



**ΕΛΛΗΝΙΚΟ ΜΕΣΟΓΕΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ**

**ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ**

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών**

**"Εφαρμοσμένη Επιστήμη και Τεχνολογία στη Γεωπονία"**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

**Η ανθεκτικότητα των αρθρόποδων στα φυτοφάρμακα  
και τα μέτρα ελέγχου της ανάπτυξής της  
Μελέτες περιπτώσεων στην Ελλάδα**

**ΓΕΝΟΒΕΦΑ ΜΗΤΣΙΟΥ**

**ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΕΥΑΓΓΕΛΟΣ ΚΑΠΕΤΑΝΑΚΗΣ**

**ΝΟΕΜΒΡΙΟΣ 2020**



ΚΑΘΗΓΗΤΕΣ ΤΡΙΜΕΛΟΥΣ ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ

ΚΑΘ. Ευάγγελος Καπετανάκης

ΚΑΘ. Δημήτριος Κολλάρος

ΚΑΘ. Ελευθέριος Αλυσσανδράκης

## Περιεχόμενα

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	6
SUMMARY .....	7
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	8
1. Η ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΡΘΡΟΠΟΔΩΝ.....	11
1.1. Ορισμός ανθεκτικότητας .....	11
1.2. Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας .....	12
1.3. Δράση των εντομοκτόνων .....	13
1.4. Τύποι ανθεκτικότητας.....	14
1.5. Μηχανισμοί ανθεκτικότητας .....	14
1.5.1. Ανθεκτικότητα συμπεριφοράς .....	14
1.5.2. Ανθεκτικότητα διείδυσης .....	15
1.5.3. Μεταβολική ανθεκτικότητα.....	15
1.5. 4.Μείωση ευαισθησίας του στόχου δράσης.....	18
2. Η ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ ΤΑ ΜΕΤΡΑ ΑΠΟΤΡΟΠΗΣ/ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΣΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ .....	21
2.1. Γενικά .....	21
2.2. Αρχές Προγραμμάτων Ολοκληρωμένης Διαχείρισης.....	23
2.2.1. Πρόληψη προσβολής και/ ή καταστολή των πληθυσμών των επιβλαβών οργανισμών...	23
2.2.2.Παρακολούθηση (Monitoring) .....	24
2.2.3. Μη χημικά μέσα καταπολέμησης.....	26
2.2.4. Επιλογή φυτοφαρμάκων .....	28
2.2.5. Μειωμένη χρήση των φυτοφαρμάκων στο ελάχιστο απαραίτητο .....	29
2.2.6. Γεωργία ακριβείας .....	29
2.2.7. Αξιολόγηση .....	32
3. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΑΡΘΡΟΠΟΔΩΝ .....	33
3.1. Γενικά .....	33
3.2. Μέθοδοι διάγνωσης της ανθεκτικότητας.....	34
3.2.1. Βιοδοκιμές .....	34
3.2.2. Βιοχημικές δοκιμές .....	35
3.2.3. Μοριακές δοκιμές.....	36

3.3. Διαχείριση της ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα (Insecticide Resistance Management, IRM).....	37
4. ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΩΝ ΑΡΘΡΟΠΟΔΩΝ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ ..	40
4.1. ENTOMA ΚΑΙ ΑΚΑΡΕΑ ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ .....	41
4.1.1. <i>Helicoverpa armigera</i> (πράσινο σκουλήκι του βαμβακιού) .....	41
4.1.2. <i>Myzus persicae</i> (πράσινη αφίδα της ροδακινιάς) .....	42
4.1.3. <i>Trialeurodes vaporariorum</i> (λευκή μύγα ή αλευρώδης του θερμοκηπίου).....	43
4.1.4. <i>Cydia pomonella</i> (καρπόκαψα της μηλιάς) .....	44
4.1.5. <i>Tetranychus urticae</i> (κίτρινος τετράνυχος).....	45
4.1.6. <i>Bactrocera oleae</i> (δάκος της ελιάς) .....	46
4.1.7. <i>Bemisia tabaci</i> (αλευρώδης του καπνού).....	47
4.1.8. <i>Tuta absoluta</i> (τούτα ή υπονομευτής της τομάτας).....	48
4.2. ENTOMA ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ.....	50
4.2.1. <i>Aedes albopictus</i> (Κουνούπι τίγρης) - <i>Culex pipiens</i> .....	50
5. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΠΡΑΚΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΕΩΝ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΕΣ ΚΑΙ ΓΕΩΠΟΝΟΥΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	52
Οδηγίες για καλλιεργητές.....	52
Οδηγίες για γεωπόνους.....	57
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	59
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	60

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Οι ανεπαρκώς ελεγχόμενοι πληθυσμοί των εντόμων και των ακάρεων μπορεί να έχουν σοβαρό αντίκτυπο στην επισιτιστική ασφάλεια (αρθρόποδα γεωργικού ενδιαφέροντος) και τη δημόσια υγεία (αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας). Για τον περιορισμό της ζημιογόνου δράσης των αρθρόποδων αυτών συνήθως είναι απαραίτητη η στοχευμένη ανθρώπινη παρέμβαση. Αυτή σε πολλές περιπτώσεις κατά κύριο λόγο συνίσταται στην εφαρμογή χημικών σκευασμάτων, εντομοκτόνων και ακαρεοκτόνων. Κάθε χρόνο δαπανώνται σε παγκόσμια κλίμακα μεγάλα ποσά σε αυτά τα χημικά προϊόντα και στην εφαρμογή τους, αυξάνοντας σημαντικά το κόστος παραγωγής γεωργικών προϊόντων και την προστασία της δημόσιας υγείας, με πολύ σημαντική ζημιογόνα επίδραση στο περιβάλλον. Παρά τα θετικά τους αποτελέσματα στην αντιμετώπιση των εντόμων και ακάρεων, η μη ορθολογική και παρατεταμένη χρήση των φυτοφαρμάκων αυτών έχει αποδειχθεί ότι σε πολλές περιπτώσεις οδηγεί στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα έντομα και τα ακάρεα εναντίον των οποίων τα φυτοφάρμακα εφαρμόζονται.

Η ανθεκτικότητα στα φυτοφάρμακα αποτελεί ένα διαρκώς αυξανόμενο παγκόσμιο πρόβλημα. Συνίσταται στη μείωση της ευαισθησίας ενός πληθυσμού ενός είδους εντόμου ή ακάρεος σε ένα φυτοφάρμακο (και στα συγγενή του) λόγω φυσικής επιλογής των λιγότερο ευαίσθητων ατόμων του πληθυσμού, μετά από επανειλημμένη έκθεση του πληθυσμού αυτού στο φυτοφάρμακο. Η καλύτερη κατανόηση του φαινομένου της ανθεκτικότητας είναι απαραίτητη για την εκπόνηση ολοκληρωμένων τοπικών σχεδίων δράσης με στόχο την πρόληψη, επιβράδυνση ή και αναστροφή της ανάπτυξης της ανθεκτικότητας των αρθρόποδων. Στόχος είναι η παράταση της ωφέλιμης ζωής των παρασιτοκτόνων δια της αποφυγής της ανάπτυξης ανθεκτικότητας των αρθρόποδων σε αυτά. Προϋπόθεση για την ανάσχεση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας αποτελεί η συνεχής επιμόρφωση τόσο των καλλιεργητών όσο και των γεωπόνων σε θέματα που άπτονται της ορθής εφαρμογής ολοκληρωμένων προγραμμάτων διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών, στα οποία περιλαμβάνονται και πρακτικές διαχείρισης της ανθεκτικότητας.

Στην παρούσα μελέτη περιγράφονται οι παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας, οι τύποι και οι φυσιολογικοί μηχανισμοί της στα έντομα και τα ακάρεα. Στη συνέχεια δίδονται οι εναλλακτικές μέθοδοι αντιμετώπισης εντόμων και ακάρεων οι οποίες, μαζί με τα εντομοκτόνα και ακαρεοκτόνα, συναποτελούν την Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση αυτών των φυτοπαράσιτων, συντελούν στη μειωμένη χρήση των φυτοφαρμάκων και κατά συνέπεια στην ανάσχεση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Σε επόμενο κεφάλαιο δίδονται συνοπτικά τα μέχρι σήμερα επιστημονικά δεδομένα για ανάπτυξη ανθεκτικότητας στη χώρα μας από σημαντικά έντομα και ακάρεα φυτοπαράσιτα και από έντομα υγειονομικής σημασίας. Τελευταία ενότητα αποτελούν οι συστάσεις για γεωπόνους και καλλιεργητές σε σχέση με την ανάσχεση της ανθεκτικότητας στις γεωργικές καλλιέργειες.

Μολονότι ο κύριος σκοπός αυτής της μελέτης ήταν η ανθεκτικότητα των αρθρόποδων γεωργικής σημασίας, λόγω της φύσης του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών μου, κρίθηκε χρήσιμο να συμπεριληφθούν και δεδομένα για αρθρόποδα υγειονομικής σημασίας, εις όφελος του αναγνώστη του παρόντος κειμένου, καθώς πολλοί Πτυχιούχοι Γεωπονίας δραστηριοποιούνται επαγγελματικά στην αντιμετώπιση αρθρόποδων υγειονομικής σημασίας.

## SUMMARY

Inadequately controlled populations of insects and mites can have a serious impact on food security (agricultural arthropod pests) and public health (arthropods harmful to human health). In order to limit the harmful effects of these pests, targeted human intervention is often necessary, in most cases. The application of synthetic chemical pesticides is usually the main control measure. Worldwide, large amounts of money are spent on insect and mite control products and their application, increasing the cost of agricultural production and the protection of human health dramatically, with a significant negative impact on the environment. Despite their positive effects on insect and mite management, the often incorrect and the prolonged use of insecticides and acaricides leads in many cases to the development of insect and mite resistance.

Resistance to pesticides is an increasing global problem. It is defined as the reduction of sensitivity of an insect or mite population to a pesticide (and its chemical 'relatives') because of natural selection of the less sensitive individuals of the population, after the repeated exposure of this population to the pesticide. A better understanding of the resistance phenomenon is needed to develop integrated local action plans to prevent, slow down or reverse the development of arthropod resistance with the aim of prolonging the useful life of the pesticide in the field. A prerequisite for the reduction of the rate of resistance development is the continuous and further education of agronomists, farmers and health insect control professionals on all issues related to the application of integrated pest management programs that will always include a resistance management component.

In the present thesis, a description is given of the factors affecting the development of resistance, its types and its physiological mechanisms in insects and mites. A short description of alternative arthropod control methods follows. These methods, together with pesticide applications, comprise Integrated Pest Management and contribute to the dramatic reduction of pesticide use, and therefore to the reduction of the resistance development rate. In the next chapter the most important cases of insect and mite resistance development in Greece are presented, for arthropods of agricultural and human health importance. The concluding chapter is a form of general instructions for agronomists and farmers in relation to measures for combating resistance in crops.

Although the main emphasis in this study has been on arthropods of agricultural importance, due to the nature of my Graduate Degree, some data on arthropods of human health importance were included for the benefit of the reader, as many Graduates of Agriculture Degree Courses are often involved in the control of pests in the human residential environment.

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Το φαινόμενο της ανθεκτικότητας δεν αποτελεί πρόβλημα που ανέκυψε τα τελευταία χρόνια. Η πρώτη παρατήρηση ανάπτυξης ανθεκτικότητας έγινε από τον εντομολόγο A. L. Melander το 1914. Ο ερευνητής αυτός μελέτησε την αντίδραση ενός πληθυσμού του κοκκοειδούς εντόμου *Quadraspidiotus perniciosus* (Comstock) στο θείο και κατέληξε στο συμπέρασμα ότι η συνεχής εφαρμογή του φυτοφαρμάκου αυτού είχε ως αποτέλεσμα την ανάπτυξη ανθεκτικών πληθυσμών του εντόμου. Από εκείνη την περίοδο ο αριθμός των ανθεκτικών ειδών φυτοπαράσιτων αυξάνεται με εντεινόμενους ρυθμούς μέχρι σήμερα σε διάφορες περιοχές του κόσμου. Συνολικά έχουν καταγραφεί περισσότερες από 500 περιπτώσεις ανθεκτικότητας εντόμων και ακάρεων. Είναι κρίσιμης σημασίας λοιπόν να αποκτηθούν γνώσεις σχετικά με τις παραμέτρους ανάπτυξης ανθεκτικότητας που θα συμβάλλουν στον περιορισμό της ανάπτυξής της.

Η εκπόνηση της εργασίας αυτής έγινε με τη μέθοδο της βιβλιογραφικής και επικουρικής διαδικτυακής έρευνας με στόχους: την περιγραφή των μηχανισμών ανθεκτικότητας που έχουν αναπτύξει τα έντομα και ακάρεα, την κατανόηση των μέτρων που πρέπει να ληφθούν ώστε να προληφθεί ή να καθυστερήσει ή και να αναστραφεί η ανάπτυξη της ανθεκτικότητας, καθώς και μια πρόταση επί των στρατηγικών που πρέπει να ακολουθηθούν σε περίπτωση εμφάνισης της ανθεκτικότητας, την καταγραφή των εντόμων που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην Ελλάδα και τέλος την παρουσίαση οδηγιών προς γεωπόνους και καλλιεργητές.

Ο σκοπός της παρούσας μεταπτυχιακής διπλωματικής εργασίας είναι κατ' αρχάς η περιγραφή των μεθόδων ανάπτυξης ανθεκτικότητας των αρθρόποδων στις διάφορες κατηγορίες φυτοφαρμάκων η οποία και δίδεται στο πρώτο κεφάλαιο της εργασίας. Οι μηχανισμοί αυτοί επιγραμματικά είναι οι εξής:

- α) Η ανθεκτικότητα συμπεριφοράς. Μεταβάλλεται η συμπεριφορά του φυτοπαράσιτου με αποτέλεσμα να αποφεύγει την επαφή με το φυτοφάρμακο στην καλλιέργεια.
- β) Ο περιορισμός της διείσδυσης της δραστικής ουσίας του φυτοφαρμάκου και των τοξικών μεταβολιτών του στο σώμα του φυτοπαράσιτου. Στην περίπτωση αυτή οι αλλαγές στη δομή και τη σύνθεση του εξωτερικού περιβλήματος του σώματος του φυτοπαράσιτου συντελούν στη μείωση της ποσότητας των τοξικών ουσιών που απορροφώνται.
- γ) Η βιοχημική ανθεκτικότητα (ανθεκτικότητα μεταβολισμού) που οφείλεται στην έντονη δράση ενζύμων αποτοξικοποίησης, τα οποία διασπούν ή δεσμεύουν το εντομοκτόνο πριν φτάσει στον στόχο του μέσα στο σώμα του φυτοπαράσιτου .
- δ) Η ανθεκτικότητα τροποποίησης στόχου. Αλλαγές αμινοξέων μεταβάλλουν τη δομή του στόχου του φυτοφαρμάκου μέσα στο σώμα του φυτοπαράσιτου ελαττώνοντας σημαντικά την αποτελεσματικότητά του.

Στο δεύτερο κεφάλαιο θα αναφερθούν τα γενικότερα μέτρα που συμβάλλουν στην αποτροπή ή την καθυστέρηση ανάπτυξης ανθεκτικών πληθυσμών αρθρόποδων, στα πλαίσια των στρατηγικών διαχείρισης των εντομολογικών προσβολών. Προς αυτή την κατεύθυνση έχουν αναπτυχθεί τα συστήματα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης των Καλλιεργειών στα οποία η Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση των Φυτοπαράσιτων περιλαμβάνει και μέτρα Διαχείρισης της Ανθεκτικότητας των εντόμων στα εντομοκτόνα. Εν περιλήψει, απαιτούνται τα ακόλουθα: α) πρόληψη και/ή καταστολή των βλαβερών οργανισμών μέσω καλλιεργητικών πρακτικών, β) παρακολούθηση αρχικών προσβολών και πληθυσμών με χρήση παγίδων κ.ά., γ) μη χημικά μέσα καταπολέμησης, όπως ο κλασικός βιολογικός έλεγχος, με εισαγωγή αύξηση και διατήρηση του αριθμού των ήδη φυσικών



εχθρών, η διατάραξη σύζευξης των φυτοπαράσιτων κ.ά., δ) επιλογή κατάλληλου εντομοκτόνου, και ορθολογική και μειωμένη χρήση αυτού, εφαρμογή τεχνολογιών και διαδικασιών γεωργίας ακριβείας και τέλος, αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας κάθε προγράμματος.

Στο τρίτο κεφάλαιο γίνεται αναφορά των χειρισμών για αποτελεσματική καταπολέμηση στις περιπτώσεις ανάπτυξης υψηλής ανθεκτικότητας. Οι διαγνωστικές μέθοδοι απαιτείται να είναι ακριβείς, αξιόπιστες και να επιτρέπουν την ανίχνευση των ανθεκτικών γονοτύπων όσο η συχνότητά τους είναι αρκετά χαμηλή. Έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι μέσω των οποίων μπορεί να διαπιστωθεί η ύπαρξη ανθεκτικότητας σε κάποιο αρθρόποδο. Οι κυριότερες από αυτές επιγραμματικά είναι οι εξής: α) οι βιοδοκιμές, β) οι βιοχημικές δοκιμές, και γ) οι μοριακές δοκιμές. Εφόσον γίνουν αντιληπτά περιστατικά ανθεκτικότητας σε πληθυσμούς εντόμων, είναι απαραίτητη η διαχείριση της ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα (Insecticide Resistance Management, IRM) με μεθόδους όπως: η εναλλαγή των εντομοκτόνων, η χρήση μωσαϊκού εντομοκτόνων, η θανάτωση λιγότερων ευπαθών εντόμων του πληθυσμού, η στρατηγική υψηλής δόσης σε συνδυασμό με φυτά καταφύγια και η χρήση συνεργιστικών ουσιών.

Στο δεύτερο μέρος της διατριβής θα παρουσιαστούν μελέτες περιπτώσεων εντόμων και ακάρεων που τεκμηριωμένα παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στην Ελλάδα. Στα έντομα αγροτικού ενδιαφέροντος περιλαμβάνονται τα εξής: 1) *Helicoverpa armigera* (πράσινο σκουλήκι του βαμβακιού), 2) *Myzus persicae* (πράσινη αφίδα της ροδακινιάς), 3) *Trialeurodes vaporariorum* (λευκή μύγα ή αλευρώδης του θερμοκηπίου), 4) *Cydia pomonella* (καρπόκαψα της μηλιάς), 5) *Tetranychus urticae* (κίτρινος τετράνυχος), 6) *Bactrocera oleae* (δάκος της ελιάς), 7) *Bemisia tabaci* (αλευρώδης του καπνού), 8) *Tuta absoluta* (υπονομευτής της τομάτας). Στα έντομα υγειονομικής σημασίας, τα είδη κουνουπιών *Aedes albopictus* και *Culex pipiens*.

Στο τελευταίο κεφάλαιο της εργασίας παρουσιάζονται προτάσεις πρακτικής καταπολεμήσεων για διαχείριση της ανθεκτικότητας για καλλιεργητές και γεωπόνους που συνιστώνται από την διεθνή επιτροπή IRAC (Insecticide Resistance Action Committee). Τέλος, η εργασία ολοκληρώνεται με την παρουσίαση των συμπερασμάτων που εξήχθησαν από τη μελέτη του φαινομένου.

Ας σημειωθεί ότι όπου στο γενικό μέρος αυτού του κειμένου γίνεται αναφορά σε έντομο-έντομα, υπονοείται ότι παρόμοια ισχύουν και για τα ακάρεα. Αυτό δεν ισχύει για τις ειδικές αναφορές σε συγκεκριμένα είδη εντόμων ή σε συγκεκριμένα είδη ακάρεων.



# 1. Η ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΑΡΘΡΟΠΟΔΩΝ

## 1.1. Ορισμός ανθεκτικότητας

Η ικανότητα ενός πληθυσμού/στελέχους εντόμου να αναπτύσσει μηχανισμούς αντίστασης απέναντι στα εντομοκτόνα, που του επιτρέπουν να επιβιώνει μετά από έκθεση στις δραστικές ουσίες τους, οι οποίες φυσιολογικά θα έπρεπε να οδηγήσουν στη θανάτωσή του ονομάζεται ανθεκτικότητα (Karatolos,2011;Ηλίας,2014). Η Επιτροπή Δράσης για την Ανθεκτικότητα κατά των εντομοκτόνων (IRAC) ορίζει την ανθεκτικότητα ως «*μια κληρονομούμενη αλλαγή στην ευαισθησία ενός πληθυσμού παρασίτων που αντανακλάται στην επαναλαμβανόμενη αποτυχία ενός προϊόντος να επιτύχει το αναμενόμενο επίπεδο ελέγχου όταν χρησιμοποιείται σύμφωνα με τη σύσταση της ετικέτας για το συγκεκριμένο είδος επιβλαβούς οργανισμού*» ([www.irac-online.org](http://www.irac-online.org) , αναδίφηση 26.01.2019).

Η ιδιότητα της ανθεκτικότητας αποτελεί ουσιαστικά μια μικροεξελικτική διαδικασία κατά την οποία υπό την πίεση επιλογής των εντομοκτόνων επιλέγονται αλληλόμορφα γονίδια που προσδίδουν ανθεκτικότητα σε κάποια έντομα (Ηλίας,2014;Βουδούρης,2009;Hollingworth and Dong,2008). Συνέπεια της διαδικασίας επιλογής είναι, με την πάροδο των γενεών, πληθυσμοί εντόμων που χαρακτηρίζονταν ευπαθείς να καθίστανται πλέον ανθεκτικοί (Ηλίας,2014). Δεδομένου του κληρονομικού χαρακτήρα της ανθεκτικότητας, οι μεταγενέστερες της μητρικής γενεές θα παρουσιάζουν αυξητικές τάσεις όσον αφορά στον αριθμό των ανθεκτικών ατόμων έως το σημείο που δε θα είναι πλέον δυνατός ο έλεγχος του εντόμου με το συγκεκριμένο εντομοκτόνο στις εγκεκριμένες δόσεις εφαρμογής του (Georghiou and Taylor,1986). Τα εντομοκτόνα επιδρούν είτε στο νευρικό σύστημα, που ρυθμίζει φυσιολογικές λειτουργίες και τη συμπεριφορά του εντόμου, είτε στο ορμονικό σύστημα επηρεάζοντας λειτουργίες όπως η έκδυση, η βιοσύνθεση χιτίνης, κ. ά. Στόχος είναι η παρεμπόδιση/διακοπή της λειτουργίας των συστημάτων του εντόμου και η ανάσχεση αύξησης του πληθυσμού του. Συχνά όμως το αποτέλεσμα της εφαρμογής του εντομοκτόνου είναι ο θάνατος των ευαίσθητων ατόμων και ταυτόχρονα η επιβίωση των ατόμων του πληθυσμού που φέρουν γονίδια ανθεκτικότητας (Konanz,2009).

Τα γονίδια ανθεκτικότητας προϋπάρχουν στους πληθυσμούς των εντόμων, έστω και σε πολύ μικρό ποσοστό, ανεξάρτητα από την έκθεσή τους στα εντομοκτόνα. Υπό την πίεση επιλογής ενός εντομοκτόνου επιβιώνουν τα έντομα που φέρουν αυτά τα γονίδια, τα οποία στη συνέχεια μέσω της αναπαραγωγής μεταβιβάζονται στις επόμενες γενιές (Liu et al.,2006). Η υπερβολική και λανθασμένη χρήση των εντομοκτόνων οδηγεί στην αύξηση της συχνότητας εμφάνισης ανθεκτικών ατόμων σε ένα πληθυσμό εντόμων (Karatolos,2011). Αυτό μεταφράζεται σε χρήση σημαντικά μεγαλύτερων ποσοτήτων εντομοκτόνου προκειμένου να ελεγχθεί αποτελεσματικά ο πληθυσμός και τελικά στην αχρήστευση αυτού του εντομοκτόνου και των χημικά συγγενών του και στην αφαίρεσή τους από την πράξη της εφαρμογής. Έχει τεκμηριωθεί η ύπαρξη επιβλαβών εντόμων αγροτικού ενδιαφέροντος και αστικού περιβάλλοντος που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα σε σημαντικό αριθμό ενεργών συστατικών τα οποία σε κάποιες περιπτώσεις ξεπερνούν τα 90 (*Tetranychus urticae*, *Plutella xylostella*)(Πίνακας).

Πίνακας: Τα 20 πιο ανθεκτικά έντομα και ακάρεα στα φυτοφάρμακα.

Σειρά	Κοινή ονομασία	Επιστημονική ονομασία	Αριθμός*	Οικοσύστημα
1	Two-spotted spider mite	<i>Tetranychus urticae</i>	96	Αγροτικό
2	Diamondback moth	<i>Plutella xylostella</i>	97	Αγροτικό
3	Green peach aphid	<i>Myzus persicae</i>	80	Αγροτικό
4	House fly	<i>Musca domestica</i>	64	Αστικό
5	Colorado potato beetle	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	56	Αγροτικό
6	Sweetpotato whitefly	<i>Bemisia tabaci</i>	65	Αγροτικό
7	Southern cattle tick	<i>Rhipicephalus microplus</i>	50	Αγροτικό
8	Cotton aphid	<i>Aphis gossypii</i>	50	Αγροτικό
9	Corn bollworm	<i>Helicoverpa armigera</i>	48	Αγροτικό
10	European red mite	<i>Panonychus ulmi</i>	48	Αγροτικό
11	German cockroach	<i>Blattella germanica</i>	43	Αστικό
12	Southern house mosquito	<i>Culex quinquefasciatus</i>	41	Αστικό
13	Beet armyworm	<i>Spodoptera exigua</i>	43	Αγροτικό
14	Oriental leafworm moth	<i>Spodoptera litura</i>	42	Αγροτικό
15	House mosquito	<i>Culex pipiens pipiens</i>	36	Αστικό
16	Yellow fever mosquito	<i>Aedes aegypti</i>	37	Αστικό
17	Tobacco budworm	<i>Heliothis virescens</i>	35	Αγροτικό
18	Hop aphid	<i>Phorodon humuli</i>	34	Αγροτικό
19	Red flour beetle	<i>Tribolium castaneum</i>	33	Αστικό
20	African cotton leafworm	<i>Spodoptera littoralis</i>	31	Αγροτικό

\*Αριθμός ενεργών συστατικών στα οποία έχει διαπιστωθεί αποδεδειγμένη ανθεκτικότητα ([www.irac-online.org](http://www.irac-online.org)).

## 1.2. Παράγοντες που επηρεάζουν την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας

Ο ρυθμός εξέλιξης της ανθεκτικότητας δεν είναι ίδιος σε όλες τις τάξεις εντόμων δεδομένου ότι υπάρχουν είδη στα οποία αναπτύσσεται σε σύντομο χρονικό διάστημα και άλλα που χρειάζονται αρκετά χρόνια έκθεσης σε ένα συγκεκριμένο εντομοκτόνο ώστε να γίνουν ανθεκτικά (Georghiou and Taylor,1986).

Οι παράμετροι που καθορίζουν το φαινόμενο της ανθεκτικότητας είναι γενετικοί, βιολογικοί/οικολογικοί και λειτουργικοί (Feyereisen,2015;Karaağas,2012). Στους γενετικούς παράγοντες περιλαμβάνονται η συχνότητα και η κυριαρχία των γονιδίων ανθεκτικότητας, καθώς και η προηγούμενη επιλογή από άλλα εντομοκτόνα. Η ανάπτυξη της ανθεκτικότητας αποτελεί γενετική διαδικασία κατά την οποία γενετικές μεταλλάξεις, που επιτρέπουν την επιβίωση μέρους του πληθυσμού του παράσιτου από τις επιπτώσεις του φυτοφάρμακου, μέσω της αναπαραγωγής κληρονομούνται στις επόμενες γενιές. Το γενετικό γνώρισμα που επιτρέπει την επιβίωση του εντόμου δύναται να βρεθεί σε ένα ή και στα δυο αλληλόμορφα του γονιδίου. Αν υποθεθεί ότι το αλληλόμορφο που προσφέρει το γνώρισμα της ανθεκτικότητας είναι το (R) τότε το ευαίσθητο θα είναι το (S) (FAO,2012).

Τα αλληλόμορφα γονίδια ανθεκτικότητας μπορούν να είναι κυρίαρχα, ημι-κυρίαρχα ή υπολειπόμενα. Στην περίπτωση των κυρίαρχων και ημι-κυρίαρχων απαιτείται μόνο ο ένας γονέας

να έχει το χαρακτηριστικό ώστε να εκφραστεί πλήρως ή μερικώς στον απόγονο. Αντίθετα, όταν το αλληλόμορφο γονίδιο είναι υπολειπόμενο τότε πρέπει να το διαθέτουν και οι δυο γονείς. Όταν το παράσιτο λαμβάνει αλληλόμορφα γονίδια ανθεκτικότητας (R) και από τους δυο γονείς θα είναι ομόζυγα ανθεκτικό (RR) και κατά συνέπεια ιδιαιτέρως ανθεκτικό στο φυτοφάρμακο. Αν το χαρακτηριστικό της ανθεκτικότητας βρίσκεται σε έναν μόνο από τα αλληλόμορφα γονίδια του γονέα (RS) το παράσιτο θα είναι ετερόζυγα ανθεκτικό με αποτέλεσμα μικρότερο ποσοστό ανθεκτικότητας στο φυτοπροστατευτικό προϊόν, ενώ τα παράσιτα που είναι ομόζυγα ευπαθή (SS) είναι ευαίσθητα στο φυτοφάρμακο (FAO,2012).

Όσον αφορά στους βιολογικούς/οικολογικούς παράγοντες, είναι σημαντικός ο αριθμός των γενεών του εντόμου ανά έτος, ο αριθμός απογόνων σε κάθε γενιά, η μετακίνηση, η μονοφαγία ή πολυφαγία του εντόμου και η ύπαρξη καταφυγίων του εντόμου στην περιοχή (Georghiou and Taylor,1986). Οι γενετικοί παράγοντες είναι εμφανές ότι δεν μπορούν να ελεγχθούν από τον άνθρωπο, αλλά και για τους βιολογικούς/οικολογικούς οι δυνατότητες είναι συχνά περιορισμένες.

Αντίθετα, οι λειτουργικοί παράγοντες, που σχετίζονται κυρίως με τον τρόπο και χρόνο εφαρμογής του εντομοκτόνου που χρησιμοποιείται σε κάθε επέμβαση, μπορούν με διάφορους μηχανισμούς διαχείρισης να οδηγήσουν στην καθυστέρηση εμφάνισης της ανθεκτικότητας. Ειδικότερα, η χημική δομή του εντομοκτόνου, η υπολειμματική δράση του και η δόση, σε συνδυασμό με τη συχνότητα και τον τρόπο εφαρμογής του αποτελούν στοιχεία, ο χειρισμός των οποίων είναι ιδιαιτέρως σημαντικός για την κατάρτιση προγραμμάτων ολοκληρωμένης αντιμετώπισης των εντόμων (Georghiou and Taylor,1986).

### **1.3. Δράση των εντομοκτόνων**

Στόχος των εντομοκτόνων είναι ο περιορισμός στο ελάχιστο των αρνητικών συνεπειών των εντομολογικών προσβολών στην παραγωγή μιας καλλιέργειας. Η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται από διάφορους παράγοντες όπως το στάδιο ανάπτυξης και η συμπεριφορά του εντόμου, η θερμοκρασία και η εποχή εφαρμογής του εντομοκτόνου, η ομοιογένεια και η μέθοδος διασποράς του. Επιπλέον, σημαντικό ρόλο έχει και η επαφή του εντόμου με το εκάστοτε σκεύασμα καθώς και η είσοδος της δραστικής ουσίας στο σώμα του. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων η είσοδος πραγματοποιείται μέσω της δερμίδας (cuticula) του εντόμου, της κατάποσης (per os) και της αναπνοής. Επόμενα στάδια, μετά την πρόσληψη του φαρμάκου, είναι η διάχυση, η αποθήκευση και ο μεταβολισμός του στους εσωτερικούς ιστούς του εντόμου και τέλος η αλληλεπίδραση των μορίων του εντομοκτόνου ή/και των μεταβολιτών του με τον στόχο δράσης (σύστημα και θέση εντός του σώματος του εντόμου). Συνηθέστερος στόχος είναι διάφορα σημεία του νευρικού συστήματος, όπως τα τασσοενεργά ιοντικά κανάλια νατρίου (voltage gated sodium channels), τα κανάλια ασβεστίου, οι νικοτινικοί υποδοχείς ακετυλοχολίνης και οι υποδοχείς οκτοπαμίνης. Επί της ουσίας, η ανθεκτικότητα αποτελεί το αποτέλεσμα της ικανότητας των εντόμων να αναπτύσσουν μηχανισμούς που τους επιτρέπουν να εμποδίσουν ένα ή όλα τα παραπάνω στάδια της πορείας και δράσης του εντομοκτόνου (Simon,2008).

## 1.4. Τύποι ανθεκτικότητας

Ανάλογα με τη δραστική ουσία του εντομοκτόνου και τους μηχανισμούς που αναπτύσσουν τα έντομα, πέραν της απλής ανθεκτικότητας σε ένα μόνο εντομοκτόνο, διακρίνονται οι ακόλουθοι τύποι ανθεκτικότητας: α) Πολλαπλή, β) Διασταυρωτή και γ) Αρνητική διασταυρωτή ανθεκτικότητα (negative cross resistance).

Ο όρος πολλαπλή ανθεκτικότητα χρησιμοποιείται για να περιγράψει περιπτώσεις εντόμων που έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα σε περισσότερες από μια τοξικές ουσίες στις οποίες έχουν εκτεθεί. Αποτελεί το αποτέλεσμα των επαναλαμβανόμενων εφαρμογών πολλών διαφορετικών εντομοκτόνων και οφείλεται στη συνύπαρξη περισσότερων του ενός μηχανισμού ανθεκτικότητας στο ίδιο άτομο, όπως συμβαίνει στην πράσινη αφίδα της ροδακινιάς *Myzus persicae* (Silva et al.,2012).

Η διασταυρωτή ανθεκτικότητα αναφέρεται στην περίπτωση όπου ένα έντομο γίνεται ανθεκτικό σε ένα εντομοκτόνο και αυτό με τη σειρά του οδηγεί στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε ένα άλλο χημικά συγγενές εντομοκτόνο, στο οποίο το έντομο δεν έχει εκτεθεί. Αφορά σε εντομοκτόνα που δρουν με τον ίδιο μηχανισμό και κατ' επέκταση έχουν τον ίδιο στόχο δράσης. Αυτός ο τύπος ανθεκτικότητας έχει ταυτοποιηθεί σε πληθυσμούς πολλών διαφορετικών εντόμων. Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα της μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata* σε οργανοφωσφορικά, πυρεθροειδή και καρβαμιδικά εντομοκτόνα (Couso-Ferrer et al.,2011).

Στην αρνητική διασταυρωτή ανθεκτικότητα η ύπαρξη ενός αλληλόμορφου σε ένα έντομο συνδέεται με δυο διαφορετικά αποτελέσματα: Ανθεκτικότητα σε μια τοξική χημική ουσία και παράλληλα εμφάνιση υπερευαισθησίας σε κάποια άλλη (Pittendrigh et al.,2008). Παρατηρείται σε αρκετές τοξικές ουσίες και έντομα, όπως στην καρπόκαψα της μηλιάς *Cydia pomonella* (Dunley and Welter,2000) και στον τετράνυχχο *Tetranychus urticae* (Hatano et al.,1992).

## 1.5. Μηχανισμοί ανθεκτικότητας

Οι βασικοί μηχανισμοί άμυνας που έχουν αναπτύξει τα έντομα με στόχο να προστατευτούν από τις βλαβερές επιδράσεις των εντομοκτόνων κατατάσσονται στις εξής κατηγορίες: α) Ανθεκτικότητα συμπεριφοράς, β) Ανθεκτικότητα διείσδυσης, γ) Μεταβολική ανθεκτικότητα και δ) Μείωση ευαισθησίας στόχου δράσης (Εικόνα 1)(Sagri,2015).

### 1.5.1. Ανθεκτικότητα συμπεριφοράς

Η ανθεκτικότητα συμπεριφοράς συνίσταται στην τροποποίηση της φυσιολογικής συμπεριφοράς των εντόμων ως αποτέλεσμα της επίδρασης των εντομοκτόνων. Χαρακτηριστικό αυτής της αλλαγής είναι η διακοπή διατροφής των εντόμων καθώς και η μετακίνησή τους σε περιοχές του φυτού όπου

δεν έχει εφαρμοστεί εντομοκτόνο. Ζητούμενο της νέας συμπεριφοράς είναι η αποφυγή της πιθανότητας μιας εκ νέου επαφής με το φυτοπροστατευτικό προϊόν (Sagri,2015;Zalucki and Furlong,2017). Έχουν περιγραφεί περιπτώσεις αυτού του τύπου ανθεκτικότητας σε διάφορες κατηγορίες εντομοκτόνων όπως οργανοχλωριωμένα, οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά και πυρεθροειδή (Gómez-Guzmán et al.,2017;Liu et al.,2006). Αφορούν κατά κύριο λόγο σε έντομα όπως η κερατόμυγα (horn fly), *Haematobia irritans* (Lockwood et al.,1985), η γερμανική κατσαρίδα *Blattella germanica* (Ross,1992;Silverman and Bieman,1993), το κουνούπι *Anopheles gambiae* (Roberts and Andre,1994;Gatton et al.,2013) και το *Triatoma infestans* (Pedrini et al.,2009).

### 1.5.2. Ανθεκτικότητα διείσδυσης

Η ανθεκτικότητα διείσδυσης αναφέρεται σε φυσικο-χημικές αλλαγές στον εξωσκελετό του εντόμου οι οποίες συνεπάγονται την μείωση της ταχύτητας απορρόφησης των μορίων του εντομοκτόνου και τον περιορισμό της τελικής ποσότητας που θα διεισδύσει (Sagri,2015;Panini et al.,2016;Balabanidou et al.,2018). Βασικές αλλαγές του εξωσκελετού που συνδέονται με την ανάπτυξη ανθεκτικότητας είναι η μεταβολή της δομής του και συγκεκριμένα η πάχυνση (πύκνωση) και η αλλαγή της σύνθεσής του (Balabanidou et al.,2018;Panini et al.,2016). Οι μηχανισμοί που σχετίζονται με την πύκνωση του εξωσκελετού έχουν αποτελέσει αντικείμενο αρκετών μελετών. Βασίζονται κατά κύριο λόγο στην υπερέκφραση κυτοχρωμάτων P450s (CYP4G16, CYP4G17) που έχει ως αποτέλεσμα την σύνθεση και εναπόθεση επιπλέον υδρογονανθράκων στην κουτίκουλα, όπως συμβαίνει στην περίπτωση ενός ανθεκτικού πληθυσμού κουνουπιών (*Anopheles gambiae*). Επίσης, υπερέκφραση των CP πρωτεϊνών (cuticular proteins) σε πληθυσμό *Anopheles gambiae* προκάλεσε πύκνωση των χιτίνινων στρωμάτων στο σύνολό τους (exo-cuticle, meso-cuticle and endo-cuticle), η οποία συνδέθηκε με την ανθεκτικότητα σε πυρεθροειδή και DDT (Balabanidou et al.,2018).

Όσον αφορά στην μεταβολή της σύνθεσης του εξωσκελετού αυτή οφείλεται σε υπερέκφραση του γονιδίου οξειδάση laccase 2 που παίζει ρόλο στη σκλήρυνση και τον χρωματισμό του εξωσκελετού (Pan, Zhou and Mo,2009). Επίσης, η υπερέκφραση των ABC μεταφορέων μπορεί να συνδεθεί με την αύξηση των CHC (cuticular hydrocarbons) εναποθέσεων, και κατ' επέκταση με την ανθεκτικότητα διείσδυσης (Pignatelli et al.,2018). Οι προαναφερθείσες αλλαγές θεωρούνται υπεύθυνες για την αναστολή της ικανότητας διείσδυσης των εντομοκτόνων.

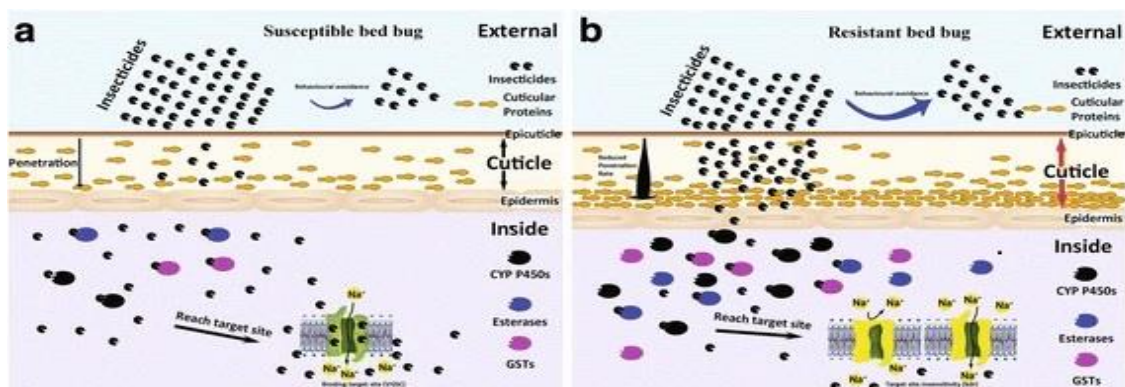
Η πολυπλοκότητα της δομής του εξωσκελετού των εντόμων σε συνδυασμό με τον σύνθετο ρόλο των γονιδίων στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας καθιστά αναγκαία την περαιτέρω διερεύνηση των μηχανισμών στους οποίους εμπλέκονται.

### 1.5.3. Μεταβολική ανθεκτικότητα

Χαρακτηριστικό της φυσιολογίας των εντόμων είναι η ύπαρξη ενζυματικών συστημάτων που δρουν προστατευτικά εναντίον των τοξικών αλληλοχημικών ουσιών των φυτών μέσω της απομόνωσης και αποτοξικοποίησής τους (Alyokhin and Chen,2017). Το γεγονός ότι οι μηχανισμοί

αυτοί προϋπάρχουν στα έντομα έχει θεωρηθεί ότι αποτελεί παράγοντα γενετικής προδιάθεσης που τους επιτρέπει να αναπτύσσουν γρηγορότερα ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα (Dermauw et al.,2018). Ωστόσο, τα αποτελέσματα αρκετών ερευνών προς αυτή τη κατεύθυνση έχουν καταλήξει στο συμπέρασμα ότι δεν υπάρχουν επαρκή στοιχεία που να αποδεικνύουν την ύπαρξη άμεσου συσχετισμού μεταξύ των μηχανισμών προσαρμογής στις δευτερογενείς ενώσεις των φυτών και την ανάπτυξη ανθεκτικότητας (Heidel-Fischer and Vogel,2015).

Η μεταβολική ανθεκτικότητα αποτελεί έναν από τους πιο διαδεδομένους μοριακούς μηχανισμούς που έχουν αναπτύξει τα έντομα και τους επιτρέπει να προστατεύονται από τα τοξικά μόρια των εντομοκτόνων. Ειδικότερα, η αυξημένη δραστηριότητα των αποτοξικοποιητικών ενζύμων εμποδίζει τα μόρια των εντομοκτόνων να φτάσουν στο στόχο τους. Επιπροσθέτως, τα ανθεκτικά έντομα μεταβολίζουν το εντομοκτόνο σε μη τοξικές ενώσεις και σε μορφή που επιτρέπει την ταχύτερη απέκκρισή τους (Karaağaç,2012;Panini et al.,2016). Η συγκεκριμένη ενέργεια μπορεί να είναι αποτέλεσμα δυο ειδών αλλαγών της ενζυμικής δραστηριότητας: α) αύξηση της ποσότητας αντιγράφων ενός συγκεκριμένου ενζύμου (π.χ. λόγω αύξησης του ρυθμού μεταγραφής) και β) αύξηση της δραστηριότητας των ενζύμων, μέσω μεταλλάξεων που βελτιώνουν την αποτοξικοποιητική τους ισχύ (Hollingworth and Dong,2008;Taylor and Feyereisen,1996).



Εικόνα 1: Μηχανισμοί ανθεκτικότητας που έχουν αναπτύξει τα επιβλαβή έντομα με στόχο την προστασία τους από τις επιβλαβείς επιπτώσεις των εντομοκτόνων.α) ευπαθές παράσιτο, β) ανθεκτικό παράσιτο (Dang et al,2017).

Ουσίες που έχει αποδειχθεί ότι συμβάλλουν πολύ σημαντικά στη μεταβολική ανθεκτικότητα των εντόμων, ανήκουν στις παρακάτω τρεις ομάδες.

### 1.5.3.1. Εστεράσες

Οι εστεράσες αποτελούν ένζυμα που ανήκουν στην οικογένεια των υδρολασών και η συμβολή τους στην ανάπτυξη μεταβολικής ανθεκτικότητας είναι ιδιαίτερα σημαντική. Βασική λειτουργία των συγκεκριμένων ενζύμων είναι η κατάλυση της υδρόλυσης των εστερικών δεσμών με συνέπεια τη μείωση ή και εξάλειψη της τοξικότητας των εντομοκτόνων (Pittendrigh et al.,2008). Η δράση τους προκαλεί ανθεκτικότητα στην πλειοψηφία των χρησιμοποιούμενων εντομοκτόνων, ωστόσο πιο διαδεδομένη είναι αυτή στα καρβαμικά και στα οργανοφωσφορικά. Έχουν προσδιοριστεί δυο



μηχανισμοί δράσης των εστερασών που συνδέονται με την ανθεκτικότητα των εντόμων: Ο ποιοτικός και ο ποσοτικός (Panini et al.,2016;Mullin and Scott,1992).

Οι ποιοτικές μεταβολές των ιδιοτήτων του ενζύμου αναφέρονται σε αλλαγές της δομής του οι οποίες του προσδίδουν την ικανότητα να αποδομεί ταχύτερα τα εντομοκτόνα (Siegfried and Scharf,2001). Αυτός ο μηχανισμός έχει περιγραφεί σε πληθυσμούς δίπτερων όπως η οικιακή μύγα, *Musca domestica*, το είδος *Lucilia cuprina* και η κοχλιόμυγα *Cochliomyia hominivorax* (Panini et al.,2016;Carvalho et al.,2006). Όσον αφορά στις ποσοτικές αλλαγές των ενζύμων, αυτές περιλαμβάνουν την αύξηση της μεταγραφής του γονιδίου και την αύξηση των αντιγράφων του γονιδίου στο γονιδίωμα, όπως σε κουνούπια του γένους *Culex* (Montela et al.,2012;Panini et al.,2016). Δεν αποκλείεται κάποιο έντομο να συνδυάζει και τα δυο είδη μεταβολών.

Χαρακτηριστικά παραδείγματα ανθεκτικότητας εντόμων αγροτικού ενδιαφέροντος, που οφείλεται στη γονιδιακή ενίσχυση (gene amplification), είναι η πράσινη αφίδα της ροδακινιάς, *Myzus persicae* (Bass et al.,2014) και το είδος *Nilaparvata lugens* (Small and Hemingway,2000). Αντίστοιχα, η υπερέκφραση εστερασών που αποδίδεται σε αυξημένα επίπεδα μεταγραφής έχει καταγραφεί σε κάποια είδη αφίδας όπως το *Aphis gossypii* και στον αλευρώδη του καπνού *Bemisia tabaci* (Cao et al.,2008;Alon et al.,2008).

#### **1.5.3.2. P450 μονοοξυγενάσες ή οξειδάσες μικτής λειτουργίας**

Μια από τις πλέον μελετημένες ομάδες ενζύμων που σχετίζονται με την αποτοξικοποίηση αρκετών τύπων εντομοκτόνων είναι οι P450 μονοοξυγενάσες (Panini et al.,2016). Πρόκειται για μικροσωμικές αιμοπρωτεΐνες των οποίων η δραστηριότητα οδηγεί στον μεταβολισμό και την αποδόμηση του εντομοκτόνου πριν ακόμη φτάσει στον στόχο του (Bergé et al.,1998). Στα έντομα απαντώνται σε διάφορους ιστούς όπως: λιπόσωμα (fat body), μαλπιγγειανοί σωλήνες (malpighian tubules) και το νευρικό σύστημα, με συχνότερη περιοχή δράσης το μέσο έντερο (midgut) (Konanz,2009;Scott,1999).

Σε αντίθεση με τις εστεράσες, η επαγόμενη από τις P450 μονοοξυγενάσες ανθεκτικότητα οφείλεται κατά κύριο λόγο στην υπερέκφραση αυτών των ενζύμων, ως αποτέλεσμα της αυξανόμενης μεταγραφής τους (Scott,1999). Μελέτες γονιδιακής έκφρασης ανθεκτικών εντόμων έδειξαν ότι η αυξημένη αποδόμηση των εντομοκτόνων είναι αποτέλεσμα του ταχύτερου ρυθμού παραγωγής πρωτεϊνών σε συνδυασμό με την υπέρμετρη μεταγραφή των γονιδίων (Liu et al.,2015).

Σημαντικός για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας φαίνεται πως είναι ο χαρακτήρας κάποιων P450 γονιδίων ορισμένων εντόμων να επάγονται υπό την επίδραση ενδογενών και εξωγενών ενώσεων. Έρευνες έχουν αποδείξει ότι η επαγωγή των P450 μονοοξυγενασών συνδέεται με την αποτοξικοποίηση των εντομοκτόνων και κατά συνέπεια την ανάπτυξη ανθεκτικότητας. Απαιτούνται περαιτέρω έρευνες προκειμένου να αποσαφηνιστεί ο ρόλος της συγκεκριμένης διαδικασίας στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας (Liu et al.,2015).

Η υπερέκφραση των ενζύμων P450 έχει συνδεθεί με την ανάπτυξη ανθεκτικότητας εντόμων από διαφορετικές Τάξεις όπως: *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera) (Brun-Barale et al.,2010), *Bemisia tabaci* (Hemiptera) (Karunker et al.,2008), *Tribolium castaneum* (Coleoptera) (Zhu et al.,2010). Επιπλέον, φαίνεται πως οι μονοοξυγενάσες P450 εμπλέκονται στην ανάπτυξη διασταυρωτής ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα tebufenozin και abamectin στο έντομο *Plutella xylostella* (Yin et al.,2019).

### 1.5.3.3. S- τρανσφεράσες της γλουταθειόνης

Στην αποδόμηση των τοξικών μορίων των εντομοκτόνων έχει αποδειχθεί ότι συμμετέχουν οι γλουταθειόνες, μέλη μιας μεγάλης υπεροικογένειας ενζύμων, προσδίδοντας ανθεκτικότητα σε διάφορες κατηγορίες χημικών ουσιών (οργανοφωσφορικά, πυρεθροειδή κ. ά.). Βασική λειτουργία των GSTs (glutathione S-transferases) είναι η κατάλυση της προσθήκης γλουταθειόνης στα λιπόφιλα μόρια των εντομοκτόνων. Συνέπεια αυτής της δράσης είναι η ευκολότερη αποβολή τους από τον οργανισμό λόγω αυξημένης υδατοδιαλυτότητας (Vontas et al.,2002;Konanz and Nauen,2004).

Ειδικότερα, υπάρχουν ενδείξεις πως οι υδατοδιαλυτές GSTs πρωτεΐνες του κυτταροπλάσματος αυτής της οικογένειας ενζύμων παίζουν ρόλο στην αδρανοποίηση και απομάκρυνση των τοξικών μορίων των εντομοκτόνων (Che-Mendoza et al.,2009). Η επαγόμενη από τις GSTs αποτοξικοποίηση, των βλαβερών για τα έντομα ξενοβιοτικών ουσιών, μπορεί να είναι άμεση (φάση I μεταβολισμού) ή να πραγματοποιηθεί μέσω της κατάλυσης (φάση II μεταβολισμού) δευτερογενών προϊόντων αποτοξικοποίησης άλλων ομάδων ενζύμων όπως οι P450 και CCEs (carboxyl cholinesterases)(Pavlidis et al.,2018).

Η προστατευτική τους δράση έγκειται τόσο στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας όσο και στην προστασία των εντόμων από τις βλαβερές επιδράσεις του οξειδωτικού στρες, ως συνέπεια της έκθεσής τους στις τοξικές ενώσεις των εντομοκτόνων (Pavlidis et al.,2018). Σε αναλογία με τις P450 και τις εστεράσες, η δράση των GSTs είναι πιθανό πως συνδέεται με την αύξηση της ποσότητάς τους που προκύπτει είτε από τον διπλασιασμό των γονιδίων (gene duplication) είτε από την αύξηση του ρυθμού μεταγραφής. Παραδείγματα επιβλαβών εντόμων των οποίων η ανθεκτικότητα έχει συνδεθεί με τις τρανσφεράσες της γλουταθειόνης είναι τα εξής: Ο δορυφόρος της πατάτας *Leptinotarsa decemlineata* (Han et al.,2016), ο κόκκινος τετράνυχος *Panonychus citri* (Liao et al.,2013) και το είδος *Spodoptera litura* (Zhang et al.,2016).

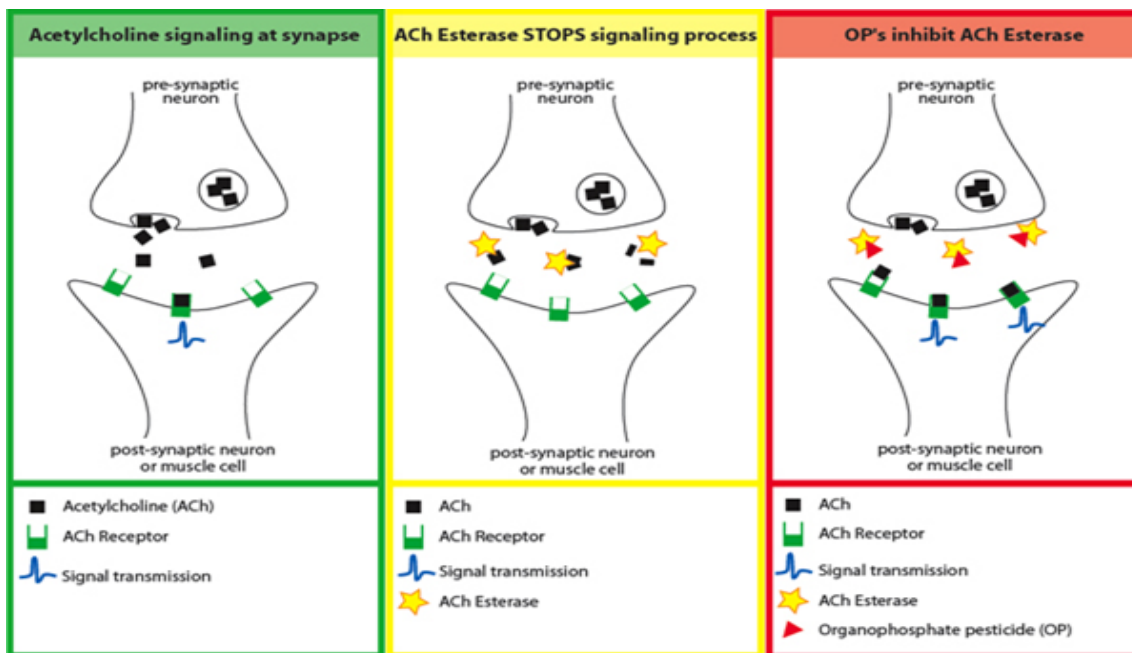
### 1.5. 4.Μείωση ευαισθησίας του στόχου δράσης

Εξίσου διαδεδομένος μηχανισμός των ανθεκτικών εντόμων είναι αυτός της μείωσης της ευαισθησίας του στόχου δράσης (τροποποίηση της δομής του στόχου του εντομοκτόνου). Σε αυτή την περίπτωση η ανθεκτικότητα των εντόμων οφείλεται στη γενετική τροποποίηση των περιοχών στόχων των εντομοκτόνων με αποτέλεσμα να μειώνεται ή ακόμη και να εξαλείφεται η αποτελεσματικότητά τους λόγω μη αποτελεσματικής δέσμευσης (Hollingworth and Dong,2008).

Οι στοχευμένες θέσεις δράσης των εντομοκτόνων στις οποίες έχουν περιγραφεί μεταλλάξεις αφορούν κυρίως στις εξής πρωτεΐνες: α) Ακετυλοχολινεστεράση (AChE) ,β) πρωτεϊνικό κανάλι μεταφοράς νατρίου Na, γ) Υποδοχέας του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA) και δ) Νικοτινικοί υποδοχείς της ακετυλοχολίνης (nAChR)(Labbé et al.,2007).

#### 1.5.4.1. Δέσμευση της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE)

Στόχος δράσης τόσο των οργανοφωσφορικών (Εικόνα 2) όσο και των καρβαμιδικών εντομοκτόνων είναι το ένζυμο ακετυλοχολινεστεράση (AChE), κύριο συνθετικό στοιχείο των χολινεργικών συνάψεων των εντόμων στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Labbé et al.,2007). Αναγκαία προϋπόθεση για την μεταγωγή σημάτων μεταξύ των νευρικών κυττάρων είναι η μεσολάβηση της ακετυλοχολίνης (ACh) ως διαβιβαστή των σημάτων. Πρόκειται για ένα νευροδιαβιβαστή που απελευθερώνεται στις συνάψεις του κυττάρου και δεσμεύεται στους υποδοχείς του επόμενου κυττάρου (Hollingworth and Dong,2008; Labbé et al.,2011).



Εικόνα 2: Μηχανισμοί δράσης οργανοφωσφορικών εντομοκτόνων. (<https://depts.washington.edu/opchild/acute.html>)

Τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά εντομοκτόνα λειτουργούν ως αναστολείς της ακετυλοχολίνης. Προσδέονται στην AChE και εμποδίζουν τη διάσπαση της ακετυλοχολίνης με αποτέλεσμα να παραμένει ενεργή στις συνάψεις, προκαλώντας παρατεταμένη υπερδιέγερση, νευρολογικές διαταραχές και τελικά το θάνατο του εντόμου (Hollingworth and Dong,2008;Konanz,2009). Η ανθεκτικότητα στις προαναφερθείσες ομάδες εντομοκτόνων συνίσταται στην ανάπτυξη στελεχών/πληθυσμών εντόμων που παρουσιάζουν ακετυλοχολινεστεράση με μειωμένη ευαισθησία, λόγω μεταλλάξεων που μειώνουν την αποτελεσματικότητα του αναστολέα αυτού. Έχουν καταγραφεί πολλές περιπτώσεις τροποποιημένης AChE, όπως στον δορυφόρο της πατάτας *Leptinotarsa decemlineata* (Kostic et al.,2016), στην καρπόκαψα *Cydia pomonella* (Cassanelli et al.,2006) και σε διάφορα είδη κουνουπιών (Alon et al.,2008).

#### **1.5.4. 2. Πρωτεϊνικά κανάλια μεταφοράς νατρίου**

Τα πρωτεϊνικά κανάλια μεταφοράς ιόντων νατρίου αποτελούν στόχο μιας ευρέως χρησιμοποιούμενης ομάδας εντομοκτόνων, των πυρεθροειδών και του χλωριωμένου εντομοκτόνου DDT (που ακόμη και σήμερα εξακολουθεί να χρησιμοποιείται σε κάποιες τροπικές χώρες). Τα κανάλια αυτά αποτελούν γλυκοπρωτεΐνες που απαντώνται στα νεύρα και τα μυϊκά κύτταρα των εντόμων. Κύρια λειτουργία τους είναι η μεταφορά ηλεκτρικά φορτισμένων ιόντων Na (Hollingworth and Dong,2008). Η μετακίνηση των ιόντων Na μεταξύ των ανοιχτών διαύλων οδηγούν σε αποπόλωση (depolarization) του δυναμικού μεμβράνης και κατ' επέκταση στην κυτταρική διέγερση των νεύρων και την παραγωγή ερεθισμάτων (Konanz,2009). Η δράση των πυρεθροειδών καθυστερεί την απενεργοποίηση των καναλιών (παραμένουν ανοιχτά) με καταστροφικές επιπτώσεις στο νευρικό σύστημα του εντόμου και συνεπάγεται τελικά το θάνατό του (Labbé et al.,2011).

Ο βασικός μηχανισμός ανθεκτικότητας στα πυρεθροειδή είναι γνωστός ως knockdown ανθεκτικότητα (kdr) και βασίζεται στη διαφοροποίηση της μοριακής δομής των πρωτεϊνών μεταφοράς Na και κατά συνέπεια στη μείωση της ευαισθησίας των εντόμων (Βουδούρης,2009). Η kdr μειώνει την ικανότητα πρόσδεσης των υποδοχέων των εντομοκτόνων και μεταβάλλει το δυναμικό δράσης (action potential) του καναλιού (Hollingworth and Dong,2008). Τα έντομα αρχικά παραλύουν, επανέρχονται ωστόσο μετά από λίγες ώρες.

Έχει ταυτοποιηθεί και δεύτερη μεταλλαγή, η super kdr. Ποικιλία ειδών έχει καταγραφεί να παρουσιάζει αυτόν το μηχανισμό ανθεκτικότητας, όπως η οικιακή μύγα *Musca domestica* (Williamson et al.,1996), το είδος μύγας *Haematobia irritans* (Soderlund and Knipple,2003), η αφίδα *Myzus persicae* (Eleftherianos et al.,2008).

#### **1.5.4.3. Υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA receptors)**

Οι υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέος στα έντομα βρίσκονται στο κεντρικό νευρικό σύστημα και στις νευρομυϊκές συνδέσεις. Πρόκειται για πρωτεϊνικά κανάλια ιόντων χλωρίου, τα οποία έχουν τρία ενεργά κέντρα: α) κέντρο όπου γίνεται η δέσμευση του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (νευροδιαβιβαστής), β) κέντρο που ελέγχει τη λειτουργία των αντλιών Cl και τέλος γ) κέντρο όπου δεσμεύονται ξενοβιοτικά μόρια. Οι GABA υποδοχείς αποτελούν στόχο κάποιων εντομοκτόνων όπως οι αβερμεκτίνες (π.χ. emamectin benzoate) και τα κυκλοδιένια, τα οποία προκαλούν παρατεταμένο άνοιγμα των διαύλων ιόντων χλωρίου αυξάνοντας την πρόσδεση του νευροδιαβιβαστή GABA στον υποδοχέα. Η συνεχής εισροή ιόντων χλωρίου στο μυϊκό ιστό και η διατάραξη της ισορροπίας τους στους μετασυναπτικούς δενδρίτες προκαλούν παράλυση και θάνατο του εντόμου (Hollingworth and Dong,2008). Η εμφάνιση ανθεκτικότητας στα κυκλοδιένια συνδέεται με την αντικατάσταση του αμινοξέος αλανίνη στη θέση 302 από σερίνη ή γλυκίνη A302S/G (Dang et al.,2017).

#### **1.5.4.4. Νικοτινεργικοί υποδοχείς της ακετυλοχολίνης (nAChRs)**

Οι νικοτινικοί υποδοχείς της ακετυλοχολίνης υπερεκφράζονται στο κεντρικό νευρικό σύστημα των εντόμων και ο ρόλος τους είναι νευροδιαβιβαστικός. Πρόκειται για δίαυλους ιόντων που προκαλούν χολινεργική συναπτική μετάδοση στο νευρικό σύστημα των εντόμων (Liu et al.,2008).

Λόγω του σημαντικού ρόλου τους αποτελούν το στόχο εντομοκτόνων, όπως τα νεονικοτινοειδή και το spinosad (σπινοςίνες).

Τα νεονικοτινοειδή θεωρούνται μιμητές του τρόπου δράσης της νικοτίνης και ενεργούν ως ανταγωνιστές της δέσμησης ακετυλοχολίνης στους υποδοχείς, στο μετασυναπτικό νεύρο των μεμβρανών (Liu et al.,2008). Παρεμποδίζουν τη μετάδοση νευρικών σημάτων καταλαμβάνοντας τη θέση της ακετυλοχολίνης και τα έντομα εμφανίζουν νευροτοξικότητα, σταματούν να τρέφονται και πεθαίνουν.

Το spinosad δρα με διαφορετικό τρόπο στους nAChRs των εντόμων, σε σχέση με τα νικοτινοειδή, στοχεύοντας συγκεκριμένα σε υπομονάδες του υποδοχέα ακετυλοχολίνης. Δεσμεύει με αυτόν τον τρόπο τους nAChRs, διατηρώντας τους παρατεταμένα ενεργοποιημένους. Τα συμπτώματα που παρατηρούνται είναι παράλυση λόγω νευρομυϊκής κόπωσης, διακοπή διατροφής και τέλος ο θάνατος του εντόμου (Salgado et al.,1998).

Εξαιτίας επιθυμητών ιδιοτήτων των νεονικοτινοειδών, όπως η εκλεκτικότητα και η αποτελεσματικότητα, η χρήση τους είναι ιδιαίτερα ευρεία, με αποτέλεσμα αρκετές κατηγορίες εντόμων να έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα. Ο μηχανισμός ανθεκτικότητας στα νεονικοτινοειδή βασίζεται σε μεταλλάξεις των υπομονάδων των nAChRs (Hollingworth and Dong,2008). Ανθεκτικότητα στα νεονικοτινοειδή που σχετίζεται με αυτόν τον μηχανισμό έχει διαπιστωθεί σε έντομα όπως η αφίδα *Myzus persicae* (Bass et al.,2014) και ο δορυφόρος της πατάτας *Leptinotarsa decemlineata* (Mota-Sanchez et al.,2006).

Η ανθεκτικότητα που έχει καταγραφεί στο spinosad φαίνεται πως συνδέεται με την απώλεια λειτουργίας μιας υπομονάδας του υποδοχέα της ακετυλοχολίνης στο έντομο *Drosophila melanogaster* (Perry et al.,2017). Μετάλλαξη στην υπομονάδα α6 των nAChRs σχετίζεται με υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στον φυλλορύκτη της τομάτας *Tuta absoluta* (Silva et al.,2016).

## **2. Η ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΩΝ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΩΝ ΚΑΙ ΤΑ ΜΕΤΡΑ ΑΠΟΤΡΟΠΗΣ/ΚΑΘΥΣΤΕΡΗΣΗΣ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ**

### **2.1. Γενικά**

Η διαχείριση των εντομολογικών προσβολών μιας καλλιέργειας πραγματοποιείται κατά κύριο λόγο μέσω της ανάπτυξης προγραμμάτων φυτοπροστασίας που μέχρι πρόσφατα θεωρείτο ότι στοχεύουν στην εξόντωση των εντόμων εχθρών. Βασικό στοιχείο των συγκεκριμένων προγραμμάτων είναι οι επεμβάσεις με τη χρήση των χημικών σκευασμάτων (ακαρεοκτόνων/εντομοκτόνων) που κατά περίπτωση κρίνονται κατάλληλα. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων παρατηρείται μη τήρηση των οδηγιών των γεωπόνων, όσον αφορά τόσο τη συχνότητα των επεμβάσεων όσο και τη δόση της δραστικής ουσίας. Η διαρκώς αυξανόμενη χρήση των

εντομοκτόνων συντελεί στην αύξηση της πίεσης επιλογής στα έντομα, πολλά από τα οποία σε σύντομο ή μεγαλύτερο χρονικό διάστημα αναπτύσσουν μηχανισμούς ανθεκτικότητας (Helps et al.,2017). Η εμφάνιση της ανθεκτικότητας συνεπάγεται τη δυσκολία ελέγχου των επιβλαβών εντόμων, την ανάγκη για μεγαλύτερες ποσότητες εντομοκτόνων, την αύξηση του κόστους φυτοπροστασίας και κατ' επέκταση του κόστους παραγωγής.

Πέραν αυτών, σημαντικές είναι και οι επιπτώσεις στο περιβάλλον, δεδομένου ότι η εντατικότερη χρήση ποσοτήτων φυτοφαρμάκων (για να αντιμετωπισθεί η ανθεκτικότητα των εντόμων σε αυτά) συμβάλλει δραματικά στην περιβαλλοντική υποβάθμιση (έδαφος, υδροφόρος ορίζοντας) και επιπροσθέτως προκαλεί μείωση της βιοποικιλότητας. Αμελητέοι δεν είναι και οι κίνδυνοι για την υγεία τόσο του παραγωγού (αναπνευστικά προβλήματα, ερεθισμοί ματιών, οξείες, υποξείες και χρόνιες δηλητηριάσεις, κ. ά.) εφόσον δεν τηρηθούν τα μέτρα προφύλαξης και δεν χρησιμοποιηθούν τα σωστά μέτρα προσωπικής προστασίας, όσο και του καταναλωτή, καθώς τα παραγόμενα προϊόντα είναι υποβαθμισμένα ποιοτικά λόγω υψηλότερων υπολειμμάτων των φυτοφαρμάκων εξαιτίας περισσότερων ψεκασμών/υψηλότερων δόσεων (Damos,2015).

Επιτακτική είναι η ανάγκη να περιορισθεί η χρήση των εντομοκτόνων και να αναπτυχθούν εναλλακτικοί τρόποι αντιμετώπισης και προστασίας των καλλιεργειών. Στα πλαίσια της αναγκαιότητας υιοθέτησης τακτικών φυτοπροστασίας με μικρό οικολογικό αποτύπωμα, περιορισμό της πίεσης των εντομοκτόνων στα έντομα και της παραγωγής ποιοτικών αγροτικών προϊόντων, προτείνεται, από πολλών ετών, ο σχεδιασμός ολοκληρωμένων προγραμμάτων διαχείρισης των εχθρών των καλλιεργειών (Integrated Pest Management, IPM). Τα προγράμματα αυτά προσεγγίζουν στο σύνολό τους εχθρούς μιας καλλιέργειας (έντομα, ζιζάνια, ασθένειες), μελετούν τις μεταξύ τους σχέσεις και αλληλεπιδράσεις (με το περιβάλλον, με άλλα είδη) και αναζητούν τον πιο αποτελεσματικό τρόπο διαχείρισής τους. Βασικό στοιχείο τους είναι ο βέλτιστος συνδυασμός όλων των διαθέσιμων μέτρων (φυσικών, βιολογικών, χημικών) αντιμετώπισης με στόχο τη μέγιστη αποτελεσματικότητα και το κατά το δυνατό μικρότερο οικονομικό και οικολογικό κόστος.

Τα μέτρα που λαμβάνονται στα πλαίσια των στρατηγικών διαχείρισης των εντομολογικών προσβολών είναι απαραίτητο να περιλαμβάνουν πρακτικές που θα έχουν αποτρεπτικό χαρακτήρα όσον αφορά την ανάπτυξη ανθεκτικότητας ή τουλάχιστον θα την καθυστερούν. Προς αυτή την κατεύθυνση έχουν αναπτυχθεί τα συστήματα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης των Καλλιεργειών στα οποία η Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση των Φυτοπαράσιτων περιλαμβάνει και μέτρα Διαχείρισης της Ανθεκτικότητας των εντόμων στα εντομοκτόνα.

Στα παραπάνω Προγράμματα/Συστήματα η χημική καταπολέμηση επιλέγεται ως λύση όταν τα υπόλοιπα μέτρα αποδειχθούν αναποτελεσματικά και κρίνεται επιβεβλημένη η αντιμετώπιση ενός εχθρού. Ακόμη και σε αυτή τη περίπτωση όμως επιλέγονται δραστικές ουσίες που διαταράσσουν στο ελάχιστο δυνατό τις ισορροπίες του αγρο-οικοσυστήματος και του ευρύτερου περιβάλλοντος, είναι κατά το δυνατό εκλεκτικές για τα ωφέλιμα έντομα και έχουν τις μικρότερες πιθανότητες ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Κάθε αγροτικό οικοσύστημα είναι μοναδικό επομένως είναι απαραίτητο κατά περίπτωση να συντάσσεται και το κατάλληλο Πρόγραμμα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης της Καλλιέργειας. Οι παράμετροι που λαμβάνονται υπόψη κατά τον σχεδιασμό ενός προγράμματος είναι: Το είδος της καλλιέργειας, το μέγεθος της καλλιεργούμενης έκτασης, οι κύριοι οργανισμοί που αλληλεπιδρούν στο ευρύτερο οικοσύστημα, οι εφαρμοζόμενες καλλιεργητικές πρακτικές, η πίεση των παρασίτων, η διάθεση και η στάση των αγροτών και το οικονομικό κόστος (Onstad 2013).

## 2.2. Αρχές Προγραμμάτων Ολοκληρωμένης Διαχείρισης

Στις επόμενες λίγες σελίδες θα δοθεί μια περίληψη του πλαισίου της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης των Καλλιεργειών, μέρος του οποίου είναι η μεθοδική προσπάθεια ελαχιστοποίησης της χρήσης φυτοφαρμάκων και η αποτροπή/καθυστέρηση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα φυτοφάρμακα ή και η αναστροφή της.

Ο επιτυχής σχεδιασμός κάθε Προγράμματος Ολοκληρωμένης Διαχείρισης διέπεται από κάποιες βασικές αρχές που λειτουργούν ως κατευθυντήριες γραμμές κατά τη διαδικασία λήψης των αποφάσεων. Οι αρχές αυτές μπορούν να κατηγοριοποιηθούν ως εξής: 1) Πρόληψη προσβολής και/ή καταστολή των πληθυσμών επιβλαβών οργανισμών, 2) Παρακολούθηση των πληθυσμών, 3) Μη χημικά μέσα καταπολέμησης, 4) Επιλογή φυτοφαρμάκων, 5) Μειωμένη χρήση των φυτοφαρμάκων στο ελάχιστο απαραίτητο, 6) Γεωργία ακριβείας, 7) Αξιολόγηση (Barzman et al., 2015).

### 2.2.1. Πρόληψη προσβολής και/ή καταστολή των πληθυσμών των επιβλαβών οργανισμών

Κρίσιμη σημασία σε ένα Πρόγραμμα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης είναι οι καλλιεργητικές πρακτικές να αποσκοπούν στην καθυστέρηση εμφάνισης των επικίνδυνων εχθρών μιας καλλιέργειας. Σε περίπτωση που εμφανισθούν επιβλαβή έντομα, ο αριθμός τους είναι απαραίτητο να διατηρηθεί σε χαμηλά επίπεδα ώστε να αποφευχθούν αρνητικές συνέπειες στην παραγωγή (Barzman et al., 2015).

Ξεκινώντας από την εγκατάσταση της καλλιέργειας, είναι αναγκαίο να χρησιμοποιούνται πιστοποιημένοι και υγιείς σπόροι, βολβοί και φυτά με σκοπό να μειωθεί η ευαισθησία της καλλιέργειας σε μελλοντικές προσβολές. Επίσης πρέπει να εξετάζεται η ημερομηνία σποράς/φύτευσης ώστε να αποφεύγεται ο συγχρονισμός του ευαίσθητου σταδίου του φυτού με την περίοδο έξαρσης του εντομολογικού εχθρού. Όταν το φυτό εγκατασταθεί νωρίτερα έχει τη δυνατότητα να προσαρμοστεί και να αναπτυχθεί επαρκώς πριν την εμφάνιση του επιβλαβούς εντόμου. Η άρδευση και η λίπανση πρέπει να γίνονται με μέτρο δεδομένου ότι το μεν υπερβολικό πότισμα δημιουργεί φυτά ευαίσθητα σε ασθένειες και έντομα (θρίπες, αφίδες), η δε μη ισορροπημένη λίπανση μπορεί να προκαλέσει αύξηση των πληθυσμών ορισμένων εντόμων (Kagurpuchamy and Venugopal, 2016). Για παράδειγμα η υπερβολική λίπανση με άζωτο και φώσφορο επέδρασε θετικά στην ανάπτυξη πληθυσμών του *Nilaparvata lugens* σε καλλιέργεια ρυζιού (Rashid et al., 2017).

Η πυκνότητα φύτευσης μπορεί επίσης να επηρεάσει την ευαισθησία της καλλιέργειας σε προσβολές. Ειδικότερα, η διατήρηση κάποιων αποστάσεων μεταξύ των φυτών στη γραμμή και μεταξύ των γραμμών επιτρέπει τη δημιουργία καλύτερων συνθηκών αερισμού και φωτισμού, παρεμποδίζοντας σε κάποιες περιπτώσεις την ανάπτυξη μεγάλων πληθυσμών εντόμων. Έρευνες σε καλλιέργεια ηλιανθου έδειξαν ότι οι πληθυσμοί των εντόμων που προσβάλλουν την καλλιέργεια ήταν μεγαλύτεροι όταν η απόσταση μεταξύ των φυτών ήταν μικρότερη (Akinkunmi et al., 2012).

Η πρακτική της συγκαλλιέργειας δυο ή περισσότερων ειδών σε εναλλασσόμενες γραμμές φύτευσης είναι δυνατό να λειτουργήσει ως εμπόδιο για τα έντομα-εχθρούς της καλλιέργειας αλλά και ως καταφύγιο για τους φυσικούς εχθρούς. Η ταυτόχρονη καλλιέργεια διαφορετικών φυτών εντός της κύριας καλλιέργειας μπορεί να αποδειχθεί ιδιαίτερα χρήσιμη για τον έλεγχο των

επιβλαβών εντόμων της καλλιέργειας. Ανάλογα με το επιδιωκόμενο αποτέλεσμα, είναι δυνατό να επιλεγούν φυτά που έχουν απωθητικές ή ελκυστικές ιδιότητες ή συνδυασμός και των δύο. Κατ' αυτόν τον τρόπο τα επιζήμια έντομα αποπροσανατολίζονται, αδυνατούν να εντοπίσουν τον ξενιστή τους, μειώνεται η διασπορά τους και κατ' επέκταση οι προσβολές. Παράλληλα, τα κατάλληλα φυτά μπορούν να προσελκύσουν τους φυσικούς εχθρούς και να λειτουργήσουν ως καταφύγια για αυτούς (Kagurpuchamy and Venugopal, 2016).

Ενθαρρυντικά ήταν τα αποτελέσματα ερευνών σε συγκαλλιέργεια φασολιού με πράσα (*Allium porum*). Οι πτητικές ουσίες που εκλύουν τα φυτά των πράσων ήταν απωθητικές για τη μύγα του φασολιού *Ophiomyia phaseoli* (Bandara et al., 2009). Αντίστοιχα θετικές ήταν οι ενδείξεις σε συγκαλλιέργεια φυτών *Brassica spp.* που προορίζονται για την παραγωγή σπόρων ή έλαιου μουστάρδας, με κρεμμύδι ή σκόρδο ή κόλιανδρο. Τα ενδιάμεσα φυτά παρήγαγαν ουσίες που ήταν είτε τοξικές και απωθητικές για την αφίδα *Lipaphis erysimi*, είτε υπερκάλυπταν τις πτητικές ουσίες του φυτού *Brassica spp.* τις οποίες χρησιμοποιούν τα έντομα για τον εντοπισμό του ξενιστή τους (Afrin et al., 2017).

Υπάρχει και η δυνατότητα να χρησιμοποιηθούν φυτά που θα λειτουργήσουν ως παγίδες, όντας πιο ελκυστικά για τα βλαβερά έντομα, με σκοπό την απομάκρυνσή τους από την κύρια καλλιέργεια. Στη συνέχεια τα φυτά αυτά απομακρύνονται και καταστρέφονται μαζί με τα παγιδευμένα έντομα. Η συγκαλλιέργεια φράουλας με φυτά μηδικής (*Medicago sativa*) είχε ως συνέπεια τη μείωση του πληθυσμού του εντόμου λύγκος (*Lygus hesperus*) τα οποία προτίμησαν ως πηγή τροφής την ενδιάμεση καλλιέργεια (Hagler et al., 2018). Η φύτευση φυτών παγίδων μπορεί να γίνει και περιφερειακά της κύριας καλλιέργειας εμποδίζοντας τη μετακίνηση των βλαβερών εντόμων στο εσωτερικό της.

Ιδιαίτερα αποτελεσματική πρακτική για τη διαχείριση εντομολογικών προσβολών χωρίς τη χρήση εντομοκτόνων είναι η εναλλαγή των καλλιεργειών (αμειψισπορά). Η μονοκαλλιέργεια ή η εναλλαγή μεταξύ συγγενών ειδών όταν συνεχίζεται για πολλά χρόνια επιτρέπει την αύξηση του πληθυσμού των εντόμων και δυσχεραίνει τον έλεγχό τους. Στόχος είναι η καλλιέργεια να ακολουθείται από μια άλλη με την οποία δεν υπάρχουν κοινοί εχθροί διασπώντας κατ' αυτόν τον τρόπο τον κύκλο ζωής του εντόμου.

Σε πολλές περιπτώσεις αναγκαίο μπορεί να αποδειχθεί και το όργωμα ή η όποια άλλη αναμόχλευση του εδάφους, για την καταστροφή κάποιων εντόμων που σε ορισμένα στάδια του βιολογικού τους κύκλου ζουν και διαχειμάζουν στα φυτικά υπολείμματα των καλλιεργειών και στο έδαφος. Η αναμόχλευση του εδάφους εκθέτει τα έντομα σε αντίξοες περιβαλλοντικές συνθήκες (έντονο ηλιακό φως, υψηλή θερμοκρασία κ.ά.) και σε θήρευση από τα πουλιά (Barzman et al., 2015) ή άλλους φυσικούς εχθρούς.

### **2.2.2. Παρακολούθηση (Monitoring)**

Η εφαρμογή των προληπτικών καλλιεργητικών μέτρων, όπως και όποιων άλλων μέτρων, πρέπει να συνοδεύεται από τον τακτικό έλεγχο και την παρακολούθηση της καλλιέργειας. Με τη βοήθεια διάφορων μεθόδων παρατήρησης επιτυγχάνεται η έγκαιρη ανίχνευση των πρώτων προσβολών από έντομα εχθρούς, εντοπίζονται οι φυσικοί εχθροί τους και μπορούν να εκτιμηθούν κατά προσέγγιση οι μελλοντικοί πληθυσμοί. Τα αποτελέσματα των μετρήσεων συνεκτιμώνται και τα συμπεράσματα κρίνουν την αναγκαιότητα ή μη λήψης επιπλέον μέτρων αντιμετώπισης.



Κατά περιπτώσεις εμφανίζονται έντομα που είτε δεν αποτελούν κύριους εχθρούς της καλλιέργειας είτε οι πληθυσμοί τους είναι μικροί, επομένως επιλέγεται να μη γίνει καμία επέμβαση. Οι αποφάσεις που αφορούν τις μετέπειτα δράσεις σε ένα πρόγραμμα ολοκληρωμένης διαχείρισης καθορίζονται από την πυκνότητα του πληθυσμού του εν δυνάμει εχθρού μιας καλλιέργειας. Το επίπεδο εκείνο του πληθυσμού στο οποίο πρέπει να ληφθεί απόφαση για επέμβαση προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί η πιθανότητα να υπερβεί ο πληθυσμός την επιζήμια πληθυσμιακή πυκνότητα ορίζεται ως Οικονομικό Κατώφλι (Poston et al.,1983).

### **2.2.2.1. Παγίδες**

Η παρακολούθηση του πληθυσμού των εντόμων στην καλλιέργεια γίνεται είτε με άμεση οπτική επισκόπηση ή, για οικονομία εργασίας, με τη χρήση διάφορων τύπων παγίδων που χρησιμοποιούν χημικά, οπτικά ή άλλα ερεθίσματα για να τα προσελκύσουν. Χαρακτηριστικά παραδείγματα είναι οι φερομονικές παγίδες, οι παγίδες φωτός και οι κολλητικές χρωματικές παγίδες.

Η λειτουργία των φερομονικών παγίδων βασίζεται σε ένα στοιχείο της βιολογίας και φυσιολογίας των εντόμων, συγκεκριμένα στην ιδιότητα του ενός φύλου, συνήθως των θηλυκών, να παράγουν φερομόνες φύλου (sex pheromones) για να προσελκύσουν το άλλο φύλο. Υπάρχουν διαθέσιμες στο εμπόριο συνθετικές φερομόνες, οι οποίες αναμειγνύονται στις κατάλληλες αναλογίες, τοποθετούνται σε διανεμητές (dispensers) και εν συνεχεία στις παγίδες. Θεωρούνται αποτελεσματικές για την ανίχνευση ακόμη και πληθυσμών μικρής πυκνότητας στην αρχική φάση της εγκατάστασης των εντόμων σε κάθε περιοχή, κυρίως των Λεπιδόπτερων. Η τοποθέτηση των παγίδων μπορεί να γίνει σημειακά, διευκολύνοντας την έγκαιρη ανίχνευση των προσβολών και τον εντοπισμό περιοχών με μεγαλύτερη συγκέντρωση πληθυσμού για να ληφθούν μέτρα. Ακριβέστερα και πιο αξιόπιστα αποτελέσματα ωστόσο λαμβάνονται μέσω της δημιουργίας ενός δικτύου παγίδων σε περιφερειακό επίπεδο κάτι που σε κάθε περίπτωση είναι επιθυμητό (Ahmad and Kamarudin,2011).

Στην περίπτωση των παγίδων φωτός, μια πηγή που εκπέμπει φως χρησιμοποιείται για να προσελκύσει έντομα που ανήκουν στις οικογένειες των Λεπιδόπτερων, Δίπτερων και Κολεόπτερων. Η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται από καιρικές συνθήκες όπως η θερμοκρασία και η πυκνότητα των σύννεφων (θετικά για Λεπιδόπτερα) και η ταχύτητα του ανέμου, η πανσέληνος και καιρικά φαινόμενα όπως βροχή, χιόνι (αρνητικά) (Butler et al.,1999). Οι παγίδες φωτός όμως εκτός από τα επιβλαβή έντομα προσελκύουν και φυσικούς εχθρούς, με αποτέλεσμα τη μείωση των πληθυσμών τους και την αδυναμία ελέγχου των επιβλαβών. Τα δεδομένα της έρευνας των Ma and Ma (2012) οι οποίοι κατέγραψαν τη νυχτερινή δραστηριότητα (πτήσεις) των εντόμων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για να καθοριστεί ο χρόνος που θα παραμένουν αναμμένες οι παγίδες, μειώνοντας έτσι το κόστος λειτουργίας.

Τα έντομα έλκονται από τα χρώματα και δείχνουν προτίμηση σε κάποια συγκεκριμένα χρώματα. Η ιδιότητα αυτή των εντόμων αποδίδεται στην επιλεκτική απόκρισή τους σε διαφορετικά φάσματα και μήκη κύματος φωτός (Li et al.,2017). Οι χρωματικές παγίδες κυκλοφορούν στο εμπόριο σε ποικιλία χρωμάτων. Μελέτες αποτελεσματικότητας των παγίδων έδειξαν ότι το χρώμα είναι καθοριστικός παράγοντας προσέλκυσης και παγίδευσης. Τα περισσότερα είδη εντόμων δείχνουν ότι αποκρίνονται περισσότερο σε παγίδες κίτρινου χρώματος (Prema et al.,2018). Κάποια έντομα έχουν άλλες προτιμήσεις, όπως στην περίπτωση του θρίπα των κρεμμυδιών (*Thrips tabaci*), για τον οποίο οι μπλε παγίδες ήταν πιο αποτελεσματικές σε σύγκριση με τις κίτρινες (Maimom and

Kusal,2017). Σημαντικό ρόλο στην παγίδευση των εντόμων, εκτός από το χρώμα, παίζουν και οι θέσεις στις οποίες τοποθετούνται, το ύψος, ο σχεδιασμός της παγίδας και φυσικά το στάδιο του εντόμου (φτερωτό ή άπτερο)(Silva et al.,2018).

### **2.2.3. Μη χημικά μέσα καταπολέμησης**

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, μια από τις θεμελιώδεις αρχές ενός ολοκληρωμένου προγράμματος αντιμετώπισης είναι η κατά το δυνατό αποφυγή χρήσης χημικών μέσων καταπολέμησης. Εφόσον τα αποτελέσματα των μετρήσεων των πληθυσμών καταδεικνύουν την ανάγκη λήψης μέτρων, προτιμώνται εναλλακτικές μέθοδοι αντιμετώπισης οι οποίες μπορούν επίσης να είναι αρκετά αποτελεσματικές. Οι πιο διαδεδομένες είναι η χρήση βιολογικών παραγόντων ελέγχου (φυσικοί εχθροί) και οι βιοτεχνολογικές μέθοδοι (biotechnical), όπως η παρεμπόδιση σύζευξης των εντόμων με τη χρήση φερομονών σύγχυσης (Barzman et al.,2015).

#### **2.2.3.1. Βιολογικοί παράγοντες ελέγχου**

Μείωση των βλαβερών εντόμων μιας καλλιέργειας μπορεί να γίνεται από φυσικούς εχθρούς τους, οι οποίοι μπορεί να είναι παρασιτοειδή ή αρπακτικά, μέσω μηχανισμών όπως η θήρευση, ο παρασιτισμός, ο ανταγωνισμός ακόμη και συνδυασμός αυτών. Οι φυσικοί εχθροί μπορούν να υπάρχουν μέσα στην καλλιέργεια ή να εισάγονται από τον καλλιεργητή.

Η βιολογία των φυσικών εχθρών είναι δυναμικά διαφορετική από εκείνη των φυτοφάγων εντόμων (Rebek et al.,2012). Τα παρασιτοειδή είναι έντομα τα οποία απαιτούν την ύπαρξη ενός ατόμου ξενιστή για να τραφούν και να ολοκληρώσουν την ανάπτυξή τους και τελικά να επιφέρουν το θάνατο του ξενιστή τους. Παράδειγμα αυτής της κατηγορίας φυσικών εχθρών είναι το παρασιτοειδές *Encarsia formosa* το οποίο είναι κατάλληλο για την αντιμετώπιση του αλευρώδη στα θερμοκήπια (*Trialeurodes vaporariorum*)(De Vis and van Lenteren,2008). Τα αρπακτικά για ολοκληρώσουν την ανάπτυξή τους χρειάζονται μεγάλο αριθμό ατόμων ως λεία. Ένα ιδιαίτερα αποτελεσματικό αρπακτικό για τη μείωση των πληθυσμών της βαμβακάδας των εσπεριδοειδών (*Icerya purchasi*) είναι το *Rodolia cardinalis*.

Μπορούν να εφαρμοστούν 3 στρατηγικές ελέγχου των φυτοφάγων εντόμων: α) Κλασικός βιολογικός έλεγχος (classical biological control), β) Αύξηση του αριθμού των φυσικών εχθρών (augmentation), γ) Διατήρηση των ήδη υπάρχοντων φυσικών εχθρών (conservation)(Nafiu et al.,2014).

##### **2.2.3.1.1. Κλασικός βιολογικός έλεγχος**

Αφορά στην εισαγωγή ενός συγκεκριμένου φυσικού εχθρού από άλλες χώρες ή από άλλες περιοχές, με στόχο την εγκατάστασή του και τον αποτελεσματικό έλεγχο των βλαβερών εντόμων σε μια νέα περιοχή (Nafiu et al.,2014). Η ανεξέλεγκτη ανάπτυξη ενός επιβλαβούς εντόμου σε μια καλλιέργεια μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι αυτό το είδος είναι εξωτικό για την περιοχή, έχει δηλαδή μεταφερθεί από το φυσικό του περιβάλλον σε κάποιο νέο. Το νεοεισαχθέν είδος αναπτύσσεται ελεύθερα στη νέα περιοχή και μπορεί να εξελιχθεί σε σοβαρό εχθρό εφόσον δεν

υπάρχει φυσικός εχθρός να το ελέγξει ή οι πληθυσμοί των δυνητικά φυσικών εχθρών που ήδη υπάρχουν δεν είναι ικανοί να το περιορίσουν. Μέσω του κλασικού βιολογικού ελέγχου επιδιώκεται η αποκατάσταση των σχέσεων μεταξύ των πληθυσμών του παρασίτου και του φυσικού εχθρού όπως συνέβαινε στην περιοχή προέλευσης (Rebek et al.,2012).

Η εισαγωγή κάποιου φυσικού εχθρού σε ένα νέο αγροτικό οικοσύστημα περιλαμβάνει μια ακολουθία ενεργειών που πρέπει να σχεδιαστούν με προσοχή. Αρχικά πρέπει να προσδιοριστεί ο εχθρός και η περιοχή προέλευσής του. Εν συνεχεία να διερευνηθεί η ύπαρξη φυσικών εχθρών του και να εκτιμηθούν οι αλληλεπιδράσεις που πιθανόν να υπάρχουν με άλλα ωφέλιμα και μη έντομα στον αγρό. Είναι σημαντικό να ελεγχθεί η αποτελεσματικότητα του φυσικού εχθρού ώστε να διασφαλιστεί ότι θα μπορέσει να ελέγξει τον εχθρό και δε θα γίνει άσκοπη εισαγωγή ενός εντόμου που δε θα φέρει τα επιθυμητά αποτελέσματα. Εφόσον επιλεγεί ο κατάλληλος φυσικός εχθρός, τα επόμενα βήματα περιλαμβάνουν την εκτροφή, τη μαζική παραγωγή του και τέλος την απελευθέρωση και εγκατάστασή του στην καλλιέργεια (Nafiu et al.,2014).

Μετά το πέρας της εγκατάστασης του φυσικού εχθρού είναι απαραίτητο να εκτιμηθούν τα αποτελέσματα της δράσης του, αν εγκαταστάθηκε ομαλά στο μέρος απελευθέρωσης, και να αξιολογηθεί το μακροπρόθεσμο όφελος της παρουσίας του (Nafiu et al.,2014). Η εισαγωγή ενός φυσικού εχθρού αποτελεί συνήθη τακτική ενός Προγράμματος Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης Φυτοπαράσιτων και τα θετικά αποτελέσματα ως προς τον έλεγχο των παρασίτων αντισταθμίζουν τυχόν αρνητικές επιπτώσεις, όπως ο μη επαρκής έλεγχος σε σταθερή βάση ή ακόμα (σε πολύ λίγες περιπτώσεις) ο φυσικός εχθρός να γίνει τελικά εχθρός για κάποια καλλιέργεια (Orr,2009).

#### 2.2.3.1.2. Αύξηση του αριθμού των φυσικών εχθρών

Υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες ο φυσικός εχθρός ενός βλαβερού εντόμου υπάρχει στην καλλιέργεια, ωστόσο ο πληθυσμός του είναι μικρός και δεν μπορεί να μειώσει τα επίπεδα του βλαβερού εντόμου κάτω από το οικονομικό επίπεδο. Τότε επιλέγεται η τακτική της αύξησης του αριθμού του ήδη υπάρχοντος φυσικού εχθρού με μαζικές απελευθερώσεις. Ουσιαστικά γίνεται μαζική παραγωγή του φυσικού εχθρού σε κατάλληλες εγκαταστάσεις και στη συνέχεια απελευθερώνεται για να καταστείλει την προσβολή. Η εφαρμογή μπορεί να γίνει με δυο τρόπους: Με συχνές εξαπολύσεις μικρού σχετικά αριθμού ατόμων (inoculate releases) ή με εξαπολύσεις σημαντικά μεγάλου αριθμού ατόμων (inundative releases)(Nafiu et al.,2014).

Η τακτική των συχνών εξαπολύσεων του βιολογικού παράγοντα ελέγχου σε μικρούς αριθμούς εφαρμόζεται όταν ο πληθυσμός του βλαβερού εντόμου είναι ακόμη πολύ μικρός. Αποσκοπεί στο να εξασφαλιστεί ο απαραίτητος χρόνος ανάπτυξης του φυσικού εχθρού, στη διατήρηση του βλαβερού εντόμου κάτω από το οικονομικό όριο και γενικότερα σε έναν μακροπρόθεσμο έλεγχο/προστασία της καλλιέργειας (Nafiu et al.,2014). Επιδίωξη των εξαπολύσεων πολύ μεγάλων αριθμών ενός φυσικού εχθρού είναι η άμεση μείωση το πληθυσμού του βλαπτικού παράγοντα/φυτοπαράσιτου. Έχουν διορθωτικό χαρακτήρα και τα αποτελέσματά τους μπορούν να συγκριθούν με τη χρήση ενός συμβατικού εντομοκτόνου.

Βέβαια η επανεμφάνιση ενός εχθρού ή η εισαγωγή κάποιου νέου συνεπάγεται την ανάγκη για επανάληψη των εξαπολύσεων (Rebek et al.,2012).

#### 2.2.3.1.3. Διατήρηση των ήδη υπαρχόντων φυσικών εχθρών

Η διατήρηση και αύξηση των φυσικών εχθρών συνδέεται με την τροποποίηση των συνθηκών του περιβάλλοντος της καλλιέργειας μέσω γεωργικών πρακτικών και αποβλέπει στην ενίσχυση της δράσης των φυσικών εχθρών (Orr,2009). Οι χειρισμοί που κινούνται προς αυτή την κατεύθυνση, είναι η χρήση εκλεκτικών εντομοκτόνων/δόσεων και η επιλογή του κατάλληλου χρόνου της επέμβασης, ώστε τη δεδομένη στιγμή η παρουσία του φυσικού εχθρού να είναι κατά το δυνατό μικρότερη ή η επέμβαση να μη συμπίπτει με τα ευαίσθητα στάδια του κύκλου ζωής του (Rebek et al.,2012). Επιπλέον, επιδιώκεται μέσω των κατάλληλων καλλιεργητικών τεχνικών η διατήρηση των αναγκαίων ξενιστών για τους φυσικούς εχθρούς, καθώς λειτουργούν ως πηγές τροφής, θέσεις προστασίας κ.ά.. Γενικότερα, στόχος όλων αυτών των εργασιών είναι η ύπαρξη τροφής και καταφυγίων. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση ενδιάμεσης καλλιέργειας ή/και τη διατήρηση της περιφερειακής βλάστησης, ώστε να διατηρούνται οι πληθυσμοί των ωφέλιμων εντόμων σε υψηλά επίπεδα ακόμη και όταν ο εχθρός δεν υπάρχει στην καλλιέργεια (Orr,2009).

#### 2.2.3.2. Διατάραξη σύζευξης (*Mating disruption*)

Ιδιαίτερως επιτυχημένη μη χημική μέθοδος ελέγχου των βλαβερών εντόμων μιας καλλιέργειας είναι η τακτική της διατάραξης της σύζευξης με τη χρήση συνθετικών φερομονών (Barzman et al.,2015). Η διαδικασία του ζευγαρώματος βασίζεται σε φερομόνες τις οποίες απελευθερώνουν συνήθως τα θηλυκά προκειμένου να προσελκύσουν τα αρσενικά (Smart et al.,2013). Η χρήση συνθετικών φερομονών στοχεύει στη διατάραξη αυτής της χημικής επικοινωνίας μεταξύ των εντόμων, τον αποπροσανατολισμό των αρσενικών και κατά συνέπεια τη αποτροπή του ζευγαρώματος (Tewari et al.,2013).

Αυτός ο χειρισμός της συμπεριφοράς των εντόμων έχει ως συνέπεια τη μείωση των πληθυσμών τους λόγω παρεμπόδισης της σύζευξης και αναπαραγωγής. Αποτελεί αποτελεσματική μέθοδο αντιμετώπισης των Λεπιδόπτερον, όπως η καρπόκαψα της μηλιάς (*Cydia pomonella*), του ρόδιου σκουληκιού (*Pectinophora gossypiella*) στο βαμβάκι, η ευδεμίδα του αμπελιού (*Lobesia botrana*)(Witzgall et al.,2008;Lykouressis et al.,2005;Gordon et al.,2005) κ.ά.. Η αποτελεσματικότητα της μεθόδου εξαρτάται από την πυκνότητα του δικτύου παγίδων, το σχεδιασμό της παγίδας και το ύψος στο οποίο είναι τοποθετημένη και άλλα. Θεωρείται κατάλληλη για τα προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης δεδομένου ότι δεν επηρεάζονται οι φυσικοί εχθροί και τα άλλα ωφέλιμα έντομα, όπως οι επικονιαστές που τυχόν υπάρχουν στην περιοχή.

#### 2.2.4. Επιλογή φυτοφαρμάκων

Βασική επιδίωξη ενός προγράμματος ολοκληρωμένης διαχείρισης είναι η περιορισμένη χρήση χημικών μέσων καταπολέμησης. Εφόσον όμως τα αποτελέσματα των προληπτικών και εναλλακτικών μεθόδων ελέγχου κριθούν ανεπαρκή και αναποτελεσματικά τότε η εφαρμογή κάποιου εντομοκτόνου είναι αναγκαία (Barzman et al.,2015). Κατά τη διαδικασία επιλογής του φυτοπροστατευτικού προϊόντος πρέπει να ληφθούν υπόψη ορισμένοι παράγοντες. Το σκεύασμα είναι σημαντικό να είναι εκλεκτικό, να βλάπτει κατά το δυνατό μόνο τον εχθρό στόχο και προ πάντων να έχει ελάχιστες ή μηδαμινές αρνητικές επιπτώσεις σε φυσικούς εχθρούς (παρασιτοειδή,

αρπακτικά) και άλλα ωφέλιμα έντομα (επικονιαστές)(Vétek et al.,2017). Εξίσου απαραίτητο είναι να επιλέγονται σκευάσματα με μικρή τοξικότητα για τα θερμόαιμα και υπολειμματική δράση σε οργανισμούς-μη στόχους, καθώς και τα επιτρεπόμενα μόνο υπολείμματα στα προϊόντα, ώστε συνολικά ο αντίκτυπος τόσο στην ανθρώπινη υγεία όσο και στο περιβάλλον να είναι ο μικρότερος δυνατός και σε κάθε περίπτωση εντός επιτρεπτών, σύμφωνα με τις εγκρίσεις κυκλοφορίας των συγκεκριμένων φυτοφαρμάκων, ορίων (Barzman et al.,2015).

### **2.2.5. Μειωμένη χρήση των φυτοφαρμάκων στο ελάχιστο απαραίτητο**

Την επιλογή του κατάλληλου εντομοκτόνου ακολουθεί ο καθορισμός της συχνότητας των επεμβάσεων και της ποσότητας/δόσης εφαρμογής. Γενικά συνιστάται η μείωση τόσο του αριθμού των εφαρμογών όσο και της ποσότητας του σκευάσματος ανά εφαρμογή/μονάδα επιφάνειας αγρού. Κατ' αυτόν τον τρόπο βελτιώνεται η προστασία του ανθρώπου και του περιβάλλοντος και παράλληλα ελαττώνεται η πιθανότητα ανάπτυξης ανθεκτικότητας από τα έντομα. Στα πλαίσια των προσπαθειών αποτροπής της δημιουργίας ανθεκτικών εντόμων, μεταξύ άλλων, στα προγράμματα Διαχείρισης της Ανθεκτικότητας, προτείνεται η εναλλαγή εντομοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης όταν απαιτείται η επανάληψη της εφαρμογής. Με τη μείωση της πίεσης επιλογής από ένα συγκεκριμένο εντομοκτόνο στους πληθυσμούς ενός είδους εντόμου σε μια περιοχή, ως συνακόλουθο του ελέγχου της ανθεκτικότητας, επιμηκύνεται και η διάρκεια της ωφέλιμης ζωής του φυτοφαρμάκου (Barzman et al.,2015).

### **2.2.6. Γεωργία ακριβείας**

Η εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων όσον αφορά την κατάσταση της καλλιέργειας από άποψη προσβολών δεν είναι πάντα εφικτή μέσω της χρήσης των προαναφερθεισών μεθόδων παρατήρησης (εκτίμηση πληθυσμών με παγίδες ή με επίσκεψη και άμεση μέτρηση στην καλλιέργεια). Ιδιαίτερα οι πληροφορίες που προκύπτουν από την παρακολούθηση των παγίδων δεν έχουν σταθερό συντελεστή συσχέτισης με τον κίνδυνο προσβολής και υπέρβασης του Οικονομικού Κατωφλίου, κυρίως λόγω του τύπου κάποιων προσβολών και της αναντιστοιχίας τους με πιθανή οικονομική ζημιά λόγω αστάθειας περιβαλλοντικών και καλλιεργητικών συνθηκών, της ποικιλίας του καλλιεργούμενου φυτού κ.ά.. Σε τέτοιες περιπτώσεις είναι πιθανό να λαμβάνονται λανθασμένες αποφάσεις ως προς την αναγκαιότητα ή/και την ημερομηνία έναρξης των επεμβάσεων κατά των εντομολογικών προσβολών. Ενόστε, παρά τον επαρκή αριθμό των παγίδων και το διασκορπισμό τους σε μεγάλες εκτάσεις, δεν είναι δυνατό να προσδιορισθεί η ακριβής θέση και ο χρόνος έναρξης της προσβολής (Potamitis and Rigakis,2017).

Οι διαδικασίες τόσο της επιθεώρησης των παγίδων, που γίνεται ανά τακτά χρονικά διαστήματα, όσο και της άμεσης οπτικής καταμέτρησης των εντόμων πάνω στα φυτά είναι ιδιαίτερα χρονοβόρες (Potamitis et al.,2014). Επιπλέον, συχνά το προσωπικό στο οποίο έχει ανατεθεί η οπτική ταυτοποίηση των εντόμων δεν είναι πάντα επαρκώς καταρτισμένο ή έχει οδηγίες να επικεντρώνεται σε ένα μόνο είδος εντόμων αγνοώντας τα υπόλοιπα. Αποτέλεσμα αυτών είναι να μη γίνονται σωστές εκτιμήσεις του αριθμού των εντόμων και κατά συνέπεια να δυσχεραίνεται η

αποτελεσματική εκτίμηση της επικινδυνότητας των πληθυσμών τους για προσβολή με οικονομικές συνέπειες στην ευρύτερη κλίμακα της καλλιέργειας.

Αναγκαία προϋπόθεση για την αποτελεσματική αντιμετώπιση κάθε εντομολογικού εχθρού είναι η κατά το δυνατόν ταχύτερη γνώση του χρόνου και των θέσεων εμφάνισης των προσβολών. Τα τελευταία χρόνια η ανάγκη για περιορισμό του κόστους φυτοπροστασίας οδήγησε στην ανάπτυξη καινοτόμων συστημάτων καταγραφής, τα οποία επιτρέπουν στον παραγωγό να ελέγχει την καλλιέργειά του από απόσταση. Η ποιότητα και η ποσότητα των δεδομένων που συλλέγονται συμβάλλουν σε πολύ υψηλό βαθμό στη λήψη έγκαιρων και σωστών αποφάσεων, για την αναγκαιότητα και το χρόνο των επεμβάσεων, καθώς και στον περιορισμό των εντομοκτόνων. Τα παραπάνω αποτελούν μέρος του ευρύτερου πλαισίου της Γεωργίας Ακριβείας.

Στα πλαίσια της ανάπτυξης ενός νέου συστήματος παραγωγής αγροτικών προϊόντων τα τελευταία χρόνια έχουν ενσωματωθεί στη γεωργία οι νέες τεχνολογίες. Η Γεωργία Ακριβείας βασίζεται στη χρήση ηλεκτρονικών υπολογιστών, παγκόσμιων συστημάτων εντοπισμού θέσης (GPS) και διάφορων αισθητήρων και συστημάτων ελέγχου της εφαρμογής εισροών (Potamitis and Rigakis, 2017). Αποβλέπουν στην αναγνώριση των πραγματικών αναγκών της καλλιέργειας, στην αύξηση της απόδοσης της παραγωγής, την ορθολογική χρήση των χημικών μέσων (λίπανση, φυτοπροστατευτικά προϊόντα) και άλλων εισροών και στην παραγωγή ποιοτικών προϊόντων.

Η εφαρμογή των αρχών της φυτοπροστασίας στο σύστημα της Γεωργίας Ακριβείας βασίζεται στην παρακολούθηση των εχθρών μέσω της εισαγωγής των νέων εξελιγμένων ασύρματων δικτύων αισθητήρων (Azfar et al.,2018). Έπειτα από προσεκτικό σχεδιασμό διανέμονται αυτόνομοι αισθητήρες στο σύνολο της καλλιέργειας, που καταγράφουν τις περιβαλλοντικές συνθήκες (θερμοκρασία, υγρασία, εξατμισοδιαπνοή, κ.α.) και σε κάποιες περιπτώσεις και τις κινήσεις εντόμων. Τα δεδομένα που συλλέγονται μεταβιβάζονται μέσω ασύρματου δικτύου σε μια κύρια τοποθεσία όπου αποθηκεύονται και γίνεται η επεξεργασία τους με τη χρήση κατάλληλων λογισμικών προγραμμάτων (Rubala and Anitha,2017).

Η ανίχνευση των εντομολογικών προσβολών μιας καλλιέργειας βασίζεται κυρίως σε αισθητήρες ήχου και εικόνας. Ιδιαίτερως αποτελεσματική αποδείχθηκε η ηχητική ανίχνευση των επιβλαβών εντόμων σε καλλιέργειες ζαχαροκάλαμου (Srivastav et al.,2013). Ο αισθητήρας καταγράφει τον ήχο που εκπέμπουν τα έντομα, μεταφέρει τα στοιχεία στον κεντρικό υπολογιστή και όταν το επίπεδο θορύβου υπερβεί το προκαθορισμένο όριο (threshold level) λαμβάνονται τα κατάλληλα μέτρα αντιμετώπισης. Αντίστοιχες ηχητικές μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί και στους φοίνικες, όπου καταγράφηκε ο ήχος του ρυγχοφόρου (*Rhynchophorus ferrugineus*) όταν βρίσκεται στο στάδιο της προνύμφης. Σε αυτό το στάδιο τα έντομα είναι πολύ δραστήρια και παράγουν θορύβους μέσω της μάσησης των ιστών του κορμού του φοίνικα (Al-Manie and Al-Khanhal,2007).

Στην ίδια κατεύθυνση κινείται και η ηλεκτρονική παγίδα τύπου McPhail που χρησιμοποιείται για τον εντοπισμό Δίπτερων εντόμων της οικογένειας Tephritidae, όπως ο δάκος της ελιάς (*Bactrocera oleae*) και η μύγα της Μεσογείου (*Ceratitis capitata*). Η συγκεκριμένη παγίδα αποτελεί μετατροπή της κλασικής γυάλινης παγίδας McPhail (η οποία βασίζεται στην προσέλκυση των ενήλικων Διπτέρων από ατμούς αμμωνίας) μέσω της εγκατάστασης φωτοϋποδοχέων (photoreceptors) που συνδέονται με έναν υπέρυθρο πομπό στην είσοδο της παγίδας (Potamitis et al.,2015). Ως ελκυστικό χρησιμοποιείται φερομόνη. Ο κτύπος των φτερών των εντόμων που εισέρχονται στην παγίδα εμποδίζει το φως που διαχέεται από τους υποδοχείς φωτός. Οι διακυμάνσεις του φωτός καταγράφονται και μετατρέπονται σε ηχογράφηση. Το φάσμα των κτύπων των φτερών των εντόμων συγκρίνεται με μοτίβα αναφοράς σε πραγματικό χρόνο και τα αποτελέσματα χρησιμοποιούνται στη διαδικασία λήψης απόφασης. Οι μετρήσεις είναι αρκετά ακριβείς και

ανάλογα με την φερομόνη που χρησιμοποιείται μπορούν να στοχοποιηθούν διαφορετικά έντομα (Potamitis and Rigakis,2017).

### **2.2.6.1. Λήψη Αποφάσεων**

Ιδιαίτερα σημαντική για ένα άρτιο πρόγραμμα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης είναι η διαδικασία λήψης αποφάσεων ώστε να εφαρμοσθεί η στρατηγική που ακολουθείται και να υλοποιηθούν οι κατάλληλες ενέργειες κατά την εξέλιξη της καλλιέργειας για την αντιμετώπιση των προσβολών. Τα αποτελέσματα των παρακολουθήσεων των πληθυσμών έχουν ποσοτικοποιηθεί και προκειμένου να ληφθεί η σωστή απόφαση ως προς την αναγκαιότητα ή μη της επέμβασης πρέπει να συγκριθούν με κάποιο δείκτη. Στην περίπτωση των εντομολογικών προσβολών έχει οριστεί ανάλογα με το έντομο και το αντίστοιχο οικονομικό όριο (economic threshold). Αυτό ορίζεται ως η κατώτατη πυκνότητα του πληθυσμού ενός εντόμου που προκαλεί οικονομική ζημιά (Stern et al.,1959). Είναι το κρίσιμο σημείο στο οποίο πρέπει να εφαρμοστούν τα κατάλληλα μέτρα ώστε να αποφευχθεί περαιτέρω αύξηση του πληθυσμού που μπορεί να επιφέρει σημαντικές οικονομικές ζημιές (Karupruchamy and Venugopal,2016).

Ωστόσο, η γνώση μόνο των ορίων της επιζήμιας πληθυσμιακής πυκνότητας για τους διάφορους εχθρούς μιας καλλιέργειας δεν είναι επαρκής. Πρέπει να ληφθούν υπόψη και άλλοι παράγοντες όπως η ύπαρξη ωφέλιμων εντόμων σε πληθυσμούς ικανούς να περιορίσουν τη προσβολή αλλά και αστάθμητοι παράγοντες όπως οι καιρικές συνθήκες της περιοχής (θερμοκρασία, βροχόπτωση) που μπορούν να επηρεάσουν θετικά ή αρνητικά τον πληθυσμό του εκάστοτε εντομολογικού εχθρού της καλλιέργειας αλλά και των φυσικών εχθρών του (Padma et al.,2017). Ακόμη και στην περίπτωση που είναι διαθέσιμες όλες οι απαραίτητες πληροφορίες, το γεγονός ότι μπορεί να εμπεριέχουν ασάφειες υπάρχει περίπτωση να οδηγήσει σε εσφαλμένα συμπεράσματα.

Η υιοθέτηση των νέων τεχνολογιών στην γεωργία σε συνδυασμό με την ανάγκη για ακριβή δεδομένα ώστε να διευκολυνθούν οι διαδικασίες λήψης αποφάσεων σε ένα πρόγραμμα Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης οδήγησαν τα τελευταία χρόνια στην ανάπτυξη των ευφύων Συστημάτων Υποστήριξης Αποφάσεων (Decision Support Systems, DSS). Η είσοδος των εφαρμογών της πληροφορικής στα συστήματα Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης των Φυτοπαράσιτων έχει ως στόχο τη μελέτη, ανάπτυξη και εφαρμογή αλγορίθμων που θα βελτιώσουν την κατανόηση και διαχείριση των συλλεγόμενων πληροφοριών. Επιδίωξη των επιστημόνων είναι να δημιουργηθεί ένα ευφύες σύστημα το οποίο θα παρέχει στους χρήστες πληροφορίες, όπως η διάγνωση προσβολής και η εξέλιξη του κύκλου ζωής των παρασίτων, και ο υπολογισμός της επιζήμιας πληθυσμιακής πυκνότητας. Επιπροσθέτως, θα περιλαμβάνονται μοντέλα ανάπτυξης παρασίτων που συνδέονται με μετεωρολογικά δεδομένα, τα ενδεδειγμένα και εγκεκριμένα φυτοφάρμακα σε περίπτωση εντοπισμού προσβολών, το στάδιο/χρόνο στον οποίο πρέπει να γίνουν οι εφαρμογές των φυτοπροστατευτικών μέσων, καθώς και ο μέγιστος επιτρεπόμενος αριθμός επεμβάσεων, ώστε να αποφευχθούν προβλήματα ανθεκτικότητας και αρνητικών επιδράσεων στο περιβάλλον (Padma et al.,2017).

### **2.2.6.2. Συστήματα υποστήριξης αποφάσεων (Decision Support Systems, DSS)**

Η βοήθεια των συγκεκριμένων συστημάτων στη λήψη αποφάσεων διαχείρισης παρασίτων θα είναι κρίσιμης σημασίας καθώς η λήψη των δεδομένων θα γίνεται σε πραγματικό χρόνο και οι αποφάσεις θα στηρίζονται σε ακριβή στοιχεία, μειώνοντας τον κίνδυνο για λανθασμένες ενέργειες. Υπάρχουν διαθέσιμες αρκετές βάσεις δεδομένων ανά τον κόσμο με πληροφορίες για μεγάλο αριθμό φυτών, βλαβερών και ωφέλιμων εντόμων. Αντίστοιχα, έχουν αναπτυχθεί αρκετές εφαρμογές με χαρακτήρα πρόβλεψης των επιπτώσεων και της ανάπτυξης των εντόμων εχθρών. Ωστόσο, αποτελούν κατά κύριο λόγο πηγές πληροφοριών για τον καλλιεργητή και δεν λειτουργούν με την απαιτούμενη ακρίβεια και αξιοπιστία για κάθε καλλιέργεια, ποικιλία φυτού σκοπό της καλλιέργειας ως προς τη χρήση του προϊόντος ή τις ιδιαιτερότητες της περιοχής του αγροοικοσυστήματος σε σχέση με τη λήψη αποφάσεων (Damos,2015).

Μεταξύ πολλών, έχουν ξεχωρίσει δυο εργαλεία πρόβλεψης: το SOPRA (Σουηδία και Βαυαρία) (Samietz et al.,2008) και το PROPLANT (Γερμανία), που έχουν τη δυνατότητα να επεξεργάζονται μεγάλο όγκο δεδομένων και δρουν υποστηρικτικά σε όλα τα στάδια της διαδικασίας λήψης αποφάσεων από το στάδιο του σχεδιασμού έως και το στάδιο της υλοποίησης. Στόχος δεν είναι η αντικατάσταση του παραγωγού αλλά ο συνδυασμός των δεδομένων και της κρίσης του, ώστε να εξαχθεί το καλύτερο αποτέλεσμα. Οι οδηγίες που παρέχουν αυτά τα συστήματα πρακτικά περιορίζονται στα στενά όρια των συγκεκριμένων χωρών και δεν μπορούν να εφαρμοστούν αυτούσια σε ποικίλες καλλιέργειες ανά τον κόσμο. Είναι σημαντικό να αναπτυχθούν τέτοια συστήματα ευφυούς στήριξης της λήψης αποφάσεων, πρωτογενώς ή μετά από κατάλληλες προσαρμογές υπάρχοντων συστημάτων, και σε άλλες χώρες, ίσως και σε τοπική κλίμακα για αρτιότερα αποτελέσματα (Damos,2015).

Πρόσφατα η ομάδα των Rurrik et al (2018) ανέπτυξε ένα νέο σύστημα για την γεωργία, το AgroDSS στο οποίο οι αγρότες μπορούν να εισάγουν τα δεδομένα, να χρησιμοποιούν διάφορες μεθόδους ανάλυσής τους και να αποκτούν αποτελέσματα. Βέβαια, απαιτούνται βελτιώσεις και εξέλιξη του συστήματος ώστε να είναι πλήρως λειτουργικό σε κάθε περίπτωση, δεδομένου ότι βρίσκεται ακόμη σε αρχικό στάδιο εφαρμογής.

### **2.2.7. Αξιολόγηση**

Μετά την ολοκλήρωση ενός Προγράμματος Ολοκληρωμένης Διαχείρισης μιας καλλιέργειας επιβάλλεται, με την όποια χρήση των σύγχρονων εργαλείων ελέγχου και λήψης αποφάσεων, να γίνει από τον καλλιεργητή με υποστήριξη των Γεωπόνων Συμβούλων του, η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας των φυτοπροστατευτικών μέτρων και άλλων εισροών καθώς και των τεχνικών και πρακτικών που εφαρμόστηκαν. Τα κριτήρια που ως επί το πλείστον χρησιμοποιούν οι αγρότες κατά την αξιολόγηση είναι η απόδοση της καλλιέργειας και η απουσία (ή η δραματική μείωση κάτω από ζημιογόνα επίπεδα) των επιβλαβών φυτοπαράσιτων. Σε αυτά πρέπει να προστεθεί η εκτίμηση της κατάστασης ανθεκτικότητας των φυτοπαράσιτων στα παρασιτοκτόνα και η αποτελεσματικότητα των μέτρων αντιμετώπισής της.

Μέσω αυτής της διαδικασίας μπορούν να επισημανθούν αστοχίες και λάθη του προγράμματος με σκοπό να μην επαναληφθούν στο μέλλον. Πέραν αυτού, είναι απαραίτητο οι αγρότες να επιμορφώνονται μέσω προγραμμάτων κατάρτισης, να ανταλλάσσουν εμπειρίες και να



χρησιμοποιούν τις γνώσεις ώστε να βελτιώνουν συνεχώς τις μεθόδους που χρησιμοποιούν για τη διαχείριση των παρασίτων στην καλλιέργειά τους. Οι γνώσεις και η αποκτηθείσα εμπειρία συμβάλλουν σε μεγάλο βαθμό στη λήψη σωστών αποφάσεων (Potamitis et al.,2014).

### **3. ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗ ΑΝΘΕΚΤΙΚΩΝ ΑΡΘΡΟΠΟΔΩΝ**

#### **3.1. Γενικά**

Οι συστάσεις της Ευρωπαϊκής Ένωσης, της Εντομολογικής Κοινότητας της Αμερικής, της Εντομολογικής Εταιρίας Ελλάδος και γενικότερα των φορέων φυτοπροστασίας, όσον αφορά στην αποτροπή ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα αναφέρονται κυρίως στη μείωση της πίεσης των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στα έντομα. Προς αυτή την κατεύθυνση προτείνεται κατά κύριο λόγο η λήψη προληπτικών μέτρων ώστε να περιορισθούν οι πιθανότητες προσβολής και εφόσον υπάρξει προσβολή να προτιμώνται μη χημικές μέθοδοι καταπολέμησης. Οι συγκεκριμένες στρατηγικές αποτελούν βήματα ενός ολοκληρωμένου προγράμματος διαχείρισης των εχθρών μιας καλλιέργειας. Ωστόσο, ακόμη και στα πλαίσια της εφαρμογής ενός τέτοιου τύπου προγράμματος είναι συχνά αναπόφευκτη η χρήση χημικών μέσων καταπολέμησης και κατά συνέπεια εξίσου αναπόφευκτη είναι και η ανάπτυξη ανθεκτικότητας από τα έντομα σε πολλές περιπτώσεις.

Σε αυτή την περίπτωση στόχος είναι ο έγκαιρος εντοπισμός ανθεκτικών εντόμων, που επιτυγχάνεται μέσω της εφαρμογής προγραμμάτων διαχείρισης της ανθεκτικότητας (Insecticide Resistance Management, IRM). Η αποτυχία ενός εντομοκτόνου να ελέγξει τον πληθυσμό κάποιου εντομολογικού εχθρού, ενώ οι μέχρι πρότινος εφαρμογές το έλεγχαν αποτελεσματικά στην ίδια περιοχή, δείχνει πως έχει αναπτυχθεί ανθεκτικότητα (FAO,2012). Κρίνεται σημαντικό να αποκλειστούν όλες οι αιτίες για τις οποίες μπορεί η απόδοση ενός φυτοπροστατευτικού προϊόντος να μην είναι η αναμενόμενη. Μεταξύ αυτών περιλαμβάνονται η μη σωστή εφαρμογή, η λανθασμένη δόση, η εσφαλμένη χρονική στιγμή και μέθοδος εφαρμογής, οι ακατάλληλες καιρικές συνθήκες, ακόμη και η μη σωστή ταυτοποίηση του φυτοπαρασίτου (FAO,2012;Kranthi,2005). Αν οι παράγοντες αυτοί δεν υφίστανται, μια αναποτελεσματική εφαρμογή φυτοφαρμάκου αποτελεί ένδειξη ανάπτυξης ανθεκτικότητας από τον πληθυσμό του εντόμου ή του ακάρεος.

Η εξέλιξη ενός πληθυσμού αρθρόποδου σε ανθεκτικό αποτελεί το αποτέλεσμα της πίεσης επιλογής μέσω επανειλημμένων εφαρμογών ενός φυτοφαρμάκου ή και περισσότερων με τον ίδιο τρόπο δράσης και με χημική συγγένεια. Η ευκολία ανάπτυξης ανθεκτικότητας από τα έντομα εξαρτάται από τη βιολογία τους, τη γενετική τους προδιάθεση και το επίπεδο έκθεσης στα εντομοκτόνα (ESA,2018). Με δεδομένο ότι υπάρχουν έντομα στα οποία έχει ήδη διαπιστωθεί η τάση να αναπτύσσουν ανθεκτικότητα είναι απαραίτητο, ιδιαίτερα στα έντομα αυτά, τα προγράμματα στρατηγικής για την αντιμετώπιση της ανθεκτικότητας να εφαρμόζονται πριν ακόμη

αυτή ανιχνευθεί για κάθε νεοεμφανιζόμενο φυτοφάρμακο/νέο τρόπο δράσης/χημική ομάδα. Ο εντοπισμός ανθεκτικών ατόμων δεν σημαίνει απαραίτητα ότι όλος ο πληθυσμός είναι ανθεκτικός και μη αντιμετωπίσιμος. Ωστόσο, ο εντοπισμός αυτός αποτελεί προειδοποίηση και κατά συνέπεια τα προγράμματα διαχείρισης της ανθεκτικότητας πρέπει να προσαρμοστούν άμεσα ώστε να αποφευχθεί η αύξηση της συχνότητας εμφάνισης του/των γονιδίων ανθεκτικότητας στον πληθυσμό (FAO,2012).

### **3.2. Μέθοδοι διάγνωσης της ανθεκτικότητας**

Είναι δεδομένο πλέον ότι η πιθανότητα εμφάνισης ανθεκτικότητας πρέπει να λαμβάνεται υπόψη κατά τον σχεδιασμό στρατηγικών φυτοπροστασίας με στόχο την παράταση της ωφέλιμης ζωής των εντομοκτόνων. Καταδεικνύεται λοιπόν η αναγκαιότητα ανάπτυξης μεθόδων που θα επιτρέπουν την έγκαιρη διάγνωση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Οι διαγνωστικές μέθοδοι απαιτείται να είναι ακριβείς, αξιόπιστες και να επιτρέπουν την ανίχνευση των ανθεκτικών γονοτύπων όσο η συχνότητά τους είναι αρκετά χαμηλή. Στόχος είναι να γίνουν έγκαιρα οι απαραίτητες αναπροσαρμογές των φυτοπροστατευτικών φροντίδων ώστε να περιορισθεί η περαιτέρω εξάπλωση των ανθεκτικών γονιδίων. Έχουν αναπτυχθεί διάφορες μέθοδοι μέσω των οποίων μπορεί να διαπιστωθεί η ύπαρξη ανθεκτικότητας σε κάποιο αρθρόποδο. Οι κυριότερες από αυτές είναι οι εξής: α) οι βιοδοκιμές, β) οι βιοχημικές δοκιμές, και γ) οι μοριακές δοκιμές (Kranthi,2005).

#### **3.2.1. Βιοδοκιμές**

Οι βιοδοκιμές αποτελούν βασική μέθοδο ανίχνευσης της ανθεκτικότητας και περιλαμβάνουν τη συλλογή δειγμάτων εντόμων από τον αγρό, τα οποία δοκιμάζονται με στοχευμένες δόσεις φυτοφαρμάκου στο εργαστήριο. Για τους σκοπούς των δοκιμών τα έντομα δυνητικά εκτρέφονται για κάποιες γενεές κάτω από εργαστηριακές συνθήκες (Karaağaç,2012). Βέβαια οι γενεές αυτές θα πρέπει να είναι οι ελάχιστες απαραίτητες εφόσον η συχνότητα των ανθεκτικών γόνων μπορεί να αλλοιωθεί με την πάροδο των γενεών λόγω έλλειψης πίεσης επιλογής ή τέτοιας επιλογής στο εργαστήριο που να διαφέρει από εκείνην του πεδίου.

Βασική αρχή είναι η έκθεση του υπό μελέτη πληθυσμού των εντόμων (προνύμφες ή ενήλικα) σε διάφορες δόσεις φυτοφαρμάκου με στόχο να προσδιοριστούν οι διαφορές στις φαινοτυπικές αποκρίσεις στο δραστικό συστατικό του φυτοφαρμάκου. Ακολούθως, γίνεται η σύγκριση των συνεπειών της έκθεσης των εντόμων που εκτίθενται στο εντομοκτόνο (με δείκτες αναφοράς όπως η θνησιμότητα, η επιβίωση και η αποφυγή στην έκθεση) με αποτελέσματα, στα πλαίσια των ίδιων δοκιμών πάνω σε άτομα από πληθυσμούς που θεωρούνται τυπικά ευαίσθητοι. Υπολογίζεται η μέση θανατηφόρος δόση ανά έντομο (median lethal dose, LD50) (όταν ζητούμενο είναι η θνησιμότητα) ή στις περισσότερες περιπτώσεις η μέση θανατηφόρα συγκέντρωση του διαλύματος εντομοκτόνου (median lethal concentration, LC50), μέσω ανάλυσης των καμπυλών δόσης-απόκρισης για τα

εκτεθειμένα που προέρχονται από αγρό και άλλα ευαίσθητα άτομα που προέρχονται από εργαστηριακές εκτροφές και δεν έχουν εκτεθεί ποτέ στο εντομοκτόνο (R4P,2016). Οι δύο τιμές συγκρίνονται. Ο λόγος της LD50 ή LC50 των πιθανών ανθεκτικών εντόμων από τον αγρό προς την αντίστοιχη LD50 ή LC50 των ευαίσθητων εντόμων εργαστηρίου δίνει το μέτρο της ανθεκτικότητας των εντόμων του αγρού.

Χρήσιμη έχει αποδειχθεί και η μέθοδος της διακριτικής δόσης (discriminating dose) με την οποία μπορεί να γίνει ο διαχωρισμός μεταξύ ανθεκτικών και ευαίσθητων ατόμων. Προϋποθέσεις για τον επιτυχή σχεδιασμό μιας τέτοιας διαγνωστικής διαδικασίας είναι: α) να καθοριστεί η διαγνωστική δόση (diagnostic dose) που θα επιτρέψει τον διαχωρισμό ανθεκτικών ατόμων από τα ευαίσθητα, β) να προσδιοριστεί το μέγεθος του δείγματος που θα συλλεχθεί και γ) να είναι γνωστή η απόκριση που αναμένεται από τα επιζώντα άτομα αυτής της δόσης. Με αυτόν τον τρόπο μπορεί να εξετασθεί σε λίγο χρόνο και με οικονομικό τρόπο ένας σημαντικός αριθμός πληθυσμών, ωστόσο δε μπορούν να εντοπισθούν ανθεκτικά άτομα μέχρι το σημείο που η συχνότητα των ανθεκτικών γονιδίων θα ξεπερνά το 1% (FAO,2012).

Σημαντικές προϋποθέσεις για να διασφαλιστεί η ακρίβεια των μετρήσεων μέσω βιοδοκιμών είναι ο καθορισμός του τρόπου που εφαρμόζεται το φυτοφάρμακο, η έκθεση ατόμων που βρίσκονται στο ίδιο στάδιο ανάπτυξης, καθώς και να λαμβάνεται υπόψη η αναμενόμενη δράση του στον οργανισμό των εντόμων. Αμελητέα δεν θεωρούνται και το μέγεθος του δείγματος (αριθμός εντόμων) και ο αριθμός των δόσεων που θα εφαρμοστούν (R4P,2016).

Η εφαρμογή των εντομοκτόνων μπορεί να γίνει τοπικά σε συγκριμένη σωματική περιοχή των ατόμων-εντόμων, με ψεκάσμο, με εμβάπτιση του εντόμου και με έκθεση του σε ξηρό φύλλο (deposit) του φυτοφαρμάκου, το οποίο ευρίσκεται π.χ. αφού στεγνώσει ο πειραματικός ψεκάσμος πάνω σε χαρτί, γυαλί, φυλλική επιφάνεια κ.ά.. Μειονεκτήματα της μεθόδου είναι ότι απαιτούνται ζωντανά υποκείμενα, και επομένως πολλαπλασιασμός και διατήρησή τους μέχρι να αξιολογηθούν τα αποτελέσματα του φυτοπροστατευτικού προϊόντος. Επιπλέον οι βιοδοκιμές θεωρούνται χρονοβόρες και απαιτούν πολύ χώρο (R4P,2016).

### **3.2.2. Βιοχημικές δοκιμές**

Οι βιοχημικές δοκιμές ενδείκνυνται τόσο για την ανίχνευση της ανθεκτικότητας όσο και για τον προσδιορισμό των μηχανισμών ανθεκτικότητας που έχουν αναπτύξει τα έντομα ενδιαφέροντος. Διακρίνονται δύο τύποι δοκιμών: Οι δοκιμές προσδιορισμού του ενζύμου στόχου (target enzyme assays) και οι δοκιμές ενζυμικού μεταβολισμού του εντόμου (metabolic enzyme assays).

#### **3.2.2.1. Δοκιμές προσδιορισμού ενζύμου στόχου**

Η ανθεκτικότητα μπορεί να είναι το αποτέλεσμα δομικών αλλαγών στο στόχο του εντομοκτόνου, με άμεση συνέπεια τη μείωση της δέσμευσής του. Ο εντοπισμός αυτών των αλλαγών μπορεί να γίνει με την παρατήρηση της επίδρασης χημικού σκευάσματος στη θέση-στόχο μέσω της μέτρησης της απορρόφησης ή του φθορισμού. Η υπερέκφραση των γονιδίων του στόχου συνεπάγεται την αύξηση της ενζυμικής δραστηριότητας αφήνοντας ωστόσο ανεπηρέαστη τη δέσμευση του

εντομοκτόνου. Η συγκεκριμένη μεταβολή μπορεί να γίνει αντιληπτή μέσω της μέτρησης της δραστηριότητας του ενζύμου (R4P,2016).

### **3.2.2.2. Δοκιμές μεταβολισμού του ενζύμου**

Τα ένζυμα που είναι υπεύθυνα για τον καταβολισμό των φυτοφαρμάκων ανήκουν στην οικογένεια των οξειδωσών μικτής λειτουργίας P450, των S-τρανσφερασών της γλουταθειόνης, και των εστερασών. Στους ανθεκτικούς πληθυσμούς παρατηρείται υπερέκφραση των προαναφερθέντων ενζύμων ή μεταλλαγή τους, η οποία οδηγεί σε γρηγορότερη υποβάθμιση των φυτοφαρμάκων (degradation). Ο συγκεκριμένος τύπος ανθεκτικότητας μπορεί να προσδιοριστεί μέσω δοκιμών που εντοπίζουν χρωματομετρικά ή φθορομετρικά πιθανές αλλαγές στη δραστηριότητα των ενζύμων (R4P,2016).

Οι βιοχημικές δοκιμές γενικά θεωρούνται εύκολες και μικρού κόστους καθώς δεν απαιτούν εξειδικευμένο εργαστηριακό εξοπλισμό. Βασική αδυναμία τους θεωρείται το γεγονός ότι απαιτούν τη διατήρηση ζωντανών πληθυσμών εντόμων υπό ελεγχόμενες τεχνητές συνθήκες, οι οποίες ωστόσο μπορούν να αλλοιώσουν τα αποτελέσματα λόγω επίδρασής τους στην ενζυμική δραστηριότητα. Επιπροσθέτως, ορισμένες βιοχημικές δοκιμές απαιτούν την ανάλυση συγκεκριμένων οργάνων ή ιστών, οι οποίες λόγω της ανατομίας των εντόμων και του μικρού μεγέθους τους μπορεί να είναι δύσκολο να πραγματοποιηθούν (R4P,2016).

### **3.2.3. Μοριακές δοκιμές**

Στόχος των μοριακών δοκιμών είναι ο εντοπισμός γονιδίων ή μεταλλάξεων, στα οποία αποδίδεται η ανάπτυξη ανθεκτικότητας, μέσω αναλύσεων σε ζωντανούς ή νεκρούς ιστούς. Ανάλογα με το είδος της τεχνολογίας που χρησιμοποιείται διακρίνονται δυο τύποι μοριακών δοκιμών: α) οι χαμηλής απόδοσης δοκιμές, οι οποίες απαιτούν βασικές τεχνικές και εξοπλισμό και δίνουν τη δυνατότητα προσδιορισμού μικρού αριθμού μεταλλάξεων σε επίσης μικρά δείγματα και β) οι υψηλής απόδοσης δοκιμές, με κύριο χαρακτηριστικό την χρήση εξελιγμένων τεχνολογιών και εξοπλισμού, που επιτρέπουν τον εντοπισμό σε μεγάλα δείγματα, πολλαπλών μεταλλάξεων που προσδίδουν ανθεκτικότητα (R4P,2016). Διακρίνουμε:

#### **3.2.3.1. Γονοτυπικές δοκιμές (genotyping assays)**

Κύριο χαρακτηριστικό αυτών των δοκιμών είναι η γονοτύπηση γνωστών μεταλλάξεων ανθεκτικότητας. Στις χαμηλής απόδοσης δοκιμές η γονοτύπηση γίνεται είτε εφόσον προηγηθεί ενίσχυση του DNA (DNA amplification) ή μέσω μιας δοκιμασίας σύνδεσης (ligation assay). Η ενίσχυση του DNA βασίζεται στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (polymerase chain reaction, PCR) και μπορεί να εφαρμοστεί σε ακατέργαστα εκχυλίσματα DNA. Οι υψηλής απόδοσης δοκιμές απαιτούν εξοπλισμό μεγάλου κόστους και προσωπικό με ανεπτυγμένο βαθμό τεχνικών δεξιοτήτων, παρέχουν όμως ακριβέστερη ανίχνευση των μεταλλάξεων ανθεκτικότητας. Γενικότερα, θεωρούνται κατάλληλες για τον εντοπισμό ανθεκτικών γονοτύπων σε αρχικά στάδια εμφάνισής τους δίνοντας

τη δυνατότητα να επιλεγούν οι κατάλληλες τεχνικές ελέγχου οι οποίες θα αποτρέψουν την εξέλιξη αυτών των γονοτύπων (R4P,2016).

### **3.2.3.2 Δοκιμές που βασίζονται στα νουκλεϊκά οξέα (Nucleic Acid-Based Assays)**

Πρόκειται για δοκιμές οι οποίες είναι ακριβείς, δεν είναι απαραίτητη η μελέτη ζωντανού υλικού και επιτρέπουν την ανάλυση μεγάλου μεγέθους δειγμάτων. Μειονέκτημα της μεθόδου είναι ότι απαιτούν να έχει προηγηθεί προσδιορισμός των γενετικών μεταλλάξεων οι οποίες είναι υπεύθυνες για την ανθεκτικότητα στα φυτοφάρμακα πριν την ανάπτυξη μεθόδων ανίχνευσης. Θεωρείται απαραίτητο οι συγκεκριμένες δοκιμές να αναπροσαρμόζονται, όταν ανακαλύπτονται νέοι μηχανισμοί ανθεκτικότητας, ώστε να είναι αποτελεσματικές (R4P,2016).

### **3.2.3.3. Αριθμός αντιγράφων γονιδίου ή ποσοτικοποίηση της έκφρασης (Gene Copy Number or the Quantification of Expression)**

Οι μεταβολές στον αριθμό των αντιγράφων γονιδίων ή των επιπέδων έκφρασης που οδηγούν στην ανθεκτικότητα μπορούν να τεκμηριωθούν με μεθόδους βασισμένες στην αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης σε πραγματικό χρόνο (real time polymerase chain reaction, qPCR). Η διαδικασία αυτή αποσκοπεί στην ποσοτική μέτρηση της ενίσχυσης του DNA και θεωρείται κατάλληλη για τις περιπτώσεις στις οποίες η ανθεκτικότητα αποδίδεται στην υπερέκφραση θέσης στόχου, στη ρύθμιση των γονιδίων που εμπλέκονται στην αποικοδόμηση των φυτοφαρμάκων, κ. α.)(R4P,2016).

## **3.3. Διαχείριση της ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα (Insecticide Resistance Management, IRM)**

Ο έγκαιρος εντοπισμός ανθεκτικών ατόμων ή πληθυσμών εντόμων σε κάποιο φυτοφάρμακο σε συνδυασμό με την κατανόηση όλων των παραμέτρων που αφορούν στο φαινόμενο και στο συγκεκριμένο ανθεκτικό πληθυσμό, αποτελούν καθοριστικά στοιχεία για την αποτελεσματική διαχείριση της ανθεκτικότητας (Karaağaç,2012). Γενικά στη φυτοπροστασία στόχος δεν είναι η εξόντωση του συνόλου των εντόμων της καλλιέργειας αλλά η προστασία μέσω του αποτελεσματικού ελέγχου του παρασίτου σε επίπεδα κάτω από την οικονομική ζημιά. Εφόσον προσδιοριστεί το δραστικό συστατικό φυτοφαρμάκου στο οποίο είναι ανθεκτικό το έντομο, είναι απαραίτητο για να αποφευχθεί περαιτέρω εξέλιξη του φαινομένου να μην χρησιμοποιηθεί εκ νέου τόσο το ίδιο όσο και όλα τα εντομοκτόνα που έχουν τον ίδιο μηχανισμό δράσης (FAO,2012). Βασική επιδίωξη είναι η μείωση της πίεσης επιλογής του εντομοκτόνου και η κατάρτιση νέων τακτικών φυτοπροστασίας οι οποίες έχουν ως στόχο τον περιορισμό της κυριαρχίας των ανθεκτικών ατόμων του πληθυσμού (US EPA,2017).

Εφόσον γίνει αντιληπτή η παρουσία ανθεκτικών εντόμων στην καλλιέργεια, μπορούν να επιλεγούν διάφορες στρατηγικές καταπολέμησης του φυτοφάγου εντόμου, όπως η εναλλαγή των

εντομοκτόνων, η χρήση μωσαϊκού εντομοκτόνων, η θανάτωση λιγότερων ευπαθών εντόμων του πληθυσμού, η στρατηγική υψηλής δόσης σε συνδυασμό με φυτά καταφύγια και η χρήση συνεργιστικών ουσιών.

### **3.3.1. Εναλλαγή εντομοκτόνων (Rotation)**

Μια από τις συνήθειες στρατηγικές καθυστέρησης της εξέλιξης της ανθεκτικότητας είναι η εναλλαγή δυο ή περισσότερων εντομοκτόνων. Ζητούμενο είναι η μείωση της πίεσης επιλογής μιας τοξικής ουσίας, μέσω της εφαρμογής για κάποιο χρονικό διάστημα χημικών σκευασμάτων με δραστικές ουσίες από διαφορετικές χημικές ομάδες και διαφορετικούς μηχανισμούς δράσης (Sudo et al.,2018). Το πρώτο στάδιο είναι η χρήση του κατάλληλου εντομοκτόνου για το έντομο-εχθρό μόνο όσες φορές τεκμηριωμένα κρίνεται απαραίτητο, στοχεύοντας μια ή περισσότερες γενεές. Ακολουθεί η εφαρμογή με τον ίδιο τρόπο του επόμενου φυτοφαρμάκου το οποίο ανήκει σε διαφορετική ομάδα (Zhao et al.,2010). Επιδίωξη αυτής της τακτικής είναι μέσω της έκθεσης στο εναλλακτικό εντομοκτόνο να μειωθεί ο αριθμός των ατόμων που παρουσιάζουν ανθεκτικότητα στο πρώτο εντομοκτόνο (Ffrench-Constant and Roush,1990).

Η επιτυχία της συγκεκριμένης μεθόδου εξαρτάται κατά κύριο λόγο από την επιλογή προς χρήση των κατάλληλων χημικών σκευασμάτων. Ειδικότερα, πρέπει να αποφεύγονται εντομοκτόνα της ίδιας ομάδας καθώς και όσα έχει διαπιστωθεί ότι τα έντομα παρουσιάζουν σε αυτά διασταυρωτή ανθεκτικότητα (cross resistance). Επίσης, είναι ορθότερο να μην προτιμάται η εναλλαγή εντομοκτόνων στην ίδια γενιά. Η εφαρμογή αυτής της τακτικής μπορεί να γίνει στην ίδια καλλιεργητική περίοδο ή μεταξύ των καλλιεργητικών περιόδων (FAO,2012).

### **3.3.2. Μείγματα εντομοκτόνων**

Αποτελεσματική τακτική θεωρείται και η εφαρμογή μειγμάτων εντομοκτόνων. Τα δύο ή περισσότερα δραστικά συστατικά του μείγματος πρέπει να έχουν διαφορετικό μηχανισμό δράσης και να είναι εξίσου αποδοτικά για το υπό αντιμετώπιση έντομο (Sudo et al,2018). Με αυτόν τον τρόπο επιτυγχάνεται η ταυτόχρονη έκθεση των εντόμων σε περισσότερες της μίας χημικές ουσίες και μηχανισμούς δράσης (Ffrench-Constant and Roush,1990). Κατά συνέπεια καθίσταται δυνατή η καταστολή των πληθυσμών ανθεκτικών ατόμων ως αποτέλεσμα, σπανιότερα των συνεργιστικών αλληλεπιδράσεων μεταξύ των χρησιμοποιούμενων σκευασμάτων ή συχνότερα της προσθετικής δράσης τους λόγω της ανάμιξης και ταυτόχρονης εφαρμογής των δραστικών συστατικών. Η καθυστέρηση της ανάπτυξης ή της εξέλιξης της ανθεκτικότητας οφείλεται στη δυσκολία των εντόμων να αναπτύξουν ταυτόχρονα διαφορετικούς μηχανισμούς ανθεκτικότητας (Cloyd,2010). Ακόμη και σε αυτή την περίπτωση πρέπει να λαμβάνονται κάποια επιπλέον μέτρα, όπως η αποφυγή της επαναλαμβανόμενης χρήσης του ίδιου μείγματος και η μη χρησιμοποίησή τους εφόσον κάποιο έντομο είναι ήδη ανθεκτικό σε κάποιο από τα συστατικά του.

Η επιλογή των εντομοκτόνων που θα χρησιμοποιηθούν στα μείγματα βασίζεται κατ' αρχήν στην εκτίμηση της αποτελεσματικότητάς τους, ενώ πρέπει να ακολουθούνται πιστά οι οδηγίες χρήσης των επί μέρους δραστικών συστατικών. Επίσης, τα συστατικά των μειγμάτων πρέπει να έχουν

παρόμοιες περιόδους υπολειμματικής εντομοκτόνου δράσης. Σε διαφορετική περίπτωση το μείγμα είναι αποτελεσματικό ως προς την ανθεκτικότητα μόνο στην περίοδο που είναι και τα δυο εντομοκτόνα ενεργά (US EPA,2017).

### **3.3.3. Μωσαϊκά εντομοκτόνων**

Εναλλακτική επιλογή, εφόσον ανιχνευθεί ανθεκτικότητα, αποτελεί η εφαρμογή ενός μωσαϊκού φυτοπροστατευτικών χημικών ουσιών. Αναφέρεται στην ταυτόχρονη εφαρμογή των επιλεγμένων ουσιών σε διαφορετικές, αλλά προσβεβλημένες από το ίδιο έντομο, περιοχές (Onstad,2014).

### **3.3.4. Θανάτωση λιγότερων ευπαθών ατόμων του πληθυσμού (kill fewer susceptibles)**

Η εξασφάλιση ενός καταφυγίου για τα ευπαθή έντομα (π.χ. μέσω ενδιάμεσης καλλιέργειας) τους δίνει τη δυνατότητα να αποφύγουν την επαφή με το εντομοκτόνο και κατά συνέπεια να μειωθεί η πίεση επιλογής σε αυτά. Τα ευαίσθητα άτομα που έχουν επιβιώσει ζευγαρώνουν με τα ανθεκτικά προκαλώντας με αυτόν τον τρόπο μείωση του ποσοστού των ομόζυγων ανθεκτικών γονοτύπων του πληθυσμού. Θετική μπορεί να είναι και η επίδραση τόσο της μείωσης της δόσης του εντομοκτόνου όσο και του αριθμού των εφαρμογών, καθώς διασφαλίζεται ότι μεγαλύτερο ποσοστό ευαίσθητων ατόμων του πληθυσμού θα αποφύγει τη θανάτωση (Onstad,2014).

### **3.3.5. Στρατηγική υψηλής δόσης σε συνδυασμό με φυτά καταφύγια (High-dose/refuge strategy)**

Ειδικότερα στην περίπτωση που διαπιστωθεί ανθεκτικότητα των εντόμων σε μία καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών Bt προτείνεται η τακτική υψηλής δόσης/καταφυγίου (HDR). Η εφαρμογή της συγκεκριμένης στρατηγικής απαιτεί τη δημιουργία μίας ζώνης καταφυγίων αποτελούμενη από μη γενετικά τροποποιημένα φυτά σε κοντινή με την καλλιέργεια απόσταση (Gryspeir and Grégoire,2012). Στην καλλιέργεια γενετικά τροποποιημένων φυτών εφαρμόζεται υψηλή δόση του επιλεγμένου εντομοκτόνου με σκοπό να θανατωθούν τόσο ομοζυγωτικά (SS) όσο και ετεροζυγωτικά (RS) έντομα. Ο μικρός αριθμός ανθεκτικών ομοζυγωτικών που θα επιβιώσει της εφαρμογής ζευγαρώνει με τα ευαίσθητα έντομα που έχουν καταφύγει στα μη γενετικά τροποποιημένα φυτά και μεταναστεύουν στην καλλιέργεια. Αποτέλεσμα είναι η παραγωγή κατά κύριο λόγο ετερόζυγων απογόνων οι οποίοι τελικά θα καταπολεμηθούν ευκολότερα από την υψηλή δόση του εντομοκτόνου (Sudo et al.,2018).

### 3.3.6. Χρήση συνεργιστικών ουσιών

Βοηθητική στρατηγική στην πορεία ανάσχεσης επέκτασης της ανθεκτικότητας είναι η χρήση συνεργιστικών ουσιών προκειμένου να αυξηθεί η αποτελεσματικότητα των εντομοκτόνων (Zimmer et al.,2016). Πρόκειται για ενώσεις οι οποίες αν χρησιμοποιηθούν μόνες τους είναι μη τοξικές ή ελάχιστα τοξικές για τα έντομα (Sarwar,2016). Όταν εφαρμοστούν πριν το εντομοκτόνο ή προστεθούν στο μείγμα του εντομοκτόνου βελτιώνουν την αποτελεσματικότητά του επεκτείνοντας εμμέσως την ωφέλιμη ζωή του (FAO,2012). Ο τρόπος δράσης τους συνίσταται στην αναστολή των αμυντικών μεταβολικών συστημάτων ενζύμων που διαθέτουν τα έντομα, τα οποία τους επιτρέπουν να διασπών ταχύτερα το εντομοκτόνο (FAO,2012;Sarwar,2016). Ουσιαστικά παρεμβαίνουν στην αποτοξικοποίηση των εντομοκτόνων δρώντας στις μονοοξυγενάσες του πολυστρωματικού υποστρώματος (polysubstrate monooxygenases) και σε άλλα ενζυμικά συστήματα, επιτρέποντας μεγαλύτερο ποσοστό φαρμάκου να φτάσει στη θέση στόχο (Zimmer et al.,2016).

Οι συνεργιστικές ουσίες θεωρούνται ιδιαίτερα αποτελεσματικές εναντίον των εντόμων που έχουν αναπτύξει μηχανισμούς μεταβολικής ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα μέσω αυξημένης παραγωγής αποτοξικοποιητικών ενζύμων (Sarwar,2016). Ο τρόπος που λειτουργούν δεν τις καθιστά χρήσιμες σε περιπτώσεις εντόμων που είναι ανθεκτικά στα εντομοκτόνα λόγω της μετατροπής της θέσης-στόχου (FAO,2012).

Ο πιο γνωστός συνεργιστής είναι το πιπερονυλβουτοξείδιο (piperonyl bytoxide, PBO), αναστολέας ευρέος φάσματος των μονοοξυγενασών κυτοχρώματος (P450s) και συγκεκριμένων εστερασών των εντόμων (Feyereisen,2015). Προτείνονται δυο τρόποι εφαρμογής του: (α) Να έρθει το έντομο σε επαφή με το συνεργιστή πριν από την εφαρμογή του εντομοκτόνου. Μέσω της έκθεσης σε πιπερονυλβουτοξείδιο κάποιες ώρες πριν τη χρήση πυρεθροειδών, καρβαμιδικών ή νεονικοτινοειδών φυτοφαρμάκων, αναστέλλονται τα μεταβολικά ένζυμα (P450 και εστεράσες) που αποικοδομούν αυτά τα εντομοκτόνα, και τα έντομα περιέρχονται σε κατάσταση υπερευαισθησίας πριν την έκθεση στο εντομοκτόνο (Zimmer et al.,2016). (β) Να προστεθεί ο συνεργιστής στο μείγμα των εντομοκτόνων λειτουργώντας συνδυαστικά και ενισχύοντας με αυτόν τον τρόπο τη δράση του.

## 4. ΜΕΛΕΤΕΣ ΠΕΡΙΠΤΩΣΕΩΝ ΑΡΘΡΟΠΟΔΩΝ ΠΟΥ ΠΑΡΟΥΣΙΑΖΟΥΝ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Ο μεγάλος αριθμός των ερευνητικών προγραμμάτων με στόχο τη μελέτη της ανθεκτικότητας σε τοπικό επίπεδο και ευρύτερα, τα οποία επιδοτούνται από τα κράτη και διεθνείς οργανισμούς, αλλά και οι ερευνητικές δημοσιεύσεις που προκύπτουν από τα προγράμματα αυτά, καταδεικνύουν τη



σπουδαιότητα του προβλήματος της ανθεκτικότητας των αρθρόποδων στα φυτοφάρμακα σε παγκόσμια κλίμακα. Το φαινόμενο της ανθεκτικότητας των αρθρόποδων έχει λάβει σημαντικές διαστάσεις και στην Ελλάδα. Εδώ και αρκετά χρόνια παρατηρούνται πολλές περιπτώσεις ανεπιτυχούς καταπολέμησης αρθρόποδων στις γεωργικές καλλιέργειες καθώς και αρθρόποδων υγειονομικής σημασίας. Στην πρώτη περίπτωση, μεταξύ άλλων περιλαμβάνονται και θα αναπτυχθούν παρακάτω τα εξής: 1) *Helicoverpa armigera*, 2) *Myzus persicae*, 3) *Trialeurodes vaporariorum*, 4) *Cydia pomonella*, 5) *Tetranychus urticae*, 6) *Bactrocera oleae*, 7) *Bemisia tabaci*, 8) *Tuta absoluta*. Στη δεύτερη περίπτωση τα κουνούπια των ειδών *Culex pipiens* και *Aedes albopictus*.

## 4.1. ENTOMA ΚΑΙ ΑΚΑΡΕΑ ΓΕΩΡΓΙΚΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ

### 4.1.1. *Helicoverpa armigera* (πράσινο σκουλήκι του βαμβακιού)

Το πράσινο σκουλήκι του βαμβακιού *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) ως πολυφάγο είδος προκαλεί σοβαρές οικονομικές ζημιές στην παραγωγή ενός μεγάλου αριθμού καλλιεργειών στην Ελλάδα, με σημαντικότερες αυτές του βαμβακιού, του καπνού, του καλαμποκιού, της τομάτας καθώς και των οσπρίων. Οι βιολογικές παράμετροι που καθιστούν το πράσινο σκουλήκι εχθρό εξαιρετικής σημασίας για τις προαναφερθείσες καλλιέργειες, συνδέονται με την αναπαραγωγική του ικανότητα καθώς και με τη δυνατότητά του να μεταναστεύει σε μεγάλες αποστάσεις. Επιπλέον, είναι ικανό να εισέρχεται σε προαιρετική διάπαυση αλλά και να αναπτύσσει με ευκολία ανθεκτικότητα στα φυτοφάρμακα (Mironidis, 2009).

Για την αντιμετώπιση του πράσινου σκουληκιού του βαμβακιού χρησιμοποιούνται τόσο μη χημικές μέθοδοι (αξιοποίηση φυσικών εχθρών, καλλιεργητικά μέτρα) όσο και χημικές. Το έντομο μπορεί να ελέγχεται αποτελεσματικά με τη χρήση ποικίλων εγκεκριμένων φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων. Υπάρχουν διαθέσιμα πυρεθροειδή (deltamethrin, lambda-cyhalothrin), οργανοφωσφορικά (chlorpyrifos, diazinon), καρβαμιδικά (methomyl), ρυθμιστές ανάπτυξης (diflubenzuron), αβερμεκτίνες (emamectin benzoate), ανθρανιλικά διαμίδια (chlorantraniliprole), κ.ά.. (Mironidis et al.,2012).

Έρευνα με στόχο την διερεύνηση της κατάστασης ανθεκτικότητας του εντόμου σε διάφορα εντομοκτόνα (σε περιοχές των Σερρών και της Θεσσαλονίκης), η οποία διήρκεσε 4 χρόνια (2007-2010), έδειξε ότι το 2010 παρατηρήθηκε μια σημαντική αύξηση του πληθυσμού του *Helicoverpa armigera* που πιθανόν οφείλεται στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας. Ειδικότερα, καταγράφηκαν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στο πυρεθροειδές  $\alpha$ -cypermethrin και πιθανόν στο οργανοφωσφορικό chlorpyrifos. Στην περίπτωση του πυρεθροειδούς η μειωμένη αποτελεσματικότητά του πιθανόν οφείλεται σε μηχανισμούς μεταβολικής ανθεκτικότητας και σε αλλαγές στην κουτίκουλα. Όσον αφορά στις ενδείξεις ανθεκτικότητας στο chlorpyrifos η ορθότητά τους ή μη είναι υπό διερεύνηση (Mironidis et al.,2012).

Άλλες μελέτες ανθεκτικότητας του πράσινου σκουληκιού στην Ελλάδα από το 2012 έως και το 2015, σε πληθυσμούς προερχόμενους από βαμβακοκαλλιεργητικές περιοχές (Σέρρες, Δράμα,

Λάρισα, Θεσσαλονίκη), κατέγραψαν μια αυξητική τάση στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε πυρεθροειδή εντομοκτόνα. Ειδικότερα, παρατηρήθηκε αύξηση της ανθεκτικότητας στα ακόλουθα: deltamethrin, lambda-cyhalothrin, beta-cyfluthrin, που αποδίδεται στη δράση P450 οξειδασών και συγκεκριμένα στην ύπαρξη της οξειδάσης CYP337B3 στους υπό εξέταση πληθυσμούς του εντόμου. Μικρότερη αύξηση παρατηρήθηκε στην ανθεκτικότητα απέναντι σε άλλες δραστικές ουσίες όπως το chlorpyrifos, emamectin benzoate και chlorantraniliprole, τα οποία εμφανίστηκαν να διατηρούν την αποτελεσματικότητά τους (Μυρωνίδης,2015).

#### 4.1.2. *Myzus persicae* (πράσινη αφίδα της ροδακινιάς)

Η πράσινη αφίδα της ροδακινιάς *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) θεωρείται σημαντικός εχθρός σε παγκόσμια κλίμακα δεδομένης της ικανότητάς της να προσβάλλει μεγάλο αριθμό ξενιστών από διάφορες βοτανικές οικογένειες. Στην Ελλάδα προκαλεί τις πιο σημαντικές ζημιές σε καλλιέργειες καπνού και ροδακινιάς (Margaritoroulos et al.,2007).

Εκτός από τις άμεσες ζημιές (πρόωρη μάρανση), η αφίδα *Myzus persicae* έχει την ικανότητα να λειτουργεί ως φορέας μεγάλου αριθμού φυτικών ιών. Συγκεκριμένα, μπορεί να μεταδώσει έμμονους ιούς με κύρια συμπτώματα το κιτρίνισμα και τη συστροφή των φύλλων, όπως ο ιός ήπιου κιτρινίσματος των τεύτλων (BMY) και ο ιός του καρουλιάσματος των φύλλων του μπιζελιού (PLR) και της πατάτας (PLRV). Επιπλέον, μεταδίδει και μη έμμονους ιούς όπως ο ιός του κίτρινου μωσαϊκού της κολοκυθιάς (ZYMV), ο ιός του μωσαϊκού της αγγουριάς (CMV), ο ιός Y της πατάτας (PVY) κ.ά. (Margaritoroulos et al.,2010).

Γίνονται προσπάθειες να υιοθετηθεί μια τακτική αντιμετώπισης του εντόμου που να βασίζεται κατά κύριο λόγο σε καλλιεργητικές πρακτικές και βιολογικούς παράγοντες ελέγχου, δηλαδή σε μη χημικές μεθόδους. Ωστόσο, βασικός τρόπος καταπολέμησης της αφίδας της ροδακινιάς είναι η χρήση χημικών σκευασμάτων, που την ελέγχουν αποτελεσματικά και αποτρέπουν τη μετάδοση ιών στις ευαίσθητες σε αυτούς καλλιέργειες (Margaritoroulos et al.,2010).

Ένα από τα φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται ευρέως (πάνω από 10 χρόνια) στην Ελλάδα στα προγράμματα φυτοπροστασίας είναι το νεονικοτινοειδές imidacloprid. Ακόμη δεν έχουν αναφερθεί αποτυχίες ελέγχου του εντόμου, ωστόσο αποτελέσματα ερευνών καταγράφουν μια μικρή αύξηση ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα νεονικοτινοειδή σε άλλα έντομα αποδίδονται στην υπερέκφραση εστερασών, την τροποποιημένη ακετυλοχολινεστεράση (modified acetylcholinesterase-MACE) και την knockdown ανθεκτικότητα (kdr)(Margaritoroulos et al.,2007).

Σε έρευνα των Philippou et al. (2009) βρέθηκε αυξημένη ανθεκτικότητα σε έναν κλώνο *Myzus persicae* στο imidacloprid που πιστεύεται πως είναι μεταβολική και οφείλεται στην αυξημένη δραστηριότητα των οξειδασών. Τα αποτελέσματα έρχεται να ενισχύσει πρόσφατη μελέτη των Voudouris et al. (2017) όπου ο μηχανισμός ανθεκτικότητας στο imidacloprid σχετίζεται με την υπερέκφραση μιας P450 μονοξυγενάσης της CYP6CY3, η οποία μεταβολίζει τη νικοτίνη και αποτοξικοποιεί τα νεονικοτινοειδή.

Εκτός από τη χρήση των νεονικοτινοειδών οι αγρότες εξακολουθούν να χρησιμοποιούν, τόσο για την αντιμετώπιση της πράσινης αφίδας όσο και άλλων εντομολογικών προσβολών στη ροδακινιά,

οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά και πυρεθροειδή φυτοφάρμακα. Αποτέλεσμα της πίεσης επιλογής αυτών των ουσιών είναι ο εντοπισμός, ακόμη και η συνύπαρξη σε πληθυσμούς εντόμων, τριών μηχανισμών ανάπτυξης ανθεκτικότητας: Υπερέκφραση εστερασών, MACE και kdr. Η ανίχνευση υψηλών συχνοτήτων αυτών των μηχανισμών στους πληθυσμούς, έχει ως αποτέλεσμα η ανθεκτικότητα στα συγκεκριμένα φυτοφάρμακα να είναι ευρέως διαδεδομένη στην αφίδα αυτή στην Ελλάδα (Margaritoroulos et al.,2007).

Σε πρόσφατη εργασία, που παρουσιάστηκε στο 18ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο το 2019, παρουσιάστηκαν συγκεντρωτικά στοιχεία που προέκυψαν από μελέτη παλαιότερων και νεότερων δεδομένων σχετικά με τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας που έχει αναπτύξει η αφίδα *Myzus persicae* στην Ελλάδα στα διάφορα εντομοκτόνα. Ειδικότερα, υψηλή ανθεκτικότητα του εντόμου παρουσιάζεται στα οργανοφωσφορικά, διμέθυλο-καρβαμιδικά και πυρεθροειδή. Η ανθεκτικότητα είναι μέτρια στα νεονικοτινοειδή και μικρή στο sulfoxaflor. Τέλος, μέχρι σήμερα δεν υπάρχουν ενδείξεις ανθεκτικότητας στα spirotetramat, pymetrozine, flonicamid και flupyradifurone. Πρέπει να σημειωθεί ότι προς το παρόν δεν υπάρχουν δεδομένα από ελληνικούς πληθυσμούς για τα εντομοκτόνα sulfoxaflor και flupyradifurone και χρησιμοποιήθηκαν βιβλιογραφικές πηγές (Μαργαριτόπουλος κ.α.,2019).

#### **4.1.3. *Trialeurodes vaporariorum* (λευκή μύγα ή αλευρώδης του θερμοκηπίου)**

Διαδεδομένο εχθρό των υπό κάλυψη κηπευτικών και ανθοκομικών καλλιεργειών φυτών αποτελεί ο αλευρώδης του θερμοκηπίου *Trialeurodes vaporariorum*. Το συγκεκριμένο είδος μπορεί να προκαλέσει εκτεταμένες ζημιές στην καλλιέργεια οι οποίες συνεπάγονται μεγάλο οικονομικό κόστος για τον παραγωγό. Επιπροσθέτως, το έντομο είναι ένας από τους φορείς των εντομομεταδιδόμενων ιών του γένους Crinivirus της οικογένειας των Closteroviridae που είναι υπεύθυνοι για σημαντικές απώλειες στην παραγωγή (Karantaidaki et al.,2017;Tzanetakis et al.,2013).

Η ανάγκη εξόντωσης του συγκεκριμένου εχθρού των θερμοκηπίων, παρά την από ετών επιτυχή βιολογική καταπολέμηση με το παρασιτοειδές *Encarsia formosa* σε εμπορική κλίμακα, είχε ως αποτέλεσμα την συνεχή πίεση επιλογής στο έντομο μέσω των επαναλαμβανόμενων χημικών εφαρμογών. Επιπλέον, ο σύντομος κύκλος ζωής του εντόμου και ο μεγάλος αριθμός γενεών ανά έτος εντείνουν την εμφάνιση του φαινομένου της ανθεκτικότητας στα φυτοφάρμακα (Pappas et al.,2013). Στα προγράμματα διαχείρισης του εντόμου χρησιμοποιούνται διάφορα χημικά φυτοπροστατευτικά προϊόντα όπως τα νεονικοτινοειδή, οι πυρεθρίνες και οι κετοενόλες (ketoenols)( Karantaidaki et al.,2017).

Παγκοσμίως έχει καταγραφεί μεγάλος αριθμός ουσιών στις οποίες εμφανίζει ανθεκτικότητα το *Trialeurodes vaporariorum*. Στην Ελλάδα έχουν εντοπιστεί πληθυσμοί ανθεκτικοί σε ουσίες όπως τα imidacloprid, bifenthrin και spiromesifen. Ωστόσο δεν έχουν προσδιοριστεί πλήρως οι μηχανισμοί που θεωρούνται υπεύθυνοι για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας (Karantaidaki et al.,2017). Προς αυτή την κατεύθυνση έγιναν προσπάθειες να δημιουργηθεί μια βάση δεδομένων που θα περιλαμβάνει δεδομένα του γονιδιώματος (genomic data) του εντόμου με χρήση της μεθόδου προσδιορισμού αλληλουχίας μέσω πυροφωσφορικών (πυραλληλούχισης-pyrosequencing)(Karatolos et al.,2011).

Το *T. vaporariorum* μεταβολίζει τα φυτοφάρμακα μέσω ενζύμων αποτοξικοποίησης όπως οι P450 μονοξυγενάσες, οι S-τρασφεράσες της γλουταθειόνης και οι καρβοξυλεστεράσες. Με τη μέθοδο της πυραλληλούχισης ταυτοποιήθηκαν στο μεταγραφόμενο μέρος του γονιδιώματος (transcriptome) αντιπροσωπευτικά ένζυμα και των 3 οικογενειών, που εμπλέκονται στην κωδικοποίηση πρωτεϊνικών στόχων διαφορετικών κατηγοριών φυτοφαρμάκων. Η υπερέκφραση αυτών των ενζύμων σε πληθυσμούς του εντόμου αποτελεί ένδειξη ύπαρξης ανθεκτικότητας. Απαιτείται η πραγματοποίηση νέων μελετών που θα αποσαφηνίζουν τον ακριβή ρόλο των ενζύμων αποτοξικοποίησης στην ανθεκτικότητα του εντόμου στα νεονικοτινοειδή και τις κετοενόλες (Karatolos et al.,2011).

Μετά από τα παραπάνω, ο μηχανισμός που μπορεί να θεωρηθεί σήμερα υπεύθυνος για την ανθεκτικότητα του εντόμου στα πυρεθροειδή είναι η μείωση ευαισθησίας στόχου μέσω μεταλλάξεων στα τασοενεργά κανάλια νατρίου. Μελέτη των Karatolos et al. (2012) εντόπισε τις μεταλλάξεις M918L, L925I και T929I που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα του συγγενούς είδους *Bemisia tabaci* στα πυρεθροειδή. Σε κάθε περίπτωση ο αλευρώδης του θερμοκηπίου, παρά τη σπουδαιότητά του ως εχθρού, δεν έχει μελετηθεί αρκετά όσον αφορά τους μηχανισμούς ανθεκτικότητας που έχει αναπτύξει στα φυτοφάρμακα τα οποία χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπισή του.

#### **4.1.4. *Cydia pomonella* (καρπόκαψα της μηλιάς)**

Η καρπόκαψα της μηλιάς *Cydia pomonella* είναι Λεπιδόπτερο της οικογένειας Tortricidae, το οποίο προκαλεί σοβαρή μείωση της παραγωγής σε καλλιέργειες μηλιάς, αχλαδιάς και κυδωνιάς, που είναι και οι κύριοι ξενιστές του. Ωστόσο, ζημιές μπορούν να παρατηρηθούν και σε πυρηνόκαρπα όπως η βερικοκιά, η ροδακινιά και η δαμασκηλιά, ενώ λιγότερο συχνά προσβάλλει λωτό, καστανιά, ροδιά και πορτοκαλιά (Βουδούρης,2009).

Οι μη χημικές μέθοδοι καταπολέμησης του εντόμου θεωρούνται ανεπαρκείς για τον αποτελεσματικό έλεγχο του με αποτέλεσμα να κρίνεται σχεδόν πάντα αναγκαία η χρήση χημικών σκευασμάτων. Στα πλαίσια των χημικών μεθόδων καταπολέμησης κατά της καρπόκαψας εφαρμόζονται νευροτοξικά εντομοκτόνα, όπως οργανοφωσφορικά, καρβαμιδικά, νεονικοτινοειδή, πυρεθροειδή, και μακροκυκλικές λακτόνες. Επίσης χρησιμοποιούνται ουσίες που ρυθμίζουν την ανάπτυξη των εντόμων: Ορμόνες νεότητας (juvenile hormones) και μιμητές εκδυσόνης (ουσίες που εμποδίζουν την έκδυση)(Voudouris et al.,2011).

Δυνητικά ανθεκτικοί πληθυσμοί βρέθηκαν στο σύνολο των περιοχών της χώρας στις οποίες πραγματοποιήθηκαν έλεγχοι, ακόμη και σε περιοχές που θεωρούνται γεωγραφικά απομακρυσμένες, με κλιματικές και τοπογραφικές διαφορές από τις κύριες περιοχές εφαρμογών. Το φαινόμενο αυτό αποδίδεται σε ροή γονιδίων (gene flow) μεταξύ οπωρώνων/περιοχών μέσω ανθρώπινων δραστηριοτήτων. Ανθεκτικοί πληθυσμοί βρέθηκαν και σε οπωρώνες Βιολογικής Καλλιέργειας, γεγονός που μπορεί να οφείλεται είτε στις μικρές αποστάσεις από τους οπωρώνες μη Βιολογικής Καλλιέργειας είτε στο ότι τα γονίδια ανθεκτικότητας παραμένουν στον πληθυσμό ακόμη και μετά την πάροδο 5 ετών, μετά την χαλάρωση της πίεσης επιλογής από τα εντομοκτόνα (Voudouris et al.,2011).

Η καρπόκαψα είναι από τα είδη εντόμων που έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα στο μεγαλύτερο ποσοστό των φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται στα προγράμματα ελέγχου της, είτε άμεσα είτε μέσω διασταυρωτής ανθεκτικότητας. Παρατηρείται διαφορά της ευαισθησίας μεταξύ των διαφορετικών σταδίων ανάπτυξης του εντόμου, με τις νεαρές προνύμφες να είναι πιο ευαίσθητες σε σχέση με τις διαπαύουσες και τις προνύμφες 5<sup>ου</sup> σταδίου. Έχει διαπιστωθεί διασταυρωτή ανθεκτικότητα μεταξύ οργανοφωσφορικών παλαιότερης χρήσης (phosalone, aziphos-methyl), πυρεθροειδών (deltamethrin), ρυθμιστών ανάπτυξης (diflubenzuron, tebufenozide) και νεονικοτινοειδών (thiacloprid)(Βουδούρης,2009).

Στους πληθυσμούς καρπόκαψας στην Ελλάδα κύριος μηχανισμός ανθεκτικότητας θεωρείται ο μεταβολικός. Φαίνεται ότι υπάρχει συσχετισμός μεταξύ της δραστηριότητας των οξειδασών μικτής λειτουργίας και της μειωμένης ευαισθησίας του εντόμου στο fenoxycarb και τα νεονικοτινοειδή. Επιπλέον, οι S-τρανσφεράσες της γλουταθειόνης πιθανόν λειτουργούν ενισχυτικά στην εμφάνιση μειωμένης ευαισθησίας του εντόμου στα εξής εντομοκτόνα: Phosalone, deltamethrin, diflubenzuron, fenoxycarb, tebufenozide και methoxyfenozide (Voudouris et al.,2011).

Συμπληρωματικό ρόλο στους βασικούς μηχανισμούς της ανθεκτικότητας φαίνεται πως έχει η έκφραση μιας τροποποιημένης εστεράσης που προσδίδει μειωμένη ευαισθησία σε tebufenozide και deltamethrin και καταγράφηκε σε πληθυσμούς μη διαπαυουσών προνυμφών 5ου σταδίου. Προς το παρόν δεν έχει βρεθεί τροποποιημένη AChE και μηχανισμός kdr στους πληθυσμούς καρπόκαψας. Η δραστηριότητα των οξειδασών μικτής λειτουργίας (P450s) είναι ο κύριος και πιο συχνός μεταβολικός μηχανισμός ανθεκτικότητας στην Ελλάδα ακολουθούμενος από S-τρανσφεράσες γλουταθειόνης και τις εστεράσες (Voudouris et al.,2011).

#### **4.1.5. *Tetranychus urticae* (κίτρινος τετράνυχος)**

Ο κίτρινος τετράνυχος *Tetranychus urticae* (Acari:Tetranychidae) αποτελεί ένα από τα πιο καταστροφικά παράσιτα γεωργικών καλλιεργειών, έχει περισσότερους από 1000 ξενιστές και είναι μεταξύ των ανθεκτικότερων αρθρόποδων. Η ικανότητά του να αναπτύσσει ανθεκτικότητα στα ακαρεοκτόνα αποδίδεται στην αρρενοτόκο αναπαραγωγή, στο σύντομο κύκλο ζωής, στη μεγάλη γονιμότητα (high fecundity) και στην ισχυρή πίεση επιλογής από φυτοφάρμακα. Μεταξύ των φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα είναι και κάποια πυρεθροειδή (bifenthrin και acrinathrin) και αβερμεκτίνες (π.χ. abamectin). Κύριος στόχος δράσης και των δυο ομάδων φαρμάκων είναι το κεντρικό νευρικό σύστημα, όπου μεταβάλλουν την φυσιολογική λειτουργία των τασοενεργών καναλιών νατρίου (vgsc) τα πυρεθροειδή και των διαύλων ιόντων χλωρίου (GluCl) οι αβερμεκτίνες, προκαλώντας την παράλυση και ακολούθως το θάνατο του ακάρεος (Ilias et al.,2014).

Οι μηχανισμοί που σχετίζονται με την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στον κίτρινο τετράνυχο είναι μοριακοί και αναφέρονται σε μεταβολές της θέσης στόχου των εντομοκτόνων συμπεριλαμβανομένων των πυρεθροειδών και του abamectin. Συγκεκριμένα έχουν εντοπιστεί τρεις μεταλλάξεις (L1012V, A1215D και F1538I) στα τασοενεργά κανάλια νατρίου οι οποίες φαίνεται πως συνδέονται με την ανθεκτικότητα στα πυρεθροειδή. Στην Ελλάδα ωστόσο παρατηρείται χαμηλή συχνότητα του F1538I στους πληθυσμούς. Στην περίπτωση της ανθεκτικότητας στο abamectin

έχουν εντοπιστεί δυο σημειακές μεταλλάξεις (G314D και G326E) στα γλουταμινικά κανάλια χλωριούχου νατρίου (GluCl<sub>s</sub>). Ειδικότερα η μετάλλαξη G314D επιφέρει μέτρια επίπεδα ανθεκτικότητας στο abamectin και βρέθηκε σε λίγους πληθυσμούς στην Ελλάδα που προέρχονταν από θερμοκήπια τριανταφυλλιάς. Σε συνδυασμό όμως με την G326E αντικατάσταση στα γλουταμινικά κανάλια χλωριούχου νατρίου, που καταγράφηκε στους ίδιους πληθυσμούς, η ανθεκτικότητα στο abamectin ήταν υψηλότερη (Ilias et al.,2014; Ilias et al.,2017).

Πέρα από τις προαναφερθείσες μεταλλάξεις έχει βρεθεί και το κυτόχρωμα P450 (CYP392A16) που σχετίζεται με την ανθεκτικότητα του *T. urticae* στα ακαρεοκτόνα. Πρόκειται για το 1<sup>ο</sup> ένζυμο που έχει την ικανότητα να μεταβολίζει το ενεργό συστατικό της οικογένειας εντομοκτόνων των μακροκυκλικών λακτόνων (αβερμεκτίνες) σε μια λιγότερο τοξική μορφή (Riga et al.,2014).

Ένα διαφορετικό κυτόχρωμα P450 (CYP391A11) βρέθηκε να υπερεκφράζεται σε πληθυσμούς *T. urticae* που εντοπίστηκαν στο Μαραθώνα. Ο ρόλος αυτού του ενζύμου είναι να μεταβολίζει μέλη της οικογένειας των ακαρεοκτόνων αναστολέων μιτοχονδριακής μεταφοράς ηλεκτρονίων (Mitochondrial Electron Transport Inhibitor, METI) και ειδικότερα έχει εξειδικευμένο ρόλο στην ανθεκτικότητα του ακάρεος στα cyenopyrafen και fenpyroximate. Το cyenopyrafen είναι δραστικό συστατικό που έχει αναπτυχθεί πρόσφατα και οι πληθυσμοί δεν είχαν εκτεθεί άμεσα σε αυτό. Η εξήγηση αυτής της παρατήρησης πιθανόν βρίσκεται στην προεπιλογή των πληθυσμών της Ευρώπης από το fenpyroximate που χρησιμοποιείται εκτενώς. Αυτά τα ευρήματα παρέχουν για πρώτη φορά πιθανό συσχετισμό μεταξύ των κυτοχρωμάτων P450 και της ανθεκτικότητας ενός παρασίτου γεωργικών καλλιεργειών στα ακαρεοκτόνα METIs (Riga et al.,2015).

Πρόσφατα μέσω γενετικών, λειτουργικών και ανοσοϊστοχημικών προσεγγίσεων αναλύθηκε και αναδείχτηκε ο ρόλος και το ποσοστό συμμετοχής των αλληλόμορφων στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας που παρουσίαζε ένας πληθυσμός *T. urticae* ο οποίος συλλέχθηκε από ένα θερμοκήπιο στην περιοχή της Τροιζηνίας. Στον πληθυσμό εντοπίστηκε ανεπαρκής έλεγχος με τη χρήση εντομοκτόνων και οι έρευνες έδειξαν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στα ακαρεοκτόνα etoxazole, clofentezine, cyflumetofen και abamectin. Οι μέθοδοι ανοσοεντοπισμού και ιστοειδικής ταυτοποίησης οδήγησαν στον εντοπισμό της μεταφοράς της γλουταθειόνης GSTd05, μιας πρωτεΐνης υπεύθυνης για την αποτοξικοποίηση των εντομοκτόνων (εντοπίζεται στο μεσέντερο και κάτω από την επιδερμίδα του τετράνυχου) (Σκουφά κ.α.,2019).

#### **4.1.6. *Bactrocera oleae* (δάκος της ελιάς)**

Ο δάκος της ελιάς *Bactrocera oleae* (Diptera:Tephritidae) προκαλεί τεράστιες ποιοτικές και ποσοτικές ζημιές στην ελαιοπαραγωγή, άμεσες (ποσοτική μείωση και ποιοτική υποβάθμιση των συλλέξιμων καρπών) και έμμεσες (διευκολύνει την εγκατάσταση του μύκητα *Camarosporium dalmaticum*, υπεύθυνου για την ασθένεια βούλα) (Iannota et al.,2012). Για τον έλεγχο του εντόμου έχουν χρησιμοποιηθεί, μεταξύ άλλων, οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα (OPs) όπως τα dimethoate και fenthion. Η ευρεία χρήση τους στην Ελλάδα είχε ως συνέπεια την ανάπτυξη ιδιαίτερα υψηλής ανθεκτικότητας στο dimethoate (Skouras et al.,2007).

Συγκεκριμένα, σε δείγματα πληθυσμών από ελαιώνες σε Αθήνα και Κρήτη ανιχνεύτηκαν δύο μεταλλάξεις, η G488S (μοναδική στο δάκο) και η I214V (συναντάται και στην οικιακή μύγα και τη

δρυσόφιλα). Η σημειακή μετάλλαξη της γλυκίνης σε σερίνη (G488S) προσδίδει ανθεκτικότητα στο dimethoate προκαλώντας μείωση της καταλυτικής ικανότητας της AChE. Είναι σύνηθες η G488S μετάλλαξη να συνυπάρχει με την επίσης σημειακή μετάλλαξη της ιστιδίνης σε βαλίνη στη θέση 214 (I214V). Η συνδυαστική δράση των δυο μεταλλάξεων επιφέρει επιζήμια αποτελέσματα στην καταλυτική δράση της AChE (Hawkes et al.,2005;Margaritopoulos et al.,2008;Kampouraki et al.,2018).

Λόγω της αυξημένης ανθεκτικότητας του δάκου στο dimethoate και γενικότερα στα οργανοφωσφορικά, στα προγράμματα φυτοπροστασίας έχουν ενταχθεί το πυρεθροειδές *a-cypermethrin* και η μονοκυκλική λακτόνη *spinosad*. Μέχρι και το 2012 τα επίπεδα ανθεκτικότητας στο dimethoate ήταν χαμηλά. Από το 2013 παρατηρήθηκε αύξηση, η οποία ήταν υψηλότερη στους πληθυσμούς της Κρήτης, πιθανόν λόγω περισσότερο εκτεταμένης χρήσης σε σχέση με τις υπόλοιπες περιοχές της Ελλάδας. Ο μηχανισμός που είναι υπεύθυνος για την ανθεκτικότητα δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί. Πιθανολογείται ότι οφείλεται σε ενισχυμένη δραστηριότητα των P450 μονοοξυγενασών και όχι σε ανθεκτικότητα θέσης στόχου (Kampouraki et al.,2018).

Εκτός αυτού οι πληθυσμοί που παρουσίαζαν ανθεκτικότητα στο *a-cypermethrin* παρουσίαζαν μικρότερη ευαισθησία στο *L-cyhalothrin*. Όσον αφορά στο *spinosad*, μελέτη έδειξε ότι γενικότερα τα επίπεδα ανθεκτικότητας είναι χαμηλά εκτός από ορισμένους πληθυσμούς που προέρχονταν από το νησί της Μυτιλήνης όπου χρησιμοποιείται πιο συχνά. Είναι αναγκαίο να πραγματοποιούνται επαρκείς έλεγχοι με στόχο να εντοπίζεται έγκαιρα οποιαδήποτε αλλαγή στα επίπεδα ανθεκτικότητας του δάκου απέναντι στο *spinosad* (Kampouraki et al.,2018).

Νεότερη έρευνα των Καμπουράκη κ.ά. (2019) δείχνει ότι οι μεταλλαγές ανθεκτικότητας του δάκου στα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα εξακολουθούν να βρίσκονται σε σχετικά υψηλά επίπεδα αν και τα τελευταία χρόνια έχει μειωθεί η εφαρμογή τους. Εξίσου πρόσφατη έρευνα των Σταυρακάκη κ.ά. (2019) με στόχο τη διερεύνηση της επίδρασης της ανάπτυξης ανθεκτικότητας των εντόμων στους δολωματικούς ψεκασμούς που διήρκησε 5 χρόνια (2014-2018) κατέληξε σε κάποια σημαντικά συμπεράσματα. Συγκεκριμένα, φαίνεται πως επηρεάζεται η αποτελεσματικότητα των ψεκασμών που πραγματοποιούνται στα πλαίσια της δακοκτονίας και το ποσοστό θνησιμότητας των εντόμων για τα *a-cypermethrin*, *λ-cyhalothrin*, *thiacloprid* και *deltamethrin* κυμαίνεται σε ιδιαίτερα χαμηλά ποσοστά της τάξεως του 20% και λιγότερο. Για το *beta-cyfluthrin* βρίσκεται στο 47% ενώ τα νεονικοτινοειδή *dimethoate* και *spinosad* διατηρούν την αποτελεσματικότητά τους και εξασφαλίζουν θνησιμότητα που ξεπερνά το 90%.

#### **4.1.7. *Bemisia tabaci* (αλευρώδης του καπνού)**

Ο αλευρώδης του καπνού *Bemisia tabaci* (Hemiptera:Aleurodidae) έχει σημαντικό αριθμό ξενιστών από διάφορες οικογένειες φυτών (Asteraceae, Brassicaceae, Cucurbitaceae, Solanaceae κ. ά.). Εκτός αυτού το έντομο είναι φορέας φυτοϊών υπεύθυνων για σοβαρές απώλειες στην παραγωγή. Ορισμένα από τα εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται στην Ελλάδα για την αντιμετώπισή του είναι τα ακόλουθα: *Bifenthrin*, *a-cypermethrin*, *endosulfan*, *imidacloprid*, *pirimiphos-methyl* και *spiromesifen*. Για να εκδηλώσει ανθεκτικότητα ένας πληθυσμός *Bemisia tabaci* αρκούν λίγες εφαρμογές φυτοφαρμάκου, γεγονός που σε συνδυασμό με την εμφάνιση

βιότυπων με χαρακτηριστικά, όπως η μεγάλη ποικιλία ξενιστών και ο γρήγορος ρυθμός ανάπτυξης, καθιστούν προβληματικό τον έλεγχό του (Roditakis et al.,2005).

Ανιχνεύθηκαν δυο σημειακές μεταλλάξεις στα τασοενεργά κανάλια νατρίου: α) η αντικατάσταση της θρεονίνης σε βαλίνη στη θέση 929 (T929V) και β) αντικατάσταση της λευκίνης σε ισολευκίνη στη θέση 925 (L925I), οι οποίες συνδέονται με την υψηλή ανθεκτικότητα του *B. tabaci* στα πυρεθροειδή. Εκτός αυτού τα στελέχη αλευρώδη της μελέτης παρουσίασαν υψηλά επίπεδα μεταβολικής ανθεκτικότητας στο *a-cypermethrin* που συνδέεται με την αυξημένη αποτοξικοποίησή του λόγω δραστηριότητας τόσο καρβοξυλεστερασών όσο και P450 μονοοξυγενασών (Roditakis et al.,2006).

Μελέτη σε διάφορες περιοχές της Κρήτης έδειξε ότι υπάρχουν πληθυσμοί *B. tabaci* ανθεκτικοί στα οργανοφωσφορικά (πχ. pirimiphos methyl). Η συγκεκριμένη ανθεκτικότητα οφείλεται σε δυο μηχανισμούς: α) μειωμένη ευαισθησία της AChE και β) αυξημένη αποτοξικοποίησή τους από εστεράσες και P450 μονοοξυγενάσες. Συγκεκριμένα, εντοπίστηκε η μετάλλαξη F331W στο γονίδιο ακετυλοχολινεστεράσης ace 1 που σχετίζεται με την ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά (Tsagarakou et al.,2009).

Η ανθεκτικότητα στο χλωριωμένο υδρογονάνθρακα endosulfan σχετίζεται με την αντικατάσταση ενός αμινοξέος (Ala 302 σε Ser ή Gly) στο γονίδιο dieldrin (Rdl) που κωδικοποιεί την υπομονάδα του υποδοχέα γ αμινοβουτυρικού οξέος (GABA), που ουσιαστικά είναι κύριος στόχος της ομάδας εντομοκτόνων του κυκλοδιένιου (Roditakis et al.,2005).

Τα υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στο imidacloprid σχετίζονται με την αποτελεσματική αποτοξικοποίησή του από P450 μονοοξυγενάσες ,ειδικότερα με την υπερέκφραση του CYP6CM1vQ σε πληθυσμούς αγρών στη Κρήτη. Υψηλά επίπεδα μεταγραφών του CYP6CM1vQ προσδιορίστηκαν σε επιζώντα άτομα μετά από έκθεση σε διακριτική δόση imidacloprid υποδεικνύοντας πιθανή λειτουργική επίδραση του μηχανισμού ανθεκτικότητας της CYP6CM1vQ στον έλεγχο του *Bemisia tabaci* στον αγρό. Τα επίπεδα πρωτεϊνών CYP6CM1vQ ήταν υψηλότερα σε έντομα ανθεκτικά στο imidacloprid. Αυτά δείχνουν το ρόλο των συσσωρευμένων μεταγραφών του CYP6CM1vQ στην ανθεκτικότητα στο imidacloprid στο *Bemisia tabaci* (Roditakis et al.,2009;Roditakis et al.,2010).

Τέλος, τις χρονιές 2018 και 2019 καταγράφηκε για 1<sup>η</sup> φορά στην Ελλάδα περιστατικό ανθεκτικότητας του εντόμου στο spiromesifen. Πρόκειται για δυο πληθυσμούς *Bemisia tabaci*, που προέρχονταν από τη περιοχή της Ιεράπετρας και επιδείκνυαν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στο συγκεκριμένο εντομοκτόνο. Προκειμένου να διευκρινιστούν στοιχεία όπως ο μηχανισμός ανθεκτικότητας, ή ύπαρξη και άλλων πληθυσμών σε άλλες περιοχές της Ελλάδας πρέπει να πραγματοποιηθούν δειγματοληψίες και έρευνες και σε άλλες περιοχές (Σταυρακάκη κ.α.,2019).

#### **4.1.8. *Tuta absoluta* (τούτα ή υπονομευτής της τομάτας)**

Ο υπονομευτής της τομάτας *Tuta absoluta* (Lepidoptera:Gelechiidae) είναι ένας από τους βασικούς εχθρούς της τομάτας, ενώ προσβάλλει κι άλλα φυτά της οικογένειας των Σολανωδών (πιπεριά, μελιτζάνα και πατάτα). Πρόκειται για είδος που εντοπίστηκε στην Ευρώπη το 2006 με πρώτη καταγεγραμμένη εμφάνιση στην Ελλάδα το 2009. Παρά το γεγονός ότι υπάρχουν φυσικοί εχθροί του εντόμου, ο έλεγχός του μέχρι σήμερα γίνεται σχεδόν αποκλειστικά με χημικά μέσα.



Αυτό συνεπάγεται την ανάπτυξη ανθεκτικών στελεχών και τη μείωση της αποτελεσματικότητας των σκευασμάτων φυτοφαρμάκων. Η ανάπτυξη ανθεκτικότητας σε συνδυασμό με την ικανότητα του εντόμου για ταχύτατη εξάπλωση εξηγούν την έγκριση σημαντικού αριθμού φυτοφαρμάκων για την καταπολέμησή του. Υπάρχουν διαθέσιμα πολλά σκευάσματα από διάφορες ομάδες δράσης όπως: καρβαμιδικά (methomyl), οξαδιαζίνες (indoxacarb), σπινোসίνες (spinosad), αβερμεκτίνες (emamectin benzoate, abamectin), διαμίδια (chlorantraniliprole, flubendiamide) κ. ά. (Ροδιτάκης κ.α.,2017).

Στόχος της ομάδας των διαμιδίων είναι ο υποδοχέας ρυανοδίνης (Ryanodine receptor-RyR), ο οποίος εντοπίζεται στο σαρκοπλασματικό δίκτυο των εντόμων (μυϊκό σύστημα). Από τη στιγμή που διαπιστώθηκαν αυξημένα επίπεδα ανθεκτικότητας σε πληθυσμούς στην Ελλάδα (Κρήτη) στο chlorantraniliprole και το flubendiamide, έχουν πραγματοποιηθεί εκτεταμένες έρευνες με σκοπό τον εντοπισμό του μηχανισμού που έχουν αναπτύξει τα έντομα σε αυτή τη νέα ομάδα φυτοφαρμάκων (Ροδιτάκης κ.α.,2015).

Αποτέλεσμα των ερευνών αυτών είναι ο εντοπισμός της σημειακής μετάλλαξης G4903E στον υποδοχέα ρυανοδίνης και στην ίδια θέση μια εναλλακτική αντικατάσταση αμινοξέος G4903V (που ανιχνεύθηκε για πρώτη φορά). Η θέση μετάλλαξης G4946E, στην οποία αντιστοιχεί ο γονότυπος G4903E/V, έχει αποδειχθεί ότι είναι υπεύθυνη για την ανθεκτικότητα που εκδηλώνει η *Plutella xylostella* στα διαμίδια. Στο στέλεχος *Tuta absoluta* της μελέτης βρέθηκε σε υψηλή συχνότητα μια επίσης νέα μετάλλαξη η I4746T καθώς και η I4746M. Ο βαθμός συμμετοχής της κάθε μετάλλαξης στην ανθεκτικότητα του εντόμου στα διαμίδια δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί (Roditakis et al.,2017a).

Το 2016 ανιχνεύθηκαν μικρά ποσοστά ανθεκτικότητας σε πληθυσμούς *Tuta absoluta* στο indoxacarb (αναστολέας των διαύλων νατρίου) που οφείλεται στην παρουσία των μεταλλάξεων F1845Y και V1848I στο τασοενεργό κανάλι νατρίου. Η συγκεκριμένη μετάλλαξη είχε εντοπιστεί και στην έκφραση ανθεκτικότητας κι άλλων Λεπιδόπτερων (*Plutella xylostella*) στο indoxacarb και το metaflumizone (Roditakis et al.,2017b). Η ανθεκτικότητα του εντόμου στο indoxacarb είναι ήδη διαδεδομένη στην Ελλάδα και σχετίζεται με μεταλλαγές στην περιοχή στόχου του εντομοκτόνου.

Το 2017 μέσω βιοδοκιμών εντοπίστηκε για 1<sup>η</sup> φορά ανάπτυξη ανθεκτικότητας του εντόμου στις αβερμεκτίνες. Χρησιμοποιήθηκαν ενζυμικοί παρεμποδιστές (PBO, DEF και DEM) με τη βοήθεια των οποίων διαπιστώθηκε η συμμετοχή των P450s οξειδασών στην εκδήλωση ανθεκτικότητας του εντόμου. Μέσω ανάλυσης διαφορικής έκφρασης γονιδίων έγινε υπολογισμός του βαθμού μεταβολής της έκφρασης των γονιδίων. Παρατηρήθηκε υπερέκφραση σημαντικού αριθμού μεταγραφημάτων που κωδικοποιούν ένζυμα που παίζουν ρόλο στην αποτοξικοποίηση εντομοκτόνων, και κατά συνέπεια συμβάλλουν στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας, όπως αυτά των ομάδων (P450s, GSTs, CCEs, UGTs και ABCs)(Σταυρακάκη κ.α.,2019).

Το έντομο έχει αναπτύξει μηχανισμούς ανθεκτικότητας στις περισσότερες ομάδες φυτοφαρμάκων που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχό του. Αυτό είναι έκδηλο και από τα αποτελέσματα μιας πρόσφατης μελέτης των Ροδιτάκης κ.ά. (2019) όπου εντοπίστηκαν πληθυσμοί από την περιοχή του Τυμπακίου που εμφάνιζαν υψηλά ποσοστά ανθεκτικότητας στα ακόλουθα εντομοκτόνα: chlorantraniliprole, indoxacarb, spinosad, emamectin benzoate (με φθίνουσα κατάταξη ως προς το βαθμό ανθεκτικότητας).

## 4.2. ENTOMA ΥΓΕΙΟΝΟΜΙΚΗΣ ΣΗΜΑΣΙΑΣ

Τα κουνούπια είναι φορείς μιας σειράς επικίνδυνων ασθενειών που μπορούν να προκαλέσουν ακόμη και απώλειες ανθρώπινων ζώων. Οι συχνότερα μεταδιδόμενες ασθένειες μέσω των συγκεκριμένων φορέων είναι η ελονοσία, η ασθένεια του Δυτικού Νείλου (West Nile Virus-WNV), το DENV και ο ιός Ζίκα. Τα είδη *Anopheles maculipennis* και *Anopheles sacharovi* είναι φορείς της ελονοσίας, το *Aedes albopictus* μεταδίδει τον πυρετό Chinkungunya, τον Δάγκειο πυρετό (DENV) και τον ιό Ζίκα, και το *Culex pipiens* την ασθένεια του δυτικού Νείλου (WNV)(Fotakis et al.,2017).

Η Ελλάδα είναι μια από τις χώρες της Ευρώπης στις οποίες τα τελευταία χρόνια παρατηρείται είτε επανεμφάνιση ασθενειών που θεωρούνταν ότι είχαν εξαφανιστεί είτε η είσοδος νέων που προέρχονται από άλλες χώρες. Χαρακτηριστική είναι η εμφάνιση κρουσμάτων αυτόχθονης ελονοσίας (η μόλυνση έγινε εντός της χώρας) σε ορισμένους νομούς το 2009 τα οποία κορυφώθηκαν το 2011. Εκτός αυτού το 2010 παρουσιάστηκε έκρηξη της ασθένειας του Δυτικού Νείλου (WNV) στην Κεντρική Μακεδονία όπου καταγράφηκαν αρκετά περιστατικά (262 κλινικές περιπτώσεις από τις οποίες 35 κατέληξαν (απώλειες ζωής). Τα είδη που εντοπίστηκαν τη συγκεκριμένη χρονιά σε αυξημένη συχνότητα ήταν τα *Culex pipiens/Culex molestus*, βιότυποι με ευκαιριακή συμπεριφορά δηλαδή τροφοδοσία τόσο σε πτηνά (δεξαμενές WNV) όσο και σε ανθρώπους. Εκτός αυτού βρέθηκαν και μέλη του *Anopheles maculipennis* αλλά και το *Aedes albopictus* (Fotakis et al.,2017).

### 4.2.1. *Aedes albopictus* (Κουνούπι τίγρης) -*Culex pipiens*

Για την καταπολέμηση των κουνουπιών χρησιμοποιούνται προνυμφοκτόνα (diflubenzuron, Bt, pyriproxifen) και πυρεθροειδή (όπως deltamethrin). Η εκτεταμένη χρήση των πυρεθροειδών, καθώς και το γεγονός ότι έχουν κοινά ενεργά συστατικά με φυτοφάρμακα που χρησιμοποιούνται στον αγροτικό τομέα, οδηγούν στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας. Έρευνες οδήγησαν στον εντοπισμό δύο μηχανισμών: Ανθεκτικότητας στόχου και μεταβολική ανθεκτικότητα (Kioulos et al.,2014).

Την τριετία 2008-2010 διεξήχθη μελέτη από τους Kioulos et al. (2014) με αντικείμενο τον βαθμό ανθεκτικότητας του είδους *Culex pipiens*, σε πληθυσμούς, που προέρχονταν από διάφορες περιοχές της Ελλάδας. Ανιχνεύθηκε υψηλή συχνότητα της μετάλλαξης L1014F με αποτέλεσμα η θνησιμότητα του *Culex pipiens* κατά τις καταπολεμήσεις του να είναι μικρότερη από 60%. Η συγκεκριμένη αλλαγή οφείλεται στις συχνές εφαρμογές πυρεθρινών για προσωπική προστασία (οικιακή χρήση) καθώς και λόγω της μακρόχρονης χρήσης πυρεθροειδών σε γειτονικές γεωργικές καλλιέργειες, από τις περιοχές από τις οποίες έγινε η λήψη των δειγμάτων. Επιπλέον σε χαμηλές συχνότητες εντοπίστηκαν οι μεταλλάξεις G119S (γλυκίνη σε σερίνη) και F290V (φαινυλαλανίνη σε τρυπτοφάνη) στο γονίδιο Ace-1, οι οποίες προσδίδουν ανθεκτικότητα σε οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικα εντομοκτόνα. Έρευνα των Καμπουράκη κ. ά. (2019) εξακολουθεί να εντοπίζει υψηλά ποσοστά της μετάλλαξης L1014F σε κουνούπια του είδους *Culex pipiens*.

Όσον αφορά στη μεταβολική ανθεκτικότητα, οι πληθυσμοί *Culex pipiens* παρουσίασαν μικρή αύξηση της δραστηριότητας των εστερασών (προσδίδουν ανθεκτικότητα σε εντομοκτόνα με δεσμούς εστέρων) και των P450 μονοοξυγενασών (πυρεθροειδή), οι οποίες μπορεί να συνδέονται

με την αυξημένη ανθεκτικότητα στο deltamethrin, λειτουργώντας προσθετικά στην kdr μετάλλαξη (Κίουλος et al.,2014).

Πρόσφατα απομονώθηκε στην Ελλάδα ένα στέλεχος *Aedes albopictus* που παρουσιάζει μειωμένη ευαισθησία στο temephos, η οποία μπορεί να αποδοθεί στην εκτεταμένη χρήση του συγκεκριμένου προνυμφοκτόνου σε προηγούμενα χρόνια μέχρι και την κατάργησή του το 2007 (απαγόρευση χρήσης)(Grigoraki et al.,2015). Βιοχημικές αναλύσεις καταδεικνύουν συσχέτισμό μεταξύ μεταβολικών μονοπατιών καρβοξυλεστερασών (CCEs) και της ανθεκτικότητας στο temephos. Τα ευρήματα αυτής της έρευνας επίσης δείχνουν ότι η υπερэкφραση των καρβοξυλεστερασών CCEαε6α και CCEαε3α, συγκεκριμένα τα αυξημένα επίπεδα μεταγραφής τους, ευθύνονται για την ανάπτυξη ανθεκτικότητας του είδους στο temephos (Xu et al.,2016).

Στα ελληνικά στελέχη του *Aedes albopictus* που χρησιμοποιήθηκαν σε έρευνα, παρατηρήθηκαν αυξημένα γονίδια όπως μέλη της οικογένειας των P450s κυτοχρωμάτων, UDP γλυκοζυλτρανσφεράσες (UGTs), που συμμετέχουν στην αποτοξικοποίηση ξενοβιοτικών από κουνούπια του είδους *Aedes aegypti*. Είναι πιθανό η συνεξέλιξη (coevolution) διάφορων μηχανισμών που δρουν με συντονισμένο τρόπο στην επιτάχυνση της αποτοξικοποίησης να ευθύνονται για την ανθεκτικότητα στα εντομοκτόνα (Grigoraki et al.,2015).

Σε άλλη μελέτη διερευνήθηκε η ύπαρξη της μετάλλαξης F1534S στο τασοενεργό κανάλι νατρίου (voltage gated sodium channel, VGSC) σε πληθυσμούς που είχαν προέλευση από διάφορα μέρη του κόσμου, συμπεριλαμβανομένης και της Ελλάδας. Στους πληθυσμούς *Aedes albopictus*, που είχαν συλλεχθεί στην Αθήνα, βρέθηκε σε μέτρια συχνότητα η μετάλλαξη F1534C που εμπλέκεται στην ανθεκτικότητα στα πυρεθροειδή (Grigoraki et al.,2017). Κατά την παρακολούθηση πληθυσμών κουνουπιών *Aedes albopictus*, που πραγματοποιήθηκε στο σύνολο των τεσσάρων νομών της Κρήτης, βρέθηκε υψηλή συχνότητα τόσο της μετάλλαξης F1534C όσο και της I1532T, που αμφότερες σχετίζονται με την ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα πυρεθροειδή (Καμπουράκη κ.α.,2019).

Γενικότερα, τα κουνούπια των ειδών *Aedes albopictus* και *Culex pipiens* παρουσιάζουν σε πανελλαδικό επίπεδο ανθεκτικότητα στα ακμαιοκτόνα (πυρεθροειδή). Αντίθετα, δεν έχουν εντοπιστεί αλληλόμορφα ανθεκτικότητας στα προνυμφοκτόνα (diflubenzuron, Bt, pyriproxifen) (Φωτάκης κ.α.,2019). Αν και το temephos δε χρησιμοποιείται πλέον σε πολλές χώρες, η γνώση ότι υπάρχουν πληθυσμοί που φέρουν γονίδια ανθεκτικότητας είναι σημαντική, αν ληφθεί υπόψη το γεγονός ότι σε περιόδους μεγάλων εξάρσεων του εντόμου, το temephos αποτελεί το εντομοκτόνο στο οποίο καταφεύγουν διάφορα προγράμματα καταπολέμησης.

## 5. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΠΡΑΚΤΙΚΗΣ ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΕΩΝ ΣΕ ΚΑΛΛΙΕΡΓΗΤΕΣ ΚΑΙ ΓΕΩΠΟΝΟΥΣ ΓΙΑ ΤΗ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

### Οδηγίες για καλλιεργητές

Υπεύθυνοι για την εφαρμογή τόσο των προγραμμάτων ολοκληρωμένης διαχείρισης όσο και διαχείρισης της ανθεκτικότητας (στα εντομοκτόνα) είναι οι επαγγελματίες χρήστες που εφαρμόζουν τα φυτοφάρμακα εναντίον των παρασίτων) και οι σύμβουλοι γεωπόνου. Σύμφωνα με το Άρθρο 17 (άρθρο 3 της Οδηγίας 2009/128/ΕΚ): «Επαγγελματίας χρήστης, είναι κάθε πρόσωπο που χρησιμοποιεί γεωργικά φάρμακα κατά την επαγγελματική του δραστηριότητα, συμπεριλαμβανομένων των χειριστών, των τεχνικών, των εργοδοτών και των αυτοαπασχολούμενων, τόσο στο γεωργικό τομέα όσο και σε άλλους τομείς. Σύμβουλος, θεωρείται κάθε πρόσωπο που έχει αποκτήσει επαρκείς γνώσεις και παρέχει συμβουλές σχετικά με τη διαχείριση επιβλαβών οργανισμών και την ασφαλή χρήση γεωργικών φαρμάκων στα πλαίσια επαγγελματικής ιδιότητας ή εμπορικής υπηρεσίας, συμπεριλαμβανομένων τόσο των ανεξάρτητων ιδιωτικών γραφείων παροχής συμβουλών όσο και των δημόσιων, των εμπορικών αντιπροσώπων και, ανάλογα με την περίπτωση, των παραγωγών και εμπόρων λιανικής πώλησης τροφίμων» ([www.e-nomothesia.gr/kat-agrotike-anaptukse/phutoprostateutika-proionta/n-4036-2012.html](http://www.e-nomothesia.gr/kat-agrotike-anaptukse/phutoprostateutika-proionta/n-4036-2012.html) αναδίφηση 26.01.2020).

Οι αρχές Ολοκληρωμένης Διαχείρισης της ανθεκτικότητας (Integrated Resistance Management-IRM), για τους καλλιεργητές και γεωπόνους, σύμφωνα με (α) τη [Διεθνή] Επιτροπή Δράσης κατά της Ανθεκτικότητας των Εντομοκτόνων (Insecticide Resistance Action Committee- IRAC) ([www.irac-online.org](http://www.irac-online.org), αναδίφηση 10.01.2020) στην οποία συμμετέχουν ποικίλοι ερευνητικοί φορείς και (β) το παγκόσμιο δίκτυο CropLife International, δηλαδή την παγκόσμια οργάνωση οίκων φυτοφαρμάκων ([www.croplife.org](http://www.croplife.org), αναδίφηση 10.01.2020), είναι οι ακόλουθες:

**1. Οι καλλιεργητές πρέπει να απευθύνονται στον τοπικό γεωργικό σύμβουλο- γεωπόνο με σκοπό να λάβουν τις πιο πρόσφατες συστάσεις και συμβουλές σχετικά με τα προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης και ανθεκτικότητας.**

Ικανή και αναγκαία συνθήκη της βιώσιμης και μακροπρόθεσμης υιοθέτησης οποιουδήποτε προγράμματος, που στοχεύει στη διαχείριση της ανθεκτικότητας, είναι η λήψη πληροφοριών και κατευθύνσεων από τους τοπικούς συμβούλους. Είναι σημαντικό να είναι επαρκώς ενημερωμένοι για κάθε νέα εξέλιξη στα προγράμματα Ολοκληρωμένης Διαχείρισης (Integrated Pest Management, IPM) και Διαχείρισης της Ανθεκτικότητας (Insect Resistance Management, IRM). Με αυτόν τον τρόπο αποκτούν γνώσεις για τα εργαλεία και τις τεχνολογίες που έχουν στη διάθεσή τους. Η επιτυχία κάθε στρατηγικής διαχείρισης ανθεκτικότητας βασίζεται όχι μόνο στη σωστή ενημέρωση αλλά και στο να είναι δεκτικοί οι παραγωγοί να συνεργαστούν μεταξύ τους σε επίπεδο περιοχής και να πειστούν ότι (α) η εφαρμογή των ολοκληρωμένων, πολυετών και εκτεταμένων προγραμμάτων

θα διασφαλίσει τη διατήρηση των αποτελεσματικών μέτρων ελέγχου των αρθρόποδων και (β) ότι τα προγράμματα αυτά έχουν ως βασικό στόχο το οικονομικό όφελος του καλλιεργητή.

**2. Να εξετάζεται η δυνατότητα ελαχιστοποίησης της χρήσης εντομοκτόνων επιλέγοντας ποικιλίες καλλιεργειών πρώιμης ωρίμανσης ή ανθεκτικότητας σε επιβλαβείς οργανισμούς.**

Βασική προϋπόθεση για τη διαχείριση της ανθεκτικότητας στα αρθρόποδα είναι να ελαχιστοποιηθεί η χρήση των εντομοκτόνων. Παρόλο που τα βασικά πλεονεκτήματά τους είναι η αποτελεσματικότητα και η ταχεία μείωση του πληθυσμού του επιβλαβούς εντόμου, δεν πρέπει να παραβλέπεται το γεγονός ότι η χρήση τους αποτελεί καθοριστικό παράγοντα στην ανάπτυξη του φαινομένου της ανθεκτικότητας λόγω της πίεσης επιλογής που ασκείται στο έντομο. Ωστόσο, υπάρχουν διαθέσιμα εναλλακτικά μέτρα ελέγχου στην πράξη, όπως η επιλογή ποικιλιών καλλιεργούμενων φυτών πρώιμης ωρίμανσης ή, σε κάποιες χώρες στις οποίες δεν περιλαμβάνεται η Ελλάδα, πολλαπλασιαστικού υλικού γενετικά τροποποιημένων φυτών (Genetically Modified, GM) τα οποία εμφανίζουν ανθεκτικότητα σε συγκεκριμένους επιβλαβείς οργανισμούς.

Στην περίπτωση των ποικιλιών πρώιμης ωρίμανσης ζητούμενο είναι να μη συμπίπτει το ευαίσθητο στάδιο ανάπτυξης του φυτού με το χρονικό διάστημα στο οποίο οι πληθυσμοί του εντόμου βρίσκονται σε έξαρση/βιολογικό στάδιο που προσβάλλει την καλλιέργεια. Αντίστοιχα, οι γενετικά τροποποιημένες ανθεκτικές ποικιλίες παρουσιάζουν ανθεκτικότητα/ανοχή στις επιθέσεις των παρασίτων. Οι τρόποι που λειτουργούν οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας στα διαγονιδιακά αυτά φυτά είναι οι εξής: α) το φυτό παράγει τοξίνες που απωθούν το παράσιτο ή το εμποδίζουν να ολοκληρώσει τον κύκλο ζωής του (έχουν εντομοκτόνο δράση), β) το φυτό είναι πιο ζωηρό και υποφέρει λιγότερο από την προσβολή επιβλαβών οργανισμών.

**3. Να εξετάζεται η δυνατότητα ελαχιστοποίησης της χρήσης εντομοκτόνων επιλέγοντας ποικιλίες καλλιεργειών πρώιμης ωρίμανσης ή ανθεκτικότητας σε επιβλαβείς οργανισμούς**

Η διατήρηση και ενίσχυση των ευεργετικών οργανισμών είναι το πιο αποδοτικό και βιώσιμο μέσο διαχείρισης των επιβλαβών οργανισμών. Οι καλλιεργητικές τεχνικές ελέγχου αναφέρονται σε πρακτικές που μπορούν να εφαρμόσουν οι καλλιεργητές, με σκοπό τη βελτίωση/βελτιστοποίηση των συνθηκών ανάπτυξης των φυτών ή τη δημιουργία δυσμενών συνθηκών για τα έντομα. Οι βέλτιστες συνθήκες καλλιέργειας εξασφαλίζουν την ανάπτυξη εύρωστων καλλιεργειών που έχουν την ικανότητα να αντιστέκονται στην επίθεση από παράσιτα. Σε αυτές συγκαταλέγονται η εναλλαγή καλλιεργειών, η χρήση πιστοποιημένου, καθαρού σπόρου/υλικού φύτευσης, εγκατάσταση φυτών παγίδων μεταξύ της καλλιέργειας, κ. α.

Ο βιολογικός έλεγχος αφορά σε μεθόδους ενίσχυσης της παρουσίας των ωφέλιμων εντόμων και ακάρεων στην καλλιέργεια. Σε φυσιολογικές συνθήκες οι οργανισμοί αυτοί έχουν παρουσία στην ίδια την καλλιέργεια καθώς και σε γειτονικές καλλιέργειες/εκτάσεις αλλά και στη βλάστηση μεταξύ των αγρών. Στις μη ψεκασμένες, λοιπόν, εκτάσεις υπάρχει ένα ευρύ φάσμα ευεργετικών οργανισμών (αρπακτικά, παρασιτοειδή) δεδομένου ότι τους παρέχουν τροφή και καταφύγιο. Επιβάλλεται λοιπόν, πέρα από τη χρήση εκλεκτικών φυτοφαρμάκων ως προς τα ωφέλιμα έντομα μέσα στην καλλιέργεια, να υπάρχουν περί αυτής αψέκαστες εκτάσεις, φράκτες κλπ.

Είναι σημαντικό να μην παραβλέπεται το γεγονός ότι η προαναφερθείσα βλάστηση πιθανόν να φιλοξενεί και έντομα εχθρούς που μπορούν εύκολα να εξαπλωθούν στην κύρια καλλιέργεια. Επομένως, συνιστάται να αξιολογείται η σημασία της περιβάλλουσας βλάστησης και η πραγματική επίδρασή της στην κύρια καλλιέργεια.

Στα πλαίσια του βιολογικού ελέγχου μπορεί να επιδιωχθεί η προσέλκυση ωφέλιμων εντόμων μέσω κάποιων από τους ακόλουθους τρόπους: α) φύτευση λωρίδων των καλλιεργούμενων ή άλλων φυτών, μεταξύ της κύριας καλλιέργειας ή δίπλα της, που είναι είτε σταθερά ενδιαιτήματα φυσικών εχθρών είτε τους προσελκύουν από την κύρια καλλιέργεια, β) δημιουργία ανθοφόρων φυτών-καταφυγίων που προσελκύουν φυσικούς εχθρούς στις άκρες των αγρών κ. ά.

Επαρκής φυτοπροστατευτικός έλεγχος μιας καλλιέργειας μπορεί να επιτευχθεί και μέσω της χρήσης ωφέλιμων βιολογικών παραγόντων (μύκητες, βακτήρια, ιοί) που παρασκευάζονται και διατίθενται εμπορικά. Η εφαρμογή αυτών των σκευασμάτων ως παρασιτοκτόνων εξασφαλίζει στοχευμένη εκλεκτική δράση ως προς τα ωφέλιμα έντομα και καταστολή των εχθρών εντόμων της καλλιέργειας. Παραδείγματα τέτοιων μικροβιακών εντομοκτόνων είναι το βακτήριο *Bacillus thuringiensis*, ο μύκητας *Beauveria bassiana*, ο ιός HearNPV-nuclear polyhedrosis virus κ.ά..

**4. Συστήνεται όπου είναι δυνατό να επιλέγονται εντομοκτόνα τα οποία δε βλάπτουν τα ωφέλιμα έντομα και ακάρεα.**

Προτεραιότητα κάθε τακτικής διαχείρισης ενός εχθρού είναι η διατήρηση και όσο το δυνατό η ενίσχυση των ωφέλιμων οργανισμών οι οποίοι στην πράξη μπορούν να αποτελέσουν βιώσιμο μέσο διαχείρισης των επιβλαβών εντόμων. Στην περίπτωση που κρίνεται αναπόφευκτη η χρήση εντομοκτόνων, πρέπει να γίνεται προσεκτική επιλογή του δραστικού συστατικού/σκευάσματος ώστε να μη μειώνονται ή να διατηρούνται οι πληθυσμοί των ωφέλιμων εντόμων. Επίσης, η εφαρμογή πρέπει να γίνεται μόνο όταν είναι απολύτως απαραίτητο, και στο πρώιμο δυνατό στάδιο της καλλιέργειας ώστε να υπάρχει χρονικό περιθώριο για την αύξηση του πληθυσμού των φυσικών εχθρών. Όταν απαιτούνται εφαρμογές σε πρώιμη περίοδο καλό είναι να προτιμάται, όπου αυτό είναι εφαρμόσιμο, η κάλυψη σπόρων με κάποιο προστατευτικό εντομοκτόνο αντί για διαφυλλικούς ψεκασμούς. Επιπλέον, το ιδανικό είναι οι ψεκασμοί να προγραμματίζονται όταν είναι ενεργό το φυτοпараσίτο και ανενεργοί οι φυσικοί εχθροί.

**5. Να χρησιμοποιούνται προϊόντα στις πλήρεις συνιστώμενες δόσεις τους.**

Οι παραγωγοί πρέπει να ακολουθούν πιστά τις οδηγίες των γεωπόνων όσον αφορά στη συνιστώμενη δόση των εντομοκτόνων. Ο καθορισμός των συνιστώμενων δόσεων έχει προκύψει μετά από μακροχρόνιες έρευνες. Πρέπει να αποφεύγονται αυθαίρετες τακτικές, όπως η εφαρμογή χαμηλότερης δόσης από τη συνιστώμενη γιατί δεν θανατώνονται όλα τα επιβλαβή έντομα, επομένως δεν αποφεύγονται οι απώλειες στην καλλιέργεια. Και στην αντίθετη περίπτωση όπου χρησιμοποιείται υψηλότερη δόση πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι ελλοχεύει ο κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικότητας του εντόμου, λόγω υψηλότερης πίεσης επιλογής και επιπροσθέτως, πέραν τοξικολογικών και οικολογικών κινδύνων, υπάρχει αύξηση του κόστους παραγωγής αν ληφθεί υπόψη ότι η επιπλέον ποσότητα φυτοφαρμάκου ουσιαστικά δεν βελτιώνει την απόδοση της καλλιέργειας.

*6. Για την εφαρμογή εντομοκτόνων πρέπει να χρησιμοποιείται κατάλληλος και καλά συντηρημένος εξοπλισμός. Για την επίτευξη της βέλτιστης κάλυψης των φυτών με ψεκαστικό υγρό θα πρέπει να χρησιμοποιούνται οι συνιστώμενοι όγκοι νερού, οι πιέσεις ψεκασμού και οι βέλτιστες θερμοκρασίες εφαρμογής.*

Μέσω της εφαρμογής του ψεκαστικού υγρού επιδιώκεται να φτάσει το φυτοφάρμακο στον στόχο του ώστε να επιτευχθεί ο αποτελεσματικός έλεγχος του εντόμου-εχθρού. Μεταξύ των καλλιεργητών επικρατεί η λανθασμένη εντύπωση ότι με τη χρήση μεγάλων ποσοτήτων νερού για την αραίωση και εφαρμογή του φυτοπροστατευτικού προϊόντος επιτυγχάνεται καλύτερη κάλυψη των φυτών άρα και καλύτερη αντιμετώπιση του παρασίτου. Αντίθετα, μέσω αυτής της τακτικής χάνονται μεγάλες ποσότητες φυτοφαρμάκου που απορρέουν στο έδαφος, με συνέπεια την αύξηση του κόστους αντιμετώπισης και την πρόκληση περιβαλλοντικής ρύπανσης.

Για τη σωστή εφαρμογή του φυτοφαρμάκου είναι απαραίτητο και το μέσο, δηλαδή ο ψεκαστήρας που θα χρησιμοποιηθεί για την εφαρμογή να έχει συντηρηθεί σε τακτική βάση και τεχνικά σωστά. Η ακριβής βαθμονόμηση (calibration) του ψεκαστήρα διασφαλίζει την εφαρμογή σωστής ποσότητας φυτοφαρμάκου στην περιοχή-στόχο. Ο μη σωστά και τακτικά βαθμονομημένος ψεκαστήρας θα έχει ως αποτέλεσμα την απώλεια ψεκαστικού υγρού και τον ανεπαρκή έλεγχο του παράσιτου αντίστοιχα. Η διαδικασία της βαθμονόμησης περιλαμβάνει τη μέτρηση της απόδοσης του ψεκαστήρα, του πλάτους του ψεκασμού που παράγεται και την ταχύτητα με την οποία κινείται ο ψεκαστήρας, μηχανοκίνητος ή μη. Η γνώση αυτών των παραγόντων επιτρέπει τον υπολογισμό της ποσότητας του μείγματος ψεκασμού που θα εφαρμοστεί στην περιοχή στόχο. Εξυπακούεται ότι οι παράγοντες αυτοί μπορούν να προσαρμοστούν ανάλογα με το ζητούμενο. Η τακτική συντήρηση του ψεκαστήρα διασφαλίζει την ορθή λειτουργία του και την απουσία διαρροών.

Σημαντικός παράγοντας επιτυχίας της εφαρμογής είναι και ο αριθμός των σταγονιδίων που εναποτίθενται ανά μονάδα επιφάνειας στο φυτό. Η μορφή των σταγονιδίων που παράγονται από τον ψεκαστήρα εξαρτάται από τις ιδιότητες του σκευάσματος και του ψεκαστικού διαλύματος, από το μέγεθος της οπής στο ακροφύσιο και από την πίεση του ψεκασμού. Ανάλογα με τον τύπο ακροφύσιου όσο μεγαλύτερη η οπή και όσο χαμηλότερη η πίεση τόσο μεγαλύτερο το μέγεθος των παραγόμενων σταγονιδίων. Εκτός αυτού, τα ακροφύσια πρέπει να αντικαθίστανται τακτικά, τουλάχιστον στην αρχή της εποχής και ακόμη συχνότερα ανάλογα με τη συχνότητα χρήσης του ψεκαστήρα.

*7. Όταν είναι δυνατό, η εφαρμογή των εντομοκτόνων πρέπει να γίνεται κατά των πλέον ευπρόσβλητων βιολογικών σταδίων του εντόμου.*

Τα πλέον ευαίσθητα στάδια ανάπτυξης των επιβλαβών εντόμων είναι οι νεαρές προνύμφες και το στάδιο του αυγού. Κατά συνέπεια αυτά είναι και τα στάδια τα οποία πρέπει να αποτελούν στόχο των φυτοπροστατευτικών εφαρμογών ως τα πιο αποτελεσματικά ελεγχόμενα. Αντίθετα, οι πλαγγόνες και τα ενήλικα παρουσιάζουν μεγαλύτερες δυσκολίες ελέγχου και είναι προτιμότερο να έχει αντιμετωπιστεί ο πληθυσμός του εντόμου πριν φτάσει σε αυτά τα στάδια.

**8. Να χρησιμοποιούνται τα κατάλληλα τοπικά οικονομικά όρια (*local economic thresholds*) και τα διαστήματα ψεκασμού (*spray intervals*).**

Κατά τη διαδικασία λήψης απόφασης για τη διενέργεια οποιασδήποτε φυτοπροστατευτικής ενέργειας λαμβάνεται υπόψη το οικονομικό κατώφλι για κάθε εχθρό της καλλιέργειας. Τα όρια αυτά είναι ευμετάβλητα για κάθε καλλιέργεια, εξαρτώνται από την αξία των προϊόντων και των εισροών, αλλά και μπορούν να κυμαίνονται από περιοχή σε περιοχή. Προτείνεται λοιπόν η συχνή παρακολούθηση των πληθυσμών των εντόμων και η ανάληψη δράσης (εφαρμογή φυτοφαρμάκων) μόλις γίνει αντιληπτό ότι τα επίπεδά τους υπερβαίνουν τα επιτρεπτά όρια και η αξία της οικονομικής ζημιάς θα είναι μεγαλύτερη του κόστους ελέγχου. Κατά συνέπεια είναι πολύτιμη αυτή η πληροφορία του οικονομικού κατωφλιού σε κάθε περίπτωση για τον παραγωγό προκειμένου να αποφεύγονται άσκοπες επεμβάσεις. Επιπλέον, ιδιαίτερη προσοχή πρέπει να δίνεται στην τήρηση του διαστήματος που μεσολαβεί μεταξύ των επεμβάσεων.

**9. Ιδιαίτερη μέριμνα, από τη πλευρά των παραγωγών, πρέπει να λαμβάνεται κατά την επιλογή του εντομοκτόνου (τρόπος δράσης/ομάδα στην οποία ανήκει). Ειδικότερα στην περίπτωση που απαιτούνται πολλαπλές εφαρμογές ανά καλλιεργητική περίοδο ή όταν παρατηρείται αποτυχία ελέγχου του επιβλαβούς εντόμου πρέπει να ακολουθούνται οι ακόλουθες οδηγίες:**

α) Να μην επαναχρησιμοποιείται το εντομοκτόνο το οποίο απέτυχε να ελέγξει το επιβλαβές έντομο, αλλά να επιλέγεται άλλο από άλλη ομάδα εντομοκτόνων με διαφορετικό τρόπο δράσης, στο οποίο φυσικά δεν υπάρχει γνωστή διασταυρωτή ανθεκτικότητα.

β) Να ακολουθούνται οι οδηγίες στις ετικέτες των σκευασμάτων και οι συμβουλές των γεωπόνων για τη χρήση εναλλαγών ή αλληλουχιών διαφορετικών κατηγοριών εντομοκτόνων με διαφορετικούς τρόπους δράσης, ως μέρος μιας στρατηγικής διαχείρισης της ανθεκτικότητας στα φυτοφάρμακα.

γ) Τα μείγματα δραστικών ουσιών στο ίδιο σκεύασμα ή και τα μίγματα σκευασμάτων (tank mix) δυνητικά προσφέρουν μια βραχυπρόθεσμη λύση στα προβλήματα ανθεκτικότητας. Πρέπει όμως να διασφαλιστεί στη δεύτερη περίπτωση ότι κάθε συστατικό μείγματος tank mix ανήκει σε κατηγορία εντομοκτόνου με διαφορετικό τρόπο δράσης, τα δραστικά συστατικά είναι το ίδιο αποτελεσματικά και έχουν την ίδια διάρκεια υπολειμματικής δράσης, καθώς και ότι χρησιμοποιούνται στις συνιστώμενες δόσεις/αναλογίες.

δ) Η απομάκρυνση ενός προϊόντος στο οποίο έχει αναπτυχθεί ανθεκτικότητα, έως ότου τυχόν επιστρέψει η ευαισθησία σε αυτό, είναι επιβεβλημένη τακτική. Στη συνέχεια ο καλλιεργητής πρέπει να καταφεύγει σε εναλλακτικές χημικές ομάδες φυτοφαρμάκων ώστε να επιτευχθεί αποτελεσματικός έλεγχος.



## Οδηγίες για γεωπόνους

Το επίπεδο κατάρτισης των γεωπόνων/συμβούλων επί της ορθής εφαρμογής των προγραμμάτων φυτοπροστασίας (ολοκληρωμένης διαχείρισης των καλλιεργειών και διαχείρισης της ανθεκτικότητας) αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για τη βιωσιμότητα, την μακρόχρονη υιοθέτηση και την επιτυχημένη εφαρμογή τους. Η δέουσα κατάρτιση παρέχεται από οργανισμούς που έχουν οριστεί από τις αρμόδιες αρχές και αναφέρεται είτε στην αρχική είτε στη συμπληρωματική κατάρτιση για την απόκτηση και την επικαιροποίηση των γνώσεων ανάλογα με την περίπτωση. Στοιχεία στρατηγικών ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας, αρχές βιολογικής γεωργίας, μεθόδους βιολογικού ελέγχου επιβλαβών εντόμων, κατευθυντήριες γραμμές ανά καλλιέργεια και εχθρό, είναι μερικά από τα βασικά πεδία στα οποία πρέπει να είναι ενημερωμένος κάθε γεωπόνος. Οι γεωπόνοι επηρεάζουν άμεσα τους αγρότες και πρέπει να είναι σε θέση να παρέχουν πρακτικές και συμβουλές, που συνάδουν με τις τελευταίες εξελίξεις, για κάθε περίπτωση.

Προς την κατεύθυνση της αποφυγής και καθυστέρησης εμφάνισης ανθεκτικότητας οι γεωπόνοι πρέπει κατ' αρχήν να κατανοήσουν σε βάθος την βιοοικολογία των φυτοπαρασίτων. Η βέλτιστη στρατηγική διαχείρισης της ανθεκτικότητας πρέπει να λαμβάνει υπόψη (i) αν τα έντομα διασκορπίζονται ή όχι κατά τις περιόδους έκθεσης σε εντομοκτόνα και του ζευγαρώματος και (ii) αν το πρόγραμμα φυτοπροστασίας εξασφαλίζει τη δραματική μείωση και τελικά τη σχεδόν μηδενική πυκνότητα των εντόμων στόχων (Sudo et al., 2018).

Είναι σημαντικό οι γεωπόνοι-σύμβουλοι να είναι σε θέση να παρέχουν τις κατάλληλες οδηγίες για το σύνολο των καλλιεργητικών φροντίδων, στις οποίες θα πρέπει να περιλαμβάνονται και καλλιεργητικές πρακτικές θρέψης-λίπανσης οι οποίες επηρεάζουν και τη συμπεριφορά των φυτών έναντι των επιβλαβών και ωφέλιμων οργανισμών. Μπορούν να βοηθήσουν τον καλλιεργητή να προσδιορίσει τα φυτοπαρασίτα και τα ωφέλιμα έντομα στην καλλιέργειά του και να αξιολογήσει τους κινδύνους και τις πιθανές ζημιές στην καλλιέργεια από τους πληθυσμούς των επιβλαβών οργανισμών. Οι γεωπόνοι-σύμβουλοι πρέπει να συστήνουν να ακολουθούνται όλα τα αποτρεπτικά μέτρα εμφάνισης της ανθεκτικότητας: Προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης της καλλιέργειας, εφαρμογή βιολογικών/φυσικών μεθόδων καταπολέμησης, προϊόντα βιοτεχνολογίας για φυτοπροστασία και αποφυγή φυτοφαρμάκων που βλάπτουν τα ωφέλιμα έντομα.

Οι γεωπόνοι οφείλουν να είναι γνώστες της νομοθεσίας που διέπει τα γεωργικά φάρμακα και τη χρήση τους, καθώς και των συστημάτων και διαδικασιών διασφάλισης ποιότητας στην παραγωγική διαδικασία και στα προϊόντα. Επιπροσθέτως, είναι σημαντικό πέρα από την ορθή χρήση των γεωργικών φαρμάκων (πηγές κινδύνου για την υγεία του χρήστη) να ενημερώνουν τους καλλιεργητές ότι τα φυτοφάρμακα ενέχουν κινδύνους για τα φυτά που δεν αποτελούν στόχο, τα ωφέλιμα έντομα, τη βιοποικιλότητα και το περιβάλλον γενικότερα.

Πρέπει να παρέχουν ακριβείς οδηγίες στους καλλιεργητές σχετικά με : α) τον χειρισμό του φυτοπροστατευτικού προϊόντος, β) τη σωστή προετοιμασία του ψεκασμού, γ) τις δόσεις και συγκεντρώσεις των διαλυμάτων εφαρμογής, δ) τις περιόδους που μεσολαβούν μεταξύ των εφαρμογών, ε) της δυνατότητας επόμενης εφαρμογής του ίδιου φυτοφαρμάκου ή συγγενούς του στην καλλιέργεια (σε περίπτωση κινδύνου ανάπτυξης ανθεκτικότητας), στ) τις περιόδους μεταξύ εφαρμογής και συγκομιδής των προϊόντων και τέλος, (ζ) να συνιστούν τη χρήση ατομικού προστατευτικού εξοπλισμού.

Είναι οι πλέον αρμόδιοι για να ενημερώνουν και να καθοδηγούν τους καλλιεργητές:

(α) να αποφασίσουν εάν είναι απαραίτητη και τότε η καταπολέμηση ενός φυτοπαρασίτου,

(β) για τις διαθέσιμες εναλλακτικές επιλογές διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών συμπεριλαμβανομένων των βιοτεχνολογικών, χημικών, βιολογικών και καλλιεργητικών μέτρων,

(γ) για τον τύπο φυτοπροστατευτικού προϊόντος που είναι ο πλέον κατάλληλος για τη συγκεκριμένη εργασία,

(δ) για την επιλογή του πλέον ενδεδειγμένου, μεταξύ των εγκεκριμένων φυτοπροστατευτικών προϊόντων για τη δεδομένη εφαρμογή.

Εάν ο κίνδυνος να αναπτυχθεί ανθεκτικότητα σε ένα μέτρο φυτοπροστασίας είναι γνωστός και το επίπεδο επιβλαβών οργανισμών απαιτεί επανειλημμένη εφαρμογή γεωργικών φαρμάκων στις καλλιέργειες, πρέπει να εφαρμόζονται οι διαθέσιμες στρατηγικές διαχείρισης της ανθεκτικότητας προκειμένου να διατηρηθεί η αποτελεσματικότητα των προϊόντων. Για τις περιπτώσεις αυτές οι γεωπόνοι πρέπει να ενημερώνουν και να καθοδηγούν τους καλλιεργητές για τις ενδεικνυόμενες στρατηγικές στις οποίες μπορεί να περιλαμβάνεται και η χρήση γεωργικών φαρμάκων με διαφορετικούς τρόπους δράσης.

Ιδιαίτερα σημαντική είναι η τήρηση αρχείου για κάθε εφαρμογή γεωργικού φαρμάκου, σύμφωνα με τη σχετική νομοθεσία. Με βάση το ιστορικό χρήσης των γεωργικών φαρμάκων και την παρακολούθηση των επιβλαβών οργανισμών, ο επαγγελματίας χρήστης με τη βοήθεια του γεωπόνου μπορεί να αξιολογεί την επιτυχία των εφαρμοζόμενων μέτρων φυτοπροστασίας. Από τις αξιολογήσεις αυτές μπορεί να προκύψουν ενδείξεις για ανάπτυξη ανθεκτικότητας.

Τα προαναφερθέντα σε αυτό το κεφάλαιο καταδεικνύουν την επιτακτική ανάγκη για επιμόρφωση/κατάρτιση των γεωργικών συμβούλων και των καλλιεργητών στα θέματα Ολοκληρωμένης Φυτοπροστασίας και Ολοκληρωμένης Διαχείρισης της Ανθεκτικότητας. Τα προγράμματα ανά τον κόσμο διαφέρουν ως προς την προσέγγιση στους στόχους, τις μεθοδολογίες και τους ενδιαφερόμενους στους οποίους απευθύνονται. Κατά το σχεδιασμό τους γίνονται αναπροσαρμογές, ώστε να ανταποκρίνονται στις τοπικές ανάγκες και βελτιώσεις για να ληφθούν υπόψη οι νέες εξελίξεις. Παρόλα αυτά κοινός σκοπός όλων είναι η μεγιστοποίηση των οφελών του φυτοπροστατευτικού προϊόντος, η ελαχιστοποίηση των κινδύνων και ζημιών στους χρήστες, τους καταναλωτές και το ευρύτερο περιβάλλον και η αποφυγή ανάπτυξης ανθεκτικότητας με στόχο την παράταση της χρήσιμης ζωής κάθε φυτοφαρμάκου, εις όφελος των καλλιεργητών που έχουν περισσότερα 'βέλη στη φαρέτρα' τους, αλλά και των παρασκευαστών οίκων των φυτοφαρμάκων.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Η πολυπλοκότητα του φαινομένου της ανθεκτικότητας αποτελεί αδιαμφισβήτητο γεγονός. Οι προσπάθειες για την πρόληψη και τον περιορισμό της επιβάλλεται να είναι συντονισμένες, ενώ απαιτείται απόλυτη συνεργασία των εμπλεκόμενων (βιομηχανία παραγωγής και διάθεσης φυτοφαρμάκων, γεωπόνοι, καλλιεργητές, χρήστες φυτοφαρμάκων). Το σύνολο και ο συνδυασμός των γνώσεων και εμπειριών των προαναφερθεισών ομάδων μπορεί να αποτελέσει τη βάση στην οποία θα συνταχθούν οι στρατηγικές διαχείρισης της ανθεκτικότητας. Στα πλαίσια αυτών των στρατηγικών σημαντική θέση κατέχουν προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης των καλλιεργειών, που περιλαμβάνουν την Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση εντόμων και ακάρεων. Δεδομένης της δυναμικότητας, της ποικιλομορφίας και πολυπλοκότητας των πληθυσμών των φυτοφάγων και ωφέλιμων αρθρόποδων σε κάθε αγρο-οικοσύστημα, κάθε σχέδιο ολοκληρωμένης διαχείρισης πρέπει να είναι εξατομικευμένο ανά περίπτωση και περιοχή στην οποία θα εφαρμοστεί.

Δεν πρέπει να παραβλέπεται το γεγονός ότι τα ήδη υπάρχοντα εργαλεία που είναι διαθέσιμα για την πρόληψη της ανάπτυξης ανθεκτικότητας έχουν συχνά πεπερασμένες δυνατότητες και αναπόφευκτα κάποια στιγμή γίνεται σε πολλές περιπτώσεις αναγκαστικά στροφή στη χρήση χημικών προστατευτικών προϊόντων. Αποτέλεσμα είναι η εμφάνιση ή επανεμφάνιση ατόμων/πληθυσμών εντόμων με ανθεκτικά γονίδια. Κατά συνέπεια τα φυτοφάρμακα που κυκλοφορούν στο εμπόριο δεν θα μπορούν να εξασφαλίσουν επαρκή έλεγχο των επιβλαβών εντόμων στο διηνεκές και αναπόφευκτα πολλά από αυτά θα πρέπει να αποσυρθούν από την αγορά. Αυτό σημαίνει ότι θα πρέπει να δαπανηθούν αρκετά χρήματα σε μακροχρόνιες έρευνες για την ανάπτυξη υποκατάστατων τους, άλλων χημικών σκευασμάτων με νέους τρόπους δράσης. Ωστόσο, σε αυτό το σημείο ανακύπτει ένα ερώτημα: Τι είναι προτιμότερο, να επικεντρωθούν οι προσπάθειες στην ανεύρεση νέων φυτοφαρμάκων ή στην ανεύρεση μεθόδων που θα συμβάλουν ουσιαστικά στο να ελεγχθεί ή και να σταματήσει η εξέλιξη της ανθεκτικότητας;

Τα έντομα στα πλαίσια της εξέλιξης θα εξακολουθούν να αναπτύσσουν ανθεκτικότητα όχι μόνο στα εντομοκτόνα αλλά και στις λοιπές τακτικές και μεθόδους ελέγχου τους μέσω των προγραμμάτων ολοκληρωμένης διαχείρισης. Είναι εμφανές λοιπόν ότι η αέναη διαδικασία της εξέλιξης θα τους επιτρέπει να προσαρμόζονται και να ισχυροποιούν τη θέση τους απέναντι σε κάθε προσπάθεια καταπολέμησής τους. Κατά συνέπεια οποιοδήποτε φυτοφάρμακο ανακαλύπτεται θα έχει περιορισμένη ωφέλιμη ζωή και θα εντάσσεται στον φαύλο κύκλο της ανθεκτικότητας. Αυτό που μπορεί να λεχθεί με βεβαιότητα είναι ότι η απόσταση που πρέπει να καλυφθεί από σήμερα μέχρι το σημείο που θα υπάρχει η δυνατότητα καθυστέρησης κάθε μελλοντικής περίπτωσης ανθεκτικότητας στα έντομα είναι μεγάλη.

Στις επιστήμες υγείας ο λόγος του Ιπποκράτη: «*Η πρόληψη είναι η καλύτερη θεραπεία*» είναι πάντοτε, και στην περίπτωση των προσβολών των καλλιεργειών από φυτοπαράσιτα, ιδιαίτερα ισχυρός. Η αντίληψη αυτή μπορεί, λοιπόν, να υιοθετηθεί και να φανεί ιδιαίτερος χρήσιμη και στο γεωπονικό κλάδο της φυτοπροστασίας.

Μέχρι σήμερα έχει επιτευχθεί σημαντική πρόοδος στον τομέα της χαρτογράφησης του γονιδιώματος εντόμων και έχουν δημιουργηθεί cDNA βιβλιοθήκες αρκετών αρθρόποδων. Απαιτείται να δοθεί νέα ώθηση στις έρευνες/μελέτες σε μοριακό και γενετικό επίπεδο, οι οποίες θα βοηθήσουν στην ανάπτυξη νέων μεθόδων καταπολέμησης των φυτοπαράσιτων. Ο συνδυασμός των εξελίξεων στις επιστήμες της βιοχημείας και βιοτεχνολογίας, της μοριακής βιολογίας και της

γεωπονίας ίσως οδηγήσει, μεταξύ άλλων, και στην καλύτερη κατανόηση του φαινομένου της ανθεκτικότητας και τελικά, γιατί όχι, και στην εξάλειψή του.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- 1) Karatolos, N. (2011). *Molecular mechanisms of insecticide resistance in the glasshouse whitefly, Trialeurodes vaporariorum*. Διδακτορική διατριβή, University of Exeter, UK.
- 2) Ηλίας, Α. (2014). *Διερεύνηση των μηχανισμών ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα και της διασποράς των υπεύθυνων γονιδίων σε πληθυσμούς των Bemisia tabaci (αλευρώδη) και Tetranychus urticae (τετράνυχου)*. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Κρήτης, Ηράκλειο, σελ. 116.
- 3) Βουδούρης, Κ. Χ. (2009). *Μελέτη της βιο-οικολογίας της καρπόκαψας του μήλου Cydia pomonella και της ανθεκτικότητάς της σε εντομοκτόνα*. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, σελ.210.
- 4) Hollingworth, R. M. and Dong, K.(2008). The biochemical and molecular genetic basis of resistance to pesticides in arthropods. *In: M.E., Whalon, M. E.,Mota-Sanchez, D. and Hollingworth,R. M. (Eds.) Global Pesticide Resistance in Arthropods*. CABI Publishing, London U.K., 208 pp.
- 5) Georghiou, G. P. and Taylor, C. E. (1986). Factors Influencing the Evolution of Resistance. *In: National Research Council (Eds.) Pesticide Resistance: Strategies and Tactics for Management*. National Academy Press, Washington DC, 472pp.
- 6) Konanz, S. (2009). *Characterization of mechanisms of resistance to common insecticides in noctuid pest species and resistance risk assessment for the new lepidopteran specific compound flubendiamide*. Dissertation, Institut für Phytomedizin Universität Hohenheim, Pforzheim.
- 7) Liu, N., Fang, Z., Qiang, X., Pridgeon, J. W. and Gao, X.W. (2006). Behavioral change, physiological modification, and metabolic detoxification: mechanisms of insecticide resistance. *Acta Entomol Sinica*, **49**: 671–679.
- 8) Feyereisen, R. (2015). Insect P450 inhibitors and insecticides: challenges and opportunities. *Pest Manag Sci.*, **71**: 793–800.
- 9) Karaağaç, U.S. (2012). Insecticide Resistance, Insecticides, *In: Advances in Integrated Pest Management*, Perveen, F. (Eds.), InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/insecticides-advances-in-integrated-pest-management/inscticide-resistance>
- 10) FAO (2012). International Code of Conduct on the Distribution and Use of Pesticides. Guidelines on Prevention and Management of Pesticide Resistance.

- 11) Simon J. Yu. (2008). *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, USA, 211 pp.
- 12) Silva, A. X., Jander, G., Samaniego, H., Ramsey, J. S. and Figueroa, C. C. (2012). Insecticide Resistance Mechanisms in the Green Peach Aphid *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) I: A Transcriptomic Survey. *PLOS ONE*, **7** (6): e36366.
- 13) Couso-Ferrer, F., Arouri, R., Beroiz, B., Perera, N., Cervera, A., Navarro-Llopis, V., Castañera, P., Hernández-Crespo, P. and Félix, O. (2011). Cross-Resistance to Insecticides in a Malathion-Resistant Strain of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.*, **104** (4):1349–1356.
- 14) Pittendrigh, B. R., Margam, V. M., Sun, L., and Huesing, J. E. (2008). Resistance in the Post-Genomics Age. In: Onstad D.W. (Eds.) *Insect Resistance Management: Biology, Economics and Prediction*, Elsevier. U. S. A. 560pp.
- 15) Dunley, E. J. and Welter, C. S. (2000). Correlated Insecticide Cross-Resistance in Azinphosmethyl Resistant Codling Moth (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econ. Entomol.*, **93** (3):955–962.
- 16) Hatano, R., Scott, G. J. and Dennehy, J. T. (1992). Enhanced Activation Is the Mechanism of Negative Cross-Resistance to Chlorpyrifos in the Dicofol-IR Strain of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *J. Econ. Entomol.*, **85** (4):1088–1091.
- 17) Sagri, E. (2015). *Τρανσκριπτομική και πρωτεομική ανάλυση του σημαντικότερου παράσιτου της ελιάς, του εντόμου *Bactrocera oleae*, με έμφαση στα συστήματα φυλοδιαχωρισμού και ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα*. Διδακτορική διατριβή, Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Λάρισα, σελ. 274.
- 18) Zalucki, M. P. and Furlong, M. (2017). Behavior as a mechanism of insecticide resistance: Evaluation of the evidence. *Curr. Opin. Insect Sci.*, **21**:19-25.
- 19) Gómez-Guzmán, A. J., García-Marín, J. F., Sáinz-Pérez, M. and González Ruiz, R. (2017). Behavioural Resistance in Insects: Its Potential Use as Bio Indicator of Organic Agriculture. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 95.
- 20) Lockwood, A. J., Byford, L. R., Story, N. R., Sparks, C. T. and Quisenberry, S. S. (1985). Behavioral Resistance to the Pyrethroids in the Horn Fly, *Haematobia irritans* (Diptera: Muscidae). *Environ. Entomol.*, **14** (6):873–880.
- 21) Ross, H. M. (1992). Differences in the Response of German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) Field Strains to Vapors of Pyrethroid Formulations. *J. Econ. Entomol.*, **85**(1): 123–129.
- 22) Silverman, J. and Bieman, D.N. (1993.) Glucose aversion in the German cockroach, *Blattella germanica*. *J. Insect Physiol.*, **39**:925–933.
- 23) Roberts, D. R. and Andre, R. G. (1994). Insecticide resistance issues in vector-borne disease control. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **50** (6):21-39.
- 24) Gatton, M. L., Chitnis, N., Churcher, T., Donnelly, M. J., Ghani, A. C., Godfray, H. C. J., Gould, F., Hastings, I., Marshall, J., Ranson, H., Rowland, M., Shaman, J., Lindsay, W. S. and Meagher, T. (2013).

The importance of mosquito behavioural adaptations to malaria control in Africa. *Evolution*, **67**: 1218-1230.

25) Pedrini, N., Mijailovsky, S. J., Girotti, J. R., Stariolo, R., Cardozo, R. M., Gentile, A., and Juárez, M. P. (2009). Control of pyrethroid-resistant Chagas disease vectors with entomopathogenic fungi. *Plos Neglect. TROP. D.*, **3** (5):583-588.

26) Panini, M., Manicardi, G., Moores, G. and Mazzoni, E. (2016). An overview of the main pathways of metabolic resistance in insects. *Invert. Surviv. J.*, **13**: 326-335.

27) Balabanidou, V., Grigoraki, L. and Vontas, J. (2018). Insect cuticle: A critical determinant of insecticide resistance. *Curr. Opin. Insect Sci.*, **27**:68-74.

28) Pan. C., Zhou, Y. and Mo, J. (2009). The clone of laccase gene and its potential function in cuticular penetration resistance of *Culex pipiens pallens* to fenvalerate. *Pestic. Biochem. Phys.*, **93**:105-111.

29) Pignatelli, P., Ingham, A. V., Balabanidou, V., Vontas, J., Lycett, G. and Ranson, H. (2018). The *Anopheles gambiae* ATP-binding cassette transporter family: phylogenetic analysis and tissue localization provide clues on function and role in insecticide resistance. *Insect Mol. Biol.*, **27** (1):110-122.

30) Alyokhin, A. and Chen, Y. H. (2017). Adaptation to toxic hosts as a factor in the evolution of insecticide resistance. *Curr. Opin. Insect Sci.*, **21**: 33–38.

31) Dermauw, W., Pym, A., Bass, C., Van Leeuwen, T. and Feyereisen, R. (2018). Does host plant adaptation lead to pesticide resistance in generalist herbivores? *Curr. Opin. Insect Sci.*, **26**: 25–33.

32) Heidel-Fischer, H. M. and Vogel, H. (2015). Molecular mechanisms of insect adaptation to plant secondary compounds. *Curr. Opin. Insect Sci.*, **8**: 8-14.

33) Taylor, M. and Feyereisen, R. (1996). Molecular biology and evolution of resistance of toxicants. *Mol. Biol. Evol.*, **13** (6):719–734.

34) Mullin, A. C. and Scott, G. J. (1992). Biomolecular Basis for Insecticide Resistance Classification and Comparisons, Molecular Mechanisms of Insecticide Resistance. *ACS Symp. Ser. Am. Chem. Soc.*, 1-13.

35) Siegfried, B., D. and Scharf, M., E. (2001). Mechanisms of Organophosphate Resistance in Insects. In: Ishaaya I. (Ed.) *Biochemical Sites of Insecticide Action and Resistance*. Springer, Berlin, Heidelberg, 343 pp.

36) Carvalho, R. A., Torres, T. and Azeredo-Espin, A. M. L. (2006). A survey of mutations in the *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae) esterase E3 gene associated with organophosphate resistance and the molecular identification of mutant alleles. *Vet. Parasitol.*, **140**: 344-351.

37) Montella, I. R., Schama, R. and Valle D. (2012). The classification of esterases: an important gene family involved in insecticide resistance - A review. *Mem. I. Oswaldo Cruz*, **107** (4), 437-449.

- 38) Bass, C., Puinean, A.M., Zimmer, C.T., Denholm I., Field L.M., Foster, S.P., Gutbrod O., Nauen R., Slater S. and Williamson M.S. (2014). The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Insect Biochem. Molec.*, **51**: 41-51.
- 39) Small, G. J. and Hemingway, J. (2000). Molecular characterization of the amplified carboxylesterase gene associated with organophosphorus insecticide resistance the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Insect Mol. Biol.*, **9**: 647-653.
- 40) Cao, C. W., Zhang, J., Cao, X. W., Liang, P. and Cuo, H.L. (2008). Overexpression of carboxylesterase gene associated with organophosphorous insecticide resistance in cotton aphids, *Aphis gossypii* (Glover). *Pestic. Biochem. Physiol.*, **90**: 175-180.
- 41) Alon, M., Alon, F., Nauen, R. and Morin, S. (2008). Organophosphates resistance in the B-biotype of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) is associated with a point mutation in an ace1 type acetylcholinesterase and overexpression of carboxylesterases. *Insect Biochem. Molec.*, **38**: 940-949.
- 42) Bergé, J. B., Feyereisen, R., and Amichot, M. (1998). Cytochrome P450 monooxygenases and insecticide resistance in insects. *Philos. T. Roy. Soc. B.*, **353**(1376): 1701-5.
- 43) Scott J. G. (1999). Cytochromes P450 and insecticide resistance. *Insect Biochem. Molec.*, **29** (9):757-777.
- 44) Liu, N., Li, M., Gong, Y., Liu, F. and Li, T. (2015). Cytochrome P450s –Their expression, regulation, and role in insecticide resistance. *Pestic. Biochem. Phys.*, **120**:77–81.
- 45) Brun-Barale, A., Héma, O., Martin, T., Suraporn, S., Audant, P., Sezutsu, H. and Feyereisen, R. (2010). Multiple P450 genes overexpressed in deltamethrin-resistant strains of *Helicoverpa armigera*. *Pest Manag. Sci.*, **66** (8):900-9.
- 46) Karunker I., Benting J., Lueke B., Ponge T., Nauen R., Roditakis E., Vontas, J., Gorman, K., Denholm, I. and Morina, S. (2008). Over-expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochem. Molec.*, **38**: 634–644.
- 47) Zhu, F., Parthasarathy, R., Bai, H., Woithe, K., Kausmann, M., Nauen, R., Harrison, D. A. and Palli, S. R. (2010). A brain-specific cytochrome P450 responsible for the majority of deltamethrin resistance in the QTC279 strain of *Tribolium castaneum*. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **107** (19):8557–8562.
- 48) Yin, Q., Lu, Q., Pingping, S. and ZhaoJun, H. (2019). Molecular mechanisms conferring asymmetrical cross-resistance between tebufenozide and abamectin in *Plutella xylostella*. *J. Asia-Pac. Entomol.*, **22** (1):189-193.
- 49) Vontas, J. G., Small, G. J., Nikou, D. C., Ranson, H. and Hemingway, J. (2002) Purification, molecular cloning and heterologous expression of a glutathione S-transferase involved in insecticide resistance from the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*. *Biochem. J.*, **362**: 329–337.
- 50) Konanz S. and Nauen R. (2004). Purification and partial characterization of a glutathione S-transferase from the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **79**: 49-57.

- 51) Che-Mendoza, A., Penilla, R. P. and Rodríguez, D. A. (2009). Insecticide resistance and glutathione S-transferases in mosquitoes: A review. *Afr. J. Biotechnol.*, **8**(8):1386-1397.
- 52) Pavlidi, N., Vontas, J. and Van Leeuwen, T. (2018). The role of glutathione-S-transferases (GSTs) in insecticide resistance in crop pests and disease vectors. *Curr. Opin. Insect Sci.*, **27**:97-102.
- 53) Han, B. J., Li, Q. G., Wan, J. P., Zhu, T. T. and Meng, W. Q. (2016). Identification of glutathione S-transferase genes in *Leptinotarsa decemlineata* and their expression patterns under stress of three insecticides. *Pestic. Biochem. Phys.*, **133**:26-34.
- 54) Liao, Y. C., Zhang, K., Niu, Z. J., Ding, B. T., Zhong, R., Xia, K., Dou, W. W. and Wang, J. J. (2013). Identification and characterization of seven glutathione S-transferase genes from citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor). *Int. J. Mol. Sci.*, **14**(12): 24255-24270.
- 55) Zhang, N., Liu, J., Chen, N. S., Huang, H. L., Feng, L. Q. and Zheng, C. S. (2016). Expression profiles of glutathione S-transferase superfamily in *Spodoptera litura* tolerated to sublethal doses of chlorpyrifos. *Insect Sci.*, **23**:675-687.
- 56) Labbé, P., Berthomieu, A., Berticat, C., Alout, H., Raymond, M., Lenormand, T. and Weill, M. (2007). Independent duplications of the acetylcholinesterase gene conferring insecticide resistance in the mosquito *Culex pipiens*. *Mol. Biol. Evol.*, **24** (4):1056-1067.
- 57) Labbé, P., Alout, H., Djogbénu, L., Pasteur, M. and Weill, M. (2011). Evolution of Resistance to Insecticide in Disease Vectors. In: Michel Tibayrenc (Eds.) *Genetics and Evolution of Infectious Diseases*. Elsevier, London U. K., 659 pp.
- 58) Kostic M., Stankovic S. and Kuzevski J. (2016). Role of AChE in Colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata* Say) resistance to carbamates and organophosphates. In: Trdan S. (Ed.) *Insecticide Resistance*, InTechOpen, Rijeka, Croatia. DOI: 10.5772/61460. Available from: <https://www.intechopen.com/books/insecticides-resistance/role-of-ache-in-colorado-potato-beetle-leptinotarsa-decemlineata-say-resistance-to-carbamates-and-or>
- 59) Cassanelli, S., Reyes, M., Rault, M., Manicardi, G. and Sauphanor, B. (2006). Acetylcholinesterase mutation in an insecticide-resistant population of the codling moth *Cydia pomonella* (L.). *Insect Biochem. Molec.*, **36** (8):642-653.
- 60) Williamson, M. S., Martínez-Torres, D., Hick, C. and Devonshire, A. L. (1996). Identification of mutations in the housefly para-type sodium channel gene associated with knockdown resistance (kdr) to pyrethroid insecticides. *Mol. Gen. Genet.*, **252** (1-2): 51-60.
- 61) Soderlund, D. M. and Knipple, D. C. (2003). The molecular biology of knockdown resistance to pyrethroid insecticides. *Insect Biochem. Molec.*, **33**(6):563 – 577.
- 62) Eleftherianos, I., Foster, P. S., Williamson, S. M. and Denholm, I. (2008). Characterization of the M918T sodium channel gene mutation associated with strong resistance to pyrethroid insecticides in the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer). *B. Entomol. Res.*, **98**(2):183-191.
- 63) Dang, K., Doggett, S. L., Veera Singham, G. and Lee, C. Y. (2017). Insecticide resistance and resistance mechanisms in bed bugs, *Cimex* spp. (Hemiptera: Cimicidae). *Parasite vector*, **10**(1), 318.



- 64) Liu, Z. Yao, X. and Zhang, Y. (2008). Insect nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs): Important amino acid residues contributing to neonicotinoid insecticides selectivity and resistance. *Afr. J. Biotechnol.*, **7** (25):4935-4939.
- 65) Salgado V. L. (1998). Studies on the Mode of Action of spinosad: Insect symptoms and physiological correlates. *Pestic. Biochem. Phys.*, **60** (2):91-102.
- 66) Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R. M., Grafius, E. J. and Moyer, D. (2006). Resistance and cross resistance to neonicotinoid and spinosad insecticides in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest. Manag. Sci.*, **62** (1): 30–37.
- 67) Perry, N., Volin, M. and Toledano, H. (2017). MicroRNAs in *Drosophila* regulate cell fate by repressing single mRNA targets. *Int. J. Dev. Biol.*, **61** (3-4-5): 165-170.
- 68) Silva, W. M., Berger, M., Bass, C., Williamson, M., Moura, D. M., Ribeiro, L. M. and Siqueira, H. A. (2016). Mutation (G275E) of the nicotinic acetylcholine receptor  $\alpha 6$  subunit is associated with high levels of resistance to spinosyns in *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Pestic. Biochem. Phys.*, **131**:1-8.
- 69) Helps, J. C., Paveley, N. D., and van den Bosch, F. (2017). Identifying circumstances under which high insecticide dose increase or decrease resistance selection. *J. Theor. Biol.*, **428**:153-167.
- 70) Damos, P. (2015). Modular structure of web-based decision support systems for integrated pest management. A review. *Agron. Sustain. Dev.* **35**:1347-1372.
- 71) Onstad, D. W. (2013). Major Issues in Insect Resistance Management. In: Onstad, D. W. (Eds.) *Insect Resistance Management: Biology, Economics and Prediction*. Academic Press, Amsterdam (The Netherlands) and Boston (Massachusetts), 560pp.
- 72) Barzman, M., Bàrberi, P., Birch, A. N. E., Boonekamp. P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graf, B., Hommel. B., Jensen, J. E., Kiss, J., Kudsk. P., Lamichhane, J. R., Messéan, A., Moonen, A. C., Ratnadass, A., Ricci, P., Sarah, J. L. and Sattin, M. (2015). Eight principles of integrated pest management. *Agron. Sustain. Dev.* **35**:1199-1215.
- 73) Karuppuachamy, P. and Venugopal, S. (2016). Integrated Pest Management. In: Omkar (Eds.) *Ecofriendly Pest Management for Food Security*. Academic Press.762pp.
- 74) Rashid, M. M., Ahmed, N., Jahan, M., Islam, K. S., Nansen, C., Willers, J. L., and Ali, M. P. (2017). Higher Fertilizer Inputs Increase Fitness Traits of Brown Planthopper in Rice. *Sci. Rep. UK*, **7**(1), 4719. doi:10.1038/s41598-017-05023-7.
- 75) Akinkunmi, O. Y., Akintoye, H. A., Umeh, V. C. and Ade-Oluwa O. O. (2012). Influence of spacing on the feeding activities of major pests of sunflower and their associated damage. *Agric. Biol. J.*, **3**:233-236.
- 76) Bandara, K., Kumar, V., Ninkovic, V., Ahmed, E., Pettersson, J. and Glinwood. R. (2009). Can leek interfere with bean plant-bean fly interaction? Tests of ecological pest management in mixed cropping. *J. Econ. Entomol.* , **102**:999-1008.

- 77) Afrin, S., Latif, A., Banu, N. M. A., Kabir, M., Haque, S. S., Emam Ahmed, M. M., Tonu, N. N. and Ali, M. P. (2017). Intercropping Empower Reduces Insect Pests and Increases Biodiversity in Agro-Ecosystems. *Agricultural Sciences*, **8**:1120-1134.
- 78) Hagler, J. R., Nieto, D. J., Machtley, S. A., Spurgeon, D. W., Hogg, B. N. and Swezey, S. L. (2018). Dynamics of Predation on *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) in Alfalfa Trap-Cropped Organic Strawberry. *J. Insect Sci.*, **18**(4):1-12.
- 79) Poston, F. L., Pedigo, L. P. and Welch, S. M. (1983). Economic injury levels: Reality and practicality. *Bull. Entomol. Soc. Amer.*, **29** (1): 49-53.
- 80) Ahmad, S. N. and Kamarudin, N. (2011). Pheromone Trapping in Controlling Key Insect Pests: Progress and Prospects. *Oil Palm Bulletin*, **62**:12-24.
- 81) Butler, L., Kondo, V., Barrows, E. M. and Townsend, E. C. (1999). Effects of weather conditions and trap types on sampling for richness and abundance of forest Macrolepidoptera. *Environm. Entomol.*, **28**:795–811.
- 82) Ma, G. and Ma C-S. (2012.) Differences in the nocturnal flight activity of insect pests and beneficial predatory insects recorded by light traps: Possible use of a beneficial-friendly trapping strategy for controlling insect pests. *Eur. J. Entomol.*, **109**:395-401.
- 83) Li, L., Ma, H., Niu, L., Han, D., Zhang, F., Chen, J. and Fua, Y. (2017). Evaluation of chromatic cues for trapping *Bactrocera tau*. *Pest. Manag. Sci.* **73**:217–222.
- 84) Prema, M. S., Ganapathy, N., Renukadevi, P., Mohankumar, S. and Kennedy, J. S. (2018). Coloured sticky traps to monitor thrips population in cotton. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **6** (2): 948-952.
- 85) Maimom, S. D. and Kusal, R. (2017). Comparable study on different coloured sticky traps for catching of onion thrips, *Thrips tabaci* Lindeman. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, **5** (2):669-671.
- 86) Silva, D., Salamanca, J., Kyrzyzenko-Roth, V., Alborn, H. T. and Rodriguez-Saona, C. (2018). Comparison of Trap Types, Placement, and Colors for Monitoring *Anthonomus musculus* (Coleoptera: Curculionidae) Adults in Highbush Blueberries. *J. Insect Sci.*, **18**(2):1-9.
- 87) Rebek, E. J., Frank, S. D., Royer, T. A. and Bogran, C. E. (2012). Alternatives to chemical control of insect pests. In: Soloneski S. (Ed.) *Insecticides—basic and other applications*. Rijeka (Croatia), Shanghai (China): InTechOpen, 268pp.
- 88) De Vis, R. and van Lenteren, J. (2008). Biological control of *Trialeurodes vaporariorum* by *Encarsia formosa* on tomato in unheated greenhouses in the high altitude tropics. *Bull. Insectology*, **61**(1):43-57.
- 89) Nafiu, B. S., Dong, H. and Cong, B. (2014). Principles of Biological Control in Integrated Pest Management. *International Journal of Applied Research and Technology*, **3**(11):104-116.

- 90) Orr, D., 2009. Biological Control and Integrated Pest Management. In: R. Peshin, R. and Dhawan, A. K.(Eds.) *Integrated Pest Management: Innovation-Development Process*. Springer Science. Netherlands, 240pp.
- 91) Smart, L. E., Arradottir, G. I. and Bruce, T. J. A. (2013). Role of Semiochemicals in Integrated Pest Management. In: Abrol D.P. (Eds.) *Integrated Pest Management: Current Concepts and Ecological Perspective*. Academic Press, 576 pp.
- 92) Tewari, S., Leskey, T. C., Nielsen, A. L., Pinero, J. C. and Rodriguez-Saona, C. R. (2013). Use of Pheromones in Insect Pest Management with special Attention to Weevil Pheromones. In: Abrol D.P. (Eds.) *Integrated Pest Management: Current Concepts and Ecological Perspective*. Academic Press, 576 pp.
- 93) Witzgall, P., Stelinski, L., Gut, L. and Thomson, D. (2008). Codling moth management and chemical ecology. *Annu. Rev. Entomol.*, **53**:503–522.
- 94) Lykouressis, D., Perdakis, D., Samartzis, D., Fantinou, A. and Toutouzas, S. (2005). Management of the pink bollworm *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae) by mating disruption in cotton fields. *Crop Prot.* **24**:177–183.
- 95) Gordon, D., Zahavi, T., Anshelevich, L., Harel, M., Ovadia, S., Dunkelblum, E. and Harari, A. (2005). Mating Disruption of *Lobesia botrana* (Lepidoptera: Tortricidae): Effect of Pheromone Formulations and Concentrations. *J. Econ. Entomol.* **98** (1):135-142.
- 96) Véték, G., Timus, A., Chubinishvili, M., Avagyan, G., Torchan, V., Hajdú, Zs., Veres, A. and Nersisyan, A. (2017). *Integrated pest management of major pests and diseases in Eastern Europe and the Caucasus*. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Budapest. ISBN 978-92-5-109144-9.
- 97) Potamitis, I. and Rigakis, I. (2017). Automated monitoring of Olive Orchards. *Πρακτικά Συνεδρίου 8th International Conference on Information and Communication Technologies in Agriculture, Food and Environment( HAICTA), Chania, Greece, 21-24 September, 237-242*.
- 98) Potamitis, I., Rigakis, I., and Fysarakis, K. (2014). The electronic McPhail trap. *Sensors-Basel*, **14**(12): 22285-22299. doi:10.3390/s141222285.
- 99) Azfar, S., Nadeem, A., Alkhodre, A. B., Ahsan, K., Mehmood, N., Alghmdi, T. and Alsaawy, Y. (2018). Monitoring, Detection and Control Techniques of Agriculture Pests and Diseases using Wireless Sensor Network: A Review. *International Journal of Advanced Computer Science and Applications (IJACSA)*, **9** (12):424-433.
- 100) Rubala, J. I. and Anitha, D. (2017). Agriculture Field Monitoring using Wireless Sensor Networks to Improving Crop Production. *Int. Conf. Wir.L Opt.*, **7** (3):5216-5221.
- 101) Srivastav, N., Chopra, G., Jain, P. and Khatter, B. (2013). Pest Monitor and control system using WSN with special reference to an Acoustic Device. *International Conference on Computing, Electrical and Electronic Engineering (ICCEEE) London, U. K. 3-5 July 2013*: 40-46.

- 102) Al-Manie M. A. and Al-Khanhal, M. I. (2007). Acoustic detection of the Red Date Palm Weevil. *International Journal of Electrical, Robotics, Electronics and communication Engineering*, **1** (2):345-348.
- 103) Potamitis, I., Rigakis, I. and Fysarakis, K. (2015) Insect Biometrics: Optoacoustic Signal Processing and Its Applications to Remote Monitoring of McPhail Type Traps. *PLoS ONE*, **10** (11): e0140474.
- 104) Stern, V., Smith, R., van den Bosch, R. and Hagen, K. (1959). The integration of chemical and biological control of the spotted alfalfa aphid: The integrated control concept. *Hilgardia*, **29**(2):81-101.
- 105) Padma, T., Mir, S. A. and Shantharajah, S. P. (2017). Intelligent Decision Support System for Integrated Pest Management in Apple Orchard. In: Sangaiah, A.K., Abraham, A., Siarry, P., Sheng, M. (Eds.) *Intelligent Decision Support Systems for Sustainable Computing*. Springer, 225pp.
- 106) Samietz, J., Graff, B., Höhn, H., Schaub, L. and Höpli, H. U. (2008). SOPRA: Phenology modeling of major orchard pests from biological basis to decision support. *Acta Horticult.*, **803**:35–42.
- 107) Rupnik, R., Kukar, M., Vračar, P., Košir, D., Pevec, D. and Bosnić, Z. (2018). AgroDSS: A decision support system for agriculture and farming. *Comp. Electron. Agr.*, **161**:260-271.
- 108) Kranthi, K. R. (2005). *Insecticide Resistance -Monitoring, Mechanisms and Management Manual*. Published by CICR, Nagpur, India and ICAC, Washington.
- 109) ESA (2018). The Entomological Society of America Position Statement on Insecticide Resistance Management. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **111**(1):1-2.
- 110) R4P (Reflection and Research on Resistance to Pesticides) Network (2016). Trends and challenges in pesticide resistance detection. *Trends Plant Sci.*, **21**(10):834-853.
- 111) US EPA - *Pesticide Registration Notice (PRN) 2017-1. Notice to manufacturers, producers, producers and registrants of pesticide products and devices*. U.S. Environmental Protection Agency, Office of Pesticide Programs.
- 112) Sudo, M., Takahashi, D., Andow, D. A., Suzuki, Y. and Yamanaka, T. (2018). Optimal management strategy of insecticide resistance under various insect life histories: Heterogeneous timing of selection and interpatch dispersal. *Evol. Appl.*, **11**:271–283.
- 113) Zhao, J. Z., Collins, H. L. and Shelton, A. M. (2010). Testing insecticide resistance management strategies: Mosaic versus rotations. *Pest. Manag. Sci.*, **66**:1101–1105.
- 114) French-Constant, P. H. and Roush, R. T. (1990). Resistance Detection and Documentation: The Relative Roles of Pesticidal and Biochemical Assays. In: R. T. Roush and B. E. Tabashnik (Eds.) *Pesticide Resistance in Arthropods*. Chapman and Hall. New York and London, 4-38 pp.
- 115) Cloyd, R. A. (2010). Pesticide mixtures and rotations: Are these viable resistance mitigating strategies? *Pest Technology*, **4** (1): 14-18.

- 116) Onstad, D. W.(2014). IPM and Insect Resistance Management. In: Onstad D.W. (Ed.) *Insect Resistance Management: Biology, Economics, and Prediction*. Academic Press. Amsterdam (The Netherlands) and Boston (Massachusetts), 560pp.
- 117) Gryspeirt, A. and Grégoire, J. C. (2012). Effectiveness of the high dose/refuge strategy for managing pest resistance to *Bacillus thuringiensis* (Bt) plants expressing one or two toxins. *Toxins*, **4** (10):810–835
- 118) Zimmer, C. T., Panini, M., Singh, K. S., Randle, L., Field, L. M., Roditakis, E., Mazzoni, E. and Bass, C.(2016). Use of the synergist piperonyl butoxide can slow the development of alpha-cypermethrin resistance in the whitefly *Bemisia tabaci*. *Insect Mol. Biol.*, **26** (2): 152-163.
- 119) Sarwar, M. (2016). Potential Uses of Synergists in Insecticides Resistance Management Accompanied by Their Contributions as Control Agents and Research Tools. *Chemistry Research Journal*, **1**(3): 21-26.
- 120) Mironidis, G. K. (2009). *Study of bio-ecology of Helicoverpa armigera (Lepidoptera: Noctuidae) and its parasitoid Hyposoter didymator (Hymenoptera: Ichneumonidae) in northern Greece*. PhD thesis, Aristotle University of Thessaloniki, Greece.
- 121) Mironidis, G. K., Kapantaidaki, D., Bentila, M., Morou, E., Savopoulou-Soultani, M. and Vontas, J. (2012). Resurgence of the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* in the northern Greece associated with insecticide resistance. *Insect. Sci.*, **20**(4):505-512.
- 122) Μυρωνίδης, Γ. (2015). Διερεύνηση της ανθεκτικότητας και καταγραφή της συχνότητας και της διασποράς μεταλλαγών ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα του πράσινου σκουληκιού *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) στη χώρα μας». Διαθέσιμο στο: [www.geotee-anmak.gr/img/ekdiloseis/Poster\\_Mironidis.pdf](http://www.geotee-anmak.gr/img/ekdiloseis/Poster_Mironidis.pdf) .
- 123) Margaritopoulos, J. T., Skouras, P. J., Nikolaidou, P., Manolikaki, J., Maritsa, K., Tsamandani, K., Kanavaki, O. M., Bacandritsos, N., Zarpas, K. D. and Tsitsipis, J. A. (2007). Insecticide resistance status of *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) populations from peach and tobacco in mainland Greece. *Pest. Manag. Sci.*, **63**: 821-829.
- 124) Margaritopoulos, J. T., Tsamandani, K., Kanavaki, O. M., Katis, N. I. and Tsitsipis, J. A. (2010). Efficacy of pymetrozine against *Myzus persicae* and in reducing Potato virus Y transmission on tobacco plants. *J. Appl. Entomol.*, **134**: 323 - 332.
- 125) Philippou, D., Field, L. M. and Moores, G. D. (2009). Metabolic enzyme(s) confer imidacloprid resistance in a clone of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera:Aphididae) from Greece. *Pest Manag Sci.*, **66**: 390–395.
- 126) Voudouris, C., Williamson, M. S., Skouras, P. J., Kati, A. N., Sahinoglou, A. J. and Margaritopoulos, J. T. (2017). Evolution of imidacloprid resistance in *Myzus persicae* in Greece and susceptibility data for spirotetramat. *Pest. Manag. Sci.*, **73** (9): 1804-1812.
- 127) Μαργαριτόπουλος, Ι. Τ., Κατή, Α. Ν., Βουδούρης, Κ. Χ., Σκούρας, Π. Ι., Φώλια, Μ., Παπαπέτρου, Π. Δ. και Ροδιτάκης, Ε. (2019). Η εξέλιξη της ανθεκτικότητας ελληνικών πληθυσμών της αφίδας *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) σε εντομοκτόνα την τελευταία εικοσαετία. *Περιλήψεις*, 180

Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ελληνική Εντομολογική Εταιρία, Κομοτηνή, Οκτώβριος, 2019. Διαθέσιμο στο [www.entsoc.gr](http://www.entsoc.gr).

128) Kapantaidaki, D. E., Sadikoglou, E., Tsakireli, D., Kampanis, V., Stavrakaki, M., Schorn, C., Ilias, A., Riga, M., Tsiamis, G., Nauen, R., Skavdis, G., Vontas, J. and Tsagarakou, A. (2017). Insecticide resistance in *Trialeurodes vaporariorum* populations and novel diagnostics for kdr mutations. *Pest. Manag. Sci.*, **74**(1): 59-69.

129) Tzanetakakis, I. E., Martin, R. R. and Wintermantel, W. M. (2013). Epidemiology of criniviruses: an emerging problem in world agriculture. *Front. Microbiol.*, **4**:193–207.

130) Pappas, M. L., Migkou, F. and Broufas, G. D. (2013). Incidence of resistance to neonicotinoid insecticides in greenhouse populations of the whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae) from Greece. *Appl. Entomol. Zool.*, **38**:373–378.

131) Karatolos, N., Pauchet, Y., Wilkinson, P., Chauhan, R., Denholm, I., Gorman, K., Nelson, D. R., Bass, C., Ffrench-Constant, R. H. and Williamson, M. S. (2011). Pyrosequencing the transcriptome of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum* reveals multiple transcripts encoding insecticide targets and detoxifying enzymes. *BMC Genomics*, **12**:1-14.

132) Karatolos, N., Williamson, M. S., Denholm, I., Gorman, K., Ffrench-Constant, R. H. and Bass, C. (2012). Over-Expression of a Cytochrome P450 Is Associated with Resistance to Pyriproxyfen in the Greenhouse Whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *PLOS ONE.*, **7** (2): e31077.

133) Voudouris, C. C., Sauphanor, B., Franck, P., Reyes, M., Mamuris, Z., Tsitsipis, J. A., Vontas, J. and Margaritopoulos, J. T. (2011). Insecticide resistance status of the codling moth *Cydia pomonella* (Lepidoptera: Tortricidae) from Greece. *Pestic. Biochem. Phys.*, **100**: 229– 238.

134) Ilias, A., Vontas, J. and Tsagkarakou, A. (2014). Global distribution and origin of target site insecticide resistance mutations in *Tetranychus urticae*. *Insect. Biochem. Molec.*, **48**:17–28.

135) Ilias, A., Vassiliou, V.A., Vontas, J. and Tsagkarakou, A. (2017). Molecular diagnostics for detecting pyrethroid and abamectin resistance mutations in *Tetranychus urticae*. *Pestic. Biochem. Phys.*, **135**: 9-14.

136) Riga, M., Tsakireli, D., Ilias, A., Morou, E., Myridakis, A., Stephanou, E. G., Nauen, R., Dermauw, W., Van Leeuwen, T. and Vontas, J. (2014). Abamectin is metabolized by CYP392A16, a cytochrome P450 associated with high levels of acaricide resistance in *Tetranychus urticae*. *Insect Biochem. Molec.*, **46**:43–53.

137) Riga, M., Myridakis, A., Tsakireli, D., Morou, E., Stephanou, E. G., Nauen, R., Van Leeuwen, T., Douris, V. and Vontas, J. (2015). Functional characterization of the *Tetranychus urticae* CYP392A11, a cytochrome P450 that hydroxylates the METI acaricides cyenopyrafen and fenpyroximate. *Insect Biochem. Mol.*, **65**:91-99.

138) Σκουφά, Ε., Παπαποστόλου, Κ. Μ., Ηλίας, Α., Ρήγα, Μ., Σούχλας, Β., Μπαλαμπανίδου, Β., Ιωαννίδης, Π., Dermauw, W., Van Leeuwen, T. και Βόντας, Ι. (2019) Ανίχνευση και μοριακή ανάλυση της ανθεκτικότητας του *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) στα ακαρεοκτόνα. Περιλήψεις,

18ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ελληνική Εντομολογική Εταιρία, Κομοτηνή, Οκτώβριος 2019. Διαθέσιμο στο [www.entsoc.gr](http://www.entsoc.gr).

139) Iannota, N., Belfiore, T., Noce, M. E., Scalercio, S. and Vizzarri, V. (2012). Correlation between *Bactrocera oleae* infestation and *Camarosporium dalmaticum* infection in an olive area of Southern Italy. *Acta Hort.*, **949**:309-316.

140) Skouras, P. J., Margaritopoulos, J. T., Seraphides, N. A., Ioannides, I. M., Kakani, E. G., Mathiopoulos, K. D. and Tsitsipis, J. A. (2007). Organophosphate resistance in olive fruit fly, *Bactrocera oleae*, populations in Greece and Cyprus. *Pest. Manag. Sci.*, **63**(1): 42–48.

141) Hawkes, N. J., Janes, R. W., Hemingway, J. and Vontas, J. (2005). Detection of resistance associated point mutations of organophosphate insensitive acetylcholinesterase in the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin). *Pestic. Biochem. Phys.*, **81**(3):154–163.

142) Margaritopoulos, J. T., Skavdis, G., Kalogiannis, N., Nikou, D., Morou, E., Skouras, P. J. and Vontas, J. (2008). Efficacy of the pyrethroid alpha-cypermethrin against *Bactrocera oleae* populations from Greece, and improved diagnostics for an iAChE mutation. *Pest. Manag. Sci.*, **64**(9): 900-908.

143) Kampouraki, A., Stavrakaki, M., Karataraki, A., Katsikogiannis, G., Pitika, E., Varikou, K., Vlachaki, A., Chrysargyris, A., Malandraki, E., Sidiropoulos, N., Paraskevopoulos, A., Gkilpathi, D., Roditakis, E. and Vontas, J. (2018). Recent evolution and operational impact of insecticide resistance in olive fruit fly *Bactrocera oleae* populations from Greece. *J. Pest .Sci.*, **91**(4):1429–1439.

144) Καμπουράκη, Α., Σταυρακάκη, Μ., Ρήγα, Μ., Ροδιτάκης, Ε., Ζαρμπούτης, Ι., Καραταράκη, Α., Κατσικογιάννης, Γ., Κρασσακόπουλος, Α., Μαθιουλάκης, Α., Μαλανδράκη, Ε., Μαρούλη, Ε., Παρασκευόπουλος, Α., Ράλλης, Ι., Σιδηρόπουλος, Ν., Σταυρίδης, Δ., Τσαπάρας, Α., Φίλη, Π., Θεοδωρακοπούλου, Φ., Σκουλά, Φ., Φιλίππου, Ε. και Βόντας, Ι. (2019). Ανθεκτικότητα του δάκου της ελιάς *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) στα εντομοκτόνα και επίδραση στην αποτελεσματικότητα των ψεκασμών. Περίληψεις, 18ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ελληνική Εντομολογική Εταιρία, Κομοτηνή, Οκτώβριος 2019. Διαθέσιμο στο [www.entsoc.gr](http://www.entsoc.gr).

145) Σταυρακάκη, Μ., Καμπουράκη, Α., Βουγάνης, Γ., Φιλίππου, Ε., Καραταράκη, Α., Καπόγια, Ε., Βόντας, Ι. και Ροδιτάκης, Ε. (2019). Εκτίμηση αποτελεσματικότητας εντομοκτόνων στο δάκο της ελιάς με μικρής κλίμακας εργαστηριακή προσέγγιση. Περίληψεις, 18ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ελληνική Εντομολογική Εταιρία, Κομοτηνή, Οκτώβριος 2019. Διαθέσιμο στο [www.entsoc.gr](http://www.entsoc.gr).

146) Roditakis, E., Roditakis, N. E. and Tsagkarakou, A. (2005). Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) populations from Crete. *Pest. Manag. Sci.*, **61**:577–578.

147) Roditakis E., Tsagkarakou A. and Vontas, J. (2006). Identification of mutations in the para sodium channel of *Bemisia tabaci* from Crete, associated with resistance to pyrethroids. *Pestic. Biochem. Phys.*, **85**: 161-166.

- 148) Tsagkarakou, A., Nikou, D., Roditakis, E., Sharvit, M., Morin, S. and Vontas, J. (2009). Molecular diagnostics for detecting pyrethroid and organophosphate resistance mutations in the Q biotype of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pestic. Biochem. Phys.*, **94** : 49-54.
- 149) Roditakis, E., Grispu, M., Morou, E., Kristoffersen, J. B., Roditakis, N., Nauen, R., J. Vontas, J. and Tsagkarakou, A. (2009). Current status of insecticide resistance in Q biotype *Bemisia tabaci* populations from Crete. *Pest. Manag. Sci.*, **65**(3):313-322.
- 150) Roditakis, E., Morou, E., Tsagkarakou, A., Riga, M., Nauen, R., Paine, M. J. I., Morin, S. and Vontas, J. (2010). Assessment of the *Bemisia tabaci* CYP6CM1vQ transcript and protein levels in laboratory and field caught Imidacloprid resistant insects, and cross-metabolism potential of the recombinant enzyme. *Insect. Sci.*, **18**(1): 25-29.
- 151) Σταυρακάκη, Μ., Αχείμαστου, Α., Μαυροειδή, Β., Van Waetermeulen, Χ., Ηλίας, Α., Βόντας, Ι., Τσαγκαράκου, Α. και Ροδιτάκης, Ε. (2019). Πρώτη αναφορά ανθεκτικότητας στο εντομοκτόνο spiromesifen για τον αλευρώδη του καπνού *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) στην Ελλάδα. Περιλήψεις, 18ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ελληνική Εντομολογική Εταιρία, Κομοτηνή, Οκτώβριος 2019. Διαθέσιμο στο [www.entsoc.gr](http://www.entsoc.gr).
- 152) Ροδιτάκης, Ε., Βασάκης, Ε., Σταυρακάκη, Μ. και Σίμογλου, Β. Κ. (2017). Νεότερα δεδομένα στην αντιμετώπιση του *Tuta absoluta*. *Γεωργία-Κτηνοτροφία*, **2**:45-52.
- 153) Ροδιτάκης, Ε., Βασάκης, Ε., Γρίσπου, Μ., Σταυρακάκη, Μ., Bassi, A, Αγγελετάκης, Α., Καζαντζίδου, Α., Nauen, R. και Αχείμαστου, Κ. (2015). Η αντιμετώπιση του *Tuta absoluta* και ο κίνδυνος ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα διαμύδια. *Γεωργία – Κτηνοτροφία*, **2**:60-63.
- 154) Roditakis, E., Mavridis, K., Riga, M., Vasakis, E., Morou, E., Rison, J. L. and Vontas, J. (2017a). Identification and detection of indoxacarb resistance mutations in the para sodium channel of the tomato leafminer, *Tuta absoluta*. *Pest. Manag. Sci.*, **73**:1679–1688.
- 155) Roditakis, E., Steinbach, D., Moritz, G., Vasakis, E., Stavrakaki, M., Ilias, A., García-Vidal, L., María del Rosario Martínez Aguirre, Pablo Bielza, P., Morou, E., Silva, J. E., Silva, W. M., Siqueira, H., Iqbal, S., Troczka, B. J., Williamson, M., Bass, C., Tsagkarakou, A., Vontas, J. and Nauen, R. (2017b). Ryanodine receptor point mutations confer diamide insecticide resistance in tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Insect. Biochem. Mol. Biol.*, **80**:11–20.
- 156) Σταυρακάκη, Μ., Ηλίας, Α., Ιωαννίδης, Π., Βόντας, Ι. και Ροδιτάκης, Ε. (2019). Διερεύνηση της ανθεκτικότητας του υπονομευτή της τομάτας *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) στο emamectin benzoate. Περιλήψεις, 18ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ελληνική Εντομολογική Εταιρία, Κομοτηνή, Οκτώβριος 2019. Διαθέσιμο στο [www.entsoc.gr](http://www.entsoc.gr).
- 157) Ροδιτάκης, Ε., Βασάκης, Ε., Σταυρακάκη, Μ., Α. Ηλίας, Α., Βόντας, Ι. και Τσαγκαράκου, Α. (2019). Πολλαπλή ανθεκτικότητα και *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae): η επόμενη μέρα στην αντιμετώπιση του σημαντικότερου εχθρού της τομάτας. Περιλήψεις, 18ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ελληνική Εντομολογική Εταιρία, Κομοτηνή, Οκτώβριος 2019. Διαθέσιμο στο [www.entsoc.gr](http://www.entsoc.gr).



- 158) Fotakis, E. A., Chaskopoulou, A., Grigoraki, L., Tsiamantas, A., Kounadi, S., Georgiou, L. and Vontas, J. (2017). Analysis of population structure and insecticide resistance in mosquitoes of the genus *Culex*, *Anopheles* and *Aedes* from different environments of Greece with a history of mosquito borne disease transmission. *Acta Trop.*, **174**:29–37.
- 159) Kioulos, I., Kampouraki, A., Morou, E., Skavdis, G. and Vontas, J. (2014). Insecticide resistance status in the major West Nile virus vector *Culex pipiens* from Greece. *Pest. Manag. Sci.*, **70**: 623–627.
- 161) Καμπουράκη, Ν., Μαυρίδης, Κ., Φωτάκης, Ε., Τάντη, Φ., Μπαλάσκα, Σ., Βλάχος, Γ., Gewehr, Σ., Μουρελάτος, Σ., Νικολακάκης, Δ., Κάβαλου, Μ., Βιδάκης, Δ., Μωυσάκη, Μ., Καμπάνης, Ν. και Βόντας, Ι. (2019). Εντομολογική επιτήρηση για την υποστήριξη του προγράμματος καταπολέμησης κουνουπιών στην Περιφέρεια Κρήτης. Περίληψεις, 18ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ελληνική Εντομολογική Εταιρία, Κομοτηνή [www.entsoc.gr](http://www.entsoc.gr), Οκτώβριος, 2019.
- 162) Grigoraki, L., Lagnel, J., Kioulos, I., Kampouraki, A., Morou, E., Labbé, P., Weill, M. and Vontas, J. (2015). Transcriptome Profiling and Genetic Study Reveal Amplified Carboxylesterase Genes Implicated in Temephos Resistance, in the Asian Tiger Mosquito *Aedes albopictus*. *PLoS. Negl. Trop. D.*, **9** (5): e0003771.
- 163) Xu, J., Bonizzoni, M., Zhong, D., Zhou, G., Cai, S., Li, Y., Xiaoming, W., Eugenia, L., Rebecca, L., Roger, S., Jinhua, D., Guiyun, Y. and Xiao-Guang, C. (2016). Multi-country Survey Revealed Prevalent and Novel F1534S Mutation in Voltage Gated Sodium Channel (VGSC) Gene in *Aedes albopictus*. *PLoS. Negl. Trop. Dis.*, **10** (5): e0004696.
- 164) Grigoraki, L., Pipini, D., Labbe, P., Chaskopoulou, A., Weill, M. and Vontas, J. (2017). Carboxylesterase gene amplifications associated with insecticide resistance in *Aedes albopictus*: Geographical distribution and evolutionary origin. *PLoS. Negl. Trop. Dis.*, **11** (4): e0005533.
- 165) Φωτάκης, Ε., Μπαλάσκα, Σ., Γιάντσης, Ι., Μαυρίδης, Κ., Μπέλλου, Σ., Κιούλος, Η., Καμπάνης, Ν., Κουρτίδης, Σ., Διαμαντόπουλος, Β., Γεωργίου, Λ., Χασκοπούλου, Α. και Βόντας, Ι. (2019). Ανάλυση της ανθεκτικότητας εντόμων υγειονομικής σημασίας της Ελλάδας στα εντομοκτόνα. Περίληψεις, 18ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ελληνική Εντομολογική Εταιρία, Κομοτηνή, Οκτώβριος, 2019. Διαθέσιμο στο [www.entsoc.gr](http://www.entsoc.gr).