



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ
ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ**

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Αξιολόγηση του thiamethoxam για την
αντιμετώπιση εντόμων αποθηκευμένων
γεωργικών προϊόντων και τροφίμων**

Τσαγανού Φωτούλα

ΒΟΛΟΣ, 2021

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Χρήστος Αθανασίου, Καθηγητής Π.Θ. (Επιβλέπων)

Νικόλαος Παπαδόπουλος, Καθηγητής Π.Θ. (Μέλος)

Νικόλαος Καβαλλιεράτος, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α. (Μέλος)

Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή

Χρήστος Αθανασίου, Καθηγητής Π.Θ. (Επιβλέπων)

Νικόλαος Παπαδόπουλος, Καθηγητής Π.Θ. (Μέλος)

Νικόλαος Καβαλλιεράτος, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α. (Μέλος)

Νικόλαος Τσιρόπουλος, Καθηγητής Π.Θ. (Μέλος)

Νικόλαος Δαναλάτος, Καθηγητής Π.Θ. (Μέλος)

Γεώργιος Μπρούφας, Καθηγητής Δ.Π.Θ. (Μέλος)

Εμμανουήλ Ροδιτάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΛΜΕΠΑ (Μέλος)

Αφιερώνεται με αγάπη στους γονείς μου

Κώστα και Μαρίκα

που μου δίδαξαν την αξία και ομορφιά της ζωής

Σας χρωστώ τα πάντα...

Ευχαριστίες

Χωρίς την παρουσία, την υποστήριξη και την ανεκτικότητα κάποιων ανθρώπων δε θα ήταν δυνατή η υλοποίηση της διδακτορικής διατριβής. Θα ήθελα λοιπόν να ευχαριστήσω όλους όσους βοήθησαν στην ολοκλήρωσή της.

Πρώτα από όλα, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα Δρ. Χρήστο Αθανασίου, Καθηγητή του Τμήματος Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για την επιστημονική, πνευματική και ηθική υποστήριξη που μου παρείχε καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της διδακτορικής διατριβής. Θα ήθελα επίσης να εκφράσω τις ευχαριστίες μου για τις πολύτιμες συμβουλές για τη λογική ροή και τη βέλτιστη δομή της παρούσας διατριβής στον Καθηγητή Δρ. Νικόλαο Παπαδόπουλο του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και στον Αναπληρωτή Καθηγητή Δρ. Νικόλαο Καβαλλιεράτο του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών.

Πολύτιμος αρωγός ήταν ο συνάδελφος και συνεργάτης Δρ. Θωμάς Βασιλάκος στην περάτωση της διδακτορικής μου διατριβής με την επιστημονική βοήθεια και την εποικοδομητική κριτική που μου έκανε. Ένα «τεράστιο» ευχαριστώ στις φίλες μου Μαρία Αποστολίδη και Μαρία Σινιγάλια για τη βοήθειά τους και την υπομονή τους.

Και τέλος, το πιο μεγάλο «ευχαριστώ» από όλα τα παραπάνω, δικαιωματικά το οφείλω στους γονείς μου, οι οποίοι ήταν η δύναμή μου όλο αυτό το χρονικό διάστημα. Θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου Κωνσταντίνο και Μαρία για την ηθική στήριξη που μου παρείχαν σε οποιαδήποτε απόφαση της ζωής μου. Τη μητέρα μου, η οποία με παρακίνησε να συνεχίσω τις σπουδές μου προσφέροντάς μου την αγάπη της και τον πατέρα μου που με τη φροντίδα και την αγάπη του προσπαθούσε όλα αυτά τα χρόνια να με απαλύνει από τις δύσκολες στιγμές που σημάδευσαν τη ζωή μου. Στάθηκαν στο πλευρό μου, άλλοτε στηρίζοντας και άλλοτε γκρεμίζοντας τα όνειρά μου, πραγματικοί συνοδοιπόροι και συμπαραστάτες καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου, και όχι μόνο, ενθαρρύνοντας και εμψυχώνοντας κάθε μου προσπάθεια και δεν σταμάτησαν ποτέ να μου θυμίζουν ότι το μόνο που μπορεί να σταματήσει έναν άνθρωπο που προσπαθεί είναι ο ίδιος του ο εαυτός. Από μικρή ηλικία με έμαθαν να πιστεύω στον εαυτό μου και να μην επαναπαύομαι. Είναι πρότυπα για τη ζωή μου και τους ευχαριστώ μέσα από την καρδιά μου για όλα.

HE WHO NEVER MADE A MISTAKE

NEVER MADE A DISCOVERY

SAMUEL SMILES

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Περίληψη.....	1
ABSTRACT.....	7
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	11
1.1. ΓΕΝΙΚΑ.....	11
1.2. ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΑ.....	12
1.2.1 Γενικά.....	12
1.2.2 Προβλήματα και προοπτικές στον τομέα των δημητριακών στην Ελλάδα.....	13
1.3 ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ.....	14
1.3.1 Αποτροπή εντομολογικών προσβολών.....	17
1.4: ENTOMA EXΘΡΟΙ ΤΩΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ.....	19
1.4.1 Γενικά για τα έντομα αποθηκών.....	19
1.4.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές.....	21
1.4.2.1 <i>Rhyzopertha dominica</i> (F.) (Coleoptera: Bostrychidae).....	22
1.4.2.2 <i>Prostephanus truncatus</i> (Horn) (Coleoptera: Bostrychidae).....	23
1.4.2.3 <i>Sitophilus oryzae</i> (L.) (Coleoptera: Curculionidae).....	25
1.4.2.4 <i>Sitophilus granarius</i> (L.) (Coleoptera: Curculionidae).....	26
1.4.2.5 <i>Tribolium confusum</i> Jacquelin Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae).....	28
1.4.2.6 <i>Oryzaephilus surinamensis</i> (L.) (Coleoptera: Silvanidae).....	29
1.4.2.7 <i>Cryptolestes ferrugineus</i> (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae).....	30
1.5. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ENTOMΩΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ.....	32
1.5.1 Εισαγωγή.....	32
1.5.2 Φυσικές και μηχανικές μέθοδοι.....	32
1.5.3 Βιολογικές μέθοδοι.....	35
1.5.4 Άλλες μέθοδοι.....	37
1.5.5 Χημικές μέθοδοι.....	39

1.6. ΤΑ ΝΕΟΝΙΚΟΤΙΝΟΕΙΔΗ ΚΑΙ Η ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥΣ	42
1.6.1 Εισαγωγή	42
1.6.2 Νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα.....	44
1.6.3 Οικονομικά στοιχεία.....	47
1.6.4 Δομή, σύνθεση και φυσικά χαρακτηριστικά νεονικοτινοειδών.....	47
1.6.5 <i>Thiamethoxam</i>	51
1.6.6 Τοξικότητα των νεονικοτινοειδών	51
1.6.7 Νομοθετικό πλαίσιο των νεονικοτινοειδών	54
1.7. ΣΚΟΠΟΙ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	55
2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΟΤΗΤΕΣ.....	57
2.1. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι.....	57
2.1.1 Διαδικασία Εκτροφών.....	57
2.1.2. Διαδικασία προετοιμασίας υποστρώματος.....	59
2.1.3 Διαδικασία των βιοδοκιμών	60
2.1.4. Διαδικασία προετοιμασίας επιφανειών	61
2.1.5 Διαδικασία εφαρμογής του <i>thiamethoxam</i>	63
2.2 Η αξιολόγηση διαφορετικών συγκεντρώσεων του <i>thiamethoxam</i> για την αντιμετώπιση επτά ειδών εντόμων αποθηκών	65
2.2.1 Εισαγωγή	65
2.2.2 Υλικά και μέθοδοι.....	67
2.2.2.1. Έντομα και υπόστρωμα.....	67
2.2.2.2 Εφαρμογή του <i>thiamethoxam</i>	67
2.2.2.3. Βιοδοκιμές.....	67
2.2.2.4. Ανάλυση δεδομένων.....	68
2.2.3. Αποτελέσματα	69
2.2.3.1. <i>Cryptolestes ferrugineus</i>	70
2.2.3.2. <i>Sitophilus granarius</i>	71

2.2.3.3. <i>Sitophilus oryzae</i>	72
2.2.3.4. <i>Oryzaephilus surinamensis</i>	73
2.2.3.5. <i>Prostephanus truncatus</i>	74
2.2.3.6. <i>Rhyzopertha dominica</i>	75
2.2.3.7. <i>Tribolium confusum</i>	76
2.2.4. Συζήτηση.....	77
2.3. Επίδραση των σύντομων εκθέσεων στο <i>thiamethoxam</i> στη θνησιμότητα και την άμεση κατάρριψη πέντε ειδών εντόμων αποθηκών.....	80
2.3.1 Εισαγωγή.....	80
2.3.2 Υλικά και μέθοδοι.....	83
2.3.2.1 Υποστρώματα και έντομα.....	83
2.3.2.2 Εφαρμογή του εντομοκτόνου.....	83
2.3.2.3 Βιοδοκιμές.....	83
2.3.2.4 Ανάλυση δεδομένων.....	84
2.3.3 Αποτελέσματα.....	84
2.3.3.1 Άμεση Θνησιμότητα.....	84
2.3.3.2 Καθυστερημένη Θνησιμότητα.....	90
2.3.4 Συζήτηση.....	90
2.4. Επίδραση της άνισης κατανομής του <i>thiamethoxam</i> στη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων των <i>Rhyzopertha dominica</i> και <i>Sitophilus oryzae</i> σε σιτάρι και ρύζι.....	95
2.4.1 Εισαγωγή.....	95
2.4.2 Υλικά και μέθοδοι.....	97
2.4.2.1. Υπόστρωμα και έντομα.....	97
2.4.2.2 Εντομοκτόνο και διαδικασίες εφαρμογής.....	98
2.4.2.3. Βιοδοκιμές.....	98
2.4.2.4 Ανάλυση δεδομένων.....	99
2.4.3 Αποτελέσματα.....	99

2.4.3.1. Θνησιμότητα ακμαίων.....	99
2.4.3.2 Παραγωγή απογόνων	104
2.4.4 Συζήτηση.....	106
2.5. Αποτελεσματικότητα του <i>thiamethoxam</i> με εφαρμογή σε στρώματα έναντι ακμαίων των <i>Rhizopertha dominica</i> και <i>Sitophilus oryzae</i>	110
2.5.1. Εισαγωγή.....	110
2.5.2 Υλικά και μέθοδοι.....	112
2.5.2.1. Υπόστρωμα και έντομα.....	112
2.5.2.2 Εφαρμογή του <i>thiamethoxam</i>	112
2.5.2.3 Εφαρμογή <i>thiamethoxam</i> με άνιση κατανομή σε στρώσεις σπόρων σιταριού 113	
2.5.2.4 Ανάλυση δεδομένων.....	114
2.5.3. Αποτελέσματα	115
2.5.3.1. Θνησιμότητα.....	115
2.5.3.2. Παραγωγή απογόνων	119
2.5.4 Συζήτηση.....	122
2.6. Επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα του <i>thiamethoxam</i> για τα είδη <i>Sitophilus oryzae</i> , <i>Rhizopertha dominica</i> και <i>Tribolium confusum</i>	127
2.6.1 Εισαγωγή.....	127
2.6.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	130
2.6.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών.....	130
2.6.2.2 Εφαρμογή του <i>thiamethoxam</i>	130
2.6.2.3 Βιοδοκιμές.....	130
2.6.2.4 Ανάλυση δεδομένων.....	131
2.6.3 Αποτελέσματα	131
2.6.3.1 Θνησιμότητα του <i>R. dominica</i>	131
2.6.3.2 Θνησιμότητα του <i>S. oryzae</i>	133

2.6.3.3 Θνησιμότητα του <i>T. confusum</i>	135
2.6.3.4 Παραγωγή απογόνων	136
2.6.4 Συζήτηση.....	137
2.7. Αποτελεσματικότητα του <i>thiamethoxam</i> σε διαφορετικές επιφάνειες για την αντιμετώπιση έξι ειδών εντόμων αποθηκών.....	141
2.7.1 Εισαγωγή	141
2.7.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	145
2.7.2.1 Επιφάνειες και έντομα.....	145
2.7.2.2 Εφαρμογή εντομοκτόνου	145
2.7.2.3 Βιοδοκιμές.....	146
2.7.2.4 Ανάλυση δεδομένων.....	147
2.7.3 Αποτελέσματα	148
2.7.3.1 <i>Tribolium confusum</i> και <i>T. castaneum</i>	148
2.7.3.2 <i>Sitophilus oryzae</i> και <i>S. granarius</i>	152
2.7.3.3 <i>Oryzaephilus surinamensis</i> και <i>Cryptolestes ferrugineus</i>	154
2.7.4 Συζήτηση.....	156
2.8. Ανακεφαλαίωση, Συμπεράσματα, Εφαρμογές.....	160
2.9. Προοπτικές Νέας Έρευνας.....	164
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	166

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΕΙΚΟΝΩΝ

<i>Εικόνα 1: Ακμαία Rhyzopertha dominica</i>	22
<i>Εικόνα 2: Ακμαία Prostephanus truncatus</i>	24
<i>Εικόνα 3: Ακμαία Sitophilus oryzae</i>	25
<i>Εικόνα 4: Ακμαία Sitophilus granarius</i>	27
<i>Εικόνα 5: Ακμαία Tribolium confusum</i>	28
<i>Εικόνα 6: Ακμαία Oryzaephilus surinamensis</i>	30
<i>Εικόνα 7: Ακμαία Cryptolestes ferrugineus</i>	31
<i>Εικόνα 8: Οι βασικότερες ομάδες νεονικοτινοειδών και οι συντακτικοί τους τύποι (Casida, 2018)</i>	48
<i>Εικόνα 9: Το χολινεργικό σύστημα αποτελείται από nAChRs και mAChRs (Jones et al., 2012)</i>	49
<i>Εικόνα διαγράμματος 10: Χημική δομή και 3-D δομή του thiamethoxam</i>	51
<i>Εικόνα 11: Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας</i>	57
<i>Εικόνα 12: Αφαίρεση από ένα βάζο σε άλλο νέας εκτροφής (A) και Βάζα με διαφορετικά υποστρώματα για διαφορετικές εκτροφές εντόμων (B)</i>	58
<i>Εικόνα 13: Διαδικασία αφαίρεσης ξένων υλών από το υπόστρωμα (A) και θάλαμοι του εργαστηρίου (B)</i>	60
<i>Εικόνα 14: Προετοιμασία πειραματικών φιαλιδίων (Rotilabo, Carl Roth GmbH + Co. KG, Germany)</i>	61
<i>Εικόνα 15: Προετοιμασία επιφανείας τσιμέντου</i>	62
<i>Εικόνα 16: Τύποι επιφανειών που χρησιμοποιήθηκαν στα τρυβλία (λινό, πλαστικό, τσιμέντο, ξύλο, μέταλλο και πλακάκι</i>	63
<i>Εικόνα 17: Εφαρμογή του εντομοκτόνου με τη χρήση καλλιτεχνικού αερογράφου Mecafér AG4</i>	64

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πίνακας 2.2.1 : Ανάλυση διακόμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας, σχετική με την επίδραση συγκεντρώσεων του <i>thiamethoxam</i> στα είδη που εξετάστηκαν/.....	69
Πίνακας 2.2.2: Ανάλυση διακόμανσης σχετική με την επίδραση της συγκέντρωσης του <i>thiamethoxam</i> στην παραγωγή απογόνων σε όλες τις συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν και τον μάρτυρα.....	70
Πίνακας 2.2.3: Μέσος Όρος ($\% \pm T.S.$) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>C. ferrugineus</i> που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων/φιαλίδιο $\pm T.S.$), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> σιτάρι.....	71
Πίνακας 2.2.4: Μέσος Όρος ($\% \pm T.S.$) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>S. granarius</i> που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο $\pm T.S.$), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> σιτάρι.....	72
Πίνακας 2.2.5: Μέσος Όρος ($\% \pm T.S.$) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>S. oryzae</i> που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο $\pm T.S.$), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> σιτάρι.....	73
Πίνακας 2.2.6: Μέσος Όρος ($\% \pm T.S.$) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>O. surinamensis</i> που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο $\pm T.S.$), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> σιτάρι.....	74
Πίνακας 2.2.7: Μέσος Όρος ($\% \pm T.S.$) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>P. truncatus</i> που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο $\pm T.S.$), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> αραβόσιτο.....	75
Πίνακας 2.2.8: Μέσος Όρος ($\% \pm T.S.$) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>R. dominica</i> που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο $\pm T.S.$), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> σιτάρι.....	76
Πίνακας 2.2.9: Μέσος Όρος ($\% \pm T.S.$) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>T. confusum</i> που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> και Μέσος Όρος απογόνων	

(αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο \pm T.Σ.), 90 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> σιτάρι.....	77
Πίνακας 2.3.1: Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας των ειδών εντόμων που εξετάστηκαν (B.E. σφάλματος = 135)	86
Πίνακας 2.3.2: Μέσος όρος άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας (% \pm T.Σ.) για τα είδη που εξετάστηκαν, μετά την έκθεση τους για 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40, 72 και 96 ώρες σε σπόρους δημητριακών ψεκασμένους με <i>thiamethoxam</i> σε συγκέντρωση 0.1 ppm ...	87
Πίνακας 2.3.3: Μέσος όρος άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας (% \pm T.Σ.) για τα είδη που εξετάστηκαν, μετά την έκθεση τους για 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40, 72 και 96 ώρες σε σπόρους δημητριακών ψεκασμένους με <i>thiamethoxam</i> σε συγκέντρωση 1 ppm	88
Πίνακας 2.3.4: Μέσος όρος άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας (% \pm T.Σ.) για τα είδη που εξετάστηκαν, μετά την έκθεση τους για 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40, 72 και 96 ώρες σε σπόρους δημητριακών ψεκασμένους με <i>thiamethoxam</i> σε συγκέντρωση 10 ppm	89
Πίνακας 2.4.1: Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας των ειδών που εξετάστηκαν, με παράγοντες το υπόστρωμα, τη δόση του εντομοκτόνου, την εφαρμογή του εντομοκτόνου, και τις αλληλεπιδράσεις τους κατά την ποσοστιαία εφαρμογή του εντομοκτόνου <i>thiamethoxam</i>	100
Πίνακας 2.4.2: Ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (<i>three-way ANOVA</i>), με κύρια επίδραση τη δόση, την εφαρμογή και το υπόστρωμα, και τις αλληλεπιδράσεις τους, σε δημητριακά που περιείχαν διάφορα ποσοστά σπόρων στους οποίους είχε γίνει εφαρμογή του <i>thiamethoxam</i> , συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα.....	105
Πίνακας 2.5.1: Ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (της εφαρμογής του εντομοκτόνου, του τρόπου εισαγωγής των εντόμων, της στρωματοποίησης και των αλληλεπιδράσεών τους) στη θνησιμότητα των ειδών που εξετάστηκαν κατά τον ψεκασμό στρώσεων του σιταριού με <i>thiamethoxam</i> (B.E. σφάλματος = 220).....	116
Πίνακας 2.5.2: Ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (της εφαρμογής του εντομοκτόνου συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα, του τρόπου εισαγωγής των εντόμων, της στρωματοποίησης και των αλληλεπιδράσεών τους) στην παραγωγή απογόνων των ειδών που εξετάστηκαν κατά τον ψεκασμό διαφορετικών στρώσεων του σιταριού με <i>thiamethoxam</i> (B.E. σφάλματος= 287)	119

Πίνακας 2.6.1: Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας για όλα τα είδη που εξετάστηκαν με παράγοντες τη συγκέντρωση, τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία.....	132
Πίνακας 2.6.2: Μέσος όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>R. dominica</i> μετά την έκθεσή τους σε τρεις συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> σε σκληρό σιτάρι, σε όλους τους συνδυασμούς τριών επιπέδων θερμοκρασίας (20, 25 και 30 °C) και δύο επιπέδων σχετικής υγρασίας (55 και 75%), σε τρία χρονικά διαστήματα έκθεσης (7, 14 και 21 ημέρες)	133
Πίνακας 2.6.3: Μέσος όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>S. oryzae</i> μετά την έκθεσή τους σε τρεις συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> σε σκληρό σιτάρι, σε όλους τους συνδυασμούς τριών επιπέδων θερμοκρασίας (20, 25 και 30 °C) και δύο επιπέδων σχετικής υγρασίας (55 και 75%), σε τρία χρονικά διαστήματα έκθεσης (7, 14 και 21 ημέρες)	134
Πίνακας 2.6.4: Μέσος όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>T. confusum</i> μετά την έκθεσή τους σε τρεις συγκεντρώσεις του <i>thiamethoxam</i> σε σκληρό σιτάρι, σε όλους τους συνδυασμούς τριών επιπέδων θερμοκρασίας (20, 25 και 30°C) και δύο επιπέδων σχετικής υγρασίας (55 και 75%), σε τρία χρονικά διαστήματα έκθεσης (7, 14 και 21 ημέρες)	135
Πίνακας 2.6.5: Ανάλυση διακύμανσης της παραγωγής απογόνων για όλες τις συγκεντρώσεις, συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα, για τα επίπεδα θερμοκρασίας και υγρασίας που εξετάστηκαν (B.E. σφάλματος = 192)	136
Πίνακας 2.6.6: Μέσος όρος παραγωγής απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο \pm T.Σ.) των ειδών που εξετάστηκαν 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των αρχικών ακμαίων από τα φιαλίδια.....	137
Πίνακας 2.7.1: Ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας (Repeated measures MANOVA) με τις παραμέτρους για το Standardized Lethality Index (SLI) των ειδών εντόμων που εξετάστηκαν σε έξι διαφορετικές επιφάνειες που ψεκάστηκαν με δύο διαφορετικές δόσεις του <i>thiamethoxam</i> (Βαθμοί ελευθερίας σφάλματος =48)	149

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ ΓΡΑΦΗΜΑΤΩΝ

Γράφημα 2.4.1: Ποσοστό θνησιμότητας ($\% \pm T.Σ.$) των ακμαίων του <i>R. dominica</i> σε φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %), μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης.....	101
Γράφημα 2.4.2: Ποσοστό θνησιμότητας ($\% \pm T.Σ.$) των ακμαίων του <i>R. dominica</i> σε φιαλίδια που περιείχαν ρύζι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %), μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης.....	102
Γράφημα 2.4.3: Ποσοστό θνησιμότητας ($\% \pm T.Σ.$) των ακμαίων του <i>S. oryzae</i> σε φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %), μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης.....	103
Γράφημα 2.4.4: Ποσοστό θνησιμότητας ($\% \pm T.Σ.$) των ακμαίων του <i>S. oryzae</i> σε φιαλίδια που περιείχαν ρύζι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %), μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης.....	103
Γράφημα 2.4.5: Μέσος όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο $\pm T.Σ.$) των <i>R. dominica</i> σε φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ή ρύζι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %).....	105
Γράφημα 2.4.6: Μέσος όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο $\pm T.Σ.$) του <i>S. oryzae</i> σε φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ή ρύζι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %).....	106
Γράφημα 2.5.1: Ποσοστό θνησιμότητας ($M.O. \pm T.Σ.$) των ακμαίων του <i>R. dominica</i> ($\% \pm T.Σ.$) στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> στο σύνολό του (1/1) ή σε στρώσεις στο μισό (1/2), στο ένα τέταρτο (1/4), στο ένα όγδοο (1/8) και στο ανώτερο και κατώτερο ένα όγδοο (1/8 up & down) του όγκου τους. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά το σιτάρι (πριν και μετά) με ψεκασμένο το πάνω ή το κάτω τμήμα του φιαλιδίου.....	117
Γράφημα 2.5.2: Ποσοστό θνησιμότητας ($M.O. \pm T.Σ.$) των ακμαίων του <i>S. oryzae</i> ($\% \pm T.Σ.$) στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> στο σύνολό του (1/1) ή σε στρώσεις στο μισό (1/2), στο ένα τέταρτο (1/4), στο ένα όγδοο (1/8) και στο ανώτερο και κατώτερο ένα όγδοο (1/8 up & down) του όγκου τους. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά το σιτάρι (πριν και μετά) με ψεκασμένο το πάνω ή το κάτω τμήμα του φιαλιδίου.....	118
Γράφημα 2.5.3: Μέσος όρος απογόνων του <i>R. dominica</i> (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο $\pm T.Σ.$) στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> στο	

σύνολό του (1/1) ή σε στρώσεις στο ανώτερο μισό (1/2), στο ένα τέταρτο (1/4), στο ανώτερο και κατώτερο ένα όγδοο (1/8), στο ένα όγδοο (1/8) του όγκου τους και στον μάρτυρα. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά το σιτάρι (πριν και μετά) με ψεκασμένο το πάνω ή το κάτω τμήμα του φιαλιδίου	120
Γράφημα 2.5.4: Μέσος όρος απογόνων του <i>S. oryzae</i> (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο \pm Τ.Σ.) στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο με <i>thiamethoxam</i> στο σύνολό του (1/1) ή σε στρώσεις στο ανώτερο μισό (1/2), στο ένα τέταρτο (1/4), στο ανώτερο και κατώτερο ένα όγδοο (1/8), στο ένα όγδοο (1/8) του όγκου τους και στον μάρτυρα. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά το σιτάρι (πριν και μετά) με ψεκασμένο το πάνω ή το κάτω τμήμα του φιαλιδίου	121
Γράφημα 2.7.1: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. ($\% \pm$ Τ.Σ.) των ακμαίων του <i>Tribolium confusum</i> σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm ² (A) και 0.1 mg/cm ² (B).	150
Γράφημα 2.7.2: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. ($\% \pm$ Τ.Σ.) των ακμαίων του <i>Tribolium castaneum</i> σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm ² (A) και 0.1 mg/cm ² (B).	151
Γράφημα 2.7.3: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. ($\% \pm$ Τ.Σ.) των ακμαίων του <i>Sitophilus oryzae</i> σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm ² (A) και 0.1 mg/cm ² (B).	152
Γράφημα 2.7.4: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. ($\% \pm$ Τ.Σ.) των ακμαίων του <i>Sitophilus granarius</i> σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm ² (A) και 0.1 mg/cm ² (B).	153
Γράφημα 2.7.5: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. ($\% \pm$ Τ.Σ.) των ακμαίων του <i>Oryzaephilus surinamensis</i> σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm ² (A) και 0.1 mg/cm ² (B).	155
Γράφημα 2.7.6: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. ($\% \pm$ Τ.Σ.) των ακμαίων του <i>Cryptolestes ferrugineus</i> σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm ² (A) και 0.1 mg/cm ² (B).	156

Περίληψη

Θέμα της διδακτορικής διατριβής ήταν η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας της δραστικής ουσίας (δ.ο.) thiamethoxam, ενός νεονικοτινοειδούς δεύτερης γενιάς, για την αντιμετώπιση των κυριότερων κολεοπτέρων εντόμων αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων, από τη στιγμή που για τη συγκεκριμένη δραστική δεν υπάρχουν αρκετά διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα και αποτελέσματα. Η διατριβή αποτελείται από δύο μέρη. Στο εισαγωγικό μέρος παρουσιάζεται ο προβληματισμός που υπάρχει γύρω από την αποθήκευση των γεωργικών προϊόντων, αναλύοντας τόσο τα έντομα που ευθύνονται για το πρόβλημα αυτό, όσο και τις μεθόδους που υπάρχουν για την αντιμετώπισή τους. Επιπρόσθετα, δίνονται πληροφορίες για τα κυριότερα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές. Κατόπιν γίνεται μια παρουσίαση των νεονικοτινοειδών εντομοκτόνων, με αναφορά στον τρόπο δράσης τους, στα χαρακτηριστικά τους, με τελική κατάληξη την αναφορά στο thiamethoxam, που είναι και το θέμα της διατριβής, τη χρήση του, τις προοπτικές και τους περιορισμούς του στην Ελλάδα και στην Ευρώπη.

Στο πειραματικό μέρος περιγράφονται οι διαδικασίες που πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την αξιολόγηση της δραστικής ουσίας thiamethoxam, γίνεται σχετική ανάλυση των αποτελεσμάτων, εξάγονται συμπεράσματα και γίνεται συζήτηση για αυτά και για την περαιτέρω έρευνα που μπορεί να γίνει μελλοντικά. Πιο συγκεκριμένα, ακολουθήθηκε μια σειρά από έξι (6) πειραματικές ενότητες με τη μέθοδο των εργαστηριακών βιοδοκιμών, όπου η εφαρμογή του thiamethoxam γινόταν απευθείας στο προϊόν ή σε επιφάνειες που προσομοιάζαν με τα υλικά αποθήκευσης για την αντιμετώπιση των ειδών εντόμων αποθηκών που εξετάσαμε. Επιπλέον αξιολογήθηκε η επίδραση ορισμένων βιοτικών (είδος δημητριακού και ποσοστό κάλυψής του με εντομοκτόνο) και αβιοτικών παραγόντων (θερμοκρασία και υγρασία) στην αποτελεσματικότητα του εντομοκτόνου.

Αναφορικά με την πρώτη πειραματική ενότητα, το thiamethoxam αξιολογήθηκε σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0.01, 0.1, 0.5, 1, 2, 5 και 10 ppm, δηλ. mg δ.ο./kg δημητριακού) για την αντιμετώπιση των ακμαίων επτά κολεοπτέρων, εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων (*Cryptolestes ferrugineus*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Prostephanus truncatus*, *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus granarius*, *Sitophilus*

oryzae και *Tribolium confusum*). Η θνησιμότητα των ακμαίων καταγράφηκε μετά από 1, 2, 7, 14 και 21 ημέρες έκθεσης στο υπό εξέταση εντομοκτόνο με εφαρμογή του απευθείας στο δημητριακό. Μετά από 65 ημέρες από το τελευταίο χρονικό διάστημα έκθεσης έγινε καταμέτρηση του αριθμού των απογόνων. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, παρατηρήθηκε ότι με την αύξηση της συγκέντρωσης του εντομοκτόνου, υπήρξε ταυτόχρονη αύξηση στη θνησιμότητα όλων των ακμαίων εντόμων που συμμετείχαν στις βιοδοκιμές. Θέλοντας να παρουσιάσουμε μια αρχική κατάταξη ως προς την ευαισθησία των εντόμων στο thiamethoxam, από το πιο ευαίσθητο στο πιο ανθεκτικό, τα είδη μπορούν να καταταγούν ως εξής: *P. truncatus* > *R. dominica* = *S. granarius* = *S. oryzae* > *T. confusum* = *O. surinamensis* > *C. ferrugineus*. Η παραγωγή των απογόνων ήταν σημαντικά μειωμένη ιδιαίτερα στις υψηλές συγκεντρώσεις, όπου ήταν αμελητέα. Τα δεδομένα αυτής της ενότητας μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τον καθορισμό της δυναμικής του εντομοκτόνου αυτού να χρησιμοποιηθεί σαν προστατευτικό σπόρων, καθώς οι συγκεντρώσεις είναι αντίστοιχες με άλλα εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται για το σκοπό αυτό σήμερα σε εμπορική κλίμακα.

Η αποτελεσματικότητα του thiamethoxam αξιολογήθηκε και στη δεύτερη ενότητα, για την αντιμετώπιση των ακμαίων πέντε ειδών εντόμων, των *R. dominica*, *S. oryzae*, *P. truncatus*, *O. surinamensis* και *T. confusum*, εκθέτοντάς τα σε μια σειρά σύντομων εκθέσεων στο εντομοκτόνο. Με τις βιοδοκιμές αυτές, ο στόχος ήταν να μελετηθεί η ταχύτητα δράσης του εντομοκτόνου, μετά από σύντομες εκθέσεις. Τα ακμαία των ανωτέρω ειδών εκτέθηκαν σε σκληρό σιτάρι ή σε αραβόσιτο (στην περίπτωση του *P. truncatus*) στα οποία είχε εφαρμοστεί thiamethoxam σε διαφορετικές συγκεντρώσεις (0.1, 1 και 10 ppm), για χρονικά διαστήματα 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40 και 72 ωρών, κατά τα οποία καταγράφηκε η άμεση θνησιμότητα. Στη συνέχεια τα ζώντα ακμαία μεταφέρθηκαν στα μη ψεκασμένα δημητριακά αντίστοιχα και η θνησιμότητά τους καταγράφηκε 7 ημέρες αργότερα (καθυστερημένη θνησιμότητα). Η παραγωγή των απογόνων κάθε είδους μετρήθηκε 65 ημέρες αργότερα. Ταυτόχρονα με τη θνησιμότητα γινόταν και καταγραφή των ατόμων που ήταν ακινητοποιημένα. Η άμεση θνησιμότητα ήταν χαμηλή σε όλες τις σύντομες εκθέσεις, με εξαίρεση αυτή της υψηλής συγκέντρωσης του εντομοκτόνου και μετά από διάστημα 72-96 ωρών. Στις συνθήκες αυτές, και κατά τη διάρκεια του διαστήματος αυτού, όλα τα ζώντα άτομα ήταν ακινητοποιημένα. Η καθυστερημένη θνησιμότητα αυξήθηκε περαιτέρω

με την αύξηση της δόσης του εντομοκτόνου και την αρχική έκθεση, αλλά η άμεση κατάρριψη ήταν εξαιρετικά χαμηλή, με εξαίρεση το *P. truncatus*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το *O. surinamensis* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο είδος, ενώ το *P. truncatus* ήταν το πιο ευαίσθητο στο thiamethoxam. Τα ευρήματα δείχνουν ότι, παρόλη την αυξημένη θνησιμότητα που παρουσιάζεται, η ανάκαμψη των εντόμων μετά την άμεση κατάρριψη είναι πολύ πιθανή μετά από τις σύντομες εκθέσεις. Με τη λογική αυτή, στις μερικώς ψεκασμένες περιοχές στις οποίες εκτίθενται τα έντομα μόνο για σύντομα διαστήματα, μπορεί να μειωθεί η αποτελεσματικότητα του thiamethoxam.

Στην τρίτη πειραματική ενότητα αξιολογήθηκε το thiamethoxam για την αποτελεσματικότητά του, κατά την εφαρμογή του με άνιση κατανομή, σε δύο είδη δημητριακού (σκληρό σιτάρι και ρύζι), στην αντιμετώπιση των *R. dominica* και *S. oryzae*. Ο σκοπός των βιοδοκιμών ήταν η αξιολόγηση της μερικής εφαρμογής του εντομοκτόνου στο δημητριακό, όπως επίσης και η ελάχιστη απαιτούμενη ποσότητα που χρειάζεται να εφαρμοστεί το εντομοκτόνο στο προϊόν, ώστε να διασφαλιστεί η αποτελεσματικότητά του. Η άνιση κατανομή πραγματοποιήθηκε με ανάμειξη του εντομοκτόνου στη μάζα του δημητριακού, χρησιμοποιώντας έξι διαφορετικές ποσοστιαίες αναλογίες ψεκασμένου και μη ψεκασμένου σπόρου δημητριακού (ποσοστό 0, 5, 10, 25, 50 και 100 % ψεκασμένου δημητριακού). Το thiamethoxam εφαρμόστηκε στους σπόρους σε δύο διαφορετικές δόσεις, 1 και 5 ppm. Η θνησιμότητα των ακμαίων των *R. dominica* και *S. oryzae* αξιολογήθηκε μετά από χρονικά διαστήματα 7 και 14 ημερών. Ανεξάρτητα από τη δόση του εντομοκτόνου που χρησιμοποιήθηκε, η θνησιμότητα των ακμαίων αυξήθηκε με την αύξηση, τόσο της ποσοστιαίας αναλογίας του ψεκασμένου σπόρου, όσο και με το χρόνο έκθεσης. Γενικά, το *R. dominica* αποδείχθηκε να είναι πιο ευαίσθητο συγκριτικά με το *S. oryzae*. Στο ρύζι, η θνησιμότητα των ακμαίων και στα δύο είδη, ήταν χαμηλότερη από ότι στο σιτάρι, ειδικά στο 1 ppm, ανεξάρτητα από την ποσοστιαία αναλογία εφαρμογής. Η αύξηση του ποσοστού της εφαρμογής με thiamethoxam στη μάζα των σπόρων είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής απογόνων και στα δύο δημητριακά. Η παραγωγή απογόνων και των δύο ειδών σε ψεκασμένο σιτάρι και ρύζι ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη στα φιαλίδια ελέγχου. Στο 1 ppm, δεν υπήρχε παραγωγή απογόνων στην εφαρμογή με ποσοστό 100% στο ρύζι. Στην υψηλότερη δόση, υπήρχε μηδενική παραγωγή απογόνων σε εφαρμογή της τάξης των 25, 50 και 100 % και στα δύο προϊόντα.

Η εφαρμογή του thiamethoxam με άνιση κατανομή αξιολογήθηκε περαιτέρω για την αποτελεσματικότητά του στην τέταρτη πειραματική ενότητα, σε σκληρό σιτάρι για την αντιμετώπιση των *R. dominica* και *S. oryzae*. Η άνιση κατανομή έγινε πραγματοποιώντας στρώσεις ψεκασμένου δημητριακού με το εντομοκτόνο, μέσα σε πλαστικά φιαλίδια, με τέτοιο τρόπο ώστε να γίνει η δημιουργία έξι κατηγοριών ανάλογα με την ποσότητα της στρώσης του ψεκασμένου δημητριακού με thiamethoxam (χωρίς καθόλου εντομοκτόνο, πλήρης ψεκασμένη μάζα, ψεκασμένο το ανώτερο ή κατώτερο μέρος της μάζας του δημητριακού κατά το 1/8, ψεκασμένο το ανώτερο και το κατώτερο μέρος της μάζας του δημητριακού κατά το 1/8, δηλ. συνολικά το 1/4, ψεκασμένο το ανώτερο ή κατώτερο μέρος της μάζας του δημητριακού κατά το 1/4 και ψεκασμένο το ανώτερο ή κατώτερο μέρος της μάζας του δημητριακού κατά το 1/2). Ο παράγοντας του τρόπου της εισαγωγής των εντόμων αξιολογήθηκε πριν και μετά την τοποθέτηση του δημητριακού στα φιαλίδια, με στόχο την αξιολόγηση της μερικής εφαρμογής, καθώς και της ελάχιστης απαιτούμενης ποσότητας του προϊόντος στο οποίο έχει εφαρμοστεί το εντομοκτόνο και με το οποίο μπορεί να διασφαλιστεί η αποτελεσματικότητά του. Επίσης μια άλλη διαφοροποίηση έγινε ακολουθώντας την ίδια διαδικασία, με χρήση ψεκασμένης στρώσης είτε στο ανώτερο, είτε στο κατώτερο μέρος του δημητριακού στο φιαλίδιο (πάνω ή κάτω). Η θνησιμότητα καταγράφηκε μετά από 14 ημέρες, όπου όλα τα ακμαία απομακρύνθηκαν και μετά από 65 ημέρες μετρήθηκε η παραγωγή των απογόνων. Γενικά, η θνησιμότητα και των δύο εντόμων μειώθηκε με το μέγεθος της ψεκασμένης στρώσης στα φιαλίδια. Από τα είδη που εξετάστηκαν, η ευαισθησία των *R. dominica* και *S. oryzae* ήταν σχεδόν η ίδια σε όλες τις εφαρμογές. Επίσης, η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη όταν τα εκτεθειμένα ακμαία των *R. dominica* και *S. oryzae* είχαν τοποθετηθεί πριν την εισαγωγή του δημητριακού στα φιαλίδια. Η άνιση κατανομή του thiamethoxam σε στρώσεις του δημητριακού αποδείχθηκε αρκετά αποτελεσματική για την αντιμετώπιση των *R. dominica* και *S. oryzae*.

Στην πέμπτη πειραματική ενότητα εξετάστηκε η επίδραση δύο αβιοτικών παραγόντων (της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας) στην αποτελεσματικότητα του thiamethoxam, για τρία είδη εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, των *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum*. Οι παράγοντες αυτοί που χαρακτηρίζουν κατά κάποιο τρόπο το περιβάλλον της αποθήκης επηρεάζουν σημαντικά τη δράση των εντομοκτόνων. Οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε

σκληρό σιτάρι, σε έξι συνδυασμούς από τρία επίπεδα θερμοκρασίας, 20, 25 και 30 °C και δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας (Σ.Υ.), 55 και 75%. Το εντομοκτόνο δοκιμάστηκε σε τρεις διαφορετικές δόσεις (0.1, 1 και 5 ppm) και η θνησιμότητα των ακμαίων καταγράφηκε μετά από χρονικό διάστημα έκθεσης 7, 14 και 21 ημερών. Η παραγωγή απογόνων μετρήθηκε 65 ημέρες αργότερα. Η θνησιμότητα των ακμαίων των *R. dominica* και *S. oryzae* επηρεάστηκε από τις αλλαγές στη θερμοκρασία (αύξηση της θνησιμότητας με την αύξηση της θερμοκρασίας) ανεξάρτητα από το επίπεδο της σχετικής υγρασίας, σε όλες τις δόσεις του εντομοκτόνου που εξετάστηκαν και για όλα τα χρονικά διαστήματα. Για το *R. dominica* σημειώθηκε σημαντική επίδραση της υγρασίας στη χαμηλότερη δόση (0.1 ppm) στους 25 °C μετά από έκθεση 7 ημερών και στους 30 °C μετά από έκθεση 14 και 21 ημερών. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας, το *T. confusum* βρέθηκε να είναι το λιγότερο ευαίσθητο από τα τρία έντομα που εξετάστηκαν, ανεξάρτητα από τους αβιοτικούς παράγοντες. Σε μια κατάταξη των εντόμων για την ευαισθησία τους στο εντομοκτόνο, από το πιο ευαίσθητο στο λιγότερο ευαίσθητο στο thiamethoxam, τα είδη κατατάσσονται ως: *R. dominica* > *S. oryzae* > *T. confusum*, χωρίς να γίνεται διάκριση στα επίπεδα της θερμοκρασίας ή της σχετικής υγρασίας.

Στην έκτη ενότητα αξιολογήθηκε η τοξικότητα του thiamethoxam σε έξι διαφορετικές επιφάνειες (τσιμέντο, μέταλλο, ξύλο, λινό, πλαστικό και κεραμικό πλακίδιο), με σκοπό τη διερεύνηση της δυνατότητας χρήσης του σε διάφορες επιφάνειες που απαντώνται σε αποθηκευτικούς χώρους. Οι βιοδοκιμές έκθεσης στο εντομοκτόνο έγιναν για δύο συγκεντρώσεις, 0.05 and 0.1 mg/cm² και εξετάστηκαν σε αυτές έξι είδη εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, τα *S. granarius*, *S. oryzae*, *T. confusum*, *T. castaneum*, *C. ferrugineus* και *O. surinamensis*. Η άμεση κατάρριψη των εντόμων καταγράφηκε μετά από έκθεση 1, 3 and 7 ημερών στην ψεκασμένη επιφάνεια, με βάση τον Σταθμισμένο Δείκτη Θνησιμότητας (Standardized Lethality Index). Σύμφωνα με τον Δείκτη αυτόν, οι μετρήσεις της άμεσης κατάρριψης διαβαθμιζόταν από το “0” έως το “4”, όπου το “0” αντιπροσώπευε τα ακμαία που κινούνταν κανονικά, και το “4” αντιπροσώπευε τα νεκρά ακμαία. Βασισμένοι στα αποτελέσματα, η άμεση κατάρριψη των εντόμων φαίνεται να οδηγεί στη θνησιμότητα παρά στην ανάκαμψή τους και η σειρά κατάταξης των εντόμων που εξετάστηκαν σύμφωνα με τη φθίνουσα ευαισθησία στο thiamethoxam είναι *S. granarius* ≥ *S. oryzae* > *T. castaneum* ≥ *O. surinamensis* ≥ *C. ferrugineus* ≥ *T. confusum*. Γενικά, από

τις επιφάνειες που εξετάστηκαν, η αποτελεσματικότητα του thiamethoxam ήταν μικρότερη στη λινή, ξύλινη και τσιμεντένια επιφάνεια, συγκρινόμενη με τη μεταλλική και πλαστική επιφάνεια. Παρόλα αυτά σε εκθέσεις άνω των 7 ημερών, ο τύπος της επιφάνειας δεν είχε επίδραση στην αποτελεσματικότητα του thiamethoxam.

Εν κατακλείδι και βασιζόμενοι στα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι το thiamethoxam έχει υψηλή αποτελεσματικότητα σ' ένα ευρύ φάσμα κολεοπτέρων εντόμων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης των αγροτικών προϊόντων, η οποία δεν φαίνεται να επηρεάζεται ιδιαίτερα από ορισμένους από τους βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες που εξετάστηκαν.

ABSTRACT

The subject of this thesis was to assess the efficacy of the active ingredient (a.i) thiamethoxam for the control of major stored grain insects, as there is still inadequate information towards this direction. The introductory part presents the problems concerning the storage of agricultural products, analyzing the species responsible for these and the methods used to deal with them. In addition, extensive information is given for the main insects used in the tests. Then, a presentation is given for the neonicotinoid insecticides with reference to their mode of action and their characteristics, with particular reference to thiamethoxam, its use, and prospects and limitations for its further use.

The experimental part describes all the procedures carried out at the Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology of the University of Thessaly for the evaluation of thiamethoxam. In particular, a series of six experimental protocols were carried out using the laboratory bioassay method, where thiamethoxam was applied directly to the cereal or to surfaces simulating the storage materials, in order to control the species of stored product insects studied. In addition, different biotic and abiotic factors were evaluated towards this direction (cereal type, temperature and relative humidity).

Regarding the first series of tests, thiamethoxam was evaluated at different concentrations (0.01, 0.1, 0.5, 1, 2, 5 και 10 ppm, i.e. mg of a.i./kg of grain), to control adults of the seven major stored product insects, i.e. *Cryptolestes ferrugineus*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Prostephanus truncatus*, *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus granarius*, *Sitophilus oryzae* and *Tribolium confusum*. Adult mortality was recorded after 1, 2, 7, 14 and 21 days of exposure to the insecticide by direct application to cereals. After 65 days from the last exposure time period, the number of offspring produced was counted. In order of susceptibility, from the most to the least susceptible, the tested species can be classified as *P. truncatus* > *R. dominica* = *S. granarius* = *S. oryzae* > *T. confusum* = *O. surinamensis* > *C. ferrugineus*. Offspring production was significantly reduced especially at the high concentrations of this insecticide. Data of this series of tests could be further utilized to determine the potency of this insecticide to be used as a grain protectant, given that its application

was effective at dose rates that are comparable with the rates of other registered grain protectants.

The efficacy of thiamethoxam was evaluated in the second unit for the control of five beetle species, i.e. *R. dominica*, *S. oryzae*, *P. truncatus*, *O. surinamensis* and *T. confusum*, exposing them to a series of short exposures on the insecticide. With these bioassays, the aim was to study the speed of action of the insecticide. Adults of the above species were exposed to wheat or maize (in the case of *P. truncatus*), which had been treated with thiamethoxam at different concentrations, 0.1, 1 and 10 ppm, for time intervals of 0, 2, 10, 2, 4, 6, 8, 16, 40 and 72 hours and at the end of each one the direct mortality was recorded. Surviving adults were removed to untreated cereals and their mortality was recorded 7 days later (delayed mortality). Offspring production of each species was recorded after 65 days. In addition to mortality, adults who were knocked down were also recorded. Direct mortality was low at all short exposures, with the exception of the high thiamethoxam concentration and after 72-96 h of exposure. Under these conditions and during that time interval, all surviving adults were knocked down. Delayed mortality was further increased with the increase of the insecticidal dose and the initial exposure, but knockdown was extremely low, with the exception of *P. truncatus*. The results showed that *O. surinamensis* was the least susceptible species, whereas *P. truncatus* was the most susceptible. The findings indicate that despite the increased mortality seen, recovery of the insects after knockdown is highly possible to occur after short exposures. In this sense, in partially treated areas where insects are exposed only for short periods, the efficacy of thiamethoxam may be reduced.

The third experimental series of tests assessed thiamethoxam for its efficacy in uneven application in two cereal species (hard wheat and rice) for the control of *R. dominica* and *S. oryzae*. The purpose of these bioassays was to assess the partial application of the insecticide to common cereals, as well as to know the minimum necessary quantity of this application, in order to ensure insecticidal efficacy, without treating the entire grain mass. This uneven distribution took place by mixing the insecticide in the grain mass, using six different percentages of treated and untreated kernels (0, 5, 10, 25, 50 and 100 % of treated grain mass). Thiamethoxam was applied to grain kernels at two different doses of 1 and 5 ppm. Mortality of *R. dominica* and *S. oryzae* took place after exposure periods of 7 and 14 days. Irrespectively of the dose

of the insecticide used, adult mortality was increased, by increasing both percentage of treated grains and the time of insect exposure. In general, *R. dominica* proved to be more susceptible than *S. oryzae*. In rice, the mortality rates of both species were lower than that in wheat, especially at 1 ppm, regardless of the treatment. The application increase in the percentage of the treated part of the cereal mass caused a decrease in progeny production in both cereals. Progeny production, in both cereals was significantly lower than that of the control vials. At 1 ppm, no offsprings were emerged in the application of 100 % treated rice. At the highest dose, there was zero progeny production in application of 25, 50 and 100 % of both treated cereals.

Application of thiamethoxam with uneven distribution was further evaluated for its efficacy in the fourth experimental unit, in hard wheat for the control of *R. dominica* and *S. oryzae*, in order to assess partial insecticide treatment, as well as the minimum quantity of insecticide application to the treated grain to secure its efficacy. This uneven distribution took place by layering the insecticide in the mass of the cereal, by using six types of layers of treated and untreated kernels, in the vials as an effort to simulate the conditions of silos. Those layers were made as follows: without treated layer (control), full treated mass, 1/8 of the upper mass treated, upper and down 1/8 of the mass treated, the upper 1/4 of the mass treated and the upper 1/2 of the mass treated. Insects were introduced in the grains before or after the placement of the grains. Mortality was assessed after 14 d, where all adults were removed, and progeny production was measured 65 d later in the different treatments. Generally, mortality of both insects was reduced with the increase of the size of the treated layer in the vials. From the species tested, the susceptibility of *R. dominica* and *S. oryzae* was almost the same in all treatments. Also, mortality was lower when the exposed *R. dominica* and *S. oryzae* adults had been placed before the introduction of the grain. Uneven distribution of thiamethoxam in grains, in the way that was tested here (in layers) proved to be very effective against both *R. dominica* and *S. oryzae*.

The fifth experimental series of bioassays examined the effect of two abiotic agents (temperature and relative humidity) on the efficacy of thiamethoxam for three beetle species of stored products, i.e. *R. dominica*, *S. oryzae* and *T. confusum*. The bioassays were carried out on wheat, at six combinations of three temperature levels (20, 25 and 30 °C) and two levels of relative humidity (r.h.) (55 and 75%). The insecticide was tested in three different dose rates: 0.1, 1 and 5 ppm, while mortality was recorded

after an exposure period of 7, 14 and 21 days. Offspring production was measured 65 days later. Mortality of *R. dominica* and *S. oryzae* was influenced by temperature changes (increased mortality with increasing temperature) regardless of the relative humidity level, at all concentrations of the insecticide tested and for all time exposures. For *R. dominica* there was a significant effect of relative humidity at the lowest dose (0.1 ppm), in some of the combinations tested. According to our results, *T. confusum* was the least susceptible of the three species examined, regardless of the abiotic agents under consideration. The classification of insects for their susceptibility to thiamethoxam, from the most to the least as susceptible can be: *R. dominica* > *S. oryzae* > *T. confusum*, considering the data for all combinations of temperature and relative humidity levels.

The sixth series of bioassays evaluated the efficacy of thiamethoxam on six different surfaces (cement, metal, wood, linen, plastic and ceramic tile), with the aim to explore its efficacy as a surface treatment, covering a wide range of materials that occur in storage and processing facilities. The bioassays were made at two concentrations, 0.05 and 0.1 mg/cm², and with six insect species: *S. granarius*, *S. oryzae*, *T. confusum*, *T. castaneum*, *C. ferrugineus* and *O. surinamensis*. Insect knockdown was recorded after exposure to the treated surfaces for 1, 3 and 7 days. Knockdown was quantified according to the Standardized Lethality Index (SLI), which classifies knockdown measurements ranged between “0” to “4”, where “0” represented the normal movement of the insect and “4” represented the dead insects. Based on results, insect knockdown appears to be closer to mortality than to recovery and the classification, according to decreasing susceptibility of insects to thiamethoxam, was as follows: *S. granarius* ≥ *S. oryzae* > *T. castaneum* ≥ *O. surinamensis* ≥ *C. ferrugineus* ≥ *T. confusum*. In general, from the surfaces examined, the efficacy of thiamethoxam was lower on linen, wooden and cement, compared to the metallic and plastic surfaces. However, at exposures above 7 days, the surface type had no effect on the efficacy of thiamethoxam.

In conclusion, and on the basis of the results of this thesis, we determine that thiamethoxam is highly effective in a wide range of insect coleopteran pests of stored products, which does not appear to be much affected by some of the biotic and abiotic factors tested. At the same time, we clearly illustrated that thiamethoxam can be used with success either on surfaces or as a grain protectant.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΓΕΝΙΚΑ

Ο ανθρώπινος πληθυσμός έχει ήδη ξεπεράσει τα επτά δισεκατομμύρια και το 2050 αναμένεται να ξεπεράσει τα δέκα δισεκατομμύρια, προκαλώντας μια άνευ προηγουμένου παγκόσμια εκμετάλλευση των φυσικών πόρων (United Nations, 2019). Η τροφή αποτελεί ταυτόχρονα την υπ' αριθμόν ένα ανάγκη και ταυτοχρόνως πρόβλημα για τον άνθρωπο. Μετά από τα τόσα χρόνια πορείας και εξέλιξης του ανθρώπου έχει έρθει η στιγμή που στις πλούσιες χώρες, οι άνθρωποι αναρωτιούνται τι δεν πρέπει να φάνε, ενώ στις φτωχές χώρες οι άνθρωποι ψάχνουν απεγνωσμένα να βρουν τι θα φάνε. Στο πλαίσιο αυτό, καταβάλλεται μεγάλη προσπάθεια, τόσο για την αύξηση της παραγωγής τροφίμων με στόχο την κάλυψη των αναγκών της ανθρωπότητας που πεινάει, όσο και για την εξασφάλιση σωστής και υγιεινής διατροφής με ανάλογα προϊόντα στις ανεπτυγμένες χώρες (Pimentel, 1991; F.A.O., 2014, 2017). Ποια θα ήταν άλλωστε η χρήση μιας άφθονης παραγωγής προϊόντων, αν δεν μπορούσαν να συντηρηθούν στη φυσική τους κατάσταση ή έστω μεταποιημένα για μεγάλο χρονικό διάστημα; Ένα ποσοστό θα μπορούσε να καταναλωθεί την εποχή της συγκομιδής, ενώ το υπόλοιπο θα καταστρεφόταν ως άχρηστο και αλλοιωμένο, γεγονός που θα το καθιστούσε εντελώς ακατάλληλο για κατανάλωση.

Κατά την αποθήκευση των πρώτων υλών των προϊόντων διατροφής παρουσιάζεται γενικότερα μια ποιοτική και ποσοτική υποβάθμιση, και κατ' επέκταση οικονομική ζημιά στα αποθέματα αυτών, η οποία προκαλείται εκτός των άλλων παραγόντων και από την προσβολή εντομολογικών εχθρών, γεγονός που οδηγεί στην ανάγκη εύρεσης τρόπων καταπολέμησής τους (Sparks, 2013). Η ανάπτυξη και η έρευνα για ανακάλυψη νέων εντομοκτόνων με ευνοϊκότερο οικοτοξικολογικό προφίλ και νέων στρατηγικών αντιμετώπισης συνεχίζεται πυρετωδώς, παρά το αυξανόμενο κόστος για τη βιομηχανία των αγροχημικών. Η αλλαγή αυτή οφείλεται τόσο στη συνειδητοποίηση των επιπτώσεων που έχει η χρήση των εντομοκτόνων στο περιβάλλον και στην ανθρώπινη υγεία, όσο και στις αλλαγές που λαμβάνουν χώρα στη βιολογία των ίδιων των εχθρών, οι οποίες εκδηλώνονται μέσα από την ανθεκτικότητά τους απέναντι σε αυτά (Landis and Orr, 2009). Στον εικοστό αιώνα, η χρήση των εντομοκτόνων, ταυτόχρονα με την ανάπτυξη της υψηλής απόδοσης των καλλιεργειών και τη χρήση νέων λιπασμάτων, είναι από τους κύριους λόγους της

αύξησης της αγροτικής παραγωγής (Maredia et al., 2003; Oerke and Dehne, 2004). Οι παράγοντες που επηρεάζουν τις στρατηγικές αντιμετώπισης των εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων σύμφωνα με τους Hagstrum et al. (1999) είναι οι εγκαταστάσεις και οι πρακτικές της αποθήκευσης των προϊόντων, η γεωγραφική θέση, οι πολιτικές των κυβερνήσεων και η ζήτηση της αγοράς για ποιοτικά αγροτικά προϊόντα.

1.2. ΔΗΜΗΤΡΙΑΚΑ

1.2.1 Γενικά

Αρκετά νωρίς στην ανθρώπινη ιστορία τα δημητριακά και κυρίως το σιτάρι και το κριθάρι κατείχαν εξέχουσα θέση στη μετατροπή του ανθρώπου από κυνηγό-τροφοσυλλέκτη σε παραγωγό τροφής και μέχρι σήμερα εξακολουθούν να αποτελούν τόσο τα ίδια, όσο και τα προϊόντα τους τη βάση της παγκόσμιας διατροφής (Diamond, 2002). Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι οι αρχαίοι πολιτισμοί ήκμασαν σε περιοχές όπου καλλιεργούνταν κάποιο δημητριακό (Percival, 1936). Έτσι, οι πολιτισμοί των Βαβυλωνίων και των Αιγυπτίων βασίστηκαν στο σιτάρι, των Κινέζων στο ρύζι, ενώ των Ίνκας, Μάγιας και Αζτέκων στον αραβόσιτο (Hancock, 2012). Η διατροφή των Αρχαίων Ελλήνων βασιζόταν στα δημητριακά, που ετυμολογικά η λέξη προέρχεται από το όνομα της Θεάς Δήμητρας, της θεάς της Γης, των καλλιεργειών και της τροφής γενικότερα.

Τα δημητριακά είναι η σπουδαιότερη κατηγορία φυτών που καλλιεργούνται για τη διατροφή του ανθρώπου. Τα δημητριακά κατέχουν εξέχουσα θέση στον αγροτικό τομέα δεδομένης της πολλαπλής χρήσης των προϊόντων τους, κυρίως για τη διατροφή του ανθρώπου, για την κάλυψη των αναγκών της ζωικής παραγωγής σε ζωοτροφές, αλλά και την παραγωγή πρώτων υλών για τη βιομηχανία τροφίμων και ποτών, για τη βιομηχανία χαρτιού, καθώς και για άλλους βιομηχανικούς κλάδους (Batey, 2017). Η βιομάζα των σιτηρών ή οι καρποί ορισμένων εξ αυτών χρησιμοποιούνται για την παραγωγή ενέργειας (βιοαιθανόλη). Αποτελώντας τη βάση της φυτικής παραγωγής σχεδόν κάθε χώρας, τα δημητριακά έχουν παγκόσμια οικονομική σημασία. Οι λόγοι που ευνοούν την καλλιέργειά τους είναι επειδή παράγουν περισσότερο τελικό προϊόν από όλες τις άλλες κατηγορίες φυτών σε εκτατικές συνθήκες καλλιέργειας, παρουσιάζουν μεγάλη προσαρμοστικότητα σε διαφορετικές συνθήκες περιβάλλοντος,

αποτελούν την κυριότερη πηγή τροφίμων, περιέχουν μικρό ποσοστό υγρασίας για αυτό και αποθηκεύονται εύκολα, δεν απαιτούν μεγάλο χώρο αποθήκευσης γιατί είναι υψηλής συμπύκνωσης, η διαχείρισή τους γίνεται εύκολα με μηχανές και η καλλιέργειά τους δε μολύνει το περιβάλλον. Οι εκτάσεις που καταλαμβάνουν τα χειμερινά σιτηρά είναι, στο μεγαλύτερο ποσοστό, ημιορεινές πλαγιές και ημιγόνιμες πεδινές, μη αρδευόμενες περιοχές (Παπακώστα, 1997).

Υπό την ευρεία έννοια, τα «δημητριακά» χωρίζονται σε τρεις βασικές κατηγορίες:

- στα σιτηρά, στα οποία ανήκουν το σιτάρι, το κριθάρι, ο αραβόσιτος, το ρύζι, το κεχρί, η όλυρα και άλλα παρόμοια είδη
- στα οσπριοειδή, στα οποία ανήκουν τα διάφορα είδη των φασολιών, η σόγια, οι φακές, τα ρεβίθια, τα μπιζέλια, τα κουκιά, κλπ.
- στα ελαιώδη δημητριακά, στα οποία ανήκουν η σόγια, ο ηλίανθος και πολλά άλλα.

Η καλλιέργεια των δημητριακών καταλαμβάνει τεράστιες εκτάσεις καλλιεργήσιμης γης, για την προστασία των οποίων καταναλώνονται μεγάλες ποσότητες φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Τα σιτηρά αποτελούν πάνω από το 20% του παγκόσμιου ακαθάριστου προϊόντος και το 35% έως 40% της καλλιεργούμενης έκτασης παγκοσμίως. Η παγκόσμια παραγωγή δημητριακών προβλέπεται να αυξηθεί κατά 375.000.000 t, φθάνοντας τους 3.054.000.000 t το 2029, κυρίως λόγω των υψηλότερων αποδόσεων (OECD-FAO Agricultural Outlook 2020-2029). Οι ποσότητες των σιτηρών που καταναλώνονται άμεσα από τον άνθρωπο, παρέχουν το 56% της ενέργειας των τροφών και το 50% των πρωτεϊνών που καταναλώνονται (Παπακώστα, 2001). Τα δημητριακά θεωρούνται η κύρια πηγή υδατανθράκων για τον άνθρωπο (Παπακώστα, 1997; Cordain, 1999).

1.2.2 Προβλήματα και προοπτικές στον τομέα των δημητριακών στην Ελλάδα

Η καλλιέργεια των δημητριακών, ενώ θεωρείται γενικά εύκολη, αντιμετωπίζει αρκετά ενδογενή προβλήματα που προκαλούν επιπτώσεις κυρίως στο θέμα της τιμής, με βασικότερα τα ακόλουθα (Ανδρεάδης, 2012):

- το αυξημένο κόστος παραγωγής

- τη μείωση της ανταγωνιστικότητας λόγω του μικρού μεγέθους του κλήρου και του πολυτεμαχισμού της αγροτικής γης, καθώς και προβλήματα διάθεσης των προϊόντων, λόγω διεθνών εμπορικών συγκυριών
- τη μονοκαλλιέργεια με αποτέλεσμα τη χαμηλή γονιμότητα των εδαφών και τις αποδόσεις
- τη σύνδεση της τιμής των προϊόντων με τα καιρικά φαινόμενα και τις ζημιές στην παραγωγή που προκαλούνται από αυτά
- την ποιοτική υποβάθμιση των προϊόντων, λόγω προσμίξεων με σπόρους ζιζανίων και αγάνων
- την έλλειψη υποδομών (αποθηκευτικοί χώροι, σιλό, σύγχρονα γεωργικά μηχανήματα κ.λπ.)
- την εισαγωγή δημητριακών από άλλες χώρες με χαμηλό κόστος παραγωγής

Το παγκόσμιο χρηματοπιστωτικό σύστημα ελέγχει τις τιμές σχεδόν όλων των αγαθών και των υπηρεσιών, βάση των κανόνων του διεθνούς εμπορίου. Σαν αποτέλεσμα, τα σιτηρά αποτελούν χρηματιστηριακό προϊόν. Οι προβλέψεις και οι κινήσεις των τιμών για τα βασικά αγροτικά προϊόντα, όπως το σιτάρι και ο αραβόσιτος καθορίζονται πλέον στα χρηματιστήρια, συνυπολογίζοντας ταυτόχρονα τα παγκόσμια αποθέματα.

Επειδή όμως τα δημητριακά στη χώρα μας συμβάλλουν σημαντικά στη διαμόρφωση του αγροτικού εισοδήματος, δημιουργούνται ευκαιρίες ανάπτυξης στον τομέα αυτό (Ανδρεάδης, 2012). Η γεωργική έρευνα προσανατολίζεται προς τη δημιουργία νέων βελτιωμένων ποικιλιών με αυξημένη αντοχή στις ασθένειες, στα έντομα και τα ζιζάνια και ποικιλιών μεγάλων αποδόσεων. Δίνεται πλέον η δυνατότητα αξιοποίησης σύγχρονων τεχνικών της καλλιέργειας και παράλληλα γίνονται συνεργασίες παραγωγών σκληρού σιταριού με βιομηχανίες ζυμαρικών και παραγωγών κριθαριού με βιομηχανίες ζυθοποιίας (συμβολαιακή γεωργία) για επίτευξη καλύτερων τιμών. Μια αύξηση της ανταγωνιστικότητας στην εσωτερική παραγωγή δημητριακών της Ευρωπαϊκής Ένωσης σε σχέση με τα εισαγόμενα προϊόντα, θα έδινε μια ώθηση στις εμπορικές διεξόδους ή ακόμα και τη διατήρησή τους σε υψηλό επίπεδο (ιδιαίτερα στον τομέα των ζωοτροφών) (Ανδρεάδης, 2012).

1.3 ΑΠΟΘΗΚΕΥΣΗ ΓΕΩΡΓΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

Στις μέρες μας, πρωταρχική σημασία έχει η ασφάλεια των τροφίμων, τόσο κατά την παραγωγή, όσο και κατά την αποθήκευση και διακίνησή τους, καθώς αποτελεί ηθική

και νομική υποχρέωση του εκάστοτε διαχειριστή τροφίμων και των δημοσίων αρχών. Η έννοια των αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων έχει αποδοθεί από την European Environment Agency (EEA) ως «την κάθε αποθήκευση ή διατήρηση των αγροτικών προϊόντων, λιπασμάτων, σπόρων, ζωοτροφών και άλλων σχετικών προμηθειών σε ειδικές εγκαταστάσεις, ώστε να εμποδιστεί η μόλυνσή τους ή για τις περιόδους όπου η παραγωγή των εν λόγω προϊόντων δεν μπορεί να καλύψει τη παρούσα ζήτηση».

Ο κύριος σκοπός της αποθήκευσης σιτηρών είναι η εξισορρόπηση της προσφοράς και της ζήτησης, και αυτή η λειτουργία, μετά τη συγκομιδή, αποτελεί βασικό βήμα στον πολύπλοκο εφοδιασμό της μεταφοράς σιτηρών από παραγωγούς σε μεταποιητές και προϊόντων σιτηρών από μεταποιητές σε καταναλωτές (Saldivar and García-Lara, 2016). Πολλά αγροτικά προϊόντα δεν καταναλώνονται άμεσα, αλλά αποθηκεύονται για μικρό ή μεγάλο χρονικό διάστημα, σε λιγότερο ή περισσότερο κατάλληλα σχεδιασμένους χώρους, οι οποίοι παρέχουν προστασία από τις αντίξοες καιρικές συνθήκες, τους ζωικούς εχθρούς και γενικά βοηθούν στη διατήρηση των ποσοτικών και ποιοτικών χαρακτηριστικών τους, που σχετίζονται άμεσα με τη διατήρηση της εμπορικότητάς τους ύστερα από κάποιο χρονικό διάστημα. Η αποθήκευση είναι «το σύνολο των χειρισμών που γίνονται μετά τη συγκομιδή, κατά την επεξεργασία, τη συσκευασία και τη μεταφορά των γεωργικών προϊόντων και τροφίμων» (Saldivar and García-Lara, 2016). Ιδιαίτερα η μετακίνηση του πληθυσμού προς τα αστικά κέντρα, καθώς και η ανάγκη της κάλυψης των διατροφικών αναγκών αυτού, οδήγησε σε αύξηση της ζήτησης των γεωργικών προϊόντων, καθιστώντας με τον τρόπο αυτό απαραίτητη την αποθήκευση και την επεξεργασία τους (Ακριτίδης, 1993). Οι ποιοτικές και διατροφικές αλλαγές που συμβαίνουν κατά την αποθήκευση των δημητριακών είναι το καθαρό αποτέλεσμα των αλληλεπιδράσεων σε ένα πολύπλοκο οικολογικό σύστημα (Sinha and Muir, 1973; Tippler, 1995). Ωστόσο, η αποθήκευση ενός προϊόντος συνοδεύεται και από την ποιοτική του υποβάθμιση, γεγονός που αποδίδεται σε διάφορους βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες του περιβάλλοντος της αποθήκης (White, 1995).

Προτεραιότητα δίνεται στο σημείο αυτό στις απώλειες (ποσοτικές και ποιοτικές) που προκαλούνται από εντομολογικούς εχθρούς για όσο διάστημα παραμένει το προϊόν στην αποθήκη. Η προσβολή στους αποθηκευμένους σπόρους από τα έντομα είναι πολύ σοβαρή, διαφέρει ανάλογα με τα διάφορα στάδια ανάπτυξης των εντόμων και προκαλείται οικονομική ζημία και υποβάθμιση στην ποιότητα των τροφίμων που

προέρχονται από την επεξεργασία των σπόρων αυτών (García-Lara and Saldivar, 2016). Δύο είναι οι τρόποι που χρησιμοποιούνται για την αποθήκευση των δημητριακών στις αποθήκες: το σύστημα ενσάκκισης και το σύστημα χύδην αποθήκευσης. Οι γεωργοί αποθηκεύουν τα προϊόντα τους, είτε για άμεση κατανάλωση έως την επόμενη συγκομιδή, είτε για σπόρο την επόμενη καλλιεργητική περίοδο, είτε για πώληση, όταν οι τιμή του προϊόντος γίνει πιο ευνοϊκή. Οι γεωργοί σπάνια υπεισέρχονται στην αντιμετώπιση των εχθρών λόγω της μικρής ποσότητας που αποθηκεύουν, αλλά και λόγω της οικονομικής επιβάρυνσης του ελέγχου αυτού. Το μεγαλύτερο απόθεμα αποθηκευμένων προϊόντων καταλήγει στους αλευρόμυλους ή στις αποθήκες των ιδιωτών εμπόρων. Η μη εφαρμογή μεθόδων ορθής διαχείρισης και καταπολέμησης των εντόμων μπορεί να προκαλέσει σημαντικές απώλειες (Phillips and Throne, 2010).

Το πιο σημαντικό για οποιοδήποτε πρόγραμμα διαχείρισης εντόμων είναι η εύρεση των εστιών της προσβολής, που πολλές φορές ο εντοπισμός τους καθίσταται δύσκολος. Η πιο συνήθης μέθοδος ανίχνευσης της παρουσίας των εντόμων είναι η οπτική επιθεώρηση, ακολουθούμενη από την παρακολούθηση με παγίδες (Semple, 1980; Mohan et al., 1994). Επειδή στα οικοσυστήματα των αποθηκευμένων αγροτικών προϊόντων, το αβιοτικό φυσικοχημικό περιβάλλον αλληλεπιδρά άμεσα με το προϊόν, κι επειδή μια στρατηγική διαχείρισης δημιουργείται και ελέγχεται αποκλειστικά από τον άνθρωπο, ο συσχετισμός αυτός θα πρέπει να λαμβάνεται σοβαρά υπόψη. Επομένως, οι επιλεγμένες στρατηγικές ελέγχου πρέπει να ενσωματώνουν την αποτελεσματική διαχείριση των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, καθώς και την ορθή διαχείριση και διατήρηση των κατάλληλων συνθηκών αποθήκευσής τους. Η επιτυχημένη προστασία των δημητριακών περιορίζει στο ελάχιστο τις απώλειες και θα μπορούσε εν δυνάμει να εξασφαλίσει το απαιτούμενο απόθεμα για την κάλυψη των αναγκών σε δημητριακά των υποσιτισμένων χωρών (Sinha, 1995). Η συνηθέστερη καταπολέμηση των εντόμων περιλαμβάνει την προστασία του προϊόντος με χημικές μεθόδους (με ψεκασμό ή υποκαπνισμό) και την τήρηση της υγιεινής των αποθηκών (Upadhyay and Ahmad, 2011). Κάποιες πιο «εξέζητημένες» μέθοδοι περιλαμβάνουν τροποποιημένες ατμόσφαιρες, εφαρμογή θερμότητας και αποθήκευση μαζί με στάχτη ή άμμο (Baoua et al., 2012).

Η μεταφορά δημητριακών, από χώρες που έχουν πλεόνασμα παραγωγής σε χώρες που έχουν ανεπάρκεια αυτών, έχει δημιουργήσει μια ανεξέλεγκτη ανάμειξη προϊόντων από διαφορετικές χώρες προέλευσης, μεταβάλλοντας τη φύση και την πορεία υποβάθμισης σε οικοσυστήματα αποθηκευμένων προϊόντων με την εισαγωγή ειδών εντόμων ανθεκτικών σε εντομοκτόνα, καθώς και χωροκατακτητικών ειδών που έχουν σημαντική επίδραση στα μετασυλλεκτικά οικοσυστήματα (Mack et al., 2000; Stejskal, 2015). Ακόμα και σε επίπεδο τυποποιημένων προϊόντων η μεταφορά από ένα μέρος σε άλλο, μπορεί να επιφέρει προσβολή από έντομα. Αυτή η προσβολή μπορεί με τη σειρά της να επιφέρει επιμόλυνση σε άλλα προϊόντα που βρίσκονται στις ίδιες εγκαταστάσεις (Highland, 1984; Mowery et al., 2004). Έχει παρατηρηθεί ανθεκτικότητα στα περισσότερα υπολειμματικά εντομοκτόνα για τουλάχιστον 31 είδη εντόμων-εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων (Athanassiou and Arthur, 2018). Σε εντομοκτόνα όπως το malathion και το lindane που χρησιμοποιούνταν ευρέως κατά των εντόμων-εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων, πολλά είδη κολεοπτέρων εμφάνισαν ταχύτατα ανθεκτικότητα (Champ and Dyte 1976), φαινόμενο το οποίο επεκτάθηκε σχεδόν σε όλες τις «παραδοσιακές» δραστικές ουσίες, όπως τα συνθετικά πυρεθροειδή, τα οργανοφωσφορικά και τη φωσφίνη (Collins, 2006).

1.3.1 Αποτροπή εντομολογικών προσβολών

Η εντομολογική προσβολή αφορά την είσοδο και την εγκατάσταση ενός πληθυσμού εντόμου σε δεδομένο αποθηκευμένο προϊόν, που δύναται να γίνει με τους εξής τρόπους: α) με μεταφορά εντόμων, που ζουν στις καλλιέργειες μαζί με το προϊόν (κύρια μόλυνση), β) με τοποθέτηση υγιούς προϊόντος σε αποθήκη με προσβεβλημένο προϊόν (δευτερεύουσα μόλυνση), γ) με επιμόλυνση κατά την κατεργασία του με τη χρήση μολυσμένων ειδών συσκευασίας και μεταφοράς (επιμόλυνση) και δ) με εισβολή εντόμων στις αποθήκες, ενώ διαρκεί η αποθήκευση (προσβολή) (Εμμανουήλ και Μπουχέλος, 1996).

Οι χώροι αποθήκευσης πρέπει να ακολουθούν σωστό σχεδιασμό για να εμποδίζουν την εύκολη είσοδο και την εγκατάσταση εχθρών. Στα δομικά στοιχεία, στα ανοίγματα και στις οροφές δεν θα πρέπει να υπάρχουν κενά ή ρωγμές, που να επιτρέπουν την είσοδο των εντόμων και των άλλων εχθρών (Εμμανουήλ και Μπουχέλος, 1996). Τα ανοίγματα της αποθήκης πρέπει να έχουν ψιλή σήτα για παρεμπόδιση της εισόδου

των εντόμων. Η επιλογή του χώρου αποθήκευσης θα πρέπει να γίνεται με γνώμονα την απόσταση από άλλες πιθανές εστίες μόλυνσης (Stejskal, 2015).

Επιβάλλεται να γίνεται συνεχής έλεγχος των αποθηκευτικών χώρων για την έγκαιρη διαπίστωση προβλημάτων πριν την εισαγωγή του προϊόντος, κατά την εισαγωγή του και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής του. Για το λόγο αυτό, θα πρέπει να υπάρχει εύκολη πρόσβαση στους χώρους αποθήκευσης για τον καθαρισμό των εγκαταστάσεων κλιματισμού, θέρμανσης και αποχέτευσης, καθώς και για την εφαρμογή εντομοκτόνων. Η προετοιμασία των αποθηκευτικών χώρων γίνεται με σχετικό καθάρισμα, πλύσιμο και εφαρμογή εντομοκτόνων στα δάπεδα, τα τοιχώματα και τις οροφές των αποθηκών. Όταν διαπιστωθεί προσβολή των προϊόντων στον αγρό ή κατά τη μεταφορά τους στην αποθήκη, τα μέτρα καταπολέμησης των εντόμων είναι ανασταλτικά, γιατί εγκυμονεί ο κίνδυνος της αύξησης του μεγέθους της προσβολής μέσα στην αποθήκη, καθώς θα προκαλέσουν εστίες μόλυνσης για τα προϊόντα που θα αποθηκευτούν αργότερα. Σε πολλές περιπτώσεις, τα δημητριακά ψεκάζονται με διαλύματα κατάλληλων και μεγάλης υπολειμματικής διάρκειας εντομοκτόνων κατά την εισαγωγή τους στους αποθηκευτικούς χώρους. Με τον τρόπο αυτό αναστέλλεται η ανάπτυξη των εντόμων και η προσβολή των προϊόντων για μεγάλα χρονικά διαστήματα (Μπουχέλος και Αθανασίου 1996). Η αντιμετώπιση των προσβολών συνήθως βασίζεται σε προληπτικές, παρά σε θεραπευτικές ενέργειες κατά το μεγαλύτερο μέρος της αποθήκευσης, της επεξεργασίας και της διανομής των εμπορευμάτων / τροφίμων. Συνεπώς, η παραδοσιακή ιδέα της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Επιβλαβών Οργανισμών (Integrated pest management, IPM) δεν ταιριάζει πλήρως για να εξασφαλίσει αποτελεσματική αντιμετώπιση των εντόμων σε υψηλής αξίας προϊόντα, σε καταστήματα και εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων (Stejskal, 2003).

Πολλές φορές κρίνεται απαραίτητη, μετά από ελέγχους, η διενέργεια απεντομώσεων με υποκαπνιστικά εντομοκτόνα ή η εφαρμογή ενός προγράμματος ολοκληρωμένης καταπολέμησης. Επίσης, το μέγεθος των εντομολογικών προσβολών επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία του περιβάλλοντος χώρου της αποθήκης, αλλά και του αποθηκευμένου προϊόντος. Για την αποτροπή αλλοιώσεων θα πρέπει να ληφθεί μέριμνα μείωσης της θερμοκρασίας του, η οποία γίνεται με εισαγωγή κρύου αέρα με μηχανολογικό εξοπλισμό από τη βάση (αποθήκευση σε σιλό) ή σε οριζόντιες αποθήκες με πρόβλεψη του κατάλληλου μηχανολογικού εξοπλισμού για εισαγωγή

κρύου αέρα στη μάζα του αποθηκευμένου προϊόντος κατά την κατασκευή της αποθήκης (Annis, 2016).

1.4: ENTOMA EXΘΡΟΙ ΤΩΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

1.4.1 Γενικά για τα έντομα αποθηκών

Κατά την προϊστορική περίοδο, με την ανάπτυξη της γεωργίας, οι άνθρωποι αναγκάστηκαν να αποθηκεύουν τα προϊόντα που παρήγαγαν για μεγαλύτερη και σταθερή διαθεσιμότητα (Valamoti and Buckland, 1995). Έντομο αποθηκών καλείται «κάθε είδος εντόμου που προσβάλλει και ζημιώνει άμεσα ένα προϊόν και μπορεί να αναπτυχθεί και να αναπαραχθεί σε μια αποθήκη ή χώρο που φιλοξενεί για αρκετό χρονικό διάστημα γεωργικά προϊόντα ή τρόφιμα» (Μπουχέλος, 2005). Αναφορές για την ύπαρξη εντόμων σε αποθηκευμένα δημητριακά έγιναν από τον Buckland (1981) για το είδος *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), το οποίο βρέθηκε στις Αιγυπτιακές πυραμίδες από το 1345 π.χ., και το είδος *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) σε δημητριακά του 7ου και 9ου αιώνα π.Χ. στο Ισραήλ καθώς και τα *Sitophilus oryzae* (L.) και *S. granarius* που βρέθηκαν στις αιγυπτιακές πυραμίδες και χρονολογούνται περί το 2.300 π.Χ. (Panagiotakopoulou, 2001).

Τα έντομα αποθηκών προσβάλλουν τα δημητριακά, τόσο πριν τη συγκομιδή (λιγότερο), όσο και μετά τη συγκομιδή (περισσότερο) κατά τη διάρκεια της μεταφοράς, αποθήκευσης, επεξεργασίας και πώλησης (Arbogast and Throne, 1997; Perez-Mendoza et al., 2004). Ο Σταμόπουλος (2008) αναφέρει ότι το 10% των απωλειών των δημητριακών στις αναπτυγμένες χώρες και το 30% στις αναπτυσσόμενες χώρες οφείλεται σε εντομολογικές προσβολές. Υπάρχουν τέσσερα είδη απωλειών που προκαλούνται από τα έντομα αποθηκών: οι ποσοτικές (πχ απώλεια βάρους), οι ποιοτικές (στην ποιότητα και την ολότητα του σπόρου), η βιωσιμότητα του σπόρου (βλαστική ικανότητα του σπόρου) και οι βλάβες στις συσκευασίες αποθήκευσης (καταστροφή στο ξύλο ή στο πολυαιθυλένιο) (Boxall, 2001). Πάνω από 1.660 είδη εντόμων έχουν βρεθεί σε αποθηκευμένα δημητριακά και στα συναφή με αυτά προϊόντα (Hagstrum and Subramanyam, 2009).

Τα έντομα αποθηκευμένων προϊόντων προσβάλλουν εδώδιμα ή μη προϊόντα, που βρίσκονται στη φάση της επεξεργασίας ή της αποθήκευσής τους και τα ζημιώνουν

άμεσα. Υπάρχουν όμως και έντομα αποθηκών τα οποία δεν τρέφονται απευθείας με τα αποθηκευμένα προϊόντα, αλλά είναι μυκητοφάγα, αρπακτικά και παρασιτοειδή εντόμων και άλλων αρθροπόδων. Υπό την ευρύτερη έννοια βέβαια, συμπεριλαμβάνονται και είδη που προσβάλλουν τρόφιμα σε οικίες ή προσβάλλουν μουσειακές συλλογές, καθώς και ορισμένα ξυλοφάγα έντομα (Μπουχέλος, 1993). Οι σύνθετες αλληλεπιδράσεις μεταξύ των οργανισμών αυτών σε σχέση με το ρόλο τους, καθώς και σε σχέση με το περιβάλλον, τη μικροχλωρίδα και το αποθηκευμένο προϊόν, έχουν ως αποτέλεσμα αυξανόμενες διακυμάνσεις των πληθυσμών, εναλλαγές ειδών και υποβάθμιση του αποθηκευμένου προϊόντος. Τα πιο κοινά είδη των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων ανέρχονται σε πολλές δεκάδες και οι απώλειες που προκαλούν στα μετασυλλεκτικά στάδια σύμφωνα με τον FAO υπολογίζονται στους 81 εκατομμύρια τόνους, δηλαδή το 10% της παγκόσμιας παραγωγής δημητριακών.

Μετά τη συγκομιδή τα δημητριακά υποβάλλονται σε διάφορες κατεργασίες, οι οποίες, εάν δεν γίνουν σωστά, μπορεί να οδηγήσουν σε σοβαρές απώλειες (Gwinner et al., 1996). Ο άθικτος σπόρος είναι βασικό στοιχείο για την επιτυχή αποθήκευση. Οι σπασμένοι σπόροι παρέχουν σημείο εισόδου στα έντομα για προσβολή κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης. Ζημιά στους σπόρους μπορεί να συμβεί λόγω ακατάλληλης εφαρμογής πρακτικών μετά τη συγκομιδή όπως αλώνισμα, ξήρανση ή μεταφορά (Simone et al., 1994). Ο άνθρωπος όταν άρχισε να αποθηκεύει δημητριακά κυρίως για την κάλυψη των βιοτικών του αναγκών, εγκατέστησε άθελά του τα έντομα αποθηκών, τα οποία έβρισκαν εύκολα άφθονη τροφή στις αποθήκες, χωρίς να είναι υποχρεωμένα να πετούν μακριά με αντίξοες καιρικές συνθήκες. Τα περισσότερα είναι πολυφάγα και κοσμοπολίτικα, καθώς με τη διακίνηση των εμπορευμάτων σε όλα τα μέρη του κόσμου μεταφέρθηκαν λόγω του μικρού τους μεγέθους, της ευκολίας με την οποία «τρυπούν» τη μάζα των προϊόντων και της αντοχής τους στις δύσκολες καιρικές συνθήκες (Μπουχέλος 1993).

Τα έντομα αποθηκών είναι πολύ διαδεδομένα γιατί: α) μπορούν να βαδίζουν ή να πετούν ακόμα και δεκάδες χιλιόμετρα, β) μετακινούνται μέσω του διεθνούς εμπορίου με το προϊόν (έντομα "ταξιδιώτες"), γ) μπορούν να επιζήσουν για πολλά χρόνια χρησιμοποιώντας σειρά καταφυγίων και εναλλακτικών συνθηκών, δ) το σώμα τους είναι στενό, μικρό και πεπλατυσμένο και ε) αποφεύγουν την άμεση έκθεση σε εντομοκτόνα και φυσικούς εχθρούς (Μπουχέλος 1993). Τα έντομα αποθηκών ανήκουν κυρίως σε έξι τάξεις: στα Κολεόπτερα, στα Λεπιδόπτερα, στα Υμενόπτερα,

στα Ψοκόπετρα, στα Ημίπετρα και στα Δίπετρα, με τα περισσότερα να ανήκουν στην τάξη των Κολεοπτέρων.

Τα περισσότερα έντομα αποθηκών προέρχονται από περιοχές θερμών κλιμάτων της τροπικής και υποτροπικής ζώνης και προτιμούν κυρίως θερμό ή ξηρό περιβάλλον διαβίωσης, τρέφονται δε από ύλες μικρής περιεκτικότητας σε υγρασία. Δύο κύριοι περιβαλλοντικοί παράγοντες που ασκούν σημαντικό ρόλο στην επιβίωση, ανάπτυξη και πολλαπλασιασμό των εντόμων αποθηκών είναι η θερμοκρασία και η υγρασία. Ο ρυθμός αναπαραγωγής τους είναι ανάλογος των τιμών των παραγόντων αυτών στο προϊόν, αλλά και στους αποθηκευτικούς χώρους. Ο συνεχής έλεγχος και η αντιμετώπιση της προσβολής στα αρχικά στάδια είναι απαραίτητος, γιατί ο πληθυσμός μπορεί να εξελιχθεί γεωμετρικά, με αλόγιστες απώλειες (Rajendran, 2004).

Η παρουσία εντόμων σε προϊόντα που μπορεί να βρίσκονται στο στάδιο της επεξεργασίας ή στο στάδιο της κατανάλωσης, εκτός από ποσοτικές απώλειες σε μικρότερη έκταση, μπορεί να επιφέρει και ποιοτικές απώλειες ή να δημιουργήσει προβλήματα υγείας στους καταναλωτές, που συνδέονται με την εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων (Fleurat-Lessard, 2004; Mallis, 2004). Ο Wirtz (1991) παρατήρησε ότι η κατανάλωση προσβεβλημένων τροφίμων δεν προκαλεί σημαντικά προβλήματα στην υγεία του ανθρώπου, εντούτοις υπάρχουν μεμονωμένα περιστατικά που αποδεικνύουν το αντίθετο. Για παράδειγμα το *T. castaneum* εκκρίνει χημικές ουσίες (κινόνες), που προκαλούν αλλεργίες και δερματίτιδες και είναι καρκινογόνες για τον άνθρωπο (El-Mofty et al., 1989, 1992). Άλλα έντομα αποθηκών παράγουν πτητικά συστατικά, τα οποία προκαλούν δυσάρεστη οσμή και γεύση στο προσβεβλημένο προϊόν (Seitz and Sauer, 1996). Η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration - FDA) έχει θεσπίσει ανώτατα όρια παρουσίας τεμαχιδίων εντόμων στα τρόφιμα, καθότι προκαλούν πληθώρα αλλεργιών (Perez-Mendoza et al., 2005).

1.4.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές

Οι Hagstrum et al. (2010) βρήκαν ότι τα κυριότερα έντομα που προσβάλλουν τα δημητριακά κατά την διάρκεια της αποθήκευσης στις ΗΠΑ ανήκουν στα κολεόπετρα και πιο συγκεκριμένα στα είδη *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae), *S.*

oryzae, *T. castaneum* και *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae). Τα ίδια είδη εντόμων αποθηκών εμφανίζονται πιο συχνά και στις αποθήκες δημητριακών στην Ελλάδα (Buchelos and Athanassiou, 1993; Athanassiou and Buchelos, 2001) και χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές της παρούσας διατριβής. Συνοπτικά, παρακάτω, γίνεται μια αναφορά στα είδη των εντόμων που μελετήθηκαν, στη βιολογία τους, σε κάποια γενικότερα χαρακτηριστικά τους και στην οικονομική σημασία τους.

1.4.2.1 *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae)

Το *R. dominica* (εικόνα 1) είναι ένα από τα πολυπληθέστερα έντομα αποθηκών στην Ελλάδα, που προσβάλλει κυρίως ρύζι και σιτάρι, όπως επίσης κριθάρι, αραβόσιτο, μπισκότα και άλλα συναφή αμυλούχα προϊόντα (Buchelos and Athanassiou, 1993).



Εικόνα 1: Ακμαία *Rhyzopertha dominica*

Θεωρείται ότι ζει αρκετά, με καταγεγραμμένη διάρκεια ζωής να ποικίλλει από 3 με 6 μήνες (Rees, 2004; Edde, 2012). Τυπικά ένα θηλυκό μπορεί να γεννήσει κατά τη διάρκεια της ζωής του από 300 έως 400 ωά, από τα οποία το 80% είναι γόνιμα. Κατά

την εκκόλαψη, οι προνύμφες είναι άμεσα δραστήριες και ξεκινούν να τρέφονται απευθείας, ολοκληρώνοντας την ανάπτυξή τους μέσα στο σπόρο (Schwardt, 1933). Υπάρχουν 4 έως 7 προνυμφικά στάδια (ανάλογα με τις συνθήκες) (Edde, 2012), ενώ η ολοκλήρωση της ανάπτυξής τους γίνεται σε 16 ημέρες σε ιδανικές συνθήκες (Birch, 1945a, b).

Η νύμφωση γίνεται μέσα στο σπόρο, στην κοιλότητα που προκλήθηκε από τη διατροφή της προνύμφης και διαρκεί 4 ημέρες σε ιδανικές συνθήκες (Birch, 1945a, b). Σε ιδανικές συνθήκες θερμοκρασίας 34°C και σχετικής υγρασίας (Σ.Υ.) 70% και υγρασίας σπόρου 14%, ο ελάχιστος χρόνος ολοκλήρωσης της ανάπτυξής του από την ωοτοκία έως το ακμαίο είναι περίπου 25 ημέρες (Rees, 2004; Σταμόπουλος, 2008). Έχει παγκόσμια εξάπλωση και βρίσκεται σε μεγάλους αριθμούς στις υποτροπικές και τροπικές ζώνες (Munro, 1966; Mallis, 1982). Θεωρείται πρωτεύον είδος, και αποτελεί σοβαρό εχθρό των αποθηκευμένων δημητριακών, γιατί προσβάλλει ακέραιους σπόρους, τρώγοντας το φυτό και το ενδοσπέρμιο, τόσο ως προνύμφη, όσο και ως ακμαίο (Howe, 1950; Thomson, 1966; Aitken, 1975). Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση του βάρους του σπόρου, του περιεχομένου σε πρωτεΐνες και στην γενικότερη ποιότητα.

1.4.2.2 *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrychidae)

Είναι ένα είδος, το οποίο κανονικά συναντάται στα δάση και είναι ξυλοφάγο (κορμούς, ξυλώδεις ρίζες και σπόρους από δασικά είδη), αλλά προσαρμόστηκε εύκολα και στο περιβάλλον των αποθηκών με δημητριακά (Hill et al., 2003; Nansen et al., 2004). Θεωρείται ο σημαντικότερος εντομολογικός εχθρός του αποθηκευμένου αραβόσιτου (Εικόνα 2) στην Αφρική, το Μεξικό και την Κεντρική Αμερική (Kumar, 2002), αλλά και άλλων προϊόντων, όπως του καφέ, της γλυκοπατάτας, του γιαμ, και ορισμένων μπαχαρικών (Shires, 1977; Boxall, 2002). Αποτελεί είδος καραντίνας για πολλές χώρες παγκοσμίως (Tyler and Hodges, 2002).

Η ανάδευση του δημητριακού και η υψηλή θερμοκρασία στο χώρο της αποθήκης δεν εμποδίζει την ανάπτυξη του εντόμου. Το θηλυκό διανοίγει μια κυκλική στοά στο σπόρο, όπου και αφήνει τα ωά του, ενώ η εκκόλαψη του σε ιδανικές συνθήκες (32 °C και 70% Σ.Υ.) γίνεται μετά από 4.1 ημέρες (Bell and Watters, 1982). Στις ίδιες συνθήκες, η ανάπτυξη από ωό σε ακμαίο διαρκεί 25.4 ημέρες, ενώ σε συνθήκες 27 °C και 70% Σ.Υ. διαρκεί 39 ημέρες (Bell and Watters, 1982; Hodges and Meik, 1984).

Τα ωά τοποθετούνται σε ομάδες των 20 και καλύπτονται με λεπτή σκόνη αραβοσίτου που έχει δημιουργηθεί από τα ακμαία.



Εικόνα 2: Ακμαία *Prostephanus truncatus*

Κύρια προϊόντα που προσβάλλει είναι ο αραβόσιτος και η κασάβα (Schneider et al., 2004). Προκαλεί απώλεια βάρους στο προϊόν περίπου 34% μέσα στους πρώτους μήνες αποθήκευσης, πέντε φορές μεγαλύτερη από αυτή που προκαλούν όλα τα είδη μαζί κατά την αποθήκευση (Hodges et al., 1983; Pantenius, 1988; Giles et al., 1996). Κατά την αποθήκευση αραβοσίτου σε σπάδικες (ρόκες) η εντομολογική ζημιά μειώνεται σημαντικά, ενώ κατά την αποθήκευση σε σάκους η προσβολή αυξάνεται (Cowley et al., 1980). Οι οικονομικές απώλειες λόγω της χαμηλής εμπορευσιμότητας του προϊόντος, της τιμής και της βιωσιμότητας των σπόρων, καθώς και η επιμόλυνση μετά τη ζημιά, μπορούν να οδηγήσουν σε ολική οικονομική απώλεια. Σε περιοχές υψηλού κινδύνου, πολλοί αγρότες αποφεύγουν τις απώλειες, διαθέτοντας το προϊόν τους σε χαμηλές τιμές αμέσως μετά τη συγκομιδή (Meikle et al., 2000; Hodges, 2002).

1.4.2.3 *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)

Είναι το πιο σημαντικό είδος που συναντάται σε όλα τα είδη των αποθηκών (Εικόνα 3), με ιδιαίτερη παρουσία στις τροπικές και υποτροπικές χώρες. Στη χώρα μας αναφέρεται ως το πολυπληθέστερο έντομο στις αποθήκες δημητριακών με σημαντικές ζημιές σε σπόρους δημητριακών. Εκτός από το ρύζι τρέφεται και με σιτάρι, αραβόσιτο, κριθάρι, κ.α. (Buchelos, 1985; Buchelos and Athanassiou, 1993, 1998).



Εικόνα 3: Ακμαία *Sitophilus oryzae*

Ο Campbell (2002) παρατήρησε ότι το μήκος του εξαρτάται από το μέγεθος του σπόρου με τον οποίο διατρέφεται (μεγαλύτερα ακμαία αναπτύσσονται από μεγαλύτερους σπόρους). Ο βιολογικός κύκλος του διαρκεί 38 – 40 ημέρες στους 22°C, ενώ η διάρκειά του μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Το θηλυκό γεννά 150-200 ωά στη διάρκεια της ζωής του (Σταμόπουλος, 2008). Τα ωά και οι

νύμφες μπορούν να αντέξουν πιο ακραίες συνθήκες σε σχέση με τα ακμαία, ενώ οι προνύμφες είναι πιο ευαίσθητες (Longstaff, 1981).

Η ζημιά που προκαλεί είναι πολύ μεγάλη και μπορεί να φτάσει το 100%. Σύμφωνα με τους Longstaff (1981) και Rees (2004) τα είδη *Sitophilus* συμπεριλαμβανομένου και του *S. oryzae* θεωρούνται από τα πιο καταστροφικά έντομα των δημητριακών παγκοσμίως. Πριν την εξάπλωσή του και την διάδοσή του παγκοσμίως ήταν έντομο καραντίνας σε αρκετές χώρες (Kuschel 1961; Champ, 1963). Τόσο η προνύμφη, όσο και το ακμαίο τρέφονται με το σπόρο, τον οποίο καθιστούν ακατάλληλο για κατανάλωση. Οι προνύμφες είναι πιο καταστρεπτικές, καθώς τρώνε όλο το εσωτερικό του σπόρου, αφήνοντας άθικτο το εξωτερικό περίβλημα. Η όλη διαδικασία έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της ποιότητας και του βάρους των σπόρων, καθώς και τη δημιουργία μεγάλων ποσοτήτων σκόνης από τους σπόρους (Hardman, 1977), η οποία προσελκύει τα δευτερεύοντα είδη (Hill, 2002).

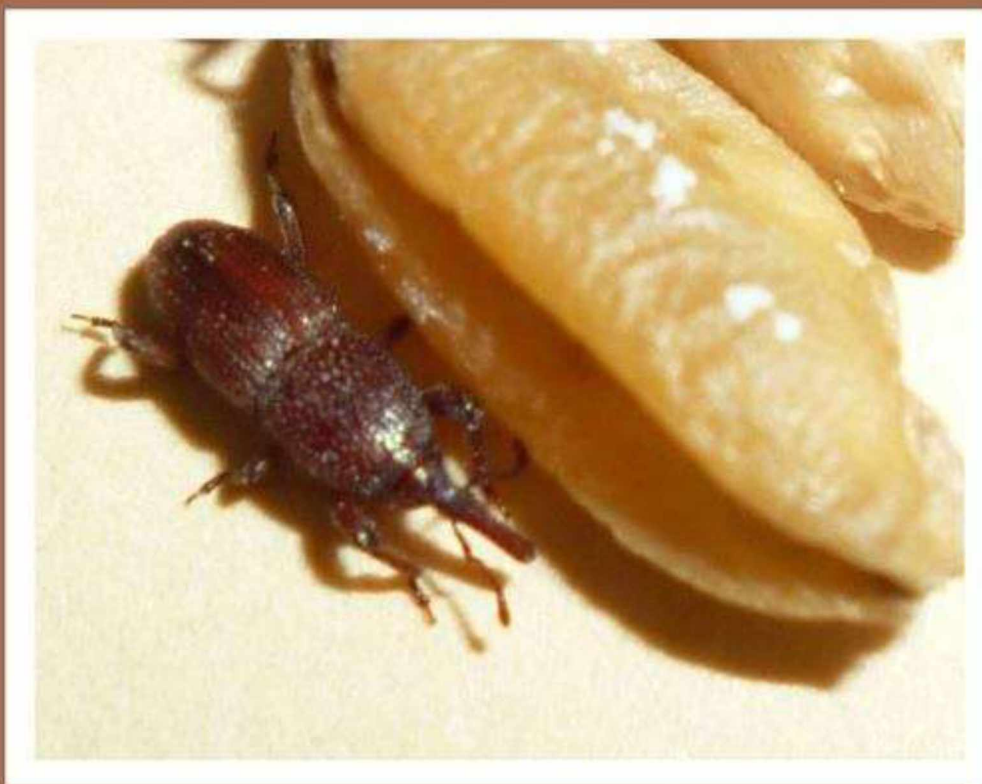
Επίσης, ανεβάζει τη θερμοκρασία και την υγρασία του προσβεβλημένου σπόρου, δημιουργώντας ιδανικές συνθήκες για ανάπτυξη παθογόνων και περαιτέρω προσβολή (Hardman, 1977; Longstaff, 1981; Hill, 2002).

1.4.2.4 *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae)

Η εξάπλωση του είναι παγκόσμια, ενώ συναντάται κυρίως στα εύκρατα και ψυχρά κλίματα (Σταμόπουλος, 2008). Σπάνια συναντάται στις τροπικές χώρες. Η εξάπλωσή του περιορίζεται περισσότερο από τη σχέση που έχουν τα προϊόντα που διατρέφεται με τα ψυχρά κλίματα, παρά με την άμεση αντίδρασή του στη θερμοκρασία (Haines, 1991). Το *S. granarius* είναι ανθεκτικό στο κρύο, με αποτέλεσμα να είναι το κυρίαρχο είδος στις εύκρατες περιοχές.

Η εκτροφή του καθίσταται δύσκολη σε θερμοκρασίες κάτω από 11 °C (Rees, 2004). Το *S. granarius* απαντάται συχνότερα στο σιτάρι και στο κριθάρι (Εικόνα 4). Μπορεί να προσβάλει και άλλα δημητριακά, όπως αραβόσιτος, σόργο και ρύζι, αλλά δεν ανταγωνίζεται το ίδιο καλά με τα άλλα είδη *Sitophilus* σε αυτά τα δημητριακά (CABI, 2021).

Τα ακμαία έχουν μήκος περίπου 3-5 mm, που ποικίλλει ανάλογα με το μέγεθος των σπόρων που διατρέφεται. Σε μικρούς σπόρους, όπως το κεχρί ή το σόργο, έχουν μικρό μέγεθος, αλλά αυξάνεται το μέγεθός τους όταν διατρέφονται με αραβόσιτο. Ο κύκλος ζωής διαρκεί κατά μέσο όρο 7-8 εβδομάδες. Τα ακμαία μπορούν να ζήσουν έως και 1 χρόνο μετά την εμφάνισή τους.



Εικόνα 4: Ακμαία *Sitophilus granarius*

Το έντομο δημιουργεί μια κοιλότητα στον άθικτο σπόρο και σε σοβαρή προσβολή παραμένει μόνο το εξωτερικό περίβλημα του σπόρου και υπάρχει παντού λεπτή σκόνη, που παράγεται από τη δραστηριότητα των διαφόρων σταδίων. Η συγκέντρωσή του σε μεγάλους αριθμούς σε ορισμένα σημεία του προϊόντος, όπου η υγρασία είναι υψηλότερη σε συνδυασμό με την έντονη μεταβολική δραστηριότητα που παρατηρείται εκεί, προκαλεί τη δημιουργία θερμών κηλίδων. Οι κηλίδες αυτές ευνοούν την ανάπτυξη μυκήτων στους ήδη προσβεβλημένους σπόρους με τελικό αποτέλεσμα να σχηματίζονται συμπαγή συσσωματώματα του προϊόντος και ποσοτική και ποιοτική υποβάθμισή του.

1.4.2.5 *Tribolium confusum* Jacquelin Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae)

Το *T. confusum* (Εικόνα 5) συναντάται σε μεγάλους πληθυσμούς στους αλευρόμυλους και είναι κοινό είδος σε αποθήκες δημητριακών (Aitken, 1975; Buchelos and Athanassiou, 1993; 1998). Είναι κατά κύριο λόγο έντομο που ενδημεί σε θερμά και εύκρατα κλίματα και ένα από τα πιο σημαντικά έντομα των αποθηκευμένων προϊόντων (Aitken, 1975). Προτιμά να τρέφεται από ήδη προσβεβλημένους ή σπασμένους σπόρους, οπότε θα πρέπει να συνυπάρχει με άλλα πρωτεύοντα είδη, που θα έχουν προκαλέσει αυτή την καταστροφή, ώστε να μην υπάρχει το περισπέρμιο, το οποίο και αποτελεί εμπόδιο για την είσοδό του στο εσωτερικό τους (Johnson, 2013).



Εικόνα 5: Ακμαία *Tribolium confusum*

Θεωρείται ότι η διάρκεια ζωής του είναι περίπου 2 έτη. Κατά τη διάρκεια της ζωής του το θηλυκό εναποθέτει 500-800 ωά. Σε ιδανικές συνθήκες, χρειάζονται 5 με 7 ημέρες για την εμφάνιση της προνύμφης, και 2 με 3 εβδομάδες για την εμφάνιση της νύμφης, όπου και σε μια εβδομάδα περίπου γίνεται ακμαίο (Park et al., 1965). Έχει την ικανότητα να αναπτύσσεται ακόμα και σε προϊόντα με χαμηλή υγρασία της τάξης

του 11% (Σταμόπουλος, 2008). Όταν οι συνθήκες ή η τροφή για την ανάπτυξη της προνύμφης δεν είναι κατάλληλες, ο βιολογικός του κύκλος επιμηκύνεται σημαντικά.

Είναι σημαντικός εχθρός στους αλευρόμυλους, γιατί όταν είναι σε μεγάλους πληθυσμούς δημιουργεί μεταχρωματισμό στο αλεύρι (από λευκό σε σκούρο), το οποίο περιέχει και τις εκδύσεις των προνυμφών, γεγονός που υποβαθμίζει σημαντικά το προϊόν, αφού μετά από λίγο μουχλιάζει και δημιουργεί πρόβλημα στην μεταποίησή του. Επίσης δίνει στο προϊόν μια δυσάρεστη γεύση και οσμή από τις τοξικές ουσίες που εκκρίνει από τους αδένες του (Smith et al., 1989; Baldwin and Fasulo, 2010; Mohammad et al., 2012). Μπορεί να προσβάλλει δημητριακά, αλεύρι, σιμιγδάλι, ξηρούς καρπούς, ξηρά λαχανικά, σοκολάτα, φαρμακευτικά προϊόντα ακόμα και αποξηραμένα εκθέματα σε μουσεία (Via, 1991; Weston and Rattlinground, 2000). Επίσης είναι ύποπτο για την πρόκληση αλλεργιών στους ανθρώπους και ιδιαίτερα στους αρτοποιούς (Schultze-Werninghaus et al., 1991).

1.4.2.6 *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae)

Το *O. surinamensis* (Εικόνα 6) έχει παγκόσμια εξάπλωση (Hashem et al., 2012) και προσβάλλει δημητριακά, κεχρί, άλευρα, ελαιούχους σπόρους, αποξηραμένα φρούτα και καρπούς (Barnes, 2002).

Το θηλυκό αποθέτει μέχρι και 400 ωά κατά τη διάρκεια της ζωής του, που κυμαίνεται από 6 έως 10 μήνες (Howe, 1956). Ο βιολογικός κύκλος του εντόμου είναι σύντομος και από ωό σε ακμαίο ολοκληρώνεται σε 20 ημέρες σε συνθήκες 30-35 °C και 70-90% Σ.Υ., ενώ σε χαμηλότερη θερμοκρασία και υγρασία η διάρκειά του αυξάνεται (Σταμόπουλος, 2008). Θεωρείται δευτερεύων εχθρός, από τη στιγμή που δεν προσβάλλει ολόκληρους σπόρους, αλλά η εγκατάστασή του διευκολύνεται από τη ζημιά που προκαλούν τα άλλα έντομα στα δημητριακά.

Τόσο τα ακμαία, όσο και οι προνύμφες τρέφονται από το φυτό, με αποτέλεσμα να μεταβάλλεται η θρεπτική σύσταση του δημητριακού και να μειώνει το ποσοστό της φυτρωτικής ικανότητας του σπόρου.



Εικόνα 6: Ακμαία *Oryzaephilus surinamensis*

1.4.2.7 *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae)

Το *C. ferrugineus* (Εικόνα 7) είναι ένα είδος που απαντάται σε όλον τον κόσμο και μάλιστα προσβάλλει πάνω από 70 προϊόντα (Hagstrum and Subramanyam, 2009). Το θηλυκό εναποθέτει κατά μέσο όρο 242 ωά κατά τη διάρκεια της ζωής του, ενώ μεγαλώνοντας ωοτοκεί λιγότερο, γεγονός ασύνηθες στα έντομα των αποθηκευμένων προϊόντων (Arbogast, 1991).

Ο βιολογικός κύκλος του εντόμου είναι σύντομος και από ωό σε ακμαίο ολοκληρώνεται σε 19 ημέρες σε ιδανικές συνθήκες (35 °C και 75% Σ.Υ.) (Rillet, 1949), ενώ σε 12% υγρασία σπόρου ή 40% Σ.Υ. η ανάπτυξη του εντόμου αναστέλλεται (Mason and McDonough, 2012). Όταν οι συνθήκες είναι καλές, κάθε προνύμφη προσβάλλει ένα σπόρο και κυρίως το ενδοσπέρμιο, ειδικά αν έχει προηγηθεί και μυκητολογική προσβολή (Rillet, 1949; Hagstrum et al., 2012). Επειδή αντέχει σε χαμηλές θερμοκρασίες (-20.4 °C) ακόμα και χωρίς τροφή για πάνω από 8

ημέρες, μπορεί να προκαλέσει προσβολές για μεγάλα χρονικά διαστήματα (Hagstrum et al., 2012).



Εικόνα 7: Ακμαία Cryptolestes ferrugineus

Πρόκειται για δευτερεύον είδος εντόμου αποθηκών, που οι προνύμφες του και τα ακμαία του προσβάλλουν προϊόντα σε κακή υγειονομική κατάσταση (μουχλιασμένους ή σπασμένους σπόρους), καθώς και το έμβρυο των σπόρων των δημητριακών, προκαλώντας περισσότερο ποιοτική, παρά ποσοτική υποβάθμιση του προϊόντος. Επίσης, κατά την προσβολή, το *C. ferrugineus* προκαλεί αύξηση της θερμοκρασίας στο προϊόν (Sinha, 1961).

1.5. ΜΕΘΟΔΟΙ ΑΝΤΙΜΕΤΩΠΙΣΗΣ ΕΝΤΟΜΩΝ ΑΠΟΘΗΚΕΥΜΕΝΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ

1.5.1 Εισαγωγή

Το κλειστό οικοσύστημα μιας αποθήκης διαφέρει σημαντικά ως προς την ικανότητα προστασίας των αποθηκευμένων προϊόντων από τους εχθρούς και τις ασθένειες από το οικοσύστημα μιας καλλιέργειας στον αγρό ή ένα φυσικό οικοσύστημα, όπου οι διαδικασίες ελέγχονται από φυτοφάγα είδη, αρπακτικά, παράσιτα και παθογόνα (Subramanyam et al. 2003; Stejskal, 2015). Στην αποθήκη, η επέμβαση του ανθρώπου στην προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων θεωρείται επιβεβλημένη, καταφεύγοντας σε διάφορες μεθόδους για την αντιμετώπιση των εχθρών των προϊόντων αυτών. Η κατάχρηση των μεθόδων αντιμετώπισης και ιδιαίτερα των χημικών, έχει, εκτός των άλλων, σαν αποτέλεσμα την ανάπτυξη της ανθεκτικότητας σε πολλά είδη εντόμων. Για τους λόγους αυτούς δημιουργήθηκε η ανάγκη εύρεσης εναλλακτικών μεθόδων αντιμετώπισης των εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων με λιγότερο αρνητικές συνέπειες στο περιβάλλον, τον άνθρωπο και το προϊόν. Δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν στο παρελθόν αποσύρονται ή βρίσκονται υπό κατάργηση, λόγω της υψηλής τους τοξικότητας για τον άνθρωπο και τα θερμόαιμα, αλλά και των επιπτώσεών τους στο περιβάλλον (Arthur, 1996). Με την πάροδο του χρόνου αυτές οι μέθοδοι έχουν εξελιχθεί και τείνουν να παρέχουν υψηλότερη προστασία με λιγότερους κινδύνους για το περιβάλλον, αλλά και για τον άνθρωπο. Εφαρμόζονται μεμονωμένα (όπου και όταν είναι εφικτό) ή σε συνδυασμό για την αντιμετώπιση των εντόμων εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων και διακρίνονται στις εξής κατηγορίες που αναλύονται στη συνέχεια: φυσικές και μηχανικές, βιολογικές, άλλες μέθοδοι, καθώς και χημικές μέθοδοι.

1.5.2 Φυσικές και μηχανικές μέθοδοι

Στις συνηθέστερες μεθόδους ελέγχου των εντόμων αποθηκών στις κατηγορίες αυτές συγκαταλέγονται: η ανάδευση με υψηλές ταχύτητες (entoleter), η χρήση αδρανών υλικών, η εφαρμογή ακραίων θερμοκρασιών, η μείωση της υγρασίας (η ξήρανση), η χρήση κενού με περιορισμό του ατμοσφαιρικού αέρα (ελεγχόμενη ατμόσφαιρα) και η δημιουργία τροποποιημένων ατμοσφαιρών. Οι μέθοδοι αυτές κερδίζουν έδαφος κατά τα τελευταία χρόνια, παρά το υψηλό κόστος τους και είναι απόλυτα συμβατές με την παραγωγή βιολογικών προϊόντων.

Η απομάκρυνση των εντόμων από τα δημητριακά γίνεται με ανάδευση σε ειδικά κόσκινα ή αργότερα με φυγοκεντρικές συσκευές όπως το *entoleter*, που όμως η χρήση τους περιορίζεται μόνο στην αφαίρεση εντόμων από τα άλευρα κατά την επεξεργασία και όχι από σπόρους δημητριακών.

Η εφαρμογή αδρανών υλικών είναι ακόμα μια μέθοδος αντιμετώπισης εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων, τα οποία μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις ομάδες (Golob, 1997; Subramanyam and Roesli, 2000). Η άργιλος, η άμμος, η τέφρα και η ηφαιστειακή στάχτη ανήκουν στην πρώτη ομάδα, ενώ στη δεύτερη ομάδα περιλαμβάνεται μεγάλος αριθμός ορυκτών όπως ο δολομίτης, ο μαγνησίτης, ο οξυχλωριούχος χαλκός, φωσφορικά πετρώματα, το υδροξείδιο του ασβεστίου (ασβέστης), ο ασβεστόλιθος και το κοινό αλάτι (Golob and Webley, 1980). Όλες οι σκόνες που περιέχουν διοξείδιο του πυριτίου (συνθετική σιλικόνη) ανήκουν στην τρίτη ομάδα, ενώ οι σκόνες που περιέχουν φυσικό διοξείδιο του πυριτίου, όπως η γη διατόμων (Korunic, 1998) και οι ζεόλιθοι (Haryadi et al., 1994) ανήκουν στην τέταρτη κατηγορία. Η γη διατόμων είναι ένα από τα πιο ασφαλή εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται στη γεωργία, στην κτηνιατρική και στη δημόσια υγεία, γιατί έχει αποδειχθεί ότι δεν είναι τοξική, ακόμα και όταν καταναλώνεται από τα θηλαστικά (Bertke, 1964; Korunic et al., 1997) και χρησιμοποιείται προκαλώντας το θάνατο του εντόμου λόγω αφυδάτωσης, τόσο ως προσθετικό τροφίμων, όσο και κατά την επεξεργασία αυτών (Phillips and Throne, 2010). Στην Ελλάδα και σε πολλές άλλες χώρες έχει λάβει έγκριση ως μέθοδος ελέγχου των εντόμων αποθηκών και θεωρείται αποτελεσματική και ασφαλής είτε μόνη της, είτε σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους αντιμετώπισης (Vassilakos et al., 2006).

Οι υψηλές θερμοκρασίες, συμβάλλουν έμμεσα στην απομάκρυνση των εντόμων από το προϊόν (Finkelman et al., 2006). Ένας σημαντικός παράγοντας ανάπτυξης και αναπαραγωγής των εντόμων αποθηκών είναι η θερμοκρασία, με άριστο θερμοκρασιακό εύρος μεταξύ 25 και 32 °C. Αποκλίνουσες θερμοκρασίες από αυτό το εύρος επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη των εντόμων, ενώ ακραίες θερμοκρασίες προκαλούν το θάνατό τους (Fields, 1992). Η απεντόμωση μέσω υψηλών θερμοκρασιών θεωρείται αποτελεσματική μέθοδος, με δεδομένο ότι σε θερμοκρασίες 50-60 °C επέρχεται καταστροφή ορισμένων ενζυματικών ομάδων. Η εφαρμογή υψηλών θερμοκρασιών είναι απαραίτητο να γίνεται για 24 με 36 ώρες, ώστε να διεισδύει στα κενά των τοίχων και στον εξοπλισμό και να θανατώσει τα έντομα μέσα

στις αποθήκες (Mahroof et al., 2004; Fields et al., 2012). Ιδιαίτερη προσοχή χρειάζεται ώστε να επιτυγχάνεται ομοιόμορφη κατανομή της θερμότητας σε ολόκληρη τη μάζα του προς απεντόμωση προϊόντος, για την αποφυγή επιβίωσης ανθεκτικών σταδίων ανάπτυξης (Waddell et al., 2000).

Οι χαμηλές θερμοκρασίες είναι ένας εναλλακτικός αποτελεσματικός τρόπος καταπολέμησης εντόμων, που δεν προκαλεί αλλοιώσεις στα προϊόντα και που δεν καταστρέφει τα συστατικά τους, όπως συμβαίνει με τη χρήση υψηλών θερμοκρασιών. Ο χρόνος εφαρμογής των χαμηλών θερμοκρασιών είναι αντίστροφα ανάλογος με τη θερμοκρασία που εφαρμόζεται. Σε θερμοκρασίες από -10 έως -20 °C ο θάνατος των εντόμων επέρχεται είτε σε μερικές ώρες, είτε σε μερικές εβδομάδες, ανάλογα με την ανθεκτικότητα του εντόμου, το στάδιο ανάπτυξής του, και τον προηγούμενο εγκλιματισμό του σε χαμηλές θερμοκρασίες (Fields, 1992). Απαιτεί πολυδάπανες εγκαταστάσεις, όμως σε ψυχρές χώρες μπορεί να χρησιμοποιηθεί με αισθητή μείωση του κόστους.

Η υγρασία ευνοεί την ανάπτυξη των εντόμων στο περιβάλλον της αποθήκης. Οι ευνοϊκές συνθήκες υγρασίας για τα έντομα, όσον αφορά την περιεκτικότητα σε υγρασία του προϊόντος είναι από 12 έως 15%, ενώ υπάρχει αρνητική επίδραση στην επιβίωση και την αναπαραγωγή των εντόμων σε υγρασία μικρότερη των 9% (Howe, 1965). Η ξήρανση των προϊόντων με τεχνητό τρόπο, προκαλεί μείωση ή απαλλαγή της πλεονάζουσας υγρασίας, με αποτέλεσμα την καλύτερη συντήρησή τους και την έμμεση παρεμπόδιση της δράσης των εντόμων. Η ξήρανση μπορεί να επιτευχθεί με τη χρήση ανεμιστήρων, που παρέχουν θερμό αέρα υψηλής ταχύτητας (Montross et al., 1999). Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται και για την απαλλαγή των γεωργικών προϊόντων από την πλεονάζουσα υγρασία, γεγονός που παρεμποδίζει έμμεσα τη δράση των εντόμων, αλλά μπορεί να προκαλέσει σπασίματα στους σπόρους των δημητριακών, καθιστώντας τους ευάλωτους στα έντομα.

Με τη μέθοδο της χρήσης κενού επιδιώκεται η αφαίρεση του ατμοσφαιρικού αέρα από τα γεωργικά προϊόντα που βρίσκονται μέσα σε αποθήκες. Δημιουργούνται συνθήκες, οι οποίες προκαλούν ασφυξία στα έντομα από την έλλειψη αέρα και ταυτόχρονα τη συγκέντρωση διοξειδίου του άνθρακα από την αναπνοή των προϊόντων. Επειδή το μέτρο αυτό είναι δαπανηρό και παρουσιάζει πολλά

μειονεκτήματα (ζυμώσεις, ανάπτυξης αναερόβιων μικροοργανισμών) δεν έτυχε μεγάλης πρακτικής εφαρμογής, αλλά χρησιμοποιείται σε προϊόντα υψηλής αξίας.

Η τεχνολογία των ελεγχόμενων ή τροποποιημένων ατμοσφαιρών είναι μια εναλλακτική μέθοδος ελέγχου πληθυσμών εντόμων που προσβάλλουν προϊόντα που βρίσκονται σε μεγάλους, αλλά καλά κλεισμένους χώρους, μεταβάλλοντας τη σύνθεση του ατμοσφαιρικού αέρα. Ελεγχόμενες ατμόσφαιρες εφαρμόζονται όταν η σύνθεση της ατμόσφαιρας μεταβάλλεται και ελέγχεται συνεχώς, ώστε η αναλογία των αερίων να διατηρείται στα επιθυμητά επίπεδα (Phillips and Throne, 2010). Οι τροποποιημένες ατμόσφαιρες είναι ένα ανοξικό περιβάλλον με βάση την αυξημένη συγκέντρωση αδρανών αερίων, όπως το διοξείδιο του άνθρακα (CO₂) ή μόρια αζώτου (N₂), και τη μειωμένη συγκέντρωση οξυγόνου (O₂) (Navarro, 2006). Με τον τρόπο αυτό επιτυγχάνεται η δημιουργία δυσμενών συνθηκών για την επιβίωση, όχι μόνο των εντόμων, αλλά και των παθογόνων που προσβάλλουν τα αποθηκευμένα προϊόντα. Είναι μια μέθοδος που δεν αφήνει ανεπιθύμητα υπολείμματα, δεν επηρεάζει δυσμενώς το προϊόν ή τις εγκαταστάσεις όπου αυτό είναι αποθηκευμένο και δε φαίνεται να επηρεάζει τη βλαστική ικανότητα των σπόρων. Παρ' όλη την επιτυχία της μεθόδου, αδυνατεί να εφαρμοστεί σε ολόκληρες εγκαταστάσεις, λόγω της ανεπαρκούς στεγανοποίησής τους, αλλά και του κόστους εφαρμογής της (Phillips and Throne, 2010).

1.5.3 Βιολογικές μέθοδοι

Στις βιολογικές μεθόδους η καταπολέμηση των εντόμων γίνεται με τη χρήση φυσικών εχθρών (αρπακτικά ή παρασιτοειδή) και μικροβιακών εντομοκτόνων. Η εφαρμογή τέτοιων μεθόδων μπορεί να παρακάμπτει τα προβλήματα των δυσμενών επιδράσεων από τη χρήση χημικών μέσων, αλλά πρακτικά παρουσιάζονται πολλά προβλήματα αποτελεσματικότητας.

Η χρήση φυσικών εχθρών των εντόμων αποθηκών είναι αρκετά περιορισμένη (Schöller and Flinn, 2000). Η μέθοδος αυτή έχει επιτυχία όταν υπάρχει ένας προγραμματισμός, που βασίζεται στην ορθή επιλογή του φυσικού εχθρού και στο σωστό χρόνο εξαπόλυσής του (Flinn and Schöller, 2012). Το κόστος εφαρμογής, η μη απόλυτη συμβατότητα της μεθόδου με άλλες μεθόδους αντιμετώπισης (π.χ. χημικές) και η ανάγκη ύπαρξης εργαστηρίων αναπαραγωγής των φυσικών εχθρών σε υψηλούς αριθμούς θεωρούνται από τα μειονεκτήματα που περιορίζουν τη χρήση της μεθόδου.

Τα πλεονεκτήματα της βιολογικής καταπολέμησης των εχθρών είναι πολλά σε σχέση με τις παραδοσιακές μεθόδους. Για παράδειγμα οι φυσικοί εχθροί δεν αφήνουν επιβλαβή κατάλοιπα στα προϊόντα που εφαρμόζονται, αντίθετα από τις χημικές μεθόδους. Ο τρόπος δράσης της βασίζεται στον πολλαπλασιασμό των φυσικών εχθρών, χρησιμοποιώντας τις κατάλληλες συνθήκες μέσα στο χώρο της αποθήκης, ελέγχοντας μικρά τμήματα που έχουν προσβληθεί, και όχι το σύνολό της, όπως συνηθίζεται. Οι φυσικοί εχθροί (αρπακτικά και παρασιτοειδή) είναι πολύ μικρά σε μέγεθος, ο κύκλος ζωής τους είναι σύντομος και η αναπαραγωγική ικανότητά τους αρκετά υψηλή, ενώ έχουν την ικανότητα να βρουν τη λεία τους, ακόμα και όταν αυτή βρίσκεται στις ρωγμές της αποθήκης, ή μέσα στον καρπό των δημητριακών (Schöller et al., 1997; Flinn and Schöller, 2012).

Τα μικροβιακά εντομοκτόνα περιλαμβάνουν ιούς, πρωτόζωα, μύκητες, νηματώδεις και βακτήρια (Moore et al., 2000), με μη διαθέσιμα εμπορικά σκευάσματα στους ιούς και τα πρωτόζωα, και με μεγαλύτερο ενδιαφέρον να παρουσιάζεται σε αυτά με μύκητες και βακτήρια. Τα κονίδια των μυκήτων *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) και *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) διαπερνούν τον εξωσκελετό των εντόμων, αναπτύσσονται και τελικά επιφέρουν το θάνατο των εντόμων είτε μόνα τους, είτε σε συνδυασμό με γη διατόμων (Lord, 2001; Michalaki et al., 2006). Στα εντομοκτόνα βακτήρια συμπεριλαμβάνονται οι τοξίνες του *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner (Bacillales: Bacillaceae), που προκαλούν σηψαιμία στο έντομο-στόχο μετά την κατάποσή τους (Starnes et al, 1993; Flinn and Scholler, 2012). Τα πλεονεκτήματα της χρήσης μικροοργανισμών για την προστασία των αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων είναι ότι δεν υπάρχουν άμεσες αρνητικές επιπτώσεις σε οργανισμούς μη στόχους, όπως είναι τα ωφέλιμα έντομα. Επίσης, πολλά βακτήρια παρέχουν μακροχρόνια προστασία και μόνο σε ελάχιστες περιπτώσεις έχει αναπτυχθεί ανθεκτικότητα απέναντι σε αυτά. Ωστόσο, υπάρχουν και μειονεκτήματα, τα οποία περιορίζουν τη σωστή χρήση τους και αφορούν τις ευνοϊκές συνθήκες κάτω από τις οποίες οι μικροοργανισμοί αυτοί μπορούν να δράσουν, ο προσεκτικός προσδιορισμός του χρόνου εφαρμογής τους, καθώς και ο αργός τρόπος δράσης τους (Batta and Kavallieratos, 2017).

1.5.4 Άλλες μέθοδοι

Άλλες μέθοδοι προστασίας αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων είναι η χρήση φυτοχημικών ουσιών φυτικής προέλευσης και ανθεκτικών ποικιλιών, αιθέριων ελαίων και εκχυλισμάτων, η εφαρμογή ακτινοβολίας και η χρήση παγίδων φερομόνης.

Η χρήση των ανθεκτικών ποικιλιών έχει αποδειχθεί ότι αποτελεί ένα πολύτιμο εργαλείο στην προστασία πολλών καλλιεργειών από τα έντομα. Οι ανθεκτικές ποικιλίες είναι φυτά-ξενιστές τα οποία προήλθαν από φυσική επιλογή υπό φυσικές ή τεχνητές συνθήκες προσβολής, είτε από γενετικές τροποποιήσεις. Οι ανθεκτικές ποικιλίες αποθηκευμένων προϊόντων αφορούν ποικιλίες ή υβρίδια σπόρων, σιτηρών και οσπρίων (Tefera et al., 2011; Morton et al., 2000). Για παράδειγμα η γονιδιακή έκφραση του alphaAI-1 σε σπόρους *Pisum sativum* παρέχει ολική προστασία έναντι του εντόμου *Bruchus pisorum* τόσο σε θερμοκήπια, όσο και σε καλλιέργεια στην ύπαιθρο (Morton et al., 2000).

Οι φυτοχημικές ουσίες, είναι ουσίες που παράγουν τα φυτά και τις οποίες χρησιμοποιούν ως άμυνα στα έντομα εχθρούς. Η εφαρμογή αυτών των ουσιών γίνεται με ανάμιξη στο προϊόν, με απευθείας ψεκάσμό ή με τη μορφή ατμών τους (Shaaya and Kostyukovsky, 2011). Τα εμπορικά διαθέσιμα σκευάσματα αιθέριων ελαίων και εκχυλισμάτων εναντίον εντόμων αποθηκών, είναι τα εκχυλίσματα του φυσικού πυρέθρου από το φυτό *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir) Vis, που είναι και το πιο αποτελεσματικό και του δένδρου Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) (Roman, 2016). Το κύριο πρόβλημα των εκχυλισμάτων στην εντομοκτόνο δράση τους είναι η μη σταθερή σύστασή τους και η έλλειψη έρευνας σχετικά με την ασφάλεια εφαρμογής τους για την ανθρώπινη κατανάλωση (González et al., 2014). Στο φυσικό πύρεθρο, η δράση του βελτιώνεται με τη χρήση συνεργιστικών ουσιών όπως του piperonyl butoxide (Phillips and Throne, 2010). Η αστάθειά τους και η γρήγορη διάσπασή τους κατά την έκθεσή τους σε φως, σε υψηλές θερμοκρασίες και στον αέρα, τα καθιστά ακατάλληλα για εφαρμογή, ιδιαίτερα όταν απαιτείται υπολειμματική δράση (Treibs, 1956). Η εισαγωγή κονιορτοποιημένων φύλλων *Salvia officinalis* L. και *Artemisia absinthium* L. σε κόκκους σιταριού είναι αποτελεσματική στη μείωση του μεγέθους του πληθυσμού και στην καθυστέρηση του χρόνου ανάπτυξης του *R. dominica* (Klys, 2004).

Η εφαρμογή της ακτινοβολίας (irradiation) γίνεται με τη μέθοδο της ιονίζουσας και της μη ιονίζουσας ακτινοβολίας. Οι ιονίζουσες ακτινοβολίες χρησιμοποιούνται με τους εξής δύο τρόπους: α) με εφαρμογή κατευθείαν στα προσβεβλημένα προϊόντα (Hallman, 2011) και β) με χρήση τους για στείρωση εντόμων, με σκοπό τη βαθμιαία μείωση των πληθυσμών τους (Dyck et al., 2005). Δύο κυρίως τύποι ακτινοβολίας χρησιμοποιούνται για απεντόμωση προϊόντων: η ακτινοβολία γ , που παράγεται από τα ραδιενεργά ισότοπα Co-60 ή Cs-137 και οι ακτίνες X (ηλεκτρόνια υψηλής ταχύτητας, σωματίδια β μέγιστης ενέργειας 10 MV). Οι ιονίζουσες ακτινοβολίες προκαλούν καθυστερημένη θνησιμότητα στα έντομα, λόγω της διακοπής του κυτταρικού κύκλου, μετά από βλάβη στο DNA από την παραγωγή ιόντων και ελεύθερων ριζών (Hallman and Phillips, 2008). Οι μη ιονίζουσες ακτινοβολίες περιλαμβάνουν τα ραδιοκύματα, τα μικροκύματα και την υπέρυθη ακτινοβολία (Fields et al., 2012). Η υπέρυθη ακτινοβολία εφαρμόζεται, τόσο στο προϊόν, όσο και στο χώρο. Τα μικροκύματα και τα ραδιοκύματα προκαλούν αύξηση της θερμοκρασίας μέσω του ελεύθερου νερού, που υπάρχει στα έντομα (80%) και στα τρόφιμα (5-20%), προκαλώντας το θάνατο των πρώτων (Phillips and Throne, 2010; Fields et al., 2012). Η χρήση ακτινοβολιών είναι μία μέθοδος που δεν αφήνει κατάλοιπα στα προϊόντα και σε αρκετές περιπτώσεις αποδείχθηκε κατάλληλη σαν μέθοδος προστασίας τους (Hallman, 2012).

Η χρήση των φερομονών σε παγίδες γίνεται κυρίως για την παρακολούθηση, αλλά και για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκών και χρησιμοποιούνται τόσο για ιπτάμενα έντομα, όσο και για βαδίζοντα έντομα (Burkholder and Ma, 1985). Υπάρχουν φερομόνες φύλου για περισσότερα από 20 είδη εντόμων αποθηκών (Phillips et al., 2000). Για τον έλεγχο του πληθυσμού των εντόμων αποθηκών χρησιμοποιούνται γενικά δύο μέθοδοι: της μαζικής παγίδευσης και της παρεμπόδισης της σύζευξης των δύο φύλων (Phillips and Throne, 2010). Η πρώτη γίνεται με μαζική σύλληψη ακμαίων εντόμων, τοποθετώντας πολυάριθμες φερομονικές παγίδες είτε φύλου για την προσέλκυση των αρσενικών, είτε συνάθροισης για την προσέλκυση και των δυο φύλων (El-Sayed, 2006; Phillips and Throne, 2010). Η δεύτερη μέθοδος περιλαμβάνει τον κορεσμό ενός χώρου με φερομόνη, έτσι ώστε τα ακμαία αρσενικά άτομα να μην μπορούν να εντοπίσουν τα θηλυκά, οπότε να μην μπορούν να συζευχθούν με αυτά. Σύμφωνα με τους Trematerra et al. (2011b), η μέθοδος της

παρεμπόδισης της συνεύρεσης των δύο φύλων φαίνεται να είναι η πιο πολλά υποσχόμενη.

1.5.5 Χημικές μέθοδοι

Φυτοπροστατευτικό προϊόν (Φ.Π.) είναι «κάθε ουσία ή μίγμα ουσιών συμπεριλαμβανομένων και επεξεργασμένων ή μη φυτικών προϊόντων, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί ως μέσο καταπολέμησης των εχθρών και των ασθενειών των φυτών ή να βελτιώσει την αποτελεσματικότητα των εν λόγω ουσιών» (Νόμος 721/1977). Πριν την αποτελεσματική εφαρμογή ενός εντομοκτόνου, υπάρχει ανάγκη κατανόησης της βασικής βιολογίας, του ενδιαίτηματος και της συμπεριφοράς των εντόμων.

Οι χημικές ουσίες που εφαρμόζονται είναι ουσίες οι οποίες δρουν ως υποκαπνιστικά στις αποθήκες ή ως εντομοκτόνα τόσο στις επιφάνειες της αποθήκης, όσο και στο προϊόν (Rajendran and Sriranjini, 2008). Η χρήση των υποκαπνιστικών ως εντομοκτόνα σε αποθηκευτικούς χώρους είναι ευρεία, καθώς το μεγάλο τους πλεονέκτημα είναι ότι διεισδύουν με ευκολία σε σημεία και χώρους, όπου άλλοι τρόποι αντιμετώπισης είναι πρακτικά αδύνατο να εφαρμοστούν. Σε δεδομένη θερμοκρασία και πίεση βρίσκονται σε αέρια μορφή και σε συγκεντρώσεις τέτοιες που είναι θανατηφόρες για ένα δεδομένο οργανισμό όταν εφαρμοσθούν για ένα καθορισμένο χρονικό διάστημα, δρώντας μέσω ατμών, οι οποίοι εισέρχονται στο σώμα του εντόμου μέσω της αναπνοής. Για την αποφυγή επαναπροσβολής στα προϊόντα, οι εταιρίες εφαρμόζουν τα υποκαπνιστικά σε τακτική βάση. Ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να λαμβάνεται στις περιπτώσεις, που η δόση είναι μικρότερη από την ενδεδειγμένη, καθώς οδηγεί σε ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα είδη των εντόμων (Subramanyam and Hagstrum, 1996). Σημαντική προϋπόθεση για την επιτυχή απεντόμωση με τα υποκαπνιστικά εντομοκτόνα είναι η στεγανότητα της αποθήκης.

Η φωσφίνη χρησιμοποιείται παγκοσμίως για την απεντόμωση αποθηκευμένων προϊόντων, ιδιαίτερα μετά την απαγόρευση του βρωμιούχου μεθυλίου, εξαιτίας της ομοιόμορφης και εύκολης εξάπλωσής της και διείσδυσής της, τόσο στο χώρο της αποθήκης, όσο και απευθείας στα αποθηκευμένα προϊόντα. Έτσι, σήμερα, η φωσφίνη αποτελεί το σημαντικότερο αέριο εντομοκτόνο, με ευρύτατη χρήση σε διάφορα προϊόντα και χώρους. Βέβαια, η χρήση της παρουσιάζει κάποια μειονεκτήματα, όπως το γεγονός ότι εισέρχεται στον οργανισμό μέσω του αναπνευστικού συστήματος με υψηλή τοξικότητα στα θερμόαιμα, ότι είναι ιδιαίτερα εύφλεκτη σε υψηλές

συγκεντρώσεις και ότι έχει μικρή υπολειμματική δράση με αποτέλεσμα την εφαρμογή αυξημένων δόσεων σε παρατεταμένους χρόνους έκθεσης. (Lyubimov and Garry, 2010). Το κόστος χρήσης της αυξάνεται επίσης γιατί πρέπει να εξασφαλιστεί καλή σφράγιση των προϊόντων και των εγκαταστάσεων για την αποφυγή διαρροών και για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Η υψηλή διαβρωτική της ικανότητα σε ορισμένα μέταλλα καθιστά απαγορευτική τη χρήση της σε βιομηχανίες, ενώ η ανάπτυξη ανθεκτικότητας από πολλά σημαντικά είδη εντόμων καθιστά αναποτελεσματική τη χρήση της σε πολλές περιπτώσεις (Phillips et al., 2012).

Η χρήση εντομοκτόνων επαφής κατά των εντόμων αποθηκών με εφαρμογή σε επιφάνειες και προϊόν είναι αποτελεσματική, εύκολη και ασφαλής, έχει χαμηλό κόστος και παρέχει υπολειμματική προστασία για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά την εφαρμογή (Arthur, 1996). Από την ανακάλυψη των οργανοχλωριωμένων και μετά, οι έρευνες συνεχίστηκαν με τη σύνθεση και την εμπορική διαθεσιμότητα εκατοντάδων εντομοκτόνων, που κατατάσσονται σε διάφορες κατηγορίες, με μοναδικά προφίλ τοξικότητας, τόσο σε έντομα, όσο και σε θηλαστικά. Οποιαδήποτε διαδικασία κι αν χρησιμοποιείται, η πλειοψηφία των εντομοκτόνων που εφευρίσκονται είναι νευροτοξίνες, που στοχεύουν σε ένα από τα παρακάτω τέσσερα σημεία στα έντομα: στην παραγωγή προσυναπτικής ακετυλοχολίνης, στην παρεμπόδιση του νευροδιαβιβαστή GABA, στην τάση που ρυθμίζεται από το κανάλι νατρίου και στην επίδραση στο μετασυναπτικό υποδοχέα ακετυλοχολίνης (Lund, 1985; Wing and Ramsay, 1989). Οι δύο κύριες ομάδες που χρησιμοποιήθηκαν περισσότερο δρουν στο νευρικό σύστημα των εντόμων, ως αναστολείς της ακετυλοχολινεστεράσης (AChE), δεσμεύοντας το ένζυμο αυτό (οργανοφωσφορικά), είτε δρώντας στις νευρικές συνάψεις στις διαύλους ιόντων Νατρίου (πυρεθροειδή). Ενώ έχει αποδειχθεί η αποτελεσματικότητά τους εναντίον των σπουδαιότερων εντόμων αποθηκών, και έχουν άδεια χρήσης για το σκοπό αυτό, προέκυψαν θέματα με την ασφάλεια της χρήσης τους, λόγω της τοξικής επίδρασης των υπολειμμάτων τους στην υγεία, καθώς αρκετά από αυτά έχουν υψηλή τοξικότητα για τον άνθρωπο και τα θερμόαιμα (Arthur, 1996). Επίσης, η ανάπτυξη ανθεκτικότητας αρκετών εντόμων αποθηκών από την ευρεία και πολλές φορές μη ορθή χρήση των εντομοκτόνων είναι πολύ σημαντική τροχοπέδη (Subramanyam and Hagstrum, 1996; Arthur, 1996; Lorini and Galley, 1999).

Τα κύρια πλεονεκτήματα των εντομοκτόνων επαφής έναντι των υποκαπνιστικών καπνογόνων είναι ότι: α) έχουν εύκολη εφαρμογή, β) δεν απαιτούνται ειδικές εγκαταστάσεις και κατάλληλοι αποθηκευτικοί χώροι, γ) δεν είναι τόσο επικίνδυνα όσο τα υποκαπνιστικά και δ) έχουν μακρά υπολειμματική δράση συγκριτικά με τα υποκαπνιστικά που η δράση τους περιορίζεται σε μερικά εικοσιτετράωρα από την ώρα εφαρμογής τους. Ωστόσο, τα εντομοκτόνα επαφής έχουν και μειονεκτήματα, όπως: α) δεν έχουν άμεσο και καθολικό αποτέλεσμα στην καταπολέμηση της προσβολής, γεγονός που οφείλεται στο ότι τα εντομοκτόνα δεν σκοτώνουν την «κρυμμένη» προσβολή (π.χ. τα ωά που υπάρχουν μέσα στους σπόρους, σε αντίθεση με τα υποκαπνιστικά) και β) παρά το γεγονός ότι τα εντομοκτόνα χρησιμοποιούνται πάνω στη μάζα των σπόρων και εφαρμόζονται σε δόσεις κάτω από ανεκτά όρια υπολειμμάτων, αφήνουν κάποια υπολείμματα πάνω στους σπόρους, κάτι που δεν συμβαίνει με τα υποκαπνιστικά που αφήνουν ελάχιστα ή σχεδόν καθόλου υπολείμματα.

Οι ρυθμιστές ανάπτυξης (IGRs) παρεμβαίνουν στην ανάπτυξη των ανήλικων σταδίων, διακόπτοντας τη μεταμόρφωση. Οι IGRs διακρίνονται σε ορμόνες νεότητας, αναστολείς σύνθεσης της χιτίνης και παράγωγα τριαζίνης (Bowers, 1971). Η ομάδα των ρυθμιστών ανάπτυξης που χρησιμοποιούνται όπως το methoprene, το hydroprene και το pyriproxifen ανήκουν κυρίως στην κατηγορία των μιμητών ορμονών νεότητας και δρουν διακόπτοντας τη μεταμόρφωση των εντόμων (Peckman and Arthur, 2006). Η χρήση τους δεν είναι εκτεταμένη πιθανώς λόγω του κόστους (Arthur, 1996) και της μη θανάτωσης των ακμαίων, τα οποία συνεχίζουν να προκαλούν ζημιά στο προϊόν μετά την εφαρμογή τους (Phillips and Throne, 2010).

Οι αβερμεκτίνες (Fisher, 1990) είναι επίσης πολύ δραστικές ουσίες που στοχεύουν στη θέση του νευροδιαβιβαστή GABA. Οι αβερμεκτίνες, η ιβερμεκτίνη και η αβαμεκτίνη είναι μεταβολίτες ζύμωσης του ακτινομύκητα *Streptomyces avermitylis* και έχουν ένα ευρύ φάσμα δραστηριότητας κατά των αρθρόποδων και των νηματωδών (Wall and Shearer, 1997). Επίσης, από τους μεταβολίτες του βακτηρίου *Saccharopolyspora spinosa*, το spinosad (ένα φυσικό μείγμα της σπινοςίνης A και σπινοςίνης D) δρα στο νευρικό σύστημα των εντόμων σε μια μοναδική θέση στο νικοτινικό υποδοχέα της ακετυλοχολίνης, μέσω της επαφής ή της κατάποσης (Larson, 1997; Dripps et al., 2011) προκαλώντας το θάνατο. Οι Vassilakos et al. (2012) παρατήρησαν στην έρευνά τους ότι τα αποτελέσματα της χρήσης του spinetoram

κατά έξι εχθρών αποθηκευμένων προϊόντων συμφωνούν με τα αποτελέσματα της παραπάνω έρευνας με το spinosad, ενώ σε μερικές περιπτώσεις το spinetoram ήταν αποτελεσματικότερο του spinosad.

Στις μέρες μας η χημική μέθοδος είναι η πιο διαδεδομένη για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκών και πολλές φορές χρησιμοποιείται και στην ολοκληρωμένη διαχείριση. Η σημερινή κατάσταση θα μπορούσε να οδηγήσει στο να καταστούν τα εντομοκτόνα το κυρίαρχο μέτρο ελέγχου κατά των επιβλαβών οργανισμών των αποθηκών. Επιπλέον, τα προστατευτικά εντομοκτόνα (α) μπορούν να εφαρμοστούν εύκολα χωρίς εξειδικευμένο εξοπλισμό, (β) είναι συμβατά με το διεθνές εμπόριο δημητριακών και τους παγκόσμιους περιορισμούς για μηδενική ανοχή εντόμων, (γ) είναι γενικά φθηνότερα από τα υποκαπνιστικά ή τα βιοκτόνα και (δ) είναι αποτελεσματικά έναντι ενός ευρέος φάσματος εντόμων αποθηκών (Arthur, 1996). Επομένως, είναι πιθανό ότι τα προστατευτικά εντομοκτόνα θα συνεχίσουν να αποτελούν πολύτιμο εργαλείο σε προγράμματα διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών (White and Leesch, 1995; Arthur, 1996).

1.6. ΤΑ ΝΕΟΝΙΚΟΤΙΝΟΕΙΔΗ ΚΑΙ Η ΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΟΣ ΔΡΑΣΗ ΤΟΥΣ

1.6.1 Εισαγωγή

Η αυξημένη ζήτηση για πιο στοχευμένα εντομοκτόνα με τις μικρότερες ανεπιθύμητες παρελκόμενες επιδράσεις στο περιβάλλον οδήγησε στην ανακάλυψη των νεονικοτινοειδών. Η ραγδαία αύξηση της χρήσης τους σημειώθηκε από τις αρχές της δεκαετίας του 2000 και έπειτα. Αυτή η αύξηση οφείλεται ως επί το πλείστον στην υιοθέτηση νέων μεθόδων φυτοπροστατευτικής διαχείρισης των καλλιεργειών και στις τεχνικές επικάλυψης των σπόρων με φυτοπροστατευτικά (Jeschke et al., 2011; Casida and Durkin, 2013), καθώς και στο γεγονός ότι είναι πιο συμβατά με προγράμματα ολοκληρωμένης διαχείρισης (IPM), σε σχέση με αρκετά από τα παλιότερα εντομοκτόνα (Millar and Denholm, 2007). Τα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα εισήχθησαν για πρώτη φορά τη δεκαετία του 1990 και έκτοτε έχουν καταστεί ως μια από τις πλέον διαδεδομένες κατηγορίες εντομοκτόνων που χρησιμοποιούνται στη γεωργία παγκοσμίως. Πριν την εισαγωγή τους στην αγορά, τα εντομοκτόνα που

κυκλοφορούσαν (εκφρασμένα σε ποσοστό) ήταν τα οργανοφωσφωρικά (43%), τα πυρεθροειδή (18%), και τα καρβαμιδικά (16%) (Elbert, 2008). Όλα τα νεονικοτινοειδή δρουν ως ανταγωνιστές στους υποδοχείς της νικοτινικής ακετυλοχολίνης (nAChRs) στο κεντρικό νευρικό σύστημα των εντόμων-στόχων, προκαλώντας τους παράλυση ή θάνατο (Goulson, 2013; Matsuda et al., 2001).

Τα νεονικοτινοειδή είναι υδατοδιαλυτές ενώσεις, που ακόμα και η μικρή ποσότητα που εφαρμόζεται στον σπόρο έχει την ικανότητα να διαλυθεί όταν έρθει σε επαφή με το νερό και να απορροφηθεί από τις ρίζες του αναπτυσσόμενου φυτού. Μόλις εισέλθει στο φυτό, γίνεται διασυστηματικό και εντοπίζεται στους αγγειακούς ιστούς και το φύλλωμα, παρέχοντας προστασία έναντι των εντόμων. Ωστόσο, περίπου μόνο το 5% της δραστικής ουσίας του εκάστοτε νεονικοτινοειδούς απορροφάται από τα φυτά κατά τη συγκομιδή και το υπόλοιπο διασκορπίζεται στο ευρύτερο περιβάλλον (Sur and Stork, 2003; Goulson 2014). Η προφυλακτική χρήση των νεονικοτινοειδών με την επικάλυψη των σπόρων έχει γίνει εξαιρετικά διαδεδομένη. Για παράδειγμα οι Douglas and Tooker (2015) επισημαίνουν ότι στις ΗΠΑ το 2011, το 34-44% των εκταρίων σόγιας και το 79-100% των εκταρίων του αραβόσιτου καλλιεργήθηκε με σπόρους που ήταν επενδεδυμένοι με κάποιο νεονικοτινοειδές. Επίσης διατηρούν τις εντομολογικές προσβολές σε χαμηλά επίπεδα, ακόμα κι όταν εφαρμόζονται σε μειωμένες συγκεντρώσεις (Kurwadkar and Evans, 2016).

Για πολλά χρόνια, τα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα, παρουσιάζοντας τα πλεονεκτήματα που αναφέρθηκαν, είχαν μια άνευ προηγουμένου επιτυχία και αποτέλεσαν ορόσημο για τη σύγχρονη γεωργία (Jeschke and Nauen, 2008). Από τη στιγμή της αρχικής ανάπτυξης και πώλησής τους, πολλοί ερευνητές άρχισαν να εκφράζουν ανησυχίες σχετικά με τη χρήση τους και τις επιπτώσεις που μπορεί να έχουν σε οργανισμούς μη-στόχους. Η ασφάλεια της χρήσης τους τέθηκε πιο πολύ υπό αμφισβήτηση, λόγω του κινδύνου που έθεταν τις μέλισσες. Στην Ευρώπη (Γερμανία και Ιταλία) τα νεονικοτινοειδή που απελευθερώθηκαν σε μορφή σκόνης από μηχανήματα σποράς ενοχοποιήθηκαν για τη δηλητηρίαση των μελισσών (Pistorius et al., 2009; Bortolotti et al., 2009). Το 2012 δημοσιεύτηκαν στο περιοδικό Science οι μελέτες των Henry et al. (2012) και Whitehorn et al. (2012) που έδειξαν ότι η έκθεση της γύρης και του νέκταρ σε νεονικοτινοειδή θα μπορούσε να έχει σοβαρές επιπτώσεις στην πτήση των μελισσών, στο ποσοστό επιβίωσής τους, στην ανάπτυξη αποικιών και στην δημιουργία μιας νέας βασίλισσας. Ως απάντηση στο αυξανόμενο

όγκο ερευνών και ανησυχητικών αποτελεσμάτων, ανατέθηκε στην Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων (European Food Safety Authority, EFSA) να εκπονήσει μελέτες αξιολόγησης του κινδύνου για τα τρία πλέον χρησιμοποιούμενα γεωργικά νεονικοτινοειδή, το clothianidin, το thiamethoxam και το imidacloprid και τον κίνδυνο που ενέχουν για τις μέλισσες (EFSA 2013a, b, c).

1.6.2 Νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα

Το εκχύλισμα καπνού και η νικοτίνη (σε διάφορες μορφές της) ήταν γνωστά από το 1690 για τη χρήση τους στην καταπολέμηση των εντομολογικών προσβολών (Schmeltz, 1971). Μαζί με το πύρεθρο και τη ροτενόνη, η νικοτίνη ήταν ένα από τα τρία βασικά εντομοκτόνα φυτικής προέλευσης. Η νικοτίνη είναι το φυσικό αλκαλοειδές που βρίσκεται στα φύλλα του *Nicotiana tobacum* της οικογένειας Solanaceae και χρησιμοποιήθηκε ευρέως σαν δηλητήριο επαφής, καπνιστικό, ή εντομοκτόνο κατάποσης (Yamamoto, 1965; Yamamoto et al., 1998; Casida and Quistad, 1998; Leonard and Julius, 2000). Η χρήση της νικοτίνης ως εντομοκτόνο δεν είχε την αναμενόμενη επιτυχία, καθώς καταργήθηκε σταδιακά και αντικαταστάθηκε από τα νεονικοτινοειδή, επειδή ήταν μη συστηματικό και πτητικό, και είχε τοξικές ιδιότητες στα έντομα και στα θηλαστικά με μειωμένη δραστηριότητα, λόγω της περιορισμένης μετακίνησης και απορρόφησης της δραστικής ουσίας από το νευρικό σύστημα των εντόμων (Negherbon, 1959; Ujvary, 1999; Yamamoto, 1999; Tomlin, 2003).

Η νιθιαζίνη, μια νιτρομεθυλιωμένη ετεροκυκλική οργανική ένωση, ήταν το πρώτο πρωτότυπο νεονικοτινοειδούς που αναπτύχθηκε από την Shell Development Company το 1978 (Yamamoto και Casida, 1999). Είχε εξαιρετική εντομοκτόνο δράση, καλή συστηματική δράση στα φυτά και χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά. Ωστόσο, η νιθιαζίνη ήταν εξαιρετικά φωτοευαίσθητη (γρήγορη αποσύνθεση στο φως του ήλιου). Ο Kagabu (1997) τροποποίησε τη δομή της νιθιαζίνης και συνέθεσε μια σειρά ενώσεων με διάφορες δομές δακτυλίου και υποκαταστάτες, γεγονός που οδήγησε στην ανακάλυψη του πρώτου εξαιρετικά ενεργού νεονικοτινοειδούς, του imidacloprid (Kagabu, 2011).

Τα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα είναι συνθετικά παράγωγα της νικοτίνης (Andersson et al., 2015) και είναι αποτελεσματικά στην καταπολέμηση των εντόμων ακόμα και σε μικρές συγκεντρώσεις. Όπως και η νικοτίνη, μιμούνται τη δράση της

ακετυλοχολινεστεράσης, που είναι ο κύριος νευροδιαβιβαστής στο κεντρικό νευρικό σύστημα των εντόμων (Thany, 2010). Δρουν επιλεκτικά σαν ανταγωνιστές στους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης (nAChRs) (Matsuda et al., 2001), οι οποίοι είναι υπεύθυνοι για την άμεση νευροδιαβίβαση στο κεντρικό νευρικό σύστημα (Casida and Quistad, 2004). Στα έντομα, η σύντομη έκθεση έχει σαν αποτέλεσμα την παράλυση και τον θάνατο, γιατί το νεονικοτινοειδές συνδέεται ισχυρά στους nAChRs, προκαλώντας υπερδιέγερση και έμφραξη στους υποδοχείς (Tomizawa and Casida, 2005). Αντίθετα με τη νικοτίνη, ο δεσμός συγγένειας των νεονικοτινοειδών στο nAChR των θηλαστικών είναι πολύ πιο μικρός απ' ότι στο nAChR των εντόμων (Tomizawa and Casida, 2003), δίνοντας σχετικά χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά.

Όταν τα νεονικοτινοειδή εισήχθησαν στην αγορά αντιμετωπίστηκαν σαν εντομοκτόνα φιλικά προς το περιβάλλον και ως εναλλακτικά των ήδη υπαρχόντων από τη στιγμή που δεν επιδρούσαν σε είδη μη-στόχους, όπως τα θηλαστικά (Schaafsma et al., 2015). Αυτή η ιδιότητα, οδήγησε σε αλλαγή της χρήσης τους, με αποτέλεσμα συχνά οι αγρότες να μην περιμένουν την εμφάνιση εντομολογικής προσβολής και να προχωρούν στην εφαρμογή τους, πριν ακόμα υπάρξει κάποιο σημάδι προσβολής (Schaafsma et al., 2016). Αυτή η διαδεδομένη χρήση όμως ερχόταν σε αντίθεση με τα προγράμματα της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης (Goulson, 2013). Το γεγονός αυτό και η δράση τους ακολούθησε μια αυξημένη τάση προς την γεωργία, ειδικά στη Βόρεια Αμερική, όπου οι αγρότες ήταν ικανοί να διασφαλίσουν την εφαρμογή του εντομοκτόνου σε κάθε φυτό, μειώνοντας ταυτόχρονα τις επιδράσεις στο περιβάλλον από τη μείωση των ψεκασμών (Elbert, 2008; Hladik, 2014). Οι πληθυσμοί των εντόμων-εχθρών με υψηλή πίεση επιλογής στο εντομοκτόνο αναπόφευκτα αναπτύσσουν ανθεκτικότητα στη δραστική ουσία και συχνά διασταυρούμενη ανθεκτικότητα σε προϊόντα με παρόμοια δομή ή με τον ίδιο μηχανισμό δράσης. Το επίπεδο της ανθεκτικότητας και το εύρος της διασταυρούμενης ανθεκτικότητας εξαρτώνται από τους εκάστοτε μηχανισμούς δράσης, όπως η θέση του στόχου και ο μεταβολισμός του εντομοκτόνου. Αποτελέσματα έδειξαν την ύπαρξη φαινομένων διασταυρούμενης ανθεκτικότητας και στα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα (Mota-Sanchez et al., 2006; Alyokhin et al., 2007; Roditakis et al., 2009). Η ανάπτυξη όμως της ανθεκτικότητας των εντόμων στα νεονικοτινοειδή είναι βραδεία σε σύγκριση με άλλες κατηγορίες εντομοκτόνων (Nauen and Denholm, 2005; Thany, 2010).

Σύμφωνα με την ταξινόμηση των εντομοκτόνων κατά IRAC (Insecticide Resistance Action Committee, 2020; Sparks and Nauen, 2015) στην τέταρτη ομάδα δράσης (Mode of action, MoA) κατατάσσονται εντομοκτόνα που δρουν ως ανταγωνιστές στους νικοτινικούς υποδοχείς της ακετυλοχολίνης και διαιρείται σε πέντε υπο-ομάδες. Η υπο-ομάδα του ενδιαφέροντος μας είναι η 4A όπου ανήκουν τα νεονικοτινοειδή (Sheets, 2010) (Acetamiprid (Maienfisch et al., 2001a), Clothianidin (Ohkawara et al., 2002), Dinotefuran (Kodaka et al., 1998; Nauen and Denholm, 2005), Imidacloprid, Nitenpyram, Thiacloprid (Jeschke et al., 2001), Thiamethoxam (Maienfisch et al., 1999) τα οποία έχουν σαφή πλεονεκτήματα με χαμηλότερα επίπεδα δόσεων και ευρύτερο φάσμα ελέγχου εντόμων σε περισσότερες γεωργικές καλλιέργειες από άλλα εντομοκτόνα (Senn et al., 1998). Στην ομάδα 4 αναφέρονται επίσης η υπο-ομάδα 4B όπου ανήκει η νικοτίνη, η 4C με τις σουλφοξαμίνες (Sulfoxaflor (Sparks et al., 2013)) και η 4D όπου ανήκουν οι βουτενολίδες (Flupyradifurone (Cutler et al., 2012)) και η 4E με τα Mesoionics (Triflumezopyrim).

Από τα νεονικοτινοειδή, το imidacloprid αποτέλεσε το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο εντομοκτόνο στην παγκόσμια αγορά, φημισμένο για την αποτελεσματικότητά του. (Gervais et al., 2010). Η χρήση του imidacloprid παρουσίασε μια μείωση υπέρ των άλλων νεονικοτινοειδών σε μερικές περιοχές (Walters, 2013), όμως το 2016 ήταν παγκοσμίως το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο εντομοκτόνο (Kurwadkar and Evans, 2016). Η χρήση του thiamethoxam έχει καταγραφεί σε πολλές χώρες (Jeschke et al., 2011). Το clothianidin είναι ο τοξικός μεταβολίτης που προέρχεται από το thiamethoxam (Nauen et al., 2003), το οποίο από μόνο του είναι ένα πολύ δημοφιλές φυτοπροστατευτικό προϊόν.

Ο όρος νεονικοτινοειδή προτάθηκε το 1993 για να καλύψει όλα τα παραπάνω εντομοκτόνα (Yamamoto and Casida, 1999). Από τη στιγμή της εδραίωσης των νεονικοτινοειδών, η ομάδα αυτή των εντομοκτόνων θεωρείται μια από τις πιο επιτυχημένες εμπορικά παγκοσμίως, που αποδίδεται στην ευελιξία της χρήσης τους. Η χρήση τους διευρύνθηκε συμπεριλαμβάνοντας γεωργικές, οικιακές και κτηνιατρικές εφαρμογές (Simon-Delso et al., 2015). Η αρχική χρήση των νεονικοτινοειδών ήταν στη γεωργία ενάντια στα μυζητικά και μασητικά έντομα. Αντίθετα με την εφαρμογή των οργανοφωσφορικών, πυρεθροειδών και καρβαμιδικών που γινόταν με ψεκασμό στα χωράφια, τα νεονικοτινοειδή αναπτύχθηκαν κυρίως με επικάλυψη των σπόρων (Douglas and Tooker, 2015). Με

την επικάλυψη των σπόρων των φυτών με νεονικοτινοειδή πριν τη φύτευση και κατά την ανάπτυξη του φυτού, το εντομοκτόνο διαχέεται σε ολόκληρο το ριζικό σύστημα, βλαστό και φύλλα (Alford and Krupke, 2017). Τα νεονικοτινοειδή μπορούν επίσης να εφαρμοστούν μέσω των συστημάτων άρδευσης στα φυτά. Η διασυστηματική δράση επιτρέπει την άμεση στόχευση των εντόμων που επιτίθενται στο φυτό και τρέφονται από τους ιστούς του. Η προστασία επεκτείνεται σε όλο το φυτό και μπορεί να διατηρηθεί για μήνες (Jeschke et al., 2011). Οι μεταχειρίσεις των σπόρων με τα νεονικοτινοειδή μπορούν να προστατεύσουν την απόδοση μιας καλλιέργειας σε ειδικές περιπτώσεις, όπως σε όψιμες καλλιέργειες ή σε περιοχές όπου έχουν εντοπιστεί μεγάλες εντομολογικές προσβολές πολύ νωρίς κατά την καλλιεργητική περίοδο (Hodgson et al., 2012). Τα νεονικοτινοειδή χρησιμοποιούνται σε μια πληθώρα καλλιεργειών συμπεριλαμβανομένων και των δημητριακών, όπως το βαμβάκι, τα φρούτα, ο αραβόσιτος, οι πατάτες, το ρύζι, τα σακχαρότευτλα και τα λαχανικά (Meister, 2005).

1.6.3 Οικονομικά στοιχεία

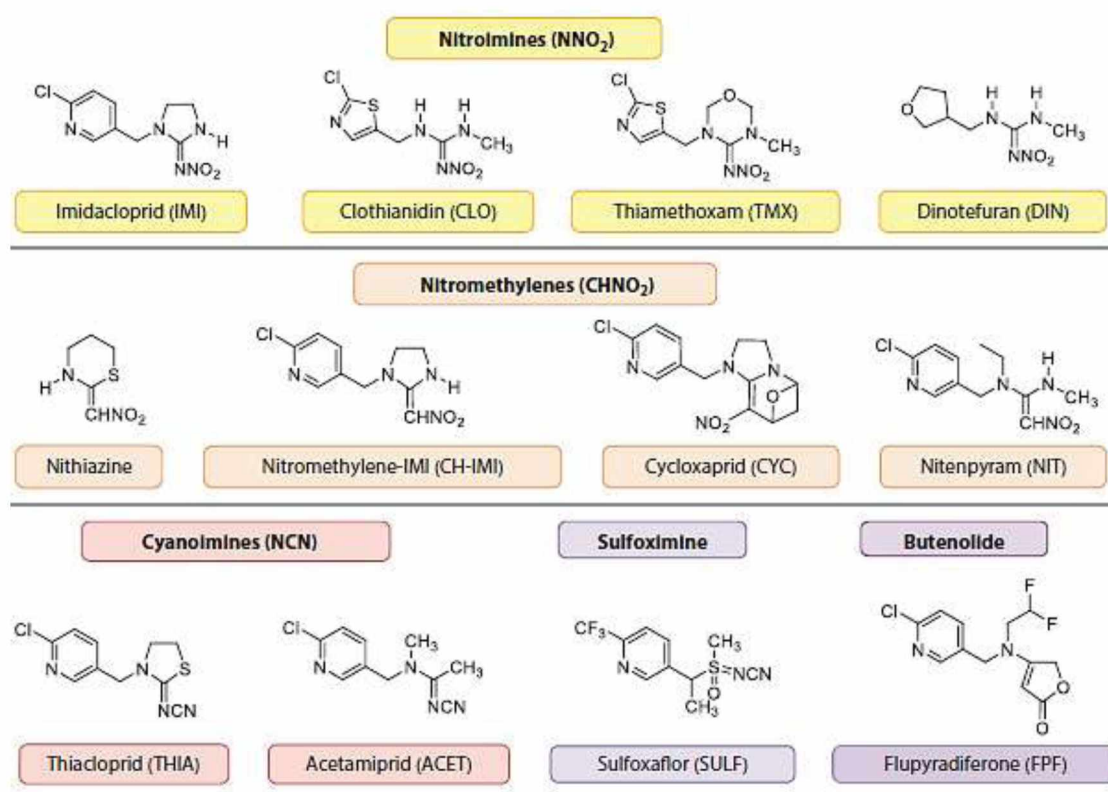
Τα νεονικοτινοειδή έχουν καταχωρηθεί και διακινούνται σε περισσότερες από 120 χώρες (Nauen, 2008). Το 2008 το συνολικό μέγεθος διακίνησης έφτασε το 1.5 δις ευρώ με κάλυψη που αντιστοιχεί στο 24% της παγκόσμιας αγοράς των εντομοκτόνων (Bass, 2015). Μετά την εισαγωγή των πρώτων νεονικοτινοειδών τη δεκαετία του 1990 η αγορά διευρύνθηκε σημαντικά και συμπεριέλαβε και άλλες δραστικές, μεταξύ των οποίων και το thiamethoxam (Elbert et al., 1990; Maienfisch et al., 2001a). Η αγορά αυτή αυξήθηκε από 155 εκατ. ευρώ το 1990 σε 957 εκατ. ευρώ το 2008, αποτελώντας το 80% όλων των μεταχειρίσεων των σπόρων. Από το 2011 διακινούνται στην αγορά επτά νεονικοτινοειδή από διαφορετικές εταιρείες (Jeschke et al., 2011).

1.6.4 Δομή, σύνθεση και φυσικά χαρακτηριστικά νεονικοτινοειδών

Η μοναδική δομή των νεονικοτινοειδών εντομοκτόνων επιτρέπει να προσδεθούν αποτελεσματικά στο nAChR των εντόμων (Εικόνα 8) (Casida, 2018). Τα νεονικοτινοειδή στοχεύουν στο χολινεργικό σύστημα που βρίσκεται στο εσωτερικό του κεντρικού νευρικού συστήματος (ΚΝΣ) των εντόμων. Ωστόσο, στα θηλαστικά το χολινεργικό σύστημα υπάρχει τόσο στο περιφερειακό νευρικό σύστημα (ΠΝΣ), όσο και στο κεντρικό (ΚΝΣ) (Yamamoto και Casida, 1999). Στο εσωτερικό του

χολινεργικού συστήματος υπάρχουν δύο τύποι υποδοχέων ακετυλοχολίνης: υποδοχείς νικοτινικής ακετυλοχολίνης (nAChR) και υποδοχείς μουσκαρινικής ακετυλοχολίνης (mAChR).

Η ακετυλοχολίνη (ACh) είναι ο σημαντικός διεγερτικός νευροδιαβιβαστής του χολινεργικού συστήματος. Οι υποδοχείς της ακετυλοχολίνης είναι πρωτεΐνες που καλύπτουν τη μετασυναπτική μεμβράνη. Όταν η ACh απελευθερώνεται από τον προσυναπτικό νευρώνα, δεσμεύεται στους υποδοχείς της ακετυλοχολίνης (AChRs) στον προσυναπτικό ή μετασυναπτικό νευρώνα εντός του ΚΝΣ ή στη νευρομυϊκή σύνδεση εντός του ΠΝΣ. Στην περίπτωση των νικοτινικών ακετυλοχολικών υποδοχέων (nAChR), η δέσμευση ACh προκαλεί το άνοιγμα στο πλέγμα πρόσδεσης στο κανάλι ιόντων, επιτρέποντας εισροή Na^+ (και μερικές φορές Ca^{2+}) και εκροή K^+ .

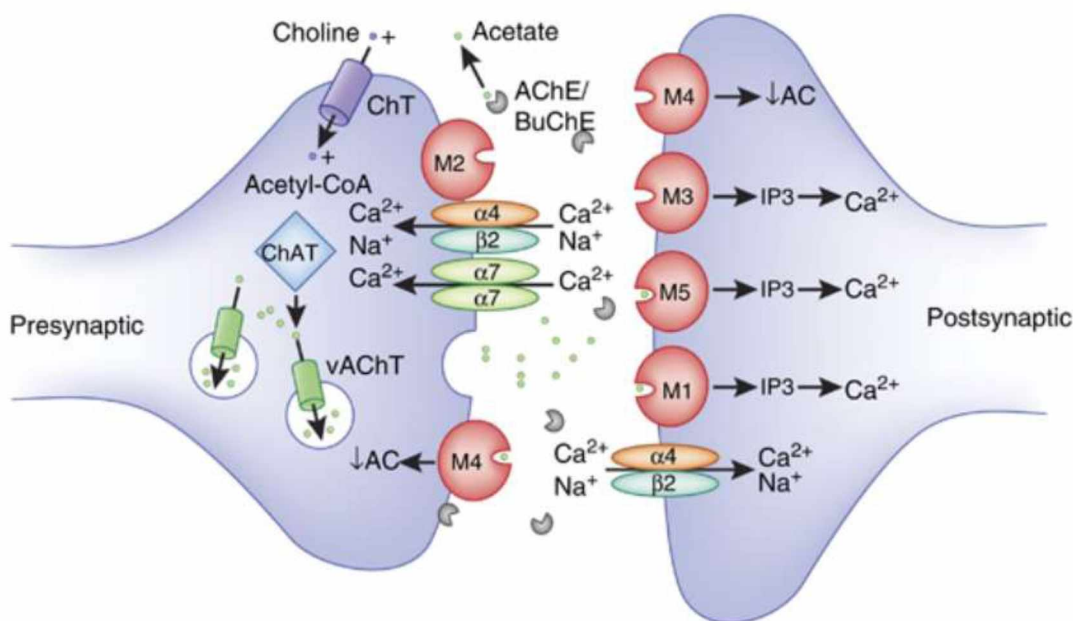


Εικόνα 8: Οι βασικότερες ομάδες νεονικοτινοειδών και οι συντακτικοί τους τύποι (Casida, 2018)

Η τοξικότητα των νεονικοτινοειδών προκαλείται από την αντικατάσταση της ACh στους nAChRs υποδοχείς (Taillebois et al., 2018; Casida, 2018). Επιπροσθέτως, η

ακετυλοχολινεστεράση δεν μπορεί να διασπάσει τα νεονικοτινοειδή και η σύνδεσή τους με τους nAChRs υποδοχείς είναι μη αναστρέψιμη (Taillebois et al., 2018). Προκειμένου τα νεονικοτινοειδή να επιφέρουν τα θανατηφόρα αποτελέσματά τους στα έντομα, πρέπει να διασχίσουν το φράγμα του ΚΝΣ. Σε φυσιολογικό pH, τα νεονικοτινοειδή δεν είναι πρωτονιωμένα και μπορούν να διεισδύσουν εύκολα στο ΚΝΣ του εντόμου (Εικόνα 9). Αφού διαπεράσουν το ΚΝΣ, τα νεονικοτινοειδή δεσμεύουν το nAChR με αποτέλεσμα το άνοιγμα του διαύλου ιόντων, τη συνεχή νευρική μετάδοση και την υπερδιέγερση του χολινεργικού συστήματος.

Τα νεονικοτινοειδή διαφοροποιούνται στη δομή τους από τις άλλες ομάδες των εντομοκτόνων, καθώς είναι σχεδιασμένα να ενισχύουν το δεσμό εντός της θέσης του νικοτινικού ακετυλοχολινικού υποδοχέα (nAChR), προσλαμβάνοντας μια αζωτο-ομάδα ή μια κυανο-ομάδα στην ενεργή αλυσίδα.



Εικόνα 9: Το χολινεργικό σύστημα αποτελείται από nAChRs και mAChRs (Jones et al., 2012)

Η πλειοψηφία των άλλων εντομοκτόνων αναστέλλει τη λειτουργία της ακετυλοχολινεστεράσης. Στα θηλαστικά, η ηλεκτροαρνητική οντότητα μεταβολίζεται σε πρωτονιωμένη ή οξειδωμένη εκδοχή του νεονικοτινοειδούς, η οποία δεν δεσμεύεται αποτελεσματικά εντός του nAChR, μειώνοντας σημαντικά την τοξικότητα στα θηλαστικά. Σε αντίθεση με τη χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά, τα έντομα έχουν ένα επιπλέον κατιονικό αμινοξύ που βρίσκεται στο nAChR του. Αυτό

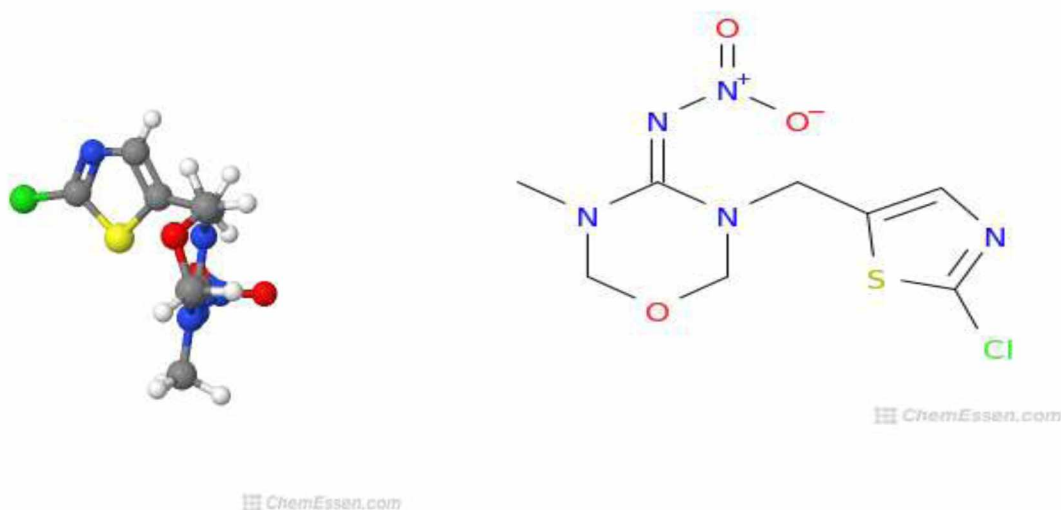
επιτρέπει στο ηλεκτροαρνητικό νεονικοτινοειδές να συντονίζεται πιο έντονα εντός του υποδοχέα, δημιουργώντας ένα ισχυρό και ιδιαίτερα στοχευμένο εντομοκτόνο. Επιπλέον, τα σπονδυλωτά έχουν μικρότερο αριθμό υποδοχέων nACh, ικανών να συνδέονται με νεονικοτινοειδή από ότι τα έντομα, καθιστώντας τα εντομοκτόνα ιδιαίτερα χρήσιμα στη στόχευση συγκεκριμένων ειδών.

Το μοριακό βάρος των νεονικοτινοειδών κυμαίνεται μεταξύ 222 και 291 g mol⁻¹, με logP τιμές μεταξύ -0.66 και 1.26 (Tomizawa and Casida, 2005; Bonmatin, 2015). Οι σχετικά χαμηλές τιμές του logP δείχνουν όπως αναμένεται μια δυνατή συγγένεια με το νερό. Οι διαλυτότητες των νεονικοτινοειδών στο νερό κυμαίνεται μεταξύ 184 και 590 000 mg L⁻¹ (Tomizawa and Casida, 2005). Ο χρόνος ημιζωής τους στο περιβάλλον ποικίλλει με αποσύνθεση αρχικά μέσω της υδατικής φωτόλυσης. Ο χρόνος ημιζωής ποικίλλει με ελάχιστο τις 0.1 ημέρες από το σταθερό, δείχνοντας ότι το συστατικό είναι ανθεκτικό στην αποσύνθεση. Τα νεονικοτινοειδή δεν προκαλούν τοξικότητα σε χαμηλές δόσεις στην αναπαραγωγική διαδικασία ή στην ανάπτυξη (Becker et al., 1988).

Λόγω των σχετικά μεγάλων ημιζωών, της αντοχής στην αποικοδόμηση και της συγγένειας με το νερό, τα νεονικοτινοειδή έχουν βρεθεί ότι είναι ιδιαίτερα επίμονα στο περιβάλλον. Μελέτες στο έδαφος αγροτικών περιοχών που έχουν υποστεί εφαρμογή εντομοκτόνων δείχνουν ότι μόνο το 6 έως 20% της εφαρμογής απορροφάται από τις καλλιέργειες (Sur and Stork, 2003). Ενώ τα νεονικοτινοειδή διατίθενται στο εμπόριο ως αγροτικά προϊόντα, πάνω από το 90% του ενεργού συστατικού διανέμεται στο έδαφος, τον αέρα και το νερό της γύρω περιοχής. Τα νεονικοτινοειδή παραμένουν στους φυτικούς ιστούς για μήνες, ακόμα και για περισσότερο από ένα χρόνο (Maus et al., 2005), χαρακτηριστικό που είναι θετικό και αρνητικό ταυτόχρονα. Αυτό σημαίνει ότι η δραστική ουσία διαχωρίζεται από τους μη οργανισμούς-στόχους και η εφαρμογή μπορεί να επεκταθεί σε ποικίλες περιοχές. Παρόλα αυτά ο χρόνος ημιζωής τους στο περιβάλλον εκτείνεται από μερικές ημέρες μέχρι κάποια χρόνια (για παράδειγμα 1-3 χρόνια στο έδαφος, 1 χρόνο στο νερό σε σκοτάδι για το imidacloprid, 200-300 ημέρες για το thiamethoxam, 148-1155 ημέρες για το clothianidin) (Hopwood et al., 2012). Το γεγονός αυτό μπορεί να είναι καλό για τον καλλιεργητή, γιατί θα χρειαστεί λιγότερες εφαρμογές εντομοκτόνου, αλλά η εμμονή μπορεί να αυξήσει τον κίνδυνο για επίδραση σε οργανισμούς μη-στόχους.

1.6.5 Thiamethoxam

Περαιτέρω προσπάθειες για την ανάπτυξη των νεονικοτινοειδών, επικεντρώθηκαν στην αναζήτηση των δομικών στοιχείων που θα βελτίωναν τις εντομοκτόνες ιδιοότητες των σημερινών ενώσεων, συμπεριλαμβανομένης της διαχείρισης της αθεκτικότητας στα έντομα. Η σύνθεση του thiamethoxam από μια ετεροκυκλική 2-χλωρο-5-μεθυλοθειαζόλη και ένα διαχωριστικό 4-νιτροϊμινο-N5- ήταν η πρώτη επιτυχία στην ανάπτυξη της δεύτερης γενιάς νεονικοτινοειδών (Seifert, 2014). Ο χημικός τύπος του thiamethoxam είναι: C₈H₁₀ClN₅O₃S και η χημική του δομή φαίνεται στην εικόνα 10.



Εικόνα διαγράμματος 10: Χημική δομή και 3-D δομή του thiamethoxam

(<https://www.molinstincts.com/structure/Thiamethoxam-cstr-CT1080276367.html>

Last accessed 22/3/2021)

Στην Ελλάδα κυκλοφορούν 10 εμπορικά σκευάσματα που φέρουν ως δραστική ουσία το thiamethoxam και χρησιμοποιούνται στις περισσότερες καλλιέργειες της χώρας, όπως ζαχαρότευτλα, βαμβάκι, πατάτες, αραβόσιτο, ηλιάνθο, ελαιοκράμβη, αμπέλι, εσπεριδοειδή, αγγούρια, μελιτζάνες, πεπόνια, κολοκύθια, μαρούλια, αχλάδια, πιπεριές, τομάτες, δαμάσκηνα, μήλα, κεράσια, νεκταρίνια, ροδάκινα και σε καλλωπιστικά ποώδη.

1.6.6 Τοξικότητα των νεονικοτινοειδών

Στα τέλη του 2000, τα νεονικοτινοειδή αρχίζουν να μπαίνουν σε παγκόσμιο λεπτομερή έλεγχο εξαιτίας της αμφισβητούμενης σχέσης της χρήσης τους με τη

μείωση των πληθυσμών των υδάτινων ασπόνδυλων και των επικονιαστών (Miranda et al., 2011; Morrissey et al., 2015; Woodcock et al., 2017). Για τις επιδράσεις που ενδεχομένως μπορεί να έχουν τα νεονικοτινοειδή σε οργανισμούς μη στόχους, υπάρχει μια πληθώρα εντατικής έρευνας σχετικά με την παρουσία τους στο έδαφος, στη σκόνη και στο επιφανειακό νερό (Bonmatin et al., 2015; Fossen, 2006; Goulson, 2013; 2014; Limay-Rios et al., 2016; Schaafsma et al., 2015, 2016). Η μόλυνση της γύρης και των προϊόντων μελιού με νεονικοτινοειδή είναι επίσης ενδεικτική της έκθεσης των μελισσών στα εντομοκτόνα. Συνήθως η επίδραση ενός στρεσογόνου παράγοντα που εξετάζεται για τους επικονιαστές είναι περισσότερο εμφανής στο εργαστήριο. Το γεγονός αυτό εξηγείται γιατί σε πραγματικές συνθήκες, στον αγρό, οι μέλισσες είχαν περισσότερες τροφές μη μολυσμένες που αθροιστικά αραιώναν τη συγκέντρωση του imidacloprid (DeSmel et al., 2017).

Οι μέλισσες είναι απαραίτητες πρωτίστως για τη διατήρηση της βιοποικιλότητας και την αγροτική παραγωγή και δευτερευόντως για την διαβίωση των ανθρώπων. Ωστόσο, πολλοί παράγοντες, συμπεριλαμβανομένων των ασθενειών, των φυσικών εχθρών, της απώλειας των ενδιαιτημάτων τους και της αλόγιστης χρήσης των φυτοφαρμάκων, επηρεάζουν τη διαβίωση των μελισσοσμηνών (Klein et al., 2007; Potts et al., 2010). Οι επικονιαστές στις γεωργικές εκμεταλλεύσεις εκτίθενται συνήθως σε μια ποικιλία φυτοφαρμάκων που μειώνουν το προσδόκιμο ζωής τους και την εύρυθμη λειτουργία της κυψέλης (Traynor et al., 2016; Tosi et al., 2018). Τα νεονικοτινοειδή προκαλούν ιδιαίτερη ανησυχία επειδή είναι νευροτοξικά εντομοκτόνα, που χρησιμοποιούνται παγκοσμίως σε πολλές καλλιέργειες τις οποίες επισκέπτονται οι μέλισσες για τη συλλογή γύρης, νέктar και νερού (Simon-Delso et al., 2014; Lundin et al., 2015). Παρόλο που η χρήση τους περιορίστηκε στην Ευρωπαϊκή Ένωση, εξακολουθούν να χρησιμοποιούνται εκτενώς παγκοσμίως (Mitchell et al., 2017).

Δεδομένου ότι το thiamethoxam είναι ένα διασυστηματικό και ανθεκτικό εντομοκτόνο, μπορεί να εντοπιστεί σε πολλά όργανα και εκχυλίσματα των φυτών (νέκταρ, γύρη). Επιπρόσθετα, το γεγονός ότι δεσμεύεται με υψηλή μοριακή συγγένεια στους νικοτινικούς υποδοχείς της ακετυλοχολίνης των εντόμων, επάγει μια ποικιλία τοξικών επιδράσεων στις μέλισσες και τις αποικίες τους, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις (Simon-Delso et al., 2014; Godfray et al., 2015). Οι εκτιμώμενες τιμές οξείας στοματικής τοξικότητας LD₅₀ για το thiamethoxam ήταν

μεταξύ 4.3 ng/μέλισσα (Laurino et al., 2011) και 5 ng/μέλισσα (Syngenta Group, 2005; European Commission, 2006), ενώ οι τιμές της οξείας εξ επαφής τοξικότητας LD₅₀ ήταν μεταξύ 24 ng/μέλισσα (Syngenta Group 2005; European Commission, 2006) και 29.9 ng/μέλισσα (Iwasa et al., 2004). Η κατανόηση των επιπτώσεων των νεονικοτινοειδών, όπως του thiamethoxam, στη μετακίνηση των μελισσών είναι σχετικά περιορισμένη (Teeters et al., 2012; Williamson et al., 2014; Charreton et al., 2015).

Έρευνα των Medrzycki et al. (2003) έδειξε ότι με οξεία έκθεση των μελισσών στο imidacloprid (100-500 ppb, δια στόματος) το εύρος των μετακινήσεων μειώθηκε σημαντικά. Ακόμη, οι Lambin et al. (2001) μέσω της έρευνάς τους έδειξαν ότι το εντομοκτόνο αυτό (1.25-20 ng/ μέλισσα, μέσω επαφής) θα μπορούσε να επηρεάσει τη δραστηριότητα των μελισσών και να προκαλέσει αποπροσανατολισμό. Ομοίως, οι Williamson et al. (2014) μελέτησαν τις επιδράσεις διαφόρων νεονικοτινοειδών εντομοκτόνων στο βάδισμα των μελισσών μέσα σε τρυβλία Petri και διαπίστωσαν ότι η έκθεση τους σε αυτά, προκάλεσε μη έλεγχο της ισορροπίας. Επιπροσθέτως, οι Charreton et al. (2015) συμπέραναν ότι η οξεία έκθεση στο thiamethoxam (3.8 ng/μέλισσα, μέσω επαφής) μείωσε το χρόνο στον οποίο οι νεαρές μέλισσες κινούνται σε κάθετη θέση προς το φως. Μέχρι σήμερα, η έρευνα αυτή είναι η μόνη που κατέδειξε ότι το thiamethoxam μπορεί να βλάψει την κίνηση των μελισσών στο φως, αν και σε σχετικά υψηλή δόση. Οι Hassani et al. (2005, 2008) έλεγξαν την επίδραση των μέγιστων μη θανατηφόρων δόσεων (δια στόματος και επαφής) των fipronil (φαινυλοπυραζόλης, 0.1-1 ng/μέλισσα) και του thiamethoxam (0.1-1 ng/μέλισσα), στο γεωτακτισμό και των φωτοτακτισμό των εργατριών μελισσών. Πιο αναλυτικά, περίπου 60 λεπτά μετά την επέμβαση του φαρμάκου μετρήθηκε η συνολική απόσταση που διήνυσαν οι μέλισσες, η διάρκεια της ακινησίας τους, ο αριθμός των αναβάσεων και ο χρόνος που δαπανήθηκε σε μια κάθετη κατασκευή ανοικτού πεδίου από PVC. Και για τα δύο αυτά εντομοκτόνα, δεν καταγράφηκε κάποιο στατιστικά σημαντικό αποτέλεσμα όσον αφορά την κίνηση και το προσανατολισμό στο φως (Hassani et al., 2005, 2008). Ομοίως, οι Aliouane et al. (2008) δεν παρατήρησαν σημαντική επίδραση στη συμπεριφορά των μελισσών μετά από έκθεση στο thiamethoxam.

1.6.7 Νομοθετικό πλαίσιο των νεονικοτινοειδών

Μελέτες για τα επιφανειακά ύδατα έχουν αναφέρει την εμφάνιση αρκετών νεονικοτινοειδών, συγκεκριμένα των imidacloprid, clothianidin και thiamethoxam, σε διάφορες συχνότητες και συγκεντρώσεις σε όλο τον κόσμο (Simon-Delso et al., 2015). Κάποια νεονικοτινοειδή (δηλ. acetamiprid, thiacloprid, thiamethoxam και imidacloprid) δεν εγκρίθηκαν για καλλιέργειες που προορίζονται για ανθρώπινη κατανάλωση στην Ευρώπη έως το 2004 (Žabar et al., 2012). Βάσει των διαθέσιμων στοιχείων, το 2013 η Ευρωπαϊκή Επιτροπή πρότεινε ένα moratorium για τη χρήση των νεονικοτινοειδών εντομοκτόνων και περιόρισε τη χρήση του clothianidin, του thiamethoxam και του imidacloprid με τον Κανονισμό αριθ. 485/2013. Το Δεκέμβριο του 2013, η Ευρωπαϊκή Ένωση επέβαλλε περιορισμό στη χρήση των νεονικοτινοειδών εξαιτίας των ανησυχιών για την επίδραση, που μπορεί να έχουν στους επικονιαστές και σε άλλα ωφέλιμα έντομα. Αυτή η απόφαση επικρίθηκε για τους λόγους ότι τα πλεονεκτήματα από τη χρήση των νεονικοτινοειδών υπερτερούν από τις βλάβες που μπορεί να επιφέρουν (Godfray et al., 2014). Προβλέφθηκε επανεξέταση των νέων επιστημονικών στοιχείων που θα διατεθούν για τις τρεις αυτές δραστικές ουσίες, εντός δύο ετών, από την ημερομηνία έναρξης ισχύος του παραπάνω κανονισμού. Από το 2013 και έπειτα έχει δημοσιευθεί ένας μεγάλος αριθμός μελετών, που εξετάζουν την επίδραση των νεονικοτινοειδών στις μέλισσες, καθώς και σε ένα ευρύ φάσμα άλλων επικονιαστών και μη στόχων οργανισμών. Η EFSA μετέθεσε τη δημοσίευση της έκθεσης για το τέλος του 2017 (EFSA 2013a, b, c).

Με τον ίδιο κανονισμό, οι αιτούντες έγκριση για τις δραστικές ουσίες clothianidin, thiamethoxam και imidacloprid κλήθηκαν να υποβάλουν τα επιβεβαιωτικά στοιχεία σχετικά με τις χρήσεις που εξακολουθούν να επιτρέπονται. Τα στοιχεία που υποβλήθηκαν για την ουσία thiamethoxam κρίθηκαν ανεπαρκή για τη διενέργεια επανεξέτασης. Σε αυτό το πλαίσιο, η συγκέντρωση όλων των ερευνών, που εκπονήθηκαν από το 2013 υποδηλώνουν ότι τα νεονικοτινοειδή παρουσιάζουν παρόμοιο ή και μεγαλύτερο κίνδυνο για τις μέλισσες, σε σύγκριση με την κατάσταση του 2013 (Wood and Goulson, 2017). Βάσει της επανεξέτασης των επιβεβαιωτικών δεδομένων για τις ουσίες clothianidin και imidacloprid προσδιορίστηκαν νέοι κίνδυνοι για τις μέλισσες. Στις 22-23 Μαρτίου 2017 οι υπηρεσίες της Ευρωπαϊκής Επιτροπής συζήτησαν με τα κράτη μέλη, στο πλαίσιο της μόνιμης συνεδρίασης

πιθανά μέτρα και για τις τρεις ουσίες, τα οποία να περιορίζουν περαιτέρω τους όρους έγκρισης για τη χρήση τους σε καλλιέργειες και σε θερμοκήπια.

Τον Φεβρουάριο του 2018, η Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων δημοσίευσε μια νέα έκθεση που αναφέρει ότι τα νεονικοτινοειδή αποτελούν σοβαρό κίνδυνο, τόσο για τις μέλισσες, όσο και για τα άγρια είδη επικονιαστών. Τον Απρίλιο του 2018, τα κράτη μέλη της Ευρωπαϊκής Ένωσης αποφάσισαν να απαγορεύσουν τα τρία κύρια νεονικοτινοειδή, δηλαδή το clothianidin, thiamethoxam και imidacloprid για όλες τις υπαίθριες χρήσεις.

Εξαιτίας των προβλημάτων από τη χρήση των εγκεκριμένων δραστικών ουσιών που υπάρχουν και που προαναφέρθηκαν για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκών, καθίσταται σημαντική η εξέταση νέων ή ήδη υπάρχοντων δραστικών ουσιών, αλλά με νέες χρήσεις. Η χρήση του thiamethoxam για την αντιμετώπιση των εντόμων των καλλιεργειών έχει διερευνηθεί αρκετά, αλλά δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα διαθέσιμα για την αποτελεσματικότητα του εντομοκτόνου στα έντομα των αποθηκευμένων προϊόντων. Από τη στιγμή που απαγορεύτηκε η χρήση του στον αγρό, η χρήση του ως εντομοκτόνο επαφής στην αποθήκη ίσως να αποτελέσει μια διέξοδο, από τη στιγμή που η αποθήκη αποτελεί ένα κλειστό περιβάλλον με ελάχιστες αλληλεπιδράσεις με το εξωτερικό περιβάλλον και τις μέλισσες.

1.7. ΣΚΟΠΟΙ ΤΗΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Η παρούσα διδακτορική διατριβή ασχολήθηκε με τη λεπτομερή αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του thiamethoxam κατά των κυρίων κολεόπτερον εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων, καθώς για τη δραστική αυτή δεν υπάρχουν διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα και αποτελέσματα και επιπλέον έχει απαγορευτεί η υπαίθρια χρήση της. Στο πλαίσιο της αξιολόγησης αυτής, διεξήχθη μια σειρά πειραμάτων, όπου το νεονικοτινοειδές εντομοκτόνο thiamethoxam μελετήθηκε εκτενώς για την αποτελεσματικότητά του, με βάση την επίδραση διαφόρων βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων, τόσο σε αποθηκευμένα δημητριακά, όσο και σε διάφορες επιφάνειες που απαντώνται σε χώρους αποθήκευσης και επεξεργασίας τροφίμων.

Συνολικά οι έξι ενότητες που αφορούν τα πειράματα αξιολόγησης του thiamethoxam είναι αυτοτελείς και αποτελούν μια προσέγγιση σχετικά με την εξέταση της αποτελεσματικότητάς του και πιο αναλυτικά περιγράφονται στη συνέχεια:

1. Η αξιολόγηση διαφορετικών συγκεντρώσεων της εντομοκτόνου δράσης του thiamethoxam για την αντιμετώπιση ενός εύρους ειδών εντόμων αποθηκών (*Cryptolestes ferrugineus*, *Prostephanus truncatus*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granarius* και *Tribolium confusum*), ως μια πρώτη μελέτη για τη διερεύνηση της αποτελεσματικότητάς του.
2. Επίδραση των σύντομων εκθέσεων στο thiamethoxam στη θνησιμότητα και στην άμεση κατάρριψη πέντε ειδών εντόμων αποθηκών (*Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae*, *Tribolium confusum*, *Prostephanus truncatus* και *Oryzaephilus surinamensis*), με σκοπό την επισήμανση της ταχύτητας δράσης του.
3. Επίδραση της άνισης κατανομής του thiamethoxam στη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων των *Rhyzopertha dominica* και *Sitophilus oryzae* σε σκληρό σιτάρι και ρύζι, με στόχο την αξιολόγηση της μερικής εφαρμογής του καθώς και της ελάχιστης απαιτούμενης ποσότητας του προϊόντος στο οποίο έχει εφαρμοστεί το εντομοκτόνο και με το οποίο μπορεί να διασφαλιστεί η αποτελεσματικότητά του.
4. Επίδραση της άνισης κατανομής του thiamethoxam στη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων των *Rhyzopertha dominica* και *Sitophilus oryzae* με στόχο την αξιολόγηση της μερικής εφαρμογής του σε διάφορες στρώσεις στο σιτάρι και της ελάχιστης απαιτούμενης ποσότητας του προϊόντος στο οποίο έχει εφαρμοστεί το εντομοκτόνο και με το οποίο μπορεί να διασφαλιστεί η αποτελεσματικότητά του.
5. Επίδραση διαφορετικών συνδυασμών της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα του thiamethoxam για τρία είδη εντόμων αποθηκών (*Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica* και *Tribolium confusum*), καθώς αποτελούν σημαντικούς αβιοτικούς παράγοντες που επηρεάζουν σημαντικά τη δράση των εντομοκτόνων, στο περιβάλλον της αποθήκης.
6. Αποτελεσματικότητα του thiamethoxam σε έξι διαφορετικές επιφάνειες, που απαντώνται σε αποθηκευτικούς χώρους, για τα *Sitophilus granarius*, *Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium confusum*, *Oryzaephilus surinamensis* και *Cryptolestes ferrugineus*, για τη διερεύνηση της δυνατότητας χρήσης του εντομοκτόνου στις επιφάνειες αυτές.

Οι πειραματικές ενότητες έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κατά το χρονικό διάστημα 2012-2017.

2. ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΟΤΗΤΕΣ

2.1. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι

2.1.1 Διαδικασία Εκτροφών

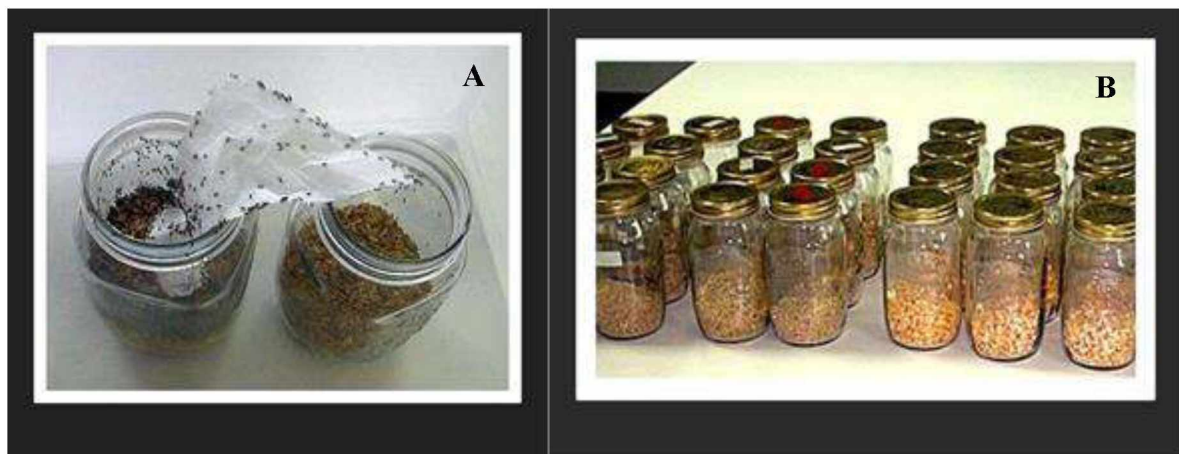
Στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας διατηρούνται εκτροφές εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων (Εικόνα 11) από τις οποίες προήλθαν τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στο σύνολο των πειραμάτων που θα περιγραφούν αναλυτικά παρακάτω.



Εικόνα 1: Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Οι εκτροφές έλαβαν χώρα σε θαλάμους που βρίσκονται σε σταθερές συνθήκες, ρυθμισμένες στους 25 °C, 65% Σ.Υ. και συνεχές σκότος. Η μέθοδος εκτροφής των ειδών εντόμων που χρησιμοποιήθηκαν ήταν η ίδια, τόσο για τη δημιουργία της, όσο και για τη διατήρησή της. Το υπόστρωμα εκτροφής βέβαια ήταν ανάλογο με τις

βέλτιστες τροφικές συνήθειες κάθε είδους, και ήταν απαλλαγμένο από εντομοκτόνα και έντομα, οπότε για τα είδη *S. oryzae*, *S. granarius*, *R. dominica* και *C. ferrugineus* χρησιμοποιήθηκε σκληρό σιτάρι *Triticum durum* Desf. (ποικιλία Simeto, Άλφα Γεωργικά Εφόδια Α.Ε.Β.Ε. Αθήνα, Ελλάδα), για το *T. confusum* αλεύρι σιταριού (Αλεύρι για όλες τις χρήσεις, Μύλοι Αγίου Γεωργίου, Αθήνα), για το *P. truncatus* χρησιμοποιήθηκε αραβόσιτος *Zea mays* L. (υβρίδιο Δίας, Ινστιτούτο Σιτηρών) και για το *O. surinamensis* νιφάδες βρώμης (Quaker Oats Co. in CUPAR, United Kingdom). Ουσιαστικά η διαδικασία της εκτροφής ξεκινούσε από το σημείο που το υπόστρωμα τοποθετούνταν σε γυάλινα βάζα διαμέτρου 8.6 cm και ύψους 17.8 cm (Borinioli Rocco S.p.A, Fidenza P.R, Italy), που είχαν καπάκι με μεταλλική σήτα για την επίτευξη του αερισμού. Το υπόστρωμα καταλάμβανε το μισό όγκο περίπου του βάζου, και στη συνέχεια γινόταν εισαγωγή 100 περίπου ακμαίων του ίδιου είδους, τα οποία αφήνονταν να ωοτοκήσουν για χρονικό διάστημα 10 ημερών και αφαιρούνταν από το υπόστρωμα, με το πέρας του δεκαημέρου (Εικόνα 12Α).

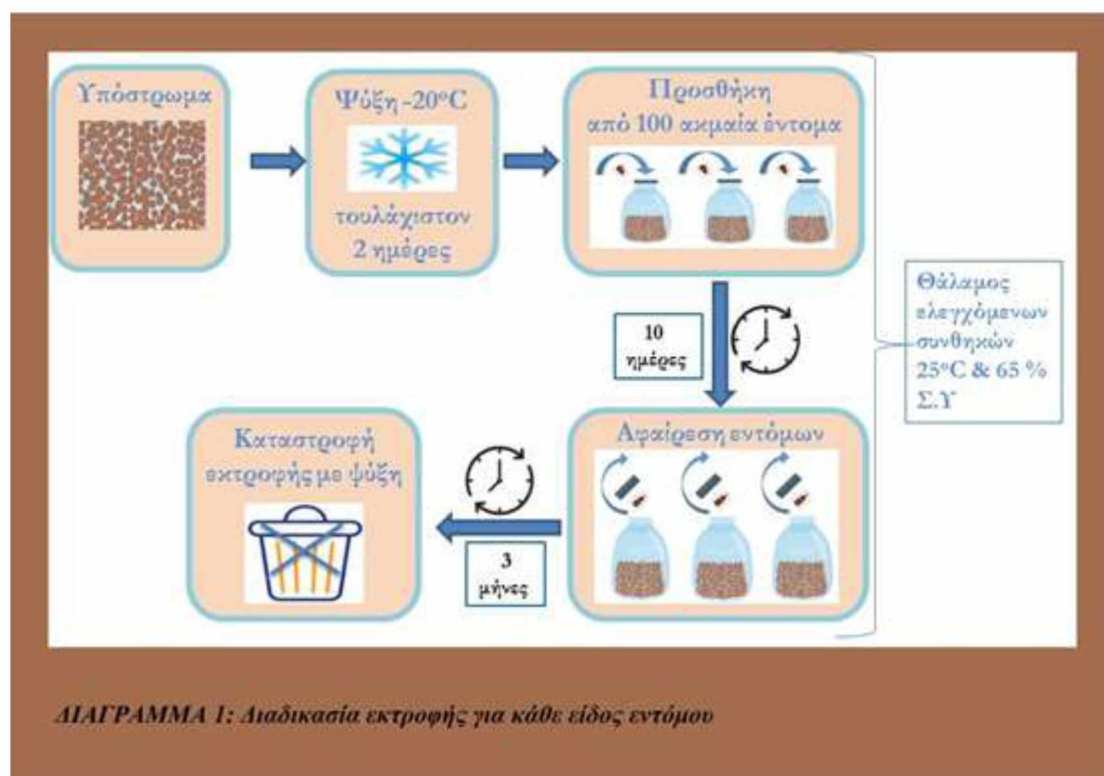


Εικόνα 12 : Αφαίρεση από ένα βάζο σε άλλο νέας εκτροφής (Α) και Βάζα με διαφορετικά υποστρώματα για διαφορετικές εκτροφές εντόμων (Β)

Η ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου του εντόμου γινόταν με την εμφάνιση των ακμαίων της επόμενης γενιάς σε χρονικό διάστημα 40-50 ημέρες, ανάλογα με το είδος του εντόμου. Η διαδικασία επαναλαμβάνονταν ανάλογα με τις ανάγκες του εκάστοτε πειράματος σε έντομα των παραπάνω ειδών (Διάγραμμα 1).

Η διατήρηση του δημητριακού μέσα στα βάζα γινόταν για περίπου τρεις μήνες με μηνιαία προσθήκη νέου υποστρώματος και διατηρούνταν στις ίδιες σταθερές

συνθήκες εκτροφής (Εικόνα 12B). Τελικά, μετά το διάστημα αυτό, η εκτροφή καταστρέφονταν σε καταψύκτη στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Τα ακμαία που θα χρησιμοποιούνταν στα πειράματα συλλέγονταν από τις εκτροφές αυτές. Ο διαχωρισμός των ακμαίων από το υπόστρωμα γινόταν με τη χρήση μεταλλικών κοσκίνων (Endecotts Ltd, London, England) με σήτες διαμέτρου 1 ή 2 mm ανάλογα με το είδος του εντόμου.



Για τη διατήρηση της εκτροφής κάθε εντόμου, γινόταν μια επανάληψη της διαδικασίας τρεις φορές κάθε μήνα, ώστε να επιτευχθούν τρεις νέες ενάρξεις ωστοκίας σε νέα βάζα, και να υπάρχουν πάντα διαθέσιμα ακμαία για τις πειραματικές ενότητες.

2.1.2. Διαδικασία προετοιμασίας υποστρώματος

Οι σπόροι του σκληρού σιταριού (*Triticum durum*, ποικιλία Simeto), του αραβόσιτου (*Zea mays*, υβρίδιο Dias) και του αναποφλοιώτου ρυζιού (*Oryza sativa*, ποικιλία Thaibonett), που χρησιμοποιήθηκαν ως υπόστρωμα στις βιοδοκιμές ήταν καθαροί, απαλλαγμένοι από ασθένειες και έντομα και δεν είχαν υποστεί ψεκασμό με άλλα φάρμακα. Τα δημητριακά που χρησιμοποιήθηκαν ως υπόστρωμα, διατηρούνταν σε ψυγείο σε θερμοκρασία $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ σε μεγάλες συσκευασίες (σακιά, κλπ), από τις οποίες αφαιρούνταν οι απαιτούμενες ποσότητες για τα πειράματα. Οι ποσότητες αυτές

κοσκινιζόταν για να φύγουν οι ξένες ύλες (Εικόνα 13Α). Πριν τη χρήση των ποσοτήτων αυτών, γινόταν μια σχετική προεργασία, κατά την οποία τοποθετούνταν σε καταψύκτη, με ψύξη στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ για δύο ημέρες τουλάχιστον, ώστε να επέλθει η θανάτωση τυχόν εντόμων, τα οποία θα είχαν επιβιώσει της μακροχρόνιας έκθεσης στους $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Fields, 1992). Αμέσως μετά, το υπόστρωμα παρέμενε σε συνθήκες περιβάλλοντος για μια ημέρα, ώστε να επέλθει η θερμοκρασιακή εξισορρόπηση του. Η περιεκτικότητα σε υγρασία καταγράφονταν με τη χρήση υγρασιόμετρου σπόρων δημητριακών που παρείχε και τη δυνατότητα μέτρησης θερμοκρασίας (Multitest, GODE SAS, LeCatelet, France).



Εικόνα 13: Διαδικασία αφαίρεσης ξένων υλών από το υπόστρωμα (Α) και θάλαμοι του εργαστηρίου (Β)

2.1.3 Διαδικασία των βιοδοκιμών

Οι βιοδοκιμές περιγράφονται αναλυτικά σε κάθε πειραματική ενότητα, καθώς καθεμία από αυτές είχε τις ιδιομορφίες της. Όμως κοινό χαρακτηριστικό, εκτός από αυτή με τις επιφάνειες, ήταν η χρήση των πλαστικών κυλινδρικών φιαλιδίων (διαμέτρου 3 cm, ύψους 8 cm), τα οποία περιείχαν το υπόστρωμα με αναλογίες ψεκασμένου και/ή μη ψεκασμένου σπόρου. Στο καπάκι είχαν ανοιχτεί εννιά οπές, ώστε να υπάρχει κατάλληλος αερισμός. Στην εσωτερική ανώτερη περιφερειακή επιφάνεια εφαρμόστηκε πολυτετραφθοροαιθυλένιο. Τα φιαλίδια μπορεί να ανακινούνταν χειροκίνητα για περίπου ένα λεπτό, για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου, είτε αφήνονταν κατά την τοποθέτηση του υποστρώματος για να επιτευχθούν οι επιθυμητές διαφορετικές αναλογίες των ψεκασμένων και μη σπόρων σε στρώσεις (Εικόνα. 14). Η εισαγωγή των ακμαίων των εντόμων καθοριζόταν να

γίνει ανάλογα με τις ανάγκες του πειράματος, είτε πριν, είτε μετά την εισαγωγή του υποστρώματος, καθώς και ο αριθμός των ακμαίων. Στα φιαλίδια γινόταν σήμανση με όλα τα απαραίτητα στοιχεία σε αυτοκόλλητο.



Εικόνα 14: Προετοιμασία πειραματικών φιαλιδίων (*Rotilabo, Carl Roth GmbH + Co. KG, Germany*)

Κατόπιν τοποθετούνταν σε μεγάλα πλαστικά κουτιά κι έμπαιναν στους θαλάμους (Εικόνα 13B) με τις συνθήκες που οριζόταν από το πείραμα. Μετά τα οριζόμενα χρονικά διαστήματα γινόταν καταμέτρηση για τη θνησιμότητα ή την άμεση κατάρριψη των ακμαίων των εντόμων ή καταμέτρηση για την παραγωγή ακμαίων απογόνων, με τη βοήθεια στερεοσκοπίου.

2.1.4. Διαδικασία προετοιμασίας επιφανειών

Έξι διαφορετικές επιφάνειες (τσιμέντο, μέταλλο, ξύλο κόντρα πλακέ, λινό, κεραμικό πλακάκι και πλαστικό) χρησιμοποιήθηκαν ως βάση για τις βιοδοκιμές μέσα σε πλαστικά τρυβλία Petri (διάμετρος 90 mm και ύψος 15 mm). Οι επιφάνειες αυτές επιλέχθηκαν να εξεταστούν, επειδή συναντώνται συχνά σε εγκαταστάσεις

αποθήκευσης δημητριακών, μύλους, εγκαταστάσεις επεξεργασίας δημητριακών κτλ. Το τσιμέντο για τη βάση των τρυβλίων των βιοδοκιμών, παρασκευάστηκε με τη χρήση 20 g από τη συσκευασία 1 kg τσιμέντου Rockite®, Hartline Products Co. Inc., Cleveland, OH), που αραιώθηκε με 260 ml νερού και που αφέθηκε για μία μέρα, για να στεγνώσουν (Εικόνα 20, 21).



Εικόνα 15: Προετοιμασία επιφανείας τσιμέντου

Στην επιφάνεια κάθε κεραμικού πλακιδίου διαστάσεων 30*30*0.8 cm, 9 πλαστικά μπολ με διάμετρο 90 mm κόπηκαν στην κάτω επιφάνειά τους και τοποθετήθηκαν ανάποδα στο πλακίδιο. Πολυτετραφθοροαιθυλένιο (Fluon, Sigma - Aldrich Co, Γερμανία) εφαρμόστηκε στην εσωτερική περιφερειακή επιφάνεια τόσο των τρυβλίων, όσο και των μπολ, για να αποφευχθεί η διαφυγή των εντόμων. Επιπρόσθετα, τα τρυβλία και τα μπολ σφραγίστηκαν εξωτερικά με κολλητική ταινία για να σταθεροποιηθεί το καπάκι του καλύμματος ή να στερεωθεί το μπολ στο πλακίδιο.

Το μέταλλο κόπηκε με μηχανήμα λέιζερ στις κατάλληλες διαστάσεις και τοποθετήθηκε στο κάτω μέρος των τρυβλίων με κόλλα. Ομοίως, η λινάτσα και το πλαστικό (υλικά σάκων αποθήκευσης) και το ξύλο (κόντρα πλακέ) κόπηκαν επίσης σε στρογγυλό σχήμα κατάλληλης διάστασης, ώστε να ταιριάζουν στο κάτω μέρος του τρυβλίου (Εικόνα 16). Με εξαίρεση τις επιφάνειες από τσιμέντο και από κεραμικό πλακίδιο, όλα τα άλλα κολλήθηκαν στις άκρες με ένα πιστόλι θερμής κόλλας (Bison Glue Gun Hobby, Bison International B.V., Ολλανδία).



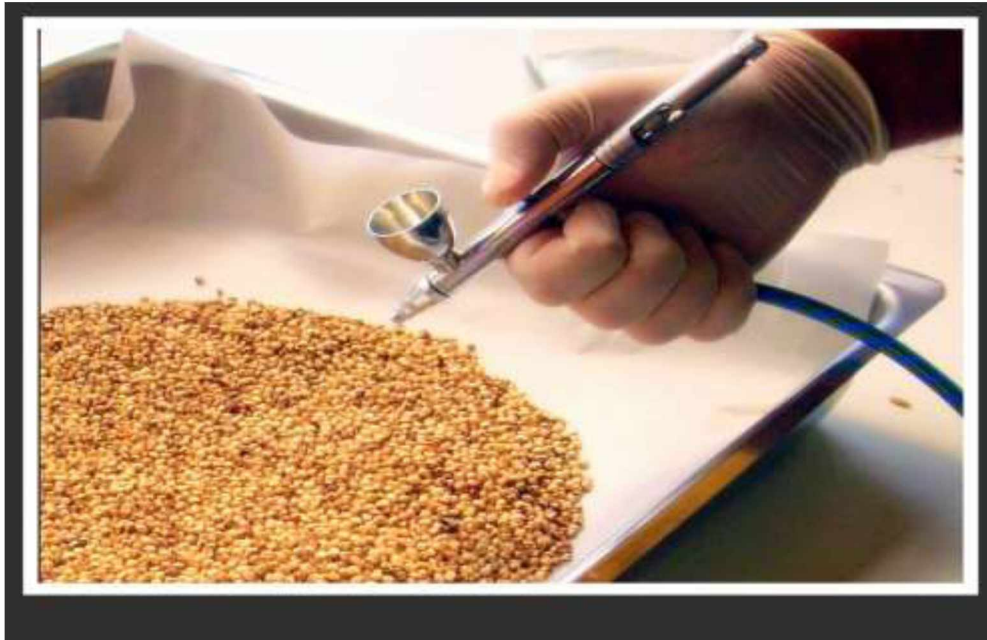
Εικόνα 16: Τύποι επιφανειών που χρησιμοποιήθηκαν στα τρυβλία (λινό, πλαστικό, τσιμέντο, ξύλο, μέταλλο και πλακάκι

2.1.5 Διαδικασία εφαρμογής του thiamethoxam

Η μορφή τυποποίησης του thiamethoxam που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές ήταν το Cruiser 600 (FS), ένα σκεύασμα που περιέχει thiamethoxam σε περιεκτικότητα 600g/L (AI) από τη Syngenta International AG (Basel, Switzerland).

Το σκεύασμα αραιώθηκε με αποσταγμένο νερό για την προετοιμασία κάθε συγκέντρωσης και 0.5 ml του κατάλληλου διαλύματος ψεκάστηκε σε κάθε ποσότητα. Η εφαρμογή του εντομοκτόνου έγινε με τη χρήση καλλιτεχνικού αερογράφου Mecafer AG4 (MecaferCo., Valence, Γαλλία) (Εικόνα 17), με ψεκασμό των δημητριακών, μετά την τοποθέτηση των ανάλογων ποσοτήτων τους για κάθε βιοδοκιμή, σε λεπτό στρώμα για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου (Vassilakos and Athanassiou 2012) μέσα σε ανοξείδωτο ταψί, καλυμμένο με χαρτί λαδόκολλας.

Μια πρόσθετη σειρά από ίδιες ποσότητες ψεκάστηκε με αποσταγμένο νερό και χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας. Μετά τον ψεκασμό, οι ποσότητες τοποθετήθηκαν σε γυάλινα βάζα (8.6 cm σε διάμετρο, 17.5 cm ύψος) και ανακινήθηκαν με το χέρι για περίπου ένα λεπτό, ώστε να ενισχυθεί η διανομή του εντομοκτόνου στη μάζα των δημητριακών.



Εικόνα. 17: Εφαρμογή του εντομοκτόνου με τη χρήση καλλιτεχνικού αερογράφου Mecafer AG4

Όσον αφορά τις επιφάνειες, η εφαρμογή του εντομοκτόνου έγινε με τη χρήση καλλιτεχνικού αερογράφου (όπως και στην εφαρμογή στα υποστρώματα), με ψεκασμό των επιφανειών που τοποθετήθηκαν στα τρυβλία απευθείας. Επίσης, μια πρόσθετη σειρά από ίδιες επιφάνειες ψεκάστηκε με αποσταγμένο νερό και χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας. Αφέθηκαν μια μέρα να στεγνώσουν και κατόπιν τοποθετήθηκαν τα έντομα.

2.2 Η αξιολόγηση διαφορετικών συγκεντρώσεων του thiamethoxam για την αντιμετώπιση επτά ειδών εντόμων αποθηκών

2.2.1 Εισαγωγή

Η σημασία της χρήσης των εντομοκτόνων στην παραγωγικότητα των εντατικών αγροτικών συστημάτων καλλιέργειας είναι αδιαμφισβήτητη, προκειμένου να διατραφεί ο ταχέως αυξανόμενος παγκόσμιος πληθυσμός, διατηρώντας περίπου το ένα πέμπτο της απόδοσης των καλλιεργειών (Oerke and Dehne, 2004). Γενικά, είναι εξαιρετικά σημαντικό τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα να είναι ταυτόχρονα αποτελεσματικά και ασφαλή για το περιβάλλον. Η προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων, όταν γίνεται με παραδοσιακά εντομοκτόνα επαφής, δεν μπορεί να αποφύγει την υπολειμματικότητα στο προϊόν, τα περιβαλλοντικά προβλήματα και την ανθεκτικότητα των εντόμων (White and Leesch, 1995; Arthur, 1996), ειδικά με τα οργανοφωσφορικά (Guedes et al., 1996; Nayak et al., 2005). Σημαντικές απώλειες μπορούν να προκύψουν με την παρουσία εντόμων στα αποθηκευμένα δημητριακά (Loschiavo, 1983; Throne et al., 2000). Στα οικοσυστήματα αποθήκευσης, είναι θεμελιώδης ο σχεδιασμός μιας στρατηγικής για το μετριασμό των επιπτώσεων αυτών, που να λαμβάνει υπόψη τη συνύπαρξη πολλών ειδών εντόμων στο αποθηκευμένο προϊόν (Athanassiou et al., 2013, Arthur et al., 2014) και το γεγονός ότι τα περισσότερα από τα εντομοκτόνα δεν μπορούν να ελέγξουν με επιτυχία όλα ή πολλά από αυτά τα είδη (Golob et al., 1985; Subramanyam et al., 2007; Rumbos et al., 2013). Επίσης, μερικές φορές είναι απαραίτητη η χρήση συνδυασμένης εφαρμογής διαφορετικών δραστικών ουσιών για την επίτευξη καλών αποτελεσμάτων στην αντιμετώπιση των εντόμων (Rumbos et al., 2013; Nouri-Ganbalani et al., 2016). Στην περίπτωση των προστατευτικών σπόρων, δηλαδή των υπολειμματικών εντομοκτόνων που εφαρμόζονται απευθείας στους σπόρους (Arthur, 1996), διάφορες μελέτες έδειξαν ότι ορισμένες ενώσεις οργανοφωσφορικών (OP) έχουν βρεθεί αποτελεσματικές (Arthur and Zettler, 1992; Arthur, 1995; Collins et al., 2000; Vásquez-Castro, 2012). Ωστόσο, το μέλλον των οργανοφωσφορικών είναι αβέβαιο, λόγω της σταδιακής απόσυρσης της χρήσης τους ως φυτοπροστατευτικά προϊόντα (Champ and Dyte, 1976; Georghiou and Lagunes-Tejeda, 1991; Guedes et al., 1995; Arthur and Zettler, 1991). Το γεγονός αυτό οδήγησε στη χρήση των πυρεθροειδών

ως προστατευτικά σπόρων (Arthur, 2012), αλλά η συνεχής χρήση τους είχε ως αποτέλεσμα σημαντικά προβλήματα ανθεκτικότητας των εντόμων σε πολλά μέρη του κόσμου (Collins et al., 1993; Lorini and Galley, 1999). Επομένως, υπάρχει η ανάγκη αξιολόγησης μιας δραστικής ουσίας ως προς το εύρος των ειδών, κατά των οποίων είναι αποτελεσματική, γεγονός που συνεπάγεται και οικονομικό όφελος.

Τα νεονικοτινοειδή είναι μια σημαντική ομάδα νευροτοξικών εντομοκτόνων, η οποία έχει αναπτυχθεί σημαντικά στην αγορά και έχει αξιολογηθεί επιτυχώς για την αντιμετώπιση γεωργικών εχθρών που είναι ανθεκτικά στα πυρεθροειδή (Daglish and Nayak, 2012). Ενώ, στο πρόσφατο παρελθόν, ορισμένα νεονικοτινοειδή ήταν τα κυρίαρχα εντομοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν στην επικάλυψη των σπόρων, η χρήση τους έχει τεθεί υπό αμφισβήτηση, λόγω του φαινομένου της «διαταραχής κατάρρευσης των αποικιών» στους επικονιαστές (Lu et al., 2012, 2014; Henry et al., 2012; Smith et al., 2013; Farooqui, 2013; Matsumoto, 2013). Ωστόσο, ορισμένα νεονικοτινοειδή έχουν βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικά στην αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, για ένα ευρύ φάσμα ειδών (Nayak and Daglish, 2006; Daglish and Nayak 2012; Athanassiou et al. 2013). Για παράδειγμα, οι Nayak and Daglish (2006) διαπίστωσαν ότι το νεονικοτινοειδές imidacloprid θα μπορούσε να είναι αποτελεσματικό για τα Psocoptera (Liposcelididae).

Ένα νεονικοτινοειδές που έχει δείξει καλά επίπεδα αποτελεσματικότητας για την αντιμετώπιση των κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων, τόσο σε σπόρους, όσο και σε επιφάνειες είναι το thiamethoxam, που εφαρμόζεται μόνο του ή σε συνδυασμό με άλλα δραστικά συστατικά (Yue et al., 2003; Arthur et al., 2004; Saglam et al., 2013; Wakil et al., 2013; Golic et al., 2016; Rumbos et al., 2018). Οι Arthur et al. (2004) αξιολόγησαν την ευαισθησία των *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae), *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) και *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), σε σπόρους σιταριού και αραβοσίτου που ψεκάστηκαν με thiamethoxam και διαπίστωσαν ότι το τελευταίο είδος ήταν λιγότερο ευαίσθητο από τα άλλα τρία. Οι Saglam et al., (2013) εξέτασαν την αποτελεσματικότητα του thiamethoxam σε επιφάνεια με τσιμέντο για τον αντιμετώπιση διαφόρων σταδίων του *Tribolium confusum* Jacquelin Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) και έδειξαν ότι οι προνύμφες ήταν πιο ευαίσθητες από τα ακμαία. Όλες αυτές οι μελέτες δείχνουν τη δυνατότητα χρήσης του thiamethoxam

στην προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων, ως εναλλακτική λύση στα παραδοσιακά εντομοκτόνα επαφής, όπως τα OP και τα πυρεθροειδή.

Ωστόσο, εξακολουθούν να υπάρχουν ανεπαρκείς πληροφορίες σχετικά με τη χρήση αυτής της δραστικής ουσίας για ένα ευρύ φάσμα ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, προκειμένου να κατηγοριοποιηθούν αυτά τα είδη ανάλογα με την ευαισθησία τους, και να απαντηθεί το ερώτημα για τη χρήση του thiamethoxam. Αυτός ήταν ακριβώς ο στόχος της παρούσας εργασίας: να συγκρίνει επτά κύρια είδη κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων για την ευαισθησία τους στο thiamethoxam. Στο πλαίσιο αυτό, τα είδη που εξετάστηκαν ήταν τα: *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae), *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *S. oryzae*, *O. surinamensis*, *P. truncatus*, *R. dominica* και *T.confusum*.

2.2.2 Υλικά και μέθοδοι

2.2.2.1. Έντομα και υπόστρωμα

Χρησιμοποιήθηκαν ακμαία από τις εκτροφές που υπάρχουν στους θαλάμους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, όπου στα υποκεφάλαια 2.1.1 και 2.1.2. περιγράφονται ακριβώς οι διαδικασίες προετοιμασίας των εκτροφών και των υποστρωμάτων. Πριν τη χρήση των δημητριακών, η υγρασία τους καθορίστηκε με το υγρασιόμετρο (Multitest, GODE SAS, Le Catelet, France) στο 13.6% για το σιτάρι και 16.7% για τον αραβόσιτο.

2.2.2.2 Εφαρμογή του thiamethoxam

Όλες οι εφαρμογές με το εντομοκτόνο στα δημητριακά έγιναν σύμφωνα με το υποκεφάλαιο 2.1.4. Ποσότητες 0.5 kg από κάθε προϊόν ψεκάστηκαν με 0.5 ml του κατάλληλου εντομοκτόνου οκτώ διαφορετικών συγκεντρώσεων, δηλαδή 0 (μάρτυρας), 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2, 5 ή 10 ppm (mg AI / kg σιταριού ή αραβόσιτου). Ξεχωριστές ποσότητες σπόρων δημητριακού ψεκάστηκαν με αποσταγμένο νερό χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες.

2.2.2.3. Βιοδοκιμές

Ως πειραματικές μονάδες χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (διαμέτρου 3 cm και ύψους 8 cm), που περιείχαν 20 g σιταριού ή αραβόσιτου. Για όλα τα είδη, χρησιμοποιήθηκε σιτάρι, με εξαίρεση το *P. truncatus* όπου

χρησιμοποιήθηκε αραβόσιτος. Είκοσι ακμαία από κάθε είδος εισήχθησαν σε κάθε φιαλίδιο, με διαφορετικές σειρές φιαλιδίων ανά είδος, και όλα μαζί τοποθετήθηκαν τελικά σε θερμοθάλαμο στους 25 °C, 65% Σ.Υ. και σε συνεχές σκοτάδι. Η θνησιμότητα καταγράφηκε μετά από 1, 2, 7, 14 και 21 ημέρες έκθεσης στο εντομοκτόνο. Στο τέλος του τελικού διαστήματος παρατήρησης (21 ημέρες), όλα τα άτομα (νεκρά ή ζωντανά) απομακρύνθηκαν από τα φιαλίδια και επέστρεψαν στις ίδιες συνθήκες. Μετά από εξήντα πέντε ημέρες για όλα τα είδη, με εξαίρεση το *T. confusum*, για το οποίο αυτό το διάστημα ήταν ενενήντα ημέρες, τα φιαλίδια ανοίχτηκαν ξανά και καταγράφηκε η παραγωγή ακμαίων απογόνων. Για κάθε συνδυασμό, υπήρχαν τρία φιαλίδια, ενώ η όλη διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές, προετοιμάζοντας νέες παρτίδες σπόρων κάθε φορά

2.2.2.4. Ανάλυση δεδομένων

Η θνησιμότητα στους μάρτυρες ήταν γενικά χαμηλή και δεν πραγματοποιήθηκε διόρθωση θνησιμότητας σύμφωνα με τον Abbott (1925) με εξαίρεση την περίπτωση του *P. truncatus*. Η θνησιμότητα αναλύθηκε χωριστά για κάθε είδος, με τη χρήση της πολυμεταβλητής ανάλυσης διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (MANOVA Fit Repeated Measures), με βάση τον έλεγχο Wilk's lambda χρησιμοποιώντας το λογισμικό JMP (Sall et al., 2001), με κύρια επίδραση τη συγκέντρωση του εντομοκτόνου (ελέγχθηκε (test Levin) και ακολουθείται κανονική κατανομή των δεδομένων, ώστε να πληρούνται οι προϋποθέσεις της ANOVA). Ομοίως, ανάλυση διακύμανσης (ANOVA) χρησιμοποιήθηκε και στην περίπτωση της παραγωγής απογόνων, με τη συγκέντρωση του εντομοκτόνου να είναι η κύρια επίδραση. Στις μετρήσεις αυτές συμπεριελήφθη και ο αριθμός των ακμαίων απογόνων που εμφανίστηκαν στα φιαλίδια του μάρτυρα. Οι μέσοι όροι συγκρίθηκαν με το τεστ Tukey-Kramer (HSD) σε επίπεδο 0.05 (Sokal and Rohlf, 1995).

2.2.3. Αποτελέσματα

Όσον αφορά τη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις ήταν σημαντικές για όλα τα είδη (Πίνακας 2.2.1 και 2.2.2).

Πίνακας 2.2.1 : Ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας, σχετική με την επίδραση συγκεντρώσεων του *thiamethoxam* στα είδη που εξετάστηκαν [Βαθμοί Ελευθερίας (B.E.) σφάλματος = 56]

	B.E.	<i>C. ferrugineus</i>		<i>O. surinamensis</i>		<i>P. truncatus</i>		<i>R. dominica</i>		<i>S. granarius</i>		<i>S. oryzae</i>		<i>T. confusum</i>	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Εντός της μεταβλητής	6	557.0	<0.01	269.3	<0.01	240.9	<0.01	41.23	<0.01	30.5	<0.01	27.8	<0.01	223.4	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	23176.6	<0.01	11961.5	<0.01	12328.9	<0.01	15920.4	<0.01	7.990.0	<0.01	7495.0	<0.01	7747.6	<0.01
Συγκέντρωση	6	557.0	<0.01	269.3	<0.01	240.9	<0.01	41.2	<0.01	30.5	<0.01	27.8	<0.01	223.4	<0.01
Σε σχέση με το χρόνο	24	32.4	<0.01	37.7	<0.01	50.6	<0.01	12.3	<0.01	8.8	<0.01	7.4	<0.01	28.2	<0.01
Χρόνος	4	5740.7	<0.01	3923.3	<0.01	2662.8	<0.01	8405.8	<0.01	2917.7	<0.01	4588.7	<0.01	2029.5	<0.01
Χρόνος * Συγκέντρωση	24	32.4	<0.01	37.7	<0.01	50.6	<0.01	12.3	<0.01	8.8	<0.01	7.4	<0.01	28.2	<0.01

Πίνακας 2.2.2: Ανάλυση διακύμανσης σχετική με την επίδραση της συγκέντρωσης του *thiamethoxam* στην παραγωγή απογόνων σε όλες τις συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν και τον μάρτυρα (σε όλες τις περιπτώσεις, B.E.=7)

Είδη Εντόμων	F	P
<i>C. ferrugineus</i>	87.3	<0.01
<i>O. surinamensis</i>	49.3	<0.01
<i>P. truncatus</i>	387.4	<0.01
<i>R. dominica</i>	267.9	<0.01
<i>S. granarius</i>	436.4	<0.01
<i>S. oryzae</i>	1013.7	<0.01
<i>T. confusum</i>	154.2	<0.01

2.2.3.1. *Cryptolestes ferrugineus*

Η θνησιμότητα των ακμαίων του *C. ferrugineus* δεν επηρεάστηκε από το *thiamethoxam* μετά από 1 και 2 ημέρες έκθεσης σε αυτό (Πίνακας 2.2.3). Από τις 7 ημέρες της έκθεσης, η θνησιμότητα ήταν γενικά χαμηλή στο σιτάρι που ψεκάστηκε με *thiamethoxam* και δεν υπερέβη το 27% στη συγκέντρωση 0.05 ppm μετά από 21 ημέρες έκθεσης, αλλά όμως, η θνησιμότητα στις υψηλότερες συγκεντρώσεις έφτασε το 100% (Πίνακας 2.2.3). Ωστόσο, ο αριθμός των απογόνων παραγωγής επηρεάστηκε σημαντικά από την παρουσία *thiamethoxam* (Πίνακας 2.2.3). Γενικά, η παραγωγή απογόνων ήταν χαμηλή στο ψεκασμένο υπόστρωμα, ενώ καμία παραγωγή απογόνων δεν καταγράφηκε σε συγκεντρώσεις πάνω από 1 ppm.

Πίνακας 2.2.3: Μέσος Όρος (% ± Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *C. ferrugineus* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων/φιαλίδιο ± Τ.Σ.), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με *thiamethoxam* σιτάρι (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Χρόνος Έκθεσης						
Συγκέντρωση	Ημέρα 1η	Ημέρα 2η	Ημέρα 7η	Ημέρα 14η	Ημέρα 21η	Ημέρα 65 (Απόγονοι)
Μάρτυρας	-	-	-	-	-	80.6 ± 3.5a
0.01 ppm	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	5.0 ± 2.0g	17.8 ± 1.7f	26.1 ± 2.5d	51.4 ± 1.9b
0.1 ppm	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	32.2 ± 0.9f	47.8 ± 1.2e	62.2 ± 1.5c	33.6 ± 1.2c
0.5 ppm	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	42.2 ± 0.9e	61.7 ± 1.9d	80.0 ± 1.4b	24.8 ± 1.2d
1 ppm	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	55.8 ± 1.2d	72.4 ± 3.3c	93.3 ± 2.5a	0.0 ± 0.0e
2 ppm	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	61.8 ± 0.7c	79.2 ± 1.5bc	96.1 ± 1.4a	0.0 ± 0.0e
5 ppm	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	71.1 ± 1.4b	85.6 ± 1.3b	100.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0e
10 ppm	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0	87.8 ± 1.2a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	0.0 ± 0.0e

2.2.3.2. *Sitophilus granarius*

Μετά από 1 ή 2 ημέρες έκθεσης στο εντομοκτόνο, δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα θνησιμότητας μεταξύ των εφαρμογών (Πίνακας 2.2.4). Με εξαίρεση τη χαμηλότερη συγκέντρωση, η θνησιμότητα ήταν 100% σε όλες τις συγκεντρώσεις μετά από 21 ημέρες έκθεσης. Δεν παρατηρήθηκε παραγωγή απογόνων σε συγκεντρώσεις υψηλότερες από 1 ppm (Πίνακας 2.2.4).

Πίνακας 2.2.4: Μέσος Όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *S. granarius* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο \pm T.Σ.), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με *thiamethoxam* σιτάρι (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Συγκέντρωση	Χρόνος Έκθεσης					
	Ημέρα 1η	Ημέρα 2η	Ημέρα 7η	Ημέρα 14η	Ημέρα 21η	Ημέρα 65 (Απόγονοι)
Μάρτυρας	-	-	-	-	-	162.7 \pm 5.8a
0.01 ppm	0.0 \pm 0.0	1.1 \pm 0.7a	33.9 \pm 3.7d	65.0 \pm 4.2c	77.2 \pm 4.4b	127.1 \pm 2.9b
0.1 ppm	1.1 \pm 0.7	3.9 \pm 1.4a	51.7 \pm 4.8c	78.3 \pm 4.6b	93.3 \pm 2.8a	96.7 \pm 2.8c
0.5 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0a	68.9 \pm 4.0b	89.4 \pm 4.0ab	96.7 \pm 2.8a	51.3 \pm 5.5d
1 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0a	66.1 \pm 4.5bc	97.2 \pm 1.7a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e
2 ppm	0.0 \pm 0.0	1.1 \pm 1.1a	72.2 \pm 3.7b	98.3 \pm 1.2a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e
5 ppm	0.0 \pm 0.0	4.4 \pm 1.9a	91.1 \pm 2.2a	97.2 \pm 1.2a	99.4 \pm 0.5a	0.0 \pm 0.0e
10 ppm	0.0 \pm 0.0	1.7 \pm 0.8a	97.8 \pm 1.2a	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e

2.2.3.3. *Sitophilus oryzae*

Η θνησιμότητα των ακμαίων του *S. oryzae* δεν επηρεάστηκε σημαντικά από τις εφαρμογές μετά από 1 ημέρα έκθεσης (Πίνακας 2.2.5). Όλες οι συγκεντρώσεις προκάλεσαν θνησιμότητα, που ήταν 100% ή κοντά σε αυτό το ποσοστό, μετά από 14 ή 21 ημέρες, με εξαίρεση τη χαμηλότερη συγκέντρωση. Δεν παρατηρήθηκε παραγωγή απογόνων σε σιτάρι που ψεκάστηκε με *thiamethoxam* πάνω από 1 ppm (Πίνακας 2.2.5).

Πίνακας 2.2.5: Μέσος Όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *S. oryzae* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο \pm T.Σ.), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με *thiamethoxam* σιτάρι (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Συγκέντρωση	Χρόνος Έκθεσης					
	Ημέρα 1η	Ημέρα 2η	Ημέρα 7η	Ημέρα 14η	Ημέρα 21η	Ημέρα 65 (Απόγονοι)
Μάρτυρας	-	-	-	-	-	256.8 \pm 5.5a
0.01 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0a	37.8 \pm 5.5d	65.0 \pm 5.1c	82.2 \pm 3.9b	179.8 \pm 5.4b
0.1 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0a	58.7 \pm 7.0c	82.8 \pm 4.6b	93.3 \pm 3.4a	121.7 \pm 2.6c
0.5 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0a	82.2 \pm 4.3b	93.9 \pm 3.0ab	100.0 \pm 0.0a	50.1 \pm 3.3d
1 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0a	92.2 \pm 1.7ab	99.4 \pm 0.6a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e
2 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0a	96.1 \pm 1.1ab	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e
5ppm	0.0 \pm 0.0	1.1 \pm 0.7a	96.1 \pm 1.1ab	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e
10ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0a	99.4 \pm 0.6a	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e

2.2.3.4. *Oryzaephilus surinamensis*

Όπως και στην περίπτωση των προηγούμενων ειδών, η θνησιμότητα των ακμαίων του *O. surinamensis* δεν επηρεάστηκε σημαντικά από το *thiamethoxam* μετά από 1 και 2 ημέρες έκθεσης (Πίνακας 2.2.6). Επιπλέον, ολική θνησιμότητα (100%) παρατηρήθηκε μόνο σε σιτάρι που ψεκάστηκε με 5 και 10 ppm *thiamethoxam* και μόνο μετά από 21 ημέρες έκθεσης. Ο αριθμός των απογόνων επηρεάστηκε σημαντικά από το εντομοκτόνο, αλλά ήταν γενικά χαμηλός, ακόμη και στα φιαλίδια του μάρτυρα (Πίνακας 2.2.6). Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε εμφάνιση ακμαίων στο σιτάρι που ψεκάστηκε με συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* μεγαλύτερες του 1 ppm.

Πίνακας 2.2.6: Μέσος Όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *O. surinamensis* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο \pm T.Σ.), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με *thiamethoxam* σιτάρι (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Συγκέντρωση	Χρόνος Έκθεσης					
	Ημέρα 1η	Ημέρα 2η	Ημέρα 7η	Ημέρα 14η	Ημέρα 21η	Ημέρα 65 (Απόγονοι)
Μάρτυρας	-	-	-	-	-	9.9 \pm 1.3a
0.01 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	6.1 \pm 1.4g	32.8 \pm 4.6d	44.4 \pm 3.9c	5.5 \pm 0.4b
0.1 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	29.4 \pm 1.6f	40.6 \pm 2.3d	46.1 \pm 2.7c	2.7 \pm 0.2c
0.5 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	40.0 \pm 1.4e	60.6 \pm 2.1c	80.0 \pm 2.4b	2.2 \pm 0.4cd
1 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	60.0 \pm 1.4d	84.4 \pm 3.2b	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0d
2 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	66.1 \pm 1.4c	92.2 \pm 0.9ab	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0d
5 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	83.3 \pm 1.2b	95.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0d
10 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	93.3 \pm 0.8a	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0d

2.2.3.5. *Prostephanus truncatus*

Θνησιμότητα στα ακμαία του *P. truncatus* παρατηρήθηκε από την πρώτη ημέρα έκθεσης, η οποία έφτασε το 13% στα 10 ppm (Πίνακας 2.2.7). Επιπλέον, περισσότερο από το 90% των εκτεθειμένων ακμαίων αυτού του είδους στο εντομοκτόνο ήταν νεκρά μετά από 14 ημέρες έκθεσης σε αραβόσιτο, που ψεκάστηκε με 0.1 ppm *thiamethoxam*, ενώ για το ίδιο διάστημα έκθεσης, η θνησιμότητα ήταν ολική (100%) στα 10 ppm. Γενικά, η παραγωγή απογόνων ήταν πολύ χαμηλή στον ψεκασμένο αραβόσιτο, σε σύγκριση με τον αραβόσιτο του μάρτυρα, ενώ δεν παρατηρήθηκε παραγωγή απογόνων σε συγκεντρώσεις μεγαλύτερες του 0.5 ppm (Πίνακας 2.2.7.).

Πίνακας 2.2.7: Μέσος Όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *P. truncatus* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο \pm T.Σ.), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με *thiamethoxam* αραβόσιτο (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Χρόνος Έκθεσης						
Συγκέντρωση	Ημέρα 1η	Ημέρα 2η	Ημέρα 7η	Ημέρα 14η	Ημέρα 21η	Ημέρα 65 (Απόγονοι)
Μάρτυρας	-	-	-	-	-	76.1 \pm 7.7a
0.01 ppm	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0d	7.8 \pm 1.9d	25.6 \pm 3.3b	35.6 \pm 3.9b	5.8 \pm 2.0b
0.1 ppm	1.1 \pm 0.7b	6.7 \pm 1.7d	47.8 \pm 2.4c	93.3 \pm 2.4a	99.4 \pm 0.6a	1.8 \pm 1.3b
0.5 ppm	3.9 \pm 2.0b	23.9 \pm 2.3c	78.9 \pm 3.2b	94.3 \pm 2.2a	98.3 \pm 0.8a	0.0 \pm 0.0b
1 ppm	0.0 \pm 0.0b	30.0 \pm 1.4c	79.4 \pm 2.4b	93.3 \pm 1.9a	99.4 \pm 0.6a	0.0 \pm 0.0b
2 ppm	3.9 \pm 2.0b	25.6 \pm 3.6c	86.7 \pm 2.5ab	93.3 \pm 2.8a	99.4 \pm 0.6a	0.0 \pm 0.0b
5 ppm	13.8 \pm 2.2a	46.2 \pm 2.0b	88.6 \pm 1.9ab	98.3 \pm 1.2a	98.9 \pm 1.1a	0.0 \pm 0.0b
10 ppm	18.3 \pm 1.7a	82.2 \pm 1.7a	95.0 \pm 1.9a	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0b

2.2.3.6. *Rhyzopertha dominica*

Για το είδος αυτό, η θνησιμότητα ξεπέρασε το 90% στα 0.5 ppm, μετά από 14 ημέρες έκθεσης (Πίνακας 2.2.8). Η πλήρης θνησιμότητα (100%) παρατηρήθηκε σε συγκεντρώσεις, που ήταν μεγαλύτερες του 2 ppm και 0.5 ppm στις 14 και 21 ημέρες έκθεσης, αντίστοιχα (Πίνακας 2.2.9). Η παραγωγή των απογόνων μειώθηκε σημαντικά με την παρουσία του *thiamethoxam*, ενώ απόγονοι δεν καταγράφηκαν σε συγκεντρώσεις που ξεπέρασαν το 1 ppm (Πίνακας 2.2.8).

Πίνακας 2.2.8: Μέσος Όρος (% \pm Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *R. dominica* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο \pm Τ.Σ.), 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με *thiamethoxam* σιτάρι (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Χρόνος Έκθεσης						
Συγκέντρωση	Ημέρα 1η	Ημέρα 2η	Ημέρα 7η	Ημέρα 14η	Ημέρα 21η	Ημέρα 65 (Απόγονοι)
Μάρτυρας	-	-	-	-	-	148.9 \pm 6.9a
0.01 ppm	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0b	23.9 \pm 3.1d	79.4 \pm 5.7c	92.8 \pm 3.6b	127.9 \pm 3.8b
0.1 ppm	0.0 \pm 0.0b	0.0 \pm 0.0b	58.9 \pm 3.4c	87.3 \pm 3.2bc	98.3 \pm 0.8ab	68.2 \pm 6.0c
0.5 ppm	0.0 \pm 0.0b	2.2 \pm 0.9b	71.8 \pm 0.9b	96.7 \pm 1.2ab	100.0 \pm 0.0a	39.4 \pm 3.7d
1 ppm	0.0 \pm 0.0b	1.1 \pm 1.1b	81.1 \pm 2.2ab	97.8 \pm 1.2ab	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e
2 ppm	2.2 \pm 0.9b	3.3 \pm 1.2b	83.9 \pm 4.1a	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e
5 ppm	0.0 \pm 0.0b	10.6 \pm 1.3a	86.7 \pm 2.0a	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e
10 ppm	5.0 \pm 1.4a	10.0 \pm 1.4a	77.2 \pm 1.2ab	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e

2.2.3.7. *Tribolium confusum*

Δεν καταγράφηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των εφαρμογών μετά από 1 και 2 ημέρες έκθεσης (Πίνακας 2.2.9). Όπως παραπάνω, με εξαίρεση τη χαμηλότερη δόση, όλες οι εφαρμογές προκάλεσαν θνησιμότητα που ήταν 100% ή κοντά στο ποσοστό αυτό, μετά από έκθεση 14 και 21 ημερών. Δεν καταγράφηκε παραγωγή απογόνων σε συγκεντρώσεις που ξεπέρασαν το 1 ppm (Πίνακας 2.2.9).

Πίνακας 2.2.9: Μέσος Όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *T. confusum* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* και Μέσος Όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο \pm T.Σ.), 90 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένο με *thiamethoxam* σιτάρι (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Χρόνος Έκθεσης						
Συγκέντρωση	Ημέρα 1η	Ημέρα 2η	Ημέρα 7η	Ημέρα 14η	Ημέρα 21η	Ημέρα 90η (Απόγονοι)
Μάρτυρας	-	-	-	-	-	29.8 \pm 1.6a
0.01 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0b	7.2 \pm 1.7d	18.3 \pm 4.2e	29.4 \pm 5.6d	21.4 \pm 1.5b
0.1 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0b	10.0 \pm 2.6d	48.9 \pm 3.9d	60.0 \pm 3.7c	13.7 \pm 0.8c
0.5 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0b	16.7 \pm 4.7d	75.0 \pm 2.2c	86.1 \pm 2.0b	5.9 \pm 1.2d
1 ppm	0.0 \pm 0.0	3.9 \pm 2.0a	60.6 \pm 3.3c	88.3 \pm 2.9b	99.4 \pm 0.6a	0.0 \pm 0.0e
2 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0b	80.6 \pm 2.8b	95.6 \pm 1.3ab	97.8 \pm 1.2ab	0.0 \pm 0.0e
5 ppm	0.6 \pm 0.6	0.6 \pm 0.6ab	91.7 \pm 2.0ab	98.3 \pm 1.2ab	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e
10 ppm	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0b	94.4 \pm 1.0a	100.0 \pm 0.0a	100.0 \pm 0.0a	0.0 \pm 0.0e

2.2.4. Συζήτηση

Σύμφωνα με τις βιοδοκιμές, το *thiamethoxam* ήταν αποτελεσματικό σε όλα τα είδη που εξετάστηκαν, παρέχοντας υψηλά επίπεδα θνησιμότητας, ιδιαίτερα μετά από διάστημα έκθεσης 14 ημερών. Επιπλέον παρατηρήθηκε καταστολή στην παραγωγή απογόνων σε συγκέντρωση από 1 ppm και πάνω. Η σχετική ευαισθησία στο *thiamethoxam* για τα επτά είδη εντόμων που εξετάστηκαν, σε μια κατάταξη από το πιο ευαίσθητο στο λιγότερο ευαίσθητο, μπορεί να αναπαρασταθεί ως εξής: *P. truncatus* > *R. dominica* = *S. granarius* = *S. oryzae* > *T. confusum* = *O. surinamensis* > *C. ferrugineus*. Από τη διαθέσιμη βιβλιογραφία, φαίνεται ότι η εφαρμογή του *thiamethoxam* μπορεί να προσφέρει καλά αποτελέσματα στην προστασία των δημητριακών, που μπορεί να είναι διαφορετικά από μια απλή επικάλυψη των σπόρων (Arthur et al., 2004; Rumbos et al., 2018). Επιπλέον, το *thiamethoxam* μπορεί να είναι

μια βιώσιμη λύση σε επιφάνειες, σε εγκαταστάσεις αποθήκευσης και επεξεργασίας ή σε «ρωγμές και κοιλότητες» (Saglam et al., 2013, Doganay et al., 2018). Δεν αποτελεί έκπληξη το γεγονός ότι το thiamethoxam βρέθηκε εξαιρετικά αποτελεσματικό για τα δύο είδη Bostrychidae που εξετάστηκαν, τα *P. truncatus* και *R. dominica*, γεγονός που υποστηρίζεται από προηγούμενη έρευνα (Doganay et al., 2018). Και τα δύο είδη είναι δύσκολο να ελεγχθούν με οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα (OP) (Golob et al., 1985; Guedes et al., 1996, 1997), πιθανώς λόγω της «φυσικής ανοχής», παρά της ανθεκτικότητας από προηγούμενη έκθεση στα εντομοκτόνα αυτά. Για παράδειγμα, οι Rumbos et al. (2013) διαπίστωσαν ότι το pirimiphos-methyl δεν ήταν αποτελεσματικό και για τα δύο είδη, σε συγκεντρώσεις που βρέθηκαν αποτελεσματικές για άλλα σημαντικά είδη κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων. Ως εκ τούτου, η χρήση εναλλακτικών δραστικών ουσιών, προς την κατεύθυνση αυτή, είναι απαραίτητη, ενώ διαφορετικές μελέτες έχουν προτείνει τη συνδυασμένη εφαρμογή των OP με άλλες ουσίες, όπως τα πυρεθροειδή (Huang and Subramanyam, 2005; Athanassiou and Arthur, 2018). Σε αυτό το πλαίσιο, ένας συνδυασμός OP με thiamethoxam έχει ήδη καταχωρηθεί σε ορισμένες χώρες, όπου τα Bostrychidae είναι εξαιρετικά σημαντικά στα μετασυλλεκτικά στάδια των γεωργικών προϊόντων (Athanassiou et al., 2013). Ωστόσο, μετά την πρόσφατη απόσυρση ορισμένων οργανοφωσφορικών από την αγορά, μια τέτοια συνδυασμένη στρατηγική εφαρμογής θα πρέπει να επανασχεδιαστεί, με βάση νεότερα ενεργά συστατικά, που έχουν χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά. Η εφαρμογή του thiamethoxam με το εντομοκτόνο spinetoram δεν απέδωσε συνεργιστικά αποτελέσματα, ενώ και τα δύο ήταν αποτελεσματικά σε μεμονωμένη εφαρμογή για την αντιμετώπιση των Bostrychidae των αποθηκευμένων προϊόντων (Rumbos et al., 2018). Το spinetoram έχει βρεθεί πολύ αποτελεσματικό τόσο για το *R. dominica*, όσο και για το *P. truncatus* (Vassilakos et al., 2012), αλλά αυτό το εντομοκτόνο δεν έχει καταχωρηθεί ούτε για άμεση εφαρμογή σε σπόρους, ούτε για επιφανειακές εφαρμογές.

Η μειωμένη ευαισθησία ορισμένων ειδών στο thiamethoxam, όπως τα *O. surinamensis*, *T. confusum* και *C. ferrugineus*, με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, είναι ένα ζήτημα που πρέπει να ληφθεί υπόψη, καθώς αυτό το εντομοκτόνο έδωσε καλύτερη απόδοση στα πρωτεύοντα είδη εντόμων, που αναπτύσσονται στο εσωτερικό τμήμα του σπόρου. Για τα Bostrychidae, η παρουσία εντομοκτόνου στο εξωτερικό μέρος του σπόρου μπορεί, εκτός από την αυξημένη

γονική θνησιμότητα, να επηρεάσει αρνητικά την εκκόλαψη των ωών και τις πρόσφατα εκκολαφθείσες προνύμφες. Στην περίπτωση των δευτερογενών εποικιστών, αναμένεται ότι η θνησιμότητα των προνυμφών θα ήταν υψηλότερη από εκείνη των ακμαίων, δεδομένου ότι οι προνύμφες κινούνται στο εξωτερικό μέρος του σπόρου και μπορεί να επηρεαστούν πιο έντονα. Για το spinosad, έχει αποδειχθεί ότι παρόλο που τα ακμαία ορισμένων δευτερογενών εποικιστών δεν ήταν ευαίσθητα, οι προνύμφες τους ήταν ιδιαίτερα ευαίσθητες, πράγμα που σημαίνει ότι η εφαρμογή του spinosad αναμένεται να μειώσει σταδιακά τον πληθυσμό μέσω αυξημένης θνησιμότητας στα ανώριμα στάδια (Hertlein et al., 2011). Τα δεδομένα για την ικανότητα παραγωγής απογόνων των δευτερευόντων εποικιστών που εξετάστηκαν στην παρούσα έρευνα, δείχνουν ότι το thiamethoxam ήταν σε θέση να τα καταστείλει σημαντικά, γεγονός που αποτελεί μια έμμεση ένδειξη της αποτελεσματικότητας του εντομοκτόνου στα ανώριμα στάδια της ανάπτυξης αυτών των ειδών. Οι Saglam et al. (2013) παρέχουν πρόσθετες ενδείξεις ότι αυτό ισχύει στην περίπτωση των προνυμφών του *T. confusum* μετά από έκθεση στο thiamethoxam σε επιφάνειες.

Μετά την απόσυρση του thiamethoxam από ορισμένες χρήσεις, στις οποίες ήταν κυρίαρχο εντομοκτόνο στο πρόσφατο παρελθόν, όπως η επικάλυψη σπόρων, φαίνεται ότι η χρήση του πρέπει να ακολουθήσει διαφορετική κατεύθυνση. Λαμβάνοντας υπόψη την αποτελεσματικότητά του για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, στην έρευνά μας παρέχονται δεδομένα που δείχνουν ότι αυτή η δραστική ουσία μπορεί να αξιολογηθεί περαιτέρω ως προστατευτικό σπόρων και να χρησιμεύσει ως βιώσιμη αντικατάσταση των OP. Ταυτόχρονα, διαπιστώσαμε ότι το thiamethoxam μπορεί να είναι αποτελεσματικό σε συγκεντρώσεις, που είναι συγκρίσιμες με αυτές των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων προστατευτικών σπόρων. Προφανώς, η διαδικασία έγκρισης είναι πολύ πιο περίπλοκη στην περίπτωση των προστατευτικών σπόρων σε ορισμένες γεωγραφικές ζώνες (όπως η Ε.Ε.), από την απλή παροχή δεδομένων αποτελεσματικότητας, και ως εκ τούτου, πρέπει να καταβληθεί πρόσθετη προσπάθεια προς αυτήν την κατεύθυνση.

2.3. Επίδραση των σύντομων εκθέσεων στο thiamethoxam στη θνησιμότητα και την άμεση κατάρριψη πέντε ειδών εντόμων αποθηκών

2.3.1 Εισαγωγή

Σε ιδανικές συνθήκες, η άμεση εφαρμογή των εντομοκτόνων επαφής στους σπόρους των δημητριακών αποσκοπεί στην κάλυψη ολόκληρης της μάζας τους, προκαλώντας το θάνατο των εντόμων δια της επαφής με αυτό ή της κατάποσής του (Arthur 1996). Από την άποψη αυτή, τα εντομοκτόνα ως προστατευτικά των σπόρων, μπορούν να χρησιμοποιηθούν κυρίως ως προληπτικό μέτρο κατά της προσβολής από έντομα, καθώς συνήθως εφαρμόζονται από την πρώτη στιγμή της αποθήκευσης των δημητριακών ή της φόρτωσης ή ακόμα και της μεταφόρτωσης στις εγκαταστάσεις αποθήκευσης. Ωστόσο, η εφαρμογή των εντομοκτόνων στη μάζα των δημητριακών, φαίνεται να καλύπτει μόνο ένα μέρος των σπόρων, γεγονός που σημαίνει ότι οι σπόροι πρακτικά έχουν υποστεί μερική μόνο επεξεργασία (Athanassiou et al., 2010; Daghli and Nayak, 2010; Vassilakos and Athanassiou, 2012a). Σαν αποτέλεσμα, τα έντομα κατά τη μετακίνησή τους, μπορούν να περάσουν από το δημητριακό που έχει ψεκαστεί με εντομοκτόνο, και στη συνέχεια να μετακινηθούν και να αποικίσουν τμήματα της μάζας των σπόρων που έχουν υποστεί μερική ή και καθόλου εφαρμογή. Επιπλέον, θεωρείται πιθανό ένα μέρος του πληθυσμού των εντόμων να μην έρθει ποτέ σε επαφή με το εντομοκτόνο, εάν ο πληθυσμός αυτός έχει ήδη εγκατασταθεί στους σπόρους, οι οποίοι παρέμειναν χωρίς επεξεργασία κατά τη διάρκεια της εφαρμογής.

Για το βακτηριακό μεταβολίτη spinosad, οι Athanassiou et al. (2010) διαπίστωσαν ότι σε μερικώς ψεκασμένες με spinosad στήλες σιτηρών, τα ακμαία του *Rhyzopertha dominica* (F). (Coleoptera: Bostrychidae) και του *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) θα μπορούσαν να επιβιώσουν στο μη ψεκασμένο σιτηρό, το οποίο βρισκόταν ακριβώς κάτω από το σιτηρό που είχε ψεκαστεί με εντομοκτόνο. Επίσης, οι Daghli and Nayak (2010) στην έρευνά τους τοποθέτησαν ακμαία *R. dominica* σε δημητριακά που είχαν υποστεί άνιση κατανομή του εντομοκτόνου κατά την εφαρμογή με τον ρυθμιστή ανάπτυξης εντόμων S-methoprene, όπου και διαπίστωσαν ότι η παραγωγή των απογόνων του εντόμου ήταν αρνητικά συσχετιζόμενη με το ποσοστό της μάζας των ψεκασμένων σπόρων.

Ένα αρκετά κοντινό σενάριο που είναι πιθανό να συμβεί είναι αυτό των «σύντομων εκθέσεων» (Vassilakos and Athanassiou, 2012b). Βάσει του σεναρίου αυτού, τα έντομα είναι εκτεθειμένα στο εντομοκτόνο μόνο για σύντομο χρονικό διάστημα και στη συνέχεια, μετακινούνται σε άλλα επίπεδα με σπόρους δημητριακών, που δεν έχουν ψεκαστεί. Στο πλαίσιο αυτό, τα πρότυπα θνησιμότητας ακολουθούν δύο φάσεις. Αρχικά η άμεση θνησιμότητα εμφανίζεται κατά την άμεση έκθεση στο εντομοκτόνο. Πολλές μελέτες κατέδειξαν ότι σε αυτό το στάδιο, η θνησιμότητα είναι συνήθως χαμηλή και εξαρτάται από τη δόση και πιο ειδικά από τη διάρκεια της έκθεσης. Το δεύτερο στάδιο είναι η καθυστερημένη θνησιμότητα που εμφανίζεται μετά την αφαίρεση των εντόμων από το ψεκασμένο περιβάλλον και τοποθέτησή τους σε μη ψεκασμένους σπόρους. Πιθανώς αυτό είναι και το πιο σημαντικό στάδιο, δεδομένου ότι πολλά από τα σημερινά διαδεδομένα προστατευτικά δημητριακών έχουν γενικά αργή δράση. Για παράδειγμα, οι Athanassiou et al. (2010) βρήκαν ότι παρόλο που μετά από 8 ώρες έκθεση σε σιτάρι και αραβόσιτο που είχαν ψεκαστεί με *spinosad*, η θνησιμότητα του *R. dominica* ήταν αμελητέα, ενώ όταν τα εκτεθειμένα έντομα μεταφέρθηκαν 7 ημέρες αργότερα σε σπόρους χωρίς εντομοκτόνο, η θνησιμότητα ήταν 100%. Ωστόσο, για το *S. oryzae* και για τα ακμαία του *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), τόσο η άμεση όσο και η καθυστερημένη θνησιμότητα ήταν σε χαμηλά επίπεδα.

Γενικά, θεωρείται ότι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας στα παραδοσιακά προστατευτικά σπόρων δημητριακών, όπως οι οργανοφωσφορικές ενώσεις (OPs) και τα πυρεθροειδή (Collins, 1990; Collins et al., 1993; Arthur, 1996; Darglish and Nayak 2012), απαιτεί την αξιολόγηση νέων εντομοκτόνων, που μπορεί να είναι επιτυχή ως προστατευτικά σπόρων. Τα νεονικοτινοειδή έχουν καταχωρηθεί και χρησιμοποιούνται ευρέως για την επεξεργασία σπόρων και έχουν αποδειχθεί αποτελεσματικά έναντι διαφόρων κατηγοριών επιβλαβών οργανισμών (Yue et al., 2003), αλλά τα αποτελέσματα σχετικά με τη δραστηριότητα των μελών της ομάδας αυτής ως προστατευτικές ουσίες σπόρων δημητριακών δείχνουν να είναι περιορισμένα (Arthur et al., 2004; Nayak and Darglish, 2006; Darglish and Nayak, 2012; Wakil et al., 2013).

Τα νεονικοτινοειδή δρουν μέσω των υποδοχέων ακετυλοχολίνης με διαφορετικό μηχανισμό σε σύγκριση με τα οργανοφωσφορικά (Maienfisch κ.α. 2001a, b), τα οποία μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως εναλλακτικές λύσεις των οργανοφωσφορικών. Σε μια μελέτη, οι Athanassiou et al. (2013) διαπίστωσαν ότι το

Tempriid® SC, ένα σκεύασμα που περιέχει το πυρεθροειδές beta-cyfluthrin και το νεονικοτινοειδές imidacloprid, είναι εξίσου αποτελεσματικό με το Tempo® SC Ultra, ένα σκεύασμα που περιέχει μόνο beta-cyfluthrin, για την αντιμετώπιση των *T. castaneum* και *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) σε επιφάνεια από τσιμέντο. Οι Darglish and Nayak (2012) διαπίστωσαν επίσης ότι το imidacloprid ως προστατευτικό σπόρων δημητριακών ήταν αναποτελεσματικό κατά των *S. oryzae* και *T. castaneum*, ακόμη και στα 5 και 10 ppm, αντίστοιχα. Ένα σχετικά νεότερο μέλος στην οικογένεια των νεονικοτινοειδών είναι το thiamethoxam, το οποίο χρησιμοποιείται εκτενώς για την προστασία των σπόρων των δημητριακών και είναι εγκεκριμένο στην Αφρική για άμεση εφαρμογή σε σιτηρά μαζί με το οργανοφωσφορικό pirimiphos-methyl (Actellic® Gold Dust, Sygenta). Οι Yue et al. (2003) βρήκαν ότι όλες οι εκτεθειμένες προνύμφες του *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) σε αραβόσιτο που είχε ψεκαστεί με 50 ppm thiamethoxam, θανατώθηκαν. Παρόλα αυτά, ενώ η δόση αυτή του εντομοκτόνου είναι συμβατή για την εφαρμογή σε σπόρους, δεν παύει να είναι εξαιρετικά υψηλή για ένα προστατευτικό σπόρων. Σε άλλη μελέτη, οι Arthur et al. (2004), σε εργαστηριακά πειράματα με αραβόσιτο που είχε ψεκαστεί με thiamethoxam σε συγκέντρωση με εύρος από 0.5 έως 4 ppm, ανέφεραν ότι το *T. castaneum* ήταν μακράν το λιγότερο ευαίσθητο είδος, σε σύγκριση με τα *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae), *S. oryzae*, *O. surinamensis*, και *R. dominica*. Ωστόσο, οι αναφορές για την αποτελεσματικότητα του thiamethoxam έναντι των ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων είναι λίγες και η πλειονότητα των δημοσιευμένων δεδομένων καταδεικνύουν την αποτελεσματικότητά του στην επεξεργασία των σπόρων, υπό την έννοια της κάλυψης των σπόρων και χρήση τους στη σπορά.

Βάσει των ανωτέρω, αλλά λαμβάνοντας επίσης υπόψη ότι το thiamethoxam έχει πολύ χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά (Lawson et al., 1999), η δυνατότητά του ως μελλοντικού αντικαταστάτη των παραδοσιακών νευροτοξικών προϊόντων προστασίας των σπόρων χρήζει επιπρόσθετης έρευνας. Στη συγκεκριμένη εργασία, εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα του thiamethoxam σε σενάρια σύντομων εκθέσεων για την αντιμετώπιση πέντε ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, δηλ. των *R. dominica*, *S. oryzae*, *O. surinamensis*, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera:Bostrychidae) και *Tribolium confusum* Jacquelin du Val

(Coleoptera:Tenebrionidae) αξιολογώντας τις μετρήσεις της άμεσης και της καθυστερημένης θνησιμότητας.

2.3.2 Υλικά και μέθοδοι

2.3.2.1 Υποστρώματα και έντομα

Χρησιμοποιήθηκαν ακμαία από τις εκτροφές που υπάρχουν στους θαλάμους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για όλα τα είδη εντόμων που εξετάστηκαν. Στα υποκεφάλαια 2.1.1. και 2.1.2. περιγράφονται ακριβώς οι διαδικασίες προετοιμασίας των εκτροφών και των υποστρωμάτων. Πριν τη χρήση των δημητριακών, η υγρασία τους καθορίστηκε με το υγρασιόμετρο (Multitest, GODE SAS, Le Catelet, France) στα 13.5% για το σιτάρι και 16.5% για τον αραβόσιτο.

2.3.2.2 Εφαρμογή του εντομοκτόνου

Όλες οι εφαρμογές με το εντομοκτόνο στα δημητριακά έγιναν σύμφωνα με την υποκεφάλαιο 2.1.4. Οι εφαρμοζόμενες συγκεντρώσεις του εντομοκτόνου ήταν: 0 (μάρτυρας), 0.1, 1 και 10 ppm, που αντιστοιχούν σε mg A.I./kg υποστρώματος.

2.3.2.3 Βιοδοκιμές

Οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν με υπόστρωμα σκληρό σιτάρι για όλα τα είδη, με εξαίρεση το *P. truncatus*, που πραγματοποιήθηκε σε αραβόσιτο, δεδομένου ότι το εν λόγω είδος αναπτύσσεται κυρίως στο προϊόν αυτό (Hodges, 1986; Golob, 2002). Ποσότητες 1.5 kg σιταριού και 0.5 kg αραβόσιτου ψεκάστηκαν με τις προαναφερθείσες τιμές συγκέντρωσης του εντομοκτόνου. Για τις βιοδοκιμές, ως πειραματικές μονάδες χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (3 cm σε διάμετρο, 8 cm σε ύψος) (Rotilabo, Carl Roth GmbH + Co. KG, Germany). Για κάθε είδος εντόμου, ελήφθησαν από κάθε βάζο του ψεκασμένου δημητριακού ή του μάρτυρα 20 g δημητριακού, για να τοποθετηθούν σε κάθε φιαλίδιο. Στη συνέχεια, είκοσι ακμαία κάθε είδους εισήχθησαν χωριστά σε κάθε φιαλίδιο. Στη συνέχεια, όλα τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών που ορίστηκαν στους 25 °C, 65% Σ.Υ. και συνεχές σκοτάδι. Τα ακμαία εκτέθηκαν για 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40, 72 και 96 ώρες στο ψεκασμένο δημητριακό ή τους μάρτυρες αντίστοιχα. Μετά από κάθε διάστημα από τα ανωτέρω, όλα τα ακμαία απομακρύνθηκαν από τα

φιαλίδια, και εξετάστηκαν με τη βοήθεια στερεοσκοπίου αν ήταν ζωντανά, ακινητοποιημένα ή νεκρά. Τα ακμαία που θεωρήθηκαν νεκρά, ήταν αυτά που δεν σημείωναν, κατά την ώρα της εξέτασης, καμία ορατή κίνηση, μετά από όχληση με την άκρη λεπτού πινέλου. Τα συγκεκριμένα ακμαία απομακρύνθηκαν και έγινε επανέλεγχος για πιθανή ανάκτηση κατά τη διάρκεια της ίδιας ημέρας. Τα ακινητοποιημένα σε μια θέση ακμαία είχαν μια κάποια ελάχιστη κίνηση των ταρσών ή των κεραιών. Αυτά που επιβίωσαν μεταφέρθηκαν σε νέα φιαλίδια, που περιείχαν μη ψεκασμένο δημητριακό. Αυτά τα φιαλίδια διατηρήθηκαν στις ίδιες περιβαλλοντικές συνθήκες για ένα επιπλέον χρονικό διάστημα 7 ημερών. Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα, τα νέα φιαλίδια ανοίχθηκαν και μετρήθηκε εκ νέου ο αριθμός των ακμαίων όπως προηγουμένως. Το πείραμα επαναλήφθηκε έξι φορές, ετοιμάζοντας κάθε φορά νέες ποσότητες ψεκασμένου δημητριακού ή μάρτυρα.

2.3.2.4 Ανάλυση δεδομένων

Η θνησιμότητα στους μάρτυρες ήταν γενικά χαμηλή και δεν πραγματοποιήθηκε διόρθωση θνησιμότητας σύμφωνα με τον Abbott (1925). Η μέτρηση της άμεσης (κατά τη διάρκεια των βραχυπρόθεσμων εκθέσεων) και της καθυστερημένης θνησιμότητας (7 ημέρες αργότερα) αναλύθηκαν ξεχωριστά για κάθε είδος με τη χρήση πολυμεταβλητής ανάλυσης διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (MANOVA Fit Repeat Measures) του λογισμικού JMP (Sall et al., 2001), με την έκθεση και τις δόσεις ως κύριες επιδράσεις, και τη θνησιμότητα στο χρόνο ως επαναλαμβανόμενη μεταβλητή (ελέγχθηκε (test Levin) και ακολουθείται κανονική κατανομή των δεδομένων, ώστε να πληρούνται οι προϋποθέσεις της ANOVA). Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το Tukey-Kramer (HSD) test στο επίπεδο 0.05 (Sokal και Rohlf, 1995). Επίσης, υπολογίστηκε και το ποσοστό των ακμαίων που ήταν ακινητοποιημένα κατά τη διάρκεια της καταμέτρησης της θνησιμότητας.

2.3.3 Αποτελέσματα

2.3.3.1 Άμεση Θνησιμότητα

Για όλα τα είδη, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι μεταξύ τους αλληλεπιδράσεις ήταν σημαντικές (Πίνακας 2.3.1). Σε συγκέντρωση 0.1 ppm η θνησιμότητα ήταν εξαιρετικά χαμηλή για όλα τα είδη, ακόμη και μετά από 96 ώρες έκθεσης (Πίνακας 2.3.2). Στη συγκέντρωση 1 ppm η άμεση θνησιμότητα ήταν ακόμη χαμηλή για όλα τα

είδη, ενώ το υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας παρατηρήθηκε για το *P. truncatus*, που ήταν 30%, μετά από 72 ώρες έκθεση (Πίνακας 2.3.3). Ωστόσο, στην ίδια συγκέντρωση, η θνησιμότητα για το *P. truncatus* μετά από 96 ώρες έκθεσης έφτασε το 98%. Τέλος, στα 10 ppm, η θνησιμότητα για το ίδιο είδος άγγιξε το 95% ακόμη και μετά από 72 ώρες έκθεσης, αλλά δεν έφτασε το 100% κατά το διάστημα έκθεσης των 96 ωρών (Πίνακας 2.3.4). Επίσης, στη συγκέντρωση του 1 ppm, τα *R. dominica* και *O. surinamensis* είχαν τα χαμηλότερα επίπεδα θνησιμότητας μεταξύ των ειδών που εξετάστηκαν, όσον αφορά την αρχική θνησιμότητα. Για το *S. oryzae*, στα 0.1 ppm, η άμεση κατάρριψη κυμαινόταν μεταξύ 7 και 12.5%, ενώ στο 1 ppm η άμεση κατάρριψη ανήλθε στο 27%, παρά το γεγονός ότι η άμεση θνησιμότητα ήταν χαμηλή. Στα 10 ppm, ένα σημαντικό ποσοστό των ατόμων του *S. oryzae* που εκτέθηκαν, ήταν ακινητοποιημένα και μάλιστα, πρακτικά, σε εκθέσεις ίσες ή μεγαλύτερες των 40 ωρών, όλα τα ακμαία που δεν ήταν νεκρά, ήταν ακινητοποιημένα.

Παρόμοια αποτελέσματα καταγράφηκαν και στην περίπτωση του *R. dominica*, με εξαίρεση ότι στο 1 ppm η άμεση κατάρριψη ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με αυτή του *S. oryzae*, που έφτασε το 64% στη μεγαλύτερη έκθεση. Τα υψηλότερα επίπεδα άμεσης κατάρριψης σημειώθηκαν για το *P. truncatus*, όπου στο 0.1 ppm, μετά από μόνο 2 ώρες έκθεσης, το 38% των εκτιθέμενων ακμαίων ήταν ακινητοποιημένα, παρά το γεγονός ότι δεν υπήρχε θνησιμότητα. Η περαιτέρω αύξηση στην έκθεση και, ιδιαίτερα στη συγκέντρωση του εντομοκτόνου, αύξησε και την άμεση κατάρριψη του *P. truncatus*. Για το *T. confusum*, η άμεση κατάρριψη ήταν γενικά υψηλή και στα 10 ppm, όπου σχεδόν όλα τα ακμαία ήταν είτε νεκρά, είτε ακινητοποιημένα μετά από έκθεση για 16 ώρες ή και περισσότερο. Τέλος, για το *O. surinamensis*, στο 0.1 και 1 ppm, η άμεση κατάρριψη ήταν χαμηλή, και το μεγαλύτερο μέρος των ατόμων που επιβίωσαν ήταν ακόμη δραστήρια, ανεξάρτητα από το διάστημα της έκθεσης. Στα 10 ppm, η άμεση κατάρριψη αυξήθηκε, αλλά ακόμη και κατά την έκθεση στις 72 ώρες, ένα ποσοστό ακμαίων ήταν ακόμη ενεργό.

Πίνακας 2.3.1 : Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας των ειδών εντόμων που εξετάστηκαν (B.E. σφάλματος = 135)

Πηγή παραλλακτικότητας	<i>S. oryzae</i>			<i>R. dominica</i>		<i>P. truncatus</i>		<i>T. confusum</i>		<i>O. surinamensis</i>	
	B.E.	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Μεταξύ των μεταβλητών	26	247.53	<0.01	95.90	<0.01	83.30	<0.01	91.68	<0.01	179.73	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	1284.73	<0.01	557.58	<0.01	1129.98	<0.01	691.23	<0.01	930.67	<0.01
Έκθεση (άμεση)	8	252.20	<0.01	105.21	<0.01	123.50	<0.01	149.54	<0.01	160.33	<0.01
Συγκέντρωση εντομοκτόνου	2	758.11	<0.01	281.99	<0.01	232.71	<0.01	198.68	<0.01	653.30	<0.01
Έκθεση* Δόση εντομοκτόνου	16	181.37	<0.01	68.00	<0.01	44.52	<0.01	49.37	<0.01	130.24	<0.01
Εντός των μεταβλητών	26	5.36	<0.01	12.63	<0.01	66.63	<0.01	30.04	<0.01	5.47	<0.01
Χρόνος (καθυστερημένη)	1	111.72	<0.01	211.43	<0.01	708.90	<0.01	331.80	<0.01	86.64	<0.01
Χρόνος* Έκθεση	8	8.31	<0.01	26.73	<0.01	31.11	<0.01	55.05	<0.01	9.57	<0.01
Χρόνος* Δόση εντομοκτόνου	2	15.24	<0.01	8.90	<0.01	546.21	<0.01	33.41	<0.01	8.42	<0.01
Χρόνος * Έκθεση * Δόση εντομοκτόνου	16	2.64	<0.01	6.04	<0.01	24.44	<0.01	17.11	<0.01	3.06	<0.01

Πίνακας 2.3.2 : Μέσος όρος άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας (% ± Τ.Σ.) για τα είδη που εξετάστηκαν, μετά την έκθεση τους για 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40, 72 και 96 ώρες σε σπόρους δημητριακών ψεκασμένους με *thiamethoxam* σε συγκέντρωση 0.1 ppm (σε κάθε στήλη, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05. Ο αριθμός στην παρένθεση είναι το μέσο ποσοστό των ακινητοποιημένων επί των επιζώντων ακμαίων)

Είδος/Θνησιμότητα										
	<i>S. oryzae</i>		<i>R. dominica</i>		<i>P. truncatus</i>		<i>T. confusum</i>		<i>O. surinamensis</i>	
Έκθεση	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη
0	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)
2	0.0 ± 0.0 (0.8)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0b (1.7)	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0 (38.3)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)
4	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.8 ± 0.8ab (0.0)	0.0 ± 0.0b (10.8)	2.5 ± 1.1bc (0.0)	0.0 ± 0.0 (26.6)	1.7 ± 1.7 (0.0)	0.0 ± 0.0 (3.3)	5.0 ± 2.2bc (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)
6	0.0 ± 0.0 (8.3)	1.7 ± 1.1ab (0.0)	1.7 ± 1.0a (16.7)	7.5 ± 2.5ab (6.7)	0.0 ± 0.0 (65.0)	8.3 ± 3.1 (3.3)	0.0 ± 0.0 (5.8)	7.5 ± 2.1bc (2.5)	0.0 ± 0.0 (0.8)	2.5 ± 1.7 (0.0)
8	0.0 ± 0.0 (6.7)	2.5 ± 1.1 (0.0)	0.0 ± 0.0b (14.2)	3.3 ± 1.6bc (0.0)	0.0 ± 0.0 (76.7)	3.3 ± 2.1 (3.3)	0.0 ± 0.0 (12.5)	2.5 ± 1.7bc (0.0)	0.0 ± 0.0 (1.7)	3.3 ± 1.7 (0.0)
16	0.0 ± 0.0 (19.2)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0b (24.2)	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0 (75.0)	1.7 ± 1.7 (0.0)	0.0 ± 0.0 (8.3)	1.7 ± 1.7bc (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)
40	0.0 ± 0.0 (11.7)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0b (18.3)	5.8 ± 2.3abc (0.0)	0.0 ± 0.0 (51.7)	3.3 ± 2.1 (0.0)	0.0 ± 0.0 (23.3)	5.8 ± 3.9bc (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	1.7 ± 1.0 (0.0)
72	0.0 ± 0.0 (8.3)	3.3 ± 2.5ab (0.0)	0.0 ± 0.0b (12.5)	10.8 ± 1.5a (0.0)	0.0 ± 0.0 (55.0)	6.6 ± 2.1 (0.0)	0.0 ± 0.0 (30.8)	11.7 ± 2.8b (0.0)	0.0 ± 0.0 (2.5)	4.2 ± 2.4 (0.0)
96	1.7 ± 1.7 (12.5)	6.7 ± 2.5a (0.0)	0.0 ± 0.0b (19.2)	9.1 ± 2.0ab (0.0)	3.3 ± 3.3 (55.0)	8.3 ± 5.4 (0.0)	1.7 ± 1.7 (20.0)	48.3 ± 4.0a (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	3.3 ± 1.7 (0.0)

Πίνακας 2.3.3 : Μέσος όρος άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας (% ± Τ.Σ.) για τα είδη που εξετάστηκαν, μετά την έκθεση τους για 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40, 72 και 96 ώρες σε σπόρους δημητριακών ψεκασμένους με *thiamethoxam* σε συγκέντρωση 1 ppm (σε κάθε στήλη, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05. Ο αριθμός στην παρένθεση είναι το μέσο ποσοστό των ακινητοποιημένων επί των επιζώντων ακμαίων)

Είδος/Θνησιμότητα										
Έκθεση	<i>S. oryzae</i>		<i>R. dominica</i>		<i>P. truncatus</i>		<i>T. confusum</i>		<i>O. surinamensis</i>	
	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη
0	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0b (25.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0c (0.0)
2	1.1 ± 1.1b (9.2)	0.8 ± 0.8b (0.0)	0.0 ± 0.0 (35.0)	0.0 ± 0.0d (10.0)	0.0 ± 0.0b (56.7)	1.7 ± 1.7d (45.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.0 ± 0.0c (0.0)
4	0.0 ± 0.0b (6.7)	2.5 ± 1.1b (0.0)	0.0 ± 0.0 (33.3)	0.0 ± 0.0d (8.3)	0.0 ± 0.0b (65.0)	35.0 ± 7.6c (28.3)	0.0 ± 0.0 (10.0)	3.3 ± 2.1b (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.8 ± 0.8c (0.0)
6	0.0 ± 0.0b (26.7)	11.7 ± 2.5ab (0.0)	0.0 ± 0.0 (80.8)	2.5 ± 1.7cd (2.5)	1.0 ± 1.0b (98.3)	70.0 ± 3.6b (30.0)	0.0 ± 0.0 (58.3)	9.2 ± 2.4b (1.7)	0.0 ± 0.0 (14.2)	5.0 ± 1.8bc (0.0)
8	0.0 ± 0.0b (17.5)	10.0 ± 4.3ab (0.0)	0.0 ± 0.0 (57.5)	9.2 ± 2.0bc (0.0)	0.0 ± 0.0b (88.3)	51.7 ± 5.4bc (0.0)	0.0 ± 0.0 (59.2)	7.5 ± 2.8b (2.5)	0.0 ± 0.0 (5.8)	2.5 ± 1.7c (0.0)
16	0.0 ± 0.0b (14.2)	1.7 ± 1.0b (0.0)	0.0 ± 0.0 (39.2)	0.0 ± 0.0d (1.7)	0.0 ± 0.0b (90.0)	51.7 ± 3.1bc (3.3)	0.0 ± 0.0 (26.7)	8.3 ± 3.1b (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	0.8 ± 0.8c (0.0)
40	0.0 ± 0.0b (25.8)	5.8 ± 1.5b (0.0)	0.0 ± 0.0 (68.3)	5.8 ± 2.3bcd (0.0)	3.3 ± 2.1b (85.0)	65.0 ± 5.6b (25.0)	0.0 ± 0.0 (19.2)	3.3 ± 1.7b (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	3.3 ± 1.0bc (0.0)
72	0.0 ± 0.0b (18.3)	12.5 ± 4.2ab (0.0)	0.0 ± 0.0 (41.7)	10.0 ± 1.8b (0.0)	30.0 ± 4.5a (51.7)	71.7 ± 7.9b (13.3)	0.8 ± 0.8 (31.7)	39.2 ± 3.0a (0.0)	0.0 ± 0.0 (6.7)	9.2 ± 2.4ab (0.0)
96	9.2 ± 4.7a (25.8)	22.5 ± 4.4a (0.0)	0.0 ± 0.0 (64.2)	24.1 ± 2.4a (0.0)	22.2 ± 3.7a (68.3)	98.3 ± 1.7a (0.0)	1.7 ± 1.7 (31.7)	50.0 ± 5.8a (0.0)	0.0 ± 0.0 (0.0)	11.7 ± 1.7a (0.0)

Πίνακας 2.3.4 : Μέσος όρος άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας (% ± Τ.Σ.) για τα είδη που εξετάστηκαν, μετά την έκθεση τους για 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40, 72 και 96 ώρες σε σπόρους δημητριακών ψεκασμένους με *thiamethoxam* σε συγκέντρωση 10 ppm (σε κάθε στήλη, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05. Ο αριθμός στην παρένθεση είναι το μέσο ποσοστό των ακινητοποιημένων επί των επιζώντων ακμαίων)

Είδος/Θνησιμότητα										
	<i>S. oryzae</i>		<i>R. dominica</i>		<i>P. truncatus</i>		<i>T. confusum</i>		<i>O. surinamensis</i>	
Έκθεση	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη
0	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)
2	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0c (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)	0.0 ± 0.0d (0.0)
4	1.7 ± 1.7c (5.8)	1.7 ± 1.7d (0.0)	0.0 ± 0.0b (24.2)	0.0 ± 0.0b (0.0)	0.0 ± 0.0d (15.0)	0.0 ± 0.0d (100.0)	1.7 ± 1.0c (10.0)	1.7 ± 1.0c (0.0)	0.8 ± 0.8d (1.7)	0.8 ± 0.8d (0.0)
6	0.0 ± 0.0c (7.5)	1.7 ± 1.7d (0.0)	0.8 ± 0.8b (17.5)	1.7 ± 1.0b (0.0)	1.7 ± 1.7d (60.0)	1.7 ± 4.1d (100.0)	0.8 ± 0.8c (8.3)	4.2 ± 2.4c (0.0)	3.3 ± 2.1d (2.5)	3.3 ± 2.1d (0.0)
8	0.8 ± 0.8c (30.8)	2.5 ± 1.7c (0.0)	0.0 ± 0.0b (16.7)	1.7 ± 1.7b (0.0)	0.0 ± 0.0d (41.7)	1.7 ± 4.1d (98.3)	0.0 ± 0.0c (35.8)	4.2 ± 2.4c (0.0)	0.0 ± 0.0d (6.7)	0.8 ± 0.8d(0.0)
16	6.7 ± 2.1c (67.5)	11.7 ± 3.6c (88.3)	6.7 ± 2.5b (9.2)	9.2 ± 2.0b (0.0)	31.7 ± 7.0c (68.3)	35.0 ± 20.7c(65.0)	5.8 ± 1.5c (71.7)	11.7 ± 2.1c (0.0)	15.0 ± 2.2c (10.0)	15.8 ± 2.0c (0.0)
40	55.8 ± 3.2b (35.0)	65.8 ± 2.4b (9.2)	55.8 ± 5.8a (36.7)	62.5 ± 6.9a (0.0)	58.3 ± 9.8b (11.7)	58.3 ± 24.0b (41.7)	40.8 ± 10.7b (51.7)	52.5 ± 10.1b (0.0)	60.8 ± 3.9a (15.0)	67.5 ± 4.0a (0.0)
72	80.2 ± 2.5a (19.2)	90.8 ± 3.0a (0.0)	54.2 ± 5.8a (25.0)	62.5 ± 5.4a (0.0)	95.0 ± 3.4a (5.0)	95.0 ± 8.4a (5.0)	74.2 ± 3.9a (19.2)	80.0 ± 3.4a (0.0)	49.2 ± 3.5b (30.0)	52.5 ± 4.6b (0.0)
96	86.7 ± 3.5a (14.2)	91.7 ± 2.1a (3.3)	65.8 ± 3.5a (24.2)	70.0 ± 4.6a (0.0)	96.7 ± 2.1a (3.3)	96.7 ± 5.2a (3.3)	90.0 ± 1.3a (10.0)	92.5 ± 1.7a (0.0)	62.5 ± 2.1a (30.0)	64.2 ± 2.4a (0.0)

2.3.3.2 Καθυστερημένη Θνησιμότητα

Σχετικά με την καθυστερημένη θνησιμότητα, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις ήταν σημαντικές (Πίνακας 2.3.1). Στα 0.1 ppm, η καθυστερημένη θνησιμότητα ήταν εξαιρετικά χαμηλή και δεν υπερέβαινε το 10%, με εξαίρεση την περίπτωση του *T. confusum*, όπου η θνησιμότητα έφτασε το 48% (Πίνακας 2.3.2). Στο 1 ppm, για το ίδιο έντομο, η καθυστερημένη θνησιμότητα διατηρήθηκε στα ίδια επίπεδα, όπως προαναφέρθηκε, ενώ για το *P. truncatus* το 98% από τα εκτεθειμένα ακμαία ήταν νεκρά μετά από 96 ώρες έκθεσης (Πίνακας 2.3.3). Αντίθετα, για τα υπόλοιπα είδη, η καθυστερημένη θνησιμότητα δεν υπερέβη το 25%. Τέλος, σε συγκέντρωση 10 ppm, η θνησιμότητα αυξήθηκε περαιτέρω, φτάνοντας το 95% για το *P. truncatus* μετά από 72 ώρες έκθεσης (Πίνακας 2.3.4). Στη μεγαλύτερη έκθεση (96 ώρες) η θνησιμότητα ήταν 90% για τα *P. truncatus*, *T. confusum* και *S. oryzae*, αλλά δεν υπερέβαινε το 65% για το *O. surinamensis*. Σε αντίθεση με τα επίπεδα άμεσης κατάρριψης που καταγράφηκαν κατά την άμεση θνησιμότητα, η «καθυστερημένη άμεση κατάρριψη» 7 ημέρες αργότερα ήταν χαμηλή για όλα τα είδη, ανεξάρτητα από το χρόνο έκθεσης και τη δόση του εντομοκτόνου, με εξαίρεση το *P. truncatus* (Πίνακες 2.3.2, 2.3.3 και 2.3.4). Για το είδος αυτό, το ποσοστό των ακμαίων που επέζησαν ήταν ακινητοποιημένα, ειδικά στην υψηλότερη συγκέντρωση.

2.3.4 Συζήτηση

Το σενάριο των σύντομων εκθέσεων σε ψεκασμένο υπόστρωμα δημητριακού με thiamethoxam είναι ρεαλιστικό και είναι πιθανό να συμβεί σε άνιση κατανομή των ειδικών προστατευτικών εντομοκτόνων των δημητριακών, είτε όταν η μάζα των δημητριακών περιέχει μη ψεκασμένα μέρη, είτε μέρη που έχουν ψεκαστεί με χαμηλές δόσεις εντομοκτόνου. Με βάση τις μετρήσεις της άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας, τα είδη που εξετάστηκαν, από το περισσότερο έως το λιγότερο ευαίσθητο στις σύντομες εκθέσεις στο thiamethoxam, μπορεί να κατηγοριοποιηθούν ως εξής: *P. truncatus*>*T. confusum*>*R. dominica*>*S. oryzae*>*O. surinamensis*. Οι Yue et al. (2003) διαπίστωσαν ότι οι προνύμφες του *P. interpunctella* ήταν ευαίσθητες σε ψεκασμένο αραβόσιτο με 50 ppm thiamethoxam, ενώ η θνησιμότητα σχετιζόταν αρνητικά με το στάδιο της προνύμφης. Οι Arthur et al. (2004) βρήκαν ότι μεταξύ των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, το *T. castaneum* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο στο thiamethoxam, τόσο στο σκληρό σιτάρι, όσο και στον αραβόσιτο, και ότι για όλα

τα υπόλοιπα είδη, η θνησιμότητα συσχετίστηκε θετικά με τη θερμοκρασία. Ωστόσο, στην ίδια μελέτη, η θνησιμότητα των εντόμων μετρήθηκε μετά από 6 ημέρες συνεχούς έκθεσης στο ψεκασμένο υπόστρωμα.

Στην παρούσα εργασία, το *T. confusum* βρέθηκε μετρίως ευαίσθητο, αλλά τα διαστήματα έκθεσης ήταν πολύ σύντομα, για να είναι συγκρίσιμα με αυτά ενός σεναρίου συνεχούς έκθεσης. Τα δεδομένα μας δείχνουν ότι τα *S. oryzae* και *R. dominica* ήταν ευαίσθητα στο thiamethoxam, γεγονός που έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενα ευρήματα που ανακοινώθηκαν από τους Arthur et al. (2004). Στην εργασία αυτή, οι συγγραφείς επεσήμαναν ότι η αυξημένη γονική θνησιμότητα συσχετίστηκε θετικά με μειωμένη παραγωγή απογόνων των *S. oryzae* και *R. dominica* σε ψεκασμένο υπόστρωμα. Αυτό σημαίνει ότι από τη μία μεριά τα εκτεθειμένα άτομα είχαν μειωμένη ικανότητα ωοτοκίας, και από την άλλη ότι τα ακμαία της πρώτης γενιάς που εμφανίστηκαν, επηρεάστηκαν σημαντικά από την έκθεσή τους στο thiamethoxam.

Ανεξάρτητα από τις διαφορές στη θνησιμότητα, υπήρξε μια σημαντική διαφοροποίηση στην άμεση κατάρριψη ανάμεσα στα είδη των εντόμων που εξετάστηκαν. Στις υψηλές συγκεντρώσεις και σε σχετικά μεγάλα διαστήματα έκθεσης, η πλειοψηφία των επιζησάντων ακμαίων του *P. truncatus* ήταν ακινητοποιημένα, γεγονός που δείχνει ότι για το συγκεκριμένο είδος το thiamethoxam είχε μια αξιοσημείωτη άμεση δράση. Κατά συνέπεια, όταν η συνολική μάζα των δημητριακών έχει υποστεί την εφαρμογή του εντομοκτόνου, αυτή η ακινητοποίηση προκαλεί τη συνεχή επαφή των ακμαίων με το ψεκασμένο υπόστρωμα, γεγονός που με τη σειρά του θα προκαλέσει την πλήρη (100%) θνησιμότητα. Ιδανικά, αυτό σημαίνει ότι η άμεση κατάρριψη με ταυτόχρονη ακινητοποίηση των εντόμων δεν επιτρέπει στα έντομα να μετακινηθούν σε μη ψεκασμένα μέρη του σωρού των δημητριακών, γεγονός που πιθανώς κάνει την άμεση κατάρριψη εξίσου σημαντική με τη θνησιμότητα. Ωστόσο, εάν τα έντομα που θα επιβιώσουν είναι σε θέση να καταφέρουν να αποτοξινωθούν από την τοξική επίδραση ενός συγκεκριμένου εντομοκτόνου και συνέλθουν από την αρχική ακινητοποίηση, τότε, αν η αρχική θνησιμότητα δεν είναι υψηλή, μπορεί να επέλθει σοβαρή ζημία στο δημητριακό (Getchel and Subramanyam, 2008; Athanassiou et al., 2009). Για ορισμένα είδη που εξετάστηκαν στην έρευνά μας η άμεση κατάρριψη ήταν χαμηλή, γεγονός που υποδηλώνει ότι το παραπάνω σενάριο είναι πιθανό να συμβεί. Στις

συγκεντρώσεις των 0.1 και 1 ppm και μετά από 40 ώρες έκθεση, η άμεση κατάρριψη ήταν χαμηλή σε πολλές περιπτώσεις, ειδικά για τα *O. surinamensis* και *S. oryzae*, αλλά σε συγκέντρωση 10 ppm και έκθεση 40 ώρες, τα περισσότερα από τα επιζήσαντα άτομα ακινητοποιήθηκαν. Ωστόσο, ακόμη και αν από τις σύντομες εκθέσεις στον τοξικό παράγοντα προκύπτει πλήρης (100%) καθυστερημένη θνησιμότητα, η παραγωγή απογόνων στο μη επεξεργασμένο υπόστρωμα μπορεί να μην αποφευχθεί πλήρως.

Οι Athanassiou et al. (2009) βρήκαν ότι έκθεση 4 ωρών των ακμαίων του *R. dominica* σε σιτάρι και αραβόσιτο ψεκασμένο με 1 ppm spinosad είχε ως αποτέλεσμα 100% θνησιμότητα ακόμα και μία εβδομάδα αργότερα σε μη ψεκασμένο σιτάρι, όπου καταγράφηκε παραγωγή απογόνων. Αυτό σημαίνει ότι τα έντομα μπόρεσαν να γεννήσουν πριν από το θάνατό τους, είτε κατά το αρχικό διάστημα πριν από την ακινητοποίησή τους (για παράδειγμα, νωρίτερα από την πρώτη ή δεύτερη ώρα έκθεσης), ή κατά τη διάρκεια μικρών περιόδων μερικής ανάκαμψης τους «μετά την έκθεση» ακινητοποίησής τους (μετά την αφαίρεσή τους από το ψεκασμένο υπόστρωμα και πριν από το θάνατό τους στο μη ψεκασμένο υπόστρωμα).

Στη μελέτη μας, καταγράψαμε ότι, ακόμη και για τα περισσότερα από τα είδη που εξετάστηκαν, τα ακμαία που είχαν υποστεί ακινητοποίηση ήταν, κατά πλειοψηφία, σε θέση να αναρρώσουν πλήρως μετά την απομάκρυνσή τους από το ψεκασμένο προϊόν, το οποίο δείχνει σαφώς ότι το thiamethoxam δεν έχει σημαντική «καθυστερημένη επίδραση», ούτε στη θνησιμότητα, αλλά ούτε και στην άμεση κατάρριψη. Στην πραγματικότητα, για τις περισσότερες περιπτώσεις, η καθυστερημένη θνησιμότητα ήταν μόνο ελαφρώς αυξημένη σε σύγκριση με τα αντίστοιχα στοιχεία της αρχικής θνησιμότητας. Η ανάκτηση είναι ένα θέμα μείζονος σημασίας, καθώς απενεργοποιεί πρακτικά το εντομοκτόνο, κάνοντας τα έντομα ικανά να αποικίσουν, όχι μόνο στο μη ψεκασμένο δημητριακό, αλλά και στο ψεκασμένο τμήμα της μάζας του. Ο Arthur (2009) χρησιμοποιώντας το chlorfenapyr, μια πυρόλη που δρα στην παραγωγή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP) στα κύτταρα, ανέφερε ότι η παρουσία τροφής μείωσε την εντομοκτόνο δράση του, τόσο στο *T. confusum*, όσο και στο *T. castaneum* σε τσιμέντο.

Οι Athanassiou et al. (2013) επισήμαναν ότι η επιβίωση των ακμαίων του *T. castaneum* μετά από 7 ημέρες έκθεσης σε beta-cyfluthrin ήταν υψηλότερη όταν

υπήρχε διαθέσιμη τροφή (αλεύρι). Έτσι, η πρόσβαση σε μη ψεκασμένη τροφή αμέσως μετά την περίοδο έκθεσης στο ψεκασμένο δημητριακό, μπορεί να ενισχύσει την ανάκαμψη, πιθανώς μέσω της ικανότητας των εντόμων όταν τρέφονται να μεταβολίζουν μερικώς τον τοξικό παράγοντα. Το σενάριο των σύντομων εκθέσεων που εξετάστηκε στην παρούσα έρευνα είναι θεωρητικά μια επέκταση της άниσης κατανομής των προστατευτικών εντομοκτόνων στη μάζα των δημητριακών. Οι Daghli and Nayak (2010) σημείωσαν ότι η άниση κατανομή του S-methoprene επέφερε αυξημένη επιβίωση του *R. dominica* στο σιτάρι και ότι η μερική έκθεση σε υποθανατηφόρες δόσεις μπορεί να αυξήσει την επιλογή για ανθεκτικότητα. Επίσης, οι Athanassiou et al. (2009) βρήκαν ότι η επιβίωση των *S. oryzae* και *R. dominica* ήταν υψηλή, όταν τα έντομα ήταν σε θέση να αναπτυχθούν σε μη ψεκασμένα υποστρώματα, ακριβώς κάτω από την ψεκασμένη μάζα του σιταριού. Ως προς αυτό, μια άμεση και γρήγορη θνησιμότητα ή τουλάχιστον μια γρήγορη και μη αναστρέψιμη άμεση κατάρριψη είναι απαραίτητη, για την αποφυγή της μετανάστευσης των εντόμων. Η μελέτη μας δείχνει ότι το thiamethoxam δεν προκαλεί «καθυστερημένη» επίδραση στα εκτεθειμένα έντομα, και εάν τα εκτεθειμένα ακμαία μετακινηθούν σε μη ψεκασμένους σπόρους, τότε μπορούν να ανακάμψουν. Ωστόσο, η άμεση κατάρριψη που προκαλείται από το thiamethoxam είναι ισχυρή, αλλά στη μελέτη μας δεν εκτιμήθηκε περαιτέρω, δεδομένου ότι τα έντομα, αμέσως μετά την έκθεση, αφαιρέθηκαν από τους ψεκασμένους σπόρους και μεταφέρθηκαν σε μη ψεκασμένο υπόστρωμα. Ως εκ τούτου, η αξιολόγηση της διάρκειας και του τελικού αποτελέσματος (θάνατος ή ανάκαμψη) «ανενόχλητων» ακινητοποιημένων ακμαίων μετά από επαφή με thiamethoxam είναι απαραίτητη, και απαιτείται περαιτέρω πειραματισμός προς αυτή την κατεύθυνση. Με βάση τα αποτελέσματα που παρουσιάζονται από τους Arthur et al. (2004), το thiamethoxam, αν και είναι αργής δράσης, είναι θανατηφόρο μετά από 6 ημέρες για τα *S. zeamais*, *S. oryzae* και *R. dominica*.

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας κατέδειξαν ότι το thiamethoxam είναι αποτελεσματικό για την αντιμετώπιση ορισμένων από τα είδη που εξετάστηκαν, ειδικά για το *P. truncatus*, για το οποίο δεν υπήρχαν διαθέσιμα δεδομένα. Δεδομένου του ότι το thiamethoxam έχει διαφορετικό τρόπο δράσης, ο οποίος είναι αρκετά διαφορετικός από αυτόν των οργανοφωσφορικών ή των πυρεθροειδών, μπορεί να αξιολογηθεί περαιτέρω ως εναλλακτική λύση των παραδοσιακών εντομοκτόνων για

την αντιμετώπιση των ανθεκτικών πληθυσμών εντόμων. Τα ευρήματά μας υποδηλώνουν ότι αυτή η ουσία είναι γενικά αποτελεσματική σε συγκεντρώσεις που είναι συγκρίσιμες με τα εγκεκριμένα προστατευτικά σπόρων δημητριακών, όπως το spinosad ή τα πυρεθροειδή.

2.4. Επίδραση της άνισης κατανομής του thiamethoxam στη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων των *Rhizopertha dominica* και *Sitophilus oryzae* σε σιτάρι και ρύζι

2.4.1 Εισαγωγή

Το thiamethoxam, ένα νεονικοτινοειδές της δεύτερης γενιάς εγκρίθηκε για πρώτη φορά για χρήση στη γεωργία από τον Οργανισμό Προστασίας Περιβάλλοντος των ΗΠΑ (USEPA) το 1999. Είναι μια δραστική ουσία, που εμπεριέχεται σε σκευάσματα που εφαρμόζονται παγκοσμίως, με προϊόντα καταχωρημένα σε περισσότερες από 130 χώρες, συμπεριλαμβανομένων των Ηνωμένων Πολιτειών, του Καναδά, της Βραζιλίας, της Αυστραλίας, της ΕΕ, της Ινδίας και της Ρωσίας (Hilton et al, 2015). Δρα επιλεκτικά στα έντομα παρεμβαίνοντας στους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης (nAChR), έχοντας δραστηριότητα και στομάχου και επαφής (Jeschke et al, 2005; Maienfisch et al, 2001b).

Η εφαρμογή εντομοκτόνων επαφής απευθείας στους σπόρους είναι μια συνήθης πρακτική, που έχει υιοθετηθεί κατά την περίοδο της αποθήκευσης για την παροχή μακροχρόνιας προστασίας. Ο κύριος μηχανισμός δράσης των εντομοκτόνων επαφής στα έντομα είναι είτε μέσω επαφής, με την πρόσληψή τους από την επιφάνεια των ψεκασμένων σπόρων, είτε μέσω διατροφής (Arthur, 1996). Οι διαφοροποιήσεις στην κατανομή του εντομοκτόνου στον όγκο των σιτηρών ή της διαφορετικής συμπεριφοράς της κίνησης των διαφόρων ειδών εντόμων, προκαλούν και διαφορετική πρόσληψη εντομοκτόνου από τα έντομα, γεγονός που τελικά οδηγεί στη διαφορετική αποτελεσματικότητά του (Jian, 2019). Ένα προστατευτικό σπόρων εφαρμόζεται σε μη προσβεβλημένους σπόρους για μακροχρόνια προστασία από προσβολές εντόμων, ακόμη και αν αυτό χρησιμοποιείται σε χαμηλές δόσεις. Η διαδικασία εφαρμογής μπορεί να οδηγήσει σε άνιση κατανομή του εντομοκτόνου στη μάζα των σπόρων, καθώς ορισμένοι σπόροι ψεκάζονται πλήρως και μερικοί άλλοι ψεκάζονται με το εντομοκτόνο μερικώς ή και καθόλου (Subramanyam et al., 2014).

Αν και παραδοσιακά τα προστατευτικά σπόρων εφαρμόζονται σε ολόκληρη την αποθηκευμένη μάζα των προϊόντων, συχνά χρησιμοποιούνται και ως επιφανειακή επικάλυψη (top-dressing), δηλαδή η εφαρμογή γίνεται μόνο στο ανώτερο μέρος της μάζας των δημητριακών (Athanassiou et al., 2009; Lui et al., 2016). Η επικάλυψη

αυτή δρα σα φράγμα, που εμποδίζει τα έντομα να εισέλθουν στη συνολική μάζα των δημητριακών και τα αναγκάζει να τραφούν με τους επιφανειακούς σπόρους, σκοτώνοντας τα έντομα που κινούνται από το άνω στρώμα στα βαθύτερα στρώματα της μάζας. Με βάση τη συνιστώμενη δοσολογία των περισσότερων εντομοκτόνων επαφής και τον τρόπο με τον οποίο τα εντομοκτόνα εφαρμόζονται ως μονο-στρώματα, π.χ. στον μάντα μεταφοράς, δεν έχουν όλοι οι σπόροι του δημητριακού την ίδια ποσότητα του εντομοκτόνου που εφαρμόζεται (Subramanyam et al., 2007; Jian 2019).

Τα εργαστηριακά πειράματα, καθώς και τα πειράματα αγρού, παρέχουν διάφορα αποτελέσματα όσον αφορά τη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων στους επιφανειακούς ψεκασμούς, που περιλαμβάνουν «άνω-επικάλυψη» σε σύγκριση με αυτή του μάρτυρα. Αυτό συμβαίνει επειδή η «άνω-επικάλυψη» προσφέρει στα έντομα πολλές ευκαιρίες να διεισδύσουν μέσω της ψεκασμένης μάζας στο μη ψεκασμένο τμήμα αυτής (Athanassiou et al., 2009; Lui et al., 2016; Arthur, 2019). Οι Vardeman et al. (2006) σε μια μελέτη με γη διατόμων, ανέφεραν ότι τα έντομα αποθηκευμένων προϊόντων διεισδύοντας στην ψεκασμένη επιφάνεια της μάζας του δημητριακού, μπορεί να είναι σε θέση να φωτοκήσουν στα μη ψεκασμένα στρώματα πριν πεθάνουν, συνεχίζοντας την προσβολή των σπόρων. Σύμφωνα με τους Hagstrum (1987, 1989) και τους Hagstrum and Flinn (1995), τα περισσότερα έντομα στη μάζα των δημητριακών εμφανίζονται στο άνω μέρος του όγκου αυτού και η χρήση ενός δεδομένου εντομοκτόνου καλύπτοντας την ανώτερη επιφάνεια, μπορεί να είναι αποτελεσματική για την καταστολή των πληθυσμών των εντόμων. Η επίδραση της μερικής κάλυψης με εντομοκτόνο σε σιτάρι αξιολογήθηκε και από τους Daghli and Nayak (2010) με το S-methoprene. Σε αυτή τη μελέτη, οι ερευνητές χρησιμοποίησαν διάφορες αναλογίες (0.1-100%) σπόρων σιταριού που ψεκάστηκαν με εντομοκτόνο, ενώ η ανάμιξη των ψεκασμένων με τους μη ψεκασμένους σπόρους είχε το ίδιο αποτέλεσμα με την ολική κάλυψη με το εντομοκτόνο στη μάζα των σπόρων. Η μη ομοιόμορφη κάλυψη παρέχει προστασία από προσβολή εντόμων κατά τη διάρκεια μεγάλων περιόδων αποθήκευσης και ως εκ τούτου μείωση του κόστους των επεμβάσεων με εντομοκτόνο στα δημητριακά (Amos et al, 1976; Subramanyam et al., 2014). Οι Athanassiou et al., (2009) σημείωσαν ότι η επιφανειακή εφαρμογή με το spinosad ήταν αποτελεσματική έναντι του *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) στο σιτάρι, ακόμα κι αν καλυφθεί το ένα όγδοο της συνολικής

ποσότητας του δημητριακού. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν από τους Getchell and Subramanyam (2008) για σύντομες εκθέσεις των εντόμων με spinosad. Σε μια άλλη έρευνα, οι Athanassiou et al. (2011) εξέτασαν την επίδραση των μερικώς ψεκασμένων σπόρων με το S-methoprene για την αντιμετώπιση του *R. dominica*, και διαπίστωσαν ότι η επιφανειακή κάλυψη καταστέλλει την παραγωγή απογόνων. Η έρευνα των Vassilakos and Athanassiou (2012) δείχνει ότι η άνιση κατανομή του spinetoram μπορεί να επηρεάσει σοβαρά την αποτελεσματικότητά του και αυτή η τάση είναι παρόμοια για το σιτάρι και για το ρύζι. Οι συγγραφείς σημείωσαν ότι το spinetoram ήταν πιο αποτελεσματικό στο σιτάρι, παρά στο ρύζι για το *R. dominica*, και ότι το «κρίσιμο» ποσοστό των σπόρων που είχαν υποστεί κάλυψη με spinetoram ήταν το 5 και το 10% για το σιτάρι και το ρύζι, αντίστοιχα.

Πολλές μελέτες αποδεικνύουν ότι η μερική επεξεργασία με εντομοκτόνο μιας αποθηκευμένης μάζας δημητριακών έχει καλές προοπτικές στην περαιτέρω χρήση για την αντιμετώπιση εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, συμβάλλοντας στη συνολική μείωση των υπολειμμάτων στο ψεκασμένο προϊόν (Arthur, 1992; Fields and Korunic, 2000; Athanassiou et al., 2009; Daghish and Nayak, 2010; Vassilakos and Athanassiou, 2012; Wijayarathne et al., 2012; Subramanyam et al., 2014; Kavallieratos et al., 2015). Προς το παρόν, υπάρχουν λίγα διαθέσιμα δεδομένα για την αποτελεσματικότητα του thiamethoxam έναντι των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, ενώ δεν υπάρχουν στοιχεία σχετικά με τη χρήση του thiamethoxam βασισμένα στο σενάριο της άνισης κατανομής. Στην παρούσα μελέτη, εξετάσαμε την εντομοκτόνο δράση της δραστικής αυτής με άνιση κατανομή στη μάζα των προϊόντων με μερική κάλυψη σπόρων, έναντι των *R. dominica* και *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Επιπλέον, εξετάσαμε την ικανότητα παραγωγής των απογόνων των δύο ειδών στα διάφορα μείγματα των ψεκασμένων υποστρωμάτων.

2.4.2 Υλικά και μέθοδοι

2.4.2.1. Υπόστρωμα και έντομα

Χρησιμοποιήθηκαν ακμαία από τις εκτροφές που υπάρχουν στους θαλάμους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας για τα δύο είδη εντόμων που εξετάστηκαν. Στα υποκεφάλαια 2.1.1 και 2.1.2. περιγράφονται ακριβώς οι διαδικασίες προετοιμασίας των εκτροφών και των υποστρωμάτων. Πριν τη χρήση των δημητριακών για υπόστρωμα, η υγρασία τους μετρήθηκε με υγρασιόμετρο

(Multitest, GODE SAS, Le Catelet, France), και βρέθηκε και για τα δύο δημητριακά να είναι στο 13.5%.

2.4.2.2 Εντομοκτόνο και διαδικασίες εφαρμογής

Όλες οι εφαρμογές στα δημητριακά έλαβαν χώρα με το εντομοκτόνο Cruiser FS (600) που περιέχει thiamethoxam, σύμφωνα με τα όσα αναφέρονται παραπάνω στο υποκεφάλαιο 2.1.4. Οι συγκεντρώσεις του thiamethoxam που εξετάστηκαν ήταν 1 και 5 ppm.

2.4.2.3. Βιοδοκιμές

Οι βιοδοκιμές έγιναν εφαρμόζοντας thiamethoxam με ποσοστιαία ανάμιξη στο σπόρο. Ποσότητες από 1 kg σκληρού σιταριού και 1 kg αποφλοιωμένου ρυζιού ψεκάστηκαν με thiamethoxam χρησιμοποιώντας 1 ml ψεκαστικού διαλύματος ανά κιλό δημητριακού, προκειμένου να επιτευχθεί η επιθυμητή συγκέντρωση. Επιπλέον ποσότητες σιταριού και ρυζιού ψεκάστηκαν με αποσταγμένο νερό και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (διαμέτρου 3 cm, ύψους 8 cm), τα οποία περιείχαν μίγματα ψεκασμένου και μη ψεκασμένου σπόρου κάθε προϊόντος.

Τα φιαλίδια περιείχαν 28 g σιταριού και 20 g ρυζιού, και χωρίστηκαν σε έξι κατηγορίες: φιαλίδια που περιείχαν μη ψεκασμένο προϊόν (μάρτυρας) και φιαλίδια που περιείχαν ποσοστά 5, 10, 25, 50 ή 100% ψεκασμένου σπόρου αντίστοιχα. Μετά την εισαγωγή των σπόρων, τα φιαλίδια ανακινήθηκαν χειροκίνητα για περίπου ένα λεπτό, για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου, όπου κι επιτεύχθηκαν στο καθένα οι επιθυμητές διαφορετικές αναλογίες των ψεκασμένων και μη σπόρων. Δέκα ακμαία από κάθε είδος, εισήχθησαν στα φιαλίδια μετά την εισαγωγή του δημητριακού, σε ξεχωριστά φιαλίδια για κάθε είδος εντόμου. Η θνησιμότητα αξιολογήθηκε μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης και μετά από αυτό το διάστημα, όλα τα ακμαία απομακρύνθηκαν και η παραγωγή απογόνων μετρήθηκε 65 ημέρες αργότερα. Κάθε εφαρμογή με thiamethoxam επαναλήφθηκε τέσσερις φορές με ξεχωριστά φιαλίδια για κάθε συνδυασμό εφαρμογής. Η όλη διαδικασία βιοδοκιμών επαναλήφθηκε 3 φορές.

2.4.2.4 Ανάλυση δεδομένων

Η θνησιμότητα στους μάρτυρες ήταν γενικά χαμηλή και δεν πραγματοποιήθηκε διόρθωση θνησιμότητας σύμφωνα με τον Abbott (1925). Για όλες τις βιοδοκιμές, τα δεδομένα θνησιμότητας υποβλήθηκαν σε πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (MANOVA), με το χρόνο και τη θνησιμότητα του εντόμου ως επαναλαμβανόμενες μεταβλητές, και με τη δόση, την εφαρμογή του εντομοκτόνου και το υπόστρωμα ως κύριες επιδράσεις (ελέγχθηκε (test Levin) και ακολουθείται κανονική κατανομή των δεδομένων, ώστε να πληρούνται οι προϋποθέσεις της ANOVA). Για τον αριθμό των απογόνων, τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (three-way ANOVA), με κύρια επίδραση τη δόση, την εφαρμογή και το υπόστρωμα. Σε όλες τις περιπτώσεις, οι μέσοι όροι συγκρίθηκαν χρησιμοποιώντας το Tukey-Kramer (HSD) test, σε επίπεδο 0.05 (Sokal and Rohlf, 1995).

2.4.3 Αποτελέσματα

2.4.3.1. Θνησιμότητα ακμαίων

Και για τα δύο είδη εντόμων, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 2.4.1). Γενικά, η θνησιμότητα αυξήθηκε με της αύξηση του ποσοστού της κάλυψης των σπόρων με εντομοκτόνο στη συνολική μάζα, σε όλες τις δόσεις και τα είδη που εξετάστηκαν.

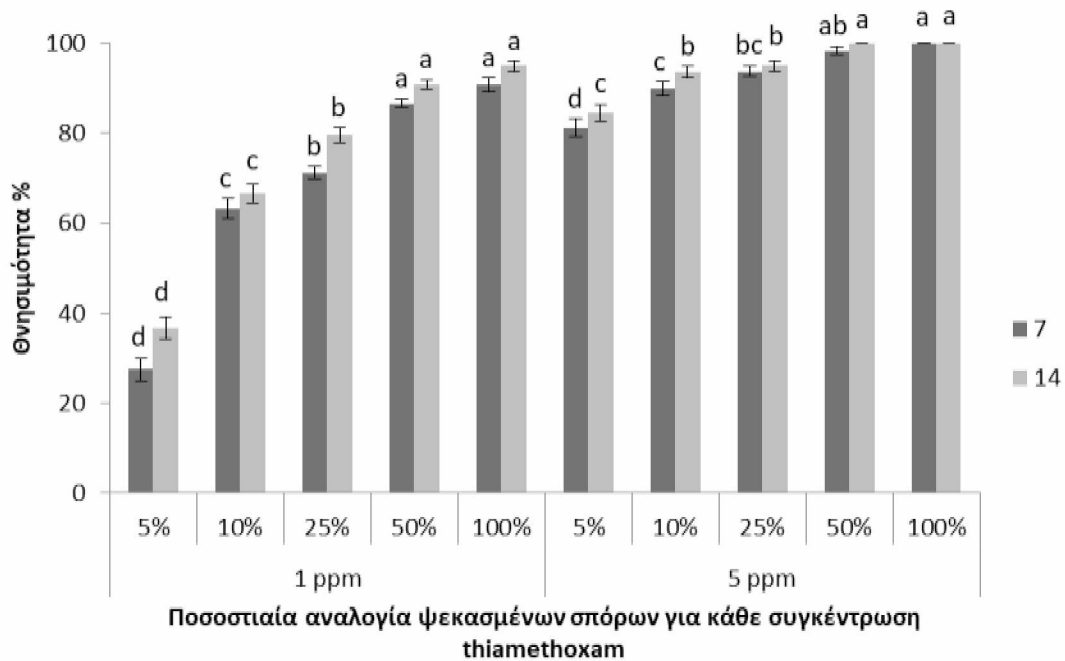
Στο ρύζι, η θνησιμότητα των ακμαίων και στα δύο είδη, ήταν χαμηλότερη από ότι στο σιτάρι, ειδικά στη συγκέντρωση του 1 ppm, ανεξάρτητα από την ποσοστιαία αναλογία εφαρμογής (Γράφημα 2.4.1 έως και 2.4.2). Μετά από 7 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica* σε σιτάρι ή ρύζι στο 1 ppm κυμάνθηκε μεταξύ 27-91 και 17-70% αντίστοιχα, ενώ στα 5 ppm μεταξύ 81-100 και 68-100%, αντίστοιχα (Γράφημα 2.4.1 και 2.4.2). Επτά ημέρες αργότερα, η θνησιμότητα των ακμαίων στο σιτάρι και στο ρύζι αυξήθηκε και στο 1 ppm κυμαινόταν μεταξύ 37-95 και 26-79% αντίστοιχα, ενώ στα 5 ppm μεταξύ 84-100 και 75-100%, αντίστοιχα (Γράφημα 2.4.1 και 2.4.2).

Για το *R. dominica* στο σιτάρι δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στη θνησιμότητα για τις ποσοστιαίες αναλογίες των εφαρμογών 50 και 100% και στα δύο διαστήματα έκθεσης. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν για το ίδιο είδος στα

5 ppm στην περίπτωση των ποσοστιαίων αναλογιών των εφαρμογών με thiamethoxam 25, 50 και 100% στο ρύζι, αλλά μόνο μετά από 14 ημέρες έκθεσης

Πίνακας 2.4.1: Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας των ειδών που εξετάστηκαν, με παράγοντες το υπόστρωμα, τη δόση του εντομοκτόνου, την εφαρμογή του εντομοκτόνου, και τις αλληλεπιδράσεις τους κατά την ποσοστιαία εφαρμογή του thiamethoxam (B.E. σφάλματος =220).

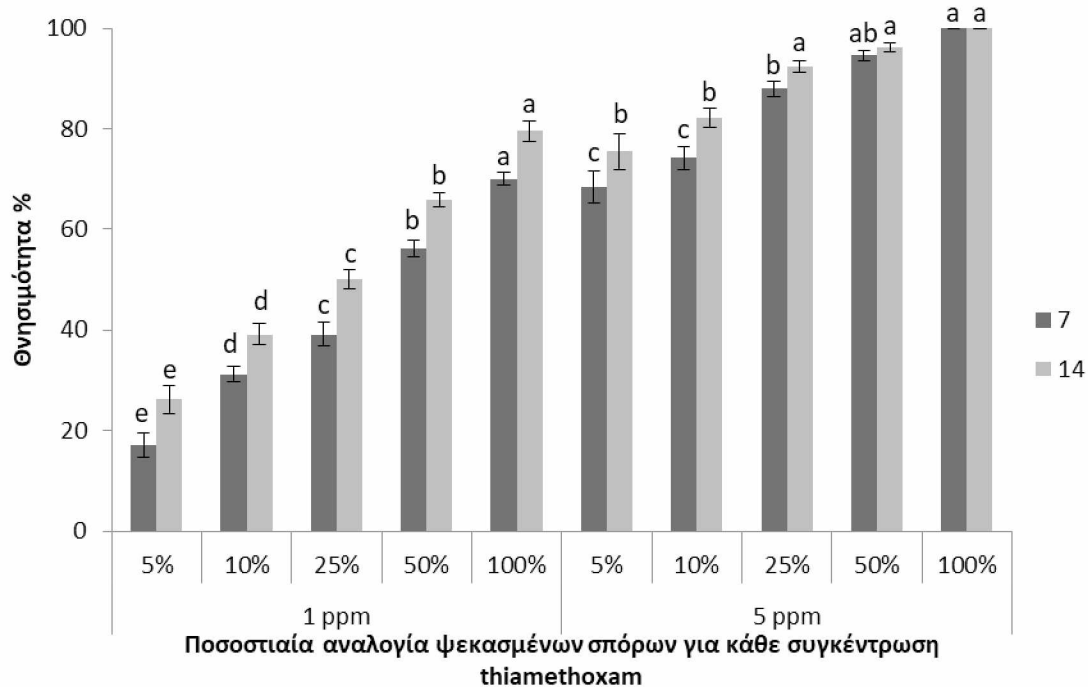
Πηγή παραλλακτικότητας	<i>R. dominica</i>			<i>S. oryzae</i>	
	B.E.	F	P	F	P
Μεταξύ των μεταβλητών	19	221.4	<0.01	95.9	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	41907.8	<0.01	8742.1	<0.01
Υπόστρωμα	1	419.3	<0.01	824.5	<0.01
Δόση εντομοκτόνου	1	1830.1	<0.01	188.3	<0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου	4	370.6	<0.01	165.1	<0.01
Δόση * Υπόστρωμα	1	132.8	<0.01	9.2	0.0027
Δόση* Εφαρμογή	4	64.9	<0.01	7.4	<0.01
Υπόστρωμα * Εφαρμογή	4	9.9	<0.01	25.3	<0.01
Δόση * Υπόστρωμα* Εφαρμογή	4	10.7	<0.01	2.5	0.0463
Εντός των μεταβλητών	19	7.1	<0.01	8.2	<0.01
Χρόνος	1	332.2	<0.01	599.6	<0.01
Χρόνος*Υπόστρωμα	1	24.5	<0.01	22.4	<0.01
Χρόνος*Δόση	1	58.2	<0.01	38.7	<0.01
Χρόνος*Εφαρμογή	4	5.3	0.0005	8.2	<0.01
Χρόνος * Δόση εντομοκτόνου* Υπόστρωμα	1	1.3	0.2596	1.2	0.2803
Χρόνος * Δόση εντομοκτόνου * Εφαρμογή	4	4.8	0.001	5.6	0.0002
Χρόνος * Υπόστρωμα * Εφαρμογή	4	0.5	0.7547	5.7	0.0002
Χρόνος * Δόση εντομοκτόνου * Υπόστρωμα * Εφαρμογή	4	2.3	0.0574	3.7	0.006



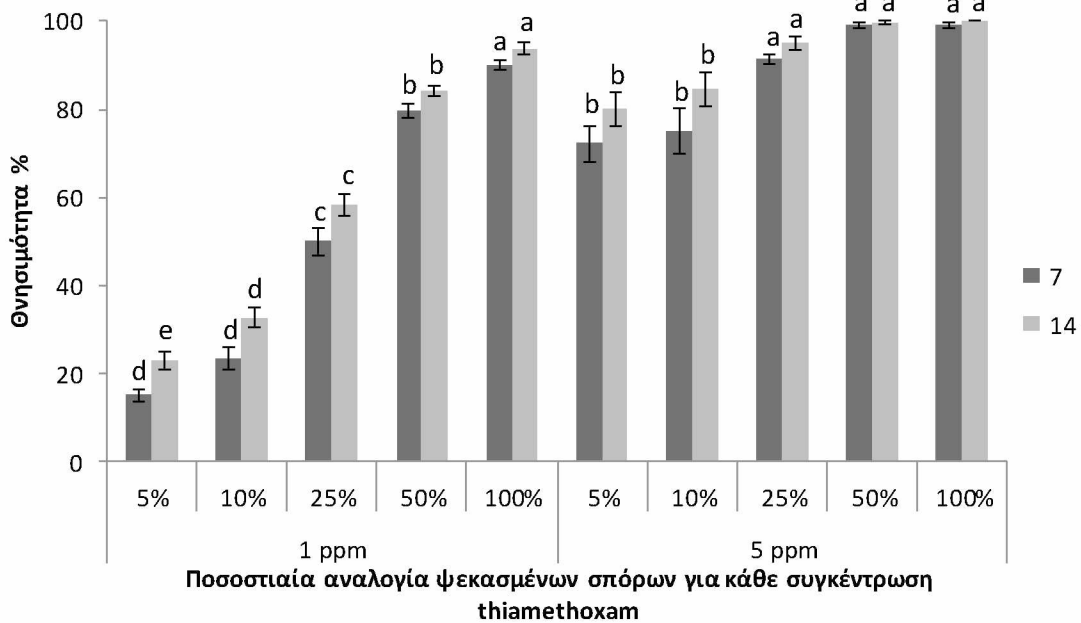
Γράφημα 2.4.1: Ποσοστό θνησιμότητας (% \pm T.Σ.) των ακμαίων του *R. dominica* σε φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %), μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης (Σε κάθε συγκέντρωση και διάστημα έκθεσης, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Στο σιτάρι, στη συγκέντρωση των 5 ppm για το *S. oryzae* δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στη θνησιμότητα των ακμαίων μεταξύ των ποσοστιαίων εφαρμογών 25, 50 και 100% και για τα δύο διαστήματα έκθεσης, ωστόσο πλήρης θνησιμότητα καταγράφηκε μόνο μετά από 14 ημέρες έκθεσης και όταν το ποσοστό κάλυψης του σιταριού ήταν 100% (Γράφημα 2.4.3). Για το ίδιο είδος, στο ρύζι, σε συγκέντρωση του 1 ppm, το υψηλότερο ποσοστό θνησιμότητας ήταν 58.3% μετά από 14 ημέρες έκθεσης και καταγράφηκε όταν το ποσοστό κάλυψης ήταν 100%, το οποίο δε διέφερε σημαντικά από τη θνησιμότητα, όταν το ποσοστό κάλυψης των σπόρων ήταν 50%. Στα 5 ppm, η πλήρης θνησιμότητα ακμαίων καταγράφηκε στο ποσοστό κάλυψης των σπόρων 100% μετά από 14 ημέρες έκθεσης. Σε αυτό το ποσοστό δεν υπήρχαν

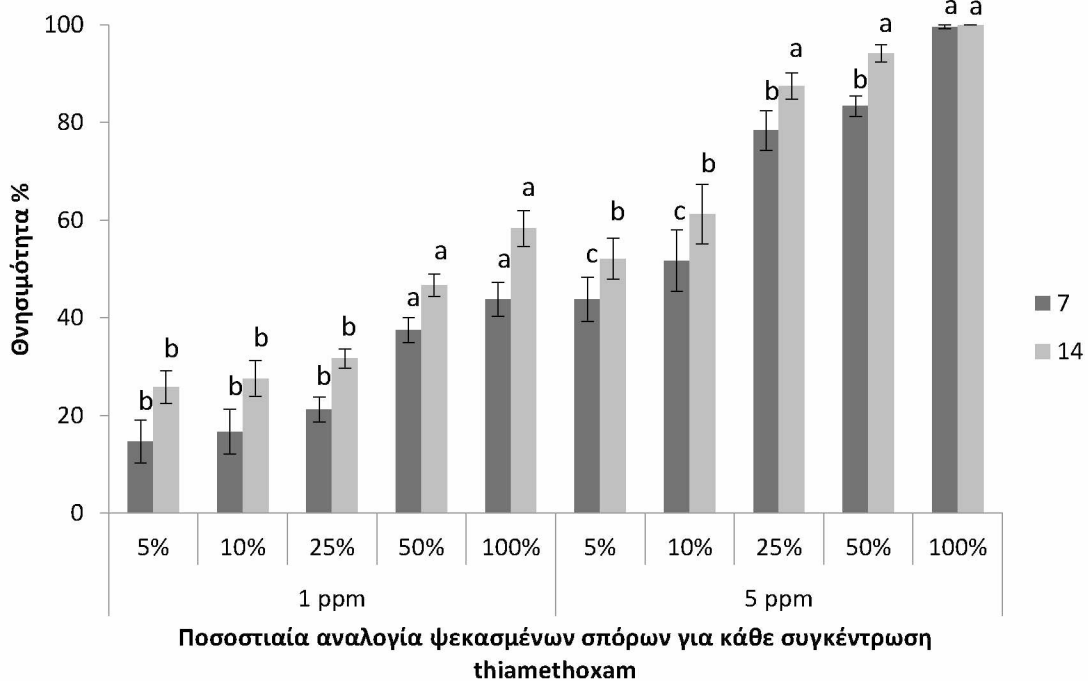
στατιστικά σημαντικές διαφορές σε σύγκριση με τη θνησιμότητα για τα ποσοστά κάλυψης των σπόρων 25 και 50% για την ίδια συγκέντρωση και διάστημα έκθεσης (Γράφημα. 2.4.4).



Γράφημα 2.4.2: Ποσοστό θνησιμότητας (% \pm T.Σ.) των ακμαίων του *R. dominica* σε φιαλίδια που περιείχαν ρίζι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %), μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης (Σε κάθε συγκέντρωση και διάστημα έκθεσης, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)



Γράφημα 2.4.3: Ποσοστό θνησιμότητας (% \pm T.Σ.) των ακμαίων του *S. oryzae* σε φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %), μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης (Σε κάθε συγκέντρωση και διάστημα έκθεσης, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)



Γράφημα 2.4.4: Ποσοστό θνησιμότητας (% \pm T.Σ.) των ακμαίων του *S. oryzae* σε φιαλίδια που περιείχαν ρύζι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %), μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης (Σε κάθε συγκέντρωση και διάστημα έκθεσης, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

2.4.3.2 Παραγωγή απογόνων

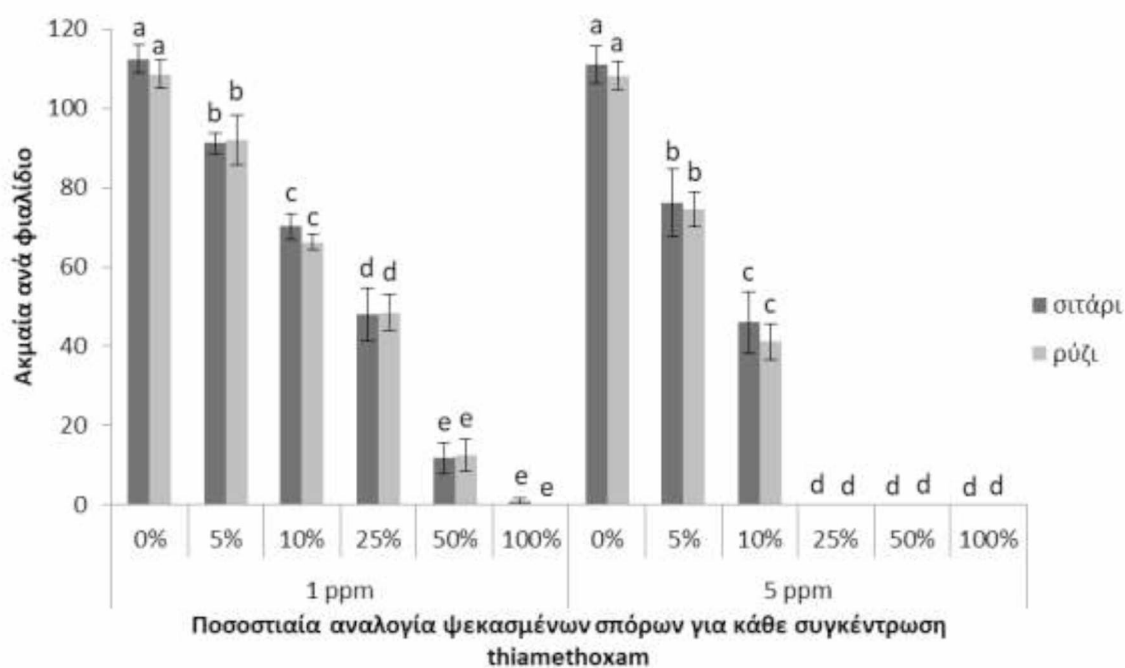
Τόσο για τα δύο είδη εντόμων, όσο και για τα δύο δημητριακά που χρησιμοποιήθηκαν για υπόστρωμα, η αύξηση του ποσοστού της εφαρμογής με thiamethoxam στη μάζα των σπόρων προκάλεσε μείωση στην παραγωγή απογόνων.

Για το *R. dominica*, μόνο η δόση και η εφαρμογή του εντομοκτόνου, καθώς και η αλληλεπίδραση αυτών ήταν σημαντικές (Πίνακας 2.4.2). Η παραγωγή απογόνων σε ψεκασμένο σιτάρι και ρύζι ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη στον αντίστοιχο μάρτυρα (Γράφημα 2.4.5). Στο 1 ppm, δεν παρήχθησαν απόγονοι στο ρύζι με ποσοστό κάλυψης 100%. Επιπρόσθετα, στην υψηλότερη συγκέντρωση, υπήρχε μηδενική παραγωγή απογόνων στα ποσοστά κάλυψης 25, 50 και 100% και στα δύο προϊόντα.

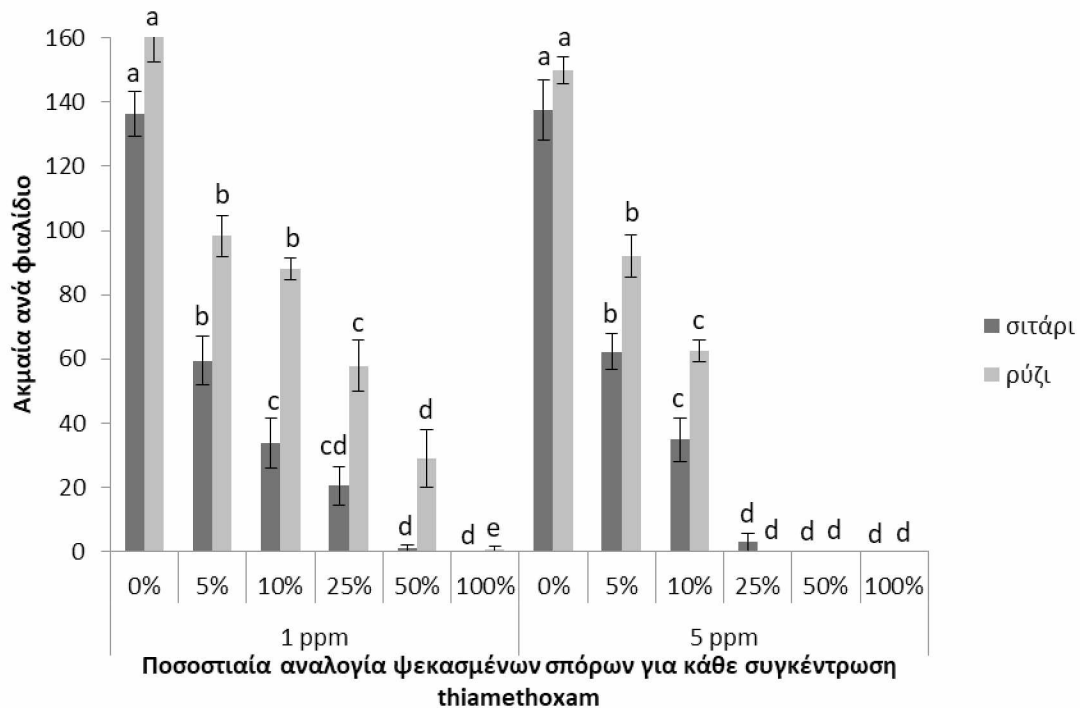
Για το *S. oryzae*, σχεδόν όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 2.4.2). Η παραγωγή απογόνων σε ψεκασμένο σιτάρι και ρύζι ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη στον αντίστοιχο μάρτυρα (Γράφημα 2.4.6). Στο 1 ppm, δεν καταγράφηκε παραγωγή απογόνων σε ποσοστό κάλυψης 100% στο σιτάρι, η οποία δεν διαφέρει στατιστικά από αυτή στο ποσοστό κάλυψης 50%. Στα 5 ppm, στο σιτάρι υπήρξε μηδενική παραγωγή απογόνων, όταν τα ποσοστά ψεκασμένων σπόρων στη μάζα του δημητριακού ήταν 50 και 100% και στο ρύζι όταν τα ποσοστά ψεκασμένων σπόρων ήταν 25, 50 και 100%.

Πίνακας 2.4.2: Ανάλυση διακόμανσης τριών παραγόντων (*three-way ANOVA*), με κύρια επίδραση τη δόση, την εφαρμογή και το υπόστρωμα, και τις αλληλεπιδράσεις τους, σε δημητριακά που περιείχαν διάφορα ποσοστά σπόρων στους οποίους είχε γίνει εφαρμογή του *thiamethoxam*, συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα (*B.E.* σφάλματος = 287)

Πηγή παραλλακτικότητας	<i>B.E.</i>	<i>R. dominica</i>		<i>S. oryzae</i>	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Δόση εντομοκτόνου	1	107.3	<0.01	28.8	<0.01
Υπόστρωμα	1	0.6	0.42	87.6	<0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου	5	478.0	<0.01	409.3	<0.01
Δόση * Υπόστρωμα	1	0.02	0.89	18.9	<0.01
Δόση * Εφαρμογή	5	19.5	<0.01	6.5	<0.01
Υπόστρωμα * Εφαρμογή	5	0.3	0.94	7.2	<0.01
Δόση * Υπόστρωμα * Εφαρμογή εντομοκτόνου	5	0.02	1.00	1.8	0.11



Γράφημα 2.4.5: Μέσος όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο \pm *T.S.*) των *R. dominica* σε φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ή ρύζι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %) (σε κάθε συγκέντρωση και δημητριακό, οι *M.O.* που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, *Tukey-Kramer HSD test* σε 0.05)



Γράφημα 2.4.6: Μέσος όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο \pm T.Σ.) του *S. oryzae* σε φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ή ρύζι ψεκασμένο σε διάφορα ποσοστά (μεταξύ 5 και 100 %) (σε κάθε συγκέντρωση και δημητριακό, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

2.4.4 Συζήτηση

Όπως ήταν αναμενόμενο, η θνησιμότητα των ακμαίων των *R. dominica* και *S. oryzae* αυξήθηκε με την αύξηση του ποσοστού των ψεκασμένων σπόρων με εντομοκτόνο. Όπως δείχνουν προηγούμενες έρευνες, η θνησιμότητα των κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων σε μερικώς ψεκασμένους σπόρους, αποδίδεται στο γεγονός ότι τα ακμαία των εντόμων περνούν από το ψεκασμένο στρώμα του δημητριακού, οδηγώντας τα σε θάνατο (Subramanyam et al., 2007; Jian, 2019). Προφανώς, τα φιαλίδια που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές περιόρισαν την κίνηση των ακμαίων σε μια πολύ μικρή περιοχή, η οποία ουσιαστικά ανάγκασε τα έντομα να έρθουν σε επαφή με το ψεκασμένο με εντομοκτόνο υπόστρωμα, ένα σενάριο που μπορεί να μην ισχύει σε μεγάλες ποσότητες σπόρων (π.χ. σε σιλό), όπου τα έντομα σε μεγάλη μάζα μπορεί να μην είναι αντιμετωπίσιμα. Παρ' όλα αυτά, ακόμη και μια σύντομη έκθεση των ακμαίων σε thiamethoxam (λιγότερο από 24 ώρες) μπορεί τελικά να οδηγήσει σε θνησιμότητα, ειδικά στην περίπτωση του *R. dominica*, το οποίο αποδεικνύει ότι τα μερικώς ψεκασμένα τμήματα της μάζας

δημητριακού μπορούν να παρέχουν ένα ικανοποιητικό επίπεδο ελέγχου. Σε ρεαλιστικές συνθήκες, η ομοιόμορφη επικάλυψη των σπόρων με εντομοκτόνο είναι σπάνιο να επιτευχθεί στην αποθήκευση και η άνιση κατανομή του εντομοκτόνου στους σπόρους είναι πολύ συχνό φαινόμενο (Flinn et al., 2004; Subramanyam et al., 2007; Athanassiou et al., 2009). Κατά την εισαγωγή ενός προϊόντος στο χώρο αποθήκευσης και όταν η μάζα των σπόρων καλύπτεται μ' ένα εντομοκτόνο, δεν καλύπτονται ομοιόμορφα όλοι οι σπόροι και ορισμένοι από αυτούς καλύπτονται λίγο έως και καθόλου, γεγονός που μπορεί να οδηγήσει σε ένα ευρύ φάσμα ποσοστών κάλυψης μεταξύ του 10 και 100% (Subramanyam et al., 2014). Σε μια εργαστηριακή μελέτη, η κάλυψη μόνο του 1% των σπόρων σιταριού με υψηλό ποσοστό μαλαθείου στο επίπεδο των 1000 mg δ.ο./ kg και η ανάμιξή τους με μη ψεκασμένη μάζα σπόρων για να δώσει μια τελική τιμή της τάξης του 10 mg δ.ο./ kg, είχε ως αποτέλεσμα την αντιμετώπιση των ακμαίων των *S. oryzae* και *R. dominica* και την καταστολή της παραγωγής απογόνων για 70 έως 100 ημέρες (Minett and Williams, 1971). Οι Kavallieratos et al. (2015) με το πυρεθροειδές deltamethrin, κάλυψαν σε διαφορετικά ποσοστά σπόρους ρυζιού, όπως και στη δική μας έρευνα, και διαπίστωσαν ότι η καταστολή της παραγωγής απογόνων ήταν παρόμοια μεταξύ των ποσοστών κάλυψης των σπόρων κατά 25, 50 και 100% για το *R. dominica*, αλλά η μερική κάλυψη των σπόρων δεν είχε καμία επίδραση στην περίπτωση του *S. oryzae* και του *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae). Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι η ωστοκία και η ολοκλήρωση της ανάπτυξης των ατελών σταδίων των ειδών *Sitophilus* συμβαίνει εντός του σπόρου, σε αντίθεση με αυτή του *R. dominica*, όπου η εκκόλαψη των προνυμφών από τα ωά συμβαίνει στο εξωτερικό μέρος του σπόρου, και οι προνύμφες του μπορούν να εκτεθούν στο ψεκασμένο υπόστρωμα μέχρι να εισέλθουν στο εσωτερικό του σπόρου (Athanassiou et al., 2009).

Η ανάμειξη των ψεκασμένων με εντομοκτόνο σπόρων με τους μη ψεκασμένους σπόρους είναι συχνά μια κοινή πρακτική, ειδικά όταν οι εγκαταστάσεις αποθήκευσης γεμίζουν σταδιακά με διαφορετικές ποσότητες σπόρων, σε διαφορετικές χρονικές περιόδους. Τα συνολικά οφέλη από μια τέτοια τεχνική είναι εμφανή, τόσο ως προς το κόστος, όσο και ως προς τα υπολείμματα στο τελικό προϊόν, αλλά και το «κρίσιμο» ποσοστό της κάλυψης της μάζας του δημητριακού, μπορεί να ποικίλλει ανάλογα με το είδος του εντόμου και το εντομοκτόνο. Οι Athanassiou et al. (2009) εξέτασαν την εφαρμογή του spinosad σε διαφορετικά στρώματα της μάζας σπόρων σε παρόμοια

φιαλίδια, με αυτά που εξετάστηκαν στη μελέτη μας για την αντιμετώπιση διαφόρων ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων. Σε αυτή τη μελέτη, οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι όταν τα ακμαία του *R. dominica* εισήχθησαν στο φιαλίδιο από την κορυφή της στήλης του δημητριακού και αναγκάστηκαν να περάσουν κάθετα από το δημητριακό, η θνησιμότητα ήταν υψηλή, ακόμη και όταν είχε ψεκαστεί μόνο το ανώτερο ένα όγδοο της συνολικής μάζας. Αντίθετα, όταν η εισαγωγή των εντόμων είχε γίνει αρχικά με τα έντομα να βρίσκονται στο κάτω μέρος της στήλης με σπόρους, το οποίο αφέθηκε χωρίς κάλυψη με εντομοκτόνο, η θνησιμότητα ήταν χαμηλή (Athanassiou et al., 2009). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και για το *spinetoram* (Vassilakos and Athanassiou, 2012). Η κινητικότητα των εντόμων και η γεωταξία είναι σημαντικές παράμετροι που πρέπει να ληφθούν υπόψη, ειδικά σε προσεγγίσεις «επιφανειακής κάλυψης», λαμβάνοντας υπόψη ότι είδη όπως το *R. dominica* κινούνται λιγότερο από άλλα, όπως το *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera): Tenebrionidae) (Agrafioti et al., 2021). Κάτω από αυτό το πρίσμα, μια ανάμειξη ψεκασμένων με μη ψεκασμένους σπόρους μπορεί να είναι πιο αποτελεσματική από τη μερική κάλυψη με εντομοκτόνο μόνο του ανώτερου στρώματος της μάζας των σπόρων. Τα έντομα για παράδειγμα που παρουσιάζουν αρνητική γεωτακτική απόκριση, ανεβαίνοντας γρήγορα στην κορυφή ενός φιαλιδίου περνούν από τα στρώματα που είναι ψεκασμένα με εντομοκτόνο και αυτή η δοκιμασία αξιοποιεί τη φυσική τάση των εντόμων και με τον τρόπο αυτό οδηγούνται στο θάνατο.

Στη μελέτη μας, βρήκαμε ότι το thiamethoxam μπορεί να χρησιμεύσει για τον σκοπό αυτό, καθώς ακόμη και η παρουσία εντομοκτόνου σε ποσοστά που ήταν χαμηλότερα του 25% είχε αξιοσημείωτη επίδραση στη γονική θνησιμότητα και την καταστολή της παραγωγής απογόνων και για τα δύο υποστρώματα που ελέγχθηκαν. Θεωρούμε ότι η ανάμειξη, η οποία έγινε εδώ χειροκίνητα, αύξησε την επαφή των ψεκασμένων με τους μη ψεκασμένους σπόρους, παρέχοντας μια πιο ομοιόμορφη εξάπλωση του εντομοκτόνου στη μάζα των σπόρων. Η πιθανή μεταφορά υπολειμμάτων από ψεκασμένους σπόρους σιταριού σε μη ψεκασμένους σπόρους, επισημάνθηκε επίσης από τους Daghli and Nayak (2010), όπου τα ακμαία του *R. dominica* μπόρεσαν να προσλάβουν επαρκή απαιτούμενη ποσότητα εντομοκτόνου για το θάνατό τους, ακόμη και σε ψεκασμούς όπου μόνο το 10% των σπόρων είχε καλυφθεί με εντομοκτόνο. Το γεγονός αυτό μπορεί να ενισχυθεί από την κατακόρυφη προς τα κάτω κίνηση αυτού

του είδους, που έχει αναφερθεί σε διαφορετικούς τύπους στηλών δημητριακών (Surtees, 1964; Vardeman et al., 2007a, b; Athanassiou et al., 2009).

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δείχνουν ότι ο ψεκασμός μέρους της ποσότητας των σπόρων με thiamethoxam στα 5 ppm μπορεί να μειώσει την παραγωγή απογόνων και των δύο ειδών εντόμων και στα δύο υποστρώματα, με το «κρίσιμο» ποσοστό να κυμαίνεται μεταξύ 25 και 50% της συνολικής ποσότητας σπόρων. Και για τα δύο είδη, η εμφάνιση απογόνων βρέθηκε να σχετίζεται άμεσα με τη γονική θνησιμότητα, ειδικά στην περίπτωση του 1 ppm. Η καθυστερημένη γονική θνησιμότητα επέτρεψε στα επιβιώσαντα ακμαία να ωτοκήσουν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, με αποτέλεσμα την αύξηση των απογόνων. Ωστόσο, μετρήσαμε την παραγωγή απογόνων σε ένα ορισμένο χρονικό διάστημα που τέθηκε αρχικά, αλλά δεν γνωρίζουμε τις επιδράσεις του thiamethoxam στα νέα ακμαία, καθώς υποθέτουμε ότι πολλά από αυτά τα F1 ακμαία θα πεθάνουν μετά από έκθεση στους ψεκασμένους σπόρους. Καθυστερημένες επιδράσεις των νευροτοξικών προστατευτικών σπόρων εντομοκτόνων επαφής έχουν εξεταστεί διεξοδικά για διαφορετικές δραστικές ουσίες, συμπεριλαμβανομένου και του thiamethoxam (Agrafioti et al., 2015; Baliota et al., 2018; Athanassiou et al., 2014). Οι μετέπειτα προσβολές από τα F1 ακμαία πιθανότατα θα αυξήσουν τη ζημιά στα σιτηρά, ακόμη και αν αυτά τα ακμαία θα πεθάνουν τελικά, μετά από την επαφή με τα υπολείμματα του thiamethoxam.

Τα δεδομένα μας δείχνουν ότι το thiamethoxam ήταν πιο αποτελεσματικό για το *R. dominica* απ' ό,τι για το *S. oryzae*, αλλά η διαφορά ως προς την ευαισθησία μεταξύ αυτών των δύο ειδών είναι μάλλον πιο περιορισμένη από ό,τι σε άλλα προστατευτικά δημητριακών, τα οποία είναι εγκεκριμένα επί του παρόντος για προστασία σιτηρών, όπως το spinosad (Hertlein et al., 2011) και το pirimiphos-methyl (Rumbos et al., 2013). Ταυτόχρονα, το thiamethoxam ήταν πιο αποτελεσματικό στο σιτάρι από ό,τι στο ρύζι, ειδικά στη συγκέντρωση του 1 ppm, ανεξάρτητα από την αναλογία του σπόρου που ψεκάστηκε. Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν στην έρευνά μας, δηλ. 1-5 ppm, ήταν άμεσα συγκρίσιμες με εκείνες των εγκεκριμένων προστατευτικών σπόρων, υποδηλώνοντας ότι η δραστική αυτή θα μπορούσε να αξιολογηθεί με μεγαλύτερη λεπτομέρεια προς την κατεύθυνση αυτή.

2.5. Αποτελεσματικότητα του thiamethoxam με εφαρμογή σε στρώματα έναντι ακμαίων των *Rhizopertha dominica* και *Sitophilus oryzae*

2.5.1. Εισαγωγή

Τα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα χρησιμοποιούνται συνήθως ως συστηματικά εντομοκτόνα και δρουν στους νικοτινικούς υποδοχείς ακετυλοχολίνης (nAChR) των εντόμων και των θηλαστικών (Tomizawa et al, 2005; Matsuda et al, 2009). Πιο πρόσφατα, διαπιστώθηκε ότι το thiamethoxam μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την αντιμετώπιση ενός ευρέος φάσματος εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, ως προστατευτικό σπόρων, αλλά και ως εντομοκτόνο επιφανειών, σε συγκεντρώσεις που είναι συγκρίσιμες με τα περισσότερα εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται επί του παρόντος για το σκοπό αυτό (Saglam et al., 2013; Doganay et al., 2018; Rumbos et al., 2018;), όπου και έχει προταθεί μια άλλη χρήση της δραστικής ουσίας αυτής.

Μεγάλος αριθμός εντόμων είναι πιθανό να βρεθούν μόνο σε ορισμένα στρώματα της μάζας των δημητριακών. Οι Weston and Barney (1998) διαπίστωσαν ότι στις αποθήκες, η προσβολή των εντόμων μπορεί να συμβεί ξεκινώντας από τον πυθμένα της μάζας του προϊόντος, ιδιαίτερα σε σιλό με «ψευδο-δάπεδα», ενώ οι Vela-Coiffier et al. (1997) σημείωσαν ότι για ορισμένα είδη, η προσβολή μπορεί να προκύψει από τις περιφερειακές ζώνες της μάζας αυτής, λόγω της μετανάστευσής τους. Αρκετές μελέτες αποδεικνύουν ότι παρουσία εντόμων και ακάρεων παρατηρείται συνήθως στο ανώτερο στρώμα του δημητριακού (Hagstrum, 1989; Hagstrum et al., 1998; Athanassiou et al., 2003), αλλά υπάρχει σημαντική εποχική μετανάστευση μεταξύ των ζωνών, επηρεάζοντας δραστικά τις ιδιότητες των σιτηρών (Athanassiou and Buchelos, 2001, 2003, 2020). Σε μια αποθήκη επίπεδης αποθήκευσης, για παράδειγμα, η πλειονότητα των ειδών εντόμων βρέθηκαν στο μισό μέτρο (0.5 m) των κορυφαίων στρωμάτων της χύδην μάζας του δημητριακού (Athanassiou et al., 2003), και αυτός πιθανά να είναι και ο λόγος, που όταν τα εντομοκτόνα επαφής εφαρμόζονται στο ανώτερο στρώμα του όγκου των σιτηρών, είναι σε θέση να μειώσουν τους πληθυσμούς των εντόμων (Athanassiou et al. 2009, Vassilakos and Athanassiou, 2012).

Τα υπολειμματικά εντομοκτόνα που εφαρμόζονται απευθείας στους σπόρους των δημητριακών, γνωστά επίσης και ως προστατευτικά σπόρων, είναι σε θέση να παρέχουν μακροχρόνια προστασία, αρκεί να διατηρήσουν τη δραστικότητά τους

(Arthur, 1996, Athanassiou et al., 2004). Αυτά τα εντομοκτόνα δρουν στα έντομα μέσω επαφής και στομάχου (Arthur, 1996). Οι Subramanyam et al. (2014) επεσήμαναν ότι κατά την εφαρμογή ενός εντομοκτόνου στη μάζα των σιτηρών, μπορεί να αφηθεί κάποια μάζα σπόρων μερικώς ψεκασμένη και κάποια άλλη χωρίς καθόλου εφαρμογή εντομοκτόνου. Επιπρόσθετα με την άνιση κατανομή του εντομοκτόνου, η συμπεριφορά μετακίνησης εντόμων μέσα στη μάζα των δημητριακών μπορεί να διαφοροποιήσει την πρόσληψη του εντομοκτόνου και την αποτελεσματικότητά του στον ίδιο χώρο αποθήκευσης (Jian, 2019). Τα προστατευτικά σπόρων χρησιμοποιούνται συχνά σαν «top-dressing» (επιφανειακή επικάλυψη), δηλαδή εφαρμόζονται μόνο στο ανώτερο μέρος της μάζας των προϊόντων (Athanassiou et al., 2009; Lui et al., 2016), το οποίο μπορεί να λειτουργήσει ως εμπόδιο για την πρόληψη των προσβολών, θανατώνοντας έντομα που κινούνται στο ανώτερο στρώμα βαθύτερα στη μάζα αυτή (Vassilakos and Athanassiou, 2012). Τα αποτελέσματα που έχουν εξετάσει τα σενάρια αυτά είναι ανάμεικτα, καθώς τα έντομα μπορούν να διαφύγουν από την ψεκασμένη επιφάνεια στο μη ψεκασμένο τμήμα της μάζας των δημητριακών, προκαλώντας επιπλέον ζημιά σε αυτά (Athanassiou et al., 2009; Lui et al., 2016; Arthur, 2019). Ο Hagstrum (1987, 1989) και οι Hagstrum and Flinn (1995) παρατήρησαν ότι τα περισσότερα έντομα στη μάζα των δημητριακών εμφανίζονται στο πάνω μέρος της, όπου η επικάλυψή του με συγκεκριμένο εντομοκτόνο μπορεί να είναι αποτελεσματική για την καταστολή των πληθυσμών των εντόμων. Η εφαρμογή σε σιτάρι με spinosad ήταν αποτελεσματική κατά του *Rhizopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), ακόμη και όταν ψεκάστηκε μόνο ένα λεπτό στρώμα της ποσότητας των σπόρων (Athanassiou et al., 2009). Οι Daghli and Nayak (2010) εξέτασαν τη μερική εφαρμογή των σπόρων με S-methoprene και βρήκαν την ίδια αποτελεσματικότητα κατά των εντόμων, με αυτή του S-methoprene αν θα εφαρμοζόταν σε ολόκληρη τη μάζα. Σε μια άλλη μελέτη, οι Athanassiou et al. (2011) εξέτασαν την επίδραση της άνισης κατανομής στους σπόρους με S-methoprene για την αντιμετώπιση του *R. dominica* και διαπίστωσαν ότι η εφαρμογή σε στρώσεις μείωσε σημαντικά την ικανότητα παραγωγής των απογόνων. Επιπλέον, η χρήση του εντομοκτόνου σαν επιφανειακή στρώση μπορεί να μειώσει το κόστος εφαρμογής, μαζί με την ποσότητα των υπολειμμάτων στους σπόρους (Arthur, 1992; Fields and Korunic, 2000; Athanassiou et al., 2009; Daghli and Nayak, 2010; Vassilakos and Athanassiou, 2012; Wijayarathne et al., 2012; Subramanyam et al., 2014; Kavallieratos et al., 2015) και προστατεύει από την

προσβολή εντόμων κατά τη διάρκεια εκτεταμένων περιόδων αποθήκευσης, η οποία δεν είναι εφικτή με τη χρήση υποκαπνιστικών (Amos et al., 1976; Subramanyam et al., 2014).

Προς το παρόν, υπάρχουν λίγα διαθέσιμα δεδομένα για την αποτελεσματικότητα του thiamethoxam κατά των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, με πιο πρόσφατα διαθέσιμα δεδομένα (αποτέλεσμα ορισμένων ενοτήτων της διατριβής αυτής) να δείχνουν ότι αυτή η δραστική ουσία είναι πολλά υποσχόμενη για την αντιμετώπιση πολλών ειδών. Ωστόσο, δεν υπάρχουν δεδομένα σχετικά με τη χρήση του thiamethoxam με άνιση κατανομή σε σπόρους, παρά το γεγονός ότι οι σύντομες εκθέσεις στο εντομοκτόνο αυτό μπορούν να προκαλέσουν σημαντικό επίπεδο θνησιμότητας σε ορισμένα είδη κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων. Ως εκ τούτου, ο στόχος της μελέτης μας ήταν να προσδιοριστεί εάν η άνιση κατανομή του thiamethoxam με εφαρμογές σε διαφορετικά στρώματα στο δημητριακό θα είχε αποτελεσματικότητα για την αντιμετώπιση δύο πρωτεύοντων ειδών εντόμων αποθηκών, του *R. dominica* και του *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera): Curculionidae). Εκτός από τη γονική θνησιμότητα, εξετάστηκε και η επίδραση της άνισης κατανομής του thiamethoxam με στρωματοποίηση του προϊόντος στην ικανότητα παραγωγής απογόνων.

2.5.2 Υλικά και μέθοδοι

2.5.2.1. Υπόστρωμα και έντομα

Το βασικό υπόστρωμα ήταν σκληρό σιτάρι (var. Simeto) με περιεκτικότητα σε υγρασία 13.5%, όπως προσδιορίστηκε από ένα μετρητή υγρασίας (Multitest, GODE Co., France). Χρησιμοποιήθηκαν μόνο ακμαία για τα δύο υπό εξέταση είδη εντόμων, που ελήφθησαν από εκτροφές του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, ενώ στα υποκεφάλαια 2.1.1 και 2.1.2. περιγράφονται με λεπτομέρεια οι διαδικασίες προετοιμασίας των εκτροφών και των υποστρωμάτων.

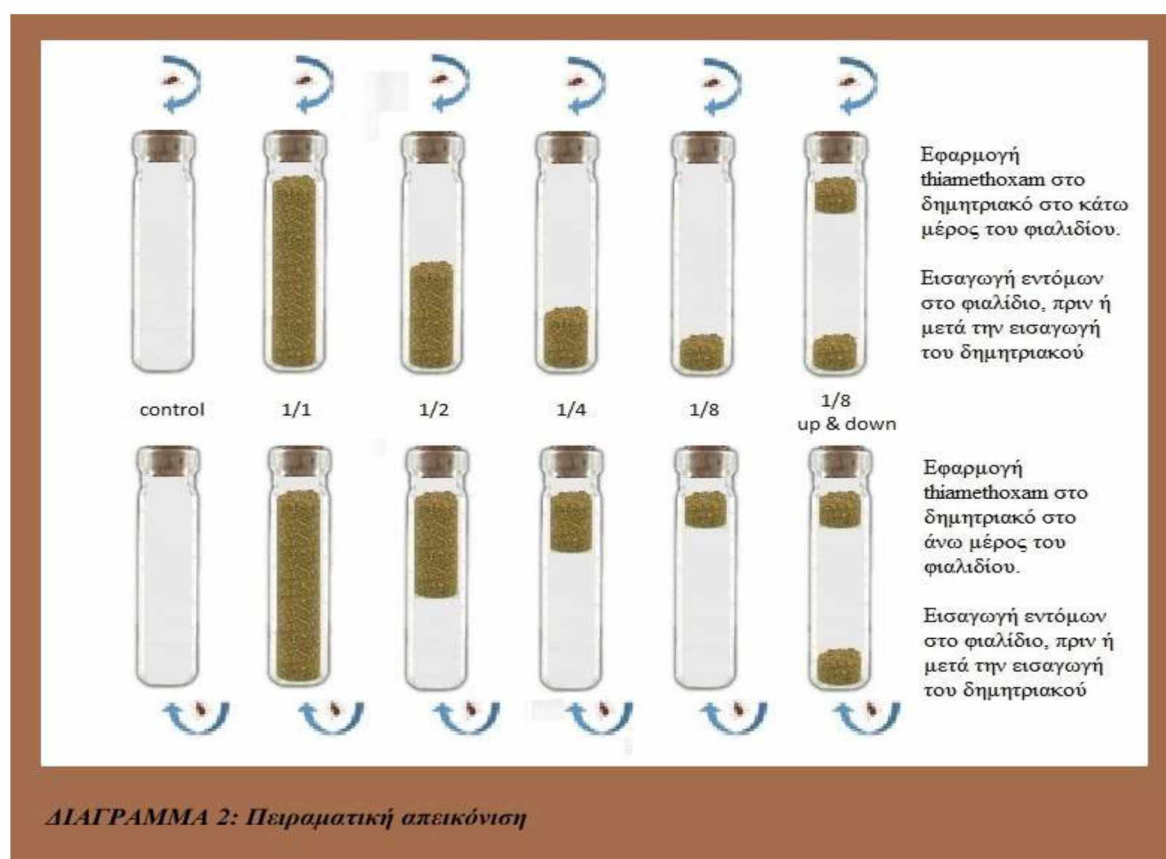
2.5.2.2 Εφαρμογή του thiamethoxam

Όλες οι εφαρμογές με το εντομοκτόνο στο σιτάρι έλαβαν χώρα σύμφωνα με το υποκεφάλαιο 2.1.4. Η συγκέντρωση του thiamethoxam ήταν 1 ppm, ενώ χρησιμοποιήθηκε ποσότητα 1 kg σιταριού, όπου προετοιμάστηκαν ξεχωριστά

σκευάσματα για καθεμία από τις τρεις επαναλήψεις, χρησιμοποιώντας 1 ml τυποποιημένου ψεκασμού ανά kg σιταριού.

2.5.2.3 Εφαρμογή thiamethoxam με άνιση κατανομή σε στρώσεις σπόρων σιταριού

Μια παρτίδα 2 kg σιταριού ψεκάστηκε με thiamethoxam και ακόμα μια άλλη παρόμοια παρτίδα ψεκάστηκε μόνο με αποσταγμένο νερό, προκειμένου να δημιουργηθούν στρώματα ψεκασμένων και μη ψεκασμένων σπόρων μέσα σε πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (διαμέτρου 3 cm, ύψους 8 cm), τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως πειραματικές μονάδες για τις βιοδοκιμές. Καθένα από αυτά τα φιαλίδια περιείχε 28 g σιταριού, σύμφωνα με τις επιθυμητές στρώσεις, που ελήφθησαν από τις δύο παραπάνω διαφορετικές παρτίδες. Το βάρος αυτό του υποστρώματος αντιστοιχεί με την κάλυψη από το κάτω μέρος των φιαλιδίων φτάνοντας σε ύψος περίπου τα 6 cm.



Συνολικά δημιουργήθηκαν δέκα κατηγορίες διαφορετικών στρωμάτων (δηλαδή δέκα συνδυασμοί ψεκασμένων και μη ψεκασμένων σπόρων σιταριού), εκτός από τον μάρτυρα (βλέπε το πρώτο φιαλίδιο στην πάνω και στην κάτω σειρά του διαγράμματος 2). Τα φιαλίδια προετοιμάστηκαν, ώστε να υπάρχουν στρώματα με τους

ψεκασμένους και τους μη ψεκασμένους σπόρους, δημιουργώντας μια μεταχείριση με στρώσεις ψεκασμένων σπόρων στην κάτω επιφάνεια και μια μεταχείριση με στρώσεις πάνω επιφάνεια ως εξής: α) εφαρμογή σε σπόρους καλύπτοντας ολόκληρο το φιαλίδιο (βλέπε το δεύτερο φιαλίδιο στην πάνω και στην κάτω σειρά του διαγράμματος 2), β) το κάτω μισό του φιαλιδίου περιείχε σπόρους που ήταν ψεκασμένοι και το πάνω μισό σπόρους που δεν ήταν ψεκασμένοι και την αντίθετη διάταξη (βλέπε το τρίτο φιαλίδιο στην πάνω σειρά και το αντίθετο στην κάτω σειρά του διαγράμματος 2), γ) το κάτω ένα τέταρτο του φιαλιδίου περιείχε σπόρους που ήταν ψεκασμένοι και το υπόλοιπο σπόρους που δεν ήταν ψεκασμένοι και την αντίθετη διάταξη (βλέπε το τέταρτο φιαλίδιο στην πάνω σειρά και το αντίθετο στην κάτω σειρά του διαγράμματος 2), δ) το άνω όγδοό του περιείχε σπόρους που ήταν ψεκασμένοι και το υπόλοιπο σπόρους που δεν ήταν ψεκασμένοι, και την αντίθετη διάταξη (βλέπε το πέμπτο φιαλίδιο στην πάνω σειρά και το αντίθετο στην κάτω σειρά του διαγράμματος 2), και ε) τελικά το πάνω και το κάτω όγδοό του περιείχε σπόρους που ήταν ψεκασμένοι και το υπόλοιπο ενδιάμεσο ένα τέταρτο σπόρους που δεν ήταν ψεκασμένοι (βλέπε το έκτο φιαλίδιο στην πάνω και στην κάτω σειρά του διαγράμματος 2). Για κάθε είδος, είκοσι ακμαία προστέθηκαν σε κάθε φιαλίδιο ακολουθώντας έναν από τους δύο τρόπους: πριν ή μετά την εισαγωγή των σπόρων. Στη συνέχεια, όλα τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν στους 25 °C, 65% Σ.Υ. και σε συνεχές σκοτάδι. Η θνησιμότητα των εκτεθειμένων ακμαίων καταγράφηκε μετά από διάστημα 14 ημερών. Μετά από αυτό το διάστημα, όλα τα ακμαία, νεκρά ή ζωντανά, απομακρύνθηκαν από τα φιαλίδια, τα οποία παρέμειναν στις ίδιες συνθήκες για 65 ημέρες επιπλέον, προκειμένου να καταγραφεί ο αριθμός των απογόνων που εμφανίστηκαν. Για κάθε είδος εφαρμογής και τρόπο εισαγωγής των εντόμων έγιναν τέσσερις υπο-επαναλήψεις, ενώ η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές. Ως εκ τούτου, για κάθε συνδυασμό υπήρχαν $4 \times 3 = 12$ φιαλίδια.

2.5.2.4 Ανάλυση δεδομένων

Η θνησιμότητα στους μάρτυρες ήταν γενικά χαμηλή και δεν πραγματοποιήθηκε διόρθωση θνησιμότητας σύμφωνα με τον Abbott (1925). Για κάθε είδος, τα δεδομένα της θνησιμότητας αναλύθηκαν με ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (ANOVA), χρησιμοποιώντας το λογισμικό JMP (Sall et al., 2001). Η θνησιμότητα ή η παραγωγή απογόνων ήταν η εξαρτημένη μεταβλητή και ο τρόπος εισαγωγής των εντόμων (πριν ή μετά), η εφαρμογή σε στρώσεις (βάθος των ψεκασμένων

στρωμάτων) και η στρωματοποίηση του εντομοκτόνου συμπεριλήφθηκαν ως κύριες επιδράσεις. (ελέγχθηκε (test Levin) και ακολουθείται κανονική κατανομή των δεδομένων, ώστε να πληρούνται οι προϋποθέσεις της ANOVA). Η παραγωγή απογόνων στα φιαλίδια του μάρτυρα συμπεριλήφθηκε στην ανάλυση. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε χρησιμοποιώντας το Tukey-Kramer (HSD) test, σε επίπεδο α 0.05 (Sokal and Rohlf, 1995).

2.5.3. Αποτελέσματα

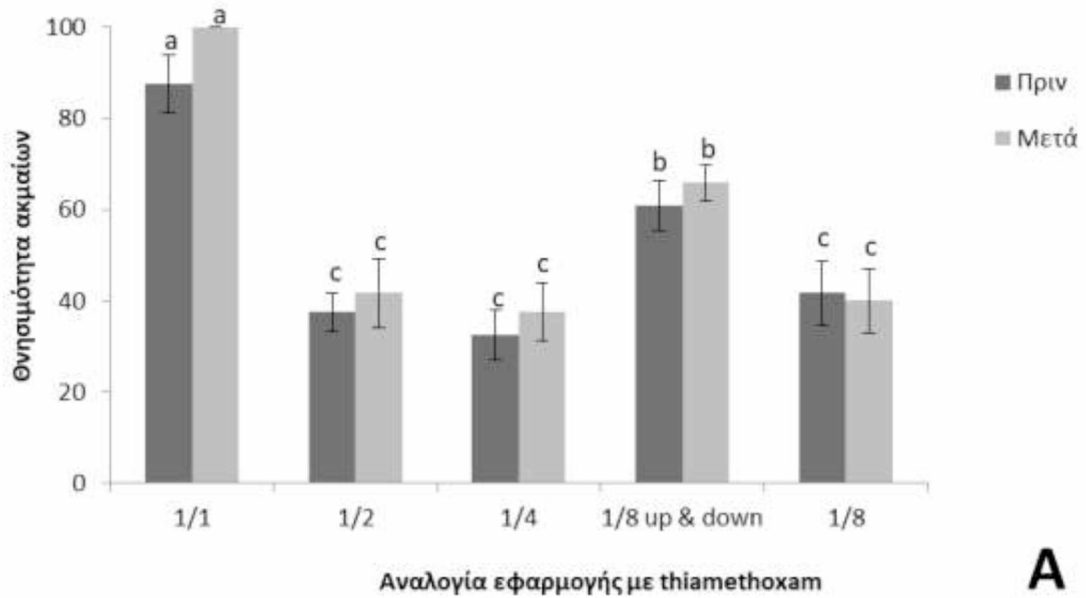
2.5.3.1. Θνησιμότητα

Και για τα δύο είδη εντόμων όλες οι κύριες επιδράσεις και οι περισσότερες αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 2.5.1). Γενικά, για το *R. dominica*, η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη όταν τα έντομα ήταν ήδη στο φιαλίδιο πριν από την εισαγωγή των σπόρων, σε σύγκριση με τα έντομα που εισήχθησαν μετά την εισαγωγή των σπόρων (Γράφημα 2.5.1). Πλήρης θνησιμότητα (100%) παρατηρήθηκε μόνο στα φιαλίδια που περιείχαν 100% ψεκασμένο σιτάρι και μόνο όταν τα έντομα εισήχθησαν μετά το σιτάρι. Επιπλέον, η μείωση της ψεκασμένης στρώσης, μείωσε σταδιακά τη θνησιμότητα των ακμαίων, και στους δύο τρόπους εισαγωγής των εντόμων (Γράφημα 2.5.1). Τέλος, όταν η ψεκασμένη στρώση ήταν στο κάτω μέρος του φιαλιδίου, η θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica* ήταν γενικά υψηλότερη από αυτή των αντίστοιχων ακμαίων που ήταν στο φιαλίδιο με την ψεκασμένη στρώση στο πάνω μέρος του. Ακόμα και στην εφαρμογή του 1/8 του συνόλου των σπόρων, η θνησιμότητα ήταν υψηλή και κυμαινόταν μεταξύ 49 και 67% (Γράφημα 2.5.1).

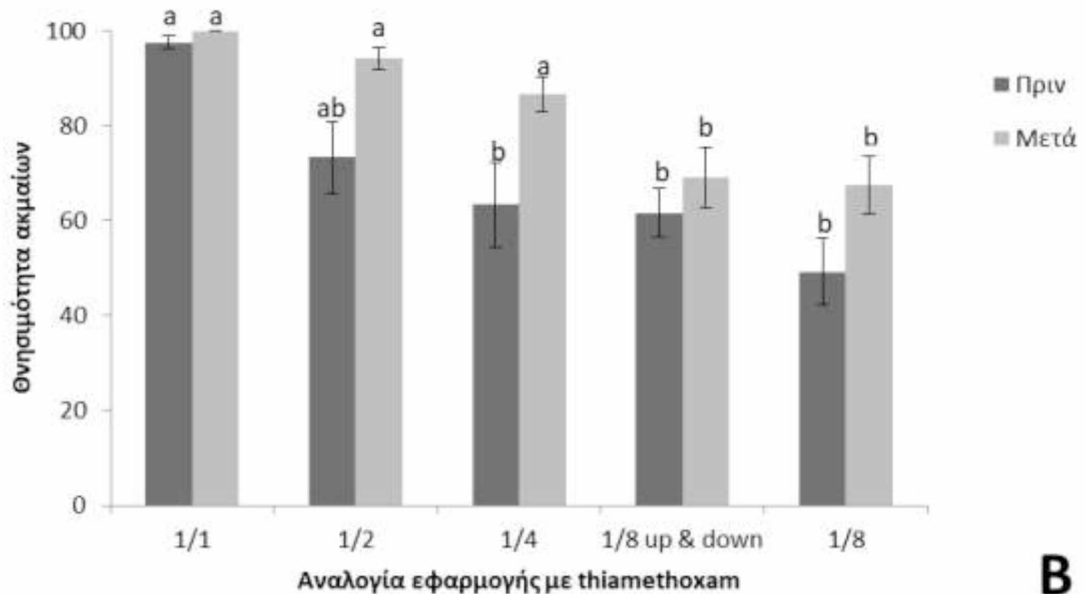
Πίνακας 2.5.1: Ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (της εφαρμογής του εντομοκτόνου, του τρόπου εισαγωγής των εντόμων, της στρωματοποίησης και των αλληλεπιδράσεών τους) στη θνησιμότητα των ειδών που εξετάστηκαν κατά τον ψεκάσμο στρώσεων του σιταριού με *thiamethoxam* (B.E. σφάλματος = 220)

Πηγή παραλλακτικότητας	<i>R. dominica</i>			<i>S. oryzae</i>	
	B.E.	F	P	F	P
Εφαρμογή εντομοκτόνου	4	41.89	<0.01	37.23	<0.01
Τρόπος εισαγωγής εντόμου	1	15.03	0.01	11.09	0.01
Στρωματοποίηση	1	74.78	<0.01	20.92	<0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου * Τρόπος εισαγωγής εντόμου	4	0.37	0.83	1.07	0.37
Εφαρμογή εντομοκτόνου*Στρωματοποίηση	4	12.02	<0.01	3.21	0.01
Τρόπος εισαγωγής εντόμου *Στρωματοποίηση	1	3.57	0.06	3.65	0.06
Εφαρμογή εντομοκτόνου * Τρόπος εισαγωγής εντόμου * Στρωματοποίηση	4	1.32	0.26	1.77	0.14

Παρόμοιες τάσεις παρατηρήθηκαν στα ακμαία του *S. oryzae* (Γράφημα. 2.5.2). Για το είδος αυτό, η θνησιμότητα ήταν γενικά υψηλότερη από εκείνη του *R. dominica* στις αντίστοιχες εφαρμογές, αλλά, όπως παραπάνω, η θνησιμότητα των ακμαίων μειώθηκε σταδιακά με τη μείωση της στρώσης στην οποία είχε εφαρμοστεί το εντομοκτόνο. Για τους περισσότερους από τους συνδυασμούς που εξετάστηκαν, η θνησιμότητα των ακμαίων του *S. oryzae* ήταν μεγαλύτερη του 80%, ακόμη και στην εφαρμογή του ψεκασμένου σιταριού κατά το 1/4 (Γράφημα 2.5.2). Επιπλέον, με δύο εξαιρέσεις (Γράφημα 2.5.2 Α), η θνησιμότητα των ακμαίων δεν διέφερε μεταξύ των δύο τρόπων εισαγωγής των εντόμων στα φιαλίδια, αλλά όταν η εισαγωγή του εντόμου έγινε μετά την τοποθέτηση του σιταριού, η θνησιμότητα ήταν υψηλότερη. Τέλος, η εφαρμογή στο κάτω μέρος προκάλεσε μεγαλύτερη θνησιμότητα από εκείνη στο πάνω μέρος της μάζας του υποστρώματος (Γράφημα 2.5.2).

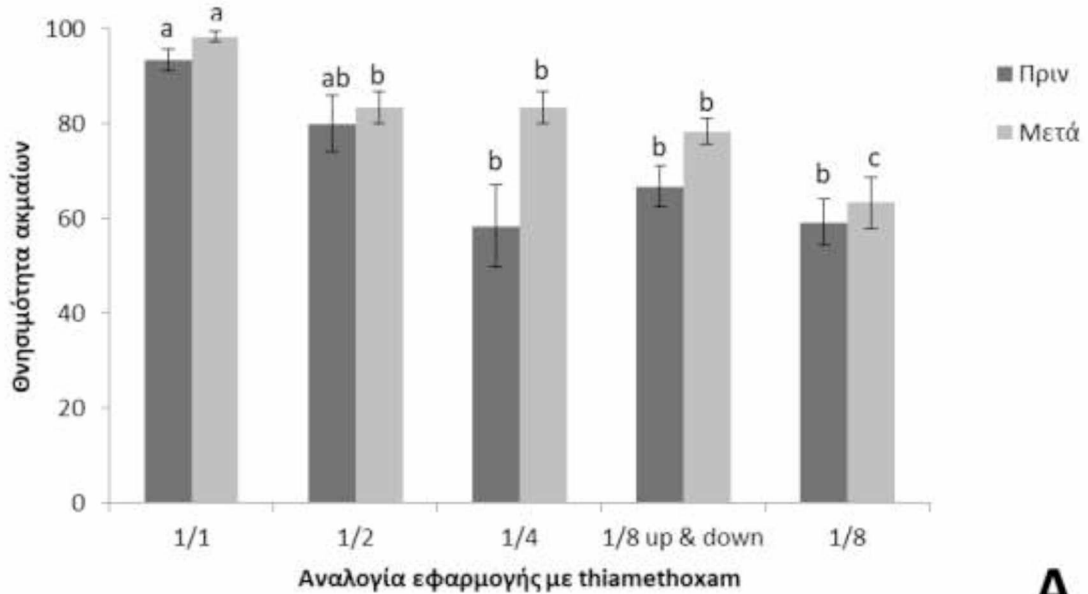


A

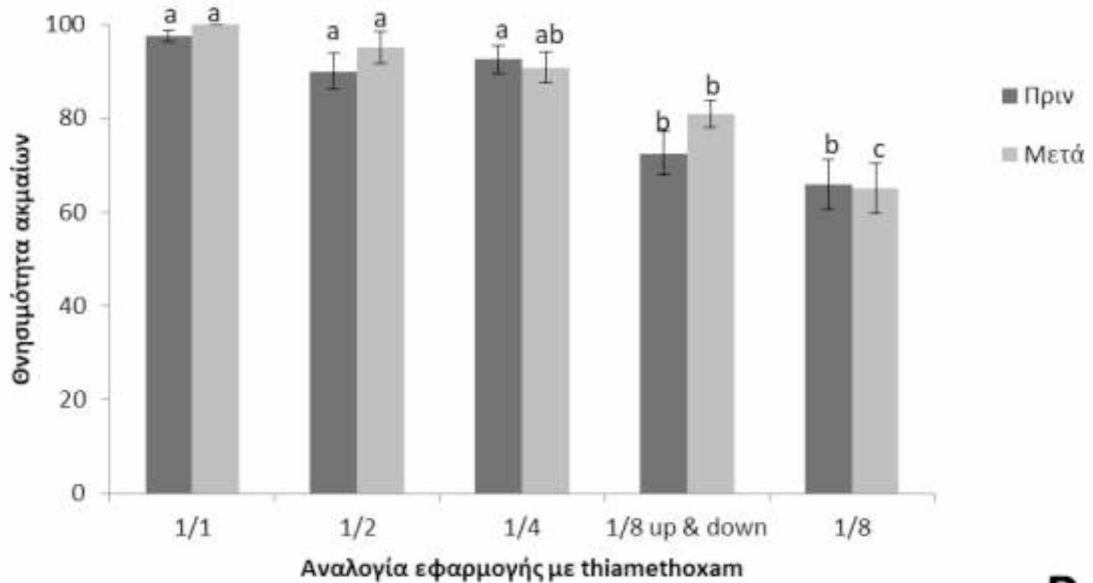


B

Γράφημα 2.5.1: Ποσοστό θνησιμότητας ($M.O. \pm T.Σ.$) των ακμαίων του *R. dominica* ($\% \pm T.Σ.$) στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο με *thiamethoxam* στο σύνολό του (1/1) ή σε στρώσεις στο μισό (1/2), στο ένα τέταρτο (1/4), στο ένα όγδοο (1/8) και στο ανώτερο και κατώτερο ένα όγδοο (1/8 up & down) του όγκου τους. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά το σιτάρι (πριν και μετά) με ψεκασμένο το πάνω ή το κάτω τμήμα του φιαλιδίου (σε κάθε στήλη, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, HSD test σε 0.05).



A



B

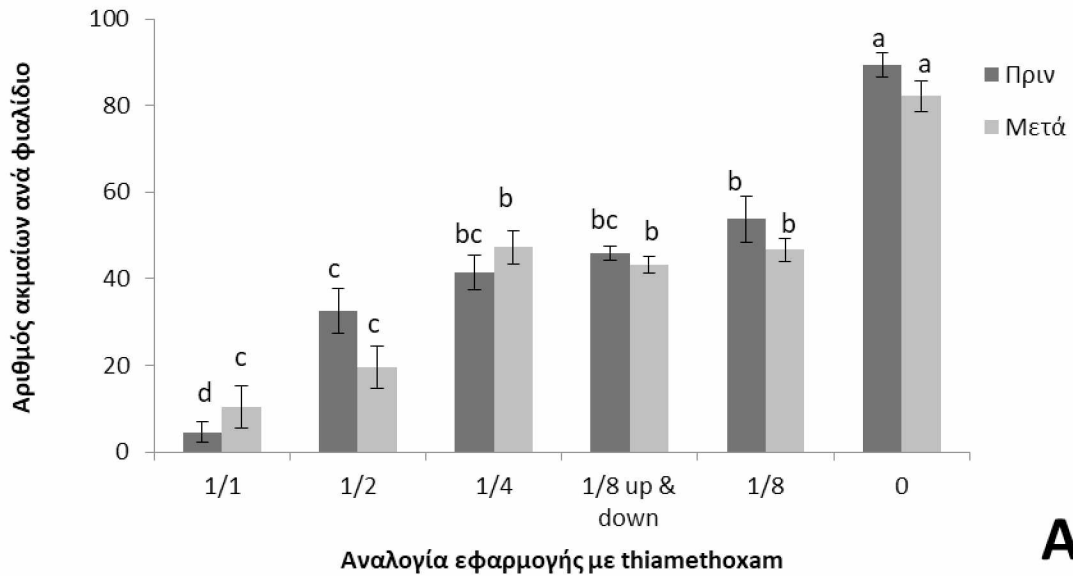
Γράφημα 2.5.2: Ποσοστό θνησιμότητας (Μ.Ο. ± Τ.Σ.) των ακμαίων του *S. oryzae* (% ± Τ.Σ.) στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο με thiamethoxam στο σύνολό του (1/1) ή σε στρώσεις στο μισό (1/2), στο ένα τέταρτο (1/4), στο ένα όγδοο (1/8) και στο ανώτερο και κατώτερο ένα όγδοο (1/8 up & down) του όγκου τους. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά το σιτάρι (πριν και μετά) με ψεκασμένο το πάνω ή το κάτω τμήμα του φιαλιδίου (σε κάθε στήλη, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, HSD test σε 0.05).

2.5.3.2. Παραγωγή απογόνων

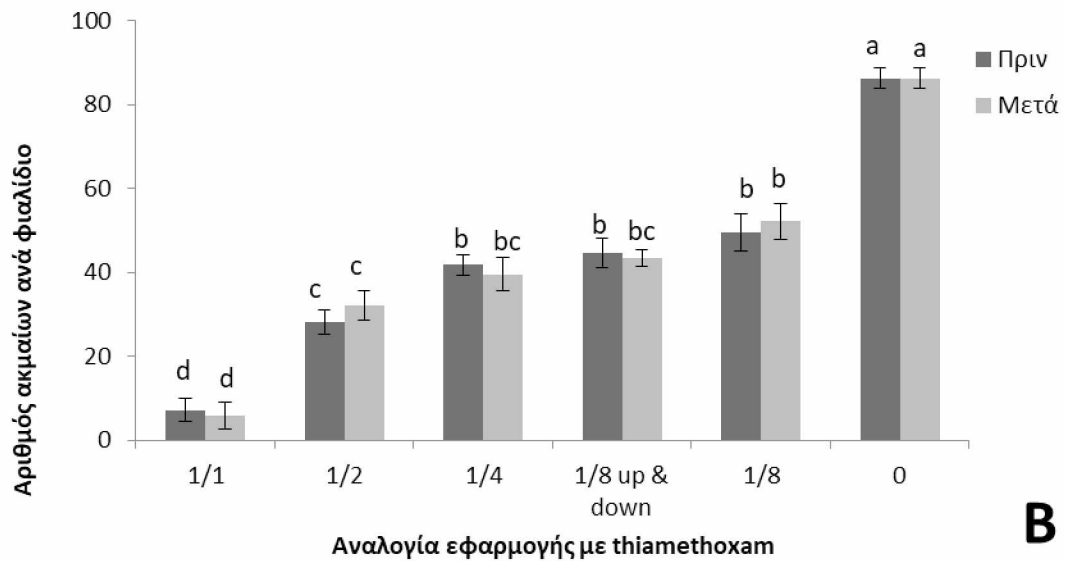
Μόνο η εφαρμογή του εντομοκτόνου ήταν σημαντική για το *R. dominica* (Πίνακας 2.5.2). Για αυτό το είδος, η παραγωγή απογόνων δεν αποφεύχθηκε εντελώς, ακόμη και στους πλήρως ψεκασμένους σπόρους (Γράφημα 2.5.3). Η μείωση των ψεκασμένων στρωμάτων αύξησε την εμφάνιση απογόνων. Ως εκ τούτου, όταν το 100% των σπόρων ήταν ψεκασμένοι, η παραγωγή των απογόνων κυμαινόταν μεταξύ 4 και 10 ακμαία / φιαλίδιο, ενώ όταν μόνο το 1/8 του σιταριού ψεκάστηκε, η παραγωγή απογόνων ήταν μεταξύ 46 και 53 ακμαία / φιαλίδιο. Επιπλέον, η παραγωγή απογόνων ήταν γενικά υψηλότερη, όταν τα αρχικά ακμαία είχαν τοποθετηθεί πριν από την εισαγωγή του υποστρώματος, αλλά και η διαφορά μεταξύ των δύο τρόπων εισαγωγής εντόμων μειώθηκε πολύ περισσότερο στην εφαρμογή στην κάτω στρώση της μάζας του δημητριακού (Γράφημα 2.5.3).

Πίνακας 2.5.2: Ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (της εφαρμογής του εντομοκτόνου συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα, του τρόπου εισαγωγής των εντόμων, της στρωματοποίησης και των αλληλεπιδράσεών τους) στην παραγωγή απογόνων των ειδών που εξετάστηκαν κατά τον ψεκασμό διαφορετικών στρώσεων του σιταριού με *thiamethoxam* (B.E. σφάλματος= 287)

Πηγή παραλλακτικότητας	<i>R. dominica</i>			<i>S. oryzae</i>	
	B.E.	F	P	F	P
Εφαρμογή εντομοκτόνου	5	220.90	<0.01	197.65	<0.01
Τρόπος εισαγωγής εντόμου	1	0.93	0.34	42.78	<0.01
Στρωματοποίηση	1	0.00	1.00	31.83	<0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου*Τρόπος εισαγωγής εντόμου	5	0.63	0.67	3.17	0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου*Στρωματοποίηση	5	0.49	0.78	2.57	0.03
Τρόπος εισαγωγής εντόμου*Στρωματοποίηση	1	1.36	0.24	6.26	0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου*Τρόπος εισαγωγής εντόμου*Στρωματοποίηση	5	1.97	0.08	1.47	0.20

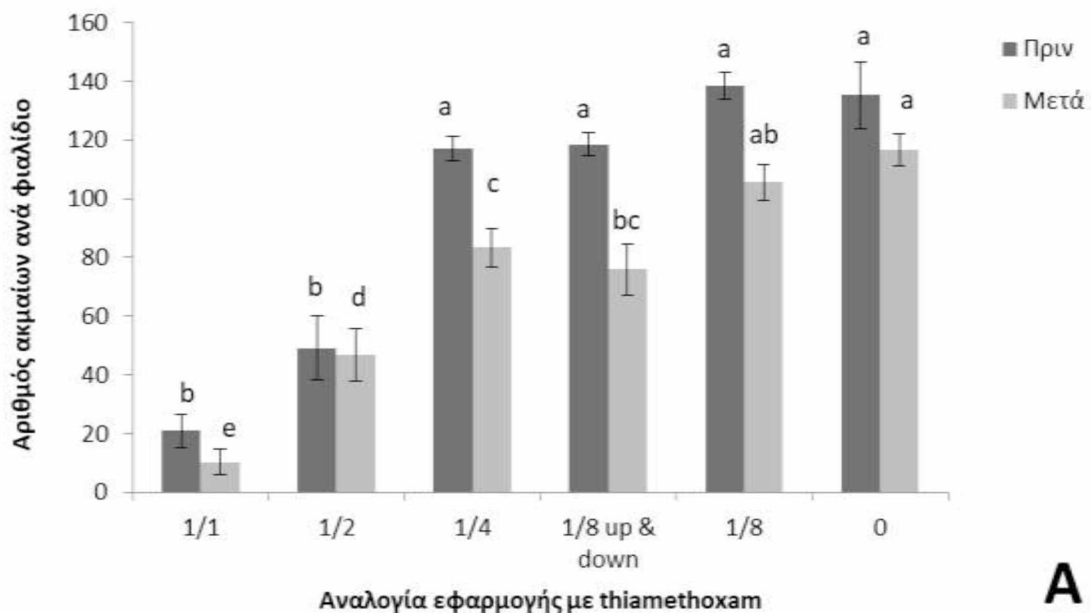


A

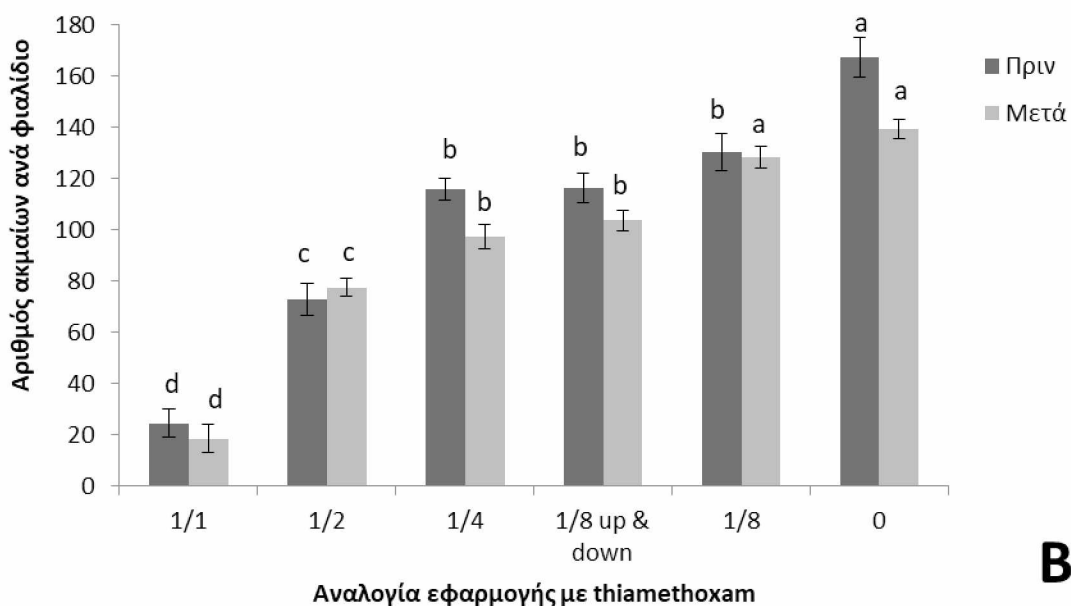


B

Γράφημα 2.5.3: Μέσος όρος απογόνων του *R. dominica* (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο \pm T.Σ.) στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο με thiamethoxam στο σύνολό του (1/1) ή σε στρώσεις στο ανώτερο μισό (1/2), στο ένα τέταρτο (1/4), στο ανώτερο και κατώτερο ένα όγδοο (1/8), στο ένα όγδοο (1/8) του όγκου τους και στον μάρτυρα. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά το σιτάρι (πριν και μετά) με ψεκασμένο το πάνω ή το κάτω τμήμα του φιαλιδίου (σε κάθε στήλη, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, HSD test σε 0.05).



A



B

Γράφημα 2.5.4: Μέσος όρος απογόνων του *S. oryzae* (αριθμός ακμιαίων ανά φιαλίδιο \pm T.Σ.) στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο με thiamethoxam στο σύνολό του (1/1) ή σε στρώσεις στο ανώτερο μισό (1/2), στο ένα τέταρτο (1/4), στο ανώτερο και κατώτερο ένα όγδοο (1/8), στο ένα όγδοο (1/8) του όγκου τους και στον μάρτυρα. Τα ακμιαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά το σιτάρι (πριν και μετά) με ψεκασμένο το πάνω ή το κάτω τμήμα του φιαλιδίου (σε κάθε στήλη, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, HSD test σε 0.05)

Σε αντίθεση με το *R. dominica*, για το *S. oryzae* όλες οι κύριες επιδράσεις ήταν σημαντικές (Πίνακας 2.5.2). Παρά το γεγονός ότι η γονική θνησιμότητα του *S. oryzae* ήταν υψηλότερη από εκείνη του *R. dominica*, η παραγωγή απογόνων ήταν επίσης υψηλή (Γράφημα 2.5.4). Επιπλέον, περισσότερα ακμαία του *S. oryzae* εμφανίστηκαν στα φιαλίδια, όπου τα αρχικά ακμαία είχαν τοποθετηθεί πριν από την εισαγωγή των σπόρων, σε σύγκριση με εκείνα όπου η εισαγωγή τους έγινε μετά την εισαγωγή των σπόρων. Ωστόσο, αυτή η τάση εκφράστηκε πιο έντονα στην περίπτωση της εφαρμογής στο πάνω μέρος του στρώματος. Για τα φιαλίδια που περιέχουν 100% ψεκασμένο σιτάρι, η παραγωγή απογόνων κυμαινόταν μεταξύ 10 και 24 ακμαίων ανά φιαλίδιο, ενώ για τα φιαλίδια που περιείχαν μόνο 1/8 ψεκασμένο σιτάρι, κυμαίνονταν μεταξύ 105 και 138 ακμαίων ανά φιαλίδιο, τα οποία ήταν συγκρίσιμα με αυτά των φιαλιδίων του μάρτυρα (Γράφημα 2.5.4).

2.5.4 Συζήτηση

Σε χύδην αποθηκευμένα προϊόντα, ορισμένες αβιοτικές συνθήκες αλλάζουν δραστικά και καθώς περνάει ο χρόνος από την περίοδο συγκομιδής, η μάζα του δημητριακού γίνεται πιο δροσερή, ενώ η περιεκτικότητά του σε υγρασία αυξάνεται (Athanassiou and Buchelos, 2001, 2020). Τα έντομα αποθηκευμένων προϊόντων ανταποκρίνονται σε αυτά τα χωροχρονικά πρότυπα και συσσωρεύονται σε ορισμένες ζώνες της μάζας του δημητριακού, καθιστώντας πιο δύσκολο τον έλεγχό τους με εντομοκτόνα επαφής (Vela-Coiffier et al., 1997; Hagstrum et al., 1998; Athanassiou et al. 2001). Θεωρείται γενικά ότι σε χύδην δημητριακά που αποθηκεύονται τόσο κάθετα (σε σιλό) όσο και οριζόντια (σε αποθήκες), τα περισσότερα από τα έντομα εμφανίζονται στο ανώτερο στρώμα της μάζας των δημητριακών (Hagstrum 1989, Hagstrum et al., 1998; Athanassiou et al., 2003; 2009), και το “top dressing” μπορεί να αποτρέψει τα έντομα να δημιουργήσουν μεγάλους πληθυσμούς σε βαθύτερα στρώματα (Hagstrum, 1987, 1989; Hagstrum and Flinn, 1995; Athanassiou et al., 2009; Vassilakos and Athanassiou, 2012; Lui et al., 2016). Παρ’ όλα αυτά, υπάρχουν περιπτώσεις όπου παρατηρούνται υψηλές προσβολές που προέρχονται από το κάτω στρώμα, ειδικά σε σιλό με «ψευδο-δάπεδα» (Weston και Barney, 1998). Η ιδέα που εξετάστηκε στη μελέτη μας, βασίστηκε σε μικρά πειραματικά φιαλίδια, τα οποία σε καμία περίπτωση δεν μπορούν να προσομοιώσουν μεγάλους όγκους σιταριού, αλλά θεωρητικά θα μπορούσαν να εξαχθούν ορισμένα συμπεράσματα σχετικά με την αποτελεσματικότητα του thiamethoxam. Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η

εφαρμογή του εντομοκτόνου στο ανώτερο στρώμα της στήλης σιταριού μπορεί να έχει κάποιο καλύτερο αποτέλεσμα, αλλά το αποτέλεσμα αυτό μετριάζεται από μια σειρά παραγόντων που θα αναλύσουμε στις επόμενες παραγράφους.

Ο αριθμός των εντόμων που χρησιμοποιήθηκαν στη μελέτη μας ανά φιαλίδιο ήταν δυσανάλογα υψηλός για την αντίστοιχη ποσότητα σπόρου, που χρησιμοποιήθηκε στα φιαλίδια, η οποία μπορεί να θεωρηθεί εξαιρετικά χαμηλή για την προσομοίωση κάθετων στηλών αποθηκευμένου σίτου. Διαπιστώσαμε ότι τα έντομα που αναγκάζονται να περάσουν από το ψεκασμένο υπόστρωμα, είναι πιο πιθανό να θανατωθούν, από ότι τα έντομα που εμφανίζονται στο κάτω μέρος του μη ψεκασμένου υποστρώματος. Όσον αφορά τις διαφορές μεταξύ των δύο ειδών, η γονική θνησιμότητα των ακμαίων του *S. oryzae* ήταν υψηλότερη από εκείνη του *R. dominica*, η οποία μπορεί να αποδοθεί κυρίως στο γεγονός ότι το πρώτο είδος είναι πιο ευέλικτο από το τελευταίο και μέσω της αυξημένης κινητικότητάς του είναι πιο πιθανό να εκτεθεί στο ψεκασμένο υπόστρωμα. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από τους Athanassiou et al. (2009) για τα δύο αυτά είδη, σε μια παρόμοια πειραματική βιοδοκιμή με σπόρους σιταριού στους οποίους εφαρμόστηκε spinosad. Σε αυτή τη μελέτη, οι συγγραφείς διαπίστωσαν ότι η θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica* ήταν υψηλή, όταν αναγκάστηκαν να μετακινηθούν μέσω του ψεκασμένου στρώματος, ενώ τα ακμαία αυτού του είδους, που είχαν τοποθετηθεί κάτω από αυτό το στρώμα, δεν επηρεάστηκαν πολύ, πιθανώς λόγω της αρνητικής γεώταξης (Athanassiou et al., 2009). Ως εκ τούτου, παρά το γεγονός ότι το thiamethoxam έχει βρεθεί αποτελεσματικό για την αντιμετώπιση και των δύο ειδών, τόσο όταν εφαρμόζεται μόνο, όσο και σε συνδυασμό με άλλες δραστικές (Arthur et al., 2004; Wakil et al., 2013 Khan et al., 2016; Rumbos et al., 2018), υποθέτουμε ότι η αυξημένη συγκριτικά ευαισθησία των εκτεθειμένων ακμαίων του *S. oryzae* σχετίζεται κυρίως με τα πρότυπα συμπεριφοράς του εντόμου, παρά με την αυξημένη τοξικότητα στο thiamethoxam.

Αντίθετα, διαπιστώσαμε ότι η συνολική παραγωγή απογόνων αυτού του είδους ήταν υψηλότερη από εκείνη των αντίστοιχων αριθμών του *R. dominica*, η οποία σχετίζεται με το γεγονός ότι η ανάπτυξη των ατελών σταδίων του *S. oryzae*, σε αντίθεση με εκείνη του *R. dominica*, γίνεται εξ ολοκλήρου στο εσωτερικό του σπόρου (Mason et al., 2012). Βρήκαμε επίσης ότι η εφαρμογή στο πάνω και στο κάτω στρώμα με thiamethoxam δεν διέφερε πολύ από την εφαρμογή μόνο του ανώτερου στρώματος,

και για τα δύο είδη. Ταυτόχρονα, η εφαρμογή του ενός όγδοου του άνω μέρους και του ενός όγδοου της βάσης της στήλης σπόρων ήταν σε μερικούς από τους συνδυασμούς που εξετάστηκαν κατώτερη από την εφαρμογή στο άνω ένα τέταρτο, υποδηλώνοντας ότι το μέγεθος του ψεκασμένου στρώματος είναι ίσως πιο σημαντικό από ένα άλλο ιδίου μεγέθους, αλλά με περισσότερα από ένα λεπτά στρώματα. Επίσης, αυτό το αποτέλεσμα αποκαλύπτει ότι η εφαρμογή του ανώτερου στρώματος μπορεί να είναι πιο σημαντική από την εφαρμογή στρώσεων που είναι βαθύτερα στη μάζα του προϊόντος.

Η άνιση κατανομή των εντομοκτόνων επαφής και των υποκαπνιστικών σε μάζες δημητριακών είναι μάλλον ο κανόνας, παρά η εξαίρεση (Amos et al., 1976; Flinn et al., 2004; Athanassiou et al., 2009; Subramanyam et al., 2014; Vassilakos and Athanassiou, 2012; Agrafioti et al., 2020). Οι Vassilakos and Athanassiou (2012) διαπίστωσαν ότι τα ποσοστιαία μίγματα σιταριού (που έχουν ή δεν έχουν υποστεί εφαρμογή με spinetoram) δεν κατάφεραν να ελέγξουν το *S. oryzae*, παρά μόνο όταν το ποσοστό της εφαρμογής στο προϊόν ήταν πολύ υψηλό, αλλά είχε καλά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση του *R. dominica*. Ωστόσο, είναι αποδεδειγμένο ότι το *R. dominica* είναι εξαιρετικά ευαίσθητο τόσο στο spinosad, όσο και στο spinetoram, σε εξαιρετικά χαμηλές συγκεντρώσεις των εντομοκτόνων αυτών (Hertlein et al., 2011; Vassilakos and Athanassiou, 2012; Vassilakos et al., 2012).

Από την άλλη πλευρά, η μελέτη μας δείχνει ότι οι μερικώς ψεκασμένοι σπόροι μπορούν να μειώσουν, αλλά όχι να εξαλείψουν τους πληθυσμούς των *R. dominica* και *S. oryzae*, και ότι η ύπαρξη μη ψεκασμένων ποσοτήτων σπόρων θα αυξήσει τις μελλοντικές προσβολές. Τα αποτελέσματά μας υπογραμμίζουν ότι η θνησιμότητα των ακμαίων και για τα δύο είδη ήταν σχεδόν ή και 100% στα φιαλίδια που είχαν πλήρως ψεκασμένο με thiamethoxam σιτάρι, ενώ ακόμη και σε αυτή την περίπτωση, η παραγωγή απογόνων δεν μπορούσε να αποφευχθεί εντελώς. Το πειραματικό πρωτόκολλο που ακολουθήσαμε στην τρέχουσα μελέτη βασίστηκε σε ένα σενάριο δυαδικής εφαρμογής: δηλαδή, έως ότου γίνει η μέτρηση της γονικής θνησιμότητας, στο σιτάρι έγινε εφαρμογή ακολουθώντας ένα μοτίβο στρώσεων, με ξεχωριστά ψεκασμένα και μη ψεκασμένα στρώματα, ενώ μετά τη μέτρηση της γονικής θνησιμότητας, το σιτάρι αναμίχθηκε οπότε έπαψαν να υπάρχουν συγκεκριμένα ψεκασμένα και μη ψεκασμένα στρώματα. Στο πλαίσιο αυτό, εκτιμούμε ότι η εμφάνιση των ακμαίων που καταγράφηκε κατά τη διάρκεια της παραγωγής των

απογόνων, βασίστηκε κυρίως στα ανώριμα στάδια σε μη ψεκασμένους σπόρους και ότι εάν είχε ακολουθηθεί μια προσέγγιση άνισης κατανομής εντομοκτόνου από την αρχή, τα αποτελέσματα ενδέχεται να ήταν διαφορετικά. Σε μια παρόμοια σειρά δοκιμών με spinetoram οι Vassilakos and Athanassiou (2012) είδαν παρόμοια μοτίβα μεταξύ αυτών των δύο διαφορετικών σεναρίων εφαρμογής, και παρείχαν δεδομένα που υποδηλώνουν ότι η προσέγγιση της ποσοστιαίας άνισης κατανομής παρέχει γενικά καλύτερα αποτελέσματα από την άνιση κατανομή σε στρώσεις εντομοκτόνου.

Το thiamethoxam ήταν αποτελεσματικό για πολλά είδη εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων (Yue et al. 2003; Arthur et al. 2004; Wakil et al. 2012), ακόμη και όταν αυτά τα είδη εκτίθενται για μικρό χρονικό διάστημα. Ως νευροτοξικό εντομοκτόνο, το thiamethoxam προκαλεί ακινητοποίηση στα έντομα που εκτίθενται σ' αυτό, η οποία τελικά είναι πιο πιθανό να οδηγήσει σε θάνατο παρά στην ανάνηψη, εάν αυτά τα έντομα παραμείνουν στο ψεκασμένο υπόστρωμα. Ωστόσο, αυτό μπορεί να μη συμβεί εάν τα έντομα μεταφέρονται μετά από έκθεση σε μη ψεκασμένο προϊόν. Για παράδειγμα, παρατηρήθηκε ότι πολλά είδη εντόμων, που είχαν εκτεθεί σε ψεκασμένο σιτάρι με thiamethoxam θα μπορούσαν να επιβιώσουν και να συνεχίσουν να προκαλούν ζημιά στα σιτηρά, όταν μεταφέρονται σε μη ψεκασμένους σπόρους μετά την αρχική τους έκθεση. Αυτή η πτυχή έχει αναδειχθεί στα σενάρια εφαρμογής που δοκιμάστηκαν εδώ, όπου τα έντομα είχαν πρόσβαση σε μη ψεκασμένο σιτάρι, το οποίο αύξησε την επιβίωση των ακμαίων και την ικανότητα παραγωγής απογόνων. Πρακτικά, αυτές οι μη ψεκασμένες ζώνες μπορούν να διατηρήσουν πληθυσμούς εντόμων, που μπορούν σταδιακά να επεκταθούν σε ευρύτερες περιοχές του όγκου των δημητριακών μετά από κάποιο χρονικό διάστημα, όταν τα υπολείμματα των προστατευτικών εντομοκτόνων σε αυτές τις περιοχές δεν είναι πλέον ενεργά για τα έντομα.

Συνοπτικά, τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας παρέχουν μια πρώτη σειρά δεδομένων για την εφαρμογή του thiamethoxam σε ορισμένα μέρη της μάζας του δημητριακού, και δείχνει ότι αυτή η προσέγγιση μπορεί να μειώσει την αύξηση του πληθυσμού των *R. dominica* και *S. oryzae*, αλλά δεν μπορεί να παρέχει πλήρη έλεγχο. Είδαμε επίσης ότι αυτό το σενάριο εφαρμογής ενδέχεται να μην επηρεάζει τα ατελή στάδια ανάπτυξης των εντόμων, που τρέφονται στο εσωτερικό του σπόρου. Καθώς η εφαρμογή των προστατευτικών εντομοκτόνων γίνεται πρακτικά με άνιση κατανομή, θεωρείται απαραίτητη η κατάλληλη ανάμιξη, προκειμένου να μεγιστοποιηθεί η

αποτελεσματικότητα της εφαρμογής. Επιπλέον, διαπιστώσαμε ότι η χρήση του thiamethoxam σε σπόρους έδωσε παρόμοια αποτελέσματα αποτελεσματικότητας με άλλα, εγκεκριμένα, προστατευτικά σπόρων, τα οποία χρησιμοποιούνται επί του παρόντος.

2.6. Επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα του thiamethoxam για τα είδη *Sitophilus oryzae*, *Rhizopertha dominica* και *Tribolium confusum*

2.6.1 Εισαγωγή

Η διαθεσιμότητα, η ποιότητα και η ποσότητα των τροφίμων είναι πρωταρχικής σημασίας στη γονιμότητα και μακροζωία των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων σε συνδυασμό με αβιοτικούς περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία, που θεωρούνται κρίσιμες παράμετροι (Hagstrum and Milliken, 1988). Ο πιο ευνοϊκός συνδυασμός αυτών των δύο παραγόντων μπορεί να οδηγήσει σε αύξηση της ανάπτυξης των εντόμων, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε μεγαλύτερη ζημιά στα αποθηκευμένα προϊόντα, λόγω της αυξημένης δραστηριότητας αυτών (Rees, 2004; Kumawat, 2011). Η θερμοκρασία μπορεί να διαφοροποιήσει την αποτελεσματικότητα των εντομοκτόνων τροποποιώντας την απορρόφηση, την εμμονή και την αποσύνθεσή τους. Η επίδραση της θερμοκρασίας στην ευαισθησία των εντόμων στα εντομοκτόνα μελετήθηκε για διάφορα επιβλαβή έντομα σε διαφορετικά σενάρια εφαρμογής (Sparks et al., 1983; Scott and Georghiou, 1984; Hodjati and Curtis, 1999; Boina et al., 2009; Ma et al., 2012; Polson et al., 2012; Pozidi-Metaxa and Athanassiou, 2013). Πιο ενεργές ουσίες έδειξαν συνδυαστικά αποτελέσματα με τη θερμοκρασία και μόνο σε ορισμένες περιπτώσεις παρατηρήθηκε υψηλότερη τοξικότητα σε συνθήκες μέτριας θερμοκρασίας (Amarasekare and Endelson, 2004; Boina et al., 2009; Biondi, 2013). Η αλλαγή στην τοξικότητα ενός συγκεκριμένου εντομοκτόνου για την αντιμετώπιση διαφορετικών ειδών εντόμων σε διαφορετικές θερμοκρασίες, μπορεί να οφείλεται σε διαφορές στη γονιμότητα, του εντόμου, στο βιολογικό του κύκλο (Dreyer and Baumgartner, 1996; Infante, 2000), στην αναλογία του φύλου (Zheng et al., 2008) και στην έκθεση του εντόμου στο εντομοκτόνο (Wilkinson et al., 1999). Γενικά, σε υψηλότερες τιμές θερμοκρασίας, η δραστηριότητα των εντόμων αυξάνεται (Cagan, 1998) και η υπολειμματική δράση των περισσότερων εντομοκτόνων μειώνεται (Arthur et al., 1992). Η θερμοκρασία μπορεί να επηρεάσει την τοξικότητα του εντομοκτόνου (DeLorenzo et al., 2006), η οποία με τη σειρά της μπορεί να μειωθεί ή να αυξηθεί με την αύξηση της θερμοκρασίας (Musser and Shelton, 2005). Τα οργανοφωσφορικά, τα καρβαμιδικά και τα νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα θεωρούνται γενικά ως «θετικού

συντελεστή θερμοκρασίας» εντομοκτόνα (pTCIs) (Norment and Chambeas, 1970; Mansoor et al., 2015), ενώ στις περισσότερες περιπτώσεις τα πυρεθροειδή είναι «αρνητικού συντελεστή θερμοκρασίας» εντομοκτόνα (nTCIs) (Scott, 1995; Musser and Shelton, 2005; Satpute et al., 2007).

Η επίδραση της θερμοκρασίας σε συνδυασμό με τη σχετική υγρασία στα εντομοκτόνα είναι ένα πολύπλοκο φαινόμενο, το οποίο συνδέεται άμεσα με τη διάρκεια της έκθεσης και τη δόση εφαρμογής. Εντούτοις, τα αποτελέσματα της αλληλεπίδρασης των εντομοκτόνων με τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία είναι αντιφατικά (Arthur 1999, 2000; Fields and Korunic, 2000; Fang and Subramanyam, 2003). Ανόμοιες αναφορές για τις επιδράσεις τους έχουν καταγραφεί για τα καρβαμιδικά (Snelson, 1987). Η επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα των σπινοσινών έχει εξεταστεί από τους Athanassiou et al. (2008) και τους Vassilakos and Athanassiou (2013), όπου παρατηρήθηκε θετικός συσχετισμός μεταξύ θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας στα επίπεδα της θνησιμότητας των περισσότερων από τα είδη που εξετάστηκαν. Οι Rumbos et al. (2014) με μια σειρά εργαστηριακών βιοδοκιμών για την αποτελεσματικότητα δύο σκευασμάτων με pirimiphos-methyl σε τρία είδη εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων για τρεις τιμές θερμοκρασίας (20, 25 και 30 °C) και δύο τιμές σχετικής υγρασίας (55 και 75%), διαπίστωσαν ότι στους περισσότερους συνδυασμούς των παραγόντων αυτών, δεν υπήρχε επίδραση στη θνησιμότητα των εντόμων που ελέγχθηκαν. Διαφορετικές εκθέσεις για τα είδη *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) και *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) έδειξαν αυξημένη θνησιμότητα των ακμαίων με τη μείωση της σχετικής υγρασίας (Jay et al., 1971).

Επί του παρόντος, η χρήση των νεονικοτινοειδών είναι αρκετά διαδεδομένη παγκοσμίως, με το thiamethoxam να είναι ένα από τα πιο μελετημένα εντομοκτόνα αυτής της κατηγορίας. Το thiamethoxam είναι ένα ευρέως φάσματος διασυστηματικό εντομοκτόνο, της δεύτερης γενιάς νεονικοτινοειδών, το οποίο έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό έναντι εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων (Arthur et al, 2004). Οι Arthur et al. (2004) σε εργαστηριακά πειράματα με αραβόσιτο που ψεκάστηκε με thiamethoxam στα 0.5-4 ppm έναντι των *T. castaneum*, *O. surinamensis*, *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae), *Sitophilus oryzae* (L.)

(Coleoptera: Curculionidae) και *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), ανέφεραν υψηλά επίπεδα θνησιμότητας στα 4 ppm μετά από 6 ημέρες έκθεσης. Για το *S. oryzae*, η αύξηση της θερμοκρασίας φαίνεται να σχετίζεται θετικά με την αποτελεσματικότητα του thiamethoxam (Arthur et al. 2004). Οι Pražić et al. (2016) μελέτησαν τις επιδράσεις πέντε εντομοκτόνων, συμπεριλαμβανομένου και του thiamethoxam, για την αντιμετώπιση του *S. oryzae* και έδειξαν ότι επιτεύχθηκε πλήρης έλεγχος σε όλες τις δόσεις, με μέγιστη αποτελεσματικότητα στους 50 °C. Οι Yue et al (2003) διαπίστωσαν ότι η επεξεργασία των σπόρων με thiamethoxam ήταν αποτελεσματική για την αντιμετώπιση του *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) σε αποθηκευμένους σπόρους. Οι Saglam et al. (2013) ανέφεραν ότι μεταξύ των διαφορετικών εντομοκτόνων επαφής, που δοκιμάστηκαν σε επιφάνειες για την αντιμετώπιση του *T. confusum*, η θνησιμότητα των ακμαίων επιτεύχθηκε στις 14 ημέρες κατά 100% μόνο στην περίπτωση του thiamethoxam, ανεξάρτητα από την παρουσία τροφής. Οι Wakil et al. (2013) διαπίστωσαν ότι το thiamethoxam μαζί με τη γη διατόμων μπορούν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία έναντι του *R. dominica*, αλλά η αποτελεσματικότητα αυτή επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως η συγκέντρωση, το διάστημα έκθεσης, το υπόστρωμα και ο πληθυσμός των ειδών στόχων. Οι Rumbos et al. (2018) δοκίμασαν την εντομοκτόνο επίδραση του spinetoram και του thiamethoxam που εφαρμόστηκαν μόνα τους ή σε συνδυασμό για την αντιμετώπιση τριών κύριων ειδών κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων και διαπίστωσαν ότι το thiamethoxam ήταν αποτελεσματικό έναντι όλων των ειδών που εξετάστηκαν, παρέχοντας υψηλά επίπεδα θνησιμότητας και καταστολής παραγωγής απογόνων. Έχει διαπιστωθεί επίσης ότι τα κολεόπτερα των αποθηκευμένων προϊόντων που έχουν εκτεθεί σε thiamethoxam ήταν σε θέση να ανακάμψουν όταν οι εκθέσεις ήταν σύντομες, δηλαδή λιγότερο από 24 ώρες. Επιπλέον, το εντομοκτόνο αυτό βρέθηκε να είναι πολύ αποτελεσματικό για το *R. dominica* και το *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrychidae) σε επιφάνειες (Doganay et al., 2018).

Στο πλαίσιο αυτό, οι εργαστηριακές βιοδοκιμές διεξήχθησαν σε τρεις σταθερές θερμοκρασίες, 20, 25 και 30 °C, οι οποίες θεωρήθηκαν τυπικά θερμοκρασιακά επίπεδα για εγκαταστάσεις αποθήκευσης στην εύκρατη ζώνη, και δύο τιμές σχετικής υγρασίας (55 και 75%), προκειμένου να δοκιμαστεί το thiamethoxam έναντι των *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum* σε σιτάρι. Μελετώντας την εντομοκτόνο δράση

του thiamethoxam ως προστατευτικό σπόρων υπό διαφορετικές αβιοτικές συνθήκες, αναμένεται τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής να προσθέσουν περισσότερες πληροφορίες για τους αβιοτικούς παραγόντες που επικρατούν στις αποθήκες, οι οποίοι ελέγχονται και μπορούν να τροποποιηθούν ανάλογα.

2.6.2 Υλικά και Μέθοδοι

2.6.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών

Ακμαία των *S. oryzae*, *R. dominica* και *T. confusum* εξετράφησαν σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφεται στο υποκεφάλαιο 2.1.1. Οι βιοδοκιμές έγιναν αποκλειστικά με σκληρό σιτάρι (ποικιλία Simeto) που χρησίμευσε ως υπόστρωμα για τις βιοδοκιμές (υποκεφάλαιο 2.1.2), περιεκτικότητας σε υγρασία 13.5%, σύμφωνα με τις μετρήσεις του υγρασιόμετρου (Multitest, Godeco, France).

2.6.2.2 Εφαρμογή του thiamethoxam

Όλες οι εφαρμογές με το εντομοκτόνο στο δημητριακό έγιναν σύμφωνα με το υποκεφάλαιο 2.1.4. Το thiamethoxam εφαρμόστηκε σε ποσότητες 1.5 κιλού σιταριού και σε συγκεντρώσεις 0.1, 1 και 5 ppm (αντιστοιχία 0.1, 1 και 5 mg δ.ο./kg του σπόρου). Η δόση εφαρμογής ήταν το 1 ml ψεκαστικού υγρού ανά kg δημητριακού, έτσι στο 1.5 kg σκληρού σιταριού εφαρμόστηκε 1.5 ml διαλύματος thiamethoxam. Για μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε 1.5 kg σκληρού σιταριού που ψεκάστηκε με αποσταγμένο νερό, ακολουθώντας την ίδια μέθοδο.

2.6.2.3 Βιοδοκιμές

Οι θάλαμοι ελεγχόμενων συνθηκών του εργαστηρίου ρυθμίστηκαν σε όλους τους δυνατούς συνδυασμούς (συνολικά έξι) για τρεις τιμές θερμοκρασίας (20, 25 και 30 °C) και δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας (55 και 75%). Για κάθε είδος εντόμου ξεχωριστά χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (διαμέτρου 3 cm, ύψους 8 cm), στα οποία εισήχθησαν είκοσι ακμαία του ίδιου είδους, αφού πρώτα πληρώθηκαν με 20 g είτε ψεκασμένου σιταριού, είτε του μάρτυρα. Όλα τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε μεγάλα πλαστικά δοχεία, τα οποία είχαν στη βάση τους κορεσμένα διαλύματα άλατος, για να διατηρείται η σχετική υγρασία στο επιθυμητό επίπεδο (Greenspan, 1977), η οποία παρακολουθούνταν συνεχώς με καταγραφείς δεδομένων θερμοκρασίας/υγρασίας (H08-003-02 HOBO, OnsetCo, USA).

Όλα τα δοχεία με τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε συνεχές σκοτάδι και σε ξεχωριστούς θαλάμους, που είχαν τον ανάλογο συνδυασμό θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας από τους έξι παραπάνω. Η μέτρηση της θνησιμότητας των ακμαίων έγινε κατά την 7^η, 14^η και 21^η ημέρα από την έκθεσή τους στο εντομοκτόνο. Μετά από την 21^η ημέρα, όλα τα ακμαία (νεκρά και ζωντανά) αφαιρέθηκαν και τα φιαλίδια επανατοποθετήθηκαν στις ίδιες συνθήκες, ώστε να μετρηθεί μετά από εξήντα πέντε ημέρες η παραγωγή των απογόνων. Η ίδια διαδικασία ακολουθήθηκε τρεις φορές (επαναλήψεις), σε διαφορετική ημερομηνία, με παρασκευή νέων ποσοτήτων δημητριακού κάθε φορά.

2.6.2.4 Ανάλυση δεδομένων

Η θνησιμότητα στους μάρτυρες ήταν γενικά χαμηλή και δεν πραγματοποιήθηκε διόρθωση θνησιμότητας σύμφωνα με τον Abbott (1925). Η ανάλυση της θνησιμότητας των ακμαίων έγινε για κάθε είδος χωριστά με πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (repeated-measures MANOVA) έχοντας ως βάση το πρότυπο Wilk's lambda του λογισμικού JMP 7 (Sall et al., 2001). Η συγκέντρωση, η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία θεωρήθηκαν κύριες επιδράσεις, ενώ η θνησιμότητα στο χρόνο θεωρήθηκε επαναλαμβανόμενη μεταβλητή (ελέγχθηκε (test Levin) και ακολουθείται κανονική κατανομή των δεδομένων, ώστε να πληρούνται οι προϋποθέσεις της ANOVA). Χρησιμοποιώντας το ίδιο λογισμικό, η ανάλυση που έγινε για την παραγωγή απογόνων, ήταν αυτή της ανάλυσης διακύμανσης (ANOVA), με τη συγκέντρωση, τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία ως κύριες επιδράσεις και τον αριθμό των απογόνων ως εξαρτημένη μεταβλητή. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το Tukey-Kramer (HSD) test σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 (Sokal και Rohlf, 1995).

2.6.3 Αποτελέσματα

2.6.3.1 Θνησιμότητα του *R. dominica*

Όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές, εκτός από την αλληλεπίδραση θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας (Πίνακας 2.6.1). Και για τα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας, αλλά και για τις τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες στις οποίες υποβλήθηκαν τα έντομα, παρατηρήθηκε μια αύξηση στη θνησιμότητα των ακμαίων με την αύξηση της διάρκειας έκθεσης των εντόμων, όπως και με την

αύξηση της δόσης του εντομοκτόνου (Πίνακας 2.6.2). Ολική θνησιμότητα των ακμαίων σημειώθηκε σε σχετική υγρασία 55% σε συγκέντρωση 1 ppm τη 14η ημέρα στους 25 °C, ενώ σε συγκέντρωση 5 ppm την 21^η ημέρα. Σε σχετική υγρασία 75% ολική θνησιμότητα παρατηρήθηκε την 7^η ημέρα στους 30°C και την 14^η και την 21^η ημέρα σε όλες τις θερμοκρασίες στα 5 ppm.

Πίνακας 2.6.1: Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας για όλα τα είδη που εξετάστηκαν με παράγοντες τη συγκέντρωση, τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία (B.E. σφάλματος = 144)

	<i>R. dominica</i>			<i>S. oryzae</i>		<i>T. confusum</i>	
	B.E.	F	P	F	P	F	P
Μεταξύ των μεταβλητών	17	47.3	<0.01	22.3	<0.01	23.5	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	44578.6	<0.01	60669.3	<0.01	3652.9	<0.01
Συγκέντρωση (Συγκ.)	2	272.1	<0.01	38.6	<0.01	153.9	<0.01
Θερμοκρασία (Θερμ.)	2	87.4	<0.01	122.2	<0.01	9.7	0.01
Σχετική υγρασία (Σ.Υ.)	1	19.8	<0.01	8.2	0.05	14.7	0.02
Συγκ.* Θερμ.	4	5.4	0.04	9.2	<0.01	2.2	0.081
Συγκ.* Σ.Υ.	2	7.1	0.11	3.5	0.03	4.0	0.02
Θερμ.*Χ Σ.Υ.	2	2.9	0.06	0.4	0.69	14.0	<0.01
Συγκ.*Θερμ.*Σ.Υ.	4	5.9	0.02	1.0	0.39	3.4	0.01
Εντός των μεταβλητών	34	20.5	<0.01	13.4	<0.01	10.8	<0.01
Χρόνος	2	571.5	<0.01	284.4	<0.01	156.9	<0.01
Χρόνος*Συγκ.	4	56.4	<0.01	15.9	<0.01	27.0	<0.01
Χρόνος*Θερμ.	4	59.8	<0.01	82.8	<0.01	17.9	<0.01
Χρόνος*Σ.Υ.	2	8.9	0.02	2.7	0.07	6.9	0.01
Χρόνος*Συγκ.*Θερμ.	8	12.9	<0.01	4.7	<0.01	6.8	<0.01
Χρόνος*Χ Συγκ.*Σ.Υ.	4	8.7	<0.01	2.7	0.07	4.9	0.08
Χρόνος*Θερμ.*Σ.Υ	4	3.7	0.06	4.5	0.01	11.2	<0.01
Χρόνος*Συγκ.*Θερμ.*Σ.Υ.	8	2.4	0.02	1.6	0.14	5.3	<0.01

Σημαντικές διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών παρατηρήθηκαν την 7^η ημέρα και στα δύο επίπεδα υγρασίας και για όλες τις δόσεις του εντομοκτόνου. Γενικότερα, παρατηρήθηκε μια αύξηση της θνησιμότητας με την έκθεση σε υψηλότερη

θερμοκρασία. Ενδεικτικά, σε υγρασία 55% και σε συγκέντρωση 0.1 ppm η θνησιμότητα στους 20, 25 και 30°C ήταν 37, 58 και 75% αντίστοιχα (Πίνακας 2.6.2). Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν επίσης στα επίπεδα της θνησιμότητας στα δύο επίπεδα της σχετικής υγρασίας για κάποιους από τους συνδυασμούς που εξετάστηκαν, για όλα τα διαστήματα έκθεσης.

Πίνακας 2.6.2: Μέσος όρος (% \pm Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *R. dominica* μετά την έκθεσή τους σε τρεις συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* σε σκληρό σιτάρι, σε όλους τους συνδυασμούς τριών επιπέδων θερμοκρασίας (20, 25 και 30 °C) και δύο επιπέδων σχετικής υγρασίας (55 και 75%), σε τρία χρονικά διαστήματα έκθεσης (7, 14 και 21 ημέρες) (οι Μ.Ο. μεταξύ των επιπέδων θερμοκρασίας σε κάθε σειρά που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα και των επιπέδων Σ.Υ. που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Μέσος όρος (% \pm Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *R. dominica*

Σχ. Υγρασία	55% Σ.Υ.			75% Σ.Υ.		
	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
<u>7ημέρες</u>						
0.1 ppm	36.7 \pm 1.7c	58.3 \pm 2.3bA	74.6 \pm 2.8a	37.0 \pm 1.7b	48.7 \pm 2.7bB	62.2 \pm 5.7a
1 ppm	63.9 \pm 2.2c	89.2 \pm 2.1b	97.8 \pm 0.9a	58.3 \pm 1.7b	65.7 \pm 5.1b	97.8 \pm 0.9a
5 ppm	76.1 \pm 2.3c	93.9 \pm 1.4b	100.0 \pm 0.0a	74.4 \pm 3.1b	95.0 \pm 1.2a	100.0 \pm 0.0a
<u>14ημέρες</u>						
0.1 ppm	67.8 \pm 2.1b	92.8 \pm 2.6a	96.1 \pm 2.7aA	63.5 \pm 3.1b	78.6 \pm 4.3a	76.7 \pm 5.0abB
1 ppm	98.3 \pm 1.2	100.0 \pm 0.0	97.8 \pm 0.9B	95.0 \pm 2.0b	98.3 \pm 1.2ab	100.0 \pm 0.0aA
5 ppm	99.4 \pm 0.6	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0
<u>21ημέρες</u>						
0.1 ppm	85.0 \pm 4.2	95.0 \pm 2.0	96.1 \pm 2.7A	90.6 \pm 5.6ab	96.7 \pm 1.7a	79.4 \pm 5.0bB
1 ppm	98.3 \pm 1.2	100.0 \pm 0.0	99.4 \pm 0.6	98.9 \pm 1.1	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0
5 ppm	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0

2.6.3.2 Θνησιμότητα του *S. oryzae*

Όλες οι κύριες επιδράσεις ήταν σημαντικές, όπως και οι αλληλεπιδράσεις αυτών με ορισμένες εξαιρέσεις (Πίνακας 2.6.1). Όπως και παραπάνω, η αύξηση της διάρκειας

έκθεσης και της θερμοκρασίας αύξησε τη θνησιμότητα του *S. oryzae*, και για τα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας. Στις 14 ημέρες, η θνησιμότητα των ακμαίων ήταν ολική στο 1 ppm και για τα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας στους 25 °C και στα 5 ppm σε 55% σχετική υγρασία., σε όλες τις θερμοκρασίες. Σημαντικές διαφορές στη θνησιμότητα μεταξύ των επιπέδων της θερμοκρασίας παρατηρήθηκαν στην έκθεση για 7 ημέρες και για τα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας. Παρατηρήθηκε σημαντική αύξηση της θνησιμότητας με την αύξηση της θερμοκρασίας από 20 έως 25 °C και στα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας, αλλά όχι με την αύξηση της θερμοκρασίας από 25 σε 30 °C (Πίνακας 2.6.3).

Πίνακας 2.6.3: Μέσος όρος (% ± Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *S. oryzae* μετά την έκθεσή τους σε τρεις συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* σε σκληρό σιτάρι, σε όλους τους συνδυασμούς τριών επιπέδων θερμοκρασίας (20, 25 και 30 °C) και δύο επιπέδων σχετικής υγρασίας (55 και 75%), σε τρία χρονικά διαστήματα έκθεσης (7, 14 και 21 ημέρες) (οι Μ.Ο. μεταξύ των επιπέδων θερμοκρασίας σε κάθε σειρά και επίπεδο Σ.Υ. που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Μέσος όρος (% ± Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>S. oryzae</i>						
Σχ. Υγρασία	55% Σ.Υ.			75% Σ.Υ.		
Θερμοκρασία	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
<u>7ημέρες</u>						
0.1 ppm	56.6±4.1b	94.6 ±0.9a	95.1±1.1a	51.9±3.0b	91.7 ±2.5a	84.5±2.3a
1 ppm	63.9±3.7b	94.5 ±1.3a	96.2 ±1.4a	53.0± 3.6b	95.6±1.5a	86.7± 2.5a
5 ppm	76.7±2.9b	98.9 ±0.7a	99.4±0.6a	84.4±5.1b	98.3±0.8a	98.3±1.2a
<u>14ημέρες</u>						
0.1 ppm	91.7±3.0b	98.3±0.8a	96.7±0.8ab	83.4 ±4.2b	93.9±2.7ab	96.1±1.4a
1 ppm	93.9±3.3	100.0±0.0	96.7 ±1.2	87.4±5.3b	100.0±0.0a	98.9 ±1.1a
5 ppm	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.4±0.6	99.4±0.6
<u>21ημέρες</u>						
0.1 ppm	93.3±2.9	98.3±0.8	99.4±0.6	90.6 ±4.2	95.0±2.2	97.2±1.2
1 ppm	98.9 ± 1.1	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
5 ppm	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.4±0.6	99.4 ± 0.6

2.6.3.3 Θνησιμότητα του *T. confusum*

Όλες οι κύριες επιδράσεις και οι σχετικές αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές, εκτός από την αλληλεπίδραση θερμοκρασίας και δόσης (Πίνακας 2.6.1). Όπως παραπάνω, η αύξηση της θερμοκρασίας αύξησε τη θνησιμότητα των ακμαίων, αλλά το *T. confusum* ήταν λιγότερο ευαίσθητο από τα άλλα δύο είδη που εξετάστηκαν (Πίνακας 2.6.4).

Πίνακας 2.6.4: Μέσος όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *T. confusum* μετά την έκθεσή τους σε τρεις συγκεντρώσεις του *thiamethoxam* σε σκληρό σιτάρι, σε όλους τους συνδυασμούς τριών επιπέδων θερμοκρασίας (20, 25 και 30°C) και δύο επιπέδων σχετικής υγρασίας (55 και 75%), σε τρία χρονικά διαστήματα έκθεσης (7, 14 και 21 ημέρες) (οι Μ.Ο. μεταξύ των επιπέδων θερμοκρασίας σε κάθε σειρά και επίπεδο Σ.Υ. που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Μέσος όρος (% \pm T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του <i>T. confusum</i>						
Σχ. Υγρασία	55% Σ.Υ.			75% Σ.Υ.		
Θερμοκρασία	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
<u>7ημέρες</u>						
0.1 ppm	27.2 \pm 1.2b	49.5 \pm 3.0a	49.4 \pm 2.1a	27.8 \pm 2.2b	20.0 \pm 5.8b	56.7 \pm 1.7a
1 ppm	43.9 \pm 8.8a	66.7 \pm 8.7a	62.8 \pm 8.1	40.6 \pm 9.7ab	30.0 \pm 6.9b	68.3 \pm 6.8a
5 ppm	93.9 \pm 2.0b	99.4 \pm 0.6a	100.0 \pm 0.0a	97.2 \pm 0.9b	99.4 \pm 0.6a	100.0 \pm 0.0a
<u>14ημέρες</u>						
0.1 ppm	48.9 \pm 2.0b	73.7 \pm 1.9a	65.0 \pm 4.0a	47.2 \pm 2.2ab	36.7 \pm 9.2b	60.6 \pm 2.7a
1 ppm	62.2 \pm 8.6	81.1 \pm 5.8	73.9 \pm 7.8	57.2 \pm 9.7ab	43.3 \pm 8.9b	72.8 \pm 6.0a
5 ppm	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0
<u>21ημέρες</u>						
0.1 ppm	48.9 \pm 2.0c	95.6 \pm 1.5a	67.2 \pm 3.6b	47.2 \pm 2.2ab	39.4 \pm 9.9b	65.0 \pm 2.8a
1 ppm	63.3 \pm 8.7b	87.8 \pm 4.3a	76.7 \pm 6.6ab	62.2 \pm 9.4ab	46.1 \pm 9.8b	76.7 \pm 6.1a
5 ppm	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0	100.0 \pm 0.0

Η ολική θνησιμότητα των ακμαίων εμφανίστηκε μόνο στην υψηλότερη δόση (5 ppm) στους 30 °C και στα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας μετά από 7 ημέρες έκθεσης και μετά από 14 και 21 ημέρες σε όλους τους συνδυασμούς θερμοκρασίας και σχετικής

υγρασίας. Παρατηρήθηκε αύξηση της θνησιμότητας με την αύξηση της θερμοκρασίας από 20 έως 25 °C σε όλες τις δόσεις και σε 55% σχ. υγρασία, ενώ σε 75% σχετική υγρασία, η θνησιμότητα αυξήθηκε σημαντικά, αυξάνοντας τη θερμοκρασία στους 30 °C στα 0.1 και 1 ppm.

2.6.3.4 Παραγωγή απογόνων

Από τις κύριες επιδράσεις, η συγκέντρωση, η θερμοκρασία και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές για όλα τα είδη που εξετάστηκαν (Πίνακας 2.6.5). Η σχετική υγρασία ήταν σημαντική μόνο για τα *S. oryzae* και *R. dominica*.

Για το *R. dominica*, και για τα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας, η αύξηση της θερμοκρασίας οδήγησε σε αυξημένη παραγωγή απογόνων (Πίνακας 2.6.6). Παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών και στα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας στο 0.1 ppm, όπου η υψηλότερη παραγωγή απογόνων καταγράφηκε στους 30 °C. Διαφορές μεταξύ των δύο επιπέδων σχετικής υγρασίας παρατηρήθηκαν μόνο στο 0.1 ppm και στους 25 °C, όπου η παραγωγή απογόνων ήταν σημαντικά υψηλότερη σε 75% σχετική υγρασία. Δεν προέκυψαν ακμαία στα 1 και 5 ppm, με ελάχιστες εξαιρέσεις (Πίνακας 2.6.6).

Πίνακας 2.6.5: Ανάλυση διακύμανσης της παραγωγής απογόνων για όλες τις συγκεντρώσεις, συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα, για τα επίπεδα θερμοκρασίας και υγρασίας που εξετάστηκαν (B.E. σφάλματος = 192)

	<i>R. dominica</i>			<i>S. oryzae</i>		<i>T. confusum</i>	
	B.E.	F	P	F	P	F	P
Συγκέντρωση (Συγκ.)	3	68.5	<0.01	43.7	<0.01	12.2	<0.01
Θερμοκρασία (Θερμ.)	2	81.9	<0.01	34.5	<0.01	3.9	0.02
Σχετική υγρασία (Σ.Υ.)	1	6.9	0.09	10.9	0.01	1.1	0.29
Συγκ. * Θερμ.	6	28.8	<0.01	16.4	<0.01	3.9	0.01
Συγκ. * Σ.Υ.	3	2.8	0.04	2.0	0.12	1.1	0.01
Θερμ. * Σ.Υ.	2	1.5	0.23	4.4	0.01	9.5	0.01
Συγκ. * Θερμ. * Σ.Υ.	6	1.6	0.14	1.1	0.39	9.5	<0.01

Για το *S. oryzae*, η παραγωγή απογόνων καταγράφηκε σε όλους τους συνδυασμούς που εξετάστηκαν, εκτός από εκείνους στη συγκέντρωση των 5 ppm (Πίνακας 2.6.6). Σημαντικές διαφορές στην παραγωγή απογόνων με την αύξηση της θερμοκρασίας,

καταγράφηκαν και στα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας στο 0.1 ppm, όπου η υψηλότερη παραγωγή απογόνων καταγράφηκε στους 30 °C. Γενικά, μικρότεροι αριθμοί απογόνων καταγράφηκαν σε 55% από ότι σε 75% σχετική υγρασία.

Για το *T. confusum*, παραγωγή απογόνων υπήρξε μόνο στον μάρτυρα κι αυτή όχι σε όλους τους συνδυασμούς που εξετάστηκαν (Πίνακας 2.6.6).

Πίνακας 2.6.6: Μέσος όρος παραγωγής απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο ± Τ.Σ.) των ειδών που εξετάστηκαν 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των αρχικών ακμαίων από τα φιαλίδια (οι Μ.Ο. μεταξύ των θερμοκρασιών μέσα σε κάθε σειρά και επίπεδο Σ.Υ. που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, οι Μ.Ο. μεταξύ των Σ.Υ. μέσα σε κάθε σειρά και επίπεδο θερμοκρασίας που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Μέσος όρος παραγωγής απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο ± Τ.Σ.)							
Σχ. Υγρασία	55% Σ.Υ.			75% Σ.Υ.			
	Θερμοκρασία	20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
<i>R. dominica</i>	Μάρτυρας	2.0±1.5b	27.8±14.1b	93.2±14.0a	6.7±3.7c	47.1±6.5b	86.1±13.9a
	0.1 ppm	0.0±0.0b	1.4±0.8bB	56.0±9.5a	0.0±0.0b	23.9±5.9bA	92.0±13.9a
	1 ppm	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0b	6.9±3.1a	0.0±0.0b
	5 ppm	0.0±0.0	0.0±0.0	0.2±0.1	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
<i>S. oryzae</i>	Μάρτυρας	4.7±2.7b	33.3±4.6b	113.8±28.1a	3.8±2.9b	71.4±10.9b	158.3±38.4a
	0.1 ppm	0.0±0.0	6.2±4.3	7.0±3.8	0.0±0.0b	15.6±6.3b	62.6±8.6a
	1 ppm	4.6±3.0	6.2±4.3	0.8±0.8	7.3±4.8	3.7±3.7	26.9±10.8
	5 ppm	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
<i>T. confusum</i>	Μάρτυρας	0.0±0.0b	3.3±0.9a	0.0±0.0b	1.8±1.2	0.0±0.0	0.0±0.0
	0.1 ppm	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	1 ppm	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
	5 ppm	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0

2.6.4 Συζήτηση

Διερευνήσαμε την αλληλεπίδραση μεταξύ δύο φυσικών στρεσογόνων παραγόντων και του υπολειμματικού εντομοκτόνου thiamethoxam σε εργαστηριακές συνθήκες εναντίον ακμαίων τριών κύριων ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων. Γενικά,

υπάρχουν ενδείξεις ότι οι μεταβολές στη θερμοκρασία του περιβάλλοντος μπορούν να μεταβάλλουν την τοξικότητα των εντομοκτόνων στα έντομα (Andersson and Forlin, 1992). Οι Arthur et al (2004) παρατήρησαν ότι η επίδραση της θερμοκρασίας στην τοξικότητα του εντομοκτόνου thiamethoxam έχει μεγάλη σημασία. Η αποτελεσματικότητα του thiamethoxam σύμφωνα με τα αποτελέσματα αυτής της εργασίας φαίνεται να αυξάνεται με τη θερμοκρασία για όλα τα είδη εντόμων που εξετάστηκαν (Arthur et al., 2004). Ορισμένες μελέτες δείχνουν θετική ανταπόκριση της τοξικότητας της γης διατόμων στη θερμοκρασία, ενώ άλλες δείχνουν ουδέτερη ή ακόμη και αρνητική επίδραση (Fields and Korunic, 2000; Arthur, 2000; Athanassiou and Arthur, 2018). Τα πυρεθροειδή είναι γνωστό ότι εμφανίζουν αρνητική συσχέτιση μεταξύ της αύξησης της θερμοκρασίας περιβάλλοντος και της θνησιμότητας για πολλά είδη εντόμων. Οι αλλαγές στη θερμοκρασία περιβάλλοντος επηρεάζουν το ρυθμό πρόσληψης χημικών, το σημείο σύνδεσης, το μεταβολισμό και την απέκκριση των εντομοκτόνων από τα έντομα (Osterauer and Kohler, 2008; Harwood et al., 2009; Weston et al., 2009). Προηγούμενες μελέτες πρότειναν διάφορους μηχανισμούς για τη μείωση της τοξικότητας που σχετίζεται με τα πυρεθροειδή εντομοκτόνα, με την αύξηση της θερμοκρασίας (Toth and Sparks, 1988; Alzogaray et al., 1998; Ma et al., 2012). Στην έρευνά μας με το thiamethoxam, η θνησιμότητα των εντόμων αυξήθηκε με την άνοδο της θερμοκρασίας, γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί σε αυξημένη κίνηση εντόμων, η οποία με τη σειρά της οδηγεί σε αυξημένη επαφή με τον τοξικό παράγοντα στους ψεκασμένους σπόρους. Επιπλέον, η αύξηση της θερμοκρασίας οδηγεί σε επιτάχυνση του μεταβολισμού του εντόμου, ο οποίος επηρεάζει άμεσα τη δραστηριότητά του, ως πρόσθετος στρεσογόνος παράγοντας (Jaworski and Hilszczański, 2013).

Η θερμοκρασία του περιβάλλοντος και η σχετική υγρασία επηρεάζουν τη φάση ανάπτυξης και την αναπνοή των εντόμων (Guarneri et al., 2002). Τα έντομα πρέπει να διατηρούν την περιεκτικότητα του νερού στο σώμα τους σε ορισμένα όρια, τα οποία επηρεάζονται από το βαθμό διαπερατότητας της cuticula (Raghu et al., 2004). Η επιβίωση των εντόμων επηρεάζεται από την ικανότητά τους να ανεχθούν τις διακυμάνσεις της υγρασίας στο σώμα τους (Romoser and Stoffolano, 1998). Γενικά, τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι μια αύξηση της σχετικής υγρασίας μείωσε την αποτελεσματικότητα του εντομοκτόνου, οπότε και τη θνησιμότητα των εντόμων. Δεδομένου ότι η θνησιμότητα ήταν διαφορετική σε 55 από ότι σε 75%, μπορούμε να υποθέσουμε ότι αυτή η αλλαγή δεν σχετίζεται αποκλειστικά με την τοξικότητα του

εντομοκτόνου, αλλά με το αυξημένο μεταβολικό στρες των ακμαίων. Η σχετική υγρασία είναι ένας περιοριστικός παράγοντας ανάπτυξης για τα έντομα, και σε ακραία επίπεδα σχετικής υγρασίας το έντομο, εκτός από το εντομοκτόνο αυτό καθαυτό, πρέπει να αντέξει την έλλειψη του νερού, η οποία τελικά λειτουργεί θετικά στην εντομοκτόνο αποτελεσματικότητα. Αντίθετη επίδραση της σχετικής υγρασίας έχει παρατηρηθεί στα κολεόπτερα των αποθηκευμένων προϊόντων στο spinetoram, όπου η θνησιμότητα αυξήθηκε με την αύξηση του επιπέδου σχετικής υγρασίας από 55 έως 75% (Vassilakos and Athanassiou, 2012).

Διαφορετικά είδη εντόμων έχουν επιδείξει διαφορετική αντίδραση στην αποτελεσματικότητα των εντομοκτόνων, που χρησιμοποιούνται ως προστατευτικά δημητριακών, η οποία μπορεί να οφείλεται, είτε σε διαφορετικούς μηχανισμούς μεταβολισμού του εντομοκτόνου, είτε σε διαφορετική μορφολογία των εντόμων. Η έρευνά μας καταλήγει στο συμπέρασμα ότι από τα τρία έντομα που εξετάστηκαν, το πιο ευαίσθητο στο thiamethoxam ήταν το *R. dominica*, ακολουθούμενο από το *S. oryzae*, ενώ το λιγότερο ευαίσθητο ήταν το *T. confusum*. Επίσης, για το thiamethoxam οι Arthur et al. (2004) χρησιμοποιώντας τέσσερις συγκεντρώσεις, δηλαδή 0.5, 1, 2, και 4 ppm, διαπίστωσαν ότι το *T. castaneum* φάνηκε να είναι το λιγότερο ευαίσθητο είδος, ακολουθούμενο από τα *S. oryzae*, *R. dominica*, *O. surinamensis* και *S. zeamais*. Ωστόσο, οι σύντομες εκθέσεις στο thiamethoxam, από την άποψη της άμεσης κατάρριψης και της προκύπτουσας θνησιμότητας, μπορεί να διαφοροποιήσουν την κατάταξη ευαισθησίας των ειδών. Για σύντομες εκθέσεις σε ψεκασμένους σπόρους, διαπιστώθηκε ότι η αποτελεσματικότητα του thiamethoxam σχετίστηκε με μια αυξημένη ευαισθησία των ακμαίων του *T. confusum* σε σύγκριση με τα ακμαία του *R. dominica*, κάτι που θα μπορούσε να οφείλεται στο γεγονός ότι το πρώτο είδος είναι πολύ πιο ευκίνητο από το τελευταίο, γεγονός που αυξάνει την επαφή του με τον τοξικό παράγοντα, αλλά και σε άλλους παράγοντες που χρήζουν περαιτέρω αποσαφήνισης.

Η μελέτη μας έδειξε ότι η αύξηση της θερμοκρασίας από 20 σε 25 και 30 °C αύξησε τη θνησιμότητα σε όλα τα είδη εντόμων, ιδιαίτερα στη χαμηλότερη συγκέντρωση. Η θνησιμότητα των ακμαίων όλων των ειδών επηρεάστηκε από τις αλλαγές στη θερμοκρασία (αύξηση της θνησιμότητας με αύξηση της θερμοκρασίας) σε όλες τις δόσεις εντομοκτόνου και για όλα τα διαστήματα έκθεσης, ενώ οι αλλαγές της σχετικής υγρασίας επηρέασαν κυρίως τη θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica*

σε ορισμένες συγκεντρώσεις και χρονικά διαστήματα έκθεσης. Τα ευρήματά μας είναι σύμφωνα με αυτά που ανέφεραν οι Athanassiou et al. (2008) και οι Vassilakos and Athanassiou (2013) για το spinosad και το spinetoram, αντίστοιχα, δεδομένου ότι, σε αυτές τις μελέτες, οι συγγραφείς διαπίστωσαν ότι υπήρχε σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στη θνησιμότητα των εντόμων. Για το thiamethoxam, οι Arthur et al. (2004) ανέφεραν ότι η θνησιμότητα των ακμαίων των *R. dominica* και *S. oryzae* ήταν μικρότερη του 60% όταν εκτέθηκαν σε ψεκασμένο σιτάρι για 1 και 2 ημέρες, αλλά έφτασε το 100% ή κοντά σε αυτό το ποσοστό, όταν εκτέθηκαν για 6 ημέρες στους 27 και 32 °C. Αυτά τα δεδομένα συμφωνούν με τα επίπεδα που αναφέρονται στην εργασία μας.

Τα αποτελέσματά μας για την παραγωγή απογόνων έδειξαν ότι στη χαμηλή δόση, με την αύξηση της θερμοκρασίας, η παραγωγή απογόνων αυξήθηκε, ενώ στις υψηλότερες δόσεις δεν παρατηρήθηκαν ακμαία, για τους περισσότερους από τους συνδυασμούς που εξετάστηκαν. Αυτό είναι προφανές, καθώς ο βιολογικός κύκλος των ειδών που εξετάστηκαν ήταν ταχύτερος και η αντίστοιχη γονιμότητα αυξήθηκε στις υψηλές θερμοκρασίες (Kumawat, 2007). Η περίοδος επώασης που έχει χρησιμοποιηθεί εδώ (65 ημέρες μετά την απομάκρυνση των γονέων) θεωρείται αρκετά μεγάλη για να ολοκληρώσουν τα τρία είδη κολεοπτέρων τουλάχιστον μία γενιά (Athanassiou et al., 2008). Όπως είχε προβλεφθεί, η παραγωγή απογόνων για το *T. confusum* ήταν αμελητέα και καταγράφηκε μόνο στα φιαλίδια του μάρτυρα (δεν περιλαμβάνονται τα δεδομένα).

Λαμβάνοντας υπόψη τους πρόσφατους κανονιστικούς περιορισμούς σχετικά με τη χρήση των νεονικοτινοειδών, συμπεριλαμβανομένου και του thiamethoxam, σε καλλιέργειες και οπωρώνες (δηλ. διαταραχή πτήσης μελισσών με κατάρρευση αποικίας), η μελέτη μας έδειξε ότι αυτή η δραστική ουσία μπορεί να αποτελέσει ένα εντομοκτόνο, με περαιτέρω αποτελεσματική χρήση ως προστατευτικό σπόρων, στα μετασυλλεκτικά στάδια των γεωργικών προϊόντων σε εγκαταστάσεις αποθήκευσης και επεξεργασίας. Επιπλέον, το thiamethoxam βρέθηκε αποτελεσματικό σε συγκεντρώσεις που είναι συγκρίσιμες με άλλα προστατευτικά σπόρων και μπορεί να αξιολογηθεί περαιτέρω για το σκοπό αυτό, ειδικά σε βασικά σενάρια εφαρμογής, όπως σε πληθυσμούς που είναι ανθεκτικοί σε «παραδοσιακά» εντομοκτόνα.

2.7. Αποτελεσματικότητα του thiamethoxam σε διαφορετικές επιφάνειες για την αντιμετώπιση έξι ειδών εντόμων αποθηκών

2.7.1 Εισαγωγή

Η παγκόσμια παραγωγή τροφίμων και η αποθήκευσή τους πρέπει να επικεντρωθεί κυρίως στη βιωσιμότητα, εξισορροπώντας τις οικονομικές, περιβαλλοντικές και κοινωνικές ανάγκες. Η αποθήκευση είναι μια σημαντική λειτουργία της αγοράς, η οποία περιλαμβάνει την κατοχή και τη διατήρηση αγαθών, από τη στιγμή που παράγονται μέχρι την κατανάλωσή τους. Παγκοσμίως, σε αυτό το στάδιο, τα έντομα αποθηκευμένων προϊόντων μπορούν να προκαλέσουν σοβαρές απώλειες μετά τη συγκομιδή στα γεωργικά προϊόντα. Για να διατηρηθεί η ποιότητα των αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων λόγω αυτών των απωλειών, υπάρχει η ανάγκη εφαρμογής υπολειμματικών εντομοκτόνων κατά τη διάρκεια της αποθήκευσής τους και στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας τους, ως αναπόσπαστο μέρος για την αντιμετώπιση των εχθρών τους (White and Leesch 1995).

Εκτός από την απευθείας εφαρμογή τους στο προϊόν, τα εντομοκτόνα μπορούν να εφαρμοστούν σε ενσακκισμένα προϊόντα, καθώς και σε υποδομές κτιρίων, όπως τοίχους, δάπεδα, οροφές κ.λπ., καθώς και ρωγμές των αποθηκών, ώστε να υπάρχει ένα επαρκές υπολειμματικό αποτέλεσμα (Arthur 2012). Σε σύγκριση με την άμεση εφαρμογή του εντομοκτόνου στο προϊόν, οι επιφανειακές εφαρμογές έχουν το πλεονέκτημα ότι έχουν πολύ λιγότερα υπολείμματα στα τρόφιμα, ελαχιστοποιώντας με τον τρόπο αυτό, τον κίνδυνο για τους τελικούς χρήστες. Η χρήση των εντομοκτόνων σε επιφάνειες και υποδομές αναμένεται να αφήνουν υπολείμματα, τα οποία θα σκοτώνουν τα έρποντα έντομα στις ψεκασμένες επιφάνειες για επαρκές χρονικό διάστημα. Τα υλικά που ψεκάζονται συνήθως σε εγκαταστάσεις αποθήκευσης και επεξεργασίας είναι το τσιμέντο, το ξύλο, το μέταλλο, καθώς και τα σακκιά αποθήκευσης από λινάτσα ή πλαστικό και πολυπροπυλένιο (Gudrups et al., 1994). Ωστόσο, η διατήρηση του εντομοκτόνου που συσσωρεύεται στις δομικές επιφάνειες επηρεάζεται από τη σύνθεσή του (Williams et al., 1982, 1983; Arthur 1994; Nayak et al., 2002; Baliota et al., 2018), τη δόση εφαρμογής και τον τύπο της ψεκασμένης επιφάνειας (Burkholder and Dicke 1966, White 1982, Giga and Canhao 1991, Arthur 1997, Rumbos et al., 2014), το χρόνο έκθεσης (Arthur 1998a), το ποσοστό κάλυψης του εντομοκτόνου στην επιφάνεια που θα γίνει η εφαρμογή

(Arthur 1999a), την υπολλειματική δράση και την αποτελεσματικότητά του (Arthur 1997, 1998b) και τη θερμοκρασία (Arthur 1999b).

Το φαινόμενο της ανθεκτικότητας στα οργανοφωσφορικά και στα πυρεθροειδή εντομοκτόνα (Collins et al., 1993; Arthur, 1996; Dagnish and Nayak, 2012), δημιούργησε την ανάγκη αξιολόγησης νέων χημικών συστατικών για εντομοκτόνα επαφής, για την προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων. Τα νεονικοτινοειδή έχουν αδειοδοτηθεί και χρησιμοποιούνται μετασυλλεκτικά για την αντιμετώπιση των εχθρών, αρχικά για την επεξεργασία των σπόρων (επικάλυψη σπόρων) και τελικά αποδείχθηκαν αρκετά αποτελεσματικά για πολλές κατηγορίες εντόμων (Yue et al., 2003; Jeschke et al., 2011; Athanassiou et al., 2014; Schaafsma et al., 2015; Simon-Delso et al., 2015). Τα νεονικοτινοειδή και τα οργανοφωσφορικά αν και δρουν και τα δύο μέσω των υποδοχέων της ακετυλοχολίνης, έχουν διαφορετικό μηχανισμό δράσης (Maienfisch et al., 1999; Hofer and Brandl, 1999; Kim et al., 2003; Tomizawa, 2004; Thany, 2010), γεγονός που τα καθιστά υποψήφια ως εναλλακτικά για τα παραδοσιακά προστατευτικά, ειδικά στην περίπτωση των ανθεκτικών πληθυσμών σε άλλα νευροτοξικά εντομοκτόνα. Τα νεονικοτινοειδή δεν υδρολύονται από την ακετυλοχολινεστεράση και αυτό έχει ως συνέπεια την υπερβολική διέγερση των υποδοχέων (Eldefrawi and Eldefrawi, 1990).

Το thiamethoxam είναι ένα εντομοκτόνο επαφής ευρέως φάσματος με εκτεταμένη χρήση, που ανήκει στη «δεύτερη γενιά» της οικογένειας των νεονικοτινοειδών (Maienfisch et al., 2001a). Το εντομοκτόνο αυτό έχει χρησιμοποιηθεί ευρέως στην επεξεργασία σπόρων με πολύ καλά αποτελέσματα. Έχει αδειοδοτηθεί για 115 χρήσεις καλλιεργειών, όπως το ρύζι, τα δημητριακά, το βαμβάκι, ο καπνός και οι πατάτες (Jeschke et al., 2011). Στα έντομα αποθηκών, οι Yue et al., (2003) διαπίστωσαν ότι το thiamethoxam, ως προστατευτικό σπόρων, ήταν αποτελεσματικό για την αντιμετώπιση του *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Οι Arthur et al., (2004) στις βιοδοκιμές τους, χρησιμοποιώντας σπόρους καλαμποκιού που ψεκάστηκαν με thiamethoxam σε συγκεντρώσεις από 0.5 έως 4 ppm για την αντιμετώπιση των *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae), *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae), *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) και *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), ανέφεραν υψηλά επίπεδα θνησιμότητας στα 4 ppm μετά από 6 ημέρες έκθεσης. Τα αποτελέσματα των Wakil et

al. (2013) δείχνουν ότι το thiamethoxam μαζί με τη γη διατομών έχει καλά αποτελέσματα και μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία στην αντιμετώπιση του *R. dominica*, αλλά αυτή η αποτελεσματικότητα επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες όπως η συγκέντρωση του εντομοκτόνου, το διάστημα έκθεσης, το υπόστρωμα και το είδος του εντόμου που εξετάστηκε. Οι Rumbos et al. (2018) εξέτασαν την αποτελεσματικότητα της εντομοκτόνου δράσης του spinetoram και του thiamethoxam, αρχικά με την εφαρμογή του καθενός ξεχωριστά και τελικά με την ταυτόχρονη εφαρμογή και των δύο για την αντιμετώπιση τριών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων και διαπίστωσαν ότι το thiamethoxam ήταν αποτελεσματικό από μόνο του και παρείχε υψηλά επίπεδα θνησιμότητας των ακμαίων και μηδενισμό στην παραγωγή των απογόνων σε όλα τα υπό εξέταση είδη.

Ο όρος «άμεση κατάρριψη», που αποτελεί στα ελληνικά μια ευρύτερη μεταφορά του όρου knockdown, αναφέρεται σε μια αναστρέψιμη ή μη αναστρέψιμη παράλυση του εντόμου που προκαλείται από το εντομοκτόνο. Η ταχύτητα, η διάρκεια της ακινητοποίησης του εντόμου και η πιθανότητα, καθώς και η έκταση της ανάκαμψης είναι σημαντικοί παράγοντες για την αντιμετώπιση των εντόμων (Georghiou, 1962). Η κατάσταση της άμεσης κατάρριψης είναι ένα μεταβατικό προσωρινό στάδιο μεταξύ της επιβίωσης και της θνησιμότητας, όπου συχνά οι δύο αυτές έννοιες είναι άμεσα συνδεδεμένες. (Arthur, 2008). Υπάρχουν μελέτες (Arthur, 1999a, 2012) που δείχνουν ότι μερικές φορές μπορεί να προκληθεί ανάκαμψη, όταν τα έντομα δεν έρχονται πλέον σε επαφή με το εντομοκτόνο. Για να ανακάμψει από αυτήν την κατάσταση, θα πρέπει να προηγηθεί κάποιος μηχανισμός αποτοξίνωσης ή ατελής και αναστρέψιμη αναστολή ενζύμων. Μια γρήγορη άμεση κατάρριψη μπορεί να μην είναι επιθυμητή, καθώς ελαχιστοποιεί την έκθεση του εντόμου στον τοξικό παράγοντα. Η γρήγορη άμεση κατάρριψη μπορεί να σχετίζεται με αυξημένη πιθανότητα ανάκαμψης, λόγω περιορισμένης επαφής με την τοξική χημική ουσία. Από την άλλη πλευρά, η μειωμένη άμεση κατάρριψη μπορεί να επιτρέπει στα έντομα να διαφύγουν από το ψεκασμένο υπόστρωμα.

Από την άλλη πλευρά, στην έρευνά μας δείξαμε ότι η θνησιμότητα εντόμων (άμεση ή καθυστερημένη) μετά την έκθεση στο thiamethoxam, έχει θετική συσχέτιση με τα ποσοστά της άμεσης κατάρριψης. Η σημασία της επίδρασης της άμεσης κατάρριψης μπορεί να εκτιμηθεί ως δείκτης θνησιμότητας ή ανάκαμψης εντόμων και είναι πολύ σημαντική καθώς έχει αποδειχθεί σε αρκετές πρόσφατες μελέτες, ότι η άμεση

κατάρριψη θεωρείται ως μια ιδιόμορφη κατάσταση μεταξύ επιβίωσης και θνησιμότητας (Toews et al. 2003; Paudyal et al. 2016, 2017; Kavallieratos et al. 2017). Η χρήση του Τυποποιημένου Δείκτη Θνησιμότητας (Standardized Lethality Index, SLI) που οι Agrafioti et al. (2015) χρησιμοποίησαν από τους Leskey et al. (2012) που πρώτοι τον ανέπτυξαν, μπορεί να ποσοτικοποιήσει το επίπεδο της άμεσης κατάρριψης των εντόμων (από την αδυναμία κίνησης έως την ακινητοποίηση ή τον θάνατο). Μέσω αυτού του δείκτη, ένας χρήστης-παρατηρητής μπορεί να ποσοτικοποιήσει την άμεση κατάρριψη των εκτεθειμένων εντόμων και να εξαγάγει συμπεράσματα για την πιθανή αποτελεσματικότητα του εντομοκτόνου, χωρίς να χρειάζεται να μετρήσει τα τελικά επίπεδα θνησιμότητας (Agrafioti et al., 2015; Baliota et al., 2018).

Προς το παρόν δεν υπάρχουν αρκετά διαθέσιμα δεδομένα σχετικά με τη χρήση του thiamethoxam ως επιφανειακό εντομοκτόνο. Οι Saglam et al. (2013) δοκίμασαν την αποτελεσματικότητα των spinetoram, thiamethoxam και chlorantraniliprole για την αντιμετώπιση διαφόρων σταδίων ανάπτυξης του *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) στο τσιμέντο, υπογραμμίζοντας τη δυναμική του thiamethoxam και την ανάγκη περαιτέρω αξιολόγησής του ως εντομοκτόνο σε επιφάνειες σε εγκαταστάσεις αποθήκευσης και επεξεργασίας γεωργικών προϊόντων και τροφίμων. Οι εργαστηριακές βιοδοκιμές που διεξήχθησαν από τους Athanassiou et al. (2015) για την αξιολόγηση του alpha-cypermethrin και του thiamethoxam σε τσιμέντο, έδειξαν ότι το *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera: Tenebrionidae) ήταν πιο ευαίσθητο από το *Trogoderma granarium* (Everts) (Coleoptera: Dermestidae) και στα δύο εντομοκτόνα που ελέγχθηκαν, αλλά το thiamethoxam ήταν γενικά λιγότερο αποτελεσματικό από το alpha-cypermethrin.

Οι Baliota et al. (2018) δοκίμασαν τρία διαφορετικά εντομοκτόνα με διαφορετικούς τρόπους δράσης σε τσιμέντο για την αντιμετώπιση των ακμαίων των *S. oryzae*, *O. surinamensis* και *T. confusum* και διαπίστωσαν ότι το thiamethoxam και το lambda-cyhalothrin προκάλεσαν αρχικά υψηλά επίπεδα άμεσης κατάρριψης στο *S. oryzae* και *O. surinamensis* σε σύγκριση με το chlorfenapyr και ότι η άμεση κατάρριψη θα μπορούσε τελικά να οδηγήσει σε θνησιμότητα και όχι σε ανάκαμψη. Οι Doganay et al. (2018) δοκίμασαν το thiamethoxam σε διαφορετικές επιφάνειες από τσιμέντο, λινό και πλαστικό για την αντιμετώπιση των ακμαίων του *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrychidae), καταγράφοντας πλήρη έλεγχο μετά από μια εβδομάδα

έκθεσης σε τσιμέντο και πλαστικό, αλλά πολύ χαμηλότερη θνησιμότητα στην περίπτωση των λινών επιφανειών.

Ο στόχος της παρούσας έρευνας είναι η αξιολόγηση της εφαρμογής του thiamethoxam σε διαφορετικούς τύπους επιφανειών για την αντιμετώπιση έξι από τα κύρια κολεόπτερα αποθηκευμένων προϊόντων. Η έρευνα έγινε ακολουθώντας τα πρωτόκολλα που περιγράφονται στην έρευνα των Agrafioti et al. (2015), εφαρμόζοντας τον Τυποποιημένο Δείκτη Θνησιμότητας (SLI). Ως εκ τούτου, οι συγκεκριμένοι στόχοι της έρευνας ήταν: (α) να αξιολογηθεί η αποτελεσματικότητα διαφορετικών συγκεντρώσεων thiamethoxam σε ακμαία έξι ειδών εντόμων και να προσδιοριστεί η κατάταξη στην ευαισθησία τους ανά είδος, (β) να εξεταστούν τα αποτελέσματα διαφορετικών επιφανειακών υποστρωμάτων για την αντιμετώπιση των εντόμων για επαρκή χρονική περίοδο, και (γ) να παραχθούν περισσότερα δεδομένα σχετικά με την άμεση κατάρριψη χρησιμοποιώντας τον SLI, δεδομένου ότι οι διαθέσιμες έρευνες για αυτό το αντικείμενο ιδιαίτερα είναι λίγες.

2.7.2 Υλικά και Μέθοδοι

2.7.2.1 Επιφάνειες και έντομα

Χρησιμοποιήθηκαν αποκλειστικά και μόνο ακμαία από τις εκτροφές που υπάρχουν στους θαλάμους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, όπου στα υποκεφάλαια 2.1.1 και 2.1.3. περιγράφονται ακριβώς οι διαδικασίες προετοιμασίας των εκτροφών και των επιφανειών. Έξι διαφορετικές επιφάνειες χρησιμοποιήθηκαν για τις βιοδοκιμές, οι οποίες και αυτές περιγράφονται σχετικά παραπάνω.

2.7.2.2 Εφαρμογή εντομοκτόνου

Όλες οι εφαρμογές με το εντομοκτόνο thiamethoxam στις επιφάνειες έγιναν σύμφωνα με το υποκεφάλαιο 2.1.4., ψεκάζοντας 1 ml του κατάλληλου διαλύματος εντομοκτόνου για κάθε τύπο επιφάνειας. Για τον μάρτυρα, ακολουθήσαμε την ίδια διαδικασία αλλά αντί του διαλύματος χρησιμοποιήσαμε μια σειρά τρυβλίων που η ανάλογη επιφάνεια ψεκάστηκε με αποσταγμένο νερό. Σε όλα τα τρυβλία έλαβε χώρα σήμανση και μεταφέρθηκαν στους 25 °C και 65% Σ.Υ.

2.7.2.3 Βιοδοκιμές

Μετά τον ψεκάσμο των επιφανειών, 10 ακμαία εισήχθησαν σε κάθε ένα από τα τρυβλία, με διαφορετικά τρυβλία ανά είδος, και στη συνέχεια όλα τα τρυβλία μεταφέρθηκαν στις συνθήκες που αναφέρθηκαν παραπάνω. Η θνησιμότητα και η άμεση κατάρριψη των εκτεθειμένων εντόμων εκτιμήθηκαν μετά από 1, 3 και 7 ημέρες έκθεσης. Μετά από κάθε δεδομένο χρονικό διάστημα, τα ακμαία αφαιρέθηκαν από τα τρυβλία και μετρήθηκαν μετά την αφαίρεσή τους, διαχωρίζοντάς τα σε νεκρά, ακινητοποιημένα και ζωντανά με τη βοήθεια ενός στερεοσκοπίου, όπου τα πρώτα αφαιρέθηκαν και τα τελευταία τοποθετήθηκαν πίσω στο τρυβλίο, μέχρι τη μέτρηση του επόμενου διαστήματος.

Η κατάσταση των εκτεθειμένων ακμαίων υπολογίστηκε με τη χρήση του SLI, ο οποίος αναπτύχθηκε περαιτέρω από τους Agrafioti et al. (2015), ακολουθώντας και εξελίσσοντας τον τύπο των Leskey et al. (2012). Οι τιμές του νέου SLI για κάθε ακμαίο κυμαίνονταν από 0 έως 4, για την αξιολόγηση των αποκρίσεων του και για τη μέτρηση της έντασης κάθε απόκρισης (άμεση κατάρριψη ή θνησιμότητα) (η αξιολόγηση είναι παρόμοια με αυτή της κλίμακας αθροιστικής βαθμολογίας τύπου Likert). Προκειμένου να προσδιοριστεί η τιμή των συντελεστών θνησιμότητας w_j , κάθε ένα από τα στοιχεία της κλίμακας διαιρείται με το άθροισμα της κλίμακας Likert. Επομένως, για τη συγκεκριμένη έρευνα, $w_1 = 1 / (0 + 1 + 2 + 3 + 4) = 0.1$, $w_2 = 2 / (0 + 1 + 2 + 3 + 4) = 0.2$, κ.λπ. Επακριβώς, ο Τυποποιημένος Δείκτης Θνησιμότητας (SLI) υπολογίζεται από την εξίσωση:

$$\sum_0^4 \left(\frac{(N.al. \times w_1) + (N.1 \times w_2) + (N.2 \times w_3) + (N.3 \times w_4) + (N.dead \times w_i)}{N.ad. \times N.ob \times \max_{w_i}} \right) \times 100$$

[Συντελεστής θνησιμότητας w_1 : 0.0, w_2 : 0.1, w_3 : 0.2, w_4 : 0.3, w_i : 0.4, $N.al.$: Αριθμός ζωντανών ακμαίων, $N.1$: Αριθμός ακμαίων στην κατάταξη 1, $N.2$: Αριθμός ακμαίων στην κατάταξη 2, $N.3$: Αριθμός ακμαίων στην κατάταξη 3, $N.dead$: Αριθμός νεκρών ακμαίων, $N.ad.$: Συνολικός αριθμός ακμαίων, $N.ob$: Αριθμός παρατηρήσεων (μία ημέρα, μία παρατήρηση), και \max_{w_j} : Μέγιστος συντελεστής θνησιμότητας]

Ως εκ τούτου, στην έρευνά μας, για τον υπολογισμό του SLI, τα έντομα ταξινομήθηκαν με τιμή «0» όταν τα ακμαία ήταν ζωντανά και μπορούσαν να περπατήσουν κανονικά (όπως στην περίπτωση των ακμαίων στα τρυβλία που χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες), «1», όταν τα ακμαία ακινητοποιήθηκαν μερικώς, δηλαδή μπορούσαν να περπατήσουν με ασταθή τρόπο, ακανόνιστα και μόνο για μικρές αποστάσεις, «2», όταν τα ακμαία ακινητοποιήθηκαν και γύρισαν ανάποδα, αλλά μπορούσαν να κινούν έντονα τους πόδες και τις κεραίες τους, «3», όταν υπήρχε κάποια ελάχιστη κίνηση ταρσών ή/και κεραίων και «4», όταν ήταν νεκρά (απέτυχαν να κινηθούν με συντονισμένο τρόπο, όταν αγγίχθηκαν με ένα λεπτό πινέλο). Οι τιμές του SLI κυμαίνονταν από 0 έως 100%, για την εκτίμηση των αποκρίσεων των εντόμων και για τη μέτρηση της έντασης κάθε απόκρισης (άμεση κατάρριψη ή θνησιμότητα), με τιμές που όταν ήταν κοντά στο μηδέν έδειχναν μια «αδύναμη» άμεση κατάρριψη και όταν ήταν κοντά στο 100% τη θνησιμότητα ή μια «ισχυρή» άμεση κατάρριψη. Είναι προφανές ότι λόγω αυτών των διαφορετικών επιπέδων ακινητοποίησης, το SLI μπορεί να είναι μια ακριβής αξιολόγηση της «ισχυρής» ή «αδύναμης» άμεσης κατάρριψης και μπορεί να κάνει πρόβλεψη υποθετικής ανάκαμψης ή ενδεχομένης θνησιμότητας (Agrafioti et al., 2015). Πραγματοποιήθηκαν πέντε επαναλήψεις για την ολοκλήρωση του πειράματος, προετοιμάζοντας νέα σειρά δισκίων κάθε φορά.

2.7.2.4 Ανάλυση δεδομένων

Ο προκαταρκτικός έλεγχος για κανονική κατανομή και ομοιογένεια έδειξε μη σημαντικές διαφορές με την εκτίμηση O'Brien για κάθε έκθεση (εύρος $F = 0.8-2.2$, εύρος $P = 0.07-0.57$, σε όλες τις περιπτώσεις $B.E = 5.24$), υποδεικνύοντας ότι τα δεδομένα θα μπορούσαν να αναλυθούν με παραμετρικές μεθόδους. Η ανάλυση δεδομένων πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά για καθένα από τα είδη εντόμων που εξετάστηκαν, με τη χρήση της πολυμεταβλητής ανάλυσης διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (MANOVA Fit Repeat Measures) με βάση το Wilk's lambda του λογισμικού JMP. Ως κύριες επιδράσεις θεωρήθηκαν η δόση του εντομοκτόνου και το είδος της επιφάνειας και ως επαναλαμβανόμενη μεταβλητή θεωρήθηκε ο χρόνος - SLI. Οι μέσοι όροι για το δείκτη SLI συγκρίθηκαν με το test Tukey-Kramer (HSD) σε επίπεδο 0.05 (Sokal and Rohlf 1995).

2.7.3 Αποτελέσματα

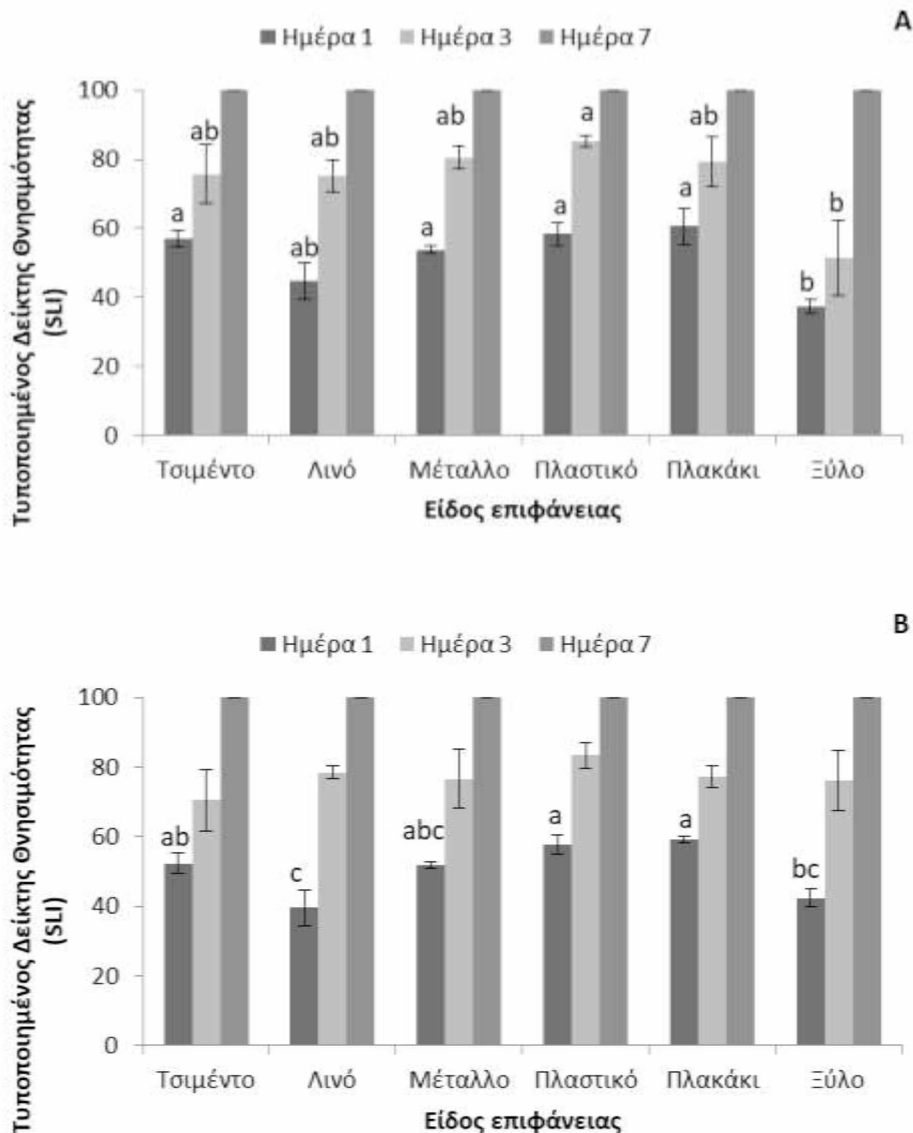
2.7.3.1 *Tribolium confusum* και *T. castaneum*

Από τις κύριες επιδράσεις, ο τύπος της επιφάνειας ήταν σημαντικός και για τα δύο είδη εντόμων (Πίνακας 2.7.1).

Για το *T. confusum*, μετά από έκθεση μιας ημέρας στη χαμηλότερη δόση του εντομοκτόνου, καταγράψαμε το χαμηλότερο SLI (37%) στις ξύλινες επιφάνειες και το υψηλότερο (58%) στις επιφάνειες με πλαστικό. Παρόμοια αποτελέσματα σημειώθηκαν επίσης μετά από 3 ημέρες έκθεσης στην ίδια δόση, όπου το SLI αυξήθηκε περαιτέρω. Ως εκ τούτου, το SLI ήταν 51% για τις ξύλινες επιφάνειες και πάνω από 75% για όλες τις άλλες επιφάνειες. Όλα τα ακμαία ήταν νεκρά μετά από 7 ημέρες έκθεσης, καθώς το SLI ήταν 100% σε όλες τις ψεκασμένες επιφάνειες (Γράφημα 2.7.1A). Στην υψηλή δόση, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των επιφανειών μόνο μετά από 1 ημέρα έκθεσης. Για αυτό το διάστημα έκθεσης, το χαμηλότερο SLI καταγράφηκε στις επιφάνειες από ξύλο και λινό με 39 και 42% αντίστοιχα, ενώ σε όλες τις άλλες περιπτώσεις κυμαινόταν μεταξύ 52 και 59%. Δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των επιφανειών μετά από έκθεση για 3 ημέρες, αν και το SLI αυξήθηκε. Μετά από έκθεση των ακμαίων για 7 ημέρες στην υψηλή δόση, το SLI ήταν 100% για όλες τις επιφάνειες (Γράφημα 2.7.1B).

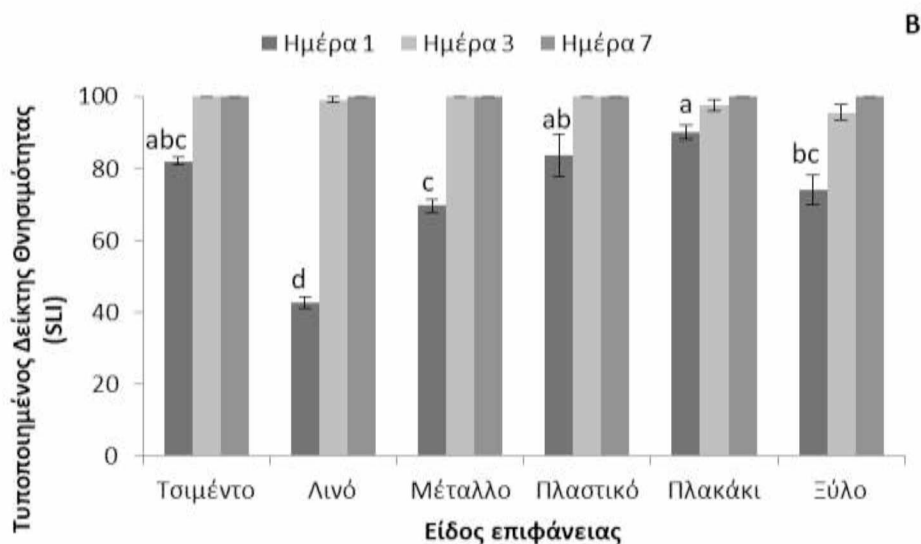
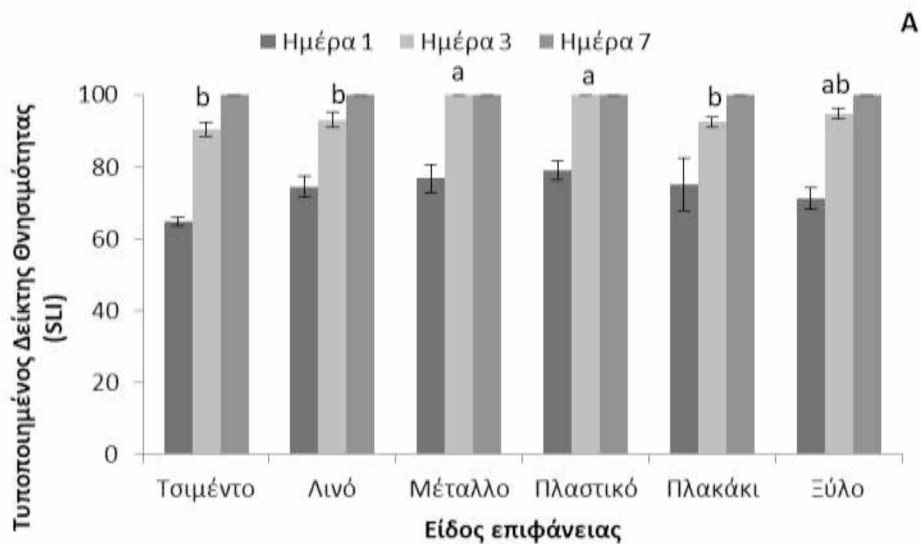
Πίνακας 2.7.1: Ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας (*Repeated measures MANOVA*) με τις παραμέτρους για το *Standardized Lethality Index (SLI)* των ειδών εντόμων που εξετάστηκαν σε έξι διαφορετικές επιφάνειες που ψεκάστηκαν με δύο διαφορετικές δόσεις του *thiamethoxam* (Βαθμοί ελευθερίας σφάλματος =48)

	<i>B.E</i>	<i>T. castaneum</i>		<i>T. confusum</i>		<i>S. oryzae</i>		<i>S. granarius</i>		<i>O. surinamensis</i>		<i>C. ferrugineus</i>	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Μεταξύ των μεταβλητών	11	9.2	<0.001	4.1	0.003	14.1	<0.001	57.1	<0.001	5.0	<0.001	16.0	<0.001
Τιμή αποκοπής	1	48999.9	<0.001	11175.4	<0.001	66560.9	<0.001	301249.8	<0.001	18166.8	<0.001	25668.8	<0.001
Επιφάνεια	5	9.8	<0.001	7.3	<0.001	14.5	<0.001	44.3	<0.001	7.8	<0.001	30.9	<0.001
Δόση	1	2.2	0.143	0.1	0.802	55.5	<0.001	294.4	<0.001	2.8	0.098	4.1	0.048
Επιφάνεια*Δόση	5	9.9	<0.001	1.8	0.122	5.4	0.001	22.3	<0.001	2.6	0.035	3.6	0.008
Εντός της μεταβλητής	22	9.1*	<0.001	3.3*	<0.001	14.3*	<0.001	28.5*	<0.001	5.6*	<0.001	14.2*	<0.001
Χρόνος	2	312.7	<0.001	1370.2	<0.001	115.3	<0.001	291.4	<0.001	181.2	<0.001	486.1	<0.001
Χρόνος*Επιφάνεια	10	9.1*	<0.001	6.2*	<0.001	18.5*	<0.001	28.6*	<0.001	8.6*	<0.001	27.7*	<0.001
Χρόνος*Δόση	2	11.9	<0.001	0.5	0.608	27.6	<0.001	175.8	<0.001	8.3	0.001	11.2	<0.001
Χρόνος*Επιφάνεια*Δόση	10	8.3*	<0.001	1.0*	0.476	5.6*	<0.001	17.1*	<0.001	3.0*	0.002	2.3*	0.016



Γράφημα 2.7.1: Μέσοι όροι τιμών του *S.L.I.* ($\% \pm T.S.$) των ακμαίων του *Tribolium confusum* σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm^2 (A) και 0.1 mg/cm^2 (B). Για κάθε ημέρα έκθεσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ απουσία γραμμάτων δείχνει απουσία στατιστικής σημαντικής διαφοράς (Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Για το *T. castaneum*, οι τιμές του SLI ήταν υψηλότερες σε σύγκριση με τις αντίστοιχες για το *T. confusum*, ανεξάρτητα από τη δόση και το χρόνο έκθεσης. Διαφορές μεταξύ των επιφανειών στις χαμηλές δόσεις σημειώθηκαν μόνο για το διάστημα των 3 ημερών έκθεσης, όπου το SLI κυμαινόταν μεταξύ 90 και 100%. Για όλες τις επιφάνειες το SLI ήταν 100% μετά από 7 ημέρες έκθεσης στη χαμηλή δόση (Γράφημα 2.7.2A).

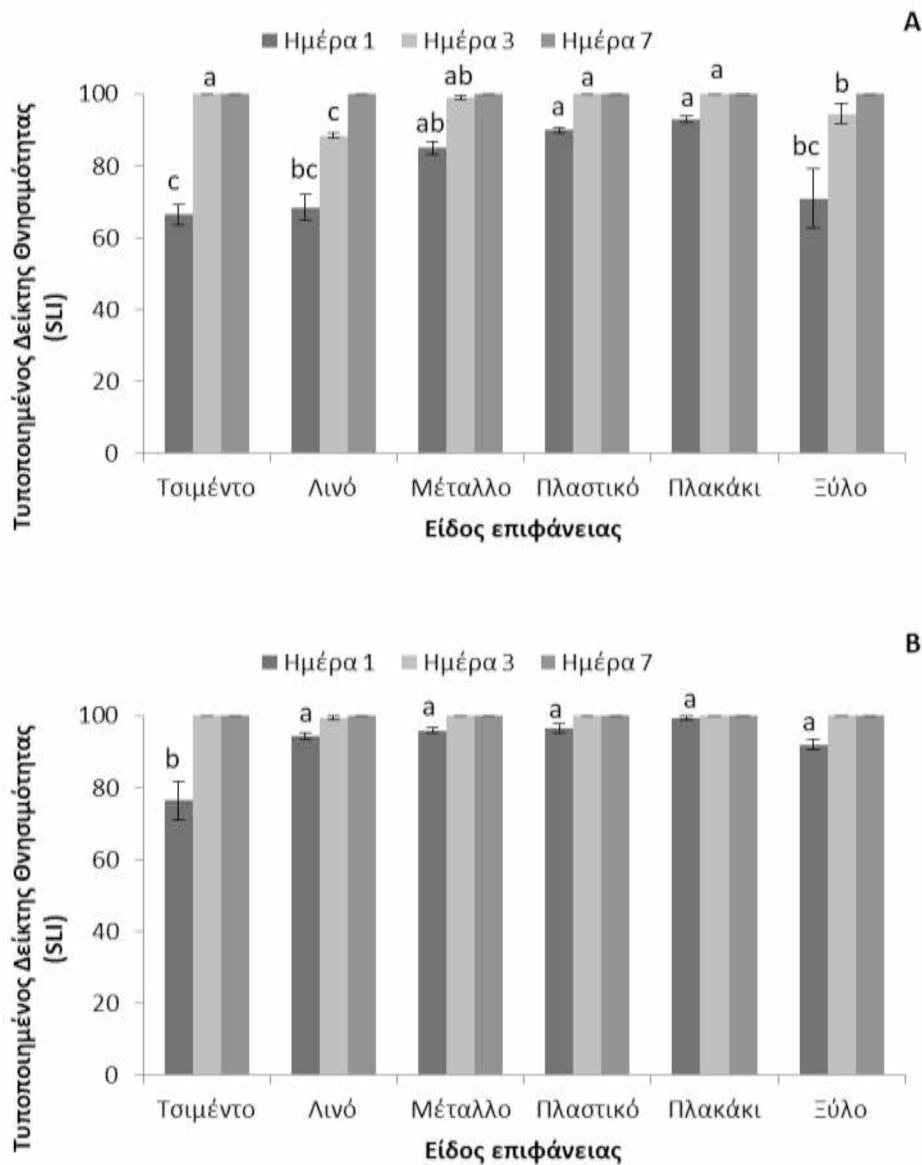


Γράφημα 2.7.2: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. (% \pm T.Σ.) των ακμαίων του *Tribolium castaneum* σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm² (A) και 0.1 mg/cm² (B). Για κάθε ημέρα έκθεσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ απουσία γραμμάτων δείχνει απουσία στατιστικής διαφοράς (Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Το SLI στην υψηλή δόση ήταν ελαφρώς υψηλότερο από αυτό της χαμηλής δόσης, με ορισμένες εξαιρέσεις. Για αυτή τη δόση, παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των επιφανειών μόνο για την 1η ημέρα έκθεσης, όπου η τιμή του δείκτη κυμαινόταν μεταξύ 43 και 90%. Πλήρης θνησιμότητα καταγράφηκε μετά από 7 ημέρες έκθεσης σε όλες τις επιφάνειες (Γράφημα 2.7.2B).

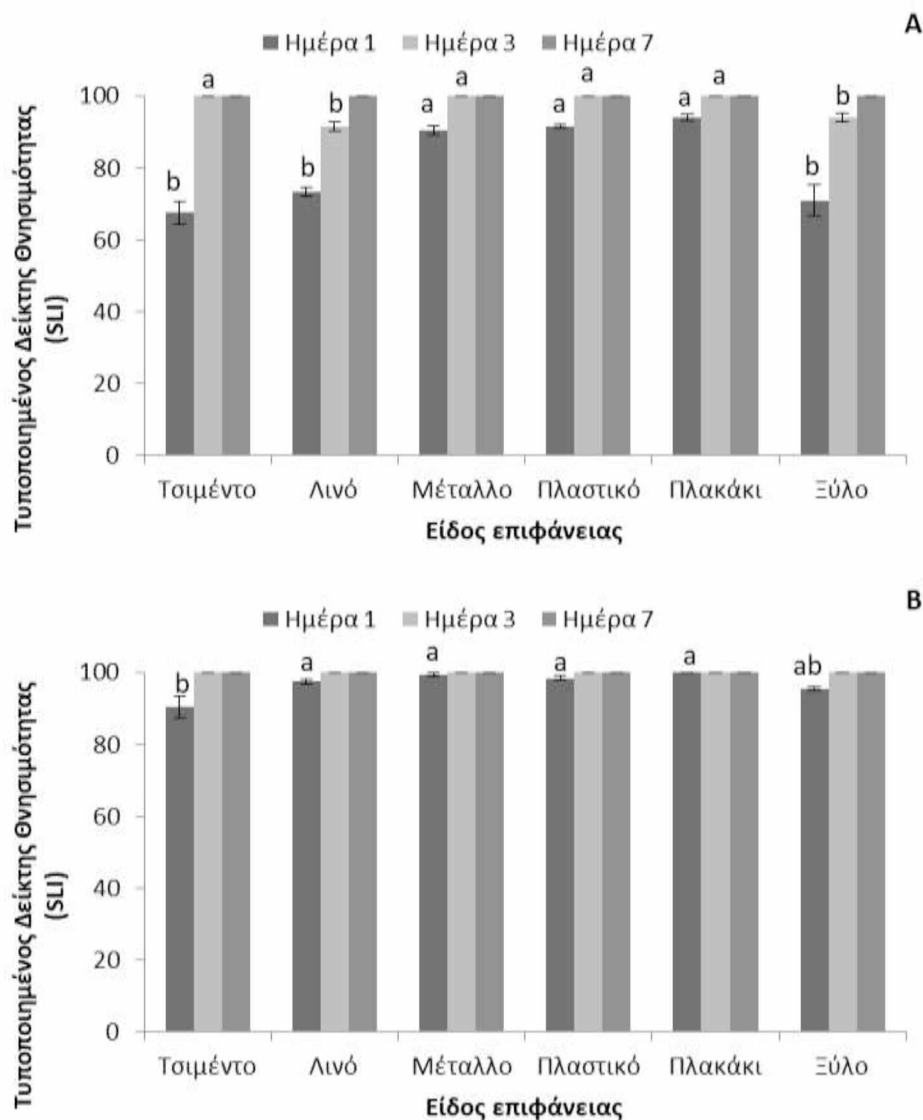
2.7.3.2 *Sitophilus oryzae* και *S. granarius*

Όλες οι κύριες επιδράσεις και αλληλεπιδράσεις ήταν σημαντικές και για τα δύο είδη (Πίνακας 2.7.1). Γενικά, οι τιμές του SLI ήταν υψηλότερες για το *S. granarius* από ότι για το *S. oryzae*. Στην περίπτωση του *S. oryzae*, στη χαμηλή δόση και μετά από 1 ημέρα έκθεσης, το SLI ήταν χαμηλότερο σε επιφάνειες τσιμέντου, λινού και ξύλου με 66, 68 και 71% αντίστοιχα.



Γράφημα 2.7.3: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. (% ± T.Σ.) των ακμαίων του *Sitophilus oryzae* σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm² (A) και 0.1 mg/cm² (B). Για κάθε ημέρα έκθεσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ απουσία γραμμάτων δείχνει απουσία στατιστικώς σημαντικής διαφοράς (Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Το SLI αυξήθηκε κατά την τριήμερη έκθεσή τους και έφτασε το 100% σε τσιμέντο, πλαστικό και πλακάκι (Γράφημα 2.7.3A). Στην υψηλή δόση, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επιφανειών, μόνο μετά την 1η ημέρα έκθεσης. Στην περίπτωση αυτή, οι τιμές του Δείκτη κυμαίνονταν μεταξύ 76 και 100%. Επιπλέον, όλα τα ακμαία ήταν νεκρά μετά από 7 ημέρες έκθεσης, καθώς το SLI ήταν 100% για όλες τις επιφάνειες (Γράφημα 2.7.3B).



Γράφημα 2.7.4: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. (% ± T.Σ.) των ακμαίων του *Sitophilus granarius* σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm² (A) και 0.1 mg/cm² (B). Για κάθε ημέρα έκθεσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ απουσία γραμμάτων δείχνει απουσία στατιστικώς σημαντικής διαφοράς (Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

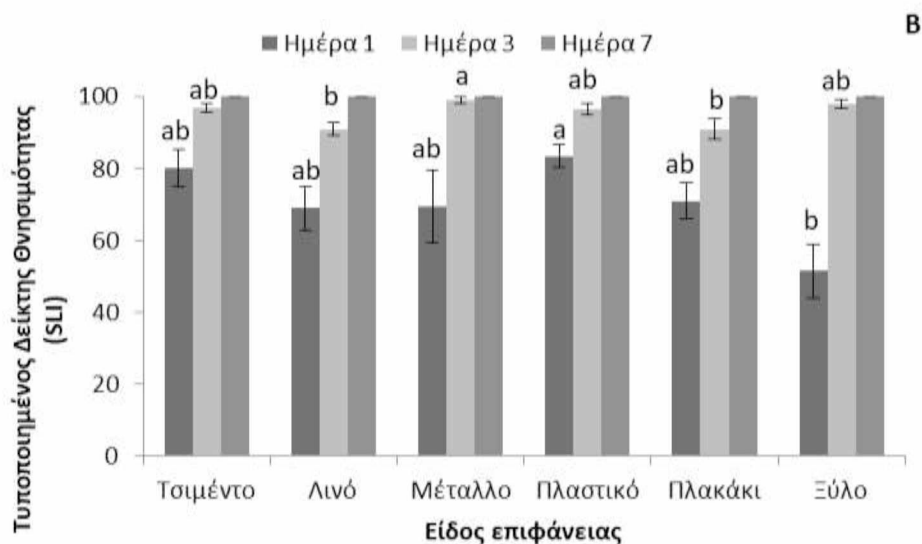
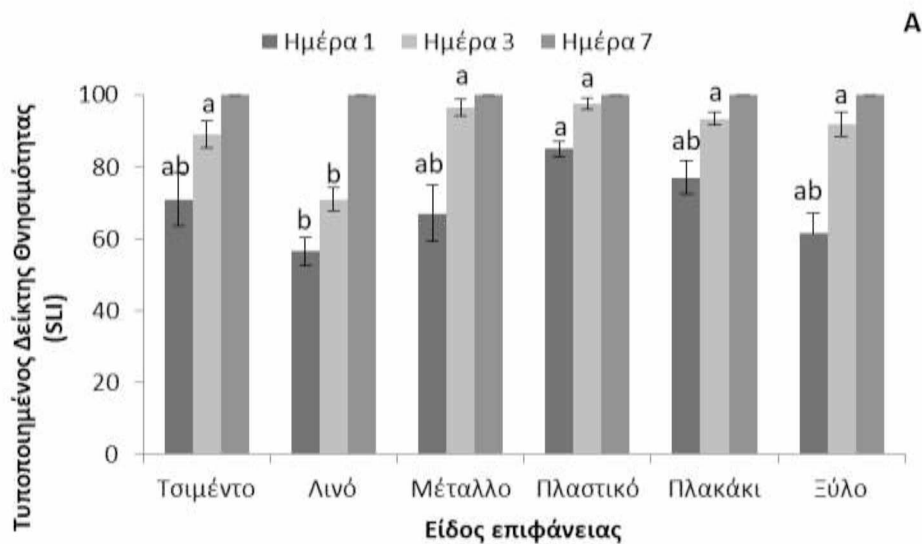
Στην περίπτωση του *S. granarius*, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στις επιφάνειες για τα ίδια διαστήματα έκθεσης, όπως και στην περίπτωση του *S. oryzae*, και

για τις δύο δόσεις. Στη χαμηλή δόση και μετά την έκθεση 1 ημέρας, οι τιμές του SLI των ακμαίων *S. granarius* ήταν 67, 71 και 73% για τις επιφάνειες από τσιμέντο, ξύλο και λινό αντίστοιχα, ενώ για τις άλλες τρεις το SLI ήταν πάνω από 90% (Γράφημα 2.7.4A). Η συνολική θνησιμότητα των ακμαίων επιτεύχθηκε, μετά από έκθεσή τους για 3 ημέρες, καθώς το SLI ήταν 100% για όλες τις επιφάνειες, εκτός από την επιφάνεια του ξύλου, όπου το SLI ήταν πάνω από 90%. Σε όλες τις επιφάνειες, μετά την επταήμερη έκθεση, η θνησιμότητα ήταν 100% (Γράφημα 2.7.4B).

2.7.3.3 *Oryzaephilus surinamensis* και *Cryptolestes ferrugineus*

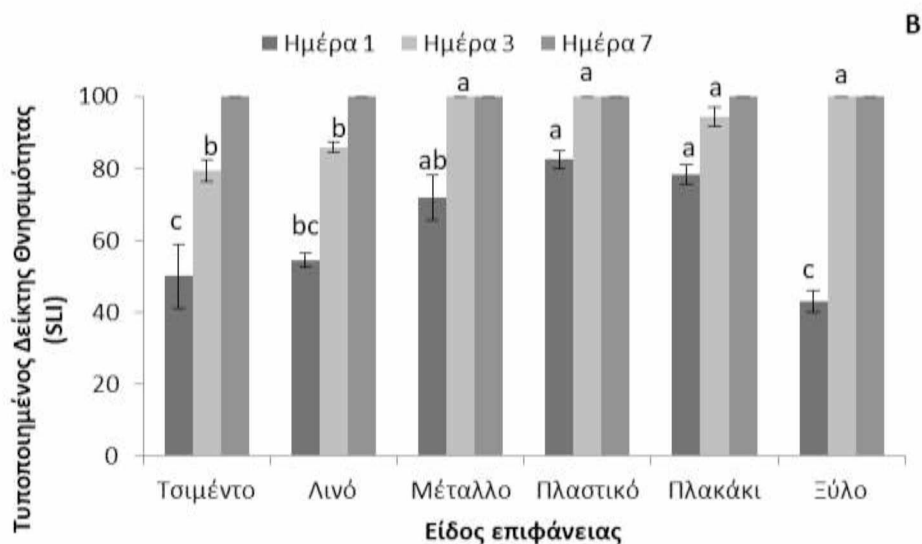
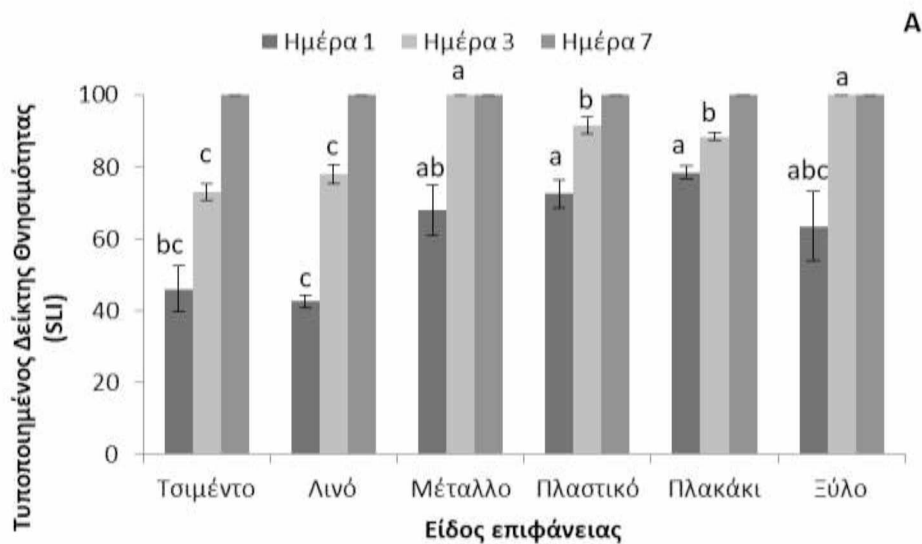
Από τις κύριες επιδράσεις, μόνο ο τύπος της επιφάνειας ήταν σημαντικός και για τα δύο είδη, ενώ η αλληλεπίδραση της δόσης με την επιφάνεια ήταν σημαντική μόνο για το *C. ferrugineus* (Πίνακας 2.7.1). Στην περίπτωση του *O. surinamensis*, μετά την έκθεσή του για 1 ημέρα στη χαμηλή δόση, οι χαμηλότερες τιμές SLI καταγράφηκαν στις επιφάνειες από λινό (56%) και οι υψηλότερες στις επιφάνειες από πλαστικό (85%). Για την ίδια δόση και μετά από 3 ημέρες έκθεσης, στις επιφάνειες από λινό παρατηρήθηκε η χαμηλότερη τιμή SLI (71%) σε σύγκριση με τις άλλες επιφάνειες. Μετά από 7 ημέρες έκθεσης, το SLI ήταν 100% σε όλες τις επιφάνειες (Γράφημα 2.7.5A). Στην υψηλή δόση και μετά από 1 ημέρα έκθεσης, το SLI κυμαινόταν μεταξύ 51 και 83%. Μετά από 3 ημέρες έκθεσης, το SLI κυμαινόταν μεταξύ 91 και 99%, ενώ μετά από έκθεση 7 ημερών παρατηρήθηκε ολική θνησιμότητα (Γράφημα 2.7.5B).

Για το *C. ferrugineus*, οι τιμές του SLI ήταν χαμηλότερες σε επιφάνειες από λινό, τσιμέντο και ξύλο συγκριτικά με τις τιμές του SLI στις άλλες επιφάνειες, αφού εκτέθηκε 1 ημέρα στη χαμηλή δόση thiamethoxam. Σε αυτό το διάστημα έκθεσης, το SLI κυμάνθηκε μεταξύ 42 και 78%. Κατά την έκθεση των ακμαίων για διάστημα 3 ημερών, το SLI ήταν σημαντικά χαμηλότερο σε επιφάνειες από λινό και τσιμέντο με 73 και 78% αντίστοιχα, σε σύγκριση με τις επιφάνειες από ξύλο και μέταλλο, όπου ο δείκτης ήταν 100%. Επιπλέον, 4 ημέρες αργότερα όλα τα ακμαία ήταν νεκρά σε όλες τις επιφάνειες (Γράφημα 2.7.6A).



Γράφημα 2.7.5: Μέσοι όροι τιμών του *S.L.I.* (% \pm T.Σ.) των ακμαίων του *Oryzaephilus surinamensis* σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm² (A) και 0.1 mg/cm² (B). Για κάθε ημέρα έκθεσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ απουσία γραμμάτων δείχνει απουσία στατιστικώς σημαντικής διαφοράς (Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

Στη χαμηλή δόση μετά από διάστημα έκθεσης 1 ημέρας οι τιμές του κυμαινόταν μεταξύ 43% (στο τσιμέντο) και 100% (στο πλαστικό και στο πλακάκι). Η τιμή του δείκτη ήταν 100% για επιφάνειες από ξύλο, πλαστικό και μέταλλο, μετά από 3 ημέρες έκθεσης. Τέλος, όλα τα ακμαία ελέγχθηκαν πλήρως μετά από 7 ημέρες έκθεσης (Γράφημα 2.7.6B).



Γράφημα 2.7.6: Μέσοι όροι τιμών του S.L.I. (% \pm T.Σ.) των ακμαίων του *Cryptolestes ferrugineus* σε όλες τις επιφάνειες με εφαρμογή σε δόσεις των 0.05 mg/cm² (A) και 0.1 mg/cm² (B). Για κάθε ημέρα έκθεσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ απουσία γραμμάτων δείχνει απουσία στατιστικώς σημαντικής διαφοράς (Tukey-Kramer HSD test σε 0.05)

2.7.4 Συζήτηση

Προφανώς, η ευαισθησία των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων, που εκτίθενται σε υπολείμματα εντομοκτόνων, ποικίλλει ανάλογα με το είδος του εντόμου και ανάλογα με τον τύπο της επιφάνειας (Toews, 2003; Arthur, 2012). Εξετάζοντας το thiamethoxam, διαπιστώσαμε ότι αυτή η δραστική ουσία ήταν γενικά λιγότερο αποτελεσματική στο τσιμέντο και πιο αποτελεσματική σε μεταλλικές επιφάνειες, αλλά αυτή η απόκριση ήταν διαφορετική ανάλογα με το είδος του εντόμου. Λαμβάνοντας υπόψη τα συνολικά

δεδομένα, διαπιστώσαμε υψηλότερη αποτελεσματικότητα κατά την εφαρμογή του στα είδη του *Sitophilus*, παρά για τα άλλα είδη εντόμων. Ως εκ τούτου, με βάση τα αναφερόμενα δεδομένα του SLI, η ταξινόμηση των εξεταζόμενων ειδών των εντόμων, από το πιο ευαίσθητο έως το λιγότερο ευαίσθητο είναι $S. granarius \geq S. oryzae > T. castaneum \geq O. surinamensis \geq C. ferrugineus \geq T. confusum$. Διαπιστώθηκε από ευρήματα της έρευνάς μας ότι τα κολεόπτερα αποθηκευμένων προϊόντων που είχαν εκτεθεί σε thiamethoxam ήταν σε θέση να ανακάμψουν, όταν οι εκθέσεις ήταν σύντομες, δηλαδή για λιγότερο από 24 ώρες. Επιπλέον, αυτό το εντομοκτόνο βρέθηκε να είναι πολύ αποτελεσματικό για τα *R. dominica* και *P. truncatus*, ενώ, μεταξύ των ειδών που δοκιμάστηκαν, το *O. surinamensis* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο. Ωστόσο, στην παραπάνω έρευνα οι συγγραφείς εξέτασαν την εφαρμογή του thiamethoxam σε σπόρους, και ως εκ τούτου, τα δεδομένα τους δεν είναι συγκρίσιμα με αυτά που αναφέρονται εδώ για τις επιφάνειες.

Τα στοιχεία που παρουσιάζονται εδώ δείχνουν ότι, για όλα τα είδη που εξετάστηκαν, η θνησιμότητα ήταν 100% μετά από 7 ημέρες έκθεσης, και στη συντριπτική πλειονότητα των περιπτώσεων, πάνω από το 70% των ακμαίων ήταν νεκρά μετά από 3 ημέρες, ακόμη και στη χαμηλότερη δόση. Αυτό δείχνει ότι το thiamethoxam είναι πολύ αποτελεσματικό για την αντιμετώπιση όλων των υπό εξέταση ειδών, παρά τις αποκλίσεις που υπήρχαν μεταξύ των διαφορετικών επιφανειών. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από τους Saglam et al. (2013) για την αποτελεσματικότητα του thiamethoxam σε επιφάνειες τσιμέντου για την αντιμετώπιση των ακμαίων και των προνυμφών του *T. confusum*, όπου παρά την υψηλή θνησιμότητα ακμαίων και προνυμφών, η παρουσία τροφής (αλεύρι) αύξησε την επιβίωση. Αντίθετα, σε ένα μείγμα του πυρεθροειδούς beta-cyfluthrin με ένα άλλο νεονικοτινοειδές, το imidacloprid, οι Athanassiou et al. (2013) σημείωσαν ότι τα *T. confusum* και *T. castaneum* ήταν λιγότερο ευαίσθητα από τους άλλους μεγάλους εχθρούς αποθηκευμένων προϊόντων, όπως το *O. surinamensis* και το *C. ferrugineus*. Οι Arthur et al. (2004), διαπίστωσαν ότι στον αραβόσιτο που ψεκάστηκε με thiamethoxam στα 0.5-4 ppm, το *T. castaneum* ήταν πολύ πιο ευαίσθητο, σε σχέση με τα *S. zeamais* και *S. oryzae*.

Υπάρχουν προηγούμενες μελέτες που έχουν εξετάσει την αποτελεσματικότητα του thiamethoxam σε επιφάνειες, αλλά όχι τόσο εκτεταμένα όσο εδώ, δηλαδή έξι διαφορετικά είδη εντόμων σε έξι διαφορετικές επιφάνειες. Οι Doganay et al. (2018) δοκίμασαν το thiamethoxam για την αντιμετώπιση της αποτελεσματικότητάς του στο *P. truncatus* σε διαφορετικές επιφάνειες και διαπίστωσαν ότι η θνησιμότητα ήταν υψηλότερη στην

επιφάνεια από πλαστικό και τσιμέντο, από ότι σε αυτή από λινό, αλλά σημειώθηκε σημαντική καθυστερημένη θνησιμότητα, όταν ακμαία αυτού του είδους απομακρύνθηκαν από το ψεκασμένο υπόστρωμα. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι, σε ορισμένους από τους συνδυασμούς που εξετάστηκαν, το thiamethoxam ήταν λιγότερο αποτελεσματικό στο λινό από ότι στις άλλες επιφάνειες. Υποθέτουμε ότι η επιφάνεια από λινό μπορεί να είχε απορροφήσει μόνο ένα μέρος του εντομοκτόνου, με τμήματα της επιφάνειάς του να αφεθούν χωρίς εφαρμογή (λόγω των μεγάλων οπών / κενών στην επιφάνεια του λινού), οπότε και τα έντομα εκτέθηκαν μερικώς. Δεδομένου ότι το λινό είναι ένας από τους κύριους τύπους υλικών ενσάκκισης για αποθήκευση σιτηρών σε πολλές χώρες, η εφαρμογή εντομοκτόνου στην εξωτερική επιφάνεια της συσκευασίας, μπορεί να αποτρέψει τη διείσδυση εντόμων, που εμφανίζονται στην εγκατάσταση μέσα σε αυτές. Στην έρευνα αυτή και στο πλαίσιο αυτό, υπάρχουν πολλές εργασίες που δείχνουν ότι οι εμποτισμένοι σάκοι, από πλαστικό ή δίχτυ, μπορούν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία για την προστασία διαφόρων τύπων αποθηκευμένων προϊόντων.

Οι Scheff et al. (2017) σημείωσαν ότι η έκθεση σε μάλλινα υφάσματα που υποβλήθηκαν σε επεξεργασία με methoprene, μείωσε τον βιολογικό κύκλο και την εκκόλαψη των ωών του *T. castaneum* και του *Trogoderma variabile* (Ballion) (Coleoptera: Dermestidae). Ομοίως, οι Rumbos et al. (2018) διαπίστωσαν ότι ένα δίχτυ με alpha-cypermethrin θα μπορούσε να προστατεύσει τον καπνό από την προσβολή εντόμων. Η μειωμένη αποτελεσματικότητα του thiamethoxam στο τσιμέντο, σε σύγκριση με τις άλλες επιφάνειες, όπως το μέταλλο, οφείλεται στις πορώδεις και αλκαλικές του ιδιότητες, γεγονός που έχει αναφερθεί και για πολλά άλλα εντομοκτόνα (Arthur, 1994, 1998c, 2012; Guedes et al. 2008; Gatidou and Iatrou, 2011; Arthur and Fontenot, 2012). Οι Vassilakos et al. (2014) διαπίστωσαν ότι το βακτηριακό εντομοκτόνο spinetoram ήταν πιο αποτελεσματικό στα ακμαία του *T. confusum*, όταν χρησιμοποιήθηκε σε μεταλλικές επιφάνειες σε σύγκριση με τις επιφάνειες από τσιμέντο, ξύλο και πλακάκι.

Οι Mosqueira et al. (2010) εργάστηκαν πάνω στην υπολειμματική αποτελεσματικότητα του εντομοκτόνου Inesfly 5A IGR TM σε διαφορετικές επιφάνειες, το οποίο είναι ένα μείγμα chlorpyrifos, diazinon και pyriproxyfen, και διαπίστωσαν ότι αυτή η σύνθεση ήταν λιγότερο αποτελεσματική σε πορώδεις επιφάνειες, σε σύγκριση με τις μη πορώδεις. Από την άλλη πλευρά, υπάρχουν περιπτώσεις, όπου τα εντομοκτόνα μπορούν να είναι πιο αποτελεσματικά στο τσιμέντο παρά σε άλλες επιφάνειες, ή μπορούν να παρέχουν μακροχρόνια προστασία (Towes et al., 2003; Arthur, 2008; Rumbos et al., 2018). Για

παράδειγμα, ο Arthur (2008) διαπίστωσε ότι η αντιμετώπιση δύο ειδών *Tribolium* (*T. castaneum* και *T. confusum*) με chlorfenapyr, έγινε γενικά με μεγαλύτερη επιτυχία στο τσιμέντο παρά σε επιφάνεια από ξύλο ή πλακάκι. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά του, φαίνεται ότι το chlorfenapyr είχε καλύτερη ικανότητα απορρόφησης στο πλακάκι και στο ξύλο συγκριτικά με το τσιμέντο. Σαν γενικός κανόνας, σύμφωνα με τον Arthur (2009, 2012), τα εντομοκτόνα που ψεκάζονται σε μη πορώδεις επιφάνειες (μέταλλο, πλακάκι ή γυαλί) έχουν μεγαλύτερη υπολειμματική αποτελεσματικότητα, συγκριτικά με αυτά που ψεκάζονται σε πορώδεις (τσιμέντο ή παρόμοιο υλικό) ή ημιπορώδεις (διάφορα είδη ξύλου) επιφάνειες, όπου έχουν μικρότερη ή και ελάχιστη αντίστοιχα.

Τα αποτελέσματά μας παρέχουν δεδομένα σχετικά με την εντομοκτόνο δράση του thiamethoxam για την αντιμετώπιση έξι σημαντικών εχθρών αποθηκευμένων προϊόντων. Εξηγήσαμε τις διαφορές μεταξύ των επιφανειών, αλλά τα συνολικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι αυτό το εντομοκτόνο ήταν αποτελεσματικό και μπορεί να προσφέρει επιτυχή αντιμετώπιση σε σχετικά μικρό διάστημα έκθεσης. Επιπλέον, το thiamethoxam παρουσίασε ένα αξιοσημείωτο επίπεδο άμεσης κατάρριψης, υποδηλώνοντας ότι τα εκτεθειμένα έντομα είναι ακινητοποιημένα και τελικά πεθαίνουν. Σε αυτήν την περίπτωση, τα δεδομένα μας δείχνουν ότι η άμεση κατάρριψη είναι ένας καλός δείκτης πρόβλεψης της θνησιμότητας. Λαμβάνοντας υπόψη την ανάπτυξη ανθεκτικότητας διαφορετικών ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων σε πολλά από τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα εντομοκτόνα επαφής, το thiamethoxam μπορεί να αξιολογηθεί περαιτέρω ως «resistance breaker», δεδομένου ότι ο τρόπος δράσης του διαφέρει ουσιαστικά από αυτόν των οργανοφωσφορικών και των πυρεθροειδών. Επιπλέον, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι σε παρόμοιες συγκεντρώσεις, αυτή η δραστική ουσία μπορεί να είναι εξίσου αποτελεσματική με άλλα εντομοκτόνα, που χρησιμοποιούνται σε επιφάνειες για την προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων.

2.8. Ανακεφαλαίωση, Συμπεράσματα, Εφαρμογές

Στην εργασία αυτή, όπως γίνεται κατανοητό, δεν εξαντλήθηκαν οι δυνατότητες μελέτης των βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων, που μπορεί κανείς να λάβει υπόψη του στην κατάρτιση προγραμμάτων αντιμετώπισης των κυριότερων εντόμων-εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων με τη δραστική ουσία thiamethoxam. Παρ' όλα αυτά, από τη συνολική μας έρευνα μέσω των πειραματικών ενοτήτων που προηγήθηκαν, συνεπάγεται ότι το thiamethoxam θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για τον ανωτέρω σκοπό. Ωστόσο, η κατάρτιση των προγραμμάτων αυτών θα πρέπει να γίνει με γνώμονα τη μικρότερη δυνατή επιβάρυνση του αποθηκευμένου προϊόντος και του περιβάλλοντος.

Το thiamethoxam κρίθηκε αποτελεσματικό σε όλα τα είδη κολεοπτέρων που εξετάστηκαν, παρέχοντας υψηλά επίπεδα γονικής θνησιμότητας, καθώς επίσης και καταστολή στην παραγωγή απογόνων, ειδικά μετά από 14 ημέρες έκθεσης. Η σχετική ευαισθησία στο thiamethoxam για τα επτά είδη εντόμων που εξετάστηκαν, σε μια σειρά από το πιο ευαίσθητο στο λιγότερο, μπορεί να αναπαρασταθεί ως εξής: *P. truncatus* \geq *R. dominica* \geq *S. oryzae* > *S. granarius* > *O. Surinamensis* > *T. confusum* > *C. ferrugineus*.

Διαπιστώθηκε ότι τα κολεόπτερα αποθηκευμένων προϊόντων που έχουν εκτεθεί σε thiamethoxam ήταν σε θέση να ανακάμψουν, εάν η έκθεσή τους ήταν σύντομη, δηλαδή λιγότερο από 24 ώρες. Επιπλέον, αυτό το εντομοκτόνο βρέθηκε να είναι πολύ αποτελεσματικό για τα *R. dominica* και *P. truncatus*, ενώ, μεταξύ των ειδών που εξετάστηκαν, το *O. surinamensis* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο. Η μειωμένη ευαισθησία ορισμένων ειδών στο thiamethoxam, όπως τα *O. surinamensis*, *T. confusum* ή *C. ferrugineus*, με βάση τα αποτελέσματα της τρέχουσας μελέτης, είναι ένα ζήτημα που πρέπει να ληφθεί υπόψη, καθώς αυτό το εντομοκτόνο έδωσε καλύτερη απόδοση στα πρωτεύοντα έντομα, που αναπτύσσονται στο εσωτερικό τμήμα του σπόρου. Για τα Bostrychidae, η παρουσία εντομοκτόνου στο εξωτερικό μέρος του σπόρου μπορεί, εκτός από την αυξημένη γονική θνησιμότητα, να επηρεάσει αρνητικά την εκκόλαψη των ωών και τις πρόσφατα εκκολαφθείσες προνύμφες. Στην περίπτωση των δευτερευόντων ειδών εντόμων, αναμένεται ότι η θνησιμότητα των προνυμφών θα ήταν υψηλότερη από εκείνη των ακμαίων, δεδομένου ότι οι προνύμφες κινούνται στο εξωτερικό μέρος του σπόρου ή και σε

επιφάνειες και συνεπώς μπορεί να επηρεαστούν πιο έντονα. Με βάση τις μετρήσεις της άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας, τα είδη που δοκιμάστηκαν, από το περισσότερο έως το λιγότερο ευαίσθητο στις σύντομες εκθέσεις στο thiamethoxam, μπορεί να κατηγοριοποιηθούν ως εξής: *P. truncatus*>*T. confusum*>*R. dominica*>*S. oryzae*>*O. surinamensis*.

Αξιολογήθηκε το thiamethoxam για την αποτελεσματικότητά του, κατά την εφαρμογή του με άνιση κατανομή, σε δύο είδη δημητριακού (σκληρό σιτάρι και ρύζι), στην αντιμετώπιση των *R. dominica* και *S. oryzae*. Ο σκοπός των βιοδοκιμών ήταν η αξιολόγηση της μερικής εφαρμογής του εντομοκτόνου στο δημητριακό, όπως επίσης και η ελάχιστη απαιτούμενη ποσότητα που χρειάζεται να εφαρμοστεί το εντομοκτόνο στο προϊόν, ώστε να διασφαλιστεί η αποτελεσματικότητά του. Ανεξάρτητα από τη δόση του εντομοκτόνου που χρησιμοποιήθηκε, η θνησιμότητα των ακμαίων αυξήθηκε με την αύξηση, τόσο της ποσοστιαίας αναλογίας του ψεκασμένου σπόρου, όσο και με το χρόνο έκθεσης. Γενικά, το *R. dominica* αποδείχθηκε να είναι πιο ευαίσθητο συγκριτικά με το *S. oryzae*. Στο ρύζι, η θνησιμότητα των ακμαίων και στα δύο είδη, ήταν χαμηλότερη από ότι στο σιτάρι, ειδικά στο 1 ppm, ανεξάρτητα από την ποσοστιαία αναλογία εφαρμογής. Η αύξηση του ποσοστού της εφαρμογής με thiamethoxam στη μάζα των σπόρων είχε σαν αποτέλεσμα τη μείωση της παραγωγής απογόνων και στα δύο δημητριακά.

Η εφαρμογή του thiamethoxam με άνιση κατανομή αξιολογήθηκε περαιτέρω για την αποτελεσματικότητά του σε σκληρό σιτάρι για την αντιμετώπιση των *R. dominica* και *S. oryzae*. Η άνιση κατανομή έγινε πραγματοποιώντας στρώσεις ψεκασμένου δημητριακού με το εντομοκτόνο, με τέτοιο τρόπο ώστε να γίνει η δημιουργία κατηγοριών ανάλογα με την ποσότητα της στρώσης του ψεκασμένου δημητριακού με thiamethoxam, τον ψεκασμό του ανώτερου ή κατώτερου τμήματος του δημητριακού και του τρόπου εισαγωγής των εντόμων (πριν ή μετά την εισαγωγή του δημητριακού). Γενικά, η θνησιμότητα και των δύο εντόμων μειώθηκε με το μέγεθος της ψεκασμένης στρώσης. Η ευαισθησία των *R. dominica* και *S. oryzae* ήταν σχεδόν η ίδια σε όλες τις εφαρμογές, ενώ η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη όταν τα εκτεθειμένα ακμαία των *R. dominica* και *S. oryzae* είχαν τοποθετηθεί πριν την εισαγωγή του δημητριακού. Η άνιση κατανομή του thiamethoxam σε στρώσεις του δημητριακού αποδείχθηκε αρκετά αποτελεσματική για την αντιμετώπιση και των δύο ειδών.

Η μελέτη μας έδειξε επίσης ότι, η αύξηση της θερμοκρασίας από 20 σε 25 και 30°C αύξησε τη θνησιμότητα σε όλα τα είδη εντόμων, ιδιαίτερα στη χαμηλότερη συγκέντρωση. Η θνησιμότητα των ακμαίων όλων των ειδών επηρεάστηκε από τις αλλαγές στη θερμοκρασία (αύξηση της θνησιμότητας με αύξηση της θερμοκρασίας) σε όλες τις δόσεις του εντομοκτόνου και για όλα τα διαστήματα έκθεσης, ενώ οι αλλαγές της σχετικής υγρασίας επηρέασε κυρίως τη θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica* σε ορισμένες συγκεντρώσεις και χρονικά διαστήματα έκθεσης. Τα αποτελέσματά μας για την παραγωγή απογόνων έδειξαν ότι στη χαμηλή δόση, με την αύξηση της θερμοκρασίας, η παραγωγή απογόνων αυξήθηκε, ενώ στις υψηλότερες δόσεις δεν παρατηρήθηκαν ακμαία, για τους περισσότερους από τους συνδυασμούς που εξετάστηκαν. Αυτό είναι προφανές, καθώς ο βιολογικός κύκλος των ειδών που εξετάστηκαν ήταν ταχύτερος και η αντίστοιχη γονιμότητα αυξήθηκε στις υψηλές θερμοκρασίες (Kumawat, 2007). Η περίοδος επώασης που έχει χρησιμοποιηθεί εδώ (65 ημέρες μετά την απομάκρυνση των γονέων) θεωρείται αρκετά μεγάλη για να ολοκληρώσουν τα τρία είδη κολεοπτέρων τουλάχιστον μία γενεά (Athanassiou et al., 2008). Όπως είχε προβλεφθεί, η παραγωγή απογόνων για το *T. confusum* ήταν αμελητέα και καταγράφηκε μόνο στα φιαλίδια του μάρτυρα. Λαμβάνοντας υπόψη τους πρόσφατους κανονιστικούς περιορισμούς σχετικά με τη χρήση των νεονικοτινοειδών, συμπεριλαμβανομένου και του thiamethoxam, σε καλλιέργειες και οπωρώνες (δηλ. διαταραχή μελισσών με κατάρρευση αποικίας), η μελέτη μας έδειξε ότι αυτό το δραστικό συστατικό μπορεί να είναι ένα αποτελεσματικό εντομοκτόνο, που μπορεί να χρησιμοποιηθεί περαιτέρω ως προστατευτικό σπόρων, στα μετασυλλεκτικά στάδια των ανθεκτικών γεωργικών προϊόντων σε εγκαταστάσεις τροφίμων και μεταποίησης. Επιπλέον, το thiamethoxam βρέθηκε αποτελεσματικό σε συγκεντρώσεις που είναι συγκρίσιμες με άλλα προστατευτικά σπόρων και μπορεί να αξιολογηθεί περαιτέρω για το σκοπό αυτό, ειδικά σε βασικά σενάρια εφαρμογής, όπως σε πληθυσμούς που είναι ανθεκτικοί σε «παραδοσιακά» εντομοκτόνα, όπως τα πυρεθροειδή και η φωσφίνη.

Εξετάζοντας το thiamethoxam, διαπιστώσαμε ότι αυτή η δραστική ουσία ήταν γενικά λιγότερο αποτελεσματική στο τσιμέντο και πιο αποτελεσματική σε μεταλλικές επιφάνειες, αλλά αυτή η απόκριση ήταν διαφορετική ανάλογα με το είδος του εντόμου. Λαμβάνοντας υπόψη τα συνολικά δεδομένα, διαπιστώσαμε υψηλότερη αποτελεσματικότητα κατά την εφαρμογή του στα είδη του γένους *Sitophilus*, παρά

για τα άλλα είδη εντόμων. Ως εκ τούτου, με βάση τα αναφερόμενα δεδομένα του SLI, η ταξινόμηση των εξεταζόμενων ειδών των εντόμων, από το πιο ευαίσθητο έως τα λιγότερο ευαίσθητο είναι $S. granarius \geq S. oryzae > T. castaneum \geq O. surinamensis \geq C. ferrugineus \geq T. confusum$. Τα στοιχεία που παρουσιάζονται εδώ δείχνουν ότι, για όλα τα είδη που εξετάστηκαν, η θνησιμότητα ήταν 100% μετά από 7 ημέρες έκθεσης, και στη συντριπτική πλειονότητα των περιπτώσεων, πάνω από το 70% των ακμαίων ήταν νεκρά μετά από 3 ημέρες, ακόμη και στη χαμηλότερη δόση. Αυτό δείχνει ότι το thiamethoxam είναι πολύ αποτελεσματικό για την αντιμετώπιση όλων των υπό εξέταση ειδών, παρά τις αποκλίσεις που υπήρχαν μεταξύ των διαφορετικών επιφανειών. αλλά τα συνολικά δεδομένα υποδηλώνουν ότι αυτό το εντομοκτόνο ήταν αποτελεσματικό και μπορεί να προσφέρει επιτυχή έλεγχο σε σχετικά μικρό διάστημα έκθεσης. Επιπλέον, το thiamethoxam παρουσίασε ένα αξιοσημείωτο επίπεδο άμεσης κατάρριψης, υποδηλώνοντας ότι τα εκτεθειμένα έντομα είναι ακινητοποιημένα και τελικά πεθαίνουν. Σε αυτήν την περίπτωση, τα δεδομένα μας δείχνουν ότι η άμεση κατάρριψη είναι ένας καλός δείκτης θνησιμότητας και, τουλάχιστον στα πειραματικά πρωτόκολλα που εφαρμόστηκαν εδώ, οδηγεί περισσότερο σε θνησιμότητα παρά σε ανάνηψη των εντόμων αποθηκών.

Υπάρχει η ιδιαιτερότητα, ότι ενώ το thiamethoxam είναι σχετικά νέο εντομοκτόνο, έχει από την Ε.Ε. πλήρη απαγόρευση για εξωτερική χρήση του, έτσι ώστε να προστατευθούν οι επικονιαστές. Μετά την απόσυρση του thiamethoxam από ορισμένες χρήσεις στις οποίες κυριαρχούσε αυτό το εντομοκτόνο στο πρόσφατο παρελθόν, όπως η επικάλυψη σπόρων, φαίνεται ότι η χρήση αυτού του εντομοκτόνου πρέπει να ακολουθήσει διαφορετική κατεύθυνση. Λαμβάνοντας υπόψη την αποτελεσματικότητά του για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, στην έρευνά μας παρέχονται δεδομένα που δείχνουν ότι αυτή η δραστική ουσία μπορεί να αξιολογηθεί περαιτέρω ως προστατευτικό σπόρων και να χρησιμεύσει ως βιώσιμη αντικατάσταση των παραδοσιακών δραστικών, ενδεχομένως σε ένα πρόγραμμα διαχείρισης της ανθεκτικότητας. Ταυτόχρονα, διαπιστώσαμε ότι το thiamethoxam μπορεί να είναι αποτελεσματικό σε συγκεντρώσεις που είναι συγκρίσιμες με αυτές των πιο συχνά χρησιμοποιούμενων προστατευτικών σπόρων ακόμα και σε επιφάνειες για την προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων. Οι αγρότες είναι σε αναμονή νέων δεδομένων για την επανακυκλοφορία ή μη του thiamethoxam και επιπλέον δεδομένου του ότι η δραστική αυτή πλέον κυκλοφορεί

από διάφορες εταιρείες (από τον Ιούλιο του 2013), έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία ιδιαίτερου ενδιαφέροντος.

2.9. Προοπτικές Νέας Έρευνας

Η ραγδαία ανάπτυξη της γεωργίας είναι συνυφασμένη με τη χρήση των εντομοκτόνων, που ναι μεν είναι πολύ διαδεδομένη, αλλά πολλές φορές είναι αλόγιστη. Παρόλο το γεγονός ότι τα εντομοκτόνα σκευάσματα έχουν επιφέρει πραγματικά τεράστια οφέλη στη Δημόσια Υγεία και στην παγκόσμια οικονομία, καθώς και στην ασφάλεια των τροφίμων, η χρήση τους έχει προκαλέσει πολλά προβλήματα, όπως είναι τα υπολείμμά τους στα τρόφιμα, η ρύπανση του εδάφους, των νερών και της σχετικής χλωρίδας, η ανθεκτικότητα των εντόμων σε αυτά κ.α. Με βάση την υφιστάμενη κατάσταση και των προβλημάτων που αναφέρθηκαν σε υπάρχουσες δραστικές ουσίες, η ανάγκη που προκύπτει για την χρήση νέων δραστικών ουσιών για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκών είναι επιτακτική και ύψιστης σημασίας. Όμως για κάθε εντομοκτόνο θα πρέπει να γίνεται μια εκτενής αξιολόγηση τόσο στην αποτελεσματικότητά του, όσο και στην επίδραση που μπορεί να έχει σε οργανισμούς μη-στόχους, καθώς και στο περιβάλλον, συμπεριλαμβανομένου σαφώς και του αστικού και περιαστικού περιβάλλοντος, και της βιομηχανίας τροφίμων.

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή έγινε εκτεταμένη αξιολόγηση του thiamethoxam για την αποτελεσματικότητά του κατά των κυριότερων κολεοπτέρων εντόμων αποθηκών, συνεκτιμώντας ορισμένους βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες. Περαιτέρω έρευνα για το thiamethoxam στην αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκών θα μπορούσε να γίνει στα παρακάτω πεδία με θέματα που θα πρέπει να διερευνηθούν διεξοδικά είναι:

- ❖ Στην αποτελεσματικότητα του thiamethoxam όσον αφορά την αντιμετώπιση ειδών των λεπιδοπτέρων εντόμων αποθηκών της οικογένειας Pyralidae, όπως τα *Plodia interpunctella* και *Ephestia* spp., καθώς και ειδών της τάξης των Psocoptera.
- ❖ Στην αξιολόγηση της υπολειμματικής δράσης και της αποτελεσματικότητας του thiamethoxam για την αντιμετώπιση ειδών των κολεοπτέρων και λεπιδοπτέρων εντόμων αποθηκών, σε μεγάλα διαστήματα αποθήκευσης.

- ❖ Στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του thiamethoxam για την αντιμετώπιση ειδών των κολεοπτέρων και λεπιδοπτέρων εντόμων αποθηκών από την επίδραση του είδους του δημητριακού που προσβάλλουν
- ❖ Στην αποτελεσματικότητα του thiamethoxam σε πραγματικές συνθήκες πλέον, που επικρατούν στους χώρους αποθήκευσης και στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων. Θα μπορούσε για παράδειγμα να εξεταστούν και να αξιολογηθούν διάφορες παράμετροι εφαρμογής του, όπως το μέγεθος της σταγόνας, η πίεση κατά τον ψεκασμό κτλ.
- ❖ Στην αξιολόγηση της παρουσίας και της διάρκειας υπολειμμάτων του thiamethoxam σε επιφάνειες και σε επεξεργασμένα τρόφιμα, που προήλθαν από πρώτες ύλες, στις οποίες είχε γίνει εφαρμογή του εντομοκτόνου.
- ❖ Στην αποτελεσματικότητα της δυνατότητας ταυτόχρονης χρήσης του thiamethoxam με άλλα εντομοκτόνα, για έντομα, τα οποία αντιμετωπίζονται δύσκολα με τη μεμονωμένη χρήση του εντομοκτόνου αυτού.
- ❖ Στη διερεύνηση της δυνατότητας χρήσης του thiamethoxam σε έντομα αποθηκών, που είναι ανθεκτικά σε άλλες δραστικές ουσίες, όπως η φωσφίνη, με σκοπό την ενσωμάτωσή του σε μια στρατηγική διαχείρισης της ανθεκτικότητας με εναλλαγή δραστικών.
- ❖ Στη διενέργεια πειραμάτων για την ακριβή εκτίμηση της επικινδυνότητας ανάπτυξης ανθεκτικότητας των πληθυσμών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων στο thiamethoxam.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abbott, W.S., 1925.** A Method of Computing the Effectiveness of an Insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18, 265-267.
- Agrafioti, P., Athanassiou, C., Vassilakos, T., Vlontzos, G., Arthur, F.H., 2015.** Using a Lethality Index to assess susceptibility of *Tribolium confusum* and *Oryzaephilus surinamensis* to insecticides. *PLoS ONE* 10, e014204.
- Agrafioti, P., Kaloudis, E., Bantas, S., Sotiroudas, V., Athanassiou, C.G., 2020.** Modeling the distribution of phosphine and insect mortality in cylindrical grain silos with Computational Fluid Dynamics: Validation with field trials. *Computers and Electronics in Agriculture* 173, 105383.
- Agrafioti, P., Brabec, D.L., Morrison III, W.R., Campbell, J.F., Athanassiou C.G., 2021.** Scaling recovery of susceptible and resistant stored product insects after short exposures to phosphine by using automated video-tracking software. *Pest Management Science* 77, 1245–1255.
- Aitken, A.D., 1975.** *Insect Travelers, I: Coleoptera*, Technical Bulletin 31. H.M.S.O. London, United Kingdom.
- Aliouane, Y., El Hassani, A.K., Gary, V., Armengaud, C., Lambin, M., Gauthier, M., 2009.** Subchronic exposure of honeybees to sublethal doses of pesticides: effects on behavior. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28, 113-122.
- Alyokhin A, Dively G, Patterson, M., et al., 2007.** Resistance and cross-resistance to imidacloprid and thiamethoxam in the Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest Management Science* 63, 32-41.
- Alzogaray, R.A., Picollo, M.I., Zerba, E.N., 1998.** Independent and joint action of cis- and trans-permethrin in *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 37, 225–230.
- Amarasekare, K.G., Edelson, J.V., 2004.** Effect of temperature on efficacy of insecticides to differential grasshopper (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Economic Entomology* 97, 1595–1602.

Amos, T.G., Williams, P., Minett, W., 1976. Non-uniform application of grain protectants in commercial storages. *Journal of Stored Product Research* 12, 344-349.

Anderson, T., Forlin, L., 1992. Regulation of the cytochrome - P450 enzyme - system in fish. *Aquatic Toxicology* 24, 1-19.

Anderson, J.C., Dubetz. C., Palace. V.P., 2015. Neonicotinoids in the Canadian aquatic environment: A literature review on current use products with a focus on fate, exposure, and biological effects. *Science of the Total Environment* 505, 409–422.

Annis, P.C., 2016. Stored Grain Invertebrate Pests. Reference Module in Food Science. Elsevier.

Arbogast, R.T., 1991. Beetles: Coleoptera. In: Gorham, J.R. (Ed), *Ecology and management of food-industry pests*. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, pp. 131–150.

Arbogast, R.T., Throne, J.E., 1997. Insect infestation of farm-stored maize in South Carolina: towards characterization of a habitat. *Journal of Stored Products Research* 33, 187-198.

Arthur, F.H., 1992. Efficacy of chlorpyrifos-methyl for control of maize weevils (Coleoptera, Curculionidae) and red flour beetles (Tenebrionidae) in mixtures of treated and untreated corn. *Journal of Economic Entomology* 85, 554–560.

Arthur, F.H., 1994. Residual efficacy of cyfluthrin emulsifiable concentrate and wettable powder formulations on porous concrete and on concrete sealed with commercial products prior to insecticide application. *Journal of Stored Products Research* 30, 79–86.

Arthur, F.H., 1995. Efficacy of three insecticides to control insect pests of stored seed corn. *Journal of Agricultural Entomology* 12, 45-53.

Arthur, F.H., 1996. Grain protectants: current status and prospects for the future. *Journal of Stored Products Research* 32, 293-302.

Arthur, F.H., 1997. Differential effectiveness of deltamethrin dust on plywood, concrete, and tile surfaces against three stored-product beetles. *Journal of Stored Products Research* 33, 167-173.

- Arthur, F.H., 1998a.** Residual studies with cyfluthrin wettable powder: toxicity toward red flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) exposed for short intervals on treated concrete. *Journal of Economic Entomology* 91, 309-319.
- Arthur, F.H., 1998b.** Residual toxicity of cyfluthrin wettable powder against *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) exposed for short time intervals on concrete. *Journal of Stored Products Research* 34, 19-25.
- Arthur, F.H., 1998c.** Effects of a food source on red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) survival after exposure on concrete treated with cyfluthrin. *Journal of Economic Entomology* 91, 773–778.
- Arthur, F.H., 1999a.** Survival of red flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) on concrete partially treated with cyfluthrin. *Journal of Economic Entomology* 92, 982-987.
- Arthur, F.H., 1999b.** Effect of temperature on residual toxicity of cyfluthrin wettable powder. *Journal of Economic Entomology* 92, 695-699.
- Arthur, F.H., 2000.** Toxicity of diatomaceous earth to red flour beetles and confused flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae): Effects of temperature and relative humidity. *Journal of Economic Entomology* 93, 526-532.
- Arthur, F.H., 2008.** Efficacy of chlorfenapyr against *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults exposed on concrete, vinyl tile, and plywood surfaces. *Journal of Stored Products Research* 44, 145–151.
- Arthur, F.H., 2009.** Efficacy of chlorfenapyr against adult *Tribolium castaneum* exposed on concrete: effects of exposure interval, concentration and the presence of a food source after exposure. *Insect Science* 16, 157–163.
- Arthur, F.H., 2012.** Aerosols and contact insecticides as alternatives to methyl bromide in flour mills, food production facilities, and food warehouses. *Journal of Pest Science* 85, 323-329.
- Arthur, F.H., 2019.** Residual efficacy of a deltamethrin emulsifiable concentrate formulation against *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Sitotroga cerealella* (Oliver) after partial treatment of brown rice. *Insects* 10, 1-9.

Arthur, F.H., Zettler, J.L., 1991. Malathion resistance in *Tribolium castaneum*: differences between mortality caused by topical application and residues on treated surfaces. *Journal of Economic Entomology* 84, 721–726.

Arthur, F.H., Zettler, J.L., 1992. Malathion resistance in *Tribolium confusum* Duv. (Coleoptera: Tenebrionidae): correlating results from topical applications with residual mortality on treated surfaces. *Journal of Stored Products Research* 28, 55-58.

Arthur, F.H., Fontenot, E. A., 2012. Residual activity of methoprene and novaluron as surface treatments to manage the flour beetles, *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum*. *Journal of Insect Science* 12, 1–11.

Arthur, F.H., Throne, J.E., Simonaitis, R.A., 1992. Degradation and biological efficacy of chlorpyrifos-methyl on wheat stored at five temperatures and three moisture contents. *Journal of Economic Entomology* 85, 1994-2002.

Arthur, F.H., Yue, B., Wilde, G.E, 2004. Susceptibility of stored-product beetles on wheat and maize treated with thiamethoxam: effects of concentration, exposure interval, and temperature. *Journal of Stored Product Research* 40, 527–546.

Arthur, F.H., Campbell, J.F., Toews, M.D., 2014. Distribution, abundance, and seasonal patterns of stored-product beetles in a commercial food storage facility. *Journal of Stored Products Research* 56, 21-32.

Athanassiou, C.G., Buchelos, C.T., 2001. Detection of stored-wheat beetle species and estimation of population density using unbaited probe traps and grain trier samples. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98, 67–78.

Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., 2018. Recent advances in stored product protection. Springer-Verlag GmbH, Germany.

Athanassiou, C.G., Buchelos, C.T., 2020. Grain properties and insect distribution trends in silos of wheat. *Journal of Stored Products Research* 88, 101632.

Athanassiou, C.G., Papagregoriou, A.S., Buchelos, C.T., 2004. Insecticidal and residual effect of three pyrethroids against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) on stored wheat. *Journal of Stored Products Research* 40, 289–297.

Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., Throne, J.E., 2009. Efficacy of spinosad in layer-treated wheat against five stored-product insect species. *Journal of Stored Product Research* 45, 236–240.

Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., Throne, J.E., 2010. Effects of short exposures to spinosad-treated wheat or maize on four stored-grain insects. *Journal of Economic Entomology* 103, 197-202.

Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., Throne, J.E., 2011. Efficacy of layer treatment with methoprene for control of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) on wheat, rice and maize. *Pest Management Science* 67, 380-384.

Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Palyvos, N.E., Buchelos, C.T., 2003. Three-dimensional distribution and sampling indices of insects and mites in horizontally-stored wheat. *Applied Entomology and Zoology* 38, 413–426.

Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Yiatilis, A.E., Vayias, B.J., Mavrotas, C.S., Tomanović, Z., 2008. Influence of temperature and humidity on the efficacy of spinosad against four stored-grain beetle species. *Journal of Insect Science* 8, 1-9.

Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., Kavallieratos, N.G., Throne, J.E., 2011. Efficacy of spinosad and methoprene, applied alone or in combination, against six stored-product insect species. *Journal of Pest Science* 84, 61-67.

Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Arthur, F.H., Throne, J.E., 2013. Efficacy of a combination of beta-cyfluthrin and imidacloprid and beta-cyfluthrin alone for control of stored-product insects on concrete. *Journal of Economic Entomology* 106, 1064–1070.

Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Arthur, F.H., Throne, J.E., 2014. Residual efficacy of chlorfenapyr for control of stored-product psocids (Psocoptera). *Journal of Economic Entomology* 107, 854–859.

Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Throne, J.E., Nakas C.T., 2014. Competition among species of stored product psocids (Psocoptera) in stored grains. *PlosONE* 9, e102867.

- Athanassiou, C.G, Kavallieratos, N.G., Boukouvala, M.C., Mavroforos, M.E., Kontodimas, D.C., 2015.** Efficacy of alpha-cypermethrin and thiamethoxam against *Trogoderma granarium* Everts (Coleoptera: Dermestidae) and *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae) on concrete. *Journal of Stored Products Research* 62, 101-107.
- Baldwin, R., Fasulo, T.R., 2010.** Confused flour beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val, and red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst). Featured Creatures. http://entnemdept.ifas.ufl.edu/creatures/urban/beetles/red_flour_beetle.htm (last accessed: 22.03.2021).
- Baliota, G., Rumbos, C.I., Athanassiou C.G., 2018.** From lethality to mortality: investigating the “grey area” of knockdown as an efficacy indicator of different insecticides against major storage insects using a lethality index. *Journal of Pest Science* 91, 1371-1380.
- Baoua, I.B., Amadou, L., Margam, V., Murdock, L.L., 2012.** Comparative evaluation of six storage methods for postharvest preservation of cowpea grain. *Journal of Stored Products Research* 49, 71-175.
- Barnes, J.K., 2002.** Sawtoothed grain beetle. *Arthropod Museum Notes* No.7. University of Arkansas Division of Agriculture Department of Entomology.
- Bass, C., Denholm, I., Williamson, M.S., Nauen, R., 2015.** The global status of insect resistance to neonicotinoid insecticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 121, 78–87.
- Batey, I., 2017.** The Diversity of Uses for Cereal Grains. In: Wrigley, C., Batey, I., Miskelly, D. (Ed.), *Cereal Grains: Assessing and managing quality* (Second Edition). Woodhead Publishing in food science, technology, and nutrition. Duxford. Cambridge, MA, Kidlington, pp. 41-53.
- Batta, Y.A., Kavallieratos, N.G., 2017.** The use of entomopathogenic fungi for the control of stored-grain insects. *International Journal of Pest Management* 64, 77–87.
- Becker, H., Vogel, W., Terrier, C., 1988.** Embryotoxicity study (including teratogenicity) with NTN 33893 technical in the rabbit. Unpublished report from

Research & Consulting Company AG, report No.R 4583, dated 24 November 1988, GLP. Submitted to WHO by Bayer AG, Mannheim, Germany.

Bell, R.J., Watters, F.L., 1982. Environmental factors influencing the development and rate of increase of *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) on stored maize. *Journal of Stored Products Research* 18, 131–142.

Bertke, E.M., 1964. The effect of ingestion of diatomaceous earth in white rats, a subacute toxicity test., *Toxicology and Applied Pharmacology* 6, 284-91.

Biondi, A., Zappalà, L., Stark, J.D., Desneux, N., 2013. Do biopesticides affect the demographic traits of a parasitoid wasp and its biocontrol services through sublethal effects? *PLoSOne* 8, e76548.

Birch, L.C., 1945a. The mortality of the immature stages of *Calandra oryzae* L. (small strain) and *Rhizopertha dominica* Fab. in wheat of different moisture contents. *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science* 23, 141–145.

Birch, L.C., 1945b. The influence of temperature on the development of the different stages of *Calandra oryzae* L. and *Rhizopertha dominica* Fab. (Coleoptera). *Australian Journal of Experimental Biology and Medical Science* 23, 29–35.

Boina, D.R., Onagbola, E.O., Salyani, M., Stelinski, L.L., 2009. Influence of posttreatment temperature on the toxicity of insecticides against *Diaphorina citri* (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology* 102, 685–691.

Bortolotti, L., Sabatini, A.G., Mutinelli, F., Astuti, M., Lavazza, A., Piro, R., Tesoriero, D., Medrzycki, P., Sgolastra, F., Porrini, C., 2009. Spring honey bee losses in Italy. In: Oomen, P.A., Thompson, H.M. (Eds), *Hazards of pesticides to bees 10th International Symposium of the ICP-BR Protection Group*, 8-10 October 2008, Bucharest, Romania, pp. 148-152.

Bowers, W.S., 1971. Juvenile hormone. In: Jacobson, M., Crosby, D.G. (Ed.), *Naturally occurring insecticides*. Marcel Dekker, New York, pp. 307-332.

Boxall, R.A., 2001. Post-harvest losses to insects—a world overview. *International Biodeterioration and Biodegradation* 48, 137–152.

Boxall, R.A., 2002. Damage and loss caused by the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae. Integrated Pest management Reviews 7, 105-121.

Buchelos, C.Th., 1985. The Greek insect fauna of stored products. Biologia Gallo-Hellenica 10, 221-227.

Buchelos, C.Th., Athanassiou, C.G., 1993. Dominance and frequency of Coleoptera found on stored cereals and cereal products in central Greece. Entomologia Hellenica 11, 17-22.

Buchelos, C.Th., Athanassiou, C.G., 1998. Beetle species in store-rooms of Central and Southern Greece containing grain, flour, bran and hay: A survey of 44 species. Annals of Benaki Phytopathological Institute 18, 129-133.

Buckland, P.C., 1981. The early dispersal of insect pests of stored products as indicated by archaeological records. Journal of Stored Products Research 17, 1-12.

Burkholder, W. E., Dicke, R.J., 1966. The toxicity of malathion and fenthion to dermestid larvae and influenced by various surfaces. Journal of Economic Entomology 59, 253-254.

Burkholder, W. E., Ma, M., 1985. Pheromones for monitoring and control of stored-product insects. Annual Review of Entomology 30, 257–272.

CABI, 2021. International Invasive Species Compendium
<https://www.cabi.org/isc/datasheet/10850>

Cagan, L., 1998. Spring behavior of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera, Pyralidae) larvae in south-western Slovakia. Biologia (Bratislava) 53, 223-230.

Casida, J.E., 2018. Neonicotinoids and other insect nicotinic receptor competitive modulators: progress and prospects. Annual Review of Entomology 63, 125-144.

Casida J.E., Quistad, G.B., 1998. Golden age of insecticide research: Past, present, or future? Annual Review of Entomology 43, 1-16.

Casida, J.E., Quistad, G.B., 2004. Why insecticides are more toxic to insects than people: The unique toxicology of insects. *Journal of Pesticide Science* 29, 81–86.

Casida, J.E., Durkin, K.A., 2013. Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annual Review of Entomology* 58, 99-117.

Champ, B.R., 1963. Control of stored grain pests in Queensland. *Australian Journal of Entomology* 2, 1-3.

Champ, B.R., Dyte, C.E., 1976. Report of the FAO global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy, Plant Production and Protection Series No.5. pp. 297.

Charreton, M., Decourtye, A., Henry, M., Rodet, G., Sandoz, J.C., Charnet, P., Collet, C., 2015. A locomotor deficit induced by sublethal doses of pyrethroid and neonicotinoid insecticides in the honeybee *Apis mellifera*. *PLoS ONE* 10, e0144879.

Collins, P.J., 1990. A new resistance to pyrethroids in *Tribolium castaneum* (Herbst). *Pesticide Science* 28, 101-115.

Collins, P.J., 2006. Resistance to chemical treatments in insect pests of stored grain and its management. In: Lorini, I., Bacaltchuk, B., Beckel, H., Deckers, D., Sundfeld, E.P. d.S.J., Biagi, J.D., Celaro, J.C., Faroni, L.R.D.A., Bortolini, L.d.O.F., Sartori, M.R., Elias, M.C., Guedes, R.N.C., da Fonseca, R.G., Scussel, V.M. (Eds), *Proceedings of the Ninth International Working Conference on Stored Product Protection*, 15-18 October 2006, Campinas, Brazil, Brazilian Post-harvest Association, Campinas, Brazil, pp. 277-282.

Collins, P.J., Nayak, M.K., Kopittke, R., 2000. Residual efficacy of four organophosphate insecticides on concrete and galvanized steel surfaces against three liposcelid psocid species (Psocoptera: Liposcelidae) infesting stored products. *Journal of Economic Entomology* 93, 1357–1363.

Collins, P.J., Lambkin, T.M., Bridgeman, B.W., Pulvirenti, C., 1993. Resistance to grain-protectant insecticides in coleopterous pests of stored cereals in Queensland, Australia. *Journal of Economic Entomology* 86, 239-245.

Cordain, L., 1999. Cereal grains: humanity's double-edged sword. *World Review of Nutrition and Dietetics* 84, 19–73.

Cowley, R.J., Howard, D.C., Smith, R.H., 1980. The effect of grain stability on damage caused by *Prostephanus truncatus* (Horn) and three other pests of stored maize. *Journal of Stored Products Research* 16, 75–78.

Cutler, P., Slater, R., Edmunds, A.J., Maienfisch, P., Hall, R.G., Earley, F.G., Pitterna, T., Pal, S., Paul, V.L., Goodchild, J., Blacker, M., Hagmann, L., Crossthwaite, A.J., 2012. Investigating the mode of action of sulfoxaflor: a fourth-generation neonicotinoid. *Pest Management Science* 69, 607–619.

Daglish, G.J., Nayak, M.K., 2010. Uneven application can influence the efficacy of s-methoprene against *Rhyzopertha dominica* (F.) in wheat. *Journal of Stored Products Research* 46, 250-253.

Daglish, G.J., Nayak, M.K., 2012. Potential of the neonicotinoid imidacloprid and the oxadiazine indoxacarb for controlling five coleopteran pests of stored grain. *Insect Science* 19, 96-101.

De Smet, L., Hatjina, F., Ioannidis, P., Hamamtzoglou, A., Schoonvaere, K., Francis, F., Meeus, I., Smaghe, G., de Graaf, D.C., 2017. Stress indicator gene expression profiles, colony dynamics and tissue development of honey bees exposed to sub-lethal doses of imidacloprid in laboratory and field experiments. *PLoS ONE* 12, e0171529.

DeLorenzo, M.E., Serrano, L., Chung, K.W., Hoguet, J., Key, P.B., 2006. Effects of the insecticide permethrin on three life stages of the grass shrimp, *Palaemonetes pugio*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 64, 122–127.

Diamond, J., 2002. Evolution, consequences and future of plant and animal domestication. *Nature* 418, 700-707.

Doganay, I., Agrafioti, P., Isikber, A.A., Saglam, O., Athanassiou, C.G., 2018. Immediate and delayed mortality of the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn), on different surfaces treated with thiamethoxam and alpha-cypermethrin. *Journal of Stored Products Research* 76, 1-6.

Douglas, M.R., Tooker, J.F., 2015. Large-scale deployment of seed treatments has driven rapid increase in use of neonicotinoid insecticides and preemptive pest management in US field crops. *Environmental Science and Technology* 49, 5088-5097.

Dreyer, H., Baumgartner, J., 1996. Temperature influence on cohort parameters and demographic characteristics of the two cowpea coreids *Clavigrallatomento sicollis* and *C. shadabi*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78, 201-213.

Dripps, J.E., Boucher, R.E., Chloridis, A., Cleveland, C.B., DeAmicis, C.V., Gomez, L.E., Paroonagian, D.L., Pavan, L.A., Sparks, T.C., Watson, G.B., 2011. The spinosyn insecticides. In: Lopez, O., Fernandez-Bolanos, J.G.(Ed.), *Green Trends in Insect Control*. Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, pp. 163-212.

Dyck, V.A., Hendrichs, J., Robinson, A.S., 2005. *Sterile Insect Technique: Principles and practice in area-wide Integrated Pest Management*. Springer, Dordrecht, Netherlands.

Edde, P.A., 2012. A review of the biology and control of *Rhyzopertha dominica* (F.) the lesser grain borer. *Journal of Stored Products Research* 48, 1–18.

Elbert, A., Nauen, R., Leicht, W., 1998. Imidacloprid, a novel chloronicotinyl insecticide: Biological activity and agricultural importance. In: Ishaaya, I., Degheele, D. (Ed.), *Insecticides with Novel Modes of Action*. Springer, Berlin/Heidelberg, Germany, pp. 50–73.

Elbert, A., Haas, M., Springer, B., Thielert, W., Nauen, R. 2008. Applied aspects of neonicotinoid uses in crop protection. *Pest Management Science* 64, 1099-1105.

Eldefrawi, M.E., Eldefrawi, A.T., 1990. Nervous system based insecticides. In: Hodgson, E., Kuhr, R.J., (Ed.), *Safer insecticides: Development and use*. Marcel Dekker, New York, pp. 155-207.

El-Mofty, M.M., Khudoley, V.V., Sakr, S.A., Fathala, N.G., 1992. Flour infested with *Tribolium castaneum*, biscuits made of this flour, induce neoplastic lesions in Swiss albino mice. *Nutrition and Cancer* 17, 97-104.

El-Mofty, M.M., Sakr, S.A., Osman, S.I., Toulan, B.A., 1989. Carcinogenic effect of biscuits made of flour infested with *Tribolium castaneum* in *Bufo regularis*. *Oncology* 46, 63-65.

El-Sayed, A.M., Suckling, D.M., Wearing, C.H., Byers, J.A., 2006. Potential of mass trapping for long-term pest management and eradication of invasive species. *Journal of Economic Entomology* 99, 1550-1564.

European Commission, 2006. Review report for the active substance thiamethoxam. Health Consumer Protection Directorate-General E3, 1-47.

European Commission, 2013. Commission implementing regulation (EU) No 485/2013 of 24 May 2013 amending Implementing Regulation (EU) No 540/2011, as regards the conditions of approval of the active substances clothianidin, thiamethoxam and imidacloprid, and prohibiting the use and sale of seeds treated with plant protection products containing those active substances. *Official Journal of the European Union* 139, 12–26.

European Food Safety Authority (EFSA), 2013a. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance clothianidin. *EFSA Journal* 11, 3066.

European Food Safety Authority, 2013b. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance thiamethoxam. *EFSA Journal* 11, 3067.

European Food Safety Authority (EFSA), 2013c. Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment for bees for the active substance imidacloprid. *EFSA Journal* 11, 3068.

Fang, L., Subramanyam, B.H., 2003. Activity of spinosad against adults of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) is not affected by wheat temperature and moisture. *Journal of the Kansas Entomological Society* 76, 529–532.

Farooqui, T., 2013. A potential link among biogenic amines-based pesticides, learning and memory, and colony collapse disorder: A unique hypothesis. *Neurochemistry International* 62, 122–136.

Fields, P.G., 1992. The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures. *Journal of Stored Products Research* 28, 89-118.

Fields, P., Korunic, Z., 2000. The effect of grain moisture content and temperature on the efficacy of diatomaceous earths from different geographical locations against stored-product beetles. *Journal of Stored Products Research* 36, 1-13.

Fields, P., Subramanyam, B., Hulasare, R., 2012. Extreme temperatures. In: Hagstrum, D.W., Phillips, T.W., Cuperus, G. (Ed.), *Stored Product Protection*. Kansas State University S156, Manhattan, Kansas, pp. 179-191.

Finkelman, S., Navarro, S., Rindner, M., Dias, R., 2006. Use of heat for disinfestation and control of insects in dates: Laboratory and field trials. *Phytoparasitica* 34, 37-48.

Fisher, M.H., 1990. Recent advances in avermectin research. *Pure and Applied Chemistry* 62, 1231–1240.

Fleurat-Lessard, F., 2004. Stored Grain: Physico-Chemical Treatment. In: Wringley, C., Corke, H., Walker, C.E. (Ed.), *Encyclopedia of Grain Science*, Vol. 3. Elsevier Academic Press, London, U.K., pp. 254–263.

Flinn, P.W., Schöller, M., 2012. Biological control: Insect pathogens, parasitoid and predators. In: Hagstrum, D.W., Phillips, T.W., Cuperus, G. (Ed.), *Stored Product Protection*. Kansas State University S156, Manhattan, Kansas, pp. 203-212.

Flinn, P.W., Subramanayam, Bh., Arthur, F.H., 2004. Comparison of aeration and spinosad for suppressing insects in stored wheat. *Journal of Economic Entomology* 97, 1465-1473.

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2014. Committee on World Food Security (CFS), Global Strategic Framework for Food Security & Nutrition (GSF Third Version–2014) http://www.fao.org/fileadmin/templates/cfs/Docs1314/GSF/GSF_Version_3_EN.pdf

Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2017. The future of food and agriculture trends and challenges. Rome. <http://www.fao.org/3/a-i6583e.pdf>

García-Lara, S., Saldivar, S.O.S., 2016. Insect Pests. Encyclopedia of Food and Health, 432–436.

Gatidou, G., Iatrou, E., 2011. Investigation of photodegradation and hydrolysis of selected substituted urea and organophosphate pesticides in water. Environmental Science and Pollution Research 18, 949–957.

Georghiou, G.P., 1962. Insecticide knockdown and recovery in mosquitoes and its possible significance in control. Mosquito News 22, 260–263.

Georghiou, G.P., Lagunes-Tejeda, A., 1991. The occurrence of resistance to pesticides in arthropods: An index of cases reported through 1989. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.

Gervais, J.A., Luukinen, B., Buhl, K., Stone, D., 2010. Imidacloprid technical fact sheet. National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services.

Getchell, A.I., Subramanyam, B., 2008. Immediate and delayed mortality of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) adults exposed to spinosad-treated commodities. Journal of Economic Entomology 101, 1022-1027.

Giga, D.P., Canhao, J.Sr., 1991. Relative toxicity and persistence of pyrethroid deposits on different surfaces for the control of *Prostephanus truncatus* (Horn) and *Sitophilus zeamais* (Motsch.). Journal of Stored Products Research 27, 153-160.

Giles, P.H., Hill, M.G., Nang'ayo, F.L.O., Farrell, G., Kibata, G.N., 1996. Release and establishment of the predator *Teretriusoma nigrescens* Lewis for the biological control of *Prostephanus truncatus* (Horn) in Kenya. African Crop Science Journal 4, 325-337.

Godfray, H.C.J., Blacquiere, T., Field, L.M., Hails, R.S., Potts, S.G., Raine, N.E., Vanbergen, A.J., McLean, A.R., 2015. A restatement of recent advances in the natural science evidence base concerning neonicotinoid insecticides and insect pollinators. Proceedings Biological sciences 282, 20151821.

- Golic, M.P., Andric, G., Kljajic, P., 2016.** Combined effects of contact insecticides and 50°C temperature on *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) in wheat grain. *Journal of Stored Products Research* 69, 245–251.
- Golob, P., 1997.** Current status and future perspectives for inert dusts for control of stored product insects. *Journal of Stored Products Research* 33, 69-79.
- Golob, P., 2002.** Chemical, physical and cultural control of *Prostephanus truncatus*. *Integrated Pest Management Reviews* 7, 245-277.
- Golob, P., Webley, D.J., 1980.** The use of plants and minerals as traditional protectants of stored products. Tropical Products Institute, London.
- Golob, P., Changjaroen, P., Ahmed, A., Cox, J., 1985.** Susceptibility of *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) to insecticides. *Journal of Stored Products Research* 21, 141–150.
- González, J.O.W., Gutiérrez., M.M., Ferrero, A.A., Fernández Band, B., 2014.** Essential oils nanoformulations for stored-product pest control – Characterization and biological properties. *Chemosphere* 100, 130–138.
- Goulson, D., 2013.** An overview of the environmental risks posed by neonicotinoid insecticides. *Journal Applied Ecology* 50, 977–987.
- Goulson, D., 2014.** Pesticides linked to bird declines. *Nature* 511, 341–343.
- Greenspan, L., 1977.** Humidity Fixed Points of Binary Saturated Aqueous Solutions. *Journal of Research of the National Bureau of Standards—A Physics and Chemistry* 81A, 89-96.
- Guarneri, A.A., Lazzari, C.R., Diotaiuti, L., Lorenzo, M.G., 2002.** The effect of relative humidity on the behavior and development of *Triatoma brasiliensis*. *Physiological Entomology* 27, 142–147.
- Gudrups I., A. Hams, Dales, M., 1994.** Are residual insecticide applications to store surfaces worth using? In: Highley, E., Wright, E.J., Banks, H.J., Champ, B.R. (Eds), *Stored-Product Protection. Proceedings of the Sixth International Working Conference on Stored-Product Protection, 17-23 April 1994, Canberra, Australia*, CAB International, Wallingford, U.K., pp. 785-789.

Guedes, R. N. C., Dover, B. A., Kambhampati, S., 1996. Resistance to chlorpyrifos-methyl, pirimiphos-methyl, and malathion in Brazilian and U.S. populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Economic Entomology* 89, 27–32.

Guedes, R.N.C., Kambhampati, S., Dover, B.A., Zhu, K.Y., 1997. Biochemical mechanisms of organophosphate resistance in *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) populations from the United States and Brazil. *Bulletin of Entomological Research* 87, 581-586.

Guedes, R.N.C., Lima, J.G., Santos, J.P., Cruz, C.D., 1995. Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Stored Products Research* 31, 145–150.

Guedes, R.N.C., Campbell, J.F., Arthur, F. H., Opit, G.P., Zhu, K.Y., Throne, J.E., 2008. Acute lethal and behavioral sublethal responses of two stored-product psocids to surface insecticides. *Pest Management Science* 64, 1314–1322.

Gwinner, J., Harnisch, R., Muck, O., 1996. Manual on the prevention of post harvest seed losses, post harvest project, GTZ, D-2000, Hamburg, FRG.

Hagstrum, D.W., 1987. Seasonal variation of stored wheat environment and insect populations. *Environmental Entomology* 16, 77–83.

Hagstrum, D.W., 1989. Infestation of *Cryptolestes ferrugineus* of newly-harvested wheat stored on three Kansas farms. *Journal of Economic Entomology* 82, 655–659.

Hagstrum, D.W., Milliken, G.A., 1988. Quantitative analysis of temperature, moisture, and diet factors affecting insect development. *Annals of the Entomological Society of America* 81, 539-546.

Hagstrum, D.W., Flinn, P.W., 1995. Integrated pest management. In: Subramanyam, Bh., Hagstrum, D.W. (Ed.), *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, New York, pp. 399–408.

Hagstrum, D.W., Flinn, P.W., Subramanyam, B., 1998. Predicting insect density from probe trap catch in farm-stored wheat. *Journal of Stored Products Research* 34, 251-262.

Hagstrum, D.W., Reed, C., Kenkel, P., 1999. Management of stored wheat pests in the USA. *Integrated Pest Management Reviews* 4, 127-142.

Hagstrum, D.W., Subramanyam, Bh., 2009. A review of stored-product entomology information sources. *American Entomologist* 55, 174-183.

Hagstrum, D.W., Flinn, P.W., Reed, C.R., Phillips, T.W., 2010. Ecology and IPM of insects at grain elevators and flat storages. *Biopesticides International* 6, 1–20.

Hagstrum, D.W., Phillips, T.W., Cuperus, G., 2012. Ecology of storage systems. In: Hagstrum, D.W., Phillips, T.W., Cuperus, G. (Ed.), *Stored Product Protection*. Kansas State University S156, Manhattan, Kansas, pp. 1-7.

Haines, C.P., 1991. Insects and arachnids of tropical stored-products: Their biology and identification: a training manual. Natural Resources Institute, Chatham, UK.

Hallman, G.J., 2011. Phytosanitary applications of irradiation. *Comprehensive Reviews of Food Science and Food Safety* 10, 143-151.

Hallman, G.J., 2012. Control of stored product pests by ionizing radiation. *Journal of Stored Products Research* 52, 36-41.

Hallman, G.J., Phillips, T.W., 2008. Ionizing irradiation of adults of Angoumois grain moth (Lepidoptera: Gelichiidae) and Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) to prevent reproduction, and implications for a generic irradiation treatment for insects. *Journal of Economic Entomology* 101, 1051-1056.

Hancock, J.F., 2012. *Plant evolution and the origin of crop species* (Third edition). CABI Publishing, Wallingford, U.K.

Hardman, J.M., 1977. Environmental changes associated with the growth of populations of *Sitophilus oryzae* (L.) confined in small cells of wheat. *Journal of Stored Products Research* 13, 45-52.

Harwood, A.D., You, J., Lydy, M.J., 2009. Temperature as a toxicity identification evaluation tool for pyrethroid insecticides: toxicokinetic confirmation. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28, 1051-1058.

Haryadi, Y., Syarief, R., Hubeis, M., Herawati, I., 1994. Effect of zeolite on the development of *Sitophilus zeamais* Motsch. In: Highley, E., Wright, E.J., Banks, H.J., Champ, B.R. (Eds), Stored-Product Protection. Proceedings of the Sixth International Working Conference on Stored-Product Protection, 17-23 April 1994, Canberra, Australia, CAB International, Wallingford, U.K., pp. 633-634.

Hashem, M.Y., Ahmeda, S.S., El-Mohandes, M.A., Gharib, M.A., 2012. Susceptibility of different life stages of saw-toothed grain beetle *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) to modified atmospheres enriched with carbon dioxide. Journal of Stored Products Research 48, 46-51.

Hassani, A.K., Dacher, M., Gauthier, M. and Armengaud, C., 2005. Effects of sublethal doses of fipronil on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). Pharmacology Biochemistry and Behavior 82, 30-39.

Hassani, A.K., Dacher, M., Gary, V., Lambin, M., Gauthier, M., Armengaud, C., 2008. Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology 54, 653-661.

Henry, M., Beguin, M., Requier, F., Rollin, O., Odoux, J.F., Aupinel, P., Aptel, J., Tchamitchian, S., Decourtye, A., 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees. Science 336, 348-350.

Hertlein, M.B., Thompson, G.D., Subramanyam, B., Athanassiou, C.G., 2011. Spinosad: a new natural product for stored grain protection. Journal of Stored Products Research 47, 131-146.

Highland, H.A., 1984. Insect infestations of packages in insect management for food storage and processing. In: Baur, F.J. (Ed.), Insect management for food storage and processing. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. USA, 309-320.

Hill, D.S., 2002. Pests of stored foodstuffs and their control. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.

Hill, M.G., Nangayo, F.L.O., Wright, D.J., 2003. Biological control of the larger grain borer *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae) in Kenya using a

predatory beetle *Teretrius nigrescens* (Coleoptera: Histeridae). Bulletin of Entomological Research 93, 299-306.

Hilton, M.J., Jarvis, T.D., Ricketts, D.C., 2015. The degradation rate of thiamethoxam in European field studies. Pest Management Science 72, 388–397.

Hodges, R.J., 1986. The biology and control of *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) - A destructive storage pest with an increasing range. Journal of Stored Products Research 22, 1-14.

Hodges, R.J., Meik, J., 1984. Infestation of maize combs by *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrychidae). Aspects of biology and control. Journal of Stored Products Research 20, 205-213.

Hodges, R.J., Hall, D. R., Golob, P., Meik, J., 1983. Responses of *Prostephanus truncatus* to components of the aggregation pheromone of *Rhyzopertha dominica* in the laboratory and field. Entomologia Experimentalis et Applicata 34, 266–272.

Hodges, R.J., Birkinshaw, L.A., Farman, D.I., Hall, D.R., 2002. Intermale variation in aggregation pheromone release in *Prostephanus truncatus*. Journal of Chemical Ecology 28, 1665-1674.

Hodjati, M.H., Curtis, C.F., 1999. Effects of permethrin at different temperatures on pyrethroid-resistant and susceptible strains of *Anopheles*. Medical and Veterinary Entomology 13, 415-422.

Hofer, D., Brandl, F., 1999. Cruisers/ADAGETM performance features of thiamethoxam as a seed treatment in worldwide cotton. In: Proceedings of the Beltwide Cotton Conferences, Cotton Insect Research and Control Conference. National Cotton Council of America, Memphis, TN, USA, pp. 1101–1101.

Hopwood, C.J., Thomas, K.M., Markon, K.E., Wright, A.G.C., Krueger, R.F., 2012. "DSM-5 personality traits and DSM–IV personality disorders": Correction to Hopwood et al. (2012). Journal of Abnormal Psychology 121, 432

Howe, R.W., 1950. The development of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) under constant temperature. The Entomologist's Monthly Magazine 86, 1–5.

Howe, R.W., 1956. The biology of the two common storage species of *Oryzaephilus* (Coleoptera: Cucujidae). *Annals of Applied Biology* 44, 341-355.

Howe, R.W., 1965. A summary of estimates of optimal and minimal conditions for population increase of some stored products insects. *Journal of Stored Products Research* 1, 177-184.

Huang, F., Subramanyam, B., 2005. Management of five stored-product insects in wheat with pirimiphos-methyl and pirimiphos-methyl plus synergized pyrethrins. *Pest Management Science* 61 (4), 356–362.

Infante, F., 2000. Development and population growth rates of *Proropsna suta* (Hymenoptera: Bethyridae) at constant temperatures. *Journal of Applied Entomology* 124, 343-348.

Insecticide resistance action committee (IRAC), 2020. Classification IMoA.

Iwasa, T., Motoyama, N., Ambrose, J.T., Roe, R.M., 2004. Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection* 23, 371-378.

Jaworski, T., Hilszczański, J., 2013. The effect of temperature and humidity changes on insects development and their impact on forest ecosystems in the context of expected climate change. *Forest Research Papers* 74, 345–355.

Jay, E.G., Arbogast, R.T., Pearman, G.C.Jr., 1971. Relative humidity: Its importance in the control of stored-product insects with modified atmospheric gas concentrations. *Journal of Stored Products Research* 6, 325-329.

Jeschke, P., Nauen, R., 2005. Neonicotinoid Insecticides. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K., Gill, S.S. (Ed.), *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier/Pergamon, Oxford, UK., pp. 61-121.

Jeschke, P., Nauen, R., 2008. Neonicotinoids-from zero to hero in insecticide chemistry. *Pest Management Science* 64, 1084-1098.

Jeschke, P., Moriya, K., Lantsch, R., Seifert, H., Lindner, W., Jelich, A., Göhrt, A., Beck, M.W.E., 2001. Thiacloprid (Bay YRC 2894) - a new member of the chloronicotinyl insecticide (CNI) family. *Pflanzenschutz Nachr. Bayer* 54, 147–160.

Jeschke, P., Nauen, R., Schindler, M., Elbert, A., 2011. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 2897–2908.

Jian, F., 2019. Review: Influences of stored product insect movements on Integrated Pest Management decisions. *Insects* 10, 1-20.

Johnson, J., 2013. Pest control in postharvest nuts (Chapter 4). In: Harris, L. (Ed.), *Improving the Safety and Quality of Nuts*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK, pp. 56–87.

Johnson, M.K., 1990. Organophosphates and delayed neuropathy—Is NTE alive and well? *Toxicology and Applied Pharmacology* 102, 385–399.

Jones, C.K., Byun N., Bubser M., 2012. Muscarinic and nicotinic acetylcholine receptor agonists and allosteric modulators for the treatment of schizophrenia. *Neuropsychopharmacology* 37, 16–42.

Kagabu, S., 1997. Chloronicotinyln insecticides-discovery, application and future perspective. *Reviews in Toxicology* 1, 75-129.

Kagabu, S., 2011. Discovery of imidacloprid and further developments from strategic molecular designs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 2887-2896.

Kavallieratos, N.G., Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., 2015. Efficacy of deltamethrin against stored-product beetles at short exposure intervals or on a partially treated rice mass. *Journal of Economic Entomology* 108, 1416-1421.

Kavallieratos, N. G, C. G. Athanassiou, and F. H. Arthur. 2017. Effectiveness of insecticide –incorporated bags to control stored –product beetles. *Journal of Stored Products Research* 70, 18-24.

Khan, T., Shahid, A.A., Khan, H.A.A., 2016. Could biorational insecticides be used in the management of aflatoxigenic *Aspergillus parasiticus* and its insect vectors in stored wheat? *Peer Journal* 4, e1665.

Kim, H.J., Shelver, W.L., Young-Soo, K., Hwang, E.C., Li, Q.X., 2003. Enzyme-linked immunosorbent assays for the neonicotinoid insecticides. *Journal of Agricultural Chemistry and Biotechnology* 46, 133–136.

Klein, A.M., Vaissiere, B.E., Cane, J.H., Steffan-Dewenter, I., Cunningham, S.A., Kremen, C., Tscharrntke, T., 2007. Importance of pollinators in changing landscapes for world crops. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 274, 303-313.

Klyś, M., 2004. Feeding inhibitors in pest control: Effect of herb additions to food on the population dynamics of the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* F. (Coleoptera, Bostrychidae). *Polish Journal of Ecology* 52, 575-581.

Korunic, Z., 1998. Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *Journal of Stored Products Research* 34, 87-97.

Korunic, Z., Fields, P.G., Timlick, B., Ormsher, P., van Natto, C., 1997. The enhanced diatomaceous earth, a safe, effective and long lasting grain protectant. Presented at Food and Agriculture Organization, VIII Round Table on Prevention of Post-Harvest Food Losses, Columbia, Cartagena. **Kumar, H., 2002.** Resistance in maize to the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae). *Journal of Stored Products Research* 38, 267-280.

Kumawat, K.C., 2007. Effect of abiotic factors on biology of *Rhyzopertha dominica* (Fab.) on wheat. *Annals of Plant Protection Sciences* 15, 111-115.

Kumawat, K.C., 2011. *Rhyzopertha dominica* on wheat: Bioecology and management. Lap Lambert Academic Publishing GmbH & Co., monograph, Saarbrücken, Germany.

Kurwadkar, S., Evans, A., 2016. Neonicotinoids: Systemic insecticides and systematic failure. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 97, 745–748.

Kuschel, G., 1961. On problems of synonymy in the *Sitophilus oryzae* complex (30th contribution, Col. Curculionoidea). *Annals and Magazine of Natural History* 13, 241-244.

- Lambin, M., Armengaud, C., Raymond, S., Gauthier, M., 2001.** Imidacloprid induced facilitation of the proboscis extension reflex habituation in the honeybee. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 48, 129-134.
- Landis, D., Orr, D., 2009.** Biological Control: Approaches and Applications. In: Radcliffe E., Hutchison, W.D., Cancelado, R.E. (Ed), *Radcliffe's IPM World Textbook*, University of Minnesota, St. Paul, MN. URL: <http://ipmworld.umn.edu>
- Larson, L.L., 1997.** Effects of adjuvants on the activity of Tracer™ 480SC on cotton in the laboratory, 1996. *Arthropod Management Tests* 22, 415-416.
- Laurino, D., Porporato, M., Patetta, A., Manino, A., 2011.** Toxicity of neonicotinoid insecticides to honey bees: laboratory tests. *Bulletin of Insectology* 64, 107-113.
- Lawson, D.S., Dumbar, D.M., White, S.M., Ngo, N., 1999.** ACTARATM 25 WG: control of cotton pests with a newneonicotinoid insecticide, thiamethoxam. In: *Proceedings of the Beltwide Cotton Conferences, Cotton Insect Research and Control Conference*. National Cotton Council of America, Memphis, TN, pp. 1106-1110.
- Leonard, G.C., Julius J.M., 2000.** Biopesticides: A review of their action, applications and efficacy. *Pest Management Science* 56, 651-676.
- Leskey, T.C., Lee, D.H., Short, B.D., Wright, S.E., 2012.** Impact of insecticides on the invasive *Halyomorpha halys* (Hemiptera: Pentatomidae): analysis of insecticide lethality. *Journal of Economic Entomology* 105, 1726–1735.
- Limay-Rios, V., Forero, L.G., Xue, Y., Smith, J., Baute, T., Schaafsma, A., 2016.** Neonicotinoid insecticide residues in soil dust and associated parent soil in fields with a history of seed treatment use on crops in southwestern Ontario. *Environmental Toxicology and Chemistry* 35, 303–310.
- Longstaff, B.C., 1981.** Biology of the grain pest species of the genus *Sitophilus* (Coleoptera: Curculionidae): A critical review. *Protection Ecology* 3, 83–130.
- Lord, J.C., 2001.** Desiccant dusts synergize the effect of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) on stored-grain beetles. *Journal of Economic Entomology* 94, 367–372.

- Lorini, I., Galley, D.J., 1999.** Deltamethrin resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), a pest of stored grains in Brazil. *Journal of Stored Products Research* 35, 37-45.
- Loschiavo, S.R., 1983.** Distribution of the rusty grain beetle (Coleoptera: Cucujidae) in columns of wheat stored dry or with localized high moisture content. *Journal of Economic Entomology* 76, 881-884.
- Lu, C., Warchol, K.M., Callahan, R.A., 2012.** In situ replication of honeybee colony collapse disorder. *Bulletin of Insectology* 65, 99-106.
- Lu, C., Warchol, K.M., Callahan, R.A., 2014.** Sub-lethal exposure to neonicotinoids impaired honey bees winterization before proceeding to colony collapse disorder. *Bulletin of Insectology* 67, 125-130.
- Lui, S., Arthur, F.H., VanGundy, D., Phillips, T.W., 2016.** Combination of methoprene and controlled aeration to manage insects in stored wheat. *Insects*, 7- 25.
- Lund, A.E., 1985.** Insecticides: effects on the nervous system. In: Kerkut, G.A., Gilbert, L.I. (Ed), *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology*. Pergamon, Oxford, pp. 9-56.
- Lundin, O., Rundlöf, M., Smith, H.G., Fries, I., Bommarco, R., 2015.** Neonicotinoid insecticides and their impacts on bees: a systematic review of research approaches and identification of knowledge gaps. *PLoS ONE* 10(8), e0136928.
- Lyubimov, A.V., Garry, V.F., 2010.** Phosphine. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, 2259–2266.
- Ma, Y., Gao, Z., Dang, Z., Li, Y., Pan, W., 2012.** Effect of temperature on the toxicity of several insecticides to *Apolygus lucorum* (Heteroptera: Miridae). *Journal of Pesticide Science* 37, 135–139.
- Mack, R.N., Simberloff, D., Lonsdale, W.M., Evans, H., Clout, M., Bazzaz, F.A., 2000.** Biotic invasions: causes, epidemiology, global consequences, and control. *Ecological Applications* 10, 689–710.

Mahroof, R., 2004. Elevated temperatures for insect management in mills: Biological, biochemical, and molecular responses of *Tribolium castaneum* (Herbst). Kansas State University, ProQuest Dissertations Publishing.

Maienfisch, P.L., Gsell, L., Rindlisbacher, A., 1999. Synthesis and insecticidal activity of CGA 293343—a novel broad spectrum insecticide. *Pesticide Science* 55, 351–354.

Maienfisch, P., Brandl, F., Kobel, W., Rindlisbacher, A., Senn, R., 1999. CGA 293'343: A novel, broad-spectrum neonicotinoid insecticide. In: Yamamoto, I., Casida, J.E. (Ed.), *Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor*. Springer, Tokyo, pp. 177-209.

Maienfisch, P., Angst, M., Brandl, F., Fischer, W., Hofer, D., Kayser, H., Kobel, W., Rindlisbacher, A., Senn, R., Steinemann, A., et al. 2001a. Chemistry and biology of thiamethoxam: a second generation neonicotinoid. *Pest Management Science* 57, 906-913.

Maienfisch, P., Huerlimann, H., Rindlisbacher, A., Gsell, L., Dettwilwer, H., Haettenschwiler, J., Sieger, E., Walti M., 2001b. The discovery of thiamethoxam: a second-generation neonicotinoid. *Pest Management Science* 57, 165-176.

Mallis, A., 1982. *Handbook of Pest Control* (Sixth edition). Franzak and Foster Co., Cleveland, Ohio.

Mallis, A., 2004. *The Mallis Handbook of Pest Control* (Ninth Edition). GIE Media, Inc.

Mansoor, M.M., Afzal, M., Raza, A.B.M., Akram, Z., Waqar, A., Afzal, M.B.S., 2015. Post-exposure temperature influence on the toxicity of conventional and new chemistry insecticides to green lacewing *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae). *Saudi Journal of Biological Sciences* 22, 317–321.

Maredia, K.M., Dakouo, D., Mota-Sanchez, D., 2003. *(Integrated Pest Management in the Global Arena)*. CABI Publishing, CAB International, Wallingford, Oxon, OX810DE.

Mason, L.J., McDonald, M., 2012. Biology, behavior, and ecology of stored grain and legume insects. In: Hagstrum, D.W., Phillips, T.W., Cuperus, G. (Ed.), Stored product protection. Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service, Kansas State University, Manhattan, KS, pp. 7-20.

Matsuda, K., Buckingham, S.D., Kleier, D., Rauh, J.J., Grauso, M., Sattelle, D.B., 2001. Neonicotinoids: insecticides acting on insect nicotinic acetylcholine receptors. *Trends in Pharmacological Sciences* 22, 573-580.

Matsuda, K., Kanaoka, S., Akamatsu, M., Sattelle, D.B., 2009. Diverse actions and target-site selectivity of neonicotinoids: structural insights. *Molecular Pharmacology* 76, 1–10.

Matsumoto, T., 2013. Reduction in homing flights in the honey bee *Apis Mellifera* after a sublethal dose of neonicotinoid insecticides. *Bulletin of Insectology* 66, 1-9.

Maus, C., Schoening, R., Doering, J., 2005. Residues of Imidacloprid WG 5 in blossom samples of shrubs of different sizes of the species *Rhododendron* sp. after drenching application in the field. Application 2004, Sampling 2005. Bayer CropScience AG. Report No. G201813.

Medrzycki, P., Montanari, R., Bortolotti, L., Sabatini, A.G., Maini, S., Porrini, C., 2003. Effects of imidacloprid administered in sub-lethal doses on honey bee behaviour. Laboratory tests. *Bulletin of Insectology* 56, 59-62.

Meikle, W.G., Holst, N., Degbey, P., Oussou, R., 2000. Evaluation of sequential sampling plans for the larger grain borer (Coleoptera: Bostrichidae) and the maize weevil (Coleoptera: Cuculionidae) and of visual grain assessment in West Africa. *Journal of Economic Entomology* 93, 1822–1831.

Meister, 2005. Crop Protection Handbook. Meister Publishing Co.

Michalaki, M.P., Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Batta, Y.A., Balotis, J.N., 2006. Effectiveness of *Metarhizium anisopliae* (Metschinkoff) Sorokin applied alone or in combination with diatomaceous earth against *Tribolium confusum* Du Val larvae: Influence of temperature, relative humidity and type of commodity. *Crop Protection* 25, 418-425.

- Millar, N.S., and Denholm, I., 2007.** Nicotinic acetylcholine receptors: targets for commercially important insecticides. *Invertebrate Neuroscience* 7, 53-66.
- Minett, W., Williams P., 1971.** Influence of malathion distribution of wheat grain against insect infestation. *Journal of Stored Products Research* 7, 233-242.
- Miranda, F., Simão, R., Rhea, M., Bunker, D., Prestes, J., Leite, R.D., Miranda, H., Freitas de Salles, B., Novaes, J., 2011.** Effects of linear vs. daily undulatory periodized resistance training on maximal and submaximal strength gains. *Journal of Strength and Conditioning Research* 25, 1824–1830.
- Mitchell, E.A., Mulhauser, B., Mulot, M., Mutabazi, A., Glauser, G., Aebi, A., 2017.** A worldwide survey of neonicotinoids in honey. *Science* 358, 109-111.
- Mohammad, O.S, Ali, W.K., Tais Al-Hulitan, A.M., 2012.** The Effect of Infestation by the confused flour beetle (*Tribolium confusum* Duv.) on specifications of wheat flour. *Journal of Agricultural Science and Technology* 2, 696-701.
- Mohan, S., Gopalan, M., Sundarababu, P. C., Sreenarayanan, V.V., 1994.** Practical studies on the use of light traps and bait traps in the management of *Rhyzopertha dominica* (F.) in rice warehouses. *International Journal of Pest Management* 40, 148–152.
- Montross, M.D., Bakker-Arkema, F.W., Hines, R.E., 1999.** Moisture content variation and grain quality of corn dried in different high-temperature dryers. *Transactions - American Society of Agricultural Engineers* 42, 427–433.
- Moore, D., Lord, J.C., Smith, S.M., 2000.** Pathogens. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Ed.), *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM*. Kluwer, Boston, pp. 191-227.
- Morrissey, C.A., Mineau, P., Devries, J.H., Sanchez-Bayo, F., Liess, M., Cavallaro, M.C., Liber, K., 2015.** Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review. *Environment International* 74, 291–303.
- Morton, R.L., Schroeder, H.E., Bateman, K.S., Chrispeels, M.J., Armstrong, E., Higgins, T.J., 2000.** Bean alpha amylase inhibitor 1 in transgenic peas (*Pisum*

sativum) provides complete protection from pea weevil (*Bruchus pisorum*) under field conditions. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 97, 3820–3825.

Mosqueira, B., Duchon, S., Chandre, F., Hougart, J.M., Carnevale, P., Mas-Coma, S., 2010. Efficacy of an insecticide paint against insecticide-susceptible and resistant mosquitos- Part I: laboratory evaluation. Malaria Journal 9, 340-346.

Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R.M., Grafius, E.J., Moyer, D.D., 2006. Resistance and cross-resistance to neonicotinoid insecticides and spinosad in the colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (say) (coleoptera: Chrysomelidae). Pest Management Science 62, 30-37.

Mowery, S.V., Campbell, J.F., Mullen, M.A., Broce, A.B., 2004. Response of *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) to food odor emanating through consumer packaging films. Environmental Entomology 33, 75–80.

Munro, J.W., 1966. Pests of Stored Products. Hutchinson. London.

Musser, F.R., Shelton, A.M., 2005. The influence of post-exposure temperature on the toxicity of insecticides to *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). Pest Management Science 61, 508–510.

Nansen, C., Meikle, W.G., Tigar, B., Harding, S., Tchabi, A., 2004. Non-agricultural hosts of *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) in West African forest. Annals of the Entomological Society of America 97, 481–491.

Nauen, R., Denholm, I., 2005. Resistance of insect pests to neonicotinoid insecticides: current status and futureprospects. Archives of Insect Biochemistry and Physiology 58, 200–215.

Nauen, R., Ebbinghaus-Kintscher, U., Salgado, V.L., Kaussmann, M., 2003. Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. Pesticide Biochemistry and Physiology 76, 55-69.

Navarro, S., 2006. Modified atmospheres for the control of stored-product insects and mites. In: Heaps, J.W. (Ed.), Insect management for food storage and processing (2nd edition). AACC International, St. Paul, MN, USA, pp. 105–145.

Nayak, M.K., Collins, P.J., 2008. Influence of concentration, temperature and humidity on the toxicity of phosphine to the strongly phosphine-resistant psocid *Liposcelis bostrychophila* Badonnel (Psocoptera: Liposcelididae). *Pest Management Science* 64, 971–976.

Nayak, M.K., Daghli, G.J., 2006. Potential of imidacloprid to control four species of psocids (Psocoptera: Liposcelididae) infesting stored grain. *Pest Management Science* 62, 646-650.

Nayak, M.K., Collins, P.J., Kopittke, R.A., 2002. Comparative residual toxicities of carbaryl, deltamethrin and permethrin as structural treatments against three liposcelidid psocid species (Psocoptera: Liposcelididae) infesting stored commodities. *Journal of Stored Products Research* 38, 247-258.

Nayak, M.K., Daghli, G.J., Byrne, V.S., 2005. Effectiveness of spinosad as a grain protectant against resistant beetle and psocid pests of stored grain in Australia. *Journal of Stored Products Research* 41, 455-467.

Negherbon, W.O., 1959. Nicotine. In: *Handbook of Toxicology*, Vol. 3: Insecticides. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PA, pp. 508-519.

Norment, B.R., Chambeas, H.W., 1970. Temperature relationships in organophosphorus poisoning in boll weevils. *Journal of Economic Entomology* 63, 502–504.

Nouri-Ganbalani, G., Ebadollahi, A., Nouri, A., 2016. Chemical composition of the essential oil of *Eucalyptus procera* Dehnh. and its insecticidal effects against two stored product insects. *Journal of Essential Oil Bearing Plants* 19, 1234–1242.

OECD-FAO Agricultural Outlook 2020-2029. <https://www.oecd-ilibrary.org/sites/57d27093en/index.html?itemId=/content/component/57d27093-en>

Oerke, E.C., Dehne, H.W., 2004. Safeguarding production-losses in major crops and the role of crop protection. *Crop Protection* 23, 275–285.

Ohkawara, Y., Akayama, A., Matsuda, K., Andersch, W., 2002. Clothianidin: a novel broad-spectrum neonicotinoid insecticide. *Proceedings Brighton Crop Protection: Conference- Pests and Diseases*. BCPC Farnham, Surrey, U.K., pp. 51-58.

- Osterauer, R., Kohler, H.R., 2008.** Temperature-dependent effects of the pesticides thiacloprid and diazinon on the embryonic development of zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology* 86, 485-494.
- Panagiotakopulu, E., 2001.** New records for ancient pests: Archaeoentomology in Egypt. *Journal of Archaeological Science* 28, 1235–1246.
- Pantenius, C.U., 1988.** Storage losses in traditional maize granarius in Togo. *Insect Science and its Application* 9, 725–735.
- Park, T., Mertz, D.B., Grodzinski, W., Prus, T., 1965.** Cannibalistic predation in populations of flour beetles. *Physiological Zoology* 38, 289-321.
- Paudyal, S., Opit, G.P., Arthur, F.H., Bingham, G.V., Gautam, S.G., 2016.** Contact toxicity of deltamethrin against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae), *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae), and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) adults. *Journal of Economic Entomology* 109, 1936–1942.
- Paudyal, S., Opit, G.P., Arthur, F.H., Bingham, G.V., Payton, M.E., Gautam, S.G., Noden, B., 2017.** Effectiveness of the ZeroFly® storage bag fabric against stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 73, 87–97.
- Peckman, P.S., Arthur, F.H., 2006.** Insecticide space treatments in food plants. In: Heaps, J. (Ed.), *Insect management for food storage and processing* (Second edition). AACC, Minneapolis, pp. 175-182.
- Percival, J., 1936.** Cereals of Ancient Egypt and Mesopotamia. *Nature* 138, 270-273.
- Perez-Mendoza, J., Flinn, P.W., Campbell, J.F., Hagstrum, D.W., Throne, J.E., 2004.** Detection of stored-grain insect infestation in wheat transported in railroad hopper-cars. *Journal of Economic Entomology* 97, 1474-1483.
- Perez-Mendoza, J., Throne, J.E., Maghirang, E.B., Dowell, F.E., Baker, J.E., 2005.** Insect fragments in flour: relationship to lesser grain borer (Coleoptera: Bostrichidae) infestation level in wheat and rapid detection using near-infrared spectroscopy. *Journal of Economic Entomology* 98, 2282-2291.

Phillips, T.W., Throne, J.E., 2010. Biorational approaches to managing stored-product insects. *Annual Review of Entomology* 55, 375-397.

Phillips, T.W., Cogan, P.M., Fadamiro, H.Y., 2000. Pheromones. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Ed.), *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM*. Kluwer Academic, Boston, pp. 273–302.

Phillips, T., Thoms, E., Demark, J., Wales, S., 2012. Fumigation (Chapter 14). In: *Stored. Product Protection*. K-State Research and Extension publication S156, pp. 157-178.

Pimentel, D., 1991. World resources and food losses to pests. In: Gorham, J.R. (Ed.), *Ecology and management of food industry pests*. FDA Technical Bulletin 4 Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, pp. 5-11.

Pistorius, J., Bischoff, G., Heimbach, U., Stähler, M., 2009. Bee poisoning incidents in Germany in spring 2008 caused by abrasion of active substance from treated seeds during sowing of maize. In: Oomen, P.A., Thompson, H.M.. (Eds), *Hazards of pesticides to bees 10th International Symposium of the ICP-BR Protection Group*, 8-10 October 2008, Bucharest, Romania, pp. 118-126.

Polson K.A., Brogdon, W.G., Rawlins, S.C., Chadee, D.D., 2012. Impact of environmental temperatures on resistance to organophosphate insecticides in *Aedes aegypti* from Trinidad. *Revista Panamericana de Salud Publica* 32, 1-8.

Potts, S.G., Biesmeijer, J.C., Kremen, C., Neumann, P., Schweiger, O., Kunin, W.E., 2010. Global pollinator declines: trends, impacts and drivers. *Trends in Ecology and Evolution* 25, 345-353.

Pozidi-Metaxa, E., Athanassiou, C.G., 2013. Comparison of spinosad with three traditional grain protectants against *Prostephanus truncatus* (Horn) and *Ephestia kuehniella* (Zeller) at different temperatures. *Journal of Pest Science* 86, 203–210.

Raghu, S., Drew, R.A.I., Clarke, A.R., 2004. Influence of host plant structure and microclimate on the abundance and behavior of a tephritid fly. *Journal of Insect Behavior* 17, 179-190.

Rajendran, S., 2004. Grain storage: Perspectives and problems. In: Chakraverty, A., Mujumdar, A.S., Raghavan, G.V., Ramaswamy, H.S. (Ed.), Handbook of postharvest technology: Cereals, Fruits, Vegetables, Tea and Spices. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 183-215.

Rajendran, S., Sriranjini, V., 2008. Review: Plant products as fumigants for stored-product insect control. Journal of Stored Products Research 44, 126–135.

Rees, D., 2004. Insects of stored products. CSIRO Publishing, Collingwood, Victoria, Australia.

Rillet, R., 1949. The biology of *Laemophloeus ferrugineus* (Steph). Canadian Journal of Research 27, 112-148.

Roditakis, E., Grispou, M., Morou, E., Kristoffersen, J.B., Roditakis, N., Nauen, R., Vontas, J., Tsagkarakou, A., 2009. Current status of insecticide resistance in Q biotype *Bemisia tabaci* populations from Crete. Pest Management Science 65, 313-22.

Roman, P., 2016. History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects – A review. Plant Protection Science 52, 229–241.

Romoser, W.S., Stoffolano, J.G., 1998. The science of entomology (Fourth edition). WCB McGraw-Hill, Boston.

Rumbos, C.I., Dutton, A.C., Athanassiou, C.G., 2013. Comparison of two pirimiphos-methyl formulations against major stored product insect species. Journal of Stored Products Research 55, 106-115.

Rumbos, C.I., Dutton, A.C., Athanassiou, C.G., 2014. Efficacy of two formulations of pirimiphos-methyl as surface treatment against *Sitophilus granarius*, *Rhyzopertha dominica* and *Tribolium confusum*. Journal of Pest Science 87, 507-519.

Rumbos, C.I., Dutton, A.C., Athanassiou, C.G., 2018. Insecticidal effect of spinetoram and thiamethoxam applied alone or in combination for the control of major stored-product beetle species. Journal of Stored Products Research 75, 56-63.

Saglam, O., Athanassiou, C.G., Vassilakos, T.N., 2013. Comparison of spinetoram, imidacloprid, thiamethoxam and chlorantraniliprole against life stages of *Tribolium*

confusum Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on concrete. *Crop Protection* 53, 85-95.

Saldivar, S.O.S., García-Lara, S., 2016. Cereals: Storage. *Encyclopedia of Food and Health*, 712–717.

Sall, J., Lehman, A., Creighton, L., 2001. *JMP Start Statistics. A guide to statistics and data analysis using JMP and JMPIN software.* Duxbury Press, Belmont, CA.

Sarup, P., Srivastava, V.S., 1971. Observation in the damage of neem seed kernel in storage by various pests and efficacy of the damaged kernel as an antifeedent against desert locust. *Indian Journal of Entomology* 33, 228-230.

Satpute, N.S., Deshmukh, S.D., Rao, N.G.V., Tikar, S.N., Moharil, M.P., Nimbalkar, S.A., 2007. Temperature dependent variation in toxicity of insecticides against *Earias vitelli* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 100, 357–360.

Sceff, D.S., Subramanyam, B., Arthur, F.H., 2017. Susceptibility of *Tribolium castaneum* and *Trogoderma variabile* larvae and adults exposed to methoprene-treated woven packaging material. *Journal of Stored Products Research* 73, 142-150.

Schaafsma, A., Limay-Rios, V., Xue, Y., Smith, J., Baute, T., 2016. Field-scale examination of neonicotinoid insecticide persistence in soil as a result of seed treatment use in commercial maize (corn) fields in southwestern Ontario. *Environmental Toxicology and Chemistry* 35, 295–302.

Schaafsma, A., Limay-Rios, V., Baute, T., Smith, J., Xue, Y., 2015. Neonicotinoid insecticide residues in surface water and soil associated with commercial maize (corn) fields in southwestern Ontario. *PlosOne* 10(2), 1-5.

Schmeltz, I., 1971. Nicotine and other tobacco alkaloids. In: Jacobson, M., Crosby, D.G. (Ed.), *Naturally Occurring Insecticides* (Marcel Dekker, New York, pp. 99-136.

Schöller, M., Flinn, P.W., 2000. Parasitoids and predators. In: Subramanyam, B, Hagstrum, D.W. (Ed.), *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM.* Kluwer Academic, Boston, pp. 229–271.

Schöller, M., Prozell, S., Al-Kirshi, A.G., Reichmuth, C., 1997. Towards biological control as a major component of integrated pest management in stored product protection. *Journal of Stored Products Research* 33, 81–97.

Schultze-Werninghaus, G., Zachgo, W., Rotermund, H., Wiewrodt, R., Merget, R., Wahl, R., Burow, G., Strassen, R., 1991. *Tribolium confusum* (Confused flour beetle, rice flour beetle) – An Occupational allergen in bakers: Demonstration of IgE antibodies. *International Archives of Allergy and Immunology* 94, 371–372.

Schwadt, H.H., 1933. Life history of the lesser grain borer. *Journal of the Kansas Entomological Society* 6, 61-65.

Scott, J.G., 1995. Effects of temperature on insecticides toxicity. In: Roe, R.M., Kuhr, R.J. (Ed.), *Reviews in pesticide toxicology*, vol. 3. Toxicology Communications Inc., Raleigh, NC, pp. 111–135.

Scott, J.G., Georghiou, G., 1984. Influence of temperature on knockdown toxicity and resistance to pyrethroids in the house fly, *Musca domestica*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 21, 53–62.

Seifert, J., 2014. Neonicotinoids. *Encyclopedia of Toxicology*, 477–482.

Seitz, L.M., Sauer, D.B., 1996. Volatile compounds and odors in grain sorghum infested with common storage insects. *Cereal Chemistry* 73, 744-750.

Semple, R.L., 1980. Inspection procedures for grain handling facilities and methods for detecting stored grain insects. Inspection and detection methods for storage insect pests. FAO Corporate Document Repository. In: Semple, R.L., Hicks, P.A., Lozare, J.V., Castermans, A. (Eds), *Towards Integrated Commodity and Pest Management in Grain*, Proceedings and selected papers from the Regional Training Course on Integrated Pest Management Strategies in Grain Storage Systems, 16-18 June 1988, Philippines, FAO Corporate Document Repository, Rome, Italy, pp. 83-125.

Senn, R., Hofer, D., Hoppe, T., Angst, M., Wyss, P., Brandl, F., Maienfisch, P., 1998. CGA 293'343: a novel broad-spectrum insecticide supporting sustainable agriculture worldwide. Brighton Crop Protection Conference, Brighton, UK. *Pests and Diseases* 1, 27–36.

Shaaya, E., Kostyukovsky, M., 2011. The use of phytochemicals as fumigants for the control of stored product insect pests. *Journal of Entomological and Acarological Research* 43, 245-251.

Shao, X., Swenson, T.L., Casida, J.E., 2013. Cycloxaprid insecticide: nicotinic acetylcholine receptor binding site and metabolism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61, 7883-7888.

Sheets, L.P., 2010. Imidacloprid. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology*, 2055–2064.

Shires, S.W., 1977. Ability of *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) to damage and breed on several food commodities. *Journal of Stored Products Research* 13, 205–208.

Simon-Delso, N., Amaral-Rogers, V., Belzunces, L.P., Bonmatin, J.M., Chagnon, M., Downs, C., Furlan, L., Gibbons, D.W., Giorio, C., Girolami, V., Goulson, D., 2015. Systemic insecticides (neonicotinoids and fipronil): trends, uses, mode of action and metabolites. *Environmental Science and Pollution Research* 22, 5-34.

Simone, M., Failde, V., Garcia, M., Panadero, C., De Simone, M., 1994. Factors associated with mechanical damage of dry beans with conventional threshing. *Rivista di Ingegneria Agraria* 25, 209-217.

Sinha, R.N., 1961. Insects and mites associated with hot spots in farm stored grain. *Canadian Entomologist* 93, 609-621.

Sinha, R.N., 1973. Interrelations of physical, chemical, and biological variables in the deterioration of stored grains. In: Sinha, R.N., Muir, W.E. (Ed.), *Grain Storage: Part of a System*. AVI Publishing, Westport, CT, USA, pp. 15-47.

Sinha, R.N., 1995. The stored-grain ecosystem. In: Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir, W.E. (Ed.), *Stored-Grain Ecosystems*. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 1-32.

Smith, K. M., Loh, E. H., Rostal, M. K., Zambrana-Torrel, C. M., Mendiola, L., Daszak, P., 2013. Pathogens, pests, and economics: drivers of honey bee colony declines and losses. *EcoHealth* 10, 434–445.

- Smith, L.W.Jr., Pratt, ., J.J.Jr., Nii, I., Umina, A.P., 1989.** Baking and taste properties of bread made from hard wheat flour infested with species of *Tribolium*, *Tenebrio*, *Trogoderma* and *Oryzaephilus*. *Journal of Economic Entomology* 82, 1254-1261.
- Snelson, J.T., 1987.** Grain protectants. ACIAR monograph No. 3, Canberra, Australia.
- Sokal, R. R., Rohlf, F.J., 1995.** Biometry (Third edition). Freeman, New York.
- Sparks, T.C., 2013.** Insecticide discovery: An evaluation and analysis. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107, 8–17.
- Sparks, T.C., Pavloff, A.M., Rose, R.L., Clower, D.F., 1983.** Temperature-toxicity relationships of pyrethroids on *Heliothis virescens* (F.) and *Anthonomus grandis* Boheman. *Journal of Economic Entomology* 76, 243–246.
- Sparks, T.C., Watson. G.B., Loso, M.R., Geng C, Babcock, J.M., Thomas, J.D., 2013.** Sulfoxaflor and the sulfoximine insecticides: chemistry, mode of action and basis for efficacy on resistant insects. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 107, 1–7.
- Starnes, R.L., Liu, C.L., Marrone, P.G., 1993.** History, use and future of microbial insecticides. *American Entomologist* 39, 83–91.
- Stejskal, V., 2003.** Economic injury level and preventive pest control. *Journal of Pest Science* 76, 170-172.
- Stejskal, V., 2015.** Pest prevention during storage, transportation and handling of stored products. *Integrated Protection of Stored Products IOBC-WPRS Bulletin* 111, 171-176.
- Subramanyam, B., Boina, D.R., Sehgal, B., Lazzari, F., 2014.** Efficacy of partial treatment of wheat with spinosad against *Rhyzopertha dominica* (F.) adults. *Journal of Stored Products Research* 59, 197-203.
- Subramanyam, B., Roesli, R., 2000.** Inert Dusts. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Ed.), *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM*. Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 321-380.

Subramanyam, B., and Hagstrum, D. W., 1996. Integrated Management of Insects in Stored Products. Dekker, New York.

Subramanyam, Bh., Toews, M.D., Fang, L., 2003. Spinosad: an effective replacement for organophosphate grain protectants. In: Credland, P.F., Armitage, D.M., Bell, C.H., Cogan, P.M., Highley, E. (Ed.), Proceedings of the Eighth International Working Conference on Stored-Product Protection, 22-26 July 2002, York, CAB Int., Wallingford, Oxon, pp. 916–920.

Subramanyam, Bh., Toews, M.D., Ileleji, K.E., Maier, D.E., Thompson, G.D., Pitts, T.J., 2007. Evaluation of spinosad as a grain protectant on three Kansas farms. *Crop Protection* 26, 1021-1030.

Sur, R., Stork, A., 2003. Uptake, translocation and metabolism of imidacloprid in plants. *Bulletin of Insectology* 56, 35-40.

Surtees, G., 1964. Laboratory studies on dispersion behavior of adult beetles in grain. VI. Three-dimensional analysis of dispersion of five species in a uniform bulk. *Bulletin of Entomological Research* 55, 161-171.

Syngenta Group. 2005. Thiamethoxam Fact Sheet. Syngenta Crop Protection.

Taillebois, E., Cartereau, A., Jones, A.K., Thany, S.H., 2018. Neonicotinoid insecticides mode of action on insect nicotinic acetylcholine receptors using binding studies. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 151, 59-66.

Teeters, B.S., Johnson, R.M., Ellis, M.D., Siegfried, B.D., 2012. Using video-tracking to assess sublethal effects of pesticides on honey bees (*Apis mellifera* L.). *Environmental Toxicology and Chemistry* 31, 1349-1354.

Tefera, T., Mugo, S., Likhayo, P., Beyene, Y., 2011. Resistance of three-way cross experimental maize hybrids to post-harvest insect pests, the larger grain borer (*Prostephanus truncatus*) and maize weevil (*Sitophilus zeamais*). *International Journal of Tropical Insect Science* 31, 3–12.

Thany, S.H. 2010. Neonicotinoid insecticides. Historical evolution and resistance mechanisms. In: Thany, S.H. (Ed.), *Insect nicotinic acetylcholine receptors. Advances in Experimental Medicine and Biology* 683, 75–84.

- Thomson, V., 1966.** The biology of the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* (Fab). Bulletin of Grain Technology 4, 163-168.
- Throne, J.E., Baker, J.E., Messina, F.J., Kramer, K.J., Howard, J.A., 2000.** Varietal resistance (Chapter 7). In: Subramanyam, Bh., Hagstrum, D.W. (Ed.), Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM. Springer, Boston, MA, pp. 165-192.
- Tipples, K.H., 1995.** Quality and nutritional changes in stored grain. In: Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir, W.E. (Ed.), Stored-grain Ecosystems. M. Dekker, Inc., New York, USA, pp. 189–202.
- Toews, M.D., Subramanyam, B., Rowan, J.M., 2003.** Knockdown and mortality of adults of eight species of stored-product beetles exposed to four surfaces treated with spinosad. Journal of Economic Entomology 96, 1967–1973.
- Tomizawa, M., Yamamoto, I., 1992.** Binding of nicotinoids and the related compounds to the insect nicotinic acetylcholine receptor. Journal of Pesticide Science 17, 231-236.
- Tomizawa, M. 2004.** Neonicotinoids and derivatives: effects in mammalian cells and mice. Journal of Pesticide Science 29, 177–183.
- Tomizawa, M., Casida, J.E., 2003.** Selective toxicity of neonicotinoids attributable to specificity of insect and mammalian nicotinic receptors. Annual Review of Entomology 48, 339-364.
- Tomizawa, M., Casida, J.E., 2005.** Neonicotinoid insecticide toxicology: mechanisms of selective action. Annual Review of Pharmacology and Toxicology 45, 247–268.
- Tosi, S., Costa, C., Vesco, U., Quaglia, G., Guido, G., 2018.** A 3-year survey of Italian honey bee-collected pollen reveals widespread contamination by agricultural pesticides. Science of the Total Environment 615, 208-218.
- Toth, S.J., Sparks, T.C., 1988.** Influence of treatment technique on the temperature-toxicity relationships of *cis*- and *trans*-permethrin in the cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae). Journal of Economic Entomology 81, 115-118.

- Traynor, K.S., Pettis, J.S., Tarpy, D.R., Mullin, C.A., Frazier, J.L., Frazier, M., 2016.** In-hive pesticide exposome: Assessing risks to migratory honey bees from in-hive pesticide contamination in the Eastern United States. *Scientific Reports* 6, 33207.
- Treibs, W., 1956.** Gewinnung ätherischer Öle durch Destillation, Extraktion und Pressung. A. Einleitung. In: Gildemeister, E., Hoffmann, Fr. (Ed.), *Die ätherischen Öle Band I*. (Fourth edition). Akademie Verlag, Berlin, Germany, pp. 307–309.
- Trematerra, P., Athanassiou, C., Stejskal, V., Sciarretta, A., Kavallieratos, N., Palyvos, N., 2011.** Large-scale mating disruption of *Ephestia* spp. and *Plodia interpunctella* in Czech Republic, Greece and Italy. *Journal of Applied Entomology* 135, 749-762.
- Tyler, P.S., Hodges, R.J., 2002.** Phytosanitary measures against the larger grain borer *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae), in international trade. *Integrated Pest Management Reviews* 7, 279-289.
- Ujvary, I., 1999.** Nicotine and other insecticidal alkaloids. In: Yamamoto, I., Casida, J.E. (Ed.), *Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor*. Springer, Tokyo, pp. 29-69.
- United Nations (U.N), 2019.** World Population Prospects 2019: Data Booklet. United Nations Publications. pp 24.
- Upadhyay, R.K., Ahmad, S., 2011.** Management strategies for control of stored grain insect pests in farmer stores and public warehouses. *World Journal of Agricultural Sciences* 7, 527-549.
- Valamoti, S.M., Buckland, P.C., 1995.** An early find of *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) from final Neolithic Mandalo, Macedonia, Greece. *Journal of Stored Products Research* 31, 307-309.
- Vardeman, E.A., Arthur, F.H., Nechols, J.R., Campbell, J.F, 2006.** Effect of temperature, exposure interval and depth of diatomaceous earth treatment on distribution, mortality and reproduction of the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) in stored wheat. *Journal of Economic Entomology* 99, 1017–1024.

Vardeman, E.A., Arthur, F.H., Nechols, J.R., Campbell, J.F., 2007a. Efficacy of surface applications with diatomaceous earth to control *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) in stored wheat. *Journal of Stored Products Research* 43, 335-341.

Vardeman, E.A., Campbell, J.F., Arthur, F.H., Nechols, J.R., 2007b. Behavior of female *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in a mono-layer of wheat treated with diatomaceous earth. *Journal of Stored Products Research* 43, 297-301.

Vásquez-Castro, J.A., de Baptista, G.C., Gadanha, C.D., Trevizan, L.R.P., 2012. Insecticidal effect and residual action of fenitrothion and esfenvalerate on *Sitophilus oryzae* and *S. zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in stored maize and wheat. *Agronomy*, 1–11.

Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., 2012a. Effect of uneven distribution of spinetoram-treated wheat and rice on mortality and progeny production of *Rhyzopertha dominica* (F.), *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. *Journal of Stored Products Research* 50, 73-80.

Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., 2012b. Effect of short exposures to spinetoram against three stored-product beetle species. *Journal of Economic Entomology* 105, 1088-1094.

Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., Saglam, O., Chloridis, A.S., Dripps, J.E., 2012. Insecticidal effect of spinetoram against six major stored grain insect species. *Journal of Stored Products Research* 51, 69–73.

Vassilakos, T. N., Athanassiou, C.G., Chloridis, A.S., Dripps. J.E., 2014. Efficacy of spinetoram as a contact insecticide on different surfaces against stored-product beetle species. *Journal of Pest Science* 87, 485-494.

Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., 2012. Effect of uneven distribution of spinetoram treated wheat and rice on mortality and progeny production of *Rhyzopertha dominica* (F.), *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. *Journal of Stored Products Research* 50, 73-80.

Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., 2013. Effect of temperature and relative humidity on the efficacy of spinetoram for the control of three stored product beetle species. *Journal of Stored Products Research* 55, 73-77.

Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Vayias, B.J., 2006. Influence of temperature on the insecticidal effect of *Beauveria bassiana* in combination with diatomaceous earth against *Rhyzopertha dominica* and *Sitophilus oryzae* on stored wheat. *Biological Control* 38, 270-281.

Vassilakos, T.N., Athanassiou, C.G., Saglam, O, Chloridis, A., 2012. Insecticidal effect of spinetoram against six major stored grain insect species. *Journal of Stored Products Research* 51, 69-73.

Vela-Coiffier, E.L., Fargo, W.S., Bonjour, E.L., Cuperus, G.W., Warde, D.W., 1997. Immigration of insects into on-farm stored wheat and relationships among trapping methods. *Journal of Stored Products Research* 33, 157-166.

Via, S., 1991. Variation between strains of the flour beetle *Tribolium castaneum* in relative performance on five flours. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 60, 173-182.

Waddell, B.C., Jones, V.M., Petry, R.J., Sales, F., Paulaud, D., Maindonald, J.H., Laidlaw, W.G., 2000. Thermal conditioning in *Bactrocera tryoni* eggs following hot-water immersion. *Postharvest Biology and Technology* 21, 113-128.

Wakil, W., Riasat, T., Lord, J.C., 2013. Effects of combined thiamethoxam and diatomaceous earth on mortality and progeny production of four Pakistani populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) on wheat, rice and maize. *Journal of Stored Products Research* 52, 28-35.

Wall, R., Shearer, D., 1997. *Veterinary Entomology: Arthropod Ectoparasites of Veterinary Importance* (First edition). Chapman and Hall, London.

Weston, D.P., You, J., Harwood, A.D., Lydy, M.J., 2009. Whole sediment toxicity identification evaluation tools for pyrethroid insecticides: III. Temperature manipulation. *Environmental Toxicology and Chemistry* 28, 173-180.

Weston, P.A., and Rattlingourd, P.L., 2000. Progeny production by *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) on maize previously infested by *Sitotroga cerealla* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Journal of Economic Entomology* 93, 533-536.

Weston, P.A., Barney, R.J., 1998. Comparison of three trap types for monitoring insect populations in stored grain. *Journal of Economic Entomology* 91, 1449–1457.

White, N. D. G. 1982. Effectiveness of malathion and pirimiphos-methyl applied to plywood and concrete to control *Prostephanus truncatus* (Coleoptera: Bostrichidae). *Proceedings of the Entomological Society of Ontario* 113, 65–69.

White, N.D.G., Leesch, J.G., 1995. Chemical Control. In: Subramanyam, Bh., Hagstrum, D.W. (Ed.), *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 287-330.

White, N.D.G., 1995. Insects, mites, and insecticides in stored grain ecosystems. In: Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir, W.E. (Ed.), *Stored-Grain Ecosystems*. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 123-168.

Whitehorn, P., O'Connor, S., Wäckers, F.L., Goulson, D., 2012. Neonicotinoid pesticide reduces bumble bee colony growth and queen production. *Science* 336, 351-352.

Wijayarathne, L.K.W., Fields, P.G., Arthur, F.H., 2012. Effect of methoprene on the progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Pest Management Science* 68, 217–224.

Wilkinson, R., Balsari, P. and Oberti, R., 1999. Plant production engineering and pest control equipment. American Society of Agricultural Engineers, St Joseph, MI, USA, pp. 277.

Williams, P., Semple, R.L., Amos, T.G., 1983. Relative toxicity and persistence of three pyrethroid insecticides on concrete, wood and iron surfaces for control of grain insects. *Journal of General and Applied Entomology* 15, 7–10.

Williams, P., Semple R.L. Amos, T.G., 1982. Relative toxicity and persistence of one carbamate and three organophosphate insecticides on concrete, wood and iron

surfaces for control of grain insects. *Journal of General and Applied Entomology* 14, 35–40.

Williamson, S.M., Willis, S.J. Wright, G.A., 2014. Exposure to neonicotinoids influences the motor function of adult worker honeybees. *Ecotoxicology* 23, 1409-1418.

Wing, K.D., Ramsay, J.R., 1989. Other hormonal agents: ecdysone agonists. In: BCPC Monograph No 43: Progress and prospects in insect control. BCPC, Surrey, pp. 107–117.

Wirtz, R.A., 1991. Food pests as disease agents. In: Gorham, J.R. (Ed.), Ecology and management of food industry pests. FDA Technical Bulletin 4, Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, pp. 469-475.

Wood, T.J., Goulson, D., 2017. The environmental risks of neonicotinoid pesticides: a review of the evidence post 2013. *Environmental Science and Pollution Research* 24, 17285–17325.

Woodcock, B.A., Bullock, J.M., Shore, R.F., Heard, M.S., Pereira, M.G., Redhead, J., Ridding, L., Dean, H., Sleep, D., Henrys, P., Peyton, J. Hulmes, S. Hulmes, L. Sárospataki, M. Saure, C. Edwards, M. Genersch, E. Knäbe, S. Pywell, R.F., 2017. Country-specific effects of neonicotinoid pesticides on honey bees and wild bees. *Science* 356, 1393-1395.

Yamamoto, I., Casida, J.E., 1999. Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor. Springer, Tokyo

Yamamoto, I., Tomizawa, M., Saito, T., Miyamoto, T., Walcott, E.C., Sumikawa, K., 1998. Structural factors contributing to insecticidal and selective actions of neonicotinoids. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 37, 24-32.

Yamamoto, I., 1965. Nicotinoids as insecticides. In: Metcalf, R.L. (Ed.), *Advances in Pest Control Research*, Vol. 6. New York, Wiley, pp. 231–260.

Yamamoto, I., 1999. Nicotine to Nicotinoids: 1962 to 1997. In: Yamamoto, I., Casida, J.E. (Ed.), *Nicotinoid insecticides and the nicotinic acetylcholine receptor*. Springer, Tokyo, pp. 3-27.

Yue, B.S., Wilde, G.E., Arthur, F.H., 2003. Evaluation of thiamethoxam and imidacloprid as seed treatments to control European corn borer and Indianmeal moth (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Journal of Economic Entomology* 96, 503-509.

Žabar, R., Komel, T., Fabjan, J., Kralj, M.B., Trebše, P., 2012. Photocatalytic degradation with immobilised TiO₂ of three selected neonicotinoid insecticides: Imidacloprid, thiamethoxam and clothianidin. *Chemosphere* 89, 293–301.

Zheng, F.S., Du, Y.Z., Wang, Z.J., Xu, J.J., 2008. Effect of temperature on the demography of *Galerucella birmanica* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Insect Science* 15, 375-380.

Ακριτίδης, Κ., 1993. Ξήρανση - αποθήκευση γεωργικών προϊόντων. Εκδόσεις Γιαχούδη, Θεσσαλονίκη.

Ανδρέαδης, Ε., 2012. Νομικό πλαίσιο της παγκοσμιοποίησης στην αγορά δημητριακών. Διπλωματική Εργασία στο Διατμηματικό πρόγραμμα μεταπτυχιακών σπουδών στην διοίκηση επιχειρήσεων (M.B.A.), Πανεπιστήμιο Μακεδονίας, Θεσσαλονίκη.

<https://dspace.lib.uom.gr/bitstream/2159/15577/3/AndreadisEustathiosMsc2012.pdf>

Εμμανουήλ, Ν., Μπουχέλος, Κ., 1996. Ζωικοί εχθροί τροφίμων και γεωργικών προϊόντων. Πανεπιστημιακές σημειώσεις, Γ.Π.Α., Αθήνα.

Μπουχέλος, Κ., 1993. Έντομα αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων. Πανεπιστημιακές σημειώσεις, Γ.Π.Α., Αθήνα.

Μπουχέλος, Κ., Αθανασίου Χ., 1996. Τροπικά κολεόπτερα έντομα: ο κίνδυνος εισόδου και εγκατάστασή τους στην Ελλάδα. *Γεωργία και Κτηνοτροφία* 8, 62 – 64.

Μπουχέλος, Κ., 2005. Έντομα αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων. Πανεπιστημιακές παραδόσεις, Αθήνα.

Παπακόστα, Δ., 1997. Σημειώσεις Ειδικής Γεωργίας Ι (Σιτηρά, Ψυχανθή, Χορτοδοτικά Φυτά), Τμήμα Γεωπονίας, Α.Π.Θ., Θεσσαλονίκη.

Παπακόστα, Δ., 2001. Σημειώσεις Ειδικής Γεωργίας. Τμήμα Γεωπονίας, ΑΠΘ, Θεσσαλονίκη.

Σταμόπουλος, Δ., 2008. Εχθροί αποθηκευμένων προϊόντων, μουσείων και κατοικιών.
Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος.