

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ
Π.Μ.Σ: ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**Επίδραση ήπιων εντομοκτόνων στην συμπεριφορά και σε βιολογικές
παραμέτρους του αρπακτικού εντόμου *Macrolophus pygmaeus*
(Rambur) (Hemiptera: Miridae)**



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΜΠΕΤΣΗ Κ. ΠΕΤΡΗ - ΧΡΙΣΤΙΝΑ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ
Π.Μ.Σ: ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**Επίδραση ήπιων εντομοκτόνων στην συμπεριφορά και σε βιολογικές
παραμέτρους του αρπακτικού εντόμου *Macrolophus pygmaeus*
(Rambur) (Hemiptera: Miridae)**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΠΕΤΣΗ Κ. ΠΕΤΡΗ - ΧΡΙΣΤΙΝΑ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ: ΔΙΟΝΥΣΙΟΣ ΠΕΡΔΙΚΗΣ, ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

ΑΘΗΝΑ 2018

ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΣΧΟΛΗ ΑΓΡΟΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ, ΥΠΟΔΟΜΩΝ ΚΑΙ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ
Π.Μ.Σ: ΕΠΙΣΤΗΜΕΣ ΚΑΙ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ

**Επίδραση ήπιων εντομοκτόνων στην συμπεριφορά και σε βιολογικές
παραμέτρους του αρπακτικού εντόμου *Macrolophus pygmaeus*
(Rambur) (Hemiptera: Miridae)**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΜΠΕΤΣΗ Κ. ΠΕΤΡΗ - ΧΡΙΣΤΙΝΑ

Τριμελής Εξεταστική Επιτροπή

Επιβλέπων: Διονύσιος Περδίκης, Επίκουρος Καθηγητής Γ.Π.Α

Μέλη: Γεώργιος Παπαδούλης, Καθηγητής Γ.Π.Α

Ιωάννης Γιαννακού, Αναπληρωτής Καθηγητής Γ.Π.Α

ΑΘΗΝΑ 2018

**Στους γονείς μου,
Κωνσταντίνο και Μαρία**

Ευχαριστίες

Θα ήθελα να εκφράσω τις θερμές και ειλικρινείς ευχαριστίες μου στον Επίκουρο Καθηγητή Διονύσιο Περδίκη για την ανάθεση του θέματος, την επιστημονική του καθοδήγηση, την άψογη συνεργασία καθώς επίσης για τη βοήθεια και το ειλικρινές του ενδιαφέρον σε όλα τα στάδια και καθ' όλη τη διάρκεια της μελέτης αυτής.

Παράλληλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τα μέλη της τριμελούς εξεταστικής επιτροπής, τον Καθηγητή Γεώργιο Παπαδούλη και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Ιωάννη Γιαννακού για την ανάγνωση, διόρθωση και τη βαθμολόγηση της μελέτης.

Ευχαριστώ θερμά τον Θεόδωρο Σταθάκη, Διδάκτορα του εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας Γ.Π.Α. για την πολύτιμη βοήθεια που μου προσέφερε αμέτρητες φορές ώστε να διεξαχθεί επιτυχώς η παρούσα μελέτη.

Δεν θα μπορούσα να παραλείψω και να μην ευχαριστήσω τους προπτυχιακούς και μεταπτυχιακούς φοιτητές του εργαστηρίου για τη δημιουργία φιλικού κλίματος και την έμπρακτη και πολύτιμη πολλές φορές βοήθειά τους την οποία εκτιμώ ιδιαίτερα.

Τέλος, θέλω να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου και το μεγαλύτερο ευχαριστώ στην οικογένειά μου και στο σύντροφό μου, για την αγάπη, την ενθάρρυνση, την κατανόηση και τη στήριξή τους, καθώς και το φιλικό μου περιβάλλον για την ηθική του συμπαράσταση.

Περίληψη

Στην παρούσα μελέτη αξιολογήθηκε η επίδραση έξι σκευασμάτων που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιολογική γεωργία αλλά και στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εντόμων-εχθρών της τομάτας, σε βιολογικές παραμέτρους (κατανάλωση λείας, θνησιμότητα κ.α.) του αρπακτικού *Macrolophus pygmaeus*.

Στις βιοδοκιμές χρησιμοποιήθηκαν οι εξής δραστικές ουσίες: υδροξείδιο χαλκού, οξυχλωριούχος χαλκός, βρέξιμο θείο, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *Beauveria bassiana* και παραφινικό έλαιο. Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν απιονισμένο νερό (+ μάρτυρας) και το *chloryrifos* (- μάρτυρας).

Η επίδραση του ψεκασμού του αρπακτικού στην κατανάλωση της λείας του μελετήθηκε σε φυλλάρια τομάτας που είχαν εμβαπτιστεί στα παραπάνω διαλύματα και με λεία που είχε ψεκαστεί. Ως λεία χρησιμοποιήθηκαν ωά του *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). Το κάθε φυλλάριο τοποθετείτο σε τρυβλίο όπου γινόταν εισαγωγή μίας νύμφης 5^{ης} ηλικίας του *M. pygmaeus* που είχε ή δεν είχε ψεκαστεί. Η νύμφη δεν είχε τραφεί με λεία για 24 ώρες πριν την εισαγωγή της στο τρυβλίο. Τα τρυβλία διατηρούνταν στους 25 ± 1°C, 65 ± 5% Σ.Υ. και 16Φ : 8Σ. Μετά από 24 ώρες καταμετρούνταν τα άτομα της λείας που καταναλώθηκαν διακρίνοντάς τα σε τρεις υπο-κατηγορίες: ελαχίστως, μερικώς και πλήρως μυζημένα. Ο έλεγχος της θνησιμότητας των νυμφών του αρπακτικού συνεχίστηκε καθημερινώς μέχρι το πέρας 7 ημερών. Χρησιμοποιήθηκαν 15 νύμφες ανά επέμβαση.

Τα αποτελέσματα της μελέτης έδειξαν σημαντική θνησιμότητα με ποσοστό 66,6 % μετά την επέμβαση με το υδροξείδιο του χαλκού όταν το αρπακτικό είχε ψεκαστεί καθώς και μετά την επέμβαση με το *B. bassiana* με ποσοστό 53,3%. Παρατηρήθηκε επίσης ότι η συνολική κατανάλωση αυξήθηκε σημαντικά μετά την επέμβαση με το έλαιο και με το βάκιλλο ενώ μειώθηκε από το *B. bassiana*. Σημαντικά μεγαλύτερος αριθμός ωών που είχαν καταναλωθεί σχεδόν κατά το ήμισυ βρέθηκε στην περίπτωση των ψεκασμένων σε σύγκριση με τα αφέκαστα άτομα του αρπακτικού, και μετά την επέμβαση με το υδροξείδιο του χαλκού, το βρέξιμο θείο και το έλαιο. Το *B. bassiana* μείωσε σημαντικά τον αριθμό των πλήρως καταναλωθέντων ωών σε σχέση με τον μάρτυρα. Η συνολική κατανάλωση βιομάζας αυξήθηκε στην περίπτωση του παραφινικού ελαίου και μειώθηκε από το *B. bassiana*. Τα αποτελέσματα αυτά φανερώνουν ότι

ορισμένα εκλεκτικά εντομοκτόνα και χαλκούχα μυκητοκτόνα μπορεί να προκαλούν σημαντική θνησιμότητα και αλλαγή στην αρπακτική συμπεριφορά του *M. pygmaeus* ή και να αυξήσουν την κατανάλωση λείας του. Διακρίνοντας την καταναλωθείσα λεία σε υπο-κατηγορίες αποκτάμε χρήσιμες πληροφορίες σε σχέση με την επίδραση ακόμη και των βιολογικών σκευασμάτων στην αρπακτικότητα των φυσικών εχθρών όπως το *M. pygmaeus*.

Επιστημονική περιοχή διατριβής: Γεωργική εντομολογία, Βιολογική αντιμετώπιση, Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση

Λέξεις κλειδιά: εντομοκτόνα, χαλκούχα μυκητοκτόνα, κατανάλωση λείας, θνησιμότητα, αρπακτικότητα, *Macrolophus pygmaeus*

Summary

The purpose of the current study was to evaluate the effect of six widely used pesticides and fungicides in organic farming and at integrated pest management on tomato crops, in biological parameters (prey consumption, mortality) of the predator *Macrolophus pygmaeus*.

Copper hydroxide, copper oxychloride, wettable sulfur, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *Beauveria bassiana* and paraffin oil, were used in bioassays. Deionized water and chlorpyrifos were used as controls.

The effects were studied in tomato leaflets by the leaf dip method. The prey [(eggs of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae)] had been sprayed and placed on the leaflet. Each leaflet was placed in a Petri dish where a 5th instar nymph of *M. pygmaeus* was introduced. The nymph had been sprayed or not. The nymph was starved for 24 hours prior to its use. The dishes were maintained at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and $65 \pm 5\%$ RH at 16:8 L: D. The prey consumption was recorded after 24 hours. The consumed prey was distinguished in three sub-categories: Little-, half-, and completely consumed. The mortality of the predator nymphs was monitored for a period of 7 days after treatment. Fifteen nymphs (replicates) were used per treatment.

The results of this study showed that copper hydroxide and *B. bassiana* caused significant mortality 66.6% and 53.3% respectively. Total consumption increased significantly after treatment with paraffin oil and Bt while was significantly reduced by *B. bassiana*. A significantly higher number of half-consumed eggs were found in the treatments where a sprayed nymph had been used as well as after the intervention with copper hydroxide, paraffin oil and wettable sulphur. *B. bassiana* significantly reduced the number of fully consumed eggs in comparison to the control. These results indicate that some organic certified insecticides and copper fungicides can cause mortality and affect the predatory behavior of *M. pygmaeus*. Moreover, the use of paraffin oil caused an increase in prey consumption but the reverse occurred after applying *B. bassiana*. It was shown that separation of the consumed prey in sub-categories may offer useful information on the effects of pesticides used in organic farming on the predatory behavior of *M. pygmaeus*.

Scientific research area: Agricultural entomology, Biological control, IPM

Key-words: Insecticide, copper fungicide, prey consumption, mortality, side-effects, predation rate,
Macrolophus pygmaeus

Περιεχόμενα

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση.....	1
1.1.1 Ορισμός της Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης (IPM).....	2
1.1.2 Παράγοντες ανάπτυξης της Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης.....	3
1.1.2.1 Αρχές προγραμμάτων IPM.....	3
1.1.2.2 Στάδια ανάπτυξης προγραμμάτων IPM.....	4
1.1.3 Στόχοι και οφέλη της Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης εχθρών των καλλιεργειών.....	5
1.2 Βιολογική Αντιμετώπιση.....	6
1.2.1 Ορισμός της Βιολογικής Αντιμετώπισης.....	6
1.2.2 Στόχος της Βιολογικής Αντιμετώπισης.....	7
1.2.3 Καλλιεργητικά μέτρα που βοηθούν στη Βιολογική Αντιμετώπιση.....	7
1.2.4 Εφαρμογή της Βιολογικής Αντιμετώπισης.....	8
1.3 Χημική Αντιμετώπιση.....	9
1.3.1 Χημική Αντιμετώπιση στα πλαίσια προγραμμάτων Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης (IPM).....	9
1.3.2 Κατηγορίες Φυτοπροστατευτικών.....	10
1.3.2.1 Οργανοχλωριωμένες ενώσεις.....	10

1.3.2.2	Οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα.....	11
1.3.2.3	Καρβαμιδικά εντομοκτόνα	12
1.3.2.4	Πυρεθρίνες	12
1.3.2.5	Ρυθμιστές Ανάπτυξης - IGRs	12
1.3.2.6	Νεονικοτινοειδή	13
1.3.2.7	Μυκητοκτόνα.....	14
1.3.2.8	Φυτικής προέλευσης εντομοκτόνα.....	14
1.3.2.9	Νηματωδοκτόνα.....	15
1.3.2.10	Ζιζανιοκτόνα.....	15
1.4	Δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη μελέτη.....	16
1.4.1	Ανόργανα προστατευτικά μυκητοκτόνα.....	16
1.4.1.1	Μυκητοκτόνος δράση των ενώσεων χαλκού και θείου	17
1.4.1.2	Φυτοτοξικότητα ανόργανων μυκητοκτόνων	19
1.4.1.3	Επιδράσεις ανόργανων μυκητοκτόνων στους φυσικούς εχθρούς	21
1.4.1.4	Επιπτώσεις ανόργανων μυκητοκτόνων σε οργανισμούς – μη στόχους.....	23
1.4.1.5	Επιδράσεις ανόργανων μυκητοκτόνων χαλκού και θείου στην υγεία του ανθρώπου.....	24
1.4.1.6	Ανθεκτικότητα φυσικών εχθρών στα ανόργανα μυκητοκτόνα	24
1.4.2	Το εντομοπαθογόνο βακτήριο <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> ..	25

1.4.2.1 Βιολογία και τρόπος δράσης του <i>B. thuringiensis</i>	25
1.4.2.2 Φυτοτοξικότητα <i>B. thuringiensis</i>	28
1.4.2.3 Επιδράσεις του <i>B. thuringiensis</i> στους φυσικούς εχθρούς	28
1.4.2.4 Επιπτώσεις του <i>B. thuringiensis</i> σε οργανισμούς – μη στόχους	30
1.4.2.5 Επιδράσεις του <i>B. thuringiensis</i> στα θηλαστικά και στην υγεία του ανθρώπου.....	31
1.4.2.6 Ανθεκτικότητα εντόμων - εχθρών των καλλιεργειών στο <i>B.</i> <i>thuringiensis</i>	33
1.4.3 Ο εντομοπαθογόνος μύκητας <i>Beauveria bassiana</i>	33
1.4.3.1 Βιολογία και τρόπος δράσης του <i>B. bassiana</i>	35
1.4.3.2 Φυτοτοξικότητα <i>B. bassiana</i>	39
1.4.3.3 Επιδράσεις του <i>B. bassiana</i> στους φυσικούς εχθρούς.....	40
1.4.3.4 Επιπτώσεις του <i>B. bassiana</i> σε άλλους οργανισμούς	42
1.4.3.5 Επιδράσεις του <i>B. bassiana</i> στα θηλαστικά και στην υγεία του ανθρώπου	43
1.4.3.6 Ανθεκτικότητα ειδών αρθροπόδων στο <i>B. bassiana</i>	44
1.4.3.7 Συνεργισμός μεταξύ φυσικών εχθρών και του <i>B. bassiana</i>	44
1.4.4 Ορυκτέλαια	45
1.4.4.1 Τρόπος δράσης ορυκτελαίων.....	46
1.4.4.2 Φυτοτοξικότητα ορυκτελαίων.....	47

1.4.4.3	Επιδράσεις των ορυκτελαίων στους φυσικούς εχθρούς	50
1.4.4.4	Επιπτώσεις ορυκτελαίων σε άλλους οργανισμούς – μη στόχους	52
1.4.4.5	Επιδράσεις ορυκτελαίων στη μικροβιακή αποδόμηση και σε οργανισμούς – μη στόχους του εδάφους.....	53
1.4.4.6	Επιδράσεις των ορυκτελαίων στα θηλαστικά και στον άνθρωπο	54
1.4.4.7	Ανθεκτικότητα των εντόμων – εχθρών των καλλιεργειών στα ορυκτέλαια	55
1.5	Το αρπακτικό <i>Macrolophus pygmaeus</i>	55
1.5.1	Συστηματική ταξινόμηση.....	55
1.5.2	Μορφολογία και νυμφική ανάπτυξη	56
1.5.3	Αρπακτική και διατροφική συμπεριφορά.....	60
1.5.4	Φυτά-ξενιστές	61
1.5.5	Εφαρμογή του <i>M. pygmaeus</i> σε προγράμματα IPM	62
1.6	Σκοπός της μελέτης	63

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Μέθοδος ανάπτυξης φυτικού υλικού.....	65
2.2 Μέθοδος ανάπτυξης εκτροφής αρπακτικού.....	66
2.3 Διατήρηση φυτών και εκτροφών.....	67
2.4 Μέθοδος συλλογής νυμφών.....	67
2.5 Διεξαγωγή πειραματικής διαδικασίας.....	68
2.6 Στατιστική ανάλυση δεδομένων.....	71

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Συνολική κατανάλωση ωών <i>Ephestia kuehniella</i>	72
3.2 Θνησιμότητα του <i>M. pygmaeus</i> έπειτα από ψεκασμούς με ήπια εντομοκτόνα.....	76

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....

80

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....

87

Κεφάλαιο 1

Εισαγωγή

1.1 Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση

Η Ολοκληρωμένη διαχείριση επιβλαβών οργανισμών (Integrated Pest Management, I.P.M) έχει λάβει διαφορετικούς κατά το παρελθόν ορισμούς.

Κατά τη διάρκεια του δεκάτου ενάτου και αρχές του εικοστού αιώνα, λόγω απουσίας ισχυρών εντομοκτόνων για την προστασία των καλλιεργειών, οι επιστήμονες στηρίχθηκαν στη γνώση της φύσης, όπως η γνώση της βιολογίας των εχθρών και οι καλλιεργητικές τεχνικές.

Στις αρχές του εικοστού αιώνα ο όρος της αντιμετώπισης των εντόμων-εχθρών αφορούσε τη συνολική δράση για την αποφυγή ή την καθυστέρηση των επιδράσεων των εχθρών στις καλλιέργειες. Το 1940 με την ανακάλυψη του πρώτου συνθετικού εντομοκτόνου στη Γερμανία (Τσαπικούνης, 1996), το ενδιαφέρον των ερευνητών επικεντρώθηκε στην αποτελεσματικότητα των χημικών σκευασμάτων αδιαφορώντας για τη μελέτη της βιο-οικολογίας των εντόμων-εχθρών καθώς και στη χρήση εναλλακτικών μέτρων για την αντιμετώπισή τους. Ωστόσο υπήρχε ανησυχία για τους κινδύνους της ευρείας χρήσης των εντομοκτόνων καθώς είχαν ανιχνευθεί τα πρώτα σημάδια της καταστροφικής επίδρασής τους όπως μείωση των ωφέλιμων οργανισμών, ανθεκτικότητα εντόμων-εχθρών στα εντομοκτόνα, μόλυνση του περιβάλλοντος κ.α. πριν τα τέλη της δεκαετίας του 1950.

Η ιδέα της Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης εμφανίζεται για πρώτη φορά με τη σύσταση του Hoskins (1939), ο οποίος αναφέρεται σε μία πιο διακριτική χρήση των εντομοκτόνων, ως «ο συνδυασμός βιολογικού και χημικού ελέγχου με τη χρήση των εντομοκτόνων στο ελάχιστο και εφόσον κρίνεται αναγκαίο».

Κατά το παρελθόν ο όρος χρησιμοποιήθηκε ως «Ολοκληρωμένος Έλεγχος» από τον Bartell (1956) όπου συμφωνούσε με τον αντίστοιχο όρο του Hoskins.

Οι Flint και Van den Bosch (1981), αναφέρουν ότι τα προγράμματα IPM πρέπει να λειτουργούν με "στόχους διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών" και όχι με "στόχους διαχείρισης φυτοφαρμάκων". Η ολοκληρωμένη διαχείριση επιβλαβών οργανισμών είναι ένα ολοκληρωμένο

μακροπρόθεσμο πρόγραμμα καταπολέμησης των παρασίτων που βασίζεται στη γνώση ενός οικοσυστήματος που σταθμίζει τις οικονομικές, περιβαλλοντικές και κοινωνικές συνέπειες των παρεμβάσεων.

Οι Kenmore et al. (1985) ορίζουν την Ολοκληρωμένη Αντιμετώπιση ως «ο καλύτερος συνδυασμός στρατηγικών καταπολέμησης ενός συγκεκριμένου εχθρού σε σχέση με την απόδοση, το κέρδος και την ασφάλεια χρήσης των εναλλακτικών συνδυασμών».

1.1.1 Ορισμός της Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης

Η παράθεση των ορισμών συνεχίστηκε έως και το 1990, όπου σύμφωνα με τον Dent (1991) η έννοια της ολοκληρωμένης αντιμετώπισης αποτελεί μία φιλοσοφία, η οποία πραγματοποιείται με το συνδυασμό μεθόδων και τεχνικών που έχουν ως στόχο την ανάπτυξη μιας συνολικής στρατηγικής για την αντιμετώπιση ολόκληρου του φάσματος των εχθρών μιας συγκεκριμένης καλλιέργειας. Ωστόσο επικράτησε ο όρος «Ολοκληρωμένη Διαχείριση Εχθρών, (I.P.M)», που είχε προταθεί από Αυστραλούς ερευνητές έναντι του «Ολοκληρωμένου Ελέγχου» των Αμερικανών ερευνητών, ως ο καταλληλότερος, εφόσον ο όρος καταπολέμηση ή διαχείριση προϋποθέτει την ανθρώπινη παρέμβαση σε αντίθεση με τον έλεγχο, ο οποίος εξαρτάται από βιοτικούς και αβιοτικούς παράγοντες (Kogan, 1998).

Η Ολοκληρωμένη Διαχείριση εχθρών (I.P.M) κατά τον FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) (2017) αποτελεί, μια οικοσυστημική προσέγγιση της παραγωγής και της προστασίας των καλλιεργειών που συνδυάζει διαφορετικές στρατηγικές και πρακτικές διαχείρισης για την ανάπτυξη υγιών καλλιεργειών και την ελαχιστοποίηση της χρήσης φυτοφαρμάκων.

Τέλος, η ολοκληρωμένη αντιμετώπιση αποτελεί «την έξυπνη επιλογή όσο αφορά τη χρήση τακτικών κατά των παρασίτων που θα εξασφαλίζουν ευνοϊκές οικονομικές, οικολογικές και κοινωνιολογικές συνέπειες» κατά τη Sandler (2010). Ανεξάρτητα από τους ορισμούς που δόθηκαν η φιλοσοφία της ολοκληρωμένης αντιμετώπισης είναι η ελαχιστοποίηση της οικονομικής ζημιάς σε συνδυασμό με τον ελάχιστο περιβαλλοντικό κίνδυνο.

1.1.2 Παράγοντες ανάπτυξης της Ολοκληρωμένης Διαχείρισης

Η εφαρμογή της ολοκληρωμένης διαχείρισης δεν είναι απλή, καθώς η ανάπτυξη προγραμμάτων IPM είναι μία χρονοβόρα διαδικασία αφού απαιτείται μεγάλος όγκος δεδομένων – οικολογικών παραμέτρων (Thacker, 2002). Ως εκ τούτου, θα πρέπει να δίνεται έμφαση σε προληπτικά ή και έμμεσα μέτρα, τα οποία πρέπει να αξιοποιηθούν στο μέγιστο βαθμό πριν εφαρμοστούν τα άμεσα μέτρα ελέγχου (Wearing, 1988). Τα άμεσα μέτρα μπορούν να ληφθούν μόνο εάν είναι οικονομικώς εφικτά, όπως και οι τεχνικές για ένα πρόγραμμα IPM πρέπει να ενσωματωθούν και να συνδυαστούν προσεκτικά για να υπάρξουν επιτυχή αποτελέσματα. Αυτό απαιτεί την τακτική παρακολούθηση των φυσικών εχθρών, επιλογή καλλιεργητικών μέτρων, τον υπολογισμό του οικονομικού ορίου και του επιπέδου οικονομικής ζημιάς, την εφαρμογή κατάλληλων τεχνικών κ.ά. (Biondi, 2013).

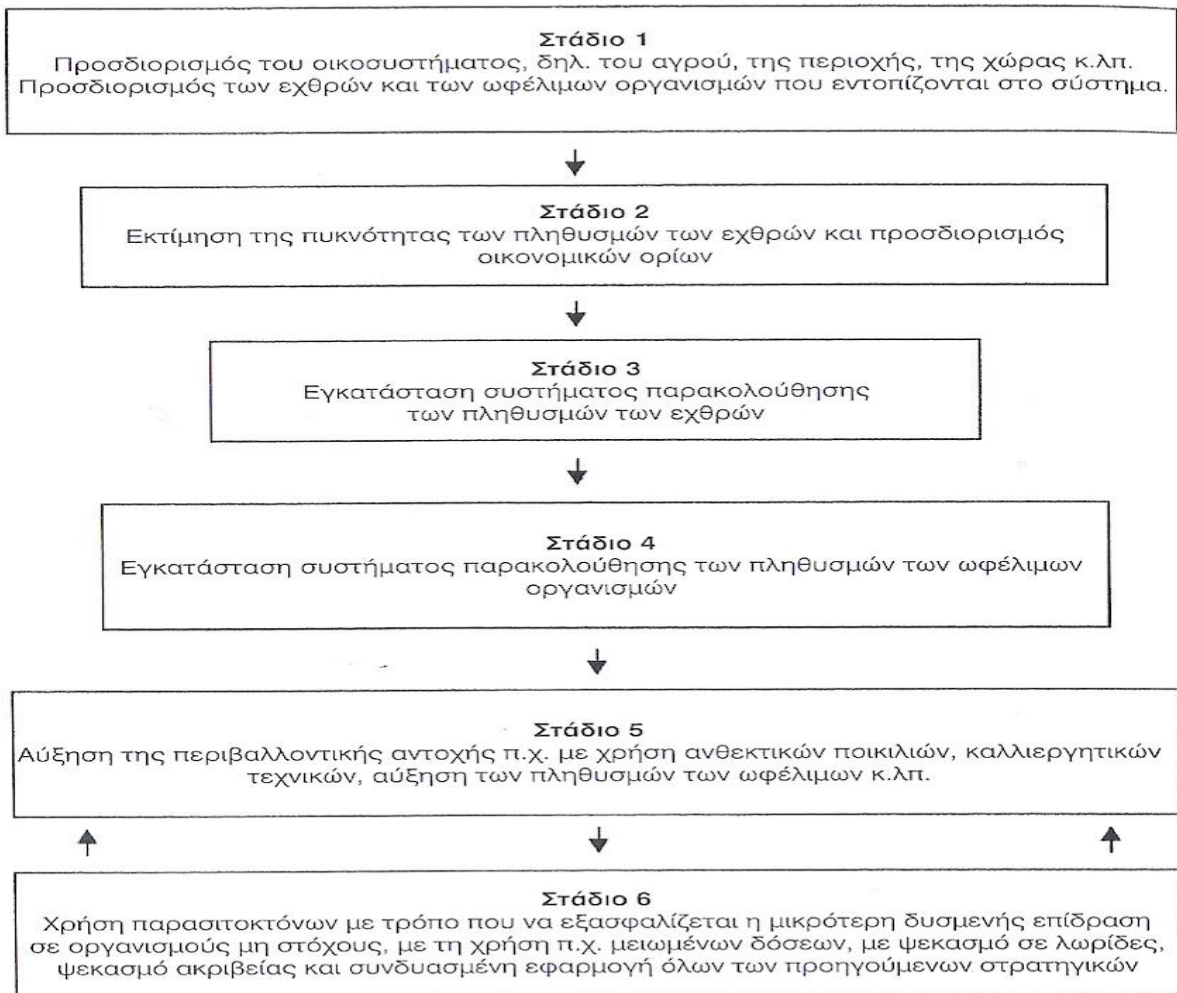
1.1.2.1 Αρχές προγραμμάτων IPM

Οι αρχές για την έρευνα, ανάπτυξη και εφαρμογή των προγραμμάτων ολοκληρωμένης διαχείρισης εντόμων–εχθρών των καλλιεργειών αναφέρονται παρακάτω:

- Γνώση των τεχνικών και των απαιτήσεων της καλλιέργειας (π.χ. λίπανση, άρδευση, κλάδεμα κ.α.) διότι δύναται να επιδράσουν στην αύξηση του πληθυσμού των επιβλαβών εντόμων
- Προσδιορισμός των κύριων εχθρών στην καλλιέργεια και παρακολούθηση των πληθυσμών τους
- Προσδιορισμός και χρήση των φυσικών εχθρών των επιβλαβών εντόμων
- Γνώση της επίδρασης των κλιματικών παραγόντων (π.χ. μοντέλα πρόγνωσης για την πληθυσμιακή πορεία των εντόμων-εχθρών)
- Καλλιεργητικοί χειρισμοί εντός και εκτός καλλιέργειας (π.χ. καταστροφή υπολειμμάτων της καλλιέργειας, χρήση φυτών παγίδων κ.α.) (Λυκουρέσης, 1995)

1.1.2.2 Στάδια ανάπτυξης προγραμμάτων IPM

- Καθορισμός της έκτασης του αγροοικοσυστήματος που πρόκειται να εφαρμοστεί το πρόγραμμα IPM
- Καθορισμός των επιζήμιων πληθυσμιακών πυκνοτήτων ή και οικονομικών ορίων με στοιχεία που αφορούν τις σχέσεις απόδοσης – προσβολής καθώς και της δυναμικής των πληθυσμών των εχθρών
- Δημιουργία συστημάτων παρακολούθησης επιβλαβών εντόμων αλλά και των φυσικών εχθρών
- Διαχείριση περιβάλλοντος ώστε να καταστεί όσο το δυνατό αφιλόξενο για τους εχθρούς – στόχους με τη χρήση φυσικών εχθρών, παθογόνων, καλλιεργητικών τεχνικών, χρήση ανθεκτικών ποικιλιών κ.α.
- Σε περίπτωση αποτυχίας απαιτείται η εφαρμογή εντομοκτόνου (Σχ. 1) (Thacker, 2002)



Σχήμα 1. Στάδια ανάπτυξης ενός προγράμματος IPM (Dent, 2000; Thacker, 2002)

1.1.3 Στόχοι και οφέλη της Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης εχθρών των καλλιεργειών

Οι σημαντικότεροι στόχοι της ολοκληρωμένης αντιμετώπισης είναι:

- Η μείωση των χημικών εισροών στις απολύτως απαραίτητες
- Η αποφυγή χρήσης χημικών ουσιών επικίνδυνων για την υγεία του ανθρώπου και για τους ωφέλιμους οργανισμούς και για το περιβάλλον
- Η χρήση φυσικών ουσιών και ωφέλιμων οργανισμών για την αντιμετώπιση εχθρών και ασθενειών
- Η εφαρμογή κατάλληλων μεθόδων και τεχνικών καλλιέργειας ώστε να μειώνονται τα επίπεδα των πληθυσμών των εχθρών της καλλιέργειας

Τα κυριότερα οφέλη που προκύπτουν από την εφαρμογή των προγραμμάτων ολοκληρωμένης αντιμετώπισης είναι:

- Η αποτελεσματική αντιμετώπιση των εχθρών (ζιζάνια, έντομα, ακάρεα κ.α.)
- Η παραγωγή επαρκών ποσοτήτων και καλής ποιότητας προϊόντων
- Μείωση των προβλημάτων υγείας από εφαρμογή φυτοπροστατευτικών προϊόντων
- Μείωση της ρύπανσης του περιβάλλοντος από λιπάσματα και φυτοπροστατευτικά προϊόντα
- Ελαχιστοποίηση των δυσμενών επιδράσεων σε οργανισμούς μη στόχους
- Μείωση της ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα φυτοπροστατευτικά προϊόντα

1.2 Βιολογική Αντιμετώπιση

1.2.1 Ορισμός της Βιολογικής Αντιμετώπισης

Ο όρος «βιολογική αντιμετώπιση» (Biological Control) χρησιμοποιήθηκε πρώτα από τον Smith το 1919 και σκοπός ήταν να επισημανθεί η σημασία της χρήσης των φυσικών εχθρών, είτε εισαγόμενων είτε με άλλους τρόπους χειριζόμενων, για την αντιμετώπιση των εντόμων-εχθρών (Λυκουρέσης, 1995; Van Driesche and Bellows, 1996). Η βιολογική αντιμετώπιση διακρίνεται σε τρεις ομάδες ενεργειών, την «κλασσική βιολογική αντιμετώπιση», την «επαύξηση των φυσικών εχθρών μέσω πολλαπλών απελευθερώσεων» και τη «διατήρηση των υπαρχόντων φυσικών εχθρών αλλά και την αύξηση της δράσης τους με τη βοήθεια κατάλληλων χειρισμών».

- ❖ Η κλασσική βιολογική αντιμετώπιση συνίσταται σε μια σειρά ενεργειών που περιλαμβάνουν την εισαγωγή, την εξαπόλυση και εγκατάσταση ενός φυσικού εχθρού που εισήλθε και εγκαταστάθηκε σε μία περιοχή. Αντιπροσωπευτικό παράδειγμα στην περίπτωση αυτή είναι η εισαγωγή και εξαπόλυση του παρασιτοειδούς *Cales noaki* Howard (Hymenoptera: Aphelinidae) για την αντιμετώπιση του εριώδη αλευρώδη *Aleurothrixus floccosus* Maskell (Hemiptera: Aleurodidae).
- ❖ Η αύξηση των φυσικών εχθρών με τη μέθοδο της μαζικής απελευθέρωσης. Η μέθοδος αυτή χρησιμοποιείται συνήθως στις καλλιέργειες υπό κάλυψη όπου οι φυσικοί εχθροί

απουσιάζουν ή οι πληθυσμοί τους είναι χαμηλοί και μη ικανοί να κρατήσουν την πληθυσμιακή πυκνότητα του εχθρού κάτω από το οικονομικό όριο, ενώ παράλληλα καλλιεργητικοί ή άλλοι χειρισμοί δεν συμβάλλουν στην αύξηση της δράσης τους. Συνήθως στη μέθοδο αυτή απαιτούνται μερικές μαζικές απελευθερώσεις για την επίτευξη του σκοπού μας.

- ❖ Τρίτη περίπτωση είναι η διατήρηση και η αύξηση των φυσικών εχθρών περιλαμβάνοντας διάφορες ενέργειες που συνίστανται στη μη λήψη μέτρων που θα οδηγούσαν στην καταστροφή ή μείωση του πληθυσμού των φυσικών εχθρών (Λυκουρέσης, 1995).

1.2.2 Στόχος της Βιολογικής Αντιμετώπισης

Σύμφωνα με τον Thacker (2002), στόχος της βιολογικής αντιμετώπισης είναι η αποκατάσταση ή η ενίσχυση της σχέσης μεταξύ των εχθρών και των παραγόντων της βιολογικής αντιμετώπισης είτε μέσω της επανεισαγωγής τους ή και με την τροποποίηση των συνθηκών του ενδιαίτηματος κατά τέτοιο τρόπο που θα ενισχυθεί η σχέση αυτή ή θα διαμορφωθεί ένα πλαίσιο που θα προσεγγίζει περισσότερο τις φυσικές συνθήκες.

1.2.3 Καλλιεργητικά μέτρα που βοηθούν στη Βιολογική Αντιμετώπιση

Τα καλλιεργητικά μέτρα που πρέπει να εφαρμόζονται έχουν ως στόχο την πρόληψη και μείωση του βαθμού προσβολής από εχθρούς και περιλαμβάνουν:

1. Την καταστροφή των υπολειμμάτων προηγούμενων καλλιεργειών
2. Τη φύτευση της καλλιέργειας όψιμα ή πρώιμα για την αποφυγή υψηλών πληθυσμών του εντόμων-εχθρών
3. Τη φύτευση ανθεκτικών ποικιλιών
4. Τη χρήση υγιούς πολλαπλασιαστικού υλικού
5. Τον έλεγχο ζιζανίων εντός και εκτός θερμοκηπίου διότι μπορεί να αποτελούν καταφύγια εντόμων-εχθρών
6. Τη χρήση παγίδων προκειμένου να γίνει παρακολούθηση και σύλληψη ακμαίων ατόμων
7. Την απομάκρυνση προσβεβλημένων φυτών και καταστροφή τους μακριά από την καλλιέργεια

8. Την εφαρμογή αμειψισποράς

1.2.4 Εφαρμογή της Βιολογικής Αντιμετώπισης

Υπάρχουν τρεις βασικές κατηγορίες στις οποίες εντάσσονται οι ωφέλιμοι οργανισμοί που χρησιμοποιούνται στην βιολογική αντιμετώπιση:

- Αρπακτικά: είναι συνήθως μεγαλύτερα σε μέγεθος από τη λεία τους και για την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου απαιτείται να τραφούν με περισσότερα του ενός άτομα
- Παρασιτοειδή: οργανισμοί που έχουν συνήθως το ίδιο μέγεθος με τον ξενιστή τους και απαιτείται μόνο ένα άτομο της λείας τους για την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου
- Παθογόνοι μικροοργανισμοί: μικροοργανισμοί (μύκητες, βακτήρια κ.ά.) που διαθέτουν την ικανότητα να διεισδύουν και να αναπτύσσονται συνήθως στο εσωτερικό του προς καταπολέμηση οργανισμού, προκαλώντας το θάνατό του (Λυκουρέσης, 1995)

Η χρήση των φυσικών εχθρών δεν είναι μία νέα μέθοδος, υπάρχουν αναφορές από παλαιότερους χρόνους. Η πρώτη καταγεγραμμένη εφαρμογή της βιολογικής αντιμετώπισης πραγματοποιήθηκε στην Κίνα όταν χρησιμοποιήθηκαν μυρμήγκια του φαραώ, *Monomorium pharaonic* (Hymenoptera: Formicidae) για την αντιμετώπιση εντόμων των αποθηκών. Επίσης το 1500 μ.Χ αγρότες παρατήρησαν είδη της οικογένειας Coccinellidae και ιδιαίτερα το αρπακτικό *Cycloneda munda* L. αλλά και μεγάλα σκαθάρια του εδάφους της οικογένειας Carabidae, να τρέφονται με άλλα έντομα (Jahn et al., 2001).

Το 1758, ο Ληναίος ιδρύει το διωνυμικό σύστημα ονοματολογίας, περιγράφοντας πολλά έντομα-θηρευτές χρησιμοποιώντας το 1763 το ψευδώνυμο Nelin, συστήνοντας τη συλλογή και την εξαπόλυση των Carabidae, Coccinellidae, Chrysopidae και Braconidae, ως σημαντικούς παράγοντες επιτυχίας για τον ορθολογικό έλεγχο των επιβλαβών εχθρών των καλλιεργειών (Jahn et al., 2001).

Στα τέλη του 19^{ου} αιώνα, στην Αμερική χρησιμοποιήθηκαν το παρασιτοειδές δίπτερο *Cryptochaetum iceryae* Willistone (Diptera: Cryptochaetidae) και το αρπακτικό κολεόπτερο *Rodolia cardinalis* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae), τα οποία εισήχθησαν στην Καλιφόρνια

από την Αυστραλία για τον έλεγχο του κοκοειδούς *Icerya purchasi* Maskell (Hemiptera: Coccoidea) (Kogan, 1998).

1.3 Χημική Αντιμετώπιση

1.3.1 Χημική Αντιμετώπιση στα πλαίσια προγραμμάτων Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης (IPM)

Σ' ένα πρόγραμμα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης, η χημική αντιμετώπιση χρησιμοποιείται στις περιπτώσεις εκείνες που ένας εχθρός έχει αναπτύξει μεγάλο πληθυσμό και η δράση των φυσικών εχθρών του δεν είναι ικανή να επιφέρει τη μείωσή του κάτω από το όριο της επιζήμιας πληθυσμιακής του πυκνότητας, σε αυτή τη περίπτωση η χημική αντιμετώπιση χρησιμοποιείται ως διορθωτικό μέσο.

Για την ελαχιστοποίηση των αρνητικών επιπτώσεων των φυτοπροστατευτικών προϊόντων στους ωφέλιμους οργανισμούς θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν:

- η χρήση εκλεκτικών φυτοπροστατευτικών προϊόντων, φιλικών προς το περιβάλλον ώστε να μη βλάπτουν στους ωφέλιμους οργανισμούς, ούτε να εμποδίζουν την ανάπτυξη και τον πολλαπλασιασμό τους
- η επιλογή του κατάλληλου χρόνου επέμβασης
- η επιλογή του κατάλληλου τρόπου εφαρμογής του προϊόντος

Τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα μπορούν να εφαρμοστούν με κατάλληλο τρόπο ώστε να μην προξενήσουν ζημιά στον πληθυσμό των ωφέλιμων οργανισμών. Παρακάτω, αναφέρονται ενδεικτικά ορισμένα κριτήρια για την εφαρμογή των φυτοπροστατευτικών προϊόντων:

- Χρήση ορισμένων διασυστηματικών προϊόντων με ριζοπότισμα ή με τοπικούς ψεκασμούς στα σημεία όπου υπάρχει σημαντική προσβολή
- Χρήση φυτοπροστατευτικών με μικρή υπολειμματική διάρκεια, όπου μετά τη χρήση τους να καταστεί δυνατή η επανεισαγωγή των ωφέλιμων οργανισμών
- Αποφυγή προϊόντων με μεγάλη υπολειμματικότητα σε σπορεία και πριν από την έναρξη των IPM προγραμμάτων

- Αποφυγή χρήσης φυτοπροστατευτικών υπό μορφή σκόνης διότι επικάθονται για περισσότερο χρονικό διάστημα επάνω στο φυτικό υλικό, καθώς και η προσθήκη εκδόχων διότι ζημιώνουν την ανάπτυξη των φυσικών εχθρών
- Αποφυγή χρήσης εντομοκτόνων κατά τη διάρκεια της άνθησης λόγω πιθανής θανάτωσης των επικονιαστών, παρασιτοειδών κ.ά. (Λυκουρέσης, 1991)
- Η έναρξη των IPM προγραμμάτων θα πρέπει να πραγματοποιείται εφόσον υπάρχουν σχετικά μικρές προσβολές ώστε να περιορίζεται η χρήση των φυτοπροστατευτικών προϊόντων και να προάγεται η χρήση των ωφέλιμων οργανισμών
- Λήψη απαραίτητων μέτρων σε γειτονικούς χώρους για την αποφυγή μετακίνησης πληθυσμών εντόμων-εχθρών στην καλλιέργειά μας (Παρασκευόπουλος, 2006)
- Οι επεμβάσεις να πραγματοποιούνται κατά το διάστημα που ο εχθρός βρίσκεται στο πιο ευαίσθητο στάδιο και όταν δεν έχουν εμφανιστεί οι φυσικοί εχθροί

Τέλος, στην επιλογή του κατάλληλου φυτοπροστατευτικού σκευάσματος θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψιν τυχόν ανάπτυξη ανθεκτικότητας του εχθρού – στόχου.

1.3.2 Κατηγορίες Φυτοπροστατευτικών

Τα φυτοπροστατευτικά εφαρμόζονται με ποικίλες μορφές και μέσα, όπως με καπνισμό, επίπαση, ψεκασμό, άρδευση με αυλάκια ή κατάκλιση (Belitz et al., 2006). Ανάλογα με τη χημική ομάδα που ανήκουν διαφέρουν σημαντικά ως προς τις ιδιότητές τους π.χ. ως προς την υπολειμματικότητά τους, όπως επίσης ανάλογα με το παράσιτο που καταπολεμούν διακρίνονται σε εντομοκτόνα (insecticides), μυκητοκτόνα (fungicides), ζιζανιοκτόνα (herbicides), νηματωδοκτόνα (nematicides) κτλ.

1.3.2.1 Οργανοχλωριωμένες ενώσεις

Οι οργανοχλωριωμένες ενώσεις ή οι χλωριωμένοι υδρογονάνθρακες ήταν από τα πρώτα ευρέως χρησιμοποιούμενα συνθετικά οργανικά εντομοκτόνα. Όλα τα εντομοκτόνα της κατηγορίας αυτής περιέχουν άνθρακα, υδρογόνο και χλώριο, επίσης μπορεί να περιέχουν άτομα οξυγόνου και θείου (Thacker, 2002).

Στην κατηγορία αυτή περιλαμβάνονται το DDT, BHC, OCP κ.α. τα οποία παραμένουν για πολύ μεγάλο χρονικό διάστημα στο περιβάλλον αφού μεταφέρονται μέσω της τροφικής αλυσίδας, επηρεάζοντας θαλάσσιους οργανισμούς, πτηνά κ.α. (Green, 1999). Η χρήση χλωριωμένων υδρογονανθράκων προκάλεσε σημαντικά προβλήματα διότι είναι αρκετά σταθεροί στο περιβάλλον, είναι λιποδιαλυτοί και με αυτό τον τρόπο αποθέτονται στον ανθρώπινο λιπώδη ιστό (Φυτιανός κ.ά. 1983; Belitz et al., 2006). Τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα προσλαμβάνονται ταχύτατα από την επιδερμίδα των εντόμων και δρουν στο νευρικό τους σύστημα.

Κατά τη διάρκεια της δεκαετίας του 70 απαγορεύθηκε η χρήση των περισσότερων οργανοχλωριωμένων εντομοκτόνων σε όλες σχεδόν τις ανεπτυγμένες χώρες. Σήμερα τα μόνα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα που είναι ακόμα σε κυκλοφορία στις ανεπτυγμένες χώρες είναι το endosulfan και το dicosofor, ενώ το αντίθετο φαίνεται να ισχύει για τις αναπτυσσόμενες χώρες όπου τα εντομοκτόνα αυτά εξακολουθούν να κυκλοφορούν, λόγω χαμηλού κόστους (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

1.3.2.2 Οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα

Τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα έτυχαν ευρύτατης εφαρμογής στη γεωργία σχεδόν πριν τη λήξη του Β΄ Παγκοσμίου Πολέμου ιδιαίτερα μετά τη διαπίστωση των κινδύνων χρόνιας τοξικότητας από τα οργανοχλωριωμένα εντομοκτόνα. Η ευρεία εφαρμογή τους οφείλεται στις φυσικοχημικές και βιολογικές ιδιότητές τους. Σε γενικές γραμμές τα εντομοκτόνα αυτά αποτελούν ενώσεις με ευρεία χρήση λόγω κυρίως της ισχυρής τους δράσης και της καταπολέμησης πολλών ειδών εντόμων (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

Τα οργανοφωσφορικά αναστέλλουν τη λειτουργία του ενζύμου που είναι υπεύθυνο για τη διάσπαση του νευροδιαβιβαστή ακετυλοχολίνη. Επίσης αποτελούν προϊόντα φωσφορικού οξέος και ορισμένα από αυτά εκδηλώνουν διασυστηματική δράση καθώς είναι ιδιαίτερα αποτελεσματικά για τον έλεγχο μικρών ημίπτερων όπως οι αφίδες (Dent, 2000).

1.3.2.3 Καρβαμιδικά εντομοκτόνα

Τα καρβαμιδικά εντομοκτόνα είναι παράγωγα του καρβαμιδικού οξέος. Οι ενώσεις αυτές συνήθως υδρολύονται εύκολα και λόγω της μικρής σταθερότητάς τους δεν δημιουργούν σοβαρό περιβαλλοντικό πρόβλημα. Χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση μεγάλου εύρους εχθρών των καλλιεργειών και δρουν ως εντομοκτόνα επαφής και στομάχου, ενώ τα περισσότερα έχουν διασυστηματική δράση. Τα περισσότερα όμως είναι τοξικά για τις μέλισσες, τους υδρόβιους οργανισμούς και τα πτηνά (Brooijmans, 2008). Στην ομάδα αυτή περιλαμβάνονται τα εντομοκτόνα methiocarb, carbaryl, pirimicarb, proproxur κ.α.

1.3.2.4 Πυρεθρίνες

Αποτελούν τα πιο αποτελεσματικά και ασφαλή, φυσικά εντομοκτόνα, που προέρχονται από τα άνθη του χρυσάνθεμου *Pyrethrum cineraraefolium* και των συνθετικών προϊόντων του (Barlow, 1985). Εντομοκτόνα και ακαρεοκτόνα επαφής και στομάχου χωρίς διασυστηματική δράση, ενώ μερικά από αυτά δρουν και ως ασφυκτικά. Παρουσιάζουν μεγάλη φωτοσταθερότητα, ιδιότητα που τους προσδίδει ικανή υπολειμματική διάρκεια. Διαθέτουν επίσης μεγάλη εντομοτοξική δράση, ιδιότητα που τους επιτρέπει τη μείωση των δόσεων και του αριθμού των επεμβάσεων. Στον άνθρωπο διασπώνται πολύ σύντομα προς μη τοξικά παράγωγα και έτσι είναι πρακτικά ακίνδυνα. Οι ενώσεις αυτές παρά τα πλεονεκτήματά τους χρειάζονται προσοχή διότι είναι επικίνδυνες για τους υδρόβιους οργανισμούς, είναι ισχυρά μελισσοτοξικές και οι περισσότερες από αυτές επηρεάζουν την ωφέλιμη εντομοπανίδα (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

1.3.2.5 Ρυθμιστές Ανάπτυξης – IGRs

Οι ρυθμιστές ανάπτυξης εντόμων αποτελούν μία γενιά εντομοκτόνων που στόχος τους είναι να προκαλέσουν διακοπή και παρεμπόδιση της ανάπτυξης των εντόμων. Έχουν εκλεκτική δράση, δεν ζημιώνουν τους ωφέλιμους οργανισμούς (αρπακτικά, παρασιτοειδή κ.α.) και χάρη στις τοξικολογικές τους ιδιότητες χρησιμοποιούνται ως παράγοντες αντιμετώπισης στα προγράμματα της ολοκληρωμένης αντιμετώπισης καθώς δεν βλάπτουν το περιβάλλον. Επίσης δεν είναι τοξικά για τον άνθρωπο και τα θηλαστικά.

Διακρίνονται σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με τον τρόπο δράσης τους, στους παρεμποδιστές βιοσύνθεσης χιτίνης, στη παρεμπόδιση της εκδυσόνης και στην ορμόνη νεότητας. Η εφαρμογή της ουσίας που ανήκει σε οποιαδήποτε από τις παραπάνω κατηγορίες έχει ως αποτέλεσμα το θάνατο του εχθρού-στόχου (Charmillot and Riedl, 2000).

1.3.2.6 Νεονικοτινοειδή

Συνθετικά εντομοκτόνα, με το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο νεονικοτινοειδές το imidacloprid, για τη καταπολέμηση εντόμων-εχθρών που διαθέτουν μυζητικού τύπου στοματικά μόρια και εισήχθη στη γεωργική πράξη στις αρχές της δεκαετίας του 90 με το εμπορικό όνομα confidor (Elbert et al., 2007). Δεν έχει όμως καμία επίδραση σε ακάρεα και νηματώδεις (Ware, 1999). Εντομοκτόνα επαφής με διασυστηματική δράση για τον έλεγχο ημιπτέρων, θυσανοπτέρων, λεπιδοπτέρων και κολεοπτέρων σε πολλές καλλιέργειες, χρησιμοποιούνται όμως και ως παρασιτοκτόνα υγειονομικής σημασίας (Ako et al., 2004). Τα νεονικοτινοειδή έχουν καταχωρηθεί για χρήση με εφαρμογή στο φύλλωμα, στο έδαφος αλλά και ως επικαλυπτικά σπόρων. Δρουν ως ανταγωνιστές της ακετυλοχολίνης δεσμευόμενα στους μετασυναπτικούς νικοτινικούς υποδοχείς της ακετυλοχολίνης. Παρατεταμένη διέγερση των υποδοχέων της ακετυλοχολίνης οδηγεί σε σπασμούς, υπερδιέγερση, παράλυση και θάνατο.

Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Επιτροπή Ασφάλειας Τροφίμων (ESFA) θα απαγορευτούν μετά από ψηφοφορία της πλειοψηφίας των κρατών μελών της Ε.Ε τρία νεονικοτινοειδή (imidacloprid, thiamethoxam, clothianidin) εντομοκτόνα που θεωρούνται επικίνδυνα για τις μέλισσες, η χρήση των οποίων τελεί ήδη υπό περιορισμούς, με μόνη εξαίρεση τη χρήση των εντομοκτόνων αυτών σε κλειστά θερμοκήπια (υπό τον όρο ότι τα φυτά που καλλιεργούνται σε θερμοκήπια δεν μεταφέρονται από τον κλειστό χώρο του θερμοκηπίου), η απαγόρευση αφορά πλέον όλες τις εξωτερικές καλλιέργειες καθώς παρατηρήθηκε μείωση σε μερικά είδη επικονιαστών και περιστατικά δηλητηρίασης μελισσών (π.χ. έκθεση σε σκόνη από επεξεργασίες σπόρων) σε διάφορες περιοχές του κόσμου (EFSA, 2018).

1.3.2.7 Μυκητοκτόνα

Τα μυκητοκτόνα αναστέλλουν την ανάπτυξη μυκήτων ή σπορίων των μυκήτων και ταξινομούνται στις ανόργανες και στις οργανικές ενώσεις.

- Οι ανόργανες ενώσεις περιλαμβάνουν το θείο και ανόργανες ενώσεις βαρέων μετάλλων όπως ο χαλκός. Χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση του ωιδίου σε πολλές καλλιέργειες, όπως στο αμπέλι, στα οπωροφόρα, στα λαχανικά κ.α. Επίσης, είναι κατάλληλες για την αντιμετώπιση του φουζικλάδιου και των σκωριάσεων. Χρησιμοποιούνται ακόμη και ως ακαρεοκτόνα. Το κύριο πλεονέκτημά τους είναι το χαμηλό κόστος.
- Τα οργανικά προστατευτικά μυκητοκτόνα ξεκίνησαν να χρησιμοποιούνται με την ανακάλυψη της ομάδας των διθειοκαρβαμιδικών. Το πρώτο οργανικό προστατευτικό ήταν το thiram. Χαρακτηρίζονται από την υψηλή τους αποτελεσματικότητα σε χαμηλές δόσεις, δεν προκαλούν φυτοτοξικότητα και έχουν μηδαμινή τοξικότητα για τα θερμόαιμα και το περιβάλλον διότι διασπώνται από τους μικροοργανισμούς του εδάφους, χωρίς να αφήνουν τοξικούς μεταβολίτες.
- Τα διασυστηματικά οργανικά μυκητοκτόνα είναι εκλεκτικά και χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση των βασιδιομυκήτων όπως οι μύκητες των σκωριάσεων, των ανθρακώσεων, το *Rhizoctonia solani* κ.α. (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992).

1.3.2.8 Φυτικής προέλευσης εντομοκτόνα

Οι χημικές ουσίες που παράγουν τα φυτά προκρίμενου να προστατευθούν από τα έντομα-εχθρούς, ανήκουν στην ομάδα των δευτερογενών μεταβολιτών. Η ομάδα αυτή περιλαμβάνει ενώσεις όπως τα ακλαλοειδή, τερπενοειδή, φαινολικές ενώσεις κ.α. Η χρήση των φυτικών εντομοκτόνων είναι γνωστή πριν από 4.000 χρόνια περίπου. Ορισμένα είδη φυτών που χρησιμοποιούνταν παραδοσιακά σε αρκετές αναπτυσσόμενες χώρες ως πηγές εντομοκτόνων φυτικής προέλευσης είναι το *Nicotiana tabacum* και το *N. rustica*, είδη καπνού με δραστικό συστατικό τους τη νικοτίνη, η οποία δρα ως εντομοκτόνο επαφής, ταχείας δράσης. Ένα ακόμα δραστικό συστατικό είναι η αζαδιραχτίνη, που προέρχεται από το εκχύλισμα καρπών και φύλλων

του δένδρου *Azadirachta indica* ή αλλιώς Neem. Η αζαδιραχτίνη δρα ως παράγοντας αναστολής της τροφικής δραστηριότητας και ως παρεμποδιστής ανάπτυξης των προνυμφών των επιβλαβών εντόμων (Thacker, 2002).

1.3.2.9 Νηματωδοκτόνα

Τα εντομοκτόνα αυτά καταπολεμούν τους νηματώδεις σκώληκες και χωρίζονται σε υποκαπνιστικά και μη υποκαπνιστικά.

- Τα υποκαπνιστικά είναι πολύ πτητικές ουσίες και εφαρμόζονται προφυτρωτικά για λόγους φυτοτοξικότητας και είναι αρκετά αποτελεσματικά σε όλα τα στάδια του βιολογικού κύκλου των νηματωδών (ωά, προνύμφες, ενήλικα).
- Τα μη υποκαπνιστικά είναι εκλεκτικά ως προς τους νηματώδεις. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν τα οργανοφωσφορικά και τα καρβαμιδικά νηματωδοκτόνα. Αποτέλεσμα της δράσης τους είναι η εξασθένιση της νευρομυκικής λειτουργίας με την ελαχιστοποίηση των διεργασιών που μειώνουν το ρυθμό ανάπτυξης και αναπαραγωγής των νηματωδών (Εμμανουήλ, 2013).

1.3.2.10 Ζιζανιοκτόνα

Τα ζιζανιοκτόνα χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση φυτών, τα οποία ζουν και αναπτύσσονται δίπλα από διάφορα καλλιεργούμενα φυτά και δρουν ανταγωνιστικά ως προς αυτά. Μεγάλος αριθμός χημικών ενώσεων έχουν χρησιμοποιηθεί μέχρι σήμερα στη γεωργική πράξη για την αντιμετώπιση των ζιζανίων. Από άποψη χημικής δομής πρόκειται για διάφορες ανόργανες ή οργανικές ενώσεις που ταξινομούνται σε διαφορετικές κατηγορίες.

Διακρίνονται με βάση τον τρόπο εφαρμογής σε ζιζανιοκτόνα φυλλώματος και εδάφους, με βάση τον τρόπο μετακίνησής τους στο εσωτερικό των φυτών σε διασυστηματικά και μη διασυστηματικά, με βάση τα είδη ζιζανίων που καταπολεμούν σε εκλεκτικά και μη εκλεκτικά και τέλος με βάση τη χημική δομή τους σε ανόργανα και οργανικά.

Η δράση τους έγκειται στους χλωροπλάστες, παρεμποδίζοντας τη λειτουργία της φωτοσύνθεσης και την αναγωγή της χλωροφύλλης αλλά και στην παρεμπόδιση των φυσικών

λειτουργιών όπως η φωτοσύνθεση, η κυτταροδιαίρεση, ο σχηματισμός πρωτεϊνών, αμινοξέων και η βιοσύνθεση αυτών (Λόλας, 2003; Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

1.4 Δραστικές ουσίες που χρησιμοποιήθηκαν σε αυτή τη μελέτη

1.4.1 Ανόργανα προστατευτικά μυκητοκτόνα

Τα ανόργανα προστατευτικά μυκητοκτόνα έχουν χρησιμοποιηθεί από αρχαιότατων χρόνων για τον έλεγχο των επιβλαβών εχθρών και ασθενειών στη γεωργία. Ο Όμηρος αναφέρει στην Οδύσσεια ότι ο Οδυσσεύς αφού σκότωσε τους μνηστήρες, χρησιμοποίησε θειάφι και φωτιά για να καθαρίσει και να απολυμάνει το ανάκτορο (ραψωδία χ: 481-482 και 492-494). Ο Ρωμαίος Cato (200 π.Χ.) συνιστούσε υποκαπνισμό της αμπέλου με μίγμα ασφάλτου και θείου. Επίσης, ο Ρωμαίος Plinius (70 μ.Χ.) αναφέρει ασθένειες δένδρων, αμπέλου και σιτηρών καθώς αναφέρει και μεθόδους για την αποφυγή τους, όπως εμβάπτιση σπόρων αραβόσιτου σε οίνο πριν από τη σπορά (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992; Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

Το 2.500 π.Χ. καταγράφηκε για πρώτη φορά η χρήση ενώσεων θείου από τους Σουμέριους για τον έλεγχο επιβλαβών εντόμων και ακάρεων. Ο Robertson (1824) υποστήριξε ότι το θειάφι αποτελεί το καταλληλότερο μέσο για την καταπολέμηση του ωιδίου της ροδακινιάς (Williams and Cooper, 2004). Το 1885 αρχίζει η περίοδος χρήσης του βορδιγάλειου πολτού (θειικός χαλκός και άσβεστος) με πρώτη τη δημοσίευση του Millardet για την αποτελεσματικότητά του ενάντια στον περονόσπορο της αμπέλου. Με αυτό τον τρόπο το 1932 έχουμε την εμφάνιση των χαλκούχων ενώσεων με μικρότερη διαλυτότητα για να αποφεύγονται τα προβλήματα φυτοτοξικότητας (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992).

1.4.1.1 Μυκητοκτόνος δράση των ενώσεων χαλκού και θείου

Μυκητοκτόνος δράση χαλκού

Η μυκητοκτόνος δράση του χαλκού είναι γνωστή πριν από αρκετά χρόνια. Οι ιδιότητες των χαλκούχων ενώσεων ανακαλύφθηκαν πρώτα το 1761 από το Γερμανό Schultess. Αργότερα, ο Γάλλος φυτοπαθολόγος Millardet ανακάλυψε τις μυκητοκτόνες ιδιότητες του βορδιγάλειου πολτού επειδή όμως κατά τη χρήση του δημιουργήθηκαν προβλήματα φυτοτοξικότητας το 1932 ανακαλύπτονται οι ανόργανες ενώσεις χαλκού που χρησιμοποιούνται ακόμη και σήμερα, όπως ο οξυχλωριούχος χαλκός $[Cu(OH)_2 CuCl_2]$, το υδροξείδιο του χαλκού $[Cu(OH)_2]$ και άλλα.

Οι ενώσεις αυτές έχουν το πλεονέκτημα ότι δεν διαβρώνουν τα μέταλλα (μπορούν να διαλυθούν σε μεταλλικά δοχεία χωρίς να τα προσβάλλουν) και μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις χωρίς να υπάρχει κίνδυνος φυτοτοξικότητας. Διαθέτουν όμως μικρότερη προσκολλητικότητα και υπολειμματική διάρκεια και συχνά δεν είναι το ίδιο αποτελεσματικές όσο ο βορδιγάλειος πολτός (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992).

Τα χαλκούχα σκευάσματα χρησιμοποιούνται κατά πολλών ασθeneιών με κυριότερα αίτια μύκητες και βακτήρια.

Το ενεργό συστατικό των χαλκούχων είναι το δισθενές ιόν του χαλκού, Cu^{++} , το οποίο απελευθερώνεται με αργό ρυθμό από το απόθεμα του ψεκασμού. Σε περιπτώσεις που η απελευθέρωση πραγματοποιείται με γρήγορο ρυθμό, όπως παρατεταμένες βροχοπτώσεις, τότε μία σημαντική ποσότητα ιόντων χαλκού εισέρχεται στους ιστούς του φυτού, με αποτέλεσμα να σημειώνεται φυτοτοξικότητα. Σε συνήθεις συνθήκες, τα χαλκούχα είναι τοξικά στη ροδακινιά και τα κολοκυνθοειδή. Στη ροδακινιά πραγματοποιούνται ψεκασμοί μόνο κατά τη διάρκεια του χειμώνα πριν από την έκπτυξη των οφθαλμών.

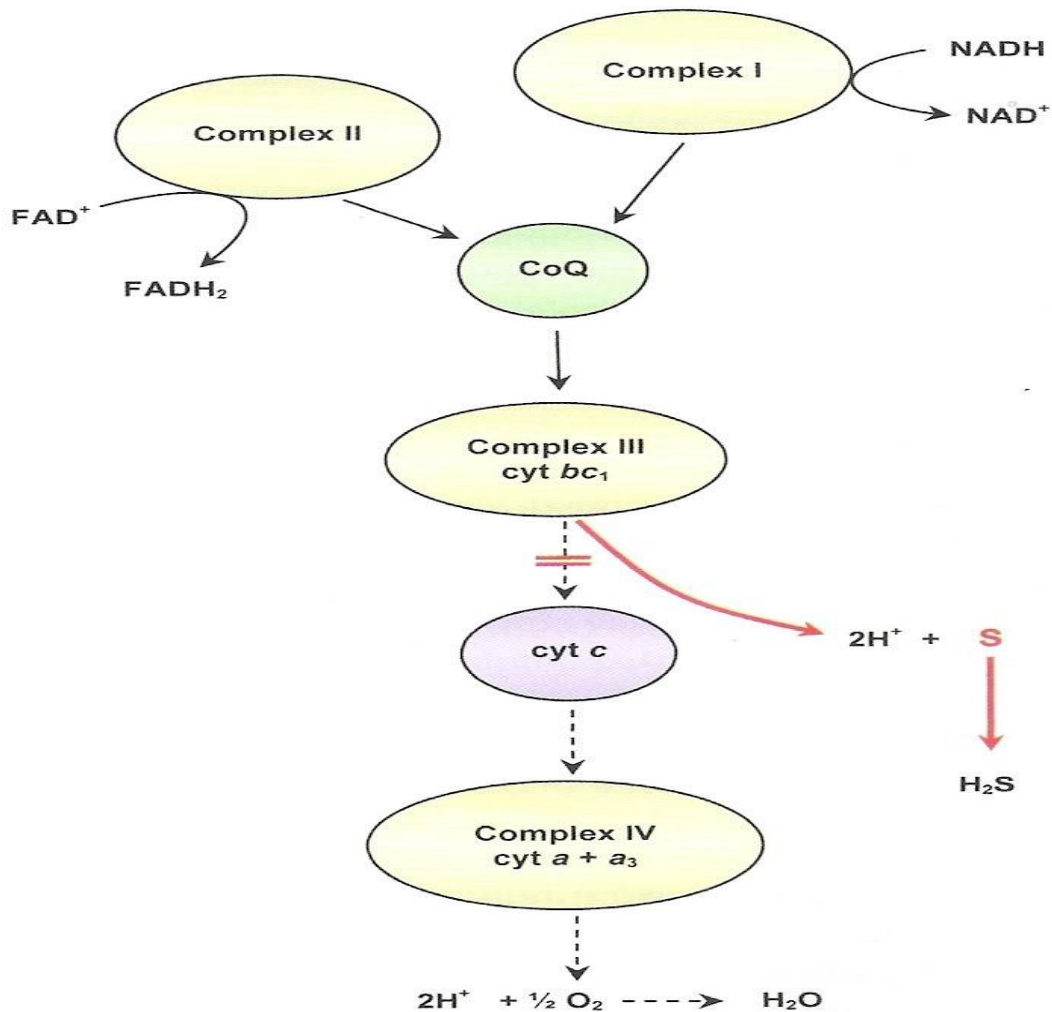
Μυκητοκτόνος δράση θείου

Το στοιχειακό θείο είναι ίσως το παλαιότερο από όλα τα φυτοφάρμακα, καθώς υπάρχουν αναφορές για τη χρήση του από την εποχή του Ομήρου. Πολλές είναι οι αναφορές που αναγνωρίζουν το θείο ως ένα πολύτιμο μυκητοκτόνο για τον έλεγχο του ωιδίου της αμπέλου (*Uncinula necator*), των οπωροφόρων και των κηπευτικών και για την καταπολέμηση

φουζικλάδιου και σκωριάσεων. Επίσης πολλές μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι το θείο έχει και ακαρεοκτόνες ιδιότητες (Williams and Cooper, 2004).

Χρησιμοποιείται είτε ως σκόνη για επιπάσεις (θειάφισμα) είτε ως βρέξιμη σκόνη για ψεκασμούς. Η αποτελεσματικότητά του αυξάνεται με την αύξηση της θερμοκρασίας ενώ σε θερμοκρασίες χαμηλότερες των 20°C η αποτελεσματικότητά του ελαχιστοποιείται. Κύριο πλεονέκτημα του θείου είναι το χαμηλό κόστος.

Το θείο δρα απευθείας και παρεμβάλλεται σε αντιδράσεις αφυδρογονώσεως στο εσωτερικό του κυττάρου. Το πιθανότερο είναι ότι το θείο δεσμεύει τα ηλεκτρόνια της αναπνευστικής αλυσίδας στο επίπεδο του συμπλόκου III (σύμπλοκο των κυτοχρωμάτων b και c) (Σχ. 2).



Σχήμα 2. Απεικόνιση του μηχανισμού δράσης του θείου στο κυτοχρωμικό σύστημα μεταφοράς ηλεκτρονίων (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010)

Αποτέλεσμα της δράσης αυτής είναι η διακοπή της φυσιολογικής ροής των ηλεκτρονίων προς το μοριακό οξυγόνο, με τελικό αποδέκτη την παραγωγή νερού και ενέργειας με τη μορφή τριφωσφορικής αδενοσίνης (ATP). Φαίνεται ότι τα ηλεκτρόνια χρησιμοποιούνται για την αναγωγή του θείου αντί οξυγόνου δια μέσου του κυτοχρωμικού συστήματος, όπου παράγεται το μεγαλύτερο ποσό ATP. Με αυτό τον τρόπο, όταν το θείο υπάρχει στο εσωτερικό του κυττάρου σε μεγάλες ποσότητες, το ποσό των ηλεκτρονίων που φθάνει στο οξυγόνο εκμηδενίζεται και το κύτταρο πεθαίνει από εξάντληση αναπνευστικών υποστρωμάτων χωρίς την αντίστοιχη παραγωγή ενέργειας. Ο διαφορετικός βαθμός ευαισθησίας διαφόρων οργανισμών στο θείο πιθανό να οφείλεται σε διαφορές περατότητας της κυτοπλασματικής μεμβράνης και όχι σε εκλεκτική τοξικότητα του θείου στο υποκυτταρικό περιβάλλον (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

Το θείο έχει πολύ μικρή διαλυτότητα στο νερό και για αυτό το λόγο η δραστηρότητά του επί του φυλλώματος είναι ανάλογη με τον αριθμό σωματιδίων ανά μονάδα επιφάνειας, συνεπώς απαιτείται λεπτόκοκκο σκεύασμα (Γεωργόπουλος και Ζιώγας, 1992).

1.4.1.2 Φυτοτοξικότητα ανόργανων μυκητοκτόνων

Σύμφωνα με τους Konacic, Lesnik και Vrsic (2013) όταν ο χαλκός συναντάται σε υψηλή συγκέντρωση είναι τοξικός για αρκετά φυτικά είδη. Το γεγονός αυτό πιθανό να οφείλεται στην ικανότητά του να μετατοπίζει τα ιόντα μετάλλων, κυρίως του σιδήρου από σημαντικά φυσιολογικά κέντρα των φυτικών ειδών. Επίσης σε αυξημένες ποσότητες μπορεί να προκαλέσει αναστολή της ανάπτυξης των ριζών καθώς και χλώρωση ή ωχρότητα.

Οι περίσσειες ποσότητες χαλκού έχουν την ιδιότητα να μεταβάλουν την αφομοίωση του αζώτου σε αμπελώνες, με αποτέλεσμα να αντικατοπτρίζονται στο ριζικό τους σύστημα ως μείωση αζώτου (νιτρικού) και ελεύθερων αμινοξέων (γλουταμίνη και γλουταμινικό οξύ). Η συσσώρευση χαλκού στο έδαφος ενδεχομένως να έχει φυτοτοξική επίδραση στους αμπελώνες ανάλογα με τον τύπο του εδάφους (π.χ. αμμώδη), το pH (π.χ. όξινο), το οξειδοαναπαραγωγικό δυναμικό, την περιεκτικότητα σε οξείδια και τις μεταλλικές επιδράσεις του αργίλου (Van-Zwieten et al., 2004).

Αντίθετα, στην έλλειψη χαλκού υπάρχει η πιθανότητα υπερβολικής συσσώρευσης αυξίνης με αποτέλεσμα τη στειρότητα της γύρης των φυτών (Mengel et al., 2001). Ο χαλκός θεωρείται ιδιαίτερα τοξικός για το περιβάλλον κυρίως λόγω των μακροπρόθεσμων συνεπειών της δράσης του στους μικροοργανισμούς του εδάφους (Petrot et al., 2006). Σύμφωνα με τα παραπάνω το 2002

τροποποιήθηκε το παράρτημα II του κανονισμού της ΕΟΚ με αριθμό 2092/91, περιορίζοντας τη δοσολογία του χαλκού σε 6 kg/ha/έτος από το 2006 (Dagostin et al., 2006).

Στην περίπτωση του βρέξιμου θείου, σύμφωνα με τα στοιχεία του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων (2016) μπορεί να προκληθεί φυτοτοξικότητα στα κολοκυνθοειδή καθώς και σε ορισμένες ποικιλίες μηλιάς (ποικ. Starking, Delicious κ.α.), αχλαδιάς (ποικ. D' anjou) και βερικοκιάς κάτω υπό συνθήκες υψηλής ηλιοφάνειας και υψηλών θερμοκρασιών. Η φυτοτοξικότητα μπορεί να σχετίζεται με την ηλικία του φυτικού ιστού (Bilal, 2008) καθώς και με τη δοσολογία που πρόκειται να χρησιμοποιηθεί. Κατά τους Jamar et al., (2017), σε χαμηλές συγκεντρώσεις το βρέξιμο θείο δεν προκαλεί βλάβη σε νεαρά φύλλα αχλαδιάς, ενώ παρατήρησαν νεκρωτικές κηλίδες σε φύλλα που είχαν ψεκαστεί με βρέξιμο θείο σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Σε καλλιέργειες λαχανικών παρατηρήθηκε περιθωριακή νέκρωση κυρίως στα κατώτερα φύλλα (Maynard, 1979).

Η περίσσεια και η έλλειψη βρέξιμου θείου σε καλλιέργειες λαχανικών έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της ανάπτυξης και της απόδοσης των φυτών. Η έλλειψη θείου είναι δύσκολο να καθοριστεί, πιθανό λόγω της ποικιλόμορφης κατανομής του στους φυτικούς ιστούς (Ward, 1976). Είναι πιθανό να εμφανιστεί σε περιοχές με υψηλές βροχοπτώσεις όπου εμφανίζεται σημαντική έκπλυση. Αυτό συμβαίνει σε εδάφη αμμώδη, με χαμηλή περιεκτικότητα οργανικής ύλης. Τα συμπτώματα έλλειψης θείου παρουσιάζονται κυρίως σε νεαρά φυτά και μοιάζουν με αυτά της έλλειψης αζώτου (N), όπου τα φύλλα διαθέτουν αρχικά ένα ομοιόμορφο ανοιχτό πράσινο χρώμα και στη συνέχεια γίνονται κιτρινοπράσινα ή κίτρινα. Επειδή το θείο δεν είναι τόσο κινητικό όσο το άζωτο στα φυτά, τα συμπτώματα που παρατηρούνται εμφανίζονται στα νεότερα μέρη του φυτού παρά στα παλαιότερα. Ωστόσο, ένα ποσοστό της τάξεως του 0,1% θείου σε ξηρό βάρος φύλλων είναι απαραίτητο για την πρόληψη των συμπτωμάτων έλλειψής του (Maynard, 1979).

1.4.1.3 Επιδράσεις ανόργανων μυκητοκτόνων στους φυσικούς εχθρούς

Τα φυτοφάρμακα μπορούν να επηρεάσουν τους φυσικούς εχθρούς με πολλούς τρόπους, όπως προκαλώντας αλλαγές στη διατροφική συμπεριφορά τους, στο ποσοστό θήρευσης, στη γονιμότητα, στο χρόνο ανάπτυξής τους, στη μακροζωία, στην αναλογία φύλου αλλά και στη θνησιμότητα η οποία εκφράζεται με την οξεία τοξικότητα (Amarasekare and Shearer, 2013b).

Οι Martinou et al. (2014) αναφέρουν ότι το υδροξείδιο του χαλκού προκάλεσε σημαντική θνησιμότητα στις νύμφες του *Machrolophus pygmaeus* (Rambur) (Hemiptera: Miridae) μέσω της λείας του, επίσης είχε επιζήμια επίδραση σε συνδυασμό με το mancozeb (μυκητοκτόνο) ως προς το επίπεδο του πληθυσμού του παρασιτοειδούς *Aphelinus mali* Hald (Hymenoptera: Aphelinidae) και του αρπακτικού αφίδων *Hippodamia convergens* Guerin-Meneville (Coleoptera: Coccinellidae) (Mills et al., 2016). Σε άλλη έρευνα, όταν τα θηλυκά άτομα του αρπακτικού ακάρεως *Galendromus occidentalis* Nesbitt (Acari: Phytoseiidae) εκτέθηκαν σε χαλκό μαζί με mancozeb, δεν υπήρξε επίδραση στην εκκόλαψη των ωών, αλλά μόλις αυτά εκκολάφθηκαν οι προνύμφες παρουσίασαν υψηλή θνησιμότητα (Beers and Schmidt, 2014). Αντίθετα, το υδροξείδιο του χαλκού ήταν αβλαβές για το αρπακτικό άκαρι *Euseius victoriensis* (Womersley) (Acari: Phytoseiidae), αλλά και ο συνδυασμός με το mancozeb αποδείχθηκε ότι ήταν αβλαβής για τις νύμφες και τα ενήλικα άτομα του αρπακτικού *Deraeocoris brevis* Uhler (Hemiptera: Miridae) σύμφωνα με τους Amarasekare and Shearer (2013b), ενώ είχε μικρή επίδραση στα νεαρά στάδια και στα ενήλικα του παρασιτοειδούς αφίδων *Trioxys pallidus* (Haliday) (Hymenoptera: Braconidae). Οι Hall και Nguyen (2010) αξιολόγησαν την τοξικότητα του υδροξειδίου του χαλκού στα ενήλικα άτομα του *Tamarixia radiata* (Waterstone) (Hymenoptera: Eulophidae) παρασιτοειδές της ασιατικής ψύλλας των εσπεριδοειδών *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) με άμεσους και υπολειμματικούς ψεκασμούς, με φρέσκα και στεγνά υπολείμματα με εμβάπτιση φύλλων και με υπολειμματικούς ψεκασμούς σε βάθος χρόνου, με δόση χαμηλή έως το ήμισυ της συνιστώμενης (14.4 gr/l). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το υδροξείδιο του χαλκού ήταν συμβατό για τα προγράμματα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης στη δόση που δοκιμάστηκε.

Σύμφωνα με την μελέτη των Angeli et al. (2005), ο οξυχλωριούχος χαλκός δεν έδειξε σημαντική επίδραση στην επιβίωση και στη γονιμότητα του αρπακτικού *Orius laevigatus* Fieber (Hemiptera: Anthocoridae), όταν τα αρπακτικά εκτέθηκαν σε αυτό μέσω της ψεκασμένης λείας τους (ωά *Ephestia kuehniella*). Σε διαφορετική μελέτη, ο αριθμός των ωών που εναπόθεσε το

Anthocoris nemoralis F. (Hemiptera: Anthocoridae) όταν εκτέθηκε στον οξυγλωριούχο χαλκό μειώθηκε αλλά όχι σημαντικά σε σχέση με τους μάρτυρες, Στην ίδια μελέτη ο οξυγλωριούχος χαλκός δεν προκάλεσε θνησιμότητα στο *Scutellista cyanea* Motschulsky (Hymenoptera: Pteromalidae) (0%) και στο *Chilocorus nigritus* (F.) (Coleoptera: Coccinellidae) (2%) και δεν επηρέασε τη διάρκεια ζωής των αρπακτικών *Chelonus inanitus* (L.) (Hymenoptera: Braconidae) (32.1) και *C. nigritus* (126.9) σε σχέση με το μάρτυρα 25.9 και 117.8 ημέρες αντίστοιχα, ενώ για το *C. inanitus* και το *A. nemoralis* η θνησιμότητα κυμάνθηκε στο 8% και 32% αντίστοιχα (Bengochea et al., 2013). Σε συνθήκες πεδίου και ημι-πεδίου ο οξυγλωριούχος χαλκός δεν προκάλεσε επιδράσεις στη βιωσιμότητα και στην αρπακτική ικανότητα του παρασιτοειδούς *Psytalia concolor* Szepligety (Hymenoptera: Braconidae) (Bengochea et al., 2014). Οι Michaud και Grant (2003) μελέτησαν τις επιδράσεις του θειϊκού χαλκού (0.12%) σε συνδυασμό με παραφινικό έλαιο (1.0%) σε τρία είδη Coccinellidae (*Curinus coeruleus* Mulsant, *Harmonia axyridis* Pallas και *Olla v-nigrum* Mulsant διαπιστώνοντας ότι ο ψεκασμός των τρυβλίων με 1ml μίγματος είχε επεκτείνει τον αναπτυξιακό χρόνο των προνυμφών του *O. v-nigrum* κμο. 8.5% όταν τοποθετήθηκαν σε αυτά. Επίσης θηλυκά άτομα *O. v-nigrum* στο στάδιο της νύμφης εναπόθεσαν λιγότερα ωά σε σχέση με το μάρτυρα και η προαναπαραγωγική τους περίοδο είχε αυξηθεί κατά 6.6%. Τα άτομα των *C. coeruleus* και των *H. axyridis* δεν επηρεάστηκαν από τις ίδιες εφαρμογές. Αυτή η διαφορά μεταξύ των αναπτυξιακών σταδίων ως προς την ευαισθησία τους στο θειϊκό χαλκό μπορεί να προκύπτει από τη μεταβολή των ποσοστών πρόσληψης, αποβολής ακόμα και αποφυγής στη συμπεριφορά όπως στην περίπτωση του *C. coeruleus*. Ο συνδυασμός χαλκού-ελαίου φάνηκε να παρουσιάζει απωθητικότητα στις προνύμφες του *C. coeruleus*, όχι όμως σε εκείνες του *H. axyridis* ή του *O. v-nigrum*. Οι συγγραφείς αναφέρουν ότι ορισμένα στοιχεία υποδεικνύουν σχετικά ανεπαρκή πρόσληψη του χαλκού σε ορισμένα είδη αρπακτικών και αποτελεσματική εξάλειψη από άλλα, παράγοντες που εξηγούν μερικές από τις διακυμάνσεις της τοξικότητας του χαλκού στα είδη των αρπακτικών. Ωστόσο οι Michaud και Grant (2003) αναφέρουν ότι στη μελέτη των Niranjana et al. (1998) βρέθηκε ότι ο θειϊκός χαλκός δεν είχε άμεσες τοξικές επιδράσεις στο αρπακτικό *Stethorus nigripes* Kapur (Coleoptera: Coccinellidae) και ήταν αβλαβής για το *Scymnus coccivoro* (Coleoptera: Coccinellidae), επίσης δεν έδειξε να έχει αρνητικές επιδράσεις στη διάρκεια ζωής και στην αναπαραγωγή του αρπακτικού *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae). Τέλος, φάνηκε ότι οι αυξανόμενες δόσεις οξυγλωριούχου χαλκού προκάλεσαν αύξηση της ωοτοκίας των αρπακτικών ακάρεων *Iphiseiodes*

zuluagai Denmark and Muma (Acari: Phytoseiidae) και *Euseius alatus* De Leon (Acari: Phytoseiidae) (Fuzita et al., 2014).

Το βρέξιμο θείο υπό εργαστηριακές συνθήκες σε φυτά τομάτας ταξινομήθηκε ως αβλαβές για τους πληθυσμούς του αρπακτικού *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Hemiptera: Miridae) (Gonzalez-Cabrera et al., 2011; Zappala et al., 2012) καθώς και σε συνθήκες ημι-πεδίου με εφαρμογή της μέγιστης δόσης της ετικέτας («χειρότερο σενάριο») του μυκητοκτόνου στο αρπακτικό *Orius laevigatus* (Hemiptera: Anthocoridae) (Van de Veire et al., 2002). Οι Angeli et al. (2005) αναφέρουν πως το βρέξιμο θείο ήταν μέτρια επιβλαβές στο *O. laevigatus* καθώς μείωσε ελαφρά τη γονιμότητά του. Το θείο επηρεάζει επίσης τα ανήλικα στάδια του *D. brevis* προκαλώντας οξεία τοξικότητα στις νύμφες αλλά και στα ενήλικα άτομα, μείωσε ακόμα την επιβίωση των ωών και των νυμφών, και τη γονιμότητα των θηλυκών ενήλικων ατόμων (Amarasekare and Shearer, 2013b; Fernandez, 2015). Το θείο ήταν εξαιρετικά τοξικό όταν εφαρμόστηκε στο *Psyllobora vigintimaculata* (Say) (Coleoptera: Coccinellidae) με ψεκασμό, προκαλώντας 100% θνησιμότητα σε διάστημα 24 ωρών από την έκθεση (Fernandez, 2015). Η ίδια μελέτη αναφέρει ότι τα υπολείμματα του βρέξιμου θείου έδειξαν χαμηλή τοξικότητα στα ενήλικα θηλυκά άτομα του *G. occidentalis* χωρίς να έχει επίδραση στην κατανάλωση της λείας του, όμως αποδείχθηκε ότι επηρεάζει τους πληθυσμούς του *I. zuluagai*, όπου σε εφαρμογές πεδίου προκάλεσε 60% θνησιμότητα και μειωμένη αναπαραγωγή στα ενήλικα θηλυκά άτομα (Fernandez, 2015).

1.4.1.4 Επιπτώσεις των ανόργανων μυκητοκτόνων σε οργανισμούς - μη στόχους.

Ο χαλκός ως βασικό στοιχείο απαιτείται από όλους τους οργανισμούς, όμως οι αυξημένες συγκεντρώσεις του είναι τοξικές και όταν συσσωρεύονται στο έδαφος οδηγούν σε μια σειρά αρνητικών επιπτώσεων όπως μείωση της βιολογικής δραστηριότητας και μείωση της γονιμότητας.

Οι Kovacic et al. (2013) υποστηρίζουν ότι ο χαλκός είναι υπο-θανατηφόρα τοξικός για τους γαιοσκώληκες σε συγκεντρώσεις χαμηλότερες από 9 έως 16 mg/l. Οι Van Zwieten et al. (2007) αναφέρουν πως ο οξυγλωριούχος χαλκός μειώνει τους πληθυσμούς του γαιοσκώληκα *Aporrectodea caliginosa* σε δοκιμές πεδίου ακόμη και έξι μήνες μετά την εφαρμογή του. Στη ίδια έρευνα αναφέρεται επίσης ότι τα υπολείμματα χαλκού που βρέθηκαν σε καλλιέργειες αβοκάντο επηρέασαν σημαντικά τους μικροοργανισμούς του εδάφους, με αποτέλεσμα τη μειωμένη μικροβιακή βιομάζα, αυξημένη αναπνοή και μεταβολικό δείκτη. Σύμφωνα με τις ετικέτες των

σκευασμάτων του οξυχλωριούχου χαλκού, ο χαλκός είναι τοξικός για τους υδρόβιους οργανισμούς και σχετικά μη τοξικός για τις μέλισσες.

Στην περίπτωση του θείου, ικανοποιούνται όλες οι απαιτήσεις σχετικά με την περιβαλλοντική τύχη και τις οικολογικές επιπτώσεις του. Αυτή η ένωση δεν προκαλεί δυσμενείς επιπτώσεις στο περιβάλλον όταν χρησιμοποιείται σύμφωνα με την εγκεκριμένη επισήμανση και παρουσιάζει μικρό ή καθόλου κίνδυνο για τους οργανισμούς-μη στόχους, όπως οι μέλισσες, ορτύκια, ψάρια κ.α. διότι ενσωματώνεται στον κύκλο του φυσικού θείου (E.P.A, 1991).

1.4.1.5 Επιδράσεις των ανόργανων μυκητοκτόνων χαλκού και θείου στην υγεία του ανθρώπου

Ο χαλκός αποτελεί στοιχείο το οποίο είναι απαραίτητο για τον άνθρωπο λόγω της συμμετοχής του σε μεταβολικές αντιδράσεις αμινο- και λιπαρών οξέων και βιταμινών. Η έλλειψή του μπορεί να προκαλέσει καρδιαγγειακές παθήσεις.

Στις περιπτώσεις που ο χαλκός εφαρμόζεται με ψεκάσμο για φυτοπροστατευτικούς λόγους μπορεί να ερεθίσει τους οφθαλμούς και είναι επιβλαβής σε περίπτωση κατάποσης.

Σύμφωνα με τις μελέτες που διατίθενται στον ιστότοπο του E.P.A (United States Environmental Protection Agency) η χρήση του θείου ως παρασιτοκτόνου δημιουργεί πολύ λίγους κινδύνους για τον άνθρωπο, όπως ερεθισμό οφθαλμών και δέρματος κυρίως σε άτομα που χειρίζονται το φυτοπροστατευτικό ή έρχονται σε επαφή με φύλλωμα που έχει εφαρμοσθεί θείο.

1.4.1.6 Ανθεκτικότητα φυσικών εχθρών στα ανόργανα μυκητοκτόνα

Οι ενώσεις του θείου μπορεί να έχουν επιβλαβείς επιδράσεις στην οικογένεια των Phytoseiidae, ωστόσο υπάρχουν μελέτες που αναφέρουν ανθεκτικότητα του πληθυσμού των αρπακτικών ακάρεων σε εφαρμογές θείου, όπως το *Typhlodromus doreenae* Schicha (Acari: Phytoseiidae) σε 48 ώρες δοκιμές με ενήλικα θηλυκά άτομα (Bernard et al., 2010). Η ανοχή αυτή πιθανό να οφείλεται στην ανάπτυξη ανεκτικών στελεχών στο θείο (Jamar et al., 2008).

Δεν βρέθηκαν μελέτες που να σχετίζονται με την ανεκτικότητα των φυσικών εχθρών σε χαλκούχες ενώσεις.

1.4.2 Το εντομοπαθογόνο βακτήριο *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*

Τα βακτήρια συγκροτούνται από μονοκύτταρους μικροοργανισμούς, οι οποίοι πολλαπλασιάζονται με διαίρεση αποτελώντας έτσι τον πιο πολυπληθή τύπο μικροοργανισμών που διαθέτουν παθογόνο δράση στα αρθρόποδα, προκαλώντας μολύνσεις σε συνδυασμό με τις υπάρχουσες συνθήκες (Pierce et al., 2001). Τα εντομοπαθογόνα βακτήρια είναι σε γενικές γραμμές, όμοια με τα υπόλοιπα, όσον αφορά τα γενικά χαρακτηριστικά τους. Ξεχωρίζουν κυρίως λόγω του του πολύ μικρού μεγέθους τους, της τάξεως των 0,5-50μm. Το σχήμα τους ποικίλει ανάλογα με το είδος και συναντώνται είτε μεμονωμένα είτε σε αλυσίδες. Επίσης μπορεί να είναι θετικά ή αρνητικά κατά Gram, αερόβια ή αναερόβια βακτήρια (Lacey and Brooks, 1997).

Το μόνο είδος, το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί με εμπορική επιτυχία για τον έλεγχο των αρθροπόδων εχθρών είναι το *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bacillales: Bacillaceae). Το 1998, το βακτήριο αυτό ήταν διαθέσιμο σε περισσότερα από 100 διαφορετικά σκευάσματα στη Β. Αμερική και την Ευρώπη (Thacker, 2002). Μέχρι σήμερα το *B. thuringiensis* έχει χρησιμοποιηθεί για την αντιμετώπιση ενός μεγάλου εύρους ειδών των τάξεων των κολεοπτέρων, διπτέρων, ημιπτέρων και λεπιδοπτέρων σε πολλές καλλιέργειες.

1.4.2.1 Βιολογία και τρόπος δράσης του *B. thuringiensis*

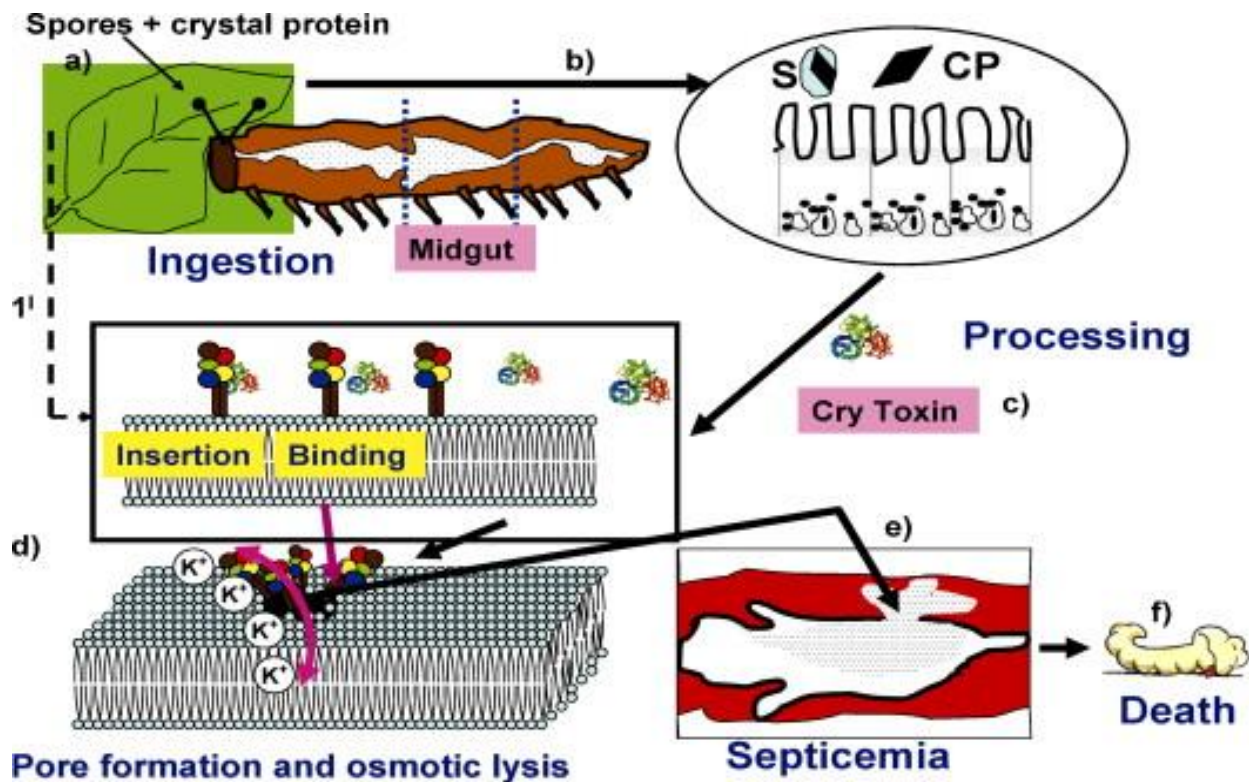
Το βακτήριο *B. thuringiensis* (κν. Bt) ανακαλύφθηκε από τον Ishiwatta Shigetane το 1902 στην Ιαπωνία ως αίτιο για μία ασθένεια που προσβάλλει τους μεταξοσκώληκες. Ωστόσο, το βακτήριο καταγράφηκε για πρώτη φορά από τον Γερμανό βιολόγο Berliner το 1911, όταν βρέθηκε το συγκεκριμένο είδος σε προνύμφες του λεπιδόπτερου *E. kuehniella* σε αποθήκες σιτηρών στην πόλη της Θουριγγίας από όπου και πήρε το όνομά του (Thacker 2002; Fiuza et al., 2017).

Οι πρώτες βιοδοκιμές έγιναν μεταξύ 1920 και 1930 κατά του *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae) στην Ευρώπη και η πρώτη παραγωγή του εμπορικού σκευάσματος ξεκίνησε στη Γαλλία με εμπορική ονομασία Sporeine. Έκτοτε, το Bt έχει θεωρηθεί ως ένα από τα πιο σημαντικά βιολογικά εντομοκτόνα που περιέχει μίγμα σπορίων και εντομοκτόνων κρυστάλλων.

Το βακτήριο Bt είναι θετικό κατά Gram βακτήριο και απαντάται στο έδαφος, στα αποθηκευμένα προϊόντα, σε εγκαταστάσεις εκτροφής εντόμων, σε δάση, σε φυτά κ.α. σε όλο τον

κόσμο. Έχει δύο φάσεις στον κύκλο ανάπτυξής του. Όταν τα θρεπτικά συστατικά είναι άφθονα, το βακτήριο αναπτύσσεται βλαστικά, ενώ όταν οι περιβαλλοντικές συνθήκες επιδεινώνονται, το βακτήριο παράγει σπόρια που μπορούν να επιβιώσουν μέχρι τη βελτίωση των συνθηκών ώστε να αρχίσει και πάλι η βλαστική αναπαραγωγή.

Το σημαντικότερο χαρακτηριστικό του βιολογικού κύκλου του σχετικά με τον έλεγχο των εχθρών είναι ότι ταυτόχρονα με την παραγωγή σπορίων συμβαίνει και η παραγωγή ενός πρωτεϊνούχου κρυστάλλου που είναι τοξικός για μερικά είδη εντόμων (Σχ. 3). Μόλις προσλαμβάνεται, ο κρύσταλλος διαλύεται στο αλκαλικό (pH 8-12) περιβάλλον του μεσεντέρου της προνύμφης του εντόμου. Μέσω των πρωτεασών του μεσεντέρου αφομοιώνεται ένα τμήμα του κρυστάλλου, απελευθερώνοντας ένα ανθεκτικό στις πρωτεάσες τοξικό δραστικό τμήμα (θραύσμα) που ονομάζεται δ- ενδοτοξίνη. Η τοξίνη διέρχεται μέσω της περιτροφικής μεμβράνης του μεσεντέρου και δεσμεύεται στους υποδοχείς των επιθηλιακών κυττάρων του μεσεντέρου. Η δέσμευση της τοξίνης στο επιθήλιο είχε ως αποτέλεσμα την πρόκληση αλλοιώσεων στο τοίχωμα του μεσεντέρου, επίσης παράλυση του στομάχου και των μασητικών οργάνων του εντόμου, με αποτέλεσμα την αναστολή πρόσληψης τροφής, σηψαιμία από τα σπόρια και εντεροτοξικότητα από τα εντερικά βακτήρια με συνέπεια το θάνατο του εντόμου-εχθρού (Dent 2000; Thacker 2002; Brar et al., 2007).



Σχήμα 3. Τρόπος δράσης του *B. thuringiensis* (Brar et al., 2007)

Το χρονικό διάστημα και η ακριβής χρονολογική σειρά των παραπάνω γεγονότων εξαρτάται από το είδος των εντόμων και των τοξινών που εμπλέκονται. Ο χρόνος που απαιτείται για τη θανάτωση των εντόμων-εχθρών είναι συνήθως 3 - 5 ημέρες.

Τα γονίδια που παράγουν τον πρωτεϊνικό κρύσταλλο βρίσκονται σε μεγάλα πλασμίδια. Τα γονίδια κωδικοποιούν πρωτεΐνες 640-1200 αμινοξέων και ταξινομούνται σε μία από τις τέσσερις κατηγορίες, γνωστές ως Cry I, Cry II, Cry III και Cry IV. Από αυτές τις κατηγορίες οι Cry I και Cry II πρωτεΐνες είναι δραστικές εναντίον ειδών λεπιδοπτέρων ή και διπτέρων, οι Cry III εναντίον κολεοπτέρων και οι Cry IV εναντίον διπτέρων. Τα περισσότερα στελέχη του Bt μπορούν να παράγουν διάφορες κρυσταλλικές πρωτεΐνες ενώ και η ίδια κρυσταλλική πρωτεΐνη μπορεί να βρεθεί σε διαφορετικά στελέχη του Bt. Τα πιο σημαντικά στελέχη του *B. thuringiensis* δίνονται στον Πίνακα 1.

Πίνακας 1. Διαθέσιμα στο εμπόριο σκευάσματα βακτηρίων για την αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών (Thacker 2002; Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

Είδος	Εχθρός-στόχος
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> (Btk)	Προνύμφες λεπιδοπτέρων
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> (Bta)	Προνύμφες λεπιδοπτέρων
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>israeliensis</i> (Bti)	Προνύμφες διπτέρων
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>tenebrionis</i> (Btt)	Ενήλικα & προνύμφες κολεοπτέρων
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>japonensis</i> (Btj)	Σκαθάρια εδάφους
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> (Btk)	Προνύμφες λεπιδοπτέρων & ορισμένα Κολεόπτερα
<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>morrisoni</i> (Btm)	Δορυφόρος της πατάτας (<i>Leptinotarsa decemlineata</i>)
<i>Bacillus sphaericus</i>	Προνύμφες κουνουπιών

1.4.2.2 Φυτοτοξικότητα *B. thuringiensis*

Φυτοτοξικότητα από το Bt δεν παρατηρήθηκε ποτέ, ούτε σε εργαστηριακές δοκιμές ούτε σε δοκιμές στον αγρό. Προκειμένου το Bt να έχει τοξικές επιδράσεις, πρέπει να απορροφηθεί από έναν οργανισμό και να εκτεθεί σε κατάλληλα πεπτικά ένζυμα με pH 9,0 έως 10,5. Για το λόγο αυτό τα φυτά (χερσαία και υδάτινα) δεν θα μπορούσαν να επηρεαστούν από την εφαρμογή του Bt. Φυτά τα οποία γονιμοποιούνται κυρίως από διάφορα είδη λεπιδοπτέρων μπορούν να παρουσιάσουν προσωρινή πτώση των σπορίων τους, όμως είναι αδύνατο να επηρεαστούν από μειωμένη επικονίαση καθώς θα μπορούσαν να επικονιαστούν από είδη εντόμων που δεν βρίσκονται σε ευαίσθητα στάδια κατά τον ψεκασμό (Joung and Cote, 2000).

1.4.2.3 Επιδράσεις του *B. thuringiensis* στους φυσικούς εχθρούς

Σύμφωνα με τη μελέτη των Gonzalez-Cabrera et al. (2011) για την αποτελεσματικότητα του *B. thuringiensis* κατά του *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae), δεν

εντοπίστηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στα ενήλικα άτομα και στις νύμφες των *Dicyphus marrocannus* Wagner (Hemiptera: Miridae), *N. tenuis* και *M. pygmaeus* όταν εφαρμόστηκαν δύο υποείδη του Bt (kurstaki και aizawai), στις μεγαλύτερες συνιστώμενες δόσεις, σε εφαρμογές αγρού, εργαστηρίου και θερμοκηπίου για την αντιμετώπιση του *T. absoluta*.

Το Bt αποδείχθηκε αβλαβές και συμβατό με το θηρευτή *N. tenuis* όταν πραγματοποιήθηκε συνδυασμός τους κατά τους Molla et al. (2011), σε εφαρμογές θερμοκηπίου ενάντια στο *T. absoluta* δείχνοντας ότι με αυτό τον τρόπο ο συνδυασμός αυτών των δύο παραγόντων θα μπορούσε να οδηγήσει σε μία οικονομικά αποδεκτή στρατηγική για τη διαχείριση των παρασίτων των καλλιεργειών τομάτας.

Χαρακτηριστικά όπως η διάρκεια ανάπτυξης του δεύτερου νυμφικού σταδίου, η κατανάλωση λείας και μακροζωία την θηλυκών ατόμων του *Orius insidiosus* Say (Hemiptera: Anthocoridae) επηρεάστηκαν από την παρουσία του Bt subsp. aizawai όταν εφαρμόστηκε σε ωά *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Pyralidae) σε σταυρανθή, υπό συνθήκες εργαστηρίου, με αποτέλεσμα η παραγωγή απογόνων να είναι μικρότερη, μειώνοντας με αυτό τον τρόπο το ρυθμό αύξησης του πληθυσμού του θηρευτή (Goulart et al., 2015). Ωστόσο οι Torres και Ruberson (2008) σε φυτά βαμβακιού που είχαν τροποποιηθεί γενετικά με γονίδια από Bt, τα οποία παρήγαγαν συνέχεια Bt ενδοτοξίνες, επιβεβαίωσαν τη μεταφορά των τοξινών αυτών μέσω της τροφικής αλυσίδας όταν το *O. insidiosus* απέκτησε 17% τοξίνη μέσω κατανάλωσης λείας θριπών *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae) αυξάνοντας την κατανάλωσή τους.

Οι Harding et al. (1972) διεξήγαγαν μία διετή μελέτη για την εκτίμηση των επιπτώσεων του Btk στους φυσικούς εχθρούς του *Helicoverpa zea* (Boddie) (Lepidoptera: Noctuidae) στο βαμβάκι. Μετά από τις εφαρμογές, δεν ανέφεραν ανιχνεύσιμα αποτελέσματα σε είδη της οικογένειας Anthocoridae και Geocoridae.

Ο Asquith (1975) διαπίστωσε ότι το είδος *Stethorus punctum* LeConte (Coleoptera: Coccinellidae) σε καλλιέργεια μηλιάς, δεν επηρεάστηκε μετά από ψεκασμό με Btk. Οι Wilkinson et al. (1975) αξιολόγησαν τη δραστηριότητα μέσω επαφής ενός εμπορικού σκευάσματος Btk για πέντε ημέρες, σε συνιστώμενες δόσεις για εφαρμογή στον αγρό, σε ενήλικα είδη της οικογένειας Coccinellidae (*Hippodamia convergens*) χωρίς δυσμενείς επιδράσεις.

Σε μια άλλη μελέτη, ο Workman εξέθεσε είδη της τάξης Dermaptera σε Btk με δόσεις 10 φορές μεγαλύτερες από τη συνιστώμενη για εφαρμογή στον αγρό χωρίς να παρατηρήσει καμία

θνησιμότητα. Τέλος, ο Hassan (1983) υποστήριξε ότι ένα εμπορικό σκεύασμα με Btk ήταν ακίνδυνο για τα ενήλικα άτομα *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae) όταν εκτέθηκαν στον αγρό στη συνιστώμενη δόση.

Σύμφωνα με τους Biondi et al. (2012) το Bt αποδείχθηκε αβλαβές για το αρπακτικό *O. laevigatus* αν και χρησιμοποιήθηκε η υψηλότερη συνιστώμενη δόση, πιθανώς λόγω αδυναμίας των τοξινών του Bt να φθάσουν στο μεσέντερο του αρπακτικού. Η εκλεκτικότητα του βιοεντομοκτόνου Bt (var. *kurstaki*) αξιολογήθηκε σε ενήλικα και νύμφες του ωοπαρασιτοειδούς *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera: Platygastridae) υπό εργαστηριακές συνθήκες, σύμφωνα με το πρωτόκολλο του Διεθνούς Οργανισμού Βιολογικού Ελέγχου (IOBC) και ταξινομήθηκε ως αβλαβές σε βιοδοκιμές επαφής (Silva et al., 2016).

1.4.2.4 Επιπτώσεις του *B. thuringiensis* σε οργανισμούς - μη στόχους

Πτηνά

Σε μια σειρά από μελέτες, αξιολογήθηκαν, η οξεία τοξικότητα και η παθογένεια εμπορικών σκευασμάτων που περιέχουν Bta, Bti, Btk και Btte σε νεαρά ορνίθια και αγριόπαπιες όταν χορηγήθηκαν σε αυτά υψηλές δόσεις των παραπάνω υποειδών Bt, δια της στοματικής οδού. Τα πτηνά δεν παρουσίασαν εμφανή τοξικότητα ή παθογένεια μετά την έκθεσή τους στα υποείδη του Bt. Στην ίδια μελέτη, έγινε και αξιολόγηση της κατανάλωσης τροφής και της αύξησης βάρους, όπου τα πτηνά δεν έδειξαν καμία επίδραση (WHO, 1999; WHO, 2004).

Υδρόβιοι οργανισμοί

Ο Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας (WHO) (WHO, 1982; WHO, 2004) εξέτασε τις επιδράσεις του Bt σε βατράχους, γυρίνους, χρυσόψαρα, ψάρια που τρέφονται με κουνούπια κ.α. χωρίς να παρατηρήσει ανεπιθύμητες επιδράσεις. Ο Boeri (1991) εξέθεσε ιριδιζουσες πέστροφες και άλλους υδρόβιους οργανισμούς σε εμπορικά σκευάσματα που περιέχουν Bti, Btk και Btte για 30 περίπου ημέρες, σε συγκεντρώσεις από 100 έως 500 φορές από τις αναμενόμενες περιβαλλοντικές συγκεντρώσεις. Τα αποτελέσματα της έρευνας έδειξαν ότι η έκθεση σε πολύ υψηλές συγκεντρώσεις σε Bti, Btk και Btte δεν επηρέασε δυσμενώς την επιβίωση αυτών των οργανισμών, ούτε προκάλεσε αλλοιώσεις.

Γαιοσκώληκες

Οι Benz και Altwegg (1975) μελέτησαν την επίδραση του Bt με 100 φορές τη συνιστώμενη δόση, σε πληθυσμούς του γαιοσκώληκα *Lumbricus terrestris* Linnaeus (Oristhophora: Lumbricidae) και δεν παρατήρησαν καμία επίδραση.

1.4.2.5 Επιδράσεις του *B. thuringiensis* στα θηλαστικά και στην υγεία του ανθρώπου

Θηλαστικά

Οι μελέτες τοξικότητας θηλαστικών σε φυτοπροστατευτικά που περιέχουν Bt αποδεικνύουν ότι τα απομονωθέντα στελέχη του δεν είναι τοξικά ή παθογόνα. Μελέτες τοξικότητας που υποβλήθηκαν στην Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος των Η.Π.Α για την καταχώρηση των υποειδών του Bt, εξετάστηκαν από τους McClintock et al. (1995). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν παρουσιάστηκαν δυσμενείς επιδράσεις στην αύξηση του σωματικού βάρους τρωκτικών κατά τη διάρκεια κλινικών παρατηρήσεων. Μελέτες επιμόλυνσης έδειξαν ότι ο οργανισμός των τρωκτικών ανταποκρίθηκε στην εξάλειψη του Bt από το σώμα τους, μετά από πνευμονική, ενδοφλέβια έκθεση ή έκθεση δια στόματος.

Στη μελέτη των Wilcks et al., (2006), αρουραίοι έλαβαν ημερησίως μέσω τροφής 10^7 - 10^8 σπόρια ή βλαστικά κύτταρα Bt subsp. *israelensis* ή subsp. *kurstaki* ώστε η πεπτική οδός να προσομοιώνει την ανθρώπινη μικροχλωρίδα. Στην ανάλυση δειγμάτων από κόπρανα των ζώων μετά από 4 ημέρες εφαρμογής έδειξε, γενικά, ότι μόνο τα σπόρια αλλά όχι τα βλαστικά κύτταρα επιβίωσαν στο γαστρικό σύστημα. Σε έναν από τους αρουραίους που υποβλήθηκε σε εφαρμογή με σπόρια subsp. *kurstaki*, αυτά θα μπορούσαν να είχαν βλαστήσει στο λεπτό έντερο και να αναβλαστήσουν στο παχύ πριν από την απέκκρισή τους. Παρατηρήθηκε επίσης μετατόπιση στο ήπαρ και στο σπλήνα, υποδεικνύοντας ότι το Bt είναι σε θέση να διασχίσει το εντερικό σύστημα σε ορισμένες περιπτώσεις. Κανένα από τα ζώα δεν εμφάνισε δυσμενείς επιπτώσεις ή ουσιαστικές αλλαγές στην μικροχλωρίδα του εντέρου του.

Οι Habley et al. (1987) διεξήγαγαν μία μελέτη στην οποία πρόβατα υποβλήθηκαν σε επανειλημμένη έκθεση δια στόματος με χρήση δύο εμπορικών σκευασμάτων με Btk για 60 ημέρες. Υπήρξαν μικροσκοπικές ενδείξεις μέτριας λεμφοειδούς υπερπλασίας στο τυφλό έντερο σε δύο από τα έξι πρόβατα που υποβλήθηκαν σε αγωγή στο ένα από τα δύο σκευάσματα Btk. Οι συγγραφείς δεν θεώρησαν τα παραπάνω ευρήματα κλινικώς σημαντικά (WHO, 1999).

Το Bt δεν ήταν τοξικό ή παθογόνο σε κουνέλια μετά από έκθεσή τους σε διάφορα υποείδη του σε δόσεις μέχρι 2500 mg/kg (McClintock et al., 1995). Σε ορισμένες μόνο περιπτώσεις παρατηρήθηκε ήπιος ερεθισμός μετά από οφθαλμική χορήγηση.

Άνθρωπος

Η εφαρμογή των προϊόντων που περιέχουν Bt στον αγρό μπορεί να οδηγήσει σε σημαντική έκθεση στο αναπνευστικό σύστημα και στο δέρμα των εργαζομένων. Οι Noble et al. (1992) μελέτησαν την έκθεση σε σκευάσματα που περιείχαν Btk με εφαρμογή τους από το έδαφος και τον αέρα σε εργαζόμενους, κατά τη διάρκεια προγράμματος για τον έλεγχο του λεπιδόπτερου *Lymantria dispar* (Linnaeus) (Lepidoptera: Limantriidae) με μέση τιμή έκθεσης 3.0×10^3 έως 5.9×10^6 σπόρια Bt/m³ από δειγματοληψία αέρος. Τα άτομα που εργάζονταν τις περισσότερες βάρδιες κατά τη διάρκεια του ψεκασμού εκτέθηκαν σε 5.4×10^6 έως 7.2×10^7 σπόρια. Ο ψεκασμός φυλλώματος και ο ψεκασμός με ελαφρύ αέρα είχαν ως αποτέλεσμα χαμηλή έκθεση των χειριστών ψεκασμού σε σχέση με τους χειριστές των αεροψεκασμών. Σχεδόν όλοι οι εργαζόμενοι που εκτέθηκαν στις υψηλότερες συγκεντρώσεις και για αρκετές βάρδιες ήταν θετικοί σε καλλιέργεια για ανίχνευση του Bt και η πλειοψηφία τους παρέμεινε θετική για 14 έως 30 ημέρες. Ωστόσο, ορισμένοι από τους εργαζόμενους που βρέθηκαν θετικοί στην ανίχνευση του Bt μετατράπηκαν σε αρνητικοί κατά τη διάρκεια του έργου ή εντός 30 ημερών από την ολοκλήρωσή του. Κατά τη διάρκεια του προγράμματος ψεκασμού, μερικοί εργαζόμενοι παρουσίασαν σκασμένα χείλη, ξηρότητα δέρματος, ερεθισμό οφθαλμών, ρινική καταρροή και κόπωση χωρίς να προκύψουν σοβαρά προβλήματα υγείας. Τα συμπτώματα αυτά φάνηκε ότι ήταν παροδικά και εμφανίζονταν συχνά κατά τη διάρκεια των ψεκασμών και όσο αυξάνονταν οι συγκεντρώσεις (Otvos et al., 2007).

Σύμφωνα με τον WHO (1999) σε ορισμένες ασιατικές χώρες, το Bti είχε προστεθεί σε δοχεία πόσιμου νερού για τον έλεγχο κουνουπιών. Από τις υψηλές εκθέσεις Bti στο πόσιμο νερό δεν αναφέρθηκαν ανεπιθύμητες ενέργειες στους κατοίκους των περιοχών αυτών. Ομοίως, σε περιοχές της Αφρικής είχαν προστεθεί σε ποτάμια δόσεις Bti, εβδομαδιαία, για τον έλεγχο διπτέρων κυρίως της οικογένειας Simuliidae χωρίς να αναφερθούν ανεπιθύμητες ενέργειες στους ανθρώπους που έπιναν νερό από τα συγκεκριμένα ποτάμια, καθώς προϊόντα του Bt δεν περιέχουν μεταβολίτες που θεωρούνται επικίνδυνοι για τους ανθρώπους και το περιβάλλον (WHO, 2007).

1.4.2.6 Ανθεκτικότητα εντόμων - εχθρών των καλλιεργειών στο *B. thuringiensis*

Οι υψηλοί ρυθμοί αναπαραγωγής των εντόμων-εχθρών των καλλιεργειών και η αλόγιστη χρήση των σκευασμάτων που περιέχουν Bt, έχουν ως αποτέλεσμα την εμφάνιση ανθεκτικότητας από τους εχθρούς των καλλιεργειών.

Η ανθεκτικότητα στις τοξίνες Cry μπορεί να αναπτυχθεί με μεταλλάξεις στους εχθρούς των καλλιεργειών και επηρεάζει οποιοδήποτε από τα στάδια του τρόπου δράσης των τοξινών αυτών. Ανθεκτικοί πληθυσμοί εντόμων έχουν δείξει σε εργαστηριακό περιβάλλον ότι η ανθεκτικότητα μπορεί να αναπτυχθεί με διαφορετικούς μηχανισμούς όπως με την αλλοίωση της ενεργοποίησης των τοξινών Cry και με αλλοίωση των υποδοχέων των τοξινών με αποτέλεσμα τη μειωμένη πρόσδεση στα τοιχώματα του πεπτικού σωλήνα των εντόμων (Bravo et al., 2011).

Έχει αναφερθεί ότι παρουσιάζουν ανθεκτικότητα οι πληθυσμοί του λεπιδόπτερου *P. xylostella* στο Btk και στο Bta, σε περιοχές που έχουν υποστεί επανειλημμένες εφαρμογές Bt κυρίως σε απομονωμένες γεωγραφικά περιοχές του κόσμου όπως η Χαβάη, οι Φιλιππίνες, η Ινδονησία, η Μαλαισία, η Κεντρική Αμερική κ.α. (WHO, 1999).

Έχει αποδειχθεί επίσης η ανάπτυξη ανθεκτικότητας υπό εργαστηριακές συνθήκες σε διάφορα είδη εχθρών εκτός από το *P. xylostella*, όπως το *Cadra cautella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae), το *Heliothis virescens* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae) και το *Leptinotarsa decemlineata* Say (Coleoptera: Chrysomelidae) (Thacker, 2002).

1.4.3 Ο εντομοπαθογόνος μύκητας *Beauveria bassiana*

Περισσότερα από 700 είδη παθογόνων μυκήτων έχουν απομονωθεί ως βιοεντομοκτόνα, όμως μόνο 6 είδη (Πίν. 2) χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο ορισμένων εντόμων, όπως είναι της τάξης των κολεοπτέρων όπου βακτηριολογικές και ιολογικές ασθένειες είναι σπάνιες σε αυτή τη κατηγορία.

Πίνακας 2. Εμπορικά διαθέσιμοι εντομοπαθογόνοι μύκητες για την αντιμετώπιση εντομολογικών εχθρών (Thacker 2002).

Είδος	Εχθρός – στόχος
<i>Beauveria bassiana</i>	Διαφορετικές φυλές είναι διαθέσιμες προς καταπολέμηση βλαστορυκτικών εντόμων, ομοπτέρων, θυσανοπτέρων & ορισμένων κολεοπτέρων
<i>Beauveria brongniartii</i>	Μηλολόνη
<i>Metarhizium anisopliae</i>	Διαφορετικές φυλές είναι διαθέσιμες προς καταπολέμηση διαφόρων κολεοπτέρων & λεπιδοπτέρων. Ορισμένες φυλές στοχεύουν σε θρίπες & τερμίτες
<i>Metarhizium flavoviridae</i>	Μηλολόνη
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>	Αλευρώδεις
<i>Lecanillium lecanii</i>	Αλευρώδεις & αφίδες

Σύμφωνα με τον Τσαπικούνη (1999), η πλειονότητα των εντομοπαθογόνων μυκήτων ανήκει στους Entomophthorales (Τάξη: Hypocreales), με πιο γνωστό είδος εντομοπαθογόνου μύκητα το *Beauveria bassiana* (Balsamo). Από τα διάφορα είδη εντόμων, τα πιο ευπαθή σε μυκητολογικές ασθένειες ανήκουν στις τάξεις των λεπιδόπτερων (προνύμφες), ημίπτερων, κολεόπτερων, ορθόπτερων και υμενόπτερων (Hajek et al., 2007). Αντίθετα με τους ιούς και τα βακτήρια, το οποίο πρέπει να καταναλωθούν και να μολύνουν μέσου του εντέρου το έντομο, οι μύκητες σχεδόν πάντα μολύνουν το έντομο-στόχο με απευθείας διάτρηση του εξωσκελετού.

Οι μύκητες συχνά εξαρτώνται από τις συνθήκες περιβάλλοντος όσον αφορά τα στάδια μόλυνσης. Οι παράγοντες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην εκδήλωση της ασθένειας είναι η θερμοκρασία και η υγρασία. Η σχετική υγρασία περιβάλλοντος θα πρέπει να είναι ιδιαίτερα αυξημένη με τιμές περισσότερο από 85 – 90%, ενώ η θερμοκρασία για την ανάπτυξή τους είναι 20 - 30 °C ώστε να επιτευχθεί η αποτελεσματική τους δράση (Zimmermann, 2007).

Η μόλυνση του εντόμου γίνεται μέσω επαφής του με σπόρια του μύκητα τα οποία διαδίδονται με τον αέρα ή τη βροχή (Hall, 1981). Ο κύκλος ανάπτυξης των εντομοπαθογόνων μυκήτων περιλαμβάνει: προσκόλληση των κονιδίων στο δερμάτιο του ξενιστή, σχηματισμός του βλαστικού σωλήνα, διάτρηση του δερματίου, παραγωγή ενζύμων προς διευκόλυνση της διαδικασίας εισβολής, βλαστική ανάπτυξη μέσα στον ξενιστή, χρήση των θρεπτικών συστατικών

και εγκατάσταση, παραγωγή τοξινών και μολυσματικών παραγόντων για την καταστολή του συστήματος άμυνας και παραγωγή εξωτερικών κονιδιοφόρων μετά το θάνατο του εντόμου (Xavier and Khachatourians, 1996).

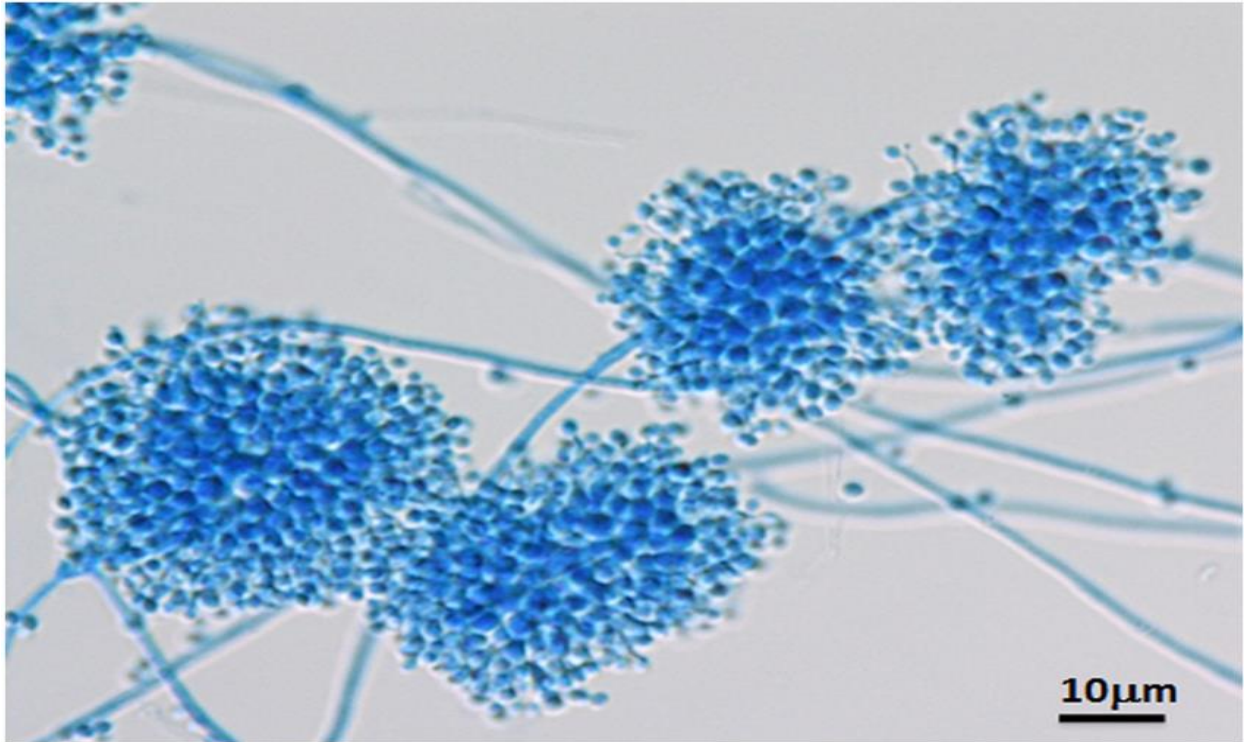
Ο βαθμός ευαισθησίας του ξενιστή εξαρτάται τόσο από χημικά όσο και από χαρακτηριστικά του εξωσκελετού-δερματίου του ξενιστή (Hajek and Leger, 1994). Το δερμάτιο έχει επίδραση στην συμπεριφορά βλάστησης, την παθογένεια ενός εντομοπαθογόνου μύκητα και καθορίζει επίσης την εξειδίκευσή του (Hall and Papieroc, 1982).

Η διείσδυση του εντομοπαθογόνου μύκητα μπορεί να γίνει από την κεφαλή, το θώρακα, την κοιλία, τα αναπνευστικά τρήματα, τα σιφώνια (προνύμφες κουνουπιών), την έδρα, τις τραχείες και τις μεμβράνες. Ο βλαστικός σωλήνας σε συνδυασμό με εξοκυτταρικά αποικοδομητικά ένζυμα του δερματίου όπως πρωτεάσες, λιπάσες και χιτινάσες διατρυπά το δερμάτιο σχεδόν απευθείας και σπάνια από πληγές ή αισθητήρια όργανα (Mohamed et al., 1978).

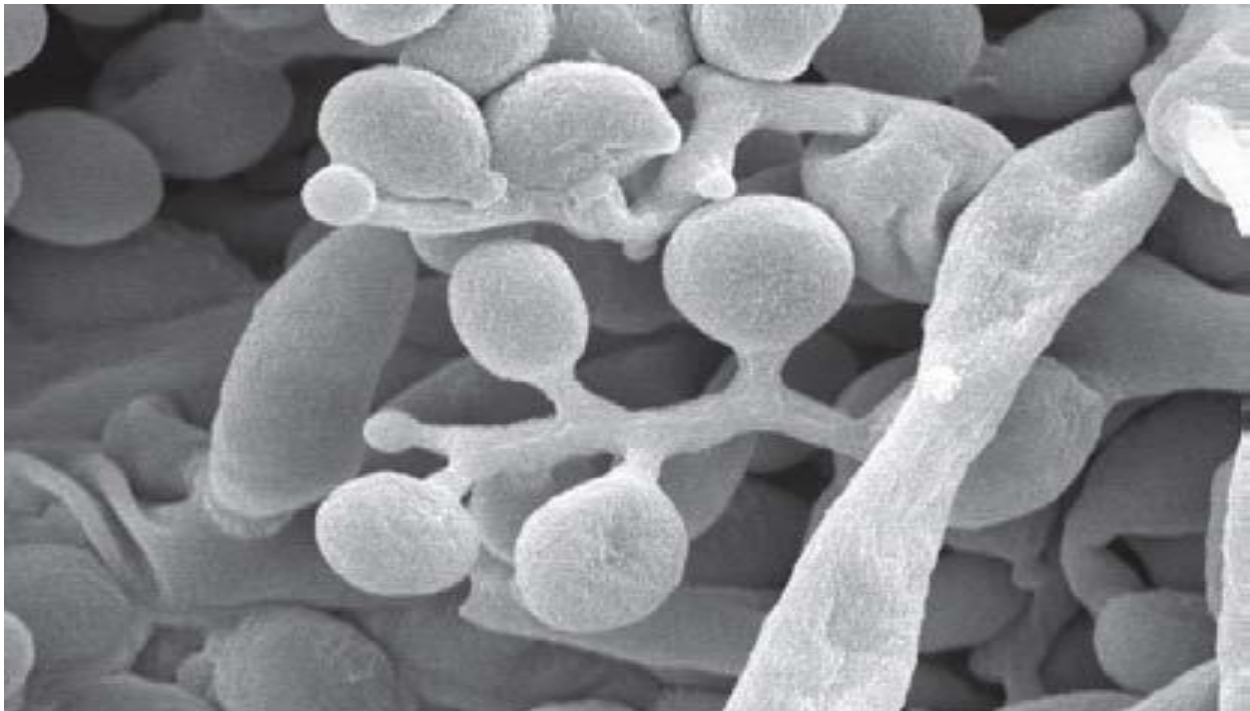
1.4.3.1. Βιολογία και τρόπος δράσης του *B. bassiana*

Ο μύκητας *Beauveria bassiana* ήταν ο πρώτος μικροοργανισμός που ταυτοποιήθηκε ως εντομοπαθογόνος. Προς το τέλος του 19ου αιώνα, ο Agostino Bassi έδειξε ότι ο μύκητας *B. bassiana* (Εικ. 1) ήταν το παθογόνο αίτιο που προκαλούσε τη σήψη των προνυμφών του μεταξοσκώληκα *Bombyx mori* Linnaeus (Lepidoptera: Bombycidae). Ο μύκητας αυτός θεωρείται εντομοπαθογόνος σε ευρύ φάσμα ημίπτερων, κολεόπτερων, δίπτερων, θυσανόπτερων κ.α., έχει επίσης μελετηθεί για τον έλεγχο του αλευρώδη του θερμοκηπίου, του δάκου της ελιάς, της πυραλίδας του αραβόσιτου, του θρίπα του καπνού, της μηλολόνηθης των ζαχαρότευτλων κ.α. (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

Ανήκει στους Δευτερομύκητες. Οι μύκητες του γένους *Beauveria* χαρακτηρίζονται μορφολογικά από ελικοειδή συσσωματώματα σφαιρικών έως και φιαλόμορφων κονιδιοφορέων. Το σχήμα των κονιδίων μπορεί να είναι σφαιρικό, ελλειψοειδές, νεφροειδές μέχρι και κυλινδρικό και το μέγεθος κυμαίνεται από 1.7μm έως 5.5μm (Εικ. 2) (Roditakis et al., 2000).

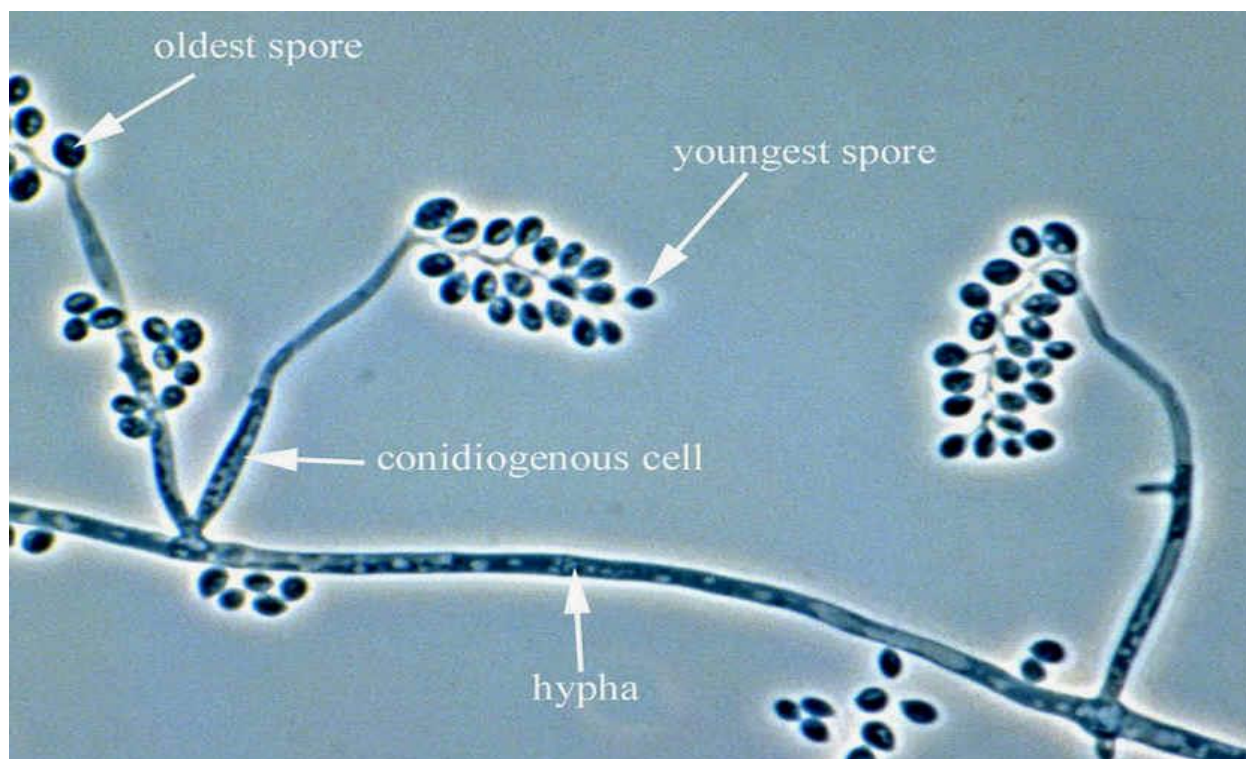


Εικόνα 1. Ο μύκητας *Beauveria bassiana* (Balsamo) (Mitani et al., 2014)
(Όλες οι εικόνες της μελέτης εκτός των 1, 2, 3, 4, 5, 6 και 7 αποτελούν πηγές του συγγραφέα).



Εικόνα 2. Σπόρια του μύκητα *B. bassiana* με τη βοήθεια ηλεκτρονικού μικροσκοπίου (Encyclopedia of Entomology 2008)

Ο τρόπος δράσης του *B. bassiana* σχετίζεται με την προσκόλληση των σπορίων που φέρει, τα οποία αποτελούν τη βάση όλων των εμπορικά διαθέσιμων σκευασμάτων, στον εξωσκελετό του εχθρού-στόχου. Μετά από τη βλάστηση των σπορίων και τη διείσδυση της μυκηλιακής υφής μέσω του εξωσκελετού, ακολουθεί ο πολλαπλασιασμός των υφών του μύκητα εντός της κοιλότητας του σώματος του εντόμου. Η διείσδυση στον εξωσκελετό των αρθροπόδων είναι δυνατή μέσω της μηχανικής πίεσης που ασκείται από το βλαστικό σωλήνα του σπορίου και της παραγωγής πρωτεασών και χιτινασών (Εικ. 3).

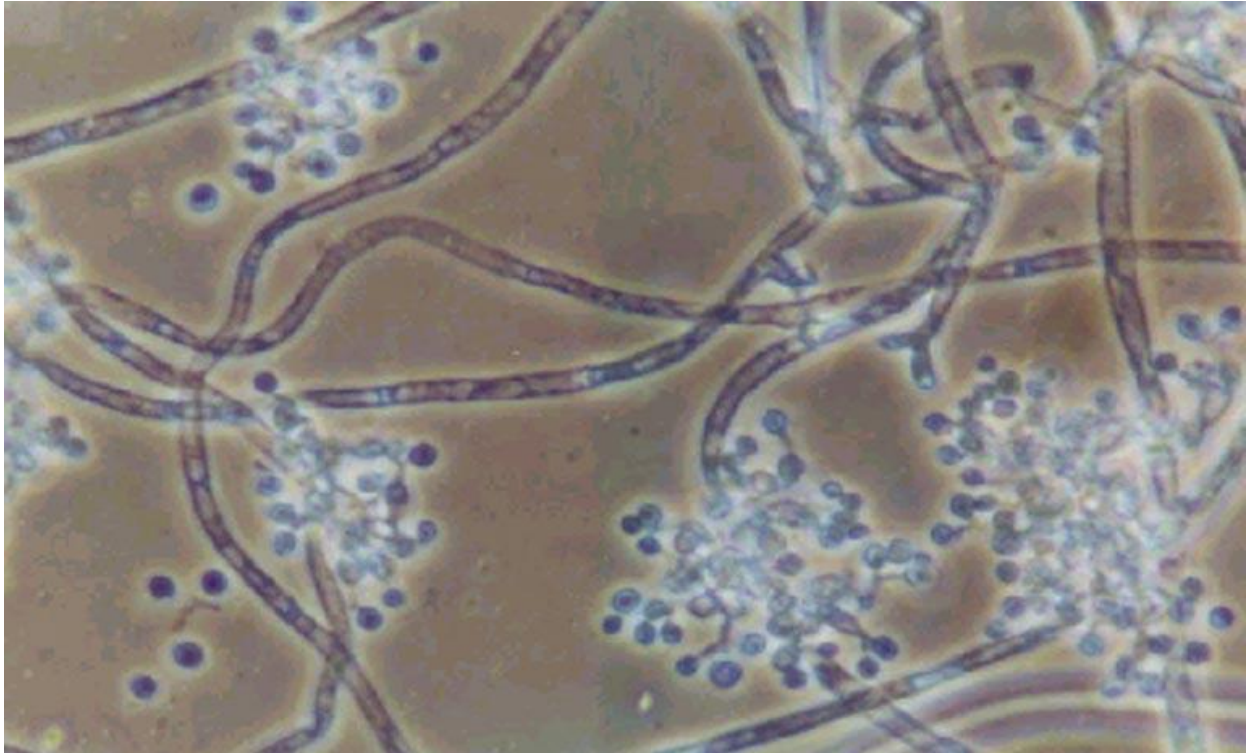


Εικόνα 3. Συσσωματώματα σπορίων *B. bassiana* (Copping, 2001)

Ο πολλαπλασιασμός των υφών εντός του σώματος του εντόμου και η σχετικά φυσική βλάβη της εσωτερικής δομής του, συνοδεύεται συχνά από τη παραγωγή τοξινών που βοηθούν στην πρόκληση του θανάτου των ειδών-στόχων. Ο μύκητας *B. bassiana* παράγει την τοξίνη Beauvericin που φαίνεται να είναι τοξική στα έντομα.

Η περαιτέρω ανάπτυξη των μυκηλιακών υφών (Εικ. 4) εντός του νεκρού ξενιστή καταλήγει στην παραγωγή των σπορίων του μύκητα και την παραγωγή επιπλέον μολυσματικών μονάδων, οδηγώντας σε δευτερογενείς προσβολές, σε χρονικό διάστημα 24 - 48 ωρών από το

θάνατο του εχθρού και κάτω από συνθήκες υψηλής υγρασίας (Thacker, 2002). Το έντομο μπορεί να επιζήσει μέχρι 3 έως 5 ημέρες αφού μολυνθεί.

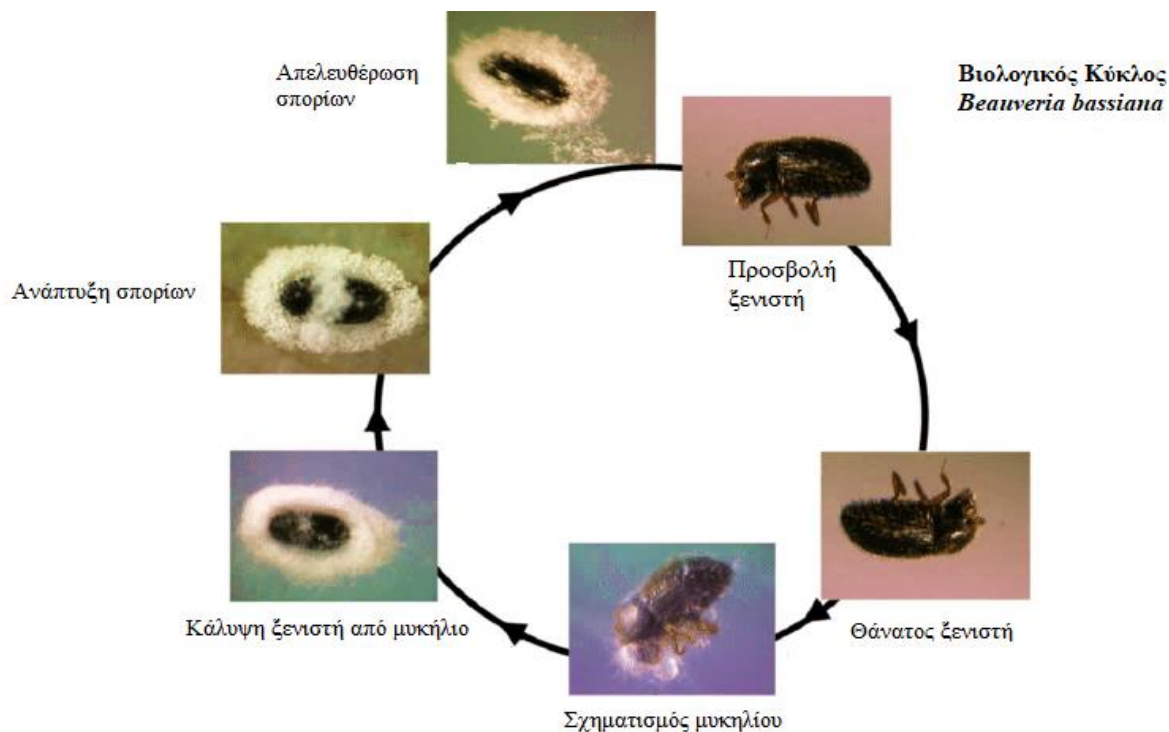


Εικόνα 4. Λευκές μυκηλιακές υφές *B. bassiana* (Rehner and Buckley, 2005)

Η προσβολή εντόμων από παθογόνους μικροοργανισμούς συνοδεύεται από αλλαγές στη συμπεριφορά τους. Οι αλλαγές αυτές περιλαμβάνουν:

- διατροφικές διαταραχές, όπως μείωση της πρόσληψης τροφής
- μειωμένη γονιμότητα και διαταραχές στην ωοτοκία
- νωχελικές κινήσεις και επιβράδυνση άλλων φυσιολογικών λειτουργιών

Στα πρώτα στάδια της προσβολής, προκαλείται παύση διατροφής, αδυναμία και αποπροσανατολισμός. Ο ξενιστής πολλές φορές αλλάζει χρώμα, και το δερμάτιο ίσως να αποκτήσει σκούρες κηλίδες στα σημεία διείσδυσης του μύκητα. Τελικά, το μολυσμένο έντομο πεθαίνει και γεμίζει εσωτερικά και εξωτερικά με βλαστώνουσες υφές του μύκητα (Εικ. 5).



Εικόνα 5. Βιολογικός κύκλος του *B. bassiana* (Copping, 2001).

1.4.3.2 Φυτοτοξικότητα *B. bassiana*

Είναι γνωστό ότι το *B. bassiana* αποτελεί ενδόφυτο σε ορισμένα φυτά και οι τοξικοί μεταβολίτες του μπορούν να εισέλθουν στο εσωτερικό των φυτών. Η τοξίνη Beauvericin είναι η πιο σημαντική ένωση η οποία αδρανοποιεί το ανοσοποιητικό σύστημα του εχθρού-στόχου. Το Beauvericin έχει επίσης απομονωθεί από άλλους μύκητες, όπως το *Paecilomyces fumosoroseus*, *Paecilomyces tenuipes* και από είδη του γένους *Fusarium*. Ο μεταβολίτης αυτός ανιχνεύθηκε ως φυσικό μόλυσμα σε φυτά αραβοσίτου στην Ιταλία, Αυστρία, Πολωνία και Η.Π.Α καθώς έχει ανιχνευθεί και σε όλα τα υβρίδια αραβοσίτου. Αυτό το γεγονός επιβεβαιώνει ότι το Beauvericin αποτελεί κοινό μεταβολίτη πολλών φυτοπαθογόνων ειδών, όπως είδη του γένους *Fusarium* και εμφανίζεται σε τρόφιμα και ζωοτροφές που έχουν μολυνθεί με τα συγκεκριμένα είδη (Zimmermann, 2007).

Το Beauvericin σύμφωνα με τους Moretti et al. (2002) δεν προκάλεσε συμπτώματα στις ρίζες των καλλιεργειών τομάτας, πεπονιού, σιταριού και κριθαριού, ωστόσο έδειξε υψηλή τοξικότητα προς τους πρωτοπλάστες των παραπάνω καλλιεργειών.

Μια άλλη μελέτη που διεξήχθη για τον προσδιορισμό των φυτοτοξικών επιδράσεων του *B. bassiana* σε θερμοκηπιακές καλλιέργειες αρωματικών (*Lavandula stoechas* L., *Origanum vulgare* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Hypericum perforatum* L., *Thymus vulgaris* L. Wolly και *Thymus vulgaris* L. Nutmeg), τα αποτελέσματα δεν έδειξαν καμία φυτοτοξικότητα στα παραπάνω αρωματικά φυτά. Στην ίδια μελέτη, σε πείραμα που πραγματοποιήθηκε ένα χρόνο μετά, τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια με αυτά της προηγούμενης μελέτης, αν και παρουσιάστηκε φυτοτοξικότητα, φάνηκε ότι η νέα βλάστηση των φυτών ξεπέρασε τον αρχικό τραυματισμό. Οι συγγραφείς αποδίδουν το γεγονός αυτό στο ότι το *B. bassiana* δεν έβλαψε όλα τα είδη των φυτών, διότι διαθέτουν κηρώδη ή παχιά επιδερμίδα (Cloyd and Cycholl, 2002).

1.4.3.3 Επιδράσεις του *B. bassiana* στους φυσικούς εχθρούς

Τα μικροβιακά σκευάσματα θα μπορούσαν να έχουν πιθανές αρνητικές επιπτώσεις σε οργανισμούς-μη στόχους αν και τα περισσότερα θεωρούνται εξειδικευμένα ως προς τον ξενιστή. Αντίθετα, στελέχη και είδη των εντομοπαθογόνων μυκήτων της τάξης Hygrocreales (όπου ανήκει το *B. bassiana*) μπορεί να έχουν ευρύ φάσμα ξενιστών σε σχέση με άλλα παθογόνα και θα μπορούσαν δυνητικά να θανατώσουν φυσικούς εχθρούς-μη στόχους (Gonzalez et al., 2016).

Στη μελέτη των Meyling και Pell (2006) τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά άτομα του αρπακτικού *Anthocoris nemorum* (Linnaeus) (Heteroptera: Anthocoridae) εμφάνισαν αποστροφή της επιφάνειας των φύλλων τσουκνίδας όπου υπήρχαν κονίδια του *B. bassiana* και ξόδεψαν πολύ λίγο χρόνο στις επιφάνειες αυτές, επίσης, τα θηλυκά άτομα του θηρευτή που δεν διέθεταν άλλη επιλογή από το να εισέλθουν στα μολυσμένα με *B. bassiana* φύλλα, ήταν εξαιρετικά απρόθυμα να περπατήσουν στην επιφάνειά τους. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το *A. nemorum* ήταν σε θέση να εντοπίσει και να αποφύγει τον πιθανώς θανατηφόρο μύκητα *B. bassiana*. Διαπίστωσαν επίσης ότι η επίδραση του εντομοπαθογόνου μύκητα στο *A. nemorum* ήταν άμεση κυρίως για τα θηλυκά άτομα του αρπακτικού για λόγους ωοτοκίας. Ωστόσο λίγες μελέτες έχουν γίνει σχετικά με την επίδραση των εντομοπαθογόνων μυκήτων στη δραστηριότητα των αρθροπόδων θηρευτών (Meyling and Pell, 2006). Σε εργαστηριακές δοκιμές, το αρπακτικό *O. insidiosus* και τα παρασιτοειδή *Aphidius colemani* Viereck, και *Dacnusa sibirica* Telenga (Hymenoptera: Braconidae) ήταν ιδιαίτερα ευαίσθητα (57-82% θνησιμότητα) στο *B. bassiana*, αλλά σε θερμοκηπιακές δοκιμές παρατηρήθηκαν μόνο χαμηλά επίπεδα μόλυνσης (Shipp et al.,

2003). Το παρασιτοειδές *Trybliographa rapae* Westwood (Hymenoptera: Figitidae) αποδείχθηκε ότι ήταν ευαίσθητο στο *B. bassiana* και στο μύκητα *Metarhizium brunneum* (Hypocreales: Clavicipitaceae), αλλά περαιτέρω έρευνες έδειξαν ότι ήταν επίσης σε θέση να αναγνωρίσει και να αποφύγει το *M. brunneum*, υποδηλώνοντας ότι οι δύο αυτοί βιολογικοί παράγοντες ελέγχου είναι συμβατοί μεταξύ (Gonzalez et al., 2016).

Οι πιθανές επιδράσεις ενδέχεται να διαφέρουν ανάλογα με το είδος του φυσικού εχθρού π.χ. σε θερμοκηπιακές μελέτες με χρήση εμπορικών σκευασμάτων με δύο στελέχη *B. bassiana* σε αρπακτικά της οικογένειας Miridae δεν υπήρχαν αρνητικές επιδράσεις στους πληθυσμούς των αρπακτικών. Αντίθετα, οι πυκνότητες του πληθυσμού του γένους *Orius* μειώθηκαν σημαντικά λόγω μόλυνσης από στέλεχος του *B. bassiana* (Gonzalez et al., 2016). Αν και άλλες μελέτες δεν έδειξαν επιδράσεις ή υπήρξαν μόνο ασθενείς στα είδη *Orius* (Hamdi et al., 2011).

Επιπλέον οι Thungrabeab και Tongma (2007) αναφέρουν ότι κονίδια (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 , 10^8 κονίδια/ml) του *B. bassiana* έχουν τη δυνατότητα να μολύνουν νύμφες του *H. convergens* τονίζοντας πως όσο μεγαλύτερος είναι ο ρυθμός της έκθεσης τόσο μεγαλύτερη είναι η θνησιμότητα. Αντίθετα η θνησιμότητα που προκλήθηκε από το *M. anisopliae* ήταν 10% για το *Dicyphus tamanini* Wagner (Hemiptera: Miridae) και 4% για το *C. carnea* ενώ η θνησιμότητα του μάρτυρα ήταν 9.3% για το *D. tamanini* και 5.7% για το *C. carnea*. Τα αποτελέσματα αυτά αποκαλύπτουν ότι διαφορετικά γένη και είδη μυκήτων έχουν διαφορετική παθογένεια και λοιμογόνο δράση.

Αρκετά παρασιτοειδή φαίνεται να είναι σε θέση να αναγνωρίσουν εάν ο υποψήφιος ξενιστής τους έχει μολυνθεί από έναν εντομοπαθογόνο μύκητα όπως το *Encarsia formosa* Gahan (Hymenoptera: Aphelinidae) ή το παρασιτοειδές αφίδων *Aphelinus asychis* Walker (Hymenoptera: Aphelinidae). Αυτό το γεγονός μπορεί να αυξήσει τον χρόνο αναζήτησης λείας και έτσι να μειωθεί η αποτελεσματικότητά τους. Επιπλέον, υπάρχουν είδη παρασιτοειδών που δεν μπορούν να ανιχνεύσουν μολυσμένους και ζωντανούς ξενιστές όπως το *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Braconidae), έχοντας αρνητικές επιπτώσεις στην αποτελεσματικότητά τους, διότι οι προνύμφες τους που αναπτύσσονται σε μολυσμένες αφίδες δεν θα εξελιχθούν σε ενήλικα άτομα (Gonzalez et al., 2016).

Αρνητικές επιδράσεις φαίνεται ότι προκαλούνται από εναιωρήματα του *B. bassiana*. Οι Broglio et al. (2014) αποκάλυψαν ότι εναιωρήματα *B. bassiana* προκάλεσαν σημαντική θνησιμότητα στο θηρευτή *Coccidophilus citricola* Brethes (Coleoptera: Coccinellidae) με

αποτέλεσμα να μη μπορούν να χρησιμοποιηθούν στον έλεγχο του *Diaspis echinocacti* (Bouche) (Hemiptera: Diaspididae) σε καλλιέργεια φραγκοσυκιάς (*Opuntia ficus-indica*) σε συγκεντρώσεις 1×10^7 και 1×10^8 ml⁻¹ κονίδια.

1.4.3.4 Επιδράσεις του *B. bassiana* σε άλλους οργανισμούς

Υδρόβιοι οργανισμοί

Το στέλεχος ATCC 74040 του *B. bassiana* ήταν τοξικό για το *Daphnia magna* σε συγκεντρώσεις 7.8×10^7 , 1.7×10^8 , 6.2×10^8 και 1.2×10^9 σπόρια/λίτρο. Ωστόσο, η σημασία αυτής της τοξικότητας δεν μπορούσε να προσδιοριστεί λόγω χρήσης μη έγκυρων στατιστικών. Αντίθετα δεν υπάρχουν ενδείξεις μολυσματικότητας μεταξύ ιχθύων *Pimephales promelas* που εκτέθηκαν σε συγκεντρώσεις 1×10^9 σπόρια/λίτρο. (Technical document, 2000). Το Beauvericin έχει βρεθεί ότι είναι τοξικό στις προνύμφες *Artemia salina* δημιουργώντας απόπτωση (Zimmermann, 2007).

Πτηνά

Τα πτηνά μπορεί να εκτίθενται σε εντομοπαθογόνους μύκητες άμεσα, καταναλώνοντας μολυσμένους σπόρους ή έμμεσα καταναλώνοντας μολυσμένα έντομα. Δεν εντοπίστηκαν διαφορές ως προς την ανάπτυξη, τη σωματική μάζα και την επιβίωση μεταξύ γερακιών *Falco sparverius* όταν εκτέθηκαν σε διατροφή με μολυσμένους σπόρους, σε συγκεντρώσεις 5×10^6 σπόρια/λίτρο σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Αρσενικοί και θηλυκοί φασιανοί *Phasianus colchinus* που μολύνθηκαν με κονίδια *B. bassiana* δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές ως προς την αύξηση βάρους σε σχέση με τους μάρτυρες (Zimmermann, 2007).

Μέλισσες

Δεν υπήρξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ μάρτυρα και μελισσών που εκτέθηκαν στο *B. bassiana* μέσω τροφής σε συγκεντρώσεις 1.65×10^6 σπόρια/λίτρο για 30 ημέρες, υπήρξε όμως μία σχετική τοξικότητα όταν εκτέθηκαν σε συγκεντρώσεις 1.7×10^8 σπόρια/λίτρο (Technical document, 2000). Το Υπ.Α.Α.Τ. (2013) αναφέρει ότι η δραστική ουσία *B. bassiana* strain ATCC 74040 είναι επικίνδυνη για τις μέλισσες.

1.4.3.5 Επιδράσεις του *B. bassiana* σε θηλαστικά και στην υγεία του ανθρώπου

Θηλαστικά

Το *B. bassiana* δεν προκάλεσε μόλυνση όταν χορηγήθηκε με ένεση σε υψηλές συγκεντρώσεις κονιδίων 2×10^8 και χαμηλές συγκεντρώσεις 2×10^5 σε ποντίκια ούτε επιβίωσε για περισσότερο από 3 ημέρες σε υγιή ποντίκια. Ο Zimmerman (2007) αναφέρει ότι σε δοκιμή που πραγματοποιήθηκε για την πρόκληση οφθαλμικού ερεθισμού, παρατηρήθηκε μέτρια αντίδραση όπως ερυθρότητα ή οίδημα χωρίς ενδείξεις μόλυνσης.

Ο εντομοπαθογόνος μύκητας έδειξε τοξικότητα ή μολυσματικότητα σε κουνέλια, επιδερμικά, σε συγκεντρώσεις 4.2×10^7 κονίδια/ml. Επίσης δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα, τοξικότητα ή άλλες παθογόνες επιδράσεις σε αρουραίους, που εκτέθηκαν δια στόματος σε 2.5×10^9 κονίδια *B. bassiana*. Επιπλέον αναφέρθηκε μία φλεγμονώδης απόκριση στους πνεύμονες, γεγονός φυσιολογικής κάθαρσης των μικροβίων από το ανοσοποιητικό σύστημα των αρουραίων (Technical document, 2000).

Άνθρωπος

Οι αλλεργίες προκαλούνται από ορισμένα αντιγόνα πρωτεϊνών και πολυσακχαριτών, συνεπώς όλα τα είδη των μικροοργανισμών είναι δυνητικά αλλεργικά στον άνθρωπο. Σύμφωνα με τον Nolard (2004) ευρύ φάσμα αλλεργικών αντιδράσεων προκαλούνται από διάφορους μύκητες.

Το *B. bassiana* θα μπορούσε να εμφανίσει αλλεργικές αντιδράσεις σε εργαζόμενους μονάδων παραγωγής που εκτίθενται συστηματικά σε υψηλές συγκεντρώσεις σπορίων όταν απελευθερώνονται στον αέρα μετά από εφαρμογή ψεκασμών για έλεγχο επιβλαβών οργανισμών. Αυτό επειδή τα κονίδια του μύκητα είναι πάρα πολύ μικρά (2-3 μm) και μπορούν εύκολα να εισέλθουν στην αναπνευστική οδό κατά την αναπνοή. Ο Zimmerman (2007) αναφέρει ότι σε πολλές περιπτώσεις το *B. bassiana* μπορεί να προκαλέσει αλλεργικές αντιδράσεις, αναφυλακτικό επεισόδιο, πονοκέφαλο, αδυναμία και πυρετό. Ωστόσο, μετά από ιστολογική εξέταση που πραγματοποιήθηκε στους εργαζόμενους, δεν βρέθηκε καμία παθολογική αλλοίωση των ιστών.

1.4.3.6 Ανθεκτικότητα ειδών αρθροπόδων οργανισμών στο *B. bassiana*

Τα έντομα έχουν αναπτύξει μια τεράστια ποικιλία μηχανισμών άμυνας κατά των μικροβίων που υπάρχουν στον περιβάλλοντα χώρο. Αυτοί οι μηχανισμοί εκτείνονται από την δερμίδα, η οποία μπορεί να ενισχυθεί με αντιμικροβιακές ενώσεις και εκκρίσεις και από τη συμπεριφορά των εντόμων όπως η περιποίηση, που έχει ως αποτέλεσμα τον καθαρισμό της εξωτερικής επιφάνειας του εντόμου μέχρι τις αμυντικές ενώσεις που παράγουν συμβιωτικά βακτήρια, τη σύνθεση λιπιδίων της κουτίκουλας, τη σκληρότητα της δερμίδας, τη συμπεριφορά αντίχενωσης και αποφυγής κ.α.

Σύμφωνα με την Labea (2005) το αρπακτικό *Dicyphus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) κατά τη διάρκεια εργαστηριακών και θερμοκηπιακών δοκιμών, ήρθε σε άμεση επαφή με τα κονίδια του *B. bassiana* μέσω ψεκασμών ή μέσω μολυσμένης λείας (*T. vaporariorum*), παρατήρησε ότι το *D. hesperus* αποφεύγει τη σίτιση μολυσμένης λείας, παρουσία υφών ή ωοσπορίων που παράγονται από το μύκητα.

Οι Ortiz-Urquiza και Keyhani (2013) αναφέρουν ότι τα επιδερμικά λιπίδια και οι αλδεϋδες του *Nezera viridula* L. (Heteroptera: Pentatomidae) είχαν επίδραση στο *M. anisopliae*, ομοίως για το *H. zea* προς το *B. bassiana*. Το *Phratora vitellinae* (L.) (Coleoptera: Chrysomelidae) απελευθερώνει πτητικές ουσίες που εμφανίζουν τοξικότητα κατά του *B. bassiana*. Το *C. septempunctata* έδειξε ανθεκτικότητα στο *B. bassiana* και στο *M. anisopliae* (Thungrabeab and Tongma, 2007).

1.4.3.7 Συνεργισμός μεταξύ φυσικών εχθρών και του *B. bassiana*

Θετικές, αποτελούν οι πιθανές συνεργιστικές επιδράσεις που μπορούν να εφαρμοσθούν όταν οι φυσικοί εχθροί ενισχύουν τη διασπορά των εντομοπαθογόνων μυκήτων.

Οι Down et al. (2009) έδειξαν ενισχυμένο έλεγχο των αφίδων όταν τα κονίδια του εντομοπαθογόνου μύκητα *Lecanicillium longisporum* Zimmermann διαδόθηκαν από το *O. insidiosus*, στα αποτελέσματα φάνηκε ότι τα ποσοστά μόλυνσης ήταν χαμηλά. Παρόμοια αποτελέσματα βρήκαν οι Jaronski et al. (1998), όπου παρατήρησαν 10% μόλυνση του *B. bassiana* σε είδη *Orius* spp. σε καλλιέργεια βαμβακιού. Οι Thungrabeab και Tongma (2007) υποστηρίζουν ότι το *B. bassiana* δεν ήταν παθογόνο στους φυσικούς εχθρούς *Dicyphus tamanini* Wagner

(Hemiptera: Miridae), *Coccinella septempunctata* L. (Coleoptera: Coccinellidae) και στο *C. carnea*, όταν χρησιμοποιήσαν κονιδιακά εναιωρήματα σε συγκεντρώσεις 1×10^8 κονίδια/ml.

1.4.4 Ορυκτέλαια

Τα έλαια που χρησιμοποιήθηκαν ως εντομοκτόνα αναφέρθηκαν για πρώτη φορά από τον Goeze το 1787. Το 1865 χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά ένα πετρελαϊκό απόσταγμα, η κηροζίνη, κατά της ψώρας των εσπεριδοειδών. Οι Riley και Hubbard εξέτασαν την κηροζίνη που εφαρμόστηκε σε εσπεριδοειδή με υδατικά γαλακτώματα και επειδή διαπίστωσαν ότι η επεξεργασία αυτή δεν ήταν απολύτως ικανοποιητική, αξιολόγησαν ακατέργαστα αποστάγματα (Riehl and LaDue, 1952). Αργότερα αναπτύχθηκαν μίγματα ελαίων τα οποία μετά από αραιώση χρησιμοποιούταν για τις απαιτούμενες εφαρμογές. Τα παραπάνω προϊόντα φάνηκε πως ήταν δύσκολα στη χρήση τους διότι προκαλούσαν σοβαρά προβλήματα στα φυτά και άφηναν υπολείμματα, για το λόγο αυτό τα αντικατέστησαν με άλλα ασφαλέστερα έλαια ψεκασμού, τα οποία ξεκίνησαν να διαδίδονται στην αγορά από το 1905 κατά των παρασίτων και με τη μορφή γαλακτωμάτων ή γαλακτοματοποιήσιμων ελαίων (Agnello, 2000).

Από το 1923 ξεκίνησε η ανάπτυξη σύγχρονων πετρελαϊκών ελαίων ψεκασμού, με την επιτυχία του Ackerman, όταν χρησιμοποίησε ένα λιπαντικό έλαιο 2% ενάντια της ψώρας του San Jose, *Quadraspidiotus perniciosus* Comstock (Homoptera: Diaspididae).

Τα ορυκτέλαια αποτελούν διάφορα μίγματα υδρογονανθράκων που προκύπτουν κατά τη διαδικασία απόσταξης κλασμάτων του πετρελαίου και χωρίζονται σε δύο κατηγορίες:

- τα βαριά έλαια γαιανθράκων ή πισσέλαια και
- τα ελαφρά έλαια πετρελαίου.

Τα ελαφρά έλαια πετρελαίου – πολτοί ορυκτελαίου κορεσμένων και ακόρεστων υδρογονανθράκων προκύπτουν από την απόσταξη πετρελαίου στους 300 – 400 °C και περιέχουν τρεις τύπους υδρογονανθράκων: τους αλειφατικούς της παραφινικής σειράς, τους ναφθενικούς και ακόρεστους αρωματικούς της σειράς του βενζολίου. Ανάλογα με την περιεκτικότητά τους σε παραφινικούς και ναφθενικούς υδρογονάνθρακες διακρίνονται σε παραφινικά ορυκτέλαια (παραφινικοί υδρογονάνθρακες 75%, ναφθενικοί 15%, αρωματικοί 10%) και σε ναφθενικά

ορυκτέλαια (παραφινικοί υδρογονάνθρακες 50%, ναφθενικοί 40%, αρωματικοί 10%) (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

Τα ορυκτέλαια έχουν βρεθεί ότι είναι αποτελεσματικά έναντι πολυάριθμων εντόμων - παρασίτων όπως ακάρεα, αφίδες, αλευρώδεις και κοκκοειδή. Επίσης έχουν δείξει ιδιαίτερο ενδιαφέρον για τον έλεγχο δευτερογενών παρασίτων σε καλλιέργειες μηλιάς λόγω καλύτερης σύνθεσής τους και λόγω μείωσης της χρήσης εντομοκτόνων ευρέως φάσματος (Fernandez et al., 2005). Μελέτες έχουν προτείνει τη χρήση των ορυκτελαίων για μία ευρύτερη ποικιλία επιβλαβών οργανισμών όπως το *Ostrinia nubilalis* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae) στον αραβόσιτο, είδη *Helicoverpa* spp. κ.α. (Buteler and Stadler, 2011). Οι πολλοί ορυκτελαίου είναι γενικά ακίνδυνοι για το περιβάλλον και τα ζώα και για αυτό επιτρέπονται και στη βιολογική γεωργία (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

1.4.4.1 Τρόπος δράσης ορυκτελαίων

Ο τρόπος δράσης των ορυκτελαίων στα ακμαία, προνύμφες και ωά των εντόμων-εχθρών των καλλιεργειών πραγματοποιείται μέσω επαφής. Ωστόσο, ο τρόπος δράσης τους αποτέλεσε αντικείμενο πολλών ερευνών και οδήγησε στη διατύπωση πολλών απόψεων. Σύμφωνα με τους Buteler και Stadler (2011) οι κυριότερες απόψεις είναι οι εξής:

- α) Θεωρία περί διεισδύσεως των ορυκτελαίων εντός των τραχειών, μέσω των στιγμάτων με αποτέλεσμα τη δημιουργία ασφυκτικής κατάστασης
- β) Θεωρία περί διεισδύσεως των ορυκτελαίων εντός του σώματος των εντόμων μέσω αναπνευστικού συστήματος, με τη μορφή ατμών (υποκαπνιστικά), οξειδώνοντας και διασπώντας τη δομή των ιστών
- γ) Θεωρία επίδρασης των ορυκτελαίων στο νευρικό σύστημα των εντόμων, λόγω διάχυσης και συσσώρευσης εντός των ιστών που περιέχουν λιπίδια
- δ) Θεωρία απωθητικής δράσης και αποθάρρυνσης εναπόθεσης ωών και σίτισης των εντόμων

Σε ότι αφορά την ωοκτόνο δράση των ορυκτελαίων, οι κυριότερες απόψεις που επικράτησαν είναι οι παρακάτω:

- α) Μηχανική παρεμπόδιση της εκκόλαψης των ωών, λόγω κάλυψής τους με λεπτό ελαιώδες στρώμα

- β) Παρεμπόδιση της ομαλής εμβρυϊκής εξέλιξης λόγω άμβλυνσης του χορίου του ωού
- γ) Πήξη των πρωτεϊνών του πρωτοπλάσματος των ωών
- δ) Επίδραση στην επιδερμίδα των νέο-εκκολαπτόμενων προνυμφών
- ε) Δημιουργία ασφυκτικής κατάστασης, λόγω παρεμπόδισης της εισόδου του O₂ αλλά και της αποβολής CO₂

Η δράση των ορυκτελαίων στα κοκκοειδή αφορά τα ωά και τα κινητά στάδια και λιγότερο τα ενήλικα άτομα. Τα μικρά άτομα σε μέγεθος πεθαίνουν γρηγορότερα ενώ τα μεγαλύτερα άτομα είναι πιο ανεκτικά και η τοξικότητα είναι συχνά απρόβλεπτη εάν χρησιμοποιηθούν μεγαλύτερες δόσεις από το επιτρεπτό (Najar-Rodriguez et al., 2007). Σε αντίθεση με άλλα συνθετικά εντομοκτόνα, τα έλαια αντιμετωπίζουν πολλαπλούς στόχους και δεν δεσμεύονται σε συγκεκριμένους υποδοχείς, αφού οι τοξικές επιδράσεις τους εξαρτώνται από την αλληλεπίδραση μεταξύ των φυσικών και χημικών ιδιοτήτων τους και των ανατομικών και φυσιολογικών χαρακτηριστικών των εντόμων-στόχων (Buteler and Stadler, 2011).

Οι μετέπειτα έρευνες έδειξαν ότι ο τρόπος δράσης του θερινού πολτού συνίσταται στο ότι περιβάλλει το σώμα ή τα ωά των εντόμων και ακάρεων με ένα συνεχές στρώμα ελαίου, παρεμποδίζοντας την αναπνοή και προκαλώντας το θάνατο λόγω ασφυξίας (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

1.4.4.2 Φυτοτοξικότητα ορυκτελαίων

Η παρουσία αρωματικών και άλλων ακόρεστων υδρογονανθράκων καθιστούν τα ορυκτέλαια φυτοτοξικά και για να καταστούν κατάλληλα για γεωργική χρήση πρέπει προηγουμένως να υποστούν κατάλληλη χημική κατεργασία. Για το σκοπό αυτό τα ορυκτέλαια υφίστανται ειδική κατεργασία με θειϊκό οξύ (θειώνωση), με την οποία οι αρωματικοί υδρογονάνθρακες θειώνονται και καθιζάνουν ως υπόλειμμα. Ο βαθμός θειώνωσης, είναι γνωστός διεθνώς με τον όρο UR (Unulfonated Residue - μη θειούμενο υπόλειμμα) και δηλώνει το βαθμό καθαρότητας του ορυκτελαίου σε ακόρεστους υδρογονάνθρακες. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή του UR τόσο μικρότερο είναι το κλάσμα των ακόρεστων υδρογονανθράκων και τόσο λιγότερο φυτοτοξικό το ορυκτέλαιο.

Πολτοί με UR 90-98% εμφανίζουν μικρή φυτοτοξικότητα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για ψεκασμούς κατά τη βλαστική περίοδο των καλλιεργούμενων φυτών και είναι γνωστοί ως θερινοί πολτοί. Οι θερινοί πολτοί συνιστώνται για την αντιμετώπιση των κοκκοειδών και κυρίως των μαλακών εντόμων και των ατελών σταδίων σε αναλογία 1.5-2%. Πολτοί με UR 65-85% εμφανίζουν υψηλή φυτοτοξικότητα και χρησιμοποιούνται μόνο κατά την εποχή του ληθάργου των φυλλοβόλων δένδρων και χαρακτηρίζονται ως χειμερινοί πολτοί (Ζιώγας και Μαρκόγλου, 2010).

Η προκαλούμενη από τα ορυκτέλαια τοξική επίδραση στα φυτά μπορεί να διαχωριστεί σε τρεις κατηγορίες:

- Οξεία τοξικότητα: μπορεί να προκληθεί από πτητικά χαμηλού ιξώδους ορυκτέλαια και εκδηλώνεται με νέκρωση των ιστών λόγω λύσης των κυτταρικών μεμβρανών και εμφάνιση εγκαυμάτων.
- Ημιχρόνια τοξικότητα: προκαλείται από βαρύτερα ορυκτέλαια με υψηλό σημείο ζέσεως και εκδηλώνεται με φυλλόπτωση σε χρονικό διάστημα 4-5 ημερών από την ημέρα ψεκασμού χωρίς να εκδηλωθούν άλλα συμπτώματα όπως κιτρίνισμα των φύλλων. Ενδεχομένως να εκδηλωθεί σαν καρπόπτωση ή μη κανονικός χρωματισμός των καρπών, ιδιαίτερα σε περιπτώσεις όψιμων ψεκασμών.
- Χρόνια τοξικότητα: προκαλείται από βαρέα ορυκτέλαια που αφήνουν ελαιώδες στρώμα στη φυλλική επιφάνεια, με δυσμενείς επιδράσεις στην αναπνοή, διαπνοή και τη φωτοσύνθεση. Εκδηλώνεται με κιτρίνισμα και μάρανση των φύλλων, επιβράδυνση της αύξησης των φυτικών οργάνων, φυλλόπτωση, καρπόπτωση, νέκρωση βλαστών ή και ολόκληρων κλάδων, μείωση της ανθοφορίας και της καρπόδεσης και σε εξαιρετικές περιπτώσεις νέκρωση ολόκληρων δένδρων.

Από τα χειμερινά ορυκτέλαια κατά τη διάρκεια του χειμώνα ενδέχεται να προκληθούν σε οξείες περιπτώσεις, ζημιές στο φλοιό και σε πιο ήπιες περιπτώσεις καθυστέρηση της έκπτυξης ή της νέκρωσης των οφθαλμών (Beattie, 2005).

Οι παράγοντες από τους οποίους εξαρτάται η φυτοτοξικότητα των ορυκτελαίων εκτός από τη θειόνωση είναι οι εξής:

Πτητικότητα, ιξώδες: Τα πολύ πτητικά, ελαφρά ορυκτέλαια μπορούν να προκαλέσουν οξεία τοξικότητα, ενώ τα βαρέα είναι υπεύθυνα για τις περιπτώσεις της χρόνιας φυτοτοξικότητας.

Οξύτητα: Μπορεί να προέρχεται από ελλιπή εξουδετέρωση του θειϊκού οξέος μετά τη θειώνωση, είτε από οξείδωση των ακόρεστων υδρογονανθράκων του ορυκτελαίου.

Ανάμιξη με άλλα γεωργικά φάρμακα: Αποφυγή εφαρμογής ορυκτελαίων πριν ή μετά την εφαρμογή θείου ή θειούχων φυτοφαρμάκων (~ 25-30 ημέρες).

Κλιματολογικές συνθήκες: Στις ξηρές και θερμές περιοχές η ευαισθησία των φυτών στα ορυκτέλαια είναι μεγαλύτερη (αποφυγή ψεκασμών σε θερμοκρασίες άνω των 35°C, με ζεστούς και ξηρούς ανέμους) σε σχέση με τις ψυχρές και υγρές περιοχές. Για τις θερινές εφαρμογές είναι θετικό να εκτελείται μία άρδευση πριν από τον ψεκασμό. Οι χειμερινοί ψεκασμοί δεν πρέπει να εφαρμόζονται σε θερμοκρασίες υπό το μηδέν.

Ποσότητα ψεκαστικού υγρού ανά μονάδα επιφάνειας: Εκτός από τη σωστή συγκέντρωση του ψεκαστικού υγρού, η ποσότητα ανά μονάδα επιφάνειας θα πρέπει να είναι επίσης σε κάθε περίπτωση σύμφωνη με τις οδηγίες του σκευάσματος. Ένα ποσοστό του ελαίου που αποτίθεται στην επιφάνεια των φύλλων εισέρχεται βαθμιαία στους ιστούς τους και όταν είναι συνεχής η παρουσία του δημιουργεί κηλίδες ή ζώνες με πράσινο χρώμα, βαθύτερο από το κανονικό.

Η έκταση των σκοτεινόχρωμων ζωνών στα φύλλα αποτελεί έναν πρακτικό δείκτη για το αν έχει αποθεθεί μικρή, κανονική ή υπερβολική ποσότητα ορυκτελαίου. Σε περίπτωση που στην περίμετρο των φύλλων ή κατά μήκος του κεντρικού νεύρου υπάρχει σκοτεινή ζώνη που καταλαμβάνει μόνο ένα μικρό ποσοστό του φύλλου, τότε η ποσότητα του ορυκτελαίου που αποτέθηκε είναι ικανοποιητική. Στην περίπτωση που η σκοτεινόχρωμη επιφάνεια είναι γενικά μεγαλύτερη από το ένα τρίτο του ελάσματος του φύλλου τότε η ποσότητα του ορυκτελαίου είναι υπερβολική (Εικ. 6). Επίσης η οπτική εντύπωση της «λαδωμένης» επιφάνειας του φύλλου μετά από ψεκασμό, μπορεί να χρησιμεύσει ως δείκτης της σωστής απόθεσης της ποσότητας του ψεκαστικού υγρού στη φυλλική επιφάνεια.



Εικόνα 6. Εισχώρηση ορυκτελαίου εντός της κεντρικής νεύρωσης του φύλλου (Beattie, 2005)

Το είδος των φυτών και η κατάστασή τους: Η ευαισθησία των καλλιεργειών με πυρηνόκαρπα είναι μεγαλύτερη σε σχέση με καλλιέργειες οπωροφόρων και αμέσως μετά ακολουθούν οι καλλιέργειες εσπεριδοειδών. Καχεκτικά φυτά και κυρίως φυτά μετά από συνθήκες ξηρασίας ή παγετού είναι πιο ευαίσθητα στα ορυκτέλαια (Beattie, 2005).

Τα σύγχρονα ορυκτέλαια είναι εξαιρετικά εξευγενισμένα γραμμικά μόρια με εύρος ανθράκων από 21 έως 24, για να συνδυάζουν καλή εντομοκτόνο αποτελεσματικότητα με χαμηλή φυτοτοξικότητα. Οι Miller και Uetz (1998) δεν διαπίστωσαν φυτοτοξικές επιδράσεις μετά από επαναλαμβανόμενους ψεκασμούς με ορυκτέλαιο σε άνθη και φύλλα 52 είδη φυτών, σε δόσεις των 20 ml/l υπό θερμοκηπιακές συνθήκες. Οι Cloyd και Cycholl (2002) δεν ανέφεραν φυτοτοξικότητα όταν χρησιμοποίησαν σκεύασμα με παραφινικό έλαιο σε κανένα από τα αρωματικά φυτά *L. stoechas*, *O. vulgare*, *R. officinalis*, *H. perforatum* και *T. vulgaris*.

1.4.4.3 Επιδράσεις των ορυκτελαίων στους φυσικούς εχθρούς

Για αρκετά χρόνια, η ανάπτυξη φυτοπροστατευτικών δεν απευθύνεται μόνο στο σχεδιασμό ενώσεων αποτελεσματικών κατά των παρασίτων αλλά και για την ασφάλεια των ευεργετικών αρθροπόδων.

Οι Angeli et al., (2005) δοκίμασαν την επίδραση ενός σκευάσματος ορυκτελαίου στην επιβίωση και τη γονιμότητα του θηρευτή *O. laevigatus*, όταν εκτέθηκαν μέσω επαφής και μέσω κατάποσης στα υπολείμματά τους σε συνθήκες αγρού και υπό εργαστηριακές συνθήκες. Οι συγγραφείς τόνισαν πως δεν υπήρξε καμία επίδραση του ορυκτελαίου στο θηρευτή και ταξινομούν το ορυκτέλαιο αυτό ως αβλαβές σύμφωνα με τις κατηγορίες του IOBC. Οι Biondi et al., (2012) απέδειξαν επίσης ότι το παραφινικό έλαιο ήταν αβλαβές για στο *O. laevigatus*, όταν αυτό εκτέθηκε σε φυτά τομάτας στην υψηλότερη συνιστώμενη δόση, σε εργαστηριακές συνθήκες.

Οι Brunner et al., (2001) αξιολόγησαν τις άμεσες και τις υπολειμματικές επιδράσεις ενός σκευάσματος ορυκτελαίου στο εκτοπαράσιτο *Colpoclypeus florus* Walker (Hymenoptera: Eulophidae) και στο παρασιτοειδές *Trichogramma platneri* Nagarkatti (Hymenoptera: Trichogrammatidae) σε οπωρώνες μηλιάς κατά των *Cydia pomonella* (Linnaeus), *Pandemis pyrusana* Kearfott και *Choristoneura rosaceana* Harris (Lepidoptera: Tortricidae). Στα αποτελέσματα της μελέτης τους δεν εμφανίστηκε τοξικότητα από άμεσες και υπολειμματικές εφαρμογές ούτε υποθανατηφόρες επιδράσεις, συστήνοντας ότι το σκεύασμα αυτό θα μπορούσε να ενσωματωθεί επιτυχώς σε προγράμματα βιολογικού ελέγχου. Τα υπολείμματα του ελαίου δεν είχαν αρνητικό αντίκτυπο στο *T. platneri* και στο *C. florus* στις συνιστώμενες δόσεις. Επειδή όμως η βραχεία υπολειμματική δραστηριότητα αυτού του βιολογικού σκευάσματος έναντι των επιβλαβών οργανισμών θα μπορούσε να έχει ως αποτέλεσμα την επανειλημμένη εφαρμογή του σε σύντομα χρονικά διαστήματα, θα μπορούσε να επηρεάσει αρνητικά την επιβίωση μικρών σε μέγεθος παρασιτοειδών.

Ο Smith (2000) επιβεβαίωσε στη μελέτη του πως δεν φάνηκαν αρνητικές επιπτώσεις στη βιωσιμότητα τεσσάρων ειδών της οικ. Coccinellidae, *H. convergens*, *Coleomegilla macullata* (DeGeer) (Coleoptera: Coccinellidae), *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) και *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Coleoptera: Coccinellidae) όταν πραγματοποιήθηκε εφαρμογή παραφινικού ελαίου σε δόση 20 ml/l.

Νύμφες τρίτου και τετάρτου σταδίου *C. montrouzieri* καθώς θηλυκά και αρσενικά άτομα εκτέθηκαν μέσω επαφής με ορυκτέλαιο όπου οι δόσεις ήταν 10.000 και 15.000 ppm χωρίς σημαντικές επιδράσεις με αποτέλεσμα οι συγγραφείς να το κατατάξουν στην κατηγορία 1 του

IOBC ως αβλαβές. Στην ίδια μελέτη, αρσενικά άτομα που εκτέθηκαν σε δόσεις 15.000, 25.000 και 29.000 ppm προκάλεσαν θνησιμότητα μόνο στο 6,67% των ατόμων. Ενώ θηλυκά άτομα *C. montrouzieri* που εκτέθηκαν σε δόσεις 15.000, 18.000, 21.000, 25.000 και 29.000 ppm προκάλεσαν αυξημένη θνησιμότητα σε σχέση με τα αρσενικά άτομα. Με βάση τα αποτελέσματα αυτά, το ορυκτέλαιο φάνηκε να είναι ακίνδυνο για το αρπακτικό *C. montrouzieri* (Saedi et al., 2018).

Στη μελέτη των Urbaneja et al. (2008) βρέθηκε ότι το αντίκτυπο των ορυκτελαίων στους φυσικούς εχθρούς των εσπεριδοειδών *C. montrouzieri*, *Neoseiulus californicus* McGregor (Acari: Phytoseiidae) και *Aphidius colemani* Viereck (Hymenoptera: Braconidae) ήταν αρκετά περιορισμένο, όπως παρατηρήθηκε από τους συγγραφείς για το *A. colemani* ήταν αβλαβές και για το *N. californicus* και το *C. montrouzieri* ήταν ελαφρά επιβλαβές.

1.4.4.4 Επιδράσεις ορυκτελαίων σε άλλους οργανισμούς – μη στόχους

Υδρόβιοι οργανισμοί

Τα εξαιρετικά εξευγενισμένα ορυκτέλαια (ραφινάρισμα), χαρακτηρίζονται γενικά ως ελάχιστα τοξικά για τους υδρόβιους οργανισμούς υπό οξεία έκθεση. Τα έλαια αυτά είναι μη τοξικά για τους ιχθύες (*Pimephales promelas*, *Leponis macrochirus*, *Oncorhynchus gaindneri*) καθώς δεν έχει παρατηρηθεί θνησιμότητα σε εργαστηριακές μελέτες. Δεν παρατηρήθηκαν θανατηφόρες επιδράσεις σε ασπόνδυλους υδρόβιους οργανισμούς όπως σε πληθυσμούς του *Daphnia magna* που εκτέθηκαν σε ορυκτέλαια, με τιμές $LC_{50} > 14$ mg/l. Παρατηρήθηκαν όμως άλλες επιδράσεις όπως πλωτοί και ακινητοποιημένοι οργανισμοί. Σε επαρκώς υψηλές συγκεντρώσεις, τα έλαια εμποδίζουν τη διάχυση του οξυγόνου και προκαλούν ασφυξία στην υδρόβια ζωή (Technical report 2015, US EPA 2007).

Πτηνά

Σύμφωνα με το US EPA, (2007) τα αποτελέσματα ερευνών στα πτηνά δείχνουν ότι τα εξευγενισμένα ορυκτέλαια δεν είναι τοξικά, καθώς δεν παρατηρήθηκε θνησιμότητα σε πάπιες και ορτύκια όταν εκτέθηκαν σε έκθεση δια στόματος και μέσω επαφής στην υψηλότερη δόση ($LC_{50} > 2.250$ mg/kg).

Μέλισσες

Μελέτες τοξικότητας τριών σκευασμάτων μέσω επαφής στις μέλισσες, δεν έδειξαν επιδράσεις σε τιμές $LC_{50} > 25 - 1.830$ $\mu\text{g}/\mu\text{μέλισσα}$ (Technical report 2015; US EPA 2007).

1.4.4.5 Επιδράσεις ορυκτελαίων στη μικροβιακή αποδόμηση και σε οργανισμούς - μη στόχους του εδάφους

Μικροβιακή αποδόμηση

Η μικροβιακή αποδόμηση θεωρείται η κύρια οδός κατανομής των υδρογονανθράκων σε μίγματα ορυκτελαίων που απελευθερώνονται στο έδαφος. Ο ρυθμός υποβάθμισής τους στο χερσαίο και στο υδάτινο περιβάλλον υπαγορεύεται από τη μεταβολική ικανότητα των οργανισμών. Οι ρυθμοί βιο-αποικοδόμησης των παραφινών είναι σημαντικά υψηλότεροι από εκείνους των ναφθενικών και των αρωματικών υδρογονανθράκων. Τα ορυκτέλαια που περιέχουν σημαντικές ποσότητες αρωματικών και ναφθενικών συστατικών έχουν ως αποτέλεσμα να αποικοδομούνται πιο αργά σε σύγκριση με τα ορυκτέλαια παραφινικής σύνθεσης. Τα παραφινικά – εξευγενισμένα ορυκτέλαια που έχουν εκχυλιστεί με διαλύτη για την απομάκρυνση των αρωματικών και των πολικών ενώσεων γενικά αποικοδομούνται κατά 75% εντός 21 ημερών. Τα εξευγενισμένα ορυκτέλαια θεωρούνται μέτρια ανθεκτικά στο έδαφος και στο νερό με ενεργούς μικροβιακούς πληθυσμούς και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις είναι ελάχιστες. Σε περιπτώσεις που οι ποσότητες αυτών των ελαίων είναι μεγαλύτερες, απαιτείται βιο-αποκατάσταση, κυρίως σε περιοχές με λιγότερο ενεργό μικροβιακό πληθυσμό (Aluyor and Ori-Jesu, 2009).

Γαιοσκώληκες και νηματώδεις

Όταν απελευθερώνονται στο αγρο-οικοσύστημα ορυκτέλαια, μπορούν να έχουν ποικίλες επιδράσεις σε οργανισμούς – μη στόχους του εδάφους. Τα ορυκτέλαια που χρησιμοποιούνται για ψεκάσμο είναι αποτελεσματικά εντομοκτόνα για μαλακόσωμα έντομα, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων με ή χωρίς εξωσκελετό. Όπως έχει αναφερθεί σε άλλη ενότητα, τα έλαια αυτά πνίγουν τα έντομα και άλλους συναφείς οργανισμούς, αποφράσσοντας τους πόρους που μεταφέρουν οξυγόνο στα κύτταρα σε όλη την έκταση του σώματός τους. Αυτή η εντομοκτόνος δράση υποδηλώνει ότι μεγάλες απελευθερώσεις ορυκτελαίων στα εδάφη θα ήταν προβληματικές για τους οργανισμούς όπως οι γαιοσκώληκες και οι νηματώδεις. Μία εργαστηριακή έρευνα έδειξε ότι η

επεξεργασία ιζημάτων μιας λιμνοθάλασσας με ορυκτέλαιο είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση των πληθυσμών των νηματωδών που θα μπορούσε να οδηγήσει μέχρι και στην απώλεια αυτού του είδους. Υπάρχουν λίγες πληροφορίες σχετικά με τις επιπτώσεις μόλυνσης των ορυκτελαίων σε είδη που απειλούνται με εξαφάνιση μετά τη χρήση τους (Beyrem, 2010).

1.4.4.6 Επιδράσεις ορυκτελαίων σε θηλαστικά και στον άνθρωπο

Θηλαστικά

Η δοκιμή σε πειραματόζωα έχει αποδείξει ότι τα ορυκτέλαια είναι πρακτικά ελαφρώς μη τοξικά για τα θηλαστικά υπό οξεία έκθεση. Τα ορυκτέλαια είναι ήπια ερεθιστικά, ταξινομημένα στη κατηγορία IV (χαμηλή τοξικότητα) για τον ερεθισμό του δέρματος ($LD_{50} > 5000$ mg/kg σε αρουραίους) και στην κατηγορία III για τον ερεθισμό των οφθαλμών (US EPA 2007).

Τα εξευγενισμένα έλαια δεν παρήγαγαν αντιδράσεις ευαισθησίας σε ινδικά χοιρίδια που εκτέθηκαν στα έλαια αυτά. Σύμφωνα με εργαστηριακές μελέτες σε αρουραίους και κουνέλια, τα ορυκτέλαια είναι πρακτικά μη τοξικά (κατηγορία IV) μέσω στοματικής έκθεσης με τιμές $LD_{50} > 28.000$ mg/kg σε αρουραίους. Σε μία μελέτη χρόνιας έκθεσης, παρατηρήθηκε ότι δημιουργείται συσσώρευση παραφινικών και ναφθενικών ελαίων στο ήπαρ μετά από διατροφική έκθεση 90 ημερών σε αρουραίους Fischer 344 (EFSA, 2012). Η συσσώρευση των ελαίων αυτών οδήγησε σε ιστοπαθολογικές μεταβολές, όπως όγκους από φλεγμονώδη ή περιστασιακά νεκρωτικά κύτταρα. Αυτές οι μεταβολές παρατηρήθηκαν σε ορισμένες περιπτώσεις, κυρίως υπό την επίδραση ενώσεων με υψηλότερο μοριακό βάρος χωρίς περαιτέρω παθολογικά προβλήματα (EFSA, 2012).

Άνθρωπος

Οι αναφορές που σχετίζονται με ανεπιθύμητες ενέργειες ορυκτελαίων στον άνθρωπο είναι σπάνιες. Ο Von Wright (2011) αναφέρει μία περίπτωση ασθενούς με ογκώδη εναπόθεση ορυκτελαίου σε ιστούς του λεπτού εντέρου, στο ήπαρ, στο σπλήνα και στους πνεύμονες μετά από παρατεταμένη κατάποση υγρής παραφίνης. Ηπατική βλάβη αναφέρθηκε επίσης στην είσοδο του ήπατος ενός ασθενούς που έπασχε από πεπτικό έλκος μετά από κατανάλωση μικρής ποσότητας παραφίνης ως καθαρτικό για περιορισμένο χρονικό διάστημα.

Αρκετές αναφορές απόθεσης ορυκτελαίων υπάρχουν σε ιστούς στο σπλήνα και στο συκώτι, οι οποίες παρατηρήθηκαν μετά από βιοψίες είτε από καταγραφή μεταθανάτιων

ευρημάτων από ανθρώπους που απεβίωσαν από φυσικά αίτια. Στις περισσότερες από αυτές τις περιπτώσεις δεν υπήρξε σαφής ένδειξη της πηγής των ορυκτελαίων ή τη φύση της έκθεσης. Τα ευρήματα αυτά δεν συσχετίστηκαν με συμπτώματα και θεωρήθηκαν κλινικά ασήμαντα.

Η δερματική διείσδυση των ορυκτελαίων ερευνήθηκε συνολικά σε 13 μελέτες *in vitro* και *in vivo* σε ανθρώπους, καταλήγοντας στο συμπέρασμα ότι τα ορυκτέλαια που χρησιμοποιούνται σε καλλυντικά προϊόντα δεν διεισδύουν στο δέρμα αλλά παραμένουν στην εξωτερική στοιβάδα του δέρματος. Οι Petry et al. (2017) αναφέρουν πως δεδομένης της έλλειψης της δερματικής πρόσληψης, τα ορυκτέλαια είναι απίθανο να αποτελέσουν κίνδυνο για την υγεία του ανθρώπου ακόμη και μετά από μακροχρόνια έκθεση.

1.4.4.7 Ανθεκτικότητα των εντόμων – εχθρών των καλλιεργειών στα ορυκτέλαια

Ο Damavandian (2016) και οι Helmy et al. (2012) πιστοποιούν πως δεν υπάρχει καταγεγραμμένη ανάπτυξη ανθεκτικότητας των επιβλαβών οργανισμών των καλλιεργειών στα ορυκτέλαια. Οι Najjar-Rodriquez et al. (2008) υποστηρίζουν και εκείνοι πως δεν έχει τεκμηριωθεί ποτέ ανθεκτικότητα των εντόμων – εχθρών σε παραφινέλαιο – ορυκτέλαιο για περισσότερο από έναν αιώνα χρήσης.

1.5 Το αρπακτικό *Macrolophus pygmaeus*

1.5.1 Συστηματική ταξινόμηση

Τάξη: Hemiptera

Υπόταξη: Heteroptera

Υπεροικογένεια: Miridoidea

Οικογένεια: Miridae

Υποοικογένεια: Bryocorinae

Φυλή: Dicyphini

Γένος: *Macrolophus*

Είδος: *Macrolophus pygmaeus* (Rambur)

Αποτελεί ιθαγενές είδος στη λεκάνη της Μεσογείου (Kerzhner and Josifov, 1999). Το *M. pygmaeus* ανήκει στους ζωοφυτοφάγους θηρευτές και χρησιμοποιείται σε προγράμματα βιολογικής και ολοκληρωμένης αντιμετώπισης. Οι μελέτες δείχνουν ότι το αρπακτικό αυτό είναι μόνιμα πολυφάγο « permanent omnivore » με ποικίλες διατροφικές συνήθειες. Η προτίμηση του αρπακτικού ως προς τη διατροφή και την κάλυψη των διατροφικών αναγκών του είναι κατά κύρια βάση λεία ζωικής προέλευσης (Castane et al., 2011), αλλά προτιμά και λεία φυτικής προέλευσης όπως φυτικοί χυμοί και γύρη για την ενίσχυση της ανάπτυξής τους (Perdikis and Lykouressis 2000).

1.5.2 Μορφολογία και νυμφική ανάπτυξη

Πρόκειται για μικρά έντομα σε μέγεθος με μήκος σώματος 4-5 mm περίπου. Ξεχωρίζει από άλλα είδη διότι φέρει μαύρη λεπτή ταινία πίσω από τους οφθαλμούς, η οποία έχει πλάτος ίσο με το 1/5 του ύψους του οφθαλμού και το πρώτο άρθρο της κεραίας έχει ομοιόμορφο μαύρο χρώμα ενώ τα υπόλοιπα άρθρα έχουν κιτρινωπό χρωματισμό. Το χρώμα του σώματός τους είναι πρασινοκίτρινο έως έντονο πράσινο. Οι κεραίες έχουν ανοικτό κίτρινο χρώμα. Το πρώτο άρθρο έχει ελαφρώς μεγαλύτερη διάμετρο από τα υπόλοιπα. Οι οφθαλμοί έχουν ερυθρό σκούρο χρωματισμό. Το ρύγχος φέρεται κάτω από το σώμα και έχει χρώμα κίτρινο ανοιχτό αλλά με την κορυφή του τελευταίου άρθρου καστανή. Οι κνήμες έχουν ανοικτό κίτρινο χρώμα. Ο χρωματισμός των ταρσών είναι έντονα κίτρινο-καστανός. Επί του νώτου φέρουν μαύρη κηλίδα στο οπίσθιο άκρο του clonus των ημιελύτρων. Επίσης στο μεμβρανώδες τμήμα των ημιελύτρων σχηματίζονται δύο κύτταρα με το ένα να είναι αρκετά μεγαλύτερο (Περδίκης, 2000).

Στην ανάπτυξη των αρπακτικών διακρίνονται τα εξής στάδια:

- ❖ Ωό: είναι υπόλευκο, επίμηκες και στρογγυλό στο ένα άκρο ενώ στο άλλο είναι επίπεδο με μήκος 800 μm (Εικ. 7) .Τα θηλυκά άτομα εναποθέτουν τα ωά τους σε βλαστούς μικρής διαμέτρου (εντός των ιστών και στο κορυφαίο τμήμα τους) αλλά και στους μίσχους των φύλλων και λιγότερο των ανθέων. Για την εκκόλαψη των ωών προτιμούν σημεία τα οποία είναι καλά προστατευμένα για περισσότερη ασφάλεια γεγονός που τα καθιστά δυσδιάκριτα και εντοπίζονται μόνο με τη βοήθεια στερεοσκοπίου. Το στάδιο αυτό

αποτελεί το διαχειμάζον στάδιο. Η διάρκεια επώασης των ωών είναι 11 ημέρες από τη στιγμή της εναπόθεσής τους (Περδίκης, 2000).

- ❖ Νύμφη 1^{ου} σταδίου: είναι λεπτή, με επίμηκες σώμα και σχεδόν άχρωμη μετά την εκκόλαψη της αλλά σύντομα γίνεται κιτρινωπή. Το κεφάλι είναι σχετικά ευρύ και φέρει κόκκινους οφθαλμούς, η κοιλία είναι μακριά με σαφή διάκριση των τμημάτων της.
- ❖ Νύμφη 2^{ου} σταδίου: έχει επίμηκες σώμα με ανοιχτό κίτρινο χρώμα και οι οφθαλμοί έχουν σκούρο ερυθρό χρωματισμό. Διαφέρει από το πρώτο νυμφικό στάδιο ως προς το μέγεθος καθώς είναι λίγο μεγαλύτερη.
- ❖ Νύμφη 3^{ου} σταδίου: έχει σώμα επίμηκες. Η κεφαλή είναι κιτρινωπή, ο θώρακας και η κοιλία έχουν πράσινο ανοιχτό χρώμα. Οι οφθαλμοί παραμένουν σκούρο κόκκινο χρώμα ενώ τα πόδια και οι κεραίες έχουν έντονο κίτρινο χρώμα. Οι πτεροθήκες αρχίζουν να γίνονται ορατές, σαν μικρές στρογγυλές προεξοχές στο μέσο και μεταθωρακικό τμήμα.
- ❖ Νύμφη 4^{ου} σταδίου: έχει σχήμα απιόμορφο. Το χρώμα της κεφαλής είναι κιτρινωπό, οι οφθαλμοί σκούρο κόκκινο, ο θώρακας και η κοιλία έχουν πράσινο ή σκούρο πράσινο χρωματισμό. Οι πτεροθήκες φθάνουν μέχρι το δεύτερο κοιλιακό τμήμα (Εικ. 8).
- ❖ Νύμφη 5^{ου} σταδίου: έχει επίσης σχήμα απιόμορφο. Η κεφαλή είναι πρασινωπή ενώ ο θώρακας και η κοιλία έχουν πράσινο ή σκούρο πράσινο χρώμα. Οι οφθαλμοί είναι σκούρο κόκκινο και καλά ανεπτυγμένοι σε σχέση με τα υπόλοιπα στάδια. Οι πτεροθήκες είναι πολύ καλά ανεπτυγμένες, ξεπερνώντας το 3^ο κοιλιακό τμήμα και φθάνοντας έως το 4^ο και το 5^ο κοιλιακό τμήμα (Εικ. 9).
- ❖ Ακμαία: Το τελικό χρώμα των ενήλικων είναι ανοιχτό έως σκούρο πράσινο, εκτός από το πρώτο τμήμα της κεραίας που γίνεται μαύρο. Η ανάπτυξη των πτερύγων έχει ολοκληρωθεί και είναι ικανά πτήσης. Τα δύο φύλα είναι ευδιάκριτα μεταξύ τους καθώς το θηλυκό ακμαίο είναι λίγο μεγαλύτερο σε μέγεθος και διαθέτει μεγαλύτερη κοιλία με ευδιάκριτο ωοθέτη (Εικ. 10, 11) (Perdikis and Lykouressis, 2001-2002).



Εικόνα 7. Ωό του *M. pygmaeus* (Koppert)



Εικόνα 8. Νύμφη 4^{ου} σταδίου



Εικόνα 9. Νύμφη 5^{ου} σταδίου



Εικόνα 10. Ενήλικο άτομο *M. pygmaeus*



Εικόνα 11. Αριστερά: Αρσενικό ακμαίο *M. pygmaeus*. Δεξιά: Θηλυκό ακμαίο *M. pygmaeus*

Το χρονικό διάστημα ανάπτυξης από το στάδιο του ωού μέχρι το στάδιο του ενήλικου ποικίλει και εξαρτάται από τις συνθήκες περιβάλλοντος (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτοπερίοδο), το είδος του φυτού ξενιστή και από το είδος της λείας που καταναλώνει (Perdikis and Lykouressis, 2000; Castane, 2004).

Η μέγιστη αναπαραγωγική ικανότητα σχετικά με την θερμοκρασία εμφανίζεται στους 20 °C. Στους 15 και 20 °C εμφανίζει σημαντικά μεγαλύτερη διάρκεια ανάπτυξης σε σχέση με τους 25, 27,5 και 30 °C, με βέλτιστη θερμοκρασία τους 30 °C (Perdikis and Lykouressis, 2000, Martinez-Garcia et al., 2017).

Στις ίδιες θερμοκρασίες παρατηρήθηκε και το χαμηλότερο ποσοστό θνησιμότητας ενώ πολύ υψηλά ποσοστά θνησιμότητας καταγράφηκαν στους 35 °C (Perdikis and Lykouressis, 2000, 2002; Martinez-Garcia et al., 2017).

Από μελέτες νυμφικής ανάπτυξης του *M. pygmaeus*, έχει αποδειχθεί ότι οι νύμφες τρέφονται και αναπτύσσονται ικανοποιητικά σε λεία στην οποία τρέφεται και το ενήλικο άτομο. Αυτό το γεγονός καθιστά και τα ανώριμα στάδια του *M. pygmaeus* θηρευτές (Perdikis et al., 1999).

Το μικρότερο χρονικό διάστημα που χρειάστηκαν οι νύμφες για την ανάπτυξή τους ήταν όταν η λεία αποτελούταν από τον αλευρώδη *T. vaporariorum* σε φυτά μελιτζάνας. Ακολουθεί η ανάπτυξη των νυμφών όταν η λεία αποτελείται από αφίδες *M. persicae*, *M. euphorbiae*, *Aphis gossypii* (Perdikis and Lykouressis, 2000). Όταν η λεία αποτελείται από το άκαρι *T. urticae*, η διάρκεια της νυμφικής ανάπτυξης επηρεάζεται σημαντικά από το φυτό ξενιστή (Perdikis and Lykouressis, 2000).

Υψηλά ποσοστά ανάπτυξης παρατηρούνται επίσης σε διάφορα είδη κηπευτικών χωρίς λεία όπως μελιτζάνα, πιπεριά, αγγούρι, τομάτα, πεπόνι και φασόλια καθώς το αρπακτικό είναι μόνιμα πολυφάγο και οι νύμφες τρέφονται και εκείνες με λεία φυτικής προέλευσης όπως και το ενήλικο (Perdikis and Lykouressis, 1999, 2000). Το διάστημα που χρειάζονται οι νύμφες για την ολοκλήρωση της ανάπτυξής τους όταν τρέφονται με γύρη είναι μεγαλύτερο από ότι όταν τρέφονται με το συνδυασμό φυτικού χυμού-γύρης-λείας (Perdikis and Lykouressis, 2000).

1.5.3 Αρπακτική και διατροφική συμπεριφορά

Η μελέτη της αρπακτικής ικανότητας ενός θηρευτή είναι ιδιαίτερης σπουδαιότητας στην αξιολόγηση του όσον αφορά την αποτελεσματικότητα του ως βιολογικού παράγοντα αντιμετώπισης εντόμων-εχθρών. Επίσης, η μελέτη των παραγόντων που την επηρεάζουν προσφέρει απαραίτητες και πολύτιμες πληροφορίες έτσι ώστε η χρησιμοποίηση του αρπακτικού να είναι όσο το δυνατό πιο αποτελεσματική.

Το *M. rygmaeus* αναζητά θηράματα φέροντας το ρύγχος του ανάμεσα στους πρόσθιους πόδες του και σε σχεδόν κάθετη θέση ως προς τη φυτική επιφάνεια, ενώ ταυτόχρονα το κινεί επάνω - κάτω προσπαθώντας να αγγίξει τη λεία του. Οι κεραίες, επίσης, κινούνται και διατηρούνται στραμμένες προς τα εμπρός (Perdikis, 2000). Ο θηρευτής εισάγει το στιλέτο του εντός του ωού, της προνύμφης ή νύμφης για να μυζήσει το εσωτερικό τους και μέσα σε λίγα λεπτά το θηρευμένο έντομο είναι «συρρικνωμένο» (Perdikis et al., 2008).

Την υψηλότερη αρπακτική ικανότητα εμφανίζουν τα ενήλικα θηλυκά άτομα και οι νύμφες του 5^{ου} σταδίου, ακολουθούμενα από αυτές του 4^{ου} σταδίου. Τα αρσενικά ενήλικα άτομα και οι νύμφες 3^{ου} σταδίου έχουν μικρότερο ρυθμό αρπακτικότητας από τις νύμφες του 4^{ου} σταδίου ενώ τα άτομα 1^{ου} και 2^{ου} νυμφικού σταδίου έχουν το μικρότερο ρυθμό θήρευσης σε σχέση με τα υπόλοιπα στάδια (Perdikis and Lykouressis, 2001-2002).

Είναι ένα από τα λίγα ενδημικά αρπακτικά για το οποίο έχει αποδειχθεί πως είναι αποτελεσματικό εναντίον του υπονομευτή της τομάτας, *T. absoluta* (Desneux et al., 2011). Έχει αποδειχθεί επίσης ότι μειώνει αποτελεσματικά και άλλους πληθυσμούς εντομολογικών εχθρών όπως οι αφίδες *M. persicae* (DeBacker et al., 2015), αλευρώδεις (Alomar et al., 2006), *F. occidentalis* (Blaeser et al., 2004), ακάρεα, ωά και προνύμφες λεπιδοπτέρων (Arno et al., 2009).

Σε φυτά πιπεριάς με λεία την αφίδα *M. persicae*, βρέθηκε ότι το αρπακτικό μπορεί να μειώσει τον πληθυσμό του επιβλαβούς εντόμου σε ποσοστό 100% όταν η πυκνότητα του πληθυσμού του θηρευτή ήταν υψηλή ενώ σε χαμηλότερες πυκνότητες το αρπακτικό δε είναι τόσο αποτελεσματικό όταν η πυκνότητα του εντόμου – εχθρού είναι μεγάλη (De Backer et al., 2015). Επιπλέον όταν το αρπακτικό τρέφεται με *M. persicae* βρέθηκε ότι η λειτουργική του απόκριση ανήκει στη κατηγορία Holling τύπου II, αυτό σημαίνει ότι έχει ένα σταθερό ρυθμό αρπακτικότητας σε κάθε πυκνότητα λείας.

Τέλος, όπως έχουμε αναφέρει παραπάνω το *M. pygmaeus* έχει την ικανότητα να τρέφεται από φυτικούς χυμούς χωρίς να προκαλεί βλάβες στα φυτά ξενιστές σε σχέση με άλλους πολυφάγους θηρευτές όπως το *N. tenuis* (Castane et al., 2011).

1.5.4 Φυτά-ξενιστές

Τα σημαντικότερα φυτά ξενιστές για το *M. pygmaeus* έχει βρεθεί ότι είναι η τομάτα (*Solanum lycopersicum* - Solanaceae), η μελιτζάνα (*Solanum melongena* - Solanaceae), *Capsicum annum* - Solanaceae), ο καπνός (*Nicotiana tabacum* – Solanaceae) καθώς και πολλά ζιζάνια όπως η ακονυζιά (*Dittrichia viscosa* - Asteraceae), ο στύφνος (*Solanum nigrum* - Solanaceae), κλπ. Η σημασία των ζιζανίων στη βιολογική αντιμετώπιση είναι μεγάλη αφού λειτουργούν ως πηγές των αρπακτικών. Ιδιαίτερα εκείνα τα ζιζάνια που εντοπίζονται στην περιφέρεια των υπαίθριων καλλιεργειών ή κοντά σε θερμοκήπια συμβάλουν σε μεγαλύτερο βαθμό στο περιορισμό της ζημιάς που μπορεί να προκληθεί από εχθρούς στις καλλιέργειες μέσω των αρπακτικών που φιλοξενούν (δεξαμενές αρπακτικών).

1.5.5 Εφαρμογή του *M. pygmaeus* σε προγράμματα IPM

Ο θηρευτής εφαρμόζεται σε προγράμματα βιολογικής αντιμετώπισης με πολλαπλές εξαπολύσεις (augmentative biological control) (van Lanteren, 2012). Πολλές φορές παρουσιάζει αργό ρυθμό εγκατάστασης στα αγροοικοσυστήματα (Castane et al., 2006) για το λόγο αυτό είναι απαραίτητη η συντήρηση και η αύξηση του πληθυσμού του στα αγροοικοσυστήματα πριν από την εμφάνιση των εντόμων – εχθρών. Για να είναι αποτελεσματική η εξαπόλυση του αρπακτικού πρέπει να βρίσκεται στο αγροοικοσύστημα πριν την εγκατάσταση της καλλιέργειας ώστε να έχει πραγματοποιηθεί αύξηση του πληθυσμού του (De Backer et al., 2014).

Από τα παραπάνω, φαίνεται ότι ο θηρευτής είναι σε θέση να εκμεταλλευτεί και άλλες πηγές τροφής όπως ο φυτικός χυμός και η γύρη αντικαθιστώντας με αυτό τον τρόπο τη λεία. Μελέτες δείχνουν ότι η παρουσία γύρης ή συμπληρωματικής λείας όπως ωά λεπιδοπτέρων μπορούν να ξεπεράσουν την αργή εγκατάστασή τους και να αυξήσουν τον πληθυσμό τους χωρίς την παρουσία λείας (De Backer et al., 2015).

Πείραμα ημιπεδίου που διεξήχθη σε θερμοκήπια τομάτας, απέδειξε ότι η μαζική εξαπόλυση του *M. pygmaeus* μείωσε στα φύλλα και στους καρπούς την προσβολή από τον υπονομευτή της τομάτας, *T. absoluta* κατά 76% και 56% αντίστοιχα (Molla et al., 2009). Στα θερμοκήπια της Σαρδηνίας, η εβδομαδιαία εφαρμογή δύο *M. pygmaeus* ανά τετραγωνικό μέτρο επέτρεψε τον έλεγχο του πληθυσμού του *T. absoluta* (Nannini et al., 2012). Στη βορειοανατολική Ισπανία, όπου το *T. absoluta* προκαλεί σοβαρές ζημιές, ένα ή δύο ενήλικα *M. pygmaeus* ανά τετραγωνικό μέτρο απελευθερώνονται σε θερμοκήπια, όταν οι φυσικοί πληθυσμοί αρπακτικών είναι χαμηλοί (Urbaneja et al., 2012).

Στην Ισπανία, ένα πρόγραμμα IPM που βασίστηκε στο συνδυασμό του *M. pygmaeus* και του *N. tenuis* χρησιμοποιείται για πολλά χρόνια (Urbaneja et al., 2012). Το *N. tenuis* είναι επίσης θηρευτής του *T. absoluta*, ο οποίος επιτρέπει τη μείωση της ζημιάς του φυλλώματος και των καρπών, όπως και το *M. pygmaeus* (Mollá et al., 2009). Οι Arnó et al. (2009) αξιολόγησαν την αποτελεσματικότητα του προγράμματος IPM με κριτήριο την αύξηση και την διατήρηση και των δύο θηρευτών, συγκρινόμενο με την συμβατική στρατηγική φυτοπροστασίας που στηρίζεται στη χρήση εντομοκτόνων, στα θερμοκήπια τομάτας και στον αγρό. Ο αριθμός των εντόμων *T. absoluta* και το ποσοστό των κατεστραμμένων φυτών και νεαρών καρπών ήταν σημαντικά χαμηλότερος στα θερμοκήπια και στον αγρό, όπου εφαρμόστηκε το παραπάνω πρόγραμμα IPM.

Η ζημία μειώθηκε κατά 80% στα φύλλα και κατά 95% στους νέους καρπούς με χρήση του προγράμματος IPM σε σύγκριση με τη συμβατική στρατηγική (Agnó et al., 2009).

1.6 Σκοπός της μελέτης

Στο πλαίσιο της Ολοκληρωμένης Αντιμετώπισης των Εχθρών των καλλιεργειών, θα ήταν χρήσιμο να γνωρίζουμε ποια είναι η επίδραση της χρήσης φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων που χρησιμοποιούνται στη βιολογική αντιμετώπιση στα αρπακτικά, παρασιτοειδή, γενικά στα ωφέλιμα έντομα ώστε να πετύχουμε τον καλύτερο τρόπο συνδυασμού τους για την αντιμετώπιση των εντόμων-εχθρών. Η επίδραση αυτή αποτελεί αντικείμενο σειράς μελετών που έχουν ως στόχο την καταγραφή πρόκλησης θνησιμότητας στα ωφέλιμα έντομα. Ωστόσο, οι επιδράσεις αυτές μπορεί να είναι σημαντικές και στη συμπεριφορά τους, όπως στην κατανάλωση λείας. Τέτοιες επιδράσεις έχουν μελετηθεί από ερευνητές εστιάζοντας στις περισσότερες περιπτώσεις στην άμεση τοξικότητα μέσω επαφής ή στην υπολειμματική τοξικότητα, ωστόσο λίγες είναι οι μελέτες που πραγματεύονται τη συσχέτιση μεταξύ της υπολειμματικής διάρκειας των εντομοκτόνων και των θανατηφόρων ή υποθανατηφόρων επιδράσεων στα αρπακτικά και γενικά στους φυσικούς εχθρούς των καλλιεργειών (Van de Veire et al., 2002). Επιπρόσθετα, οι αναφορές σχετικά με τις παρενέργειες εντομοκτόνων στα αρπακτικά ύστερα από κατανάλωση λείας που είχε εκτεθεί σε δραστικές ουσίες με εντομοκτόνες ιδιότητες είναι ελάχιστες (Urbaneja et al., 2008).

Σκοπός της παρούσας μελέτης είναι η αξιολόγηση της επίδρασης έξι σκευασμάτων μυκητοκτόνων και εντομοκτόνων που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιολογική γεωργία αλλά και στην ολοκληρωμένη αντιμετώπιση, στην κατανάλωση λείας και στη θνησιμότητα του αρπακτικού *M. pygmaeus*. Χρησιμοποιήθηκαν τα: υδροξείδιο χαλκού, οξυχλωριούχος χαλκός, βρέξιμο θείο, *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, *Beauveria bassiana* και παραφινικό έλαιο. Η επίδραση του ψεκασμού του αρπακτικού στην κατανάλωση της λείας του μελετήθηκε σε φυλλάρια τομάτας που είχαν εμβαπτιστεί στα παραπάνω διαλύματα και με λεία που επίσης είχε ψεκαστεί. Στο κάθε φυλλάριο γινόταν εισαγωγή μίας νύμφης 5^{ης} ηλικίας του *M. pygmaeus* που είχε ή δεν είχε ψεκαστεί. Η κατανάλωση ωών από το αρπακτικό καταγράφηκε όταν εκτέθηκε στη μέγιστη

συνιστώμενη δόση των σκευασμάτων για χρονικό διάστημα 24 ωρών και καταγράφηκε η θνησιμότητα του αρπακτικού για χρονικό διάστημα 7 ημερών.

Κεφάλαιο 2

Υλικά και μέθοδοι

2.1 Μέθοδος ανάπτυξης φυτικού υλικού

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν φυτά τομάτας ποικιλίας Elpida F1, και φυτά μελιτζάνας ποικιλίας Bonica F1 για την εκτροφή του *M. pygmaeus*. Η μέθοδος που ακολουθήθηκε ήταν αυτή της προβλάστησης των σπόρων όπου εντός πλαστικών λεκανών τοποθετούνταν 3 μέρη φυτοχώματος κατάλληλου για σπορά και 1 μέρος περλίτη για καλή στράγγιση και αερισμό. Στη συνέχεια τα δύο υλικά αναμιγνύονταν καλά ώστε να δημιουργηθεί ένα ενιαίο. Έπειτα γινόταν διαβροχή του μείγματος με νερό και αναμιγνύονταν πάλι, έχοντας έτσι το τελικό μείγμα, το οποίο αποτελούσε το υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών. Κατόπιν, πλαστικοί δίσκοι σποράς διαστάσεων 24 x 28 cm και ύψους 6cm (Εικ. 12), καλύπτονταν έως το μισό του ύψους τους με το τελικό μείγμα και σε κάθε διαχωριζόμενη θέση του δίσκου, τοποθετούνταν ένας σπόρος. Στη συνέχεια, οι σπόροι καλύπτονταν με το υπόστρωμα και ακολουθούσε καλή συμπίεσή του με σκοπό την καλύτερη πρόσφυση των σπόρων, την καλύτερη βλάστηση και ανάπτυξη του ριζικού συστήματος.

Μετά το πέρας της διαδικασίας, οι πλαστικοί δίσκοι σποράς αφού τοποθετούνταν σε πλαστικούς δίσκους διαστάσεων 35 x 45 cm, ποτίζονταν καλά και μεταφέρονταν εντός εντομοστεγών κλωβών. Οι κλωβοί διατήρησης των φυτών ήταν είτε ξύλινοι, αποτελούμενοι από ξύλινο σκελετό και καλυπτόμενοι από λεπτή μουσελίνα, διαστάσεων 100 x 80 x 70 cm (Εικ. 13) είτε από λεπτό πλαστικό, καλυπτόμενοι από μουσελίνα η οποία επέτρεπε τον επαρκή αερισμό στο εσωτερικό τους. Οι κλωβοί ήταν εγκατεστημένοι στο θερμοκήπιο του Εργαστηρίου Γεωργικής Ζωολογίας και Εντομολογίας του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών τοποθετημένοι επάνω σε ξύλινους ή μεταλλικούς πάγκους.



Εικόνα 12. Πλαστικός δίσκος σποράς με βλαστημένους σπόρους τομάτας.



Εικόνα 13. Ξύλινοι κλωβοί διατήρησης φυτών και εκτροφών.

Το θερμοκήπιο ήταν υαλόφρακτο και στα τέλη της άνοιξης η εξωτερική του επιφάνεια ψεκαζόταν με ειδικό λευκό χρώμα για σκίαση. Ήταν εξοπλισμένο με κλιματιστικό μηχάνημα για τη ρύθμιση της θερμοκρασίας στα επιθυμητά επίπεδα και κατά τους καλοκαιρινούς μήνες γινόταν χρήση των θερμοκουρτινών οροφής.

2.2 Μέθοδος ανάπτυξης εκτροφής αρπακτικού

Για τη δημιουργία της εκτροφής του αρπακτικού *M. pygmaeus* στο εργαστήριο, χρησιμοποιήθηκαν έντομα που αγοράστηκαν από την Koppert Hellas (Miribug).

Για την εκτροφή του αρπακτικού χρησιμοποιήθηκαν φυτά μελιτζάνας (cv. Bonica F1), τα οποία αναπτύχθηκαν με τη μέθοδο της προβλάστησης, όπως περιγράφεται στην παράγραφο 2.1, και τοποθετήθηκαν σε ξύλινους κλωβούς.

Επιπλέον, για την εκτροφή των αρπακτικών χρησιμοποιήθηκαν ως λεία ωά του λεπιδόπτερου *Ephestia kuehniella* Zeller μαζί με κύστεις καρκινοειδούς του γένους *Artemia* sp. (Branchiopoda: Artemiidae) (σκεύασμα Entofood, Koppert Ολλανδίας). Η λεία τοποθετούνταν επάνω στα φύλλα της μελιτζάνας, διάσπαρτα, για την καλύτερη και ταχύτερη ανάπτυξη του *M. pygmaeus*.

2.3 Διατήρηση φυτών και εκτροφών

Τα νεαρά φυτά όταν έφθαναν στο στάδιο των τριών πραγματικών φύλλων μεταφυτεύονταν σε πλαστικά δοχεία διαμέτρου 11 cm και ύψους 10 cm. Το υπόστρωμα ανάπτυξης των φυτών αποτελούνταν από τρία μέρη φυτοχώματος και ένα μέρος περλίτη. Στη συνέχεια τα δοχεία αυτά τοποθετούνταν επάνω σε δίσκους όπου ποτίζονταν καλά και κατόπιν μεταφέρονταν στους εντομοστεγείς κλωβούς.

Το πότισμα των φυτών γινόταν ανά δύο ημέρες όπως και ο έλεγχός τους για τυχόν προσβολές από έντομα ή ακάρεα, ώστε να διατηρηθούν υγιή.

Οι κλωβοί που περιείχαν τις εκτροφές του αρπακτικού παρακολουθούνταν με πολλή προσοχή και ανά τακτά χρονικά διαστήματα για τυχόν ύπαρξη άλλων αρπακτικών εντόμων που θα μπορούσαν να μειώσουν τον πληθυσμό του ή να τον εξαλείψουν. Σε περίπτωση που ανευρίσκονταν άλλα είδη εντόμων απομακρύνονταν εγκαίρως και ακολουθούσε καλός έλεγχος της εκτροφής.

2.4 Μέθοδος συλλογής νυμφών

Για τις ανάγκες του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν νύμφες 5^{ης} ηλικίας του *M. pygmaeus* διότι ήταν εξαιρετικά αδηφάγες (Perdikis and Lykouressis., 1999; Fantinou et al., 2008). Ο διαχωρισμός των νυμφικών ηλικιών του *M. pygmaeus* γινόταν με βάση το μήκος των άρθρων της κεραίας και την ύπαρξη ή όχι των πτεροθηκών και το μήκος αυτών. Χαρακτηριστικό γνώρισμα της 5^{ης} νυμφικής ηλικίας ήταν οι ανεπτυγμένες πτεροθήκες που άρχιζαν από το 3^ο και έφθαναν μέχρι το 5^ο κοιλιακό τμήμα του σώματός τους, σύμφωνα με την κλείδα των Perdikis και Lykouressis (2001-2002). Νύμφες 4^{ης} ηλικίας μεταφέρθηκαν από τους ξύλινους κλωβούς με τη βοήθεια αναρροφητήρα σε τρυβλία Petri, διαμέτρου 15 cm και ύψους 1,5 cm. Στο καπάκι του τρυβλίου υπήρχαν δύο οπές διαμέτρου 4 cm, καλυπτόμενες με λεπτή μουσελίνα για την αποφυγή υγρασίας στο εσωτερικό του τρυβλίου.

Τα τρυβλία περιείχαν φύλλα τομάτας μαζί με ωά *E. kuehniella*, προκειμένου τα αρπακτικά να εγκλιματιστούν στις συνθήκες διεξαγωγής των πειραμάτων καθώς οι εκτροφές περιείχαν φυτά μελιτζάνας. Μόλις έφθαναν στην 5^η νυμφική ηλικία οι νύμφες συλλέγονταν σε νέα τρυβλία, τα οποία περιείχαν φυλλάκια τομάτας με υγραμένο τεμάχιο βάμβακος όπου διατηρούνταν χωρίς λεία

για 24 ώρες. Όλα τα τρυβλία διατηρούνταν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών με θερμοκρασία $25 \pm 1^\circ\text{C}$, Σ.Υ $65 \pm 5\%$ και φωτοπερίοδο 16 Φ : 8 Σ.

2.5 Διεξαγωγή πειραματικής διαδικασίας

Οι μεταχειρίσεις αφορούσαν την επίδραση των σκευασμάτων στην κατανάλωση λείας αλλά και στη θνησιμότητα του αρπακτικού σε φυλλάρια τομάτας που είχαν εμβαπτιστεί στα παρακάτω διαλύματα και με λεία που είχε ψεκαστεί.

Τα σκευάσματα που χρησιμοποιήθηκαν, η δραστική ουσία, και η δοσολογία (μέγιστη εγκεκριμένη από το ΥΠΑΑΤ για την καλλιέργεια της τομάτας θερμοκηπίου) αναφέρονται παρακάτω.

- Champ 36.3 SC (Copper hydroxide). Δόση: 3.5 ml/lit
- Κουπραχλώρ 50 WP (Copper oxychloride). Δόση: 2.5 gr/lit
- Frame 80 WG (Wettable sulphur). Δόση: 3 gr/lit
- Bactospeine WG (*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*). Δόση: 2 gr/lit
- Metab SL (*Beauveria bassiana* A 10^9 UFC/gr). Δόση: 2 ml/lit
- Nitropol O EW (Paraffin oil). Δόση: 10 ml/lit

Ολόκληρα φύλα τομάτας χωρίς να αποκοπούν από το φυτό εμβαπτιζόνταν σε δοχείο με το αντίστοιχο διάλυμα για διάστημα 5 δευτερολέπτων σύμφωνα με την μεθοδολογία των Amarasekare και Shearer (2013). Κατόπιν αφήνονταν να στεγνώσουν για 30 λεπτά σε συνθήκες εργαστηρίου.

Οι νύμφες 5^{ης} ηλικίας του *M. pygmaeus* μετά την πάροδο του διαστήματος των 24 ωρών σε συνθήκες πείνας, συλλέγονταν και τοποθετούνταν ατομικά σε τρυβλία. Κατόπιν γινόταν ψεκασμός τους από απόσταση 20 cm με ειδικό ψεκαστήρα χειρός (Εικ. 14). Για κάθε σκεύασμα χρησιμοποιούνταν διαφορετικός ψεκαστήρας. Με τον ίδιο τρόπο γινόταν ο ψεκασμός των ωών *E. kuehniella* (50 ωά / τρυβλίο). Μετά τον ψεκασμό τους το αρπακτικό και τα ωά αφήνονταν να στεγνώσουν για 30 λεπτά.

Κατόπιν, φυλλάρια από τα εμβαπτισμένα φύλλα τοποθετούνταν ατομικά σε τρυβλίο με ελαφρώς υγραμένο βαμβάκι στο μίσχο του. Στην επιφάνεια του φυλλαριού τοποθετούνταν

συνολικά 50 ωά *E. kuehniella* (25 ωά / πλευρά της κεντρικής νεύρωσης), τα οποία είχαν ψεκαστεί. Μετά ακολουθούσε η τοποθέτηση της νύμφης του αρπακτικού στο τρυβλίο (ψεκασμένης ή αφέκαστης) (Εικ. 15).



Εικόνα 14. Ψεκαστήρες χειρός



Εικόνα 15. Έτοιμο τρυβλίο για τη διεξαγωγή του πειράματος

Μετά την τοποθέτηση της νύμφης στο τρυβλίο, αυτό σφραγιζόταν περιμετρικά με parafilm. Τα τρυβλία στη συνέχεια μεταφέρονταν σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών με θερμοκρασία $25 \pm 1^\circ\text{C}$, Σ.Υ $65 \pm 5\%$ και φωτοπερίοδο 16 : 8 (φως : σκότος) για 24 ώρες. Μετά την πάροδο των 24 ωρών, τα τρυβλία ανοίγονταν και γινόταν έλεγχος της θνησιμότητας των αρπακτικών και καταγραφή των μυζημένων ωών. Τα ωά διακρίνονταν σε τρεις κατηγορίες ανάλογα με το ποσοστό μύζης τους: στα ελαχίστως-, μερικώς- και πλήρως-μυζημένα, στα οποία η μύζηση ήταν κάτω του 10% (Εικ. 16), 40% έως 60% (Εικ. 17) και άνω του 90% (Εικ. 18), αντίστοιχα. Μεταξύ των κατηγοριών αυτών, δεν υπήρχαν διαβαθμίσεις σχετικά με το ποσοστό μύζησης, γεγονός το οποίο είχε επιβεβαιωθεί με προκαταρκτικά πειράματα αναφορικά με την ποσοτική διάκριση των κατηγοριών των ωών ύστερα από χειρισμό τους με το αρπακτικό για όλα τα εντομοκτόνα.



Εικόνα 16. Ελαχίστως μυζημένο ωό



Εικόνα 17. Μερικώς μυζημένο ωό



Εικόνα 18. Πλήρως μυζημένα ωά



Εικόνα 19. Ωό χωρίς να έχει υποστεί μύζηση.

Έπειτα γινόταν έλεγχος της θνησιμότητας του αρπακτικού και τυχόν εμφάνιση του ενηλίκου καθημερινά μέχρι το πέρας 7 ημερών. Για το διάστημα αυτό το αρπακτικό διατηρούνταν σε τρυβλίο με προσθήκη αφέκαστης τροφής. Το φυλλάριο αντικαθίστατο κάθε 3- ημέρες με φυλλάριο που αποκόπτονταν από τα φύλλα που είχαν εμβαπτιστεί στο διάλυμα στην αρχή του πειράματος.

Ως μάρτυρες χρησιμοποιήθηκαν απιονισμένο νερό (+ μάρτυρας) και το chlorpyrifos (- μάρτυρας). Σε κάθε επέμβαση χρησιμοποιήθηκαν 15 νύμφες (επαναλήψεις).

Επομένως, κατά την πειραματική διαδικασία έγιναν δύο διαφορετικές επεμβάσεις, όπου εκτελέστηκαν τα παρακάτω:

Δοκιμή 1

- Εμβάπτιση φυλλαρίου
- Ψεκασμός λείας
- **Αψέκαστη νύμφη *M. pygmaeus***

Δοκιμή 2

- Εμβάπτιση φυλλαρίου
- Ψεκασμός λείας
- **Ψεκασμένη νύμφη *M. pygmaeus***

2.6 Στατιστική ανάλυση δεδομένων

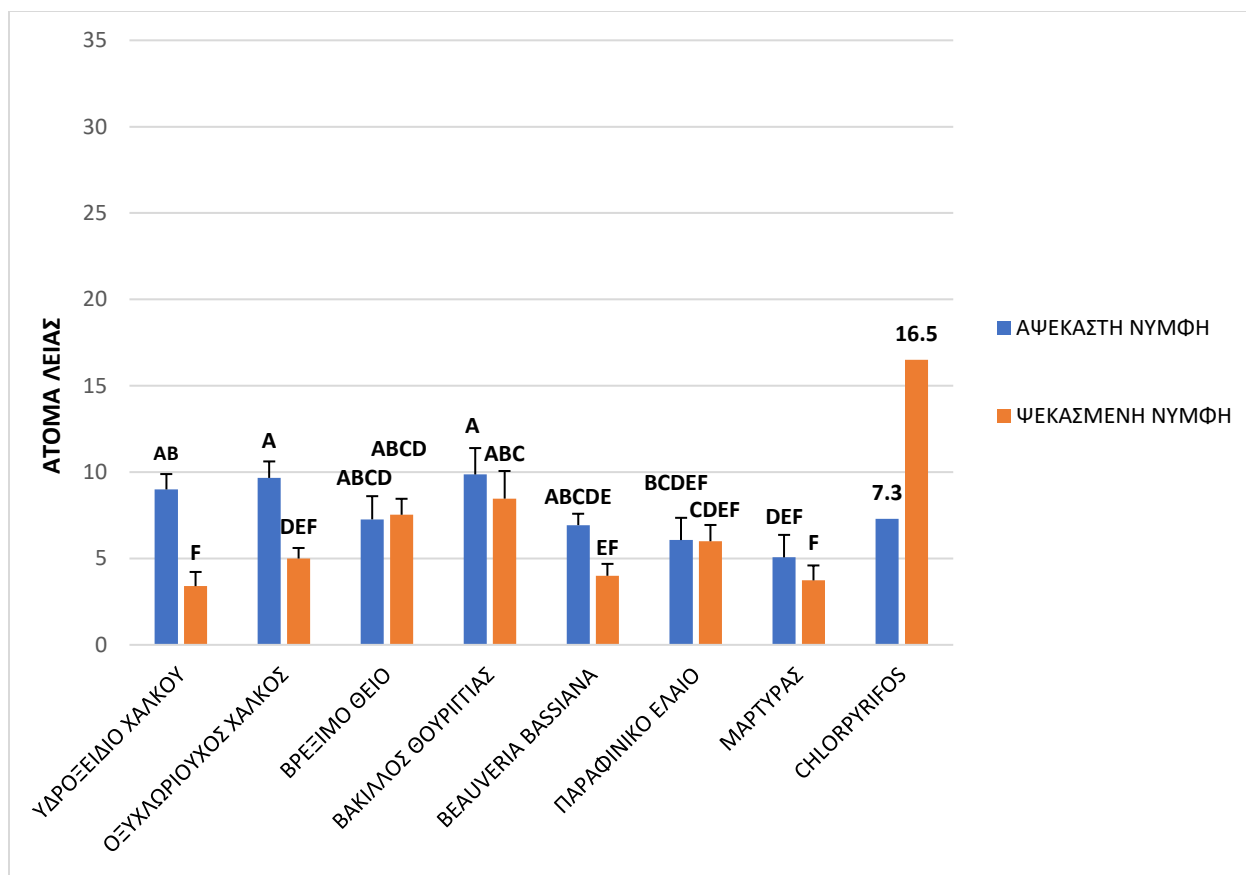
Η στατιστική ανάλυση των δεδομένων έγινε με τη μέθοδο ανάλυσης διασποράς ANOVA και η σύγκριση των μέσων με τη μέθοδο των Tukey-Kramer HSD, με τη χρήση του πακέτου JMP.

Κεφάλαιο 3

Αποτελέσματα

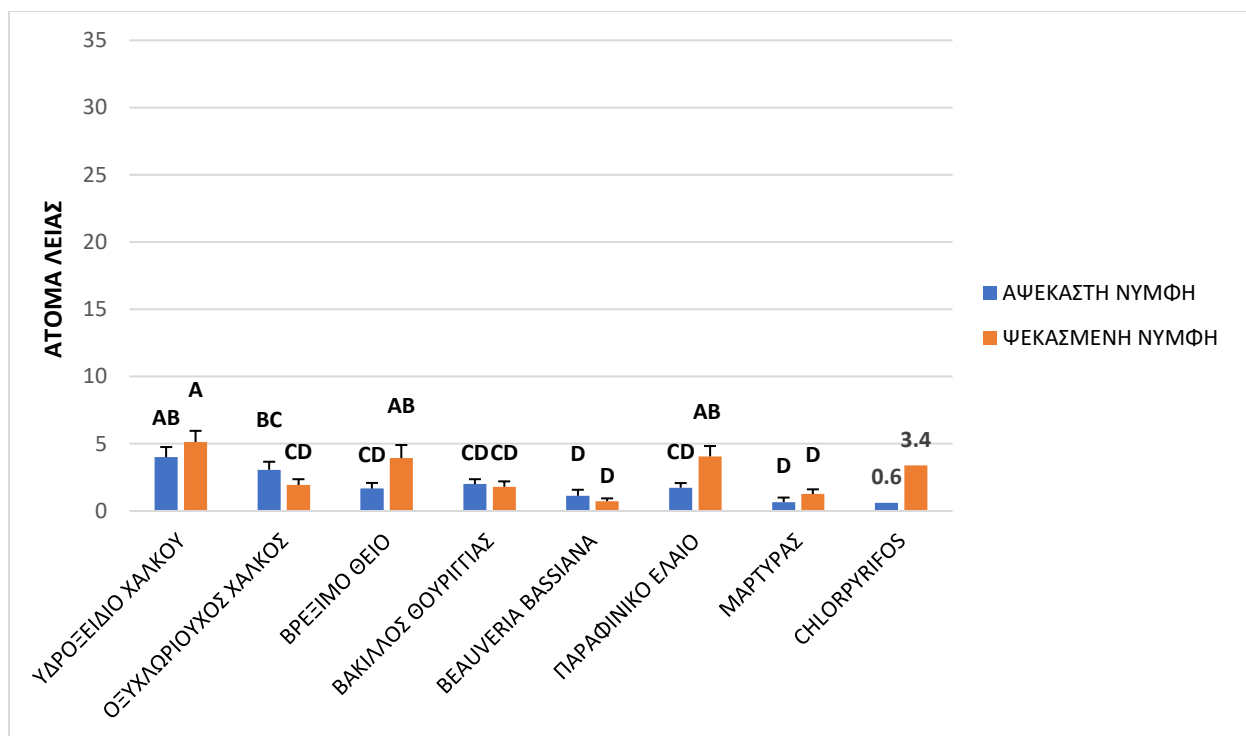
3.1 Συνολική κατανάλωση ωών *E. kuehniella*

Στο ραδβόγραμμα 1 δίνεται ο μέσος αριθμός των ατόμων (ωών) ελαχίστως μυζημένης λείας από την ψεκασμένη και την απέκαστη νύμφη *M. pygmaeus* μετά από την εφαρμογή σκευασμάτων, σε εμποτισμένο φυλλάριο τομάτας και με λεία (ωά) που επίσης είχε ψεκαστεί. Η επίδραση του σκευάσματος ήταν σημαντική όπως και η επίδραση του ψεκασμού ή όχι του αρπακτικού και η αλληλεπίδρασή τους ($F=4,14$, $\beta.ε.=6,196$, $P<0,0006$, $F=15,28$, $\beta.ε.=1,196$, $P<0,0001$ και $F=2,17$, $\beta.ε.=6,196$, $P<0,047$). Στην περίπτωση της απέκαστης νύμφης η κατανάλωση των ωών κυμάνθηκε από 5,1 έως 9,8 ωά. Σε σχέση με τον μάρτυρα (απιονισμένο νερό) παρατηρείται σημαντικά μεγαλύτερη κατανάλωση στην περίπτωση του υδροξειδίου του χαλκού, του οξυγλωριούχου χαλκού και του βακίλλου. Όταν η νύμφη είχε ψεκαστεί η κατανάλωση των ωών κυμάνθηκε από 3,4 έως 8,5 ωά. Με βάση τα αποτελέσματα φαίνονται σημαντικά μεγαλύτερες τιμές σε σχέση με το μάρτυρα στην περίπτωση του θείου και του βακίλλου Θουριγγίας. Παρατηρήθηκε ότι η κατανάλωση της ελαχίστως μυζημένης λείας ήταν σημαντικά αυξημένη για την απέκαστη σε σχέση με την ψεκασμένη νύμφη στις επεμβάσεις με υδροξείδιο του χαλκού και με οξυγλωριούχο χαλκό.



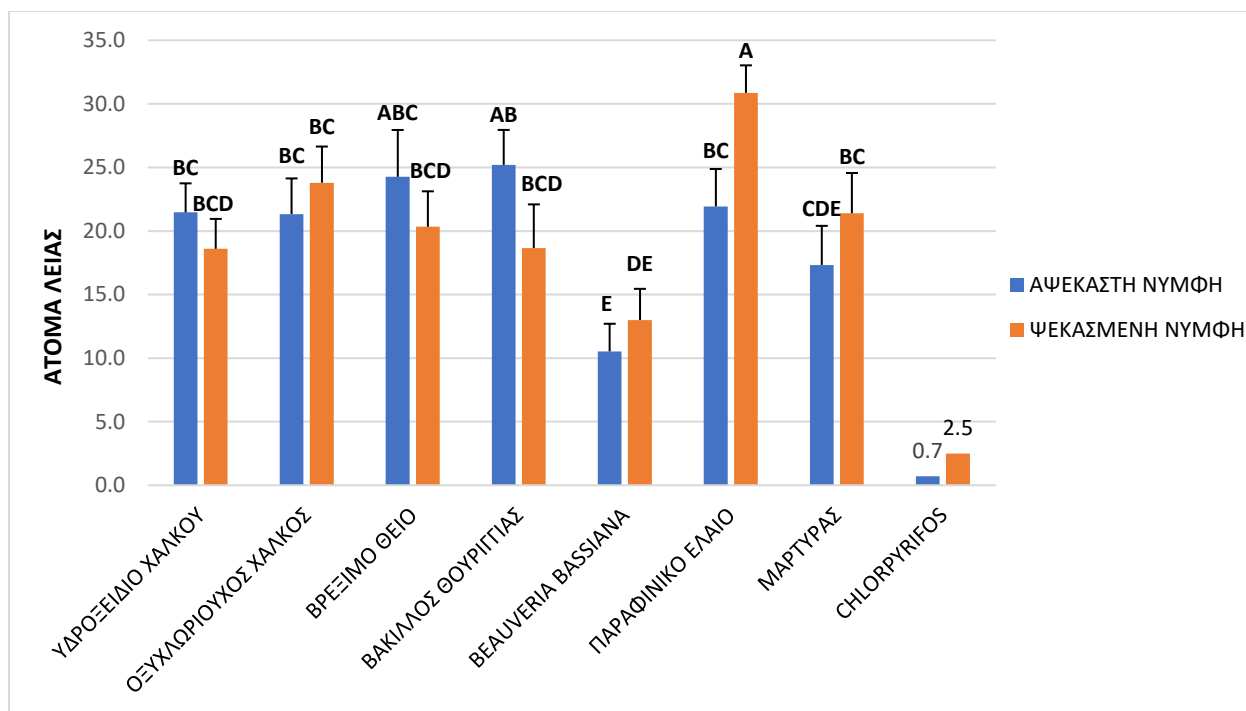
Ραβδόγραμμα 1. Μέσος όρος ($\pm T\Sigma$) του αριθμού των ατόμων της λείας (ωά λεπιδοπτερού) που βρέθηκαν ελαχίστως μυζημένα από μία νύμφη *M. pygmaeus* που είχε ή δεν είχε ψεκαστεί. Οι στήλες που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δείχνουν ότι οι μέσοι όροι δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Στο ραβδόγραμμα 2 παρουσιάζεται ο μέσος αριθμός ατόμων της λείας που βρέθηκαν μερικώς μυζημένα από ψεκασμένη και αψέκαστη νύμφη του *M. pygmaeus*. Η επίδραση του σκευάσματος ήταν σημαντική όπως και η επίδραση του ψεκασμού του αρπακτικού και η αλληλεπίδρασή τους ($F=10,15$, $\beta.ε.=6,196$, $P<0,0001$, $F=4,81$, $\beta.ε.=1,196$, $P<0,0294$ και $F=2,84$, $\beta.ε.=6,196$, $P<0,0114$). Με βάση τα αποτελέσματα, παρατηρείται σημαντική αύξηση της κατανάλωσης λείας όταν η νύμφη ήταν αψέκαστη στα δύο σκευάσματα χαλκού με τιμές 4 και 3 ωά αντίστοιχα σε σύγκριση με το μάρτυρα, ενώ σημαντική αύξηση σημειώθηκε στο υδροξείδιο χαλκού με 5,1 ωά, το θείο και το παραφινικό έλαιο με 3,9 και 4 ωά αντιστοίχως, όταν η νύμφη του αρπακτικού είχε ψεκαστεί. Επίσης σημαντικά μεγαλύτερη ήταν η κατανάλωση λείας στην ψεκασμένη σε σχέση με την αψέκαστη νύμφη μετά την εφαρμογή του βρέξιμου θείου και του παραφινικού ελαίου.



Ραβδόγραμμα 2. Μέσος όρος (\pm TΣ) του αριθμού των ατόμων της λείας (ωά λεπιδόπτερου) που βρέθηκαν μερικώς μυζημένα από μία νύμφη *M. rygmaeus* που είχε ή δεν είχε ψεκαστεί. Οι στήλες που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δείχνουν ότι οι μέσοι όροι δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

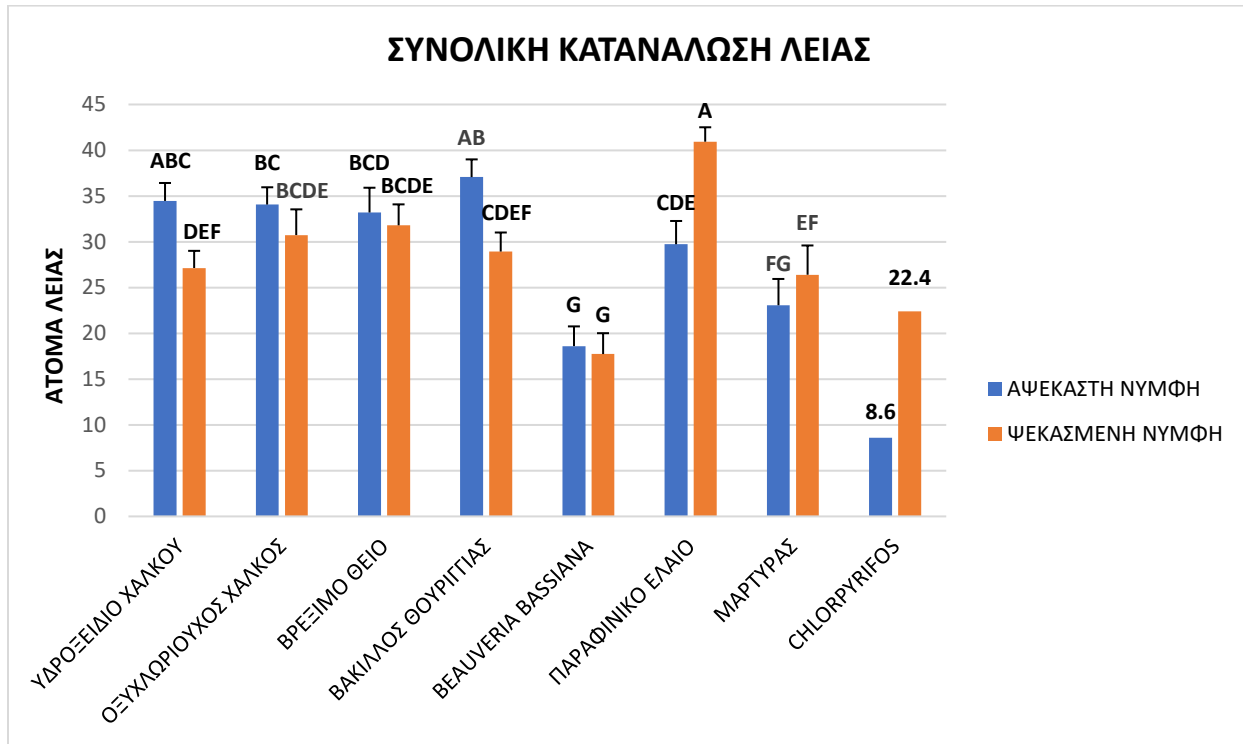
Στο ραβδόγραμμα 3 παρουσιάζεται ο μέσος αριθμός των ατόμων της λείας που καταναλώθηκαν πλήρως για την ψεκάσμενη και την αψέκαστη νύμφη του *M. rygmaeus*. Η επίδραση του σκευάσματος ήταν σημαντική όπως και η επίδραση του ψεκασμού του αρπακτικού και η αλληλεπίδρασή τους ($F=5,13$, β.ε.=6,196, $P<0,0001$, $F=0,19$, β.ε.=1,196, $P>0,6628$ και $F=1,81$ β.ε.=6,196, $P<0,0994$). Στην περίπτωση της αψέκαστης νύμφης η κατανάλωση των ωών κυμάνθηκε από 10,5 έως 25,2 ωά. Σε σχέση με τον μάρτυρα παρατηρείται αύξηση της κατανάλωσης λείας στο βάκιλλο Θουριγγίας. Ως προς την νύμφη που είχε ψεκαστεί η κατανάλωση των ωών έλαβε τιμές από 13 έως 30,8 ωά. Σε αυτή την περίπτωση η κατανάλωση μειώθηκε σημαντικά μετά την επέμβαση με *Beauveria bassiana* ενώ αυξήθηκε σημαντικά στο παραφινικό έλαιο σε σχέση με τον μάρτυρα. Μεταξύ ψεκάσμενης και αψέκαστης νύμφης σημαντική διαφορά σημειώθηκε μόνο στην επέμβαση με παραφινικό έλαιο όπου η κατανάλωση λείας ήταν σημαντικά αυξημένη όταν η νύμφη είχε ψεκαστεί.



Ραβδόγραμμα 3. Μέσος όρος ($\pm T\Sigma$) του αριθμού των ατόμων της λείας (ωά λεπιδοπτέρου) που βρέθηκαν πλήρως μυζημένα από μία νύμφη *M. pygmaeus* που είχε ή δεν είχε ψεκάσει. Οι στήλες που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δείχνουν ότι οι μέσοι όροι δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

Στο ραβδόγραμμα 4 παρουσιάζεται η συνολική κατανάλωση λείας (ελαχίστως, μερικώς, πλήρως) για την ψεκάσιμη και την ανέκαστη νύμφη *M. pygmaeus*. Η επίδραση του σκευάσματος ήταν σημαντική όπως και η επίδραση του ψεκάσιμου του αρπакτικού και η αλληλεπίδρασή τους ($F=13,17$, β.ε.=6,196, $P<0.0001$, $F=0,56$, β.ε.=1,196, $P=0,46$ και $F=4,02$, β.ε.=6,196, $P<0.0008$). Η ανάλυση των δεδομένων έδειξε ότι η κατανάλωση λείας κυμάνθηκε από 18,6 ωά στο *Beauveria bassiana* μέχρι 37 ωά στο βάκιλο Θουριγγίας στην περίπτωση της ανέκαστης νύμφης και από 17,7 ωά στο *Beauveria bassiana* έως 40,9 στο παραφινικό έλαιο στην περίπτωση της ψεκάσιμης νύμφης. Η ανέκαστη νύμφη κατανάλωσε σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό ωών σε σχέση με τον μάρτυρα σε όλες τις επεμβάσεις, εκτός από αυτή με το *Beauveria bassiana* και το παραφινικό έλαιο, όπου δεν σημειώθηκαν σημαντικές διαφορές. Στην ψεκάσιμη νύμφη του αρпакτικού φάνηκε σημαντική μείωση της κατανάλωσης μετά την επέμβαση με το *Beauveria bassiana* και σημαντική αύξησης της στην επέμβαση με το παραφινικό έλαιο σε σύγκριση με τον μάρτυρα. Παρατηρήθηκε ότι η κατανάλωση λείας από την ψεκάσιμη νύμφη ήταν σημαντικά μικρότερη σε

σχέση με την ανέκαστη στην επέμβαση με το υδροξείδιο χαλκού και το βάκιλο Θουριγγίας ενώ το αντίθετο παρατηρήθηκε στην επέμβαση με το παραφινικό έλαιο.

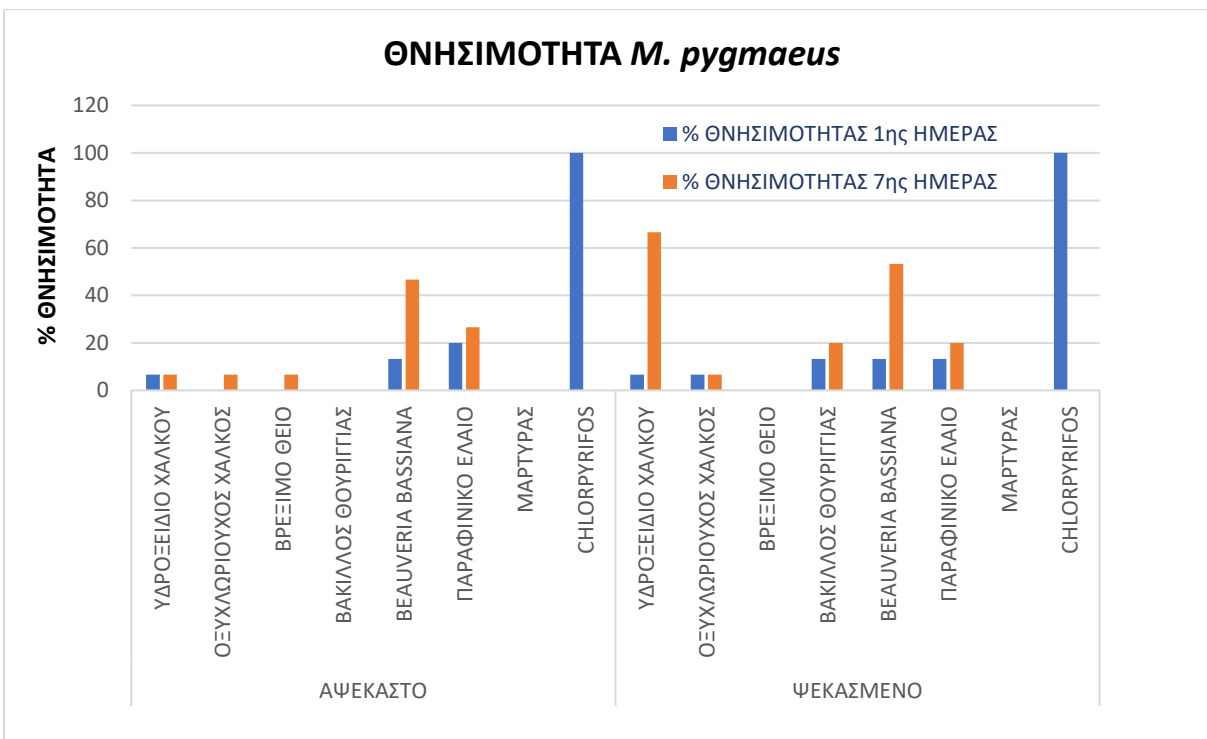


Ραβδόγραμμα 4. Μέσος όρος (\pm ΤΣ) του αριθμού των ατόμων της λείας (ωά λεπιδοπτερου) που βρέθηκαν συνολικά μυζημένα από μία νύμφη *M. pygmaeus* που είχε ή δεν είχε ψεκαστεί. Οι στήλες που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δείχνουν ότι οι μέσοι όροι δε διαφέρουν σημαντικά μεταξύ τους.

3.2 Θνησιμότητα του *M. pygmaeus* έπειτα από ψεκασμούς με ήπια εντομοκτόνα

Στο ραβδόγραμμα 5 δίνεται το ποσοστό της θνησιμότητας των ατόμων του *M. pygmaeus* που είχαν ή δεν είχαν ψεκαστεί όταν εκτέθηκαν σε εμβαπτισμένα φυλλάρια τομάτας σε διαλύματα διαφόρων σκευασμάτων και σε λεία που είχε επίσης ψεκαστεί, για 7 ημέρες. Στο ιστόγραμμα αυτό φαίνεται ότι το ποσοστό θνησιμότητας την 1^η ημέρα και η συνολική θνησιμότητα την 7^η ημέρα από την επέμβαση. Η θνησιμότητα στην περίπτωση του chlorpyrifos έφθασε το 100% την πρώτη ημέρα στην ψεκασμένη και στην ανέκαστη νύμφη. Στις μεταχειρίσεις με απιονισμένο νερό δεν καταγράφηκε θνησιμότητα. Στην ανέκαστη νύμφη η επέμβαση με το *B. bassiana* προκάλεσε θνησιμότητα 46,6% και το παραφινικό έλαιο 26,6%. Το ποσοστό θνησιμότητας για τη νύμφη που είχε ψεκαστεί λαμβάνει τη μέγιστη τιμή στο υδροξείδιο του χαλκού με 66,6%, που συνέβαινε

κυρίως κατά την τελευταία έκδυση (Εικ. 20, 21, 22, 23), και ακολούθησε το *B. bassiana* με 53,3%. Στο ίδιο ιστόγραμμα παρατηρείται επιπλέον ότι ο οξυχλωριούχος χαλκός και το θείο προκάλεσαν σχεδόν μηδενική θνησιμότητα. Μεταξύ της θνησιμότητας ψεκασμένης και ανέκαστης μεγάλη αύξηση παρατηρήθηκε στην περίπτωση του υδροξειδίου του χαλκού, όπου ο ψεκασμός της νύμφης προκάλεσε θνησιμότητα 66,6% ενώ η θνησιμότητα της ανέκαστης νύμφης ήταν 6,6%



Ραβδόγραμμα 5. Ποσοστό θνησιμότητας (%) των νυμφών *M. pygmaeus* που είχαν ή δεν είχαν ψεκαστεί με την 1^η και 7^η ημέρα μετά την επέμβαση.



Εικόνα 20, 21. Νεκρή νόμφη και ενήλικο του *M. pygmaeus* κατά τη διάρκεια της έκδυσης μετά τον ψεκασμό με υδροξείδιο του χαλκού.



Εικόνα 22, 23. Νεκρό ενήλικο του *M. pygmaeus* κατά τη διάρκεια της έκδυσης μετά τον ψεκασμό με υδροξείδιο του χαλκού.

Κεφάλαιο 4

Συζήτηση

Τα αποτελέσματα έδειξαν σημαντικές διαφορές και αλληλεπιδράσεις μεταξύ των μεταχειρίσεων. Ο ψεκασμός του αρπακτικού με υδροξείδιο του χαλκού ή με οξυχλωριούχο χαλκό δεν προκάλεσε μείωση της κατανάλωσης λείας σε σχέση με τον μάρτυρα. Ωστόσο, το υδροξείδιο του χαλκού προκάλεσε σημαντική θνησιμότητα (66%, μέτρια επιβλαβές κατά IOBC) στα άτομα του αρπακτικού που ψεκάστηκαν. Ο DeLong (1940) εξετάζοντας τις εντομοκτόνες επιδράσεις του βορδιγάλειου πολτού στο πεδίο, παρατήρησε πως ένα μεγάλο ποσοστό ατόμων *Empoasca fabae* (Harris) (Hemiptera: Cicadellidae) πεθαίνουν κατά τη διάρκεια της έκδυσης. Κατά τη διάρκεια της μελέτης παρατήρησε πως η νύμφη του *E. fabae* δεν είχε την ικανότητα να ελευθερώσει το τελευταίο ζεύγος των ποδών και το οπίσθιο τμήμα της κοιλίας από το έκδυμα με αποτέλεσμα να μην ολοκληρώνεται η έκδυση. Οι Martinou et al. (2014) αναφέρουν ότι το υδροξείδιο του χαλκού (σκεύασμα Champ 37.5 WG) προκάλεσε σημαντική θνησιμότητα (60%) στις νύμφες του *M. ruginervis* που είχαν ψεκαστεί και τράφηκαν σε ψεκασμένη λεία και σε ψεκασμένο φυλλάριο τομάτας με δόση 1 ml/l, μετρώντας τη θνησιμότητα 72 ώρες μετά την εφαρμογή του, χαρακτηρίζοντας το υδροξείδιο του χαλκού μέτρια επιβλαβές. Ωστόσο την παρούσα μελέτη διευκρινίζεται η επίδραση ότι εάν η νύμφη δεν ψεκαστεί με το υδροξείδιο του χαλκού τότε η θνησιμότητα είναι πολύ μικρή. Αυτό αποτελεί χρήσιμο εύρημα για την κατάλληλη χρήση του υδροξειδίου του χαλκού στα προγράμματα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης δηλαδή με την εφαρμογή του πριν την εξαπόλυση του αρπακτικού.

Οι Beers και Schmidt (2014) βρήκαν ότι το υδροξείδιο χαλκού (σκεύασμα Kocide 3000) μαζί με mancozeb επηρέασε την εκκόλαψη των προνυμφών του αρπακτικού ακάρεως *G. occidentalis*. Οι Amarasekare και Shearer (2013b) μελέτησαν τις θανατηφόρες και υποθανατηφόρες επιδράσεις μίγματος υδροξειδίου του χαλκού με το μυκητοκτόνο mancozeb στις μεγαλύτερες συνιστώμενες δόσεις 0.1x (4.5 kg και 2 kg/ha) και 1.0x (4.5 kg και 2 kg/ha) σε νύμφες και ενήλικα του αρπακτικού *D. brevis*. Το μίγμα αυτό ήταν λιγότερο τοξικό (10.7 ± 5.7 και 20.0 ± 9.5) για το αρπακτικό στις 10 ημέρες μετά την εφαρμογή του σε σχέση με άλλα εντομοκτόνα που χρησιμοποιήσαν (Lamda-cyhalothrin, Spinetoram κ.α.) χωρίς να επηρεάσει τη μακροζωία των

ενήλικων ατόμων ούτε τη σχέση φύλου και τη γονιμότητα των θηλυκών. Οι Hall και Nguyen (2010) αξιολόγησαν την τοξικότητα του υδροξειδίου του χαλκού (Kocide 101 WP) στα ενήλικα άτομα του *Tamarixia radiata* (Waterstone) (Hymenoptera: Eulophidae) παρασιτοειδούς της ασιατικής ψύλλας των εσπεριδοειδών *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) είτε με ψεκάσμο των ατόμων του παρασιτοειδούς είτε με πειράματα υπολειμματικής επίδρασης. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το υδροξείδιο του χαλκού δεν ήταν τοξικό με απευθείας ψεκάσμο ενώ στα πειράματα υπολειμματικής επίδρασης έδειξε μικρή τοξικότητα (19% θνησιμότητα) 72 ώρες μετά την εφαρμογή, και επομένως ήταν συμβατό για τα προγράμματα ολοκληρωμένης αντιμετώπισης.

Ο οξυγλωριούχος χαλκός δεν είχε σημαντική επίδραση στην επιβίωση των νυμφών του *M. pygmaeus*. Επίσης δεν είχε σημαντική επίδραση στην επιβίωση των νυμφών του *O. laevigatus* όταν εκτέθηκαν στο σκεύασμα Colloidox WP σε δόση 200 ml/hl, υπό συνθήκες εργαστηρίου, (Angeli et al. 2005). Σε συνθήκες εργαστηρίου οι Bengochea et al. (2013) μελέτησαν τις επιδράσεις του οξυγλωριούχου χαλκού σε τέσσερεις ωφέλιμους οργανισμούς *A. nemoralis*, *C. inanitus*, *C. nigrinus* και *S. cyanea* για τον έλεγχο του δάκου της ελιάς. Στις δοκιμές χρησιμοποίησαν το σκεύασμα οξυγλωριούχου χαλκού ZZ-cuprocol 70 SC στη μεγαλύτερη συνιστώμενη δόση (250 ml/hL). Τα φυλλάκια ελιάς ψεκάστηκαν και τα έντομα εκτέθηκαν σε αυτά για 3 ημέρες. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα ο οξυγλωριούχος χαλκός δεν προκάλεσε θνησιμότητα στο *S. cyanea* (0%) και στο *C. nigrinus* (2%) και δεν επηρέασε τη διάρκεια ζωής των αρπακτικών *C. inanitus* (32.1 ± 1) και *C. nigrinus* (126.9 ± 26.8) σε σχέση με το μάρτυρα 25.9 ± 2.6 και 117.8 ± 7.2 αντίστοιχα ενώ για το *C. inanitus* και το *A. nemoralis* η θνησιμότητα κυμάνθηκε στο 8% και 32% αντίστοιχα. Ο αριθμός των ωών που εναπόθεσαν τα θηλυκά του *A. nemoralis* δεν μειώθηκε σημαντικά, σε σύγκριση με τους μάρτυρες. Επομένως, ο οξυγλωριούχος χαλκός είναι συμβατός με την χρήση του αρπακτικού *M. pygmaeus* ενώ το υδροξείδιο του χαλκού θα πρέπει να χρησιμοποιείται πριν την εξαπόλυσή του.

Η αφέκαστη νύμφη του *M. pygmaeus* κατανάλωσε σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό ψεκασμένης λείας με υδροξείδιο του χαλκού ή με οξυγλωριούχο χαλκό σε σχέση με τον μάρτυρα. Αυτό οφειλόταν κυρίως στην κατανάλωση μεγαλύτερου αριθμού ελαχίστως και μερικής μυζημένης λείας. Αυτή η αλλαγή στην συμπεριφορά του εντόμου υποδηλώνει αλλαγή στην δραστηριότητα του αρπακτικού. Ο DeLong (1940) αναφέρει επίσης ότι ο ψεκάσμος με βορδιγάλειο πολτό μείωσε την κινητικότητα των *E. fabae* με αποτέλεσμα την πτώση τους από τα

φυτά. Πιθανές επιδράσεις του υδροξειδίου του χαλκού ή με οξυγλωριούχο χαλκό στην κινητικότητα των νυμφών του *M. pygmaeus* μπορεί να οδήγησαν στα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης.

Ο ψεκασμός του αρπακτικού με βρέξιμο θείο δεν είχε επίδραση ως προς την κατανάλωση λείας και δεν προκάλεσε θνησιμότητα. Η εκτίμηση της αποτελεσματικότητας και των μακροπρόθεσμων επιδράσεων δύο διαφορετικών σκευασμάτων θείου για τον έλεγχο του *T. absoluta* σε συνθήκες πεδίου και θερμοκηπίου καθώς και τις επιδράσεις τους στο αρπακτικό *N. tenuis* σε φυτά τομάτας μελετήθηκε από τους Zappala et al. (2012). Τα σκευάσματα θείου που δοκιμάστηκαν ήταν θείο με επίπαση (DP - dustable powder, Agrezufre) με δόση 3.75g/φυτό και θείο σε βρέξιμη σκόνη (WP – Wettable powder, Lainzufre) με δόση 200g/hl. Για την εκτίμηση των επιδράσεων στο *N. tenuis* χρησιμοποιήθηκαν θηλυκά και αρσενικά άτομα τα οποία εκτέθηκαν σε υπολειμματικούς ψεκασμούς 0, 7 και 14 ημερών. Η μέτρηση της θνησιμότητας γινόταν κάθε 5 ημέρες. Στα αποτελέσματα φάνηκε πως η επιβίωση του *N. tenuis* μειώθηκε σημαντικά όταν τα άτομα τοποθετήθηκαν αμέσως μετά τον ψεκασμό, ενώ δεν σημειώθηκαν σημαντικές επιδράσεις στα υπολείμματα των 7 και 14 ημερών. Η επιβίωση των αρπακτικών σε όλες τις υπολειμματικές εφαρμογές δεν διέφερε από τον μάρτυρα (νερό). Ωστόσο, μειώθηκε σημαντικά η γονιμότητα του θηρευτή όταν εκτέθηκε στα “φρέσκα” υπολείμματα του θείου σε σκόνη (DP). Τα υπολείμματα των 7 και 14 ημερών δεν φάνηκε να έχουν επίδραση στη γονιμότητα. Με βάση τα αποτελέσματα ο συντελεστής μείωσης (E) για το DP θείο ήταν 83.1% και ταξινομήθηκε ως επιβλαβές (Κατηγορία 3) και αβλαβές (Κατηγορία 1) μετά το πέρας 7 και 14 ημερών αντίστοιχα. Αντίθετα το βρέξιμο θείο (WP) χαρακτηρίστηκε ως αβλαβές (Κατηγορία 1) για όλες τις υπολειμματικές εφαρμογές. Οι Van de Veire et al. (2002) χρησιμοποίησαν το σκεύασμα βρέξιμου θείου Cumulus 80 DF στο χειρότερο σενάριο (ψεκασμός εντόμου, λείας και φυτού με την μεγαλύτερη συνιστώμενη δόση) για την αξιολόγηση της επίδρασής του στην επιβίωση των νυμφών και την αναπαραγωγική ικανότητα των ενήλικων *O. laevigatus* σε εργαστηριακές δοκιμές και δοκιμές θερμοκηπίου. Τα αποτελέσματά τους έδειξαν ότι το θείο ήταν αβλαβές στην περίπτωση του χειρότερου σεναρίου υπό εργαστηριακές συνθήκες (25% θνησιμότητα) και υπό συνθήκες θερμοκηπίου (30% θνησιμότητα), κατατάσσοντάς το στην Κατηγορία 1 σύμφωνα με το IOBC. Οι Angeli et al. (2005) επιβεβαιώνουν στις δοκιμές τους ότι το βρέξιμο θείο (σκεύασμα Cosan S WP) με δόση 200ml/hl ήταν μέτρια επιβλαβές προκαλώντας 28% θνησιμότητα των νυμφών *O. laevigatus* όταν εκτέθηκαν σε φρέσκα υπολείμματα μέσω επαφής μετά από 1, 3, 5 και 7 ημέρες.

Τα υπολείμματα θείου έδειξαν χαμηλή τοξικότητα στα ενήλικα θηλυκά άτομα του αρπακτικού ακάρεως *G. occidentalis* και δεν είχε καμία επίδραση στην κατανάλωση λείας (*Tetranychus urticae*, *Panonychus ulmi*) (Beers 2009).

Ο ψεκάσμος του αρπακτικού με τον βάκιλλο δεν προκάλεσε θνησιμότητα. Το αφέκαστο αρπακτικό βρέθηκε να καταναλώνει σημαντικά μεγαλύτερο συνολικό αριθμό ωών που είχαν ψεκαστεί με τον βάκιλλο. Οι Goulart et al. (2015) μελέτησαν τις επιδράσεις του βακίλλου *B. thuringiensis aizawai* GC 91, σκεύασμα Agree, σύμφωνα με τη συνιστώμενη δόση (0.7 gr/ 0.5 L) στις βιολογικές παραμέτρους του αρπακτικού *O. insidiosus* με λεία ωά *P. xylostella* υπό εργαστηριακές συνθήκες. Εξέθεσαν νύμφες 1ης, 2ης, 3ης, 4ης και 5ης ηλικίας σε ωά που είχαν ψεκαστεί με νερό (μάρτυρας) και σε ωά που είχαν ψεκαστεί με βάκιλλο. Τα αποτελέσματα ως προς την κατανάλωση λείας έδειξαν ότι το αρπακτικό καταναλώνει περισσότερη λεία όταν τα ωά είχαν ψεκαστεί με βάκιλλο σε σχέση με εκείνα που είχαν ψεκαστεί με νερό (μάρτυρας). Η κατανάλωση λείας ήταν σημαντικά μεγαλύτερη στην επέμβαση με το *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*. Σε προηγούμενη μελέτη έχει βρεθεί ότι η αφέκαστη νύμφη του αρπακτικού σε αφέκαστο φυλλάριο κατανάλωσε μεγαλύτερο αριθμό ψεκασμένων ωών όπως επίσης και η ψεκασμένη νύμφη του αρπακτικού σε ψεκασμένο φυλλάριο, σε σχέση με το μάρτυρα (Ευγενία Σαρακατσάνη, πτυχιακή μελέτη, ΓΠΑ, 2018).

Ο ψεκάσμος του αρπακτικού με το *Beauveria bassiana* προκάλεσε θνησιμότητα 53,3% και 46,6% όταν η νύμφη ήταν αφέκαστη. Οι Gao et al. (2012) μελέτησαν την επίδραση ψεκασμένης λείας (νύμφες του *F. occidentalis*) με το στέλεχος *B. bassiana*-RSB στην επιβίωση και σε βιολογικές παραμέτρους του αρπακτικού *Orius sauteri* (Poppius) (Hemiptera: Anthocoridae) υπό εργαστηριακές συνθήκες. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι δεν υπήρξαν αρνητικές επιδράσεις στην επιβίωση ή στον χρόνο ανάπτυξης των νυμφών *O. sauteri*, ή στη μακροζωία των ενηλίκων. Μικρές επιδράσεις στους ρυθμούς ανάπτυξης του *O. sauteri* και της μακροζωίας των ενηλίκων παρατηρήθηκαν όταν δόθηκαν στους θηρευτές νύμφες του *F. occidentalis* μολυσμένες με *B. bassiana* ως θήραμα. Η διάρκεια ανάπτυξης του *O. sauteri* αυξήθηκε κατά 3 - 7% και η μακροζωία των ενηλίκων μειώθηκε κατά 9 - 13% όταν τράφηκαν με μολυσμένη λεία σε σύγκριση με τη λεία που δεν είχε ψεκαστεί. Οι Shipp et al. (2003) ανέφεραν ότι τα ενήλικα *O. insidiosus*, *A. colemani*, και *Dacnusa sibirica* Telenga (Hymenoptera: Braconidae) δεν συνιστάται να εισάγονται κατά την εφαρμογή του *B. bassiana* διότι παρουσίασαν

ποσοστό μόλυνσης 60,9%, 57,6% και 69,5% αντίστοιχα, με 75% RH υπό εργαστηριακές συνθήκες ενώ όταν το RH έφτασε στο 95% το ποσοστό μόλυνσης αυξήθηκε.

Ο ψεκασμός του *M. pygmaeus* με το *Beauveria bassiana* είχε ως αποτέλεσμα σημαντική μείωση στην κατανάλωση λείας σε σύγκριση με τον μάρτυρα και γενικά βρέθηκε μειωμένη κατανάλωση στις μεταχειρίσεις με αυτόν τον μύκητα. Σύμφωνα με την Labea (2005) το αρπακτικό *Dicyphus hesperus* Knight (Hemiptera: Miridae) κατά τη διάρκεια εργαστηριακών και θερμοκηπιακών δοκιμών, ήρθε σε άμεση επαφή με τα κονίδια του *B. bassiana* μέσω ψεκασμών ή μέσω λείας (*T. vaporariorum*) που είχε ψεκαστεί, παρατηρώντας ότι το *D. hesperus* αποφεύγει την κατανάλωση μολυσμένης λείας. Η απόρριψη του μολυσμένου αλευρώδη με *B. bassiana* από το αρπακτικό μπορεί να οφείλεται σε βιοχημικές μεταβολές στη λεία. Από τα αποτελέσματα της μελέτης προκύπτει ότι μπορεί να υπάρχει κάποια παρεμβολή μεταξύ της εφαρμογής του *B. bassiana* με το αρπακτικό, αν και ο πληθυσμός του θηρευτή δεν μειώθηκε, παρατηρήθηκε σημαντική μείωση της αρπακτικότητας νεαρών σταδίων του αλευρώδη σε φύλλα τομάτας που είχαν ψεκαστεί. Σύμφωνα με τη συγγραφέα η μείωση της θήρευσης πιθανό να αντιπροσωπεύει μία μη-θανατηφόρο μόλυνση του αρπακτικού ή αλλαγές στη συμπεριφορά του. Στη μελέτη του ο Cohen (1998) επιβεβαιώνει πως τα Ημίπτερα μπορούν να ανιχνεύσουν τις μικρές αλλαγές στη χημική και φυσιολογική σύνθεση της λείας τους. Τα είδη Miridae έχουν αισθητήριες (τριχοειδείς) επιφάνειες στις άκρες των στοματικών μορίων τους που χρησιμεύουν ως χημειούποδοχείς με τα οποία οι θηρευτές μπορούν να ερευνήσουν και να αξιολογήσουν την κατάλληλη λεία. Επίσης αρκετά παρασιτοειδή φαίνεται να είναι σε θέση να αναγνωρίσουν εάν ο υποψήφιος ξενιστής τους έχει μολυνθεί από έναν εντομοπαθογόνο μύκητα όπως το *E. formosa* ή το παρασιτοειδές αφίδων *A. asychis*. Αυτό το γεγονός μπορεί να αυξήσει τον χρόνο αναζήτησης λείας και έτσι να μειωθεί η αποτελεσματικότητά τους. Οι Gao et al. (2012) αναφέρουν ότι οι αρνητικές επιδράσεις λείας μολυσμένης με *B. bassiana* μπορεί να οφείλονται στην μείωση της ποιότητάς της επειδή η μόλυνση μπορεί να καθιστά τις νύμφες ανεπαρκείς σε ορισμένα βασικά θρεπτικά συστατικά ή να δημιουργεί συσσώρευση μυκητιακών τοξινών ή μεταβολιτών, η οποία μπορεί να επιβραδύνει την ανάπτυξη και να μειώσει τη μακροζωία των ενήλικων ατόμων του αρπακτικού. Επίσης, ενδεχομένως η μείωση της κατανάλωσης μπορεί να οφείλεται σε αλλαγή της συμπεριφοράς του αρπακτικού λόγω του ψεκασμού του ή λόγω του ψεκασμού της λείας με τον μύκητα. Οι Meyling και Pell (2006) μελέτησαν την ικανότητα του θηρευτή *Anthocoris nemorum* L. (Heteroptera: Anthocoridae) να ανιχνεύει την παρουσία του εντομοπαθογόνου *B. bassiana* υπό εργαστηριακές

δοκιμές. Τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά άτομα του αρπακτικού βρέθηκε να αποφεύγουν τα φύλλα τσουκνίδας που είχαν ψεκαστεί με το *B. bassiana* (1×10^7 conidia ml⁻¹) ξοδεύοντας πολύ λίγο χρόνο στις επιφάνειες αυτές. Επίσης, τα θηλυκά άτομα του θηρευτή ήταν εξαιρετικά απρόθυμα να περπατήσουν στην επιφάνεια φύλλων ψεκασμένων με *B. bassiana*. Σύμφωνα με τους συγγραφείς, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το *A. nemorum* ήταν σε θέση να εντοπίσει και να αποφύγει τον πιθανώς θανατηφόρο μύκητα *B. bassiana*. Σε μια παρόμοια μελέτη, οι νύμφες 5ης ηλικίας είτε *M. pygmaeus* είτε *N. tenuis* βρέθηκε να καταναλώνουν σημαντικά μικρότερο αριθμό ωών όταν είχαν ψεκαστεί με thiacloprid ή chlorantraniliprole σε σχέση με τον μάρτυρα (Martinou και Stavrinides 2015). Οι συγγραφείς αναφέρουν ότι αυτό πιθανώς οφείλεται σε αλλαγή της συμπεριφοράς του αρπακτικού (π.χ. χρόνος που δαπανά για καθαρισμό κ.α.) και λόγω πιθανών κινδύνων που σχετίζονται με τις υποθανατηφόρες επιδράσεις των εντομοκτόνων. Η μείωση της κατανάλωσης λείας προφανώς αποτελεί πλεονέκτημα για τον θηρευτή, καθώς ελαχιστοποιεί την έκθεσή του στο εντομοκτόνο.

Ο ψεκασμός του αρπακτικού με παραφινικό έλαιο δεν προκάλεσε θνησιμότητα. Οι Biondi et al. (2012) μελέτησαν τις επιδράσεις του παραφινικού ελαίου στο αρπακτικό *O. laevigatus* σε συνθήκες εργαστηρίου στην υψηλότερη συνιστώμενη δόση για την καλλιέργεια τομάτας (σκεύασμα Ufo, Δόση: 2000 ml hl⁻¹) διαπίστωσαν ότι είναι αβλαβές στο αρπακτικό χωρίς καμία ένδειξη αρνητικών επιδράσεων. Ωστόσο, οι ψεκασμένες με έλαιο νύμφες *M. pygmaeus* βρέθηκε να καταναλώνουν σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό ωών που είχαν ψεκαστεί με έλαιο σε σχέση με τον μάρτυρα (απιονισμένο νερό) σε φύλλα που είχαν επίσης ψεκαστεί. Η έκθεση των εντόμων σε τρεις «οδούς» επαφής (ψεκασμένο φυλλάριο, τροφή και έντομο) με το εντομοκτόνο θεωρείται η χειρότερη δυνατή περίπτωση που όμως αντιπροσωπεύει ένα ρεαλιστικό σενάριο, που μάλιστα πολύ συχνά απαντάται στα αγροοικοσυστήματα (Martinou et al., 2013). Τα αποτελέσματα για αυτή την περίπτωση έδειξαν ότι το παραφινικό έλαιο αυξάνει την κατανάλωση, διότι έδειξαν μεγαλύτερο συνολικό αριθμό μυζημένων ωών, που επίσης καταγράφηκε στον αριθμό των πλήρως καταναλωθέντων ωών.

Συνοψίζοντας, τα φυτοπροστατευτικά προϊόντα που χρησιμοποιούνται ευρέως στη βιολογική γεωργία αλλά και την ολοκληρωμένη αντιμετώπιση μπορούν να προκαλέσουν επιδράσεις στη διατροφική συμπεριφορά ή ακόμα να επιφέρουν και υψηλή θνησιμότητα στις νύμφες του *M. pygmaeus*. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν από αυτή τη μελέτη δηλώνουν ότι η χρήση του υδροξειδίου του χαλκού και του *B. bassiana* σε συνδυασμό με απελευθερώσεις του *M.*

rygmaeus ή με την διατήρηση των πληθυσμών του σε καλλιέργειες τομάτας θα πρέπει να γίνεται με πολλή προσοχή ή και να περιορίζεται σε εφαρμογές πριν από την απελευθέρωση των ωφέλιμων ή όταν οι πληθυσμοί τους ελλείπουν. Τα υπόλοιπα προϊόντα που χρησιμοποιήθηκαν (βρέξιμο θείο, οξυχλωριούχος χαλκός, *B. thuringiensis* και παραφινικό έλαιο) δεν προκάλεσαν αρνητικές επιδράσεις στο *M. rygmaeus*. Επίσης σημειώθηκαν σημαντικές επιδράσεις στην συμπεριφορά του αρπακτικού καθώς η κατανάλωση λείας μειώθηκε μετά την επέμβαση με το *B. bassiana* αλλά αυξήθηκε στην μεταχείριση με το παραφινικό έλαιο.

Βιβλιογραφία

Διεθνής βιβλιογραφία

- Agnello, A.M., 2002.** Petroleum-derived spray oils: chemistry, history, refining and formulation. In: Beattie, G.A.C., Watson, D.M., Stevens, M.L., Rae, D.J. & Spooner-Hart R.N. (eds.). *Spray Oils Beyond 2000*. University of Western Sydney Press, Australia. pp. 2–18.
- Ako, M., Borgemeister, C., Peohling, H.M., Elbert, A., Nauen, R., 2004.** Effects of neonicotinoid insecticides in the bionomics of two-spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Journal of Economic Entomology*, 97: 1587-94.
- Aluyor, E.O. and Ori-jesu, M., 2009.** Biodegradation of mineral oils – A review. *African Journal of Biotechnology*, 8(6): 915–920.
- Amarasekare, K.G. and Shearer, P.W., 2013b.** Laboratory bioassays to estimate the lethal and sublethal effects of various insecticides and fungicides on *Deraeocoris brevis* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Economic Entomology* 106: 776-785.
- Angeli, G., Baldessari, M., Maines, R. and Duso, C., 2005.** Side-effects of pesticides on the predatory bug *Orius laevigatus* (Heteroptera: Anthocoridae) in the laboratory. *Biocontrol Science and Technology*, 15(7): 745-754.
- Arnó, J., Sorribas, R., Prat, M., Matas, M., Pozo, C., Rodríguez, D., Garreta, A., Gómez, A. and Gabarra, R., 2009.** *Tuta absoluta*, a new pest in IPM tomatoes in the northeast of Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*, 49: 203-308.
- Barlett, B.R., 1956.** Natural predators. Can selective insecticides help to preserve biotic control *Agricultural Chemistry*, 11: 42–44.
- Barlow, F., 1985.** Chemistry and formulation. In: Haskell, P.T. (ed.). *Pesticide Application: Principles and Practice*. Clarendon Press, Oxford, UK, pp. 1–34.
- Beattie, A., 2005.** Using petroleum-based spray oils in citrus. *NSW Department of Primary Industries*. State of New South Wales.
- Beers, E.H. and Schmidt, R.A., 2014.** Impacts of orchard pesticides on *Galendromus occidentalis*: Lethal and sublethal effects. *Crop Protection*, 56: 16-24.

- Beers, E.H., Martinez-Rocha, L., Talley, R.R., Dunley, J.E., 2009.** Lethal, sublethal, and behavioral effects of sulfur-containing products in bioassays of three species of orchard mites. *Journal of Economic Entomology*, 102, 324-335.
- Belitz, H.D., Grosch, W. and Schieberle, P., 2006.** *Χημεία Τροφίμων*. Εκδόσεις Τζιόλα, Θεσσαλονίκη, 3η έκδοση, σελ, 775-789.
- Bengochea, P., Amor, F., Saelices, R., Hernando, S., Budia, F., Adán, A. and Medina, P., 2013.** Kaolin and copper-based products applications: Ecotoxicology on four natural enemies. *Chemosphere*, 91: 1189–1195.
- Bengochea, P., Budia, F., Vinuela, E. and Medina, P., 2014.** Are kaolin and copper treatments safe to the olive fruit fly parasitoid *Psytalia concolor*? *Journal of Pest Science*, 87: 351–359.
- Benz, G. and Altwegg, A., 1975.** Safety of *Bacillus thuringiensis* for earthworms. *J Invertebr Pathol*, 26: 125–126. In: *Microbial Pest Control Agent. Bacillus thuringiensis*. Environmental Health Criteria 217, World Health Organization Geneva, pp. 44, 1999.
- Bernard, M., Cole, P., Kobelt, A., Horne, P.A., Altmann, J., Wratten, S.D. and Yen, A.L., 2010.** Reducing the Impact of Pesticides on Biological Control in Australian Vineyards: Pesticide Mortality and Fecundity Effects on an Indicator Species, the Predatory Mite *Euseius victoriensis* (Acari: Phytoseiidae). *Journal of Economic Entomology*, 103(6): 2061-2071.
- Beyrem, H., Louati, H., Essid, N., Aïssa, P. and Mahmoudi, E., 2010.** Effects of two lubricant oils on marine nematode assemblages in a laboratory microcosm experiment. *Marine Environmental Research*, 69: 248–253.
- Bilal, A., 2008.** The role of copper- and sulfur-based fungicides in organic vegetable production. *World Crops Agronomist*, Farm Start.
- Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G. and Zappalà, L., 2012.** Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*, 87: 803–812.
- Blaeser, P., Sengonca, C. and Zegula, T., 2004.** The potential use of different predatory bug species in the biological control of *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera: Thripidae). *Journal of Pest Science*, 77: 211-219.
- Boeri, R., 1991.** Chronic Toxicity of ABG-6305 to Daphnid: *Daphnia magna*: Lab Project Number: 90162-A. Unpublished study prepared by Resource Analysts, Inc. 47 p. In:

- Microbial Pest Control Agent. Bacillus thuringiensis*. Environmental Health Criteria 217, World Health Organization Geneva, pp. 44, 1999.
- Brar, S.K., Verma, M., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y., Barnabe, S. and Valero, J.R., 2007.** *Bacillus thuringiensis* proteases: Production and role in growth, sporulation and synergism. *Process Biochemistry*, 42: 773–790.
- Bravo, A., Likitvivatanavong, S., Gill, S.S. and Soberón, M., 2011.** *Bacillus thuringiensis*: A story of a successful bio insecticide. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 41: 423-431.
- Broglio, S.M., Dias-Pini, N., Micheletti, L. and Gomez-Torres, M., 2014.** Toxicity of phytosanitary products to *Coccidophilus citricola* (Coleoptera: Coccinellidae). *Revista Colombiana de Entomología*, 40(2): 181-184.
- Brooijmans, C., 2008.** *Chemical Control. Integrated Pest Management in Protected Cultivation*. Agricultural University of Wageningen, Netherland. pp. 3.
- Brunner, J.F, Dunley, J.E, Doerr, M.D. and Beers, E.H., 2001.** Effect of Pesticides on *Colpoclypeus florus* (Hymenoptera: Eulophidae) and *Trichogramma platneri* (Hymenoptera: Trichogrammatidae), Parasitoids of Leafrollers in Washington. *Journal of Economic Entomology*, 94(5): 1075-1084.
- Buteler, M. and Stadler, T., 2011.** A Review on the Mode of Action and Current Use of Petroleum Distilled Spray Oils. In: Stoytcheva M. *Pesticides in the Modern World – Pesticides Use and Management*. InTech, 2011.
- Castañé, C., Alomar, O., Riudavets, J. and Gemenó, C., 2006.** Reproductive traits of the generalist predator *Maerolophus caliginosus*. *Bulletin IOBC/WPRS*, 29(4): 229-234.
- Castañé, C., Arnó, J., Gabarra, R. and Alomar, O., 2011.** Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. *Biological Control*, 59: 22–29.
- Charmillot, P.J. and Riedl, H., 2000.** The Future of Codling Moth Control with Conventional Insecticides, Insect Growth Regulators and Microbials. *XXI International Congress of Entomology*. Brazil, Vol. II. p. 698.
- Charmillot, P.J. and Riedl, H., 2000.** The Future of Codling Moth Control with Conventional Insecticides, Insect Growth Regulators and Microbials. *XXI International Congress of Entomology*. Vol. II. p. 698.

- Cloyd, R.A. and Cycholl, N.L., 2002.** Phytotoxicity of Selected Insecticides on Greenhouse-grown Herbs. *HorstScience*, 37(4): 671–672.
- Cohen, A.C., 1998.** Solid-to-liquid feeding: the inside story of extra oral digestion in predaceous Heteroptera. *American Entomology*, 44: 103-117.
- Copping, L.G., 2001.** The BioPesticide manual, Second edition. *British crop protection council*, U.K.
- Dagostin, S., Ferrari, A., Pertot, I., 2006.** Efficacy evaluation of biocontrol agents against downy mildew for copper replacement in organic grapevine production in Europe. *Integrated Protection in Viticulture IOBC/wprs Bulletin* Vol. 29(11): 15-21.
- Damavandian, M.R., 2016.** Comparison of mineral oil spray with current synthetic pesticides to control important pests in citrus orchards and their side effects. *Arthropods*, 5(2): 56-64.
- De Backer, L., Megido, R.C., Haubruge, É. and Verheggen, F., 2014.** *Macrolophus pygmaeus* (Rambur) as an efficient predator of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick) in Europe. A review. *Journal of Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 18(4): 536-543.
- De Backer, L., Wäckers, L., Francis, F. and Verheggen, F., 2015.** Predation of the Peach aphid *Myzus persicae* by the mirid predator *Macrolophus pygmaeus* on Sweet Peppers: Effect of prey and predator density. *Insects*, 6: 514-523.
- DeBach, P., 1974.** *Biological control by natural enemies*. Cambridge Univ. Press, pp. 71-154.
- DeLong D.M., 1940.** Studies of methods and materials for the control of the leafhopper *Empoasca fabae* as a bean pest. Technical Bulletin No 740.
- Dent, D., 1991.** *Insect Pest Management*. C.A.B. International, Wallingford, UK.
- Dent, D., 2000.** *Insect Pest Management*. 2nd Edition. C.A.B. International, Wallingford, Ascot.
- Down, R.E., Cuthbertson, A.G.S., Mathers, J.J. and Walters, K.F.A., 2009.** Dissemination of the entomopathogenic fungi, *Lecanicillium longisporum* and *L. muscarium*, by the predatory bug, *Orius laevigatus*, to provide concurrent control of *Myzus persicae*, *Frankliniella occidentalis* and *Bemisia tabaci*. *Biological Control*, 50: 172–178.
- Edwards, B.A.B. and Hodgson, P.J., 1973.** The toxicity of commonly used orchard chemicals to *Stethorus nigripes* (Coleoptera: Coccinellidae). *Journal of the Australian Entomological Society*, 12: 222-224.

- EFSA, 2012.** Scientific Opinion on Mineral Oil Hydrocarbons in Food. *EFSA Journal*, 10(6): 2704.
- EFSA, 2018.** Conclusions on neonicotinoids 2018. *EFSA Journal*. Parma, Italy.
- Elbert, A., Nauen, R., McCaffery, A., 2007.** IRAC, insecticide resistance and mode of action classification of insecticides, In: W. Krämer and U. Schirmer (ed.). *Modern Crop Protection Compounds*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, Germany, pp. 753-771.
- Elbert, A., Nauen, R., McCaffery, A., 2007.** IRAC, insecticide resistance and mode of action classification of insecticides, In: Dr. Wolfgang Krämer, Dr. Ulrich Schirmer, Dr. Peter Jeschke, Dr. Matthias Witschel (Eds). *Modern Crop Protection Compounds*. Germany, 2012, pp. 753-771.
- EPA., 1991.** Sulphur - R.e.d facts. *United States Environmental Protection Agency, Pesticides and Toxic Substances*.
- Fantinou, A.A., Perdikis, D., Maselou, D. & Labropoulos, P., 2008.** Prey killing without consumption: Does *Macrolophus pygmaeus* show adaptive foraging behaviour? *Biological Control*, 47: 187-193.
- Fernandez, D.E., Beers, E.H., Brunner, J.F., Doerr, M.D. and Dunley, J.E., 2005.** Effects of Seasonal Mineral Oil Applications on the Pest and Natural Enemy Complexes of Apple. *Journal of Economic Entomology*, Vol.98: 1630-1640.
- Fernandez, L., 2015.** Lethal and sublethal effects of pesticides used in western U.S. orchards on *Hippodamia convergens*. Phd dissertation, University of California, U.S.A.
- Fiuza, L.M., Polanczyk, R.A. and Crickmore, N., 2017.** *Bacillus thuringiensis* and *Lysinibacillus sphaericus*. Characterization and use in the field of biocontrol. Springer.
- Flint, M.L. and Van den Bosch, R., 1981.** *Introduction to Integrated Pest Management*. Plenum Press, New York, pp. 240.
- Food and Agricultural Organisation of the United Nations**
<http://www.fao.org/agriculture/crops/thematic-sitemap/theme/pests/ipm/more-ipm/en/>
- Fuzita, A.T., Sato, M.E., da Silva, M.Z., Nicastro, R.L. and de Mendonça, M.J.C., 2014.** Comparison of susceptibility of the pest mite *Brevipalpus phoenicis* and the predator *Agistemus brasiliensis* to agrochemicals. *Coffee Science*, 9:1 p. 102-109.
- Gao, Y., Reitz, S.R., Wang, J., Tamez-Guerra, P., Wang, E., Xu, X. and Lei, Z., 2012.** Potential use of the fungus *Beauveria bassiana* against the western flower thrips *Frankliniella*

- occidentalis* without reducing the effectiveness of its natural predator *Orius sauteri* (Hemiptera: Anthocoridae). *Biocontrol Science and Technology*, 22(7): 803-812.
- González-Cabrera, J., Molla, O., Montón, H., Urbaneja, A., 2011.** Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) for controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Biocontrol*, 56: 71–80.
- Gonzalez, F., Tkaczuk, C., Dinu, M.M., Fiedler, Z., Vidal, S., Zchori-Fein, E. and Messelink, G.J., 2016.** New opportunities for the integration of microorganisms into biological pest control systems in greenhouse crops. *Journal of Pest Science*, 89: 295–311.
- Goulart, R.M., De Bortoli, S.A., Vacari, A.M., Laurentis, V.L., Veiga, A.C.P., De Bortoli, C.P. and Polanczyk, R.A., 2015.** Effect of *Bacillus thuringiensis* on the biological characteristics of the predator *Orius insidiosus* Say (Hemiptera: Anthocoridae) feeding on eggs of *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). *BioAssay*, 10:2.
- Green, M.B., 1999.** Φυτοφάρμακα: *Ευλογία ή Κατάρα*; Σύλλογος προς διάδοσιν ωφέλιμων βιβλίων, Αθήνα.
- Hajek, A.E. and St. Leger, R.J., 1994.** Interaction between fungal pathogens and insect hosts. *Annual Review of Entomology*, 39: 293-322.
- Hajek, A.E., McManus, M.L. and Delalibera, Jr.I., 2007.** A review of introductions of pathogens and nematodes for classical biological control of insects and mites. *Biological Control*, 41: 1-13.
- Hall, D.G. and Nguyen, R., 2010.** Toxicity of pesticides to *Tamarixia radiata*, a parasitoid of the Asian citrus psyllid. *BioControl*, 55: 601-611.
- Hall, R.A. and Papierok, B. 1982.** Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. *Parasitology*, 84: 205-240.
- Hall, R.A., 1981a.** The Fungus *Verticillium lecanii* as a Microbial Insecticide against Aphids and Scales. In: Burges HD (ed.). *Microbial Control of Pests and Plant Diseases*, Academic Press, 483-498, 1970-1980.
- Hamdi, F., Fargues, J., Ridray G, Jeannequin, B. and Bonato, O., 2011.** Compatibility among entomopathogenic hyphocreales and two beneficial insects used to control *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleurodidae) in Mediterranean greenhouses. *Journal of Invertebrate Pathology*, 108: 22–29.

- Helmy, E.I, Kwaiz, F.A. and El-Sahn, O.M.N., 2012.** The usage of mineral oils to control insects. *Egyptian Academic Journal of Biological Science*, 5(3): 167 -174.
- Hoskins, W.M., Borden, A.D., and Michelbacher, A.E., 1939.** Recommendations for a more discriminating use of insecticides. In: *Proceedings of the 6th Pacific Science Congress*, Vol. 5, pp. 119-123.
- Jahn, G.C, Khiev, B., Pol, C., Chhorn, N. and Preap, V., 2001.** Sustainable pest management for rice in Cambodia. In: P. Cox and R. Chhay (eds.). *The Impact of Agricultural Research for Development in Southeast Asia*. Proceedings of an International Conference held at the Cambodian Agricultural Research and Development Institute, Phnom Penh, Cambodia, 2000.
- Jamar, L., Lefrancq, B., Fassotte, C. and Lateur, M., 2008.** A during-infection spray strategy using sulphur compounds, copper, silicon and a new formulation of potassium bicarbonate for primary scab control in organic apple production. *European Journal of Plant Pathology*, 122: 481–493.
- Jamar, L., Song, J., Fauche, F., Choi, J. and Lateur, M., 2017.** Effectiveness of lime sulphur and other inorganic fungicides against pear scab as affected by rainfall and timing application. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 124(4): 383–391.
- Jaronski, S.T, Lord, J., Rosinska, J., Bradley, C., Hoelmer, K., Simmons, G., Osterlind, R., Brown, C., Staten, R. and Antilla, L., 1998.** Effect of a *Beauveria bassiana*-based mycoinsecticide on beneficial insects under field conditions. In: *The 1998 Brighton Conference: Pests & Diseases*. British crop protection council. Brighton, 7C-1: 651–656.
- Joung, K. and Cote, J., 2000.** A review of the environmental impacts of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. Technical Bulletin No. 29, *Horticultural Research and Development Centre*. Canada.
- Katsoyannos, P., 1996.** *Integrated Insect Pest Management for Citrus in Northern Mediterranean Countries*. Benaki Phytopathological Institute. Athens, pp 110.
- Kenmore, P.E., Heong, K.L., Putter, C.A., 1985.** Political, social and perceptual aspects of integrated pest management programs. In: Lee, B.S., Loke, W.H., Heong, K.L. (Eds.), *Integrated Pest Management in Asia*. Malaysian Plant Protection Society, Kuala Lumpur, pp. 47- 66.

- Kerzhner, I.M. and Josifov, J., 1999.** Catalogue of the Heteroptera of the Palearctic Region, vol. 3, Cimicomorpha II. Amsterdam. *Netherlands Entomological Society*, 577 pp.
- Kogan, M., 1998.** Integrated Pest Management: Historical perspectives and contemporary developments. *Annual Review Entomology*. Oregon, 43: 243–270.
- Kovacic, G.R., Lesnik, M. and Vrsic, S., 2013.** An overview of the copper situation and usage in viticulture. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 19(No 1): 50-59.
- Labbè, R.M., 2005.** Intraguild interactions of the greenhouse whitefly natural enemies, predator *Dicyphus hesperus*, pathogen *Beauveria bassiana* and parasitoid *Encarsia Formosa*. Master de l' agriculture et de l' alimentation. Universite Laval Quebec.
- Ludwig, S.W. and Oetting, R.D., 2001.** Susceptibility of natural enemies to infection by *Beauveria bassiana* and impact of insecticides on *Ipheseius degenerans* (Acari:Phytoseiidae). *Journal of Agricultural and Urban Entomology*, 18: 169–178.
- Martínez García, H., Sáenz Romo, M.G., Aragón-Sánchez, M., Román-Fernández, L.R., Sáenz-de-Cabezón, E., Marco-Mancebó, V.S. and Pérez-Moreno, I., 2017.** Temperature-dependent development of *Macrolophus pygmaeus* and its applicability to biological control. *BioControl*, 62(4): 481–493.
- Martinou, A., Seraphides, N. and Stavrinides, M., 2014.** Lethal and behavioral effects of pesticides on the insect predator *Macrolophus pygmaeus*. *Chemosphere*, 96: 167–173.
- Martinou, A.F. and Stavrinides, M.C., 2015.** Effects of Sublethal Concentrations of Insecticides on the Functional Response of Two Mirid Generalist Predators. *PLoS ONE*, 10: (12).
- Maynard, D., 1979.** Nutritional disorders of vegetable crops: A review. *Journal of Plant Nutrition*, 1(1): 1-23.
- Mengel, K., Kirkbiy, E.A., Kosegarten, H. and Appel, T., 2001.** *Principles of Plant Nutrition*. Kluwer Academic Publishers, Dordecht, Boston, London, pp. 537-549.
- Meyling, N.V. and Pell, J.K., 2006.** Detection and avoidance of an entomopathogenic fungus by a generalist insect predator. *Ecological Entomology*, 31: 162–171.
- Michaud, J.P. and Grant, A.K., 2003.** Sub-lethal effects of a copper sulfate fungicide on development and reproduction in three coccinellid species. *Journal of Insect Science*, 3:16.
- Miller, F. and Uetz, S., 1998.** Evaluating biorational pesticides for controlling anthropod pests and their phytotoxic effects on greenhouse crops. *Hort Technology*, 8(2).

- Mills, N., Beers, E., Shearer, P., Unruh, T. and Amarasekare, K., 2016.** Comparative analysis of pesticide effects on natural enemies in western orchards: A synthesis of laboratory bioassay data. *Biological Control*, 102: 17–25.
- Ministry for Primary Industries., 2016.** *Guidance Document: Microbial Agricultural Chemicals*. New Zealand Government.
- Mohamed, A.K.A, Sikorowski, P.P. and Bell, J.V., 1978.** Histopathology of *Nomuraea rileyi* in larvae of *Heliothis zea* and in vitro enzymatic activities. *Journal of Invertebrate Pathology*, 31(3): 345-352.
- Molla´, O., Gonza´lez-Cabrera, J. and Urbaneja, A., 2011.** The combined use of *Bacillus thuringiensis* and *Nesidiocoris tenuis* against the tomato borer *Tuta absoluta*. *BioControl*, 56: 883–891.
- Molla´, O., Monto´n, H., Vanaclocha, P., Beitia, F. and Urbaneja, A., 2009.** Predation by the mirids *Nesidiocoris tenuis* and *Macrolophus pygmaeus* on the tomato borer *Tuta absoluta*. *IOBC/WPRS Bull*, 49: 209–214.
- Moretti, A., Belisario, A., Tafuri, A., Ritieni, A., Corazza, L. and Logrieco, A., 2002.** Production of beauvericin by different races of *Fusarium oxysporum* f. sp. melonis, the Fusarium wilt agent of muskmelon. *European Journal of Plant Pathology*, 108: 661-666.
- Najar-Rodríguez, A.J., Lavidis, N.A., Mensah, R.K., Choy, P.T. and Walter, G.H., 2008.** The toxicological effects of petroleum spray oils on insects – Evidence for an alternative mode of action and possible new control options. *Food and Chemistry Toxicology*, Vol.46: 3003–3014.
- Nannini, M., Atzori, F., Murgia, G., Pesci, R. and Sanna, F., 2012.** Use of predatory mirids for control of the tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) in Sardinian greenhouse tomatoes. *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin*, 42 (2): 255–259.
- National Pesticide Information Center., 2015.** *Bacillus thuringiensis* - General Fact Sheet. National Pesticide Information, Oregon State University.
- Niranjan, C., Chanda, K., Saifullah, K., Ehteshamuddin, S., Choudhary, N., Kumari, C. and Khan, S., 1998.** Effect of copper sulfate on protein and free amino acid concentrations of aquatic beetle *Hydrophilous olivaceous* (Hydrophilidae: Coleoptera). *Environment and Ecology*, 16: 573-578.

- Ortiz-Urquiza, A. and Keyhani, N.O., 2013.** Action on the surface: Entomopathogenic fungi versus the insect cuticle. *Insects*, 4: 357-374.
- Otvos, I. S., Armstrong, H. and Conder, N., 2007.** Safety of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* applications for insect control to humans and large mammals. In: *Proceedings of the 6th Pacific Rim Conference on the Biotechnology of Bacillus thuringiensis and its Environmental Impact*, Érudit, Montréal, pp. 45–60.
- Perdikis, C.Dh. and Lykouressis, D.P., 2000.** Effects of various items, host plants, and temperatures on the development and survival of *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae). *Biological Control*, 17: 55–60.
- Perdikis, C.Dh. and Lykouressis, D.P., 2001-2002.** Description of the egg and nymphal instars of *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae). *Entomologia Hellenica*, 14: 32-40.
- Perdikis, C.Dh. and Lykouressis, D.P., 2002.** Life table and biological characteristics of *Macrolophus pygmaeus* when feeding on *Myzus persicae* and *Trialeurodes vaporariorum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102: 261–272.
- Perdikis, D. and Lykouressis, D., 1999.** Development and mortality of nymphal stages of the predatory bug *Macrolophus pygmaeus* Rambur when maintained at different temperatures and on different host plants. *Bull. IOBC/WPRS*, 22(5): 137-144.
- Perdikis, D.Ch. and Lykouressis, D.P., 2001-2002.** Description of the Egg and Nymphal Instars of *Macrolophus pygmaeus* Rambur (Hemiptera: Miridae). *Entomologia Hellenica*, 14: 32-40.
- Perdikis, D.Ch. and Lykouressis, D.P., 2002a.** Life table and biological characteristics of *Macrolophus pygmaeus* when feeding on *Myzus persicae* and *Trialeurodes vaporariorum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102: 261–272.
- Perdikis, D.Ch. and Lykouressis, D.P., 2002b.** Thermal requirements for development of the polyphagous predator *Macrolophus pygmaeus* (Hemiptera: Miridae). *Environmental Entomology*, 31: 661–667.
- Perdikis, D.Ch. Kapaxidi, E. and Papadoukis, G., 2008.** Biological control of insect and mite pests in greenhouse Solanaceous crops. *The European Journal of Plant Science and Biotechnology*, (1): 125-144.
- Pertot, I., Bilali, E.I., Simeone, H., Vecchione, V., Zulini, A.L., 2006.** Efficacy evaluation and phytotoxicity assessment of traditional and new copper compounds used in copper reduction

- strategies in organic viticulture in northern and southern Italy environments. *Integrated Protection in Viticulture IOBC/wprs Bulletin* Vol. 29(11): 61-65.
- Petry, T., Bury, D., Fautz, R., Hauser, M., Huber, B., Markowitz, A., Mishra, S., Rettinger, K., Schuh, W. and Teichert, T., 2017.** Review of data on the dermal penetration of mineral oils and waxes used in cosmetic applications. *Toxicology Letters*, 280: 70-78.
- Pierce, C.M.F., Solter L.F., Weinzierl, R.A., 2001.** Interactions between *Nosema pyrausta* (Microsporidia: Nosematidae) and *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* in the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae), *Journal of Economic Entomology*, 94: 1361-1368.
- Rachid Rouabhi, 2010.** Introduction and Toxicology of Fungicides, Fungicides. In: Odile Carisse (ed.). InTech, DOI: 10.5772/12967. Available from: <https://www.intechopen.com/books/fungicides/introduction-and-toxicology-of-fungicides>.
- Rehner, S.A. and Buckley, E., 2005.** A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF-x sequences; evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia*, 97(1): 84-98.
- Riehl, L.A. and LaDue, J.P., 1952.** Evaluation of petroleum fractions against California red scale and citrus red mite. *Advances in Chemistry*, 7: 25–36.
- Roditakis, E., Couzin, I.D., Balrow, K., Franks, N.R. and Charnley, A.K., 2000.** Improving secondary pick up of insect fungal pathogen conidia by manipulating host behaviour. *Annals of Applied Biology*, 137(3): 329-335.
- Rouabhi, R., 2010.** *Introduction and Toxicology of Fungicides*. Lardi Tebessi University, Algeria. Chapter 18, p. 363.
- Saedi, S., Damavandian, M.R. and Moghanloo, H.D., 2018.** Laboratory evaluation of the toxicity of mineral oil, Diazinon, Malathion and Chlorpyrifos on ladybird, *Cryptolaemus montrouzieri* Mulsant (Col.: Coccinellidae). *Journal of Crop Protection*, 7(1): 1-11.
- Sandler, Hilary A., 2010.** *Integrated Pest Management*. Cranberry Station Best Management Practices 1(1): 12–15.
- Shipp, J.L., Zhang, Y., Hunt, D.W.A. and Ferguson, G., 2003.** Influence of Humidity and Greenhouse Microclimate on the Efficacy of *Beauveria bassiana* (Balsamo) for Control of Greenhouse Arthropod Pests. *Environmental Entomology*, 32(5): 1154-1163.

- Smith, S.F. and Krischik, V.A., 2000.** Effects of Biorational Pesticides on Four Coccinellid Species (Coleoptera: Coccinellidae) having Potential as Biological Control Agents in Interiorscapes. *Journal of Economic Entomology*, 93(3): 732-736.
- Student., 1908a.** The probable error of a mean. *Biometrika*, 6: 1-25.
- Sukhoruckenko, G.I., Belyakova, N.A., Pazyuk, I.M. and Ivanova, G.P., 2015.** The toxic effect of greenhouse insecticides on the predatory bugs *Nesidiocoris tenuis* Reuter and *Macrolophus pygmaeus* (Heteroptera, Miridae). *Entomological Review*, Vol. 95(9): 1166–1173.
- Technical Evaluation Report, 2015.** Livestock Mineral oil. Pesticide Research Institute for the USDA National Organic Program.
- Thacker, J.M.R., 2002.** *An Introduction to Anthropod Pest Control*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Thungrabeab, M. and Tongma, S., 2007.** Effect of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* (Balsam) and *Metarhizium anisopliae* (Metsch). *KMITL Science and Technology Journal*, Vol. 7 No. S1.
- Tong-Kwee, L., Muhamad, R., Ching, G.F. and Chin, C.L. 1989.** Studies on *Beauveria bassiana* isolated from the cocoa mirid, *Helopeltis theobromae*. *Crop Protection*, 8: 358-362.
- Torres, J.B. and Ruberson, J., 2008.** Interactions of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin in genetically engineered cotton with predatory heteropterans. *Transgenic Research*, 17: 345–354.
- Urbaneja, A., Pascual-Ruiz, S., Pina, T., Abad-Moyano, R., Vanaclocha, P., Monton, H., Dembilio, O., Castanera, P. and Jacas, J.A., 2008.** Efficacy of five selected acaricides against *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and their side effects on relevant natural enemies occurring in citrus orchards. *Pest Management Science*, 64: 834–842.
- US EPA, 2007.** Revised Reregistration Eligibility Decision (RED) Document for the Aliphatic Solvents Case (Mineral Oil and Aliphatic Petroleum Hydrocarbons). *US Environmental Protection Agency*. Washington.
- Van de Veire, M., Sterk, G., Van der Staaij, Ramakers, P.M.J. and Tirry, L., 2002.** Sequential testing scheme for the assessment of the side-effects of plant protection products on the predatory bug *Orius laevigatus*. *BioControl*, 47: 101–113.
- Van Driesche, R.G. and Bellows, T.S., 1996.** *Biological Control*. Chapman and Hall, NY. pp 539.

- Van Emden, H.F. and Peakal, I.D.B., 1996.** *Beyond Silent Spring: IPM and Chemical Safety.*
- Van Lenteren, J.C., 2012.** The state of commercial augmentative biological control: plenty of natural enemies, but a frustrating lack of uptake. *BioControl*, 57: 1–20.
- Van Zwieten, M., Stovold, G. and Van Zwieten, L., 2007.** Alternatives to Copper for Disease Control in the Australian Organic Industry - a report. *Rural Industries Research and Development Corporation.*
- Van-Zwieten, L., Merrington, G. and Van-Zwieten, M., 2004.** Review of impacts on soil biota caused by copper residues from fungicide application. SuperSoil 3rd, *Australian New Zealand Soils Conference*, University of Sydney, p 1-8.
- Vasileiadis, V.P., Veres, A., Loddo, D., Masin, R., Sattin, M. and Furlan, L., 2017.** Careful choice of insecticides in integrated pest management strategies against *Ostrinia nubilalis* (Hübner) in maize conserves Orius spp. in the field. *Crop Protection*, 97: 45-51.
- Von Wright, A., 2011.** Oral toxicity of mineral oils and related compounds - A review. University of Eastern Finland Department of Biosciences Nutritional and Food Biotechnology. Finland.
- W.H.O. Specification for Public Health Pesticides., 2007.** *Bacillus thuringiensis* subspecies israelensis strain AM65-52. *World Health Organization*. Geneva.
- W.H.O., 1999.** Microbial Pest Control Agent: *Bacillus thuringiensis*. Environmental Health Criteria 217. *World Health Organization*. Geneva.
- W.H.O., 2004.** Report of the seventh whopes working group meeting. Review of: VectoBac WG, Permanet, Gokilath-S 5EC. *World Health Organization*. Geneva.
- Ward, G.M., 1976.** Sulphur deficiency and toxicity symptoms in greenhouse tomatoes and cucumbers. *Canadian Journal of Plant Science*, 56: 133-137.
- Ware, G.W., 1999.** *An Introduction to Insecticides*. Department of Entomology University of Arizona. 3rd Edition.
- Ware, G.W., 2000.** *The Pesticide Book*. Thomson Publications, Fresno, California, 5th Edition, p. 415.
- Wearing, C.H., 1988.** Evaluating the IPM implementation process. *Annual Review Entomology*, 33: 17-38.
- Wilcks, A., Hansen, B.M., Hendriksen, N.B. and Licht, T.R., 2006.** Persistence of *Bacillus thuringiensis* bio insecticides in the gut of human-flora-associated rats. *FEMS Immunol. Med.*

Microbiol. 48: 410–418. In: *Hayes Handbook of Pesticide Toxicology*. R. Krieger. Elsevier, 3rd Edition, pp. 119, 2010.

Wilkinson, J.D., Biever, D.K. and Ignoffo, C.M., 1972. Contact toxicity of some chemical and biological pesticides to several insect parasitoids and predators. *Entomophaga*, 20(1): 113-120.

Williams, J.S. and Cooper, R.M., 2004. The oldest fungicide and newest phytoalexin – a reappraisal of the fungitoxicity of elemental sulphur. *Plant Pathology*, 53(3): 263–279.

Xavier, I.J. and Khachatourians, G.G., 1996. Heat-shock response of the entomopathogenic fungus *Beauveria brongniartii*. *Canadian Journal of Microbiology*, 42 (6): 577-585.

Zappala, L., Siscaro, G., Biondi, A., Molla', O., Gonza'lez-Cabrera, J. and Urbaneja, A., 2012. Efficacy of sulphur on *Tuta absoluta* and its side effects on the predator *Nesidiocoris tenuis*. *Journal Applied Entomology*, 136: 401–409.

Zimmermann, G., 2007. Review on safety of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, Vol. 17 (6): 553-596.

Ελληνική βιβλιογραφία

Γεωργόπουλος, Σ.Γ. και Ζιώγας, Β.Ν., 1992. Αρχές και Μέθοδοι Καταπολέμησης των Ασθενειών των Φυτών, *Εκδόσεις Δρ. Β. Ν. Ζιώγας*, Αθήνα.

Εμμανουήλ, Ν.Γ., 2013. Ειδική Γεωργική Ζωολογία. Φυτοφάγα Είδη. Πανεπιστημιακές σημειώσεις, *Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών*, σελ. 55-62.

Ζιώγας, Β.Ν. και Μαρκόγλου, Α.Ν., 2010. Γεωργική Φαρμακολογία. Βιοχημεία, Φυσιολογία, Μηχανισμοί Δράσης και Χρήσεις των Φυτοπροστατευτικών Προϊόντων, Β' Έκδοση, *Εκδόσεις Ν. Ζιώγας και Α. Μαρκόγλου*, Αθήνα.

Λόλας, Π., 2003. Ζιζανιολογία. Ζιζάνια-Ζιζανιοκτόνα, Τύχη και συμπεριφορά στο περιβάλλον. Θεσσαλονίκη, *Εκδόσεις Σύγχρονη παιδεία*, σελ. 163-171.

Λυκουρέσης, Δ., 1991. Αφίδες μηλοειδών-πυρηγόκαρπων-εσπεριδοειδών και η ολοκληρωμένη αντιμετώπισή τους. *Πανεπιστημιακές Παραδόσεις ΓΠΑ*, Αθήνα.

Λυκουρέσης, Δ., 1995. Ολοκληρωμένη αντιμετώπιση εντόμων-εχθρών καλλιεργειών. *Πανεπιστημιακές Παραδόσεις ΓΠΑ*, Αθήνα.

- Παρασκευόπουλος, Α., 2006.** Γενικές αρχές ολοκληρωμένης καταπολέμησης εχθρών & ασθενειών των θερμοκηπιακών καλλιεργειών. Ημερίδα: Σύγχρονες μέθοδοι αντιμετώπισης εχθρών των καλλιεργειών, Εντομολογική Εταιρεία Ελλάδος, Θεσσαλονίκη, *Agrotica* 2006, σελ 16-17.
- Περδίκης, Δ.Χ., 2000.** Μελέτη των βιολογικών παραμέτρων και των τροφικών προτιμήσεων του πολυφάγου αρπακτικού *Macrolophus pygmaeus* Rambur. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- Τσαπικούνης, Φ., 1996.** Βιολογική και ολοκληρωμένη καταπολέμηση στο θερμοκήπιο. *Εκδόσεις Σταμούλης*, σελ 14.
- Φυτιανός, Κ., Βασιλικιώτης, Γ., Καβλέντης, Ε., Λασκαρίδης, Ν., Weil, L., 1983.** *Οργανοχλωριωμένες ενώσεις σε γαλακτοκομικά προϊόντα, μητρικό γάλα, φρούτα και λαχανικά.* Πρακτικά 8ου Πανελληνίου Συνεδρίου Χημείας, 5-10 Δεκεμβρίου 1983, τόμος Β', σελ.404-407.

