



**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΤΩΝ ΦΥΤΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ  
ΟΛΟΚΛΗΡΩΜΕΝΑ ΣΥΣΤΗΜΑΤΑ ΦΥΤΟΠΡΟΣΤΑΣΙΑΣ  
& ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ ΤΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Ανάλυση τοξικότητας εναλλακτικών φυτοπροστατευτικών και αναστολέων της ανθεκτικότητας στον δάκο της ελιάς, και έλεγχος τοξικότητας σκευασμάτων χαλκού έναντι παρασιτοειδών του γένους *Psytalia*

**Μαρία Κ. Μελεσανάκη**

Επιβλέπων καθηγητής:  
Ιωάννης Βόντας, Καθηγητής ΓΠΑ

**ΑΘΗΝΑ  
2024**

**ΓΕΩΠΟΝΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ  
ΤΜΗΜΑ ΕΠΙΣΤΗΜΗΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ  
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΦΑΡΜΑΚΟΛΟΓΙΑΣ**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία**

Ανάλυση τοξικότητας εναλλακτικών φυτοπροστατευτικών και αναστολέων της ανθεκτικότητας στον δάκο της ελιάς, και έλεγχος τοξικότητας σκευασμάτων χαλκού έναντι παρασιτοειδών του γένους *Psytalia*

Toxicity analysis of alternative plant protection agents and resistance inhibitors to olive borer, and toxicity testing of copper preparations against parasitoids of the genus *Psytalia*

**Μαρία Κ. Μελεσανάκη**

Εξεταστική Επιτροπή:

Ιωάννης Βόντας, Καθηγητής Γ.Π.Α. (Επιβλέπων)

Εμμανουήλ Ροδιτάκης, Αναπληρωτής Καθηγητής ΕΛ.ΜΕ.ΠΑ.

Φωτεινή Φλουρή, Λέκτορας Γ.Π.Α.

**Ανάλυση τοξικότητας εναλλακτικών φυτοπροστατευτικών και αναστολέων της ανθεκτικότητας στον δάκο της ελιάς, και έλεγχος τοξικότητας σκευασμάτων χαλκού έναντι παρασιτοειδών του γένους *Psytalia***

ΠΜΣ Ολοκληρωμένα Συστήματα Φυτοπροστασίας & Διαχείρισης του Περιβάλλοντος  
Τμήμα Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής  
Εργαστήριο Γεωργικής Φαρμακολογίας

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η καλλιέργεια της ελιάς πλήττεται από ένα αξιοσημείωτο εντομολογικό εχθρό, τον δάκο της ελιάς (*Bactrocera oleae*). Η έντονη προσβολή του προκαλεί ποιοτική και ποσοτική υποβάθμιση της καλλιέργειας. Για αυτόν τον λόγο, οι έρευνες έχουν επικεντρωθεί στον έλεγχο του πληθυσμού του εντόμου. Η αποτελεσματικότερη μέθοδος καταπολέμησης του εντόμου μέχρι σήμερα είναι η χημική, η οποία εφαρμόζεται με δολωματικούς ψεκασμούς και ψεκασμούς κάλυψης. Ωστόσο, η αλόγιστη χρήση αυτών των μεθόδων έχει οδηγήσει στην ανάπτυξη ανθεκτικών πληθυσμών του δάκου, γεγονός που καθιστά απαραίτητη την παρακολούθηση της ανθεκτικότητας και την ανάπτυξη εναλλακτικών μεθόδων καταπολέμησης. Η παρούσα εργασία επικεντρώνεται στην παρακολούθηση των επιπέδων ανθεκτικότητας του δάκου στις φυτοπροστατευτικές ουσίες που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπισή του. Η έρευνα έδειξε χαμηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στις δραστικές ουσίες **phosmet** και **spinosad**, και υψηλά επίπεδα στη δραστική ουσία λ- **cyhalothrin**. Για την ανάγκη εύρεσης εναλλακτικών μεθόδων καταπολέμησης του δάκου της ελιάς, η έρευνα επικεντρώθηκε στη χρήση βιολογικών σκευασμάτων σε βιοδοκιμές μέσω τροφής. Τα αποτελέσματα αυτών έδειξαν ότι τα σκευάσματα **BPA0441**, **BIO035** και **BPA0581**, σε εφαρμογή αυξημένης δόσης σε σχέση με τη συνιστώμενη, είναι σε θέση να θανατώσουν τον δάκο. Όσον αφορά τους συνεργιστές, το μεγαλύτερο ποσοστό θνησιμότητας των εντόμων παρατηρήθηκε με το **EN-218** σε συνδυασμό με το εντομοκτόνο σκεύασμα **FASTAC**. Τέλος, η έρευνα επικεντρώθηκε στη διερεύνηση της δράσης των σκευασμάτων χαλκού στο παρασιτοειδές του δάκου *Psytalia lounsburyi*. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι, σε αντίθεση με το εντομοκτόνο FASTAC, τα σκευάσματα που δοκιμάστηκαν δεν ήταν τοξικά για το παρασιτοειδές *Psytalia lounsburyi*. Επομένως, τα σκευάσματα χαλκού μπορούν να συνδυαστούν με τη χρήση του παρασιτοειδούς αυτού ως φυσικού εχθρού έναντι του δάκου της ελιάς, με σκοπό τη διαχείριση του πληθυσμού του δάκου.

**Επιστημονική περιοχή:** Εντομολογία

**Λέξεις κλειδιά:** Χαλκός, Ανθεκτικότητα, *Psytalia*

**Toxicity analysis of alternative plant protection agents and resistance inhibitors to olive borer, and toxicity testing of copper preparations against parasitoids of the genus *Psytalia***

*MSc Integrated Plant Protection & Environmental Management Systems*  
*Department of Crop Science*  
*Pesticide Science Laboratory*

**ABSTRACT**

Olive cultivation is affected by a significant entomological enemy, the olive fruit fly (*Bactrocera oleae*). Its severe infestation causes both qualitative and quantitative degradation of the crop. For this reason, research has focused on controlling the insect population. The most effective method of controlling the insect to date is chemical, which is applied through bait sprays and cover sprays. However, the excessive use of these methods has led to the development of resistant populations of the olive fruit fly, making it necessary to monitor resistance and develop alternative control methods. This study focuses on monitoring the levels of resistance of the olive fruit fly to the plant protection substances used against it. The research showed low levels of resistance to the active substances **phosmet** and **spinosad**, and high levels to the active substance  **$\lambda$ -cyhalothrin**. Due to the need to find alternative methods for controlling the olive fruit fly, the research focused on the use of biological preparations in bioassays through feeding. The results showed that the preparations **BPA0441**, **BIO035** and **BPA0581**, when applied at an increased dose compared to the recommended one, are capable of killing the olive fruit fly. Regarding the synergists, the highest insect mortality rate was observed with **EN-218** in combination with the insecticide preparation FASTAC. Finally, the research focused on investigating the action of copper preparations on the olive fruit fly parasitoid *Psytalia lounsburyi*. The results showed that, unlike the insecticide FASTAC, the tested copper preparations were not toxic to the parasitoid *Psytalia lounsburyi*. Therefore, copper preparations can be combined with the use of this parasitoid as a natural enemy against the olive fruit fly for the management of its population.

**Scientific area:** Entomology

**Keywords:** Copper, Resistance, *Psytalia*

## ΔΗΛΩΣΗ ΕΡΓΟΥ

Η κάτωθι υπογεγραμμένη, Μαρία Μελεσανάκη δηλώνω ότι το κείμενο της μελέτης αποτελεί δικό μου, μη υποβοηθούμενο πόνημα. Υποβάλλεται σε μερική εκπλήρωση των απαιτήσεων για την απόκτηση του Μεταπτυχιακού Διπλώματος Ειδίκευσης «Ολοκληρωμένα Συστήματα Φυτοπροστασίας και Διαχείρισης του Περιβάλλοντος» του Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών. Δεν έχει υποβληθεί ποτέ πριν για οποιοδήποτε λόγο ή για εξέταση σε οποιοδήποτε άλλο πανεπιστήμιο ή εκπαιδευτικό ίδρυμα της χώρας ή του εξωτερικού.

Με την άδειά μου, η παρούσα εργασία ελέγχθηκε από την Εξεταστική Επιτροπή μέσα από λογισμικό ανίχνευσης λογοκλοπής που διαθέτει το ΓΠΑ και διασταυρώθηκε η εγκυρότητα και η πρωτοτυπία της.

Μαρία Κ. Μελεσανάκη

## **ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ**

Θα ήθελα να εκφράσω τις ειλικρινείς μου ευχαριστίες στον Επιβλέποντα Καθηγητή κύριο Βόντα Ιωάννη που μου έδωσε την ευκαιρία να εργαστώ στο εργαστήριο του και καταφέραμε να φέρουμε εις πέρας αυτό το έργο.

Ακόμη, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Δρ. Αναστασία Καμπουράκη για τις πολύτιμες συμβουλές τους καθώς και για την επιστημονική υποστήριξη για την ολοκλήρωση αυτή της εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον συμφοιτητή μου Γιάννη Πυργιανάκη για την βοήθεια της εφαρμογής των πειραμάτων και την ψυχολογική ενθάρρυνση από την πρώτη ως και την τελευταία ημέρα αυτού του έργου.

Θα ήθελα επίσης να απευθύνω ένα μεγάλο ευχαριστώ σε όλους τους ζερευνητές του εργαστηρίου Μοριακής Βιολογίας στο Ηράκλειο Κρήτης που βοήθησαν να επιτελέσω το έργο μου.

Τέλος, ένα μεγάλο ευχαριστώ στους γονείς μου, για τις δύσκολες στιγμές που μου συμπαραστάθηκαν, αλλά και για όλες τις ευχάριστες που ήταν δίπλα μου όλα αυτά τα χρόνια.

## Περιεχόμενα

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ.....	4
ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ .....	5
ΕΞΑΠΛΩΣΗ, ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ .....	6
ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ.....	7
ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ.....	8
Προληπτικά μέτρα αντιμετώπισης.....	9
Χημικά μέτρα αντιμετώπισης .....	10
Άλλα μέτρα αντιμετώπισης.....	14
Βιολογικά μέτρα αντιμετώπισης.....	17
ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΗ ΣΧΕΣΗ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ.....	24
<i>Candidatus Erwinia dacicola</i> και <i>Bactrocera oleae</i> .....	24
Χαλκός.....	25
ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ .....	27
Διαχείριση ανθεκτικότητας.....	29
ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ.....	30
ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ .....	32
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ.....	33
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	33
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ .....	35
Συλλογή άγριων πληθυσμών και διατήρηση στο εργαστήριο .....	35
Εκτροφή εργαστηριακού πληθυσμού .....	35
Μεθοδολογία βιοδοκιμών τοπικής εφαρμογής.....	35
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	37
Πληροφορίες πληθυσμών <i>Bactrocera olea</i> που προκύπτουν από το ιστορικό των επεμβάσεων.....	37
Βιοδοκιμές διαγνωστικής δόσης.....	37
Βιοδοκιμές πλήρους δόσης .....	38
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	39
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΒΙΟΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΩΝ ΣΤΟΝ ΔΑΚΟ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ.....	42
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	42
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	43
Συλλογή πληθυσμών <i>Bactrocera oleae</i> .....	43
Βιοδοκιμές τοξικότητας μέσω της τροφής .....	43
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	45
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	46

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΧΑΛΚΟΥ ΣΤΟ ΠΑΡΑΣΙΤΟΕΙΔΕΣ <i>Psytalia lounsburyi</i> .....	48
ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	48
ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	49
Εκτροφή εργαστηριακού πληθυσμού <i>Psytalia lounsburyi</i> .....	49
Μεθοδολογία βιοδοκιμών τοξικότητας με σκευάσματα χαλκού.....	49
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	50
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ .....	51
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	53
ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	53
ΑΓΓΛΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	53



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΕΙΣΑΓΩΓΗ

### ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ

Ο δάκος της ελιάς *Bactrocera oleae*, ανήκει στην τάξη Diptera και στην οικογένεια Tephritidae. Ο Gmelin κατέταξε πρώτος τον δάκο της ελιάς δίνοντας του την ονομασία *Musca oleae* (1790). Στην πάροδο του χρόνου κατατάχθηκε ως *Dacus* (*Daculus*) *oleae*, *Dacus* (*Polistominetes*) *oleae* και *Daculus oleae*, για να καταλήξει στο όνομα, *Bactrocera oleae* (Drew, 1989). Κατά White and Elson- Haris (1992) η συστηματική κατάταξη του δάκου έχει ως εξής:

Πίνακας 1.1: Συστηματική κατάταξη του δάκου της ελιάς (Fauna Europea, 2022).

<b>ΦΥΛΟ</b>	Arthropoda
<b>ΥΠΟΦΥΛΟ</b>	Atelocerata
<b>ΚΛΑΣΗ</b>	Insecta
<b>ΥΠΟΚΛΑΣΗ</b>	Neoptera
<b>ΔΙΑΙΡΕΣΗ</b>	Holometabola
<b>ΤΑΞΗ</b>	Diptera
<b>ΥΠΟΤΑΞΗ</b>	Brachycera
<b>ΔΙΑΙΡΕΣΗ</b>	Schizophora
<b>ΤΜΗΜΑ</b>	Acalyptratae
<b>ΥΠΕΡΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ</b>	Tephritoidae
<b>ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ</b>	Tephritidae
<b>ΥΠΟΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ</b>	Dacinae
<b>ΓΕΝΟΣ</b>	Bactrocera
<b>ΥΠΟΓΕΝΟΣ</b>	Daculus
<b>ΕΙΔΟΣ</b>	Oleae

## ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ

Ο δάκος *Bactrocera oleae* ανήκει στην Οικογένεια Tephritidae και πρόκειται για ένα ολομετάβολο έντομο, υπό την έννοια ότι υπόκειται κατά τη διάρκεια της ζωής του σε πλήρη μεταμόρφωση. Ειδικότερα τα στάδια ζωής του δάκου είναι το αυγό, η προνύμφη, η νύμφη και τελευταίο το ακμαίο, αποτελώντας την ενήλικη μορφή του εντόμου (Εικόνα 1.1). Η νύμφη βρίσκεται ηλικιακά μεταξύ της τελευταίας μορφής της προνύμφης του δάκου και του ακμαίου, καθώς στο στάδιο αυτό πραγματοποιείται η διαδικασία της ιστόλισης των εσωτερικών οργάνων και των ιστών, τα οποία εξελίσσονται στα όργανα και στους ιστούς του ακμαίου, δηλαδή της ενήλικης μορφής του (Εικόνα 1.2) (Τζανακάκης, 1995).



Εικόνα 1.1: Δάκος της ελιάς (*Bactrocera oleae*)

Το ωό του δάκου έχει σχήμα ελλειψοειδές, λευκού χρώματος και μεγέθους το οποίο κατά προσέγγιση είναι 0,8 mm. Η προνύμφη (larva) τρίτου σταδίου έχει μήκος 6-7 mm, είναι άποδη και έχει χρώμα λευκό. Δεν έχει κεφαλική κάψα και τα στοματικά μέρη είναι ιγναθικά άγκιστρα. Μάλιστα, χαρακτηριστικό στοιχείο των δίπτερων είναι ότι έχουν τρία προνυμφικά στάδια. Η νύμφη (pupa) έχει κυλινδρικό σχήμα με 4- 5mm μήκος. Στην αρχή έχει χρώμα λευκό, όμως με την πάροδο του χρόνου αποκτά καστανό-κίτρινη, απόχρωση. Ητέλεια μορφή του δάκου μπορεί να φτάσει το μέγεθος των 4-5mm με κίτρινο- κόκκινη κεφαλή, με σύνθετους κυανοπράσινους οφθαλμούς και με δύο κηλίδες κάτω από τις κεραίες. Οι πτέρυγες είναι υαλώδεις και στην κορυφή έχουν μικρή καστανή κηλίδα ως χαρακτηριστικό γνώρισμα του ενήλικου δάκου (Drew, 1989). Τα θηλυκά έντομα είναι ευδιάκριτα σε σύγκριση με το αρσενικό φύλο εξαιτίας

του ωοθήτη τους, ο οποίος έχει μήκος 1mm περίπου (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Στη χώρα μας ανάλογα την περιοχή διαχειμάζει ως ενήλικο σε προφυλαγμένες θέσεις ή ως νύμφη στο έδαφος, ενώ έχει 3-4 γενεές το έτος (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Κατά το πέρας του χειμώνα ξεκινά η διαδικασία της εξόδου των ακμαίων, τα οποία διατρέφονται από μελιτώδη εκκρίματα που βρίσκονται στα φυτά. Τα ακμαία διαχειμάζουν ως την περίοδο του καλοκαιριού, μέχρι να αρχίζουν τα θηλυκά να ωοτοκούν στον καρπό της ελιάς. Συνήθως το θηλυκό εισάγει στο μεσοκάρπιο του καρπού της ελιάς ένα αυγό (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Επίσης, ένα θηλυκό έντομο του δάκου μπορεί να εναποθέσει μέχρι και 400 αυγά καθ'όλη τη διάρκεια της ζωής του, με ημερήσια εναπόθεση 12 αυγών στον καρπό (Katsoyannos, 1992).

## ΕΞΑΠΛΩΣΗ, ΒΙΟΛΟΓΙΚΟΣ ΚΥΚΛΟΣ



Εικόνα 1.2: Μορφολογικά στάδια του δάκου *Bactrocera oleae* (Χρυσοπουλίδου, 2018)

Ο δάκος έχει εξαπλωθεί σε διάφορες περιοχές του κόσμου όπως το Μεξικό της Κεντρικής Αμερικής, στη Καλιφόρνια των ΗΠΑ καθώς και στη Μέση Ανατολή με την Κεντρική Αφρική, ενώ αρκετά διαδεδομένος είναι στις Μεσογειακές χώρες (Rice, 2000, Nardi, 2005). Ο βιολογικός κύκλος του δάκου επηρεάζεται από τις εκάστοτε επικρατούσες περιβαλλοντικές συνθήκες με βασικότερους παράγοντες την υγρασία και την θερμοκρασία. Έρευνες έχουν δείξει ότι ο δάκος έχει 3 με 4 γενιές το έτος, ενώ η πιο ευνοϊκή θερμοκρασία για το έντομο αυτό είναι 20 με 28 °C. Σε ακραίες θερμοκρασίες μεγαλύτερες από 30 °C είναι πιθανή η θανάτωση των ωών και των προνυμφών του δάκου, ενώ σε ακόμη πιο ακραίες θερμοκρασίες, μεγαλύτερες των 35

°C, σημειώνεται υπάρχει αδράνεια του εντόμου. Αναφορικά για την ανάπτυξη του εντόμου ισχύει ότι απαιτούνται κατά χρειάζονται περίπου 6 ημέρες ζωής για την εκκόλαψη του ωού, 13 ημέρες για τηνπλήρη ανάπτυξη της προνύμφης και 9 ημέρες προκειμένου η νύμφη να φτάσει στην ενήλικη μορφή της και να χαρακτηριστεί ως ακμαίο. Η θερμοκρασία, ακόμη, καθορίζει και την μορφή του δάκου η οποία θα διαχειμάσει ως νύμφη ή ακμαίο στο εσωτερικό των καρπών της ελιάς ή στο έδαφος και έρευνες έχουν δείξει να διαχειμάζει ως προνύμφη σε προσβεβλημένους καρπούς της ελιάς σε ήπιες εδαφοκλιματικές συνθήκες (Γιαμβριάς, 1998). Οι πρώτες προσβολές εντοπίζονται μεταξύ Ιουνίου και Ιουλίου, ενώ η ωοτοκία ξεκινάει τη στιγμή που ο καρπός της ελιάς μαλακώνει ούτως ώστε να μπορέσει το θηλυκό να τρυπήσει με τον ωοθέτη του την επιφάνεια του καρπού (Εικόνα 1.3). Αφού λάβει τέλος η ωοθεσία, η προνύμφη ορύσσει στοά εντός του καρπού της ελιάς εισάγοντας ένα ωό. Βέβαια, αξιοσημείωτο είναι ότι υπάρχουν και περιπτώσεις με αυξημένη πληθυσμιακή πυκνότητα κατά τις οποίες ηεναπόθεση των ωών είναι μεγαλύτερη από ένα ωό ανά καρπό (Εικόνα 1.4). Το νύγμα του ωοθέτη στον καρπό της ελιάς έχει χαρακτηριστική τριγωνική μορφή και η εναπόθεση των ωών θα συνεχιστεί μέχρις ότου παρουσιαστεί μείωση της θερμοκρασίας το φθινόπωρο (Preu et al., 2020). Η πέψη του ελαιοκάρπου από την προνύμφη πραγματοποιείται με τη βοήθεια συμβιωτικών βακτηρίων στον πεπτικό σωλήνα. Η διατροφή των ακμαίων περιλαμβάνει μελιτώδεις εκκρίσεις οι οποίες παράγονται από ορισμένα έντομα ή εκκρίνονται από φυτά (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003).



Εικόνα 1.3: Προσβεβλημένες ελιές από τον δάκο της ελιάς(Michelakis,1978)

### **ΟΙΚΟΝΟΜΙΚΗ ΣΗΜΑΣΙΑ**

Σήμερα, η παραγωγή ελαιολάδου αποτελεί σημαντικό στοιχείο της μεσογειακής κουζίνας (Delgado, 2000). Αυτό καθ' αυτό ως γεγονός διαπιστώνεται κυρίως κατά το έτος 2018, όπου η παγκόσμια παραγωγή της ελιάς έφτασε τους 21,06 εκατομμύρια τόνοι στις χώρες της Ισπανίας, της Ιταλίας, της Ελλάδας, της Τουρκίας, του Μαρόκο,

της Αιγύπτου, της Συρίας και της Τυνησίας. Υπάρχουν 274,982 ελαιόδεντρα που καλύπτουν έκταση 1.890 εκτάρια (FAO, 2020). Πολυάριθμοι είναι οι παράγοντες που δύνανται να προκαλέσουν, είτε άμεσα είτε έμμεσα ζημιές τόσο στην απόδοση, όσο και στην ποιότητα της ελαιοπαραγωγής. Η συνολική ζημιά που προκαλείται από αυτούς τους παράγοντες εκτιμάται ότι είναι ~30%, εκ των οποίων το 15% προκαλείται από έντομα εχθρούς (Bueno, 2002). Ο δάκος της ελιάς αποτελεί βασικό εχθρό του καρπού της ελιάς, ο οποίος σε περιοχές με ήπια προσβολή προκαλεί υποβάθμιση με ποσοστό 20-30%, ενώ όταν η προσβολή είναι έντονη μπορεί να προκαλέσει ποσοστό ζημιάς έως και 80% σε καλλιέργειες που αξιοποιούνται για το ελαιόλαδο και 100% σε περιοχές με καλλιέργειες επιτραπέζιων ποικιλιών ελιάς (Tozlu, 2011). Ο δάκος προκαλεί κατά μέσο όρο απώλεια βάρους 0,161 g ανά καρπό, ενώ αυξάνει την περιεκτικότητα σε οξύ στο εκχυλισμένο λάδι (Çakıcı, 1982).



Εικόνα 1.4: Θηλυκός δάκος κατά την ωοαπόθεση ωαρίων στην ελιά (Wang, 2009).

## ΚΑΤΑΠΟΛΕΜΗΣΗ

Οι εφαρμογές που πραγματοποιούνται έως σήμερα βασίζονται κατά κόρον σε χημικά μέσα. Η χημική αντιμετώπιση περιλαμβάνει τους εν πολλοίς γνωστούς δολωματικούς ψεκασμούς, τη μαζική παγίδευση του δάκου, καθώς επίσης και τους ψεκασμούς πλήρους κάλυψης των καλλιεργούμενων δέντρων σκοπώντας στην αποτελεσματική προστασία τους. Επιπλέον, μια ανερχόμενη μέθοδος που αξιοποιείται τα τελευταία χρόνια ως χημική αντιμετώπιση αποτελεί το ψέκασμα με μη επανδρωμένο ιπτάμενο όχημα (αγγλιστί: drone). Κάτωθι επρόκειτο να παρουσιαστούν αναλυτικά τα προληπτικά μέτρα αντιμετώπισης του εντόμου, δίχως να παραληφθεί σχετική αναφορά τόσο στα καλλιεργητικά μέτρα που εφαρμόζονται σε τέτοιες περιπτώσεις

όσο και στην παρακολούθηση του πληθυσμού του δάκου με σκοπό την επιτυχή εξάλειψή του.

## **Προληπτικά μέτρα αντιμετώπισης**

### Καλλιεργητικά μέτρα

Άξιο αναφοράς είναι πως οι σύγχρονες μελέτες κάνουν λόγο σχετικά με τα καλλιεργητικά μέτρα που οφείλει να λαμβάνει ο ελαιοκαλλιεργητής. Πιο συγκεκριμένα, συστήνεται να διενεργείται πρόωμη συγκομιδή του ελαιόκαρπου και κατόπιν να πραγματοποιούνται σχετικός έλεγχος καθώς και συλλογή των καρπών της ελιάς που δεν έχουν συγκομιστεί, έτσι ώστε οι εν λόγω καρποί να μην αποτελούν εστίες ανάπτυξης. Άλλο ένα μέτρο είναι η ελεγχόμενη χρήση νερού άρδευσης δεδομένου ότι έχει βρεθεί πως σε αρδευόμενες καλλιέργειες ο πληθυσμός του δάκου μπορεί είναι αρκετά υψηλότερος, από ό,τι σε ένα ξηρικό ελαιώνα (Θερίος, 2015, ΥΠΑΤ, 2017).

### Παρακολούθηση πληθυσμού



**Εικόνα1.5: Παγίδα McPhail τοποθετημένη σε ελαιώνα (Θέριος, 2015).**

Η παρακολούθηση του πληθυσμού του δάκου αποτελεί μια ιδιαίτερα σημαντική μέθοδος διαχείρισης του, καθώς βάσει αυτής προσδιορίζεται ο χρόνος επέμβασης. Κατ' αυτόν τον τρόπο, ισχύει ότι η παρακολούθηση του πληθυσμού σε συνάρτηση με την πυκνότητα του εντόμου καθορίζουν και την μέθοδο της επέμβασης που επρόκειτο να είναι πιο αποτελεσματική στην εκάστοτε περίπτωση. Μέχρι σήμερα έχουν χρησιμοποιηθεί παγίδες διάφορων τύπων, οι οποίες έχουν στο εσωτερικό τους ένα η

περισσότερα προσελκυστικά. Η πιο διαδεδομένη παγίδα για την μελέτη του πληθυσμού του δάκου αποτελεί η παγίδα τύπου McPhail που περιέχει ελκυστικές ουσίες, θειική αμμωνία (2-3%) ή υδρολυμένη πρωτεΐνη σε συνδυασμό με βόρακα ως συντηρητικό (Εικόνα 1.5). Η παγίδα τοποθετείται από αρχές άνοιξης έως την περίοδο συγκομιδής, προσελκύνοντας τα ενήλικα άτομα (Doitsidis, 2017). Κατά τον έλεγχο των παγίδων πραγματοποιείται απαραίτητα ο διαχωρισμός σε επίπεδο φύλου. Όταν ο αριθμός συλλήψεων ανά παγίδα και εβδομάδα παρατηρείται αυξημένος (ενδεικτικά 5 έως 10 συλλήψεις αναλόγως την ποικιλία, την περιοχή κ.ο.κ.), πιθανώς να κρίνεται αναγκαία η εφαρμογή διαφορετικών μεθόδων αντιμετώπισης της δακοπροσβολής στους ελαιώνες, όπως για παράδειγμα εκείνης της χημικής αντιμετώπισης.

### **Χημικά μέτρα αντιμετώπισης**

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η αντιμετώπιση περιλαμβάνει και την χημική καταπολέμηση η οποία θεωρείται αρκετά αποτελεσματική και συγχρόνως ως μία ευρεία μέθοδος εφαρμογής προκειμένου να εξαλειφθεί επιτυχώς η εκάστοτε καίρια συνθήκη. Η μέθοδος αυτή περιλαμβάνει τους δολωματικούς ψεκασμούς και τους ψεκασμούς πλήρους κάλυψης δέντρων. Ειδικότερα, σύμφωνα με το Εθνικό Πρόγραμμα Ψεκασμών, προκειμένου να επιτευχθεί η καταπολέμηση του δάκου γίνεται χρήση οργανοφωσφορικών ουσιών, πυρεθρινοειδή, σπινωσίνες και νεονικοτινοειδή εντομοκτόνα. Οι δραστικές ουσίες που εφαρμόζονται από το ΥΠΑΑΤ κατά το έτος 2024 είναι Acetamiprid, deltamethrin, lambda-cyhalothrin, spinosad, και cyantraniliprole (ΥΠΑΑΤ, 2024). Οι ουσίες αυτές στοχεύουν στις φυσιολογικές και κυτταρικές λειτουργίες των εντόμων (Εικόνα 1.6).

Τα οργανοφωσφορικά διαθέτουν την ικανότητα να δεσμεύουν τον ενεργό δαχτύλιο της ακετυλοχολινεστεράσης. Η ακετυλοχολινεστεράση αποτελεί ένα από τα βασικά ένζυμα του κεντρικού νευρικού συστήματος του δάκου (Ζιώγας, 2010). Κατά τη χρήση ενός οργανοφωσφορικού εντομοκτόνου ουσιαστικά το εντομοκτόνο αυτό προσκολλάται πάνω στη χολινεστεράση με αποτέλεσμα να διαταράσσεται η λειτουργία της επηρεάζοντας το νευρικό σύστημα των εντόμων προκαλώντας παράλυση (Καπετανάκης 2002).

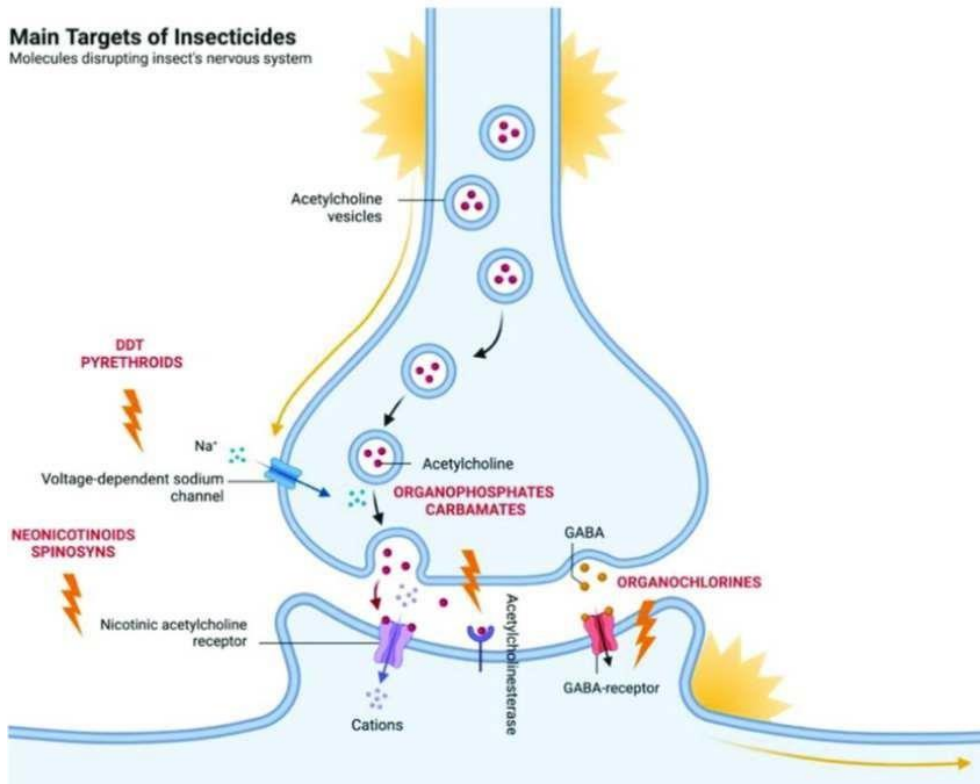
Ακόμη, τα πυρεθροειδή αποτελούν μια επιπλέον κατηγορία φαρμάκων η οποία χρησιμοποιείται για την καταπολέμηση του δάκου στους ελαιώνες, παρόλο που ως φάρμακα διαθέτουν μικρότερη τοξικότητα έναντι των εντόμων εν αντιθέσει με τα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα. Η χρήση αυτών των σκευασμάτων επηρεάζει το νευρικό σύστημα των εντόμων και συγκεκριμένα, τα νευρικά κύτταρα στο εσωτερικό του με αποτέλεσμα να επιβραδύνονται οι αντιδράσεις των οργάνων του δάκου απέναντι στα ερεθίσματα που δέχεται (Ζιώγας, 2010). Στη χημική ομάδα των πυρεθροειδών ανήκουν οι δραστικές ουσίες lambda-cyhalothrin και deltamethrin.

Περαιτέρω, οι σπινοςίνες διαθέτουν την ικανότητα να επιδρούν στο νευρικό σύστημα των εντόμων του δάκου της ελιάς και πιο συγκεκριμένα, στους νικοτινικούς υποδοχείς. Τα σκευάσματα αυτά δρουν με τέτοιο τρόπο ώστε να επηρεάζουν τη μεταφορά του ερεθίσματος στο νευρικό σύστημα των εντόμων, με αποτέλεσμα τα έντομα να οδηγούνται στην παράλυση και στη μετέπειτα θανάτωσή τους. Σε αυτήν την κατηγορία ανήκουν οι δραστικές ουσίες ονόματι spinosad, spinetoram και spirotetramat.

Όσον αφορά τα νεονικοτινοειδή, ως εντομοκτόνα δρουν εντελώς διαφορετικά σε σύγκριση με τις υπόλοιπες κατηγορίες σκευασμάτων. Πιο συγκεκριμένα, διαθέτουν την ικανότητα να αναστέλλουν τη μετάδοση των νευρικών σημάτων των εντόμων, καταλαμβάνοντας τη θέση της ακετυλοχολίνης στους υποδοχείς του νευρικού συστήματος. Με την πάροδο του χρόνου τα έντομα έχουν διαταραχθεί νευρικά, εμφανίζουν νευροτοξικότητα και θανατώνονται (Ζιώγας, 2010). Η δραστική ουσία acetamiprid ανήκει σε αυτήν τη κατηγορία.

Επίσης, το σκεύασμα με δραστική ουσία cyantraniliprole διαθέτει έναν νέο τρόπο δράσης, ο οποίος στοχεύει στην ενεργοποίηση των υποδοχέων ρυανοδίνης των εντόμων. Ο συγκεκριμένος τρόπος προκαλεί την απελευθέρωση ασβεστίου στους μύες των εντόμων, ως αποτέλεσμα να αναστέλλεται η δράση των εντόμων και κατ' επέκταση να επέρχεται σταδιακή παράλυση αυτών καταλήγοντας στη θανάτωσή τους.





Εικόνα 1.6: Σχηματική αναπαράσταση των κύριων στόχων και κατηγοριών εντομοκτόνων που διαταράσσουν το νευρικό σύστημα των εντόμων. Απεικονίζονται οι κοινοί μοριακοί στόχοι συμπεριλαμβανομένων (α) εξαρτώμενων από την τάση διαύλων νατρίου (voltage dependent sodium channel), (β) ακετυλοχολινεστεράσης (acetylcholinesterase), (γ) υποδοχέων GABA (GABA receptor) και (δ) υποδοχέων νικοτινικής ακετυλοχολίνης (nicotinic acetylcholine receptor). Αντιπροσωπεύονται επίσης, οι κύριες κατηγορίες εντομοκτόνων που δρουν σε αυτούς τους στόχους και περιλαμβάνουν πυρεθροειδή (pyrethroids), DDT, οργανοφωσφορικά (organophosphates), καρβαμιδικά (carbamates), οργανοχλωρίδια (organochlorines), σπινოსύνες (spinosyns) και νεονικοτινοειδή (neonicotinoids). Αυτά τα εντομοκτόνα προκαλούν παράλυση και τον θάνατο του εντόμου, διαταράσσοντας το νευρικό σύστημα (Araujo, 2023).

### Δολωματικοί ψεκασμοί

Οι δολωματικοί ψεκασμοί σκοπούν στην προσέλκυση των εντόμων της καλλιέργειας με αποτέλεσμα όταν έλθουν σε επαφή με το ψεκαστικό υγρό, να οδηγούνται ακαριαία στη θανάτωση. Το ψεκαστικό υγρό περιέχει εντομοκτόνο καθώς και προσελκυστική ουσία με απώτερο στόχο τη στιγμή που ο δάκος περιπλανάται, να πλησιάσει έχοντας τον ίδιο την πεποίθηση ότι θα τραφεί ενώ στην πραγματικότητα οδηγείται στη θανάτωση. Μάλιστα, οι εν λόγω ψεκασμοί χαρακτηρίζονται ως η κύρια χημική μέθοδος αντιμετώπισης του δάκου της ελιάς. Είναι αξιοσημείωτο ότι αυτού του είδους οι ψεκασμοί εφαρμόζονται με ψεκαστήρες εδάφους από τα μέσα της δεκαετίας του 1970. Είχε γίνει προσπάθεια εφαρμογής αεροψεκασμών με τη βοήθεια ειδικών ψεκαστικών αεροπλάνων ή/και ελικοπτέρων, δίχως όμως να υπήρχε περαιτέρω εξέλιξη της εφαρμογής αυτής, εξαιτίας τόσο του αλόγιστου οικονομικού κόστους όσο και της

μόλυνσης του περιβάλλοντος. Επομένως, εδραιώθηκε η εφαρμογή αυτή με ψεκασθήρες εδάφους μέχρι και σήμερα δίνοντας περισσότερη έμφαση στον κατάλληλο χρόνο εφαρμογής τους καθώς αποτελεί τον μεγαλύτερο παράγοντα που καθορίζει την αποτελεσματικότητα της επέμβασης αυτής (Williams, 2003). Καίριο αποτελεί το γεγονός ότι κρίνονται σημαντικά η ορθή εφαρμογή του πρώτου ψεκασμού καθώς επίσης και ο χρόνος επέμβασής του. Αυτό συμβαίνει διότι προκειμένου να σημειωθεί αποτελεσματική επέμβαση, δεν θα πρέπει να είναι αρκετά έντονη η προσβολή στο εσωτερικό του καρπού της ελιάς. Έτσι, κατά τον πρώτο ψεκασμό είναι απαραίτητο να ληφθούν υπόψιν:

- Γονιμότητα θηλυκών εντόμων του δάκου με ώριμες ωοθήκες.
- Αναλογία φύλλων μεταξύ θηλυκών και αρσενικών εντόμων.
- Καταλληλότητα καρπού για εναπόθεση αυγών.
- Πυκνότητα πληθυσμού του εντόμου, ο οποίος ελέγχεται με την χρήση γυάλινων παγίδων McPhail ανά 100 δέντρα ελαιώνων. Ο μέσος όρος συλλήψεων για 5 ημέρες να είναι από 5-20 άτομα.
- Είδος καρπού, μέσο βάρος του ελαιόκαρπου για εναπόθεση ωών του εντόμου, μέγεθος καρπού.
- Κατάλληλες καιρικές συνθήκες θερμοκρασίας και υγρασίας.
- Ποσοστό καρποφορίας (Agaujo, 2023).

Γενικότερα, ο χρόνος εφαρμογής των ψεκασμών διαφέρει ανάλογα την περιοχή, την ποικιλία της ελιάς, καθώς και την εμπορική χρήση της. Σε περιοχές οι οποίες έχουν υψηλά ποσοστά δακοπροσβολής κατά τη διάρκεια των χρόνων, πιθανόν να χρειαστεί επανάληψη του ψεκασμού (Ζιώγας, 2010). Σημαντική εφαρμογή, επίσης, αποτελεί και ο τελευταίος ψεκασμός καθώς θα πρέπει υποχρεωτικά να πραγματοποιηθεί 20-30 ημέρες πριν τη συγκομιδή, προκειμένου να αποφευχθούν τυχόν προβλήματα υπολειμματικότητας. Και το στάδιο ωριμότητας των καρπών κρίνεται σημαντικό καθώς αν υπάρχει αφυδάτωση ο καρπός θα έχει συρρικνωθεί και δεν είναι προσελκυσίμος από τον δάκο της ελιάς (Williams, 2003).

### Ψεκασμοί κάλυψης

Η μέθοδος αυτή εφαρμόζεται από κάθε παραγωγό μεμονωμένα, θέτοντας ως κύριο στόχο την κάλυψη της κόμης των δέντρων με το ψεκαστικό διάλυμα έτσι ώστε να θανατωθούν οι δάκοι. Πολλές φορές, οι παραγωγοί αξιοποιούν τη μέθοδο αυτή ιδιαίτερα σε περιοχές που δεν εφαρμόζεται το πρόγραμμα δακοκτονίας από το

Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης. Ακόμη, χρήζει έγκαιρης ανάγκης η εφαρμογή της μεθόδου αυτής αφ' ης στιγμής διαπιστωθεί γόνιμη προσβολή του καρπού της ελιάς, με την ύπαρξη στο εσωτερικού του καρπού αυγών, προνύμφων, πλαγγόνων ή προνυμφικών στοών σε ποσοστό 2-4% του ελαιόκαρπου. Στους ψεκασμούς κάλυψης χρησιμοποιούνται συνήθως σκευάσματα αξιοποιώντας περίπου 150 λίτρα διαλύματος ψεκαστικού υγρού ανά στρέμμα (Katsoyannos, 2003). Σε πολυάριθμες περιοχές έχει κριθεί απαραίτητο να πραγματοποιηθούν από 2 έως και 4 θεραπευτικοί ψεκασμοί για την προστασία της ελαιοπαραγωγής από την προσβολή του δάκου. Οι ψεκασμοί αυτοί εφαρμόζονται στο διάστημα μεταξύ Σεπτεμβρίου και Οκτωβρίου, αναλόγως το είδος της ποικιλίας, το ποσοστό προσβολής, καθώς και τις καιρικές συνθήκες που ευνοούν την έξαρση του δάκου στην ελιά. Εκτός από την υπολειμματικότητα, οι ψεκασμοί αυτοί δημιουργούν προβλήματα και στο περιβάλλον για αυτό θα πρέπει να εφαρμόζονται με σχολαστικότητα καθώς δημιουργούν τον κίνδυνο θανάτωσης των ωφέλιμων μικροοργανισμών και ειδικά τα παράσιτα των κοκκοειδών με αποτέλεσμα να ενδέχεται η έξαρση των κοκκοειδών όπως για παράδειγμα το λεκάνιο (Ζιώγας, 2010).

## **Άλλα μέτρα αντιμετώπισης**

### Μαζική παγίδευση

Η τεχνική της μαζικής παγίδευσης στοχεύει στην προσέλκυση και στη θανάτωση των εντόμων, η οποία επιτυγχάνεται με τη χρήση παγίδων. Υπάρχουν ποικίλες παγίδες που διαφέρουν ως προς την εκλεκτικότητα και την ελκυστικότητά τους με τον εξής τρόπο:

- Οπτική προσέλκυση ανάλογα το χρώμα, το μέγεθος και το σχήμα.
- Οσφρητική προσέλκυση ανάλογα την τροφή ή την φερομόνη.

Βέβαια, στο εμπόριο υπάρχουν παγίδες οι οποίες συνδυάζουν και τις δύο παραμέτρους, ωστόσο προκειμένου να αξιοποιηθεί με αποτελεσματικότητα η τεχνική της μαζικής παγίδευσης είναι σημαντικό να χρησιμοποιούνται παγίδες υψηλής εκλεκτικότητας, με στόχο να προσελκύουν τον δάκο και όχι τα ωφέλιμα έντομα σε έναν ελαιώνα. Άξιο αναφοράς είναι ότι τα τελευταία χρόνια οι κολλητικές κίτρινες παγίδες έχουν πάψει να χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση του δάκου. Αυτό συμβαίνει, γιατί στις εν λόγω παγίδες είχε παρατηρηθεί ελάχιστη προσέλκυση του δάκου (κυρίως αρσενικού γένους), ενώ ταυτόχρονα προσελκύονταν και μια γκάμα ωφέλιμων εντόμων.

Τα τελευταία χρόνια κυκλοφορεί μία οικολογική παγίδα με την ονομασία

ΔΑΚΟΦΑΚΑ που εξυπηρετεί ικανοποιητικά στη διαχείριση του δάκου. Πρώτον, φέρει πράσινο χρώμα στην επιφάνειά του (χρωματική προσέλκυση). Δεύτερον, υπάρχει στο εσωτερικό του υδατικό διάλυμα που περιέχει τροφή, η οποία μέσω μιας οπής διοχετεύεται στην ατμόσφαιρα προσελκύνοντας τα ενήλικα άτομα και προκαλώντας τους τροφική προσέλκυση. Τρίτον, είναι χαρακτηριστικό ότι περιέχει στο εσωτερικό της και φερομόνη με σκοπό να επιφέρει σεξουαλική προσέλκυση. Ακόμη, η παγίδα έχει εμποτιστεί από τον κατασκευαστή της με εντομοκτόνο και πιο συγκεκριμένα το εντομοκτόνο επαφής deltamethrin. Έτσι, τη στιγμή που κατευθύνονται προς την παγίδα, η θανάτωση των εντόμων προκαλείται λαμβάνοντας μέσω των τριχιδίων των ποδιών τους τη δραστική ουσία από την επιφάνεια της παγίδας. Το πράσινο χρώμα της παγίδας αυτής θεωρείται αποτελεσματικό ως προς την προσέλκυση του δάκου καθώς είναι πιθανόν να παραπέμπει στο χρώμα του καρπού της ελιάς (ΔΑΚΟΦΑΚΑ, 2022).

### Drones

Η τεχνολογική επανάσταση των τελευταίων ετών έχει επιφέρει ένα καινοτόμο τεχνολογικό κατασκεύασμα, το οποίο έχει συμβάλει αδιαμφισβήτητα στη διαχείριση των πληθυσμών του δάκου. Ο λόγος γίνεται για τα ειδικά Drones, τα οποία αντικαθιστούν τους επίγειους ψεκασμούς μέσω των εναέριων ψεκασμών. Το επίτευγμα αυτό εξυπηρετεί τον κλάδο της ελαιοκαλλιέργειας και τους εμπλεκόμενους σε αυτόν, ψεκάζοντας σε δύσβατες περιοχές (λόγω κλίσης του εδάφους) όπου καθίσταται δύσκολη έως και αδύνατη η χρήση των επίγειων μέσων. Μάλιστα, υπολογίζεται ότι μελλοντικά αυτού του είδους η πρακτική επρόκειτο να χρησιμοποιηθεί αρκετά για τους δολωματικούς ψεκασμούς. Εντούτοις, κάποια από τα βασικά μειονεκτήματα αυτής είναι ότι απαιτείται υψηλή τεχνογνωσία από τα άτομα που χειρίζονται το drone προκειμένου να έλθει εις πέρας επιτυχώς η συγκεκριμένη τεχνική, ενώ δεν θα πρέπει να παραληφθεί και το υψηλό κόστος αγοράς για τη συντήρησή του. Επιπροσθέτως, τα Drones δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε αχανείς εκτάσεις λόγω του υπερβολικά μικρού όγκου του ψεκαστικού δοχείου και της περιορισμένης λειτουργίας τους, καθώς δε διαθέτουν απεριόριστη ενεργειακή αυτονομία.

### Κάλυψη των ελαιόδεντρων με ορυκτά

Μια σχετικά καινοτόμα μέθοδος που μειώνει την δακοπροσβολή είναι η χρήση ορυκτών που καλύπτουν όλη την επιφάνεια των δέντρων. Κυκλοφορούν σε επιστρώματα σωματιδίων και μέχρι στιγμής το σκεύασμα που κυκλοφορεί στο εμπόριο και είναι διαθέσιμο προς χρήση είναι με βάση το ορυκτό καολίνη (Saour & Makee,

2004). Η χημική σύνθεση του ορυκτού είναι  $Al_4Si_4O_{10}(OH)_8$ , χρώματος λευκού (SOUROUND). Όσον αφορά την εφαρμογή του, το εν λόγω υλικό εναποτίθεται πάνω στα ελαιόδεντρα και αφού εξατμιστεί το νερό, το ορυκτό προσκολλάται στην επιφάνεια του δέντρου. Αφ' ης στιγμής το ορυκτό καλύψει το δέντρο, είναι χαρακτηριστικό ότι προσφέρει ταυτόχρονα προστασία από την ηλιακή ακτινοβολία και τις υψηλές θερμοκρασίες. Έτσι, κατόπιν δοκιμών ελέγχθηκε η αντίδραση του δάκου της ελιάς, όπου κατέστη σαφές πως η δράση του ορυκτού προς τη μείωση του εντόμου οφείλεται στη μείωση του μήκους κύματος των ελαιόδεντρων, αδυνατώντας εν τέλει το έντομο να εντοπίσει τα δέντρα (καμουφλάζ). Επιπροσθέτως, όσο το έντομο έρχεται σε επαφή με το ορυκτό και κατ' επέκταση με την ερεθιστική δράση αυτού, αυτό καθ' αυτό το γεγονός έχει ως αποτέλεσμα να προκαλείται απόθεση του εντόμου από την περιοχή των δέντρων. Τέλος, επειδή έχει καλυφθεί η επιφάνεια των καρπών με τα σωματίδια, παρατηρείται μηχανικά ότι παρεμποδίζεται η ωτοκία του δάκου στους καρπούς, με αυτό να οφείλεται στην αδυναμία να προσβάλει ο θηλυκός δάκος την επιφάνεια του καρπού (Saour & Makee 2004).

Εκτός από την χρήση καολίνης, οι ερευνητές έχουν εστιάσει και σε άλλα ορυκτά όπως είναι ο χαλκός και ο ζεόλιθος. Κατόπιν σχετικών πειραμάτων, διαφαίνεται ότι τα ορυκτά μειώνουν εν πολλοίς την προσβολή των καρπών από τον δάκο. Αυτό οφείλεται στην επίστρωση του καρπού με τα ορυκτά τα οποία δρουν απωθητικά για το έντομο. Σαν μειονέκτημα αυτής της μεθόδου νοείται το γεγονός ότι σε περίπτωση έντονων βροχοπτώσεων ξεπλένεται πολύ εύκολα το ορυκτό από τα δέντρα, καθιστώντας την επανάληψη ψεκασμού υποχρεωτική ενώ ταυτόχρονα η υποχρεωτική απομάκρυνση των ορυκτών από τα ελαιοτριβεία θεωρείται μια χρονοβόρα διαδικασία. Μελλοντικά αναμένεται να υπάρχει χρήση και άλλων ορυκτών για την μείωση του δάκου της ελιάς (Daher, 2022).

#### Τεχνική Στείρου Εντόμου (SIT–Sterile Insect Technique)

Η μέθοδος αυτή βασίζεται στη μαζική εκτροφή αρσενικών ατόμων του δάκου της ελιάς στο εργαστήριο με σκοπό να ανταγωνιστούν τον ανθεκτικό πληθυσμό του δάκου της ελιάς μειώνοντας την αναπαραγωγική τους ικανότητα και καταλήγοντας έτσι να μην υπάρχει γόνιμη ωτοκία (Robinson, 2002). Οι ερευνητές δύνανται να επέμβουν στο στάδιο της νύμφης, με τη χρήση ακτινοβολίας, επηρεάζοντας αποκλειστικά την γονιμότητα του εντόμου. Τα θηλυκά θεωρούνται μονογαμικά, από τη στιγμή που αποδεδειγμένα επιλέγουν ένα άτομο στον βιολογικό τους κύκλο προκειμένου να

συζευχθούν εν αντιθέσει με τα αρσενικά τα οποία θεωρούνται πολυγαμικά. Αυτή η συμπεριφορά των θηλυκών ατόμων δημιούργησε την τάση να επέμβουν οι ερευνητές, δημιουργώντας εργαστηριακούς πληθυσμούς στείρων αρσενικών του δάκου και προκαλώντας μεταγενέστερα την εξαπόλυση αυτών στις καλλιέργειες. Κατ' αυτόν τον τρόπο, όταν τα θηλυκά θα επιθυμήσουν να έλθουν σε σύζευξη με τα στείρα αρσενικά δεν μπορούν να δημιουργήσουν απογόνους. Ωστόσο, εκτός από το γεγονός ότι πρόκειται για μια αρκετά χρονοβόρα διαδικασία, η τεχνική αυτή φέρει αρκετές δυσκολίες, εφόσον απαιτούνται για την επιτέλεση αυτού του έργου η στελέχωση από εξειδικευμένους ερευνητές, η κατάλληλη προετοιμασία του πληθυσμού και ο απαραίτητος εξοπλισμός του οποίου το αρχικό κόστος κρίνεται ιδιαίτερα υψηλό. Παράγοντες για την επιτυχία της μεθόδου είναι η αναλογία στείρων και άγριων αρσενικών ατόμων στην φύση, ο αριθμός των ατόμων για την κάλυψη μιας περιοχής και ο ανταγωνισμός αγρίου πληθυσμού δάκου με πληθυσμό που έχει γίνει μαζική εκτροφή σε ένα εργαστήριο (Ahmadi, 2018).

### **Βιολογικά μέτρα αντιμετώπισης**

Όπως έχει ήδη αναφερθεί, σήμερα κρίνεται επιτακτική η ανάγκη εύρεσης εναλλακτικών και οικολογικών μεθόδων αντιμετώπισης του δάκου, ώστε από την μία να εξασφαλίζεται επιτυχώς η ελαιοσυγκομιδή και από την άλλη να διατηρείται ένα υγιές οικοσύστημα ελαιοκαλλιεργειών. Ο κλασικός βιολογικός έλεγχος ξεκίνησε να εφαρμόζεται στο τέλος του 18<sup>ου</sup> αιώνα στις Η.Π.Α (Jampilek, 2015). Ο τρόπος εφαρμογής της βιολογικής αντιμετώπισης στοχεύει στην εισαγωγή ή και στη συντήρηση ενός ή περισσότερων φυσικών εχθρών με τεχνητό τρόπο σε μια περιοχή (Ζιώγας, 2010). Βέβαια τα επιθυμητά αποτελέσματα των φυσικών αυτών εχθρών ουσιαστικά είναι η ελάττωση του πληθυσμού του εντόμου-στόχου σε τέτοιο ποσοστό το οποίο να κρίνεται μη ζημιογόνο καθώς η βιολογική αντιμετώπιση δεν μπορεί εξαλείψει 100% τα επιβλαβή έντομα (Chen, 2015).

Σε αυτό το σημείο, αξίζει να διευκρινισθεί ότι ως παρασιτοειδές ορίζεται το έντομο το οποίο ζει εις βάρος του ξενιστή του και τρέφεται από αυτόν. Το μέγεθος του μπορεί να είναι μικρότερο ή και όμοιου μεγέθους με το θήραμά του. Συνήθως τα παρασιτοειδή εναποθέτουν ένα ωό σε κάθε ξενιστή τους αποφεύγοντας να ωοτοκήσουν σε ένα ήδη παρασιτιζόμενο άτομο. Τα παρασιτοειδή διακρίνονται σε ενδοπαράσιτα, αυτά δηλαδή που αναπτύσσονται εσωτερικά του ξενιστή τους, και τα εκτοπαράσιτα, τα οποία

αναπτύσσονται εξωτερικά του ξενιστή τους. Έχουν καταγραφεί βέβαια και περιπτώσεις ενδοπαρασιτισμού, όπου στη συνέχεια το παρασιτοειδές έντομο εξέρχεται και συνεχίζει εκτοπαρασιτικά. Από την άλλη μεριά, σημειώνεται ότι ως αρπακτικό έντομο χαρακτηρίζεται αυτό που θηρεύει κατά τη διάρκεια της ζωής του πολλά είδη εντόμων ως τροφή του. Διαθέτουν μεγαλύτερο μέγεθος από τα θηράματά τους και ζει ελεύθερο στη φύση (Tanwar, 2012).

#### Παρασιτοειδή του δάκου της ελιάς, *Bactrocera oleae*

Η καλλιέργεια της ελιάς τα τελευταία χρόνια έχει υποστεί μεγάλες αλλαγές. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι ο δάκος της ελιάς έχει με το πέρασ πολλών ετών δημιουργήσει πληθυσμούς, οι οποίοι εμφανίζουν μεγάλη ανθεκτικότητα σε μια γκάμα φυτοπροστατευτικών εντομοκτόνων. Το συγκεκριμένο γεγονός σε συνδυασμό με τη μείωση των διαθέσιμων σκευασμάτων οδήγησε στην αναζήτηση διαφορετικών τρόπων διαχείρισης των πληθυσμών. Μετά από χρόνια μελέτης και παρατηρήσεων φαίνεται πως καλή διαχείριση του εντόμου έχουν τα παρασιτοειδή (Tanwar, 2012). Ως προς την περίπτωση του δάκου της ελιάς, τα παρασιτοειδή για τα οποία γίνεται εν προκειμένω λόγος ανήκουν στην τάξη των Υμενοπτέρων. Οι κυριότερες οικογένειες που παρασιτούν αποτελούν οι εξής: Braconidae, Diapriidae, Encyrtidae, Euytomidae, Eulophidae, Eupelmidae, Pteromalidae και Torymidae. Στη Νότια Ευρώπη ως καταγεγραμμένα για την αποτελεσματική διαχείριση του δάκου θεωρούνται πέντε είδη τα οποία είναι:

- *Eupelmus urozonus*,
- *Pnigalio mediterraneus*,
- *Eurytoma martellii*,
- *Cyrtoptyx latipes*
- *Psytalia concolor*
- *Psytalia lounsburyi* (Hoelmer, 2011)

Περισσότερες πληροφορίες αναφορικά με όλα ανεξαιρέτως τα είδη που έχουν βρεθεί σε ελαιώνες της Ευρώπης, μαζί με την οικογένεια στην οποία ανήκει καθένα είδος απ' αυτά με τον βιολογικό κύκλο του εντόμου όπου παρασιτούν, δίνονται στον παρακάτω Πίνακα 1.2.

**Πίνακας 1.2: Τα είδη παρασιτοειδών που έχουν καταγραφεί στην Ευρώπη. Πηγή: Hoelmer, 2011.**

Είδος	Οικογένεια	Είδος παρασιτισμού
<i>Psytalia lounsburyi</i>	Braconidae	Ενδοπαρασιτοειδή
<i>Psytalia(Opius) concolor</i>	Braconidae	Ενδοπαρασιτοειδή
<i>Psytalia(Opius) ponerophaga</i>	Braconidae	Ενδοπαρασιτοειδή
<i>Eupelmus urozonus Dalman</i>	Eupelmidae	Εκτοπαρασιτοειδή
<i>Pnigalio mediterraneus</i>	Pteromalidae	Εκτοπαρασιτοειδή
<i>Pnigalio agraulis</i>	Pteromalidae	Μη επιβεβαιωμένο
<i>Pnigalio epilobii Boucek</i>	Pteromalidae	Μη επιβεβαιωμένο
<i>Eurytoma martellii Domenichini</i>	Euytomidae	Εκτοπαρασιτοειδή
<i>Cyrtoptyx latipes</i>	Pteromalidae	Εκτοπαρασιτοειδή
<i>Closteroster userxias</i>	Eulophidae	Μη επιβεβαιωμένο
<i>Pachycrepoideus vindemiae</i>	Pteromalidae	εκτοπαρασιτοειδή
<i>Tetrastichus sp.</i>	Eulophidae	ενδοπαρασιτοειδή

Ωστόσο, τα ως άνω παρασιτοειδή θεωρούνται πολυφάγα είδη τα οποία έχουν πολλούς ξενιστές προκειμένου να ολοκληρώσουν τον βιολογικό τους κύκλο, εντός των οποίων περιλαμβάνεται και ο δάκος της ελιάς. Η ύπαρξη των παρασιτοειδών επηρεάζεται από την περιοχή, την εποχή, τις επικρατούσες κλιματικές συνθήκες, ακόμη και από την ποικιλία της ελιάς. Επίσης, επηρεάζεται τόσο από τον πληθυσμό του ξενιστή όσο και την διαθεσιμότητα του, καθ' όλη τη διάρκεια του χρόνου. Περαιτέρω, η μορφολογία εκάστου παρασιτοειδούς επηρεάζει την ποιότητα της αποτελεσματικότητας έναντι του εντόμου- στόχου. Το μέγεθος σώματος και η διάμετρος του ωσθέτη επηρεάζεται έμμεσα από την διατροφή τους καθώς όσο μεγαλύτερος ο ξενιστής, τόσο μεγαλύτερο μέγεθος θα έχει και το παρασιτοειδές (Wang, 2009).

#### *Psytalia lounsburyi* και *Bactrocera oleae*

Το ενδοπαρασιτοειδές *Psytalia lounsburyi* κρίθηκε ως το πιο αξιόλογο για την καταπολέμηση του δάκου (Εικόνα 1.7). Από την οικογένεια Braconidae το είδος *Psytalia lounsburyi* (Silvestri) αποδείχθηκε ότι έχει ιδιαίτερα τοξικές ουσίες οι οποίες επιδρούν στον δάκο *Bactrocera oleae* (Copeland, 2004). Το είδος αυτό προσβάλλει τον δάκο στην προνυμφική του ηλικία και αποτελεί παρασιτοειδές του. Σε αντίθεση με άλλα είδη του γένους *Psytalia* που συλλέγονται από τα είδη της μύγας *Ceratitis*



*capitata*, το παρασιτοειδές *Psytalia lounsburyi* έχει απομονωθεί μόνο από τον δάκο *Bactrocera oleae* (Narayanan, 1962). Το *Psytalia lounsburyi* έχει ερευνηθεί ιδιαίτερα στη Γαλλία (Borowiec, 2012) και εγκρίθηκε ως παρασιτοειδές για την καταπολέμηση του δάκου της ελιάς στις ΗΠΑ καθώς χαρακτηρίστηκε ως κλασικός βιολογικός τρόπος καταπολέμησής του (Daane, 2015). Στην Κένυα το 57% του παρασιτισμού του δάκου στην καλλιέργεια της ελιάς αφορά το *Psytalia lounsburyi* (Daane, 2008).

Κατά το έτος 2018, η έρευνα του Arnaud επέφερε αξιοσημείωτα αποτέλεσμα τακαθώς έδειξε ότι η εκτροφή προνυμφών του δάκου καλυπτόμενων από τον πληθυσμό του ParafilmTm, τα οποία εν συνεχεία όλα μαζί εκτέθηκαν στα παρασιτοειδή *Psytalia lounsburyi*, είχαν σκοπό να ωτοκήσουν και να αναπαραχθούν. Στην ουσία, αυτό που συνέβη ήταν να έλθουν σε επαφή τα δύο παραπάνω είδη με κύριο στόχο να παρασιτίσει πάνω στον δάκο το *Psytalia lounsburyi*, ελέγχοντας εν τέλει την εξέλιξη της ζωής του δάκου. Μετά την έκθεση αυτή, οι προνύμφες του δάκου επέστρεψαν σε κατάσταση εκτροφής για να καταστεί δυνατή η επιβίωσή τους και να ολοκληρωθεί η ανάπτυξη τους μέχρι και την ενήλικη μορφή τους. Η μέθοδος αυτή επέφερε εργαστηριακό πληθυσμό με σκοπό να διερευνηθεί η εξέλιξη του ενώ πραγματοποιήθηκαν και πειράματα πεδίου (Borowiec, 2012). Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκαν πολλαπλές έρευνες για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της εκτροφής του παρασιτοειδούς *Psytalia lounsburyi*, δίνοντας έμφαση από την μία στην αύξηση της αναπαραγωγής στα θηλυκά άτομα και από την άλλη στην ηλικία του ξενιστή, μειώνοντας παράλληλα τον χρόνο εργασίας των βιοδοκιμών. Κατά την εκτροφή του *Psytalia lounsburyi* στην ενήλικη μορφή του στο εργαστήριο βρέθηκε μεγαλύτερο ποσοστό αναπαραγωγής των θηλυκών ατόμων όταν έχει χαμηλότερη πυκνότητα του πληθυσμού τους μέσα στους κλωβούς αναπαραγωγής (Cook, 1994). Στον πληθυσμό των *Psytalia* είναι γνωστό ότι τα θηλυκά άτομα είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος σε σύγκριση με τα αρσενικά. Επομένως, τα αρσενικά έχουν μικρότερο αντίκτυπο στην επιβίωσή τους σε σύγκριση με τα θηλυκά όταν υπάρχει έντονη επιλεκτική πίεση για την πρόσβαση σε τροφή και σε πόρους κατά την ανάπτυξη των προνυμφών (Joyce, 2000).



Εικόνα 1.7: (Α) *Psyttalia lounsburyi* θηλυκό, (Β) *Psyttalia lounsburyi* αρσενικό (Πηγή: Powell, 2018).

### Αρπακτικά του *Bactrocera oleae*

Τα αρπακτικά του δάκου της ελιάς χαρακτηρίζονται ως ένας ακόμη βιολογικός τρόπος αντιμετώπισης. Οι κύριες οικογένειες των αρπακτικών του δάκου είναι οι κάτωθι:

- Staphylinidae
- Carabidae
- Dermaptera
- Scolopendra
- Lithobus

Ένας αξιόλογος εχθρός του δάκου που ανήκει στην οικογένεια Cecidomyiidae και είναι Δίπτερο αποτελεί το είδος *Prolasioptera berlesiana*, το οποίο διαθέτει την ικανότητα να θανατώνει τα ωά του δάκου σε ποσοστό 30-50%. Ένα μειονέκτημα ωστόσο, του αρπακτικού αυτού είναι η μεταφορά του μύκητα *Macrophoma dalmatica*, ο οποίος προκαλεί δευτερογενείς ζημιές στον καρπό της ελιάς και ως εκ τούτου, οι έρευνες δε συνεχίστηκαν στη μελέτη της δράσης του. Επιπροσθέτως, αρκετά είδη μυρμηγκιών προσβάλλουν και θανατώνουν το δάκο και ιδιαίτερα στο στάδιο των προνυμφών και της νύμφης είτε βρίσκεται στο έδαφος, είτε στο εσωτερικό του καρπού της (Sime, 2006).

### Βιοεντομοκτόνα

Στην παρούσα φάση, η συνειδητοποίηση των πολυάριθμων επιπτώσεων της χρήσης φυτοφαρμάκων τόσο στο περιβάλλον όσο και στην ανθρώπινη υγεία προκαλεί την έξαρση μιας πράσινης επανάστασης. Η σύγχρονη γεωργία μεταβάλλεται προωθώντας τη χρήση όλο και λιγότερων φυτοφαρμάκων, ενώ παράλληλα κερδίζει έδαφος η τάση να αξιοποιούνται πιο επιλεκτικά και λιγότερο ρυπογόνα προϊόντα. Κατ' αυτόν τον τρόπο, οι έρευνες επικεντρώνονται στα βιοεντομοκτόνα σκευάσματα. Τα βιοεντομοκτόνα πρόκειται για ορισμένες ουσίες φυτοφαρμάκων, οι οποίες έχουν

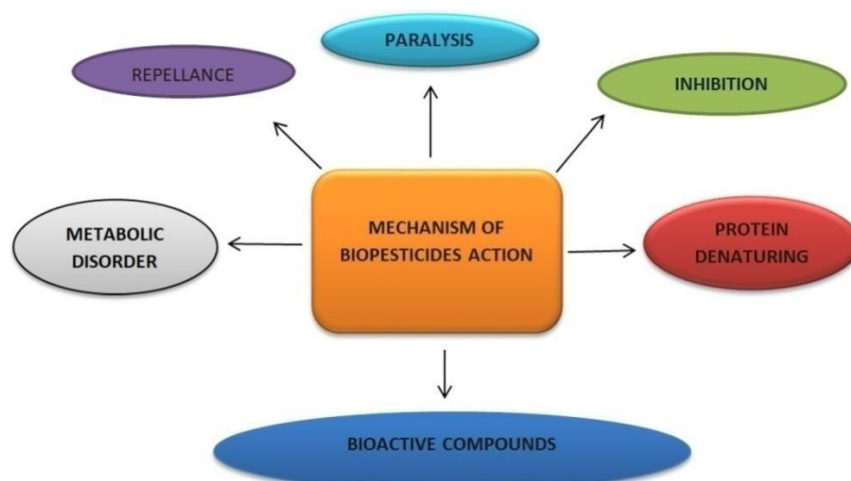
κατασκευαστεί από υλικά φυσικής προέλευσης, όπως ζώα, φυτά, βακτήρια και ορισμένα μέταλλα. Στις μέρες μας, έχουν διερευνηθεί πάνω από 390 εγγεγραμμένα ενεργά συστατικά βιοεντομοκτόνων (Kumar, 2012).

Το βιοπαρασιτοκτόνο είναι ένας όρος που εφαρμόστηκε για πρώτη φορά με εστίαση σε παρασκευάσματα που περιέχουν ζωντανούς μικροοργανισμούς και στη συνέχεια επεκτάθηκε σε έναν ευρύτερο ορισμό που περιλαμβάνει βοτανικές ενώσεις και σημειοχημικές ουσίες όπως για παράδειγμα οι φερομόνες (Kiewnick, 2007). Στη δεκαετία του 1990, προϊόντα με βάση τον *Bacillus thuringiensis* (Bt) αντιπροσώπευαν το 95% της παγκόσμιας αγοράς μικροβιακών εντομοκτόνων. Μέσα από έρευνες όμως που έδειξαν ότι τουλάχιστον 27 είδη εντόμων καταγράφηκαν ανθεκτικά στον *Bacillus thuringiensis* (Tanwar, 2012), η μελέτη στράφηκε στην εμφάνιση νέων βιολογικών παραγόντων ελέγχου κι έτσι σήμερα τα σκευάσματα αυτά χωρίζονται σε τρεις μεγάλες κατηγορίες (Εικόνα 1.8):

- Τα βιοχημικά φυτοφάρμακα είναι φυσικές ουσίες που ελέγχουν τα παράσιτα δίχως να περιέχουν τοξικούς μηχανισμούς. Τα συμβατικά φυτοφάρμακα, αντίθετα, είναι γενικά συνθετικά υλικά που σκοτώνουν ή αδρανοποιούν άμεσα το παράσιτο. Τα βιοχημικά φυτοφάρμακα περιλαμβάνουν ουσίες που παρεμβαίνουν στο ζευγάρισμα, όπως οι σεξουαλικές φερομόνες εντόμων, καθώς και διάφορα αρωματικά φυτικά εκχυλίσματα που προσελκύουν σε παγίδες τα παράσιτα των εντόμων. Επειδή μερικές φορές είναι δύσκολο να Προσδιοριστεί εάν μια ουσία πληροί τα κριτήρια για ταξινόμηση ως βιοχημικό φυτοφάρμακο, η EPA έχει συστήσει μια ειδική επιτροπή για τη λήψη τέτοιων αποφάσεων (Nicholson, 2007).
- Τα μικροβιακά φυτοφάρμακα αποτελούνται από έναν μικροοργανισμό (π.χ. ένα βακτήριο, μύκητα, ιό ή πρωτόζωο) ως δραστικό συστατικό. Τα μικροβιακά φυτοφάρμακα μπορούν να ελέγξουν πολλά διαφορετικά είδη παρασίτων, αν και κάθε ξεχωριστό δραστικό συστατικό είναι σχετικά συγκεκριμένο για τα παράσιτα-στόχους του (AlZaidi, 2011). Τα ευρέως χρησιμοποιούμενα μικροβιακά φυτοφάρμακα είναι υποείδη και στελέχη του *Bacillus thuringiensis* ή Bt. Τα είδη εντόμων-στόχων καθορίζονται από το εάν το συγκεκριμένο Bt παράγει μια πρωτεΐνη που μπορεί να συνδεθεί με έναν υποδοχέα του εντέρου της προνύμφης, προκαλώντας έτσι τις προνύμφες των εντόμων να λιμοκτονούν (Hubbard, 2014).
- Τα φυτικά ενσωματωμένα-προστατευτικά (PIPs) είναι παρασιτοκτόνες ουσίες που παράγουν τα φυτά από γενετικό υλικό που έχει προστεθεί στο φυτό. Για

παράδειγμα, οι επιστήμονες μπορούν να πάρουν το γονίδιο για την παρασιτοκτόνο πρωτεΐνη Bt και να εισάγουν αυτό το γονίδιο στο γενετικό υλικό του ίδιου του φυτού. Τότε το φυτό, αντί για το βακτήριο Bt, παράγει την ουσία που καταστρέφει το παράσιτο (Bailey, 2010).

### Πλεονεκτήματα της χρήσης βιοεντομοκτόνων



**Εικόνα 1.8: Μηχανισμοί δράσεις βιοεντομοκτόνων (Bailey, 2010).**

Τα βιοεντομοκτόνα είναι συνήθως λιγότερο τοξικά από τα συμβατικά φυτοφάρμακα. Γενικότερα, τα εντομοκτόνα φυσικής προέλευσης επηρεάζουν μόνο το παράσιτο-στόχο και τους στενά συγγενείς οργανισμούς, εν αντιθέσει με τα συμβατικά φυτοφάρμακα ευρέος φάσματος που δύνανται να επηρεάσουν οργανισμούς τόσο διαφορετικούς σε είδος όπως τα πουλιά, τα έντομα και τα θηλαστικά. Τα βιοεντομοκτόνα συχνά είναι αποτελεσματικά σε πολύ μικρές ποσότητες και συχνά αποσυντίθενται γρήγορα, με αποτέλεσμα χαμηλότερες εκθέσεις και αποφεύγοντας σε μεγάλο βαθμό τα προβλήματα ρύπανσης που προκαλούνται από τα συμβατικά φυτοφάρμακα (Kumar, 2014). Όταν χρησιμοποιούνται ως συστατικό των προγραμμάτων ολοκληρωμένης διαχείρισης παρασίτων (IPM), τα βιοπαρασιτοκτόνα μπορούν να μειώσουν σημαντικά τη χρήση συμβατικών φυτοφαρμάκων με τις αποδόσεις των καλλιεργειών να παραμένουν υψηλές. Ωστόσο, προκειμένου να χρησιμοποιήσουν τα βιοεντομοκτόνα οι καλλιεργητές χρειάζεται να ταχρησιμοποιούν με ασφαλή τρόπο και να διαθέτουν την τεχνογνωσία για να τα αξιοποιήσουν αποτελεσματικά λαμβάνοντας υπόψη προσεκτικά όλες τις οδηγίες της ετικέτας (Ayilara, 2023).

### Εξάπλωση βιοεντομοκτόνων

Επί του παρόντος, τα βιοεντομοκτόνα καλύπτουν μόνο το 2% των φυτοπροστατευτικών που χρησιμοποιούνται σε παγκόσμιο επίπεδο (Kumar, 2014). Η παγκόσμια παραγωγή βιοεντομοκτόνων έχει εκτιμηθεί ότι ξεπερνά τους 3.000 τόνους ετησίως με συνεχώς αυξανόμενη ροπή. Σήμερα, μερικοί από τους βασικούς παράγοντες που παρατηρείται να χρησιμοποιούνται όλο και περισσότερο βιοεντομοκτονα ως αγροτικά προϊόντα χωρίς υπολείμματα αποτελούν η καλλιέργεια βιολογικών τροφίμων και η σαφώς ευκολότερη καταχώριση σε σχέση με τα χημικά φυτοφάρμακα. Στην Ελλάδα, η χρήση βιοπαρασιτοκτόνων αυξάνεται σταθερά κατά 10% κάθε χρόνο (Fitches, 2004). Μάλιστα, περισσότερα από 225 μικροβιακά βιοπαρασιτοκτόνα παρασκευάζονται σε 30 διαφορετικές χώρες. Οι περισσότερες από τις χώρες έχουν τροποποιήσει τις πολιτικές τους για να ελαχιστοποιήσουν τη χρήση χημικών φυτοφαρμάκων και την προώθηση της χρήσης βιοεντομοκτόνων (Ravensberg, 2011).

### **ΣΥΜΒΙΩΤΙΚΗ ΣΧΕΣΗ ΤΟΥ ΔΑΚΟΥ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ**

Οι σχέσεις μεταξύ των εντόμων και ιδιαίτερα της οικογένειας Tephritidae (Diptera) και των μικροοργανισμών, όπως τα βακτήρια, έχουν μελετηθεί για περισσότερα από 100 χρόνια. Πολλά είναι γνωστά για τη βιολογία και τη συμπεριφορά αυτών των εντόμων. Το ενδιαφέρον για τις συμβιωτικές αλληλεπιδράσεις μεταξύ των βακτηρίων και των ξενιστών, καθώς και για τα οφέλη που αποφέρουν αυτές οι συσχετίσεις και στα δύο, έχει αυξηθεί από τις αρχές του περασμένου αιώνα, όπως αναθεωρήθηκε από τους Moran και Dale (2006). Ειδικότερα, οι έρευνες για τις μικροβιακές συμβιώσεις της οικογένειας Tephritidae έχουν αυξηθεί τα τελευταία 30 χρόνια λόγω της πιθανής χρήσης αυτής της συμβιωτικής σχέσης για την ανάπτυξη νέων στρατηγικών ελέγχου για τα έντομα που ανήκουν σταγένη *Bactrocera*, *Rhagoletis*, *Anastrepha* και *Ceratitis* (Lauzon, 2003). Στις αρχές του 1900 πραγματοποιήθηκε από τον Petri η πρώτη έρευνα για τη συμβίωση του δάκου της ελιάς *Bactrocera oleae* που μελέτησε τις αλληλεπιδράσεις των εντόμων μεταξύ βακτηρίων. Οι περισσότεροι ερευνητές παρατήρησαν την άφθονη παρουσία βακτηρίων στους οισοφαγικούς βολβούς του δάκου της ελιάς (π.χ. Poïnar, 1975), στο πεπτικό σύστημα και σε ορισμένες περιπτώσεις στις επιφάνειες των αυγών.

### ***Candidatus Erwinia dacicola* και *Bactrocera oleae***

Κατά το έτος 2005, μελετήθηκε ένα νέο βακτηριακό είδος ως προς τη συμβιωτική του

σχέση με τον δάκο *Bactrocera oleae*. Με βάση το γονίδιο του 16s RNA και τη φυλογενετική, το βακτήριο αυτό ονομάστηκε πιθανώς *Candidatus Erwinia dacicola* (Caruzzo, 2005). Στην έρευνα που υπέδειξε ο Caruzzo, πραγματοποιήθηκαν ξεχωριστές αναλύσεις στον οισοφαγικό βολβό και στο μεσαίο έντερο του πεπτικού συστήματος του δάκου όπου και βρέθηκε ότι αυτό το βακτήριο κυριάρχησε σε αυτά τα δείγματα. Οι προσπάθειες καλλιέργειας αυτού του βακτηρίου σε τυπικά θρεπτικά μέσα απέτυχαν κιέτσι, το βακτήριο ορίστηκε ως μη καλλιεργήσιμο βακτηριακό είδος (Caruzzo, 2005). Μετέπειτα, έρευνα έδειξε ότι το βακτήριο *Candidatus Erwinia dacicola* φαίνεται να μεταπηδά στον δάκο της ελιάς κατά την ανάπτυξη της προνύμφης, στην ενήλική της μορφή και αυτή η μετάβαση πιθανόν να επιτρέπει την επιβίωση των βακτηρίων και τη συνεχή παρουσία τους σε όλα τα στάδια ζωής του εντόμου (Estes, 2012). Τη στιγμή που τα αντιβιοτικά προστίθενται στον άγριο πληθυσμό του δάκου της ελιάς και εν συνεχεία εκτρέφονται στο εργαστήριο, το βακτήριο *Candidatus Erwinia dacicola* εξαλείφεται. Στην πραγματικότητα, το *Candidatus Erwinia dacicola* δεν έχει ανιχνευθεί ποτέ στον δάκο σε ευαίσθητο πληθυσμό ο οποίος αναπτύσσεται σε εργαστήριο με ιδανικές συνθήκες (Rempoulakis, 2014). Μπορεί βέβαια το βακτήριο αυτό να έχει βρεθεί σε κάθε στάδιο ανάπτυξης του δάκου, αλλά είναι πιο άφθονο στις προνύμφες και στα θηλυκά ωοτοκίας (Estes, 2012).

### **Χαλκός**

Μέχρι πρόσφατα, ο χαλκός στην γεωργία χρησιμοποιούταν για τη διαχείριση μυκητολογικών και βακτηριολογικών ασθενειών που έπλητταν τα καλλιεργούμενα φυτά. Έως το έτος 1930, θεωρούνταν ότι μαζί με τα σκευάσματα που περιείχαν θείο ήταν από τα μοναδικά μυκητοκτόνα της εποχής. Το πρώτο σκευάσμα, που ανακαλύφθηκε το έτος 1882, ήταν ο βορδιγάλιος πολτός. Ωστόσο, ένεκα των μειονεκτημάτων που παρουσίαζε ο βορδιγάλιος πολτός τόσο ως προς την εφαρμογή όσο και ως προς τα ανεπιθύμητα χαρακτηριστικά που είχε στα φυτά (φυτοτοξικότητα), οι επιστήμονες ανατρέξαν στην αναζήτηση νέων μορφών. Η ανακάλυψη νέων μορφών χαλκού έφερε τα πλεονεκτήματα της υψηλής τοξικότητας, χαμηλό κόστος, σταθερότητα από χημικής άποψης που εμπόδιζε την γρήγορη έκπλυση των σκευασμάτων από τις επιφάνειες εφαρμογής, με εκτενή υπολειμματική διάρκεια (Μπρούμας & Κατσογιάννος, 1996). Ο μηχανισμός όπου δρουν τα σκευάσματα χαλκού ενάντια στους μικροοργανισμούς θεωρείται πολυπαραγοντικός (Χλωρίδης, 2021). Βασικό στοιχείο που αφορά στη δράση του χαλκού απέναντι στα παθογόνα και την εμπόδιση της ανάπτυξης της ανθεκτικότητας των οργανισμών έναντι του χαλκού

αποτελεί, κυρίως, η απομάκρυνση των ηλεκτρονίων από την εσωτερική επιφάνεια των κυτταρικών τοιχωμάτων, ως αποτέλεσμα να προκαλείται η λύση και μεταγενέστερα η δυσλειτουργία ή και η ολοσχερής καταστροφή των κυττάρων. Επίσης, προκαλούν μεταβολές και διαταραχές της δομής του DNA και είναι υπεύθυνα για την καταστροφή βασικών πρωτεϊνών (Lamichhane, 2018).

### **Νανοδομημένα Χαλκού**

Τις τελευταίες δύο δεκαετίες, αρκετές έρευνες έχουν πραγματοποιηθεί στη νανοτεχνολογία με επίκεντρο την εφαρμογή τους στη βιοεπιστήμη καθώς και στη γεωπονία (Nair, 2010). Όσον αφορά τη γεωπονία, έχει μελετηθεί εκτενώς η νανοτεχνολογία χαλκού η οποία είναι μια σύγχρονη μέθοδος με αντικείμενο μελέτης τα νανοϋλικά (NMs). Τα νανοϋλικά περιέχουν μια εξωτερική διάσταση μεγέθους 1-100 νανόμετρα και διαθέτουν την ικανότητα να τροποποιούν το μέγεθος, το σχήμα καθώς και τη φυσικοχημική σύσταση ενός υλικού. Η μικρή ύλη μπορεί να συμπεριφέρεται διαφορετικά από τη μεγάλη ύλη κι επομένως, στα υλικά νανοκλίμακας μπορούν να εμφανιστούν νέες και απρόβλεπτες ιδιότητες. Συναφώς, η μείωση του μεγέθους των σωματιδίων ενός φυτοφαρμάκου, μέσω της χρήσης νανοδομημένων, θα μπορούσε να αυξήσει την αποτελεσματικότητά τους στα παράσιτα-στόχους. Το μεγάλο πλεονέκτημα που έχουν μέχρι στιγμής τα νανοδομημένα χαλκού (Cu-NPs) είναι ότι με μικρές συγκεντρώσεις παρουσιάζουν μεγάλη τοξικότητα. Μέχρι στιγμής, η χρήση του για την διαχείριση ασθενειών στα φυτά έχουν δείξει ευεργετικά αποτελέσματα και το πλεονέκτημα είναι η χρήση λιγότερου σκευάσματος από ό,τι άλλα σκευάσματα, δίνοντας ελπίδες ότι στο μέλλον θα χρησιμοποιείται για την διαχείριση πολλών ασθενειών στα φυτά (Chifiriuc, 2016).

### **Νανοδομημένα Χαλκού και Δίπτερα**

Η εμφάνιση της νανοτεχνολογίας και οι υψηλές δυνατότητες των νανοδομημένων (NPs) ώθησε τους μελετητές να αξιολογήσουν την επίδραση των μεθόδων αυτών απέναντι στα Δίπτερα. Οι εφαρμογές εξηγούν σε ικανοποιητικό βαθμό ότι τα νανοδομημένα είναι πιθανό να είναι πιο ενεργά σε σύγκριση με τα συμβατικού μεγέθους σωματίδια. Πράγματι, σε μια μελέτη του Chifiriuc (2016) σχετικά με τις ενέργειες των νανοδομημένων κατά των διπτέρων και την επίδρασή τους στα διάφορα στάδια του κύκλου της ζωής τους επισημαίνεται ότι τα νανοϋλικά μπορούν να ενσωματωθούν σε ιστούς εντόμων, καθώς αποδείχτηκε επαρκής ικανότητα προσκόλλησης στην επιφάνεια του σώματος του εντόμου. Στην πραγματικότητα, η

κατάσταση συσσωμάτωσης των νανοσωματιδίων επηρεάζουν την τοξικότητά τους και την πρόσφυσή τους στα έντομα της Τάξης των διπτέρων με αποτέλεσμα να δημιουργείται αύξηση της θνησιμότητας (Leeuw, 2007). Τα ενήλικα έντομα τα οποία εκτίθενται σε νανοϋλικά έχουν δείξει διαταραχή της ωογένεσης, διαταραχή στις ωοθήκες των θηλυκών ατόμων, καθώς και μειωμένη ανάπτυξη των ωαρίων (Chen, 2015). Μαζί με όλα τα παραπάνω αποτελέσματα, ορισμένα νανοσωματίδια παρουσίασαν αυξημένη θνησιμότητα των ενηλίκων καθώς και των εντόμων στο στάδιο της προνύμφης (Jampilek, 2015).

## ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑ

Ανθεκτικότητα ορίζεται η ικανότητα που έχει ένας πληθυσμός να αναπτύσσει μηχανισμούς αντίστασης έναντι των εντομοκτόνων σκευασμάτων, με αποτέλεσμα να επιβιώνει μετά από την έκθεση του στις δραστικές ουσίες (Karatolos, 2014). Ουσιαστικά η ανθεκτικότητα έχει την ιδιότητα της εξέλιξης, δηλαδή επιλέγονται αλληλόμορφα γονίδια τα οποία είναι ανθεκτικά σε συγκεκριμένα σκευάσματα με αποτέλεσμα να μεταβιβάζονται από γενιά σε γενιά και έτσι οι ευπαθείς πληθυσμοί να εξελίσσονται με ανθεκτικότητα (Ηλιάς, 2014). Σε όλο τον κόσμο, έχει παρατηρηθεί πως περισσότερα από 500 είδη εντόμων, ακάρεων και αραχνών έχουν αναπτύξει κάποιο επίπεδο αντοχής στα φυτοφάρμακα. Υπάρχουν διάφοροι μηχανισμοί που εμπλέκονται στην ανάπτυξη ανθεκτικότητας των εντόμων στα εντομοκτόνα, όπως η ανθεκτικότητα συμπεριφοράς, η φυσιολογική ανθεκτικότητα, η ανθεκτικότητα διείσδυσης, η ανθεκτικότητα στόχου και η μεταβολική ανθεκτικότητα.

Οι παράγοντες που καθορίζουν τον ρυθμό ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε ένα εντομοκτόνο είναι γενετικοί και βιολογικοί. Στους γενετικούς παράγοντες νοείται η μεταβίβαση ενός χαρακτηριστικού από τον γονέα στον απόγονο. Στους βιολογικούς παράγοντες κατατάσσονται ο αριθμός γενεών και απογόνων ανά έτος, η μετακίνηση καθώς και ο χαρακτηρισμός του εντόμου ως μονοφάγου ή πολυφάγου. Επιπλέον, ο τρόπος και ο χρόνος εφαρμογής, η δόση και η συχνότητα του ψεκασμού, καθώς και η υπολειμματική του δράση επηρεάζουν εξίσου τον ρυθμό ανάπτυξης ανθεκτικότητας σε ένα εντομοκτόνο.

- ο Ανθεκτικότητα στη συμπεριφορά - Behavioral resistance: Η ανθεκτικότητα αυτή διακρίνεται στη συμπεριφορά που εξαρτάται από το ερέθισμα και στην ανεξάρτητη συμπεριφορά από το ερέθισμα. Όσον αφορά την πρώτη



συμπεριφορά, τα έντομα μπορούν να αναπτύξουν αντοχή στις χημικές ουσίες μέσω της αισθητηριακής διέγερσης που δημιουργείται έτσι ώστε όταν εκτίθενται σε μια θανατηφόρα τοξίνη, τα έντομα σταματούν να τρέφονται ή να απομακρύνονται από την περιοχή που έχει ψεκαστεί με εντομοκτόνο διάλυμα. Εν αντιθέσει, όσον αφορά την συμπεριφορά η οποία είναι ανεξάρτητη από το ερέθισμα ουσιαστικά νοείται η εξ ολοκλήρου αποφυγή στην επαφή με τον τοξικό παράγοντα.

- Φυσιολογική ανθεκτικότητα - Physiological resistance: Οι βιολογικοί και οικολογικοί παράγοντες αλληλεπιδρούν διαρκώς έτσι ώστε επηρεάζεται ο κίνδυνος ανάπτυξης αντοχής. Οι παράγοντες του κύκλου ζωής και του πληθυσμού είναι σημαντικές βιολογικές παράμετροι (Sudo, 2018). Μέσα στον κύκλο ζωής ενός παρασίτου σημειώνονται μεταβαλλόμενες αλληλεπιδράσεις με τον ξενιστή και το περιβάλλον του. Επιπλέον, ορισμένοι οικολογικοί παράγοντες, όπως η ποιότητα του περιβάλλοντος ή του ξενιστή, ασκούν επίδραση κατά τη φάση αναπαραγωγής.
- Ανθεκτικότητα διείσδυσης - Penetration resistance: Η αντίσταση στη διείσδυση εμφανίζεται όταν τα έντομα επιβραδύνουν την εμπλοκή των ξενοβιοτικών παραγόντων στο σώμα τους από την επιδερμίδα τους. Τα έντομα δημιουργούν φραγμούς ενάντια στο προϊόν χρησιμοποιώντας την εξωτερική τους επιδερμίδα, η οποία τα προστατεύει από ένα ευρύ φάσμα εντομοκτόνων (Balabanidou, 2016).
- Ανθεκτικότητα στόχου - Target-site resistance: Η θέση πρόσδεσης ενός εντομοκτόνου σκευάσματος μεταλλάσσεται ή χάνεται με αποτέλεσμα να δημιουργείται κατάλυση της θέσης –στόχου κι έτσι δεν μπορεί να γίνει ενεργοποίηση. Είναι ευρέως γνωστό ότι τα εντομοκτόνα πρόκειται για χημικές ουσίες (συνθετικές ενώσεις ή άμεσα βιολογικά υλικά) που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο των εντόμων. Σημειώνεται ότι τα πιο επιτυχημένα συνθετικά εντομοκτόνα είναι οι νευρο-αναστολείς.
- Μεταβολική ανθεκτικότητα - Metabolic resistance: Ο μεταβολισμός των εντόμων είναι κρίσιμος για την ανάπτυξη αντοχής στα φυτοφάρμακα έναντι διαφόρων ομάδων χημικών φυτοφαρμάκων, συμπεριλαμβανομένων των καρβαμιδικών, των οργανοφωσφορικών και των συνθετικών πυρεθροειδών. Τα έντομα μεταβολίζουν εντομοκτόνα σε λιγότερο τοξικές ή μη τοξικές μορφές

μέσω ενός μηχανισμού που ονομάζεται «αποτοξίνωση» (Jaffar, 2022). Η μεταβολική αντίσταση κρίνεται υψίστης σημασίας και μάλιστα, πρόκειται για έναν από τους πιο μελετημένους μηχανισμούς στα έντομα. Τα έντομα χρησιμοποιούν τα ένζυμα για την πέψη των φυτοφαρμάκων και οι ανθεκτικοί πληθυσμοί μπορεί να έχουν περισσότερα από αυτά τα ένζυμα ή ένζυμα με βελτιωμένες αποτοξινωτικές ικανότητες (Venkatesan, 2022).

### **Διαχείριση ανθεκτικότητας**

Η ανθεκτικότητα έχει προκαλέσει πολυάριθμες επιπτώσεις στην καλλιέργεια της ελιάς. Πιο συγκεκριμένα, η καλλιέργεια έχει υποβαθμιστεί τόσο ποιοτικά όσο και ποσοτικά με αποτέλεσμα να προκαλεί τεράστια οικονομική ύφεση στους ελαιοπαραγωγούς. Η έντονη προσβολή του δάκου της ελιάς οδηγεί στην αυξημένη ζημιογόνο δράση με αποτέλεσμα η παραγωγή να είναι μειωμένη (Sarwar, 2014). Εξαιτίας του φαινομένου αυτού, οι καλλιεργητές καταφεύγουν σε πολλαπλές επεμβάσεις για να προσπαθήσουν να καταπολεμήσουν την ανυπολόγιστη ζημιά που έχει προκληθεί, παραλείποντας να υπολογίσουν το ολοένα και αυξανόμενο κόστος ώστε να επιλυθεί διαπαντός το πρόβλημα.

Οι αλόγιστες αυτές επεμβάσεις μακροπρόθεσμα οδηγούν στη διατάραξη του περιβάλλοντος, αφ' ης στιγμής θανατώνονται συνάμα και τα ωφέλιμα έντομα στην καλλιεργούμενη περιοχή, μολύνονται τα υπόγεια ύδατα και αυξάνεται η υπολειμματική δράση των χημικών ουσιών. Αρχικά, κρίνεται μείζονος σημασίας η πρόληψη της ανθεκτικότητας με σκοπό να αποφευχθούν τα έντονα προβλήματα που επρόκειτο κάθε φορά να προκληθούν. Κρίνεται επιτακτικής ανάγκης η ποσότητα του εντομοκτόνου στο διάλυμα που χρησιμοποιείται να είναι η ελάχιστη δυνατή, καθώς παράλληλα θα πρέπει να ακολουθούνται κατά γράμμα οι οδηγίες που αναγράφονται στην ετικέτα. Επίσης, χρειάζεται να ελαχιστοποιηθούν οι επεμβάσεις με στόχο να είναι αποτελεσματικές αλλά συγχρόνως να ακολουθούν και τα απαραίτητα μεσοδιαστήματα ανάμεσα στα ψεκάσματα (Jaffar, 2022). Ακόμη, η εναλλαγή σκευασμάτων με διαφορετικό τρόπο δράσης αποτελεί μια ευνοϊκή επιλογή για την αποφυγή της ανθεκτικότητας. Σημαντικό βέβαια θα ήταν η εναλλαγή των εντομοκτόνων να επικεντρώνεται σε κατηγορίες σκευασμάτων με διαφορετικό τρόπο δράσης στα έντομα για να αποφευχθεί ο κίνδυνος ύπαρξης της ανθεκτικότητας (Jaffar, 2022). Επιπλέον, σε περίπτωση εμφάνισης ανθεκτικότητας ο καλλιεργητής έχει τη δυνατότητα να αυξήσει

τη δόση του εντομοκτόνου σκευάσματος, έτσι ώστε να αναπτυχθεί έστω σε μικρό ποσοστό το ανάλογο περιβάλλον ανθεκτικότητας με το τίμημα αργότερα να αυξηθεί η ανθεκτικότητα και να χαθεί εν τέλει η αποτελεσματικότητα. Αυτή η μέθοδος βέβαια εγκυμονεί κινδύνους καθώς με την ύπαρξη της ανθεκτικότητας έχει διαπιστωθεί ότι οι καλλιεργητές καταφεύγουν σε συχνότερες επεμβάσεις ενδεχομένως με άλλα σκευάσματα τα οποία είναι ακριβότερα με αποτέλεσμα να αυξάνεται το κόστος της καταπολέμησης (Venkatesan, 2022). Σε συνάρτηση του αυξημένου κόστους της καλλιέργειας ο καταναλωτής καταλήγει να αγοράζει ακριβότερο το προϊόν και να επιβαρύνεται περισσότερο το περιβάλλον εξαιτίας των αλόγιστων επεμβάσεων χωρίς ουσιαστικά να λύνει το πρόβλημα (Jaffar, 2022). Για τη διαπίστωση της ύπαρξης της ανθεκτικότητας γίνονται βιοδοκιμές. Βέβαια αυτές οι μέθοδοι απαιτούν πολύ χρόνο με αποτέλεσμα να εγκυμονούν κινδύνους σε περίπτωση που η ανθεκτικότητα αναπτυχθεί ραγδαία μέχρις ότου βγουν τα αποτελέσματα αυτής της έρευνας (Ηλίας, 2014). Όταν, όμως, οι μηχανισμοί ανθεκτικότητας έχουν χαρακτηριστεί σε επίπεδο βιοχημικό ή μοριακό υπάρχει η δυνατότητα χρήσης τεχνικών, όπως για παράδειγμα διαγνωστικά τεστ ενζυμικής δράσης ή διαγνωστικό PCR. Οι έρευνες αυτές έχουν τη δυνατότητα να επιφέρουν γρήγορα αποτελέσματα και με ασφάλεια καθώς αν υπάρχουν μεταλλάξεις στην ανθεκτικότητα υπάρχει η δυνατότητα διορθωτικών επεμβάσεων (Venkatesan, 2022).

## **ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ**

Ως τοξικότητα ορίζεται η ικανότητα μιας ουσίας να προκαλέσει βλάβη σε έναν οργανισμό. Ειδικότερα όμως, η τοξικότητα ενός εντομοκτόνου σκευάσματος προσδιορίζεται λαμβάνοντας υπόψη τα συμπτώματα που επιφέρει όπως για παράδειγμα η παράλυση, η κατάρριψη, η ανάσχεση ανάπτυξης και ο θάνατος (Kumar, 2014). Προκειμένου να προσδιοριστούν οι θανατηφόρες δόσεις είναι απαραίτητη η κατασκευή καμπύλης δόσης θνησιμότητας θέτοντας ως άξονα χ τις δόσεις του εντομοκτόνου και ως άξονα ψ την αντίστοιχη θνησιμότητα. Η καμπύλη αυτή συνήθως είναι ασύμμετρη, διότι υπάρχει υψηλή παραλλακτικότητα στα ανθεκτικά άτομα σε σύγκριση με τα ευπαθή έντομα (Venkatesan, 2022). Μπορεί να είναι δύσκολος ο προσδιορισμός του μηδενός και της 100% θνησιμότητας, γιατί χρειάζεται εκτεταμένα πειράματα για να προσδιοριστούν οι τιμές τους, όμως η μέση αντοχή του πληθυσμού, δηλαδή η δόση που θανατώνει το 50% του πληθυσμού, είναι εύκολο να υπολογιστεί. Η δόση αυτή ονομάζεται μέση θανατηφόρος δόση, η οποία είναι ευρέως γνωστή ως LD<sub>50</sub> και

θεωρείται ως η πιο κατάλληλη δόση για να συγκριθεί το σημείο που βρίσκεται πάνω στην καμπύλη θνησιμότητας. Το σχήμα της καμπύλης καθορίζεται ανάλογα το είδος του εντόμου, την τοξικότητα καθώς και από άλλους παράγοντες (Jaffar, 2022). Στην περίπτωση, όμως, που δύο καμπύλες διαφορετικών εντομοκτόνων ουσιών του ίδιου εντόμου και του ίδιου πληθυσμού είναι ίδιες, τότε η σχετική τοξικότητα τους μπορεί να συγκριθεί σε οποιοδήποτε σημείο. Η μέτρηση της θνησιμότητας, ανεξαρτήτως του τρόπου που θα εφαρμοστεί το εντομοκτόνο διάλυμα, πραγματοποιείται μετά το πέρας 24 ωρών, ενώ σε ορισμένες περιπτώσεις μετά το πέρας 48 ωρών. Η θνησιμότητα με κάθε δόση εντομοκτόνου σκευάσματος συγκρίνεται με βάση τη θνησιμότητα του μάρτυρα για να διαπιστωθεί η αποτελεσματικότητα του πειράματος που πραγματοποιείται (Kumar, 2014).

## ΣΚΟΠΟΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Σκοπός της εργασίας αυτής είναι η παρακολούθηση της ανθεκτικότητας στο δάκο της ελιάς, καθώς και η μελέτη καινοτόμων μεθόδων καταπολέμησής του. Για τον λόγο αυτόν, ελέγχθηκε η τοξικότητα των δραστικών ουσιών phosmet, spinosad και λ-cyhalothrin με βιοδοκιμές τοπικής εφαρμογής σε πληθυσμούς δάκου από διάφορες περιοχές της Ελλάδας ώστε να αξιολογηθούν τα επίπεδα ανθεκτικότητας. Ακόμη, για την αναζήτηση νέων μεθόδων καταπολέμησης, έγινε μελέτη τοξικότητας βιοεντομοκτόνων σκευασμάτων και συνεργιστών στον δάκο της ελιάς, καθώς και ο έλεγχος της τοξικότητας σκευασμάτων χαλκού έναντι του παρασιτοειδούς του δάκου *Psytalia lounsburyi*.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΠΑΡΑΚΟΛΟΥΘΗΣΗ ΤΗΣ ΑΝΘΕΚΤΙΚΟΤΗΤΑΣ

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Τα φυτοφάρμακα χρησιμοποιούνται εκτενώς στη γεωργία, καθώς η εφαρμογή τους εξακολουθεί να είναι το πιο αποτελεσματικό μέσο για τον έλεγχο των πληθυσμών των εντόμων. Η εκτεταμένη και μακροχρόνια χρήση φυτοφαρμάκων όμως, μπορεί να οδηγήσει σε προβλήματα ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα (Kumar, 2014). Παρόλο που τα βιοεντομοκτόνα έχουν θεωρηθεί ως οι ασφαλέστερες εναλλακτικές λύσεις αρχίζοντας σταδιακά να αντικαθιστούν τα συνθετικά προϊόντα, στις περισσότερες χώρες τα συνθετικά εντομοκτόνα επικρατούν, επειδή είναι χαμηλότερου κόστους και εξίσου ή περισσότερο αποτελεσματικά. Γενικότερα, τα ποσοστά ανθεκτικότητας στον δάκο της ελιάς διαφέρουν σε σύγκριση με τα υπόλοιπα έντομα, εξαιτίας τόσο της κινητικότητας του δάκου όσο και της χαμηλής πίεσης επιλογής που επιφέρουν οι δολωματικοί ψεκασμοί. Η έρευνα της Pavlidi, κατά το έτος 2018, ανέφερε ότι τα οργανοφωσφορικά διαθέτουν μέτρια έως υψηλή ανθεκτικότητα. Ακόμη, οι σπινουσίνες έχουν χαμηλά επίπεδα ανθεκτικότητας και τα πυρεθροειδή μέτρια με υψηλότερη τάση ανθεκτικότητας στην Κρήτη.

Στην παρούσα εργασία διερευνήθηκε η τοξικότητα των δραστικών ουσιών spinosad, phosmet και lambda-cyhalothrin με εφαρμογή πλήρους δόσης βιοδοκιμών και διαγνωστικής δόσης μέσω τοπικής εφαρμογής των εντομοκτόνων.

Στις σπινουσίνες κατατάσσεται η δραστική ουσία Spinosad, η οποία πρόκειται για έναν μεταβολίτη του βακτηρίου *Saccharopolyspora spinosa*. Θεωρείται πολύ αποτελεσματικό σε ένα ευρύ φάσμα εντόμων με χαμηλά επίπεδα τοξικότητας στα θηλαστικά και σχετικά χαμηλή τοξικότητα σε έντομα μη στόχους, ενώ η εισαγωγή του στην αγορά πραγματοποιήθηκε το 2009 για την καταπολέμηση του δάκου της ελιάς (Kumar, 2014). Οι πιο διαδεδομένες δραστικές ουσίες είναι οι σπινουσίνες A και D, οι οποίες παράγονται με μίγμα συγκεκριμένης αναλογίας ενώ στο εμπόριο είναι γνωστές ως Spinosad συγκεντρώνοντας ταυτόχρονα την μεγαλύτερη εντομοκτόνο δράση από την κατηγορία αυτή. Διαθέτει μεγάλη προσροφητική ικανότητα στα κολλοειδή του εδάφους και έχει μικρή υδατοδιαλυτότητα. Όσον αφορά την ανθεκτικότητα στο Spinosad, έχει χαρακτηριστεί ως γενετικά ελεγχόμενη. Μέσα από έρευνες αναφέρθηκε το γεγονός ότι μετά την απομόνωση των ανθεκτικών στελεχών δεν υπάρχουν ενδείξεις διασταυρωμένης ανθεκτικότητας με εντομοκτόνα τα οποία έχουν διαφορετική χημική ομάδα σε σύγκριση με τις σπινουσίνες (Ζιώγας &

Μαρκόγλου, 2010). Στην Ελλάδα, δεν έχουν βρεθεί αξιοσημείωτα ποσοστά ανθεκτικότητας για τις σπινοσύνες, ενώ οι καλλιεργητές αποφεύγουν να επιλέγουν την δραστική αυτή ουσία καταφεύγοντας στις οργανοφωσφορικές ουσίες ως πιο οικονομική λύση.

Τα πυρεθροειδή έχουν χαρακτηριστεί ως συνθετικά ομόλογα της πυρεθρίνης I, ενός προϊόντος φυτικής προέλευσης το οποίο έχει παραχθεί από την εκχύλιση των χρυσάνθεμων *Crysanthemum cineraria*. Γενικότερα, μπορεί το πύρεθρο να αποτελεί μίγμα πολλών διαφορετικών ουσιών, ωστόσο η εντομοκτόνος δράση του οφείλεται στις πυρεθρίνες. Στην κατηγορία αυτή ανήκουν οι δραστικές ουσίες alpha- cypermethrin, lambda-cyhalothrin, beta-cyfluthrin, deltamethrin, zeta cypermethrin. Πιο συγκεκριμένα, τα τελευταία χρόνια η εκτενής χρήση της lambda cyhalothrin έχει δημιουργήσει υψηλά ποσοστά ανθεκτικότητας με αποτέλεσμα να κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω έρευνα επ' αυτής. Ειδικότερα, όσον αφορά τη δραστική ουσία alpha-cypermethrin έχουν γίνει αναφορές για την αυξημένη ανθεκτικότητά της έναντι του δάκου της ελιάς με 3,28 ng/έντομο ως μέση θανατηφόρο δόση σε διάφορες περιοχές της Ελλάδας (Kampouraki, 2018).

Ισχύει ότι τα πυρεθροειδή είναι μη διασυστηματικά εντομοκτόνα επαφής και στομάχου, τα οποία επηρεάζουν το νευρικό σύστημα των εντόμων. Στην ουσία, παραλύουν και θανατώνουν τα έντομα, επειδή δρουν στους νευρικούς άξονές τους. Έρευνες έχουν δείξει ότι τα πυρεθροειδή έχουν μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα σε σύγκριση με τα οργανοφωσφορικά, για παράδειγμα για αυτό τον λόγο οι συνιστώμενες δόσεις εφαρμογής είναι αρκετά χαμηλότερες (Ζιώγας & Μαρκόγλου, 2010).

Μέχρι και το έτος 2003, από τις 200 περίπου δραστικές ουσίες που χρησιμοποιούνται για την καταπολέμηση των εντόμων, οι 90 από αυτές αφορούν τα οργανοφωσφορικά.

Οι πιο γνωστές οργανοφωσφορικές ουσίες είναι το phosmet και το dimethoate. Το Phosmet είναι ένα εντομοκτόνο το οποίο προέρχεται από φθαλιμίδιο και θεωρείται κατάλληλο για την καταπολέμηση μασητικών και μυζητικών εντόμων (Ζιώγας & Μαρκόγλου, 2010). Στο dimethoate έγινε η πρώτη ανάπτυξη ανθεκτικότητας έναντι του δάκου της ελιάς, όμως και το Phosmet είναι μια δραστική ουσία η οποία χρησιμοποιείται αλόγιστα και έχει επιφέρει πολλαπλά ποσοστά μεταλλάξεων και έχει οδηγήσει σε υψηλή ανθεκτικότητα (Kampouraki, 2018).

Όπως επρόκειτο να διαπιστωθεί παρακάτω, στην παρούσα εργασία δίνεται επιπλέον έμφαση στη διερεύνηση των εντομοκτόνων Phosmet, Spinosad και Lambda

cyhalothrin τόσο ως προς τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας έναντι του δάκου της ελιάς όσο και της ανθεκτικότητας των πληθυσμών του εντόμου αυτού.

## **ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **Συλλογή άγριων πληθυσμών και διατήρηση στο εργαστήριο**

Από το πρόγραμμα «Συγκριτικές πειραματικές εργασίες καταπολέμησης του δάκου της ελιάς για το έτος 2021» στάλθηκαν δείγματα από τις περιφερειακές διευθύνσεις της Διεύθυνσης Αγροτικής Οικονομίας και Κτηνιατρικής (ΔΑΟΚ) με προσβεβλημένους καρπούς από διάφορες περιφερειακές ενότητες της Ελλάδας, όπως είναι η Τριφυλία, η Νήσος, η περιφερειακή ενότητα Ηρακλείου, Λασιθίου και Χανίων. Για τις περιοχές αυτές αναφέρονται επιπρόσθετες πληροφορίες στον Πίνακα 2.3.2., όπως ημερομηνία συλλογής, οι συντεταγμένες των ελαιόδεντρων απ' όπου έγινε η δειγματοληψία, καθώς και το ιστορικό των ψεκασμών που εφαρμόστηκε από τις κατά τόπους ΔΑΟΚ, στο οποίο αναγράφονται η ημερομηνία και το σκεύασμα που χρησιμοποιήθηκε στη συνιστώμενη δόση.

### **Εκτροφή εργαστηριακού πληθυσμού**

Η εκτροφή του εργαστηριακού πληθυσμού πραγματοποιήθηκε σε σταθερή θερμοκρασία  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , φωτοπερίοδο 16:8 και σχετική υγρασία  $60 \pm 5\%$  (Tsitsipis, 1977). Οι προνύμφες αναπτύσσονταν σε τεχνητή τροφή, της οποίας το ένα κιλό τροφής χρειάζεται νερό 500 mL, ζάχαρη 20 gr, tween-80 10mL, potassium sorbate 0.5-0.6 gr, ελαιόλαδο 20 mL, nipagin 2.2-2.3 gr, brewers yeast 75 gr, soy hydrolyzed, HCL 2N 30 mL και 300 gr σκόνη κυτταρίνης (cellulose powder). Τα ενήλικα τοποθετούνταν σε πλαστικούς κλωβούς 30x30X30cm όπου υπήρχε σταθερή παροχή νερού και τροφής ενηλίκων (75.47% ζάχαρη, 18.86% yeast hydrolysate και 5.66%egg yolk). Στην παρούσα μελέτη, ο εργαστηριακός πληθυσμός χρησιμοποιήθηκε ως ευαίσθητο στέλεχος αναφοράς (θετικός μάρτυρας).

### **Μεθοδολογία βιοδοκιμών τοπικής εφαρμογής**

Αξιοποιήθηκαν βιοδοκιμές διαγνωστικής και πλήρους δόσης με την μέθοδο της τοπικής εφαρμογής του εντομοκτόνου στον δάκο της ελιάς. Τα πειράματα αυτά στοχεύουν στη μελέτη της ανθεκτικότητας των σκευασμάτων έναντι του δάκου της



ελιάς και διαχωρίζονται σε δυο κατηγορίες:

- Βιοδοκιμές με διαγνωστικές δόσεις των δραστικών ουσιών Spinosad 62ppm, Phosmet 840 ppm και λ-cyhalothrin 2,6ppm. Οι δόσεις αυτές έχουν προκύψει από τον διπλασιασμό της 99% εκτιμώμενης θνησιμότητας του ευαίσθητου πληθυσμού αναφοράς, χρησιμοποιώντας ανάλυση probit των βιοδοκιμών απόκρισης δόσης.
- Βιοδοκιμές εύρους δόσεων των εντομοκτόνων phosmet, spinosad και λ-cyhalothrin σε 3, 9, 30, 60, 90ppm.

Η ακετόνη χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης των δραστικών ουσιών. Οι διαφορετικές δόσεις των εντομοκτόνων εφαρμόστηκαν σε 1 ml ακετόνης στο ραχιαίο θώρακα των ενήλικων εντόμων χρησιμοποιώντας μια μικροσύριγγα Hamilton των 10 ml. Πριν από την εφαρμογή, τα έντομα αναισθητοποιήθηκαν με έκθεση σε διοξείδιο του άνθρακα για 12-15 δευτερόλεπτα. Σε κάθε δόση δοκιμάστηκαν 20-25 έντομα. Στις βιοδοκιμές διαγνωστικής δόσης, τα έντομα εκτέθηκαν σε συγκέντρωση εντομοκτόνου που είχε ως αποτέλεσμα  $2 \times 99\%$  εκτιμώμενη θνησιμότητα των ευαίσθητων στελέχους αναφοράς, χρησιμοποιώντας probit για την ανάλυση των βιοδοκιμών απόκρισης δόσης. Περίπου ίσος αριθμός αρσενικών και θηλυκών ατόμων δοκιμάστηκαν σε κάθε δόση. Μετά την εφαρμογή του εντομοκτόνου τα ενήλικα διατηρήθηκαν σε πλαστικά δοχεία με νερό και τροφή ενώ η θνησιμότητα εκτιμήθηκε 48 ώρες αργότερα.

Η θνησιμότητα του μάρτυρα (ακετόνη) σε όλες τις περιπτώσεις ήταν μικρότερη του 10%, ενώ όπου ήταν μεγαλύτερη του 1% πραγματοποιήθηκε διόρθωση κατά Abbott. Τα αποτελέσματα από τις βιοδοκιμές εύρους δόσεων αναλύθηκαν με probit analysis χρησιμοποιώντας το λογισμικό Polo PC της LeOraSoftware και υπολογίζοντας την τιμή LD<sub>50</sub> (LethalDose 50), δηλαδή τη δόση εντομοκτόνου που προκαλεί θνησιμότητα στο 50% πληθυσμού. Επιπλέον, υπολογίστηκε ο συντελεστής ανθεκτικότητας (ResistanceFactor - RF), που είναι το πηλίκο της μέσης θανατηφόρου δόσης (LD<sub>50</sub>) του κάθε πληθυσμού προς την αντίστοιχη τιμή του ευαίσθητου εργαστηριακού πληθυσμού.

Με βάση τα κριτήρια των Torres-Vila et al. (2002a, b), η ανθεκτικότητα αξιολογείται σε ευαίσθητη, χαμηλή, μεσαία, υψηλή και πολύ υψηλή όπως περιγράφεται στον Πίνακα 2.3.1.

**Πίνακας 2.3.1:Κατηγοριοποίηση ανθεκτικότητας των Torres-Vila et al.(2002a,b)**

Συντελεστήςανθεκτικότητας -Rf	Ανθεκτικότητα
1	Ευαίσθητη
2-10	Χαμηλή
11-30	Μεσαία
31-100	Υψηλή
>100	Πολύ υψηλή

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

### Πληροφορίες πληθυσμών *Bactrocera olea* που προκύπτουν από το ιστορικό των επεμβάσεων

Στον παρακάτω Πίνακα 2.3.2 παρουσιάζονται πληροφορίες σχετικά με την περιοχή και την ημερομηνία συλλογής των προσβεβλημένων ελαιόκαρπων, καθώς και για το ιστορικό των επεμβάσεων που διενεργήθηκαν σύμφωνα με το πρόγραμμα δακοκτονίας του έτους 2021. Ειδικότερα, γίνεται αναφορά στην περιοχή και την περιφερειακή ενότητα που συλλέχθηκαν οι ελαιόκαρποι, καθώς και στη δραστική ουσία που χρησιμοποιήθηκε σε κάθε επέμβαση.

**Πίνακας 2.3.2: Πληροφορίες για την περιοχή της συλλογής των δειγμάτων προσβεβλημένων ελαιόκαρπων, το ιστορικό των επεμβάσεων καθώς και η ημερομηνία δειγματοληψίας σύμφωνα με το πρόγραμμα δακοκτονίας 2021.**

Περιφερειακή ενότητα	Περιοχή	Ημ/νια δειγματοληψίας	deltamehrin	Phosmet	Beta cyfluthrin	Spinosad
Τριφυλία	Γιαννιτσιανά	03-11-2021	3	1		
Νήσος	Καραπολίτη	22-11-2021	1	1		
Ηράκλειο	Λαγόλιο	18-11-2021		1	1	3
Ηράκλειο	Λαγόλιο	18-11-2021		1	1	2
Χανιά	Ζιμπράγου	17-11-2021		1	1	3
Λασιθι	Βραχάσι	5-11-2021			1	3
Λασιθι	Σητεία	5-1-2022			1	2
Λασιθι	Σταυρομένος	22-10-2021			1	3
	Μακρίλια	21-12-2021			1	2

### Βιοδοκιμές διαγνωστικής δόσης

Στον Πίνακα 2.3.3.παρουσιάζονται τα αποτελέσματα που αφορούν τις διαγνωστικές δόσεις των πληθυσμών. Πιο συγκεκριμένα, ως προς την δραστική ουσία Spinosad ισχύει ότι παρατηρούνται χαμηλά ποσοστά θνησιμότητας στον πληθυσμό της Σητείας

50.83% και του Ζιμπραγού 66.66%, ενώ για τους πληθυσμούς Λαγόλιο και Καραπολίτη η θνησιμότητα έφτασε το ποσοστό της τάξεως του 100%. Ακόμη, για τη δραστική ουσία λ-cyhalothrin δεν παρουσιάζονται αξιοσημείωτα ποσοστά θνησιμότητας παρά μόνο στον πληθυσμό Γιαννιτσιανά με ποσοστό 21.59%. Τέλος, για τη δραστική ουσία Phosmet παρατηρήθηκαν σε όλους τους πληθυσμούς υψηλά επίπεδα θνησιμότητας, ειδικά στο Λαγόλιο, στο Καραπολίτη και Ζιμπράγου με 100% θνησιμότητα.

**Πίνακας 2.3.3: Βιοδοκιμές διαγνωστικών δόσεων σε πληθυσμούς πεδίου ευαίσθητους στον *Bactrocera oleae* στις δραστικές ουσίες spinosad, λ-cyhalothrin και phosmet.**

Πληθυσμός(Π.Ε.)	spinosad		λ-cyhalothrin		Phosmet	
	N	Mortality%±SD	N	Mortality%±SD	N	Mortality%±SD
Γιαννιτσιανά(Τριφυλία)	23	95,83±5,89	23	21,59±4,82	24	95,83±5,89
Λαγόλιο βιολογικό (Ηράκλειο)	23	91,15±1,63	33	0	35	94,65±4,63
Λαγόλιο(Ηράκλειο)	19	100	20	0	21	100
Καραπολίτη(Νήσος)	23	100	24	4,17±5,89	23	100
Ζιμπράγου(Χανιά)	9	66,66	10	30	11	100
Βραχάσι(Λασιίθι)	14	71,42	15	0		
Σητεία(Λασιίθι)	22	50,83±12,96	24	0	22	95,83±5,89
Σταυρομένος (Λασιίθι)	23	95,83±5,89	23	0	24	92,3
Μακρυλία					19	95±7,07

N: Ο αριθμός του πληθυσμού που χρησιμοποιήθηκε (χωρίς τον μάρτυρα). Mortality±SD: Θνησιμότητα ± τυπική απόκλιση

### Βιοδοκιμές πλήρους δόσης

Παρουσιάζονται τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών πλήρους δόσης στη δραστική ουσία spinosad και λ-cyhalothrin για τους πληθυσμούς Γιαννιτσιανά (Π.Ε.Τριφυλλία), Μακρυλία (Π.Ε. Λασιίθι) και Καραπολίτη (Π.Ε. Νήσος), οι οποίοι συγκρίθηκαν με τον εργαστηριακό πληθυσμό. Πιο συγκεκριμένα, για την δραστική ουσία spinosad η τιμή LD<sub>50</sub> για τον πληθυσμό του Γιαννιτσιανά είναι 5,515 mg/L, για τον Μακρυλία είναι 41,121 mg/L, ενώ για τον Καραπολίτη είναι 4,194 mg/L. Αντίστοιχα για την δραστική ουσία λ-cyhalothrin η τιμή LD<sub>50</sub> για τον πληθυσμό Μακρυλία αντιστοιχεί στα 48,021 mg/L και για τον Καραπολίτη 4,194 mg/L. Η διαφορά αυτή στη θανατηφόρο δόση παρατηρείται αντίστοιχα και στον συντελεστή ανθεκτικότητας RF, όπου στον

πληθυσμό Γιαννιτσιανά υπήρξε RF 1.597 για το spinosad ενώ για τον πληθυσμό Μακρυλία το ίδιο εντομοκτόνο είχε RF 11.907 αλλά για το λ-cyhalothrin είχε RF 13.563. Τέλος, για τον πληθυσμό Καραπολίτη το λ-cyhalothrin είχε RF 11.402.

**Πίνακας 2.3.4: Βιοδοκιμές πλήρους δόσης στις δραστικές ουσίες spinosad και λ- cyhalothrin.**

Πληθυσμός (Π.Ε.)	Δραστική ουσία	N	LC <sub>50</sub> (mgL <sup>-1</sup> )	FL95% <sup>b</sup>	Slope	X <sup>2</sup> (d.f.)	RF <sup>c</sup>
Εργαστηριακός πληθυσμός	Spinosad	65	3.45	1.17-5.28	2.57-0.77	2.60(5) <sup>a</sup>	
	λ- cyhalothrin	90	0.37	0.23-0.49	4.19-1.26	4.47(8) <sup>a</sup>	
Γιαννιτσιανά (Τριφυλλία)	Spinosad	63	5.52	1.66-9.46	2.84-0.57	1.29(5) <sup>a</sup>	1.60
Μακρυλία (Λασιίθι)	Spinosad	105	41.12	32.13-50.69	4.08-0.90	0.24(8) <sup>a</sup>	11.91 <sup>b</sup>
	λ- cyhalothrin	95	48.02	36.52-65.56	3.35-0.84	1.47(8) <sup>a</sup>	130.56 <sup>b</sup>
Καραπολίτη (Νήσος)	λ- cyhalothrin	80	4.19	1.73-6.90	1.52-0.34	5.61(6) <sup>a</sup>	11.40 <sup>b</sup>

N: ο αριθμός του πληθυσμού που χρησιμοποιήθηκε (χωρίς τον μάρτυρα).

LC50: Lethal dose 50% δηλαδή η θανατηφόρος δόση.

FL95%: Fiducial limits 95% διάστημα εμπιστοσύνης.

A Καλή προσαρμογή των δεδομένων στο μοντέλο probit ( $P \leq 0.05$ ).

b O RF θεωρείται σημαντικά διαφορετικός ( $P \leq 0.05$ ) όταν τα 95% διαστήματα εμπιστοσύνης του RF δεν περιλαμβάνουν την τιμή 1.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Οι βιοδοκιμές πλήρους δόσης με τις δραστικές ουσίες spinosad, λ-cyhalothrin και phosmet έδειξαν ορισμένες σημαντικές διαφορές σε συνάρτηση με την περιοχή προέλευσης. Πιο συγκεκριμένα, βάσει της κατηγοριοποίησης της ανθεκτικότητας των Torres-Vila et al (2002) που παρουσιάστηκε στον Πίνακα 2.3.1. και συγκρίνοντας τον συντελεστή ανθεκτικότητας Rf για την δραστική ουσία Spinosad, βρέθηκε ότι τα επίπεδα ανθεκτικότητας για την περιοχή Γιαννιτσιανά (Π.Ε. Τριφυλλία) υπήρξαν ιδιαίτερα ευαίσθητα, ενώ για την Μακρυλία (Π.Ε. Λασιίθι) η ανθεκτικότητα κρίθηκε μεσαία. Όσον αφορά τις διαγνωστικές βιοδοκιμές, οι πέντε από τους οκτώ πληθυσμούς είχαν υψηλά ποσοστά θνησιμότητας, πάνω από 90%, ενώ το Βραχάσι παρατηρήθηκε

ότι είχε 71%. Τέλος, τα χαμηλότερα ποσοστά θνησιμότητας καταγράφηκαν για τους πληθυσμούς του Ζιμπραγού (Π.Ε. Χανιά) με 66% και της Σητείας με 51% θνησιμότητα. Σε συνάρτηση με τα παραπάνω αποτελέσματα συμπεραίνεται ότι η περιοχή Ζιμπραγού (Π.Ε. Χανιά) καθώς και η περιφερειακή ενότητα Λασιθίου με τις περιοχές της Σητείας και του Βραχάσι εμφανίζουν αυξημένη ανθεκτικότητα στη δραστική ουσία spinosad. Πιθανώς, το φαινόμενο αυτό να έχει αυξηθεί εξαιτίας της αλλεπάλληλης χρήσης αυτής της δραστικής ουσίας σε σχέση με άλλες περιοχές της χώρας.

Αναφορικά με τις βιοδοκιμές πλήρους δόσης, η δραστική ουσία λ-cyhalothrin στη περιοχή Καραπολίτη (Π.Ε. Νήσος) εμφάνισε μεσαία ανθεκτικότητα σε αντίθεση με την περιοχή Μακρυλία (Π.Ε. Λασιθί) όπου η ανθεκτικότητα χαρακτηρίστηκε πολύ υψηλή, σύμφωνα με την κατηγοριοποίηση των Torres-Vila et al (2002) η οποία παρουσιάζεται στον Πίνακα 2.3.1. Ακόμη, η έρευνα που πραγματοποιήθηκε στη δραστική αυτή ουσία με τις διαγνωστικές δόσεις, έδειξε ότι πέντε από τις οκτώ ελαιοκομικές περιοχές είχαν μηδενική θνησιμότητα, ενώ αμέσως μετά ήταν η περιοχή Καραπολίτη (Π.Ε. Νήσος) με ποσοστό 4% θνησιμότητα. Στη συνέχεια, η περιοχή Γιαννιτσιανά (Π.Ε. Τριφυλία) είχε 22% θνησιμότητα και η περιοχή Ζιμπραγού (Π.Ε. Χανιά) 30% θνησιμότητα. Σε συνάρτηση με τα παραπάνω και σε συνδυασμό με το ιστορικό των επεμβάσεων από τον Πίνακα 3.1. που επιτεύχθηκαν σε κάθε ελαιοκομική περιοχή, μέχρι και το έτος 2018 δεν πραγματοποιήθηκε καμία επέμβαση με τη δραστική αυτή ουσία. Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της Kampouraki et al (2018), στα οποία καταγράφηκαν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στο εντομοκτόνο alpha-cypermethrin, συνάγεται το συμπέρασμα ότι παρουσιάστηκε εν προκειμένω διασταυρωτή ανθεκτικότητα.

Στη περίπτωση της δραστικής ουσίας phosmet, οι βιοδοκιμές πλήρους δόσης παρουσίασαν χαμηλή ανθεκτικότητα για όλες τις περιοχές, με βάση την κατηγοριοποίηση των Torres-Vila et al.(2002a,b) στον Πίνακα 2.3.1. Η δραστική αυτή ουσία ανήκει στα οργανοφωσφορικά εντομοκτόνα που από παλιότερες μελέτες έχει επισημανθεί ότι διασταυρωτή ανθεκτικότητα μπορεί να υπάρξει ανάμεσα και σε άλλες δραστικές ουσίες, ενώ κάτι τέτοιο έχει πράγματι εντοπιστεί και σε άλλες περιοχές της Ελλάδας σύμφωνα με την Kampouraki et al. (2018). Η εν λόγω δραστική ουσία μπορεί να χρησιμοποιηθεί στη διαχείριση των πληθυσμών του δάκου, ωστόσο σύμφωνα με τις τελευταίες εξελίξεις τα σκευάσματα που έχουν ως δραστική ουσία το phosmet, αποσύρθηκαν από την αγορά κατά τα τέλη του έτους 2022.

Τέλος, συμπεραίνεται ότι η ανθεκτικότητα έχει διαφορετικά ποσοστά κινδύνου τα οποία διαφέρουν από περιοχή σε περιοχή, κι επομένως επηρεάζονται ακολούθως και οι τρόποι καταπολέμησης του δάκου της ελιάς, καθώς κρίνονται διαφορετικοί για κάθε περίπτωση. Παρόλα αυτά, σε περιοχές που έχουν υψηλά επίπεδα ανθεκτικότητας στον δάκο της ελιάς είναι απαραίτητη η ανάγκη εύρεσης νέων μεθόδων καταπολέμησής του, ενώ ιδιαίτερη προσοχή θα πρέπει να δίνεται στην ορθή διαχείριση των δραστικών ουσιών.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΒΙΟΕΝΤΟΜΟΚΤΟΝΩΝ ΣΤΟ ΔΑΚΟ ΤΗΣ ΕΛΙΑΣ

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Πρόσφατες εξελίξεις δείχνουν ότι η λίστα των διαθέσιμων συμβατικών εντομοκτόνων συνεχώς περιορίζεται. Παράλληλα, η ανθεκτικότητα των σκευασμάτων απαιτεί συνεχή έρευνα προκειμένου να αξιολογείται σε ποιοτικό βαθμό η αποτελεσματικότητά τους. Ως στόχος της έρευνας τίθεται η ανάπτυξη νέων, περιβαλλοντικά φιλικών δραστικών ουσιών με σκοπό την πλήρη αντικατάσταση των συνθετικών εντομοκτόνων. Έτσι, οι ερευνητές έχουν στραφεί σε ουσίες που είναι πιο φιλικές προς το περιβάλλον και την ανθρώπινη υγεία, όπως ορυκτά, αιθέρια έλαια και άλλα φυσικά προϊόντα, που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μείωση πληθυσμού του δάκου της ελιάς.

Το τελευταίο διάστημα για την διαχείριση του δάκου η ευρωπαϊκή πολιτική παραπέμπει στην χρήση προϊόντων φυσικής προέλευσης. Σύγχρονες μελέτες από ερευνητές έχουν δείξει ότι με τη χρήση αιθέριων ελαίων εξασφαλίζεται μια ποιοτικά καλή και εν πολλοίς υποσχόμενη αποτελεσματική διαχείριση του πληθυσμού του εντόμου. Πιο συγκεκριμένα, ο Rizzo και οι συνεργάτες του (2020), χρησιμοποίησαν αιθέρια ελαία από διάφορα φυτά (*Thymbra spicata*, *Pimpinella anisum*, *Trachyspermum ammi* και *Ocimum gratissimum*) με τα είδη *P. anisum* και *T. Ammi*. Επιπλέον, εκχυλίσματα από φυτά εσπεριδοειδών μελετήθηκαν από τον Siskos και τους συνεργάτες του (2007 & 2009), παρατηρώντας στην περίπτωση του δάκου να υπάρχει μια ευαισθησία ως προς τα εκχυλίσματα με εσπεριδοειδή. Ορισμένα παραδείγματα αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών όπου βρέθηκε να σημειώνεται επίδραση στον πληθυσμό του δάκου είναι το terpenes limonene, το linalool και α- pinene.

Κάποιες από τις παραπάνω μελέτες έχουν αξιοποιηθεί για τη δημιουργία σκευασμάτων στο εμπόριο. Ορισμένα από αυτά κυκλοφορούν με την εμπορική ονομασία Requiem Prime EC και Pnev-Am και φέρουν τον συνδυασμό των ανωτέρω εκχυλισμάτων. Στην παρούσα πτυχιακή επρόκειτο να αναλυθούν σκευάσματα που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως σκευάσματα για την καταπολέμηση του δάκου. Σχετικά με το Requiem Prime EC ισχύει ότι περιέχει τρία είδη τερπενίων p-Cymene, α-Terpinene και το d-Limonene τα οποία αποτελούν αιθέρια έλαια των φυτών *Ocimum gratissimum* (άγριος βασιλικός), *Mentha spicata* (μέντα) και *T. ammi* αντίστοιχα (Rizzo, 2020).

## ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### Συλλογή πληθυσμών *Bactrocera oleae*

Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν για τις ανάγκες της ερευνητικής αυτής εργασίας συλλέχθηκαν από προσβεβλημένους καρπούς της ελιάς από την περιοχή του Νομού Ηρακλείου κατά το χρονικό διάστημα Αυγούστου έως Σεπτεμβρίου του έτους 2022. Οι καρποί από τα ελαιόδεντρα συλλέχθηκαν και τοποθετήθηκαν σε δοχεία στο εργαστήριο, με σκοπό να παραμείνουν σε ιδανικές συνθήκες περιβάλλοντος για την έξοδο των προνυμφών από τους καρπούς της ελιάς. Χρειάστηκε να διατηρηθεί η θερμοκρασία στους 25°C και με διάρκεια ημερήσιας φωτοπεριόδου 16:8 προκειμένου να παραμείνουν ιδανικές οι συνθήκες για τα έντομα του δάκου της ελιάς. Αφού προστέθηκε πριονίδι στα δοχεία με στόχο την απορρόφηση της υγρασίας, στη συνέχεια τα εν λόγω δοχεία καλύφθηκαν με τούλι για να αποφευχθεί η απομάκρυνση των δάκων. Πραγματοποιήθηκε καθημερινή συλλογή των δάκων με κοσκίνισμα των προσβεβλημένων ελιών. Τα έντομα παρέμεναν σε κλωβούς εκτροφής διαστάσεων 30x30x30 εκατοστά έχοντας νερό και τροφή. Η τροφή που παρέχονταν στα ενήλικα άτομα στους κλωβούς παρασκευάστηκε χρησιμοποιώντας 5,66% κρόκο αυγού, 75,47% κρυσταλλική ζάχαρη και 18,86% υδρολυμένη μαγιά (Tsitsipis, 1983). Τέλος, ένας πληθυσμός εργαστηρίου που προέρχεται από την Κρήτη και ο οποίος δεν έχει εκτεθεί σε εντομοκτόνες ουσίες για αρκετό χρονικό διάστημα χρησιμοποιείται ως ευαίσθητο στέλεχος αναφοράς (μάρτυρας).

### Βιοδοκιμές τοξικότητας μέσω της τροφής



Εικόνα 3.1 Παρατήρηση δάκων που έχουν τραφεί με το βιοεντομοκτόνο σκεύασμα (δεξιά)σε σύγκριση με έντομο μάρτυρα (αριστερά).



Είναι χαρακτηριστικό ότι πραγματοποιήθηκε μια σειρά βιοδοκιμών τοξικότητας μέσω τροφής με βάση τη μεθοδολογία των Aouretal, 2015. Τα βιοεντομοκτόνα που χρησιμοποιήθηκαν ήταν τα BIO035, BPA0441 και BPA0581, ενώ οι συνεργιστές που χρησιμοποιήθηκαν είναι οι EN-216 και EN-218. Τα βιοεντομοκτόνα αυτά είναι υπό ανάπτυξη σκευάσματα, από εκχυλίσματα ή μεταβολίτες της εταιρίας Bi-Pa. Τα σκευάσματα αυτά δοκιμάστηκαν σε άλλους εχθρούς στα πλαίσια του Ευρωπαϊκού προγράμματος «SuperPests». Ακόμη, οι συνεργιστές είναι φιλικές προς το περιβάλλον ουσίες, ανάλογες του PBO (PiperonylButoxide) που πρόκειται εξίσου για συνεργιστή εντομοκτόνων, έχοντας ως απώτερο στόχο την αναστολή της δράσης των P450 οξειδασών. Στον μάρτυρα εφαρμόστηκε μόνο τροφή. Ως θετικός μάρτυρας χρησιμοποιήθηκε το FASTAC 10 EC στη συνιστώμενη δόση του σκευάσματος. Οι αντίστοιχες συγκεντρώσεις εφαρμόστηκαν στα βιοεντομοκτόνα και στους συνεργιστές προσθέτοντας και FASTAC. Οι συγκεντρώσεις που εφαρμόστηκαν δίνονται στον Πίνακα 3.1. Μια ημέρα πριν την διενέργεια της βιοδοκιμής τα έντομα υποβάλλονταν σε ασιτία. Η τροφή που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα αυτό είχε αναλογία 10:1:4 σε νερό, Yeast Hydrolysate Enzymatic και κρυσταλλική ζάχαρη αντίστοιχα. Τέλος, έγινε προσθήκη μικρής ποσότητας πράσινης χρωστικής στην τροφή με σκοπό την εύκολη ανίχνευση της κατανάλωσής της (Εικόνα 3.1). Με αυτό τον τρόπο, κατά τη διάρκεια των μετρήσεων της θνησιμότητας πραγματοποιήθηκε επιπλέον οπτικός έλεγχος στον πληθυσμό με σκοπό να διαπιστωθεί ότι έχουν πράγματι λάβει το διάλυμα τροφής- εντομοκτόνου.

**Πίνακας 3.1.: Οι συγκεντρώσεις των βιοεντομοκτόνων και των συνεργιστών που εφαρμόστηκαν (σε ppm) για το πείραμα βιοδοκιμής με εντομοκτόνα.**

<b>Σκευάσματα</b>	<b>Οι συγκεντρώσεις που εφαρμόστηκαν σε ppm</b>		
<b>EN-216</b>	500ppm	1000ppm	2000ppm
<b>EN-218</b>	500ppm	1000ppm	2000ppm
<b>BPA0581</b>	30ppm	100ppm	
<b>BPA0441</b>	30ppm	100ppm	
<b>BIO035</b>	30ppm	100ppm	

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε μικρά κυλινδρικά δοχεία χωρητικότητας 500 mL με προσθήκη νερού και στη βάση του δοχείου υπήρχε το βιοεντομοκτόνο σκευάσμα στην κατάλληλη δόση εντός σωλήνα Eppendroftube 1,5 mL (Εικόνα 3.2). Για κάθε δόση πραγματοποιήθηκαν 2 επαναλήψεις, εκτός από την δόση 30ppm στα βιοεντομοκτόνα και στις δόσεις 500ppm και 2000ppm για τους συνεργιστές όπου πραγματοποιήθηκε μία επανάληψη. Σε κάθε επανάληψη 10 έντομα εκτέθηκαν στο εντομοκτόνο σκευάσμα, ενώ η θνησιμότητα καταγράφηκε σε χρονικό διάστημα 72 ωρών μετά την έκθεση.



**Εικόνα 3.2:** Κυλινδρικό δοχείο στην βάση του οποίου έχει προστεθεί το εντομοκτόνο σκεύασμα.

### **ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

Στον Πίνακα 3.3.1 παρουσιάζεται το ποσοστό της θνησιμότητας μετά την έκθεση στα βιοεντομοκτόνα. Κατ' αυτόν τον τρόπο, διαφαίνεται ότι για τα βιοεντομοκτόνα BIO035 και BPA0441 οι επεμβάσεις του μάρτυρα και της δόσης 30 ml/L είχαν μηδενική, ενώ στις επεμβάσεις με συγκέντρωση 100 ml/L είχε 77% και 96% αντίστοιχα θνησιμότητα. Ακόμη, το BPA0581 ξεκίνησε να παρουσιάζει 3% θνησιμότητα στον μάρτυρα, καθώς επίσης οι επεμβάσεις με τη δόση 30 ml/L σημείωσαν 8% θνησιμότητα και τέλος, οι επεμβάσεις με συγκέντρωση 100 ml/L είχαν 66% θνησιμότητα. Όσον αφορά τους συνεργιστές EN-216 και EN-218, υπήρξαν σε όλες τις δόσεις χαμηλά ποσοστά θνησιμότητας που εφαρμόστηκαν μόνο τους. Αναφορικά με τις βιοδοκιμές που πραγματοποιήθηκαν μόνο με το εντομοκτόνο Fastac 10EC στη συνιστώμενη δόση του σκευάσματος καταγράφηκε θνησιμότητα 12.5%, ενώ σε συνδυασμό με τους συνεργιστές EN-216 και EN-218, η θνησιμότητα στα 500, 1000 και 2000ml/L ήταν 22, 28, 30% και 6, 58, και 70% αντίστοιχα. Οι επεμβάσεις του μάρτυρα που πραγματοποιήθηκαν στους συνεργιστές αυτούς παρουσίασαν μηδενική θνησιμότητα.

**Πίνακας 3.3.1: Τοξικότητα στομάχου των εντομοκτόνων BIO035, BPA0441, BPA0581, FASTAC 10E και των συνεργιστών EN-216 ΚΑΙ EN-218 έναντι του δάκου της ελιάς.**

Συγκέντρωση (mL/L)	Μέσοποσοστόθνησιμότητας(%)±SD							
	BIO035	BPA0441	BPA0581	FASTAC	EN-216	EN-216 +Fastac	EN-218	EN-218+Fastac
0	0±0	0±0	3±5,8		0±0	0±0	0±0	0±0
3				12,5± 6,2				
30	0±0	0±0	8±6,6		-	-	-	-
100	77±5,8	96±5,8	66±5,8		-	-	-	-
500	-	-	-		20±0	22±0	5±7	6±8
1000	-	-	-		10±0	28±7	7±5,8	58±38,6
2000	-	-	-		10±0	30±0	10±0	740±0

### ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Κατόπιν της σχετικής παράθεσης των αναλυτικών αποτελεσμάτων συνάγεται το συμπέρασμα ότι τα βιοεντομοκτόνα σκευάσματα BPA0441, BIO035 και BPA0581, είναι σε θέση να θανατώσουν ακαριαία τον δάκο σε υψηλότερες όμως συγκεντρώσεις σε σχέση με τις συνιστώμενες των εν λόγω σκευασμάτων. Ειδικότερα, αυτό που παρουσίασε την μεγαλύτερη θνησιμότητα ήταν το βιοεντομοκτόνο BPA0441 με θνησιμότητα 96% στην επέμβαση με 100 ppm. Δεύτερο στην κατάταξη πρόκλησης θνησιμότητας επί του δάκου έρχεται το BIO035 με θνησιμότητα 77% και τρίτο το σκεύασμα BPA 0581 με 66% θνησιμότητα. Όταν το πείραμα πραγματοποιήθηκε σε μικρότερα ppm και πιο συγκεκριμένα, στην ποσότητα των 30 ppm την καλύτερη θνησιμότητα την είχε το σκεύασμα BPA0581.

Η τοξικότητα του εντομοκτόνου Fastac αυξήθηκε με την συνδυαστική εφαρμογή του με τους συνεργιστές EN-216 και EN-218. Πιο ισχυρή συνεργιστική δράση παρουσίασε ο συνεργιστής EN-218.

Λαμβάνοντας υπόψη τα ανωτέρω αποτελέσματα καθίσταται σαφές ότι η χρήση των βιοεντομοκτόνων που ελέχθηκαν, σε προσαρμοσμένες για το δάκο της ελιάς δόσεις, θα μπορούσε να είναι αποτελεσματική για τον έλεγχο των πληθυσμών του. Επιπλέον, ο

συνεργιστής EN-218 θα μπορούσε ενδεχομένως να αξιοποιηθεί στην καταπολέμηση του δάκου σε συνδυασμό με πυρεθροειδή εντομοκτόνα. Ωστόσο, λόγω της ανομοιομορφίας των αποτελεσμάτων που μπορεί να οφείλεται σε ποικίλους παράγοντες, συνετό θα ήταν να γίνει επανάληψη κάποιων δοκιμών και να πραγματοποιηθεί περαιτέρω έλεγχος.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΕΛΕΓΧΟΣ ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑΣ ΧΑΛΚΟΥ ΣΤΟ ΠΑΡΑΣΙΤΟΕΙΔΕΣ *Psytalia lounsburyi*

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι έρευνες στις Μεσογειακές χώρες έχουν στραφεί στην μελέτη νέων μεθόδων καταπολέμησης εξαιτίας της ανεπτυγμένης ανθεκτικότητας στον δάκο της ελιάς που έχει δημιουργηθεί από την αλόγιστη χρήση φυτοπροστατευτικών σκευασμάτων. Στο φυσικό περιβάλλον υπάρχουν διάφορα είδη ωφέλιμων εντόμων παρασιτοειδή και αρπακτικά, τα οποία προσβάλλουν τον δάκο και διαθέτουν την ικανότητα να μειώσουν τον πληθυσμό του με σκοπό να μετριάσουν την ζημιά που πρόκειται να προκαλέσει ο δάκος σε έναν ελαιώνα. Στους καλλιεργήσιμους ελαιώνες, μετά από σχετικές μελέτες, παρατηρήθηκε ότι στο στάδιο της προνύμφης και της νύμφης του δάκου υπήρξαν άτομα που ήταν παρασιτισμένα από άλλους οργανισμούς. Ένα από αυτά είναι το υμενόπτερο *Psytalia lounsburyi*. (Canale and Benelli, 2012). Το είδος *P. lounsburyi* ανήκει στην οικογένεια Braconidae, με μέγεθος σώματος 3,5 mm. Διαθέτει καστανό χρώμα, ενώ τρέφεται με την προνύμφη του δάκου στο στάδιο της προνυμφικής του ηλικίας. Έχει την ικανότητα να τρέφεται με άτομα του είδους *Bactrocera oleae*, χωρίς να επηρεάζει τον βιολογικό κύκλο της προνύμφης του δάκου και παραμένοντας μέχρι και το στάδιο της νύμφης. Το ενήλικο θηλυκό του παρασιτοειδούς εν αποθέτει ένα αυγό στην προνύμφη του ξενιστή. Οι προνύμφες του δάκου, τις οποίες επιλέγει πιο εύκολα το παρασιτοειδές *Psytalia lounsburyi*, είναι συνήθως σταδίου II ή III. Στη συνέχεια, μετά την εκκόλαψη του αυγού, ξεκινάει να τρέφεται με τον ξενιστή του (Rugman-Jones et al., 2009).

Στη σημερινή εποχή που η χρήση και η αποτελεσματικότητα των σκευασμάτων ολοένα και περισσότερο μειώνεται, εξαιτίας της ανεπτυγμένης ανθεκτικότητας, κρίνεται αναγκαία η επικέντρωση της μελέτης επί των αρπακτικών και των παρασιτοειδών (Pinheiro et al., 2020). Μάλιστα, η βιολογική καταπολέμηση με παρασιτοειδή δεν έχει πάντα τα βέλτιστα αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, υπάρχουν περιπτώσεις που τα ποσοστά των εχθρών δεν μειώθηκαν αλλά αντιθέτως αυξήθηκαν σημαντικά, σημειώνοντας μεγάλες απώλειες στην παραγωγή. Ως καλύτερη διαχείριση νοείται εκείνη όπου πραγματοποιείται η βέλτιστη διαχείριση φυσικών εχθρών, μέσω επεμβάσεων που ενισχύουν την αύξηση ή τη διατήρησή τους στις καλλιέργειες.

Ο χαλκός έχει παραδοσιακά χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο των μυκητολογικών ασθενειών. Ωστόσο, παρατηρήθηκε η αποτελεσματικότητά του στη διαχείριση του

δάκου, γεγονός που αυξήθηκε το ενδιαφέρον για τη χρήση του ενάντια σε αυτόν (Rosietal., 2007). Έχει υποτεθεί ότι ο χαλκός διαταράσσει τη σχέση μεταξύ των θηλυκών και των προνυμφών του *B. Oleae* και των συμβιωτικών τους βακτηρίων, προκαλώντας υψηλό ποσοστό θνησιμότητας στις νεαρές προνύμφες του *B. Oleae* λόγω της απουσίας αυτών των βακτηρίων (Caruzzo et al., 2005; Rosi et al., 2007).

Στόχος αυτού του πειράματος είναι η διερεύνηση της τοξικότητας των σκευασμάτων χαλκού στα παρασιτοειδή του είδους *Psytalia lounsburyi*, ώστε να διερευνηθεί το ενδεχόμενο της χρήσης αυτών των δύο μεθόδων συνδυασικά. Τα συγκεκριμένα παρασιτοειδή ήρθαν σε επαφή με προσβεβλημένους από δάκο ελαιόκαρπους μετά την εμφάνισή τους στα σκευάσματα χαλκού.

## **ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **Εκτροφή εργαστηριακού πληθυσμού *Psytalia lounsburyi*.**

Η εκτροφή των παρασιτοειδών *Psytalia lounsburyi* πραγματοποιείται στο εντομοτροφείο του Ινστιτούτου Τεχνολογίας και Έρευνας από τον κ. Ιωάννη Λειβαδάρα. Η εκτροφή πραγματοποιείται σύμφωνα με τον Chardonnet (2018) σε θάλαμο σταθερών συνθηκών με αναλογία φωτός και σκοταδιού 16:8 και θερμοκρασία σταθερή στους 23°C. Τα παρασιτοειδή γενούν τα αυγά τους σε προνύμφες εργαστηριακού στελέχους της μύγας μεσογείου *Ceratitis capitata*. Τα ενήλικα παρασιτοειδή τρέφονται με μέλι και νερό (Chardonnet, 2018).

### **Μεθοδολογία βιοδοκιμών τοξικότητας με σκευάσματα χαλκού**

Για την καταγραφή και την μελέτη της επίδρασης του παρασιτοειδούς *Psytalia lounsburyi* στον δάκο της ελιάς στην ουσία συλλέχθηκαν προσβεβλημένες με δάκο ελιές από την περιοχή του Νομού Ηρακλείου, τον Σεπτέμβριο του έτους 2022. Στη συνέχεια, εμβάπτιστηκαν σε 4 διαφορετικά σκευάσματα χαλκού με σκοπό να ελεγχθεί η ύπαρξη τοξικότητας των σκευασμάτων αυτών στο παρασιτοειδές *Psytalia lounsburyi*. Πιο συγκεκριμένα, τα σκευάσματα χαλκού που χρησιμοποιήθηκαν αποτελούν τα εξής:

- Nordox 75 WG με δραστική ουσία Copper oxide(75%Cu).
- Kocide 2000 35 WG με δραστική ουσία Copper hydroxide(35% Cu).
- 141-CC-X2 με δόση 240 ppm κολλοειδές διάλυμα νανοσωματιδίων χαλκού.
- 142-CN-X2 με δόση 240 ppm κολλοειδές διάλυμα νανοσωματιδίων χαλκού.

Η προετοιμασία των πλαστικών κλωβών εκτροφής με διαστάσεις 30x30x30cm (BugDorm-1) πραγματοποιήθηκε με την εισαγωγή 15 προσβεβλημένων από τον δάκο καρπών ελιάς σε ένα πλαστικό τρυβλίο, όπως φαίνεται στην Εικόνα 4.1., ενώ έγινε και η προσθήκη νερού και τροφής σε αντίστοιχα τρυβλία με σκοπό να εκτρέφονται τα παρασιτοειδή του είδους *Psytalia lounsburyi*. Τα παρασιτοειδή αυτά διατρέφονται με μέλι και νερό. Τα κλουβιά διαχωρίστηκαν σε 3 επεμβάσεις, στις οποίες υπήρχαν προσβεβλημένες με δάκο ελιές και είχαν ψεκαστεί προηγουμένως με νερό (μάρτυρας). Επιπλέον, υπήρχε η επέμβαση που είχε προσβεβλημένες ελιές, οι οποίες είχαν ψεκαστεί με το εντομοκτόνο Fastac 10EC και με τη δραστική ουσία A- cypermethrin. Οι προσβεβλημένες ελιές επιλέχθηκαν για την εφαρμογή των σκευασμάτων και ελέγχθηκαν με σκοπό την προσέλκυση των παρασιτοειδών. Γι' αυτό τον λόγο, συλλέχθηκαν ελιές που παρουσίαζαν προχωρημένη προσβολή από δάκο. Κατά τη διάρκεια της συλλογής, πραγματοποιούνταν δειγματοληπτικοί έλεγχοι προκειμένου να επιβεβαιωθεί η παρουσία προνυμφών δάκου στο 2<sup>ο</sup> και 3<sup>ο</sup> στάδιο ανάπτυξης. Σε κάθε επέμβαση έγινε η εισαγωγή 10 ατόμων *Psytalia lounsburyi* με στόχο την καταγραφή των μετρήσεων ανά 24 ώρες και τον έλεγχο της θνησιμότητας. Ακόμη, υπήρξε τακτικός έλεγχος για την περίσσεια τροφή και νερό με σκοπό να αποφευχθούν λανθασμένα αποτελέσματα. Για τις βιοδοκιμές αυτές πραγματοποιήθηκε στατιστική ανάλυση με απώτερο στόχο τη μελέτη των αποτελεσμάτων.

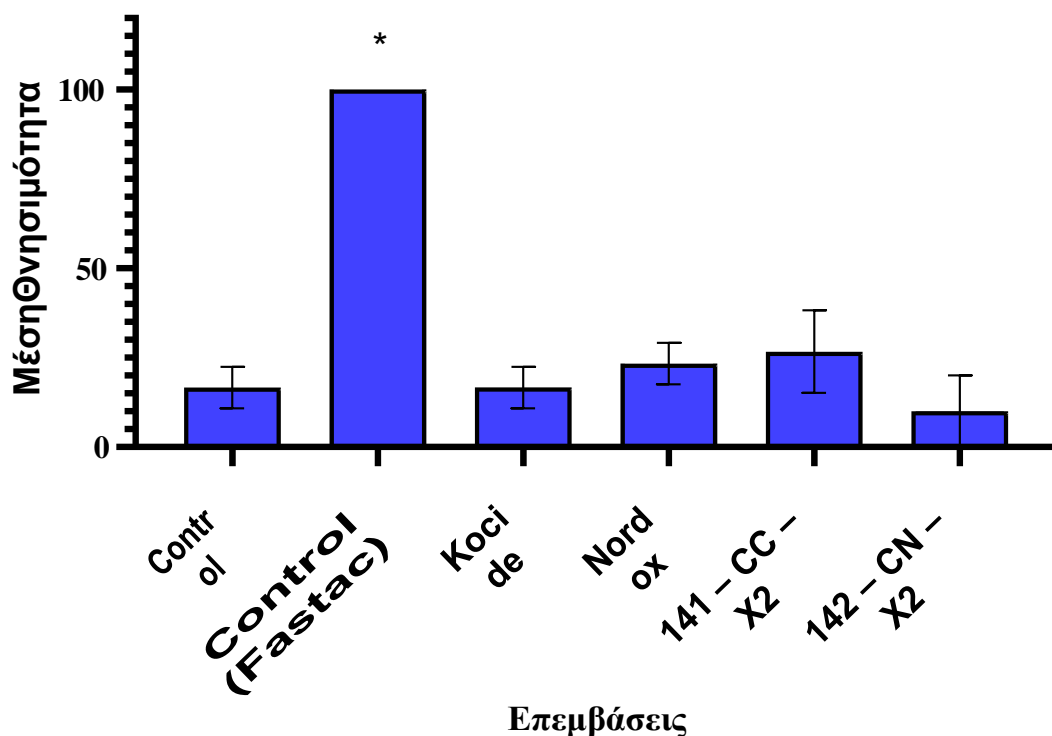


Εικόνα 4.1: Συλλογή προσβεβλημένων με δάκο καρποί ελιάς.

## ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Στην Εικόνα 4.2. παρουσιάζονται τα αποτελέσματα από τις βιοδοκιμές τοξικότητας, απ' όπου φαίνεται ότι σε καμία από τις επεμβάσεις των σκευασμάτων χαλκού δεν παρουσιάστηκε ιδιαίτερη διαφορά στη θνησιμότητα των ατόμων *Psytalia lounsburyi*

σε σχέση με το μάρτυρα (control), κατόπιν εφαρμογής των σκευασμάτων. Το σκεύασμα 142-CN-X2 σημείωσε την χαμηλότερη μέση θνησιμότητα στο ποσοστό της τάξεως του 10%, ενώ το σκεύασμα KOCIDE παρουσίασε την ίδια θνησιμότητα με τον μάρτυρα σε ποσοστό 15%. Στη συνέχεια, το NORDOX είχε 25% θνησιμότητα και το σκεύασμα 141-CC-X2 30% θνησιμότητα. Τέλος, οι βιοδοκιμές τοξικότητας, μετά την έκθεση στο εντομοκτόνο Fastac, επέφερε καθολική θνησιμότητα σε ποσοστό 100%.



Εικόνα 4.2: Μέση θνησιμότητα στα σκευάσματα χαλκού των βιοδοκιμών τοξικότητας. Οι μπάρες σφάλματος αντιπροσωπεύουν την τυπική απόκλιση (SD) του μέσου όρου των τριών βιολογικών επαναλήψεων. Ο αστερίσκος (\*) υποδεικνύει μια στατιστικά σημαντική διαφορά ( $P < 0.05$ ) στο ποσοστό θνησιμότητας.

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Συνάγεται ότι τα σκευάσματα χαλκού που δοκιμάστηκαν 142 – CN – X2 240 PPM, 141 – CC – X2 240 PPM, KOCIDE 2000 και NORDOX δε φαίνεται να έχουν κάποια σημαντικά επιβλαβή δράση για τα ωφέλιμα έντομα του είδους *Psytalia lounsburyi*. Κατ' αυτόν τον τρόπο, τα σκευάσματα χαλκού δεν επηρέασαν τα επίπεδα θνησιμότητας του ενηλικού καθώς συνέχισε κανονικά τον βιολογικό του κύκλο. Τα δεδομένα αυτά συμφωνούν με δεδομένα από την μελέτη που πραγματοποίησε ο Bengochea (2013), ο οποίος παρουσίασε τα συμπεράσματά του δίχως να έχει καταγράψει αξιοσημείωτα ποσοστά θνησιμότητας στους ωφέλιμους οργανισμούς. Αφού ολοκληρώθηκε η επεξεργασία των δεδομένων, παρατηρήθηκε ότι από τα παραπάνω σκευάσματα η υψηλότερη θνησιμότητα συγκεντρώθηκε στο σκεύασμα που χρησιμοποιήθηκε το



εντομοκτόνο Fastac 10 EC. Ειδικότερα, η χρήση αυτών των σκευασμάτων επηρεάζει σε μεγάλο βαθμό τη διατήρηση και τον πολλαπλασιασμό των παρασιτοειδών του δάκου και πιο συγκεκριμένα, στο παρόν πείραμα το εξεταζόμενο είδος *Psytalia lounsburyi*. Όλο αυτό συμβάλει στη μείωση του πληθυσμού του και εντείνει το πρόβλημα του δάκου στις καλλιέργειες. Επιπλέον, έρευνα που πιστοποιεί το εν λόγω γεγονός αποτελεί εκείνη της Pinheiro η οποία πραγματοποιήθηκε το 2020. Η Pinheiro παρουσίασε τα αποτελέσματα της, τα οποία έδειξαν ότι τα εντομοκτόνα προκαλούν περισσότερες δυσμενείς επιπτώσεις στην επιβίωση και στην αναπαραγωγή των παρασίτων του γένους *Psytalia* σε σύγκριση με τα σκευάσματα χαλκού.

Κάλο θα ήταν προτού γίνει πρακτική χρήση των σκευασμάτων με χαλκό, να πραγματοποιηθούν ξανά τα συγκεκριμένα πειράματα για τη μείωση των τυπικών σφαλμάτων που μπορεί να προκύψουν. Ακόμη, είναι απαραίτητο να χρησιμοποιηθεί μεγαλύτερος αριθμός παρασιτοειδών αλλά και σκευασμάτων, ώστε να υπάρξει καλύτερη εικόνα των αποτελεσμάτων.

Κλείνοντας, τα πειράματα αυτά έλαβαν χώρο στο εργαστήριο με συνθήκες που ήταν απόλυτα ελεγμένες και δεν πραγματοποιήθηκε η ανάλογη εκτίμηση στον αγρό. Μελλοντικά, λοιπόν, κρίνεται απαραίτητο να πραγματοποιηθούν πειράματα στους αγρούς και κάτω από πραγματικές συνθήκες, ώστε να παρατηρηθεί η αποτελεσματικότητα των σκευασμάτων αυτών καθώς αλλάζουν συνεχώς οι αβιοτικοί παράγοντες και οι πληθυσμοί του παρασιτοειδούς. Γενικότερα όμως, ο συνδυασμός αποτελεσματικών μεθόδων για την καταπολέμηση του δάκου της ελιάς, όπως για παράδειγμα η χρήση σκευασμάτων χαλκού παράλληλα με τους φυσικούς εχθρούς του δάκου (οράτε τα παρασιτοειδή που μελετήθηκαν στο τελευταίο πείραμα), αποδεικνύει ότι δύνανται ως σκέψεις να αξιοποιηθούν αποτελεσματικά και να αποτελέσουν εν τέλει μια πολλά υποσχόμενη μέθοδο για το μέλλον.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5: ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

### ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Γιαμβρίας, Χ. 1998. Εντομολογικοί εχθροί ελιάς. Γεωργική εντομολογία, Σταμούλη Α.Ε. Αθήνα.
- Γιαννούση,Κ.Σ.2016.Νανοδοματίδια χαλκού κατάλληλα για βιολογικές εφαρμογές. Διδακτορική διατριβή. Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών.
- ΔΑΚΟΦΑΚΑ.2022.Διαθέσιμοστο:<http://www.dakofaka.com>.
- Ζιώγας, Β.Ν.,Μαρκόγλου,Α.Ν. 2010. Γεωργική φαρμακολογία. Αθήνα: Εκτυπωτική Αττικής.
- Ηλίας, Α. 2015. Διερεύνηση των μηχανισμών ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα και της διασποράς των υπεύθυνων γονιδίων σε πληθυσμούς των *Bemisia tabaci* (αλευρώδη) και *Tetranychus urticae* (τετράνυχου). Πανεπιστήμιο Κρήτης.
- Θεριός,Ι. 2015. Ελαιοκομία. Εκδόσεις Γαρταγάνη. Θεσσαλονίκη.
- Καπετανάκης, Ε., Λυδάκης, Δ., Λιονάκης, Σ., Κολλάρος, Δ., Παπαδάκη, Μ., Γουμενάκη, Ε., Παπαηλιάκης, Μ., Αλυσσανδράκης, Ε., Ψειροφωνιά, Π., Χασουράκης, Ι., Τσικαλάκης, Π., Κουλετάκης, Α. 2008. Η Ολοκληρωμένη Καταπολέμηση του δάκου της ελιάς στην Κρήτη. ΤΕΙ Κρήτης.
- Μπρούμας,Θ., Κατσογιάννος, Π. 1996. Εχθροί της ελιάς. Γεωργία–Κτηνοτροφία.
- Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων. ΥΠΑΑΤ. 2002. Οδηγίες ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας στην καλλιέργεια της ελιάς. Διαθέσιμο στο: [http://minagric.gr/images/stories/docs/agrotis/Georgika\\_Farmaka/olokl\\_fitoprostasia/Eli\\_a\\_Oktwvrios2017.pdf](http://minagric.gr/images/stories/docs/agrotis/Georgika_Farmaka/olokl_fitoprostasia/Eli_a_Oktwvrios2017.pdf).
- Χλωρίδης, Α. 2021. Η χρήση των χαλκούχων σκευασμάτων στην γεωργία. [online]. Διαθέσιμο στο: <https://www.yraithros.gr/xrisi-xalkouxon-skeyasmaton-sti-georgia> [ανάκτηση 3/12/2021].
- Χρυσουπιδίου, Ο. 2018. Χωροχρονικές μεταβολές πληθυσμού δάκου στη Σάμο. Πανεπιστήμιο Αιγαίου. Πτυχιακή εργασία.

### ΑΓΓΛΙΚΗ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Ahmadi, M., Salehi, B., Abd-Alla, A. M.,Babaie, M. 2018. Feasibility of using the radiation-based sterile insect technique (SIT)to controlthe olive fruit fly, *Bactrocera oleae* Gmelin (Diptera: Tephritidae) in Iran. Applied Radiation and Isotopes. 139.279-284.
- Al Zaidi, A., Elhag, E., Baig, M. 2011. Negative effects of pesticides on the environment and the farmers awareness in Saudi Arabia: a case study. J Anim Plant Science.
- Araujo, M., Castanheira, E., Sousa, S. 2023. The Buzz on Insecticides: A Review of Uses, Molecular Structures, Targets, Adverse Effects, and Alternatives. Molecules.

- Arnaud, B., Floriane, C., Beatrice, H., Francesce, M., Lincoln, S. 2018. Journal of applied entomology. DOI: 10.1111/jen.12573.
- Bailey, K., Boyetchko, S. 2010. Social and economic drivers shaping the future of biological control: a Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial pesticides. *Biol Control*.
- Balabanidou, V., Kampouraki, A., MacLean, M., Blomquist, G. J., Tittiger, C., Juárez, M. P. 2016. Cytochrome P450 associated with insecticide resistance catalyzes cuticular hydrocarbon production in *Anopheles gambiae*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113. 9268–9273.
- Ben-Yosef, M., Aharon, Y., Jurkevitch, E., Yuval, B. 2010. Give us the tools and we will do the job: symbiotic bacteria affect olive fly fitness in a diet dependent fashion. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*. 277: 1545–1552.
- Borowiec, N., Groussier-Bout, G., Vercken, E., Thaon, M., Auguste-Maros, A., Warot-Fricaux, S., Lucchi, A. 2012. Diversity and geographic distribution of the indigenous and exotic parasitoids of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae), in Southern France. *IOBC/WPRS Bulletin*, 79, 71–78.
- Broumas, T., G. Haniotakis, C. Liaropoulos, T. Tomazou, N. Ragoussis. 2002. The efficacy of an improved form of the mass-trapping method, for the control of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae): pilot scale feasibility studies. *Journal of Applied Entomology* 126: 217-223.
- Çakıcı, M., Kaya, M. 1982. Research on the Loss of Product Caused by Olive Fly (*Dacus oleae* Gmel.) and the Economic Threshold in the Aegean Region. Bornova Plant Protection Research Institute. Project Final Report A.105.024. 13 p.
- Canale, A., Benelli, G. 2012. Impact of mass rearing on the host seeking behaviour and parasitism by the fruit fly parasitoid *Psytalia concolor* (Szépligeti) (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Pest Science* 85: 65–74.
- Capuzzo, C., Firrao, G., Mazzon, L., Squartini, A., Giro-lami, V. 2005. ‘*Candidatus Erwinia dacicola*’, a coevolved symbiotic bacterium of the olive fly *Bactrocera oleae* (Gmelin). *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*.
- Chardonnet, F., Blanchet, A., Hurtrel, B., Marini, F., Smith, L. 2018. Mass-rearing optimization of the parasitoid *Psytalia lounsburyi* for biological control of the olive fruit fly. *Journal of Applied Entomology*. Issue 3. p. 277-288.
- Chen, H., Wang, B., Feng, W., Du, W., Ouyang, H., Chai, Z., Bi, X. 2015. Oral magnetite nanoparticles disturb the development of *Drosophila melanogaster* from oogenesis to adult emergence. *Nanotoxicology*.
- Chifiriuc, M. C., Ratiu, A. C., Popa, M., Ecovoiu, A. A. 2016. Drosophotoxicology: an emerging research area for assessing nanoparticles interaction with living organisms. *International journal of molecular sciences*.
- Cook, J., Rivero Lynch, A., Godfray, C. 1994. Sex ratio and foundress number in the parasitoid wasp *Bracon hebetor*. *Animal Behaviour*, 47, 687–696. <https://doi.org/10.1006/anbe.1994.1093>.
- Copeland, R., White, I., Okumu, M., Machera, P., Wharton, R. 2004. Insects associated with fruits of the Oleaceae (Asteridae, Lamiales) in Kenya, with special reference to the Tephritidae (Diptera). *Bishop Museum Bulletins in Entomology*, 12, 135–164.

- Daane, K. M., Wang, X., Nieto, D. J., Pickett, C. H., Hoelmer, K. A., Blanchet, A., Johnson, M. W. 2015. Classic biological control of olive fruit fly in California, USA: Release and recovery of introduced parasitoids. *BioControl*, 60, 317–330. <https://doi.org/10.1007/s10526-015-9652-9>.
- Daane, K.M., Sime, X. Wang, H. Nadel, M.W. Johnson, V.M. Walton, A. Kirk, C.H. Pickett, 2008. *Psytalia lounsburyi* (Hymenoptera: Braconidae), potential biological control agent for the olive fruit fly in California. *Biological Control* 44: 79-89.
- Daher, E., Cinosi, N., Chierici, E., Rondoni, G., Famiani, F., Conti, E. 2022. Field and Laboratory Efficacy of Low-Impact Commercial Products in Preventing Olive Fruit Fly, *Bactrocera oleae*, Infestation. *Insects*, 13(2), 213.
- Das, S., Debnath, N., Patra, P., Datta, A., Goswami, A. 2012. Nanoparticles influence on expression of cell cycle related genes in *Drosophila*: a microarray based toxicogenomics study. *Toxicological & Environmental Chemistry*.
- Delgado-Pertinez, M., Gomez-Cabrera, A., Garrido, A. 2000. Predicting the nutritive value of the olive leaf (*Olea europaea*): digestibility and chemical composition and in vitro studies. *Anim Feed Sci Technol*. 87: 187-201.
- Doitsidis, L., Fouskitakis, G. N., Varikou, K. N., Rigakis, I. I., Chatzichristofis, S. A., Papafilippaki, A. K., Birouraki, A. E. 2017. Remote monitoring of the *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) population using an automated Mc Phail trap. *Computers and Electronics in Agriculture*, 137: 69-78.
- Drew, R.A.I., Lloyd, A.C. 1987. Relationship of fruit flies (Diptera: Tephritidae) and their bacteria to host plants. *Annals of the Entomological Society of America*, 80: 629–636.
- Economopoulos, A.P., Haniotakis, G., Mathioudis, J., Missis, N., Kinigakis, P. 1978. Long distance flight of wild and artificially reared *Dacus oleae* (Gmelin) (Diptera, Tephritidae). *Zeitschrift fur Angewandte Entomologie* 87: 101-108.
- Economopoulos, A.P., Avtzis, N., Zervas, G., Tsitsipis, J., Haniotakis, G., Tsiropoulos, G., Manoukas, A. 1977. Experiments on the control of the olive fly, *Dacus oleae* (Gmel.), by the combined effect of insecticides and releases of gamma-ray sterilized insects.
- Epsky, N.D., Heath, R.R., Dueben, B.D., Lauzon, C.R., Proveaux, A.T., Mac Collom, G.B. 1998. Attraction of 3-methyl-1-butanol and ammonia identified from *Enterobacter agglomerans* to *Anastrepha suspensa*. *Journal of Chemical Ecology* 24: 1867–1880.
- Ercolani, G.L. 1991. Distribution of epiphytic bacteria on olive leaves and the influence of leaf age and sampling time. *Microbial Ecology* 21: 35–48.
- Estes, A.M., Hearn, D.J., Burrack, H.J., Rempoulakis, P. and Pierson, E.A. 2012. Prevalence of *Candidatus Erwinia dacicola* in wild and laboratory olive fruit fly populations and across developmental stages. *Environmental Entomology* 41: 265–274.
- FAO. 2020. Food and Agriculture Organization of United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/?#data/QC> (Access date: 20.05.2020).

- Fitches, E., Edwards, M. 2004. Fusion proteins containing insect-specific toxins as pest control agents: snow drop lectin delivers fused insecticidal spider venom toxin to insect haemolymph following oral ingestion.
- Fox, L. R., Letourneau, D. K., Eisenbaeh, J., Van Nouhuys, S. 1990. Parasitism rates and sex ratios of a parasitoid wasp: Effects of herbivore and plant quality. *Oecologia*, 83, 414–419. <https://doi.org/10.1007/BF00317569>
- Girolami, V. 1973. Reperti morfoistologici sulle batteriosim-biosi del *Dacus oleae* Gmelin e di altri Ditteri Tripetidi, in natura e negli allevamenti su substrati artificiali. *Redia*, 54: 269–293.
- Haniotakis, G.E. 2005. Olive pest control: Present status and prospects. Integrated Protection of Olive Crops. International Organization for Biological Control/West Palearctic Regional Section (IOBC/WPRS) Bulletin 28: 1-9.
- Hoelmer, K.A., Kirk, A. A., Pickett, C. H., Daane K. M., Johnson, M.W. 2011. Prospects for improving biological control of olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae), with introduced parasitoids (Hymenoptera), *Bio control Science and Technology* 21(9), 1005-1025.
- Hubbard, M., Hynes, R., Bailey, K. 2014. The biochemistry behind biopesticide efficacy. *Sustainable Chemical Processes*.
- Jaffar, S., Ahmad, S., Lu, Y. 2022. Contribution of insect gut microbiota and their associated enzymes in insect physiology and biodegradation of pesticides. *Front. Microbiol* 13: 979383.
- Jampílek, J., Kráľová, K. 2015. Application of nanotechnology in agriculture and food industry, its prospects and risks. *Ecological Chemistry and Engineering*.
- Joyce, A. L., Millar, J. G., Paine, T. D., Hanks, L. M. 2002. The effect of host size on the sex ratio of *Syngaster lepidus*, a parasitoid of Eucalyptus longhorned borers (*Phoracantha spp.*). *Biological Control*, 24, 207–213. [https://doi.org/10.1016/S1049-9644\(02\)00031-2](https://doi.org/10.1016/S1049-9644(02)00031-2).
- Kakani, E.G., Zygouridis, N.E., Tsoumani, K.T., Seraphides, N., Zalom, F.G., Mathiopoulou, K.D. 2010. Spinosad resistance development in wild olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) populations in California. *Pest Management Science* 66: 447–453.
- Kampouraki, A., Stavrakaki, M., Karataraki, A., Katsikogiannis, G., Pitika, E., Varikou, K., Vlachaki, A., Chrysargyris, A., Malandraki, E., Sidiropoulos, N., Paraskevopoulos, A., Gkilpathi, D., Roditakis, E., Vontas, J. 2018. Recent evolution and operational impact of insecticide resistance in olive fruit fly *Bactrocera oleae* populations from Greece. *Journal of Pest Science*, 91: 1429–1439.
- Karatolos, N., Denholm, I., Williamson, M., Nauen, R., Gorman, K. 2014. Incidence and characterization of resistance to neonicotinoid insecticides and pymetrozine in the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* Westwood (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pest management Science*.
- Kasana, R.C., Panwar, N.R., Kaul, R.K., Kumar, P. 2016. Copper Nanoparticles in Agriculture: Biological Synthesis and Antimicrobial Activity. In Ranjan, S., Dasgupta, N., Lichtfouse, E. (Eds.), *Nanoscience in Food and Agriculture* 3: 129-143.

- Katsoyannos, B. I., Papadopoulos, N. T. 2003. Comparison of different trapping systems for *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) in Chios, Greece. Abstract soft he 1st European Meeting of the IOBC/WPRS Study Group “Integrated Control in Olives”. Crete. May 29-31.
- Kiewnick, S. 2007. Practicalities of developing and registering microbial biological control agents.
- Kohl, J., Gerlagh, M., De Haas, B., and Krijger, M. 1998. Biological control of *Botrytis cinerea* in cyclamen with *Ulocladium atrum* and *Gliocladium roseum* under commercial growing conditions. *Phytopathology*.
- Kole, C., Kumar, D. S., Khodakovskaya, M. V. 2016. *Plant nanotechnology: principles and practices*. Springer.
- Kounatidis, I., Papadopoulos, N.T., Mavragani-Tsipidou, P., Cohen, Y., Tertivanidis, K., Nomikou, M., and Nestel, D. 2008. Effect of elevation on spatio temporal patterns of olive fly (*Bactrocera oleae*) populations in northern Greece. *Journal of Applied Entomology* 132: 722-733.
- Kounatidis, I., Crotti, E., Sapountzis, P., Sacchi, L., Rizzi, A., Chouaia, B. 2009. *Acetobacter tropicalis* a major symbiont of the olive fruit fly (*Bactrocera oleae*). *Applied and Environmental Microbiology* 75: 3281–3288.
- Kumar, S. 2012. *Biopesticides: a need for food and environmental safety*. *Fertil Pestic.*
- Kumar, S., Singh. A. 2014. *Biopesticides for intergrated crop management: environmental and regulatory aspects*. *Fertil Pestic.* 2014.
- Lamichhane, J. R., Osdaghi, E., Behlau, F., Köhl, J., Jones, J.B., Aubertot, J.N. 2018. Thirteen decades of antimicrobial copper compound supplied in agriculture. *A review. Agronomy for Sustainable Development* 38: 28.
- Lauzon, C.R. 2003. Symbiotic relationships of tephritids. *Insect Symbiosis*, Vol. 1 (eds. K. Bourtzis & T.A. Miller), pp.115–129. CRC Press. Boca Raton. USA.
- Leahy, J., Mendelsohn, M., Jones, R., Berckes, N. 2014. *Biopesticide oversight and registration at the U.S. Environmental Protection Agency*. In: *Coats. Biopesticides: state of the art and future opporntynities*. American Chemical Society: Washington.
- Leeuw, T. K., Reith, R. M., Simonette, R. A., Harden, M. E., Cherukuri, P., Tsyboulski, D. A., Tsyboulski, K.M., Beckingham, K., Weisman, R. B. 2007. Single-walled carbon nanotubes in the intact organism: near IR imaging and biocompatibility studies in *Drosophila*. *Nano letters*.
- Leiderer, P., Dekorsy, T. 2008. Interactions of nanoparticles and surfaces *Tag der mÄundlichen PrÄufung*: 25. April.
- Mariath, H. A., Orton, C. J., Shivas, C. J. 1990. Resistance to oviposition suppression in *Lucilia cuprina*. *Resist. Manag. Parasites Sheep*, 52.
- Mazzini, M. and Vita, G. 1981. Identificazione submicro-scopica del meccanismo di trasmissione del batterio sim-bionte in *Dacus oleae*(Gmelin) (Diptera, Trypetidae)—submicroscopic identification of the mechanism of transmiss-ion of the symbiotic bacterium in *Dacusoleae* (Gmelin)(Diptera, Trypetidae). *Redia* 64: 277–301.

- Medeiros, M. 2001. Olive oil and health benefits. In: Wildman REC, editor. The Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods. Boca Raton. USA. pp. 261-267.
- Medoro, V., ferretti, G., Rotondi, A., Galamini, G., Morrone, L., Faccini, B., Coltorti, M. 2022. Pesticides reduction, improvement of soil quality and olive trace ability by means of zeolite-rich tuff: the Zeoliva project. EGU General Assembly. Vienna, Austria. [online] <https://doi.org/10.5194/egusphere-egu22-4590>
- Melander, A. 1914. Can Insects Become Resistant to Sprays? Article Navigator. Moran, N.A. 2006. Symbiosis. *Current Biology* 16: 866–871.
- Nair, R., Varghese, S. H., Nair, B. G., Maekawa, T., Yoshida, Y., Kumar, D. S. 2010. Nanoparticulate material delivery to plants. *Plant science*.
- Narayanan, E.S., Chawla, S.S., 1962. Parasites of fruit fly pests of the world. *Beitrage zur Entomologie* 12, 437–476.
- Nicholson, G. 2007. Fighting the global pest problem: preface to the special toxicon issue on insecticidal toxins and their potential for insect pest control. *Toxicon*.
- Pavlidis, N., Kampouraki, A., Tseliou, V., Wybouw, N., Dermauw, W., Roditakis, E., Nauen, R., VanLeewen, T., Vontas, J. 2018. Molecular characterization of pyrethroid resistance in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. P 1-7.
- Petri, L. 1909. Ricerche sopra i batteri intestinali della *Mosca olearia*. *Memorie della Regia Stazione di Patologia Vegetale*. 1–129.
- Poinar, G.O.J., Hess, R.T., Tsitsipis, J.A. 1975. Ultra structure of the bacterial symbiotes in the pharyngeal diverticulum of *Dacus oleae* (Gmelin) (Trypetidae; Diptera). *Acta Zoologica* 56: 77–84.
- Powell, C., Calesa, V., Sinno, M., Staden, M. 2018. Barcoding of parasitoid wasps (Braconidae and Chalcidoidea) associated with wild and cultivated olives in the Western Cape of South Africa. *Discover Chem Dex*. DOI: 10.1139/gen-2018-0068
- Pinheiro, L. A., Dáder, B., Wanumen, A. C., Pereira, J. A., Santos, S. A., Medina, P. 2020. Side effects of pesticides on the olive fruit fly parasitoid *Psytalia concolor* (Szépligeti): A Review. *Agronomy*.
- Ravensberg, W. 2011. A Road map to the Successful Development and Commercialization of Microbial Pest Control Products for Control of Arthropods. Dordrecht: Springer.
- Rempoulakis, P., Dimou, I., Chrysargyris, A. and Economopoulos, A.P. 2014. Improving olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) adult and larval artificial diets, microflora associated with the fly and evaluation of a transgenic olive fruit fly strain. *International Journal of Tropical Insect Science* 34: 114–122.
- Rizzo, R., Lo Verde, G., Sinacori, M., Maggi, F., Cappellacci, L., Petrelli, R., Vittori, S., Morshedloo, M., Fofie, G., Benelli, G. 2020. Developing green insecticides to manage olive fruit flies? Ingestion toxicity of four essential oils in protein baits on *Bactrocera oleae*. *Industrial Crops and Products* 143: 111-884.

- Robinson, C. 2002. Real World Research: A Resource for Social Scientists and Practitioner-Researchers. 2nd Edition, Black well Publishing Ltd. Oxford.
- Rugman-Jones, P. F., Wharton, R., van Noort, T., Stouthamer, R. 2009. Molecular differentiation of the *Psytalia concolor* (Szépligeti) species complex (Hymenoptera: Braconidae) associated with olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae), in Africa. *Biological Control* 49: 17-26.
- Sacchetti, P., Granchietti, A., Landini, S., Viti, C., Giovannetti, L. and Belcari, A. 2008. Relationships between the olive fly and bacteria. *Journal of Applied Entomology* 132: 682–689.
- Saour, G., Makee, H. 2004. A kaolin based particle film for suppression of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* Gmelin (Dip., Tephritidae) in olive groves. *Journal of Applied Entomology* 128: 28-31.
- Sarfraz, M., Keddie, A. B., Dossall, L. M. 2005. Biological control of the diamondback moth, *Plutella xylostella*: A review. *Biocontrol Sci. Technol* 15: 763– 789.
- Sarwar, M. 2014. Implementation of Integrated Pest Management Tactics in Rice (*Oryza sativa* L.) for Controlling of Rice Stem Borers (Insecta: Lepidoptera). *Rice Plus Magazine* 6: 4-5.
- Savio, C., Mazzon, L., Martinez-Sanudo, I., Simonato, M., Squartini, A., Girolami, V. 2012. Evidence of two line ages of the symbiont ‘*Candidatus Erwinia dacicola*’ in Italian populations of *Bactrocera oleae* (Rossi) based on 16SrRNA gene sequences. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 62: 179–187.
- Shobha, G., Moses, V., Ananda, S. 2014. Biological Synthesis of Copper Nanoparticles and its impact a Review. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention* 3: 8.
- Sime, K. R., Daane, K. M., Messing, R. H., Johnson, M. W. 2006. Comparison of two laboratory cultures of *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae), as a parasitoid of the olive fruit fly. *Biological Control* 39: 248-255.
- Siskos, E.P., Konstantopoulou, M.A., Mazomenos, B.E., Jervis, M. 2007. Insecticidal activity of *Citrus aurantium* fruit, leaf and shoot extracts against adults of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*. 100: 1215–1220.
- Siskos, E. P., Konstantopoulou, M. A., Mazomenos, B. E. 2009. Insecticidal activity of *Citrus aurantium* peel extract against *Bactrocera oleae* and *Ceratitis capitata* adults (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology* 133: 108–116.
- Stamopoulos, C., Tzanetakis, N. M. 1988. Bacterial flora isolated from the oesophageal bulb of the olive fruit fly *Dacus oleae* (Gmelin). *Entomologia Hellenica*, 6: 43–48.
- Stuart, S. 2003. Development of Resistance in Pest Populations.
- Sudo, M., Takahashi, D., Andow, D. A., Suzuki, Y., Yamanaka, T. 2018. Optimal management strategy of insecticide resistance under various insect life histories: Heterogeneous timing of selection and inter patch dispersal. *Evol. Appl.* 11: 271–283.



- Suppan, S. 2013. Nanomaterials In Soil. Institute for Agriculture and Trade Policy. Syngenta, 2022. [online] <https://www.syngenta.gr/proionta/fytoproستasia/entomoktona/karatetrap-b>
- Tanwar, R., Dureja, P., Rathore, H. 2012. "Bio-pesticides," in Pesticides, Evaluation of Environmental Pollution, eds H. Rathore and L. Nollet (Boca Raton, FL: CRC Press). 587–603.
- Thakore, Y. 2006. The biopesticide market for global agricultural use. *Ind. Biotechnol.* 2: 194–208.
- Thaon, M., Blanchet, A., & Ris, N. 2009. Contribution à l'optimisation de l'élevage du parasitoïde *Psytalia lounsburyi*. *Cahier Des Techniques Inra*, 66, 21–31.
- Torres-Vila, L.M., Rodríguez-Molina, M.C., Lacasa-Plasencia, A., Bielza, P. 2002a Insecticide resistance of *Helicoverpa armigera* to endosulfan, carbamates and organophosphates: the Spanish case. *Crop Protection* 21: 1003–1013.
- Torres-Vila, L.M., Rodríguez-Molina, M.C., Lacasa-Plasencia, A., BielzaLino, P., Rodríguez-del-Rincón, A. 2002b. Pyrethroid resistance of *Helicoverpa armigera* in Spain: current status and agroecological perspective. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 93: 55–66.
- Tozlu, İ., Harel, C., Akerzurumlu, E., Fabbri, A. 2011. The olive (*Olea europaea* L.) production in Northern Cyprus. *Acta Horti* 924: 461-466.
- Tsiropoulos, G.J. 1983. Microflora associated with wild and laboratory reared adult olive fruit flies, *Dacus oleae*(Gmel). *Zeitschrift für Angewandte Entomologie* 96: 337–340.
- Tsiropoulos, G.J. 1985. The importance of dietary nitrogen and carbohydrate in the nutrition of the adult olive fruit fly, *Dacusoleae*. *Mitteil. Gesellschaft für Allgemeine und Angewandte Entomologie* 4: 349–351.
- Tsitsipis, J.A., Kontos, A. 1983. Improved solid adult diet for the olive fruit fly, *Dacusoleae*. *Entomologia Hellenica* 1: 24–29
- Tsitsipis, J.A. 1977a. Development of a caging and eggging system for mass rearing the olive fruit fly, *Dacus oleae* (Gmel.) (Diptera, Tephritidae). *Journal for Applied Entomology* 83: 96-105.
- Tsitsipis, J.A. 1977b. An improved method for mass rearing of the olive fruit fly, *Dacusoleae* (Gmel.) (Diptera: Tephritidae). *Journal for Applied Entomology* 83: 419-426.
- Tzanakakis, M. E. 2003. Seasonal development and dormancy of insects and mites feeding on olive: A review. *Netherlands Journal of Zoology* 52: 87-224.
- Ünver, E. 2016. Molecular characterization of ancient olive genotypes from Hatay province in Turkey. *Turk J Agric For* 40: 795-801.
- Venkatesan, T., Chethan B. R., Mani M. 2022. Insecticide resistance and its management in the insect pests of horticultural crops. Editors M. Mani. Springer, Singapore: Trends in Horticultural Entomology. 455–490.

- Volakakis, N., Eyre, M., Kabourakis, E., Leifert, C. 2008. Olive fly (*Bactrocera oleae*) activity, fruit infestation and temperature in an organic table olive orchard in southern Crete. In: Conference Proceedings of Cultivating the Future Based on Science: 2nd Conference of the International Society of Organic Agriculture Research (ISO FAR). 18–20.
- Vontas, J.G., Cosmidis, N., Loukas, M., Tsakas, S., Hejazi, M.J., Ayoutanti, A., Hemingway, J., 2001. Altered acetylcholinesterase confers organophosphate resistance in *Bactrocera oleae*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 71: 124-132.
- Wang, X. G., Johnson, M. W., Daane, K. M., Yokoyama, V. Y. 2009. Larger olive fruit size reduces the efficiency of *Psytalia concolor*, as a parasitoid of the olive fruit fly. *Biological Control*. 49: 45-51.
- Williams, T., Valle, J., Vihuela, E. 2003. Is the naturally derived insecticide spinosad compatible with insect natural enemies? *Biocontrol Science and Technology*.
- Yadav, R., Singh, S., Singh, A. N. 2022. Biopesticides: Current status and future prospects. *Proc. Int. Acad. Ecol. Environ. Sci.* 12: 211.
- Yamvrias, C., Panagopoulos, C.G., Psallidas, P.G. 1970. Preliminary study of the internal bacterial flora of the olive fruit fly (*Dacus oleae* Gmelin). *Annales de l'Institut phytopathologique Benaki* 9: 201–206.