	0.0313	0.0272
2	1.0000e-001	-1.00000	32	1	0.875	0.125	0.0313	0.0273
3	3.0000e-001	-0.52288	31	1	1.060	-0.060	0.0323	0.0342
4	1.0000e+000	0.00000	28	2	3.908	-1.908	0.0714	0.1396
5	3.0000e+000	0.47712	31	19	15.228	3.772	0.6129	0.4912
6	1.0000e+001	1.00000	31	26	27.480	-1.480	0.8387	0.8864

Pearson Chi-square Test on Sum of Squares

	DF	SS	MS	p
Heterogeneity	3	3.6635029	1.2211676	0.3001672

Likelihood Ratio Chi-square Test

	DF	LR	MLR	p
Heterogeneity	3	3.8051402	1.2683801	0.2832888

* Chi-square Test on SS (Pearson Test) is adopted.

* Since heterogeneity is small ($p > 0.050$), a normal deviate is used.

Parameter Estimates

#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
a1	-1.1975357	0.2838173	17.8032455	0.0000	ier_14_3_incox
b	2.3890682	0.4332472	30.4078336	0.0000	RegressionCoefficient
C	0.0271659	0.0169146			Natural Response Rate

Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)

	a1	b	C
a1	0.080552	(-0.819865)	(-0.271737)
b	-0.100813	0.187703	(0.196941)
C	-0.001305	0.001443	0.000286

Parameter Estimates					
#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
m1	0.5012564	0.0683285	53.8165805	0.0000	ier_14_3_incox
s	0.4185732	0.0759065	30.4078336	0.0000	RegressionCoefficient
C	0.0271659	0.0169146			Natural Response Rate
Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)					
	m1	s	C		
m1	0.004669	(-0.095098)	(0.210451)		
s	-0.000493	0.005762	(-0.196941)		
C	0.000243	-0.000253	0.000286		
Normal or t-Deviates (Both Tails) and Index of Regression Significance, g					
u	(0.100)	= 1.644850,	g	(0.100)	= 0.088975
u	(0.050)	= 1.959960,	g	(0.050)	= 0.126331
u	(0.010)	= 2.575830,	g	(0.010)	= 0.218197
Effective Dose Estimates					
#	ED1 (95% Limits)		Log(ED1) (95% Limits)		Preparation
1	3.3691e-001(8.8460e-002,6.5510e-001)		-0.47249(-1.05325,-0.18369)		ier_14_3_incox
#	ED5 (95% Limits)		Log(ED5) (95% Limits)		Preparation
1	6.4978e-001(2.4024e-001,1.0849e+000)		-0.18724(-0.61935, 0.03540)		ier_14_3_incox
#	ED10 (95% Limits)		Log(ED10) (95% Limits)		Preparation
1	9.2222e-001(4.0650e-001,1.4293e+000)		-0.03517(-0.39094, 0.15511)		ier_14_3_incox
#	ED50 (95% Limits)		Log(ED50) (95% Limits)		Preparation
1	3.1714e+000(2.2527e+000,4.3596e+000)		0.50126(0.35270, 0.63945)		ier_14_3_incox
#	ED90 (95% Limits)		Log(ED90) (95% Limits)		Preparation
1	1.0906e+001(7.2683e+000,2.2840e+001)		1.03768(0.86143, 1.35869)		ier_14_3_incox
#	ED95 (95% Limits)		Log(ED95) (95% Limits)		Preparation
1	1.5479e+001(9.6099e+000,3.8505e+001)		1.18975(0.98272, 1.58552)		ier_14_3_incox
#	ED99 (95% Limits)		Log(ED99) (95% Limits)		Preparation
1	2.9854e+001(1.5969e+001,1.0423e+002)		1.47500(1.20327, 2.01798)		ier_14_3_incox
Effective Dose Estimates					
#	ED80 (95% Limits)		Log(ED80) (95% Limits)		Preparation
1	7.1373e+000(5.0952e+000,1.2343e+001)		0.85354(0.70716, 1.09143)		ier_14_3_incox

Natural Response and Immunity Rate Estimates

#	Proportion (95% Limits)	Description
C	0.027166(0.000000,0.060318)	Natural Response Rate

Probit ανάλυση για το indoxacarb στον πληθυσμό IEP 14-3 Selected 2

*** PriProbit ver.1.63 ***

Distribution Function, Model (Activated Parameters) and Variances

1: Normal, 1: All / Nothing (a, b),

1: SAS Equivalent

Configuration

1 Preparations

1 Variates

6 Dose Groups, of which:

6 refer to Ier_chlor_s2_incox

Optimization Algorithm

Davidon-Fletcher-Powell (Variable Metric Method)

The Maximum Log-Likelihood

$\hat{L} = -76.1612718$ Iterations : 4

Akaike's Information Criterion

AIC= 156.3225436 m = 2

Observed and Expected Frequencies

1. Ier_chlor_s2_incox

#	Dose	Log(Dose)	n	r.obs	r.exp	Dev.	p.obs	p.exp
1	0.0000e+000	-	32	0	0.000	0.000	0.0000	0.0000
2	3.0000e-001	-0.52288	28	6	4.935	1.065	0.2143	0.1763
3	1.0000e+000	0.00000	28	8	9.907	-1.907	0.2857	0.3538
4	3.0000e+000	0.47712	28	16	15.460	0.540	0.5714	0.5521
5	1.0000e+001	1.00000	28	21	21.099	-0.099	0.7500	0.7536
6	3.0000e+001	1.47712	28	25	24.733	0.267	0.8929	0.8833

Pearson Chi-square Test on Sum of Squares					
	DF	SS	MS	p	
Heterogeneity	4	0.9185205	0.2296301	0.9218888	
Likelihood Ratio Chi-square Test					
	DF	LR	MLR	p	
Heterogeneity	4	0.9213661	0.2303415	0.9214757	
* Chi-square Test on SS (Pearson Test) is adopted.					
* Since heterogeneity is small (p> 0.050), a normal deviate is used.					
Parameter Estimates					
#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
a1	-0.3750480	0.1403621	7.1396062	0.0075	Ier_chlor_s2_incox
b	1.0607583	0.1783754	35.3641432	0.0000	RegressionCoefficient
Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)					
	a1	b			
a1	0.019702	(-0.551998)			
b	-0.013820	0.031818			
Parameter Estimates					
#	Parameter	Std. Error	Wald's Chi2	p	Description
m1	0.3535660	0.1111698	10.1150330	0.0015	Ier_chlor_s2_incox
s	0.9427218	0.1585265	35.3641432	0.0000	RegressionCoefficient
Matrix of Variances, Covariances, and (Correlations)					
	m1	s			
m1	0.012359	(-0.122215)			
s	-0.002154	0.025131			
Normal or t-Deviates (Both Tails) and Index of Regression Significance, g					
u (0.100) = 1.644850, g (0.100) = 0.076505					
u (0.050) = 1.959960, g (0.050) = 0.108625					
u (0.010) = 2.575830, g (0.010) = 0.187617					
Effective Dose Estimates					
#	ED1 (95% Limits)	Log(ED1) (95% Limits)	Preparation		
1	1.4470e-002(1.0279e-003,5.6856e-002)	-1.83953(-2.98805,-1.24523)	Ier_chlor_s2_incox		
#	ED5 (95% Limits)	Log(ED5) (95% Limits)	Preparation		
1	6.3522e-002(9.0964e-003,1.7757e-001)	-1.19707(-2.04113,-0.75064)	Ier_chlor_s2_incox		

#	ED10 (95% Limits)	Log(ED10) (95% Limits)	Preparation
1	1.3977e-001(2.8812e-002,3.2894e-001)	-0.85458(-1.54042,-0.48289)	Ier_chlor_s2_incox
#	ED50 (95% Limits)	Log(ED50) (95% Limits)	Preparation
1	2.2572e+000(1.2964e+000,3.7559e+000)	0.35357(0.11273, 0.57471)	Ier_chlor_s2_incox
#	ED90 (95% Limits)	Log(ED90) (95% Limits)	Preparation
1	3.6451e+001(1.6729e+001,1.4953e+002)	1.56171(1.22347, 2.17472)	Ier_chlor_s2_incox
#	ED95 (95% Limits)	Log(ED95) (95% Limits)	Preparation
1	8.0206e+001(3.1157e+001,4.7108e+002)	1.90421(1.49356, 2.67309)	Ier_chlor_s2_incox
#	ED99 (95% Limits)	Log(ED99) (95% Limits)	Preparation
1	3.5210e+002(9.7760e+001,4.1494e+003)	2.54666(1.99016, 3.61799)	Ier_chlor_s2_incox
Effective Dose Estimates			
#	ED80 (95% Limits)	Log(ED80) (95% Limits)	Preparation
1	1.4028e+001(7.6682e+000,3.8278e+001)	1.14698(0.88469, 1.58295)	Ier_chlor_s2_incox