



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

**ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ**

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

**Βασιλάκος Ν. Θωμάς  
Γεωπόνος M.Sc.**

**ΒΟΛΟΣ 2016**

**Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή**

Χρήστος Αθανασίου, Αναπληρωτής Καθηγητής Π.Θ. (Επιβλέπων)

Νικόλαος Παπαδόπουλος, Καθηγητής Π.Θ. (Μέλος)

Νικόλαος Καβαλλιεράτος, Λέκτορας Γ.Π.Α. (Μέλος)

**Επταμελής Εξεταστική Επιτροπή**

Χρήστος Αθανασίου, Αναπληρωτής Καθηγητής Π.Θ. (Επιβλέπων)

Νικόλαος Παπαδόπουλος, Καθηγητής Π.Θ. (Μέλος)

Νικόλαος Καβαλλιεράτος, Λέκτορας Γ.Π.Α. (Μέλος)

Νικόλαος Δαναλάτος, Καθηγητής Π.Θ. (Μέλος)

Νικόλαος Τσιρόπουλος, Καθηγητής Π.Θ. (Μέλος)

Νικόλαος Κουλούσης, Αναπληρωτής Καθηγητής Α.Π.Θ. (Μέλος)

Ευάγγελος Βέλλιος, Επίκουρος Καθηγητής Π.Θ. (Μέλος)

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ – ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η αναζήτηση νέων δραστικών ουσιών, για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων, με χαρακτηριστικά συμβατά προς τον άνθρωπο και το περιβάλλον, αποτελεί σημαντική συμβολή στην έρευνα για την αποτελεσματική προστασία των αγροτικών προϊόντων στα μετασυλλετικά τους στάδια. Στο πλαίσιο αυτό, στην παρούσα διδακτορική διατριβή εξετάστηκε ενδελεχώς η αποτελεσματικότητα της δραστικής ουσίας spinetoram εναντίον των κυριότερων εντόμων αποθηκών, με απώτερο σκοπό την μελλοντική της χρήση. Η διατριβή πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Για την πραγματοποίηση της παρούσας διατριβής αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα, Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Χρήστο Αθανασίου, για την ανάθεση του θέματος, τη συνεχή εμπύχωση, καθοδήγηση και επίβλεψη σε όλα τα στάδια εκπόνησης της διατριβής, καθώς και τις διορθώσεις του στο κείμενο αλλά και στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων. Επίσης ευχαριστώ τον Καθηγητή κ. Νικόλαο Παπαδόπουλο καθώς και τον Λέκτορα κ. Νικόλαο Καβαλλιεράτο, μέλη της τριμελούς συμβουλευτικής επιτροπής, για τις πολύτιμες διορθώσεις και υποδείξεις τους στην παρούσα διατριβή, οι οποίες συνέβαλαν σημαντικά στην περαιτέρω βελτίωσή της.

Ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή κ. Νικόλαο Τσιρόπουλο για την συμμετοχή του στην εξεταστική επιτροπή, καθώς και για την επιστημονική στήριξη και για την παραχώρηση χρήσης του εργαστηρίου Αναλυτικής Χημείας και Γεωργικής Φαρμακολογίας, για την πραγματοποίηση των αναλύσεων υπολειμμάτων. Επίσης ευχαριστώ τον Επίκουρο Καθηγητή κ. Ευάγγελο Βέλλιο για την συμμετοχή του στην εξεταστική επιτροπή, καθώς για τις υποδείξεις στην περιγραφή του βακτηρίου (Ενότητα Α.4). Οφείλω να ευχαριστήσω για την συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή τον Καθηγητή κ. Νικόλαο Δαναλάτο και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Νικόλαο Κουλούση. Ευχαριστώ επίσης και τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Χρήστο Νάκα για τις υποδείξεις του στην περιγραφή των στατιστικών αναλύσεων. Θα ήθελα

επίσης να εκφράσω και τις ευχαριστίες μου στην Υποψήφια Διδάκτορα κα. Ασημίνα Παπαδή - Ψύλλου για την βοήθειά της στην πραγματοποίηση των αναλύσεων.

Ευχαριστίες εκφράζονται και στο επιστημονικό προσωπικό της εταιρείας DowAgroSciences, και συγκεκριμένα στους Δρ. Άρη Χλωρίδη και Dr. James Dripps για τις υποδείξεις και παρατηρήσεις τους στην συγγραφή δημοσιευμάτων που προέκυψαν από την παρούσα διατριβή, καθώς και στον κ. Κωνσταντίνο Μαυρωτά και στον κ. Christopher Guy που μας παρείχαν τα σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν.

Επίσης, οφείλω να ευχαριστήσω τον Δρ. Χρήστο Ρούμπο και τον Dr. Ozgur Saglam για την βοήθειά τους κατά την εκτέλεση των πειραμάτων, καθώς επίσης και την υποψήφια διδάκτορα κα. Φωτούλα Τσαγανού για τις παρατηρήσεις της στο κείμενο της διατριβής και την βοήθειά της στην εκτέλεση των πειραμάτων. Ευχαριστώ επίσης τον Δρ. Κωνσταντίνο Ζάρπα για την συμβολή του στην ομαλή λειτουργία του Εργαστηρίου, δίνοντας άμεση λύση σε τεχνικά προβλήματα που παρουσιάστηκαν.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου για την συμπαράστασή τους, αλλά περισσότερο από όλους την σύζυγό μου Αντωνία Μανιάτη, που στεκόταν πάντα δίπλα μου, δίνοντάς μου δύναμη και κουράγιο, καθώς επίσης και την κόρη μου Θεοδώρα για την κατανόησή της στις αγκαλιές που της στέρησα για την ολοκλήρωση της παρούσας διατριβής.

*Στη σύζυγό μου Αντωνία και στην κόρη μου Θεοδώρα*

## Περιεχόμενα

Περίληψη .....	5
Summary .....	12
ΕΝΟΤΗΤΑ Α: ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	18
1. Γενικά.....	18
2. Έντομα αποθηκών.....	20
2.1 Γενικά.....	20
2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στις πειραματικές ενότητες.....	22
3. Μέθοδοι αντιμετώπισης εντόμων αποθηκών.....	27
3.1 Χημικές μέθοδοι.....	28
3.2 Φυσικές - Μηχανικές μέθοδοι.....	30
3.3 Βιολογικές και άλλες συναφείς μέθοδοι .....	34
4. Οι σπινοςίνες και εντομοκτόνος δράση τους .....	37
4.2 Spinosad .....	38
4.3 Spinetoram .....	41
5. Σκοπός της παρούσας μελέτης.....	45
Ενότητα Β: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΟΤΗΤΕΣ.....	48
1. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι .....	48
1.1 Διαδικασία Εκτροφών .....	48
2. Αξιολόγηση της εντομοκτόνου δράσης του spinetoram για την αντιμετώπιση των <i>Rhyzopertha dominica</i> , <i>Prostephanus truncatus</i> , <i>Sitophilus oryzae</i> , <i>Sitophilus granarius</i> , <i>Tribolium confusum</i> και <i>Oryzaephilus surinamensis</i> .....	50
2.1 Εσαγωγή.....	50
2.2 Υλικά και μέθοδοι.....	51
2.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών.....	51
2.2.2 Εφαρμογή του spinetoram .....	51
2.2.3 Βιοδοκιμές .....	52
2.2.4 Ανάλυση δεδομένων.....	53
2.3 Αποτελέσματα.....	53
2.3.1 Θνησιμότητα.....	53
2.3.2 Παραγωγή απογόνων.....	59
2.4 Συζήτηση.....	60

3. Επίδραση των σύντομων εκθέσεων στο spinetoram για τα <i>Rhyzopertha dominica</i> , <i>Sitophilus oryzae</i> και <i>Tribolium confusum</i> .....	64
3.1 Εισαγωγή.....	64
3.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	66
3.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών.....	66
3.2.2 Εφαρμογή του spinetoram.....	66
3.2.3 Βιοδοκιμές.....	67
3.2.4 Ανάλυση Δεδομένων.....	67
3.3 Αποτελέσματα.....	68
3.3.1 Άμεση θνησιμότητα.....	68
3.3.2 Καθυστερημένη θνησιμότητα.....	69
3.3.3 Παραγωγή απογόνων.....	73
3.4 Συζήτηση.....	77
4. Επίδραση της άνισης κατανομής του spinetoram στη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων των <i>Rhyzopertha dominica</i> , <i>Sitophilus oryzae</i> και <i>Tribolium confusum</i> σε σιτάρι και ρύζι.....	82
4.1 Εισαγωγή.....	82
4.2 Υλικά και μέθοδοι.....	83
4.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών.....	83
4.2.2 Εφαρμογή του spinetoram.....	84
4.2.3. Ανάλυση δεδομένων.....	85
4.3 Αποτελέσματα.....	86
4.3.1 Εφαρμογή του εντομοκτόνου σε στρώσεις.....	86
4.3.2 Ποσοστιαία εφαρμογή εντομοκτόνου.....	94
4.4 Συζήτηση.....	99
5. Επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα του spinetoram για τα είδη <i>Sitophilus oryzae</i> , <i>Rhyzopertha dominica</i> και <i>Tribolium confusum</i> .....	105
5.1 Εισαγωγή.....	105
5.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	106
5.2.1 Έντομα και Υποστρώματα βιοδοκιμών.....	106
5.2.2 Εφαρμογή του spinetoram.....	106
5.2.3 Βιοδοκιμές.....	107
5.2.4 Ανάλυση δεδομένων.....	107

5.3 Αποτελέσματα.....	108
5.3.1 Θνησιμότητα του <i>R. dominica</i> .....	108
5.3.2 Θνησιμότητα του <i>S. oryzae</i> .....	110
5.3.3 Θνησιμότητα του <i>T. confusum</i> .....	111
5.3.4 Παραγωγή απογόνων.....	112
5.4 Συζήτηση.....	114
6. Υπολειμματική δράση και αποτελεσματικότητα του spinetoram εναντίον των <i>Rhyzopertha dominica</i> , <i>Sitophilus oryzae</i> και <i>Tribolium confusum</i> σε σιτάρι.....	117
6.1 Εισαγωγή.....	117
6.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	118
6.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών.....	118
6.2.2 Εφαρμογή του spinetoram .....	118
6.2.3 Βιοδοκιμές .....	119
6.2.4 Προσδιορισμός υπολειμμάτων .....	119
6.2.5 Ανάλυση δεδομένων.....	122
6.3 Αποτελέσματα.....	122
6.3.1 Θνησιμότητα εντόμων .....	122
6.3.2 Παραγωγή απογόνων.....	128
6.3.3 Υπολειμματική δράση του spinetoram .....	130
6.4 Συζήτηση.....	130
7. Επίδραση του είδους του δημητριακού στην αποτελεσματικότητα του spinetoram εναντίον των <i>Rhyzopertha dominica</i> , <i>Sitophilus granarius</i> και <i>Sitophilus oryzae</i>	134
7.1 Εισαγωγή.....	134
7.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	135
7.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών.....	135
7.2.2 Εφαρμογή του spinetoram .....	136
7.2.3 Βιοδοκιμές .....	136
7.2.4 Εκχύλιση εντομοκτόνου και προσδιορισμός υπολειμμάτων.....	137
7.2.5 Ανάλυση δεδομένων.....	137
7.3 Αποτελέσματα.....	138
7.3.1 <i>R. dominica</i> .....	138
7.3.2 <i>S. granarius</i> .....	142
7.3.3 <i>S. oryzae</i> .....	143



7.3.4 Προσδιορισμός υπολειμμάτων του spinetoram.....	144
7.4 Συζήτηση.....	145
8. Αποτελεσματικότητα του spinetoram σε διαφορετικές επιφάνειες για τα <i>Sitophilus granarius</i> , <i>Sitophilus oryzae</i> , <i>Rhizopertha dominica</i> , <i>Tribolium confusum</i> , <i>Oryzaephilus surinamensis</i> και <i>Cryptolestes ferrugineus</i> .....	150
8.1 Εισαγωγή.....	150
8.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	151
8.2.1 Έντομα.....	151
8.2.2 Εφαρμογή εντομοκτόνου.....	152
8.2.3 Επιφάνειες.....	152
8.2.4 Βιοδοκιμές.....	153
8.2.5 Ανάλυση Δεδομένων.....	154
8.3 Αποτελέσματα.....	154
8.3.1 Αποτελεσματικότητα στο τσιμέντο.....	154
8.3.2 Σύγκριση των διαφόρων επιφανειών.....	160
8.4 Συζήτηση.....	163
9. Υπολειμματική δράση του spinetoram σε επιφάνειες τσιμέντου και μετάλλου για τα <i>Sitophilus oryzae</i> , <i>Tribolium confusum</i> και <i>Oryzaephilus surinamensis</i> .....	167
9.1 Εισαγωγή.....	167
9.2 Υλικά και Μέθοδοι.....	169
9.2.1 Έντομα και εφαρμογή του εντομοκτόνου.....	169
9.2.2 Επιφανειακές εφαρμογές και βιοδοκιμές.....	170
9.2.3 Ανάλυση Δεδομένων.....	171
9.3 Αποτελέσματα.....	171
9.3.1 Θνησιμότητα του <i>S. oryzae</i> .....	171
9.3.2 Θνησιμότητα του <i>T. confusum</i> .....	174
9.3.3 Θνησιμότητα του <i>O. surinamensis</i> .....	176
10. Ανακεφαλαίωση, Συμπεράσματα, Εφαρμογές.....	183
11. Προοπτικές Νέας Έρευνας.....	186
12. Βιβλιογραφία.....	188

## Περίληψη

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα της δραστικής ουσίας (δ.ο.) spinetoram (μείγμα τροποποιημένων σπινουσινών J και L, μεταβολίτες του βακτηρίου *Saccharopolyspora spinosa*) εναντίον εντόμων αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων. Η αξιολόγηση της αποτελεσματικότητάς της έγινε ακολουθώντας μια σειρά πειραματικών ενότητων (8 ενότητες) με τη μέθοδο των εργαστηριακών βιοδοκιμών, είτε με απευθείας εφαρμογή του εντομοκτόνου στο προϊόν είτε με την εφαρμογή του σε επιφάνειες, κατά επιζήμιων ειδών κολεοπτέρων αποθηκών. Μελετήθηκε, επίσης, η επίδραση ορισμένων βιοτικών (είδος δημητριακού) και αβιοτικών παραγόντων (θερμοκρασία και υγρασία) στην αποτελεσματικότητα του εντομοκτόνου και έγινε μελέτη της υπολειμματικής δράσης του. Ειδικότερα, στην πρώτη πειραματική ενότητα, το spinetoram αξιολογήθηκε στις συγκεντρώσεις των 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2, 5 και 10 ppm (mg δ.ο./kg δημητριακού) εναντίον των *Rhizopertha dominica*, *Prostephanus truncatus*, *Tribolium confusum*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Sitophilus oryzae* και *Sitophilus granarius* στο στάδιο του ακμαίου. Η έκθεση των εντόμων στα ψεκασμένα με spinetoram δημητριακά και η μέτρηση της θνησιμότητας έγινε στα χρονικά διαστήματα 1, 2, 7, 14 και 21 ημέρες, ενώ 65 ημέρες μετά το τελευταίο χρονικό διάστημα έκθεσης μετρήθηκε ο αριθμός των απογόνων που παράχθηκαν. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα, τα *P. truncatus* και *R. dominica* ήσαν με διαφορά τα πιο ευαίσθητα, δεδομένου ότι η θνησιμότητα τους στη συγκέντρωση 0.1 ppm ήταν κοντά στο 100% μετά από 7 ημέρες έκθεσης και η παραγωγή απογόνων ήταν αμελητέα. Από την άλλη πλευρά, το *T. confusum* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο, δοθέντος του ότι η θνησιμότητα έφθασε το 95% μόνο στα 10 ppm και μετά από 14 ημέρες έκθεσης. Ομοίως, το *O. surinamensis* ήταν μετρίως ευαίσθητο στο spinetoram με θνησιμότητα που άγγιξε το 95% μόνο μετά από 14 ημέρες έκθεσης του σε σιτάρι ψεκασμένο με 5 ppm. Παρ' όλα αυτά, η εμφάνιση απογόνων των ειδών αυτών ήταν εξαιρετικά χαμηλή. Για τα *S. granarius* και *S. oryzae*, θνησιμότητα 100% καταγράφηκε μετά από 14 ημέρες έκθεσης στα 0.5 και 1 ppm, αντίστοιχα. Σε αυτές τις συγκεντρώσεις ή και σε μεγαλύτερες η παραγωγή απογόνων ήταν σημαντικά μειωμένη.

Στη δεύτερη ενότητα αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα δύο σκευασμάτων του spinetoram, σε μορφή βρέξιμων κόκκων (WG) και συμπυκνωμένου

εναιωρήματος (SC), εναντίον των *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum* μετά από σύντομη εκθέση στο εντομοκτόνο. Τα ακμαία των ανωτέρω ειδών εκτέθηκαν σε σιτάρι, στο οποίο είχε εφαρμοστεί spinetoram σε συγκέντρωση 1 ppm, για διαστήματα 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40 και 72 ωρών κατά τα οποία καταγράφηκε η θνησιμότητα (άμεση θνησιμότητα). Στη συνέχεια τα επιζώντα ακμαία μεταφέρθηκαν στο μη ψεκασμένο σιτάρι και η θνησιμότητα τους καταγράφηκε 7 ημέρες αργότερα (καθυστερημένη θνησιμότητα). Ο αριθμός παραγωγής απογόνων στο μη ψεκασμένο σιτάρι μετρήθηκε 65 ημέρες αργότερα. Από τα είδη που ελέγχθηκαν το *R. dominica* ήταν μακράν το πιο ευαίσθητο, δεδομένου ότι η άμεση και καθυστερημένη θνησιμότητα μετά από 72 ώρες έκθεσης έφτασε στο 44% και 97%, αντίστοιχα. Ταυτόχρονα, η παραγωγή απογόνων ήταν χαμηλή στα περισσότερα διαστήματα έκθεσης τα οποία ελέγχθηκαν. Αντιθέτως, για το *S. oryzae* η καθυστερημένη θνησιμότητα ήταν αμελητέα, με εξαίρεση το διάστημα έκθεσης των 72 ωρών στο σκεύασμα SC. Για το είδος αυτό το σκεύασμα spinetoram WG ήταν λιγότερο αποτελεσματικό από ότι το σκεύασμα SC. Ωστόσο, στις περισσότερες από τις περιπτώσεις που εξετάστηκαν, η παραγωγή απογόνων για το *S. oryzae* ήταν υψηλή. Τέλος, η θνησιμότητα των ακμαίων του *T. confusum* ήταν εξαιρετικά χαμηλή, ανεξάρτητα από το χρονικό διάστημα έκθεσης και τον τύπο του σκευάσματος.

Το «σενάριο» της άνισης κατανομής του spinetoram, που εξετάστηκε στην τρίτη πειραματική ενότητα, περιελάμβανε την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του spinetoram στο ρύζι και το σιτάρι, με την εφαρμογή του είτε σε στρώσεις είτε με ανάμειξη ψεκασμένων ποσοτήτων στη μάζα του δημητριακού, κατά των *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum*. Σε αυτή τη σειρά των βιοδοκιμών το spinetoram εφαρμόστηκε σε συγκέντρωση 1 ppm. Στην εφαρμογή σε στρώσεις ψεκασμένα δημητριακά με spinetoram τοποθετήθηκαν σε πλαστικά φιαλίδια (ύψους 8cm, διαμέτρου 3 cm) κατά τέτοιο τρόπο ώστε να δημιουργηθούν πέντε κατηγορίες ανάλογα με την ποσότητα της στρώσης του ψεκασμένου δημητριακού με spinetoram: χωρίς ψεκασμένη στρώση (μάρτυρας), πλήρης ψεκασμένη μάζα και με ψεκασμένο το πάνω μέρος της μάζας του δημητριακού στο φιαλίδιο κατά το 1/8, 1/4 και 1/2. Επίσης, δημιουργήθηκαν δύο κατηγορίες ανάλογα με την εισαγωγή των εντόμων: πριν ή μετά την τοποθέτηση του δημητριακού στα φιαλίδια. Στην εφαρμογή του spinetoram με ανάμειξη στη μάζα του δημητριακού τα φιαλίδια περιείχαν 20 g του

δημητριακού και χωρίστηκαν σε έξι κατηγορίες: τα φιαλίδια που περιείχαν μόνο το δημητριακό μάρτυρα και τα φιαλίδια που περιείχαν ποσοστό 5, 10, 25, 50 και 100% ψεκασμένου δημητριακού. Η θνησιμότητα των ακμαίων και στα δύο σενάρια αξιολογήθηκε μετά από 7 ημέρες έκθεσης, ενώ στο δεύτερο σενάριο, έγινε επιπλέον μέτρηση της θνησιμότητας μετά από 14 ημέρες έκθεσης. Από τα είδη που ελέγχθηκαν το *R. dominica* ήταν μακράν το πιο ευαίσθητο τόσο στην εφαρμογή σε στρώσεις όσο και στην εφαρμογή με ανάμειξη στη μάζα. Γενικά, στην εφαρμογή με στρώσεις η θνησιμότητα του *R. dominica* μειώθηκε με τη μείωση της ψεκασμένης στρώσης μέσα στα φιαλίδια, ανεξάρτητα από τον τρόπο εισαγωγής των εντόμων. Για το *S. oryzae* η θνησιμότητα των ακμαίων ήταν χαμηλότερη σε σύγκριση με το *R. dominica* και σε γενικές γραμμές η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη στο ρύζι σε σύγκριση με το σιτάρι, ακόμη και στην περίπτωση των σπόρων με τον καθολικό ψεκασμό. Για τα ακμαία του *T. confusum* η συνολική θνησιμότητα ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σύγκριση με αυτήν των *R. dominica* και *S. oryzae*. Στην εφαρμογή με ανάμειξη στη μάζα η θνησιμότητα του *R. dominica* ήταν εξαιρετικά υψηλή και μετά από 14 ημέρες έκθεσης με 5% ψεκασμένο δημητριακό ήταν 82-100%. Ωστόσο, η θνησιμότητα για το ρύζι ήταν σημαντικά χαμηλότερη από εκείνη του σιταριού. Για το *S. oryzae* η θνησιμότητα ήταν υψηλότερη στα φιαλίδια που περιείχαν 100% και 50% ψεκασμένο δημητριακό με spinetoram σε σύγκριση με τις άλλες εφαρμογές. Η παραγωγή απογόνων σε εφαρμογή με στρώσεις για το *R. dominica* αυξήθηκε με τη μείωση της στρώσης εφαρμογής και για τα δύο δημητριακά. Αντιθέτως, για το *S. oryzae* δεν υπήρχαν διαφορές στους αριθμούς των απογόνων μεταξύ των μεταχειρίσεων και για τα δυο δημητριακά, με εξαίρεση την πλήρη εφαρμογή στο σιτάρι. Στην εφαρμογή με ανάμειξη στη μάζα του δημητριακού η παραγωγή απογόνων αυξήθηκε με τη μείωση του ποσοστού των ψεκασμένων σπόρων.

Η επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα του spinetoram μελετήθηκε για τα ακμαία των *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum* στην τέταρτη ενότητα. Για το σκοπό αυτό διεξήχθησαν βιοδοκιμές σε σιτάρι, σε όλους τους συνδυασμούς τριών επιπέδων θερμοκρασίας (20, 25 και 30 °C) και δύο επιπέδων σχετικής υγρασίας (Σ.Υ.) (55 και 75%). Οι συγκεντρώσεις που χρησιμοποιήθηκαν ήσαν 0.1, 0.5 και 1 ppm και η θνησιμότητα των ακμαίων μετρήθηκε μετά από 7, 14 και 21 ημέρες έκθεσης, ενώ η παραγωγή

απογόνων καταγράφηκε 65 ημέρες αργότερα. Με βάση τις μετρήσεις θνησιμότητας και την παραγωγή απογόνων, το *R. dominica* ήταν ιδιαίτερα ευαίσθητο σε όλες τις συγκεντρώσεις του spinetoram. Επιπλέον, η θερμοκρασία και η Σ.Υ. δεν επηρέασαν τη θνησιμότητα. Το *S. oryzae* ήταν επίσης ευαίσθητο στο spinetoram σε συγκεντρώσεις  $\geq 0.5$  ppm. Η θνησιμότητα του *S. oryzae* αυξήθηκε σημαντικά με την αύξηση της θερμοκρασίας αλλά όχι σε όλους τους συνδυασμούς συγκεντρώσεων-Σ.Υ. Η θνησιμότητα των ακμαίων του *T. confusum* ήταν χαμηλή, δείχνοντας ότι το είδος αυτό δεν ήταν ευαίσθητο στο spinetoram, ανεξάρτητα από τις συνθήκες που εξετάστηκαν.

Στην πέμπτη πειραματική ενότητα, εξετάστηκε η υπολειμματική δράση και αποτελεσματικότητα του spinetoram. Ερευνήθηκε σε μηνιαία βάση και για μια περίοδο 8 μηνών η εντομοκτόνος δράση του spinetoram σε συγκεντρώσεις 0.1, 1 και 5 ppm στο σιτάρι, κατά των ακμαίων των *S. oryzae*, *R. dominica* και *T. confusum*. Οι βιοδοκιμές διεξήχθησαν σε ψεκασμένα ή απέκαστα δείγματα που ελήφθησαν από ποσότητες σιταριού που αποθηκεύτηκαν σε συνεχές σκοτάδι. Επιπροσθέτως, δείγματα σιταριού ελήφθησαν από την εφαρμογή των 5 ppm για την ανάλυση και τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων με υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC). Η θνησιμότητα στις βιοδοκιμές μετρήθηκε μετά από 7, 14 και 21 ημέρες έκθεσης, ενώ η εμφάνιση των απογόνων καταγράφηκε 65 ημέρες αργότερα. Το *R. dominica* ήταν το πιο ευαίσθητο είδος και ελέγχθηκε απόλυτα ακόμη και στη χαμηλότερη συγκέντρωση των 0.1 ppm μετά από 14 ημέρες έκθεσης, ενώ η παραγωγή απογόνων μειώθηκε σημαντικά σε σύγκριση με το μη ψεκασμένο σιτάρι. Το *S. oryzae* ελέγχθηκε αποτελεσματικά μόνο στα δύο υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης για το ίδιο χρονικό διάστημα της έκθεσης, ενώ η παραγωγή απογόνων μειώθηκε μόνο στα 5 ppm. Το *T. confusum* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο από τα είδη που εξετάστηκαν. Επιπλέον, για όλα τα είδη, τα επίπεδα θνησιμότητας παρέμειναν σταθερά για όλη την 8-μηνιαία περίοδο των βιοδοκιμών. Τα αποτελέσματα της ανάλυσης των υπολειμμάτων έδειξαν ότι το spinetoram ήταν σταθερό καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος (8 μήνες), χωρίς σημαντική αποικοδόμηση στο χρόνο στις συνθήκες του πειράματος (σκοτάδι).

Η επίδραση του είδους του δημητριακού εξετάστηκε στην έκτη ενότητα, τόσο για την αποτελεσματικότητα του spinetoram, όσο και την παρουσία των

υπολειμμάτων του στα διάφορα είδη δημητριακών. Η αποτελεσματικότητα του spinetoram εξετάστηκε κατά των ακμαίων των *R. dominica*, *S. granarius* και *S. oryzae* σε επτά είδη δημητριακών (σκληρό σιτάρι, μαλακό σιτάρι, βρώμη, σίκαλη, τριτικάλε, ρύζι και αραβόσιτο) στις συγκεντρώσεις των 0.1, 1 και 10 ppm. Επιπλέον τα υπολείμματα του spinetoram, αμέσως μετά τον ψεκασμό, στην συγκέντρωση των 10 ppm για κάθε δημητριακό ποσοτικοποιήθηκαν χρησιμοποιώντας την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης. Η θνησιμότητα των ακμαίων μετρήθηκε μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης, ενώ η εμφάνιση των απογόνων καταγράφηκε 65 ημέρες μετά το τελευταίο διάστημα έκθεσης. Μεταξύ των εξετασθέντων ειδών το *R. dominica* ήταν εξαιρετικά ευαίσθητο στο spinetoram για όλα τα δημητριακά που ελέγχθηκαν καθώς καταγράφηκε 100% θνησιμότητα μετά από 14 ημέρες έκθεσης στο 1 και στα 10 ppm. Το *S. granarius* ήταν γενικά πιο ευαίσθητο στο spinetoram από ότι το *S. oryzae*, ενώ και για τα δύο είδη η συγκέντρωση των 0.1 ppm δεν ήταν αποτελεσματική. Για τα δύο αυτά είδη η αποτελεσματικότητα του spinetoram διέφερε μεταξύ των δημητριακών που εξετάστηκαν. Σε γενικές γραμμές, η θνησιμότητα ήταν υψηλότερη στο σκληρό σιτάρι και για τα δύο είδη *Sitophilus* σε σύγκριση με τα άλλα δημητριακά, ενώ τα χαμηλότερα επίπεδα θνησιμότητας καταγράφηκαν στη βρώμη και στο μαλακό σιτάρι για το *S. granarius* και στον αραβόσιτο και το μαλακό σιτάρι για το *S. oryzae*. Η παραγωγή απογόνων ήταν χαμηλή στην περίπτωση του *R. dominica* και καταγράφηκε ως επί το πλείστον στο 0.1 ppm. Για τα *S. granarius* και *S. oryzae* η υψηλότερη παραγωγή απογόνων σημειώθηκε στο μαλακό σιτάρι. Ο προσδιορισμός υπολειμμάτων του spinetoram σε κάθε είδος δημητριακού στα 10 ppm, δεν έδειξε διαφορές στην συγκέντρωσή του μεταξύ των δημητριακών.

Στην έβδομη ενότητα αξιολογήθηκε με εργαστηριακές βιοδοκιμές σε τσιμέντο, κεραμικό πλακίδιο, μέταλλο και ξύλο η τοξικότητα του spinetoram. Η αποτελεσματικότητα του spinetoram εξετάστηκε σε συγκεντρώσεις 0.025 mg (δ.ο.) /cm<sup>2</sup>, 0.05 (δ.ο.) /cm<sup>2</sup> και 0.1 mg (δ.ο.) /cm<sup>2</sup> σε δύο σειρές βιοδοκιμών. Η πρώτη σειρά έλαβε χώρα σε επιφάνειες από τσιμέντο, με ακμαία των ειδών *R. dominica*, *S. oryzae*, *S. granarius*, *T. confusum*, *O. surinamensis* και *Cryptolestes ferrugineus*. Η δεύτερη σειρά έλαβε χώρα με τις ίδιες συγκεντρώσεις σε όλες τις επιφάνειες κατά των ακμαίων των ειδών *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum*. Στις δύο σειρές βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκε ίσος αριθμός τρυβλίων με και χωρίς τροφή. Η

θνησιμότητα μετρήθηκε ημερησίως για διάστημα 7 ημερών για το *T. confusum*, ενώ στη συνέχεια όλα τα ζώντα ακμαία απομακρύνθηκαν και μεταφέρθηκαν σε μη ψεκασμένες επιφάνειες με τροφή κάτω από τις ίδιες συνθήκες. Μετά την ολοκλήρωση των ημερησίων μετρήσεων μετρήθηκε η καθυστερημένη θνησιμότητα 7 ημέρες αργότερα. Για όλα τα άλλα είδη η θνησιμότητα μετρήθηκε μόνο μετά από 5 ημέρες έκθεσης. Τα αποτελέσματα της πρώτης σειράς των βιοδοκιμών έδειξαν ότι το *T. confusum* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο στο spinetoram σε επιφάνειες τσιμέντου. Αντιθέτως, όλα τα άλλα είδη βρέθηκαν να είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα στο spinetoram, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση του εντομοκτόνου και την παρουσία τροφής. Όσον αφορά τη σύγκριση των διαφόρων επιφανειών, τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης έδειξαν ότι, με εξαίρεση το *T. confusum*, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στη θνησιμότητα μεταξύ των επιφανειών. Με βάση τα παραπάνω, το spinetoram ήταν αποτελεσματικό εναντίον πολλών ειδών εντόμων σε διάφορους τύπους επιφανειών, ενώ η παρουσία τροφής δεν επηρέασε την αποτελεσματικότητά του, στις περισσότερες από τις περιπτώσεις που εξετάστηκαν.

Τέλος, στην όγδοη ενότητα εξετάστηκε η υπολειματική δράση και αποτελεσματικότητα του spinetoram σε συνθήκες φωτός και σκότους σε επιφάνειες τσιμέντου και μετάλλου κατά των *S. oryzae*, *T. confusum* και *O. surinamensis*. Το spinetoram εφαρμόστηκε σε συγκεντρώσεις 0.025 και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>, σε επιφάνειες μετάλλου που ήταν αποθηκευμένες σε συνεχές σκοτάδι και σε επιφάνειες τσιμέντου που αποθηκεύτηκαν είτε σε συνεχές σκοτάδι είτε σε φωτοπερίοδο 12:12 φως:σκοτάδι (L:D). Όλες οι επιφάνειες προσαρμόστηκαν στον πυθμένα τρυβλίων, ενώ η περίοδος αποθήκευσης ήταν 6 μήνες. Πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές σε μηνιαία χρονικά διαστήματα, με πρώτο αυτό αμέσως μετά τον ψεκασμό (7 βιοδοκιμές συνολικά), σε όλους τους τύπους επιφανειών και συνθήκες αποθήκευσης. Για κάθε βιοδοκιμή η θνησιμότητα των εκτεθειμένων ακμαίων εντόμων μετρήθηκε μετά από 3 και 7 ημέρες έκθεσης. Μεταξύ των εξετασθέντων ειδών το *T. confusum* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο, ανεξάρτητα από τον τύπο της επιφάνειας, τις συνθήκες αποθήκευσης και τη συγκέντρωση. Όσον αφορά τις βιοδοκιμές που διεξήχθησαν στις επιφάνειες που αποθηκεύονται στο σκοτάδι, το spinetoram αποδείχθηκε ιδιαίτερα αποτελεσματικό, ενώ δεν παρατηρήθηκε μείωση της αποτελεσματικότητάς του καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου. Επιπλέον, δεν υπήρχαν διαφορές στην

αποτελεσματικότητα του spinetoram μεταξύ των δύο τύπων επιφανειών. Από την άλλη πλευρά, σε συνθήκες φωτισμού (εναλλαγής φωτός και σκότους) η αποτελεσματικότητα του spinetoram ήταν σημαντικά μειωμένη μετά τον πρώτο μήνα, αλλά παρέμεινε σταθερή για το υπόλοιπο της περιόδου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το spinetoram είναι σταθερό με μεγάλη υπολειμματική αποτελεσματικότητα εναντίον των κυριότερων ειδών κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων και τροφίμων για τους πιο κοινούς τύπους των επιφανειών σε συνεχές σκοτάδι, ενώ η παρουσία φωτός μείωσε την αποτελεσματικότητά του.

Γενικά, πρόκειται για την πρώτη αξιολόγηση του spinetoram για έντομα αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων με βάση συγκεκριμένα πειραματικά πρωτόκολλα, τα οποία αντιστοιχούν σε αντίστοιχα σενάρια και συνθήκες αποθήκευσης των δημητριακών. Με βάση τα στοιχεία της παρούσας μελέτης το spinetoram είναι ένα αποτελεσματικό εντομοκτόνο κατά μεγάλου εύρους εντόμων στα μετασυλλεκτικά στάδια των αγροτικών προϊόντων, ενώ η αποτελεσματικότητά του αυτή δεν φαίνεται να επηρεάζεται αισθητά από ορισμένους από τους βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες που εξετάστηκαν.



## Summary

Spinetoram is a novel insecticide, mixture of two synthetically modified natural spinosyns (spinosyn J and spinosyn L) produced by the bacterium *Saccharopolyspora spinosa*. In the present Thesis, the efficacy of spinetoram against major stored grain beetle species was examined based on laboratory bioassays with a series of eight experimental protocols. In these protocols, the insecticidal efficacy of spinetoram was examined either through the direct application of the insecticide on the product or through the application on surfaces. Furthermore, the effect of several biotic (type of the grain, target species) and abiotic factors (temperature and humidity) on the effectiveness of spinetoram was also studied. Experimental protocols were also carried out to determine the residues and the residual efficacy of spinetoram.

In the first series of experiments, we evaluated spinetoram as a grain protectant, against six major stored-product beetle species (Coleoptera): the rice weevil, *Sitophilus oryzae*, the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*, the larger grain borer, *Prostephanus truncatus*, the confused flour beetle, *Tribolium confusum*, the granary weevil, *Sitophilus granarius* and the sawtoothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis*. All species were tested at the adult stage, on wheat treated with spinetoram concentrations of 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2, 5 and 10 ppm (mg/kg of grain), with the exception of *P. truncatus* where the tested grain was maize. Mortality was recorded after 1, 2, 7, 14 and 21 d of exposure, while 65 d later wheat and maize were examined for offspring emergence. Among the species examined, *P. truncatus* and *R. dominica* were by far the most susceptible, given that mortality was close to 100% after 7 d on wheat treated with 0.1 ppm of spinetoram. At this concentration, progeny production of *P. truncatus* and *R. dominica* was negligible and less than 4 adults per vial. On the other hand, *T. confusum* was the least susceptible, since mortality reached 95% only at 10 ppm, and only after 14 d of exposure. Similarly, *O. surinamensis* was moderately susceptible to spinetoram; for this species, mortality reached 95% only after 14 d of exposure on wheat treated with 5 ppm. Nevertheless, offspring emergence of these species was extremely low. For *S. granarius* and *S. oryzae*, complete (100%) mortality was recorded after 14 d of exposure, at 0.5 and 1 ppm, respectively. At these concentrations, or even at higher concentrations, progeny production was significantly suppressed, as compared with the control (untreated)

grains. The results of the present study demonstrate that spinetoram is effective as a grain protectant, but its efficacy varies according to the target species, concentration and exposure interval.

In the second series of experiments, the effectiveness of two formulations of spinetoram, water dispersible granules (WG) and suspension concentrate (SC), against *R. dominica*, *S. oryzae* and *T. confusum* was evaluated. Adults of the above species were exposed on wheat treated with spinetoram at 1 ppm for 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40 and 72 h. After this interval, mortality was recorded (immediate mortality) and the surviving individuals were transferred in untreated wheat, where mortality was recorded again 7 d later (delayed mortality). Then, all adults were removed, and the number of progeny production in the untreated substrate was measured 65 d later. From the species tested, *R. dominica* was by far the most susceptible, given that immediate and delayed mortality for the 72-h exposure interval reached 44 and 97 %, respectively. At the same time, progeny production was low (<2 adults per vial) in most of the exposure intervals tested. In contrast, for *S. oryzae*, delayed mortality was negligible, with the exception of 72 h at the SC formulation. In most of the cases examined, progeny production for *S. oryzae* was high. Finally, adult mortality for *T. confusum* was extremely low, regardless of the exposure interval and the type of the formulation. Nevertheless, offspring emergence of this species was low.

In the third series of experiments, laboratory bioassays were carried out in order to evaluate the effectiveness of spinetoram on rice and wheat in “layer” and “mixture treatment” applications against *R. dominica*, *S. oryzae* and *T. confusum*. Spinetoram was applied at 1 ppm. In the layer treatment the grain was placed in vials (8 cm high, 3 cm in diameter); in those vials there were five categories of grain: untreated (control), totally-treated, and with the upper 1/8, 1/4 and 1/2 of the grain mass treated. Also, there were two categories of insect introduction into the vial: before or after the grain placement. In the mixture treatment, the vials contained 20 g of grain divided into six categories: vials that contained untreated grain (control) and vials that contained 5, 10, 25, 50 and 100% of treated grains. Mortality was assessed after 14 d for the layer treatment and after 7 and 14 d for the mixture treatment. After this interval, all adults were removed, and progeny production was measured 65 d later. From the species tested, *R. dominica* was by far the most susceptible in both

treatments. Generally, in the layer treatment, mortality of *R. dominica* was reduced with the size of the treated layer in the vials. Also, mortality was significantly lower when the exposed *R. dominica* adults had been placed before the introduction of the grain. For *S. oryzae*, mortality was lower in comparison with *R. dominica* and in general, mortality was lower on rice than on wheat, even in the case of totally-treated grains. Survival of *T. confusum* was considerably higher than the other two species tested. In the mixture treatment, mortality of *R. dominica* was 82-100% on commodities that contained 5% treated grain, after 14 d of exposure. Again, mortality was considerably lower on rice than on wheat. For *S. oryzae*, mortality was higher in vials containing totally-treated or 50% treated kernels, in comparison with the other treatments. Progeny production of *R. dominica* in the layer treatment increased with the reduction of the treated layer for both commodities. In contrast, for *S. oryzae*, there were no differences in progeny production counts between treated and untreated grains, with the exception of totally-treated wheat. In the mixture treatment, progeny production increased with the reduction of the percentage of the treated grains.

The effect of temperature and relative humidity (r.h.) on the efficacy of spinetoram was investigated in the fourth experimental series. Laboratory bioassays were conducted on wheat in all combinations of three temperatures (20, 25 and 30 °C) and two r.h. levels (55 and 75%). The rates spinetoram used were 0.1, 0.5 and 1 ppm, and the insects tested were adults of *R. dominica*, *S. oryzae* and *T. confusum*. Mortality was assessed after 7, 14 and 21 d of exposure, and progeny production of the first two species was recorded 65 d later. Based on both mortality and progeny production counts, *R. dominica* was highly susceptible to all doses of spinetoram. Moreover, the tested temperature and r.h. had little effect on *R. dominica* adult mortality. *Sitophilus oryzae* was also susceptible to spinetoram at dose rates  $\geq 0.5$  ppm. For this species, mortality increased significantly with an increase of temperature, but not in all dose-r.h. combinations. Adult mortality of *T. confusum* was low, which indicated that this species was not susceptible to spinetoram, regardless of the conditions examined.

In the fifth series of experiments, the persistence and efficacy of spinetoram was studied. The insecticidal efficacy of spinetoram at concentrations of 0.1, 1 and 5 ppm on wheat was investigated against the adults of *S. oryzae*, *R. dominica* and *T.*

*confusum* on a monthly basis for a period of 8 months in laboratory conditions. Bioassays were conducted with treated or untreated samples that were taken from lots stored in continuous darkness, while additional wheat samples were taken from the 5 ppm treatment for residue analysis. Mortality in the bioassays was assessed after 7, 14 and 21 days of exposure and progeny emergence was recorded 65 days later. *Rhyzopertha dominica* was the most susceptible species and was totally controlled even at the lowest concentration of 0.1 ppm after 14 days of exposure, while progeny production was also suppressed in comparison with untreated wheat. On the other hand, *S. oryzae* was effectively controlled only at the two higher concentrations for the same exposure interval while progeny production was reduced only at 5 ppm. *Tribolium confusum* was the least susceptible of the species tested. Moreover, for all species, mortality levels remained stable for the whole 8-month testing period. The residue analysis results showed that spinetoram was stable throughout the entire experimental period (8 months), without a noticeable degradation with time of the storage.

The effect of grain type in the insecticidal efficacy of spinetoram, as well as spinetoram residues on different grains were investigated in the sixth experimental series. For this purpose, the efficacy of spinetoram at 0.1, 1 and 10 ppm against adults of *R. dominica*, *S. granarius* and *S. oryzae* on hard wheat, soft wheat, oats, rye, triticale, paddy rice and maize was evaluated. Spinetoram residues in each grain were quantified using high-performance liquid chromatography (HPLC). Mortality of the exposed adults was assessed after 7 and 14 d of exposure while progeny emergence was recorded 65 d after the last exposure interval (14 d). Among the tested species, *R. dominica* was highly susceptible to spinetoram for all commodities tested, since 100% mortality was noted after 14 d of exposure at 1 and 10 ppm. From the two *Sitophilus* species, *S. granarius* was more susceptible to spinetoram than *S. oryzae*, while for both species 0.1 ppm was not effective. Also, for these two species, spinetoram efficacy differed among the tested commodities. In general, mortality was higher in hard wheat for both *Sitophilus* species in comparison with the other grains, while the lowest mortality levels were recorded in oats and soft wheat for *S. granarius* and in maize and soft wheat for *S. oryzae*. Progeny production was low in the case of *R. dominica*, and F1 adult emergence was recorded mostly at 0.1 ppm. For both *S.*

*granarius* and *S. oryzae*, the highest progeny production was noted in soft wheat. Spinetoram residue determination in each grain at the dose rate of 10 ppm, did not show any differences among the treated commodities.

In the seventh series of experiments, the contact toxicity of spinetoram was evaluated in laboratory bioassays on concrete, ceramic tile, galvanized steel, and plywood. The efficacy of spinetoram was assessed at dose rates of 0.025 mg (AI)/cm<sup>2</sup>, 0.05 mg (AI)/cm<sup>2</sup>, and 0.1 mg (AI)/cm<sup>2</sup> in two series of bioassays. The first series was conducted on concrete surfaces, with adults of *R. dominica*, *S. oryzae*, *S. granarius*, *T. confusum*, *O. surinamensis* and *Cryptolestes ferrugineus*. The second series was conducted at the same dose rates on all surfaces against adults of *R. dominica*, *S. oryzae* and *T. confusum*. An equal number of dishes with and without food were used in both bioassay series. Mortality was assessed daily for 7 days for *T. confusum* and after this interval all live adults were removed and transferred to untreated surfaces with food and held under the same conditions. After the first week of exposure, delayed mortality was evaluated 7 days later on untreated substrates. For all the other species, mortality was measured after 5 days of exposure. The results of the first series of bioassays showed that *T. confusum* was the least susceptible to spinetoram-treated concrete surfaces. In contrast, all the other species were found susceptible, regardless of the dose and the presence of food. Regarding the comparison of different surfaces, our results illustrate that, with the exception of *T. confusum*, there were no significant differences among surfaces. The results of this study indicate that spinetoram was effective against various species on several types of surfaces, and the presence of food did not influence its efficacy in most cases.

Finally, in the eighth series of experiments, the residual efficacy of spinetoram on concrete and galvanized steel surfaces was evaluated under fixed laboratory conditions against *S. oryzae*, *T. confusum* and *O. surinamensis*. Spinetoram was applied at the dose rates of 0.025 and 0.1 mg (AI)/cm<sup>2</sup>, on steel surfaces that were stored in continuous darkness and on concrete surfaces that were stored either in continuous darkness or in 12:12 Light:Dark (L:D) photoperiod. All surfaces adjusted in petri dish bottoms, while storage period was six months. Bioassays were conducted for all types of surfaces and storage conditions at monthly intervals starting from the initial application period (7 bioassays in total). For each bioassay, mortality of the

exposed adult beetles was measured after 3 and 7 d of exposure. Among the tested species, *T. confusum* was the least susceptible, regardless of the surface type, storage conditions and dose rate. Regarding the bioassays conducted with the surfaces stored in darkness, spinetoram proved very persistent and no reduction in the efficacy was noted throughout the experimental period. Moreover, there were no differences in spinetoram efficacy between the two types of surfaces. On the other hand, in light conditions spinetoram efficacy was notably reduced after the first month, but remained stable for the rest of the period. The results of the present study indicate that spinetoram was persistent with long residual efficacy against major stored grain beetle species on the most common types of surfaces in continuous darkness, while the presence of light reduced its efficacy.

In general, the present study is a first attempt to assess the insecticidal effect of spinetoram for the control of major stored product beetle species, according to specific experimental protocols, which correspond to “real world” storage conditions. Based on our results, spinetoram was effective against a wide range of major stored product insect species, but its efficacy is moderated by several biotic and abiotic factors, such as temperature, relative humidity, commodity etc. At the same time, spinetoram provided good control when applied on different surfaces, while its residual effect was not seriously affected in most of the cases tested. Overall, the results of the present study document that this insecticide can be used with success in stored product protection, and are expected to encourage its further registration and use.

## ΕΝΟΤΗΤΑ Α: ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### 1. Γενικά

Τα δημητριακά αποτελούν για τον άνθρωπο και τα εκτρεφόμενα ζώα την βάση της διατροφής τους. Σιτάρι, καλαμπόκι, κριθάρι, βρώμη και σίκαλη, αποτελούν την πρώτη ύλη για πολλούς κλάδους της βιομηχανίας τροφίμων (π.χ αλευροβιομηχανία, αρτοποιία, ζαχαροπλαστική, μακαρονοποιία, παιδικές τροφές), και ποτών (ζυθοποιία, αποσταγματοποιία), καθώς και της βιομηχανίας ζωοτροφών. Εξελικτικά, όπως αναφέρει ο Diamond (2007), η «ανακάλυψη» από τον άνθρωπο της καλλιέργειας των λεγόμενων «μικρών δημητριακών», όπως το σιτάρι και το κριθάρι, ήταν ίσως η κυριότερη αιτία για την επέκταση της γεωργίας και την μετατροπή του ανθρώπου από κυνηγό-τροφοσυλλέκτη σε παραγωγό τροφής. Ο Cordain (1999) αναφέρει ότι οκτώ δημητριακά, δηλ. το σιτάρι, ο αραβόσιτος, το ρύζι, το κριθάρι, το σόργο, η βρώμη, η σίκαλη και το κεχρί δίνουν το 56% της ενέργειας που παίρνουμε από την τροφή και το 50% της πρωτεΐνης που καταναλώνεται στη γη, ενώ από αυτά τα δημητριακά το σιτάρι, ο αραβόσιτος και το ρύζι αποτελούν τουλάχιστον το 75% της παγκόσμιας παραγωγής δημητριακών. Για το λόγο αυτό, παγκοσμίως, η καλλιέργεια των δημητριακών καταλαμβάνει μεγάλες εκτάσεις καλλιεργήσιμης έκτασης, ενώ για την προστασία τους καταναλώνονται μεγάλες ποσότητες φυτοπροστατευτικών προϊόντων. Σύμφωνα με τα στοιχεία του FAO, για το 2014, παγκοσμίως παρήχθησαν 2.534 εκατομμύρια τόνοι δημητριακών, με κυριότερες περιοχές παραγωγής αυτές της Βόρειας Αμερικής, της Ρωσίας και της Κίνας. Η παραγωγή των δημητριακών λόγω κλιματικών, οικονομικών και άλλων παραγόντων μεταβάλλεται από περιοχή σε περιοχή και από χρόνο σε χρόνο, ενώ η ζήτηση τους παραμένει σταθερή. Το γεγονός αυτό κάνει επιτακτική την αποθήκευση των δημητριακών για διάστημα πάνω από 8 μήνες, καθώς και την μεταφορά τους από περιοχές με περισσότερη παραγωγή σε περιοχές με μικρή ή ελάχιστη παραγωγή. Επιπροσθέτως, η παραγωγή, αποθήκευση και δυνατότητα μεταφοράς δημητριακών σχετίζεται άμεσα με το φάσμα της πείνας στον πλανήτη, καθώς και με την οικονομική ευμάρεια ορισμένων περιοχών, καθώς η αποθήκευση των δημητριακών είναι σχετικά απλή, δηλ. δεν απαιτεί εξειδικευμένο εξοπλισμό ή συνθήκες, όπως γίνεται σε άλλες κατηγορίες τροφίμων. Κατά την αποθήκευσή τους τα δημητριακά

δημιουργούν ένα κλειστό οικοσύστημα, στο οποίο συνυπάρχουν ζωικοί εχθροί, όπως τρωκτικά, έντομα και ακάρεα, που προκαλούν απώλειες στο προϊόν, με ποσοτική και ποιοτική υποβάθμιση (White, 1995). Έχει βρεθεί ότι στα έντομα οφείλεται το 10% των απωλειών των δημητριακών στις αναπτυγμένες χώρες, ενώ το ποσοστό αυτό αυξάνεται σε περίπου 30% στις αναπτυσσόμενες χώρες (Σταμόπουλος, 2008). Επίσης αναφέρεται, ότι ο μηδενισμός των απωλειών αυτών, θα μπορούσε να δημιουργήσει το απαιτούμενο απόθεμα για την κάλυψη των αναγκών σε δημητριακά των υποσιτισμένων χωρών (Sinha, 1995). Η προστασία λοιπόν των δημητριακών κατά την διάρκεια της αποθήκευσης τους, αποτελεί βασική προϋπόθεση για την ποσοτική επαρκειά τους, αλλά και την ποιοτική σταθερότητά τους. Οι αναφορές για την ύπαρξη των εντόμων αποθηκών όπως τα *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) και *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) και τη σύνδεσή τους με τις ανθρώπινες δραστηριότητες χρονολογούν την ύπαρξη τους στα 2.300 χρόνια π.Χ. με βάση ανασκαφές σε αιγυπτιακές πυραμίδες (Panagiotakopulu, 2001). Στο πλαίσιο της παρουσίας των εντόμων, ο άνθρωπος από χρόνια προσπαθεί με διάφορους τρόπους να προστατεύσει τις αποθηκευμένες ποσότητες δημητριακών. Στην Ινδία και την Αμερική χρησιμοποιήθηκαν ήδη από την προϊστορική περίοδο εκχυλίσματα των φυτών *Darris*, *Nicotiniana* και *Ryania* (Khater, 2012), ενώ μετά τον δεύτερο παγκόσμιο πόλεμο άρχισαν να χρησιμοποιούνται κατά κόρον χημικά συνθετικά εντομοκτόνα, τα οποία ήταν αποτελεσματικότερα από τα εκχυλίσματα τόσο των φυτών που προαναφέρθηκαν όσο και άλλων όπως του *Chrysanthemum cinerariaefolium* (φυσικό πύρεθρο) και του *Azadirachta indica* (αζαντιραχτίνη) σε χαμηλές συγκεντρώσεις, πιο δραστικά και άμεσα διαθέσιμα. Ωστόσο, η ευρεία και αλόγιστη χρήση τους είχε αρνητικά αποτελέσματα τόσο στον άνθρωπο όσο και το περιβάλλον, κάτι που πολλές φορές αποδείχθηκε και εκ' των υστέρων. Χαρακτηριστικό παράδειγμα στα αποθηκευμένα δημητριακά αποτελεί η χρήση του βρωμιούχου μεθυλίου, ενός πολύ αποτελεσματικού αερίου εντομοκτόνου, του οποίου η χρήση απαγορεύτηκε σχετικά πρόσφατα με την συνθήκη του Μόντρεαλ, λόγω της δυσμενούς επίπτωσής του στο όζον και κατ' επέκταση στο περιβάλλον (Bell, 2000). Ομοίως, και άλλες δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν ευρύτατα κατά το παρελθόν στα μετασυλλετικά στάδια των δημητριακών, έχουν αποσυρθεί ή βρίσκονται υπό κατάργηση, λόγω της υψηλής τους τοξικότητας για τον άνθρωπο και τα θερμόαιμα, αλλά και των επιπτώσεών τους στο περιβάλλον (Arthur, 1996).



Επιπροσθέτως, πολλά είδη εντόμων δημητριακών έχουν αναπτύξει σε σημαντικό βαθμό ανθεκτικότητα σχεδόν σε όλες τις «παραδοσιακές» δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται στα μετασυλλετικά στάδια όπως τα συνθετικά πυρεθροειδή, τα οργανοφωσφορικά και η φωσφίνη (Collins, 2006).

Τα τελευταία χρόνια καταβάλλεται σημαντική προσπάθεια εύρεσης και αξιολόγησης νέων εντομοκτόνων ουσιών για την προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων. Τα κύρια επιθυμητά χαρακτηριστικά αυτών των δραστικών ουσιών, είναι η χαμηλή τοξικότητά τους στα θηλαστικά και στις μέλισσες, η μεγάλη αποτελεσματικότητά τους σε χαμηλές δόσεις και η μεγάλη υπολειμματική διάρκειά τους. Στο πλαίσιο της διερεύνησης νέων ενεργών συστατικών στην προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων, στην παρούσα διδακτορική διατριβή έγινε ευρεία αξιολόγηση του εντομοκτόνου spinetoram σε εντόμα των αποθηκευμένων δημητριακών.

## **2. Έντομα αποθηκών**

### **2.1 Γενικά**

Ως έντομα αποθηκών σύμφωνα με το Μπουχέλο (1993), ορίζονται αυτά τα οποία προσβάλλουν και ζημιώνουν τα αποθηκευμένα προϊόντα, μπορούν δε να αναπτυχθούν και να παράξουν απογόνους μέσα στο κλειστό οικοσύστημα της αποθήκης. Στα έντομα αποθηκών περιλαμβάνονται κυρίως είδη κολεοπτέρων και λεπιδοπτέρων, τα οποία ανάλογα με την ικανότητα να προσβάλλουν ακέραιους σπόρους χωρίζονται σε πρωτεύοντα και δευτερεύοντα. Τα πρωτεύοντα έντομα αποθηκών, στα οποία περιλαμβάνονται είδη των οικογενειών *Bostrychidae*, *Curculionidae*, *Bruchidae* και το λεπιδίπτερο *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae), είναι αυτά που μπορούν να προσβάλλουν ακέραιους σπόρους, ενώ δευτερεύοντα αυτά που προσβάλλουν ήδη προσβεβλημένο προϊόν ή σπασμένους σπόρους (Μπουχέλος, 1993).

Εκτός από τις ποσοτικές απώλειες που προκαλούν τα έντομα αποθηκών στα προϊόντα και τα οποία φτάνουν όπως προαναφέρθηκε το 30%, η παρουσία τους στα αποθηκευμένα προϊόντα προκαλεί ποιοτική υποβάθμιση, που συνδέεται άμεσα και έμμεσα με δυσμενείς επιπτώσεις στην υγεία του ανθρώπου. Πολλά από τα έντομα

αποθηκών, κυρίως αυτά της οικογένειας Tenebrionidae, παράγουν τις χημικές ουσίες κινόνες, οι οποίες κατατάσσονται στις καρκινογόνες ουσίες (El-Mofty et al., 1992), ενώ σχετίζονται με αλλεργίες και δερματίτιδες. Έχει αναφερθεί ότι το *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) εκκρίνει δεκατρείς διαφορετικές κινόνες, ενώ από ένα ακμαίο παράγονται περίπου 400mg κινόνες (El-Mofty et al., 1989; 1992). Εκτός από τις κινόνες πολλά έντομα αποθηκών παράγουν πτητικά συστατικά, που προκαλούν δυσάρεστη οσμή και γεύση στο προσβεβλημένο προϊόν (Seitz and Sauer, 1996). Άμεση επίδραση των εντόμων αποθηκών στην υγεία των καταναλωτών και κυρίως των εργαζομένων στους αποθηκευτικούς χώρους προκαλούν και τα τεμαχίδια εντόμων, τα εκδύματα, οι τρίχες και τα αποχωρήματα τους, προκαλώντας κυρίως αλλεργικές αντιδράσεις όπως ρινίτιδα, δερματίτιδα και άσθμα. Για παράδειγμα εκχυλίσματα των *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) και *S. granarius* έδειξαν υψηλή αλλεργική δραστηριότητα στον άνθρωπο, όπως και η σκόνη προσβεβλημένων δημητριακών στις αποθήκες (Alanko et al., 2000; Herling et al., 1995), ενώ οι Trematerra et al. (2011a) ανέφεραν ότι το 75% των δειγμάτων σιμιγδαλιού που εξετάστηκαν βρέθηκε να περιέχει τεμαχίδια εντόμων. Άλλωστε, δεν είναι τυχαίο ότι η Υπηρεσία Τροφίμων και Φαρμάκων των ΗΠΑ (Food and Drug Administration - FDA), έχει θεσπίσει ανώτατα όρια παρουσίας τεμαχιδίων εντόμων στα τρόφιμα, ιδιαίτερα στα αμυλούχα προϊόντα (Perez-Mendoza et al., 2005). Σημαντική επιβάρυνση των αποθηκευμένων δημητριακών με επιπτώσεις στην υγεία των ανθρώπων προέρχεται από τις αφλατοξίνες και οχρατοξίνες που παράγονται από του μύκητες του γένους *Fusarium* και *Aspergillus* και προκαλούν τοξινώσεις και καρκινογενέσεις (Streit et al., 2012). Τα έντομα αποθηκών συμβάλουν έμμεσα στην ανάπτυξη, εξάπλωση, και επιμόλυνση των αποθηκευμένων δημητριακών με αφλατοξίνες, με τη μεταφορά και διασπορά των μυκήτων στην μάζα του δημητριακού. Η αύξηση της θερμοκρασίας και της υγρασίας που προκαλείται από την μεταβολική δραστηριότητα των εντόμων όπως και οι πύλες εισόδου που δημιουργούν στο σπόρο τρεφόμενα από αυτόν, ευνοούν επιπλέον την ανάπτυξη των μυκήτων. Σύμφωνα με τους Beti et al. (1995), αποθηκευμένος αραβόσιτος μολυσμένος με το μύκητα *Aspergillus flavus* Link, ο οποίος προσβλήθηκε από το *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) παρουσίασε υψηλότερα επίπεδα αφλατοξίνης από ότι ο μη προσβεβλημένος αραβόσιτος.

Τα κυριότερα έντομα στην Κεντρική Αμερική που προσβάλλουν τα δημητριακά κατά την διάρκεια της αποθήκευσης ανήκουν κυρίως στα κολεόπτερα και ειδικότερα στα είδη *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae), *S. oryzae*, *T. castaneum* και *Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Coleoptera: Silvanidae) (Hagstrum et al., 2010). Τα ίδια είδη εντόμων αποθηκών συναντώνται συχνότερα και στις αποθήκες δημητριακών στην Ελλάδα (Buchelos and Athanassiou, 1993; Athanassiou and Buchelos, 2001) και είναι αυτά που κυρίως αποτέλεσαν τα είδη που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές, και των οποίων ακολουθεί μια σύντομη παρουσίαση.

## 2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στις πειραματικές ενότητες

Η βιολογία και κάποια γενικότερα χαρακτηριστικά των ειδών που εξετάστηκαν έχει ως εξής:

### *Rhyzopertha dominica* (F.) (Εικόνα 1)

Είναι είδος κοσμοπολίτικο, ιδιαίτερης σημασίας για τις υποτροπικές και τροπικές ζώνες (Munro, 1966; Mallis, 1982). Μαζί με τα είδη του γένους *Sitophilus* χαρακτηρίζονται ως πρωτεύοντα είδη, και αποτελούν ιδιαίτερης σοβαρότητας εχθρούς των αποθηκευμένων δημητριακών, καθώς μπορούν να προσβάλλουν με ευκολία ακέραιους σπόρους (Howe, 1950; Thomson, 1966; Aitken, 1975). Στην Ελλάδα θεωρείται ως ένα από τα πολυπληθέστερα έντομα αποθηκών (Buchelos and Athanassiou, 1993), κυρίως σε αποθηκευμένο ρύζι και σιτάρι, ενώ προσβάλλει επίσης κριθάρι, καλαμπόκι, μπισκότα και άλλα συναφή αμυλούχα προϊόντα.



Εικόνα 1: Ακμαία του *Rhyzopertha dominica*

Όσον αφορά την βιολογία του, το θηλυκό αποθέτει τα ωά του μεμονωμένα ή σε ομάδες των 2 – 30 ωών μέσα ή πάνω στους σπόρους. Μετά την εκκόλαψη, η προνύμφη τρέφεται και ολοκληρώνει την ανάπτυξή της μέσα στο σπόρο. Σε ιδανικές συνθήκες θερμοκρασίας 30 – 34 °C και υγρασίας σπόρου 14%, η ολοκλήρωση της ανάπτυξής από ωό σε ακμαίο γίνεται σε διάστημα περίπου 25 ημερών (Σταμόπουλος, 2008). Ο συνολικός αριθμός των ωών που μπορεί να αποθέσει ένα θηλυκό είναι από 240 μέχρι 500. Η σημασία του εντόμου είναι μεγάλη, καθώς ο ρυθμός ανάπτυξης του πληθυσμού του εντόμου φτάνει τις 20 φορές το μήνα σε ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης, μπορεί και μετακινείται στην μάζα του δημητριακού έως και 12m (το μεγαλύτερο που αναφέρθηκε σε έντομο αποθηκών), και προκαλεί ποσοτική ζημιά στον προσβεβλημένο σπόρο που φτάνει το 17% του βάρους του (Edde, 2012).

#### *Prostephanus truncatus* (Horn) (Εικόνα 2)

Ανήκει και αυτό στην οικογένεια Bostrychidae, και αποτελεί είδος καραντίνας για πάρα πολλές χώρες παγκοσμίως (Tyler and Hodges, 2002). Αποτελεί το σημαντικότερο εντομολογικό εχθρό του αποθηκευμένου αραβοσίτου στην Αφρική, το Μεξικό και την Κεντρική Αμερική (Kumar, 2002).



Εικόνα 2: Ακμαία του *Prostephanus truncatus*

Η ανάπτυξη του εντόμου ευνοείται από την υψηλή θερμοκρασία και όταν δεν ενοχλείται από συχνές μετακινήσεις του προϊόντος μέσα στο χώρο της αποθήκης (ανάδευση κα.). Το θηλυκό εναποθέτει τα ωά στη στοά του σπόρου που διανοίγει, ενώ η εκκόλαψη σε ιδανικές συνθήκες λαμβάνει χώρα μετά από 4.1 ημέρες στους 32 °C και 70% σχετική υγρασία (Σ.Υ.) (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. 39 ημέρες (Bell and Watters, 1982; Hodges and Meik, 1984). Οι απώλειες σε αραβόσιτο είναι τόσο μεγάλες σε Αφρικανικές χώρες, που για μια περίοδο αποθήκευσης 6 μηνών ξεπερνούν το 35%, ποσοστό πολύ υψηλότερο από το 11% που ήταν πριν την εμφάνιση του εντόμου (Pantenius, 1988).

#### *Sitophilus oryzae* (L.) (Εικόνα 3)

Είναι κοσμοπολίτικο είδος, με ιδιαίτερη παρουσία στις τροπικές και υποτροπικές χώρες. Στην Ελλάδα αναφέρεται ως το πολυπληθέστερο έντομο στις αποθήκες δημητριακών με σημαντικές ζημιές σε σπόρους δημητριακών όπως σιτάρι, καλαμπόκι, κριθάρι κ.α. (Buchelos, 1985; Buchelos and Athanassiou, 1993; 1998).



Εικόνα 3: Ακμαίο του *Sitophilus oryzae*

Ο βιολογικός κύκλος του διαρκεί 38 – 40 ημέρες στους 22 °C, ενώ η διάρκειά του μειώνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας. Το θηλυκό ακμαίο γεννά 150-200 ωά στην διάρκεια της ζωής του, η οποία συνήθως δεν ξεπερνά τους 8 μήνες. (Σταμόπουλος, 2008). Χαρακτηρίζεται ως το πιο καταστροφικό έντομο των δημητριακών, και η ζημιά στον αραβόσιτο με μεγάλη προσβολή μπορεί να φτάσει το 100% (Singh et al., 1974; Champ and Dyte, 1976).

#### *Sitophilus granarius* (L.) (Εικόνα 4)

Η εξάπλωση του είναι παγκόσμια, ενώ συναντάται κυρίως στα εύκρατα και ψυχρά κλίματα (Σταμόπουλος, 2008). Στην Ελλάδα συνήθως το βρίσκουμε σε αποθήκες με δημητριακά, κυρίως σε σιτάρι, αλλά σε πληθυσμούς μικρότερους από ότι το *S. oryzae* (Buchelos and Athanassiou, 1993; 1998; 1999).



Εικόνα 4: Ακμαία του *Sitophilus granarius*

Όπως ισχύει και για το *S. oryzae*, το θηλυκό γεννά τα ωά του σε οπή που ανοίγει στο ενδοσπέρμιο, την οποία στη συνέχεια καλύπτει με ζελατινώδη ουσία. Η εκκόλαψη λαμβάνει χώρα μετά από 6 ημέρες στους 28 °C, ενώ γενικά ο βιολογικός κύκλος διαρκεί 40 ημέρες στους 25 °C (Σταμόπουλος, 2008). Η διάρκεια ζωής τού εντόμου είναι ένα έτος, και διαφέρει, εκτός από τα μορφολογικά χαρακτηριστικά από το *S. oryzae*, στο γεγονός ότι μπορεί να αναπτυχθεί στους 11 °C (Howe and Hole, 1968).

*Tribolium confusum* Jacquelin Du Val (Εικόνα 5)

Είναι κοσμοπολίτικο είδος. Στην Ελλάδα είναι κοινό είδος σε αποθήκες δημητριακών και από τα πιο πολυπληθέστερα στους αλευρόμυλους (Buchelos and Athanassiou, 1993; 1998).



Εικόνα 5: Ακμαία του *Tribolium confusum*

Είναι μακρόβιο έντομο καθώς η διάρκεια ζωής του φτάνει τα 2 έτη, κατά τα οποία τα θηλυκά εναποθέτουν 500-800 ωά ετησίως. Ο βιολογικός κύκλος ολοκληρώνεται σε 1-3 μήνες, ενώ οι ιδανικές συνθήκες ανάπτυξης είναι 28-30 °C και 70-90% Σ.Υ. (Σταμόπουλος, 2008). Η ικανότητα του εντόμου να αναπτύσσεται σε χαμηλή υγρασία 11% και η προσαρμοστικότητα του να προσβάλλει ποικιλία τροφίμων (Howe, 1962), σε συνδυασμό με τις τοξικές ουσίες (κινόνες) που απελευθερώνει στο προϊόν όπως προαναφέρθηκε, το καθιστά σημαντικό εχθρό στους αλευρόμυλους.

*Oryzaephilus surinamensis* (L.) (Εικόνα 6)



Εικόνα 6: Ακμαία του *Oryzaephilus surinamensis*

Ο βιολογικός κύκλος του εντόμου είναι σύντομος και από ωό σε ακμαίο ολοκληρώνεται σε 20 ημέρες σε συνθήκες 30-35 °C, 70-90% Σ.Υ., ενώ σε χαμηλότερη θερμοκρασία και υγρασία η διάρκειά του αυξάνεται (Σταμόπουλος, 2008). Το θηλυκό εναποθέτει μέχρι και 400 ωά κατά τη διάρκεια της ζωής του, που κυμαίνεται από 6-10 μήνες.

*Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Εικόνα 7)

Ανήκει στην οικογένεια Laemophloeidae. Είναι δευτερεύον είδος εντόμου αποθηκών και προσβάλλει προϊόντα σε κακή κατάσταση από άποψη υγιεινής (μουχλιασμένους ή σπασμένους σπόρους), αμυλούχα προϊόντα και το έμβρυο των σπόρων των δημητριακών, προκαλώντας περισσότερο ποιοτική παρά ποσοτική υποβάθμιση του προϊόντος. Είναι είδος που απαντάται σε όλον τον κόσμο (Σταμόπουλος, 2008). Στην Ελλάδα το είδος αυτό μαζί με τα *T. castaneum* και *R. dominica* καταγράφηκε ανάμεσα στα πολυπληθέστερα που βρέθηκαν σε αποθήκη με σκληρό σιτάρι (Athanassiou et al., 2005a).



Εικόνα 7: Ακμαίο του *Cryptolestes ferrugineus*

Το θηλυκό γεννά 200-500 ωά κατά την διάρκεια της ζωής του που είναι περίπου 9 μήνες. Ο βιολογικός κύκλος του εντόμου από ωό σε ακμαίο ολοκληρώνεται σε 4 εβδομάδες σε ιδανικές συνθήκες (14% υγρασία σπόρου και στους 32 °C), ενώ σε 12% υγρασία σπόρου ή 40% Σ.Υ. η ανάπτυξη του εντόμου αναστέλλεται (Mason and McDonough, 2012).

### 3. Μέθοδοι αντιμετώπισης εντόμων αποθηκών

Οι μέθοδοι που χρησιμοποιούνται σήμερα για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκών, μπορούν να χωριστούν σε τρεις μεγάλες κατηγορίες, οι οποίες χρησιμοποιούνται είτε μόνες τους, είτε σε συνδυασμούς μεταξύ τους. Οι κατηγορίες αυτές, που αναλύονται στη συνέχεια είναι οι χημικές, οι φυσικές-μηχανικές και οι βιολογικές και άλλες συναφείς μέθοδοι. Τα τελευταία χρόνια, βρίσκονται υπό ανάπτυξη και οι λεγόμενες βιοτεχνολογικές μέθοδοι, όπως η ανάπτυξη γενετικά τροποποιημένων ποικιλιών και υβριδίων που προσδίδουν στα δημητριακά είτε την ανθεκτικότητα στα έντομα (π.χ υβρίδια καλαμποκιού με βελτιωμένα χαρακτηριστικά) είτε την προστασία από αυτά (π.χ. γενετικά τροποποιημένα μπιζέλια που εκφράζουν τον αναστολέα της α-αμυλάσης 1) (Morton et al., 2000; Tefera et al., 2011). Για παράδειγμα οι Morton et al. (2000) σε συνθήκες αγρού, βρήκαν ότι γενετικά τροποποιημένα μπιζέλια που εκφράζουν τον αναστολέα της α-αμυλάσης 1, ήταν ανεκτικά στο σκαθάρι των μπιζελιών *Bruchus pisorum* (L.) (Coleoptera: Bruchidae). Στη μέθοδο καταπολέμησης αυτή, δεν θα επεκταθούμε περαιτέρω.



### 3.1 Χημικές μέθοδοι

Είναι η πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη κατηγορία για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκών. Η κατηγορία αυτή περιλαμβάνει χημικές ουσίες που εφαρμόζονται είτε ως υποκαπνιστικά, είτε ως εντομοκτόνα σε επιφάνειες και στο προϊόν.

Τα υποκαπνιστικά αποτελούν ιδιαίτερης σημασίας χημικές ουσίες καθώς έχουν μεγάλη διεισδυτική δράση και επιδρούν σε όλα τα στάδια ανάπτυξης των εντόμων. Η δε χρήση τους ως εντομοκτόνα σε αποθηκευτικούς χώρους είναι ευρεία. Δρουν μέσω ατμών, οι οποίοι εισέρχονται στο σώμα του εντόμων μέσω της αναπνοής. Ο κυριότερος και ο επικρατέστερος εκπρόσωπός τους σήμερα είναι η φωσφίνη, ενώ παλαιότερα χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία το βρωμιούχο μεθύλιο, η χρήση του οποίου απαγορεύτηκε με την συνθήκη του Μόντρεαλ λόγω των καταστροφικών του συνεπειών του στο όζον (Fields and White, 2002). Η φωσφίνη είναι σήμερα παγκοσμίως το πιο ευρέως χρησιμοποιούμενο υποκαπνιστικό (Fields and White, 2002). Ωστόσο υπάρχουν αρκετά μειονεκτήματα στην χρήση της, όπως η ιδιαίτερα υψηλή τοξικότητά της στα θερμόαιμα, η μικρή υπολειμματική της δράση, η ανάγκη καλής σφράγισης των εγκαταστάσεων για αποφυγή διαρροών, η διαβρωτική της δράση σε μέταλλα (χαλκό, μπρούντζο, ασήμι και χρυσό), η ευφλεξιμότητα της σε υψηλές συγκεντρώσεις, καθώς και η ανάπτυξη ανθεκτικότητας από πολλά σημαντικά είδη εντόμων. Τα μειονεκτήματα αυτά έχουν ως αποτέλεσμα, σε πολλές περιπτώσεις, την μη χρήση της σε βιομηχανικές εγκαταστάσεις (μηχανήματα με χαλκό), την αύξηση του κόστους εφαρμογής (κόστος σφράγισης), ενώ η ανάπτυξη ανθεκτικότητας συνεπάγεται είτε την πλήρη αναποτελεσματικότητα της φωσφίνης είτε την ανάγκη χρήσης αυξημένων δόσεων και παρατεταμένων χρόνων έκθεσης, που δεν είναι πάντα εφικτά (Phillips et al., 2012).

Τα εντομοκτόνα τα οποία εφαρμόζονται σε επιφάνειες και προϊόν, αποτελούν καλή εναλλακτική λύση στην μείωση εφαρμογής της φωσφίνης, καθώς είναι αποτελεσματικά κατά των εντόμων αποθηκών, η χρήση τους γίνεται με ευκολία και ασφάλεια, έχουν χαμηλό κόστος και παρέχουν υπολειμματική προστασία για μεγάλο χρονικό διάστημα μετά την εφαρμογή τους (Arthur, 1996). Τα εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται ευρέως σήμερα ανήκουν κυρίως στις ομάδες των οργανοφωσφορικών, με κυριότερους εκπροσώπους το malathion, το pirimiphos-

methyl και το chlorpyrifos-methyl, και των συνθετικών πυρεθροειδών με κυριότερο εκπρόσωπο το deltamethrin. Οι δύο αυτές ομάδες δρουν στο νευρικό σύστημα των εντόμων, είτε δεσμεύοντας το ένζυμο ακετυλοχολινεστεράση (οργανοφωσφορικά), είτε δρώντας στις νευρικές συνάψεις (πυρεθροειδή). Παρά το γεγονός ότι οι ομάδες αυτές των εντομοκτόνων έχουν βρεθεί να είναι αρκετά αποτελεσματικές εναντίον των σπουδαιότερων εντόμων αποθηκών, και έχουν άδεια χρήσης για το σκοπό αυτό, υπάρχουν αρκετά θέματα σχετικά με την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητά τους, τα οποία θέτουν ζήτημα ως προς την ευρεία χρήση τους. Παρ' όλη την θέσπιση ανώτατων ορίων υπολειμμάτων στα τρόφιμα, υπάρχει μεγάλη ανησυχία των καταναλωτών που σχετίζεται με την τοξική επίδραση των υπολειμμάτων των εντομοκτόνων στην υγεία, καθώς αρκετά από αυτά έχουν υψηλή τοξικότητα για τον άνθρωπο και τα θερμόαιμα (οργανοφωσφορικά) (Arthur, 1996). Επιπλέον η ομάδα των οργανοφωσφορικών έχει βρεθεί να είναι αναποτελεσματική κατά ειδών της οικογένειας των *Bostrychidae* που ανήκουν στους σημαντικότερους εχθρούς αποθηκευμένων δημητριακών (Daglish, 2008; Rumbos et al., 2013). Σπουδαίο ζήτημα της χρήσης εντομοκτόνων των δύο παραπάνω ομάδων, είναι η ανάπτυξη ανθεκτικότητας αρκετών εντόμων αποθηκών από την ευρεία και πολλές φορές μη ορθή χρήση τους (Subramanyam and Hagstrum, 1996; Arthur, 1996; Lorini and Galley, 1999). Η ομάδα των ρυθμιστών ανάπτυξης που χρησιμοποιούνται εναντίον των εντόμων αποθηκών, ανήκουν κυρίως στην κατηγορία των μιμητών ορμονών νεότητας (Peckman and Arthur, 2006). Οι κυριότερες δραστικές που χρησιμοποιούνται στην κατηγορία αυτή, είναι το methoprene, το hydroprene και το pyriprooxyfen, τα οποία δρουν διακόπτοντας τη μεταμόρφωση των εντόμων. Η αποτελεσματικότητα των ουσιών αυτών έχει μελετηθεί αρκετά, με θετικά αποτελέσματα κυρίως για τα είδη των οποίων η ανάπτυξη γίνεται εκτός του σπόρου (Arthur et al., 2009; Athanassiou et al., 2011a). Παρά την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητά τους, οι ρυθμιστές ανάπτυξης δεν έχουν υιοθετηθεί ευρέως για τα αποθηκευμένα δημητριακά, σε σύγκριση με τα παραδοσιακά εντομοκτόνα επαφής και υποκαπνιστικά, πιθανώς λόγω του κόστους (Arthur, 1996) και της μη θανάτωσης των ακμαίων, τα οποία συνεχίζουν να προκαλούν ζημιά στο προϊόν μετά την εφαρμογή των εντομοκτόνων (Phillips and Throne, 2010), αν και περιπτώσεις άμεσης θανάτωσης των ακμαίων έχουν καταγραφεί (Kavallieratos et al., 2012).

### 3.2 Φυσικές - Μηχανικές μέθοδοι

Η εφαρμογή ακραίων συνθηκών θερμοκρασίας, ο έλεγχος της υγρασίας, η εφαρμογή ακτινοβολίας, η δημιουργία τροποποιημένης ατμόσφαιρας, η απομάκρυνση των εντόμων και η εφαρμογή αδρανών σκονών, αποτελούν τις συνηθέστερες από τις φυσικές-μηχανικές μεθόδους ελέγχου των εντόμων αποθηκών. Οι μέθοδοι αυτοί παρουσιάζουν αρκετά πλεονεκτήματα, όπως η αποφυγή χρονοβόρων και κοστοβόρων εγκρίσεων που απαιτείται στα χημικά σκευάσματα και οι μηδενικές επιπτώσεις τους στο περιβάλλον, ενώ δεν αφήνουν υπολείμματα στο προϊόν. Ωστόσο η χρήση τους είναι περιορισμένη κυρίως λόγω του κόστους τους και της ελάχιστης υπολειμματικής διάρκειάς τους.

Η θερμοκρασία αποτελεί σημαντικό παράγοντα ανάπτυξης των εντόμων αποθηκών. Το άριστο θερμοκρασιακό εύρος ανάπτυξης και αναπαραγωγής βρίσκεται μεταξύ 25 και 32 °C. Θερμοκρασίες πάνω ή κάτω από αυτό το εύρος επηρεάζουν αρνητικά την ανάπτυξη των εντόμων, ενώ ακραίες θερμοκρασίες προκαλούν το θάνατό τους (Fields, 1992). Στην εφαρμογή των ακραίων θερμοκρασιών, οι κυριότεροι παράγοντες που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητά της είναι η θερμοκρασία, ο ρυθμός μεταβολής της και η διάρκεια έκθεσης σε αυτή. Η εφαρμογή θέρμανσης για την θανάτωση των εντόμων χρησιμοποιείται από πάρα πολύ παλιά και συνεχίζεται έως και σήμερα (Fields et al., 2012). Εκτεταμένες έρευνες έχουν καθορίσει διάφορους συνδυασμούς θερμοκρασίας και χρόνου έκθεσης, για εφαρμογή τους είτε σε ολόκληρες εγκαταστάσεις, είτε σε μεμονωμένες προβληματικές περιοχές. Γενικά, ο στόχος είναι η αύξηση της θερμοκρασίας στους 50-60 °C για 24 ώρες με ένα βαθμό αύξησης 3-5 °C ανά ώρα (Fields et al., 2012). Σημαντικός παράγοντας επιτυχίας της μεθόδου αυτής είναι η επίτευξη της επιθυμητής θερμοκρασίας σε όλο τον χώρο εφαρμογής, καθώς διαφοροποιήσεις στην θερμοκρασία μπορεί να οδηγήσει στην επιβίωση ανθεκτικών ειδών, είτε ανθεκτικών σταδίων ανάπτυξης αυτών. Η επίτευξη της ομοιόμορφης κατανομής της θερμοκρασίας επιτυγχάνεται με την χρήση ανεμιστήρων και την σωστή μελέτη του χώρου. Περιοριστικοί παράγοντες στην εφαρμογή της μεθόδου είναι η πιθανή πρόκληση ζημιάς στον εξοπλισμό, οι απαιτήσεις για σωστές εγκαταστάσεις και το κόστος εγκατάστασης και λειτουργίας της μεθόδου. Η εφαρμογή χαμηλών θερμοκρασιών, αποτελεί επίσης μια αποτελεσματική μέθοδο απεντόμωσης. 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). Η μέθοδος αυτή συνήθως δεν εφαρμόζεται σε θερμά κλίματα λόγω του υψηλού κόστους της.

Η υγρασία αποτελεί σημαντικό παράγοντα ανάπτυξης των εντόμων αποθηκών. Οι ευνοϊκές συνθήκες υγρασίας βρίσκονται στο εύρος από 12 έως 15% (περιεκτικότητα σε υγρασία του προϊόντος), ενώ η υγρασία κάτω από 9% επιδρά αρνητικά στην επιβίωση και την αναπαραγωγή των εντόμων (Howe, 1965). Η μείωση της υγρασίας με ξήρανση με τεχνητό τρόπο, όπως με την παροχή θερμού αέρα, μπορεί να βοηθήσει στην καλύτερη συντήρηση των προϊόντων (Montross et al., 1999). Ωστόσο, μπορεί να προκαλέσει σπασίματα στους σπόρους των δημητριακών, καθιστώντας τους ευάλωτους στα έντομα.

Οι ακτινοβολίες που χρησιμοποιούνται σήμερα στα αποθηκευμένα προϊόντα για τον έλεγχο των εντόμων, χωρίζονται στις ιονίζουσες και μη ιονίζουσες. Η εφαρμογή ιονίζουσας ακτινοβολίας αποτελεί μια αποτελεσματική μέθοδο, η οποία τα τελευταία χρόνια έχει λάβει έγκριση σε τουλάχιστον 33 χώρες (Kume et al., 2009). Η ιονίζουσα ακτινοβολία διοχετεύεται στα προϊόντα είτε ως ακτινοβολία γ, που παράγεται από τα ραδιοϊσότοπα κοβάλτιο-60 και καίσιο-137, είτε ως ακτίνες X, που παράγονται από γραμμικούς επιταχυντές ηλεκτρονίων. Οι ιονίζουσες ακτινοβολίες πάνω από 10 KGy προκαλούν καθυστερημένη θνησιμότητα στα έντομα μέσω της διακοπής του κυτταρικού κύκλου, μετά από βλάβη στο DNA από την παραγωγή ιόντων και ελεύθερων ριζών (Hallman and Phillips, 2008). Η εφαρμογή χαμηλότερων δόσεων (0.5 KGy) είναι επίσης αποτελεσματική κατά των εντόμων, προκαλώντας είτε τη στείρωση στα ακμαία είτε τη μη ολοκλήρωση ανάπτυξης όταν έχουμε έκθεση ατελών μορφών, όπως ωά και προνύμφες (Hallman and Phillips, 2008). Παρ' όλη την αποτελεσματικότητα της μεθόδου, η χρήση της δεν είναι διαδεδομένη, κυρίως λόγω των προβλημάτων που σχετίζονται με το υψηλό κόστος δημιουργίας ειδικών εγκαταστάσεων, με την ανησυχία του κοινού για την ασφάλεια των εγκαταστάσεων όπου χρησιμοποιούνται ραδιοϊσότοπα, με την εσφαλμένη εκτίμηση των καταναλωτών ότι τα τρόφιμα γίνονται ραδιενεργά και με το γεγονός ότι στις επιτρεπόμενες χαμηλές δόσεις, συχνά τα έντομα συνεχίζουν να τρέφονται προκαλώντας ποσοτική και ποιοτική υποβάθμιση. Στις μη ιονίζουσες ακτινοβολίες περιλαμβάνονται τα

ραδιοκύματα, τα μικροκύματα και η υπέρυθη ακτινοβολία (Fields et al., 2012). Η υπέρυθη ακτινοβολία δρα όπως η εφαρμογή θερμότητας, και μπορεί να εφαρμοστεί είτε στο χώρο, είτε στο προϊόν. Τα μικροκύματα και τα ραδιοκύματα προκαλούν επίσης αύξηση της θερμοκρασίας χρησιμοποιώντας ως μέσο το ελεύθερο νερό που υπάρχει στα έντομα και στα τρόφιμα. Στα έντομα το ποσοστό ελεύθερου νερού είναι υψηλό (80%) ενώ στα τρόφιμα σχετικά χαμηλό (5-20%), γεγονός που προκαλεί μεγάλη αύξηση της θερμοκρασίας στα έντομα προκαλώντας το θάνατό τους. Από τις δύο αυτές ακτινοβολίες, τα μικροκύματα έχουν μεγαλύτερη ενέργεια ενώ τα ραδιοκύματα μεγαλύτερη διεισδυτικότητα. Ωστόσο και οι δύο πρέπει να εφαρμόζονται σε προϊόντα μικρού πάχους (Phillips and Throne, 2010; Fields et al., 2012). Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται μόνο πειραματικά λόγω του υψηλού κόστους και της δυσκολίας εφαρμογής της.

Η τεχνολογία της ελεγχόμενης ή τροποποιημένης ατμόσφαιρας για τον έλεγχο των εντόμων, είναι μια εναλλακτική μέθοδος που χρησιμοποιείται σήμερα κυρίως για την απεντόμωση βιολογικών προϊόντων. Η μέθοδος στηρίζεται στην έκθεση των εντόμων σε τοξικές συγκεντρώσεις των αερίων της ατμόσφαιρας. Ο σκοπός της μεθόδου αυτής είναι η επίτευξη συγκεντρώσεων οξυγόνου ( $O_2$ ) κάτω από 3%, όπως και η αύξηση στο διοξείδιο του άνθρακα ( $CO_2$ ) πάνω από 60% για 24 ώρες ή και περισσότερο. Ελεγχόμενη ατμόσφαιρα είναι αυτή στην οποία η σύνθεση της ατμόσφαιρας μεταβάλλεται και ελέγχεται συνεχώς, ώστε η σύνθεση των αερίων να διατηρείται στα επιθυμητά επίπεδα (Phillips and Throne, 2010). Η τροποποιημένη ατμόσφαιρα, είναι αυτή όπου η σύνθεση των αερίων μεταβάλλεται μια φορά και δεν υπάρχει περαιτέρω έλεγχος. Η επίτευξη των παραπάνω επιθυμητών τοξικών συγκεντρώσεων μπορεί να γίνει, είτε με προσθήκη  $CO_2$ , είτε με αφαίρεση του  $O_2$  μετά από προσθήκη αδρανούς αερίου όπως το άζωτο ( $N_2$ ). Ατμόσφαιρα χαμηλού οξυγόνου μπορεί να επιτευχθεί επίσης με δημιουργία κενού ή εφαρμογή χαμηλής πίεσης σε αεροστεγή θάλαμο. Η εφαρμογή της μεθόδου των ελεγχόμενων ή τροποποιημένων συνθηκών επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και το στάδιο ανάπτυξης των εντόμων, όπως και στα καπνιστικά εντομοκτόνα. Έτσι, αύξηση της θερμοκρασίας προκαλεί τη μείωση του χρόνου έκθεσης, ενώ οι προνύμφες και τα ακμαία άτομα είναι πιο ευαίσθητα σε σχέση με τα άλλα στάδια ανάπτυξης. Παρ' όλη την ανάπτυξη και επιτυχία της μεθόδου, αυτή δεν μπορεί να εφαρμοστεί σε

ολόκληρες εγκαταστάσεις κυρίως λόγω της ανεπαρκούς στεγανοποίησης τους, αλλά και του κόστους εφαρμογής της (Phillips and Throne, 2010).

Η χρήση των αδρανών σκονών για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκών διερευνάται εκτενώς εδώ και τουλάχιστον δυο δεκαετίες, οδηγώντας στην εμπορική χρήση πολλών εξ αυτών. Οι αδρανείς σκόνες μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε τέσσερις ομάδες (Golob, 1997; Subramanyam and Roesli, 2000). Η πρώτη ομάδα περιλαμβάνει την άργιλο, την άμμο, την τέφρα καθώς και την ηφαιστειακή στάχτη. Η δεύτερη ομάδα περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό ορυκτών όπως ο δολομίτης, ο μαγνησίτης, ο οξυχλωριούχος χαλκός, φωσφορικά πετρώματα, ο ασβέστης (υδροξείδιο του ασβεστίου), ο ασβεστόλιθος και το κοινό αλάτι. Τα ορυκτά αυτά βρέθηκαν να είναι αποτελεσματικά σε υψηλές συγκεντρώσεις (>10 g/kg δημητριακού) και χρησιμοποιούνται κυρίως στις αναπτυσσόμενες χώρες (Golob and Webley, 1980). Η τρίτη ομάδα περιλαμβάνει σκόνες που περιέχουν συνθετική σιλικόνη (διοξείδιο του πυριτίου). Αυτά τα υλικά είναι ελαφριά και υγροσκοπικά και παράγονται με ξήρανση υδατικού διαλύματος πυριτικού νατρίου. Τέλος στην τέταρτη ομάδα περιλαμβάνονται σκόνες που περιέχουν φυσικό διοξείδιο του πυριτίου, όπως η γη διατόμων, που προέρχεται από τα σκελετικά απολιθώματα μονοκύτταρων υδρόβιων αλγών, που ονομάζονται διάτομα (Kogunic, 1998). Επίσης, στην ομάδα αυτή μπορούν να περιληφθούν και οι ζεόλιθοι, που όμως παρουσιάζουν αποτελεσματικότητα σε μεγάλες συγκεντρώσεις (Hagyadi et al., 1994). Από τις αδρανείς σκόνες, το μεγαλύτερο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι γαίες διατόμων. Αποθέσεις διατόμων υπάρχουν άφθονες σε αρχαίες λίμνες και θάλασσες, αλλά και σε χερσαία οικοσυστήματα. Η γη διατόμων δρα δια επαφής και προκαλεί το θάνατο του εντόμου λόγω αφυδάτωσης, κυρίως με την προσρόφιση των λιπιδίων του εξωσκελετού και λιγότερο με τον τραυματισμό του. Η δράση της γης διατόμων αυξάνεται σε συνθήκες μειωμένης υγρασίας και υψηλής θερμοκρασίας (Fields and Kogunic, 2000). Η γη διατόμων είναι μη τοξική στα σπονδυλωτά και χρησιμοποιείται τόσο ως προσθετικό τροφίμων, όσο και κατά την επεξεργασία τροφίμων (Phillips and Throne, 2010). Η αποτελεσματικότητά της ποικίλλει σημαντικά ανάλογα με το είδος του εντόμου, την περιοχή εξόρυξής της, το μέγεθος των τεμαχιδίων της και την περιεκτικότητά της σε διοξείδιο του πυριτίου (Subramanyam and Roesli, 2000). Προβλήματα που σχετίζονται με την χρήση της, όταν εφαρμόζεται σε μεγάλες

ποσότητες στα δημητριακά για την προστασία τους, είναι η μείωση του ειδικού βάρους των σιτηρών, καθώς και πιθανά αναπνευστικά προβλήματα στους εφαρμοστές, αν δεν ληφθούν μέτρα προστασίας (μάσκα) (Phillips and Throne, 2010). Παρόλα αυτά, η γη διατόμων είτε μόνη της, είτε σε συνδυασμό με άλλες μεθόδους αντιμετώπισης των εντόμων αποθηκών, αποτελεί μια αποτελεσματική και ασφαλή μέθοδο ελέγχου των εντόμων αποθηκών που έχει λάβει έγκριση σε πολλές χώρες, όπως και στην Ελλάδα (Vassilakos et al., 2006).

Ο πλέον φυσικός τρόπος αντιμετώπισης των εντόμων αποθηκών, είναι η απομάκρυνσή τους από τα δημητριακά. Για την εφαρμογή αυτής της μεθόδου, θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν κόσκινα, κάτι που όμως και πρακτικά δεν είναι πάντα εφικτό. Στην κατηγορία αυτή επίσης εντάσσονται και φυγοκεντρικές συσκευές όπως το «entoleter», που όμως η χρήση τους περιορίζεται μόνο στην αφαίρεση εντόμων από τα άλευρα και όχι από σπόρους δημητριακών. Ωστόσο, και κάποιες από τις μεθόδους που αναφέρθηκαν, όπως οι υψηλές θερμοκρασίες, είναι πιθανόν να συμβάλλουν εμμέσως στην απομάκρυνση των εντόμων από το προϊόν (Finkelman et al., 2006).

### **3.3 Βιολογικές και άλλες συναφείς μέθοδοι**

Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνεται η χρήση φερομονών, φυσικών εχθρών, αιθέριων ελαίων και μικροβιακών εντομοκτόνων. Οι μέθοδοι αυτοί παρουσιάζουν αρκετό ενδιαφέρον λόγω της μη επιβάρυνσης των προϊόντων με χημικά εντομοκτόνα, ωστόσο η αποδοτικότητά τους ποικίλλει ανάλογα με την μέθοδο που εφαρμόζεται.

Η χρήση φερομονών γίνεται τόσο για την παρακολούθηση, όσο και για τον έλεγχο των εντόμων αποθηκών. Η ανίχνευση και παρακολούθηση του πληθυσμού των εντόμων αποτελεί την πιο συνήθη χρήση τους, η οποία επιτρέπει την διαπίστωση της παρουσίας του εχθρού και την λήψη μέτρων αντιμετώπισης πιο άμεσα, σε σχέση με την κλασική μέθοδο της δειγματοληψίας. Στην αγορά υπάρχουν φερομόνες φύλου για περισσότερα από 20 είδη εντόμων αποθηκών (Phillips et al., 2000). Η ορθή χρήση των φερομονών για παρακολούθηση απαιτεί τον σωστό συνδυασμό τους με παγίδες, την ευρεία διασπορά τους στο χώρο και τον τακτικό έλεγχό τους, κάτι που απαιτεί πόρους σε χρήμα και ανθρώπινο δυναμικό. Η χρήση των φερομονών για τον έλεγχο του πληθυσμού των εντόμων βασίζεται στις μεθόδους της μαζικής παγίδευσης

και της παρεμπόδισης της συνεύρεσης των δύο φύλων (Phillips and Throne, 2010). Η μέθοδος της μαζικής παγίδευσης βασίζεται στην μαζική σύλληψη ακμαίων εντόμων, με την τοποθέτηση ενός μεγάλου δικτύου φερομονικών παγίδων είτε φύλου για την προσέλκυση των αρσενικών είτε συνάθροισης για την προσέλκυση και των δυο φύλων (El-Sayed, 2006). Η παρεμπόδιση της συνεύρεσης των δύο φύλων περιλαμβάνει τον κορεσμό ενός χώρου με φερομόνη, ώστε τα ακμαία αρσενικά άτομα να μην δύναται να εντοπίσουν και να γονιμοποιήσουν τα θηλυκά. Από τις δύο μεθόδους, που εφαρμόζονται κυρίως σε λεπιδόπτερα έντομα αποθηκών, η μέθοδος της παρεμπόδισης της συνεύρεσης των δύο φύλων φαίνεται να είναι είναι η πιο πολλά υποσχόμενη (Trematerra et al., 2011b). Σχετικά πρόσφατα, η μέθοδος της «αυτο-σύγχυσης» (γνωστής ως auto-confusion) αξιολογήθηκε με ιδιαίτερα καλά αποτελέσματα κατά λεπιδοπτέρων εντόμων αποθηκών στην Ελλάδα και την Ιταλία (Trematerra et al., 2013a). Η μέθοδος αυτή, που αποτελεί μια παραλλαγή της παρεμπόδισης της σύζευξης, βασίζεται στη μετάδοση ηλεκτροστατικά φορτισμένων τεμαχιδίων με τη φερομόνη του θήλεος στα άρρενα ακμαία, με σκοπό την μείωση των συζεύξεων (Pease and Storm, 2010).

Η χρήση φυσικών εχθρών (αρπακτικά ή παρασιτοειδή), με την εξαπόλυσή τους εναντίον των εντόμων αποθηκών, αν και έχει διερευνηθεί αρκετά, αποτελεί μια μέθοδο που η χρήση της είναι αρκετά περιορισμένη (Scholler and Flinn, 2000). Η επιτυχημένη εφαρμογή της μεθόδου βασίζεται κυρίως στο σωστό χρόνο εξαπόλυσης του φυσικού εχθρού, αλλά και στην ορθή επιλογή αυτού, μιας και σε μερικές περιπτώσεις η σχέση παρασίτου-εντόμου είναι αποκλειστική (Flinn and Schöller, 2012), όπως για παράδειγμα το παρασιτοειδές *Theocolax elegans* (Westwood) (Hymenoptera: Pteromalidae) το οποίο παρασιτεί μόνο προνύμφες εντόμων αποθηκών που αναπτύσσονται εσωτερικά του σπόρου (Flinn and Hagstrum, 2002). Στα αρνητικά της μεθόδου αναφέρονται το κόστος εφαρμογής, η μη συμβατότητα της με άλλες μεθόδους αντιμετώπισης (π.χ. χημικές) και η ανάγκη ύπαρξης εργαστηρίων αναπαραγωγής των φυσικών εχθρών σε υψηλούς αριθμούς. Επιτυχημένες εφαρμογές της μεθόδου, που έχουν αναφερθεί τόσο για λεπιδόπτερα, όσο και για κολεόπτερα εντόμων αποθηκών (Flinn and Schöller, 2012), καθιστούν την μέθοδο αυτή πολλά υποσχόμενη για το μέλλον. Ωστόσο, θα πρέπει να τονιστεί ότι η χρήση της βιολογικής καταπολέμησης στα μετασυλλεκτικά στάδια των γεωργικών προϊόντων,



υπό την έννοια της εφαρμογής αρπακτικών και παρασιτοειδών, προϋποθέτει, τουλάχιστον στην αρχική φάση της, την «πρόσθεση» και άλλων εντόμων στο προϊόν πέραν των υπαρχόντων εχθρών, γεγονός που θα πρέπει να εξετασθεί προσεκτικά υπό το πρίσμα της πιθανής αύξησης του αριθμού και της παρουσίας εντόμων και των παραγώγων τους (εκδύματα, τεμαχίδια κ.α.) σε κάποια στάδια της διαδικασίας (Flinn and Hagstrum, 2001).

Η χρήση των αιθέριων ελαίων και εκχυλισμάτων εναντίον εντόμων αποθηκών, είναι αρκετά διαδεδομένη στις αναπτυσσόμενες χώρες. Ωστόσο τα εμπορικά διαθέσιμα σκευάσματα είναι ελάχιστα και περιορίζονται κυρίως στα εκχυλίσματα του δένδρου Neem (*Azadirachta indica* A. Juss.) και του φυσικού πύρεθρου από το φυτό *Chrysanthemum cinerariifolium* (Trevir.) Vis.. Από τα δύο αυτά φυτικά εντομοκτόνα το πιο αποτελεσματικό κατά των εντόμων αποθηκών είναι το φυσικό πύρεθρο, του οποίου όμως η σταθερότητα εξασφαλίζεται με την χρήση συνεργιστικών ουσιών και κυρίως του piperonyl butoxide (Phillips and Throne, 2010). Η χρήση των αιθέριων ελαίων στις αναπτυγμένες χώρες, είναι αρκετά περιορισμένη λόγω προβλημάτων που αφορούν κυρίως στην έλλειψη σταθερότητας στη σύσταση των εκχυλισμάτων και κατ' επέκταση της εντομοκτόνου δράσης και στην αμφιλεγόμενη ασφάλειά τους, καθώς, παρ' ότι είναι φυτικής προέλευσης, η ασφάλειά τους για την ανθρώπινη κατανάλωση δεν έχει διερευνηθεί επαρκώς. Σε σύγκριση με τα συνθετικά εντομοκτόνα, τα φυτικά, είναι σχετικά ασταθή και διασπώνται γρήγορα όταν εκτεθούν σε φως, υψηλές θερμοκρασίες και αέρα, καθιστώντας τα ακατάλληλα για εφαρμογή όταν απαιτείται υπολειμματική δράση (Isman, 2006; Kheter, 2012).

Στην κατηγορία των μικροβιακών εντομοκτόνων περιλαμβάνονται ιοί, πρωτόζωα, μύκητες, νηματώδεις και βακτήρια (Moore et al., 2000). Υπάρχουν διάφοροι ιοί οι οποίοι προσβάλουν κυρίως λεπιδόπτερα και λιγότερο κολεόπτερα, ωστόσο δεν υπάρχουν εμπορικώς διαθέσιμοι. Επίσης δεν υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμα σκευάσματα πρωτοζώων. Οι οργανισμοί αυτοί δεν προκαλούν την θνησιμότητα των εντόμων, αλλά επιρεάζουν την γονιμότητα και την ανάπτυξή τους (Flinn and Scholler, 2012). Από τους μύκητες, μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) και *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes),

των οποίων τα κονίδια διαπερνώντας τον εξωσκελετό των εντόμων, αναπτύσσονται, προκαλώντας το θάνατο του εντόμου. Οι μύκητες αυτοί έδειξαν καλά αποτελέσματα εναντίον αρκετών εντόμων αποθηκών, είτε μόνοι τους, είτε σε συνεργισμό με γη διατόμων (Lord, 2001; Michalaki et al., 2006). Στα εντομοκτόνα βακτήρια συμπεριλαμβάνονται οι τοξίνες του *Bacillus thuringiensis* (Bt) Berliner (Bacillales: Bacillaceae) όπως και οι μεταβολίτες του *Saccharopolyspora spinosa*. Οι τελευταίοι αποτέλεσαν το αντικείμενο της παρούσας μελέτης, ενώ περισσότερες λεπτομέρειες για αυτούς θα αναφερθούν σε ξεχωριστό κεφάλαιο. Όσον αφορά τη χρήση στελεχών του βακτηρίου Bt, στην αγορά υπάρχουν διαθέσιμα σκευάσματα που περιέχουν τοξίνες του βακτηρίου, που προκαλούν σηψαιμία στο έντομο-στόχο μετά την κατάποσή τους, ωστόσο η αποτελεσματικότητά τους αφορά κυρίως τα λεπιδόπτερα των εντόμων αποθηκών και λιγότερο έως καθόλου τα κολεόπτερα, με αποτέλεσμα η χρήση του Bt να είναι περιορισμένη σε σχέση με τα χημικά εντομοκτόνα (Flinn and Scholler, 2012). Οι εντομοπαθογόνοι νηματώδεις είναι θανατηφόρα ενδοπαράσιτα, τα οποία εισέρχονται στο έντομο ξενιστή, απελευθερώνουν βακτήρια τα οποία προκαλούν το θάνατό του και δημιουργούν ευνοϊκό περιβάλλον για την ανάπτυξη του νηματώδους (Kaya and Gaugler, 1993). Στα έντομα αποθηκών έρευνες έδειξαν ότι μερικά στελέχη εντομοπαθογόνων νηματωδών είναι αποτελεσματικά κατά λεπιδοπτέρων και προνυμφών κολεοπτέρων (Ramos-Rodríguez et al., 2006). Ωστόσο, περιοριστικός παράγοντας στην χρήση τους κατά των εντόμων αποθηκών είναι η ανάγκη ύπαρξης υγρού περιβάλλοντος για την επιβίωση τους, καθώς και η αναποτελεσματικότητά τους κατά των ακμαίων κολεοπτέρων εντόμων αποθηκών (Trdan et al., 2006).

#### **4. Οι σπινοςίνες και εντομοκτόνος δράση τους**

Οι σπινοςίνες είναι μια νέα ομάδα μακροκυκλικών λακτόνων, προϊόντων μεταβολισμού του ακτινομύκητα *Saccharopolyspora spinosa* Mertz and Yao (Bacteria: Actinobacteria) που παράγονται κατά τη ζύμωση (Sparks et al., 1995, Dripps et al., 2011). Το είδος αυτό ανακαλύφθηκε τυχαία στις αρχές του 1980 κατά τη διάρκεια ενός πειράματος για την εύρεση νέων ειδών μικροοργανισμών εδάφους με νέα βιολογική δραστηριότητα στις Παρθένους Νήσους, σε δείγματα εδάφους που είχαν ληφθεί από ένα εγκαταλειμμένο εργοστάσιο επεξεργασίας ζαχαροκάλαμου για

την παραγωγή ρουμιού. Το βακτήριο αυτό βρέθηκε, απομονώθηκε και περιγράφηκε ως νέο είδος από τους Mertz and Yao (1990). Όπως συμβαίνει και με άλλα είδη του γένους *Saccharopolyspora*, το βακτήριο είναι αερόβιο, ανήκει στην κατηγορία των Gram+ και αναπτύσσει αχνά κίτρινα έως ροζ εναέρια νημάτια, σποριοφόρα, που φέρουν μακριές αλυσίδες σπορίων εντός διακριτών ακανθωδών δομών. Τα σπόρια είναι επιμήκη και περίπου 1.1 έως 1.5  $\mu\text{m}$  (Mertz and Yao, 1990). Η εντομοκτόνος δράση των προϊόντων ζυμώσης του βακτηρίου ανιχνεύτηκε αρχικά μετά από πειράματα βιοδοκιμών που έγιναν σε προνύμφες κουνουπιών και επιβεβαιώθηκε με πειράματα στις προνύμφες *Spodoptera eridania* (Stoll) (Lepidoptera: Noctuidae) (Sparks et al., 1998). Η πηγή αυτής της εντομοκτόνου δραστηριότητας αποδόθηκε στους μεταβολίτες του βακτηρίου, τις σπινωσίνες. Από το σύνολο των 20 σπινωσινών που παράγονται από το βακτήριο βρέθηκε ότι κάποιες από αυτές ήταν πιο δραστικές και αποτελεσματικές (σπινωσίνες A και D) σε σχέση με τις άλλες ως προς την εντομοκτόνο δράση τους (Sparks et al., 1998) και αυτές αποτέλεσαν το μείγμα για την δημιουργία του πρώτου εντομοκτόνου με βάση τις σπινωσίνες, το spinosad. Η σπινωσίνη A, σε διάφορες δοκιμές αποδείχτηκε να είναι εξίσου αποτελεσματική με τα πυρεθροειδή, όπως το cypermethrin, ενώ ήταν αποτελεσματικότερη σε σχέση με διάφορα οργανοφωσφορικά και καρβαμιδικά εντομοκτόνα. Επιπλέον, το τοξικολογικό προφίλ της στο περιβάλλον και τα θηλαστικά είναι αρκετά φιλικό σε σχέση με τις προαναφερθείσες ομάδες εντομοκτόνων (Sparks et al., 1995; 1998; 1999; Crouse and Sparks, 1998).

## 4.2 Spinosad

Το spinosad όπως προαναφέρθηκε ανήκει στην κατηγορία των σπινωσινών, με δραστικά συστατικά τις σπινωσίνες A και D σε αναλογία 90 και 10% αντίστοιχα (Bert et al., 1997). Δομικά, τα συστατικά αυτά είναι μακρολίδια και περιέχουν ένα μοναδικό σύστημα τετρακυκλικού δακτυλίου, στον οποίο προσαρτώνται δύο διαφορετικά σάκχαρα (Kirst, 2010). Η εντομοκτόνος δράση του spinosad και των σπινωσινών δεν έχει ακόμη αποσαφηνιστεί πλήρως. Οι μέχρι σήμερα μελέτες καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι ο μηχανισμός δράσης (MoA) των σπινωσινών είναι μοναδικός και διαφορετικός από εκείνο άλλων εντομοκτόνων. Αρχικές έρευνες κατέληξαν στο ότι η δράση των σπινωσινών επηρεάζει το νευρικό σύστημα του εντόμου και διαταράσσει την δραστηριότητα στους νευρώνες, με την διέγερση των

«κινητικών νευρώνων», προκαλώντας έτσι ακούσιες μυϊκές συσπάσεις «τρέμουλο» και οδηγώντας τελικά σε παράλυση και θάνατο (Salgado, 1998). Νεότερες μελέτες έδειξαν ότι οι σπινοςίνες αλληλεπιδρούν τόσο με τους υποδοχείς του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (GABA), όσο και με τους νικοτινικούς υποδοχείς της ακετυλοχολίνης (nAChR), με διαφορετικό ωστόσο τρόπο σε σχέση με άλλες ομάδες εντομοκτόνων (Watson, 2001). Μεταγενέστερες έρευνες έδωσαν επιπλέον στοιχεία για αυτό το μοναδικό τρόπο δράσης, εμπλέκοντας έναν άγνωστο υπότυπο υποδοχέων νικοτινικού οξέος, καθώς και ανταγωνιστική δράση επί των υποδοχέων του γ-αμινοβουτυρικού οξέος (Salgado and Sparks, 2005; Orr et al., 2009). Τέλος, μια τελευταία μελέτη για το *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) ανέπτυξε και την υπομονάδα *Da6* του νικοτινικού υποδοχέα της ακετυλοχολίνης ως θέση στόχο των σπινოსινών (Kirst, 2010). Βάσει αυτής της μοναδικής δράσης τους, οι σπινοςίνες κατηγοριοποιήθηκαν από την επιτροπή για την διαχείριση της ανθεκτικότητας των εντομοκτόνων (Insecticide Resistance Action Committee- IRAC) σε μια νέα κατηγορία εντομοκτόνων, για χρήση στα προγράμματα αντιμετώπισης της ανθεκτικότητας, την ομάδα των σπινοςινών (IRAC MoA Group 5). Όσον αφορά το σκέλος της ανάπτυξης ανθεκτικότητας, σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη (Sparks et al., 2012), παρά την ευρεία και διαδεδομένη χρήση των σπινοςινών, έχουν αναφερθεί μόνο 30 περιπτώσεις ανάπτυξης ανθεκτικότητας εκ των οποίων οι μισές αφορούν περιπτώσεις ανθεκτικότητας στον αγρό. Η πλειονότητα των περιπτώσεων αυτών περιορίζεται μόνο σε τέσσερις τάξεις εντόμων (Lepidoptera, Thysanoptera, Diptera, Hymenoptera), ενώ μόνο για έξι είδη εντόμων αγρού (δύο από τα Diptera, τρία από τα Lepidoptera και ένα από τα Thysanoptera) έχει αναφερθεί ανθεκτικότητα (Sparks et al., 2012). Η πλειονότητα από τις εργασίες αυτές αφορά το *Plutella xylostalla* (L.) (Lepidoptera: Yponomeutidae) και τον θρίπα της Καλιφόρνιας, *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). Όσον αφορά την ανάπτυξη διασταυρωτής ανθεκτικότητας στις σπινοςίνες, από τις 85 και πλέον μελέτες που έγιναν για το spinosad, στις μισές από αυτές αναφέρεται η μη ύπαρξη διασταυρωτής ανθεκτικότητας, ενώ το ένα τρίτο των υπολοίπων αναφέρει ελάχιστο βαθμό διασταυρωτής ανθεκτικότητας (Sparks et al., 2012). Ουσιαστικά, όλες οι μέχρι σήμερα έρευνες δείχνουν ότι η ανθεκτικότητα στις σπινοςίνες δεν προσδίδει ανθεκτικότητα και σε άλλες ομάδες εντομοκτόνων που δρουν στην ακετυλοχολίνη (nAChR) (πχ νεονικοτινοειδή) ή στο γ-αμινοβουτυρικό οξύ συμπεριλαμβανομένου

και των αβερμεκτινών (Sparks et al., 2012). Χαρακτηριστικό είναι το παράδειγμα του *P. xylostella*, όπου για τον έλεγχο του εντόμου στα νησιά Hawaii σε καλλιέργεια λαχάνου, έγινε καθολική χρήση του εντομοκτόνου spinosad από το σύνολο των παραγωγών, καθώς είχε αναπτυχθεί ανθεκτικότητα του πληθυσμού σε όλα τα άλλα κοινά χρησιμοποιούμενα εντομοκτόνα (Zhao et al., 2002). Από την συνεχή χρήση του spinosad παρατηρήθηκε μετά από δύο χρόνια εμφάνιση ανθεκτικού πληθυσμού, ο οποίος στην συνέχεια ελέγχθηκε με κάποια επιτυχία από νέες δραστικές, ενώ μετά από την πάροδο δύο ετών, ο ανθεκτικός στο spinosad πληθυσμός εξαφανίστηκε και το spinosad επανακυκλοφόρησε στην αγορά (Zhao et al., 2002). Για τα έντομα αποθηκών μέχρι στιγμής δεν έχει αναφερθεί περίπτωση ανάπτυξης ανθεκτικότητας. Το spinosad έλαβε έγκριση κυκλοφορίας στις ΗΠΑ το 1997, ως εντομοκτόνο χαμηλής τοξικότητας για τον άνθρωπο και τα θερμόαιμα και λόγω του φυσικού και φιλικού προς το περιβάλλον προφίλ του, έλαβε το βραβείο Presidential Green Chemistry Challenge Award το 1999. Επίσης, έχει έγκριση για χρήση στην βιολογική γεωργία σε πολλές χώρες διεθνώς (Racke, 2007), καθώς και στην Ευρωπαϊκή Ένωση βάσει του Κανονισμού 404/2008. Στην Ελλάδα έχει έγκριση κυκλοφορίας με τις εμπορικές ονομασίες Success 0.24CB (Dow Agrosiences, USA) για την καταπολέμηση του δάκου της ελιάς, *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae) και Laser 480SC (Dow Agrosiences, USA) για την αντιμετώπιση ειδών που ανήκουν στις τάξεις Lepidoptera, Diptera, Siphonaptera, Thysanoptera και Coleoptera.

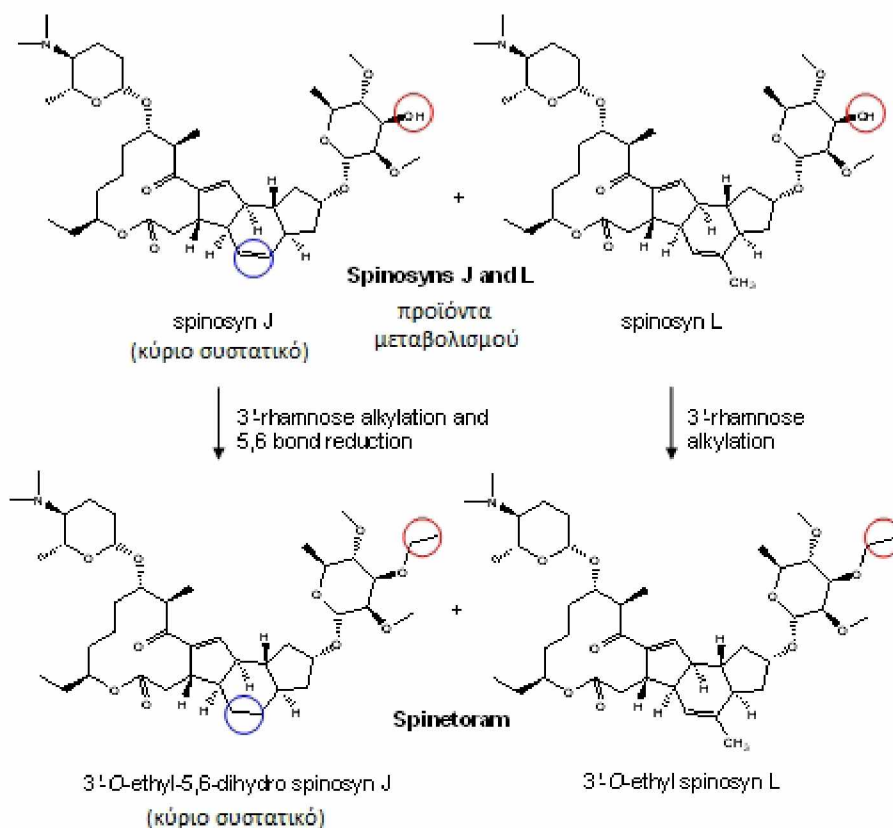
Ως εντομοκτόνο για τον έλεγχο των εντόμων αποθηκών, το spinosad άρχισε να ερευνάται από το 1999 (Subramanyam et al., 1999). Τα θετικά αποτελέσματα των πρώτων πειραμάτων με το spinosad, αποτέλεσαν την αρχή για μια σειρά πειραμάτων και έρευνας με την δραστική αυτή (Fang et al., 2002a; Subramanyam et al., 2003; Toews and Subramanyam, 2003; Nayak et al., 2005; Maier et al., 2006; Subramanyam, 2006; Huang and Subramanyam, 2007; Huang et al., 2007; Subramanyam et al., 2007; Daghli et al., 2008; Athanassiou et al., 2008a, b; Chintzoglou et al., 2008a, b; Vayias et al., 2009a, b; 2010), που πιθανόν συνέβαλαν στη δημιουργία και έγκριση του πρώτου σκευάσματος spinosad για χρήση κατά των εντόμων αποθηκών στην δόση του 1 ppm, το Sensat (Bayer CropScience, Germany). Το spinosad, σύμφωνα με τις μελέτες που έγιναν στα έντομα αποθηκών, έχει αισθητά διαφορετική αποτελεσματικότητα ανάλογα με το έντομο-στόχο. Επίσης, βρέθηκε να

επηρεάζεται από τους παράγοντες θερμοκρασίας και υγρασίας, ενώ μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία ως υπολειμματικό εντομοκτόνο επιφανειών και γενικότερα αποτελεί μια σημαντική δραστική στη διαχείριση των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων (Hertlein et al., 2011).

Η αποτελεσματική δράση του spinosad τόσο σε έντομα αγρού όσο και σε έντομα αποθηκών, οδήγησε τους επιστήμονες στην προσπάθεια ανάπτυξης και δημιουργίας νέων εντομοκτόνων, με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα, που είχαν ως βάση τις σπινοσίνες. Το πρόγραμμα αυτό, περιελάμβανε την αξιολόγηση των ήδη υπαρχόντων σπινοσινών, καθώς και ημισυνθετικά παράγωγά τους ως προς την βιολογική τους δραστηριότητα, χωρίς όμως θετικά αποτελέσματα. Ωστόσο, μια νέα μέθοδος που αναπτύχθηκε για την αξιολόγηση των σπινοσινών και των συνθετικών παραγώγων τους, που βασίστηκε στον συνδυασμό ενός ποσοτικού μοντέλου ανάλυσης (Quantitative Structure-Activity Relationship (QSAR)) και ενός μαθηματικού μοντέλου (Artificial Neural Network (ANN)), οδήγησε στον προσδιορισμό των τροποποιήσεων εκείνων που προσέδωσαν στις σπινοσίνες νέα βελτιωμένα χαρακτηριστικά και τελικά στην δημιουργία μιας νέας δραστικής, του spinetoram (Dripps et al., 2008).

### 4.3 Spinetoram

Το spinetoram αποτελείται από δυο τροποποιημένους μεταβολίτες του *S. spinosa*, τις σπινοσίνες J (κύριο συστατικό) και L (δευτερεύον συστατικό) σε αναλογία 3:1. Η τροποποίηση που έγινε στις σπινοσίνες αυτές αφορά στην αντικατάσταση μίας υδροξυλικής ομάδας με αλκαλική ομάδα (3'-O-alkyl) και το σπάσιμο του 5,6-διπλού δεσμού (Διάγραμμα 1).



**Διάγραμμα 1:** Τα σημεία της συνθετικής τροποποίησης των σπινোসινών J και L που οδηγούν στη δημιουργία του spinetoram (Πηγή: Dripps et al., 2008).

Η συγκεκριμένη τροποποίηση προσέδωσε στις σπινোসίνες αυτές νέα χαρακτηριστικά, τα οποία σε πειράματα αξιολόγησης που έγιναν, σε σύγκριση με την σπινოსίνη A του spinosad αλλά και με το ίδιο το spinosad, απέδειξαν ότι το spinetoram ήταν πιο αποτελεσματικό, με ταχύτερη και μεγαλύτερη διάρκεια δράσης εναντίον ευρύτερου φάσματος εχθρών, ενώ διατήρησε τη μικρή επίδρασή του στο περιβάλλον και τα έντομα μη στόχους (Sparks et al., 2008; Kirst, 2010). Συγκεκριμένα, το συστατικό του spinetoram (σπινোসίνη J) βρέθηκε να έχει καλύτερη δράση από την σπινোসίνη A εναντίον των ακμαίων και προνυμφών τετάρτης ηλικίας των *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) και *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), καθώς και κατά των ακμαίων του *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Hemiptera: Aleurodidae). Σε βιοδοκιμές αγρού και εργαστηρίου σε λάχανο, το spinetoram είχε καλύτερη υπολειμματική δράση σε σχέση με το spinosad εναντίον των *S. exigua* και *H. zea* (Dripps et al., 2008). Επιπλέον, σε πειράματα αγρού και εργαστηρίου αποδείχτηκε ότι το spinetoram Delegate™ (Dow

AgroSciences, USA) είχε την ίδια αποτελεσματικότητα αλλά σε χαμηλότερη δόση σε σχέση με τα spinosad SpinTor<sup>®</sup> (Dow AgroSciences, USA), και azinphos-methyl Guthion (Bayer CropScience, Germany) εναντίον του *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) (Dripps et al., 2008). Τέλος, σε συγκριτικό πείραμα μεταξύ spinetoram και spinosad κατά του *Heliothis virescens* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae), το spinetoram ήταν έξι φορές πιο δραστικό από το spinosad (Sparks et al., 2008; Dripps et al., 2008). Όσον αφορά την αποτελεσματικότητα του spinetoram για τα έντομα του αγρού, σχετικά πρόσφατη έρευνα έδειξε την υψηλή αποτελεσματικότητα του τόσο σε ακμαία, όσο και σε προνύμφες και νύμφες του θρίπα του καπνού, *Thrips tabaci* (Lindeman) (Thysanoptera: Thripidae) και της πράσινης αφίδας της ροδακινιάς, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) σε πειράματα αγρού και εργαστηρίου (Mahmoud et al., 2009). Σε συγκριτικά πειράματα τόσο με άλλα εντομοκτόνα όσο και με το spinosad, το spinetoram αποδείχθηκε εξίσου και περισσότερο αποτελεσματικό. Σε πειράματα αγρού για το έντομο *F. occidentalis* το spinetoram με την μορφή του σκευάσματος Radiant<sup>®</sup> (Dow AgroSciences, USA), ήταν εξίσου αποτελεσματικό με το καρβαμιδικό Lannate<sup>®</sup> (DuPont, USA) με ή χωρίς την προσθήκη πυρεθροειδούς, καθώς και με το spinosad σε μεγαλύτερες όμως δόσεις σε σχέση με το spinetoram (Palumbo, 2008). Όμοια αποτελέσματα για το ίδιο έντομο μεταξύ spinetoram και spinosad αναφέρθηκαν και από τους Srivastava et al. (2008), οι οποίοι επιπλέον ανέφεραν ότι το spinetoram δεν επηρέασε τη δράση του αρπακτικού *Orius insidiosus* (Say) (Hemiptera: Anthocoridae). Σε μια άλλη έρευνα, για την αντιμετώπιση του *T. tabaci* σε σκόρδο, με τη χρήση των spinetoram, lambda-cyhalothrin και methomyl, βρέθηκε ότι το spinetoram, σε μέτριας έντασης πληθυσμό, καταπολέμησε τον πληθυσμό του εντόμου, κάτι που δεν συνέβη με τα άλλα εντομοκτόνα (Nault and Shelton, 2010). Οι Yee et al. (2007) εξετάζοντας την αποτελεσματικότητα των spinetoram και spinosad εναντίον του *Rhagoletis pomonella* (Walsh) (Diptera: Tephritidae) σε καλλιέργεια μηλιάς, ανέφεραν ότι και οι δύο δραστικές είχαν υψηλή τοξικότητα στα ακμαία αμέσως μετά την εφαρμογή τους, η οποία μειώθηκε μετά από 7 ημέρες «παλαιώσης» των εντομοκτόνων, με λιγότερους ωστόσο απογόνους στην περίπτωση του spinetoram. Το spinetoram αποδείχθηκε εξίσου αποτελεσματικό με τις δραστικές abamectin και chlorantraniliprole κατά του *Spodoptera* spp., και τις δραστικές metaflumizone, chlorantraniliprole, indoxacarb, spinosad και novaluron κατά του *Liriomyza* spp. (Seal et al., 2007). Σε πειράματα



βιοδοκιμών με 9 δραστικές ουσίες για την αποτελεσματικότητά τους κατά του *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) οι τιμές του LC<sub>50</sub> για τα chlorantraniliprole και spinetoram ήταν μικρότερες από τα cyantraniliprole, flubendiamide, indoxacarb, lambda-cyhalothrin, methoxyfenozide, novaluron και spinosad (Hardke et al., 2011). Σε πρόσφατη μελέτη οι Athanassiou and Kavallieratos (2014) μελετώντας την αποτελεσματικότητα του spinosad και του spinetoram στη συγκέντρωση του 1 ppm αλλά και συνδυασμό αυτών σε διάφορες συγκεντρώσεις κατά των *P. truncatus*, *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum*, ανέφεραν ότι σε μερικά επίπεδα θερμοκρασίας και έκθεσης το spinosad μόνο του απέτυχε να θανατώσει το σύνολο των ακμαίων των *P. truncatus* και *S. oryzae*, κάτι που επετεύχθη σε όλες τις άλλες περιπτώσεις με τους συνδυασμούς των εντομοκτόνων ή μόνο του spinetoram. Σε μια άλλη μελέτη για την τοξικότητα των chlorantraniliprole, spinetoram, acetamiprid, και spinosad στις προνύμφες του *Grapholita molesta* (Busck) (Lepidoptera: Tortricidae), οι Jones et al. (2010) ανέφεραν ότι τα πιο αποτελεσματικά εντομοκτόνα ήταν το chlorantraniliprole και το spinetoram. Το spinetoram αποδείχτηκε αποτελεσματικό και για τον έλεγχο του *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) (El Kady et al., 2007). Όλα αυτά καταδεικνύουν το εύρος και την αποτελεσματικότητα του spinetoram σε έντομα αγρού. Στην Ευρώπη, το spinetoram έλαβε έγκριση το 2008, ενώ στην Ελλάδα δεν έχει ακόμη λάβει έγκριση κυκλοφορίας. Το spinetoram, όπως και το spinosad, χρησιμοποιείται με επιτυχία σε προγράμματα διαχείρισης ανθεκτικότητας εντόμων στα κοινά εντομοκτόνα, λόγω του μοναδικού τρόπου δράσης του.

Το spinetoram έλαβε έγκριση χρήσης ως εντομοκτόνο χαμηλής τοξικότητας για τον άνθρωπο και τα θερμόαιμα το 2007 (περίπου μια δεκαετία μετά το spinosad) από την USEPA (United States Environmental Protection Agency) με τις εμπορικές ονομασίες Delegate™ και Radiant™ για την αντιμετώπιση εντόμων αγρού, σε αρκετές καλλιέργειες. Το νέο αυτό εντομοκτόνο, λόγω του καινοτόμου τρόπου ανάπτυξής του, και των «ήπιων» χαρακτηριστικών του, όσον αφορά την επίδραση του στον περιβάλλον και τα έντομα μη στόχους, έλαβε επίσης το Presidential Green Chemistry Challenge Award στην κατηγορία Designing Greener Chemicals από την USEPA. Σύμφωνα με τις επίσημες μελέτες της USEPA (2009) και του Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority (2008), τα τοξικολογικά

χαρακτηριστικά του spinetoram είναι όμοια με του spinosad. Ειδικότερα, το spinetoram έχει χαμηλή οξεία τοξικότητα στα θερμόαιμα στη λήψη από στόματος, δέρματος και εισπνοής (το LD<sub>50</sub> μέσω λήψης από στόματος και δέρματος είναι >5000 mg/kg σωματικού βάρους (Σ.Β.) και το LC<sub>50</sub> μέσω εισπνοής > 5280 mg/m<sup>3</sup>). Το spinetoram δεν είναι ερεθιστικό για τα μάτια και το δέρμα, ενώ παρουσιάζει ελάχιστες αντιδράσεις στο δέρμα. Σε χρόνιες εκθέσεις το spinetoram δεν προκαλεί καρκινογένεση, δεν παρουσιάζει νευροτοξικότητα και γονοτοξικότητα, ενώ σε μερικές περιπτώσεις αναφέρθηκαν υπερπλασία στους αδένες του βλεννογόνου του στομάχου, μείωση του σωματικού βάρους και αναιμία κυρίως σε σκυλιά, που φαίνεται να είναι τα πιο ευαίσθητα στο spinetoram (Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, 2008). Στα ψάρια, η οξεία τοξικότητα του spinetoram εξαρτάται από το είδος, ωστόσο συνολικά θεωρείται χαμηλή. Το spinetoram διασπάται τόσο στο έδαφος (όπου παρουσιάζει μικρή κινητικότητα) όσο και στα υδατικά συστήματα με την διαδικασία της φωτόλυσης, ενώ απουσία φωτός διασπάται από μικροοργανισμούς. Ο τρόπος δράσης του spinetoram είναι ίδιος με αυτόν του spinosad, για αυτό και ταξινομήθηκε στην ίδια ομάδα (ομάδα 5) των σπινωσίνων από τον οργανισμό IRAC.

## 5. Σκοπός της παρούσας μελέτης

Με βάση με την ανάλυση της υφιστάμενης κατάστασης και των προβλημάτων που αναφέρθηκαν είτε σε υπάρχουσες δραστικές ουσίες είτε στη χρήση εναλλακτικών (εκτός των χημικών) μεθόδων αντιμετώπισης, η ανάγκη που προκύπτει για την χρήση νέων δραστικών ουσιών για την αντιμετώπιση των εντόμων αποθηκών είναι επιτακτική και ύψιστης σημασίας. Με βάση λοιπόν την αποδεδειγμένη αποτελεσματικότητα του spinosad κατά των εντόμων αποθηκών (Hertlein et al., 2011), καθώς και των νέων υπερτερούντων χαρακτηριστικών του spinetoram έναντι του spinosad, στην παρούσα διδακτορική διατριβή έγινε εκτενής αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του spinetoram κατά των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων, καθώς για τη δραστική αυτή δεν υπάρχουν διαθέσιμα πειραματικά δεδομένα και αποτελέσματα. Η αξιολόγηση αυτή περιελάμβανε σειρά πειραματικών ενοτήτων, κατά τις οποίες το εντομοκτόνο spinetoram αξιολογήθηκε εκτενώς για την αποτελεσματικότητά του, με βάση την επίδραση διαφόρων βιοτικών και αβιοτικών

παραγόντων. Στο πλαίσιο του πειραματισμού, το spinetoram αξιολογήθηκε τόσο ως εντομοκτόνο σε αποθηκευμένα δημητριακά, όσο και ως εντομοκτόνο σε διάφορες επιφάνειες που συναντώνται σε χώρους αποθήκευσης και επεξεργασίας τροφίμων. Επιπροσθέτως, μελετήθηκε και η υπολειμματικότητά του στο χρόνο με πειράματα αποτελεσματικότητας, αλλά και η ανίχνευσή του, για πρώτη φορά στα ως άνω ενδιαιτήματα, μέσω χρωματογραφικών μεθόδων.

Στην συνέχεια, και υπό μορφή αυτοτελών πειραματικών ενοτήτων, αναπτύσσονται οι πειραματικές ενότητες που έλαβαν χώρα, τα αποτελέσματά τους και ο σχολιασμός των αποτελεσμάτων. Στο πλαίσιο της ανάπτυξης αυτής, ορισμένα, κυρίως εισαγωγικά, στοιχεία τονίζονται σε περισσότερες από μια ενότητες, που όμως είναι απαραίτητο να υπάρξουν για την στοιχειοθέτηση των αποτελεσμάτων και την αυτοτέλεια των πειραματικών ενοτήτων.

Συνολικά έλαβαν χώρα οκτώ πειραματικές ενότητες. Οι ενότητες που αναλύονται στην συνέχεια είναι οι εξής:

1. Αξιολόγηση της εντομοκτόνου δράσης του spinetoram για την αντιμετώπιση των *Rhyzopertha dominica*, *Prostephanus truncatus*, *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granarius*, *Tribolium confusum* και *Oryzaephilus surinamensis*, ως μια πρώτη μελέτη για την επισήμανση της αποτελεσματικότητάς του σε μεγάλο εύρος ειδών.
2. Επίδραση των σύντομων εκθέσεων στο spinetoram για τα *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* και *Tribolium confusum*, με σκοπό την επισήμανση της ταχύτητας δράσης του.
3. Επίδραση της άνισης κατανομής του spinetoram στη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων των *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* και *Tribolium confusum* σε σιτάρι και ρύζι, 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.
4. Επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα του spinetoram για τα είδη *Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica* και *Tribolium confusum*, οι οποίοι αποτελούν κύριους

παράγοντες στο περιβάλλον της αποθήκης και επηρεάζουν σημαντικά τη δράση των εντομοκτόνων.

5. Υπολειμματική δράση και αποτελεσματικότητα του spinetoram εναντίον των *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* και *Tribolium confusum* σε σιτάρι, ως μια πρώτη προσέγγιση της δυνατότητας που παρέχει το spinetoram για προστασία του προϊόντος για μεγάλα χρονικά διαστήματα.
6. Επίδραση του είδους του δημητριακού στην αποτελεσματικότητα του spinetoram εναντίον των *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus granarius* και *Sitophilus oryzae*, με σκοπό την αξιολόγηση της δράσης του στα περισσότερα από τα ευρέως καλλιεργούμενα δημητριακά παγκοσμίως.
7. Αποτελεσματικότητα του spinetoram σε διαφορετικές επιφάνειες για τα *Sitophilus granarius*, *Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium confusum*, *Oryzaephilus surinamensis* και *Cryptolestes ferrugineus*, με στόχο τη διερεύνηση της δυνατότητας χρήσης του εντομοκτόνου αυτού σε διάφορες επιφάνειες που απαντώνται σε χώρους που φιλοξενούν τρόφιμα.
8. Υπολειμματική δράση του spinetoram σε επιφάνειες τσιμέντου και μετάλλου για τα *Sitophilus oryzae*, *Tribolium confusum* και *Oryzaephilus surinamensis*, για την επισήμανση της δυνατότητας του spinetoram να παραμένει αποτελεσματικό για μεγάλα χρονικά διαστήματα στις επιφάνειες που έχει εφαρμοσθεί, καθώς και της επίδρασης του φωτός σε αυτά τα διαστήματα.

Οι πειραματικές ενότητες έλαβαν χώρα στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κατά το χρονικό διάστημα 2012-2014.

## Ενότητα Β: ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΕΝΟΤΗΤΕΣ

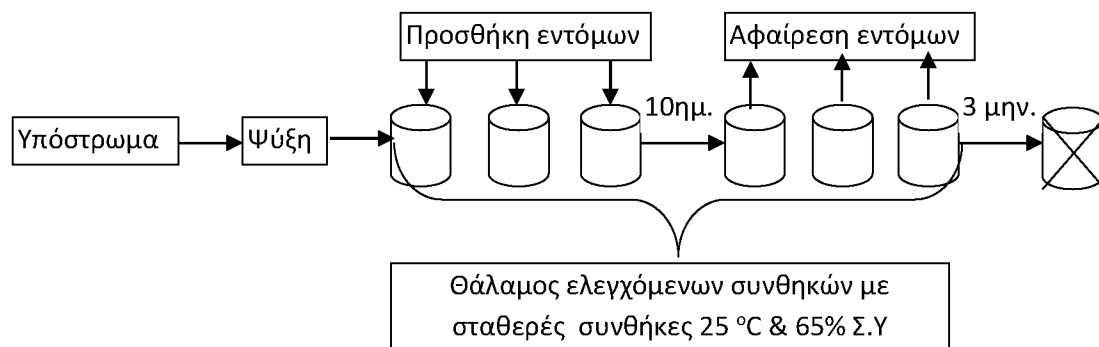
### 1. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι

#### 1.1 Διαδικασία Εκτροφών

Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν για το σύνολο των πειραμάτων που θα αναπτυχθούν στην συνέχεια, προήλθαν από τις εκτροφές του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για την δημιουργία και διατήρηση των εκτροφών, ήταν η ίδια για όλα τα έντομα, με τη διαφοροποίηση ότι για κάθε έντομο χρησιμοποιούνταν και διαφορετικό υπόστρωμα εκτροφής. Έτσι στα είδη *S. oryzae*, *S. granarius* και *R. dominica* χρησιμοποιήθηκε σκληρό σιτάρι *Triticum durum* Desf. (ποικιλία Simeto, Αλφα Γεωργικά Εφόδια), για το *P. truncatus* χρησιμοποιήθηκε αραβόσιτος *Zea mays* L. (υβρίδιο Δίας, Ινστιτούτο Σιτηρών), για το *O. surinamensis* νιάδες βρώμης (Quaker Co.), για το *T. confusum* αλεύρι σιταριού (Μύλοι Αγίου Γεωργίου) και για το *C. ferrugineus* σπασμένοι σπόροι σκληρού σιταριού. Να σημειωθεί εδώ ότι όλα τα υποστρώματα ήταν απαλλαγμένα από εντομοκτόνα και έντομα.

Οι ποσότητες των δημητριακών που χρησιμοποιήθηκαν για τις εκτροφές αλλά και για τα πειράματα, αποθηκεύθηκαν σε θερμοκρασία 8 °C, ενώ οι απαιτούμενες ποσότητες αφαιρούνταν από τις ποσότητες αυτές πριν τη χρήση τους. Η διαδικασία της εκτροφής (Διάγραμμα 1) ξεκινούσε με την ψύξη του υποστρώματος σε καταψύκτη στους -20 °C για τουλάχιστον δύο ημέρες, με σκοπό τη θανάτωση τυχόν εναπομεινάντων ωών (Fields, 1992). Στη συνέχεια, το υπόστρωμα παρέμενε σε συνθήκες περιβάλλοντος για τουλάχιστον μια ημέρα για την θερμοκρασιακή εξισορρόπηση του. Τόσο η θερμοκρασία, όσο και η περιεκτικότητα σε υγρασία καταγράφονταν με τη χρήση υγρασιόμετρου σπόρων δημητριακών (Multitest, Gode co., France). Κατόπιν, το υπόστρωμα τοποθετούνταν σε γυάλινα βάζα διαστάσεων 8.6 cm σε διάμετρο και 17.5 cm σε ύψος, τα οποία έκλειναν με καπάκι στο οποίο είχε τοποθετηθεί μεταλλική σήτα για αερισμό. Ο όγκος του υποστρώματος καταλάμβανε το μισό όγκο του βάζου. Στην συνέχεια 100 ακμαία του προς εκτροφή είδους τοποθετούνταν στο υπόστρωμα και αφήνονταν να ωοτοκήσουν για διάστημα 10

ημερών. Τα γυάλινα βάζα διατηρούνταν σε κλειστό θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών, με δυνατότητα ρύθμισης της θερμοκρασίας και της υγρασίας με την χρήση υγραντήρα και αφυγραντήρα, και ο οποίος ρυθμίστηκε σε θερμοκρασία 25 °C, 65% Σ.Υ. και συνεχές σκοτάδι. Μετά το πέρας του δεκαημέρου της ωστοκίας τα ακμαία άτομα αφαιρούνταν από το υπόστρωμα, και το υπόστρωμα στη συνέχεια επέστρεφε στις ίδιες συνθήκες για την ολοκλήρωση του βιολογικού κύκλου του εντόμου, με την εμφάνιση των ακμαίων της επόμενης γενιάς, που σημειώνονταν σε 40-50 ημέρες, ανάλογα με το είδος του εντόμου. Τα βάζα στη συνέχεια διατηρούνταν στις ίδιες σταθερές συνθήκες εκτροφής για διάστημα το πολύ τριών μηνών με την προσθήκη νέου υποστρώματος μηνιαίως (το οποίο είχε προετοιμαστεί όπως προαναφέρθηκε), ενώ στην συνέχεια η εκτροφή καταστρέφονταν με την τοποθέτηση των βάζων σε καταψύκτη στους -20 °C. Για την διατήρηση της εκτροφής, η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνονταν τρεις φορές κάθε μήνα (δηλ. με τρεις νέες ενάρξεις ωστοκίας σε νέα βάζα).



**Διάγραμμα 1.** Σχηματικά η διαδικασία εκτροφής των εντόμων που χρησιμοποιήθηκαν στις πειραματικές ενότητες

Η συλλογή των ακμαίων από τις εκτροφές για την χρήση τους στις πειραματικές δοκιμές, γινόταν με την βοήθεια μεταλλικών κοσκίνων (PROETI, Spain) με σήτες διαμέτρου 1 ή 2 mm ανάλογα με το είδος του εντόμου, οι οποίες διαχώριζαν το υπόστρωμα από τα ακμαία.

## 2. Αξιολόγηση της εντομοκτόνου δράσης του spinetoram για την αντιμετώπιση των *Rhizopertha dominica*, *Prostephanus truncatus*, *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granarius*, *Tribolium confusum* και *Oryzaephilus surinamensis*

### 2.1 Εισαγωγή

Μία από τις βασικές μεθόδους για την προστασία των αποθηκευμένων δημητριακών είναι η άμεση εφαρμογή στη μάζα τους εντομοκτόνων επαφής, που είναι γνωστά ως προστατευτικά εντομοκτόνα σπόρων αποθηκευμένων δημητριακών, και διεθνώς ονομάζονται grain protectants (Arthur, 1996). Ωστόσο, πολλά από τα παραδοσιακά προστατευτικά, όπως τα οργανοφωσφορικά (OP) είναι ενώσεις που συχνά συνδέονται με την παρουσία τοξικών για τον άνθρωπο υπολειμμάτων στο προϊόν, γεγονός που έχει μεγάλη σημασία για την ανθρώπινη υγεία, ενώ η εκτεταμένη χρήση τους είναι επικίνδυνη για το περιβάλλον (White and Leesch, 1995; Arthur, 1996). Ταυτόχρονα, αρκετά επιβλαβή έντομα είναι πλέον ανθεκτικά στα συνηθέστερα χρησιμοποιούμενα οργανοφωσφορικά. Για παράδειγμα, το *Rhizopertha dominica* έχει αναπτύξει ανθεκτικότητα τόσο στο chlorpyrifos-methyl, όσο και στο pirimiphos-methyl (Guedes et al., 1996; Nayak et al., 2005). Συνεπώς, δημιουργήθηκε η ανάγκη για την εύρεση νέων δραστικών ουσιών, που θα επιφέρουν λιγότερα προβλήματα στην υγεία του ανθρώπου και το περιβάλλον και που θα είναι πιο συμβατά με την προσέγγιση της ολοκληρωμένης διαχείρισης των επιβλαβών οργανισμών (IPM) όσον αφορά στην προστασία των αποθηκευμένων δημητριακών.

Μία λοιπόν από τις εναλλακτικές λύσεις είναι το spinosad, ένα φυσικό μείγμα της σπινοσίνης A και σπινοσίνης D, μεταβολιτών του βακτηρίου *Saccharopolyspora spinosa*. Το spinosad, όπως προαναφέρθηκε, δρα στο νευρικό σύστημα των εντόμων σε μια μοναδική θέση στο νικοτινικό υποδοχέα της ακετυλοχολίνης, μέσω της επαφής ή της κατάποσης (Dripps et al., 2011). Το spinosad έχει χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά και αποικοδομείται ταχέως όταν εκτίθεται στο ηλιακό φως (Thompson et al., 2000), ενώ είναι σχετικά σταθερό όταν εφαρμόζεται σε αποθηκευμένους σπόρους (Fang et al., 2002b; Flinn et al., 2004; Hertlein et al., 2011). Το spinosad είναι εξαιρετικά τοξικό στους πληθυσμούς ορισμένων ειδών που εμφανίζουν ανθεκτικότητα στα οργανοφωσφορικά, όπως στο *R. dominica*, ακόμα κι όταν μόνο ένα μέρος της μάζας των σιτηρών έχει ψεκαστεί (Getchell, 2006; Getchell and Subramanyam, 2008; Athanassiou et al., 2009a).

Πρόσφατα, το spinetoram, εισήχθη ως ένα νέο εντομοκτόνο σπινোসίνης με μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα και μεγαλύτερη ταχύτητα δράσης σε σύγκριση με το spinosad (Dripps et al., 2008; Sparks et al., 2008). Το spinetoram παρασκευάζεται με τη λήψη των φυσικών σπινোসινών (σπινোসίνη J και σπινোসίνη L), που παράγονται από το βακτήριο *S. spinosa*, στις οποίες λαμβάνουν χώρα δύο συνθετικές τροποποιήσεις και έχει τον ίδιο τρόπο δράσης με το spinosad μέσω της επαφής και της κατάποσης (Dripps et al., 2011). Εκτεταμένη έρευνα με εφαρμογή του spinetoram σε εχθρούς-έντομα του αγρού, έδειξε ότι το spinetoram είναι πολύ αποτελεσματικό κατά ενός μεγάλου εύρους τέτοιων ειδών. Συγκεκριμένα, οι Sparks et al. (2008) και οι Jones et al. (2010) παρατήρησαν ότι το spinetoram ήταν πιο αποτελεσματικό από ότι το spinosad κατά του *Cydia pomonella*, του *Heliothis virescens* και του *Grapholita molesta*. Επιπλέον, το spinetoram είναι σημαντικά λιγότερο τοξικό από το spinosad στον επικονιαστή *Bombus terrestris* (L.) (Hymenoptera: Apidae) (Besard et al., 2011).

Στην παρούσα πειραματική ενότητα, αξιολογήθηκε η αποτελεσματικότητα του spinetoram κατά τεσσάρων πρωτευόντων εντόμων αποθηκευμένων σιτηρών (*R. dominica*, *Prostephanus truncatus*, *Sitophilus oryzae* και *Sitophilus granarius*) και δύο δευτερευόντων (*Tribolium confusum* και *Oryzaephilus surinamensis*).

## **2.2 Υλικά και μέθοδοι**

### **2.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών**

Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν ακμαία των *R. dominica*, *P. truncatus*, *S. oryzae*, *S. granarius*, *T. confusum* και *O. surinamensis*, η εκτροφή και συλλογή των οποίων έγινε όπως περιγράφεται στη Ενότητα Β, υποενότητα 1.1.

Για τις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκε αγέκαστο σκληρό σιτάρι (ποικιλία Claudio) και αραβόσιτος (υβρίδιο Δίας). Πριν από τα πειράματα η περιεκτικότητα υγρασίας μετρήθηκε στο 13.5% για το σιτάρι και στο 16.9% για τον αραβόσιτο, με τη χρήση μετρητή υγρασίας σπόρων (Multitest, Gode Co., France).

### **2.2.2 Εφαρμογή του spinetoram**

Η μορφή τυποποίησης του spinetoram που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές περιείχε 120 γραμμάρια δραστικής ουσίας (δ.ο.) ανά λίτρο, με τη μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος (Suspension Concentrate, SC), και παρασχέθηκε από



την Dow AgroSciences, UK. Ποσότητες βάρους 0.5 kg των δημητριακών ψεκάστηκαν με spinetoram ώστε να δημιουργηθούν οκτώ διαφορετικές συγκεντρώσεις: 0 (μάρτυρας), 0.01, 0.1, 0.5, 1, 2, 5 και 10 ppm (mg δ.ο. /kg σιταριού ή αραβοσίτου). Το σκεύασμα αραιώθηκε με απιονισμένο νερό για την προετοιμασία κάθε συγκέντρωσης και 0.5 ml του κατάλληλου διαλύματος ψεκάστηκε σε κάθε ποσότητα. Η εφαρμογή έγινε με τη χρήση καλλιτεχνικού αερογράφου (Mecafer AG4, Mecafer Co., France). Για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου, το σιτάρι (ή ο αραβόσιτος) απλώθηκε σε ένα δίσκο, ώστε να δημιουργηθεί λεπτό στρώμα σπόρων ως επιφάνεια ψεκασμού. 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.

### 2.2.3 Βιοδοκιμές

Οι βιοδοκιμές σε όλα τα έντομα πραγματοποιήθηκαν σε σκληρό σιτάρι, με εξαίρεση το *P. truncatus*, όπου χρησιμοποιήθηκε αραβόσιτος. Πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (3 cm σε διάμετρο, 8 cm σε ύψος) χρησιμοποιήθηκαν ως πειραματικές μονάδες για τις βιοδοκιμές. Για κάθε είδος εντόμου, τέσσερα δείγματα, 20 g έκαστο, ελήφθησαν από κάθε ποσότητα των ψεκασμένων δημητριακών και τοποθετήθηκαν στα φιαλίδια. Στη συνέχεια, είκοσι ακμαία εισήχθησαν σε κάθε φιαλίδιο (χωριστά φιαλίδια για κάθε είδος και συγκέντρωση). Όλα τα φιαλίδια στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών που ρυθμίστηκαν στους 25 °C, 65% σχετική υγρασία (Σ.Υ.) και σε συνεχές σκοτάδι. Η θνησιμότητα των εντόμων αξιολογήθηκε μετά από 1, 2, 7, 14 και 21 ημέρες έκθεσης στο ψεκασμένο και το μη ψεκασμένο δημητριακό. Μετά το διάστημα των 21 ημερών, όλα τα ακμαία (νεκρά και ζωντανά) απομακρύνθηκαν και τα φιαλίδια και επέστρεψαν στις ίδιες συνθήκες. Εξήντα πέντε ημέρες αργότερα, τα φιαλίδια εξετάστηκαν για την παραγωγή απογόνων. Για τα *R. dominica*, *S. oryzae*, *S. granarius* και *P. truncatus* καταγράφηκαν μόνο τα ακμαία, ενώ για τα *T. confusum* και *O. surinamensis*, καταγράφηκαν και μετρήθηκαν χωριστά τα ακμαία, οι νύμφες και οι προνύμφες. Ολόκληρο το πείραμα επαναλήφθηκε τρεις φορές, με παρασκευή νέων ποσοτήτων δημητριακών κάθε φορά (3 X 4 = 12 φιαλίδια για κάθε είδος).

#### 2.2.4 Ανάλυση δεδομένων.

Η θνησιμότητα του μάρτυρα ήταν γενικά χαμηλή, οπότε δεν θεωρήθηκε απαραίτητη καμία διόρθωση. Η θνησιμότητα των ακμαίων αναλύθηκε χωριστά για κάθε είδος χρησιμοποιώντας πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (repeated-measures MANOVA) με βάση τον έλεγχο Wilk's lambda του λογισμικού JMP 7 (Sall et al., 2001), με τη συγκέντρωση ως κύρια επίδραση, και την θνησιμότητα στο χρόνο ως επαναλαμβανόμενη εξαρτημένη μεταβλητή. Για την παραγωγή απογόνων, έγινε ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (one-way ANOVA), χρησιμοποιώντας το ίδιο λογισμικό, με τον αριθμό των απογόνων ως εξαρτημένη μεταβλητή και τη συγκέντρωση ως κύρια επίδραση. Σε αυτήν την περίπτωση, ο αριθμός των απογόνων στους μάρτυρες συμπεριελήφθη στην ανάλυση. Αν και μετρήθηκαν χωριστά τα διάφορα στάδια ανάπτυξης των *T. confusum* και *O. surinamensis*, αναλύθηκαν ως συνολικός αριθμός των απογόνων, καθώς οι περισσότεροι από τους απογόνους που καταγράφηκαν ήταν στο στάδιο των ακμαίων. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το Tukey-Kramer HSD (Honestly Significant Difference) test σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 (Sokal and Rohlf, 1995).

### 2.3 Αποτελέσματα

#### 2.3.1 Θνησιμότητα

Για όλα τα είδη, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις αυτών ήταν σημαντικές (Πίνακας 1). Μεταξύ των ειδών που εξετάστηκαν, τα *R. dominica* και *P. truncatus* ήταν τα πιο ευαίσθητα στο spinetoram. Για τα είδη αυτά, η θνησιμότητα έφθασε το 100% μετά από μόλις 7 ημέρες έκθεσης σε όλες τις συγκεντρώσεις, με εξαίρεση αυτή των 0.01 ppm για το *P. truncatus* (Πίνακες 2 και 3), στην οποία η θνησιμότητα ήταν 75% μετά από 21 ημέρες έκθεσης. Από την άλλη πλευρά, τα *Sitophilus* spp. ήταν λιγότερο ευαίσθητα στο spinetoram. Μετά από 7 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα των ακμαίων του *S. granarius* ήταν 100% στο 1 ppm και πάνω, ενώ η αντίστοιχη θνησιμότητα για το *S. oryzae* κυμαινόταν μεταξύ 85 και 100% (Πίνακες 4 και 5). Επιπλέον, η θνησιμότητα για τα *S. granarius* και *S. oryzae* σε συγκέντρωση 0.5 ppm και άνω ήταν 100% μετά από 14 και 21 ημέρες, αντίστοιχα. Η θνησιμότητα των *O. surinamensis* και *T. confusum* γενικώς αυξήθηκε με την

αύξηση της συγκέντρωσης του spinetoram (Πίνακες 6 και 7). Η θνησιμότητα του *O. surinamensis* έφθασε το 98% στα 5 ppm και το 100% στα 10 ppm μετά από 21 ημέρες έκθεσης. Για την ίδια συγκέντρωση και διάστημα έκθεσης, η θνησιμότητα των ακμαίων του *T. confusum* ήταν 96 και 99% αντίστοιχα.

**Πίνακας 1.** Ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας, σχετική με την επίδραση συγκέντρωσεων του spinetoram στα είδη που εξετάστηκαν [Βαθμοί Ελευθερίας (B.E.) σφάλματος = 56].

	<i>R. dominica</i>		<i>P. truncatus</i>		<i>S. oryzae</i>		<i>S. granarius</i>		<i>T. confusum</i>		<i>O. surinamensis</i>		
	B.E	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Εντός της μεταβλητής	6	6.7	<0.01	47.7	<0.01	66.3	<0.01	31.7	<0.01	16.1	<0.01	32.0	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	14639.2	<0.01	11164.4	<0.01	3097.3	<0.01	4459.2	<0.01	831.5	<0.01	446.3	<0.01
Συγκέντρωση	6	6.7	<0.01	47.7	<0.01	66.3	<0.01	31.7	<0.01	16.1	<0.01	32.0	<0.01
Σε σχέση με το χρόνο	24	1.9	<0.01	11.2	<0.01	10.7	<0.01	13.1	<0.01	5.1	<0.01	6.6	<0.01
Χρόνος	4	7094.5	<0.01	2436.9	<0.01	982.2	<0.01	1364.4	<0.01	363.9	<0.01	91.6	<0.01
Χρόνος X Συγκέντρωση	24	1.9	<0.01	11.2	<0.01	10.7	<0.01	13.1	<0.01	5.1	<0.01	6.6	<0.01

**Πίνακας 2.** Μέσος Όρος (Μ.Ο.) [% ± Τ.Σ (Τυπικό Σφάλμα)] θνησιμότητας των ακμαίων του *R. dominica* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του spinetoram σε 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 1 <sup>η</sup>	Ημέρα 2 <sup>η</sup>	Ημέρα 7 <sup>η</sup>	Ημέρα 14 <sup>η</sup>	Ημέρα 21 <sup>η</sup>
0.01 ppm	0.6 ± 0.6	14.6 ± 4.6c	96.6 ± 2.2	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
0.1 ppm	1.6 ± 0.8	16.0 ± 4.9bc	98.9 ± 0.7	99.4 ± 0.6	99.4 ± 0.6
0.5 ppm	1.1 ± 0.7	35.7 ± 6.0abc	98.9 ± 0.7	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
1 ppm	2.7 ± 0.9	38.4 ± 8.9abc	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
2 ppm	5.9 ± 2.6	42.3 ± 7.0ab	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
5 ppm	6.8 ± 2.6	52.6 ± 6.0a	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0
10 ppm	4.9 ± 1.6	54.3 ± 5.5a	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0	100.0 ± 0.0

**Πίνακας 3.** Μέσος Όρος (% ± Τ.Σ) θνησιμότητας των ακμαίων του *P. truncatus* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του spinetoram σε 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).

Συγκέντρωση	Χρόνος Έκθεσης				
	Ημέρα 1 <sup>η</sup>	Ημέρα 2 <sup>η</sup>	Ημέρα 7 <sup>η</sup>	Ημέρα 14 <sup>η</sup>	Ημέρα 21 <sup>η</sup>
0.01 ppm	1.8 ± 1.3	3.0 ± 1.6b	37.5 ± 5.9b	65.4 ± 5.7b	75.5 ± 6.2b
0.1 ppm	2.2 ± 1.2	27.0 ± 4.4a	97.8 ± 1.2a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
0.5 ppm	1.1 ± 1.1	25.5 ± 6.7a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
1 ppm	2.1 ± 0.8	17.1 ± 2.5ab	99.5 ± 0.5a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
2 ppm	2.7 ± 1.4	15.4 ± 1.9ab	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
5 ppm	2.1 ± 1.1	14.2 ± 1.9ab	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
10 ppm	0.6 ± 0.6	13.9 ± 1.9ab	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a

**Πίνακας 4.** Μέσος Όρος (% ± Τ.Σ) θνησιμότητας των αμκαίων του *S. oryzae* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του spinetoram σε σιτάρι (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Χρόνος Έκθεσης					
Συγκέντρωση	Ημέρα 1 <sup>η</sup>	Ημέρα 2 <sup>η</sup>	Ημέρα 7 <sup>η</sup>	Ημέρα 14 <sup>η</sup>	Ημέρα 21 <sup>η</sup>
0.01 ppm	1.1 ± 0.7b	1.7 ± 0.8d	17.6 ± 5.5c	33.7 ± 7.1b	50.1 ± 5.9b
0.1 ppm	0.0 ± 0.0b	1.9 ± 1.3d	21.0 ± 6.3c	44.4 ± 8.0b	57.7 ± 8.1b
0.5 ppm	0.5 ± 0.5b	6.8 ± 2.9cd	66.9 ± 5.3b	94.0 ± 1.6a	100.0 ± 0.0a
1 ppm	0.5 ± 0.5b	9.5 ± 3.0cd	84.9 ± 4.5a	98.3 ± 1.2a	100.0 ± 0.0a
2 ppm	2.8 ± 0.9ab	19.4 ± 5.8bc	97.0 ± 1.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
5 ppm	3.9 ± 1.6ab	29.2 ± 5.0ab	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
10 ppm	5.6 ± 1.5a	37.3 ± 3.9a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a

**Πίνακας 5.** Μέσος Όρος (% ± Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *S. granarius* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του spinetoram σε 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 1 <sup>η</sup>	Ημέρα 2 <sup>η</sup>	Ημέρα 7 <sup>η</sup>	Ημέρα 14 <sup>η</sup>	Ημέρα 21 <sup>η</sup>
0.01 ppm	0.0 ± 0.0	3.7 ± 1.8b	34.9 ± 5.4c	58.5 ± 7.6b	71.6 ± 7.1b
0.1 ppm	0.5 ± 0.5	2.8 ± 0.9b	51.5 ± 6.5b	73.7 ± 7.8b	82.5 ± 7.0b
0.5 ppm	0.0 ± 0.0	3.1 ± 1.3b	98.7 ± 0.8a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
1 ppm	0.0 ± 0.0	5.0 ± 1.2b	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
2 ppm	0.0 ± 0.0	11.1 ± 2.6b	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
5 ppm	0.6 ± 0.6	24.5 ± 5.2a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a
10 ppm	0.5 ± 0.5	28.9 ± 4.8a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a	100.0 ± 0.0a

**Πίνακας 6.** Μέσος Όρος (%  $\pm$  Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *O. surinamensis* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του spinetoram σε σιτάρι (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Χρόνος Έκθεσης					
Συγκέντρωση	Ημέρα 1 <sup>η</sup>	Ημέρα 2 <sup>η</sup>	Ημέρα 7 <sup>η</sup>	Ημέρα 14 <sup>η</sup>	Ημέρα 21 <sup>η</sup>
0.01 ppm	0.0 $\pm$ 0.0b	4.6 $\pm$ 2.6b	23.2 $\pm$ 11.0c	29.9 $\pm$ 12.5c	42.2 $\pm$ 11.8b
0.1 ppm	0.6 $\pm$ 0.6b	4.5 $\pm$ 2.1b	19.6 $\pm$ 11.3c	26.1 $\pm$ 12.9c	40.1 $\pm$ 11.6b
0.5 ppm	0.0 $\pm$ 0.0b	2.7 $\pm$ 1.6b	11.1 $\pm$ 3.3c	28.8 $\pm$ 7.9c	47.5 $\pm$ 9.2b
1 ppm	0.0 $\pm$ 0.0b	2.9 $\pm$ 1.5b	21.8 $\pm$ 8.3c	35.4 $\pm$ 9.1bc	55.9 $\pm$ 10.3b
2 ppm	1.6 $\pm$ 0.8b	19.5 $\pm$ 3.7b	60.5 $\pm$ 6.3b	67.1 $\pm$ 5.9ab	73.6 $\pm$ 5.4ab
5 ppm	28.4 $\pm$ 7.0a	70.5 $\pm$ 9.3a	96.1 $\pm$ 1.8a	96.7 $\pm$ 1.4a	97.2 $\pm$ 1.2a
10 ppm	31.3 $\pm$ 4.5a	81.1 $\pm$ 2.3a	99.4 $\pm$ 0.6a	99.4 $\pm$ 0.6a	100.0 $\pm$ 0.0a

**Πίνακας 7.** Μέσος Όρος (%  $\pm$  Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *T. confusum* που εκτέθηκαν σε επτά συγκεντρώσεις του spinetoram σε 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 1 <sup>η</sup>	Ημέρα 2 <sup>η</sup>	Ημέρα 7 <sup>η</sup>	Ημέρα 14 <sup>η</sup>	Ημέρα 21 <sup>η</sup>
0.01 ppm	3.1 $\pm$ 1.9	3.1 $\pm$ 1.9b	13.6 $\pm$ 4.0c	40.1 $\pm$ 5.9c	51.8 $\pm$ 6.0c
0.1 ppm	1.1 $\pm$ 0.7	2.2 $\pm$ 1.2b	12.6 $\pm$ 3.0c	36.3 $\pm$ 4.9c	53.6 $\pm$ 6.1c
0.5 ppm	1.1 $\pm$ 0.7	1.7 $\pm$ 0.8b	25.1 $\pm$ 4.8bc	51.3 $\pm$ 5.8bc	68.6 $\pm$ 5.7bc
1 ppm	2.2 $\pm$ 1.2	2.8 $\pm$ 1.8b	20.6 $\pm$ 4.9c	55.8 $\pm$ 9.2bc	64.6 $\pm$ 7.8bc
2 ppm	0.0 $\pm$ 0.0	1.1 $\pm$ 0.7b	30.2 $\pm$ 5.7bc	70.1 $\pm$ 7.1ab	82.0 $\pm$ 5.2ab
5 ppm	1.7 $\pm$ 0.8	5.6 $\pm$ 2.1ab	45.7 $\pm$ 5.9b	87.5 $\pm$ 4.2a	96.6 $\pm$ 1.2a
10 ppm	0.5 $\pm$ 0.5	10.5 $\pm$ 2.4a	69.5 $\pm$ 5.6a	94.9 $\pm$ 2.1a	99.4 $\pm$ 0.6a

### 2.3.2 Παραγωγή απογόνων

Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν μεταξύ των συγκεντρώσεων για όλα τα είδη που δοκιμάστηκαν (Πίνακας 8). Για το *R. dominica*, δεν προέκυψαν απόγονοι στο σιτάρι σε συγκεντρώσεις spinetoram  $\geq 2$  ppm. Στα 0.5 και 1 ppm, η παραγωγή απογόνων ήταν γενικά χαμηλή, και δεν υπερέβη τα 0.8 ακμαία ανά φιαλίδιο. Για το *P. truncatus*, δεν παρήχθησαν απόγονοι στον αραβόσιτο σε συγκεντρώσεις spinetoram από 0.5 ppm και πάνω. Αντίθετα, η παραγωγή απογόνων για το *S. oryzae* ήταν υψηλή σε ψεκασμένο σιτάρι με spinetoram 0.01 και 0.1 ppm και δεν διέφερε σημαντικά από εκείνη στα φιαλίδια του μάρτυρα. Επιπλέον, η παραγωγή απογόνων του *S. oryzae* δεν αποφεύχθηκε πλήρως, με εξαίρεση τα 10 ppm. Ομοίως, για το *S. granarius*, η παραγωγή απογόνων στο 0.01 ppm δεν διέφερε από εκείνη του μη ψεκασμένου σιταριού, ενώ πολύ λίγοι απόγονοι καταγράφηκαν στις δύο υψηλότερες συγκεντρώσεις (<1 ακμαίο/φιαλίδιο). Στην περίπτωση των *O. surinamensis* και *T. confusum* η παραγωγή απογόνων ήταν γενικά χαμηλή, ακόμη και στα φιαλίδια του μάρτυρα, όπου αυτή δεν υπερέβη τα 5 και 2 ακμαία/φιαλίδιο, αντίστοιχα. Για το *T. confusum*, η παραγωγή απογόνων ήταν <1 ακμαίο/φιαλίδιο στο 1 ppm και πάνω, ενώ δεν καταγράφηκαν απόγονοι στις δύο υψηλότερες συγκεντρώσεις. Τέλος, για το *O. surinamensis*, η παραγωγή απογόνων ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σύγκριση με τα φιαλίδια του μάρτυρα μόνο στις δύο υψηλότερες συγκεντρώσεις (Πίνακας 9).

**Πίνακας 8.** Ανάλυση διακύμανσης σχετική με την επίδραση της συγκέντρωσης του spinetoram στην παραγωγή απογόνων σε όλες τις συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν και τον μάρτυρα (B.E. σφάλματος =64).

Είδη Εντόμων	B. E.	F	P
<i>R. dominica</i>	7	3.8	<0.01
<i>P. truncatus</i>	7	47.8	<0.01
<i>S. oryzae</i>	7	34.4	<0.01
<i>S. granarius</i>	7	29.7	<0.01
<i>T. confusum</i>	7	5.0	<0.01
<i>O. surinamensis</i>	7	6.0	<0.01



**Πίνακας 9.** Μέσος όρος απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο  $\pm$  Τ.Σ.) των ειδών που εξετάστηκαν, 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων «γονέων» από ψεκασμένα με spinetoram δημητριακά (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Συγκέντρωση	<i>R. dominica</i>	<i>P. truncatus</i>	<i>S. oryzae</i>	<i>S. granarius</i>	<i>T. confusum</i>	<i>O. surinamensis</i>
Μάρτυρας	28.9 $\pm$ 14.2a	166.7 $\pm$ 19.4a	184.1 $\pm$ 31.6a	168.8 $\pm$ 18.2a	2.2 $\pm$ 0.6a	5.2 $\pm$ 1.3a
0.01 ppm	4.0 $\pm$ 1.1b	64.3 $\pm$ 14.8b	162.6 $\pm$ 14.9a	114.7 $\pm$ 21.4ab	2.0 $\pm$ 0.6ab	2.4 $\pm$ 0.9ab
0.1 ppm	3.8 $\pm$ 1.5b	2.3 $\pm$ 2.3c	145.1 $\pm$ 19.6a	85.0 $\pm$ 19.6b	1.9 $\pm$ 0.6ab	2.5 $\pm$ 0.7ab
0.5 ppm	0.8 $\pm$ 0.3b	0.0 $\pm$ 0.0c	30.9 $\pm$ 9.1b	9.2 $\pm$ 1.6c	1.7 $\pm$ 0.6ab	6.0 $\pm$ 1.0a
1 ppm	0.3 $\pm$ 0.2b	0.0 $\pm$ 0.0c	11.6 $\pm$ 1.7b	6.6 $\pm$ 1.0c	0.7 $\pm$ 0.3ab	3.0 $\pm$ 0.7ab
2 ppm	0.0 $\pm$ 0.0b	0.0 $\pm$ 0.0c	2.0 $\pm$ 0.6b	3.1 $\pm$ 0.7c	0.1 $\pm$ 0.1b	4.8 $\pm$ 1.0a
5 ppm	0.0 $\pm$ 0.0b	0.0 $\pm$ 0.0c	0.6 $\pm$ 0.2b	0.6 $\pm$ 0.4c	0.0 $\pm$ 0.0b	0.9 $\pm$ 0.4b
10 ppm	0.0 $\pm$ 0.0b	0.0 $\pm$ 0.0c	0.0 $\pm$ 0.0b	0.1 $\pm$ 0.1c	0.0 $\pm$ 0.0b	0.0 $\pm$ 0.0b

## 2.4 Συζήτηση

Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι το spinetoram είναι αποτελεσματικό κατά των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων, αλλά η αποτελεσματικότητά του ποικίλλει ανάλογα με το είδος εντόμου-στόχο, τη συγκέντρωση και το χρονικό διάστημα της έκθεσης. Με βάση τη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων, το spinetoram είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό ενάντια στα *P. truncatus* και *R. dominica*. Η αποτελεσματικότητα του spinosad έναντι αυτών των δύο ειδών, έχει τεκμηριωθεί από έναν μεγάλο αριθμό εργαστηριακών δοκιμών και έρευνας πεδίου (Fang et al., 2002a; Subramanyam et al., 2003; 2007; Nayak et al., 2005; Athanassiou et al., 2008a; Hertlein et al., 2011; Mutambuki et al., 2012). Για παράδειγμα, οι Athanassiou et al. (2008a) κατά την αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας του spinosad εναντίων των ακμαίων του *P. truncatus* διαπίστωσαν ότι 100% θνησιμότητα στους 25 °C και 55% Σ.Υ. μπορεί να επιτευχθεί μόνο μετά από 21 ημέρες έκθεσης στο 1 ppm. Στην παρούσα μελέτη, 100% θνησιμότητα παρατηρήθηκε μετά από 14 ημέρες έκθεσης σε συγκεντρώσεις από 0.1 ppm ή υψηλότερες. Στην ίδια μελέτη, οι συγγραφείς βρήκαν ότι η θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica* μετά από 7 ημέρες έκθεσης σε ψεκασμένο σιτάρι με spinosad ήταν 45 και 97%, σε 0.1 και 1 ppm, αντιστοίχως.

Αντίθετα, στη μελέτη μας, και για το ίδιο χρονικό διάστημα, η θνησιμότητα που προκλήθηκε από το spinetoram ήταν 97 και 100%, αντίστοιχα. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι το spinetoram είναι πιο αποτελεσματικό από το spinosad κατά των δύο αυτών ειδών εντόμων αποθηκών. Το υψηλό επίπεδο της αποτελεσματικότητας του spinetoram έναντι των *P. truncatus* και *R. dominica* μπορεί να επιβεβαιωθεί και από την ταυτόχρονη καταστολή της παραγωγής απογόνων, ακόμη και σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Επίσης, για τα είδη αυτά, η θνησιμότητα των ακμαίων ήταν αισθητή ακόμη και σε μικρότερα χρονικά διαστήματα έκθεσης. Ταυτόχρονα, παρατηρήθηκε ότι όλα τα εκτεθειμένα ακμαία σε ψεκασμένο σιτάρι ή αραβόσιτο με spinetoram ακινητοποιήθηκαν ακόμη και μετά από την πρώτη ημέρα της έκθεσης. Με βάση τις παραπάνω παρατηρήσεις, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι, ακόμη και στην περίπτωση της εμφάνισης απογόνων στο ψεκασμένο υπόστρωμα, είναι πολύ πιθανό αυτοί να θανατωθούν σύντομα μετά την έκθεση τους στα ψεκασμένα με spinetoram δημητριακά. Αν και δεν υπήρξαν ποσοτικά δεδομένα, παρατηρήθηκε ότι ένα σημαντικό ποσοστό των ακμαίων απογόνων των *P. truncatus* και *R. dominica* που προέκυψαν ήταν νεκρά, υποδηλώνοντας ότι τα ακμαία αυτά, θανατώθηκαν μετά την έξοδό τους από το σπόρο, λόγω της επαφής τους με το spinetoram.

Το spinetoram ήταν αποτελεσματικό έναντι των δύο ειδών *Sitophilus* που ελέγχθηκαν. Για το *S. granarius*, οι Athanassiou et al. (2011a) βρήκαν ότι σε σιτάρι ψεκασμένο με spinosad σε συγκέντρωση 0.5 ppm, και μετά από 14 ημέρες έκθεσης όλα τα ακμαία ήταν νεκρά, αλλά σε αυτή τη συγκέντρωση δεν καταστάληκε η παραγωγή απογόνων. Στη μελέτη μας, είχαμε παρόμοια επίπεδα θνησιμότητας, αλλά και μια σημαντική μείωση της παραγωγής απογόνων, γεγονός που υποδηλώνει ότι το spinetoram είναι πιθανώς πιο αποτελεσματικό από το spinosad κατά του *S. granarius*. Στην περίπτωση του *S. oryzae*, αρκετές μελέτες έχουν αποδείξει ότι το spinosad είναι αποτελεσματικό, σε ένα ευρύ φάσμα βιοτικών και αβιοτικών συνθηκών (Fang et al., 2002a; Subramanyam et al., 2003; Nayak et al., 2005; Athanassiou et al., 2008a; Hertlein et al., 2011). Οι Athanassiou et al. (2008a), στους 25 °C και 55% Σ.Υ., διαπίστωσαν ότι 14 ημέρες έκθεσης των ακμαίων του *S. oryzae* σε ψεκασμένο σιτάρι με spinosad, είχε ως αποτέλεσμα τα επίπεδα θνησιμότητας να κυμαίνονται μεταξύ 79% στο 0.1 ppm και 99% στο 1 ppm. Στην παρούσα εργασία, για το ίδιο χρονικό

διάστημα έκθεσης, η έκθεση του *S. oryzae* στο spinetoram οδήγησε σε θνησιμότητα 44% στο 0.1 ppm και 98% στο 1 ppm. Παρόμοια επίπεδα θνησιμότητας έχουν αναφερθεί επίσης και από τους Fang et al. (2002a). Ωστόσο, πέρα από τις διαφορές στη θνησιμότητα των ακμαίων, το spinetoram έδωσε καλύτερο έλεγχο της παραγωγής απογόνων σε σύγκριση με τα αντίστοιχα επίπεδα που αναφέρθηκαν για το spinosad. Επιπλέον, όπως σημειώθηκε και παραπάνω, παρατηρήθηκε ότι πολλά από τα ακμαία που προέκυψαν ήταν νεκρά.

Μεταξύ των ειδών που εξετάστηκαν, τα *O. surinamensis* και *T. confusum* ήταν τα λιγότερο ευαίσθητα στο spinetoram. Η μειωμένη αποτελεσματικότητα του spinosad κατά των δύο αυτών ειδών έχει αναφερθεί σε αρκετές προηγούμενες μελέτες (Fang et al., 2002a; Athanassiou et al., 2008a; Hertlein et al., 2011). Για παράδειγμα, οι Fang et al. (2002a) ανέφεραν ότι η θνησιμότητα των ακμαίων του *O. surinamensis* μετά από 14 ημέρες έκθεσης σε spinosad στο 1 ppm και στο σκληρό σιτάρι δεν υπερέβη το 77%, ενώ σε άλλες ποικιλίες του σιταριού, στην ίδια έκθεση, ήταν <15%, η οποία σαφώς υποδηλώνει ότι η αποτελεσματικότητα του spinosad ήταν εξαρτημένη από το δημητριακό που χρησιμοποιήθηκε. Στη μελέτη μας, σε σκληρό σιτάρι, με spinetoram στο 1 ppm και μετά από 14 ημέρες έκθεσης η θνησιμότητα των ακμαίων του *O. surinamensis* ήταν 35%, η οποία είναι υψηλότερη σε σύγκριση με τα επίπεδα που αναφέρονται από τους Fang et al. (2002a) για το ίδιο δημητριακό και για το spinosad. Ομοίως, το *T. confusum* έχει χαρακτηριστεί ως ένα από τα λιγότερο ευαίσθητα είδη κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων στο spinosad (Athanassiou et al., 2008a; Vayias et al., 2010; Hertlein et al., 2011). Για παράδειγμα, οι Athanassiou et al. (2008a) σημειώνουν ότι η θνησιμότητα του *T. confusum* στο σιτάρι που ψεκάστηκε με 1 ppm spinosad δεν υπερέβη το 30% μετά από 14 ημέρες έκθεσης, αλλά υπερέβη το 90% επτά ημέρες αργότερα. Ωστόσο, οι προνύμφες του *T. confusum* ήταν πολύ πιο ευαίσθητες στο spinosad από ότι τα ακμαία (Vayias et al., 2010). Ως εκ τούτου, παρά τη μειωμένη ευαισθησία των ακμαίων του *T. confusum* στο spinosad, η συνολική αποτελεσματικότητά του μπορεί να αυξηθεί κυρίως μέσω του ελέγχου των προνυμφών (Hertlein et al., 2011). Πιο πρόσφατα στοιχεία έδειξαν ότι οι προνύμφες του *T. confusum* μπορεί να είναι ακόμη πιο ευάλωτες στο spinetoram. Οι Saglam et al. (2011) έδειξαν ότι η θνησιμότητα των νεαρών προνυμφών του *T. confusum* ήταν

κοντά στο 100% μετά από 7 ημέρες έκθεσης σε επιφάνεια τσιμέντου η οποία ήταν ψεκασμένη με spinetoram.

Αυτή η πρώτη αξιολόγηση του spinetoram έναντι των κυριότερων κολεοπτέρων εντόμων αποθηκευμένων δημητριακών, έδειξε ότι η αποτελεσματικότητα του spinetoram εξαρτάται από τον έντομο-στόχο και από την δόση εφαρμογής. Ο προσδιορισμός του εντόμου-στόχου είναι λοιπόν ένας σημαντικός παράγοντας που θα καθορίσει την δόση και το φάσμα δράσης της εφαρμογής. Επιπλέον η πρώτη αυτή αξιολόγηση του spinetoram έδειξε ότι η αποτελεσματικότητά του είναι παραπλήσια αν όχι υψηλότερη από εκείνη του spinosad. Με βάση τα αποτελέσματά μας, το spinetoram είναι πιο αποτελεσματικό και με ταχύτερη δράση από ότι το spinosad έναντι των ακμαίων των *R. dominica* και *P. truncatus*, και ισάξιο με το spinosad κατά των ακμαίων των άλλων ειδών. Το spinetoram φαίνεται να προκαλεί μεγαλύτερη μείωση στον αριθμό των απογόνων που παράγονται σε σχέση με το spinosad για τα *R. dominica*, *P. truncatus*, *S. granarius* και *S. oryzae*. Επιπλέον, ο συνδυασμός του spinetoram με άλλα εντομοκτόνα μπορεί περαιτέρω να αξιολογηθεί για είδη που ελέγχονται δύσκολα, όπως το *T. confusum* και *O. surinamensis*. Πρακτικά, λαμβάνοντας υπόψη ότι το spinosad έχει λάβει ήδη άδεια για εφαρμογή σε αποθηκευμένα δημητριακά (Hertlein et al., 2011), τα δεδομένα της παρούσας ενότητας δείχνουν ότι και το spinetoram θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για το σκοπό αυτό και συνεπώς, η αξιολογήσή της δραστηκής αυτής, χρήζει περαιτέρω διερεύνησης.

### 3. Επίδραση των σύντομων εκθέσεων στο spinetoram για τα *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* και *Tribolium confusum*

#### 3.1 Εισαγωγή

Η εμφάνιση ανθεκτικότητας στη φωσφίνη, λόγω της εκτεταμένης χρήσης της στην προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων, έχει οδηγήσει τους ερευνητές να αξιολογήσουν εναλλακτικές ουσίες, οι οποίες θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν με επιτυχία εναντίον των ανθεκτικών πληθυσμών των εντόμων στη φωσφίνη (Collins et al., 2005). Τα προστατευτικά σπόρων είναι μία από αυτές τις εναλλακτικές λύσεις, που σε ορισμένες περιπτώσεις, αποδείχθηκαν αποτελεσματικά εναντίον των πληθυσμών εντόμων που ήταν ανθεκτικά στη φωσφίνη. Για παράδειγμα, το *Liposcelis bostrychophila* (Badonnel) (Psocoptera: Liposcelididae) είναι ανθεκτικό στη φωσφίνη (Nayak et al., 2003a), αλλά μπορεί εύκολα να αντιμετωπιστεί με την εφαρμογή των «παραδοσιακών» οργανοφωσφορικών (OP) προστατευτικά σπόρων, pirimiphos-methyl και chlorpyrifos methyl (Athanassiou et al., 2009b). Ωστόσο, τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα έχουν υψηλή τοξικότητα στα θηλαστικά, ενώ ταυτόχρονα έχουν ανακύψει προβλήματα ανθεκτικότητας σε αυτές τις ουσίες σε μερικά από τα κυριότερα είδη εντόμων αποθηκευμένων δημητριακών (Arthur, 1996). Για παράδειγμα, το *R. dominica*, εμφάνισε ανθεκτικότητα τόσο στο chlorpyrifos-methyl όσο και στο pirimiphos-methyl (Guedes et al., 1996; Nayak et al., 2005). Συνεπώς, υπάρχει επείγουσα ανάγκη για τη χρήση νεότερων ουσιών, οι οποίες να μπορούν να εφαρμοστούν άμεσα επί των σπόρων, χωρίς τον περιοριστικό παράγοντα της υψηλής τοξικότητας για τα θηλαστικά και την ανάπτυξη ανθεκτικότητας.

Μεταξύ αυτών των νέων ουσιών, το spinosad χαρακτηρίζεται από το μοναδικό τρόπο δράσης του, τη χαμηλή τοξικότητα του στα θηλαστικά και την απουσία ανθεκτικότητας (Subramanyam et al., 2003; Salgado, 1997). Το spinosad έχει ένα νευροτοξικό τρόπο δράσης στα έντομα, μέσω της επαφής ή της κατάποσης (Salgado, 1997; 1998). Το spinosad έλαβε την έγκριση από την Αμερικανική Υπηρεσία Προστασίας Περιβάλλοντος (USEPA) για χρήση του ως προστατευτικό δημητριακών το 2005, στη συγκέντρωση του 1 mg / kg δημητριακού (1 ppm) (Subramanyam, 2006). Πολυάριθμες μελέτες τεκμηριώνουν την αποτελεσματικότητα

του spinosad ενάντια σε ένα ευρύ φάσμα εντόμων, το οποίο περιλαμβάνει κολεόπτερα, λεπιδόπτερα και ψυκόπτερα (Subramanyam et al., 2007; Huang et al., 2007; Athanassiou, 2009b; Nayak et al., 2005). Παρ' όλα αυτά, το spinosad δεν είναι αποτελεσματικό κατά των ακάρεων. Για παράδειγμα, οι Sanchez-Ramos and Castanera (2003) διαπίστωσαν ότι το spinosad, ακόμη και στα 1000 ppm, δεν ήταν σε θέση να ελέγξει το *Tyrophagus putrescentiae* (Shrank) (Astigmata: Acaridae). Επίσης, το spinosad είναι τοξικό για διάφορα παράσιτα (το είδος υμενόπτερα) που υπάρχουν στα αποθηκευμένα δημητριακά, όπως είδη των οικογενειών Braconidae και Pteromalidae (Toews and Subramanyam, 2004).

Το spinetoram είναι μια νέα ουσία που βασίζεται σε μεταβολίτες της οικογένειας των σπινοσινών, κι έχει παρόμοιο τρόπο δράσης με το spinosad (Dripps et al., 2008). Μέχρι στιγμής, το spinetoram έχει αποδειχθεί αποτελεσματικό κατά ενός ευρέος φάσματος εχθρών του αγρού, συχνά σε δόσεις χαμηλότερες από ότι αυτές του spinosad (Williams et al., 2003). Επίσης, το spinetoram έχει κάποια ακαρεοκτόνο δράση έναντι του ακάρεος *T. urticae* (El Kady et al., 2007). Σύμφωνα με την υπάρχουσα βιβλιογραφία, το spinetoram είναι μετρίως τοξικό για ορισμένους πληθυσμούς ωφέλιμων εντόμων. Στην πραγματικότητα, το spinetoram έχει αποδειχθεί πολύ πιο ασφαλές από ότι το spinosad για τον επικονιαστή *Bombus terrestris* (Besard et al., 2011).

Παρά το γεγονός ότι, θεωρητικά, τα προστατευτικά σπόρων καλύπτουν κατά την εφαρμογή τους ολόκληρη την μάζα του δημητριακού, άνιση κατανομή του εντομοκτόνου (αψέκαστες ή μερικώς ψεκασμένες περιοχές του δημητριακού) είναι πολύ πιθανό να συμβεί. Σε μια πρόσφατη μελέτη, οι Darglish and Nayak (2010) διαπίστωσαν ότι η άνιση κατανομή του ρυθμιστή ανάπτυξης S-methoprene θα μπορούσε να αυξήσει την παραγωγή απογόνων του *R. dominica*, σε σύγκριση με ένα δημητριακό στο οποίο είχε γίνει εφαρμογή του εντομοκτόνου σε ολόκληρη τη μάζα του. Για το ίδιο εντομοκτόνο, στο σιτάρι, το ρύζι και τον αραβόσιτο, οι Athanassiou et al. (2011b) βρήκαν ότι κατά την εφαρμογή του με διαστρωμάτωση στη μάζα του δημητριακού, η αποτελεσματικότητα κατά του *R. dominica* ήταν μειωμένη σε σύγκριση με την πλήρη εφαρμογή σε όλη τη μάζα του προϊόντος. Παρομοίως, μερικώς ψεκασμένες ποσότητες δημητριακού με spinosad είχαν ως αποτέλεσμα τη μείωση της αποτελεσματικότητας έναντι των ακμαίων των *R. dominica* και *S. oryzae* (Athanassiou et al., 2009a). Σε δημητριακά με μερική εφαρμογή, παρά το γεγονός ότι

το εντομοκτόνο εφαρμόζεται στη συνιστώμενη συγκέντρωση, τα έντομα μπορεί να εκτεθούν μόνο για σύντομα διαστήματα στο ψεκασμένο δημητριακό, και να αποικίζουν μη ψεκασμένες επιφάνειες στη μάζα του δημητριακού. Ως εκ τούτου, η «ταχύτητα θανάτωσης» είναι ένα κρίσιμο χαρακτηριστικό ενός προστατευτικού δημητριακών, καθώς τα ακμαία που επέζησαν μπορεί να μεταναστεύσουν και να προκαλέσουν περαιτέρω προσβολή στη μάζα του προϊόντος. Πρόσφατα, οι Athanassiou et al. (2009a, 2010) μελέτησαν την επίδραση των σύντομων εκθέσεων και την μερική εφαρμογή του εντομοκτόνου στην αποτελεσματικότητα του spinosad, αλλά δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία σχετικά με την αποτελεσματικότητα του spinetoram. Έτσι, ο σκοπός της μελέτης μας ήταν να καθοριστεί εάν οι σύντομες εκθέσεις των εντόμων στα ψεκασμένα με spinetoram δημητριακά επηρεάζουν τη θνησιμότητα τριών εντόμων αποθηκευμένων δημητριακών, των *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum*. Εκτός από την άμεση επίδραση των σύντομων εκθέσεων στην θνησιμότητα των εντόμων, εκτιμήθηκε επίσης και η επίδραση του spinetoram στην ικανότητα παραγωγής απογόνων.

## **3.2 Υλικά και Μέθοδοι**

### **3.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών**

Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές ήταν ακμαία των *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum* από τις εκτροφές που διατηρούνται στο Εργαστήριο Γεωργικής Εντομολογίας και Ζωολογίας του Π.Θ. σύμφωνα με τη διαδικασία που περιγράφηκε στην Ενότητα Β, υποενότητα 1.1. Το δημητριακό που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές ήταν το σκληρό σιτάρι (ποικιλία Simeto). Πριν από την έναρξη των πειραμάτων, το σιτάρι είχε 13.5% περιεκτικότητα σε υγρασία.

### **3.2.2 Εφαρμογή του spinetoram.**

Χρησιμοποιήθηκαν δύο σκευάσματα που μας παρασχέθηκαν από την Dow AgroSciences, UK: το spinetoram σε μορφή βρέξιμων κόκκων (WG) [25% της δραστικής ουσίας (δ.ο.)] και spinetoram (SC) σε μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος (11.7% δ.ο.). Ποσότητες σκληρού σιταριού, 1 kg η καθεμία, ψεκάστηκαν με 1 ppm spinetoram (1 mg της δ.ο. / κιλό σιτάρι) με τη χρήση

καλλιτεχνικού αερογράφου (Mecafer AG4, Mecafer Co., France). Για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου στο σιτάρι, ακολουθήθηκε η διαδικασία που προαναφέρθηκε στην Ενότητα Β, υποενότητα 2.2.2. Μια πρόσθετη σειρά από ποσότητες 1 kg ψεκάστηκαν με απιονισμένο νερό και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Χρησιμοποιήθηκε το πειραματικό σχέδιο των πλήρως τυχαιοποιημένων ομάδων, και πραγματοποιήθηκαν πέντε επαναλύσεις για κάθε μεταχείριση.

### 3.2.3 Βιοδοκιμές

Από κάθε μεταχείριση, λήφθηκαν δείγματα, 20 g το καθένα, και κάθε δείγμα τοποθετήθηκε σε ένα πλαστικό κυλινδρικό φιαλίδιο (3 cm σε διάμετρο, 8 cm σε ύψος). Στη συνέχεια, είκοσι ακμαία κάθε είδους τοποθετήθηκαν στα φιαλίδια (διαφορετικές φιαλίδια για κάθε είδος), και όλα μαζί τοποθετήθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών που ρυθμίστηκαν στους 25 °C, 65% σχετική υγρασία (Σ.Υ.) και συνεχές σκοτάδι. Τα ακμαία εκτέθηκαν για 0, 2, 4, 6, 8, 16, 40 και 72 ώρες σε ψεκασμένο σιτάρι ή το μάρτυρα. Μετά από το διάστημα αυτό, όλα τα ακμαία απομακρύνθηκαν από τα φιαλίδια, και εξετάστηκαν αν ήταν ζωντανά ή νεκρά κάτω από το στερεοσκόπιο. Ακμαία που επιβίωσαν μεταφέρθηκαν σε νέα φιαλίδια που περιείχαν μη ψεκασμένο σιτάρι. Αυτά τα φιαλίδια μεταφέρθηκαν στις ίδιες συνθήκες για ένα επιπλέον χρονικό διάστημα 7 ημερών. Μετά από αυτό το χρονικό διάστημα, τα νέα φιαλίδια ανοίχθηκαν και ο αριθμός των νεκρών ακμαίων καταγράφηκε ως ανωτέρω. Στη συνέχεια, όλα τα ακμαία απομακρύνθηκαν, και τα φιαλίδια παρέμειναν στις ίδιες συνθήκες για 65 ημέρες ακόμα. Κατόπιν, ανοίχθηκαν για μια ακόμη φορά και καταγράφηκε ο αριθμός των απογόνων. Στην περίπτωση των *R. dominica* και *S. oryzae*, λόγω του ότι η ανάπτυξη των προνυμφικών σταδίων και η νύμφωση λαμβάνει χώρα στο εσωτερικό μέρος του σπόρου, καταγράφηκε μόνο η εμφάνιση των ακμαίων. Για το *T. confusum*, καθώς η ανάπτυξη όλων των σταδίων λαμβάνει χώρα στο εξωτερικό τμήμα του σπόρου, ο αριθμός των ακμαίων, των νυμφών και των προνυμφών καταγράφηκαν χωριστά.

### 3.2.4 Ανάλυση Δεδομένων

Η θνησιμότητα του μάρτυρα ήταν γενικά χαμηλή (<5%). Η άμεση (κατά τη διάρκεια των σύντομων εκθέσεων) και η καθυστερημένη (7 ημέρες αργότερα)



θνησιμότητα αναλύθηκαν για κάθε είδος χωριστά, χρησιμοποιώντας πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (repeated-measures MANOVA) με τη χρήση του λογισμικού JMP 7 (Sall et al., 2001), με την έκθεση και τη μορφή σκευάσματος του spinetoram ως κύριες επιδράσεις και την θνησιμότητα στο χρόνο (time-mortality) ως επαναλαμβανόμενη μεταβλητή. Για την παραγωγή απογόνων, χρησιμοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (two-way ANOVA), χρησιμοποιώντας το ίδιο λογισμικό, με τον αριθμό των απογόνων ως εξαρτημένη μεταβλητή και την έκθεση και τη μορφή σκευάσματος του εντομοκτόνου ως κύριες επιδράσεις. Για το *T. confusum*, ο αριθμός των διαφορετικών σταδίων ανάπτυξης αναλύθηκαν ξεχωριστά. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το Tukey-Kramer HSD test στο επίπεδο 0.05 (Sokal and Rohlf, 1995).

### 3.3 Αποτελέσματα

#### 3.3.1 Άμεση θνησιμότητα

Για το *R. dominica*, η άμεση θνησιμότητα ήταν σημαντική, αλλά η μορφή του σκευάσματος δεν ήταν (Πίνακας 1). Για το είδος αυτό, η θνησιμότητα στην έκθεση των 72 ωρών έφθασε το 43 και 40% για WG και SC, αντίστοιχα (Πίνακες 2 και 3). Στην περίπτωση του *S. oryzae*, για την άμεση θνησιμότητα, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των διαστημάτων έκθεσης και μεταξύ των δύο σκευασμάτων (Πίνακας 1). Για το σκεύασμα WG η άμεση θνησιμότητα δεν υπερέβη το 8% ανεξαρτήτως διαστήματος έκθεσης (Πίνακας 2). Αντίθετα, για το σιτάρι στο οποίο είχε εφαρμοστεί το σκεύασμα SC, μετά από 72 ώρες έκθεσης, σχεδόν το ήμισυ των εκτεθειμένων ακμαίων του *S. oryzae* ήταν νεκρά (Πίνακας 3). Ωστόσο, για το SC, η θνησιμότητα ήταν χαμηλή (<8%) σε μικρότερα χρονικά διαστήματα έκθεσης.

Οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις, δεν ήταν σημαντικές για την άμεση θνησιμότητα των ακμαίων του *T. confusum* (Πίνακας 1). Η άμεση θνησιμότητα του *T. confusum* ήταν εξαιρετικά χαμηλή, ανεξάρτητα από το σκεύασμα του spinetoram, και δεν υπερέβη το 5%, ακόμη και στα μεγαλύτερα διαστήματα έκθεσης (Πίνακες 2 και 3).

### 3.3.2 Καθυστερημένη θνησιμότητα

Στην περίπτωση του *R. dominica*, για την καθυστερημένη θνησιμότητα, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις αυτών ήταν σημαντικές, με την εξαίρεση αυτής του χρόνου X είδος σκευάσματος (Πίνακας 1). Γενικά, η θνησιμότητα αυξήθηκε με την αύξηση του χρόνου έκθεσης των ακμαίων στο ψεκασμένο σιτάρι (Πίνακες 2 και 3). Για το σκεύασμα WG, τα δύο τρίτα περίπου των εκτεθειμένων ακμαίων ήταν νεκρά ακόμη και μετά από 2 ώρες έκθεσης, και παρά το γεγονός ότι η άμεση θνησιμότητα σε αυτό το διάστημα ήταν αμελητέα (Πίνακας 2). Στο μεγαλύτερο διάστημα έκθεσης (72 ώρες) επί ψεκασμένου σιταριού με το σκεύασμα WG, η θνησιμότητα έφθασε το 89%. Ομοίως, για το σκεύασμα SC, η καθυστερημένη θνησιμότητα ήταν 79 και 97%, για 2 και 72 ώρες έκθεσης, αντίστοιχα (Πίνακας 3).

Όλες οι κύριες επιδράσεις και αλληλεπιδράσεις αυτών ήταν σημαντικές στην περίπτωση της καθυστερημένης θνησιμότητας του *S. oryzae* (Πίνακας 1). Ωστόσο, για το WG, η θνησιμότητα ήταν μικρή, και δεν διέφερε σημαντικά από τα αντίστοιχα ποσοστά του μάρτυρα (Πίνακας 2). Αντιθέτως, στο σιτάρι που εφαρμόστηκε το σκεύασμα spinetoram SC, η καθυστερημένη θνησιμότητα αυξήθηκε με την αύξηση του διαστήματος έκθεσης. Ως εκ τούτου, σε εκθέσεις  $\geq 6$  ωρών, η θνησιμότητα ήταν σημαντικά υψηλότερη από τη θνησιμότητα του μάρτυρα (Πίνακας 3). Κατά το 6-ωρο διάστημα έκθεσης, το 39% των εκτεθειμένων ακμαίων ήταν νεκρά, ενώ μετά από 72 ώρες έκθεσης, η θνησιμότητα έφθασε το 89%.

Στην περίπτωση της καθυστερημένης θνησιμότητας του *T. confusum*, όπως και στην περίπτωση της άμεσης θνησιμότητας, το διάστημα της έκθεσης και η μορφή του σκευάσματος δεν ήταν σημαντικά (Πίνακας 1). Για τα δύο σκευάσματα, η καθυστερημένη θνησιμότητα δεν υπερέβη το 24%, και ήταν παρόμοια με εκείνη στα φιαλίδια του μάρτυρα (Πίνακες 2 και 3).

**Πίνακας 1.** Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της άμεσης και καθυστερημένης θνησιμότητας των ειδών εντόμων που εξετάστηκαν (B.E. σφάλματος = 64).

Πηγή παραλλακτικότητας	<i>R. dominica</i>			<i>S. oryzae</i>		<i>T. confusum</i>	
	<i>B.E.</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Μεταξύ των μεταβλητών	15	43.4	<0.01	38.9	<0.01	1.4	0.17
Τιμή αποκοπής	1	3388.4	<0.01	524.5	<0.01	7.6	0.01
Έκθεση (άμεση)	7	91.4	<0.01	30.2	<0.01	1.3	0.26
Μορφή εντομοκτόνου	1	0.2	0.69	99.7	<0.01	3.0	0.09
Έκθεση X Μορφή εντομοκτόνου	7	1.6	0.14	38.9	<0.01	1.3	0.28
Εντός των μεταβλητών	15	33.1	<0.01	16.8	<0.01	1.0	0.45
Χρόνος (καθυστερημένη)	1	3179.5	<0.01	441.7	<0.01	3.4	0.07
Χρόνος X Έκθεση	7	68.4	<0.01	8.5	<0.01	1.0	0.42
Χρόνος X Μορφή εντομοκτόνου	1	0.7	0.41	78.1	<0.01	1.0	0.33
Χρόνος X Έκθεση X Μορφή εντομοκτόνου	7	2.4	0.03	16.3	<0.01	1.0	0.43

**Πίνακας 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 και 72 ώρες σε σιτάρι ψεκασμένο με spinetoram σε μορφή βρέξιμων κόκκων (WG) (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).

Έκθεση	Είδος/Θνησιμότητα					
	<i>R. dominica</i>		<i>S. oryzae</i>		<i>T. confusum</i>	
	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη
0	0.0 ± 0.0b	6.6 ± 3.3c	0.0 ± 0.0	17.1 ± 1.4ab	0.0 ± 0.0	2.1 ± 1.3
2	1.1 ± 1.1b	67.5 ± 4.9b	6.0 ± 4.8	16.0 ± 6.6ab	1.0 ± 1.0	2.0 ± 1.2
4	0.0 ± 0.0b	84.3 ± 2.3ab	7.1 ± 2.1	26.8 ± 3.4a	2.1 ± 1.3	2.1 ± 1.3
6	1.0 ± 1.0b	79.0 ± 1.9ab	1.0 ± 1.0	13.7 ± 4.0ab	2.1 ± 1.3	4.1 ± 1.9
8	0.0 ± 0.0b	85.5 ± 3.1ab	0.0 ± 0.0	12.8 ± 2.0ab	0.0 ± 0.0	1.0 ± 1.0
16	0.0 ± 0.0b	67.3 ± 7.4b	0.0 ± 0.0	3.1 ± 2.0b	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
40	8.0 ± 4.1b	92.0 ± 3.7a	3.0 ± 1.2	12.0 ± 6.4ab	3.3 ± 2.2	4.3 ± 2.1
72	43.4 ± 6.0a	88.8 ± 3.7a	3.0 ± 2.0	14.0 ± 4.1ab	4.2 ± 2.6	24.3 ± 20.3

**Πίνακας 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 και 72 ώρες σε σιτάρι ψεκασμένο με spinetoram σε μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος (SC) (μέσα σε κάθε στήλη, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Έκθεση	Είδος/Θνησιμότητα					
	<i>R. dominica</i>		<i>S. oryzae</i>		<i>T. confusum</i>	
	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη	Άμεση	Καθυστερημένη
0	0.0 ± 0.0b	0.0 ± 0.0d	0.0 ± 0.0b	2.7 ± 2.7c	0.0 ± 0.0b	1.0 ± 1.0a
2	0.0 ± 0.0b	79.0 ± 4.6abc	0.0 ± 0.0b	5.8 ± 3.5c	0.0 ± 0.0b	1.0 ± 1.0a
4	0.0 ± 0.0b	70.7 ± 6.0c	0.0 ± 0.0b	12.0 ± 2.0c	0.0 ± 0.0b	2.0 ± 2.0a
6	0.0 ± 0.0b	77.0 ± 5.9bc	0.0 ± 0.0b	39.1 ± 2.6b	0.0 ± 0.0b	0.0 ± 0.0a
8	0.0 ± 0.0b	84.6 ± 5.3abc	0.0 ± 0.0b	42.4 ± 4.8b	0.0 ± 0.0b	2.0 ± 1.2a
16	1.1 ± 1.1b	83.7 ± 3.5abc	2.0 ± 1.2b	49.0 ± 5.6b	0.0 ± 0.0b	0.0 ± 0.0a
40	9.2 ± 4.1b	91.0 ± 4.0ab	7.1 ± 3.0b	49.3 ± 6.1b	2.0 ± 1.2a	3.0 ± 1.2a
72	39.8 ± 6.9a	96.9 ± 1.3a	46.5 ± 3.1a	88.9 ± 3.7a	0.0 ± 0.0b	1.1 ± 1.1a

### 3.3.3 Παραγωγή απογόνων

Για την παραγωγή απογόνων του *R. dominica*, και οι δύο κύριες επιδράσεις, καθώς και η αλληλεπίδρασή τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 4). Στο σιτάρι που εφαρμόστηκε το σκεύασμα WG, η εμφάνιση απογόνων στα φιαλίδια που περιείχαν, για 7 ημέρες, ακμαία έντομα που προηγουμένως είχαν εκτεθεί σε spinetoram, ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σύγκριση με τα φιαλίδια του μάρτυρα (Πίνακας 5). Επιπλέον, δεν υπήρξε παραγωγή απογόνων στα φιαλίδια που αντιστοιχούσαν σε ακμαία έντομα που είχαν εκτεθεί σε ψεκασμένο σιτάρι με spinetoram για  $\geq 16$  ώρες. Ομοίως, για το σκεύασμα SC, η παραγωγή απογόνων ήταν σημαντικά χαμηλότερη από ότι στα φιαλίδια του μάρτυρα (Πίνακας 6). Ταυτόχρονα, δεν υπήρξε παραγωγή απογόνων σε εκθέσεις  $\geq 6$  ώρες, με εξαίρεση αυτή των 16 ωρών.

Για την παραγωγή απογόνων του *S. oryzae*, όλες οι κύριες επιδράσεις και η αλληλεπίδρασή τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 4). Ωστόσο, για το σκεύασμα WG, η παραγωγή απογόνων ήταν εξαιρετικά υψηλή, ανεξάρτητα από το χρονικό διάστημα έκθεσης, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις, οι απόγονοι που παρήχθησαν από έντομα που είχαν εκτεθεί σε spinetoram ήταν ακόμη μεγαλύτερη από ότι στα φιαλίδια του μάρτυρα (Πίνακας 5). Από την άλλη πλευρά, στο σιτάρι που εφαρμόστηκε το σκεύασμα SC, η παραγωγή απογόνων ήταν χαμηλότερη σε σύγκριση με τις αντίστοιχες μετρήσεις για το WG (Πίνακας 6). Παρ' όλα αυτά, ακόμη και σε αυτή την περίπτωση, με λίγες εξαιρέσεις, η παραγωγή απογόνων δεν διέφερε σημαντικά από εκείνη στα φιαλίδια του μάρτυρα.

Για τα ακμαία του *T. confusum*, ο χρόνος έκθεσης και η μορφή του εντομοκτόνου δεν ήταν σημαντικές (Πίνακας 4). Δεν βρέθηκαν ακμαία στο σιτάρι όπου εφαρμόστηκε το σκεύασμα WG, ενώ υπήρχε μικρός αριθμός ακμαίων στην περίπτωση εφαρμογής του σκευάσματος SC (Πίνακες 5 και 6). Για τις προνύμφες του *T. confusum*, μόνο η μορφή του σκευάσματος ήταν σημαντική (Πίνακας 4), αλλά ο συνολικός αριθμός των προνυμφών ήταν εξαιρετικά χαμηλός (Πίνακες 5 και 6). Τέλος, για τις νύμφες του *T. confusum* οι κύριες επιδράσεις και η αλληλεπίδρασή τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 4). Στην περίπτωση του WG, δεν βρέθηκαν άτομα στα φιαλίδια, με την εξαίρεση ενός φιαλιδίου που περιείχε μία μόνο νύμφη (Πίνακας 5). Ωστόσο, για το SC, υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των χρονικών διαστημάτων έκθεσης, αλλά, ο αριθμός των νυμφών ήταν εξαιρετικά χαμηλός (Πίνακας 6).

**Πίνακας 4.** Ανάλυση διακύμανσης της παραγωγής απογόνων των ειδών που εξετάστηκαν μετά από διάφορα διαστήματα έκθεσης των ακμαίων τους σε δύο τυποποιήσεις του spinetoram (B.E. σφάλματος = 64).

Πηγή	B.E	<i>R. dominica</i> ακμαία		<i>S. oryzae</i> Ακμαία		<i>T. confusum</i> ακμαία		<i>T. confusum</i> προνύμφες		<i>T. confusum</i> νύμφες	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Έκθεση	7	25.3	<0.01	16008.9	0.01	0.6	0.78	0.4	0.92	5.6	<0.01
Τύπος εντομοκτόνου	1	7.8	0.01	60115.6	<0.01	4.0	0.05	5.9	0.02	26.2	<0.01
Έκθεση X Τύπος εντομοκτόνου	7	4.2	0.01	86952.3	<0.01	0.6	0.48	0.6	0.79	6.2	<0.01

**Πίνακας 5.** Μέσος όρος παραγωγής απογόνων (ακμαία/φιαλίδιο  $\pm$  Τ.Σ) των ειδών που εξετάστηκαν, μετά από έκθεση των ακμαίων γονέων για 0, 2, 4, 8, 16, 40 και 72 ώρες σε σιτάρι ψεκασμένο με spinetoram σε μορφή βρέξιμων κόκκων (WG) (μέσα 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).

Είδος / Απόγονοι					
Έκθεση	<i>R. dominica</i> ακμαία	<i>S. oryzae</i> ακμαία	<i>T. confusum</i> ακμαία	<i>T. confusum</i> προνύμφες	<i>T. confusum</i> νύμφες
0	12.0 $\pm$ 2.8a	61.6 $\pm$ 11.7cd	0.0 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0
2	1.6 $\pm$ 0.4b	59.4 $\pm$ 12.0d	0.0 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0
4	1.8 $\pm$ 0.7b	79.4 $\pm$ 12.6bcd	0.0 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0
6	0.8 $\pm$ 0.4b	77.8 $\pm$ 18.1bcd	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
8	0.4 $\pm$ 0.2b	68.4 $\pm$ 12.8bcd	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
16	0.0 $\pm$ 0.0b	132.8 $\pm$ 13.9ab	0.0 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0
40	0.0 $\pm$ 0.0b	127.0 $\pm$ 12.7abc	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0
72	0.0 $\pm$ 0.0b	180.0 $\pm$ 20.2a	0.0 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.2



**Πίνακας 6.** Μέσος όρος παραγωγής απογόνων (ακμαία/φιαλίδιο  $\pm$  Τ.Σ.) των ειδών που εξετάστηκαν, μετά από έκθεση των ακμαίων γονέων για 0, 2, 4, 8, 16, 40 και 72 ώρες σε σιτάρι ψεκασμένο με spinetoram σε μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος (SC) (μέσα 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).

Είδος / Απόγονοι					
Έκθεση	<i>R. dominica</i> Ακμαία	<i>S. oryzae</i> Ακμαία	<i>T. confusum</i> ακμαία	<i>T. confusum</i> προνύμφες	<i>T. confusum</i> νύμφες
0	5.4 $\pm$ 0.8a	66.0 $\pm$ 17.2abc	0.0 $\pm$ 0.0	0.4 $\pm$ 0.4	1.2 $\pm$ 0.6ab
2	0.4 $\pm$ 0.2b	84.8 $\pm$ 9.2ab	0.2 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.2	1.0 $\pm$ 0.0ab
4	0.2 $\pm$ 0.2b	86.8 $\pm$ 17.8a	0.2 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0b
6	0.0 $\pm$ 0.0b	33.0 $\pm$ 5.3cd	0.0 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.6	2.2 $\pm$ 0.6a
8	0.0 $\pm$ 0.0b	29.2 $\pm$ 6.4cd	0.0 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.4	0.6 $\pm$ 0.4b
16	1.4 $\pm$ 1.2b	2.6 $\pm$ 0.6d	0.2 $\pm$ 0.2	0.2 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0b
40	0.0 $\pm$ 0.0b	37.4 $\pm$ 9.1bcd	0.0 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0b
72	0.0 $\pm$ 0.0b	8.0 $\pm$ 3.7d	0.2 $\pm$ 0.2	0.4 $\pm$ 0.2	0.0 $\pm$ 0.0b

### 3.4 Συζήτηση

Το spinetoram είναι πολύ αποτελεσματικό εναντίων ενός ευρέος φάσματος εντομολογικών εχθρών στις καλλιέργειες και γενικά πιο αποτελεσματικό από ότι το spinosad. Για παράδειγμα, όπως αναφέρουν οι Sparks et al. (2008) και Jones et al. (2010) το spinetoram ήταν πιο αποτελεσματικό από ότι το spinosad κατά των *C. pomonella*, *H. virescens* και *G. molesta*. Στην παρούσα μελέτη, όσον αφορά το φάσμα των εχθρών που εξετάστηκαν, το spinetoram έδωσε παρόμοια αποτελέσματα με το spinosad σύμφωνα με την αποτελεσματικότητά του όπως καταγράφεται στην βιβλιογραφία (Hertlein et al., 2011). Ως εκ τούτου, όπως και στην περίπτωση του spinosad, ακόμη και μία σύντομη έκθεση σε σιτάρι ψεκασμένο με spinetoram μπορεί να προκαλέσει υψηλή θνησιμότητα του *R. dominica* και να καταστείλει την παραγωγή των απογόνων του. Προηγούμενες αναφορές δείχνουν ότι το spinosad είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό κατά του είδους αυτού (Fang et al., 2002a; Fang and Subramanyan, 2003). Ωστόσο, οι Athanassiou et al. (2010), σε μια μελέτη για σύντομες εκθέσεις σε ψεκασμένο σιτάρι και αραβόσιτο με spinosad, ανέφεραν ότι η καθυστερημένη θνησιμότητα του *R. dominica* φτάνει το 100% μετά από μόλις 4 ώρες έκθεσης, παρά το γεγονός ότι για το ίδιο χρονικό διάστημα, η άμεση θνησιμότητα ήταν αμελητέα. Στην παρούσα μελέτη, η άμεση θνησιμότητα του *R. dominica* μετά από έκθεση σε spinetoram ήταν γενικά χαμηλή, ενώ η καθυστερημένη θνησιμότητα ποτέ δεν έφθασε το 100%, ακόμη και μετά από 72 ώρες, ανεξάρτητα από τον τύπο του σκευάσματος. Επίσης, η αύξηση των επιπέδων θνησιμότητας μεταξύ των διαφόρων χρονικών διαστημάτων ήταν γενικά χαμηλή, σε σύγκριση με την αντίστοιχη αύξηση για το spinosad, όπως αυτή περιγράφεται από τους Athanassiou et al. (2010). Ως εκ τούτου, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι το spinosad είναι πιο αποτελεσματικό από ότι το spinetoram για το ίδιο διάστημα έκθεσης, στην περίπτωση του *R. dominica*. Πέρα από τις διαφορές στη θνησιμότητα των ακμαίων, η μείωση της παραγωγής απογόνων ήταν παρόμοια και για τις δύο ουσίες, γεγονός που υποδηλώνει ότι σε μεγαλύτερες χρονικές περιόδους έκθεσης το spinetoram μπορεί να δώσει παρόμοια απόδοση με το spinosad εναντίον του *R. dominica*. Επίσης, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι, για σύντομες εκθέσεις στο spinetoram, η καθυστερημένη θνησιμότητα δεν σχετίζεται άμεσα με τη μείωση της παραγωγής απογόνων, δεδομένου ότι η μειωμένη παραγωγή απογόνων ήταν επίσης χαμηλή, ακόμη και όταν η επιβίωση των ακμαίων ήταν υψηλή. Κατά τη διάρκεια των

βιοδοκιμών, παρατηρήθηκε ότι τα εκτεθειμένα ακμαία του *R. dominica* ακινητοποιήθηκαν ακόμη και στο μικρότερο χρονικό διάστημα έκθεσης (2 ώρες). Το χαρακτηριστικό αυτό φαίνεται να συνδέεται άμεσα με τη μειωμένη παραγωγή απογόνων παρά την επιβίωση των ακμαίων.

Σε αντίθεση με το *R. dominica*, το *S. oryzae* ήταν μετρίως ευαίσθητο στο spinetoram. Οι Athanassiou et al. (2010), χρησιμοποιώντας ένα παρόμοιο πρωτόκολλο με σύντομες εκθέσεις στο σιτάρι και τον αραβόσιτο, όπου εφαρμόστηκε υγρό (EC) spinosad, βρήκαν ότι η καθυστερημένη θνησιμότητα των ακμαίων του *S. oryzae* μετά από 40 ώρες έκθεσης κυμάνθηκε μεταξύ 46 και 50%, παρά το γεγονός ότι η άμεση θνησιμότητα ήταν χαμηλή. Παρόμοια επίπεδα παρατηρήθηκαν στην περίπτωση της παρούσας μελέτης για το υγρό (SC) spinetoram, δοθέντος ότι, μετά από 40 ώρες έκθεσης, η άμεση και καθυστερημένη θνησιμότητα ήταν 7 και 49%, αντίστοιχα. Ωστόσο, η παραγωγή απογόνων ήταν ακόμη υψηλή, και στις περισσότερες περιπτώσεις, συγκρίσιμη με τους απογόνους στους μάρτυρες. Ομοίως, οι Athanassiou et al. (2010) ανέφεραν ότι, μετά από 40ωρη έκθεση σε υγρό spinosad, η παραγωγή απογόνων ήταν ανάλογη με εκείνη που παρατηρήθηκε σε μη ψεκασμένα δημητριακά. Ως εκ τούτου, για το *S. oryzae*, στο 40ωρο διάστημα έκθεσης, το spinetoram μπορεί να θεωρηθεί εξίσου αποτελεσματικό με το spinosad. Παρ' όλα αυτά, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι ένα μεγαλύτερο διάστημα έκθεσης μπορεί να αυξήσει περαιτέρω τη θνησιμότητα του *S. oryzae*, όπως μπορεί και να καταστείλει την αντίστοιχη παραγωγή απογόνων. Έτσι, στην έκθεση των 72 ωρών, η θνησιμότητα των ακμαίων του *S. oryzae* έφθασε το 89% στην περίπτωση του SC. Ταυτόχρονα, αυτό το διάστημα έκθεσης, μαζί με την 16ωρη έκθεση, ήταν οι μόνες περιπτώσεις όπου η παραγωγή απογόνων ήταν σημαντικά χαμηλότερη από ότι στα φιαλίδια του μάρτυρα. Παρά το γεγονός ότι οι Athanassiou et al. (2010) δεν εξέτασαν αυτό το χρονικό διάστημα έκθεσης, αναμένεται ότι τα αποτελέσματα θα ήταν παρόμοια και στην περίπτωση του spinosad.

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, το σκεύασμα spinetoram WG ήταν λιγότερο αποτελεσματικό από ότι το σκεύασμα SC εναντίον του *S. oryzae*. Στο WG σκεύασμα, μετά από 72 ώρες έκθεσης η θνησιμότητα δεν υπερέβη το 15%, ενώ η παραγωγή απογόνων ήταν σημαντικά υψηλότερη από ότι στα φιαλίδια του μάρτυρα. Η διέγερση αυτή στην παραγωγή απογόνων πιθανόν να οφείλεται στο στρες που προκλήθηκε από την επαφή των εντόμων με την μη θανατηφόρο ποσότητα του

εντομοκτόνου, γεγονός που έχει επισημανθεί και για άλλα εντομοκτόνα (Perez-Mendoza, 1999; James and Price, 2002). Αντίθετα, και τα δύο σκευάσματα ήταν εξίσου αποτελεσματικά κατά του *R. dominica*. Προηγούμενες μελέτες με το spinosad, ανέφεραν ότι οι διαφορές μεταξύ των σκευασμάτων αντανακλώνται πιο έντονα στην αποτελεσματικότητα έναντι του *S. oryzae* σε σχέση με άλλα είδη κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων (Hertlein et al., 2011). Η Getchell (2006) και οι Getchell and Subramanyam (2008) σημειώνουν ότι η άμεση και η καθυστερημένη θνησιμότητα μετά από σύντομες εκθέσεις των ακμαίων του *S. oryzae* διέφεραν ανάλογα με τη μορφή τυποποίησης του spinosad (του υγρού ή της σκόνης) που χρησιμοποιούνταν, αλλά οι τάσεις διέφεραν ανάλογα με το δημητριακό και το χρονικό διάστημα της έκθεσης. Στην παρούσα μελέτη, το σκεύασμα WG ήταν συνεχώς λιγότερο αποτελεσματικό από ότι το SC. Η πρόσληψη του spinetoram από τα ακμαία του *S. oryzae*, σε συνδυασμό με την κινητική συμπεριφορά αυτών στους σπόρους, μπορεί να είναι διαφορετική μεταξύ των δύο σκευασμάτων. Επιπλέον, η άμεση ακινητοποίηση και η θνησιμότητα του *R. dominica* ίσως να έχει «καλύψει» πιθανές διαφορές μεταξύ των δύο σκευασμάτων του εντομοκτόνου.

Άνιση κατανομή ενός δεδομένου εντομοκτόνου στη μάζα των δημητριακών μπορεί να οδηγήσει σε ένα σενάριο σύντομων εκθέσεων όπως εξετάζεται στην παρούσα εργασία. Όταν εφαρμόζονται προστατευτικά σπόρων, είναι πολύ πιθανό να υπάρχουν τμήματα της μάζας του δημητριακού με πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις εντομοκτόνου, ή και με χωρίς εντομοκτόνο. Η εφαρμογή του εντομοκτόνου σε τμήματα της μάζας δημητριακών μπορεί να έχει την ίδια αποτελεσματικότητα με την εφαρμογή εντομοκτόνων σε ολόκληρη τη μάζα (Minett and Williams, 1976; Arthur, 1992; Athanassiou et al., 2009a; Darglish and Nayak, 2010). Ωστόσο, οι Darglish and Nayak (2010) βρήκαν ότι η άνιση εφαρμογή του S-methoprene μπορεί να μειώσει την αποτελεσματικότητα κατά του *R. dominica*, ανάλογα με τη συγκέντρωση και το ποσοστό της μάζας των σπόρων στο οποίο γίνεται η εφαρμογή. Για το spinosad, όπως σημειώνεται από τους Athanassiou et al. (2009a), μερικώς ψεκασμένο δημητριακό είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της θνησιμότητας για τα *R. dominica* και *S. oryzae*, αλλά η μείωση αυτή ήταν άμεσα συνδεδεμένη με το μέγεθος του ψεκασμένου στρώματος αυτού. Ακόμα, η σύντομη έκθεση των ακμαίων σε ψεκασμένα δημητριακά γενικά μειώνει την παραγωγή απογόνων, όταν τα έντομα αυτά

μεταφέρονται μετά σε μη ψεκασμένα δημητριακά (Daglish and Pulvirenti, 1998; Athanassiou et al., 2010).

Κατά τη διάρκεια του ψεκασμού, ένας άλλος παράγοντας που μπορεί να οδηγήσει σε άνιση κατανομή είναι το γεγονός ότι ορισμένα μέρη του σπόρου λαμβάνουν υψηλότερα ποσοστά εντομοκτόνου από ό, τι τα υπόλοιπα. Οι Daglish and Nayak (2006) διαπίστωσαν ότι αμέσως μετά την εφαρμογή του spinosad, το πραγματικό υπόλειμμά του ήταν μικρότερο από την αρχική συγκέντρωση κατά 12-36%. Παρόμοια αποτελέσματα αναφέρθηκαν επίσης για την εφαρμογή του spinosad σε διάφορα δημητριακά από άλλους ερευνητές (Flinn et al., 2004; Subramanyam et al., 2007; Chintzoglou et al., 2008a). Το φαινόμενο αυτό μπορεί να συνδέεται με τη ροή του σπόρου κατά τη διάρκεια της εφαρμογής και τις διαφοροποιήσεις της κατανομής του spinosad μεταξύ των σπόρων διαφορετικού σχήματος και μεγέθους.

Από το φάσμα των ειδών εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων που έχουν εξεταστεί μέχρι σήμερα, το είδος *Tribolium* spp. μπορεί να χαρακτηριστεί ως το λιγότερο ευαίσθητο στο spinosad (Hertlein et al., 2011). Για παράδειγμα, οι Fang et al. (2002a) ανέφεραν ότι για την ίδια συγκέντρωση, τον χρόνο έκθεσης και το είδος δημητριακού, το spinosad ήταν λιγότερο αποτελεσματικό ενάντια στο *T. castaneum* από ότι εναντίον των *R. dominica* και *S. oryzae*. Επίσης, οι Chintzoglou et al. (2008b), βρήκαν ότι το spinosad σε σκόνη ήταν λιγότερο αποτελεσματικό κατά του *T. confusum* από ότι κατά του *S. oryzae*. Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, το spinetoram είναι αναποτελεσματικό έναντι του *T. confusum*, τα οποία βρίσκονται σε συμφωνία με τις δημοσιευμένες αναφορές για το spinosad (Hertlein et al., 2011). Ακόμα, το spinosad είναι πιο αποτελεσματικό κατά των προνυμφών του *T. confusum* απ' ότι κατά των ακμαίων (Vayias et al., 2009a). Ως εκ τούτου, δεδομένου του ότι οι προνύμφες του *T. confusum* τρέφονται εξωτερικά από το σπόρο, το spinosad μπορεί σταδιακά να ελέγξει τον πληθυσμό του *T. confusum*, μέσω της αύξησης της θνησιμότητας κατά το στάδιο των προνυμφών.

Σε μια προσπάθεια αξιολόγησης νέων, μη τοξικών ουσιών για την προστασία αποθηκευμένων δημητριακών, ερευνήθηκαν οι εντομοκτόνες ιδιότητες της ουσίας spinetoram, σε σύντομες εκθέσεις κατά τριών ειδών εντόμων, τα οποία κατατάσσονται στα σημαντικότερα έντομα αποθηκευμένων δημητριακών παγκοσμίως. Τα συνολικά αποτελέσματα δείχνουν ότι το spinetoram είναι εξίσου αποτελεσματικό με το spinosad, και σε ορισμένες περιπτώσεις λιγότερο

αποτελεσματικό από το sripinosad, τουλάχιστον υπό το σενάριο των σύντομων εκθέσεων που εξετάστηκαν στην παρούσα μελέτη.

#### 4. Επίδραση της άνισης κατανομής του *spinetoram* στη θνησιμότητα και την παραγωγή απογόνων των *Rhizopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* και *Tribolium confusum* σε σιτάρι και ρύζι

##### 4.1 Εισαγωγή

Ένα από τα πιο σημαντικά πλεονεκτήματα των προστατευτικών εντομοκτόνων των σπόρων σε σχέση με τη χρήση των υποκαπνιστικών σε χύδην δημητριακά είναι ότι τα πρώτα μπορεί να παρέχουν μακροχρόνια προστασία, ακόμη και όταν χρησιμοποιούνται σε χαμηλές συγκεντρώσεις. Για παράδειγμα, οι Athanassiou et al. (2004) παρατήρησαν ότι οι χαμηλές δόσεις του beta-cyfluthrin στο σιτάρι θα μπορούσαν να προσφέρουν ένα ικανοποιητικό επίπεδο προστασίας κατά του *S. oryzae* για αρκετούς μήνες. Ωστόσο, εκτός από την εφαρμογή με ανάμειξη σε όλη τη μάζα του δημητριακού, οι συγκεντρώσεις μπορεί να μειωθούν περαιτέρω με εφαρμογή μόνο ενός μέρους του δημητριακού. Αρκετοί ερευνητές πρότειναν τον ψεκάσμο του άνω τμήματος της μάζας του δημητριακού (γνωστό διεθνώς ως top dressing), ή ψεκάσμο επιφάνειας (γνωστό διεθνώς ως surface treatment), δηλ. την εφαρμογή του εντομοκτόνου μόνο στο άνω τμήμα του χύδην σωρού του δημητριακού. Για παράδειγμα, οι Athanassiou et al. (2009a) παρατήρησαν ότι η επιφανειακή εφαρμογή του spinosad ήταν αποτελεσματική έναντι του *R. dominica*. Σύμφωνα με τους Hagstrum (1987, 1989) και Hagstrum et al. (1995), η πλειονότητα των εντόμων σε σωρούς δημητριακών εμφανίζεται στο άνω μέρος του χύδην δημητριακού. Ως εκ τούτου, "ο ψεκάσμος του άνω τμήματος" με ένα δεδομένο εντομοκτόνο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την καταστολή του πληθυσμού των εντόμων. Ταυτόχρονα, η εφαρμογή ενός προστατευτικού εντομοκτόνου σπόρων μόνο σε μερικές στρώσεις του δημητριακού είναι μια αποδοτική οικονομικά λύση που μειώνει τα συνολικά υπολείμματα στο τελικό προϊόν. Τα παραδοσιακά προστατευτικά εντομοκτόνα δημητριακών, όπως οι οργανοφωσφορικές ενώσεις (OPs), και τα πυρεθροειδή έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς στο παρελθόν, τόσο για τα δημητριακά, όσο και για τις επιφάνειες (Arthur, 1992; 1996; 1998a). Παρ' όλα αυτά, πολλά OPs αφήνουν τοξικά υπολείμματα στο προϊόν που μπορεί να θέσουν σε κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία, ενώ η εκτεταμένη χρήση τους είναι επικίνδυνη για το περιβάλλον (White and Leesch, 1995; Arthur, 1996). Νεότερα εντομοκτόνα, όπως οι ρυθμιστές ανάπτυξης των εντόμων (IGRs), μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως

επιτυχημένες εναλλακτικές λύσεις αντί για τα OPs. Οι Athanassiou et al. (2011b) εξέτασαν την επίδραση των μερικώς ψεκασμένων σπόρων με τον ρυθμιστή ανάπτυξης S-methoprene για τον έλεγχο του *R. dominica*, και διαπίστωσαν ότι με την επιφανειακή εφαρμογή καταστέλλεται η παραγωγή απογόνων. Ένα άλλο εντομοκτόνο μειωμένου κινδύνου που έχει αξιολογηθεί σύμφωνα με το σενάριο top-dressing είναι το spinosad (Athanassiou et al., 2009a). Το spinosad είναι εξαιρετικά τοξικό για το *R. dominica*, ακόμα κι όταν γίνεται εφαρμογή του μόνο σε ένα μέρος του δημητριακού (Getchell, 2006; Getchell and Subramanyam, 2008; Athanassiou et al., 2009a). Άλλες μελέτες δείχνουν ότι το spinosad μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά για τον έλεγχο ανθεκτικών στελεχών εντόμων στα OPs ή στους IGRs (Daglish, 2008), σε συνδυασμό με άλλες ενώσεις μικρής τοξικότητας για τον άνθρωπο και τα θερμόαιμα (Daglish, 2008; Athanassiou et al., 2011a).

Παρόλο που για πολλά από τα παραπάνω εντομοκτόνα υπάρχουν αρκετά δεδομένα τα οποία δείχνουν τη «συμπεριφορά» τους σε συνθήκες μερικής εφαρμογής, τα δεδομένα για τις σπινοςύνες είναι γενικά περιορισμένα και αφορούν στην αποτελεσματική δράση της μερικής εφαρμογής του spinosad. Αντιθέτως, δεν υπάρχουν σχετικά δεδομένα για το spinetoram, το οποίο φαίνεται, σε πολλές περιπτώσεις, αποτελεσματικότερο του spinosad. (Williams et al., 2003; Seal et al., 2007; Sayed, 2010). Τέλος, πολλές πρόσφατες έρευνες δείχνουν ότι το spinetoram είναι ασφαλέστερο για ορισμένα ωφέλιμα έντομα σε σχέση με το spinosad (Srivastava, 2008; Besard et al., 2011). Στην παρούσα μελέτη, εξετάστηκε η εντομοκτόνος δράση του spinetoram σε δυο διαφορετικά σενάρια άνισης κατανομής του εντομοκτόνου, αυτά της εφαρμογής σε στρώσεις και της ποσοστιαίας εφαρμογής στην μάζα του δημητριακού, εναντίον των *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum*, με σκοπό την επισήμανση της αποτελεσματικότητας της δραστηρικής αυτή, κάτω από συνθήκες μερική εφαρμογή στη μάζα του δημητριακού.

## **4.2 Υλικά και μέθοδοι**

### **4.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών**

Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν ακμαία των ειδών *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum*, που εξετράφησαν με τη διαδικασία που αναφέρονται στην ενότητα Β, υποενότητα 1.1 και υπό τις ίδιες συνθήκες. Τα δημητριακά των βιοδοκιμών ήταν



σκληρό σιτάρι (ποικιλία Simeto) και αναποφλοιώτο ρύζι (ποικιλία Thaibonett). Η περιεκτικότητα σε υγρασία και των δύο δημητριακών, όπως προσδιορίστηκε με τον μετρητή υγρασίας (Multitest, Gode Co., France), ήταν 13.5%.

#### 4.2.2 Εφαρμογή του spinetoram

Το σκεύασμα του spinetoram που χρησιμοποιήθηκε περιείχε 11.7% δραστικής ουσίας (δ.ο.), με τη μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος (SC) (που μας παρασχέθηκε από την Dow AgroSciences, UK). Η εφαρμογή του εντομοκτόνου έγινε με χρήση καλλιτεχνικού αερογράφου (Mecafer AG4, Mecafer Co., France). Η συγκέντρωση του spinetoram που εφαρμόστηκε ήταν 1 ppm (1 mg δ.ο./kg σπόρου δημητριακού). Για το σενάριο της εφαρμογής του spinetoram σε στρώσεις, ποσότητες από 2 kg σιταριού και 1 kg ρυζιού ψεκάστηκαν με spinetoram χρησιμοποιώντας 1 ml ψεκαστικού διαλύματος ανά kg δημητριακού. Για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου στα δημητριακά, ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε στην Ενότητα Β, υποενότητα 2.2.2. Επιπλέον ποσότητες σιταριού και ρυζιού ψεκάστηκαν με απιονισμένο νερό, οι οποίες και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Για τις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (διαμέτρου 3 cm, ύψους 8 cm), τα οποία πληρώθηκαν με ψεκασμένο ή ανέκαστο δημητριακό του μάρτυρα σε στρώσεις, όπως περιγράφεται από τους Athanassiou et al. (2009a). Εν συντομία, κάθε φιαλίδιο πληρώθηκε με 28 g σιταριού ή 20 g ρυζιού, ποσότητες που κάλυπταν τα 6 κατώτερα cm από τον πυθμένα του φιαλιδίου. Κατόπιν, τα φιαλίδια χωρίστηκαν σε πέντε κατηγορίες: φιαλίδια που περιείχαν μόνο το δημητριακό μάρτυρα, φιαλίδια που όλο το δημητριακό που περιείχαν ήταν ψεκασμένο, φιαλίδια που περιείχαν ψεκασμένο δημητριακό μόνο στο άνω ήμισυ της μάζας του δημητριακού, φιαλίδια που περιείχαν ψεκασμένο δημητριακό μόνο στο ανώτερο ένα τέταρτο της μάζας του δημητριακού και φιαλίδια που περιείχαν ψεκασμένο δημητριακό μόνο στο ανώτερο ένα όγδοο της μάζας του δημητριακού (Athanassiou et al., 2009a). Για κάθε κατηγορία, στα μισά φιαλίδια τα ακμαία των εντόμων τοποθετήθηκαν πριν από την εισαγωγή του δημητριακού, και στα άλλα μισά τοποθετήθηκαν μετά την εισαγωγή αυτού. Σε κάθε φιαλίδιο, τοποθετήθηκαν είκοσι ακμαία, με διαφορετικά φιαλίδια για το κάθε είδος. Τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν στη συνέχεια στους 25 °C, 65% Σ.Υ., και συνεχές σκοτάδι. Μετά από 14 ημέρες, τα φιαλίδια ανοίχθηκαν και καταγράφηκε ο αριθμός των ακμαίων που ήταν νεκρά. Στη συνέχεια, για τα *R. dominica* και *S. oryzae*,

όλα τα ακμαία, νεκρά ή ζωντανά, απομακρύνθηκαν από τα φιαλίδια τα οποία παρέμειναν στις ίδιες συνθήκες για ένα επιπλέον χρονικό διάστημα 65 ημερών. Μετά τη λήξη του χρονικού διαστήματος αυτού, τα φιαλίδια ξανανοίχθηκαν και καταγράφηκε ο αριθμός των ακμαίων που προέκυψε. Για κάθε συνδυασμό εντόμου - εφαρμογής εντομοκτόνου - εισαγωγής εντόμου - είδους δημητριακού, υπήρχαν 4 φιαλίδια. Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές (3 επαναλήψεις) με προετοιμασία νέων φιαλιδίων κάθε φορά (3 X 4 = 12 φιαλίδια για κάθε συνδυασμό συνολικά).

Στην σειρά βιοδοκιμών του σεναρίου της ποσοστιαίας εφαρμογής στην μάζα του δημητριακού, ποσότητες των 1 kg σιταριού και 1 kg ρυζιού ψεκάστηκαν όπως αναφέρθηκε παραπάνω, και στα φιαλίδια τοποθετήθηκαν μείγματα ψεκασμένων και απέκαστων σπόρων. Όπως και παραπάνω, επιπλέον ποσότητες δημητριακών ψεκάστηκαν με απιονισμένο νερό και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρας. Τα φιαλίδια περιείχαν 20 g από τα δημητριακά (χωριστά φιαλίδια για κάθε δημητριακό), και χωρίστηκαν σε έξι κατηγορίες: τα φιαλίδια που περιείχαν μόνο το δημητριακό μάρτυρα, και τα φιαλίδια που περιείχαν ψεκασμένο σπόρο σε ποσοστά 5, 10, 25, 50 και 100%, που αντιστοιχεί σε 1, 2, 5, 10 και 20 g ψεκασμένης ποσότητας, αντίστοιχα. Μετά την εισαγωγή των δημητριακών στις παραπάνω αναλογίες, τα φιαλίδια ανακινήθηκαν με το χέρι για περίπου 1 λεπτό, ώστε να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου στο δημητριακό. Για κάθε συνδυασμό εντόμου - εφαρμογής εντομοκτόνου - είδους δημητριακού, υπήρχαν 4 φιαλίδια. Οι συνθήκες, ο αριθμός των επαναλήψεων καθώς και ο αριθμός των ακμαίων που χρησιμοποιήθηκαν ανά φιαλίδιο, ήταν ίδια όπως στην παραπάνω σειρά βιοδοκιμών. Ωστόσο, σε αυτή τη σειρά βιοδοκιμών, τα ακμαία εισήχθησαν μόνο μετά την εισαγωγή του δημητριακού. Η θνησιμότητα αξιολογήθηκε μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης, και μετά από αυτό το διάστημα, όλα τα ακμαία απομακρύνθηκαν, όπου και μετρήθηκε, 65 ημέρες αργότερα, η παραγωγή απογόνων, όπως ανωτέρω. Σε αυτή τη σειρά βιοδοκιμών χρησιμοποιήθηκαν μόνο τα *R. dominica* και *S. oryzae*.

#### **4.2.3. Ανάλυση δεδομένων**

Οι μετρήσεις πριν την ανάλυσή τους εξετάστηκαν για την ομοιογένεια των διασπορών με το O'Brien τεστ σε επίπεδο 0.01 (O'Brien, 1984). Η θνησιμότητα στον μάρτυρα ήταν χαμηλή, έτσι δεν θεωρήθηκε απαραίτητη καμία διόρθωση. Για την

πρώτη σειρά βιοδοκιμών, χωριστά για κάθε είδος, τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (three-way ANOVA) χρησιμοποιώντας το λογισμικό JMP 7 (Sall et al., 2001), με την θνησιμότητα ή την παραγωγή απογόνων ως την εξαρτημένη μεταβλητή, και τον τρόπο εισαγωγής των εντόμων (πριν ή μετά), το είδος δημητριακού και τον τρόπο εφαρμογής του εντομοκτόνου ως κύριες επιδράσεις. Για τη δεύτερη σειρά βιοδοκιμών, τα δεδομένα για τη θνησιμότητα υποβλήθηκαν σε πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (repeated-measures MANOVA), με την θνησιμότητα στο χρόνο ως επαναλαμβανόμενη μεταβλητή και την εφαρμογή του εντομοκτόνου και το είδος δημητριακού ως κύριες επιδράσεις. Για την παραγωγή απογόνων, τα δεδομένα υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (two-way ANOVA), με την εφαρμογή εντομοκτόνου και το είδος δημητριακού ως κύριες επιδράσεις. Στις αναλύσεις της παραγωγής απογόνων συμπεριλήφθηκε και ο μάρτυρας. Σε όλες τις περιπτώσεις, η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με τη χρήση του Tukey-Kramer HSD test, σε επίπεδο 0.05 (Sokal and Rohlf, 1995).

### **4.3 Αποτελέσματα**

#### **4.3.1 Εφαρμογή του εντομοκτόνου σε στρώσεις**

Για τις μετρήσεις της θνησιμότητας του *R. dominica*, οι παράγοντες εισαγωγή των εντόμων και εφαρμογή του εντομοκτόνου ήταν σημαντικές, αλλά ο παράγοντας δημητριακό δεν ήταν (Πίνακας 1). Γενικά, η θνησιμότητα του *R. dominica* μειώθηκε με τη μείωση της ψεκασμένης επιφάνειας μέσα στα φιαλίδια, ανεξάρτητα από τον τρόπο εισαγωγής του εντόμου (Διάγραμμα 1). Ωστόσο, η θνησιμότητα ήταν σημαντικά χαμηλότερη όταν τα ακμαία του *R. dominica* είχαν τοποθετηθεί πριν από την εισαγωγή των δημητριακών, σε σύγκριση με τα ακμαία που είχαν τοποθετηθεί μετά την εισαγωγή. Ως εκ τούτου, στα φιαλίδια με εφαρμογή εντομοκτόνου στο άνω ήμισυ των σπόρων, η θνησιμότητα των εντόμων τα οποία είχαν τοποθετηθεί πριν και μετά στο σιτάρι ήταν 78 και 99%, αντίστοιχα, ενώ τα ποσοστά για το ρύζι ήταν 77 και 99%, αντίστοιχα (Διάγραμμα 1). Ωστόσο, στα φιαλίδια επί των οποίων στο ανώτερο ένα τέταρτο και ένα όγδοο των σπόρων έγινε εφαρμογή εντομοκτόνου, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των δύο κατηγοριών εισαγωγής εντόμων, παρά το γεγονός ότι, γενικά, η θνησιμότητα ήταν υψηλότερη όταν τα έντομα εισήχθησαν

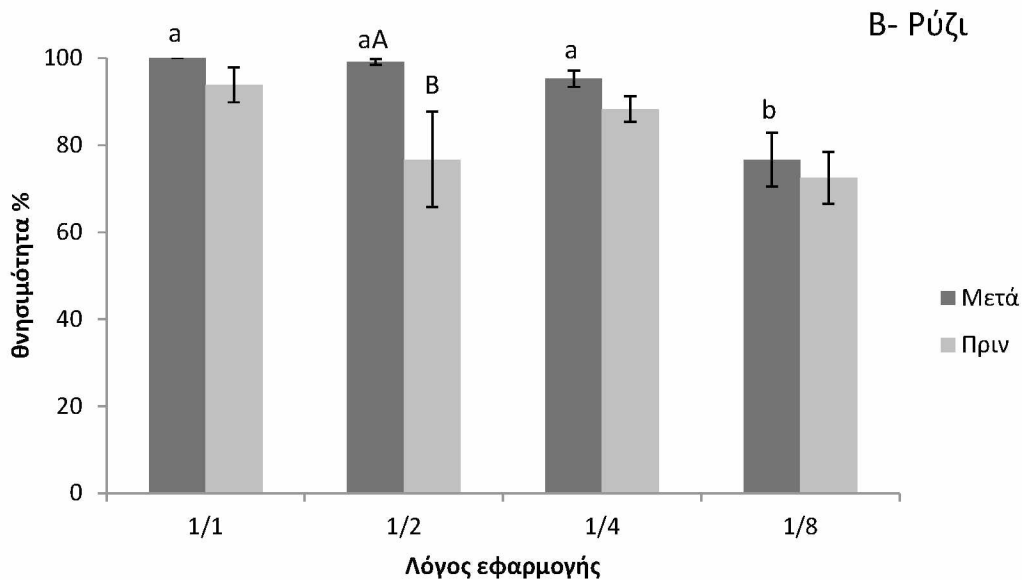
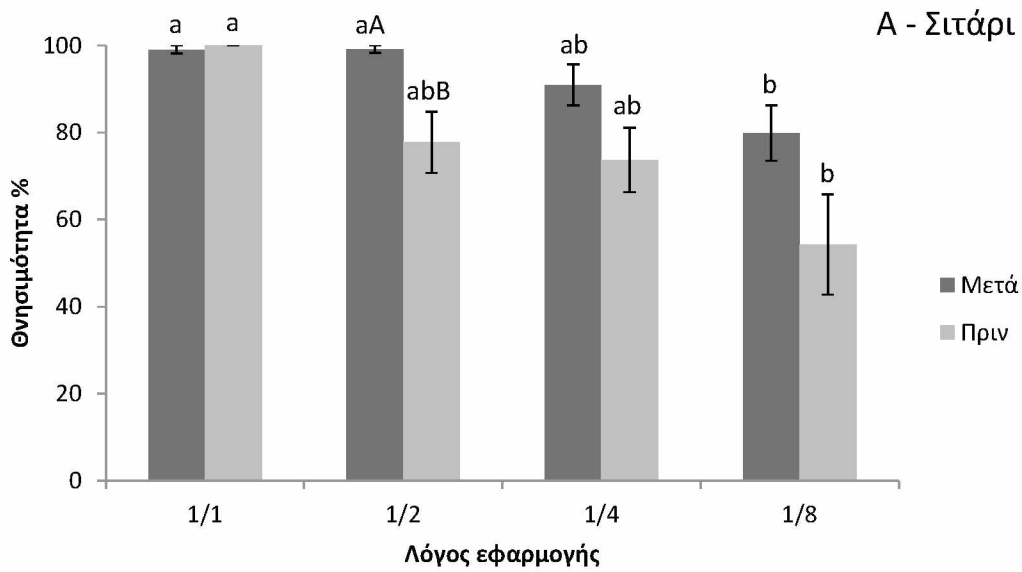
μετά τα δημητριακά. Έτσι, όταν τα έντομα εισήχθησαν επί των φιαλιδίων μετά το δημητριακό, με εφαρμογή εντομοκτόνου στο ανώτερο ένα όγδοο του σπόρου, η θνησιμότητα έφθασε το 80 και 77% για το σιτάρι και το ρύζι, αντίστοιχα. Συνολικά, τα επίπεδα θνησιμότητας του εντόμου για το σιτάρι και το ρύζι ήταν παρόμοια.

Στην περίπτωση του *S. oryzae*, η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη σε σύγκριση με την αντίστοιχη του *R. dominica* (Διάγραμμα 2). Γι' αυτό το είδος, η εφαρμογή εντομοκτόνου και το είδος δημητριακού ήταν σημαντικές, αλλά η εισαγωγή των εντόμων δεν ήταν (Πίνακας 1). Γενικά, η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη για το ρύζι σε σύγκριση με το σιτάρι, ακόμη και στην περίπτωση των σπόρων, που είχαν ολική κάλυψη με το εντομοκτόνο. Ως εκ τούτου, η μέση θνησιμότητα σε καθολική εφαρμογή στο σιτάρι ήταν 98%, ενώ η μέση θνησιμότητα για το ρύζι δεν υπερέβη το 65% (Διάγραμμα 2). Από την άλλη πλευρά, η μέση θνησιμότητα σε φιαλίδια όπου το ανώτερο ένα όγδοο ήταν ψεκασμένο έφτασε το 38 και 23%, αντίστοιχα.

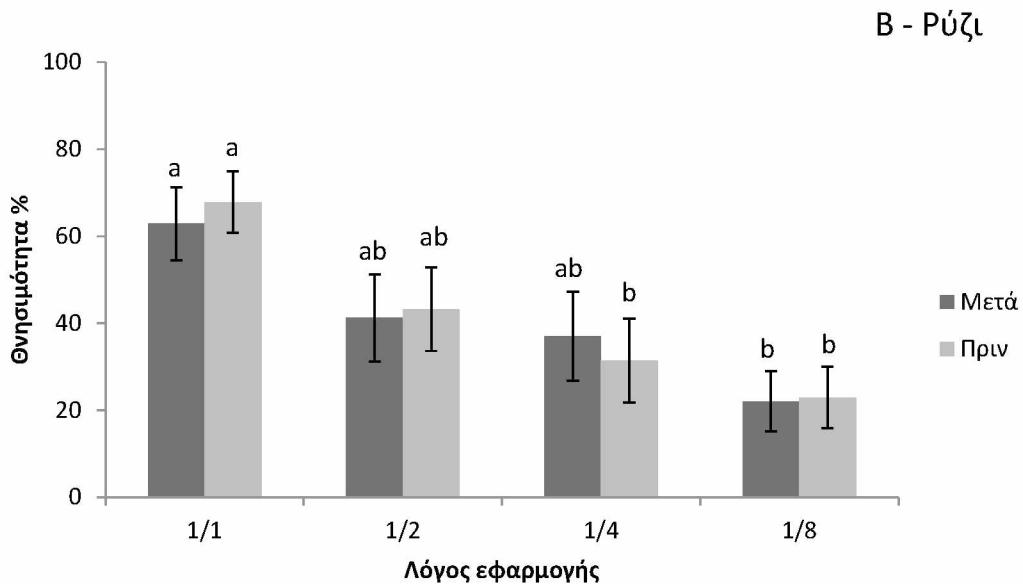
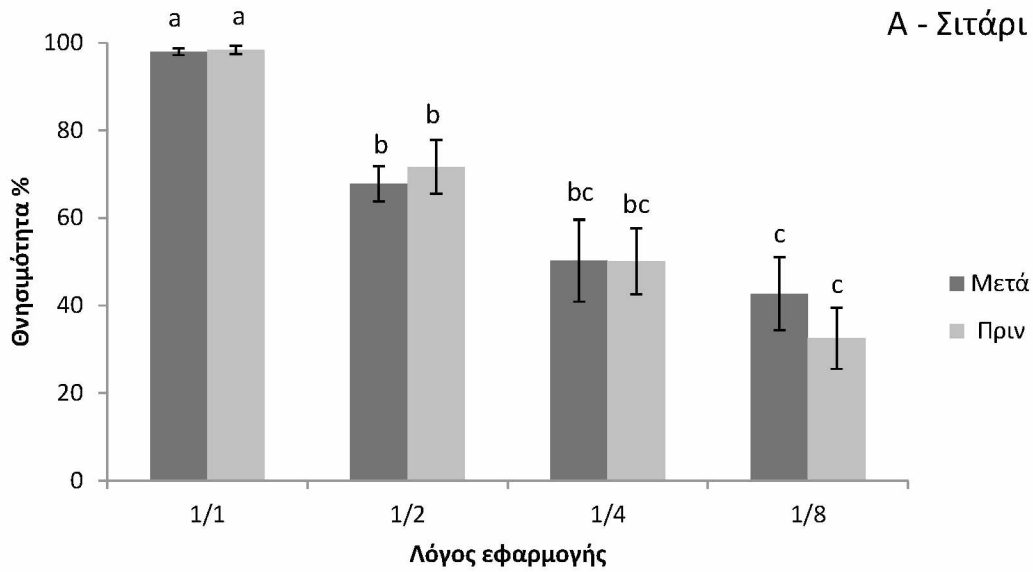
Για το *T. confusum*, μόνο ο παράγοντας δημητριακό ήταν σημαντικός (Πίνακας 1). Η συνολική θνησιμότητα των ακμαίων του είδους αυτού ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σύγκριση με εκείνη των *R. dominica* και *S. oryzae* (Διάγραμμα 3). Γενικά, όπως και στην περίπτωση του *S. oryzae*, η συνολική θνησιμότητα ήταν υψηλότερη στο σιτάρι από ότι στο ρύζι. Εντούτοις, η θνησιμότητα δεν υπερέβη το 34%, ακόμη και όταν τα έντομα βρίσκονταν σε φιαλίδια που περιείχαν δημητριακό το οποίο είχε πλήρως ψεκαστεί με εντομοκτόνο. Επιπλέον, στα φιαλίδια που περιείχαν ρύζι με εφαρμογή εντομοκτόνου στο άνω ήμισυ και στο ανώτερο ένα όγδοο, η θνησιμότητα ήταν σημαντικά υψηλότερη όταν τα ακμαία είχαν τοποθετηθεί πριν από την εισαγωγή του δημητριακού σε σχέση με τα ακμαία που είχαν τοποθετηθεί μετά (Διάγραμμα 3).

**Πίνακας 1.** Ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (της εφαρμογής του εντομοκτόνου, του τρόπου εισαγωγής των εντόμων, του είδους του δημητριακού και των αλληλεπιδράσεών τους) στη θνησιμότητα των ειδών που εξετάστηκαν στο σενάριο του ψεκασμού στρώσεων των δημητριακών (B.E. σφάλματος = 176).

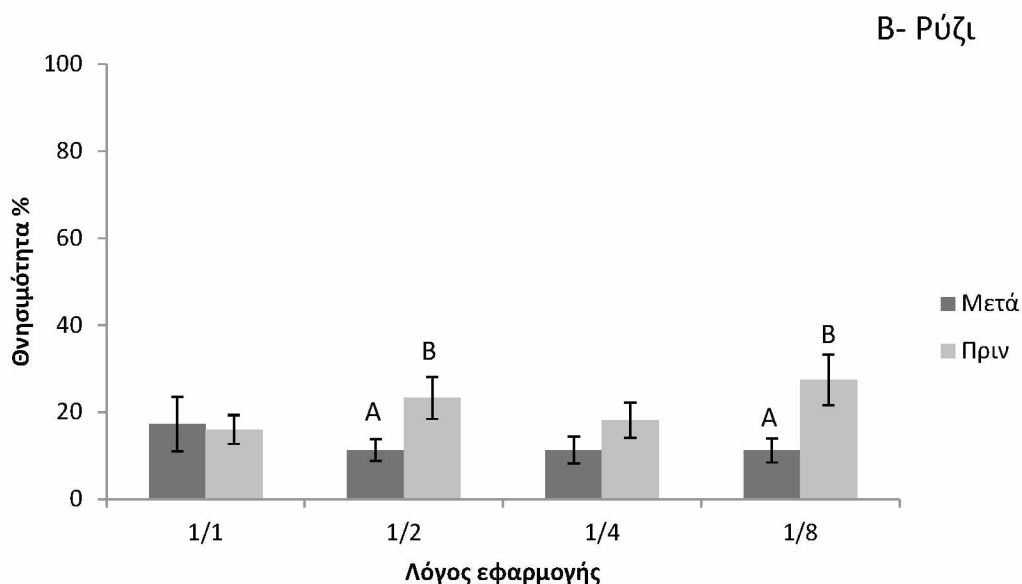
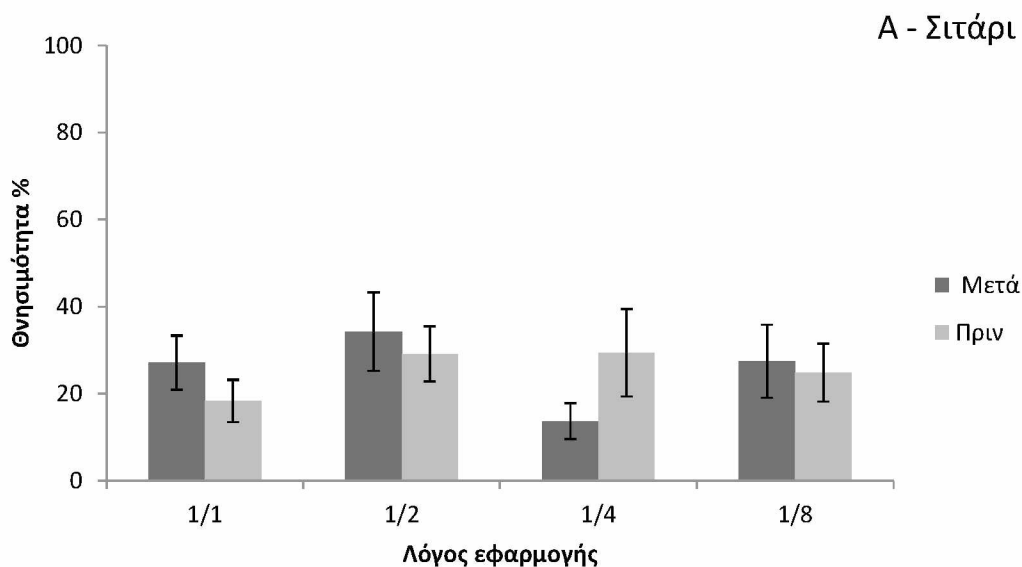
Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	<i>R. dominica</i>		<i>S. oryzae</i>		<i>T. confusum</i>	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Εφαρμογή εντομοκτόνου	3	15.6	<0.01	33.7	<0.01	0.9	0.43
Τρόπος εισαγωγής	1	20.1	<0.01	0.0	0.90	1.9	0.17
Δημητριακό	1	1.5	0.22	35.6	<0.01	8.2	<0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου X	3	1.9	0.13	0.3	0.86	1.3	0.26
Τρόπος εισαγωγής							
Εφαρμογή εντομοκτόνου X	3	1.1	0.36	1.3	0.28	0.4	0.73
Δημητριακό							
Τρόπος εισαγωγής X	1	1.1	0.30	0.1	0.78	2.1	0.15
Δημητριακό							
Εφαρμογή εντομοκτόνου X	3	1.2	0.31	0.2	0.88	1.1	0.34
Τρόπος εισαγωγής X							
Δημητριακό							



**Διάγραμμα 1.** Ποσοστό θνησιμότητας (Μ.Ο. ± Τ.Σ.) των ακμαίων του *R. dominica* σε φιαλίδια που περιέχουν σιτάρι (A) ή ρύζι (B) ολικά ψεκασμένα με spinetoram (1/1) ή σιτάρι ή ρύζι με το ανώτερο μισό (1/2), ένα τέταρτο (1/4), ή ένα όγδοο (1/8) του στρώματός τους ψεκασμένο με spinetoram. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά τα δημητριακά (Πριν και Μετά στο διάγραμμα) (Σε κάθε τρόπο εισαγωγής, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σε κάθε λόγο εφαρμογής, οι Μ.Ο. 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).



**Διάγραμμα 2.** Ποσοστό θνησιμότητας (Μ.Ο. ± Τ.Σ.) των ακμαίων του *S. oryzae* σε φιαλίδια που περιέχουν σιτάρι (Α) ή ρύζι (Β) ολικά ψεκασμένα με spinetoram (1/1) ή σιτάρι ή ρύζι με το ανώτερο μισό (1/2), ένα τέταρτο (1/4), ή ένα όγδοο (1/8) του στρώματός τους, ψεκασμένο με spinetoram. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά τα δημητριακά (Πριν και Μετά στο διάγραμμα) (Σε κάθε τρόπο εισαγωγής, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σε κάθε λόγο εφαρμογής, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, Tukey-KramerHSD test σε 0.05).



**Διάγραμμα 3.** Ποσοστό θνησιμότητας (Μ.Ο. ± Τ.Σ.) των ακμαίων του *T. confusum* σε φιαλίδια που περιέχουν σιτάρι (A) ή ρύζι (B) ολικά ψεκασμένα με spinetoram (1/1) ή σιτάρι ή ρύζι με το ανώτερο μισό (1/2), ένα τέταρτο (1/4), ή ένα όγδοο (1/8) του στρώματός τους, ψεκασμένο με spinetoram. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά τα δημητριακά (Πριν και Μετά στο διάγραμμα) (Σε κάθε τρόπο εισαγωγής, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σε κάθε λόγο εφαρμογής, οι Μ.Ο. 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).



Στην παραγωγή απογόνων για το *R. dominica*, μόνο η εφαρμογή του εντομοκτόνου και ο τρόπος εισαγωγής ήταν σημαντική (Πίνακας 2). Η παραγωγή απογόνων δεν αποφεύχθηκε εντελώς, ακόμη και στην πλήρη εφαρμογή στο δημητριακό. Ωστόσο, η μείωση της ψεκασμένης επιφάνειας στρώσης, προκάλεσε σημαντική αύξηση στην παραγωγή απογόνων και για τα δύο δημητριακά (Πίνακες 3 και 4). Έτσι, για το ρύζι, στα φιαλίδια με εφαρμογή στο άνω ένα όγδοο, η παραγωγή απογόνων δεν διέφερε από εκείνη στα φιαλίδια του μάρτυρα. Ομοίως, για το σιτάρι, μόνο σε πλήρη εφαρμογή, η εμφάνιση των ακμαίων ήταν αμελητέα, ενώ στις άλλες εφαρμογές η παραγωγή απογόνων δεν διέφερε από εκείνη στα φιαλίδια του μάρτυρα. Γενικά, η συνολική παραγωγή απογόνων ήταν υψηλότερη στο σιτάρι από ότι στο ρύζι. Ταυτόχρονα, στα φιαλίδια που περιείχαν ακμαία που είχαν τοποθετηθεί πριν από τα δημητριακά, οι απόγονοι ήταν περισσότεροι από ότι στα φιαλίδια με ακμαία που είχαν τοποθετηθεί μετά τα δημητριακά.

Όσον αφορά το *S. oryzae*, μόνο ο τρόπος εφαρμογής, το δημητριακό και η αλληλεπίδρασή τους ήταν σημαντική (Πίνακας 2). Η παραγωγή απογόνων ήταν υψηλή, ανεξάρτητα από την εφαρμογή και τον τρόπο εισαγωγής των εντόμων. Επιπλέον, με εξαίρεση την πλήρη εφαρμογή εντομοκτόνου στη μάζα του σιταριού, η παραγωγή απογόνων δεν διέφερε σημαντικά από εκείνη στα φιαλίδια του μάρτυρα (Πίνακας 3). Στην περίπτωση του ρυζιού, η παραγωγή απογόνων ήταν χαμηλότερη από το σιτάρι και δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των εφαρμογών ή μεταξύ των τεχνικών εισαγωγής εντόμων.

**Πίνακας 2.** Ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (της εφαρμογής του εντομοκτόνου συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα, του τρόπου εισαγωγής των εντόμων, του είδους του δημητριακού και των αλληλεπιδράσεών τους) στην παραγωγή απογόνων των ειδών που εξετάστηκαν στο σενάριο του ψεκασμού στρώσεων των δημητριακών (B.E. σφάλματος= 220).

Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	<i>R. dominica</i>		<i>S. oryzae</i>	
		F	P	F	P
Εφαρμογή εντομοκτόνου	4	12.2	<0.01	6.5	<0.01
Τρόπος εισαγωγής	1	5.9	0.02	0.0	0.90
Δημητριακό	1	1.0	0.31	93.7	<0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου X Τρόπος εισαγωγής	4	0.7	0.56	0.1	0.97
Εφαρμογή εντομοκτόνου X Δημητριακό	4	0.3	0.84	7.2	<0.01
Τρόπος εισαγωγής X Δημητριακό	1	0.6	0.42	0.1	0.71
Εφαρμογή εντομοκτόνου X Τρόπος εισαγωγής X Δημητριακό	4	0.2	0.94	0.1	0.98

**Πίνακας 3.** Μέσος όρος απογόνων των *R. dominica* και *S. oryzae* (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο  $\pm$  T.Σ.) στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο με spinetoram στο σύνολό τους (1/1) ή σε στρώσεις στο ανώτερο μισό (1/2), ένα τέταρτο (1/4) και ένα όγδοο (1/8) του όγκου τους. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά τα δημητριακά (πριν vs μετά) (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, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Αναλογία ψεκασμένης στρώσης	Είδη/ Απόγονοι ακμαία			
	<i>R. dominica</i> (Μετά)	<i>R. dominica</i> (Πριν)	<i>S. oryzae</i> (Μετά)	<i>S. oryzae</i> (Πριν)
1/1	1.58 $\pm$ 1.23c	0.33 $\pm$ 0.19	14.50 $\pm$ 3.07b	12.42 $\pm$ 3.42b
1/2	3.17 $\pm$ 0.92bc	12.17 $\pm$ 4.83	64.50 $\pm$ 10.06a	55.50 $\pm$ 12.33ab
1/4	8.75 $\pm$ 2.16abc	22.08 $\pm$ 9.44	61.42 $\pm$ 11.86a	58.33 $\pm$ 13.53ab
1/8	17.08 $\pm$ 3.91ab	28.17 $\pm$ 13.61	50.67 $\pm$ 10.39ab	50.00 $\pm$ 11.57ab
Μάρτυρας	20.42 $\pm$ 6.26a	30.83 $\pm$ 10.86	70.58 $\pm$ 15.76a	75.75 $\pm$ 18.90a

**Πίνακας 4.** Μέσος όρος απογόνων των *R. dominica* και *S. oryzae* (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο  $\pm$  Τ.Σ) στα φιαλίδια που περιείχαν ρύζι ψεκασμένο με spinetoram στο σύνολό τους (1/1) ή σε στρώσεις στο ανώτερο μισό (1/2), ένα τέταρτο (1/4) και ένα όγδοο (1/8) του όγκου τους. Τα ακμαία εισήχθησαν στα φιαλίδια πριν ή μετά τα δημητριακά (πριν vs μετά) (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, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Είδη/ Απόγονοι ακμαία				
Αναλογία ψεκασμένης στρώσης	<i>R. dominica</i> (Μετά)	<i>R. dominica</i> (Πριν)	<i>S. oryzae</i> (Μετά)	<i>S. oryzae</i> (Πριν)
1/1	1.25 $\pm$ 1.25b	0.25 $\pm$ 0.13b	16.67 $\pm$ 3.04	13.33 $\pm$ 2.96
1/2	1.58 $\pm$ 0.84b	4.92 $\pm$ 1.41b	12.17 $\pm$ 1.91	12.42 $\pm$ 2.36
1/4	6.67 $\pm$ 2.06b	17.33 $\pm$ 5.56ab	12.50 $\pm$ 2.45	13.67 $\pm$ 2.49
1/8	16.25 $\pm$ 4.12ab	14.67 $\pm$ 6.86ab	11.92 $\pm$ 1.68	17.17 $\pm$ 2.64
Μάρτυρας	22.42 $\pm$ 7.15a	32.33 $\pm$ 8.07a	13.50 $\pm$ 2.02	14.75 $\pm$ 2.47

#### 4.3.2 Ποσοστιαία εφαρμογή εντομοκτόνου

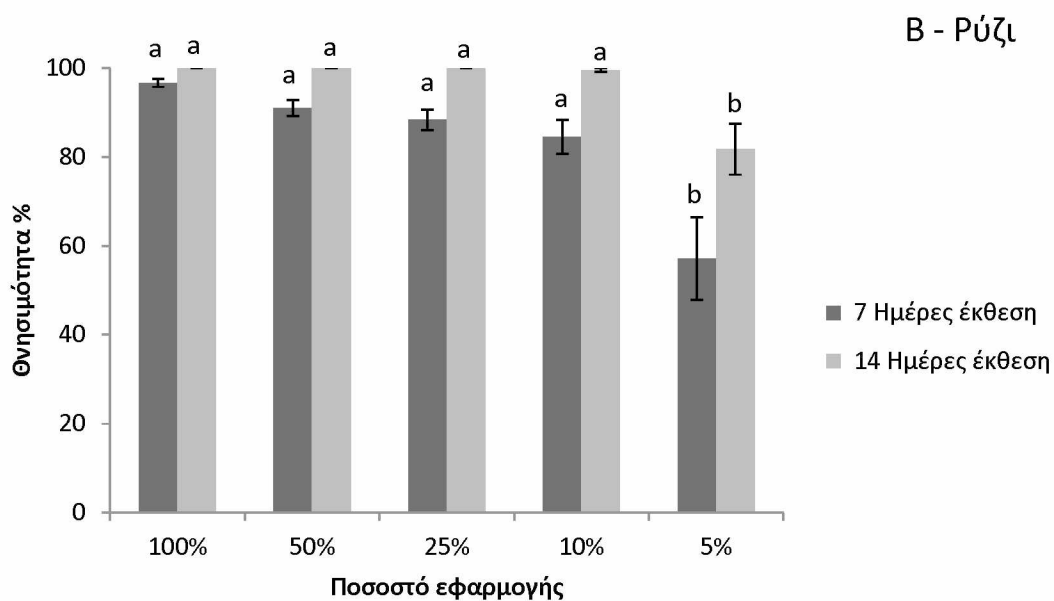
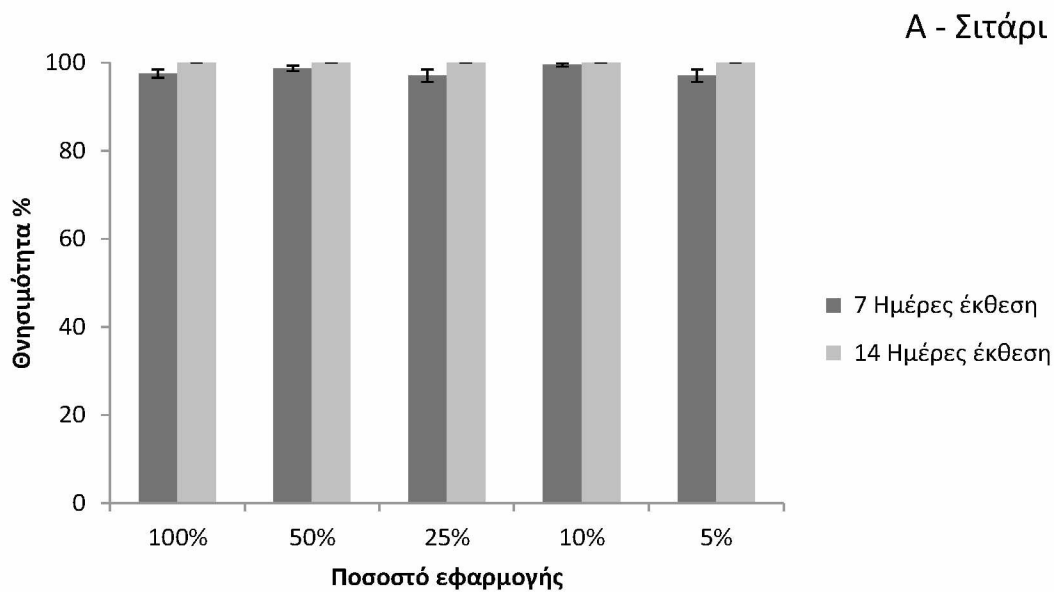
Για τις μετρήσεις της θνησιμότητας του *R. dominica*, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 5). Μετά από 7 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica*, στο σιτάρι ήταν εξαιρετικά υψηλή, ανεξάρτητα από το ποσοστό του δημητριακού που ψεκάστηκε, και κυμαίνονταν μεταξύ 97 και 99% (Διάγραμμα 4). Επτά ημέρες αργότερα, στο ίδιο δημητριακό, όλα τα ακμαία ήταν νεκρά. Η θνησιμότητα στο ρύζι ήταν χαμηλότερη από εκείνη στο σιτάρι (Διάγραμμα 4). Μετά από 7 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα στο ρύζι το οποίο είχε ψεκαστεί στο 5% του συνόλου του ήταν 57%, και διέφερε σημαντικά σε σύγκριση με τις άλλες εφαρμογές. Ταυτόχρονα, η θνησιμότητα του *R. dominica* στα φιαλίδια που περιείχαν πλήρως ψεκασμένο ρύζι ήταν 97%. Μετά από 14 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα ήταν 99-100%, με εξαίρεση τα φιαλίδια που περιείχαν ψεκασμένο ρύζι σε ποσοστό 5%, όπου η θνησιμότητα έφθασε το 82% (Διάγραμμα 4).

Για το *S. oryzae*, η εφαρμογή και το δημητριακό ήταν σημαντικά (Πίνακας 5). Στο σιτάρι, μετά από 7 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα έφτασε το 68% στα φιαλίδια που περιείχαν πλήρως ψεκασμένο σιτάρι, ενώ η θνησιμότητα μειώθηκε με τη μείωση

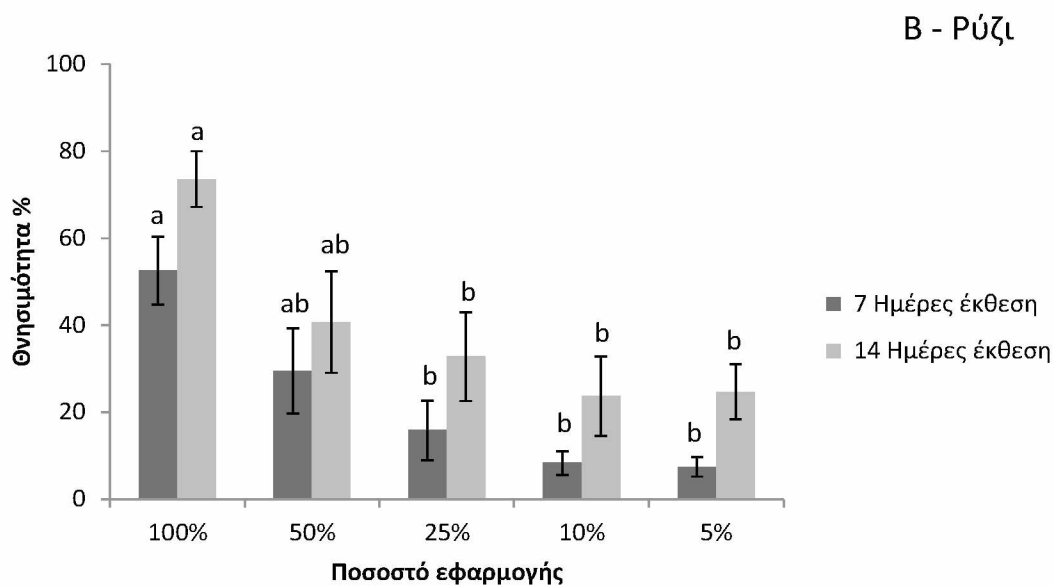
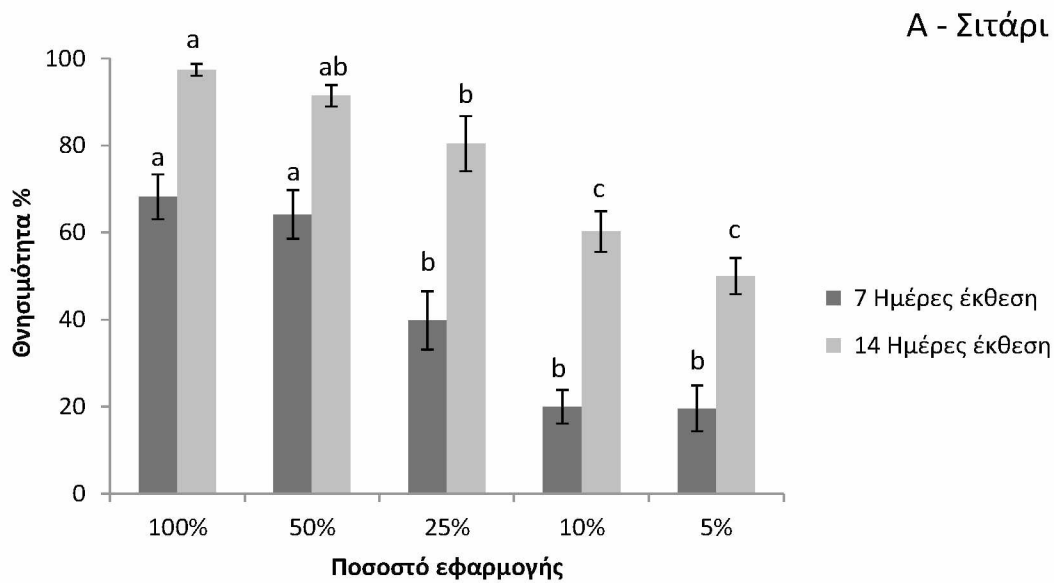
του ποσοστού εφαρμογής του εντομοκτόνου (Διάγραμμα 5). Ταυτόχρονα, σημαντικά περισσότερα ακμαία ήταν νεκρά στα φιαλίδια που περιείχαν πλήρως ψεκασμένο σιτάρι σε ποσοστό 50%, σε σύγκριση με τις άλλες εφαρμογές. Επτά ημέρες αργότερα, η θνησιμότητα στα φιαλίδια που περιείχαν πλήρως ψεκασμένο σιτάρι έφτασε το 97%, ενώ στα φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ψεκασμένο σε ποσοστό 5%, η θνησιμότητα δεν υπερέβη το 50% (Διάγραμμα 5). Στο ρύζι, μετά από 7 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα στα φιαλίδια που περιείχαν πλήρως ψεκασμένο προϊόν ανήλθε στο 53%, ενώ ήταν μόνο 7% στην περίπτωση των φιαλιδίων που περιείχαν ρύζι ψεκασμένο κατά το 5%. Επτά ημέρες αργότερα, η θνησιμότητα στα φιαλίδια που περιείχαν ρύζι στο οποίο είχε γίνει πλήρης εφαρμογή του εντομοκτόνου ήταν 74%, αλλά δεν υπερέβη το 41% στην περίπτωση των άλλων εφαρμογών (Διάγραμμα 5).

**Πίνακας 5.** Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας των ειδών που εξετάστηκαν, με παράγοντες την εφαρμογή του εντομοκτόνου, το δημητριακό και τις αλληλεπιδράσεις τους στο σενάριο της ποσοστιαίας εφαρμογής του εντομοκτόνου (ανάμιξη διαφόρων ποσοστών ψεκασμένων με spinetoram σπόρων στη μάζα του δημητριακού) (B.E σφάλματος = 110).

Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	<i>R. dominica</i>		<i>S. oryzae</i>	
		F	P	F	P
Μεταξύ των μεταβλητών	9	13.8	<0.01	16.2	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	14745.4	<0.01	548.9	<0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου	4	11.6	<0.01	21.5	<0.01
Δημητριακό	1	34.1	<0.01	53.8	<0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου X Δημητριακό	4	10.9	<0.01	1.5	0.20
Εντός των μεταβλητών	9	10.2	<0.01	4.4	<0.01
Χρόνος	1	91.7	<0.01	256.7	<0.01
Χρόνος X Εφαρμογή εντομοκτόνου	4	5.6	<0.01	1.2	0.33
Χρόνος X Δημητριακό	1	48.67	<0.01	30.46	<0.01
Χρόνος X Εφαρμογή εντομοκτόνου X Δημητριακό	4	5.25	<0.01	1.02	0.40



**Διάγραμμα 4.** Ποσοστό θνησιμότητας (Μ.Ο. ± Τ.Σ.) των ακμαίων του *R. dominica* σε φιαλίδια που περιέχουν σιτάρι (Α) ή ρύζι (Β) σε διάφορα ποσοστά ψεκασμένου δημητριακού μεταξύ 5 και 100 %, μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης (Σε κάθε δημητριακό και διάστημα έκθεσης, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).



**Διάγραμμα 5.** Ποσοστό θνησιμότητας (Μ.Ο. ± Τ.Σ.) των ακμιαίων του *S. oryzae* σε φιαλίδια που περιέχουν σιτάρι (Α) ή ρύζι (Β) σε διάφορα ποσοστά ψεκασμένου δημητριακού μεταξύ 5 και 100 %, μετά από 7 και 14 ημέρες έκθεσης (Σε κάθε δημητριακό και διάστημα έκθεσης, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Στην παραγωγή απογόνων για το *R. dominica*, μόνο η εφαρμογή του εντομοκτόνου ήταν σημαντική (Πίνακας 6). Η παραγωγή απογόνων σε ψεκασμένο σιτάρι ήταν σημαντικά χαμηλότερη από ότι στα φιαλίδια του μάρτυρα (Πίνακας 7). Ο αριθμός των ακμαίων του *R. dominica* που προέκυψαν ήταν <0.5 ακμαία / φιαλίδιο, σε φιαλίδια που περιείχαν πλήρως ψεκασμένο σιτάρι ή σιτάρι ψεκασμένο κατά 50 %. Για το ρύζι, η παραγωγή απογόνων ήταν υψηλότερη από ότι στο σιτάρι, με εξαίρεση την περίπτωση του πλήρως ψεκασμένου ρυζιού. Επίσης, η μείωση του ποσοστού του ψεκασμένου ρυζιού οδήγησε στην αύξηση της παραγωγής απογόνων.

Για το *S. oryzae*, όπως παραπάνω, τόσο το δημητριακό όσο και η εφαρμογή του εντομοκτόνου, αλλά και η αλληλεπίδρασή τους ήταν σημαντική (Πίνακας 6). Η παραγωγή απογόνων ήταν υψηλή σε όλες τις περιπτώσεις (>20 ακμαία/φιαλίδιο), ενώ σημαντικά λιγότερα ακμαία βρέθηκαν στο πλήρως ψεκασμένο σιτάρι σε σύγκριση με το μάρτυρα. Για το ρύζι, ο αριθμός των ακμαίων που προέκυψε ήταν χαμηλότερος από ότι στο σιτάρι. Ταυτόχρονα, δεν υπήρχαν διαφορές στην παραγωγή απογόνων μεταξύ των φιαλιδίων που περιείχαν διαφορετικά ποσοστά ψεκασμένου ρυζιού.

**Πίνακας 6.** Ανάλυση διακύμανσης των απογόνων των ειδών που εξετάστηκαν, με παράγοντες την εφαρμογή του εντομοκτόνου συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα, το δημητριακό και τις αλληλεπιδράσεις, σε δημητριακά που περιείχαν διάφορα ποσοστά σπόρων στους οποίους είχε γίνει εφαρμογή του spinetoram (B.E σφάλματος = 132).

Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	<i>R. dominica</i>		<i>S. oryzae</i>	
		F	P	F	P
Εφαρμογή εντομοκτόνου	5	16.1	<0.01	3.4	<0.01
Δημητριακό	1	6.0	0.16	23.6	<0.01
Εφαρμογή εντομοκτόνου X Δημητριακό	5	1.2	0.31	3.4	<0.01

**Πίνακας 7.** Μέσος όρος απογόνων των *R. dominica* και *S. oryzae* (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο  $\pm$  Τ.Σ.) σε φιαλίδια που περιείχαν σιτάρι ή ρύζι με διάφορα ποσοστά ψεκασμένων με spinetoram σπόρων δημητριακού, με εύρος από 5 έως 100% (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, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Ποσοστό spinetoram	Είδος/ Απόγονοι			
	<i>R. dominica</i> (Σιτάρι)	<i>R. dominica</i> (Ρύζι)	<i>S. oryzae</i> (Σιτάρι)	<i>S. oryzae</i> (Ρύζι)
100%	0.42 $\pm$ 0.19b	0.17 $\pm$ 0.17c	9.17 $\pm$ 2.21b	15.58 $\pm$ 3.22
50%	0.17 $\pm$ 0.17b	1.08 $\pm$ 0.45c	20.92 $\pm$ 6.48ab	18.42 $\pm$ 3.38
25%	1.25 $\pm$ 0.39b	2.25 $\pm$ 0.84bc	41.50 $\pm$ 15.06ab	18.50 $\pm$ 3.01
10%	2.42 $\pm$ 0.63b	10.25 $\pm$ 3.65bc	60.08 $\pm$ 7.49a	18.33 $\pm$ 3.37
5%	6.25 $\pm$ 2.29b	23.25 $\pm$ 5.70ab	51.75 $\pm$ 13.76a	13.33 $\pm$ 2.14
Μάρτυρας	27.58 $\pm$ 9.30a	39.92 $\pm$ 10.68a	41.50 $\pm$ 8.52ab	17.00 $\pm$ 3.05

#### 4.4 Συζήτηση

Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η άνιση κατανομή του spinetoram μπορεί να επηρεάσει σοβαρά την αποτελεσματικότητά του, ενώ η τάση αυτή είναι παρόμοια τόσο στο σιτάρι, όσο και στο ρύζι. Αυτή η μειωμένη αποτελεσματικότητα ήταν εμφανής, σε διαφορετικά επίπεδα, και για τα δύο σενάρια που δοκιμάστηκαν: εφαρμογή σε στρώσεις και ποσοστιαία εφαρμογή. Η άνιση κατανομή των εντομοκτόνων σε όγκους δημητριακών είναι ένα συνηθισμένο φαινόμενο που είναι πιθανό να συμβεί, ακόμη και όταν χρησιμοποιούνται ψεκαστές υψηλής ακρίβειας. Σε επίπεδο εργαστηρίου, οι Athanassiou et al. (2011b) βρήκαν ότι η άνιση κατανομή του ρυθμιστή ανάπτυξης S-methoprene μείωσε την αποτελεσματικότητά του κατά του *R. dominica*. Για το ίδιο εντομοκτόνο και το ίδιο είδος, οι Daghli and Nayak (2010) σημείωσαν ότι αυτή η μείωση στην αποτελεσματικότητα επηρεάζεται από τη συγκέντρωση και την ποσότητα της μάζας του δημητριακού που ψεκάστηκε. Έμμεσα, μέσω της συνηθισμένης διαδικασίας εφαρμογής του εντομοκτόνου, ορισμένα τμήματα της μάζας των σπόρων μπορεί να λάβουν μεγαλύτερες δόσεις ενός συγκεκριμένου εντομοκτόνου από ότι άλλα μέρη, και αυτή η άνιση κατανομή μπορεί να επηρεάσει τελικά την αποτελεσματικότητά του (Athanassiou et al., 2009a; Daghli and Nayak, 2010). Για το spinosad, οι Daghli and Nayak (2006) διαπίστωσαν ότι μετά τον ψεκασμό, το πραγματικό υπόλειμμα του εντομοκτόνου ήταν 12-36%



λιγότερο από την αρχική εφαρμογή. Ομοίως, οι Subramanyam et al. (2007) βρήκαν ότι αμέσως μετά την εφαρμογή, το πραγματικό υπόλειμμα του spinosad + chlorpyrifos-methyl ήταν περίπου 30% λιγότερο σε σχέση με την συγκέντρωση που είχε υπολογιστεί αρχικά κατά την εφαρμογή. Όλες αυτές οι έρευνες τεκμηριώνουν ότι, τουλάχιστον στην περίπτωση ορισμένων εντομοκτόνων, το επιθυμητό ποσοστό εφαρμογής δεν επιτυγχάνεται σε ολόκληρη τη μάζα των δημητριακών, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει την ύπαρξη εστιών προσβολής μέσα στη μάζα του δημητριακού.

Στην παρούσα μελέτη, για τη θνησιμότητα του *R. dominica*, παρατηρήθηκε ότι όταν τα έντομα εισήχθησαν πριν από τα δημητριακά, στα φιαλίδια που περιείχαν ψεκασμένο δημητριακό που κάλυπτε το ανώτερο ένα όγδοο, η θνησιμότητα ήταν 54 και 73% για το σιτάρι και το ρύζι, αντίστοιχα. Οι Athanassiou et al. (2009a), ακολουθώντας το ίδιο πρωτόκολλο με μερικώς ψεκασμένο σιτάρι με spinosad, σημείωσαν ότι όταν ακμαία του *R. dominica* ήταν ήδη στο φιαλίδιο πριν από την εισαγωγή των σπόρων, η θνησιμότητα με εφαρμογή εντομοκτόνου σε στρώσεις δεν υπερέβη το 19%, ανεξάρτητα από το μέγεθος της στρώσης αυτής. Αυτό δείχνει ότι το spinetoram, όταν εφαρμόζεται με ψεκασμό στρώσης επιφανείας, είναι πιο αποτελεσματικό από το spinosad ενάντια στο *R. dominica*. Ωστόσο, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η θνησιμότητα του *R. dominica* ήταν υψηλή, ακόμη και όταν τα ακμαία ήταν στο κάτω μέρος του φιαλιδίου. Το γεγονός αυτό, πιθανόν να υποδηλώνει μερική ανοδική κίνηση των ακμαίων. Για το S-methoprene, οι Daghli and Nayak (2010) διαπίστωσαν επίσης ότι, υπό ορισμένες συγκεντρώσεις, για ορισμένα είδη κολεοπτέρων αποθηκών, η άνιση κατανομή του εντομοκτόνου ήταν εξίσου αποτελεσματική με την εφαρμογή σε ολόκληρη τη μάζα του δημητριακού, κατά του *R. dominica*. Οι Athanassiou et al. (2011b) διαπίστωσαν ότι η μερική εφαρμογή με S-methoprene στο σιτάρι και το ρύζι ήταν λιγότερο αποτελεσματική από την εφαρμογή σε ολόκληρη την μάζα των σπόρων κατά του *R. dominica*.

Η παραγωγή απογόνων δεν αποφεύχθηκε πλήρως σε όλες τις περιπτώσεις. Οι Vardeman et al. (2007) ανέφεραν ότι τα ακμαία του *R. dominica* μπορούσαν να διεισδύσουν σε βαθύτερα στρώματα δημητριακών μέσω μιας στρώσης προϊόντος όπου είχε εφαρμοστεί γη διατόμων (DE) και να παράγουν απογόνους στο μη

ψεκασμένο τμήμα του δημητριακού. Οι Athanassiou et al. (2009a) αναφέρουν ότι είναι πιθανόν τα ακμαία του είδους αυτού να παρουσιάζουν μειωμένο αρνητικό γεωτροπισμό (negative geotaxis), γεγονός που περιορίσει την επαφή των ακμαίων που βρίσκονταν στο κατώτερο μέρος της στήλης του προϊόντος με τα ανώτερα, ψεκασμένα, στρώματα.

Η αποτελεσματικότητα του spinetoram κατά του *S. oryzae* επηρεάστηκε ιδιαίτερα από το μέγεθος της ψεκασμένης στρώσης. Έτσι, η αύξηση της στρώσης (του ύψους της στρώσης) οδήγησε σε σημαντική αύξηση της θνησιμότητας, ενώ ταυτόχρονα μείωσε και την παραγωγή απογόνων. Γενικότερα, η θνησιμότητα ήταν υψηλή μόνο στο πλήρως ψεκασμένο σιτάρι, ενώ για το σιτάρι που ήταν μερικώς ψεκασμένο σε στρώσεις κυμάνθηκε μεταξύ 32 και 72%. Στο ρύζι, η θνησιμότητα ήταν σημαντικά χαμηλότερη από ότι στο σιτάρι, το οποίο υποδηλώνει ότι το spinetoram ήταν λιγότερο αποτελεσματικό στο ρύζι απ' ότι στο σιτάρι. Οι Athanassiou et al. (2008b) βρήκαν επίσης ότι το spinosad ήταν, για το *S. oryzae*, λιγότερο αποτελεσματικό ρύζι απ' ότι στο σιτάρι. Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης συμφωνούν με τις παραπάνω παρατηρήσεις. Πρακτικά, σε αντίθεση με την επίδραση του δημητριακού, ο τρόπος τοποθέτησης των εντόμων δεν είχε καμία επίδραση στη θνησιμότητα, γεγονός που υποδηλώνει σαφώς ότι τα ακμαία του *S. oryzae* εμφανίζουν αξιοσημείωτο αρνητικό γεωτροπισμό. Για τα ακμαία του *S. granarius*, ο Surtees (1964) έδειξε ότι υπήρξε μια ανοδική κίνηση του εντόμου σε σωρούς σιταριού, κάτω από εργαστηριακές συνθήκες. Σε γενικές γραμμές, η παρουσία μη ψεκασμένων στρώσεων του δημητριακού επηρέασε τη θνησιμότητα του *S. oryzae*. Ως εκ τούτου, η εφαρμογή του spinetoram ως "top-dressing", φαίνεται να μην έχει αποτελεσματικότητα κατά του *S. oryzae*. Παρόλα αυτά, στη μελέτη μας, εξετάσαμε το σιτάρι και το ρύζι σε στήλες που περιορίζονται σε ένα μικρό φιαλίδιο, και τα αποτελέσματα που ελήφθησαν εδώ μπορεί να μην είναι αντιπροσωπευτικά για την εντομοκτόνο δράση των σπινোসινών σε μεγάλους όγκους δημητριακού υπό πραγματικές συνθήκες.

Από τα είδη που εξετάστηκαν, το *T. confusum* ήταν μακράν το λιγότερο ευαίσθητο στο spinetoram, δεδομένου του ότι η θνησιμότητά του δεν υπερέβη το 35%. Ταυτόχρονα, το μέγεθος της στρώσης και το είδος του δημητριακού δεν είχε καμία επίδραση στη θνησιμότητα του *T. confusum*, συγκριτικά με τα επίπεδα

θνησιμότητας στο πλήρως ψεκασμένο σιτάρι και ρύζι. Προηγούμενες μελέτες με spinosad έδειξαν ότι τα *T. confusum* και *T. castaneum* είναι τα λιγότερο ευαίσθητα είδη εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων (Fang et al, 2002a; Vayias et al., 2008). Τα αποτελέσματα μας για το spinetoram βρίσκονται σε συμφωνία με τις μελέτες αυτές. Ως εκ τούτου, ούτε το spinosad ούτε το spinetoram είναι σε θέση να ελέγξουν το *T. confusum*, τουλάχιστον κατά το στάδιο του ακμαίου.

Όπως σημειώνεται παραπάνω, το μείγμα ψεκασμένων και μη ψεκασμένων ποσοτήτων δημητριακών είναι ένα πιο ρεαλιστικό σενάριο από ότι το σενάριο με τις ψεκασμένες στρώσεις. Παραδόξως, ακόμη και η παρουσία του spinetoram σε ποσοστό 5% επί της μάζα του σιταριού ήταν εξίσου αποτελεσματική με τον ψεκασμό ολόκληρης της μάζας του εναντίον των ακμαίων του *R. dominica*. Οι Athanassiou et al. (2009a) βρήκαν ότι τα ακμαία του *R. dominica* ήταν νεκρά, ακόμη και μετά από μια σύντομη έκθεση σε spinosad. Για το chlorpyrifos-methyl, ο Arthur (1992) βρήκε ότι η ανάμιξη ψεκασμένου και μη ψεκασμένου αραβόσιτου, ήταν, σε ορισμένες περιπτώσεις, εξίσου αποτελεσματική για το *Sitophilus zeamais* Motschulsky (Coleoptera: Curculionidae) και *T. castaneum*, σε σύγκριση με την εφαρμογή σε ολόκληρη τη μάζα των σπόρων. Στις δοκιμές μας, η θνησιμότητα του *R. dominica* στα μείγματα ψεκασμένου και μη ψεκασμένου ρυζιού ήταν χαμηλότερη από τις αντίστοιχες ποσότητες στο σιτάρι, ειδικά στην περίπτωση του διαστήματος έκθεσης των 7 ημερών. Η θνησιμότητα στο ρύζι μετά από 14 ημέρες έκθεσης ήταν 99-100% για το ρύζι το οποίο περιείχε ποσοστό ψεκασμένων σπόρων με spinetoram της τάξης των 10, 25, 50 και 100%, ενώ στην περίπτωση του 5% η θνησιμότητα ήταν 82%. Το γεγονός αυτό αποτελεί πρόσθετη ένδειξη ότι οι σπινοσίνες είναι πιο αποτελεσματικές στο σιτάρι απ' ότι στο ρύζι. Έτσι, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι, για το *R. dominica*, το "κρίσιμο" ποσοστό των ψεκασμένων με spinetoram σπόρων είναι 5 και 10%, για το σιτάρι και το ρύζι, αντίστοιχα. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι, οποιεσδήποτε διαφορές στην θνησιμότητα των ακμαίων δεν εκφράστηκαν με αξιοσημείωτες διαφορές στις μετρήσεις της παραγωγής απογόνων. Κατά τη διάρκεια των μετρήσεων θνησιμότητας, παρατηρήθηκε ότι τα περισσότερα από τα εκτεθειμένα ακμαία του *R. dominica* ακινητοποιήθηκαν σχετικά άμεσα μετά την επαφή τους με την ψεκασμένη επιφάνεια, που πιθανό να είναι και ο κύριος λόγος για τη μειωμένη παραγωγή απογόνων. Τα αποτελέσματα της παρούσης εργασίας δείχνουν ότι ακόμη και μια

ελάχιστη επαφή του *R. dominica* με το spinetoram, μπορεί να προκαλέσει εξαιρετικά υψηλή θνησιμότητα των ακμαίων. Σε σύγκριση με την προσέγγιση της εφαρμογής σε στρώσεις, οι ποσότητες που ψεκάστηκαν εδώ ήταν χαμηλότερες. Έτσι, εκτιμάται ότι, για το *R. dominica*, η ανάμιξη ψεκασμένων ποσοτήτων του spinetoram είναι πολύ πιο αποτελεσματική από την εφαρμογή των ποσοτήτων αυτών σε στρώσεις. Ο Arthur (1992) κατέληξε επίσης στο συμπέρασμα ότι η ανάμιξη ποσοτήτων αραβοσίτου ψεκασμένων με chlorpyrifos-methyl με απέκαστες ποσότητες αραβοσίτου ήταν προτιμότερη από τη χρήση ψεκασμένων στρώσεων του ίδιου εντομοκτόνου, κατά των *S. zeamais* και *T. castaneum*. Συνολικά, ψεκασμένες ποσότητες σε ποσοστά 5-10% της συνολικής μάζας του δημητριακού, πρέπει να θεωρούνται εξαιρετικά χαμηλές, σε σύγκριση με άλλα εντομοκτόνα. Για παράδειγμα, ο Arthur (1992) σημείωσε ότι μια αναλογία 2:3 ψεκασμένου προς μη ψεκασμένου με chlorpyrifos-methyl αραβοσίτου, παρέχει μια μακροχρόνια προστασία εναντίον των *S. zeamais* και *T. castaneum*. Οι Athanassiou et al. (2011b) για το S-methoprene στο σιτάρι και το ρύζι, ανέφεραν ότι η παρουσία ψεκασμένων και μη ποσοτήτων ήταν λιγότερο αποτελεσματική εναντίον του *R. dominica*, σε σύγκριση με την εφαρμογή του σε όλη την μάζα του δημητριακού. Επίσης, οι Darglish and Nayak (2010) διαπίστωσαν ότι όταν στο σιτάρι εφαρμόστηκαν χαμηλές δόσεις του S-methoprene, η παραγωγή απογόνων του *R. dominica* ήταν υψηλότερη στα φιαλίδια που περιείχαν ψεκασμένους και μη ψεκασμένους σπόρους σε αναλογία 1:1 σε σύγκριση με το πλήρως ψεκασμένο σιτάρι.

Για το *S. oryzae*, στο σιτάρι, μόνο ορισμένα από τα μείγματα ήταν εξίσου αποτελεσματικά με τον ψεκασμό όλης της μάζας του δημητριακού. Λαμβάνοντας υπ' όψιν και τα δύο διαστήματα της έκθεσης, μπορούμε να συμπεράνουμε ότι το "κρίσιμο" ποσοστό είναι 50%, το οποίο είναι κατά πολύ υψηλότερο από το 5% που έχει προταθεί για το *R. dominica*. Ωστόσο, ακόμη και στο χαμηλότερο ποσοστό ψεκασμένων σπόρων (5%), η θνησιμότητα στο σιτάρι των ακμαίων του *S. oryzae* έφτασε περίπου στο 50%, μετά από 14 ημέρες έκθεσης. Αυτό δείχνει ότι αυτή η ελάχιστη παρουσία του spinetoram στο σιτάρι είχε κάποιες θανατηφόρες συνέπειες για τα ακμαία του *S. oryzae*. Η θνησιμότητα στο ρύζι ήταν χαμηλότερη από εκείνη στο σιτάρι, και με βάση τα αποτελέσματά μας, το 50% μπορεί να θεωρηθεί ως το "κρίσιμο" επίπεδο, δεδομένου ότι αυτή ήταν η μόνη εφαρμογή μείγματος, η οποία

ήταν συγκρίσιμη με αυτή του πλήρως ψεκασμένου ρυζιού. Από την άλλη μεριά, για το σιτάρι, η μείωση του ποσοστού ψεκασμένου σπόρου αύξησε σημαντικά την παραγωγή απογόνων, γεγονός που σημαίνει ότι το *S. oryzae* μπορεί να συνεχίσει την προσβολή στους σπόρους σε αυτή τη μερική εφαρμογή. Θα πρέπει να σημειωθεί ότι η μίξη ψεκασμένων και μη ψεκασμένων ποσοτήτων, σε εργαστηριακές συνθήκες, μπορούν να επιτύχουν ίση κατανομή του ψεκασμένου δημητριακού σε ολόκληρη την μάζα των σπόρων, αλλά αυτή η ίση κατανομή μπορεί να μην είναι πρακτικά εφικτή σε περίπτωση μεγάλων όγκων δημητριακών σε πειράματα πεδίου. Ως αποτέλεσμα αυτού, υπό συνθήκες πεδίου, οι μη ψεκασμένες ποσότητες μπορεί να είναι αρκετά μεγάλες, και να επιτρέπουν την ταχεία ανάπτυξη των εντόμων και τη συνέχιση της προσβολής. Περαιτέρω έρευνα χρειάζεται προκειμένου να διερευνηθεί η τεχνική μίξης που θα εξασφαλίζει την ίση κατανομή της ψεκασμένης ποσότητας στα χύδην σιτηρά.

Στη σειρά αυτή πειραμάτων εκτιμήθηκε το spinetoram ακολουθώντας δύο σενάρια άνισης κατανομής του εντομοκτόνου στη μάζα του δημητριακού. Τα συνολικά αποτελέσματα έδειξαν ότι το spinetoram είναι πολύ αποτελεσματικό κατά του *R. dominica*, μετρίως αποτελεσματικό κατά του *S. oryzae*, ενώ δεν είναι πολύ αποτελεσματικό κατά του *T. confusum*. Την ίδια στιγμή, η άνιση εφαρμογή του spinetoram μπορεί, υπό ορισμένες συνθήκες, να παρέχει ένα ικανοποιητικό επίπεδο ελέγχου για το *R. dominica*. Παρ' όλα αυτά, ένα από τα βασικά μειονεκτήματα της άνισης κατανομής είναι η έμμεση επιλογή για ανάπτυξη ανθεκτικότητας, που αποτελεί μια σημαντική μεταβλητή που χρήζει περαιτέρω διερεύνησης (Daglish and Nayak, 2010).

## 5. Επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα του spinetoram για τα είδη *Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica* και *Tribolium confusum*

### 5.1 Εισαγωγή

Στο οικοσύστημα των αποθηκευμένων προϊόντων, από τους αβιοτικούς παράγοντες του περιβάλλοντος, πρώτα η θερμοκρασία και στη συνέχεια η υγρασία και η σύνθεση των αερίων είναι οι πιο σημαντικοί παράγοντες για την ανάπτυξη των εντόμων (Hagstrum and Milliken, 1988; Muir, 2000). Η αλληλεπίδραση των εντομοκτόνων με τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία, έχει μελετηθεί εκτενώς με συχνά αντιφατικά αποτελέσματα (Arthur, 1999; 2000a; Fields and Korunic, 2000; Fang and Subramanyam, 2003). Η τοξικότητα των περισσότερων οργανοφωσφορικών (OP) εντομοκτόνων αυξάνει με την αύξηση της θερμοκρασίας, ενώ το αντίθετο θεωρείται ότι λαμβάνει χώρα για τα πυρεθροειδή (Johnson, 1990). Οι αντιφατικές αναφορές για τις επιδράσεις της θερμοκρασίας έχουν καταγραφεί και για τα καρβαμιδικά (Snelson, 1987). Θετική επίδραση της θερμοκρασίας έχει αναφερθεί για την αποτελεσματικότητα της φωσφίνης (Nayak and Collins, 2008). Το spinosad είναι μία από τις πιο νέες δραστικές ουσίες για την προστασία των αποθηκευμένων δημητριακών (Thompson et al., 2000). Το spinosad μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά σε ανθεκτικούς στα OPs και πυρεθροειδή πληθυσμούς αρκετών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων (Daglish, 2008). Επίσης, σε σύγκριση με τα OP και τα πυρεθροειδή, οι Pozidi-Metaxa and Athanassiou (2012), ανέφεραν ότι το spinosad ήταν πιο αποτελεσματικό από ότι το chlorpyrifos-methyl και εξίσου αποτελεσματικό με τις δραστικές ουσίες deltamethrin και pirimiphos-methyl κατά του *P. truncatus*. Η επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα του spinosad έχει εξεταστεί από τους Athanassiou et al. (2008a). Οι συγγραφείς εργάστηκαν με τέσσερα είδη κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων, και ανέφεραν θετική συσχέτιση της θερμοκρασίας με τη θνησιμότητα των ακμαίων στα περισσότερα από τα είδη που ελέγχθηκαν.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των προηγούμενων πειραματικών ενοτήτων το spinetoram, ένα νέο μέλος της οικογένειας των σπινωσινών, δοκιμάστηκε και

αποδείχθηκε αποτελεσματικό κατά πολλών ειδών κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων. Το spinetoram έχει τον ίδιο τρόπο δράσης με το spinosad, δρα δηλαδή στο νευρικό σύστημα των εντόμων σε μια μοναδική θέση του νικοτινικού υποδοχέα της ακετυλοχολίνης μέσω της επαφής ή κατάποσης (Dripps et al., 2011). Επίσης, το spinetoram θεωρείται ότι είναι πιο αποτελεσματικό από ότι το spinosad (Dripps et al., 2008; Sparks et al., 2008).

Στην παρούσα ενότητα, μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στην αποτελεσματικότητα του spinetoram εναντίον τριών εκ' των κυριότερων ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων παγκοσμίως, το *R. dominica*, το *S. oryzae* και το *T. confusum*.

## 5.2 Υλικά και Μέθοδοι

### 5.2.1 Έντομα και Υποστρώματα βιοδοκιμών

Σε αυτή τη σειρά βιοδοκιμών, χρησιμοποιήθηκαν ακμαία των ειδών *S. oryzae*, *R. dominica* και *T. confusum*. Η εκτροφή τους έγινε όπως αναφέρετε στην αρχή της Ενότητας Β. Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκε μη ψεκασμένο και χωρίς έντομα σκληρό σιτάρι (ποικιλία Simeto), με περιεκτικότητα σε υγρασία 13.5%, όπως μετρήθηκε από έναν μετρητή υγρασίας (Multitest, Gode co., France).

### 5.2.2 Εφαρμογή του spinetoram

Το spinetoram χρησιμοποιήθηκε σε μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος SC [11.7% δραστική ουσία (δ.ο.), που διατέθηκε από την Dow AgroSciences, UK]. Ποσότητες 1.5 κιλού δημητριακού ψεκάστηκαν με spinetoram σε συγκεντρώσεις 0.1, 0.5 και 1 ppm (που αντιστοιχούν σε 0.1, 0.5 και 1 mg δ.ο./kg σιταριού, αντίστοιχα), χρησιμοποιώντας ως δόση εφαρμογής το 1 ml ψεκαστικού υγρού ανά kg δημητριακού (1.5 ml διαλύματος spinetoram ανά 1.5 kg σιταριού). Ο ψεκασμός πραγματοποιήθηκε με καλλιτεχνικό αερογράφο (Mecafer AG4, Mecafer Co., France). Για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου στα δημητριακά, ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε στην υποενότητα 2.2.2 της Ενότητας Β. Επιπλέον

ποσότητες σιταριού βάρους 1.5 kg ψεκάστηκαν με απιονισμένο νερό και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες.

### 5.2.3 Βιοδοκιμές

Οι βιοδοκιμές διεξήχθησαν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών, που ρυθμίστηκαν σε όλους τους συνδυασμούς τριών επιπέδων θερμοκρασίας (20, 25 και 30 °C) και δύο επιπέδων σχετικής υγρασίας (55 και 75%), που αντιστοιχούν σε έξι συνδυασμούς συνολικά. Για κάθε συνδυασμό θερμοκρασίας-σχετικής υγρασίας-συγκέντρωσης-είδους εντόμου, χρησιμοποιήθηκαν τρία πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (διαμέτρου 3 cm, ύψους 8 cm). Κάθε φιαλίδιο πληρώθηκε με 20 g ψεκασμένου δημητριακού ή το μάρτυρα και είκοσι ακμαία κάθε είδους τοποθετήθηκαν σε κάθε φιαλίδιο, με ξεχωριστά φιαλίδια για κάθε είδος. Τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν στη συνέχεια σε ξεχωριστούς θαλάμους στις συνθήκες που αναφέρθηκαν παραπάνω, και σε συνεχές σκοτάδι. Επιπλέον, όλα τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε πλαστικά δοχεία, με κορεσμένα διαλύματα άλατος στον πυθμένα κάθε δοχείου, ώστε να διατηρηθεί η σχετική υγρασία στο επιθυμητό επίπεδο (Greenspan, 1977). Η σχετική υγρασία στα πλαστικά δοχεία παρακολουθούνταν συνεχώς με καταγραφείς δεδομένων θερμοκρασίας/υγρασίας (H08-003-02 HOBO, Onset Co, USA). Η θνησιμότητα των εκτεθειμένων ακμαίων μετρήθηκε μετά από 7, 14 και 21 ημέρες. Μετά από την 21<sup>η</sup> ημέρα των μετρήσεων θνησιμότητας, για το *R. dominica* και *S. oryzae*, όλα τα ακμαία (νεκρά και ζωντανά) αφαιρέθηκαν και τα φιαλίδια επανατοποθετήθηκαν στις ίδιες συνθήκες. Εξήντα πέντε ημέρες αργότερα, τα φιαλίδια εξετάστηκαν για την παραγωγή απογόνων. Αυτό δεν έγινε για το *T. confusum*, δεδομένου ότι οι απόγονοι αυτού του είδους δεν μπορούν να αναπτυχθούν εύκολα σε ολόκληρους σπόρους δημητριακού (Aitken, 1975). Η όλη διαδικασία επαναλήφθηκε τρεις φορές (επαναλήψεις), με παρασκευή νέων ποσοτήτων κάθε φορά.

### 5.2.4 Ανάλυση δεδομένων

Η θνησιμότητα του μάρτυρα ήταν χαμηλή, οπότε δεν θεωρήθηκε καμία διόρθωση απαραίτητη. Η θνησιμότητα των ακμαίων αναλύθηκε χωριστά για κάθε είδος με πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις



(repeated-measures MANOVA) με βάση τον έλεγχο Wilk's lambda του λογισμικού JMP 7 (Sall et al., 2001), με τη συγκέντρωση, τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία ως κύριες επιδράσεις, και την θνησιμότητα στο χρόνο, ως επαναλαμβανόμενη μεταβλητή. Για την παραγωγή απογόνων, πραγματοποιήθηκε ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (three-way ANOVA), χρησιμοποιώντας το ίδιο λογισμικό, με τον αριθμό των απογόνων ως την εξαρτημένη μεταβλητή και τη συγκέντρωση, τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία ως κύριες επιδράσεις. Σε αυτήν την περίπτωση, ο αριθμός των απογόνων στα φιαλίδια του μάρτυρα συμπεριελήφθη στην ανάλυση. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το Tukey-Kramer HSD test σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 (Sokal και Rohlf, 1995).

### **5.3 Αποτελέσματα**

#### **5.3.1 Θνησιμότητα του *R. dominica***

Από τις κύριες επιδράσεις και τις αλληλεπιδράσεις τους μόνο η θερμοκρασία, η συγκέντρωση του εντομοκτόνου και η αλληλεπίδραση τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 1). Το *R. dominica* ήταν ιδιαίτερα ευαίσθητο σε όλες τις συγκεντρώσεις του spinetoram, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας (Πίνακας 2). Μετά από 21 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα των ακμαίων ήταν 100% σε όλες τις θερμοκρασίες και συγκεντρώσεις σε σχετική υγρασία 55%. Παρόμοια επίπεδα θνησιμότητας, για το ίδιο χρονικό διάστημα έκθεσης, καταγράφηκαν επίσης σε σχετική υγρασία 75%, με εξαίρεση τους 20 °C, όπου η θνησιμότητα ήταν 98%. Σε μικρότερα διαστήματα έκθεσης, με ορισμένες εξαιρέσεις, δεν υπήρξαν διαφορές στη θνησιμότητα μεταξύ των επιπέδων της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας που εξετάστηκαν.

**Πίνακας 1.** Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας για όλα τα είδη που εξετάστηκαν με παράγοντες την συγκέντρωση, την θερμοκρασία και την σχετική υγρασία (B.E. σφάλματος = 144).

	B.E.	<i>R. dominica</i>		<i>S. oryzae</i>		<i>T. confusum</i>	
		F	P	F	P	F	P
Μεταξύ των μεταβλητών	17	3.9	<0.01	21.0	<0.01	1.6	0.07
Τιμή αποκοπής	1	211357.0	<0.01	9213.6	<0.01	191.7	<0.01
Συγκέντρωση (Συγκ.)	2	4.2	0.02	113.7	<0.01	2.1	0.13
Θερμοκρασία (Θερμ.)	2	17.0	<0.01	29.7	<0.01	7.7	<0.01
Σχετική υγρασία (Σ.Υ.)	1	3.2	0.08	14.4	<0.01	1.4	0.23
Συγκ. X Θερμ.	4	3.4	0.01	7.1	<0.01	0.4	0.80
Συγκ. X Σ.Υ.	2	0.6	0.53	9.6	<0.01	0.8	0.46
Θερμ. X Σ.Υ.	2	1.2	0.30	1.5	0.23	1.1	0.33
Συγκ. X Θερμ. X Σ.Υ.	4	0.8	0.52	1.5	0.22	0.2	0.92
Εντός των μεταβλητών	34	2.1	<0.01	7.0	<0.01	2.9	<0.01
Χρόνος	2	92.4	<0.01	171.2	<0.01	119.8	<0.01
Χρόνος X Συγκ.	4	2.8	0.03	32.1	<0.01	7.4	<0.01
Χρόνος X Θερμ.	4	7.1	<0.01	12.2	<0.01	5.5	<0.01
Χρόνος X Σ.Υ.	2	1.1	0.35	3.4	0.04	6.4	<0.01
Χρόνος X Συγκ. X Θερμ.	8	2.2	0.03	3.2	<0.01	0.7	0.65
Χρόνος X Συγκ. X Σ.Υ.	4	0.3	0.87	3.8	<0.01	4.2	<0.01
Χρόνος X Θερμ. X Σ.Υ.	4	0.4	0.83	2.6	0.03	0.9	0.48
Χρόνος X Συγκ. X Θερμ. X Σ.Υ.	8	1.3	0.26	0.7	0.73	1.2	0.27

**Πίνακας 2.** Μέσος όρος (%  $\pm$  Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *R. dominica* μετά την έκθεσή τους σε τρεις συγκεντρώσεις του spinetoram σε 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).

		Συνδυασμός Θερμοκρασίας / Σ.Υ.					
		55% Σ.Υ.			75% Σ.Υ.		
		20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
7 ημ.	0.1 ppm	90.6 $\pm$ 2.7	95.1 $\pm$ 2.0	95.7 $\pm$ 1.7	83.4 $\pm$ 2.5b	95.0 $\pm$ 1.7a	97.8 $\pm$ 1.2a
	0.5 ppm	88.9 $\pm$ 2.6b	95.5 $\pm$ 1.6ab	97.8 $\pm$ 1.2a	88.9 $\pm$ 2.3	91.7 $\pm$ 2.0	94.0 $\pm$ 1.6
	1ppm	96.1 $\pm$ 1.1	95.0 $\pm$ 2.5	97.2 $\pm$ 1.9	94.9 $\pm$ 1.2	95.0 $\pm$ 2.2	97.8 $\pm$ 1.2
14 ημ.	0.1ppm	96.7 $\pm$ 2.2	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	96.1 $\pm$ 1.4b	99.4 $\pm$ 0.6a	100.0 $\pm$ 0.0a
	0.5ppm	98.3 $\pm$ 1.2	98.9 $\pm$ 1.1	100.0 $\pm$ 0.0	97.2 $\pm$ 1.7	97.8 $\pm$ 0.9	100.0 $\pm$ 0.0
	1ppm	99.4 $\pm$ 0.6	99.4 $\pm$ 0.6	98.9 $\pm$ 1.1	98.9 $\pm$ 0.7	99.4 $\pm$ 0.6	100.0 $\pm$ 0.0
21 ημ.	0.1ppm	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	98.3 $\pm$ 1.2	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
	0.5ppm	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	98.3 $\pm$ 1.7	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
	1ppm	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	99.4 $\pm$ 0.6	99.4 $\pm$ 0.6	100.0 $\pm$ 0.0

### 5.3.2 Θνησιμότητα του *S. oryzae*

Όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις ήταν σημαντικές, με ορισμένες εξαιρέσεις (Πίνακας 1). Το spinetoram ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματικό στις συγκεντρώσεις των 0.5 και 1 ppm, ενώ η θνησιμότητα ήταν 100% στο 1 ppm σε όλους τους συνδυασμούς θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας, μετά από 21 ημέρες έκθεσης (Πίνακας 3). Σε σχετική υγρασία 55% και στους 25 και 30 °C στα 0.5 ppm, παρατηρήθηκε 100% θνησιμότητα, ενώ η θνησιμότητα στους άλλους συνδυασμούς ήταν >91%. Σημαντικές διαφορές μεταξύ των θερμοκρασιών σημειώθηκαν στα 0.1 ppm σε όλα τα διαστήματα έκθεσης και στα δύο επίπεδα σχετικής υγρασίας. Για τις άλλες συγκεντρώσεις, η θνησιμότητα ήταν σημαντικά διαφορετική μεταξύ των θερμοκρασιών σε σχετική υγρασία 55% και μόνο μετά από 7 ημέρες έκθεσης. Σε γενικές γραμμές, για το είδος αυτό, η θνησιμότητα αυξήθηκε με την αύξηση της θερμοκρασίας. Στα 0.1 ppm και 55% Σ.Υ., η θνησιμότητα στους 20 °C ήταν σημαντικά χαμηλότερη από ότι στους 25 και 30 °C. Σε σχετική υγρασία 75% και συγκέντρωση 0.1 ppm, η θνησιμότητα στους 30 °C ήταν σημαντικά υψηλότερη από τις άλλες θερμοκρασίες. Διαφορές μεταξύ των επιπέδων σχετικής υγρασίας

καταγράφηκαν μόνο σε 0.1 ppm και στους 25 και 30 °C (Πίνακας 3). Στη δόση αυτή, η θνησιμότητα ήταν σημαντικά υψηλότερη σε 55% Σ.Υ. από ότι στο 75%, τόσο στους 25 όσο και τους και 30 °C.

**Πίνακας 3.** Μέσος όρος (% ± Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *S. oryzae* μετά την έκθεσή τους σε τρεις συγκεντρώσεις του spinetoram σε 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, οι Μ.Ο. μεταξύ των επιπέδων 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 σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

		Συνδυασμός Θερμοκρασίας / Σ.Υ.					
		55% Σ.Υ.			75% Σ.Υ.		
		20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
7 ημ.	0.1ppm	29.7±6.4c	59.4±4.7Ab	78.6±3.3Aa	32.2±6.6b	31.1±5.3Bb	63.2±6.3Ba
	0.5ppm	73.1±8.0b	88.3±5.5ab	99.4±0.6a	74.9±9.7	89.4±4.0	92.2±4.0
	1ppm	84.7±4.3b	98.3±1.7a	100.0±0.0a	86.7±5.1	93.8±3.0	97.8±1.2
14 ημ.	0.1ppm	62.0±9.6b	87.8±3.6Aa	96.7±1.7Aa	47.9±6.6b	52.2±5.8Bb	79.4±6.6Ba
	0.5ppm	91.3±6.9	98.9±0.7	100.0±0.0	86.6±6.2	97.2±1.5	97.2±1.7
	1ppm	98.4±1.1	100.0±0.0	100.0±0.0	98.3±1.2	100.0±0.0	100.0±0.0
21ημ.	0.1ppm	73.5±6.9b	96.7±1.7Aa	98.3±0.8Aa	61.2±5.8b	71.1±6.1Bab	83.8±5.3Ba
	0.5ppm	96.9±2.5	100.0±0.0	100.0±0.0	91.0±4.4	99.4±0.6	98.3±1.2
	1ppm	100.0±0.0	100.0±0.0	100.0±0.0	99.4±0.6	100.0±0.0	100.0±0.0

### 5.3.3 Θνησιμότητα του *T. confusum*

Για το είδος αυτό, μόνο η θερμοκρασία ήταν σημαντική (Πίνακας 1). Επιπλέον, σημαντικές διαφορές μεταξύ των επιπέδων θερμοκρασίας καταγράφηκαν μόνο στο 0.1 ppm και 55% Σ.Υ. (Πίνακας 4). Σε γενικές γραμμές, το spinetoram δεν ήταν αποτελεσματικό κατά των ακμαίων του *T. confusum* σε όλες τις συγκεντρώσεις και τις συνθήκες, δεδομένου ότι η θνησιμότητα των ακμαίων δεν ξεπέρασε το 48%.

**Πίνακας 4.** Μέσος όρος (% ± Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *T. confusum* μετά την έκθεσή τους σε τρεις συγκεντρώσεις του spinetoram σε 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, οι Μ.Ο. μεταξύ των επιπέδων 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 σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

		Συνδυασμός Θερμοκρασίας / Σ.Υ.					
		55% Σ.Υ.			75% Σ.Υ.		
		20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
7 ημ.	0.1ppm	2.2±1.2	20.6±8.2	11.1±4.5	4.3±2.5	12.0±6.6	11.7±4.0
	0.5ppm	2.8±1.2	15.7±6.2	13.9±4.8	7.8±3.4	11.7±4.1	15.1±4.6
	1ppm	7.2±2.4	20.6±8.3	14.4±3.2	9.5±4.3	16.7±6.1	13.9±4.3
14 ημ.	0.1ppm	4.4±1.5b	29.4±8.3a	22.8±7.7ab	6.4±4.1	17.5±6.8	25.6±8.0
	0.5ppm	7.8±2.1	23.5±8.5	29.0±8.1	15.6±5.9	19.5±4.7	26.8±5.4
	1ppm	16.7±5.3	32.8±10.7	32.2±6.0	15.7±5.6	23.4±7.2	20.0±4.2
21 ημ.	0.1ppm	7.8±3.1	32.8±8.8	27.8±9.2	10.3±4.9	21.4±7.5	27.2±8.7
	0.5ppm	13.5±3.4	28.1±8.7	29.5±8.5	21.1±7.1	21.1±4.7	29.1±6.7
	1ppm	32.0±6.7	41.1±11.0	47.8±4.0A	23.0±6.2	29.0±6.0	21.7±4.6B

### 5.3.4 Παραγωγή απογόνων

Από τις κύριες επιδράσεις, η συγκέντρωση, η θερμοκρασία και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές και για τα δύο είδη που ελέγχθηκαν, με εξαίρεση την αλληλεπίδραση συγκέντρωση X θερμοκρασία X σχετική υγρασία για το *S. oryzae* (Πίνακας 5). Για το *R. dominica*, και στα δύο επίπεδα Σ.Υ. η αύξηση της θερμοκρασίας προκάλεσε αυξημένη παραγωγή απογόνων (Πίνακας 6). Σημαντικές διαφορές καταγράφηκαν μεταξύ των θερμοκρασιών και στα δύο επίπεδα Σ.Υ. σε συγκεντρώσεις  $\leq 0.5$  ppm, ενώ η υψηλότερη παραγωγή απογόνων καταγράφηκε στους 30 °C. Για παράδειγμα, στο 0.1 ppm και σε 55% Σ.Υ., οι απόγονοι ήταν 0.1, 3.4 και 10.6 ακμαία ανά φιαλίδιο στους 20, 25 και 30 °C, αντίστοιχα. Διαφορές μεταξύ των δύο επιπέδων Σ.Υ. παρατηρήθηκαν μόνο σε συγκεντρώσεις  $\leq 0,5$  ppm και στους 25 °C, όπου η παραγωγή απογόνων ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σχετική υγρασία 75%. Δεν προέκυψαν ακμαία στο 1 ppm στους 25 °C και για τα δύο επίπεδα Σ.Υ. Από τα παραπάνω γίνεται φανερό ότι υπάρχει αλληλεπίδραση της σχετικής υγρασίας

με την θερμοκρασία, με την σχετική υγρασία να επιδρά θετικά στην θερμοκρασία προκαλώντας την παραγωγή περισσότερων απογόνων.

Για το *S. oryzae*, η παραγωγή απογόνων δεν αποφεύχθηκε σε κανέναν από τους συνδυασμούς που δοκιμάστηκαν (Πίνακας 6). Σε 55% Σ.Υ. και  $\geq 0.5$  ppm, η παραγωγή απογόνων μειώθηκε σημαντικά σε σύγκριση με τα φιαλίδια του μάρτυρα, αλλά δεν παρατηρήθηκαν διαφορές μεταξύ των επιπέδων θερμοκρασίας. Σε 75% Σ.Υ., 25 °C και στο 1 ppm, η παραγωγή απογόνων ήταν σημαντικά υψηλότερη σε σύγκριση με τις άλλες θερμοκρασίες. Γενικώς, λιγότεροι απόγονοι καταγράφηκαν σε 55 από ότι σε 75% Σ.Υ..

**Πίνακας 5.** Ανάλυση διακύμανσης της παραγωγής απογόνων για όλες τις συγκεντρώσεις, συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα, και τα επίπεδα θερμοκρασίας και υγρασίας που εξετάστηκαν (B.E. σφάλματος = 192).

	<i>R. dominica</i>			<i>S. oryzae</i>	
	<i>B.E</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Συγκέντρωση	3	161.9	<0.01	49.9	<0.01
Θερμοκρασία	2	78.3	<0.01	15.7	<0.01
Σ.Υ.	1	4.9	0.03	87.1	<0.01
Συγκ. X Θερμ.	6	61.4	<0.01	2.8	0.01
Συγκ. X Σ.Υ.	3	3.1	0.03	6.7	<0.01
Θερμ. X Σ.Υ.	2	3.5	0.03	8.5	<0.01
Συγκ. X Θερμ. X Σ.Υ.	6	3.2	<0.01	0.8	0.54

**Πίνακας 6.** Μέσος όρος παραγωγής απογόνων (αριθμός ακμαίων /φιαλίδιο  $\pm$  Τ.Σ.) των ειδών που εξετάστηκαν 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων- γονέων από το ψεκασμένο με spinetoram σιτάρι (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).

		Συνδυασμός Θερμοκρασίας / Σ.Υ.					
		55% Σ.Υ.			75% Σ.Υ.		
		20 °C	25 °C	30 °C	20 °C	25 °C	30 °C
<i>R. dominica</i>	Μάρτυρας	1.7 $\pm$ 0.4b	32.8 $\pm$ 9.4bB	168.9 $\pm$ 25.4a	2.6 $\pm$ 0.6c	98.6 $\pm$ 18.5bA	168.9 $\pm$ 13.6a
	0.1 ppm	0.1 $\pm$ 0.1b	3.4 $\pm$ 1.3bB	10.6 $\pm$ 2.7a	0.1 $\pm$ 0.1b	9.0 $\pm$ 2.2abA	18.3 $\pm$ 4.9a
	0.5 ppm	0.0 $\pm$ 0.0b	0.1 $\pm$ 0.1bB	1.8 $\pm$ 0.4a	0.0 $\pm$ 0.0b	0.6 $\pm$ 0.2abA	1.1 $\pm$ 0.4a
	1 ppm	0.0 $\pm$ 0.0	0.0 $\pm$ 0.0	0.2 $\pm$ 0.1	0.1 $\pm$ 0.1	0.0 $\pm$ 0.0	0.6 $\pm$ 0.3
<i>S. oryzae</i>	Μάρτυρας	55.9 $\pm$ 24.9ab	43.4 $\pm$ 9.1bB	117.8 $\pm$ 18.2a	105.1 $\pm$ 9.9b	169.6 $\pm$ 13.7aA	176.3 $\pm$ 20.9a
	0.1 ppm	34.1 $\pm$ 7.7B	78.6 $\pm$ 15.6B	80.9 $\pm$ 31.2B	95.9 $\pm$ 15.2bA	210.7 $\pm$ 29.3aA	212.1 $\pm$ 21.1aA
	0.5 ppm	13.6 $\pm$ 8.8	7.9 $\pm$ 3.1B	2.0 $\pm$ 0.4B	25.3 $\pm$ 11.8	126.9 $\pm$ 31.6A	96.7 $\pm$ 42.4A
	1 ppm	1.2 $\pm$ 0.4	2.8 $\pm$ 0.9B	1.3 $\pm$ 0.7	2.9 $\pm$ 1.3b	46.8 $\pm$ 18.8aA	5.6 $\pm$ 2.2b

#### 5.4 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι η αποτελεσματικότητα του spinetoram επηρεάζεται από τη θερμοκρασία, τη σχετική υγρασία και το είδος του εντόμου. Με βάση τη θνησιμότητα και τις μετρήσεις παραγωγής απογόνων, το *R. dominica* ήταν εξαιρετικά ευαίσθητο στο ψεκασμένο με spinetoram σιτάρι. Αυτή η αποτελεσματικότητα των σπινωσινών έναντι του *R. dominica* έχει μελετηθεί εκτενώς για το spinosad, το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο εντομοκτόνο βασισμένο στις σπινωσίνες (Nayak et al, 2005; Darglish and Nayak, 2006; Athanassiou et al., 2011a; Hertlein et al., 2011). Επίσης, τα αποτελέσματα των προηγούμενων πειραματικών ενοτήτων, στα οποία εξετάσαμε το spinetoram κατά εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, κατέδειξαν ότι το *R. dominica* είναι ιδιαίτερα ευαίσθητο σε αυτή την ένωση. Η μελέτη μας δείχνει ότι, γενικά, οι αλλαγές στη θερμοκρασία δεν επηρέασαν τη θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica*. Επιπλέον, η σχετική υγρασία, τουλάχιστον στα επίπεδα που δοκιμάστηκε εδώ, δεν επηρέασε την αποτελεσματικότητα του spinetoram ενάντια στο είδος αυτό. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί από τους Fang and Subramanyam (2003) για το

spinosad σε θερμοκρασίες 22, 28 και 34 °C. Τα ευρήματά μας είναι σύμφωνα με τα στοιχεία που καταγράφηκαν από τους Athanassiou et al. (2008a) για την επίδραση της θερμοκρασίας στην αποτελεσματικότητα του spinosad. Στη μελέτη αυτή, οι συγγραφείς ανέφεραν ότι δεν υπήρξε επίδραση της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας στη θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica* για συγκέντρωση  $\geq 0.1$  ppm. Ωστόσο, τα αποτελέσματά μας για την παραγωγή απογόνων δείχνουν ότι η αύξηση της θερμοκρασίας, προκαλεί αυξημένη παραγωγή απογόνων. Αυτό θα πρέπει να θεωρηθεί ως άμεση συνέπεια των απαιτήσεων θερμοκρασίας του *R. dominica* (Howe, 1965).

Όπως το *R. dominica*, έτσι και το *S. oryzae* ήταν επίσης ευαίσθητο στο spinetoram σε συγκεντρώσεις  $\geq 0.5$  ppm. Για αυτό το είδος, στο πρώτο πειραματικό πρωτόκολλο παρατηρήσαμε παρόμοια επίπεδα θνησιμότητας σε ψεκασμένο με spinetoram σιτάρι, στους 25 °C και 65% Σ.Υ. Γενικά, η θνησιμότητα του *S. oryzae* αυξήθηκε με την αύξηση της θερμοκρασίας. Ωστόσο, στη χαμηλότερη συγκέντρωση, η αύξηση της Σ.Υ. προκάλεσε μειωμένη θνησιμότητα στα ακμαία, τουλάχιστον στην περίπτωση των 25 και 30 °C. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν αναφερθεί και για το spinosad (Athanassiou et al., 2008a). Γενικά, για το *S. oryzae*, η αύξηση της θερμοκρασίας σχετίζεται θετικά με την αποτελεσματικότητα και άλλων εντομοκτόνων, όπως το thiamethoxam και το fipronil (Arthur et al., 2004; Athanassiou et al., 2005b; Kavallieratos et al., 2010a). Για παράδειγμα, οι Kavallieratos et al. (2010a), κατά την αξιολόγηση του fipronil έναντι του *S. oryzae* σε συγκεντρώσεις 0.01, 0.1, 1 και 10 ppm κάτω από τις ίδιες συνθήκες όπως και στην παρούσα μελέτη, ανέφεραν ότι η αποτελεσματικότητα του fipronil ενισχύθηκε από την αύξηση της θερμοκρασίας από τους 20 στους 25 °C για τα διαστήματα έκθεσης άνω των 48 ωρών. Σύμφωνα με τον Howe (1965), οι βέλτιστες συνθήκες θερμοκρασίας και Σ.Υ. για την ανάπτυξη του πληθυσμού του *S. oryzae* είναι 27-31 °C και 60%, αντίστοιχα. Σε αυτές τις συνθήκες, τα έντομα έχουν υψηλή μεταβολική δραστηριότητα και μεγαλύτερες ανάγκες για τροφή. Ως εκ τούτου, η αύξηση της θερμοκρασίας κοντά στο βέλτιστο αναπτυξιακό επίπεδο, αυξάνει την πρόσληψη τροφής, η οποία σχετίζεται άμεσα με αυξημένη θνησιμότητα. Επιπλέον, η αύξηση της θερμοκρασίας αυξάνει την κινητικότητα των εντόμων (Fargo et al., 1989), γεγονός



που αποτελεί πρόσθετο λόγο για την αυξημένη θνησιμότητα σε υψηλότερες θερμοκρασίες, μέσω της αυξανόμενης επαφής με το ψεκασμένο υπόστρωμα.

Τα αποτελέσματα για τη θνησιμότητα των ακμαίων του *T. confusum* έδειξαν σαφώς ότι το είδος αυτό δεν είναι ευαίσθητο στο spinetoram, ανεξάρτητα από τα επίπεδα της θερμοκρασίας και της σχετικής υγρασίας. Προηγούμενες μελέτες υποδεικνύουν ότι το spinosad είναι αναποτελεσματικό έναντι των ακμαίων του *T. confusum* στο σιτάρι (Hertlein et al., 2011), γεγονός που ισχύει και για το spinetoram, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των προηγούμενων πειραματικών ενοτήτων. Ωστόσο, το είδος αυτό, κατά το στάδιο των ακμαίων, είναι ευπαθές σε ψεκασμένες με spinosad επιφάνειες (Toews et al., 2003) και πρόσφατα στοιχεία υποδεικνύουν το ίδιο και για το spinetoram (Saglam et al., 2013). Επιπλέον, οι προνύμφες του *T. confusum* είναι ευαίσθητες τόσο στο spinosad όσο και στο spinetoram (Vayias et al., 2009b; Saglam et al., 2013), γεγονός που μπορεί να συμβάλλει σταδιακά στον έλεγχο των ακμαίων, μέσω της αυξημένης θνησιμότητας των προνυμφών.

Συνοψίζοντας, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η θερμοκρασία μπορεί να παίζει κάποιο σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα του spinetoram στη συγκέντρωση του 0.1 ppm, αλλά σε υψηλότερες δόσεις ο ρόλος αυτός καθίσταται λιγότερο σημαντικός. Ταυτόχρονα, λαμβάνοντας υπ' όψιν τα συνολικά δεδομένα, η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη σε 75 από ότι σε 55% Σ.Υ., η οποία μπορεί να σχετίζεται με αυξημένη μεταβολική καταπόνηση των εκτεθειμένων ακμαίων και όχι με τη δραστηριότητα αυτού καθ' αυτού του εντομοκτόνου. Τέλος, προκειμένου να ταξινομηθεί η ευαισθησία, από το περισσότερο στο λιγότερο ευαίσθητο, τα ελεγχθέντα είδη μπορούν να ταξινομηθούν ως εξής: *R. dominica*>*S. oryzae*>*T. confusum*.

## 6. Υπολειμματική δράση και αποτελεσματικότητα του spinetoram εναντίον των *Rhizopertha dominica*, *Sitophilus oryzae* και *Tribolium confusum* σε σιτάρι

### 6.1 Εισαγωγή

Η αποθήκευση σιτηρών για μεγάλο χρονικό διάστημα είναι σημαντική, δεδομένου ότι η παραγωγή σιτηρών σε παγκόσμιο επίπεδο ποικίλλει από έτος σε έτος, είτε για κλιματικούς ή οικονομικούς λόγους, ενώ οι απαιτήσεις της αγοράς συνήθως παραμένουν σταθερές. Επιπλέον, η αύξηση του ανθρώπινου πληθυσμού και της κατανάλωσης, η αύξηση της ανάγκης για τα μεταποιημένα τρόφιμα, η κλιματική αλλαγή και η ύπαρξη περιοχών με μειωμένη ή χωρίς παραγωγή, καθιστά την αποθήκευση των δημητριακών ένα κρίσιμο ζήτημα για την συνεχή παρουσία τους στην αγορά (Sinha, 1995; Godfray et al., 2010). Για αυτή τη μακρά περίοδο της αποθήκευσης, η προστασία των δημητριακών από τους εχθρούς και ειδικά τα έντομα, είναι ιδιαίτερα σημαντική όσον αφορά στη μείωση των απωλειών, αλλά και τη μείωση των ποιοτικών υποβαθμίσεων στο προϊόν. Παραδοσιακά, για τη μακροχρόνια προστασία των δημητριακών, υπολειμματικά εντομοκτόνα εφαρμόζονται σε ολόκληρη την μάζα αυτών. Τα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα εντομοκτόνα είναι τα οργανοφωσφορικά (OPs) ή τα συνθετικά πυρεθροειδή (SPs). Εκτός από την εντομοκτόνο αποτελεσματικότητα, ένα σημαντικό χαρακτηριστικό ενός υπολειμματικού εντομοκτόνου επαφής είναι η σταθερότητά του στο χρόνο στο κλειστό περιβάλλον της αποθήκευσης. Αρκετές μελέτες με OP έδειξαν ότι αυτές οι ενώσεις αποικοδομούνται και η αποικοδόμηση αυτή αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας, της σχετικής υγρασίας και την περιεκτικότητα των σπόρων σε υγρασία (Desmarchelier and Bengston, 1979; Arthur et al., 1992; Fleurat-Lessard et al., 1998). Οι Arthur et al. (1992) ανέφεραν ότι οι υπολειμματικές ποσότητες του chlorpyrifos-methyl στους 35 °C στο σιτάρι με περιεκτικότητα 13.7% σε υγρασία ήταν 72.9% της αρχικής συγκέντρωσης μετά από δύο μήνες αποθήκευσης. Σε μία άλλη μελέτη, οι Maier et al. (2006) χρησιμοποιώντας spinosad και pirimiphos-methyl έδειξαν ότι το spinosad παρέμεινε αρκετά σταθερό κατά τη διάρκεια μιας περιόδου αποθήκευσης 25 μηνών, ενώ το pirimiphos-methyl παρέμεινε σταθερό μόνο για εννέα μήνες. Επιπλέον, μερικά από αυτά τα εντομοκτόνα έχουν υψηλή τοξικότητα στα θηλαστικά, αφήνουν τοξικά υπολείμματα στο προϊόντα, ενώ περιπτώσεις

ανθεκτικότητας έχουν αναφερθεί σε πολλά μέρη του κόσμου (Collins, 1990; Arthur, 1996; Guedes et al., 1996; Daghli, 2008).

Το spinetoram, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των προηγούμενων πειραματικών ενοτήτων ελέγχθηκε και βρέθηκε να είναι αποτελεσματικό για τον έλεγχο αρκετών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, ενώ η αποτελεσματικότητά του πρακτικά δεν επηρεάζεται από τη θερμοκρασία και τη σχετική υγρασία. Επιπλέον, το spinetoram βρέθηκε να είναι αποτελεσματικό κατά του *R. dominica*, ακόμη και όταν έγινε εφαρμογή σε ένα μόνο μέρος της ποσότητας του δημητριακού. Παρά το γεγονός ότι υπάρχουν αρκετές δημοσιευμένες εργασίες για την υπολειμματική δράση του, συγγενούς με το spinetoram, spinosad στα αποθηκευμένα δημητριακά (Fang et al, 2002b; Fang and Subramanyam, 2003), δεν υπάρχουν διαθέσιμα στοιχεία για την υπολειμματική αποτελεσματικότητά του spinetoram. Στην παρούσα μελέτη διερευνήθηκε η σταθερότητα των υπολειμμάτων του spinetoram στο σιτάρι και επίσης η αποτελεσματικότητά του εναντίον τριών κολεοπτέρων εντόμων αποθηκών για μια περίοδο 8 μηνών.

## 6.2 Υλικά και Μέθοδοι

### 6.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών

Ακμαία των εντόμων *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum* χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές. Τα έντομα εξετράφησαν σύμφωνα με τα όσα αναφέρθηκαν στην υποενότητα 1.1 της ενότητας Β. Αψέκαστο σκληρό σιτάρι (ποικιλία Simeto) χρησιμοποιήθηκε για τις βιοδοκιμές. Πριν από τα πειράματα, η υγρασία του σιταριού προσδιορίστηκε στο 13.5%, με τη χρήση μετρητή υγρασίας (Multitest, Gode Co, France).

### 6.2.2 Εφαρμογή του spinetoram

Το σκεύασμα του spinetoram που χρησιμοποιήθηκε στις βιοδοκιμές ήταν σε μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος (SC), το οποίο περιείχε 120 γραμμάρια δραστικής ουσίας (δ.ο.) ανά λίτρο (Dow AgroSciences, UK). Ποσότητες τριών κιλών σιταριού ψεκάστηκαν με spinetoram, ώστε να δημιουργηθούν διαφορετικά επίπεδα συγκέντρωσης: 0 (μάρτυρας), 0.1, 1 και 5 ppm (mg δ.ο./κίλο σιταριού). Τα διαλύματα

των τριών συγκεντρώσεων του spinetoram παρασκευάστηκαν σε ογκομετρικές φιάλες των 25 ml, στις οποίες κατάλληλες ποσότητες του spinetoram αραιώθηκαν με απιονισμένο νερό. Κάθε ποσότητα ψεκάστηκε για κάθε συγκέντρωση με 3 ml της κατάλληλης αραιώσης (1 ml ανά κιλό σιταριού). Η εφαρμογή έγινε με τη χρήση καλλιτεχνικού αερογράφου (Mecafer AG4, Mecafer Co., France). Οι ποσότητες του μάρτυρα ψεκάστηκαν με 3ml απιονισμένου νερού. Για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου στα δημητριακά, ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε στην Ενότητα Β, υποενότητα 2.2.2. Κατόπιν, οι ποσότητες τοποθετήθηκαν σε γυάλινα βάζα (16.5 cm σε διάμετρο, 27 cm σε ύψος) και ανακινήθηκαν με το χέρι για περίπου 1 λεπτό, για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου. Αυτές οι ποσότητες αποθηκεύτηκαν για μια περίοδο 8 μηνών, στους 25 °C, 65% Σ.Υ. και συνεχές σκοτάδι.

### **6.2.3 Βιοδοκιμές**

Οι βιοδοκιμές διεξήχθησαν σε τρεις επαναλήψεις, με νέες ποσότητες και διαλύματα κάθε φορά. Οι πειραματικές μονάδες για τις βιοδοκιμές ήταν πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (3 cm σε διάμετρο, 8 cm σε ύψος). Για κάθε είδος εντόμου, τέσσερα δείγματα, 20 g το καθένα, ελήφθησαν από κάθε βάζο του ψεκασμένου σιταριού ή του μάρτυρα και τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια. Στη συνέχεια, είκοσι ακμαία εισήχθησαν σε κάθε φιαλίδιο (χωριστά φιαλίδια για κάθε είδος). Όλα τα φιαλίδια στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών που ορίστηκαν στους 25 °C, 65% Σ.Υ. και συνεχές σκοτάδι. Η θνησιμότητα μετρήθηκε μετά από 7, 14 και 21 ημέρες από την έκθεση στο ψεκασμένο σιτάρι ή το μάρτυρα. Μετά το διάστημα των 21 ημερών, όλα τα ακμαία (νεκρά και ζωντανά) απομακρύνθηκαν και τα φιαλίδια επέστρεψαν στις ίδιες συνθήκες. Εξήντα πέντε ημέρες αργότερα, τα φιαλίδια εξετάστηκαν για την παραγωγή απογόνων. Η όλη διαδικασία των βιοδοκιμών επαναλήφθηκε σε μηνιαία διαστήματα για μια περίοδο αποθήκευσης 8 μηνών.

### **6.2.4 Προσδιορισμός υπολειμμάτων**

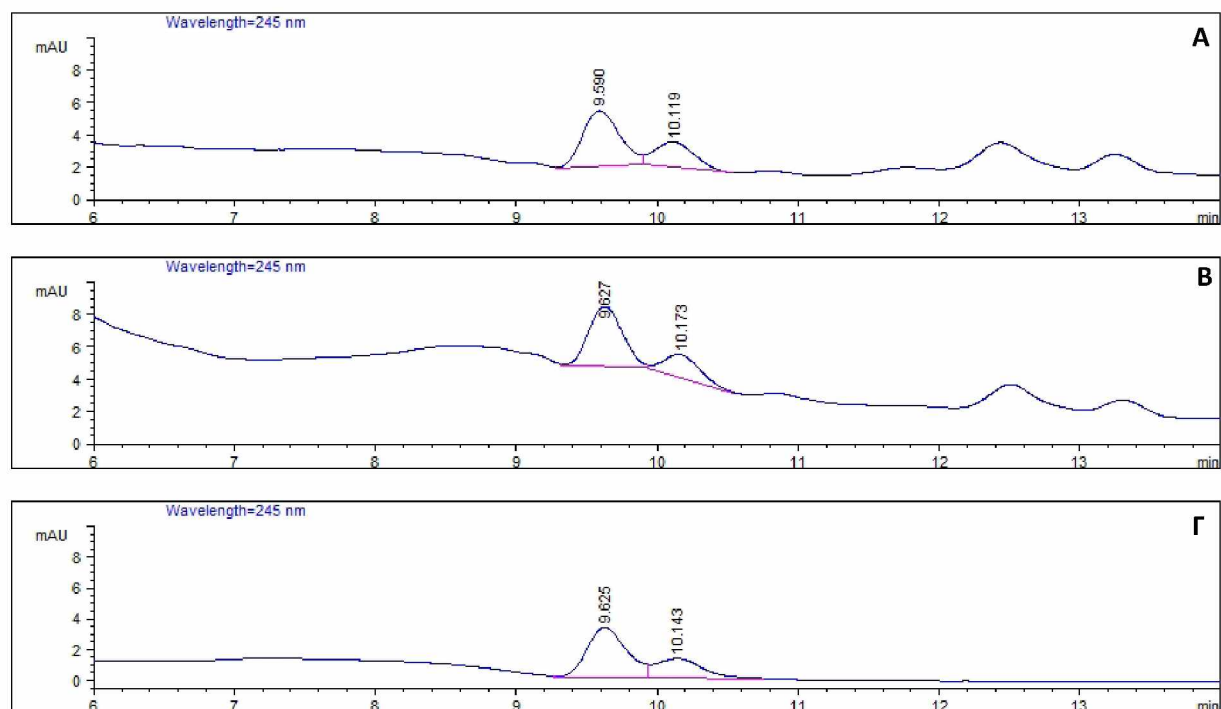
Παράλληλα με τις βιοδοκιμές και για όλη την περίοδο των 8 μηνών, δείγματα 20 g ψεκασμένου σιταριού στα 5 ppm και το μάρτυρα, ελήφθησαν για ανάλυση υπολειμμάτων. Δείγματα ελήφθησαν από όλες τις επαναλήψεις ξεχωριστά και αποθηκεύτηκαν σε καταψύκτη στους -20 °C ( $\pm 2$  °C) μέχρι να γίνει ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων. Μία ποσότητα 5 g κάθε δείγματος εκχυλίστηκε με 30 ml

διαλύματος (ακετόνη-εξάνιο 1:2 v/v) σε έναν μηχανικό ανακινητή (Swirp KS 10, Edmund Bühler, Germany) για 180 λεπτά. Μετά την ανακίνηση, 25 ml από το εκχύλισμα μεταφέρθηκε σε μία σφαιρική γυάλινη φιάλη και εξατμίστηκε μέχρι ξηρού υπό κενό σε λουτρό ύδατος στους 35 °C (Rotavapor R-3000, Buchi, Switzerland). Το υπόλειμμα ανασυστάθηκε με 2 ml μεθανόλης και το προκύπτον διάλυμα διηθήθηκε πριν από την έγχυση εντός του συστήματος της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης (HPLC). Μητρικό αναλυτικό πρότυπο του spinetoram (1 mg/ml) παρασκευάστηκε σε μεθανόλη και αποθηκεύτηκε στους -18 °C σε γυάλινα φιαλίδια. Ένα ενδιάμεσο πρότυπο διάλυμα στα 200 µg/ml, παρασκευάστηκε σε μεθανόλη από το πρότυπο του 1 mg/ml. Μια σειρά προτύπων διαλυμάτων spinetoram παρασκευάστηκαν στη συνέχεια σε μεθανόλη σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονταν από 2 έως 25 µg/ml και χρησιμοποιήθηκαν ως πρότυπα βαθμονόμησης.

Ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων του spinetoram έγινε σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας (HP 1100, Hewlett Packard GmbH, Germany) εξοπλισμένο με σύστημα βαθμωτής έκλουσης, με ανιχνευτή UV μεταβλητού μήκους κύματος και με σύστημα HP ChemStation LC 3D καταγραφής και επεξεργασίας του σήματος, το οποίο μετέτρεψε την καταγραφή του UV φάσματος σε επιλεγμένους χρόνους σε χρωματογραφήματα. Η αναλυτική στήλη ήταν Nucleosil® 100-5 C18 250 4.6 mm ID, με μέγεθος σωματιδίων 5.0 µm (MN-Macherey-Nagel GmbH & Co, Germany). Για το φιλτράρισμα όλων των δειγμάτων πριν από τη έγχυσή τους στη χρωματογραφική στήλη (20 µl) χρησιμοποιήθηκαν φίλτρα μεμβράνης Titan 2 HPLC με 0.45 µm μέγεθος πόρων. Η βέλτιστη ανίχνευση λήφθηκε στα 245 nm και με σταθερή θερμοκρασία της στήλης στους 40 °C.

Παρασκευάστηκαν δύο διαλύματα για την κινητή φάση (εκλουστικό): Το πρώτο (διάλυμα A) αποτελούνταν από μεθανόλη και ακετονιτρίλιο σε μία αναλογία 50:50 (v/v) και το δεύτερο (διάλυμα B) ήταν νερό HPLC με 8% μεθανόλη και 1% οξικό αμμώνιο. Το πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης που ακολουθήθηκε ήταν στα μηδέν λεπτά (A/B:90/10), στα 2 λεπτά (A/B:90/10), στα 4 λεπτά (A/B:95/5), στα 10 λεπτά (A/B:95/5), στα 14 λεπτά (A/B:100/0), στα 18 λεπτά (A/B:100/0) και στα 20 λεπτά (A/B:90/10), ενώ η ροή της κινητής φάσης ήταν 1 ml/min. Το συνολικό διάστημα για κάθε χρωματογραφική ανάλυση ήταν 20 λεπτά. Με τις δεδομένες χρωματογραφικές συνθήκες τα συστατικά του spinetoram (σπινοςίνη J και σπινοςίνη

L) διαχωρίστηκαν και ανιχνεύτηκαν καλά σε χρόνους κατακράτησης 9.6 και 10.1 λεπτά, αντίστοιχα, οι οποίες τιμές είναι επιθυμητές για ανάλυση ρουτίνας (Διάγραμμα 1).



**Διάγραμμα 1.** Χρωματογραφήματα των υπολειμμάτων του spinetoram, όπου τα γράμματα A και B αντιπροσωπεύουν την ανάλυση δειγμάτων ψεκασμένων με spinetoram στη συγκέντρωση των 5 ppm για 0 μήνες και 8 μήνες αντίστοιχα μετά την εφαρμογή του εντομοκτόνου και το Γ αντιπροσωπεύει το πρότυπο διάλυμα στα 10 µg/ml.

Ποσοτικά δεδομένα ελήφθησαν μέσω της καμπύλης βαθμονόμησης που λαμβάνεται από την έγχυση πρότυπων διαλυμάτων spinetoram εύρους συγκεντρώσεων από 2 έως 25 µg/mL. Η απόκριση του ανιχνευτή βρέθηκε να είναι γραμμική στο υπό μελέτη εύρος και η ανάλυση ελαχίστων τετραγώνων της γραμμικής παλινδρόμησης των δεδομένων έδωσε υψηλή συσχέτιση ( $r = 0.997$ ). Η συγκέντρωση του spinetoram εκφράστηκε σαν άθροισμα των σπινωσινών J + L.

Η αποτελεσματικότητα της αναλυτικής μεθόδου ελέγχθηκε με πειράματα ανάκτησης στα επίπεδα των 5 και 10 mg/kg με πέντε επαναλήψεις η κάθε μία. Ειδικότερα, αγέκαστα (μάρτυρας) δείγματα σιταριού εμβολιάστηκαν με την προσθήκη της κατάλληλης συγκέντρωσης ενός προτύπου μεθανολικού διαλύματος spinetoram, αναμίχθηκαν και αφέθηκαν να ισορροπήσουν σε σκοτάδι σε θερμοκρασία εργαστηρίου για 6 ώρες πριν από την εκχύλισή τους. Η μετρούμενη μέση ανάκτηση των υπολειμμάτων spinetoram ποικίλει από 79 έως 108%, ενώ η

σχετική τυπική απόκλιση βρέθηκε <8%, δείχνοντας καλή ορθότητα και ακρίβεια της χρησιμοποιούμενης μεθόδου ανάλυσης.

### 6.2.5 Ανάλυση δεδομένων

Η θνησιμότητα του μάρτυρα ήταν γενικά χαμηλή, ώστε δεν θεωρήθηκε απαραίτητη καμία διόρθωση. Η θνησιμότητα των ακμαίων αναλύθηκε χωριστά για κάθε είδος χρησιμοποιώντας πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (repeated-measures MANOVA) με βάση τον έλεγχο Wilk's lambda με το λογισμικό JMP 7 (Sall et al., 2001), με το επίπεδο συγκέντρωσης και το μήνα ως κύριες επιδράσεις, και την θνησιμότητα στο χρόνο, σαν επαναλαμβανόμενη μεταβλητή. Στην ανάλυση της παραγωγής απογόνων, συμπεριελήφθησαν και τα φιαλίδια του μάρτυρα, και έγινε ανάλυση διακύμανσης δυο παραγόντων (two-way ANOVA) με το ίδιο λογισμικό, με τον αριθμό των απογόνων ως εξαρτημένη μεταβλητή, και το επίπεδο συγκέντρωσης και τους μήνες ως κύριες επιδράσεις. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το Tukey-Kramer HSD test σε επίπεδο σημαντικότητας 0.05 (Sokal and Rohlf, 1995). Η παραγωγή απογόνων του *T. confusum* δεν καταγράφηκε, λόγω του γεγονότος ότι το είδος αυτό δεν μπορεί να παράγει εύκολα απογόνους σε ολόκληρους σπόρους (Li and Arbogast, 1991). Επίσης δεν καταγράφηκε και η ανάπτυξη των ατελών σταδίων των *R. dominica* και *S. oryzae*, που λαμβάνει χώρα εντός του σπόρου (Aitken, 1975).

Για την παρακολούθηση της πορείας της συγκέντρωσης του spinetoram στο σιτάρι κατά τη διάρκεια της πειραματικής περιόδου των 8 μηνών, η συγκέντρωση του spinetoram σε κάθε περίοδο δειγματοληψίας εκφράστηκε ως το ποσοστό της αρχικής συγκέντρωσης (ο "0" μήνας θεωρείται ότι έχει το 100% του spinetoram).

## 6.3 Αποτελέσματα

### 6.3.1 Θνησιμότητα εντόμων

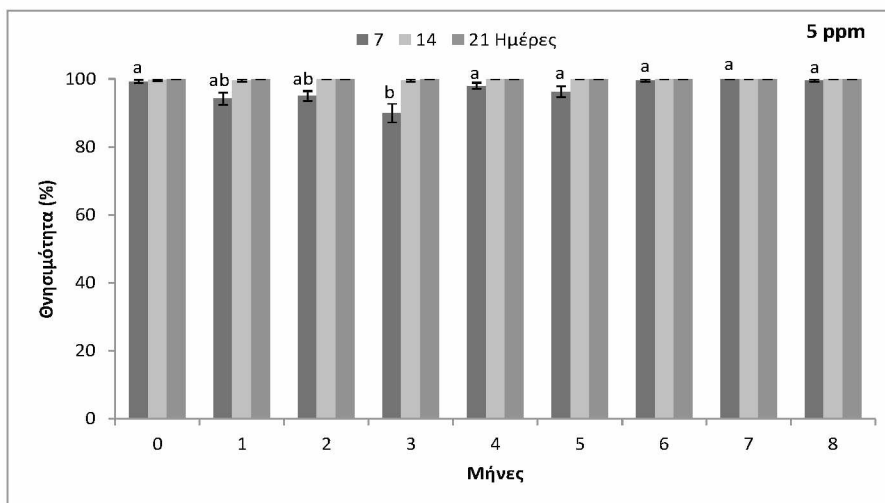
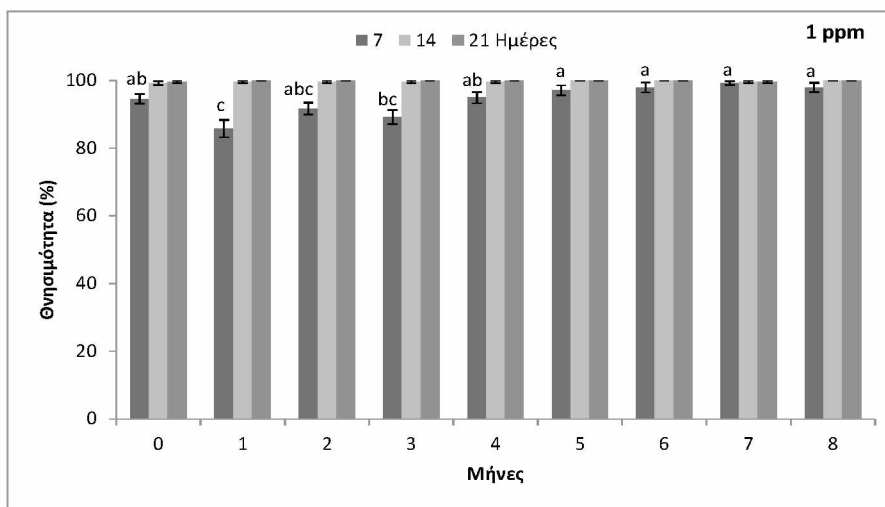
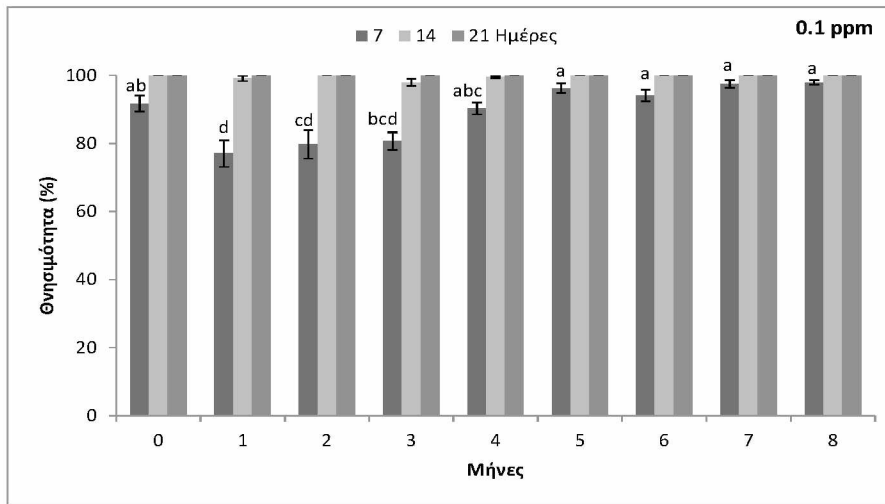
Για όλα τα ελεγχθέντα είδη, όλες οι κύριες επιδράσεις και αλληλεπιδράσεις ήταν σημαντικές, με εξαίρεση αυτή του χρόνου έκθεσης X μήνες στην περίπτωση του *S. oryzae* (Πίνακας 1). Όσον αφορά το βαθμό ευαισθησίας για το σύνολο της 8 μηνιαίας περιόδου των βιοδοκιμών, το *R. dominica* ήταν το πιο ευαίσθητο είδος,

ακολουθούμενο από το *S. oryzae*, ενώ το *T. confusum* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο. Η θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica* ήταν υψηλή, ανεξαρτήτως του επιπέδου συγκέντρωσης και της περιόδου των βιοδοκιμών (Διάγραμμα 2). Μετά από 21 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα των ακμαίων ήταν 100% σε όλα τα επίπεδα συγκέντρωσης, κατά τη διάρκεια ολόκληρης της περιόδου. Στο διάστημα έκθεσης 7 ημερών, η θνησιμότητα κυμαίνονταν μεταξύ 77 και 100%. Η θνησιμότητα του *S. oryzae* ήταν > 99% στο 1 ppm, ενώ τα ακμαία ελέγχθηκαν απόλυτα στα 5 ppm μετά από 14 ημέρες έκθεσης καθ' όλη τη διάρκεια της δειγματοληπτικής περιόδου (Διάγραμμα 3). Στα 0.1 ppm, η θνησιμότητα ήταν κοντά στο 80% μετά από 21 ημέρες έκθεσης, ενώ δεν καταγράφηκαν διαφορές μεταξύ των μηνών. Για παράδειγμα, η θνησιμότητα κατά την έναρξη του πειράματος (0 μήνες) ήταν 85%, ενώ στο τέλος (8 μήνες μετά τη εφαρμογή του spinetoram) η θνησιμότητα ήταν 83%. Στην περίπτωση του *T. confusum*, η θνησιμότητα ήταν χαμηλή σε όλα τα διαστήματα έκθεσης και τους μήνες βιοδοκιμών στα 0.1 και 1 ppm (Διάγραμμα 4). Στα 5 ppm, τα επίπεδα θνησιμότητας αυξήθηκαν, αλλά δεν υπερέβησαν το 80%. Επιπλέον, η αποτελεσματικότητα του spinetoram δεν μειώθηκε κατά τη διάρκεια της 8 μηνιας περιόδου των βιοδοκιμών, αν και μερικές διακυμάνσεις καταγράφηκαν, γεγονός που δεν συσχετίζεται με τις αλλαγές στις μετρήσεις των υπολειμμάτων (βλέπε παρακάτω) (Διάγραμμα 5).

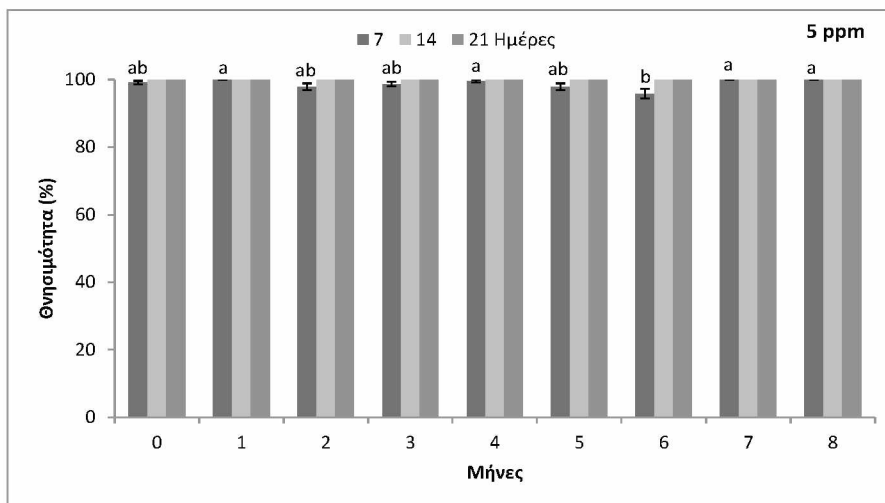
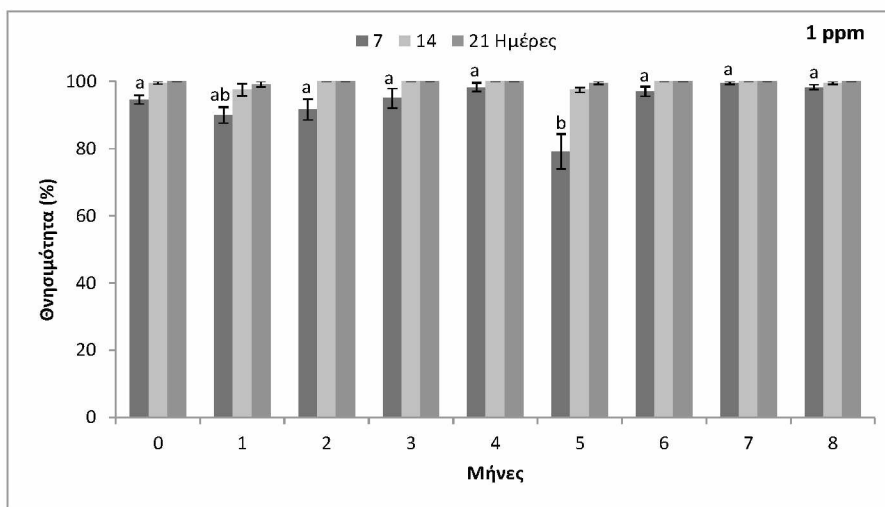
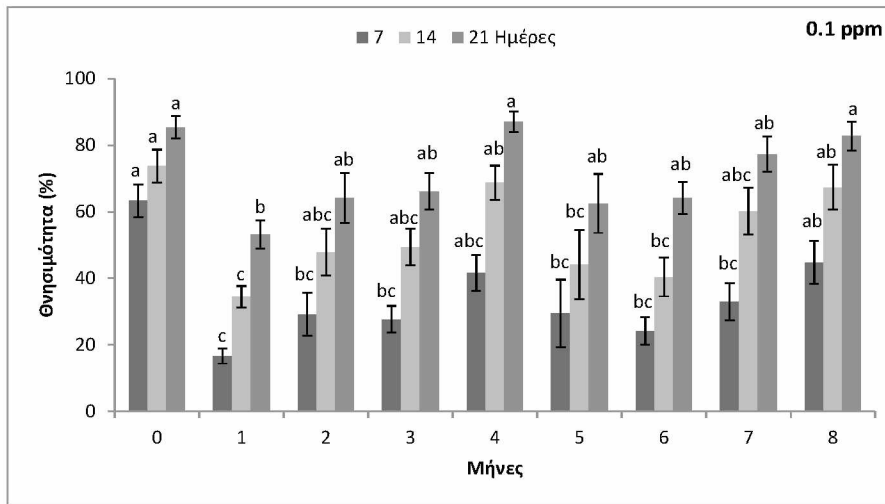


**Πίνακας 1.** Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας των ειδών που εξετάστηκαν μετά από έκθεσή τους σε τρία επίπεδα συγκέντρωσης του spinetoram για περίοδο 8 μηνών (B.E. σφάλματος = 297).

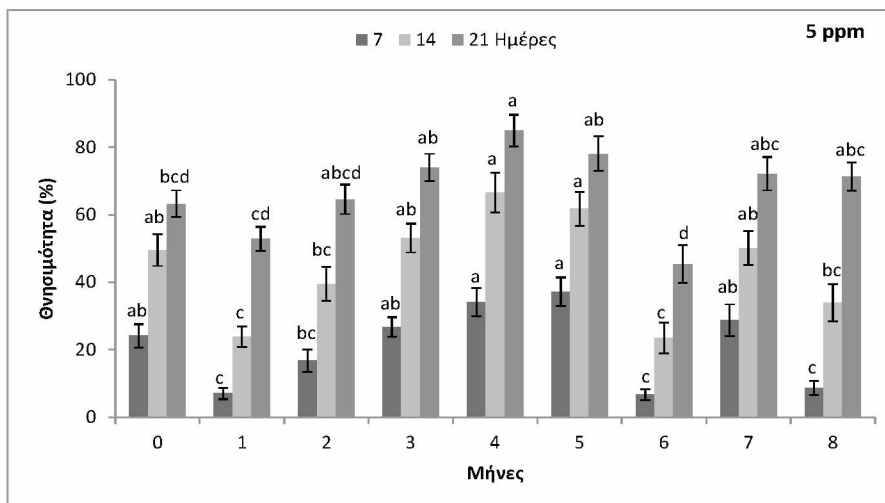
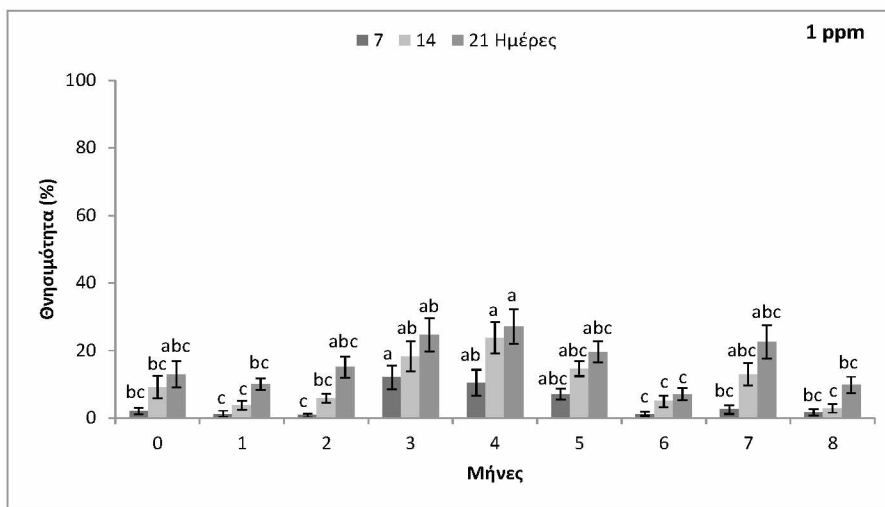
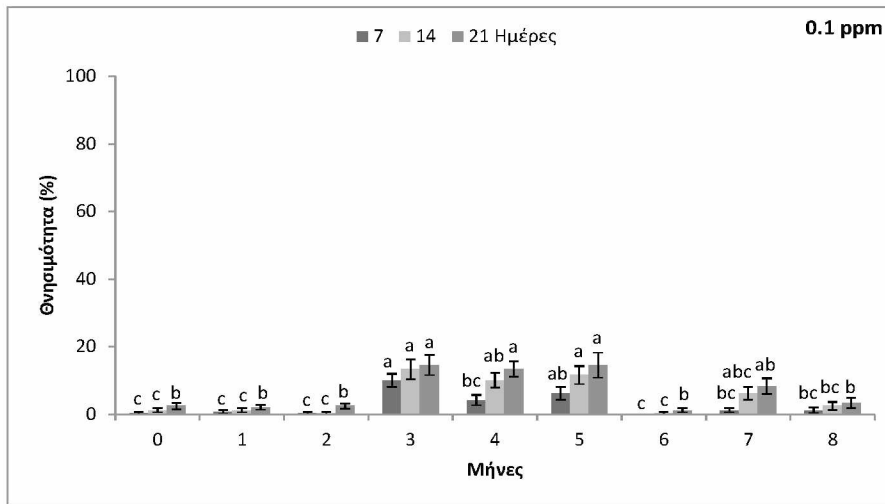
Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	<i>Rhizopertha dominica</i>		<i>Sitophilus Oryzae</i>		<i>Tribolium confusum</i>	
		F	P	F	P	F	P
Μεταξύ των μεταβλητών	26	10.7	<0.01	48.0	<0.01	49.7	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	569473.8	<0.01	17152.9	<0.01	1396.1	<0.01
Μήνας	8	21.2	<0.01	6.3	<0.01	21.8	<0.01
Συγκέντρωση	2	32.7	<0.01	561.9	<0.01	531.4	<0.01
Μήνας X Συγκέντρωση	16	2.6	<0.01	4.7	<0.01	3.4	<0.01
Εντός των μεταβλητών	52	5.2	<0.01	15.8	<0.01	15.8	<0.01
Χρόνος	2	154.3	<0.01	401.2	<0.01	646.3	<0.01
Χρόνος X Μήνας	16	10.4	<0.01	1.6	0.08	4.6	<0.01
Χρόνος X Συγκέντρωση	4	16.6	<0.01	168.1	<0.01	159.9	<0.01
Χρόνος X Μήνας X Συγκέντρωση	32	1.8	0.01	3.1	<0.01	2.2	<0.01



**Διάγραμμα 2.** Μέσος Όρος (% ± Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *R. dominica* για περίοδο 8 μηνών σε σιτάρι ψεκασμένο με spinetoram στις συγκεντρώσεις των 0.1, 1 και 5 ppm. Για κάθε μήνα, η θνησιμότητα μετρήθηκε μετά από 7, 14 και 21 ημέρες έκθεσης (μέσα σε κάθε διάγραμμα και ημέρα έκθεσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).



**Διάγραμμα 3.** Μέσος Όρος (% ± Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *S. oryzae* για περίοδο 8 μηνών σε σιτάρι ψεκασμένο με spinetoram στις συγκεντρώσεις των 0.1, 1 και 5 ppm. Για κάθε μήνα, η θνησιμότητα μετρήθηκε μετά από 7, 14 και 21 ημέρες έκθεσης. (μέσα σε κάθε διάγραμμα και ημέρα έκθεσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).



**Διάγραμμα 4.** Μέσος Όρος (% ± Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *T. confusum* για περίοδο 8 μηνών σε σιτάρι ψεκασμένο με spinetoram στις συγκεντρώσεις των 0.1, 1 και 5 ppm. Για κάθε μήνα, η θνησιμότητα μετρήθηκε μετά από 7, 14 και 21 ημέρες έκθεσης. (μέσα σε κάθε διάγραμμα και ημέρα έκθεσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

### 6.3.2 Παραγωγή απογόνων

Σημαντικές διαφορές παρατηρήθηκαν για όλες τις κύριες επιδράσεις και τις αλληλεπιδράσεις τους για την παραγωγή απογόνων των *R. dominica* και *S. oryzae* (Πίνακας 2). Στην περίπτωση του *R. dominica*, η παραγωγή απογόνων ήταν χαμηλή. Στο 1 ppm, καταγράφηκαν λιγότερα από 1 ακμαίο ανά φιαλίδιο (με μία εξαίρεση τον 8<sup>ο</sup> μήνα με 1 ακμαίο/φιαλίδιο, Πίνακας 3). Επιπροσθέτως, στα 5 ppm δεν προέκυψαν ακμαία (με μία εξαίρεση, τον πρώτο μήνα των βιοδοκιμών). Επιπλέον, στα 0.1 ppm, η παραγωγή απογόνων ήταν χαμηλότερη σε σύγκριση με αυτή στα φιαλίδια του μάρτυρα. Κατά τους πρώτους επτά μήνες, στα 0.1 ppm, οι απόγονοι του *R. dominica* δεν διέφεραν σημαντικά. Η παραγωγή απογόνων του *S. oryzae* μειώθηκε με την αύξηση της συγκέντρωσης. Στα 5 ppm, καταγράφηκε λιγότερο από 1 ακμαίο ανά φιαλίδιο (Πίνακας 3). Για το είδος αυτό, η παραγωγή απογόνων στο ψεκασμένο σιτάρι ήταν παρόμοια καθ' όλη τη διάρκεια των βιοδοκιμών στην υψηλότερη συγκέντρωση.

**Πίνακας 2.** Ανάλυση διακύμανσης της παραγωγής απογόνων για τις συγκεντρώσεις και τους μήνες που εξετάστηκαν, συμπεριλαμβανομένου και του μάρτυρα (B.E. σφάλματος = 396).

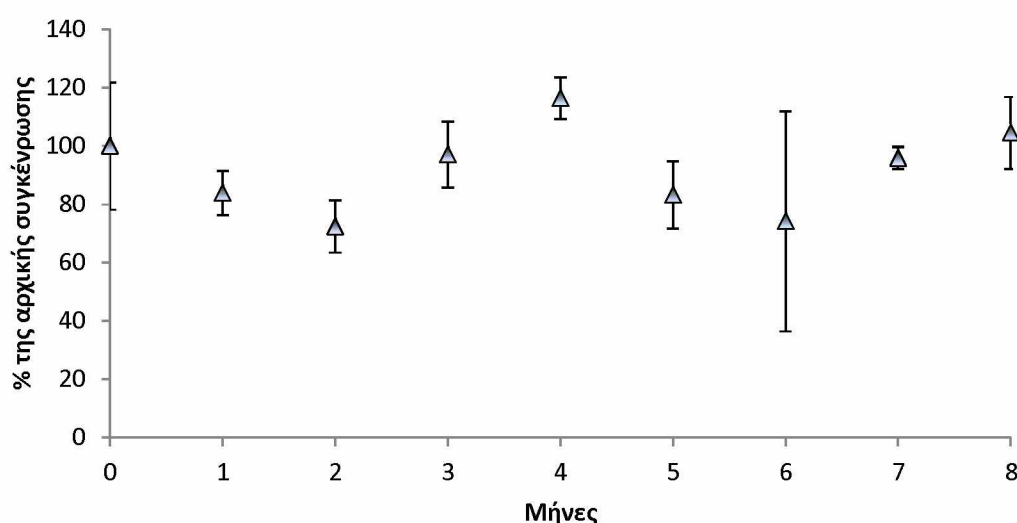
	B.E.	<i>Rhizopertha dominica</i>		<i>Sitophilus oryzae</i>	
		F	P	F	P
Μήνες	8	8.7	<0.01	12.2	<0.01
Συγκέντρωση	3	223.6	<0.01	223.2	<0.01
Μήνες X Συγκέντρωση	24	8.0	<0.01	5.1	<0.01

**Πίνακας 3.** Μέσος όρος παραγωγής απογόνων (αριθμός ακμαίων/φιαλίδιο  $\pm$  Τ.Σ.) των *R. dominica* και *S. oryzae*, 65 ημέρες μετά την αφαίρεση των ακμαίων γονέων από το ψεκασμένο με spinetoram σιτάρι ή το μάρτυρα (οι Μ.Ο. μέσα σε κάθε στήλη 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).

Μήνας	<i>Rhizopertha dominica</i>					<i>Sitophilus oryzae</i>			
	Μάρτυρας	0.1	1	5	Μάρτυρας	0.1	1	5	
0	26.6 $\pm$ 8.9c	4.2 $\pm$ 2.1b	0.3 $\pm$ 0.2ab	0.0 $\pm$ 0.0	24.8 $\pm$ 5.0e	49.4 $\pm$ 11.2c	2.8 $\pm$ 1.0b	0.1 $\pm$ 0.1	
1	158.7 $\pm$ 23.8a	2.7 $\pm$ 0.5b	0.1 $\pm$ 0.1b	0.1 $\pm$ 0.1	120.2 $\pm$ 15.0bcd	139.8 $\pm$ 14.8abc	44.3 $\pm$ 20.5a	0.8 $\pm$ 0.3	
2	54.1 $\pm$ 13.1bc	3.2 $\pm$ 0.6b	0.5 $\pm$ 0.2ab	0.0 $\pm$ 0.0	85.7 $\pm$ 14.1de	96.4 $\pm$ 16.6abc	4.1 $\pm$ 1.4b	0.3 $\pm$ 0.2	
3	49.3 $\pm$ 9.8bc	1.2 $\pm$ 0.7b	0.0 $\pm$ 0.0b	0.0 $\pm$ 0.0	175.2 $\pm$ 22.8abc	145.8 $\pm$ 14.1abc	0.4 $\pm$ 0.3b	0.1 $\pm$ 0.1	
4	100.3 $\pm$ 24.5abc	4.3 $\pm$ 1.2b	0.2 $\pm$ 0.1b	0.0 $\pm$ 0.0	172.1 $\pm$ 25.6abcd	169.6 $\pm$ 29.0ab	6.0 $\pm$ 2.1b	0.1 $\pm$ 0.1	
5	123.8 $\pm$ 22.3ab	3.3 $\pm$ 0.6b	0.3 $\pm$ 0.2ab	0.0 $\pm$ 0.0	97.4 $\pm$ 21.6cde	89.1 $\pm$ 13.6bc	29.7 $\pm$ 11.7ab	1.0 $\pm$ 0.3	
6	47.7 $\pm$ 7.7c	3.1 $\pm$ 1.6b	0.1 $\pm$ 0.1b	0.0 $\pm$ 0.0	182.8 $\pm$ 17.0abc	188.3 $\pm$ 17.7a	4.8 $\pm$ 3.2b	0.1 $\pm$ 0.1	
7	62.4 $\pm$ 10.5bc	3.7 $\pm$ 1.2b	0.1 $\pm$ 0.1b	0.0 $\pm$ 0.0	192.4 $\pm$ 16.2ab	154.4 $\pm$ 24.3ab	10.3 $\pm$ 1.8ab	0.8 $\pm$ 0.4	
8	148.2 $\pm$ 19.3a	11.8 $\pm$ 3.0a	1.0 $\pm$ 0.3a	0.0 $\pm$ 0.0	225.0 $\pm$ 29.5a	177.1 $\pm$ 40.2ab	5.0 $\pm$ 1.4b	0.8 $\pm$ 0.3	

### 6.3.3 Υπολειμματική δράση του spinetoram

Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι η υπολειμματική δράση του spinetoram ήταν σταθερή και δεν παρατηρήθηκε μείωση μεταξύ της αρχικής ημέρας του ψεκασμού και του τελευταίου μήνα των βιοδοκιμών (Διάγραμμα 1 και 5). Επιπλέον, η αναλογία J/L παρέμεινε σταθερή (κατά μέσο όρο 3.9) για το σύνολο της περιόδου αποθήκευσης, η οποία παρέχει μια επιπλέον ένδειξη ότι αμφότερα τα συστατικά του spinetoram παρέμειναν σταθερά.



**Διάγραμμα 5.** Η εξέλιξη των υπολειμμάτων του spinetoram σε σιτάρι κατά τη διάρκεια αποθήκευσης των 8 μηνών, εκφρασμένα ως ποσοστό της αρχικής συγκέντρωσης (δηλ. του μήνα “0”, όπου η συγκέντρωση θεωρήθηκε 100%). Κάθε τιμή είναι ο μέσος όρος ( $\pm$  T.A.) των τριών επαναλήψεων.

### 6.4 Συζήτηση

Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι το spinetoram (σπινোসίνες J και L) δεν διασπάται και δεν χάνει την αποτελεσματικότητά του τουλάχιστον για μια περίοδο αποθήκευσης 8 μηνών σε καθορισμένες εργαστηριακές συνθήκες. Σε προηγούμενες μελέτες, το spinosad έδειξε παρόμοια επίπεδα υπολειμματικής δράσης (Fang et al, 2002b; Maier et al, 2006; Vayias et al, 2010; Hertlein et al, 2011). Οι Fang et al. (2002b) εξετάζοντας την υπολειμματικότητα του spinosad σε μηνιαία διαστήματα για μια περίοδο 12 μηνών, ανέφεραν ότι το spinosad δεν αποικοδομήθηκε και παρέμεινε σταθερό για το σύνολο της περιόδου. Οι Vayias et al. (2010), πραγματοποιώντας βιοδοκιμές για μια περίοδο 6 μηνών, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η

υπολειμματική δράση του spinosad κατά του *T. confusum* και του *Cryptolestes ferrugineus* (Stephens) (Coleoptera: Laemophloeidae) μειώθηκε. Στη μελέτη μας, σε συνεχές σκοτάδι, η υπολειμματική δράση του spinetoram παρέμεινε σταθερή, αν και καταγράφηκαν κάποιες διακυμάνσεις μεταξύ των μηνών. Οι διακυμάνσεις αυτές έχουν επίσης αναφερθεί και από τους Mutambuki et al. (2012) για την αποτελεσματικότητα της σκόνης του spinosad κατά του *S. zeamais*, κατά τη διάρκεια μιας μελέτης 6 μηνών. Μία πιθανή εξήγηση για αυτές τις διακυμάνσεις θα μπορούσε να είναι η ανομοιόμορφη κατανομή του εντομοκτόνου σε ολόκληρη την μάζα του δημητριακού. Η άνιση κατανομή του S-methoprene οδήγησε σε μειωμένο έλεγχο του *R. dominica* (Daglish and Nayak, 2010). Για την εφαρμογή του εντομοκτόνου στη μάζα του δημητριακού, πολλές μελέτες έδειξαν ότι οι πραγματικές συγκεντρώσεις που εφαρμόζονται στα δημητριακά είναι μικρότερες από αυτές που αρχικά υπολογίζονται (Arthur et al., 1992; Daglish and Nayak, 2006). Αυτές οι απώλειες μπορεί να οφείλονται σε σφάλματα κατά την παρασκευή του διαλύματος, ή στην τεχνική εφαρμογής, καθώς και στη μέθοδο προσδιορισμού υπολειμμάτων που χρησιμοποιείται (Fang et al., 2002b). Στις βιοδοκιμές μας, τα υπολείμματα που προσδιορίστηκαν αμέσως μετά τον ψεκασμό, ήταν στο ίδιο επίπεδο με εκείνα που αρχικά προετοιμάστηκαν. Αυτές οι διαφοροποιήσεις υπογραμμίζουν τη σημασία που έχει η υιοθέτηση τυποποιημένων πρωτοκόλλων για την παρασκευή των διαλυμάτων, την εφαρμογή των εντομοκτόνων και την ανάλυση των υπολειμμάτων. Στον αγρό, για το *R. pomonella*, διαπιστώθηκε ότι η εφαρμογή παλαιωμένου για 14 ημέρες διαλύματος spinetoram, κάτω από τις ζεστές και ξηρές συνθήκες αγρού, είχε μειωμένη εντομοκτόνο δράση, ενώ ένα φρέσκο διάλειμμα ήταν εξαιρετικά δραστικό (Yee et al., 2007). Αυτή η αποικοδόμηση είναι επίσης γνωστή και για το spinosad, το οποίο διασπάται όταν εκτίθεται στο φως του ήλιου (Saunders and Bret, 1997). Η θερμοκρασία και η περιεκτικότητα σε υγρασία φαίνεται να παίζουν το δικό τους ρόλο σε διαδικασίες αποδόμησης για το chlorpyrifos-methyl (Arthur et al., 1992), αλλά όχι για την υπολειμματική δράση του spinosad (Fang et al., 2002b).

Η αποτελεσματικότητα του spinetoram διήρκεσε για ολόκληρη την 8μηνη περίοδο των βιοδοκιμών κατά του *R. dominica*, κάτι που επέδρασε στην παραγωγή απογόνων που περιορίστηκε, και ιδίως στα δύο υψηλότερα επίπεδα συγκέντρωσης. Ομοίως, άλλες μελέτες απέδειξαν την μακροχρόνια αποτελεσματικότητα του



spinosad για το *R. dominica* (Fang et al., 2002b; Daghli and Nayak, 2006). Οι Daghli and Nayak (2006) αξιολογώντας το spinosad για μια περίοδο 9 μηνών σε συνθήκες 30 °C και 55-70% Σ.Υ., βρήκαν ότι στα 0.5 και 1 ppm το spinosad προκάλεσε 100% θνησιμότητα μετά από 14 ημέρες έκθεσης για ολόκληρη την περίοδο των βιοδοκιμών. Τα αποτελέσματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με τα ευρήματα του πειράματός μας με το spinetoram. Ομοίως, στην περίπτωση του *S. oryzae*, το spinetoram κατέδειξε υψηλή τοξικότητα καθ' όλη τη διάρκεια της περιόδου αποθήκευσης. Στις συγκεντρώσεις spinetoram των 1 και 5 ppm, τα επίπεδα θνησιμότητας έφθασαν το 100%, αν και η παραγωγή απογόνων κατεστάλη εντελώς, μόνο στην υψηλότερη συγκέντρωση. Οι Vayias et al. (2010) για το spinosad σε συγκέντρωση 1 ppm, διαπίστωσαν ότι το *S. oryzae* ελέγχθηκε επαρκώς για το σύνολο των 6 μηνών της περιόδου των βιοδοκιμών. Ομοίως, από τα προηγούμενα πειραματικά μας πρωτόκολλα φαίνεται ότι το spinetoram είναι αποτελεσματικό κατά των ακμαίων του *S. oryzae*. Αντίθετα, το spinetoram απέτυχε να ελέγξει επαρκώς τα ακμαία του *T. confusum* σε όλα τα επίπεδα συγκέντρωσης που δοκιμάστηκαν, ενώ η θνησιμότητα στα 5 ppm κυμάνθηκε από 45 ως 85% μετά από 21 ημέρες έκθεσης. Το *T. confusum* κατατάσσεται μεταξύ των λιγότερο ευαίσθητων ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων στο spinosad (Nayak et al, 2005; Hertlein et al., 2011; Subramanyam et al., 2012). Ακόμα κι αν το spinetoram δεν είναι σε θέση να ελέγξει τα ακμαία του *T. confusum*, ένα ικανοποιητικό επίπεδο ελέγχου ήταν πιθανό να συμβεί. Με βάση μια σχετικά πρόσφατη μελέτη, οι Saglam et al. (2013) βρήκαν ότι οι προνύμφες του *T. confusum*, και ιδιαίτερα οι νεαρές προνύμφες, ήταν ευαίσθητες σε επιφάνεια τσιμέντου που είχε ψεκάσει με το spinetoram. Τα ευρήματα αυτά, σε συνδυασμό με τη σταθερότητα των υπολειμμάτων του spinetoram, δείχνουν ότι το *T. confusum* μπορεί να ελεγχθεί τελικά μέσα από την υψηλή θνησιμότητα των προνυμφικών σταδίων.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι το spinetoram είναι πολύ σταθερό μέσα στο χρόνο, και η εντομοκτόνος δράση του είναι ιδιαίτερα σταθερή εναντίον των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων που δοκιμάστηκαν. Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν το spinetoram ένα πολλά υποσχόμενο υπολειμματικό εντομοκτόνο αποθηκευμένων δημητριακών και μια καλή εναλλακτική λύση για τις ήδη παραδοσιακά χρησιμοποιούμενες νευροτοξικές ενώσεις. Περαιτέρω δεδομένα

απαιτούνται σε πραγματικές συνθήκες για την πλήρη αξιολόγηση της υπολειμματικής δράσης του spinetoram στην πάροδο του χρόνου.

## 7. Επίδραση του είδους του δημητριακού στην αποτελεσματικότητα του *spinetoram* εναντίον των *Rhizopertha dominica*, *Sitophilus granarius* και *Sitophilus oryzae*

### 7.1 Εισαγωγή

Οι σπινοσίνες, οι οποίες ενεργούν ως εντομοκτόνα στο νευρικό σύστημα των εντόμων, σε μια μοναδική θέση στο νικοτινικό υποδοχέα της ακετυλοχολίνης, εμφανίζουν χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά και θεωρούνται αβλαβείς για το περιβάλλον, δεδομένου ότι αποικοδομούνται σε απλούστερες ενώσεις, που περιέχουν μόνο άνθρακα, οξυγόνο, άζωτο και υδρογόνο (Drippe et al., 2011). Ο πρώτος εκπρόσωπος των εντομοκτόνων της ομάδας των σπινοσινών ήταν το spinosad. Υπό εργαστηριακές και πραγματικές συνθήκες, το spinosad βρέθηκε αποτελεσματικό για τον έλεγχο ενός ευρέος φάσματος εντόμων αποθηκευμένων δημητριακών, τόσο όταν εφαρμόζεται απευθείας σε σπόρους όσο και σε επιφάνειες (Fang et al., 2002a; Toews et al., 2003; Huang and Subramanyam, 2004; Subramanyam et al., 2007; Athanassiou et al., 2008a). Από τα αποτελέσματα των προηγούμενων ενοτήτων, το spinetoram, το δεύτερο εμπορικά διαθέσιμο μέλος της οικογένειας των σπινοσινών, βρέθηκε να είναι αποτελεσματικό σε μια ποικιλία από βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες (είδη εντόμων, θερμοκρασίες, κλπ.). Επιπλέον, τα δύο κύρια πρωτεύοντα είδη κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων, το *S. oryzae* και το *R. dominica* βρέθηκαν να είναι ευαίσθητα στο spinetoram, κάτι πολύ σημαντικό μιας και τα δύο αυτά είδη έχουν αναπτύξει ανθεκτικότητα σε πολλά παραδοσιακά νευροτοξικά εντομοκτόνα με μακρά υπολειμματική δράση και στη φωσφίνη (Arthur, 1996; Nayak et al., 2005; Opit et al., 2012; Darglish et al., 2014). Για παράδειγμα, σε μια πρόσφατη μελέτη, οι Bajracharya et al. (2013) βρήκαν ότι το spinosad σε συγκέντρωση 1 ppm ήταν αποτελεσματικό εναντίον ενός στελέχους του *R. dominica*, το οποίο ήταν ανθεκτικό στη φωσφίνη.

Το είδος του δημητριακού αποδείχθηκε ότι είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την εντομοκτόνο αποτελεσματικότητα σε πολλές νέες δραστικές ουσίες. Οι Kavallieratos et al. (2011) ανέφεραν ότι για το chlorfenapyr στο σιτάρι, το κριθάρι, τον αραβόσιτο και το αναποφλοιώτο ρύζι, το είδος του δημητριακού επηρέασε την εντομοκτόνο δράση και αποτελεσματικότητά του, και επίσης ότι η επίδραση αυτή σχετιζόταν με τη συγκέντρωση και το είδος του εντόμου-στόχου.

Επιπλέον, οι Kavallieratos et al. (2010a) βρήκαν ότι μεταξύ των βασικών δημητριακών, η αποτελεσματικότητα του *fenprol* κατά των κύριων ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, ήταν χαμηλότερη στο αναποφλοιώτο ρύζι από ότι στο κριθάρι, το καλαμπόκι και το σιτάρι. Διαφορές στην αποτελεσματικότητα του *spinosad* μεταξύ των διαφόρων ειδών δημητριακών έχουν επίσης αναφερθεί και σε άλλες μελέτες (Fang et al., 2002a; Chintzoglou et al., 2008a; Vayias et al., 2009b; Athanassiou et al., 2010). Ο λόγος για τις διαφορές αυτές, θα μπορούσε να αποδοθεί στη διαθεσιμότητα των υπολειμμάτων του *spinosad*, στα χημικά χαρακτηριστικά των σπόρων των δημητριακών ή στα χαρακτηριστικά της επιφάνειας των σπόρων. Για το *spinetoram*, διαφορές στην αποτελεσματικότητα μεταξύ αναποφλοιώτου ρυζιού και σκληρού σιταριού καταγράφηκαν στην περίπτωση του *S. oryzae* στην 3<sup>η</sup> πειραματική ενότητα, όπου το *spinetoram*, υπό το σενάριο της άνισης κατανομής του εντομοκτόνου στη μάζα του δημητριακού, βρέθηκε να έχει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα στο σκληρό σιτάρι από ότι στο αναποφλοιώτο ρύζι. Παρ'όλα αυτά, δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα για την άμεση σύγκριση των διαφόρων ειδών δημητριακών σχετικά με την αποτελεσματικότητα του *spinetoram* εφαρμοζόμενο σε όλη τη μάζα του δημητριακού. Στην παρούσα μελέτη, ερευνήθηκαν α) η εντομοκτόνος αποτελεσματικότητα του *spinetoram* στα *S. oryzae*, *R. dominica* και *S. granarius* σε επτά διαφορετικά δημητριακά, β) η παραγωγή απογόνων από τα εκτεθειμένα ακμαία σε κάθε δημητριακό και γ) τα υπολείμματα του *spinetoram* σε κάθε δημητριακό αμέσως μετά τον ψεκασμό τους.

## 7.2 Υλικά και Μέθοδοι

### 7.2.1 Έντομα και υποστρώματα βιοδοκιμών

Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν ακμαία των *S. granarius*, *S. oryzae* και *R. dominica*, των οποίων η εκτροφή έγινε σύμφωνα με τις διαδικασίες που περιγράφηκαν στην υποενότητα 1.1. της Ενότητας Β. Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν σκληρό σιτάρι (ποικιλία Claudio), μαλακό σιτάρι (*Triticum aestivum* L., ποικιλία Vergina), βρώμη (*Avena sativa* L., ποικιλία Cassandra), σίκαλη (*Secale cereale* L., ποικιλία Danko), Triticale ( $\times$  *Triticosecale* Wittmack, ποικιλία Vronti), αναποφλοιώτο ρύζι (*Oryza sativa* L., ποικιλία Thiabonnet) και αραβόσιτος (υβρίδιο Δίας). Πριν από την έναρξη του πειράματος, η υγρασία των δημητριακών

ρυθμίστηκε στο  $13.5 \pm 0.4\%$ , όπως μετρήθηκε από το μετρητή υγρασίας σπόρων (Multitest, Gode CO, France). Η προσαρμογή της υγρασίας στο επιθυμητό επίπεδο επιτεύχθηκε με ξήρανση των σπόρων σε κλίβανο στους  $50 \pm 1$  °C ή με την προσθήκη απεσταγμένου νερού (με ψεκασμό), ανάλογα με την αρχική περιεκτικότητά τους σε υγρασία.

### 7.2.2 Εφαρμογή του spinetoram

Χρησιμοποιήθηκε spinetoram υπό μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος (SC), το οποίο περιείχε 11.7 % σε δραστική ουσία (δ.ο.) (Dow AgroSciences, UK). Ποσότητες 0.5 κιλών δημητριακών ψεκάστηκαν με spinetoram στις συγκεντρώσεις των 0.1, 1 και 10 ppm (mg δ.ο. / kg δημητριακού) χρησιμοποιώντας ποσότητα 1 ml ψεκαστικού διαλύματος ανά kg δημητριακού (0.5 ml από το ψεκαστικό διάλυμα spinetoram ανά 0.5 kg του δημητριακού) με τη χρήση καλλιτεχνικού αερογράφου (Mecafer AG4, Mecafer Co., France). Για να επιτευχθεί ίση κατανομή του εντομοκτόνου στα δημητριακά, ακολουθήθηκε η διαδικασία που περιγράφηκε στην Ενότητα Β, υποενότητα 2.2.2.. Επιπλέον ποσότητες 0.5 κιλών σπόρων των δημητριακών ψεκάστηκαν με απεσταγμένο νερό και χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες.

### 7.2.3 Βιοδοκιμές

Οι συνθήκες διεξαγωγής των βιοδοκιμών ήταν 25 °C, 60% Σ.Υ., και συνεχές σκοτάδι. Οι πειραματικές μονάδες για τις βιοδοκιμές ήταν πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (διαμέτρου 3 cm, ύψους 8 cm). Για κάθε συνδυασμό είδους εντόμου-συγκέντρωσης εντομοκτόνου-δημητριακού, προετοιμάστηκαν τρία φιαλίδια με 20 g δημητριακού. Στη συνέχεια, είκοσι ακμαία των υπό εξέταση ειδών εισήχθησαν σε κάθε φιαλίδιο (διαφορετικά φιαλίδια για κάθε είδος), και στη συνέχεια όλα τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών, που ρυθμίστηκαν στις προαναφερθείσες συνθήκες. Η θνησιμότητα των ακμαίων καταγράφηκε μετά από έκθεση 7 και 14 ημερών στο εντομοκτόνο. Μετά τις μετρήσεις της θνησιμότητας των 14 ημερών, όλα τα ακμαία (νεκρά και ζωντανά) απομακρύνθηκαν από το προϊόν και τα φιαλίδια επέστρεψαν χωρίς έντομα, στις ίδιες συνθήκες. Στη συνέχεια, η εμφάνιση απογόνων στα φιαλίδια μετρήθηκε εξήντα πέντε ημέρες αργότερα. Η παραπάνω διαδικασία έγινε σε τρεις επαναλήψεις.

#### 7.2.4 Εκχύλιση εντομοκτόνου και προσδιορισμός υπολειμμάτων

Παράλληλα με τις βιοδοκιμές και για τη συγκέντρωση των 10 ppm, δείγματα 20 g ψεκασμένων σπόρων δημητριακών ή μη ψεκασμένων με εντομοκτόνο του μάρτυρα ελήφθησαν χωριστά από όλες τις επαναλήψεις και τοποθετήθηκαν σε φιαλίδια (διαφορετικά φιαλίδια για κάθε δημητριακό), όπως παραπάνω. Τα δείγματα στη συνέχεια τοποθετήθηκαν σε ένα καταψύκτη στους  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  ( $\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) και αποθηκεύτηκαν μέχρι την ανάλυσή τους για τον προσδιορισμό των υπολειμμάτων του spinetoram. Η εκχύλιση των σπόρων και ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων για κάθε δημητριακό ξεχωριστά, έγινε ακολουθώντας το πρωτόκολλο που περιγράφεται σε προηγούμενη πειραματική ενότητα (βλ. υποενότητα 6.2.4). Εν συντομία, 5 g από κάθε δείγμα επανάληψης (τα τρία φιαλίδια κάθε επανάληψης συγχωνεύθηκαν σε ένα δείγμα) τοποθετήθηκαν σε ένα γυάλινο φιαλίδιο και εκχυλίστηκαν με 30 ml διαλύματος ακετόνης-εξανίου (1:2 v/v) σε ένα μηχανικό ανακινητή για 2 ώρες. Στη συνέχεια, 25 ml του εκχυλίσματος εξατμίστηκε μέχρι ξηρού, υπό κενό, και το ξηρό υπόλειμμα ανασυστάθηκε με 2 ml μεθανόλης και διηθήθηκε σε νάilon φίλτρα μεμβράνης πριν από την έγχυση στο σύστημα του υγρού χρωματογράφου υψηλής απόδοσης (HPLC).

Ο προσδιορισμός των υπολειμμάτων έγινε σε σύστημα υγρής χρωματογραφίας (HPLC) Hewlett Packard 1100 με ανίχνευση UV στα 245 nm. Η ανάλυση διεξήχθη σε στήλη NUCLEOSIL® 100-5 C18 διαστάσεων 250 x 4.6 mm I.D., στους  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ , μετά από βαθμιδωτή έκλυση με μία ταχύτητα ροής 1 ml/min. Τα υπολείμματα του spinetoram στα δείγματα δημητριακών προσδιορίστηκαν με έγχυση 20 μl του τελικού εκχυλίσματος στο σύστημα HPLC. Ποσοτικά δεδομένα ελήφθησαν μέσω της καμπύλης βαθμονόμησης που λήφθηκε με την έγχυση προτύπων διαλυμάτων του spinetoram.

#### 7.2.5 Ανάλυση δεδομένων

Η θνησιμότητα του μάρτυρα ήταν γενικά χαμηλή, οπότε δεν θεωρήθηκε απαραίτητη καμία διόρθωση της θνησιμότητας. Η θνησιμότητα των ακμαίων αναλύθηκε χωριστά για κάθε είδος χρησιμοποιώντας την πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (repeated-measures MANOVA) με βάση τον έλεγχο Wilk's lambda και με χρήση του λογισμικού JMP 7 (Sall et al., 2001), με τη συγκέντρωση του εντομοκτόνου και το δημητριακό ως κύριες

επιδράσεις, και την θνησιμότητα στο χρόνο, ως επαναλαμβανόμενη μεταβλητή. Για την παραγωγή απογόνων, έγινε ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (two way-ANOVA), χρησιμοποιώντας το ίδιο λογισμικό, με τον αριθμό των απογόνων ως εξαρτημένη μεταβλητή, και τη συγκέντρωση και το δημητριακό ως κύριες επιδράσεις. Στην περίπτωση αυτή, ο αριθμός των απογόνων στα φιαλίδια του μάρτυρα συμπεριλήφθηκε στην ανάλυση. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το Tukey-Kramer HSD test σε επίπεδο 0.05 (Sokal and Rohlf, 1995). Από τις δύο σπινουσίνες μόνο το κύριο συστατικό, η σπινουσίνη J, χρησιμοποιήθηκε για την ποσοτικοποίηση των υπολειμμάτων του spinetoram στα δημητριακά, μιας και οι χρωματογραφικές κορυφές της σπινουσίνης L δεν ξεχώρισαν σαφώς, λόγω των παρεμβολών που παρουσιάστηκαν στα χρωματογραφήματα από άλλες ουσίες των δημητριακών. Τα ποσοτικά δεδομένα των υπολειμμάτων του spinetoram στα δημητριακά, βασίστηκαν στην έκταση που καταλάμβαναν οι χρωματογραφικές κορυφές της σπινουσίνης J, που λήφθηκαν μέσω της καμπύλης βαθμονόμησης, η οποία παράχθηκε από την έγχυση των προτύπων διαλυμάτων του spinetoram. Οι συγκεντρώσεις των υπολειμμάτων του spinetoram στα είδη των δημητριακών του πειράματος υποβλήθηκαν σε ανάλυση διακύμανσης ενός παράγοντα (one-way ANOVA), για να εξεταστούν οι διαφορές μεταξύ των ψεκασμένων δημητριακών.

### 7.3 Αποτελέσματα

#### 7.3.1 *R. dominica*

Όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις ήταν σημαντικές (Πίνακας 1). Στα 0.1 ppm, η θνησιμότητα των ακμαίων του *R. dominica* ήταν σημαντικά χαμηλότερη για τον αραβόσιτο, σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δημητριακά (Πίνακας 2). Ωστόσο, σε υψηλότερες συγκεντρώσεις, και παρά το γεγονός ότι υπήρχαν σημαντικές διαφορές σε ορισμένες από τις περιπτώσεις που εξετάστηκαν, η θνησιμότητα ήταν γενικά υψηλή (92-100%) για όλα τα δημητριακά.

Όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές και στην περίπτωση της παραγωγής απογόνων (Πίνακας 3). Σημαντικές διαφορές στην παραγωγή απογόνων παρατηρήθηκαν μόνο στην περίπτωση του 0.1 ppm. Ως εκ τούτου, σε αυτή τη συγκέντρωση, η μεγαλύτερη παραγωγή απογόνων καταγράφηκε στο ρύζι και στη σίκαλη με 19 και 10 ακμαία ανά φιαλίδιο, αντίστοιχα (Διάγραμμα

1). Η παραγωγή απογόνων ήταν χαμηλή σε όλα τα δημητριακά και δεν υπερέβη το 1 ακμαίο ανά φιαλίδιο στο 1 ppm, ενώ στα 10 ppm η παραγωγή απογόνων κατεστάλη πλήρως.

**Πίνακας 1.** Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας, για τους παράγοντες είδος δημητριακού και συγκέντρωσης για όλα τα είδη που εξετάστηκαν (B.E. σφάλματος = 168).

Πηγή παραλλακτικότητας	<i>R. dominica</i>			<i>S. granarius</i>		<i>S. oryzae</i>	
	B.E.	F	P	F	P	F	P
Μεταξύ των μεταβλητών	20	6.2	<0.01	244.4	<0.01	37.5	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	159656.9	<0.01	22317.2	<0.01	9808.7	<0.01
Δημητριακό (Δημητρ.)	6	3.5	<0.01	27.3	<0.01	20.4	<0.01
Συγκέντρωση (Συγκ.)	2	25.9	<0.01	2278.1	<0.01	266.4	<0.01
Δημητρ. X Συγκ.	12	4.2	<0.01	14.0	<0.01	7.9	<0.01
Εντός των μεταβλητών	20	5.0	<0.01	10.5	<0.01	5.8	<0.01
Χρόνος	1	82.7	<0.01	281.2	<0.01	124.5	<0.01
Χρόνος X Συγκ.	6	1.9	0.08	2.4	0.03	2.7	0.02
Χρόνος X Δημητρ.	2	26.2	<0.01	58.5	<0.01	31.4	<0.01
Χρόνος X Συγκ. X Δημητρ.	12	3.0	<0.01	6.6	<0.01	3.1	<0.01

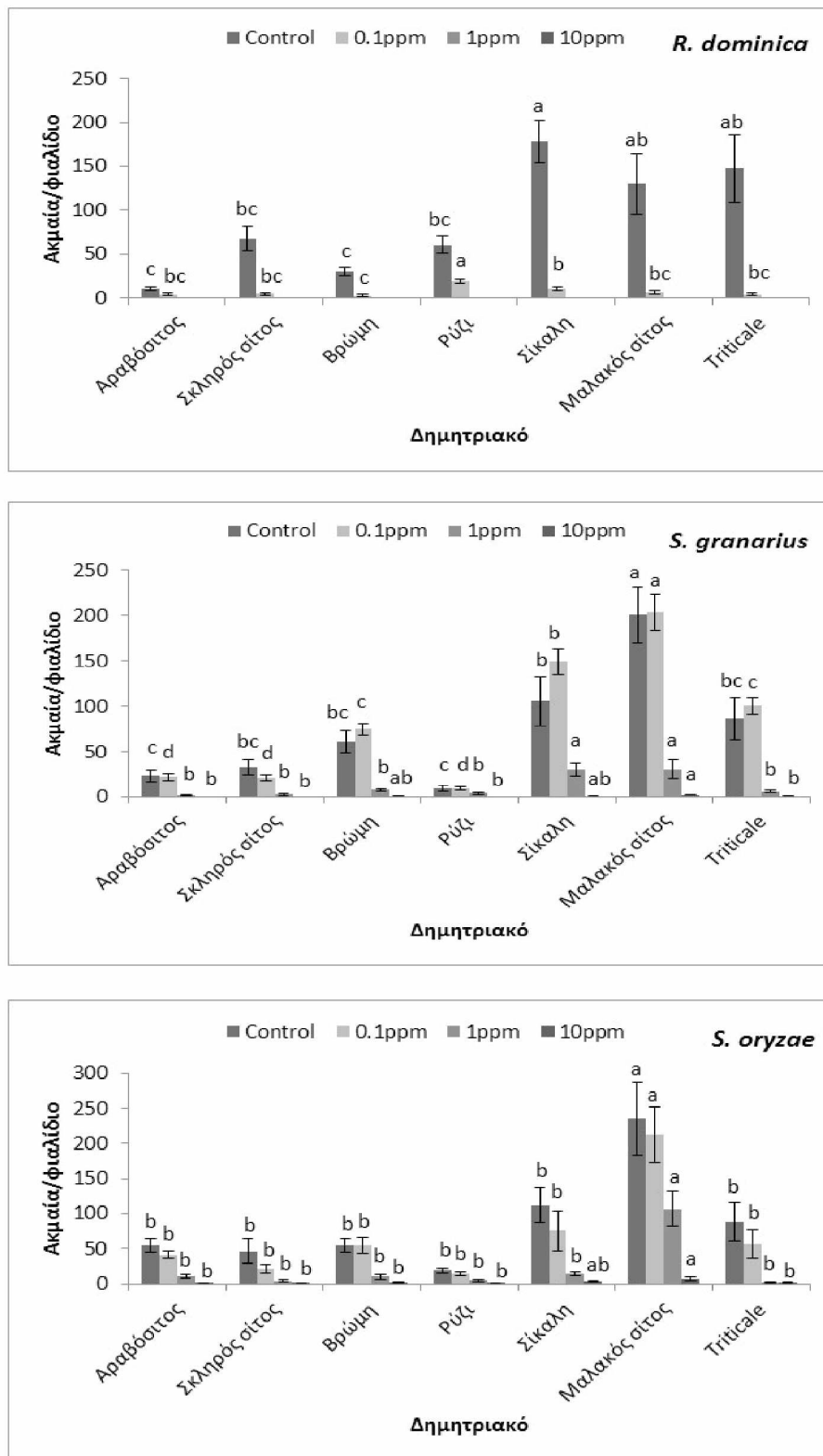
**Πίνακας 2.** Μέσος Όρος (% ± T.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *R. dominica* που εκτέθηκαν σε επτά είδη δημητριακών ψεκάσμένων με spinetoram στις συγκεντρώσεις των 0.1, 1 and 10 ppm (σε κάθε στήλη, οι Μ.Ο. που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

	7-Ημέρες έκθεσης			14-Ημέρες έκθεσης		
	0.1 ppm	1 ppm	10 ppm	0.1 ppm	1 ppm	10 ppm
Αραβόσιτος	79.4±6.0b	97.2±0.9ab	100.0±0.0	95.8±1.8b	100.0±0.0	100.0±0.0
Σκληρό σιτάρι	95.6±2.3a	98.9±0.7a	100.0±0.0	100.0±0.0a	100.0±0.0	100.0±0.0
Βρώμη	91.1±3.4ab	98.9±0.7a	100.0±0.0	100.0±0.0a	100.0±0.0	100.0±0.0
Ρύζι	96.1±1.8a	97.2±1.5ab	99.4±0.6	100.0±0.0a	100.0±0.0	100.0±0.0
Σίκαλη	96.1±1.4a	92.2±2.5b	98.9±0.7	100.0±0.0a	100.0±0.0	100.0±0.0
Μαλακό σιτάρι	93.3±2.4a	94.5±1.7ab	100.0±0.0	98.9±1.1ab	100.0±0.0	100.0±0.0
Triticale	92.4±2.0ab	97.8±1.2ab	100.0±0.0	100.0±0.0a	100.0±0.0	100.0±0.0



**Πίνακας 3.** Ανάλυση διακύμανσης της παραγωγής απογόνων για τα είδη δημητριακών και τις συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν, συμπεριλαμβανομένου τον μάρτυρα (B.E. σφάλματος = 224).

	B.E.	<i>R. dominica</i>		<i>S. granarius</i>		<i>S. oryzae</i>	
		<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
Δημητριακό	6	8.1	<0.01	47.2	<0.01	26.4	<0.01
Συγκέντρωση	3	102.9	<0.01	104.3	<0.01	37.4	<0.01
Δημητριακό X Συγκέντρωση	18	7.8	<0.01	11.7	<0.01	3.7	<0.01



**Διάγραμμα 1.** Μέσος Όρος των απογόνων των *R. dominica*, *S. granarius* και *S. oryzae* (αριθμός ακμαίων ανά φιαλίδιο ± Τ.Σ.) στα φιαλίδια που περιείχαν διάφορα δημητριακά ψεκάσμενα με spinetoram στις συγκεντρώσεις των 0, 0.1, 1 and 10 ppm (σε κάθε συγκέντρωση, οι Μ.Ο που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

### 7.3.2 *S. granarius*

Όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις ήταν σημαντικές (Πίνακας 1). Στο 0.1 ppm, μετά από 7 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα ήταν σημαντικά χαμηλότερη στο μαλακό σιτάρι και στη βρώμη, σε σύγκριση με τα υπόλοιπα δημητριακά (Πίνακας 4), ενώ η υψηλότερη θνησιμότητα καταγράφηκε στο σκληρό σιτάρι. Στο ίδιο διάστημα, και στο 1 ppm, η θνησιμότητα ήταν ακόμα σε χαμηλά επίπεδα στο μαλακό σιτάρι και στη βρώμη (74 και 73%, αντίστοιχα), ενώ >94% των εκτεθειμένων ακμαίων ήταν νεκρά στο σκληρό σιτάρι. Τέλος, στα 10 ppm, η θνησιμότητα των ακμαίων ήταν 100% για τον αραβόσιτο, τη σίκαλη και το τριτικάλε και >97% για όλα τα άλλα δημητριακά, με εξαίρεση τη βρώμη. Επτά ημέρες αργότερα, η θνησιμότητα αυξήθηκε μόνο ελαφρώς σε όλα τα δημητριακά στα οποία είχε εφαρμοσθεί το 0.1 ppm (Πίνακας 4). Έτσι, η θνησιμότητα στο μαλακό σιτάρι και στη βρώμη, στα 0.1 ppm, ήταν 17 και 12%, αντίστοιχα, ενώ η θνησιμότητα για το σκληρό σιτάρι ήταν 73%. Σε αυτό το διάστημα έκθεσης, στο 1 ppm, η θνησιμότητα ήταν κοντά στο 100%, χωρίς σημαντικές διαφορές μεταξύ των δημητριακών. Στα 10 ppm το 100% όλων των ακμαίων του *S. granarius* ήταν νεκρά σε όλα τα δημητριακά στα οποία είχε εφαρμοσθεί το εντομοκτόνο.

Όσον αφορά τις μετρήσεις στην παραγωγή απογόνων, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 3). Η παραγωγή απογόνων στο 0.1 ppm ήταν υψηλή σε όλα τα δημητριακά, και κυμάνθηκε μεταξύ 10 (στο ρύζι) και 203 (στο μαλακό σιτάρι) ακμαία ανά φιαλίδιο (Διάγραμμα 1). Σε αυτή τη δόση, η παραγωγή απογόνων στους ψεκασμένους σπόρους ήταν παραπλήσια με εκείνη του μάρτυρα (Διάγραμμα 1B). Ωστόσο, στο 1 ppm, σε όλα τα δημητριακά, η παραγωγή απογόνων ήταν μικρότερη από 8 ακμαία ανά φιαλίδιο με εξαίρεση στο μαλακό σιτάρι και στη σίκαλη όπου καταγράφηκαν 30 ακμαία ανά φιαλίδιο. Τέλος, η παραγωγή απογόνων στα 10 ppm ήταν μικρότερη από 3 ακμαία ανά φιαλίδιο σε όλα τα δημητριακά.

**Πίνακας 4.** Μέσος Όρος (%  $\pm$  Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων του *S. granarius* που εκτέθηκαν σε επτά είδη δημητριακών ψεκασμένων με spinetoram στις συγκεντρώσεις των 0.1, 1 and 10 ppm (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).

	7 Ημέρες έκθεσης			14 Ημέρες έκθεσης		
	0.1ppm	1ppm	10ppm	0.1ppm	1ppm	10ppm
Αραβόσιτος	17.2 $\pm$ 4.3bcd	87.3 $\pm$ 4.3ab	100.0 $\pm$ 0.0a	34.1 $\pm$ 5.7b	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
Σκληρό σιτάρι	40.8 $\pm$ 3.0a	94.5 $\pm$ 1.6a	99.4 $\pm$ 0.6ab	73.4 $\pm$ 3.0a	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
Βρώμη	7.3 $\pm$ 1.9cd	72.6 $\pm$ 2.9b	96.5 $\pm$ 1.6b	12.4 $\pm$ 3.1d	98.3 $\pm$ 0.8	100.0 $\pm$ 0.0
Ρύζι	20.0 $\pm$ 4.5bc	78.4 $\pm$ 9.1ab	98.9 $\pm$ 0.7ab	43.9 $\pm$ 2.6b	99.4 $\pm$ 0.6	100.0 $\pm$ 0.0
Σικάλη	14.0 $\pm$ 2.7bcd	74.9 $\pm$ 4.0ab	100.0 $\pm$ 0.0a	30.9 $\pm$ 3.2bc	97.8 $\pm$ 1.2	100.0 $\pm$ 0.0
Μαλακό σιτάρι	6.6 $\pm$ 1.2d	73.9 $\pm$ 4.5b	97.8 $\pm$ 0.9ab	16.6 $\pm$ 2.5cd	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
Triticale	20.6 $\pm$ 2.1b	90.6 $\pm$ 2.8ab	100.0 $\pm$ 0.0a	30.7 $\pm$ 3.3bc	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0

### 7.3.3 *S. oryzae*

Όσον αφορά τις μετρήσεις της θνησιμότητας, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές (Πίνακας 1). Στο 0.1 ppm, και στα δύο διαστήματα έκθεσης, το spinetoram ήταν σημαντικά αποτελεσματικότερο στο σκληρό σιτάρι και λιγότερο αποτελεσματικό στον αραβόσιτο. Η θνησιμότητα μετά από 7 ημέρες έκθεσης των ακμαίων ήταν 16 και 70% για τον αραβόσιτο και το σκληρό σιτάρι, αντίστοιχα (Πίνακας 5). Στο 1 ppm, ωστόσο, η θνησιμότητα ήταν σημαντικά αυξημένη, αλλά πλήρης έλεγχος (100%) των ακμαίων δεν επετεύχθη σε κανένα από τα δημητριακά που εξετάστηκαν. Για το ίδιο χρονικό διάστημα έκθεσης στα 10 ppm η θνησιμότητα ήταν 100% σε όλα τα δημητριακά με εξαίρεση το μαλακό σιτάρι. Μετά από 14 ημέρες έκθεσης, στο 0,1 ppm η θνησιμότητα αυξήθηκε περαιτέρω και έφτασε το 24 και 87% για τον αραβόσιτο και το σκληρό σιτάρι, αντίστοιχα, ενώ στα άλλα δημητριακά κυμάνθηκε μεταξύ 49 και 79%. Για το ίδιο διάστημα έκθεσης, στο 1 ppm, η θνησιμότητα επίσης αυξήθηκε, αλλά δεν έφτασε το 100%. Τέλος, στα 10 ppm, και μετά από 14 ημέρες έκθεσης η θνησιμότητα ήταν 100% σε όλα τα δημητριακά (Πίνακας 5).

Όσον αφορά την παραγωγή απογόνων του *S. oryzae*, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις ήταν σημαντικές (Πίνακας 3). Στο 0.1 ppm, το spinetoram

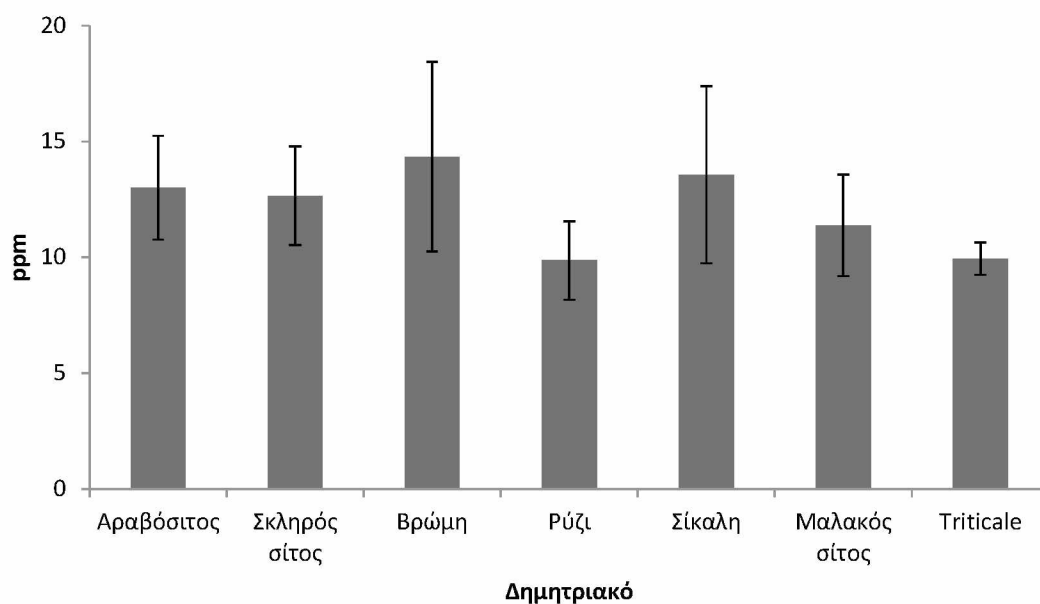
βρέθηκε αναποτελεσματικό για τον έλεγχο της παραγωγής απογόνων σε όλα τα δημητριακά, ενώ ο αριθμός των ακμαίων που προέκυψε ήταν παρόμοιος με εκείνο στα φιαλίδια του μάρτυρα (Διάγραμμα 1). Στα 1 και 10 ppm, η παραγωγή απογόνων στο μαλακό σιτάρι ήταν σημαντικά υψηλότερη από ότι στα άλλα δημητριακά. Ενδεικτικά, στο 1 ppm, η παραγωγή απογόνων σε μαλακό και σκληρό σιτάρι ήταν 107 και 4 ακμαία ανά φιαλίδιο, αντίστοιχα (Διάγραμμα 1).

**Πίνακας 5.** Μέσος Όρος (%  $\pm$  Τ.Σ.) θνησιμότητας των ακμαίων *S. oryzae* που εκτέθηκαν σε επτά είδη δημητριακών ψεκασμένων με spinetoram στις συγκεντρώσεις των 0.1, 1 and 10 ppm (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).

	7 Ημέρες έκθεσης			14 Ημέρες έκθεσης		
	0.1ppm	1ppm	10ppm	0.1ppm	1ppm	10ppm
Αραβόσιτος	16.1 $\pm$ 7.3c	65.0 $\pm$ 7.1bc	100.0 $\pm$ 0.0	24.4 $\pm$ 8.4d	82.2 $\pm$ 4.3c	100.0 $\pm$ 0.0
Σκληρό σιτάρι	70.5 $\pm$ 5.2a	94.4 $\pm$ 1.8a	100.0 $\pm$ 0.0	87.2 $\pm$ 3.2a	98.9 $\pm$ 0.7a	100.0 $\pm$ 0.0
Βρώμη	39.6 $\pm$ 7.1bc	85.6 $\pm$ 6.5a	100.0 $\pm$ 0.0	48.9 $\pm$ 6.0cd	93.9 $\pm$ 3.2ab	100.0 $\pm$ 0.0
Ρύζι	43.5 $\pm$ 7.4abc	84.4 $\pm$ 4.4ab	100.0 $\pm$ 0.0	65.2 $\pm$ 4.9abc	95.0 $\pm$ 1.4ab	100.0 $\pm$ 0.0
Σίκαλη	64.9 $\pm$ 4.5ab	93.9 $\pm$ 1.6a	100.0 $\pm$ 0.0	79.4 $\pm$ 5.4ab	99.4 $\pm$ 0.6a	100.0 $\pm$ 0.0
Μαλακό σιτάρι	42.8 $\pm$ 7.5abc	58.6 $\pm$ 5.8c	98.3 $\pm$ 1.2	57.3 $\pm$ 5.4bc	86.3 $\pm$ 2.7bc	100.0 $\pm$ 0.0
Triticale	58.9 $\pm$ 6.1ab	98.3 $\pm$ 0.8a	100.0 $\pm$ 0.0	74.4 $\pm$ 5.2ab	98.9 $\pm$ 0.7a	100.0 $\pm$ 0.0

#### 7.3.4 Προσδιορισμός υπολειμμάτων του spinetoram

Δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις υπολογισθείσες αρχικές συγκεντρώσεις του spinetoram μεταξύ των σπόρων δημητριακών που είχαν ψεκαστεί με το ίδιο διάλυμα ( $B.E. = 6.14$ ,  $F = 0.8$ ,  $P = 0.84$ ). Οι υπολογισθείσες συγκεντρώσεις του spinetoram ως σπινοσίνη J, ήταν σε παρόμοια επίπεδα μεταξύ των δημητριακών και κυμάνθηκε από 9.8 ( $\pm$  1.7) ppm για τη σίκαλη έως 14.3 ( $\pm$  4.1) για το ρύζι (Διάγραμμα 2).



**Διάγραμμα 2.** Μέσος Όρος ( $\pm$  Τ.Σ.) των υπολογισμένων συγκεντρώσεων του spinetoram σε ppm (mg δ.ο./kg δημητριακού) για τα δημητριακά που ψεκάστηκαν στη συγκέντρωση των 10 ppm (mg δ.ο./kg δημητριακού) όπως προσδιορίστηκαν αμέσως μετά τον ψεκάσμο με HPLC.

#### 7.4 Συζήτηση

Με βάση τα αποτελέσματά της μελέτης μας, μεταξύ των ειδών που εξετάστηκαν, το *R. dominica* ήταν το πιο ευαίσθητο στα ψεκασμένα με spinetoram δημητριακά, δεδομένου ότι πλήρης έλεγχος επιτεύχθηκε ακόμα και στην περίπτωση της χαμηλότερης συγκέντρωσης των 0.1 ppm. Από την άλλη πλευρά, για τα *S. granarius* και *S. oryzae*, το 1 ppm ήταν η απαραίτητη συγκέντρωση για να επιτευχθούν υψηλά επίπεδα θνησιμότητας. Τα ευρήματα αυτά βρίσκονται σε συμφωνία με προηγούμενες έρευνες για το spinosad (Hertlein et al., 2011), καθώς και με τα αποτελέσματα της πρώτης σειράς πειραμάτων της παρούσας διατριβής, όπου βρέθηκε ότι το *R. dominica* ήταν το πιο ευαίσθητο από τα ελεγχθέντα είδη, ενώ συγκεντρώσεις 0.5-1 ppm ήταν αναγκαίες για τον έλεγχο των ακμαίων των *S. granarius* και *S. oryzae*. Διαφορές σημειώθηκαν επίσης στα πειράματά μας μεταξύ των δύο ειδών *Sitophilus*, με το *S. granarius* να είναι πιο ευαίσθητο από το *S. oryzae*.

Καταγράφηκαν αξιοσημείωτες διαφορές στην αποτελεσματικότητα του spinetoram μεταξύ των δημητριακών που εξετάστηκαν, ενώ οι διαφορές αυτές ήταν διαφορετικές ανάλογα με το είδος του εντόμου. Για το *R. dominica* στο 0.1 ppm, τα χαμηλότερα επίπεδα θνησιμότητας καταγράφηκαν στον αραβόσιτο, σε σύγκριση με

τα άλλα δημητριακά, ωστόσο η θνησιμότητα σε όλα τα δημητριακά ήταν αρκετά υψηλή (96%), γεγονός που υποδηλώνει είτε ότι το δημητριακό δεν έχει καμία ισχυρή επίδραση στην αποτελεσματικότητα του spinetoram κατά του είδους αυτού, είτε ότι η αυξημένη αποτελεσματικότητα του spinetoram κάλυψε τις όποιες πιθανές διαφορές. Υπάρχουν πολλές μελέτες που αναφέρουν την υψηλή αποτελεσματικότητα του spinosad έναντι του *R. dominica* σε χαμηλές δόσεις και σε ποικιλία δημητριακών (Chintzoglou et al., 2008a; Getchcell and Subramanyam, 2008; Vayias et al., 2009b; Hertlein et al., 2011). Αυτές οι μελέτες αναφέρουν την υψηλή αποτελεσματικότητα των τυποποιήσεων υγρού και στερεού spinosad στα ακμαία του *R. dominica* σε συγκεντρώσεις που κυμαίνονται από 0.01 έως 1.25 ppm στο σιτάρι, το καλαμπόκι, το ρύζι, το κριθάρι και το σόργο, χωρίς καμία διαφοροποίηση μεταξύ των δημητριακών. Για το spinosad οι Vayias et al. (2009b) αναφέρουν ότι τα ακμαία του *S. oryzae* ήταν λιγότερο ευαίσθητα σε αραβόσιτο από ότι στο σκληρό σιτάρι, το ρύζι και το κριθάρι. Αυτή η μικρότερη αποτελεσματικότητα στον αραβόσιτο, σύμφωνα με τους συγγραφείς, θα μπορούσε να αποδοθεί στα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά της εξωτερικής επιφάνειας του σπόρου, τα οποία είναι πιθανόν να αλληλεπιδρούν με τις σπινωσίνες. Για το ίδιο είδος, οι Chintzoglou et al. (2008a) ανέφεραν επίσης μειωμένη αποτελεσματικότητα της στερεάς τυποποίησης του spinosad (σκόνη spinosad) στον αραβόσιτο συγκριτικά με το σιτάρι και το κριθάρι. Στις βιοδοκιμές μας, η αποτελεσματικότητα του spinetoram για το *S. oryzae* στα δημητριακά, μπορεί να ταξινομηθεί, στο 1 ppm, από την υψηλότερη στη χαμηλότερη θνησιμότητα, ως εξής: σκληρό σιτάρι = σίκαλη = τριτικάλε > ρύζι = βρώμη > μαλακό σιτάρι > αραβόσιτος. Για το *S. granarius*, η ταξινόμηση των δημητριακών, από την υψηλότερη στην χαμηλότερη αποτελεσματικότητα του spinetoram στο 1 ppm μετά από 7 ημέρες έκθεσης, είναι ως εξής: σκληρό σιτάρι > τριτικάλε = αραβόσιτος = ρύζι = σίκαλη > μαλακό σιτάρι = βρώμη. Έτσι, και για τα δύο είδη *Sitophilus*, το spinetoram στο 1ppm ήταν ιδιαίτερα αποτελεσματικό στο σκληρό σιτάρι, ενώ η χαμηλότερη αποτελεσματικότητά καταγράφηκε στο μαλακό σιτάρι. Οι Fang et al. (2002a) ανέφεραν διαφορές σχετικά με την απόδοση του spinosad ανάμεσα σε τέσσερις κλάσεις σιταριού, εναντίον πέντε εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων. Οι συγγραφείς εξετάζοντας την αποτελεσματικότητα του spinosad στο 1 ppm, διαπίστωσαν ότι ήταν πιο αποτελεσματικό στο σκληρό σιτάρι, από ότι στα άλλα δημητριακά. Ωστόσο, οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι δεν υπήρχε συσχέτιση της αποτελεσματικότητας του

spinosad με ορισμένα φυσικά χαρακτηριστικά των σπόρων. Οι Kavallieratos et al. (2010b) δοκιμάζοντας γαίες διατομών (DEs) και σκόνη spinosad σε τρεις ποικιλίες σκληρού σιταριού κατά των ακμαίων των *R. dominica*, *S. oryzae* και *T. confusum*, διαπίστωσαν ότι η ποικιλία έπαιξε σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα κάθε εντομοκτόνου που εφαρμόστηκε είτε μόνο του, είτε σε συνδυασμό. Υπάρχουν πολλές υποθέσεις για την ερμηνεία των διαφορών στην αποτελεσματικότητα των εντομοκτόνων σε διαφορετικά δημητριακά, σε σχέση τόσο με το βιολογικό κύκλο των εντόμων σε σχέση με το ενδιαίτημα, όσο και με τις διαφορές των φυσικών και χημικών χαρακτηριστικών των διαφόρων σπόρων δημητριακών. Οι McGaughey et al. (1990) εξετάζοντας τα φυσικά χαρακτηριστικά του σπόρου, όπως το μέγεθος, η πυκνότητα και η σκληρότητα στην επιδεκτικότητα προσβολής από τα *S. oryzae* και *R. dominica* σε πέντε κατηγορίες σιταριού, διαπίστωσαν ότι μόνο η σκληρότητα του σπόρου συσχετίστηκε με την αναπαραγωγή του *S. oryzae*, ενώ δεν συσχετίστηκε με αυτή του *R. dominica*. Σε μία άλλη μελέτη, οι Toews et al. (2000) δοκιμάζοντας οκτώ ποικιλίες σιταριού, δεν βρήκαν καμία συσχέτιση μεταξύ της σκληρότητας του σπόρου και της παραγωγής απογόνων για το *R. dominica*. Ομοίως, οι Fang et al. (2002a), συγκρίνοντας διάφορες κλάσεις σιταριού, δεν βρήκαν συσχέτιση μεταξύ της αποτελεσματικότητας του spinosad και της διαμέτρου, του βάρους και της σκληρότητας του σπόρου καθώς και με τις ξένες ύλες, τις φυτικές ίνες και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη κλάσεων σιταριού για οποιοδήποτε από τα είδη εντόμων που μελέτησαν. Σε μια παρόμοια μελέτη, οι Ram and Singh (1996) αξιολογώντας 64 ποικιλίες σιταριού για την ευαισθησία τους στο *S. oryzae*, διαπίστωσαν ότι η ευαισθησία συσχετίστηκε θετικά με το μέγεθος του σπόρου και αρνητικά με τη σκληρότητα, τις ακατέργαστες ίνες και την περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ του εντομοκτόνου και των σπόρων δημητριακών, φαίνεται να παίζουν ένα πιο σημαντικό ρόλο στην περίπτωση των εντομοκτόνων που εφαρμόζονται ως σκόνη, όπως οι DEs, αφού η αποτελεσματικότητά τους επηρεάζεται από το βαθμό προσκόλλησής τους στους σπόρους (Korunic, 1997; Kavallieratos et al., 2005). Για το spinosad, όταν εφαρμόστηκε με τη μορφή σκόνης σε τρία βασικά δημητριακά, οι Chintzoglou et al. (2008a) βρήκαν ένα σημαντικό ποσοστό απώλειας του spinosad 14 ημέρες μετά την εφαρμογή του σε αραβόσιτο, ενώ το ποσοστό απομάκρυνσης ήταν ελάχιστο στο σιτάρι. Το εύρημα αυτό υποδηλώνει ότι μπορεί να υπάρχει κάποια αλληλεπίδραση μεταξύ σπινοςινών και του εξωτερικού τμήματος του



σπόρου του αραβοσίτου, που οδηγεί στην απομάκρυνση του spinosad, και κατά συνέπεια σε μειωμένη εντομοκτόνο δράση και αποτελεσματικότητα.

Η παραγωγή των απογόνων και στα δύο είδη *Sitophilus* στο 1 ppm, ήταν υψηλότερη στο μαλακό σιτάρι, απ' ότι στα άλλα δημητριακά, το οποίο μπορεί να θεωρηθεί ως απόρροια της χαμηλής θνησιμότητας που καταγράφηκε στο ίδιο δημητριακό μετά από 7 ημέρες έκθεσης. Από την άλλη πλευρά, η χαμηλή θνησιμότητα των ακμαίων στον αραβόσιτο δεν είχε ως αποτέλεσμα την υψηλή παραγωγή απογόνων. Αυτό μπορεί να εξηγηθεί εν μέρει από τις προτιμήσεις των ακμαίων σε τροφή και υπόστρωμα ωοτοκίας. Οι Coombs and Porter (1986) ανέφεραν ότι η παραγωγή απογόνων ήταν μεγαλύτερη στο σιτάρι απ' ότι στον αραβόσιτο, όταν τα ακμαία του *S. oryzae* είχαν τη δυνατότητα να ωοτοκήσουν και στα δύο δημητριακά. Εντούτοις, σε μια πρόσφατη μελέτη, οι Trematerra et al. (2013b) σε πειράματα επιλογής ανέφεραν ότι, μεταξύ μιας ποικιλίας δημητριακών, το *S. oryzae* έδειξε, μια σαφή προτίμηση για τον αραβόσιτο. Έτσι, πιθανόν ορισμένα δημητριακά να είναι προτιμότερα για λόγους ωοτοκίας, ενώ άλλα για λόγους διατροφής.

Στις περισσότερες από τις περιπτώσεις που εξετάστηκαν, η μέση συγκέντρωση του spinetoram βρέθηκε να είναι ελαφρώς υψηλότερη από τα 10 ppm, η οποία ήταν η ονομαστική υπολογισμένη συγκέντρωση με βάση την ποσότητα του spinetoram στα διαλύματα, που είχε εφαρμοστεί αρχικά στους σπόρους. Η μετρούμενη συγκέντρωση του spinetoram ήταν στο ίδιο επίπεδο για όλα τα δημητριακά σε συγκέντρωση 10 ppm, καθώς δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των σπόρων δημητριακών. Το αποτέλεσμα αυτό διαφέρει από εκείνο που αναφέρθηκε από τους Chintzoglou et al. (2008a) για το spinosad, όπου βρέθηκαν μειωμένα υπολείμματα σκόνης spinosad στον αραβόσιτο συγκριτικά με το σιτάρι και το κριθάρι, 14 ημέρες μετά την εφαρμογή, όπως προσδιορίστηκε με τη μέθοδο της υγρής χρωματογραφίας/φασματοσκοπίας μάζας (LC/MS). Αυτή η διαφορά θα μπορούσε να αποδοθεί στο γεγονός ότι λιγότερη σκόνη spinosad προσκολλήθηκε στην επιφάνεια των σπόρων αραβόσιτου ή ότι υπήρξαν κάποιες αλληλεπιδράσεις μεταξύ του spinosad και του εξωτερικού τμήματος του σπόρου, που μπορεί να μην έχουν λάβει χώρα στις δικές μας βιοδοκιμές με το spinetoram. Από την άλλη πλευρά, τα υπολείμματα του υγρού spinosad βρέθηκαν να είναι πολύ σταθερά στο σιτάρι και το καλαμπόκι για μια περίοδο από 6 έως 12 μήνες (Hertlein et al.,

2011). Επιπλέον στην προηγούμενη ενότητα, βρέθηκε ότι το υγρό spinetoram ήταν πολύ σταθερό, με σχεδόν καμία υποβάθμιση των υπολειμμάτων του μετά από μια περίοδο αποθήκευσης 8 μηνών, με μια σταθερή αναλογία σπινοςίνης J / σπινοςίνης L. Με βάση τα δεδομένα της HPLC ανάλυσής μας, καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι τα υπολείμματα του spinetoram δεν επηρεάζονται από το είδος του σπόρου, τουλάχιστον στο αρχικό επίπεδο που εξετάστηκαν στην παρούσα φάση.

Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι το spinetoram είναι πολύ αποτελεσματικό σε μια ποικιλία ειδών δημητριακών. Μεταξύ των βασικών δημητριακών που εξετάστηκαν, κατά των *S. oryzae* και *S. granarius*, το spinetoram βρέθηκε πολύ αποτελεσματικό στο σκληρό σιτάρι, αλλά λιγότερο αποτελεσματικό στο μαλακό σιτάρι. Ακόμα, για τα περισσότερα από τα δημητριακά που δοκιμάστηκαν, το spinetoram ήταν αποτελεσματικό στο 1 ppm. Επιπλέον, το *R. dominica* ήταν ιδιαίτερα ευαίσθητο σε όλες τις συγκεντρώσεις και τα δημητριακά του πειράματος. Αυτά τα χαρακτηριστικά καθιστούν το spinetoram μια ιδιαίτερα ενδιαφέρουσα δραστική ουσία, υποψήφια για περαιτέρω αξιολόγηση ως προστατευτικό σπόρων σε ένα ευρύ φάσμα δημητριακών.

## 8. Αποτελεσματικότητα του spinetoram σε διαφορετικές επιφάνειες για τα *Sitophilus granarius*, *Sitophilus oryzae*, *Rhyzopertha dominica*, *Tribolium confusum*, *Oryzaephilus surinamensis* και *Cryptolestes ferrugineus*

### 8.1 Εισαγωγή

Η εφαρμογή των εντομοκτόνων σε επιφάνειες, ρωγμές και σχισμές, είναι μία από τις συνηθέστερα χρησιμοποιούμενες πρακτικές για τη διαχείριση των εντόμων στις εγκαταστάσεις επεξεργασίας και αποθήκευσης των προϊόντων και των τροφίμων (Arthur, 2012). Οι Jankov et al. (2013) βρήκαν ότι το malathion, το lambda-cyhalothrin και το pirimiphos-methyl, όταν εφαρμόστηκαν σε επιφάνειες από τσιμέντο, μέταλλο και κόντρα πλακέ ήταν πολύ αποτελεσματικά έναντι του *S. oryzae*, αν και αυτή η αποτελεσματικότητα διαφοροποιούνταν μεταξύ των επιφανειών, σε συνάρτηση με το χρόνο παραμονής των εντομοκτόνων στις επιφάνειες. Σε μια πρόσφατη εργασία, οι Athanassiou et al. (2013) ανέφεραν ότι το beta-cyfluthrin είτε μόνο του, είτε σε συνδυασμό με imidacloprid καταπολέμησε τα ακμαία των *O. surinamensis* και *C. ferrugineus*, όταν εφαρμόστηκε σε επιφάνειες τσιμέντου, μετά από 7 ημέρες έκθεσης. Σε μια παλαιότερη μελέτη, ο Arthur (1997) ανέφερε ότι όταν η σκόνη deltamethrin εφαρμόστηκε σε τρεις τύπους επιφανειών, ήταν αποτελεσματική ενάντια στα *R. dominica* και *T. castaneum*, και λιγότερο αποτελεσματική στο *T. confusum*. Το beta-cyfluthrin ήταν επίσης αποτελεσματικό εναντίον δύο πληθυσμών του *R. dominica* σε επιφάνειες τσιμέντου (Sehgal et al., 2014). Η προσέγγιση της εφαρμογής των εντομοκτόνων σε επιφάνειες έχει σαν αποτέλεσμα λιγότερα υπολείμματα εντομοκτόνων στα προϊόντα, σε σχέση με την άμεση εφαρμογή των εντομοκτόνων σε αυτά, προστατεύοντας έτσι τον καταναλωτή. Επιπλέον, αυτή η προσέγγιση είναι γενικά λιγότερο δαπανηρή, πιο βολική και παρέχει μακροχρόνια προστασία σε σχέση με άλλες προσεγγίσεις, όπως ο υποκαπνισμός. Αρκετές δημοσιευμένες αναφορές τεκμηριώνουν την αποτελεσματικότητα παλαιών και νέων δραστικών συστατικών που εφαρμόζονται σε μια ποικιλία επιφανειών κατά ενός ευρέος φάσματος εντόμων. Σε αυτές τις μελέτες, η αποτελεσματικότητα του εντομοκτόνου βρέθηκε να εξαρτάται από τον τύπο της επιφάνειας εφαρμογής (Giga and Canhao, 1991; Arthur, 1997), τα είδη εντόμων (Toews et al., 2003), τη μορφή

τυποποίησης του εντομοκτόνου (Nayak et al., 2002), το χρόνο έκθεσης (Arthur, 1998b) και την παρουσία τροφής για τα έντομα (Arthur, 2000b, c).

Μία από τις νεότερες δραστικές ουσίες (δ.ο.) που έχει λάβει άδεια για άμεση εφαρμογή στα δημητριακά είναι το spinosad, το οποίο ήδη χρησιμοποιείται σε στρατηγικές ολοκληρωμένης διαχείρισης επιβλαβών εχθρών. Εκτός από την άμεση εφαρμογή στα δημητριακά, το spinosad βρέθηκε να είναι αποτελεσματικό σε διαφορετικές επιφάνειες, μέσω της υπολειμματικής δράσης του (Toews and Subramanyam, 2003; Toews et al., 2003). Πρόσφατα, το spinetoram, μια νέα δραστική ουσία της οικογένειας των σπινωσινών, εισήχθη στην αγορά για τον έλεγχο διαφόρων εντόμων στον αγρό και θεωρείται ότι γενικά είναι πιο αποτελεσματικό από το spinosad (Sparks et al., 2008; Dripps et al., 2011). Επιπλέον, αν και η επίδραση του spinetoram σε είδη εντόμων-μη στόχους δεν έχει επαρκώς διερευνηθεί ακόμη, φαίνεται να είναι λιγότερο τοξικό σε ωφέλιμα αρθρόποδα σε σύγκριση με το spinosad (Biondi et al., 2012). Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της πρώτης σειράς δοκιμών της παρούσας μελέτης, το spinetoram σε διαφορετικές συγκεντρώσεις, ήταν αποτελεσματικό κατά έξι εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, σε σιτάρι ή αραβόσιτο. Ωστόσο, δεν υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα μέχρι σήμερα για την εφαρμογή του spinetoram ως εντομοκτόνο επιφανειών. Στην παρούσα ενότητα, εξετάσαμε το spinetoram σε εφαρμογές σε επιφάνειες κατά των κυριότερων ειδών κολεοπτέρων αποθηκευμένων προϊόντων σε διαφορετικούς τύπους επιφανειών. Η επιλογή των επιφανειών βασίστηκε σε μια ρεαλιστική προσέγγιση, χρησιμοποιώντας τις πιο κοινές επιφάνειες (σε δάπεδα και τοίχους), που μπορεί να βρίσκονται στις αποθήκες και τις εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων.

## **8.2 Υλικά και Μέθοδοι**

### **8.2.1 Έντομα**

Για τις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν ακμαία των ειδών *S. granarius*, *S. oryzae*, *R. dominica*, *T. confusum*, *O. surinamensis* και *C. ferrugineus*.

### 8.2.2 Εφαρμογή εντομοκτόνου

Οι βιοδοκιμές διεξήχθησαν με spinetoram υπό μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος (SC) (που προμηθευτήκαμε από την Dow AgroSciences, UK), το οποίο περιείχε 120 g δραστικής ουσίας ανά λίτρο (11.7% δ.ο.). Όσον αφορά τις συγκεντρώσεις εφαρμογής, ακολουθήθηκε το πρωτόκολλο που προτάθηκε από τους Toews et al. (2003) για το spinosad. Ως εκ τούτου, οι συγκεντρώσεις που εφαρμόστηκαν στις επιφάνειες ήταν 0.025 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>, 0.05 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>, ενώ ο μάρτυρας ψεκάστηκε με απεσταγμένο νερό. Η παρασκευή των διαλυμάτων για να ληφθούν οι προαναφερθείσες συγκεντρώσεις αντιστοίχως, έγινε με αραιώση 309.48, 618.96 και 1237.92 mg του σκευάσματος spinetoram με απιονισμένο νερό σε 25 ml ογκομετρική φιάλη. Ο ψεκασμός έγινε με καλλιτεχνικό αερογράφο (Mecafer AG4, Mecafer Co., France). Κάθε τρυβλίο ψεκάστηκε με 1 ml του κατάλληλου διαλύματος, ενώ τα τρυβλία του μάρτυρα ψεκάστηκαν με 1 ml απιονισμένο νερού.

### 8.2.3 Επιφάνειες

Ως πειραματικές μονάδες στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν πλαστικά τρυβλία (90 mm διάμετρος, 15 mm ύψος, 59.42 cm<sup>2</sup> εμβαδό επιφανείας). Για τις επιφάνειες τσιμέντου, τσιμέντο (Rockite® for anchoring and patching, Hartline Products Co. Inc., USA) χρησιμοποιήθηκε για να δημιουργηθεί τσιμεντένια επιφάνεια στη βάση του τρυβλίου. Το τσιμέντο δημιουργήθηκε με την ανάμειξη 1 Kg αυτού με 260 ml νερού βρύσης, και στην συνέχεια περίπου 20 g του υλικού αυτού τοποθετήθηκε στους πυθμένες του καθενός από τα τρυβλία, τα οποία αμέσως μετά αφέθηκαν να στεγνώσουν για μία ημέρα. Οι μεταλλικές επιφάνειες έγιναν από γαλβανιζέ μεταλλικό φύλλο, το οποίο κόπηκε με μηχανήματα λείζερ στις κατάλληλες διαστάσεις για να ταιριάζει στον πυθμένα των τρυβλίων. Οι επιφάνειες ξύλου, έγιναν από κόντρα πλακέ πάχους 4 mm, το οποίο κόπηκε σε κυκλικούς δίσκους, οι οποίοι τοποθετήθηκαν στον πυθμένα των τρυβλίων. Για τις επιφάνειες από πλακάκι, χρησιμοποιήθηκε υαλομένο κεραμικό πλακίδιο ημιγυαλιστερό για δάπεδο και τοίχους πάχους 8 mm, που κόπηκε σε στρογγυλό σχήμα και τοποθετήθηκε όπως προηγουμένως. Εκτός της επιφάνειας του τσιμέντου, όλες οι άλλες επιφάνειες σφραγίστηκαν στα άκρα, μετά την εφαρμογή τους στα τρυβλία, με ζεστή κόλλα, χρησιμοποιώντας πιστόλι καυτής κόλλας (Bison Glue Gun Hobby, Bison

International BV, The Netherlands). Εφαρμόστηκε επίσης πολυτετραφθοροαιθυλένιο (Sigma-Aldrich Co, Germany), στα εσωτερικά τοιχώματα των τρυβλίων, ώστε να αποτραπεί η διαφυγή των εντόμων.

#### 8.2.4 Βιοδοκιμές

Διεξήχθησαν δύο σειρές βιοδοκιμών. Η πρώτη σειρά διεξήχθη σε επιφάνειες τσιμέντου σε όλες τις συγκεντρώσεις και τα ακμαία όλων των ειδών εντόμων που αναφέρθηκαν παραπάνω. Η δεύτερη σειρά βιοδοκιμών διεξήχθη σε όλες τις επιφάνειες και τις συγκεντρώσεις που προαναφέρθηκαν, με τα ακμαία των *S. oryzae*, *R. dominica* και *T. confusum*. Τα μισά από τα τρυβλία περιείχαν τροφή, ενώ τα άλλα μισά δεν περιείχαν τροφή. Η τροφή που προστέθηκε στα τρυβλία ήταν 5 ολόκληροι σπόροι σκληρού σιταριού για τα *S. oryzae*, *S. granarius* και *R. dominica*, 5 σπασμένοι σπόροι σκληρού σιταριού για τα *O. surinamensis* και *C. ferrugineus*, και 0.5 g αλεύρι σιταριού για το *T. confusum*. Στα τρυβλία που περιείχαν τροφή, η τροφή αυτή τοποθετήθηκε μετά την εφαρμογή του εντομοκτόνου, αλλά πριν από την εισαγωγή των εντόμων. Οι βιοδοκιμές πραγματοποιήθηκαν σε τρεις επαναλήψεις και για κάθε μία επανάληψη τέσσερα τρυβλία ψεκάζονταν με το ίδιο διάλυμα για κάθε συνδυασμό είδους εντόμου- συγκέντρωσης- τροφής για την πρώτη σειρά βιοδοκιμών και για κάθε συνδυασμό είδους εντόμου- συγκέντρωσης – επιφάνειας - τροφής για τη δεύτερη σειρά βιοδοκιμών. Μετά την προετοιμασία των επιφανειών, τα τρυβλία ψεκάστηκαν με το ανάλογο διάλυμα κάθε συγκέντρωσης, ενώ μία ξεχωριστή σειρά από τρυβλία ψεκάστηκε με απιονισμένο νερό για να χρησιμεύσει ως μάρτυρας. Όλα τα ψεκασμένα τρυβλία αφήθηκαν σε συνθήκες δωματίου να στεγνώσουν για μια ημέρα. Ως εκ τούτου, συνολικά για κάθε συνδυασμό είδους εντόμου-συγκέντρωσης- τροφής ή είδους εντόμου-συγκέντρωσης-επιφάνειας-τροφής υπήρχαν δώδεκα τρυβλία. Για κάθε είδος, τοποθετήθηκαν σε κάθε τρυβλίο είκοσι ακμαία, ενώ τα τρυβλία τοποθετήθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών που ορίστηκαν στους 25 °C, 65% Σ.Υ., και σε συνεχές σκοτάδι. Πριν από την έναρξη του πειράματος, προκαταρκτικές δοκιμές διεξήχθησαν με όλα τα είδη και τις συγκεντρώσεις σε επιφάνειες από τσιμέντο, προκειμένου να καθοριστούν τα διαστήματα της έκθεσης στο εντομοκτόνο. Βάσει αυτών των προκαταρκτικών πειραμάτων, η θνησιμότητα των εντόμων καταγράφηκε μετά από 5 ημέρες για όλα τα είδη, εκτός από το *T. confusum*, όπου η θνησιμότητα μετρήθηκε καθημερινά για μια περίοδο 7 ημερών, τα νεκρά

ακμαία απομακρύνονταν μετά από κάθε μέτρηση. Μετά την 7η ημέρα έκθεσης των ακμαίων του *T. confusum*, όλα τα ζώντα έντομα απομακρύνθηκαν από τις επιφάνειες και τοποθετήθηκαν σε μη ψεκασμένες επιφάνειες με τροφή (το ίδιο είδος επιφάνειας και τροφής, όπως και στη φάση της πρώτης έκθεσης στη βιοδοκιμή), και διατηρήθηκαν υπό τις ίδιες συνθήκες για 7 ημέρες ακόμη. Μετά τη λήξη αυτού του χρονικού διαστήματος, καταγράφηκε η θνησιμότητα των ακμαίων (καθυστερημένη θνησιμότητα).

### **8.2.5 Ανάλυση Δεδομένων**

Η θνησιμότητα των ακμαίων του *T. confusum*, και στις δύο σειρές βιοδοκιμών, αναλύθηκε με τη χρήση της πολυμεταβλητής ανάλυσης διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (repeated-measures MANOVA) με βάση τον έλεγχο Wilk's lambda, με το λογισμικό JMP έκδοση 7 (Sall et al., 2001), έχοντας τη συγκέντρωση και την τροφή ως κύριες επιδράσεις, και την θνησιμότητα στον χρόνο ως επαναλαμβανόμενη μεταβλητή. Η ίδια προσέγγιση χρησιμοποιήθηκε και στη δεύτερη σειρά βιοδοκιμών, όπου ως κύρια επίδραση προστέθηκε επιπλέον και η επιφάνεια. Για όλα τα άλλα είδη στην πρώτη σειρά βιοδοκιμών, έγινε ανάλυση διακύμανσης δύο παραγόντων (two-way ANOVA), χρησιμοποιώντας το ίδιο λογισμικό, με τη θνησιμότητα των ακμαίων ως εξαρτημένη μεταβλητή και τη συγκέντρωση και την τροφή ως κύριες επιδράσεις. Στην δεύτερη σειρά βιοδοκιμών, για το τσιμέντο χρησιμοποιήθηκαν τα αποτελέσματα από την προηγούμενη σειρά βιοδοκιμών. Σε αυτή τη σειρά, η θνησιμότητα των ακμαίων αναλύθηκε χωριστά για κάθε είδος, με ανάλυση διακύμανσης τριών παραγόντων (three-way ANOVA), με τη συγκέντρωση, την επιφάνεια και την τροφή ως κύριες επιδράσεις, καθώς και τη θνησιμότητα ως εξαρτημένη μεταβλητή. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με τη χρήση του τεστ Fisher's Protected LSD σε επίπεδο σημαντικότητας 5%.

## **8.3 Αποτελέσματα**

### **8.3.1 Αποτελεσματικότητα στο τσιμέντο**

Η συγκέντρωση, η παρουσία τροφής και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές για το *T. confusum*, ενώ για τα *S. oryzae*, *S. granarius*, *R. dominica*, *C.*

*ferrugineus* και *O. surinamensis* μόνο η συγκέντρωση ήταν σημαντική (Πίνακες 1α και 2α).

Το spinetoram ήταν αποτελεσματικό εναντίον του *T. confusum* σε όλες τις τιμές συγκέντρωσης και στην απουσία τροφής. Η θνησιμότητα έφτασε το 100% στην υψηλή δόση μετά την 6η ημέρα έκθεσης. Αντιθέτως, με την παρουσία τροφής, η αποτελεσματικότητα του spinetoram μειώθηκε, ενώ η καθυστερημένη θνησιμότητα στην υψηλή δόση δεν υπερέβη το 97% (Διάγραμμα 1). Η θνησιμότητα του μάρτυρα για το *T. confusum* ήταν <9%.

Το *S. oryzae* ήταν πιο ευαίσθητο από το *S. granarius* στα ψεκασμένα με spinetoram τρυβλία τσιμέντου. Σε όλες τις συγκεντρώσεις, η θνησιμότητα του *S. oryzae*, ανεξάρτητα από την παρουσία ή απουσία τροφής, ήταν 100%. Στην περίπτωση του *S. granarius*, η θνησιμότητα έφτασε το 98.5% στα 0.05 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> με παρουσία τροφής και 0.025 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> με απουσία τροφής (Διάγραμμα 2). Η θνησιμότητα του μάρτυρα ήταν υψηλότερη με απουσία τροφής και για τα δύο είδη. Με την παρουσία τροφής, η θνησιμότητα του μάρτυρα για τα *S. oryzae* και *S. granarius* ήταν 22 και 13% αντίστοιχα, ενώ με την απουσία τροφής ήταν 38 και 36%, αντίστοιχα.

Τα *R. dominica*, *C. ferrugineus* και *O. surinamensis* ήταν επίσης ευαίσθητα στην εφαρμογή του spinetoram, ακόμη και στη χαμηλότερη συγκέντρωση και υπό την παρουσία τροφής (Διάγραμμα 2). Η θνησιμότητα του *R. dominica* με απουσία τροφής, ήταν 100%. Για το *C. ferrugineus*, 100% θνησιμότητα επιτεύχθηκε, ανεξαρτήτως της παρουσίας ή της απουσίας τροφής. Στην περίπτωση του *O. surinamensis*, η θνησιμότητα ήταν 100% κατά την απουσία τροφής, ενώ με την παρουσία τροφής 100% θνησιμότητα παρατηρήθηκε μόνο στην υψηλότερη δόση. Η θνησιμότητα του μάρτυρα των *R. dominica*, *C. ferrugineus* και *O. surinamensis* ήταν γενικά υψηλή (Διάγραμμα 2).



**Πίνακας 1α.** Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας του *T. confusum* σε επιφάνειες τσιμέντου σε τρεις συγκεντρώσεις και το μάρτυρα, με ή χωρίς την παρουσία τροφής (B.E. σφάλματος = 16).

Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	F	P
Μεταξύ μεταβλητών	7	120.0	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	2164.7	<0.01
Συγκέντρωση (Συγκ.)	3	232.6	<0.01
Τροφή	1	105.5	<0.01
Συγκ. X Τροφή	3	12.4	<0.01
Εντός μεταβλητών	49	6.3	<0.01
Χρόνος	7	791.7	<0.01
ΧρόνοςXΣυγκ.	21	11.1	<0.01
ΧρόνοςXΤροφή	7	20.6	<0.01
Χρόνος X Συγκ. X Τροφή	21	2.6	<0.01

**Πίνακας 1β.** Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας του *T. confusum* σε τέσσερις διαφορετικές επιφάνειες και σε τρεις συγκεντρώσεις και το μάρτυρα, με ή χωρίς την παρουσία τροφής (B.E. σφάλματος = 64).

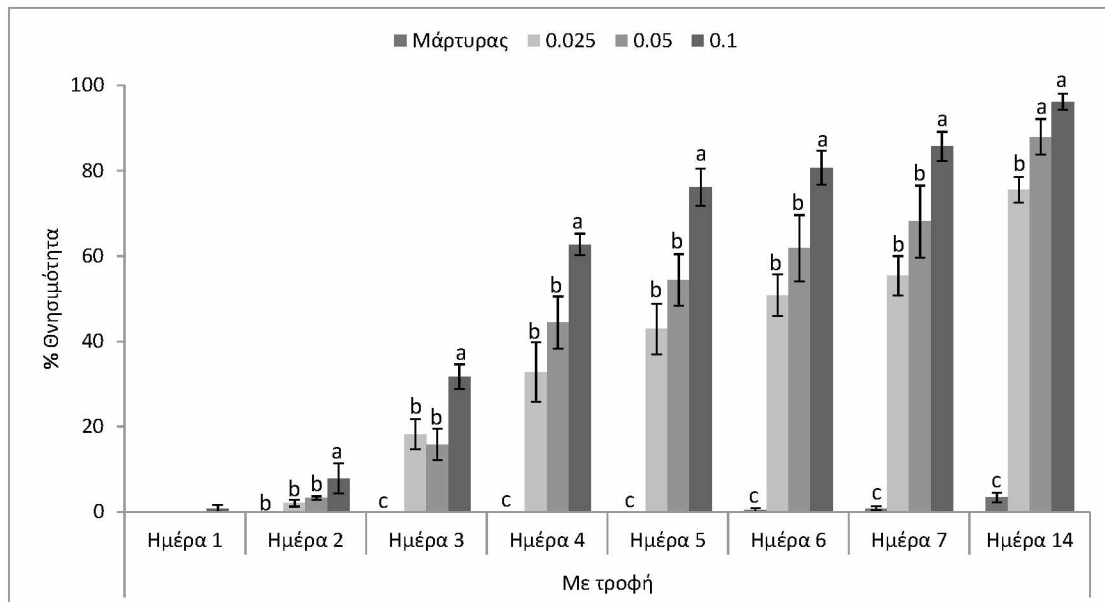
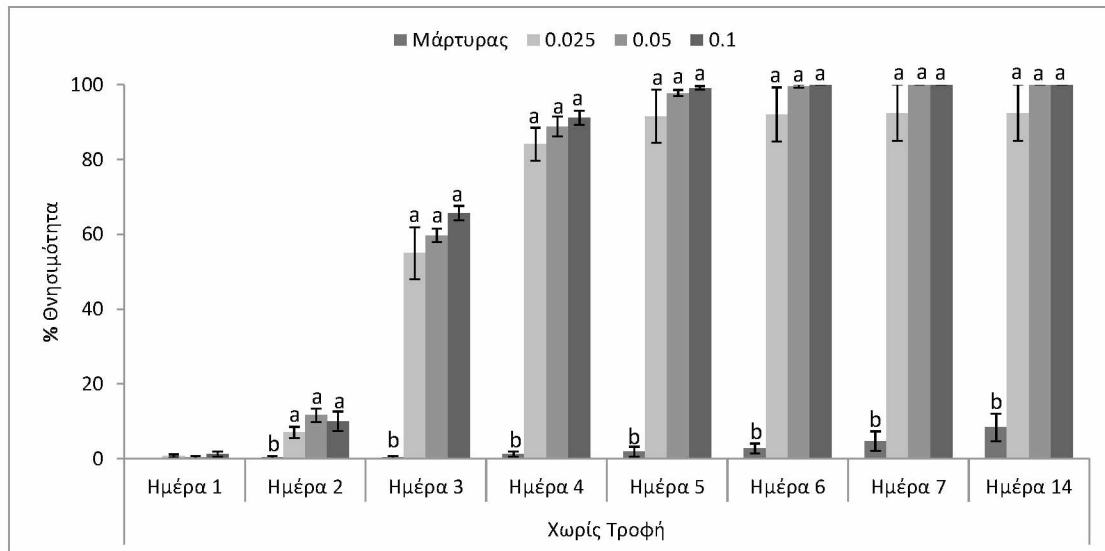
Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	F	P
Μεταξύ μεταβλητών	31	13.7	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	1499.9	<0.01
Επιφάνεια (Επ.)	3	6.5	<0.01
Συγκέντρωση (Συγκ.)	3	117.7	<0.01
Τροφή	1	18.8	<0.01
Επ. X Συγκ.	9	1.4	0.19
Επ. X Τροφή	3	3.1	0.03
Συγκ. X Τροφή	3	1.5	0.21
Επ. X Συγκ. X Τροφή	9	0.5	0.83
Εντός μεταβλητών	217	3.1	<0.01
Χρόνος	7	837.5	<0.01
ΧρόνοςXEπ.	21	10.2	<0.01
Χρόνος X Συγκ.	21	15.3	<0.01
Χρόνος X Τροφή	7	4.8	<0.01
Χρόνος X Επ. X Συγκ.	63	1.7	<0.01
Χρόνος X Επ. X Τροφή	21	2.3	<0.01
Χρόνος X Συγκ. X Τροφή	21	1.1	0.40
Χρόνος X Επ. X Συγκ. X Τροφή	63	0.7	0.98

**Πίνακας 2α.** Ανάλυση διακύμανσης της θνησιμότητας των *R. dominica*, *S. oryzae*, *S. granarius*, *O. surinamensis* και *C. ferrugineus* σε επιφάνειες τσιμέντου και σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις και το μάρτυρα, με ή χωρίς την παρουσία τροφής (B.E. σφάλματος = 16).

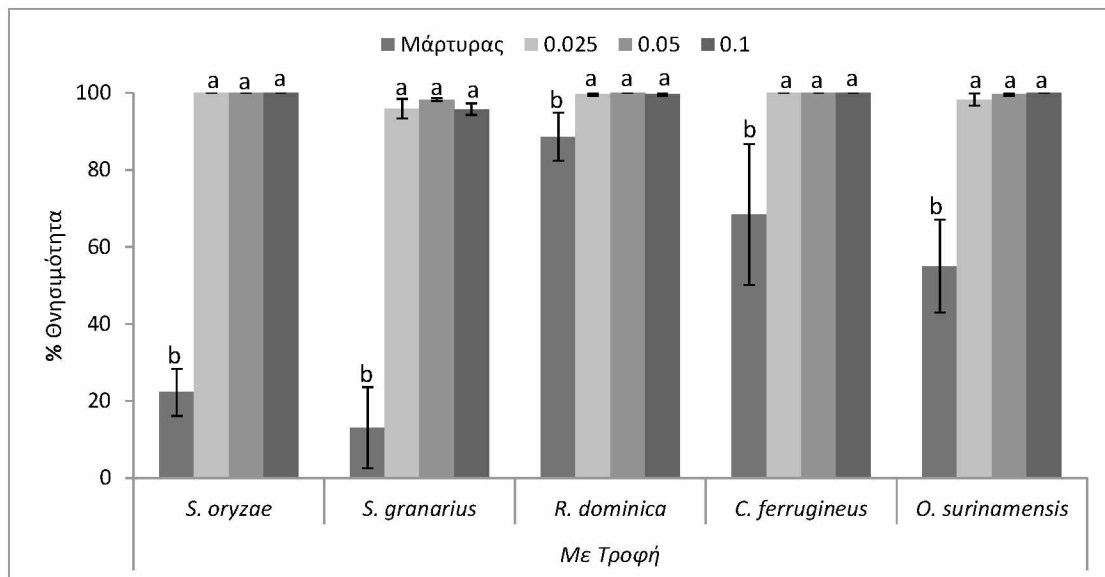
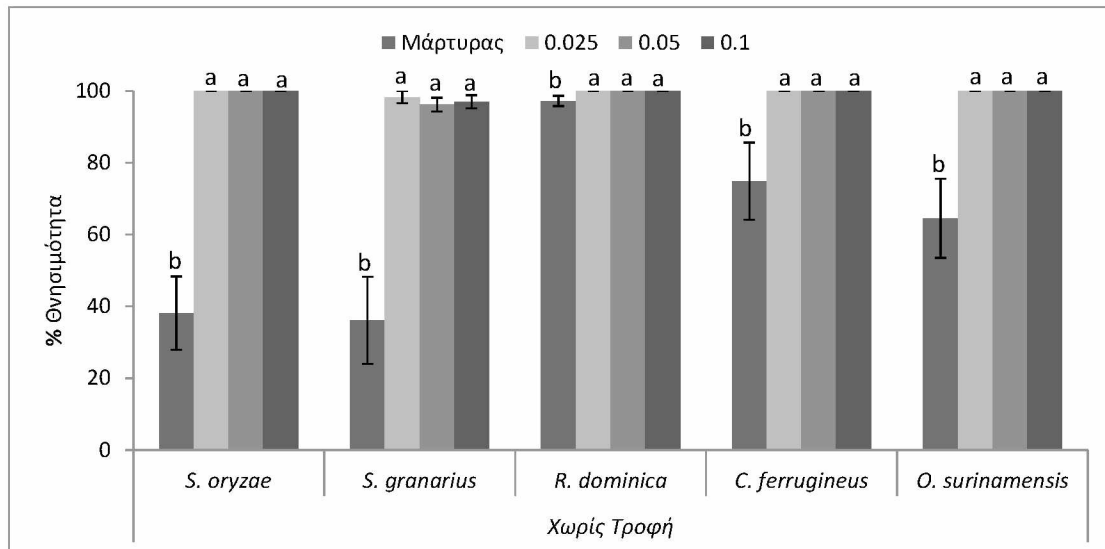
Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	<i>S. oryzae</i>		<i>S. granarius</i>		<i>R. dominica</i>		<i>C. ferrugineus</i>		<i>O. surinamensis</i>	
		F	P	F	P	F	P	F	P	F	P
Συγκέντρωση	3	136.8	<0.01	75.1	<0.01	4.7	0.01	7.1	<0.01	23.5	<0.01
Τροφή	1	1.8	0.20	2.2	0.16	2.1	0.17	0.1	0.76	0.5	0.49
Συγκέντρωση X Τροφή	3	1.8	0.19	1.9	0.17	1.6	0.22	0.1	0.96	0.3	0.83

**Πίνακας 2β.** Ανάλυση διακύμανσης της θνησιμότητας των *R. dominica* και *S. oryzae* σε τέσσερις διαφορετικές επιφάνειες και σε τρεις διαφορετικές συγκεντρώσεις και το μάρτυρα, με ή χωρίς την παρουσία τροφής (B.E. σφάλματος = 64).

Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	<i>R. dominica</i>		<i>S. oryzae</i>	
		F	P	F	P
Επιφάνεια (Επ.)	3	6.3	<0.01	0.7	0.53
Συγκέντρωση (Συγκ.)	3	62.8	<0.01	264.2	<0.01
Τροφή	1	1.7	0.19	10.5	<0.01
Επ. X Συγκ.	9	4.7	<0.01	1.2	0.31
Επ. X Τροφή	3	0.8	0.51	0.3	0.81
Συγκ. X Τροφή	3	1.6	0.20	8.9	<0.01
Επ. X Συγκ. X Τροφή	9	0.7	0.67	0.2	1.00



**Διάγραμμα 1.** Μέσος όρος θνησιμότητας (%  $\pm$  Τ.Σ.) των ακμαίων του *T. confusum* σε τσιμέντο ψεκασμένο με spinetoram, στις συγκεντρώσεις των 0.025 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>, 0.05 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>, καθώς και σε μάρτυρα με ή χωρίς την παρουσία τροφής (σε κάθε διάγραμμα και ημέρα έκθεσης, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, LSD test σε 0.05).



**Διάγραμμα 2.** Μέσος όρος θνησιμότητας (%  $\pm$  Τ.Σ.) των ακμαίων των *S. oryzae*, *S. granarius*, *R. dominica*, *C. ferrugineus* και *O. surinamensis* σε τσιμέντο ψεκασμένο με spinetoram, στις συγκεντρώσεις των 0.025 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>, 0.05 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>, καθώς και σε μάρτυρα με ή χωρίς την παρουσία τροφής, μετά από 5 ημέρες έκθεσης. (σε κάθε διάγραμμα και είδος εντόμου, οι μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, LSD test σε 0.05).

### 8.3.2 Σύγκριση των διαφόρων επιφανειών

Για όλα τα είδη των εντόμων που εξετάστηκαν, η συγκέντρωση του εντομοκτόνου ήταν σημαντική (Πίνακες 1β και 2β). Από την άλλη πλευρά, η τροφή ήταν σημαντική μόνο για τα *S. oryzae* και *T. confusum* και η επιφάνεια ήταν σημαντική για τα *R. dominica* και *T. confusum*.

Στην περίπτωση του *T. confusum*, ελλείψει τροφής, η εφαρμογή του spinetoram σε τσιμέντο και σε μέταλλο ήταν πιο αποτελεσματική από ότι στις άλλες επιφάνειες (Πίνακας 3). Μετά από 6 ημέρες έκθεσης, στην υψηλότερη δόση, η θνησιμότητα ήταν 100 και 88%, για το τσιμέντο και το μέταλλο, αντίστοιχα. Από την άλλη πλευρά, δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των συγκεντρώσεων. Η εφαρμογή του spinetoram στα κεραμικά πλακίδια και στο κόντρα πλακέ έδωσε παρόμοια αποτελέσματα. Σε αυτές τις δύο επιφάνειες, ακόμη και η καθυστερημένη θνησιμότητα δεν έφθασε το 100%. Υπό την παρουσία τροφής, η θνησιμότητα του *T. confusum* ήταν χαμηλότερη σε σύγκριση με τη θνησιμότητα που επιτεύχθηκε κατά την απουσία τροφής σε όλες τις συγκεντρώσεις και τις επιφάνειες (Πίνακας 4). Επίσης, όταν υπήρχε τροφή, ζώντα ακμαία του *T. confusum* καταγράφηκαν σε όλες τις συγκεντρώσεις και τις επιφάνειες μετά από 14 ημέρες έκθεσης (καθυστερημένη θνησιμότητα). Χαμηλότερα επίπεδα θνησιμότητας παρατηρήθηκαν στο κόντρα πλακέ, καθώς μετά από 7 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα ήταν 70%, ενώ τα αντίστοιχα επίπεδα για το τσιμέντο, κεραμικά πλακάκια και μέταλλο, ήταν 86, 83 και 82% αντίστοιχα.

Για το *R. dominica*, όταν δεν υπήρχε τροφή, η αποτελεσματικότητα του spinetoram ήταν παρόμοια σε όλες τις επιφάνειες, και μετά από 5 ημέρες έκθεσης, η θνησιμότητα άγγιξε το 100%. Η παρουσία τροφής δεν επηρέασε τη θνησιμότητα του *R. dominica*, ανεξάρτητα από τον τύπο της επιφάνειας (Πίνακας 5).

Το *S. oryzae* ήταν πολύ ευαίσθητο σε όλα τα είδη των ψεκασμένων επιφανειών, ανεξάρτητα από την παρουσία τροφής, αφού η θνησιμότητα έφθασε το 100%, ακόμη και στη χαμηλότερη συγκέντρωση, σε ορισμένες περιπτώσεις, χωρίς διαφορές μεταξύ των συγκεντρώσεων (Πίνακας 5). Η θνησιμότητα του μάρτυρα του *S. oryzae* ήταν μικρότερη, όταν υπήρχε τροφή σε σύγκριση με την απουσία τροφής (Πίνακας 5).

**Πίνακας 3.** Μέσος όρος θνησιμότητας (%  $\pm$  Τ.Σ., αναφέρεται άμεση και καθυστερημένη θνησιμότητα) των ακμαίων του *T. confusum*, που εκτέθηκαν σε τρεις συγκεντρώσεις του spinetoram, και σε τέσσερις τύπους επιφανειών, χωρίς την παρουσία τροφής (σε κάθε έκθεση και συγκέντρωση, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σε κάθε έκθεση και επιφάνεια, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, LSD test σε 0.05).

Έκθεση	Συγκέντρωση (mg/cm <sup>2</sup> )	Τύπος επιφάνειας			
		Κεραμικό πλακάκι	Τσιμέντο	Μέταλλο γαλβανιζέ	Κόντρα πλακέ
Ημέρα 1	0	0.9 $\pm$ 0.4	0.0 $\pm$ 0.0	0.8 $\pm$ 0.8	0.0 $\pm$ 0.0b
	0.025	0.8 $\pm$ 0.8	0.8 $\pm$ 0.4	3.7 $\pm$ 1.4	2.9 $\pm$ 1.1a
	0.05	0.4 $\pm$ 0.4	0.4 $\pm$ 0.4	3.7 $\pm$ 3.1	3.4 $\pm$ 0.8a
	0.1	0.4 $\pm$ 0.4B	1.2 $\pm$ 0.7AB	2.9 $\pm$ 0.4A	1.7 $\pm$ 1.1ABab
Ημέρα 2	0	1.7 $\pm$ 1.2	0.4 $\pm$ 0.4b	3.3 $\pm$ 2.8	1.7 $\pm$ 0.8
	0.025	7.0 $\pm$ 2.2	7.1 $\pm$ 1.5a	18.0 $\pm$ 8.1	19.6 $\pm$ 9.0
	0.05	5.0 $\pm$ 2.5	11.7 $\pm$ 1.8a	17.1 $\pm$ 7.2	18.0 $\pm$ 9.9
	0.1	4.2 $\pm$ 1.5	10.0 $\pm$ 2.6a	16.2 $\pm$ 6.8	15.3 $\pm$ 7.6
Ημέρα 3	0	3.4 $\pm$ 0.8b	0.4 $\pm$ 0.4b	5.5 $\pm$ 4.4	2.5 $\pm$ 0.0
	0.025	23.7 $\pm$ 4.3a	55 $\pm$ 7.0a	48.8 $\pm$ 14.6	35.7 $\pm$ 19.4
	0.05	23.8 $\pm$ 2.6a	59.7 $\pm$ 1.8a	56.7 $\pm$ 21.7	34.7 $\pm$ 15.8
	0.1	19.0 $\pm$ 4.0a	65.6 $\pm$ 1.9a	47.9 $\pm$ 21.1	41.1 $\pm$ 20.3
Ημέρα 4	0	5.1 $\pm$ 1.3b	1.3 $\pm$ 0.7b	7.6 $\pm$ 6.5b	2.9 $\pm$ 0.4
	0.025	46.1 $\pm$ 1.8a	84.2 $\pm$ 4.4a	69.6 $\pm$ 10.0a	46.7 $\pm$ 22.8
	0.05	48.9 $\pm$ 1.4Ba	88.9 $\pm$ 2.6Aa	73.8 $\pm$ 12.7ABa	45.9 $\pm$ 17.0B
	0.1	38.8 $\pm$ 7.9Ba	91.2 $\pm$ 1.9Aa	63.4 $\pm$ 16.5ABa	52.6 $\pm$ 19.8AB
Ημέρα 5	0	7.3 $\pm$ 1.6b	1.9 $\pm$ 1.4b	11.8 $\pm$ 7.2b	7.5 $\pm$ 2.5b
	0.025	61.2 $\pm$ 3.0a	91.7 $\pm$ 7.1a	80.4 $\pm$ 7.1a	57.1 $\pm$ 19.8a
	0.05	63.3 $\pm$ 3.5BCa	97.8 $\pm$ 0.8Aa	86.7 $\pm$ 7.0ABa	56.5 $\pm$ 14.3Ca
	0.1	57.8 $\pm$ 6.9Ba	99.2 $\pm$ 0.4Aa	75.0 $\pm$ 10.6ABa	63.6 $\pm$ 16.6Ba
Ημέρα 6	0	9.8 $\pm$ 2.4b	2.8 $\pm$ 1.4b	16.4 $\pm$ 7.8b	12.0 $\pm$ 4.1b
	0.025	73.7 $\pm$ 7.9a	92.1 $\pm$ 7.3a	90.9 $\pm$ 1.5a	63.9 $\pm$ 17.3a
	0.05	74.2 $\pm$ 7.1ABa	99.6 $\pm$ 0.4Aa	92.5 $\pm$ 3.6Aa	63.1 $\pm$ 14.1Ba
	0.1	69.8 $\pm$ 4.7Ba	100.0 $\pm$ 0.0Aa	87.9 $\pm$ 4.9ABa	71.1 $\pm$ 13.2Ba
Ημέρα 7	0	12.4 $\pm$ 4.1b	4.7 $\pm$ 2.7b	23.0 $\pm$ 9.7b	19.1 $\pm$ 6.7b
	0.025	80.3 $\pm$ 6.3a	92.5 $\pm$ 7.5a	95.5 $\pm$ 0.8a	70.4 $\pm$ 13.6a
	0.05	78.5 $\pm$ 7.0BCa	100.0 $\pm$ 0.0Aa	96.7 $\pm$ 1.1ABa	71.9 $\pm$ 10.7Ca
	0.1	77.3 $\pm$ 4.5Ba	100.0 $\pm$ 0.0Aa	91.7 $\pm$ 3.6ABa	78.2 $\pm$ 9.8Ba
Ημέρα 14 (Καθυστε ρημένη)	0	26.3 $\pm$ 9.0b	8.4 $\pm$ 3.7b	33.5 $\pm$ 13.0b	27.3 $\pm$ 11.7b
	0.025	97.1 $\pm$ 1.1a	92.5 $\pm$ 7.5a	100.0 $\pm$ 0.0a	86.6 $\pm$ 10.3a
	0.05	97.8 $\pm$ 1.1a	100.0 $\pm$ 0.0a	100.0 $\pm$ 0.0a	91.4 $\pm$ 6.2a
	0.1	95.9 $\pm$ 2.1a	100.0 $\pm$ 0.0a	98.3 $\pm$ 1.7a	95.4 $\pm$ 4.0a

**Πίνακας 4.** Μέσος όρος θνησιμότητας (%  $\pm$  Τ.Σ., αναφέρεται άμεση και καθυστερημένη θνησιμότητα) των ακμαίων του *T. confusum*, που εκτέθηκαν σε τρεις συγκεντρώσεις του spinetoram, και σε τέσσερις τύπους επιφανειών, με την παρουσία τροφής (σε κάθε έκθεση και συγκέντρωση, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, σε κάθε έκθεση και επιφάνεια, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, LSD test σε 0.05).

Έκθεση	Συγκέντρωση (mg/cm <sup>2</sup> )	Τύπος επιφάνειας			
		Κεραμικό πλακάκι	Τσιμέντο	Μέταλλο γαλβανιζέ	Κόντρα πλακέ
Ημέρα 1	0	0.4 $\pm$ 0.4	0.0 $\pm$ 0.0	1.2 $\pm$ 1.2	0.0 $\pm$ 0.0
	0.025	0.4 $\pm$ 0.4	0.0 $\pm$ 0.0	2.1 $\pm$ 0.8	1.3 $\pm$ 1.3
	0.05	1.3 $\pm$ 0.7	0.0 $\pm$ 0.0	2.9 $\pm$ 1.7	2.9 $\pm$ 1.8
	0.1	0.8 $\pm$ 0.8	0.8 $\pm$ 0.8	2.9 $\pm$ 2.3	3.9 $\pm$ 2.8
Ημέρα 2	0	0.4 $\pm$ 0.4	0.0 $\pm$ 0.0b	3.6 $\pm$ 1.9	1.7 $\pm$ 1.7
	0.025	5.4 $\pm$ 2.5	2.1 $\pm$ 0.8ab	6.6 $\pm$ 1.0	10.2 $\pm$ 4.8
	0.05	8.5 $\pm$ 6.0	3.3 $\pm$ 0.4ab	9.2 $\pm$ 4.4	14.6 $\pm$ 7.3
	0.1	5.7 $\pm$ 3.3	7.9 $\pm$ 3.6a	9.6 $\pm$ 6.3	16.6 $\pm$ 9.0
Ημέρα 3	0	1.2 $\pm$ 0.7	0.0 $\pm$ 0.0c	6.5 $\pm$ 4.0	2.5 $\pm$ 1.9
	0.025	18.3 $\pm$ 8.8	18.3 $\pm$ 3.5b	30.4 $\pm$ 10.7	22.9 $\pm$ 9.2
	0.05	21.4 $\pm$ 6.6	15.8 $\pm$ 3.7b	38.3 $\pm$ 10.6	26.7 $\pm$ 12.6
	0.1	19.3 $\pm$ 6.1	31.8 $\pm$ 2.9a	39.7 $\pm$ 13.5	32.8 $\pm$ 14.4
Ημέρα 4	0	1.7 $\pm$ 1.1b	0.0 $\pm$ 0.0c	8.6 $\pm$ 5.9b	5.0 $\pm$ 3.1
	0.025	41.9 $\pm$ 14.4a	32.8 $\pm$ 7.0b	52.0 $\pm$ 3.9a	26.3 $\pm$ 10.8
	0.05	42.8 $\pm$ 8.8a	44.4 $\pm$ 6.1b	59.0 $\pm$ 4.2a	32.5 $\pm$ 13.0
	0.1	50.2 $\pm$ 8.0a	62.7 $\pm$ 2.6a	50.2 $\pm$ 11.0a	41.7 $\pm$ 15.1
Ημέρα 5	0	2.5 $\pm$ 1.2b	0.0 $\pm$ 0.0c	9.8 $\pm$ 6.1b	6.2 $\pm$ 2.5b
	0.025	59.8 $\pm$ 10.7ABa	42.9 $\pm$ 6.0ABb	69.4 $\pm$ 5.1Aa	32.6 $\pm$ 13.2Bab
	0.05	60.7 $\pm$ 6.6ABa	54.4 $\pm$ 6.1ABb	72.1 $\pm$ 3.0Aa	40.8 $\pm$ 13.7Bab
	0.1	67.4 $\pm$ 3.2ABa	76.1 $\pm$ 4.4Aa	63.3 $\pm$ 7.1ABa	51.5 $\pm$ 12.0Ba
Ημέρα 6	0	2.9 $\pm$ 1.1b	0.4 $\pm$ 0.4c	11.7 $\pm$ 6.5b	7.1 $\pm$ 3.3b
	0.025	74.0 $\pm$ 6.8ABa	50.8 $\pm$ 4.9BCb	80.6 $\pm$ 2.9Aa	40.6 $\pm$ 16.0Cab
	0.05	71.6 $\pm$ 6.9ABa	61.9 $\pm$ 7.8ABb	83.8 $\pm$ 4.7Aa	48.7 $\pm$ 14.5Ba
	0.1	75.3 $\pm$ 1.1a	80.7 $\pm$ 4.0a	77.3 $\pm$ 3.8a	61.7 $\pm$ 10.5a
Ημέρα 7	0	4.2 $\pm$ 1.1ABb	0.8 $\pm$ 0.4Bc	13.7 $\pm$ 6.8Ab	7.9 $\pm$ 3.6ABb
	0.025	80.4 $\pm$ 6.1ABa	55.4 $\pm$ 4.6BCb	86.8 $\pm$ 0.7Aa	47.0 $\pm$ 14.6Ca
	0.05	77.4 $\pm$ 6.9ABa	68.1 $\pm$ 8.5ABb	89.0 $\pm$ 4.9Aa	59.2 $\pm$ 10.5Ba
	0.1	82.8 $\pm$ 1.9ABa	85.8 $\pm$ 3.4Aa	82.1 $\pm$ 3.0ABa	70.1 $\pm$ 7.0Ba
Ημέρα 14 (Καθυστε ρημένη)	0	14.7 $\pm$ 5.9ABb	3.3 $\pm$ 1.1Bc	27.0 $\pm$ 6.8Ab	15.4 $\pm$ 3.6ABb
	0.025	94.0 $\pm$ 4.8ABa	75.5 $\pm$ 3.0BCb	97.9 $\pm$ 0.8Aa	72.3 $\pm$ 11.6Ca
	0.05	97.5 $\pm$ 1.3Aa	87.9 $\pm$ 4.2ABa	98.3 $\pm$ 1.1Aa	78.7 $\pm$ 6.9Ba
	0.1	96.2 $\pm$ 0.1a	96.2 $\pm$ 2.0a	94.2 $\pm$ 1.0a	91.5 $\pm$ 4.7a

**Πίνακας 5.** Μέσος όρος θνησιμότητας (%  $\pm$  Τ.Σ) των ακμαίων των *R. dominica* και *S. oryzae*, που εκτέθηκαν για 5 ημέρες σε τρεις συγκεντρώσεις του spinetoram, και σε τέσσερις τύπους επιφανειών, με ή χωρίς την παρουσία τροφής (σε κάθε είδος, κατάσταση τροφής και συγκέντρωσης, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, ενώ σε κάθε είδος, κατάσταση τροφής και επιφάνεια, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά, και όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν σημαντικές διαφορές, LSD test σε 0.05).

Είδος	Συγκέντρωση (mg/cm <sup>2</sup> )	Τύπος επιφάνειας			
		Κεραμικό πλακάκι	Τσιμέντο	Μέταλλο γαλβανιζέ	Κόντρα πλακέ
<i>R. dominica</i> Χωρίς τροφή	0	41.7 $\pm$ 1.8Bb	97.2 $\pm$ 1.4Ab	53.6 $\pm$ 15.0Bb	61.4 $\pm$ 13.3Bb
	0.025	99.2 $\pm$ 0.4a	100.0 $\pm$ 0.0a	97.0 $\pm$ 2.4a	99.6 $\pm$ 0.4a
	0.05	99.6 $\pm$ 0.4a	100.0 $\pm$ 0.0a	96.2 $\pm$ 2.6a	99.6 $\pm$ 0.4a
	0.1	99.6 $\pm$ 0.4Aa	100.0 $\pm$ 0.0Aa	97.0 $\pm$ 0.4Ba	99.0 $\pm$ 1.0ABa
<i>R. dominica</i> Με τροφή	0	65.1 $\pm$ 12.5b	88.7 $\pm$ 6.2b	66.9 $\pm$ 17.7b	72.4 $\pm$ 3.6b
	0.025	98.8 $\pm$ 1.3a	99.6 $\pm$ 0.4a	98.3 $\pm$ 1.1a	99.6 $\pm$ 0.4a
	0.05	99.6 $\pm$ 0.4ABa	100.0 $\pm$ 0.0Aa	96.9 $\pm$ 1.6Ba	100.0 $\pm$ 0.0Aa
	0.1	98.7 $\pm$ 0.8a	99.6 $\pm$ 0.4a	97.5 $\pm$ 1.4a	99.6 $\pm$ 0.4a
<i>S. oryzae</i> Χωρίς τροφή	0	47.8 $\pm$ 10.3b	38.2 $\pm$ 10.2b	62.7 $\pm$ 17.2b	47.1 $\pm$ 8.6b
	0.025	99.6 $\pm$ 0.4a	100.0 $\pm$ 0.0a	99.2 $\pm$ 0.8a	96.8 $\pm$ 2.6a
	0.05	100.0 $\pm$ 0.0a	100.0 $\pm$ 0.0a	99.6 $\pm$ 0.4a	98.3 $\pm$ 1.7a
<i>S. oryzae</i> Με τροφή	0	19.6 $\pm$ 9.1b	22.2 $\pm$ 6.1b	33.4 $\pm$ 11.7b	28.0 $\pm$ 6.7b
	0.025	98.8 $\pm$ 0.7a	100.0 $\pm$ 0.0a	96.7 $\pm$ 3.3a	98.0 $\pm$ 2.0a
	0.05	99.6 $\pm$ 0.4a	100.0 $\pm$ 0.0a	98.3 $\pm$ 1.7a	98.0 $\pm$ 2.0a
	0.1	100.0 $\pm$ 0.0a	100.0 $\pm$ 0.0a	98.8 $\pm$ 1.2a	98.0 $\pm$ 2.0a

#### 8.4 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης δείχνουν ότι μεταξύ των ειδών που εξετάστηκαν, το *T. confusum* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο σε επιφάνειες στις οποίες είχε εφαρμοσθεί το spinetoram. Τα υπόλοιπα είδη εντόμων που ελέγχθηκαν ήταν ευαίσθητα, ανεξαρτήτως της συγκέντρωσης και της παρουσίας τροφής. Ως εκ τούτου, η σειρά ευαισθησίας σύμφωνα με την ημέρα που τα ακμαία έφταναν σε θνησιμότητα το 100% είναι, από το περισσότερο προς το λιγότερο ευαίσθητο, ήταν *C. ferrugineus* = *S. oryzae* = *O. surinamensis* = *R. dominica* < *S. granarius* < *T. confusum*. Οι Toews et al. (2003), ελέγχοντας το spinosad στις δύο υψηλές δόσεις που χρησιμοποιήθηκαν εδώ (0.05 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>) σε τσιμέντο, βρήκαν ότι τα *T. castaneum*



και *T. confusum* ήταν τα λιγότερο ευαίσθητα μεταξύ οκτώ ειδών κολεοπτέρων και η θνησιμότητα μετά από 2 ημέρες (24 ώρες έκθεσης και επιπλέον 24 ώρες μετά την έκθεση) ήταν 98 και 100%, αντίστοιχα. Για τους άλλους τύπους επιφανειών, η θνησιμότητα κυμαινόταν μεταξύ 72 και 92%. Για το ίδιο διάστημα, στη μελέτη μας, το μέγιστο επίπεδο θνησιμότητας για το *T. confusum* μετά από δύο ημέρες ήταν 20% για όλες τις επιφάνειες, τις συνθήκες διατροφής και τις συγκεντρώσεις. Κατά συνέπεια, με βάση τα διαθέσιμα μέχρι σήμερα δεδομένα, το spinosad μπορεί να είναι ελαφρώς πιο αποτελεσματικό από το spinetoram κατά ειδών του γένους *Tribolium*. Επιπλέον, οι Toews et al. (2003), ανέφεραν υψηλή θνησιμότητα στον μάρτυρα για τα *R. dominica* και *C. ferrugineus* σε επιφάνειες τσιμέντου, η οποία σημειώθηκε και στην παρούσα μελέτη για το spinetoram, ειδικά κατά την απουσία τροφής. Παρόμοια αποτελέσματα αυξημένης θνησιμότητας στο μάρτυρα έχουν αναφερθεί από τους Athanassiou et al. (2013) για το *O. surinamensis* σε μη ψεκασμένες επιφάνειες τσιμέντου, αξιολογώντας την αποτελεσματικότητα της δ.ο beta-cyfluthrin. Προφανώς, υπό την απουσία τροφής, η συνεχής έκθεση στην τραχιά επιφάνεια του τσιμέντου μπορεί να αυξήσει τη θνησιμότητα των ακμαίων για ορισμένα είδη εντόμων (Toews et al., 2003). Ο Arthur (2000b) διαπίστωσε ότι η παρουσία τροφής παίζει σημαντικό ρόλο στην ανάνηψη των *T. confusum* και *T. castaneum* μετά από έκθεση τους σε γη διατόμων. Με βάση τα αποτελέσματά μας, η τροφή ήταν μία σημαντική μεταβλητή για την επιβίωση του *T. confusum*. Αντιθέτως, για τα υπόλοιπα από τα εξετασθέντα είδη, η τροφή δεν φάνηκε να είναι ο κρίσιμος παράγοντας ως προς τη θνησιμότητα.

Η καθυστερημένη θνησιμότητα ήταν σημαντική για το *T. confusum*. Σε γενικές γραμμές, το spinosad και το spinetoram θεωρούνται βραδείας δράσης εντομοκτόνα στα έντομα των αποθηκευμένων προϊόντων (Athanassiou et al., 2010; Saglam et al., 2013). Αυτό επιβεβαιώθηκε και από τη δεύτερη σειρά βιοδοκιμών, όπου τα επίπεδα της άμεσης θνησιμότητας για τα *R. dominica* και *S. oryzae* ήταν χαμηλά μετά από 72 ώρες έκθεσης σε ψεκασμένο σιτάρι με spinetoram.

Μεταξύ των επιφανειών, παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές μόνο για το *T. confusum*. Η θνησιμότητα των ακμαίων του *T. confusum* σε τσιμέντο και μέταλλο ήταν υψηλότερη από ότι στις άλλες επιφάνειες σε συνθήκες απουσίας τροφής. Ταυτόχρονα, όταν η τροφή ήταν παρούσα, τα χαμηλότερα επίπεδα θνησιμότητας παρατηρήθηκαν σε επιφάνειες με κόντρα πλακέ. Γενικώς, η υπολειμματικότητα των

εντομοκτόνων και κατ' επέκταση η αποτελεσματικότητά τους επηρεάζεται από τα φυσικά χαρακτηριστικά των επιφανειών. Το μέταλλο και το πλακάκι θεωρούνται μη πορώδεις επιφάνειες οι οποίες παρέχουν μεγαλύτερη υπολειμματική δράση από σε σχέση με το τσιμέντο και το ξύλο, τα οποία είναι πορώδη (Arthur, 2012). Σε προηγούμενη μελέτη, ο Arthur (2008) αναφέρει ότι κατά των *T. castaneum* και *T. confusum*, το εντομοκτόνο chlorfenapyr ήταν πιο αποτελεσματικό στο τσιμέντο, από ότι στο πλακάκι βινυλίου και στο ξύλο κόντρα πλακέ. Επίσης, οι Toews et al. (2003) σε επιφάνειες στις οποίες έλαβε χώρα εφαρμογή spinosad, παρατήρησαν ότι η θνησιμότητα των *T. confusum* και *T. castaneum* ήταν υψηλότερη στο τσιμέντο απ' ότι στα πλακάκια χωρίς προσθήκη κηρού (unwaxed floor tile), στο γαλβανισμένο μέταλλο και στα πλακίδια με προσθήκη κηρού (waxed floor tile). Παρ' όλα αυτά, οι Arthur et al. (2009), εξετάζοντας τους ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων (IGRs) pyriproxyfen και hydroprene σε επιφάνειες ξύλου, μέταλλου και τσιμέντου ανέφεραν ότι δεν υπήρχαν σταθερές διαφορές στην αποτελεσματικότητα μεταξύ των επιφανειών στις προνύμφες τελευταίου σταδίου των *T. confusum*, *T. castaneum*, *O. surinamensis*, *Lasioderma serricorne* (F.) (Coleoptera: Anobiidae) και *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Τα δεδομένα της μελέτης μας έδειξαν ότι δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των επιφανειών για τα *S. oryzae* και *R. dominica*, λόγω της υψηλής αποτελεσματικότητας του spinetoram σε όλες τις επιφάνειες, και σε σχετικά σύντομες εκθέσεις.

Η απουσία τροφής αύξησε τη θνησιμότητα των *S. oryzae* και *S. granarius* στον μάρτυρα σε ορισμένες από τις περιπτώσεις που εξετάστηκαν, γεγονός που θα μπορούσε να αποδοθεί εν μέρει στην ασιτία. Ωστόσο, για όλα τα είδη, με εξαίρεση αυτή του *T. confusum*, η παρουσία τροφής δεν επηρεάζει την αποτελεσματικότητα του spinetoram, ανεξάρτητα από τον τύπο της επιφάνειας. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι τα ακμαία ακινητοποιήθηκαν αμέσως μετά την έκθεση στις ψεκασμένες επιφάνειες, οπότε δεν υπήρχε επαφή με την τροφή. Αντίθετα, για το *T. confusum* η παρουσία τροφής μείωσε τη θνησιμότητα σε όλες τις επιφάνειες που είχε εφαρμοστεί το εντομοκτόνο. Παρατηρήθηκε ότι τα ακμαία του *T. confusum* δεν ήταν εντελώς ακινητοποιημένα στις ψεκασμένες επιφάνειες, σε αντίθεση με τα άλλα είδη. Η επίδραση της ασιτίας στην αποτελεσματικότητα των χημικών ουσιών είναι ασαφής και δύσκολο να προβλεφθεί, όπως σημειώνεται από τους Holmstrup et al. (2010). Σε αυτή την εργασία, οι συγγραφείς σχολιάζοντας το θέμα της ασιτίας ανέφεραν τόσο

την αρνητική (μειωμένη ευαισθησία) όσο και τη θετική (αυξημένη ευαισθησία) αλληλεπίδραση μεταξύ ασιτίας και χημικών ουσιών. Στην ίδια μελέτη, αναφέρεται επίσης ότι η παρουσία τροφής τροφοδοτεί τους οργανισμούς με επιπλέον ενέργεια που απαιτείται κατά τη διαδικασία της αποδόμησης του εντομοκτόνου, η οποία οδηγεί σε μειωμένη ευαισθησία. Αυτό μπορεί, εν μέρει, να εξηγήσει τα ευρήματά μας για το *T. confusum*. Η μειωμένη αποτελεσματικότητα των εντομοκτόνων κατά του *T. confusum* όταν η τροφή είναι παρούσα έχει τεκμηριωθεί και για τις γαίες διατομών (DEs) και το cyfluthrin (Arthur, 2000b; 2000c). Για τις DEs, η παρουσία τροφής σε τσιμέντο μετρίασε τη θνησιμότητα (Arthur, 2000b), ενώ για το cyfluthrin, αναφέρθηκε ότι η παρουσία αλευριού σε τσιμέντο μπορεί να επηρεάσει αρνητικά την υπολειμματική δράση του (Arthur, 2000c).

Στο πείραμα μας φαίνεται ότι το spinetoram μπορεί να είναι πολύ αποτελεσματικό ως εντομοκτόνο επαφής κατά αρκετών ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων σε διάφορες επιφάνειες. Επίσης, η έρευνα αυτή τονίζει τη σημασία της υγιεινής και της καθαριότητας για την αφαίρεση υπολειμμάτων τροφών σε αποθήκες και εγκαταστάσεις επεξεργασίας τροφίμων, ως συμπληρωματικό μέτρο, για τον έλεγχο του πληθυσμού των εντόμων.

## 9. Υπολειμματική δράση του spinetoram σε επιφάνειες τσιμέντου και μετάλλου για τα *Sitophilus oryzae*, *Tribolium confusum* και *Oryzaephilus surinamensis*

### 9.1 Εισαγωγή

Η χρήση των εντομοκτόνων επαφής για υπολειμματικές εφαρμογές επιφανειών σε κενές αποθήκες και εγκαταστάσεις αποθήκευσης και επεξεργασίας για τον έλεγχο των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων, είναι μια κοινή και σχετικά οικονομική πρακτική που αντικατέστησε επιτυχώς σε αρκετές περιπτώσεις τη χρήση των προϊόντων καπνισμού, και θεωρείται μια καλή εναλλακτική του βρωμιούχου μεθυλίου (Arthur, 2012). Αυτή η πρακτική δεν αφήνει υπολείμματα στα αποθηκευμένα προϊόντα, γεγονός που ταυτίζεται με τις απαιτήσεις των καταναλωτών για τρόφιμα χωρίς εντομοκτόνα. Υπάρχουν πολλοί παράγοντες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην αποτελεσματικότητα των υπολειμμάτων των εντομοκτόνων επαφής, όπως το είδος της επιφάνειας, η σύνθεσή της, ο χρόνος έκθεσης, το είδος του εντόμου και η συγκέντρωση εφαρμογής (Zettler and Arthur, 2000; Arthur et al., 2009; Arthur, 2012). Μέχρι στιγμής, οι ρυθμιστές ανάπτυξης (IGRs) και τα νευροτοξικά εντομοκτόνα, όπως τα πυρεθροειδή και τα οργανοφωσφορικά (OPs) θεωρούνται τα πιο κοινά εντομοκτόνα για εφαρμογές σε επιφάνειες, και έχουν δοκιμαστεί με επιτυχία σε ένα ευρύ φάσμα επιφανειών και ειδών εντόμων-στόχων (Nayak et al., 2003b; Arthur, 2008; Arthur et al., 2009; Athanassiou et al., 2013; Jankov et al., 2013). Για τα νευροτοξικά εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται συνήθως, έχουν αναφερθεί περιπτώσεις ανθεκτικότητας (Subramanyam and Hagstrum, 1995; Daghli, 2008), ενώ οι IGRs δεν μπορούν να ελέγξουν τα έντομα που τα ατελή τους στάδια βρίσκονται μόνιμως στο εσωτερικό των σπόρων όπως το *S. oryzae* (Oberlander 1997).

Σε ιδανικές περιπτώσεις, ένα καλό εντομοκτόνο επιφανειών πρέπει να συνδυάζει υπολειμματική δράση, υψηλά επίπεδα αποτελεσματικότητας ενάντια σε ένα ευρύ φάσμα εντόμων και χαμηλή τοξικότητα στα θηλαστικά. Ένα εντομοκτόνο που αποδίδει το σύνολο αυτών των περιορισμών είναι το spinosad. Εκτεταμένες έρευνες με spinosad έχουν δείξει ότι είναι πολύ αποτελεσματικό για την αντιμετώπιση αρκετών ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων σε μια ποικιλία δημητριακών και συνθηκών (Fang et al., 2002a; Hertlein et al., 2011). Περαιτέρω, το

spinosad βρέθηκε αποτελεσματικό σε μια ποικιλία επιφανειών εναντίον αρκετών ειδών εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων (Toews et al., 2003) και με υπολειμματική δράση για χρονικό διάστημα άνω του ενός έτους, όταν εφαρμόστηκε σε αποθηκευμένα δημητριακά (Fang et al., 2002b; Maier et al., 2006). Σήμερα, το spinosad έχει καταχωρηθεί σαν προστατευτικό σπόρων στις ΗΠΑ, με την εμπορική ονομασία Sensat™ (Bayer CropScience, Germany), αλλά δεν έχει καταχωρηθεί για εφαρμογή σε επιφάνειες (USEPA, 2012).

Είναι πλέον τεκμηριωμένο ότι το spinosad αποικοδομείται ταχέως όταν εκτίθεται στο ηλιακό φως (Thompson et al., 2000). Ο Soliman (2012) εξετάζοντας την αποικοδόμηση πέντε εντομοκτόνων, ανέφερε ότι ο ρυθμός αποικοδόμησης ποικίλει ανάλογα με τη χημική δομή, το χρόνο έκθεσης και το μήκος κύματος των UV-ακτινών που χρησιμοποιούνται. Οι Liu et al. (1999) σημειώνουν ότι η αποικοδόμηση του spinosad ήταν πολύ γρήγορη σε συνθήκες αγρού, αλλά αισθητά μειωμένη κάτω από εργαστηριακές συνθήκες. Πρόσφατα, ένα νέο εντομοκτόνο σπινοσίνης, το spinetoram, εισήχθη στην αγορά με μεγαλύτερη εντομοκτόνο δράση σε σύγκριση με το spinosad (Dripps et al., 2008; Sparks et al., 2008). Το spinetoram, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των προηγούμενων ενοτήτων (κυρίως 2 και 5) που αναπτύχθηκαν προηγουμένως, βρέθηκε να είναι πολύ αποτελεσματικό κατά ενός ευρέος φάσματος εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων, και σταθερό σε διαφορετικά επίπεδα θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας (Σ.Υ.) κάτω από εργαστηριακές συνθήκες. Ως εντομοκτόνο για εφαρμογή σε επιφάνειες, το spinetoram βρέθηκε, σύμφωνα με τα αποτελέσματα της προηγούμενης ενότητας, να είναι πολύ αποτελεσματικό εναντίον ακμαίων των κυριότερων κολεοπτέρων εντόμων αποθηκών, και επιπλέον ακμαίων και νεαρών προνυμφών του *T. confusum* σύμφωνα με τους Saglam et al., 2013. Όπως το spinosad, έτσι και το spinetoram διασπάται γρήγορα υπό συνθήκες αγρού (Yee et al., 2007).

Σε εφαρμογές επιφανειών, η διάχυση του εντομοκτόνου επηρεάζεται από διάφορους παράγοντες, με τον τύπο της επιφάνειας να κατατάσσεται μεταξύ των σημαντικότερων από αυτούς (Arthur et al., 2009). Οι Collins et al. (2000) ανέφεραν διαφορές στην υπολειμματική αποτελεσματικότητα τεσσάρων ΟΡ εντομοκτόνων όταν εφαρμόστηκαν σε πορώδεις (τσιμέντο) και μη πορώδεις (μέταλλο) επιφάνειες κατά ειδών Psocoptera των αποθηκευμένων προϊόντων για μια περίοδο 40 εβδομάδων. Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι τα εξεταζόμενα

εντομοκτόνα είχαν μεγαλύτερη υπολειμματική δράση στις επιφάνειες από μέταλλο από ότι στις επιφάνειες τσιμέντου. Σε μια άλλη μελέτη με τους IGRs pyriproxifen και hydroprone, οι Arthur et al. (2009), ανέφεραν ότι το hydroprone που είχε εφαρμοστεί σε μεταλλικές επιφάνειες είχε μεγαλύτερη υπολειμματικότητα από ότι σε τσιμέντο ή ξύλο. Ωστόσο, σε αυτή τη μελέτη, οι συγγραφείς διαπίστωσαν ότι δεν υπήρχαν διαφορές μεταξύ των επιφανειών για το pyriproxifen. Εκτός από τον τύπο της επιφάνειας, άλλοι αβιοτικοί παράγοντες που επηρεάζουν την εντομοκτόνο και την υπολειμματική δράση των εντομοκτόνων είναι η θερμοκρασία, η σχετική υγρασία και η ένταση του φωτός (ηλιακό φως, υπεριώδες φως και φως εσωτερικών χώρων) (Rust, 1995). Η φωτοαποικοδόμηση είναι μια πολύ σημαντική διαδικασία για την αποικοδόμηση των εντομοκτόνων, η οποία, προφανώς, επηρεάζεται από τα χαρακτηριστικά της πηγής του φωτός. Η ενέργεια των φωτεινών πηγών επηρεάζει τις μοριακές δομές των εντομοκτόνων, οδηγώντας τα σε αποικοδόμηση και σε απώλεια της αποτελεσματικότητάς τους (Katagi, 2004).

Στην παρούσα εργασία, αξιολογήσαμε την υπολειμματική δράση και την αποτελεσματικότητα του spinetoram σε τσιμεντένιες και μεταλλικές επιφάνειες, κάτω από συνθήκες σκότους για ακμαία των *S. oryzae*, *T. confusum* και *O. surinamensis*. Επιπλέον, για τα ίδια είδη, εξετάστηκε η υπολειμματική δράση και η αποτελεσματικότητα του spinetoram σε επιφάνειες τσιμέντου που αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες εργαστηρίου σε δύο διαφορετικά επίπεδα φωτισμού.

## 9.2 Υλικά και Μέθοδοι

### 9.2.1 Έντομα και εφαρμογή του εντομοκτόνου

Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν ακμαία μικτής ηλικίας και φύλου, των *S. oryzae*, *T. confusum* και *O. surinamensis*, η εκτροφή και η λήψη των οποίων έγινε σύμφωνα με τα όσα περιγράφονται στην υποενότητα 1.1 ενότητα Β.

Το εντομοκτόνο που χρησιμοποιήθηκε για τις βιοδοκιμές ήταν το σκεύασμα του spinetoram σε μορφή συμπυκνωμένου εναιωρήματος (SC) (που παρασχέθηκε από την Dow AgroSciences, UK), που περιείχε 120 g δραστικής ουσίας (δ.ο.) ανά λίτρο (11.7% δ.ο.). Στις επιφάνειες, οι συγκεντρώσεις που εφαρμόστηκαν ήταν 0.025 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>, ενώ ο μάρτυρας ψεκάστηκε με απιονισμένο νερό. Ο

ψεκασμός έγινε με καλλιτεχνικό αερογράφο Mecafer AG4 (Mecafer Co., France) εφαρμόζοντας 1 ml του ανάλογου διαλύματος στην επιφάνεια του κάθε τρυβλίου.

### 9.2.2 Επιφανειακές εφαρμογές και βιοδοκιμές

Πλαστικά τρυβλία (90 mm σε διάμετρο, 15 mm σε ύψος) χρησιμοποιήθηκαν ως πειραματικές μονάδες. Δύο τύποι επιφανειών δημιουργήθηκαν στους πυθμένες των τρυβλίων, ένας με τσιμέντο και ένας με γαλβανιζέ μεταλλικό φύλλο (μέταλλο). Οι επιφάνειες τσιμέντου δημιουργήθηκαν με την ανάμιξη 1 Kg τσιμέντου (Rockite® for anchoring and patching, Hartline Products Co. Inc., USA) με 260 ml νερού βρύσης. Η ανάμιξη δημιούργησε μια ρευστή «πάστα» και περίπου 20 g αυτής της ουσίας χύθηκε στον πυθμένα των τρυβλίων. Οι μεταλλικές επιφάνειες δημιουργήθηκαν από την κοπή γαλβανιζέ μεταλλικού φύλλου σε στρογγυλό σχήμα δίσκου (0.6 mm πάχος) με μηχανήματα λέιζερ (σε μηχανουργείο), σε διαστάσεις κατάλληλες ώστε να ταιριάζουν στον πυθμένα των τρυβλίων. Οι μεταλλικοί δίσκοι σφραγίστηκαν στα άκρα μετά την τοποθέτησή τους στα τρυβλία με ζεστή κόλλα, χρησιμοποιώντας πιστόλι καυτής κόλλας (Bison Glue Gun Hobby, Bison International BV, The Netherlands). Οι εσωτερικοί τοίχοι όλων των τρυβλίων καλύφθηκαν με πολυτετραφθοροαιθυλένιο (Sigma - Aldrich Co, Germany), για την πρόληψη τη διαφυγής των εντόμων.

Οι επιφάνειες που ψεκάστηκαν χωρίστηκαν σε δύο ομάδες. Στην πρώτη, περιλαμβάνονταν ψεκασμένες επιφάνειες από τσιμέντο και μέταλλο που αποθηκεύτηκαν σε συνεχές σκοτάδι και στη δεύτερη, επιφάνειες από τσιμέντο που αποθηκεύτηκαν σε φωτοπερίοδο με 12:12 φως:σκοτάδι (L:D), με φωτισμό από λάμπες φθορισμού (daylight L36W / 10, Osram SA, Spain), οι οποίες τοποθετήθηκαν 40 εκατοστά πάνω από τα τρυβλία. Ο φωτισμός ήταν περίπου 600 lux όπως μετρήθηκε στις επιφάνειες των τρυβλίων με ένα λουξόμετρο (Luxmeter HD 8366, Delta OHM, Italy). Και οι δύο ομάδες διατηρήθηκαν στους 25 °C και 65% Σ.Υ., για 6 μήνες. Για κάθε συνδυασμό μήνα, είδους εντόμου, τύπου επιφάνειας, ομάδα επιφανειών και συγκέντρωσης, 3 τρυβλία προετοιμάστηκαν, ενώ ολόκληρο το πείραμα επαναλήφθηκε 3 φορές προετοιμάζοντας και ψεκάζοντας νέα τρυβλία κάθε φορά (3 X 3 τρυβλία συνολικά για κάθε συνδυασμό). Οι βιοδοκιμές άρχισαν μία ημέρα μετά την αρχική ημέρα ψεκασμού (ημέρα 0) και επαναλήφθηκαν σε μηνιαία διαστήματα (διαστήματα 30 ημερών από την αρχική ημέρα ψεκασμού) για όλη την

περίοδο αποθήκευσης (7 βιοδοκιμές συνολικά) και για τις δύο ομάδες των τρυβλίων. Πριν από την εισαγωγή των εντόμων, στα τρυβλία προστέθηκε τροφή για την πρόληψη της θνησιμότητας λόγω ασιτίας. Η τροφή ήταν 5 ολόκληροι σπόροι από σκληρό σιτάρι για το *S. oryzae*, 5 σπασμένοι σπόροι σκληρού σιταριού για το *O. surinamensis*, και 0.5 g αλεύρι σκληρού σιταριού για το *T. confusum*. Για κάθε βιοδοκιμή, είκοσι ακμαία καθενός από τα ελεγχθέντα είδη τοποθετήθηκαν σε κάθε τρυβλίο, με διαφορετικά τρυβλία για κάθε είδος. Η θνησιμότητα των εκτεθειμένων εντόμων καταγράφηκε μετά από 3 και 7 ημέρες έκθεσης, ενώ τα νεκρά ακμαία απομακρύνονταν μετά από κάθε μέτρηση. Μετά από κάθε μηνιαία βιοδοκιμή τα αντίστοιχα τρυβλία καταστρέφονταν.

### 9.2.3 Ανάλυση Δεδομένων

Οι μετρήσεις της θνησιμότητας διορθώθηκαν σύμφωνα με τον τύπο του Abbott (1925). Η θνησιμότητα των ακμαίων αναλύθηκε χωριστά για κάθε έντομο με τη χρήση της πολυμεταβλητής ανάλυσης διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις (repeated measures MANOVA) με βάση τον έλεγχο Wilk's lambda και το λογισμικό JMP 7 (Sall et al., 2001), με τη συγκέντρωση, την επιφάνεια (τσιμέντο σε σκοτάδι, τσιμέντο στο φως και μέταλλο στο σκοτάδι) και το μήνα (περίοδος αποθήκευσης) ως κύριες επιδράσεις, καθώς και τη θνησιμότητα στο χρόνο, σαν επαναλαμβανόμενη μεταβλητή. Η σύγκριση των μέσων όρων έγινε με το κριτήριο Tukey-Kramer HSD test στο επίπεδο του 5% (Sokal and Rohlf, 1995).

## 9.3 Αποτελέσματα

### 9.3.1 Θνησιμότητα του *S. oryzae*

Από τις κύριες επιδράσεις και τις αλληλεπιδράσεις μόνο η επιφάνεια και ο μήνας ήταν σημαντικές (Πίνακας 1). Το *S. oryzae* ήταν γενικά πολύ ευαίσθητο σε όλες τις ψεκασμένες με spinetoram επιφάνειες, ανεξάρτητα από τη συγκέντρωσή του, ενώ μετά από 7 ημέρες έκθεσης, όλα τα ακμαία ήταν νεκρά, για ολόκληρη την πειραματική περίοδο (Πίνακας 2). Ωστόσο, υπήρχαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα θνησιμότητας μετά από 3 ημέρες έκθεσης, αλλά δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές στις θνησιμότητες μεταξύ του πρώτου και του τελευταίου μηνός



βιοδοκιμών. Μεταξύ των επιφανειών και κατά τις δύο τελευταίες βιοδοκιμές στα 0.025mg / cm<sup>2</sup>, μετά από 3 ημέρες έκθεσης, σημαντικά λιγότερα ακμαία πέθαναν στις επιφάνειες που δέχτηκαν φωτισμό, συγκριτικά με εκείνες που διατηρήθηκαν σε συνεχές σκοτάδι.

**Πίνακας 1.** Πολυμεταβλητή ανάλυση διακύμανσης με επαναλαμβανόμενες μετρήσεις της θνησιμότητας των ακμαίων των *S. oryzae*, *T. confusum* και *O. surinamensis* για τις κύριες επιδράσεις των παραγόντων της συγκέντρωσης, της επιφάνειας (τσιμέντο σε σκοτάδι, τσιμέντο στο φως και μέταλλο στο σκοτάδι) και του μήνα (περίοδος αποθήκευσης), καθώς και των αλληλεπιδράσεων τους (B.E. σφάλματος = 336).

Πηγή παραλλακτικότητας	B.E.	<i>S. oryzae</i>		<i>T. confusum</i>		<i>O. surinamensis</i>	
		F	P	F	P	F	P
Μεταξύ μεταβλητών	41	4.7	<0.01	11.9	<0.01	18.5	<0.01
Τιμή αποκοπής	1	51244.9	<0.01	1544.3	<0.01	6058.4	<0.01
Συγκέντρωση (Συγκ.)	1	6.6	0.01	11.3	<0.01	39.1	<0.01
Επιφάνεια (Επ.)	2	5.5	<0.01	80.6	<0.01	193.2	<0.01
Μήνες	6	22.1	<0.01	33.1	<0.01	29.2	<0.01
Συγκ. X Επ.	2	1.2	0.29	29.2	<0.01	15.2	<0.01
Συγκ. X Μήνες	6	0.7	0.61	2.0	0.06	2.1	0.05
Επ. X Μήνες	12	1.3	0.21	3.0	<0.01	8.4	<0.01
Συγκ. X Επ. X Μήνες	12	1.7	0.06	0.8	0.69	1.1	0.39
Εντός μεταβλητών	41	4.6	<0.01	9.3	<0.01	4.2	<0.01
Χρόνος	1	289.2	<0.01	1583.3	<0.01	431.2	<0.01
Χρόνος X Συγκ.	1	6.1	0.01	10.9	<0.01	1.5	0.23
Χρόνος X Επ.	2	5.1	<0.01	69.7	<0.01	1.8	0.17
Χρόνος X Μήνες	6	22.3	<0.01	15.8	<0.01	14.8	<0.01
Χρόνος X Συγκ. X Επ.	2	1.0	0.36	40.8	<0.01	4.1	0.02
Χρόνος X Συγκ. X Μήνες	6	0.6	0.72	1.6	0.15	2.5	0.02
Χρόνος X Επ. X Μήνες	12	1.1	0.34	2.6	<0.01	4.0	<0.01
Χρόνος X Συγκ. X Επ. X Μήνες	12	1.6	0.09	1.1	0.38	0.6	0.80

**Πίνακας 2.** Μέσος Όρος θνησιμότητας (%  $\pm$  Τ.Σ.) των ακμαίων του *S. oryzae* που εκτέθηκαν για 3 και 7 ημέρες σε επιφάνειες τσιμέντου και μετάλλου ψεκασμένες με spinetoram σε συγκεντρώσεις 0.025 και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> που αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες συνεχούς σκότους ή σε φωτοπερίοδο 12:12 L:D για περίοδο 6 μηνών (σε κάθε διάστημα έκθεσης και στήλη, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σε κάθε διάστημα έκθεσης και μήνα (σειρά), οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Διάστημα έκθεσης/Συγκέντρωση						
3 Ημέρες			7 Ημέρες			
0.025 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			0.025 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			
Μήνας	Τσιμέντο (συνεχές σκοτάδι)	Τσιμέντο (12: 12 L:D)	Μέταλλο (συνεχές σκοτάδι)	Τσιμέντο (συνεχές σκοτάδι)	Τσιμέντο (12: 12L:D)	Μέταλλο (συνεχές σκοτάδι)
0	69.4 $\pm$ 8.7B	75.4 $\pm$ 7.3AB	56.5 $\pm$ 11.9B	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0A	100.0 $\pm$ 0.0
1	92.7 $\pm$ 2.6A	89.9 $\pm$ 3.1A	97.2 $\pm$ 1.6A	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0A	100.0 $\pm$ 0.0
2	92.8 $\pm$ 2.8A	90.0 $\pm$ 2.4A	93.8 $\pm$ 1.6A	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0A	100.0 $\pm$ 0.0
3	81.1 $\pm$ 6.2AB	69.1 $\pm$ 6.5AB	83.5 $\pm$ 6.0A	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0A	100.0 $\pm$ 0.0
4	94.6 $\pm$ 2.8A	88.1 $\pm$ 4.2A	85.0 $\pm$ 5.3A	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0A	100.0 $\pm$ 0.0
5	86.2 $\pm$ 4.0ABa	55.7 $\pm$ 10.6Bb	86.5 $\pm$ 3.9Aa	100.0 $\pm$ 0.0	98.0 $\pm$ 1.0B	100.0 $\pm$ 0.0
6	97.4 $\pm$ 1.4Aa	82.3 $\pm$ 4.7Ab	97.7 $\pm$ 1.7Aa	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0A	100.0 $\pm$ 0.0
0.1 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			0.1 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			
0	68.0 $\pm$ 9.3B	61.8 $\pm$ 9.7B	72.9 $\pm$ 8.8B	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
1	93.3 $\pm$ 1.8A	95.1 $\pm$ 2.2A	97.7 $\pm$ 2.3A	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
2	96.1 $\pm$ 1.8A	93.9 $\pm$ 2.5A	94.3 $\pm$ 2.9AB	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
3	84.0 $\pm$ 4.7AB	80.1 $\pm$ 5.8AB	84.7 $\pm$ 7.1AB	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
4	99.3 $\pm$ 0.7A	93.1 $\pm$ 4.3A	96.6 $\pm$ 2.8A	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
5	91.0 $\pm$ 3.7A	82.5 $\pm$ 7.2AB	85.9 $\pm$ 3.7AB	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0
6	94.5 $\pm$ 3.2A	96.7 $\pm$ 2.3A	90.2 $\pm$ 4.0AB	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0

### 9.3.2 Θνησιμότητα του *T. confusum*

Για το είδος αυτό, όλες οι κύριες επιδράσεις ήταν σημαντικές καθώς και η αλληλεπίδραση συγκέντρωση X επιφάνεια X μήνας (Πίνακας 1). Από τα είδη που δοκιμάστηκαν εδώ, το *T. confusum* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο στο spinetoram και τα ακμαία δεν ελέγχθηκαν πλήρως σε οποιονδήποτε από τους συνδυασμούς που δοκιμάστηκαν (Πίνακας 3). Σε όλα τα διαστήματα έκθεσης και στις επιφάνειες, σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές στα επίπεδα θνησιμότητας ανάμεσα στους μήνες. Μετά από 7 ημέρες έκθεσης, στα 0.025 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> στις επιφάνειες από τσιμέντο και μέταλλο σε συνεχές σκοτάδι, τα επίπεδα θνησιμότητας ήταν σημαντικά μειωμένα μόνο κατά τον έκτο μήνα βιοδοκιμών. Από την άλλη πλευρά, η θνησιμότητα μειώθηκε σημαντικά μετά το 2<sup>ο</sup> μήνα βιοδοκιμών σε επιφάνειες τσιμέντου που είχαν εκτεθεί στο φως. Παρόμοιες παρατηρήσεις για αυτές τις επιφάνειες τσιμέντου καταγράφηκαν επίσης στην 7-ήμερη έκθεση και σε συγκέντρωση 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup>. Ως εκ τούτου, για τους μήνες "0" και "1", η θνησιμότητα ήταν 69%, ενώ από το μήνα "2" μέχρι το τέλος της περιόδου βιοδοκιμών η θνησιμότητα κυμάνθηκε από 17 έως 35%. Μεταξύ των επιφανειών που διατηρούνταν σε συνεχές σκοτάδι, δεν υπήρξαν διαφορές στα επίπεδα θνησιμότητας στα 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> σε όλες τις βιοδοκιμές. Λαμβάνοντας υπ' όψιν τα συνολικά δεδομένα, η υψηλότερη θνησιμότητα παρατηρήθηκε στις μεταλλικές επιφάνειες, σε σύγκριση με τα αντίστοιχα στοιχεία για τις άλλες επιφάνειες. Στη χαμηλή δόση, με ορισμένες εξαιρέσεις, η θνησιμότητα ήταν μεγαλύτερη στις επιφάνειες από μέταλλο σε σχέση με το τσιμέντο, υπό συνθήκες συνεχούς σκότους.

**Πίνακας 3.** Μέσος Όρος θνησιμότητας (%  $\pm$  Τ.Σ.) των ακμαίων του *T. confusum* που εκτέθηκαν για 3 και 7 ημέρες σε επιφάνειες τσιμέντου και μετάλλου ψεκασμένες με spinetoram σε συγκεντρώσεις 0.025 και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> που αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες συνεχούς σκότους ή σε φωτοπερίοδο 12:12 L:D για περίοδο 6 μηνών (σε κάθε διάστημα έκθεσης και στήλη, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σε κάθε διάστημα έκθεσης και μήνα (σειρά), οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Διάστημα έκθεσης/Συγκέντρωση						
3 Ημέρες			7 Ημέρες			
0.025 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			0.025 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			
Μήνας	Τσιμέντο (συνεχές σκοτάδι)	Τσιμέντο (12: 12 L:D)	Μέταλλο (συνεχές σκοτάδι)	Τσιμέντο (συνεχές σκοτάδι)	Τσιμέντο (12: 12 L:D)	Μέταλλο (συνεχές σκοτάδι)
0	1.7 $\pm$ 1.2B	11.1 $\pm$ 5.5AB	9.5 $\pm$ 1.9BC	36.6 $\pm$ 6.1ABb	41.2 $\pm$ 9.8ABb	76.5 $\pm$ 3.8Ba
1	40.0 $\pm$ 9.7A	29.3 $\pm$ 11.1A	53.9 $\pm$ 12.4A	62.0 $\pm$ 13.1Aab	45.1 $\pm$ 11.6Ab	87.1 $\pm$ 5.8ABa
2	10.7 $\pm$ 3.2Bb	1.7 $\pm$ 0.8Bb	25.6 $\pm$ 6.1ABCa	37.3 $\pm$ 6.7ABb	10.6 $\pm$ 3.7Cc	82.2 $\pm$ 3.1ABa
3	16.1 $\pm$ 6.4Bab	2.2 $\pm$ 0.9Bb	31.7 $\pm$ 6.3ABCa	39.7 $\pm$ 7.5ABb	12.4 $\pm$ 2.6BCc	80.6 $\pm$ 6.1ABa
4	2.8 $\pm$ 1.5Bb	2.2 $\pm$ 1.5Bb	19.0 $\pm$ 3.3BCa	34.4 $\pm$ 6.5ABb	15.8 $\pm$ 3.7BCc	83.9 $\pm$ 3.7ABa
5	11.1 $\pm$ 3.5Bb	4.4 $\pm$ 3.4Bb	36.7 $\pm$ 8.0ABa	50.2 $\pm$ 6.7Ab	22.2 $\pm$ 6.6ABCc	98.9 $\pm$ 1.1Aa
6	3.4 $\pm$ 2.2B	1.1 $\pm$ 1.1B	3.3 $\pm$ 2.4C	8.2 $\pm$ 5.0Bb	5.5 $\pm$ 2.4Cb	50.8 $\pm$ 8.4Ca
0.1 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			0.1 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			
0	5.6 $\pm$ 1.8B	16.6 $\pm$ 6.1AB	5.4 $\pm$ 1.2B	62.7 $\pm$ 4.5AB	68.7 $\pm$ 6.3A	65.5 $\pm$ 5.6ABC
1	57.2 $\pm$ 12.4A	33.7 $\pm$ 8.6A	60.0 $\pm$ 12.0A	81.6 $\pm$ 9.2A	68.9 $\pm$ 8.9A	86.1 $\pm$ 6.7A
2	14.6 $\pm$ 2.8B	3.9 $\pm$ 1.8B	10.6 $\pm$ 4.3B	69.7 $\pm$ 7.2Aa	27.8 $\pm$ 6.6Bb	48.3 $\pm$ 8.2BCab
3	25.2 $\pm$ 4.1Ba	5.0 $\pm$ 2.2Bb	21.1 $\pm$ 7.6Bab	76.7 $\pm$ 5.5Aa	27.2 $\pm$ 6.0Bb	61.1 $\pm$ 10.9ABCa
4	23.3 $\pm$ 4.5Bab	8.5 $\pm$ 2.4Bb	30.3 $\pm$ 7.8Ba	80.6 $\pm$ 3.8Aa	34.5 $\pm$ 5.3Bb	67.7 $\pm$ 6.8ABa
5	18.0 $\pm$ 6.8B	10.0 $\pm$ 1.7B	17.8 $\pm$ 4.0B	60.4 $\pm$ 6.9ABa	32.8 $\pm$ 5.5Bb	55.3 $\pm$ 6.2ABCa
6	5.7 $\pm$ 2.6B	1.1 $\pm$ 1.1B	5.6 $\pm$ 3.4B	37.1 $\pm$ 8.3B	16.7 $\pm$ 5.5B	33.9 $\pm$ 8.0C

### 9.3.3 Θνησιμότητα του *O. surinamensis*

Για το είδος αυτό, όλες οι κύριες επιδράσεις και οι αλληλεπιδράσεις τους ήταν σημαντικές με εξαίρεση αυτή της συγκέντρωσης X μήνες και της συγκέντρωσης X επιφάνεια X μήνες (Πίνακας 1). Το *O. surinamensis* ήταν γενικά ευαίσθητο στο spinetoram (Πίνακας 4). Πλήρης (100%) έλεγχος των ακμαίων επιτεύχθηκε μόνο σε μερικές περιπτώσεις μετά από 7 ημέρες έκθεσης και για τις δύο επιφάνειες που διατηρούνταν σε συνεχές σκοτάδι (Πίνακας 4). Στη χαμηλή δόση, στις επιφάνειες τσιμέντου που διατηρήθηκαν στο φως, η μείωση της αποτελεσματικότητας ήταν σταδιακή, αλλά η θνησιμότητα γενικά σταθεροποιήθηκε μετά την 3<sup>η</sup> σειρά βιοδοκιμών και μέχρι το τέλος της πειραματικής περιόδου. Σε αυτή τη συγκέντρωση, δεν υπήρχαν σημαντικές διαφορές μεταξύ των επιφανειών που διατηρήθηκαν σε συνεχές σκοτάδι, με εξαίρεση τους μήνες "4" και "5". Παρ' όλα αυτά, τα επίπεδα θνησιμότητας στις μεταλλικές επιφάνειες ήταν γενικά υψηλότερα σε σχέση με αυτά των επιφανειών τσιμέντου που διατηρούνταν σε συνεχές σκοτάδι, και για τα δύο χρονικά διαστήματα έκθεσης. Με εξαίρεση την πρώτη βιοδοκιμή, η θνησιμότητα στο εκτεθειμένο σε φως τσιμέντο ήταν συνεχώς χαμηλότερη σε σύγκριση με αυτή των δύο επιφανειών στο συνεχές σκοτάδι. Για παράδειγμα, μετά από 7 ημέρες έκθεσης στον τελευταίο μήνα βιοδοκιμών, τα επίπεδα θνησιμότητας στο τσιμέντο σε συνεχές σκοτάδι, στο μέταλλο σε συνεχές σκοτάδι και στο τσιμέντο σε φως ήταν 88, 91 και 52%, αντίστοιχα. Ομοίως, στην υψηλή δόση στο τσιμέντο υπό συνθήκες φωτός, η θνησιμότητα μειώθηκε μετά την τρίτη βιοδοκιμή σε επίπεδα που παρέμειναν σταθερά μέχρι το τέλος της πειραματικής περιόδου.

**Πίνακας 4.** Μέσος Όρος θνησιμότητας (%  $\pm$  Τ.Σ.) των ακμαίων του *O. surinamensis* που εκτέθηκαν για 3 και 7 ημέρες σε επιφάνειες τσιμέντου και μετάλλου ψεκασμένες με spinetoram σε συγκεντρώσεις 0.025 και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> που αποθηκεύτηκαν σε συνθήκες συνεχούς σκότους ή σε φωτοπερίοδο 12:12 L:D για περίοδο 6 μηνών (σε κάθε διάστημα έκθεσης και στήλη, οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, σε κάθε διάστημα έκθεσης και μήνα (σειρά), οι μέσοι που ακολουθούνται από το ίδιο μικρό γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά, ενώ όπου δεν υπάρχουν γράμματα δεν υπάρχουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές, Tukey-Kramer HSD test σε 0.05).

Διάστημα έκθεσης/Συγκέντρωση						
3 Ημέρες			7 Ημέρες			
0.025 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			0.025 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			
Μήνας	Τσιμέντο (συνεχές σκοτάδι)	Τσιμέντο (12: 12 L:D)	Μέταλλο (συνεχές σκοτάδι)	Τσιμέντο (συνεχές σκοτάδι)	Τσιμέντο (12: 12L:D)	Μέταλλο (συνεχές σκοτάδι)
0	97.8 $\pm$ 1.2A	98.1 $\pm$ 0.9A	94.9 $\pm$ 2.8A	100.0 $\pm$ 0.0	100.0 $\pm$ 0.0A	95.1 $\pm$ 3.2
1	64.0 $\pm$ 10.0ABCab	36.3 $\pm$ 10.0Bb	91.4 $\pm$ 4.5Aa	87.1 $\pm$ 7.3a	58.4 $\pm$ 9.6Bb	98.5 $\pm$ 1.0a
2	69.5 $\pm$ 9.0ABa	22.9 $\pm$ 6.7BCb	88.4 $\pm$ 3.0ABa	90.2 $\pm$ 4.1a	54.1 $\pm$ 5.6Bb	100.0 $\pm$ 0.0a
3	69.0 $\pm$ 8.5ABa	4.8 $\pm$ 1.4Cb	84.3 $\pm$ 5.6ABa	86.6 $\pm$ 8.5a	19.1 $\pm$ 4.3Cb	98.2 $\pm$ 1.2a
4	55.6 $\pm$ 7.3BCb	13.6 $\pm$ 3.4BCc	79.6 $\pm$ 6.8ABa	74.9 $\pm$ 6.8b	29.5 $\pm$ 5.4BCc	97.5 $\pm$ 1.3a
5	31.1 $\pm$ 5.7Cb	2.8 $\pm$ 1.2Cc	65.9 $\pm$ 4.5Ba	79.8 $\pm$ 5.3b	16.8 $\pm$ 5.0Cc	98.4 $\pm$ 1.1a
6	59.4 $\pm$ 9.8BCa	14.1 $\pm$ 7.9BCb	87.0 $\pm$ 8.8ABa	77.3 $\pm$ 7.7a	35.4 $\pm$ 11.9BCb	90.5 $\pm$ 9.5a
0.1 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			0.1 mg (δ.ο.)/cm <sup>2</sup>			
0	90.3 $\pm$ 7.5A	94.1 $\pm$ 2.5A	90.5 $\pm$ 2.9A	100.0 $\pm$ 0.0	99.2 $\pm$ 0.8A	100.0 $\pm$ 0.0
1	91.8 $\pm$ 4.7A	78.6 $\pm$ 5.9AB	90.2 $\pm$ 4.2A	98.4 $\pm$ 1.6	96.2 $\pm$ 3.8A	100.0 $\pm$ 0.0
2	93.0 $\pm$ 2.0Aa	50.6 $\pm$ 12.4BCb	83.2 $\pm$ 7.6ABa	98.0 $\pm$ 1.4a	64.2 $\pm$ 13.0ABb	94.1 $\pm$ 3.3a
3	77.8 $\pm$ 6.7ABa	36.8 $\pm$ 10.9Cb	85.4 $\pm$ 3.9ABa	97.8 $\pm$ 2.2a	57.8 $\pm$ 13.8ABb	99.4 $\pm$ 0.6a
4	90.2 $\pm$ 3.0Aa	43.5 $\pm$ 9.3BCb	75.8 $\pm$ 6.4ABa	100.0 $\pm$ 0.0a	51.6 $\pm$ 8.8Bb	90.2 $\pm$ 3.0a
5	59.2 $\pm$ 8.5Ba	23.2 $\pm$ 10.2Cb	58.9 $\pm$ 8.8Ba	94.3 $\pm$ 5.7a	41.9 $\pm$ 12.1Bb	98.9 $\pm$ 1.1a
6	76.9 $\pm$ 11.4ABa	27.2 $\pm$ 8.5Cb	79.1 $\pm$ 7.5ABa	88.1 $\pm$ 7.7a	52.2 $\pm$ 10.1Bb	91.4 $\pm$ 4.7a

## 9.4 Συζήτηση

Από τα είδη που εξετάστηκαν το *T. confusum* ήταν το λιγότερο ευαίσθητο στο spinetoram ανεξάρτητα από τη συγκέντρωση, τον τύπο της επιφάνειας και τον χρόνο έκθεσης. Αντίθετα, το *S. oryzae* ήταν μακράν το πιο ευαίσθητο είδος. Οι διαφορές μεταξύ των εξετασθέντων ειδών έχουν ήδη αναφερθεί στα αποτελέσματα των προηγούμενων πειραματικών μας ενοτήτων για το spinetoram, ενώ όμοιες αναφορές έχουν καταγραφεί και για το spinosad (Hertlein et al., 2011). Για παράδειγμα, στην πρώτη πειραματική ενότητα βρέθηκε ότι συγκεντρώσεις πάνω από 1 ppm σε δημητριακά ήταν απαραίτητες για τον έλεγχο των *S. granarius* και *S. oryzae*, ενώ τα 10 ppm ήταν η κρίσιμη δόση για το *T. confusum*. Ομοίως, για το spinosad, οι Athanassiou et al. (2008a) ανέφεραν ότι το *S. oryzae* ήταν πιο ευαίσθητο από το *T. confusum*. Οι Toews et al. (2003) ελέγχοντας το spinosad σε συγκεντρώσεις 0.05 και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> σε διαφορετικές επιφάνειες διαπίστωσαν ότι τα ακμαία των *S. oryzae*, *T. confusum* και *O. surinamensis* ήταν ιδιαίτερα ευαίσθητα. Στην ίδια μελέτη, οι συγγραφείς ανέφεραν ότι για τα ακμαία των *T. confusum* και *T. castaneum* η θνησιμότητα ήταν χαμηλότερη σε πλακίδια (με ή χωρίς κερι) και μέταλλο σε σύγκριση με το τσιμέντο. Οι Saglam et al. (2013) ανέφεραν ότι το spinetoram σε συγκεντρώσεις 0.05 και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> τσιμέντου καταπολέμησε πλήρως τα ακμαία του *T. confusum* μετά από 14 ημέρες έκθεσης. Αυτά τα ευρήματα είναι σε συμφωνία με τα αποτελέσματά μας για το εξεταζόμενο είδος και τις δύο επιφάνειες που αποθηκεύτηκαν σε συνεχές σκοτάδι.

Γενικά θεωρείται ότι τα εντομοκτόνα που εφαρμόζονται σε μη πορώδη υλικά, όπως το μέταλλο και το πλακάκι, είναι πιο αποτελεσματικά από ότι σε πορώδη υλικά, όπως το τσιμέντο και το ξύλο (Arthur et al., 2009; Arthur, 2012). Τα πορώδη υλικά απορροφούν ένα μέρος του εντομοκτόνου μετά την εφαρμογή τους επηρεάζοντας αρνητικά την υπολειμματική τοξικότητα τους (Arthur, 2012). Αντίθετα, σε μη πορώδη υλικά τα εντομοκτόνα μπορεί να παραμείνουν στις επιφάνειες επιτρέποντας όμως την ταχύτερη εξάτμιση και φωτοαποικοδόμηση (Rust, 1995). Οι Collins et al. (2000) βρήκαν ότι τα OPs ήταν πιο αποτελεσματικά σε επιφάνειες από χάλυβα από ότι σε τσιμέντο, ενώ ο Arthur (1997) ανέφερε ότι το deltamethrin ήταν πιο αποτελεσματικό στο πλακάκι ή στο κόντρα πλακέ από ότι στο τσιμέντο. Ωστόσο, οι Toews et al. (2003) ανέφεραν ότι το spinosad ήταν πιο αποτελεσματικό στο τσιμέντο

από ότι στον χάλυβα για διάφορα είδη εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων. Ομοίως, ο Arthur (2008) ανέφερε ότι το chlorfenapyr ήταν πιο αποτελεσματικό στο τσιμέντο από ότι στα πλακάκια και στο κόντρα πλακέ. Το γεγονός αυτό δείχνει ότι διαφορετικές δραστικές ουσίες εμφανίζουν διαφορετικές αλληλεπιδράσεις με την επιφάνεια στην οποία εφαρμόζονται και ότι η διάχυσή τους σε διαφορετικές επιφάνειες ποικίλλει μεταξύ των εντομοκτόνων (Arthur, 2008).

Η υπολειμματική δράση του spinetoram στις βιοδοκιμές μας παρέμεινε σταθερή και στις δύο επιφάνειες, που διατηρήθηκαν σε συνεχές σκοτάδι, και πρακτικά δεν υπήρξε μείωση της εντομοκτόνου δράσης για ολόκληρη την περίοδο πειραματισμού των 6 μηνών. Προηγούμενες μελέτες με spinosad έδειξαν ότι η δραστική αυτή είναι ιδιαίτερα σταθερή σε συνθήκες συνεχούς σκότους (Hertlein et al., 2011). Πειράματα που έλαβαν χώρα με spinosad σε σιτάρι που αποθηκευόταν σε μεγάλα δοχεία, απέδειξαν ότι τα υπολείμματα παρέμειναν σταθερά για ένα χρόνο αποθήκευσης (Fang et al., 2002b). Επιπλέον, για τον αποθηκευμένο αραβόσιτο οι Maier et al. (2006) βρήκαν ότι τα υπολείμματα spinosad ήταν σταθερά για μια περίοδο 25 μηνών, ενώ υπό τις ίδιες συνθήκες η υπολειμματική δράση του pirimiphos-methyl παρέμεινε σταθερή μόνο για 9 μήνες. Η μακροχρόνια υπολειμματική δράση και η αποτελεσματικότητα του spinosad στο σιτάρι κατά του *R. dominica* έχει επίσης αναφερθεί για μια περίοδο αποθήκευσης 9 μηνών (Daglish and Nayak, 2006). Ωστόσο, υπάρχουν δυσανάλογα λίγα στοιχεία για την υπολειμματική αποτελεσματικότητα των εντομοκτόνων στις επιφάνειες κατά των εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων. Οι Collins et al. (2000), εξετάζοντας τέσσερα OP σε τσιμέντο και χάλυβα κατά τριών ειδών Psocoptera για μια περίοδο 40 εβδομάδων, ανέφεραν ότι τα OP ήταν πιο αποτελεσματικά και με μεγαλύτερη υπολειμματική δράση σε γαλβανισμένο χάλυβα από ότι σε τσιμέντο. Παρόμοια αποτελέσματα έχουν επίσης αναφερθεί για τα ίδια OPs σε συνδυασμό με carbaryl (Nayak et al., 2003b). Αυτές οι διαφορές θα μπορούσαν να οφείλονται στο γεγονός ότι τα OPs υδρολύονται γρήγορα στην αλκαλική επιφάνεια του τσιμέντου (Jankov et al., 2013). Ωστόσο, δεν υπάρχουν δεδομένα τα οποία να εξετάζουν την υπολειμματική αποτελεσματικότητα των σπινωσινών στις επιφάνειες. Στις βιοδοκιμές μας, με λίγες εξαιρέσεις, το spinetoram ήταν εξίσου αποτελεσματικό και σε επιφάνειες τσιμέντου και σε μεταλλικές επιφάνειες υπό συνεχές σκοτάδι καθ' όλη τη διάρκεια των βιοδοκιμών. Από την άλλη πλευρά, διαπιστώθηκε ότι το φως, τουλάχιστον στα επίπεδα που



εξετάστηκαν, έχει μια κάποια επιζήμια επίδραση στο spinetoram όταν αυτό έχει εφαρμοσθεί σε τσιμέντο. Αυτή η επίδραση του φωτός πρέπει να ληφθεί σοβαρά υπ' όψιν όταν σχεδιάζονται οι στρατηγικές διαχείρισης των εντόμων αποθηκών καθώς είναι πιθανόν να υπάρχουν περιοχές που εκτίθενται στον ήλιο ή σε τεχνητό φως. Σε αυτές τις περιοχές μπορεί να προκληθεί διάσπαση του εντομοκτόνου, πράγμα που σημαίνει ότι αυτές οι περιοχές μπορούν να χρησιμεύσουν ως καταφύγια εντόμων μετά την εφαρμογή του εντομοκτόνου.

Είναι γνωστό ότι το spinosad αποικοδομείται ταχέως όταν εκτίθεται στο ηλιακό φως (Saunders and Bret, 1997; Hertlein et al., 2011). Η φωτοαποικοδόμηση είναι ένας βασικός μηχανισμός για την αποικοδόμηση του εντομοκτόνου, η οποία επηρεάζεται από τη δομή του μορίου του εντομοκτόνου και από το προφίλ της φωτεινής πηγής ακτινοβολίας. Το προφίλ της ακτινοβολίας του ηλιακού φωτός καλύπτει ένα ευρύ φάσμα μηκών κύματος, από την υπεριώδη (UV) μέχρι την υπέρυθη (IR) συμπεριλαμβανομένου και του ορατού φωτός. Η UV ακτινοβολία του ήλιου, κυρίως, έχει την ενέργεια και επηρεάζει χημικούς δεσμούς που οδηγούν σε ταχεία αποικοδόμηση του εντομοκτόνου (Katagi, 2004). Για την υπολειμματική αποτελεσματικότητα του spinosad σε συνθήκες αγρού και σε εργαστηριακές συνθήκες οι Liu et al. (1999) ανέφεραν ότι η αποτελεσματικότητα του spinosad κατά το δεύτερο στάδιο των προνυμφών του *Trichoplusia ni* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) μειώθηκε μετά από μία εβδομάδα, ενώ υπό εργαστηριακές συνθήκες στους  $25 \pm 2$  °C,  $60 \pm 5\%$  Σ.Υ. και σε φωτισμό με λαμπτήρες φθορισμού, το spinosad παρέμεινε τοξικό για 36 ημέρες. Ο Rust (1995) ανέφερε ότι η αποικοδόμηση των συνθετικών πυρεθροειδών ήταν βραδύτερη υπό την επίδραση του φωτός φθορισμού σε σύγκριση με την επίδραση του ήλιου. Αυτό θα μπορούσε να αποδοθεί στο γεγονός ότι οι λαμπτήρες φθορισμού εκπέμπουν στο μήκος κύματος του ορατού φωτός, το οποίο δεν έχει την ενέργεια να σπάσει τους δεσμούς του εντομοκτόνου, ωστόσο εκπέμπονται μικρές ποσότητες UV, οι οποίες είναι ικανές να προκαλέσουν αυτή την βραδεία αποικοδόμηση (Lytle, 1992). Ο Zheng (2004) εξετάζοντας την άμεση φωτόλυση της ουσίας imidacloprid χρησιμοποιώντας μια λάμπα υπεριώδους ακτινοβολίας (24W/264nm), μια λάμπα μέσης πίεσης (125W/264nm) και ένα λαμπτήρα φθορισμού μαύρου φωτός (black light) (24W/365nm), έδειξε ότι η λάμπα φθορισμού προκάλεσε τις λιγότερο αρνητικές συνέπειες. Επιπλέον, στην εν λόγω μελέτη ο συγγραφέας τόνισε ότι το μήκος κύματος της ακτινοβολίας ήταν πολύ πιο

σημαντικό στην αποικοδόμηση του εντομοκτόνου από ότι η ένταση του φωτός. Το μήκος κύματος είναι ένας κρίσιμος παράγοντας για την φωτοαποικοδόμηση κάποιων OP καθώς χαμηλά μήκη κύματος UV προκαλούν μεγαλύτερη αποικοδόμηση (Hirahara et al., 2001). Οι Hossain and Poehling (2009) μελέτησαν την αποικοδόμηση του spinosad υπό εργαστηριακές συνθήκες και συνθήκες θερμοκηπίου και βρήκαν ότι η αποτελεσματικότητα των υπολειμμάτων του spinosad ήταν μεγαλύτερη υπό εργαστηριακές συνθήκες ( $29 \pm 1$  °C, 60-65% Σ.Υ. και 16: 8 L: D) σε σύγκριση με αυτές του θερμοκηπίου. Σε αυτή την εργασία, οι συγγραφείς παρατήρησαν ότι, στο πλαίσιο μιας περιόδου 14 ημερών, μόνο τα υπολείμματα της 1<sup>ης</sup> ημέρας εφαρμογής του εντομοκτόνου ήταν σε θέση να προκαλέσουν 100% θνησιμότητα στις προνύμφες του *Liriomyza sativae* Blanchard (Diptera: Agromyzidae). Ενώ οι συνθήκες θερμοκηπίου είναι κοντά στις πραγματικές συνθήκες, τα υλικά του θερμοκηπίου (πλαστικό ή γυαλί) απορροφούν τη φασματική ακτινοβολία του μεταδιδόμενου φωτός του ήλιου επηρεάζοντας την αποικοδόμηση (Katagi, 2004). Όπως το spinosad, έτσι και το spinetoram φαίνεται να αποικοδομείται τάχιστα υπό συνθήκες αγρού. Οι Yee et al. (2007) ανέφεραν μειωμένη τοξικότητα των υπολειμμάτων του spinetoram μετά την έκθεση για 7 και 14 ημέρες σε ζεστό και ξηρό περιβάλλον σε σύγκριση με αυτή των υπολειμμάτων μιας ημέρας. Στις βιοδοκιμές μας παρατηρήσαμε μειωμένη αποτελεσματικότητα του spinetoram σε επιφάνειες τσιμέντου που έχουν εκτεθεί στο φως, μετά τον πρώτο μήνα της βιοδοκιμής, προκαλώντας χαμηλότερα επίπεδα θνησιμότητας στα *T. confusum* και *O. surinamensis*. Αυτή η μειωμένη αποτελεσματικότητα του spinetoram θα πρέπει να θεωρείται ως μια άμεση συνέπεια της φωτεινής πηγής. Παρ' όλα αυτά, στα τρυβλία που έχουν εκτεθεί στο φως, η αποτελεσματικότητα του spinetoram παρέμεινε σταθερή κατά τη διάρκεια των βιοδοκιμών που ακολούθησαν μετά τον πρώτο μήνα, χωρίς περαιτέρω μείωση στην αποτελεσματικότητά του. Σε αυτό το πλαίσιο, υποθέτουμε ότι η πηγή φωτός που χρησιμοποιήθηκε στην παρούσα μελέτη, αποικοδόμησε το spinetoram μόνο έως ένα ορισμένο "όριο". Επίσης, η μερική απορρόφηση του spinetoram από την πορώδη επιφάνεια του τσιμέντου μπορεί να προστάτευσε το spinetoram από περαιτέρω αποικοδόμηση. Οι Jiang et al. (2011), ανέφεραν ταχεία απορρόφηση του permethrin στο πορώδες τσιμέντο, ενώ, μετά από 300 h πειραμάτων εκρόφησης, περισσότερο από το 20% της αρχικής συγκέντρωσης παρέμεινε στο τσιμέντο, γεγονός που υποδηλώνει ότι το τσιμέντο μπορεί να ενεργεί ως μία δεξαμενή εντομοκτόνου.

Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι το spinetoram μπορεί να είναι αποτελεσματικό για μακράς διάρκειας προστασία σε επιφάνειες, αλλά η αποτελεσματικότητά του εξαρτάται από το είδος εντόμου, τη διάρκεια και τη συγκέντρωση. Υπό συνεχές σκοτάδι το spinetoram αποδείχθηκε ότι είναι ένα πολύ σταθερό μόριο, τόσο στο μέταλλο όσο και στο τσιμέντο, παρέχοντας προστασία για τουλάχιστον 6 μήνες μετά την εφαρμογή του. Υπό την επίδραση του φωτός η αποτελεσματικότητα της ουσίας spinetoram μειώνεται σημαντικά, τουλάχιστον στο τσιμέντο που εξετάσαμε, ενώ αυτή η μείωση μπορεί να θεωρηθεί ως άμεση συνέπεια του φωτισμού. Πρακτικά, σε πραγματικές συνθήκες, τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι το spinetoram δεν μπορεί να είναι αποτελεσματικό σε περιοχές που εκτίθενται στον ήλιο ή σε φωτισμένες περιοχές αποθήκευσης και επεξεργασίας τροφίμων. Παρόμοιες μελέτες θα πρέπει να διεξαχθούν στην περίπτωση άλλων εντομοκτόνων που εφαρμόζονται στις επιφάνειες σε αυτούς τους χώρους καθώς η αποικοδόμηση τους μέσω του φωτισμού είναι πιθανό να συμβεί σε σχετικά σύντομα διαστήματα. Έτσι, είναι πιθανό ο φωτισμός να οδηγήσει σε ένα ετερογενές τοπίο με μερικώς ψεκασμένες ή απέκαστες περιοχές. Σε αυτές τις περιοχές, τα έντομα μπορεί να είναι σε θέση να αναπτυχθούν και να αναπαραχθούν, καθώς παραμένουν ανεπηρέαστα από το εντομοκτόνο λόγω της ταχύτερης διάσπασής του, παρά το γεγονός ότι το σύνολο των εγκαταστάσεων θεωρείται «ψεκασμένο». Κατά συνέπεια, ο φωτισμός θα πρέπει να θεωρείται ως ένας από τους παράγοντες που μπορούν να μετριάσουν οποιαδήποτε εφαρμογή εντομοκτόνων επαφής σε επιφάνειες.

## 10. Ανακεφαλαίωση, Συμπεράσματα, Εφαρμογές

Από το σύνολο των πειραματικών ενοτήτων, που ακολουθήθηκαν και αναπτύχθηκαν παραπάνω, γίνεται αντιληπτό ότι το spinetoram μπορεί να χρησιμοποιηθεί με επιτυχία σε προγράμματα αντιμετώπισης των κυριότερων κολεοπτέρων εντόμων αποθηκευμένων προϊόντων με παράλληλη περαιτέρω αξιολόγησή ως προς την έγκρισή του για τον σκοπό αυτό. Ωστόσο, στην κατάρτιση των προγραμμάτων αυτών πρέπει να λαμβάνονται υπ' όψιν βιοτικοί και αβιοτικοί παράγοντες, οι οποίοι θα καθορίσουν τόσο τη δόση εφαρμογής όσο και τον τρόπο εφαρμογής του spinetoram, με σκοπό την επίτευξη επαρκούς ελέγχου των εχθρών με τη μικρότερη δυνατή επιβάρυνση του προϊόντος και του περιβάλλοντος.

Με βάση τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης το spinetoram είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικό κατά της οικογένειας Bostrychidae και η αποτελεσματικότητά του παραμένει υψηλή, ανεξαρτήτως της εφαρμογής του στην μάζα του δημητριακού ή σε επιφάνειες σε δόσεις της τάξης του 0.1 ppm στο προϊόν και 0.025 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> σε επιφάνειες, αντιστοίχως, στις συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας που εξετάστηκαν. Επιπλέον, σημαντικό εύρημα για τη χρήση του spinetoram στη μάζα του δημητριακού κατά του *R. dominica* αποτελεί το γεγονός ότι προστασία του προϊόντος μπορεί να επιτευχθεί ακόμη και αν ψεκάσται μόνο το άνω ή το κάτω στρώμα του όγκου του δημητριακού, γεγονός που συμβάλλει τόσο στον περιορισμό της επιβάρυνσης του προϊόντος με εντομοκτόνο όσο και στη μείωση του κόστους εφαρμογής. Το αυτό επιτυγχάνεται και με την ανάμιξη ποσότητας ψεκασμένου προϊόντος με spinetoram σε ποσοστό 5-10% του συνολικού όγκου, καθώς βρέθηκε να είναι εξ ίσου αποτελεσματικό σε σχέση με τον πλήρη ψεκάσμό όλης της μάζας του προϊόντος.

Όσον αφορά τα είδη του γένους *Sitophilus*, το spinetoram αποδείχτηκε αποτελεσματικό κατά την εφαρμογή του στη μάζα του δημητριακού, καθώς τα έντομα *S. granarius* και *S. oryzae* ελέγχθηκαν επιτυχώς σε δόσεις 0.5 και 1 ppm αντίστοιχα. Επιπλέον, η αποτελεσματικότητα του spinetoram φάνηκε να επηρεάζεται θετικά από την αύξηση της θερμοκρασίας (από τους 20 στους 30 °C που εξετάστηκαν), γεγονός το οποίο εναρμονίζεται με τις κλιματικές συνθήκες τις Ελλάδος, όπου η αρχική αποθήκευση των δημητριακών γίνεται σε υψηλές

θερμοκρασίες αμέσως μετά τη συγκομιδή τους. Η τεχνική του ψεκασμού στρώματος του δημητριακού καθώς και η ανάμιξη ποσότητας ψεκασμένου προϊόντος δεν φαίνεται να αποτελούν λύσεις για την αντιμετώπιση των ακμαίων του γένους *Sitophilus*, καθώς δεν επιτυγχάνεται πλήρης έλεγχος των εντόμων, εκτός ίσως από την περίπτωση ανάμιξης ψεκασμένου με spinetoram προϊόντος σε ποσοστό 50% του συνολικού όγκου του προϊόντος. Όσον αφορά τη δράση του spinetoram σε επιφάνειες, η αποτελεσματικότητα του απεδείχθη να είναι παρόμοια με αυτή κατά του *R. dominica*.

Στην περίπτωση του *O. surinamensis*, τα αποτελέσματά της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι για τον έλεγχο του εντόμου σε σπόρους δημητριακών οι απαιτούμενες δόσεις του spinetoram θα πρέπει να είναι ελαφρώς μεγαλύτερες (5 ppm) συγκριτικά με τα προηγούμενα έντομα. Αντιθέτως, το έντομο ήταν εξ ίσου ευαίσθητο με τα προηγούμενα όταν ήλθε σε επαφή με ψεκασμένες επιφάνειες με το spinetoram. Το γεγονός αυτό είναι σημαντικό καθώς το έντομο συναντάται στις διάφορες επιφάνειες των χώρων επεξεργασίας τροφίμων (π.χ. αλευρομύλων) και κυρίως στο δάπεδο, λόγω της ύπαρξης προϊόντων άλεσης με τα οποία και τρέφεται και λόγω του ότι το έντομο σπάνια χρησιμοποιεί την πτητική ικανότητά του.

Το spinetoram φαίνεται να μειονεκτεί σε αποτελεσματικότητα για τον έλεγχο του *T. confusum*, τόσο όταν η προστασία αφορά τον έλεγχο του εντόμου σε προϊόν, όσο και τον έλεγχο του εντόμου σε επιφάνειες, και απαιτούνται οι αυξημένες δόσεις του οι οποίες είναι ίσες ή μεγαλύτερες από 10 ppm για εφαρμογή σε σπόρο και 0.1 mg (δ.ο.)/cm<sup>2</sup> για την εφαρμογή σε επιφάνειες, όσο και μεγάλη διάρκεια εκθέσεως του εντόμου στο εντομοκτόνο. Ωστόσο, όσον αφορά την εφαρμογή του spinetoram σε επιφάνειες, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η δόση εφαρμογής μπορεί να υποδιπλασιαστεί όταν, πριν την εφαρμογή αλλά και στην συνέχεια, ακολουθηθεί ένα καλό πρόγραμμα καθαρισμού για την απομάκρυνση υπολειμμάτων τροφής.

Ειδικότερα για την περίπτωση της εφαρμογής του spinetoram σε επιφάνειες, που είναι πιθανόν να συναντήσουμε τόσο σε αποθηκευτικούς χώρους όσο και σε χώρους επεξεργασίας δημητριακών, τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι το spinetoram ήταν εξίσου αποτελεσματικό όταν εφαρμόστηκε τόσο σε πορώδη υλικά (ξύλο και τσιμέντο) όσο και μη πορώδη (μέταλλο και πλακάκι). Συνεπώς, για

το spinetoram δεν παρατηρείται η επίδραση της επιφάνειας, στο βαθμό που έχει καταγραφεί κατ' επανάληψη στο παρελθόν για άλλα εντομοκτόνα επαφής. Έτσι, η ίδια δόση του spinetoram αναμένεται να παράσχει παρόμοια αποτελεσματικότητα σε διάφορα είδη επιφανειών, υπό συνθήκες συνεχούς σκότους.

Σημαντικό στοιχείο στην αξιολόγηση του spinetoram για τη χρήση του ως εντομοκτόνο για τον έλεγχο των κολεοπτέρων αποθηκών ήταν η μεγάλη υπολειμματική δράση του στις συνήθεις συνθήκες συνεχούς σκότους των αποθηκών. Η αποτελεσματικότητα του spinetoram, σύμφωνα με τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών, ήταν σταθερή για διάστημα 8 μηνών, κάτι που επιβεβαιώθηκε και ποσοτικά με την ανάλυση υπολειμμάτων του που πραγματοποιήθηκε με την τεχνική της υγρής χρωματογραφίας. Εξίσου σταθερή σε συνθήκες σκότους ήταν η αποτελεσματικότητα του spinetoram και σε επιφάνειες (πορώδεις ή μη), όπου τα πειράματά διήρκησαν για διάστημα 6 μηνών. Η δράση του spinetoram φαίνεται ωστόσο να επηρεάζεται από την παρουσία φωτός, ακόμη και τεχνητού φωτός, που εφαρμόσαμε στα πειράματα, καθώς η αποτελεσματικότητά του μειώθηκε αμέσως μετά τον πρώτο μήνα εφαρμογής στα λιγότερο ευαίσθητα έντομα, όπως τα *O. surinamensis* και *T. confusum*. Το γεγονός αυτό πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν κατά την κατάσθρωση σχεδίων αντιμετώπισης εντομολογικών εχθρών, κυρίως για τις επιφάνειες που βρίσκονται κοντά σε ανοίγματα όπου και εισέρχεται το φως, ώστε να γίνονται επαναλαμβανόμενοι ψεκασμοί με σκοπό να αποφεύγεται η δημιουργία καταφυγίων των εντόμων.

Το είδος του δημητριακού στο οποίο εφαρμόζεται το spinetoram φαίνεται να διαδραματίζει μικρό ρόλο και να περιορίζεται κυρίως στο σιτάρι, καθώς μόνο μικρές διαφοροποιήσεις παρατηρήθηκαν μεταξύ των άλλων 5 δημητριακών που εξετάστηκαν. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παρούσης μελέτης το spinetoram βρέθηκε πιο αποτελεσματικό όταν εφαρμόστηκε σε σκληρό σιτάρι σε σχέση με την εφαρμογή του σε μαλακό σιτάρι εναντίον των ειδών του γένους *Sitophilus*. Το γεγονός αυτό διαφοροποιεί τις δόσεις του spinetoram που πρέπει να εφαρμόζονται ανάλογα με τον τύπο του δημητριακού. Έτσι, η συνήθης συγκέντρωση του spinetoram, που για τα *Sitophilus* spp. είναι στο 1 ppm, πρέπει να είναι ελαφρώς μεγαλύτερη όταν η εφαρμογή του γίνεται στο μαλακό σιτάρι και τον αραβόσιτο.

Όσον αφορά την μορφή τυποποίησης του spinetoram και τον ελάχιστο χρόνο έκθεσης των εντόμων σε αυτό, η πιο αποτελεσματική μορφή ήταν αυτή του συμπυκνωμένου εναιωρήματος σε σχέση με τη βρέξιμη σκόνη, ενώ για να επιτευχθεί έλεγχος των ευαίσθητων εντόμων στο spinetoram απαιτείται ελάχιστη έκθεσή τους για διάστημα 72 ωρών.

## 11. Προοπτικές Νέας Έρευνας

Στην παρούσα διδακτορική διατριβή το spinetoram αξιολογήθηκε για πρώτη φορά εκτενώς όσον αφορά την αποτελεσματικότητά του κατά των κυριότερων κολεοπτέρων εντόμων αποθηκών σε ποικιλία βιοτικών και αβιοτικών παραγόντων. Περαιτέρω έρευνα για το εντομοκτόνο αυτό, όσον αφορά τα έντομα αποθηκών θα μπορούσαν να αποτελέσουν τα παρακάτω:

- Έρευνα της αποτελεσματικότητας του spinetoram κατά των λεπιδοπτέρων εντόμων αποθηκών της οικογένειας Pyralidae όπως τα *Plodia interpunctella* και *Ephestia* spp.
- Έρευνα της αποτελεσματικότητας του spinetoram κατά των εντόμων της τάξης Psocoptera, τα οποία αρχίζουν να αποτελούν σημαντικό εχθρό των αποθηκευμένων προϊόντων και τροφίμων
- Έρευνα της αποτελεσματικότητας του spinetoram σε πραγματικές συνθήκες αποθήκης και χώρων επεξεργασίας τροφίμων.
- Αξιολόγηση της παρουσίας υπολειμμάτων του spinetoram σε επεξεργασμένα τρόφιμα (π.χ. άλευρα), τα οποία προήλθαν από ψεκασμένες πρώτες ύλες (δημητριακά).
- Εκτίμηση της δυνατότητας χρήσης του spinetoram μαζί με άλλα εντομοκτόνα, για τα έντομα για τα οποία είναι δύσκολη η αντιμετώπισή τους με τη δραστική αυτή, όπως για το *T. confusum*.
- Διερεύνηση της δυνατότητας χρήσης του spinetoram κατά εντόμων αποθηκών τα οποία είναι ανθεκτικά σε άλλες δραστικές (π.χ. φωσφίνη).

Επιπρόσθετα οι πειραματικές ενότητες που αναπτύχθηκαν στην παρούσα διατριβή θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την αξιολόγηση νέων δραστικών ουσιών στην αποτελεσματικότητά τους κατά των εντόμων αποθηκών. Τέλος, τα αποτελέσματά μας για την επίδραση του μικροκλίματος και παραγόντων, όπως ο φωτισμός της αποθήκης, οδηγούν στο συμπέρασμα ότι αρκετές από τις υπάρχουσες δραστικές θα πρέπει να αξιολογηθούν για τη συμπεριφορά τους κάτω από διάφορες συνθήκες των αβιοτικών παραγόντων της αποθήκης.



## 12. Βιβλιογραφία

- Abbott, W.S., 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18, 265–267.
- Aitken, A.D., 1975.** Insect Travelers, I: Coleoptera, Techn. Bull. 31. H.M.S.O. London, United Kingdom.
- Alanko, K., Tuomi, T., Vanhanen, M., Pajari-Backas, M., Kanerva, L., Havu, K., Saarinen, K., Bruynzeel, D.P., 2000.** Occupational IgE-mediated allergy to *Tribolium confusum* (confused flour beetle). Allergy 55, 879-82.
- 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. J. Econ. Entomol. 85, 554-560.
- Arthur, F.H., 1996.** Grain protectants: current status and prospects for the future. J. Stored Prod. Res. 32, 293-303.
- Arthur, F.H., 1997.** Differential effectiveness of deltamethrin dust on plywood, concrete, and tile surfaces against three stored-product beetles. J. Stored Prod. Res. 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. J. Econ. Entomol. 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. J. Stored Prod. Res. 34, 19-25.
- Arthur, F.H., 1999.** Effect of temperature on residual toxicity of cyfluthrin wettable powder. J. Econ. Entomol. 92, 695-699.
- Arthur, F.H., 2000a.** Toxicity of diatomaceous earth to red flour beetles and confused flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae): Effects of temperature and relative humidity. J. Econ. Entomol. 93, 526-532.
- Arthur, F.H., 2000b.** Impact of food source on survival of red flour beetles and confused flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae) exposed to diatomaceous earth. J. Econ. Entomol. 93, 1347-1356.

- Arthur, F.H., 2000c.** Impact of accumulated food on survival of *Tribolium castaneum* on concrete treated with cyfluthrin wettable powder. J. Stored Prod. Res. 36, 15-23.
- Arthur, F.H., 2008.** Efficacy of chlorfenapyr against *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults exposed on concrete, vinyl tile, and plywood surfaces. J. Stored Prod. Res. 44, 145-151.
- Arthur, F.H., 2012.** Aerosols and contact insecticides as alternatives to methyl bromide in flour mills, food production facilities, and food warehouses. J. Pest Sci. 85, 323-329.
- 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. J. Econ. Entomol. 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. J. Stored Prod. Res. 40: 527-546.
- Arthur, F.H., Liu, S., Zhao, B., Phillips, T.W., 2009.** Residual efficacy of pyriproxyfen and hydroprone applied to wood, metal and concrete for control of stored-product insects. Pest Manag. Sci. 65, 791-797.
- 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. Entomol. Exp. Appl. 98, 67-78.
- Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Vayias, B.J., Dimizas, C.B., Papagregoriou, A.S., Buchelos, C.T., 2004.** Residual toxicity of beta cyfluthrin, alpha cypermethrin and deltamethrin against *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on stored wheat. Appl. Entomol. Zool. 39, 195-202.
- Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Palyvos, E.N., Sciarretta, A., Trematerra, P., 2005a.** Spatiotemporal distribution of insects and mites in horizontally stored wheat. J. Econ. Entomol. 98, 1058-1069.
- Athanassiou, C.G., Vayias, B.J., Dimizas, C.B., Kavallieratos, N.G., Papagregoriou, A.S., Buchelos, C.T., 2005b.** Insecticidal efficacy of diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on stored wheat:

influence of dose rate, temperature and exposure interval. J. Stored Prod. Res. 41, 47-55.

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

**Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Chintzoglou, G.J., Peteinatos, G.G., Boukouvala, M.C., Petrou, S.S., Panoussakis, E.C., 2008b.** Effect of temperature and grain on insecticidal efficacy of spinosad dust against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). J. Econ. Entomol. 101, 976-981.

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

**Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., Throne, J.E., 2009b.** Efficacy of grain protectants against four psocid species on maize, rice and wheat. Pest Manag. Sci. 65, 1140-1146.

**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. J. Econ. Entomol. 103, 197-202.

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

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

**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. J. Econ. Entomol. 106, 1064-1070.

**Australian Pesticides and Veterinary Medicines Authority, 2008.** Evaluation of the new active SPINETORAM in the product DELEGATE INSECTICIDE, Canberra, Australia.

- Bajracharya, N.S., Opit, G.P., Talley, J., Jones, C.L., 2013.** Efficacies of spinosad and a combination of chlorpyrifos-methyl and deltamethrin against phosphine-resistant *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) on wheat. J. Econ. Entomol. 106, 2208-2215.
- Bell, C., 2000.** Fumigation in the 21st century. Crop. Prot. 19, 563–569.
- 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. J. Stored Prod. Res. 18, 131-142.
- Bert, B.L., Larson, L.L., Schoonover, J.R., Sparks, T.C., Thompson, G.D., 1997.** Biological properties of spinosad. Down to Earth 52, 6-13.
- Besard, L., Mommaerts, V., Abdu-Alla, G., Smagghe, G., 2011.** Lethal and sublethal side-effect assessment supports a more benign profile of spinetoram compared with spinosad in the bumblebee *Bombus terrestris*. Pest Manag. Sci. 67, 541–547.
- Beti, J.A., Phillips, T.W., Smalley, E.B., 1995.** Effect of maize weevils (Coleoptera: Curculionidae) on production of aflatoxin B1 by *Apergillus flavus* instored corn. J. Econ. Entomol. 88, 1776-1782.
- Biondi, A., Mommaerts, V., Smagghe, G., Viñuela, E., Zappalà, L., Desneux, N., 2012.** The non-target impact of spinosyns on beneficial arthropods. Pest Manag. Sci. 68, 1523-1536.
- Buchelos, C.T., 1985.** The Greek insect fauna of stored products. Biol. Gallo-Hellenica 10, 221-227.
- Buchelos, C.T., Athanassiou, C.G., 1993.** Dominance and Frequency of Coleoptera found on stored cereals and cereal products in central Greece. Entomol. Hell. 11, 17-22.
- Buchelos, C.T., 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. Annls Inst. Phytopath. Benaki 18, 129-133.
- Buchelos, C.T., Athanassiou, C.G., 1999.** Unbaited probe traps and grain trier: a comparison of the two methods for sampling Coleoptera in stored barley. J. Stored Prod. Res. 35, 397-404.

- Champ, B.R., Dyte, C.E., 1976.** Global survey of pesticide susceptibility of stored grain pests. FAO Plant Protection Science, NO.5 FAG, Rome.
- Chintzoglou, G.J., Athanassiou, C.G., Markoglou, A.N., Kavallieratos, N.G., 2008a.** Influence of commodity on the effect of spinosad dust against *Rhyzopertha dominica*(F.) (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Int. J. Pest Manag. 54, 277-285.
- Chintzoglou, G., Athanassiou, C.G., Arthur, F.H., 2008b.** Insecticidal effect of spinosad dust, in combination with diatomaceous earth, against two stored-grain beetle species. J. Stored Prod. Res.44, 347-353.
- Collins, P.J., 1990.** A new resistance to pyrethroids in *Tribolium castaneum* (Herbst). Pestic. Sci. 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., dos Santos, J.P., Biagi, J.D., Celaro, J.C., Faroni, L.R.D' A., Bortolini, L. de O. F., et al. (Eds.), Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored-Product Protection. ABRAPOS, Campinas, Sao Paulo, Brazil, pp. 277–282.
- Collins, P.J., Nayak, M.K., Kopittke, R.A., 2000.** Residual efficacy of four organophosphate insecticides on concrete and galvanized steel against three liposcelid psocid species (Psocoptera: Liposcelidae) infesting stored products. J. Econ. Entomol. 93, 1357–1363.
- Collins, P.J., Darglish, G.J., Pavic, H., Kopittke, R.A., 2005.** Response of mixed-age cultures of phosphine-resistant and susceptible strains of lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*, to phosphine at a range of concentrations and exposure periods. J. Stored Prod. Res. 41, 373-385.
- Coombs, C.W., Porter, J.E., 1986.** Some factors affecting the infestation of wheat and maize by *Sitophilus oryzae* (L.) and *Sitophilus zeamais* Mots. (Coleoptera: Curculionidae). J. Stored Prod. Res. 22, 33-41.
- Cordain, L., 1999.** Cereal grains: humanity's double-edged sword, World Rev. Nutr. Diet. 84, 19–73.
- Crouse, G.D., Sparks, T.C., 1998.** Naturally derived materials as products and leads for insect control: The spinosyns. Rev. Toxicol. 2, 133-146.

- Daglish, G.J., 2008.** Impact of resistance on the efficacy of binary combinations of spinosad, chlorpyrifos-methyl and s-methoprene against five stored-grain beetles. *J. Stored Prod. Res.* 44, 71-76.
- Daglish, G.J., Pulvirenti, C., 1998.** Reduced fecundity of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae) following exposure of adults to methoprene. *J. Stored Prod. Res.* 34, 201-206.
- Daglish, G.J., Nayak, M.K., 2006.** Long-term persistence and efficacy of spinosad against *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) in wheat. *Pest Manag. Sci.* 62, 148-152.
- Daglish, G.J., Nayak, M.K., 2010.** Uneven application can influence the efficacy of s-methoprene against *Rhyzopertha dominica* (F.) in wheat. *J. Stored Prod. Res.* 46, 250-253.
- Daglish, G.J., Head, M.B., Hughes, P.B., 2008.** Field evaluation of spinosad as a grain protectant for stored wheat in Australia: efficacy against *Rhyzopertha dominica* (F.) and fate of residues in whole wheat and milling fractions. *Aust. J. Entomol.* 47, 70-74.
- Daglish, G.J., Nayak, M.K., Pavic, H., 2014.** Phosphine resistance in *Sitophilus oryzae* (L.) from eastern Australia: Inheritance, fitness and prevalence. *J. Stored Prod. Res.* 59, 237-244.
- Desmarchelier, J.M., Bengston, M., 1979.** The residual behaviour of chemicals on stored wheat, in: Caswell, G.H., Boshoff, W.H., Daramola, A.M., Dina, S.O., Adesuyi, S.A. Singh, S.R., Ivbijaro, M.F., Adeyemi, S.A.O., Taylor, T.A. (Eds.), *Proceedings of the 2nd International Working Conference on Stored-Product Entomology*. Ibadan, Nigeria, pp. 138-151.
- Diamond, J., 2007.** Όπλα, μικρόβια και ατσάλι. Εκδόσεις Κάτοπρο, Αθήνα.
- Dripps, J., Olson, B., Sparks, T., Crouse, G., 2008.** Spineteram: How artificial intelligence combined natural fermentation with synthetic chemistry to produce a new spinosyn insecticide. *Plant Health Progress*. Access date 12/9/2015, <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/perspective/2008/spineteram/>.
- 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. (Eds.),

Green Trends in Insect Control. Royal Society of Chemistry, Cambridge, United Kingdom, pp. 163-212.

- Edde, P.A., 2012.** A review of the biology and control of *Rhyzopertha dominica* (F.) the lesser grain borer. J. Stored Prod. Res. 48, 1–18.
- El Kady, G.A., El Sharabasy, H.M., Mahmoud, M.F., Bahgat, I.M., 2007.** Toxicity of two potential bio-insecticides against moveable stages of *Tetranychus urticae* Koch. J. App. Sci. Res. 3, 1315–1319.
- 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-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. Nutr. Cancer 17, 97-104.
- 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. J. Econ. Entomol. 99, 1550-1564.
- Fang, L., Subramanyam, B., Arthur, F.H., 2002a.** Effectiveness of spinosad on four classes of wheat against five stored-product insects. J. Econ. Entomol. 95, 640-650.
- Fang, L., Subramanyam, B., Dolder, S., 2002b.** Persistence and efficacy of spinosad residues in farm stored wheat. J. Econ. Entomol. 95, 1102-1109.
- Fang, L., Subramanyam B., 2003.** Activity of spinosad against adults of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) is not affected by wheat temperature and moisture. J. Kans. Entomol. Soc. 76, 529–532.
- Fargo, W.S., Epperly, D., Cuperus, G.W., Clary, B.C., Noyes, R., 1989.** Effect of temperature and duration of trapping on four stored grain insect species. J. Econ. Entomol. 82, 970-973.
- Fields, P.G., 1992.** The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures. J. Stored Prod. Res. 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. J. Stored Prod. Res. 36: 1-13.

- Fields, P.G., White N.D.G., 2002.** Alternatives to methyl bromide treatments for stored-product and quarantine insects. *Ann. Rev. Entomol.* 47, 331-359.
- Fields, P., Subramanyam, B., Hulasare, R., 2012.** Extreme temperatures, in: Hagstrum, D.W., Phillips, T.W., Cuperus, G. (Eds), *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.
- Fleurat-Lessard, F., Vidal, M.L., Budzinski, H., 1998.** Modelling biological efficacy decrease and rate of degradation of chlorpyrifos-methyl on wheat stored under controlled conditions. *J. Stored Prod. Res.* 34, 341-354.
- Flinn, P.W., Hagstrum, D.W., 2001.** Augmentative releases of parasitoid wasps in stored wheat reduces insect fragments in flour. *J. Stored Prod. Res.* 37, 179-186.
- Flinn, P.W., Hagstrum, D.W., 2002.** Temperature-mediated functional response of *Theocolax elegans* (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitizing *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in stored wheat. *J. Stored Prod. Res.* 38, 185-190.
- Flinn, P.W., Scholler, M., 2012.** Biological control: Insect pathogens, parasitoid and predators, in: Hagstrum, D.W., Phillips, T.W., Cuperus, G. (Eds.), *Stored Product Protection*. Kansas State University S156, Manhattan, Kansas, pp. 203-212.
- Flinn, P.W., Subramanyam, B., Arthur, F.H., 2004.** Comparison of aeration and spinosad for suppressing insects in stored wheat. *J. Econ. Entomol.* 97, 1465-1473.
- Getchell, A.I., 2006.** Efficacy of two spinosad formulations on various commodities against stored-product insects. M.S. thesis. Department of Grain Science and Industry, College of Agriculture, Kansas State University, Manhattan, Kansas, p.76.
- Getchell, A.I., Subramanyam, B., 2008.** Immediate and delayed mortality of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) adults exposed to spinosad-treated grain. *J. Econ. Entomol.* 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.). J. Stored Prod. Res. 27, 153-160.
- Golob, P., 1997.** Current status and future perspectives for inert dusts for control of stored product insects. J. Stored Prod. Res. 33, 69-79.
- Golob, P., Webley, D.J., 1980.** The use of plants and minerals as traditional protectants of stored products, Tropical Products Institute, London.
- Godfray, H.C., Beddington, J.R., Crute, I.R., Haddad, L., Lawrence, D., Muir, J.F., Pretty, J., Robinson, S., Thomas, S.M., Toulmin, C., 2010.** Food security: the challenge of feeding 9 billion people. Science 327, 812-818.
- Greenspan, L., 1977.** Humidity fixed points of binary saturated aqueous solutions. J. Res. Nat. Bur. Stand. Physics Chem. 81A, 89-96.
- Guedes, R.N.C., Dover, B.A., Kambhampati, S., 1996.** Resistance to chlorpyrifos-methyl, pirimiphos-methyl, and malathion in Brazilian and US populations of *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). J. Econ. Entomol. 89, 27-32.
- Hagstrum, D.W., 1987.** Seasonal variation of stored wheat environment and insect populations. Environ. Entomol. 16, 77-83.
- Hagstrum, D.W., 1989.** Infestation by *Cryptolestes ferrugineus* (Coleoptera: Cucujidae) of newly harvested wheat stored on three Kansas farms. J. Econ. Entomol. 82, 655-659.
- Hagstrum, D.W., Milliken, G.A., 1988.** Quantitative analysis of temperature, moisture, and diet factors affecting insect development. Ann. Entomol. Soc. Am. 81, 539-546.
- Hagstrum, D.W., Flinn, P.W., 1995.** Integrated pest management, in: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds.), Integrated Management of Insects in Stored Products. Marcel Dekker, New York, pp. 399-408.
- 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 Int. 6, 1-20.

- 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. *J. Econ. Entomol.* 101, 1051-1056.
- Hardke, J.T., Temple, J.H., Leonard, B.R., Jackson, R.E., 2011.** Laboratory toxicity and field efficacy of selected insecticides against fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Flo. Entomol.* 94, 272-278.
- Haryadi, Y., Syarief, R., Hubeis, M., Herawati, I., 1994.** Effect of zeolite on the development of *Sitophilus zeamais* Motsch, in: Highley, E., E. Wright, J., Banks, H.J., Champ, B.R. (Eds.), *Proceedings of the 6th International Working Conference on Stored Product Protection, Canberra, Australia.* CAB International, Wallingford, United Kingdom. pp. 633-634.
- Herling, C., Svendsen, U.G., Schou, C., 1995.** Identification of important allergenic proteins in extracts of the granary weevil (*Sitophilus granarius*). *Allergy* 50, 441-446.
- Hertlein, M.B., Thompson, G.D., Subramanyam, B., Athanassiou, C.G., 2011.** Spinosad: A new natural product for stored grain protection. *J. Stored Prod. Res.* 47, 131-146.
- Hirahara, Y., Ueno, H., Nakamuro, K., 2001.** Comparative photodegradation study of fenthion and disulfoton under irradiation of different light sources in liquid- and solid-phases. *J. Health Sci.* 47, 129-135
- Hodges, R.J., Meik, J., 1984.** Infestation of maize cobs by *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae) - Aspects of biology and control. *J. Stored Prod. Res.* 20, 205-213.
- Holmstrup, M., Bindesbøl, A-M., Oostingh, G.J., Duschl, A., Scheil, V., Köhler, H-R., Spurgeon, D.J., 2010.** Interactions between effects of environmental chemicals and natural stressors: A review. *Sci. Total Environ.* 408, 3746-3762.

- Hossain, M.B., Poehling, H.-M., 2009.** A comparative study of residual effects of azadirachtin, spinosad and avermectin on *Liriomyza sativae* (Dip.: Agromyzidae) on tomatoes. *Int. J. Pest Manag.* 55, 187-195.
- Howe, R.W., 1950.** The development of *Rhyzopertha dominica* (F.) (Col., Bostrichidae) under constant conditions. *Entomol. Mon. Mag.* 6, 1–5.
- Howe, R., 1962.** The effects of temperature and humidity on the oviposition rate of *Tribolium castaneum* (Hbst.) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Bull. Entomol. Res.* 53, 301-310.
- Howe, R.W., 1965.** A summary of estimates of optimal and minimal conditions for population increase of some stored products insects. *J. Stored Prod. Res.* 1, 177-184.
- Howe, R.W., Hole, B.D., 1968.** The susceptibility of developmental stages of *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera, Curculionidae) to moderately low temperatures. *J. Stored Prod. Res.* 4, 147-156.
- Huang, F., Subramanyam, B., 2007.** Effectiveness of spinosad against seven major stored-grain insects on corn. *Insect Sci.* 14, 225-230.
- Huang, F., Subramanyam, B., Hou, X., 2007.** Efficacy of spinosad against eight stored-product insect species on hard white winter wheat. *Biopestic. Int.* 3, 117-125.
- Huang, F., Subramanyam, B., Toews, M.D., 2004.** Susceptibility of laboratory and field strains of four stored-product insects to spinosad. *J. Econ. Entomol.* 97, 2154-2159.
- Isman, M.B., 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51, 45-66.
- James, D.G., Price, T.S., 2002.** Fecundity in two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae) is increased by direct and systemic exposure to imidacloprid. *J. Econ. Entomol.* 95, 729–732.

- Jankov, D., Indić, D., Kljajić, P., Almaši, R., Andrić, G., Vuković, S., Grahovac, M., 2013.** Initial and residual efficacy of insecticides on different surfaces against rice weevil *Sitophilus oryzae* (L.). J. Pest Sci. 86, 211-216.
- Jiang, W., Gan, J., Haver, D., 2011.** Sorption and desorption of pyrethroid insecticide permethrin on concrete. Environ. Sci. Technol. 45, 602-607.
- Johnson, D.L., 1990.** Influence of Temperature on toxicity of two pyrethroids to grasshoppers (Orthoptera: Acrididae). J. Econ. Entomol. 83, 366-373.
- Jones, M.M., Robertson, J.L., Weinzierl, R.A., 2010.** Susceptibility of Oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae) larvae to selected reduced-risk insecticides. J. Econ. Entomol. 103, 1815-1820.
- Katagi, T. 2004.** Photodegradation of pesticides on plant and soil surfaces. Rev. Environ. Contam. Toxicol. 182, 1-189.
- Kavallieratos, N.G., Athanassiou, C.G., Pashalidou, F.G., Andris, N.S., Tomanovic, Z., 2005.** Influence of grain type on the insecticidal efficacy of two diatomaceous earth formulations against *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). Pest Manag. Sci. 61, 660-666.
- Kavallieratos, N.G., Athanassiou, C.G., Vayias, B.J., Betsi, P.C., 2010a.** Insecticidal efficacy of fipronil against four stored-product insect pests: influence of commodity, dose, exposure interval, relative humidity and temperature. Pest Manag. Sci. 66, 640-649.
- Kavallieratos, N.G., Athanassiou, C.G., Vayias, B.J., Kotzamanidis, S., Synodis, S.D., 2010b.** Efficacy and adherence ratio of diatomaceous earth and spinosad in three wheat varieties against three stored-product insect pests. J. Stored Prod. Res. 46, 73-80.
- Kavallieratos, N.G., Athanassiou, C.G., Hatzikonstantinou, A.N., Kavallieratou, H.N., 2011.** Abiotic and biotic factors affect efficacy of chlorfenapyr for control of stored-product insect pests. J. Food Prot. 74, 1288-1299.

- Kavallieratos, N.G., Athanassiou, C.G., Vayias, B.J., Tomanović, Ž., 2012.** Efficacy of insect growth regulators as grain protectants against two stored-product pests in wheat and maize. *J. Food Prot.* 75, 942-950.
- Kaya, H.K., Gaugler, R., 1993.** Entomopathogenic nematodes. *Ann. Rev. Entomol.* 38, 181-206.
- Khater, H.F., 2012.** Prospects of botanical biopesticides in insect pest management. *Pharmacologia* 3, 641-656.
- Kirst, H.A., 2010.** The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *J. Antibiot.* 63, 101–111.
- Korunic, Z., 1997.** Rapid assessment of the insecticidal value of diatomaceous earths without conducting bioassays. *J. Stored Prod. Res.* 33, 219–229.
- Korunic, Z., 1998.** Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *J. Stored Prod. Res.* 34, 87-97.
- Kumar, H., 2002.** Resistance in maize to the larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae). *J. Stored Prod. Res.* 38, 267–280.
- Kume, T., Furuta, M., Todoriki, S., Uenoyama, N., Kobayashi, Y., 2009.** Status of food irradiation in the world. *Radiat. Phys. Chem.* 78, 222-226.
- Li, L., Arbogast, R.T., 1991.** The effect of grain breakage on fecundity, development, survival and population increase in maize of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 27, 87-94.
- Liu, T.-X., Sparks, A.N., Hendrix, W.H., Yue, B., 1999.** Effects of SpinTor (Spinosad) on cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae): Toxicity and persistence of leaf residue on cabbage under field and laboratory conditions. *J. Econ. Entomol.* 92, 1266-1273.
- Lord, J.C., 2001.** Desiccant dusts synergize the effect of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) on stored-grain beetles. *J. Econ. Entomol.* 94, 367–372.

- Lorini, I., Galley, D.J., 1999.** Deltamethrin resistance in *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae), a pest of stored grains in Brazil. *J. Stored Prod. Res.* 35, 37-45.
- Lytle, C.D., Cyr, W.H., Beer, J.Z., Miller, S.A., James, R.H., Landry, R.J., Jacobs, M.E., Kaczmarek, R.G., Sharkness, C.M., Gaylor, D., 1993.** An estimation of squamous cell carcinoma risk from ultraviolet radiation emitted by fluorescent lamps. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 9, 268–274.
- Mahmoud, M.F., Osman, M.A.M., Bahgat, I.M., El-Kady, G.A., 2009.** Efficiency of spinetoram as a biopesticide to onion thrips (*Thrips tabaci* Lindeman) and green peach aphid (*Myzus persicae* Sulzer) under laboratory and field conditions. *J. Biopesticides* 2, 223- 227.
- Maier, D.E., Ileleji, K.E., Szabela, D., 2006.** Efficacy of spinosad for insect management in stored maize, in: Lorini, I., Bacaltchuk, B., Beckel, H., Deckers, D., Sundfeld, E., dos Santos, J.P., Biagi, J.D., Celaro, J.C., D.'A Faroni, L.R., Bortolini, L., Sartori, M.R., Elias, M.C., Guedes, R.N.C., da Fonseca, R.G., Scussel, V.M. (Eds.), *Proceedings of the 9th International Working Conference for Stored-Product Protection*. ABRAPOS, Campinas, São Paulo, Brazil, pp. 789-796.
- Mallis, A., 1982.** *Handbook of pest control: The behavior, life history, and control of household pests*, Sixth ed. Franzak and foster Co, Cleveland, Ohio.
- Mason, L.J., McDonough, M., 2012.** *Biology, Behavior, and Ecology of Stored Grain and Legume Insects* in: Hagstrum, D.W., Phillips, T.W., Cuperus, G. (Eds), *Stored Product Protection*. Kansas State University S156, Manhattan, Kansas, pp 21-33.
- McGaughey, W.H., Speirs, R.D., Martin, C.R., 1990.** Susceptibility of classes of wheat grown in the United States to stored-grain insects. *J. Econ. Entomol.* 83, 1122-1127.
- Mertz, E.P., Yao, R.C., 1990.** *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar rum still. *Int. J. Sust. Bacteriol.* 40, 34-39.

- Minett, W., Williams, P., 1976.** Influence of malathion distribution on the protection of wheat grain against insect infestation. *J. Stored Prod. Res.* 12, 27-33.
- 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 Prot.* 25, 418-425.
- 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. *Trans. ASAE* 42, 427-433.
- Moore, D., Lord, J.C., Smith, S.M., 2000.** Pathogens, in: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds.), *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM*. Kluwer, Boston. pp. 191-227.
- Morton, R.L., Schroeder, H.E., Bateman, K.S., Chrispeels, M.J., Armstrong, E., et al., 2000.** Bean alpha amylase inhibitor 1 in transgenic peas (*Pisum sativum*) provides complete protection from pea weevil (*Bruchus pisorum*) under field conditions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97, 3820–3825.
- Muir, W.E., 2000.** Grain storage ecosystems, in: Muir, W.E. (Ed.), *Grain Preservation Biosystems*. University of Manitoba, Canada.
- Murno, J.W., 1966.** *Pests of stored products*. Hutchinson and Co, London.
- Mutambuki, K., Ngatia, C.M., Mbugua, J.N., Likhayo, P., 2012.** Evaluation on the efficacy of spinosad dust against major storage insect pests. *J. Stored Prod. Postharvest Res.* 3, 19-23.
- Nault, B.A., Shelton, A.M., 2010.** Impact of insecticide efficacy on developing action thresholds for pest management: a case study of onion thrips (Thysanoptera: Thripidae) on onion. *J. Econ. Entomol.* 103, 1315-1326.
- 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 Manag. Sci. 64, 971-976.

**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. J. Stored Prod. Res. 38, 247-258.

**Nayak, M.K., Collins, P.J., Pavic, H. Kopittke, R.A., 2003a.** Inhibition of egg development by phosphine in the cosmopolitan pest of stored products *Liposcelis bostrychophila* (Psocoptera: Liposcelididae). Pest Manag. Sci. 59, 1191–1196.

**Nayak, M.K., Collins, P.J., Kopittke, R.A., 2003b.** Residual toxicities and persistence of organophosphorus insecticides mixed with carbaryl as structural treatments against three liposcelidid psocid species (Psocoptera: Liposcelididae) infesting stored grain. J. Stored Prod. Res. 39, 343-353.

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

**Oberlander, H., Silhacek, D.L., Shaaya, E., Ishaaya, I., 1997.** Current status and future perspectives of the use of insect growth regulators for the control of stored product insects. J. Stored Prod. Res. 33, 1-6.

**O'Brien, P.C., 1984.** Procedures for comparing samples with multiple endpoints. Biometrics 40, 1079-1087.

**Opit, G.P., Phillips, T.W., Aikins, M.J., Hasan, M.M., 2012.** Phosphine resistance in *Tribolium castaneum* and *Rhyzopertha dominica* from stored wheat in Oklahoma. J. Econ. Entomol. 105, 1107-1114.

**Orr, N., Shaffner, A.J., Richey, K., Crouse, G.D., 2009.** Novel mode of action of spinosad: receptor binding studies demonstrating lack of interaction with known insecticidal target sites. Pest. Biochem. Physiol. 95, 1–5.

**Palumbo, J., Richardson, Y.A.J., 2008.** Efficacy of radiant (spinetoram) against western flower thrips in romaine lettuce, Vegetable Report 152, 96-103.



- Panagiotakopulu, E., 2001.** New records for ancient pests: Archaeoentomology in Egypt. *J. Archaeol. Sci.* 28, 1235–1246.
- Pantenius, C.U., 1988.** Storage losses in traditional maize granaries in Togo. *Int. J. Trop. Insect. Sci.* 9, 725-735.
- Pease, G., Storm, C.G., 2010.** Efficacy of pheromone-based control system Exosex SPTab against moth pests in European food processing facilities, In: Carvalho, M.O., Fields, P.G., Adler, C.S., Arthur, F.H., Athanassiou, C.G., Campbell, J.F., Fleurat-Lessard, F., Flinn, P.W., Hodges, R.J., Isikber, A.A., Navarro, S., Noyes, R.T., Riudavets, J., Sinha, K.K., Thorpe, G.R., Timlick, B.H., Trematerra, P., White, N.D.G. (Eds), *Proceedings of the 10th International Working Conference on Stored Product Protection*. Estoril, Portugal. Julius Köhn-Institut, Berlin, Germany, pp 183-189.
- 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 ed., AACC, Minneapolis, pp. 175-182.
- Perez-Mendoza, J., Baker, J.E., Arthur, F.H., Flinn, P.W., 1999.** Effects of Protect-It on efficacy of *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae) parasitizing rice weevils (Coleoptera: Curculionidae) in wheat. *Environ. Entomol.* 28, 529–534.
- 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. *J. Econ. Entomol.* 98, 2282-2291.
- Phillips, T.W., Throne, J.E., 2010.** Biorational approaches to managing stored-product insects. *Annu. Rev. Entomol.* 55, 375-397.
- Phillips, T.W., Cogan, P.M., Fadamiro, H.Y., 2000.** Pheromones, in: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds), *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM*. Kluwer Academic, Boston, pp. 273–302.

- Phillips, T.W., Thoms, E.M., DeMark, J., Walse, S., 2012.** Fumigation, in: Hagstrum, D.W., Phillips, T.W., Cuperus, G. (Eds), Stored Product Protection. Kansas State University S156, Manhattan, Kansas, pp 157-179.
- Pozidi-Metaxa, E., Athanassiou, C.G., 2012.** Comparison of spinosad with three traditional grain protectants against *Prostephanus truncatus* (Horn) and *Ephestia kuehniella* (Zeller) at different temperatures. *J. Pest Sci.* 2, 203-210.
- Racke, K.D., 2007.** A reduced risk insecticide for organic agriculture, in: Felsot, A.J., Racke, K.D. (Eds.), certified organic and biologically-derived pesticides: environmental, health, and efficacy assessment. American Chemical Society Symposium Series, Washington D.C., pp. 92-108.
- Ram, C., Singh, V.S., 1996.** Resistance to *Sitophilus oryzae* in wheat and associated grain characteristics. *Indian J. Entomol.* 58, 79-90.
- Ramos-Rodríguez, O., Campbell, J.F., Ramaswamy, S.B., 2006.** Pathogenicity of three species of entomopathogenic nematodes to some major stored-product insect pests. *J. Stored Prod. Res.* 42, 241-252.
- Rumbos, C.I., Dutton, A-C, Athanassiou, C.G., 2013.** Comparison of two pirimiphos-methyl formulations against major stored-product insect species. *J. Stored Prod. Res.* 55, 106-115.
- Russell, M.P., 1962.** Effects of sorghum varieties on the lesser rice weevil, *Sitophilus oryzae* (L.) I. Oviposition, immature mortality, and size of adults. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 55, 678-685.
- Rust, M.K., 1995.** Factors affecting control with residual insecticide deposits, in: Rust, M.K., Owens, J.M., Reiersen, D.A. (Eds.), Understanding and Controlling the German Cockroach. Oxford University Press, New York. pp. 149–169.
- 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 Prot.* 53, 85-95.

- Salgado, V.L., 1997.** The modes of action of spinosad and other insect control products. *Down to Earth* 52, 35-43.
- Salgado, V.L., 1998.** Studies on the mode of action of spinosad: the internal effective concentration, and the concentration dependence of neural excitation. *Pestic. Biochem. Phys.* 60, 103-110.
- Salgado, V.L., Sparks, T.C., 2005.** The spinosyns: chemistry, biochemistry, mode of action, and resistance, in: Gilbert, L.J., Iatrou, K., Gill, S.S. (Eds), *Comprehensive Molecular Insect Science Vol. 6*. Elsevier, Oxford, United Kingdom, pp. 137–173.
- Sall, J., Lehman, A., Creighton, L., 2001.** *JMP Start Statistics. A Guide to Statistics and Data Analysis Using JMP and JMP IN Software*. Duxbury Press, Belmont, California.
- Sánchez-Ramos, I., Castañera P., 2003.** Laboratory evaluation of selective pesticides against the storage mite *Tyrophagus putrescentiae* (Acari: Acaridae). *J. Med. Entomol.* 40, 475-481.
- Saunders, D.G., Bret, B.L., 1997.** Fate of spinosad in the environment. *Down to Earth* 52, 14-20.
- Sayed, A.A., Temerak, S.A., Lysandrou, M., 2010.** The use of different insect control regimes using three green chemicals to combat *Vericola livia* on date pulm fruit in Egypt. *Acta Hort. (ISHS)* 882, 471-479.
- Scholler, M, Flinn, P.W., 2000.** Parasitoids and predators, in: Subramanyam, B, Hagstrum, D.W. (Eds), *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM*. Kluwer Academic, Boston, pp. 229–271.
- Seal, D.R., Schuster, D.J., Klassen W., 2007.** Comparative effectiveness of new insecticides in controlling Armyworms (Lepidoptera: Noctuidae) and Leafminers (Diptera: Agromyzidae) on tomato. *Proc. Fla. State Hortic. Soc.* 120, 170-177.
- Sehgal, B., Subramanyam, B., Arthur, F.H., Gill, B.S., 2014.** Variation in susceptibility of laboratory and field strains of three stored-grain insect species to

$\beta$ -cyfluthrin and chlorpyrifos-methyl plus deltamethrin applied to concrete surfaces. *Pest Manag. Sci.* 70, 576-587.

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

**Singh, K., Agarwal, N.S., Girish, G.K., 1974.** Studies on quantitative loss in various high yielding varieties of maize due to *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *J. Sci. Technol.* 12, 3-4.

**Sinha, R.N., 1995.** The stored-grain ecosystem, in: Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir W.E. (Eds), *Stored-grain ecosystems*. Marcel Dekker, New York, pp. 1-32.

**Snelson, J.T., 1987.** Grain protectants. ACIAR monograph No. 3, Canberra, Australia.

**Sokal, R.R., Rohlf, F.J., 1995.** *Biometry*, 3rd edition. Freeman, New York.

**Soliman, M., 2012.** Effects of UV-light, temperature and storage on the stability and biological effectiveness of some insecticides. *J. Plant Prot. Res.* 52, 275-280.

**Sparks, T.C., Thompson, G.D., Larson, L.L., Kirst, H.A., Jantz, O.K., Worden, T.V., Hertlein, M.B., Busacca, J.D., 1995.** Biological characteristics of the spinosyns: new naturally derived insect control agents. In: *Proceedings of the Beltwide Cotton Conference*, San Antonio, Texas, 4-7 January, 1995. National Cotton Council of America, Memphis, TN, pp. 903-907.

**Sparks, T.C., Thompson, G.D., Kirst, H.A., Hertlein, M.B., Larson, L.L., Worden, T.V., Thibault, S.T., 1998.** Biological activity of the spinosyns, new fermentation derived insect control agents, on tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *J. Econ. Entomol.* 91, 1277-1283.

**Sparks, T.C., Thompson, G.D., Kirst, H.A., Hertlein, M.B., Mynderse, J.S., Turner, J.R., Worden, T.V., 1999.** Fermentation-derived insect control agents, in: Hall, F.R., Menn, J.J. (Eds.), *Biopesticides: Use and Delivery*. Humana Press, Totowa, pp. 171-188.

- Sparks, T.C., Crouse, G.D., Dripps, J.E., Anzeveno, P., Martynow, J., DeAmicis, C.V., Gifford, J., 2008.** Neural network-based QSAR and insecticide discovery: spinetoram. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 22, 393-401.
- Sparks, T.C., Dripps, J.E., Watson, G.B., Paroonagian, D., 2012.** Resistance and cross-resistance to the spinosyns – A review and analysis. *Pest. Biochem. Physiol.* 102, 1-10.
- Srivastava, M., Bosco, L., Funderburk, J., Olson, S., Weiss, A., 2008.** Spinetoram is compatible with the key natural enemy of *Frankliniella* species thrips in pepper. <http://www.plantmanagementnetwork.org/pub/php/research/2008/pepper/>
- Streit, E., Schatzmayr, G., Tassis, P., Tzika, E., Marin, D., Taranu, I., Tabuc, C., Nicolau, A., Aprodu, I., Puel, O., Oswald, I.P., 2012.** Current situation of mycotoxin contamination and co-occurrence in animal feed--focus on Europe. *Toxins (Basel)*. 4, 788-809.
- Subramanyam, B., 2006.** Performance of spinosad as a stored grain protectant, in: Lorini, I., Bacaltchuk, B., Beckel, H., Deckers, D., Sundfeld, E., dos Santos, J.P., Biagi J.D., Celaro J.C., Faroni, L.R.D' A., Bortolini, L.de O.F., Sartori, M.R., Elias, M.C., Guedes, R.N.C., da Fonseca, R.G., Scussel, V. M. (Eds), *Proceedings of the 9th International Working Conference on Stored-Product Protection*. Brazilian Post Harvest Association, Campinas, Brazil. pp. 250-257.
- Subramanyam, B., Hagstrum, D.W., 1995.** Resistance measurement and management, in: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds.), *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, New York. pp 331–397.
- Subramanyam, B., Hagstrum, D.W., 1996.** *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Dekker, New York.
- Subramanyam, B., Roesli, R., 2000.** Inert Dusts, in: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds.), *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM*. Kluwer Academic Publishers, Boston, pp. 321-380.

- Subramanyam, B., Nelson, J.J., Meronuck, R.A., Flora, E.A., 1999.** Evaluation of Spinosad on stored product insects. in: Jin, Z.X., Liang, Q., Liang, Y.S., Tan, X.C., Guan, L.H. (Eds), Stored product protection. Proceedings of the 7th International Working Conference on Stored-Product Protection. Sichuan Publishing House of Science and Technology, Chengdu, P.R. China, pp. 940–949.
- Subramanyam, B., Toews, M., 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. (Eds.), Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored-Product Protection. CAB International, Wallingford, United Kingdom. pp. 916-920.
- Subramanyam, B., Toews, M., Illeleji, K., Maier, D., Thompson, G., Pitts, T., 2007.** Evaluation of spinosad as a grain protectant on three Kansas farms. *Crop Prot.* 26, 1021-1030.
- Subramanyam, B., Hartzler, M., Boina, D., 2012.** Performance of pre-commercial release formulations of spinosad against five stored-product insect species on four stored commodities. *J. Pest Sci.* 85, 331-339.
- Surtees, G., 1964.** Laboratory studies on dispersion behaviour of adult beetles in grain. VI. Three-dimensional analysis of dispersion of five species in a uniform bulk. *Bull. Entomol. Res.* 55, 723–725.
- 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*). *Int. J. Trop. Insect Sci.* 31, 3–12
- Thompson, G.D., Dutton, R., Sparks, T.C., 2000.** Spinosad-a case study: an example from a natural products discovery program. *Pest Manag. Sci.* 56, 696–702.
- Thomson, V., 1966.** The biology of the lesser grain borer *Rhyzopertha dominica* (Fab). *Bull. Grain Tech.* 4, 163-168.

- Toews, M.D., Subramanyam, B., 2003.** Contribution of contact toxicity and wheat condition to mortality of stored-product insects exposed to spinosad. *Pest Manag. Sci.* 59, 538-544.
- Toews, M.D., Subramanyam, B., 2004.** Survival of stored-product insect natural enemies in spinosad-treated wheat. *J. Econ. Entomol.* 97, 1174-1180.
- Toews, M.D., Cuperus, G.W., Phillips, T.W., 2000.** Susceptibility of eight U.S. wheat cultivars to infestation by *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae). *Environ. Entomol.* 29, 250-255.
- 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. *J. Econ. Entomol.* 96, 1967-1973.
- Trdan, S., Vidrih, M., Vali, N., 2006.** Activity of four entomopathogenic nematode species against young adults of *Sitophilus granarius* (Coleoptera: Curculionidae) and *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) under laboratory conditions. *J. Plant Dis. Protect.* 113, 168-173.
- Trematerra, P., Stejskal, V., Hubert, J., 2011a.** The monitoring of semolina contamination by insect fragments using the light filth method in an Italian mill. *Food Cont.* 22, 1021-1026.
- Trematerra, P., Athanassiou, C., Stejskal, V., Sciarretta, A., Kavallieratos, N., Palyvos, N., 2011b.** Large-scale mating disruption of *Ephestia* spp. and *Plodia interpunctella* in Czech Republic, Greece and Italy. *J. Appl. Entomol.* 135, 749-762.
- Trematerra, P., Athanassiou, C.G., Sciarretta, A., Kavallieratos, N.G., Buchelos, C.T., 2013a.** Efficacy of the auto-confusion system for mating disruption of *Ephestia kuehniella* and *Plodia interpunctella*. *J. Stored Prod. Res.* 55, 90-98.
- Trematerra, P., Lupi, C., Athanassiou, C., 2013b.** Does natal habitat preference modulate cereal kernel preferences in the rice weevil? *Arthropod Plant Interact.* 7, 287-297.

- Tyler, P.S., Hodges, R.J., 2002.** Phytosanitary measures against larger grain borer, *Prostephanus truncatus* (Horn) (Coleoptera: Bostrichidae), in international trade. *Integrated Pest Manag. Rev.* 7, 279-289.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency), 2009.** Pesticide Fact Sheet: spinetoram, Washington, USA.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency), 2012.** Sensat registration label. Washington, USA.
- Vardeman, E.A., Arthur, F.A., Nechols, J.R., Cambell, J.F., 2007.** Efficacy of surface application with diatomaceous earth to control *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrichidae) in stored wheat. *J. Stored Prod. Res.* 43, 333–341.
- 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. *Biol. Control* 38, 270-281.
- Vayias, B.J., Athanassiou, C.G., Buchelos, C.T., 2008.** Evaluation of resistance development by *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) to diatomaceous earth under laboratory selection. *J. Stored Prod. Res.* 44, 162-168.
- Vayias, B.J., Athanassiou, C.G., Buchelos, C.T., 2009a.** Effectiveness of spinosad combined with diatomaceous earth against different European strains of *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae): influence of commodity and temperature. *J. Stored Prod. Res.* 45, 165-176.
- Vayias, B.J., Athanassiou, C.G., Milonas, D.N., Mavrotas, C., 2009b.** Activity of spinosad against three stored-product beetle species on four grain commodities. *Crop Prot.* 28, 561-566.
- Vayias, B.J., Athanassiou, C.G., Milonas, D.N., Mavrotas, C., 2010.** Persistence and efficacy of spinosad on wheat, maize and barley grains against four major stored product pests. *Crop Prot.* 29, 496-505.



- Watson, G.B., 2001.** Actions of insecticidal spinosyns on g-aminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. *Pest. Biochem. Physiol.* 71, 20–28.
- White, N.D.G., 1995.** Insects, mites, and insecticides in stored grain ecosystems. in: Jayas, D.S., White, N.D.G., Muir, W.E. (Eds.), *Stored-Grain Ecosystems*. Marcel Dekker Inc., New York, pp. 123-168.
- White, N.D.G., Leesch, J.G., 1995.** Chemical control, in: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds), *Integrated Management of Insects in Stored Products*. Marcel Dekker, New York, 287–330.
- Williams, T., Valle, J., Viñuela, E., 2003.** Is the naturally-derived insecticide spinosad compatible with insect natural enemies? *Biocontrol. Sci. Tech.* 13, 459-475.
- Yee, W.L., Jack, O., Nash, M.J., 2007.** Mortality of *Rhagoletis pomonella* (Diptera: Tephritidae) exposed to field-aged spinetoram, GF-120, and azinphos-methyl in Washington State. *Fla. Entomol.* 90, 335-342.
- Zettler, J.L., Arthur, F.H., 2000.** Chemical control of stored product insects with fumigants and residual treatments. *Crop Prot.* 19, 577-582.
- Zhao, J-Z., Li, Y-X., Collins, H.L., Gusukuma-Minuto, L., Mau, R.F.L., Thompson, G.D., Shelton, A.M. 2002.** Monitoring and characterization of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. *J. Econ. Entomol.* 95, 430–436.
- Zheng, W., Liu, W., Wen, Y., Lee, S., 2004.** Photochemistry of insecticide imidacloprid: direct and sensitized photolysis in aqueous medium. *J. Environ. Sci.* 16, 539-542.
- Μπουχέλος, Κ., 1993.** Έντομα αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων. Πανεπιστημιακές σημειώσεις, Αθήνα.
- Σταμόπουλος, Λ., 2008.** Εχθροί αποθηκευμένων προϊόντων, μουσείων και κατοικιών. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος.