



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Παραδοτέο έργου Π1.3. Έκθεση αξιολόγησης του βαθμού ανθεκτικότητας των ευρεθέντων ειδών εντόμων στα συνήθη χρησιμοποιούμενα εντομοκτόνα.

Τύπος: Έκθεση

Υπο-παραδοτέο Π1.3.3 «Αξιολόγηση του βαθμού ανθεκτικότητας των ευρεθέντων ειδών εντόμων σε διάφορες δραστικές ουσίες»



DiatomiteThem

DiatomiteThem

Τίτλος Έργου:

**Προστασία των αποθηκευμένων δημητριακών με τη
χρήση γης διατόμων**

«Το έργο αυτό υλοποιείται στο πλαίσιο της Δράσης ΕΡΕΥΝΩ-ΔΗΜΙΟΥΡΓΩ-ΚΑΙΝΟΤΟΜΩ και συγχρηματοδοτήθηκε από το Ευρωπαϊκό Ταμείο Περιφερειακής Ανάπτυξης (ΕΤΠΑ) της Ευρωπαϊκής Ένωσης και εθνικούς πόρους μέσω του Ε.Π. Ανταγωνιστικότητα, Επιχειρηματικότητα & Καινοτομία (ΕΠΑνΕΚ) (κωδικός έργου: Τ2ΕΔΚ-03532)»



ΕΠΑνΕΚ 2014-2020
ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΕΠΙΧΕΙΡΗΜΑΤΙΚΟΤΗΤΑ
ΚΑΙΝΟΤΟΜΙΑ



Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Εισαγωγικά στοιχεία	3
2. Έντομα	4
3. Πρωτόκολλο βιοδοκιμών με φωσφίνη	4
4. Πρωτόκολλο βιοδοκιμών με εντομοκτόνα επαφής	19
5. Συμπεράσματα	51
6. Βιβλιογραφία	53



1. Εισαγωγικά στοιχεία

Η παρουσία εντόμων σε έναν αποθηκευτικό χώρο οδηγεί τελικά στην ποσοτική και ποιοτική υποβάθμιση των αποθηκευμένων προϊόντων (Cotton 1960, Sinha and Watters 1985). Έτσι, η χρήση εντομοκτόνων διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στη διασφάλιση ότι υπάρχει επαρκής διαθεσιμότητα τροφής. Ωστόσο, η αλόγιστη χρήση τους ενέχει δυνητικούς κινδύνους για την εμφάνιση πληθυσμών εντόμων αποθηκών με ανθεκτικότητα στα εγκεκριμένα εντομοκτόνα, πληθυσμοί που αποτελούν απειλή για τα τρόφιμα. Με βάση τα παραπάνω και προκειμένου να αξιολογηθεί η ύπαρξη ανθεκτικότητας των ειδών εντόμων αποθηκών που συναντώνται στους αποθηκευτικούς χώρους του συνεταιρισμού «ΘΕΣγη», στα πιο συχνά χρησιμοποιούμενα εντομοκτόνα, πραγματοποιήθηκε σειρά δειγματοληψιών από το προσωπικό του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας (ΕΕΓΖ) του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, σε διάφορες αποθήκες του συνεταιρισμού. Κατά την υλοποίηση των δειγματοληψιών, έγινε επισκόπηση των αποθηκευτικών χώρων με σκοπό την συλλογή, την αναγνώριση και την εργαστηριακή εκτροφή των εντομολογικών εχθρών των αποθηκευμένων προϊόντων (βλέπε Π1.1.1 και Π1.2.1), ενώ σε δεύτερη φάση, τα είδη εντόμων που βρέθηκαν στις αποθήκες χρησιμοποιήθηκαν σε βιοδοκιμές με σκοπό την επισήμανση της ανθεκτικότητας στα συνήθη εγκεκριμένα χρησιμοποιούμενα εντομοκτόνα επαφής pirimiphos-methyl, deltamethrin, cypermethrin και στο αέριο εντομοκτόνο φωσφίνη. Η μεθοδολογία της αξιολόγησης της ανθεκτικότητας και τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών αναφέρονται αναλυτικά στα παρακάτω κεφάλαια.



2. Έντομα

Στη παρούσα ενότητα, αξιολογήθηκε η ανθεκτικότητα των εντόμων που συλλέχθηκαν από τον συνεταιρισμό, για είδη εντόμων που αντιστοιχούσαν σε 11 είδη κολεοπτέρων και 2 είδη λεπιδοπτέρων. Ειδικότερα, ακμαία άτομα των *Tribolium confusum*, *Tribolium castaneum*, *Latheticus oryzae*, *Tenebrio molitor*, *Oryzaephilus surinamensis*, *Cryptolestes ferrugineus*, *Rhyzopertha dominica*, *Sitophilus oryzae*, *Sitophilus granarius*, *Sitophilus zeamais*, *Acanthoscelides obtectus*, *Plodia interpunctella* και *Ephestia elutella* αξιολογήθηκαν ως προς την ευαισθησία τους σε διαφορετικές δραστικές ουσίες, που αποτελούν και τις πιο γνωστές για την προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων από εντομολογικούς εχθρούς. Για τις βιοδοκιμές ανθεκτικότητας χρησιμοποιήθηκαν ακμαία άτομα ηλικίας μικρότερης των 7 ημερών, από όλα τα είδη που συλλέχθηκαν από τις δειγματοληψίες της Δράσης 1.2.1 και εκτράφηκαν στο ΕΕΓΖ, σύμφωνα με τα πρωτόκολλα εκτροφής που αναφέρονται στο Π1.2.3. Ταυτόχρονα, εργαστηριακοί πληθυσμοί του ίδιου είδους, εξετάστηκαν σε παράλληλα σετ βιοδοκιμών, ως μάρτυρες. Η συλλογή των ακμαίων και ο διαχωρισμός τους από τα υποστρώματα εκτροφής έγινε με κοσκίνισμα, με βάση τα όσα έχουν ήδη αναφερθεί και στην περιγραφή των εκτροφών των ευρεθέντων ειδών εντόμων.



3. Πρωτόκολλο βιοδοκιμών με φωσφίνη

Το πρωτόκολλο που χρησιμοποιήθηκε για την επισήμανση του επιπέδου ανθεκτικότητας των πληθυσμών εντόμων που συλλέχθηκαν από τις αποθήκες του συνεταιρισμού ήταν το Detia Degesch Phosphine Resistance Test Kit (DDPRTK, Εικόνα. 1), το οποίο είναι γνωστό και ως Phosphine Tolerance Test (PTT) της εταιρίας Detia Degesch GmbH (Laudenbach, Γερμανία), ακολουθώντας τις διαδικασίες που περιγράφονται στο εγχειρίδιο χρήσης, για την παραγωγή της φωσφίνης και τον υπολογισμό της συγκέντρωσης. Με βάση τις επικαιροποιημένες οδηγίες, είκοσι ακμαία των παραπάνω ειδών καθώς και των αντίστοιχων εργαστηριακών εκτροφών τοποθετήθηκαν ξεχωριστά για κάθε είδος και πληθυσμό στην πλαστική σύριγγα του kit, η οποία έχει χωρητικότητα 100 ml (Εικόνα 2A), και εκτέθηκαν σε συγκέντρωση φωσφίνης 3000 ppm για 5, 10, 15, 20, 30, 40, 60 και 90 λεπτά (min). Η φωσφίνη παρήχθη στο ειδικό ορθογώνιο κάνιστρο του kit, το οποίο έχει χωρητικότητα 5 λίτρα, τοποθετώντας δύο ταμπλέτες του kit (δηλ. τις PTT phosphine tablets, οι οποίες δεν έχουν καρβαμιδικό αμμώνιο και παράγουν το αέριο ταχύτατα), αφού πρώτα προστέθηκαν 100 ml νερό. Στη συνέχεια, το περιεχόμενο του κανίστρου ανακινήθηκε για 5 λεπτά, με σκοπό την επιτάχυνση της έκλυσης του αερίου. Μετά από κάθε διάστημα έκθεσης, καταγράφονταν τα νεκρά (χωρίς εμφανή κίνηση) και ακινητοποιημένα (με κάποια ελάχιστη κίνηση, χαρακτηρισμένα ως knocked down-KD) άτομα, μετά από παρατήρηση σε στερεοσκόπιο (Εικόνα 2B). Η όλη διαδικασία επαναλήφθηκε 6 φορές, δηλ. σε 3 επαναλήψεις με 2 υπο-επαναλήψεις, με νέα παραγωγή φωσφίνης κάθε φορά.

Η παραγωγή της φωσφίνης έγινε στο πλαστικό κάνιστρο του kit (Εικόνα 2B και 2Γ) με την προσθήκη δύο ταμπλετών φωσφίνης και 50 ml νερού, με βάση τις προδιαγραφές του κατασκευαστή. Η ποσότητα του αερίου, μαζί με την αντίστοιχη ποσότητα του αέρα στη σύριγγα, υπολογίσθηκαν σύμφωνα με την καμπύλη του kit (Εικόνα 3), αλλά και με τη χρήση αερίου χρωματογράφου, για την επισήμανση τυχόν αποκλίσεων (Εικόνα 4). Η διαδικασία της χρωματογραφίας βασίσθηκε στη χρήση αερίου χρωματογράφου (GC) τύπου Shimadzu GC2010Plus (Shimadzu, Kyoto, Japan) εξοπλισμένο με στήλη GS-Q (μήκος 30 m × 0,25 mm i.d., πάχος φιλμ 0,25 μm, MEGA Srl, Ιταλία) και ένα φλογοφωτομετρικό ανιχνευτή με φίλτρο φωσφόρου (flame photometric detector, FPD).

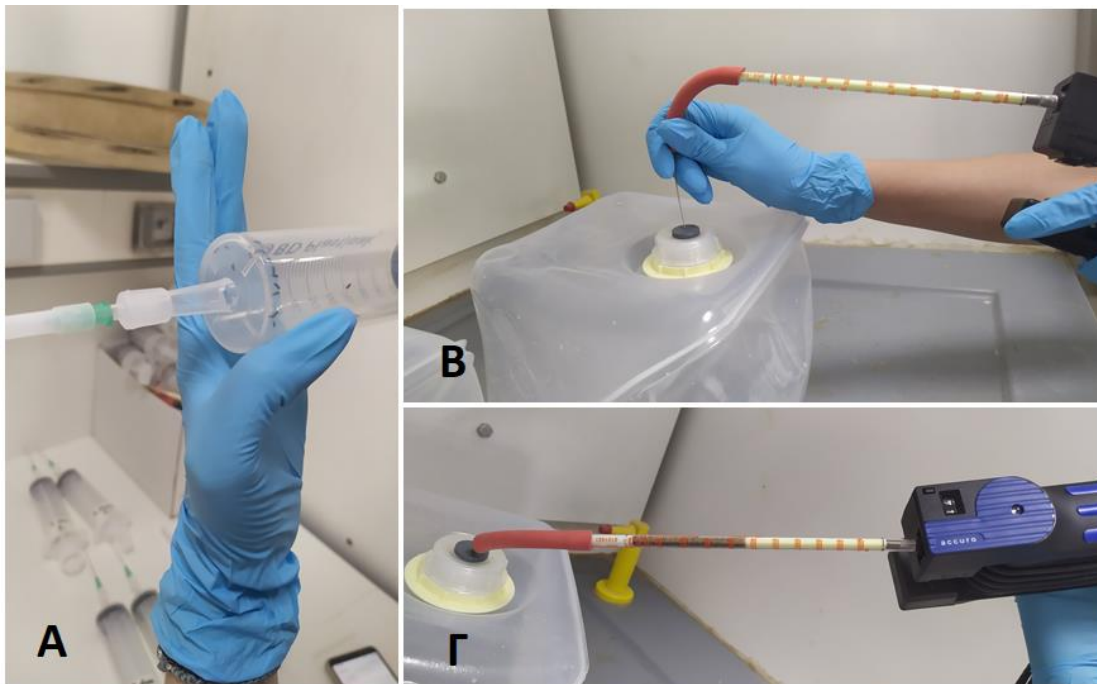


Το αέριο ελήφθη από τα βάζα με αεροστεγή σύριγγα 1 mL (Valco Instrument Co., Inc., Vici, USA). Επιπλέον, σε κάθε επανάληψη και υπο-επανάληψη, η μέτρηση της συγκέντρωσης της φωσφίνης έγινε και με την χρήση Draeger tubes (MSA Company and Draeger Safety AG & Co, Germany) (Εικόνα 5), δηλ. τη χρήση γυάλινων σωληνίσκων που περιέχουν πολύτιμα μέταλλα οι οποίοι είναι ειδικά διαμορφωμένοι για την μέτρηση υψηλών συγκεντρώσεων φωσφίνης (δηλ. πάνω από 1000 ppm). Η καταγραφή έλαβε χώρα με συνεχή παρακολούθηση (Εικόνα 6).

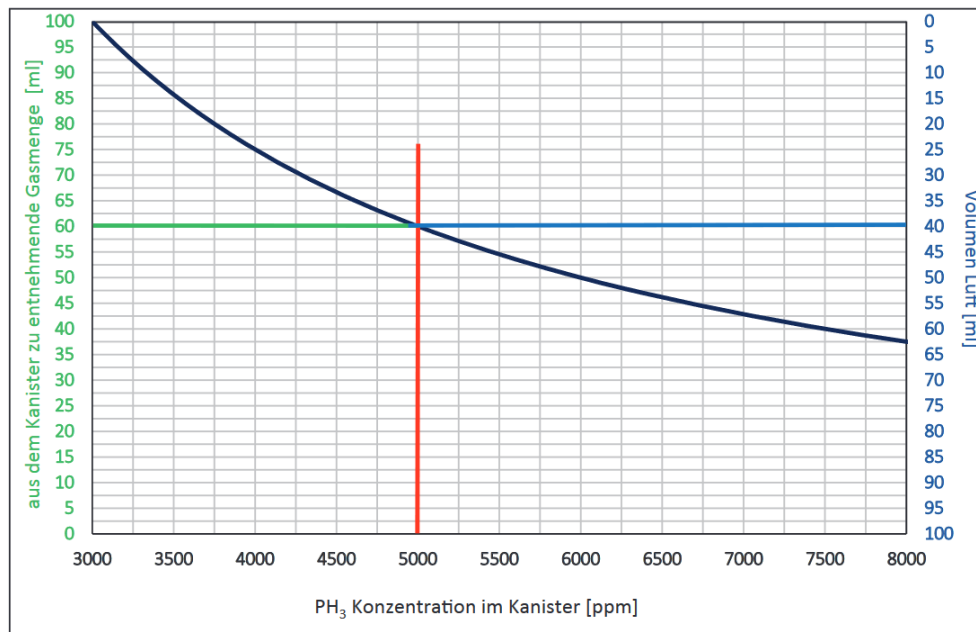
Η όλη διαδικασία αναφέρεται με λεπτομέρεια σε πρότερες εργασίες για την επικαιροποίηση του kit, με βάση τις βασικές αρχές των Steuerwald et al. (2006) και τις πρόσφατες επεκτάσεις των Sakka et al. (2018) και Athanassiou et al. (2019a, b). Σύμφωνα με τα πρωτόκολλα αυτά, ο χρόνος ακινητοποίησης κατά την έκθεση διαφοροποιείται για τα διάφορα είδη κολεοπτέρων, και αποτελεί δείκτη μειωμένης ευαισθησίας στη φωσφίνη. Οι χρόνοι αναφέρονται στον Πίνακα 1 και παρέχουν τη δυνατότητα αξιολόγησης για ένα μεγάλο αριθμό ειδών εντόμων αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων (Athanassiou et al. 2019a, b). Να σημειωθεί ότι σήμερα, το kit είναι εγκεκριμένο για το σκοπό αυτό για χρήση σε εσωτερικούς χώρους και αποτελεί ουσιαστικά τη μοναδική εμπορικά διαθέσιμη μέθοδο ταχείας διάγνωσης της ανθεκτικότητας στη φωσφίνη, με πολύ καλά αποτελέσματα (Athanassiou and Arthur 2018), ενώ έχει αξιοποιηθεί σε διάφορες χώρες για πολλά είδη εντόμων και πληθυσμούς (Steuerwald et al. 2006, Sakka et al. 2018, Agrafioti et al. 2019, 2020, Athanassiou et al. 2019a, b).



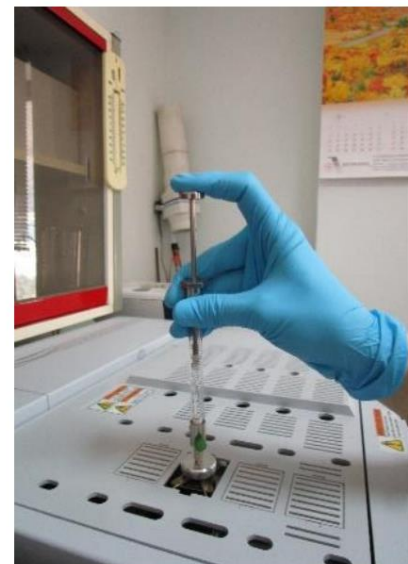
Εικόνα 1: Detia Degesch Phosphine Resistance Test Kit (DDPRTK), και σχετικά υλικά που χρησιμοποιήθηκαν για το πρωτόκολλο (Μάσκα, μετρητής φωσφίνης)



Εικόνα 2: Πλαστική σύριγγα με τα έντομα προς εξέταση (Α), πλαστικό κάνιστρο όπου έχουν εισαχθεί οι ταμπλέτες φωσφίνης (Β), μέτρηση της συγκέντρωσης της φωσφίνης μέσα στο κάνιστρο με ειδικό μετρητή (Γ).



Εικόνα 3: Πρότυπη καμπύλη για τον υπολογισμό των διαφόρων συγκεντρώσεων αέρα και αερίου φωσφίνης, με της ενδεικτικές απαιτούμενες συγκεντρώσεις για τα 5000 ppm (από τις οδηγίες του kit του PTT).



Εικόνα 4: Αέριος χρωματογράφος του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας (Ε, αριστερά), εισαγωγή του αερίου στη στήλη του χρωματογράφου με ειδική σύριγγα (ΣΤ, δεξιά).



Εικόνα 5: Χρησιμοποιημένοι (μεταχρωματισμένοι) σωληνίσκοι για τη μέτρηση της συγκέντρωσης της φωσφίνης.



Εικόνα 6: Εξέταση των εκτεθέντων ατόμων στη σύριγγα του ΡΤΤ και στο στερεοσκόπιο.



3.1. Αποτελέσματα

Στα παρακάτω διαγράμματα φαίνονται τα αποτελέσματα των μετρήσεων σε σχέση με το χρόνο για τα είδη που εξετάστηκαν, μετά από έκθεσή τους σε φωσφίνη στα 3000 ppm. Έντομα των ειδών *Sitophilus zeamais*, *Cryptolestes ferrugineus* και *Tribolium castaneum* βρέθηκαν να είναι ανθεκτικοί στη φωσφίνη. Τα είδη αυτά, τα οποία συλλέχθηκαν από τις αποθήκες του συνεταιρισμού, επιλέχθηκαν για αξιολόγηση καθώς ήταν ιδιαίτερα πολυπληθή κατά τις δειγματοληψίες. Η αξιολόγηση έγινε με βάση τα όσα αναφέρονται στο Πίνακα 1, στον οποίο καθορίζεται η ανθεκτικότητα στην φωσφίνη ανάλογα με το χρόνο που απαιτείται για την ακινητοποίηση ή το θάνατο όλων των εντόμων που εκτίθενται. Σύμφωνα με το Πίνακα 1, ως ανθεκτικοί χαρακτηρίζονται αυτοί οι πληθυσμοί που ξεπερνούν το χρονικό όριο που δίνουν οι συγκεκριμένες προδιαγραφές του DDPRTK. Ως ευαίσθητοι χαρακτηρίζονται οι πληθυσμοί που δεν μπορούν να ξεπεράσουν το αντίστοιχο χρονικό όριο του Πίνακα 1.

Species		Time (min)
Latin name	English name	
<i>Oryzaephilus surinamensis</i>	Saw-toothed grain beetle	14
<i>Cryptolestes ferrugineus</i>	Rust-red grain beetle	13
<i>Sitophilus granarius</i>	Grain weevil	16
<i>Tribolium castaneum</i>	Rust-red flour beetle	14
<i>Lasioderma serricorne</i>	Cigarette beetle	9
<i>Acanthoscelides obtectus</i>	Dried bean beetle	15
<i>Sitophilus oryzae</i>	Lesser rice weevil	10
<i>Sitophilus zeamais</i>	Greater Rice weevil	11
<i>Rhyzopertha dominica</i>	Lesser grain borer	15
<i>Tribolium confusum</i>	Confused flour beetle	13
<i>Oryzaephilus mercator</i>	Merchant grain beetle	15
<i>Callosobruchus maculatus</i>	Cowpea weevil	10
<i>Trogoderma variabile</i>	Grain dermestid	10

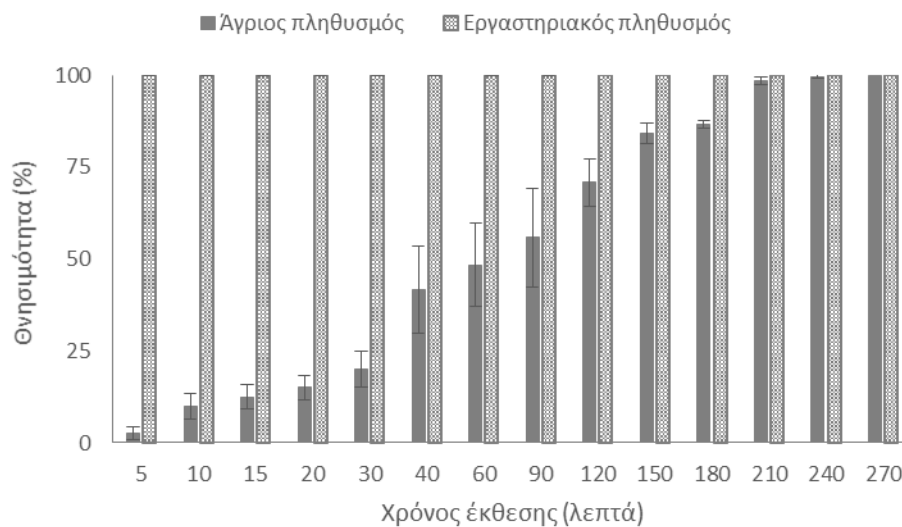
Πίνακας 1: Χρόνος έκθεσης στην φωσφίνη σε λεπτά (min), όπου όπου το κάθε είδος θα πρέπει να έχει ακινητοποιηθεί για να θεωρείται ευαίσθητο (όπως αναφέρεται στις οδηγίες του kit).



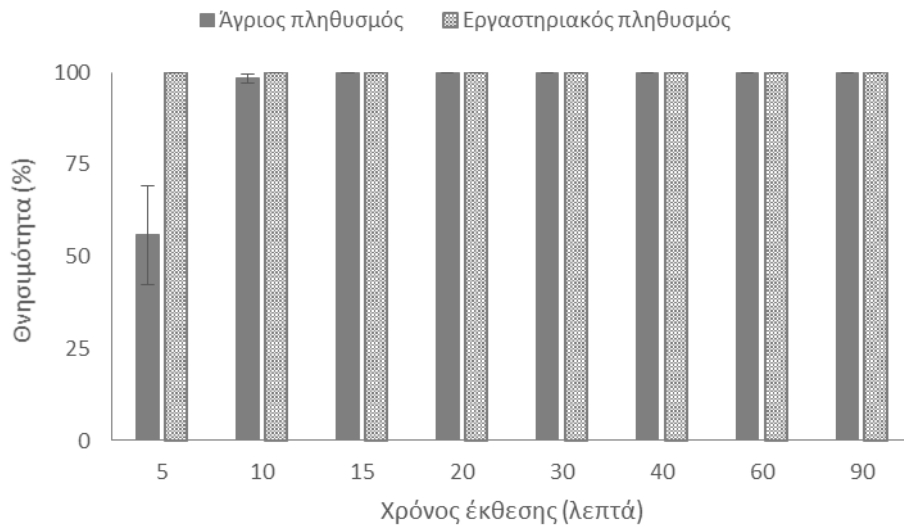
Με βάση τα διαγράμματα, παρατηρούμε ότι το *S. zeamais* που συλλέχθηκε από τις αποθήκες είναι ανθεκτικό στην φωσφίνη, αφού πάνω από το 20% των ακμαίων ήταν δραστήριο στα 11 λεπτά έκθεσης, το οποίο αποτελεί και το όριο σύμφωνα με τον Πίνακα 1. Ταυτόχρονα, εφόσον υπήρξαν δραστήρια ακμαία και μετά το πέρας των 90 λεπτών έκθεσης, το χρονικό διάστημα έκθεσης επεκτάθηκε στα 270 λεπτά, με ενδιάμεσες παρατηρήσεις νάρκωσης των εντόμων κάθε 30 λεπτά, σύμφωνα με τις επιπρόσθετες προδιαγραφές του DDPRTK (Sakka et al. 2018, Athanassiou et al. 2019a, b). Από το Διάγραμμα 1 είναι φανερό ότι ο άγριος πληθυσμός του είδους παρουσίασε μεγάλα ποσοστά ανθεκτικότητας, αφού χρειάστηκαν 4,5 ώρες έκθεσης σε πολύ υψηλή συγκέντρωση φωσφίνης για να θανατωθούν όλα τα ακμαία. Αντιθέτως, οι άγριοι πληθυσμοί των *S. oryzae* (Διάγραμμα 2) και *S. granarius* (Διάγραμμα 3) φάνηκαν να είναι ευαίσθητοι στην φωσφίνη, αφού σχεδόν το 100% των ακμαίων ήταν ακινητοποιημένα στα 15 και 20 λεπτά έκθεσης αντίστοιχα. Το *R. dominica* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο στην φωσφίνη (Διάγραμμα 4), με όλα τα ακμαία του άγριου πληθυσμού να είναι ακινητοποιημένα με το πέρας των 15 λεπτών. Από την άλλη πλευρά, το *T. castaneum* βρέθηκε ανθεκτικό στην φωσφίνη (Διάγραμμα 5), αφού δεν είχαν ακινητοποιηθεί όλα τα ακμαία στα 14 λεπτά έκθεσης που αντιστοιχούν στο κρίσιμο διάστημα έκθεσης (Πίνακας 1), ενώ χρειάστηκαν 90 λεπτά για την ακινητοποίηση όλων των ατόμων του άγριου πληθυσμού. Το *T. confusum* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο αλλά με πιθανότητα ύπαρξης κάποιων ανθεκτικών ατόμων μέσα τον πληθυσμό (Διάγραμμα 6), αφού ακινητοποίηση ενός πολύ μικρού ποσοστού ακμαίων του άγριου πληθυσμού παρατηρήθηκε στα 20 και όχι στα 13 λεπτά που προβλέπεται από το DDPRTK. Τα *T. molitor* (Διάγραμμα 7) και *L. oryzae* (Διάγραμμα 8) ήταν ευαίσθητα στην φωσφίνη. Το *C. ferrugineus* θεωρήθηκε και αυτό ως ανθεκτικό στην φωσφίνη (Διάγραμμα 9) αφού στα 13 λεπτά έκθεσης που ορίζει το DDPRTK μόνο το 3% του πληθυσμού ήταν ακινητοποιημένο. Επίσης υπάρχει μεγάλη πιθανότητα ύπαρξης ισχυρής ανθεκτικότητας, αφού δραστήρια άτομα υπήρχαν ακόμα και μετά το πέρας των 270 λεπτών έκθεσης. Περαιτέρω πειραματισμός όμως είναι απαραίτητος για την επιβεβαίωση της ύπαρξης ισχυρής ανθεκτικότητας στον συγκεκριμένο πληθυσμό, ιδιαίτερα για το χαρακτηρισμό της ισχυρής ανθεκτικότητας. Το *A. obtectus* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο στην φωσφίνη, με όλα τα ακμαία να είναι ακινητοποιημένα στα 15 λεπτά έκθεσης (Διάγραμμα 10). Αντίστοιχα, και το *O. surinamensis* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο



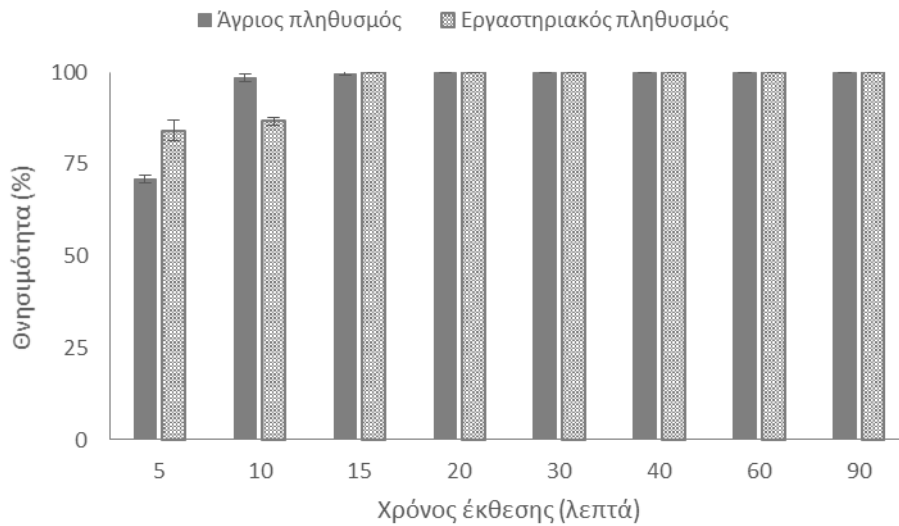
(Διάγραμμα 11), με πλήρη ακινητοποίηση στα 15 λεπτά έκθεσης. Όσον αφορά τα λεπιδόπτερα *P. interpunctella* και *E. elutella* που εξετάστηκαν, δεν υπάρχουν οδηγίες για τον χρόνο έκθεσης που απαιτείται για την επισήμανση της ανθεκτικότητας από το DDPRTK. Ωστόσο, με βάση τα αποτελέσματα των Διαγραμμάτων 12 και 13 αντίστοιχα, όλα τα άτομα τόσο των άγριων αλλά και των εργαστηριακών πληθυσμών των δυο ειδών βρέθηκαν ακινητοποιημένα στα 5 πρώτα λεπτά έκθεσης, δεδομένα που υποδεικνύουν την ευαισθησία αυτών των πληθυσμών στην φωσφίνη. Όλοι οι εργαστηριακοί πληθυσμοί των ειδών που εξετάστηκαν ήταν ευαίσθητοι στην φωσφίνη. Για τα είδη για τα οποία δεν υπάρχουν δεδομένα στον Πίνακα 1, ενίοτε χρησιμοποιείται το ανώτερο χρονικό όριο για τα ήδη αναφερόμενα είδη, δηλ. τα 15-16 λεπτά (Agrafioti et al. 2019).



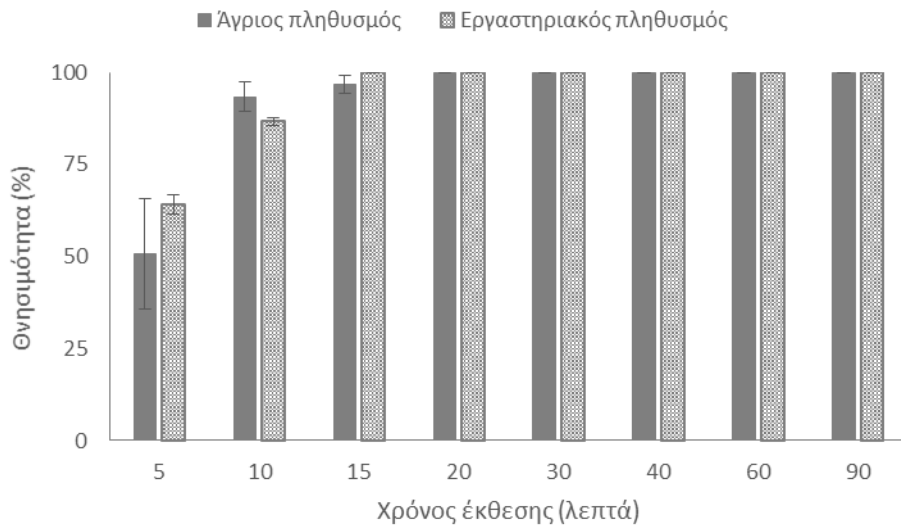
Διάγραμμα 1. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *S. zeamais*, μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



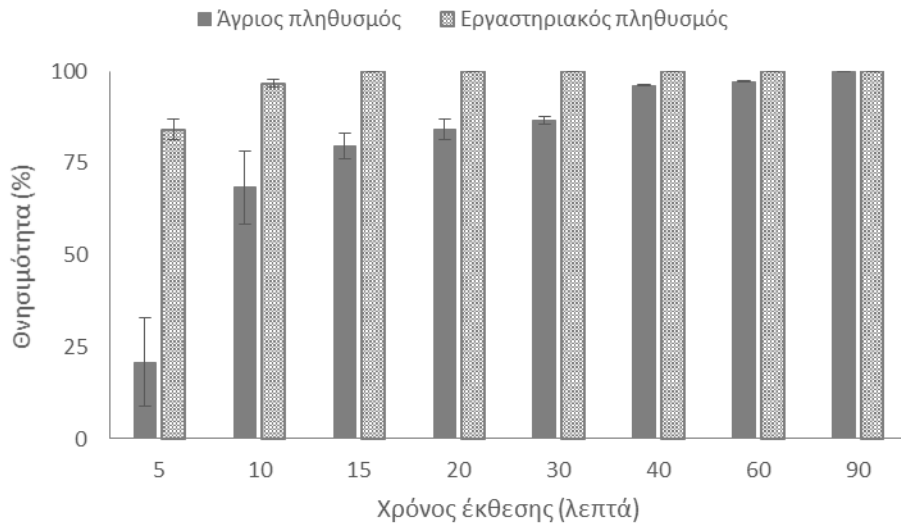
Διάγραμμα 2. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *S. oryzae*, μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



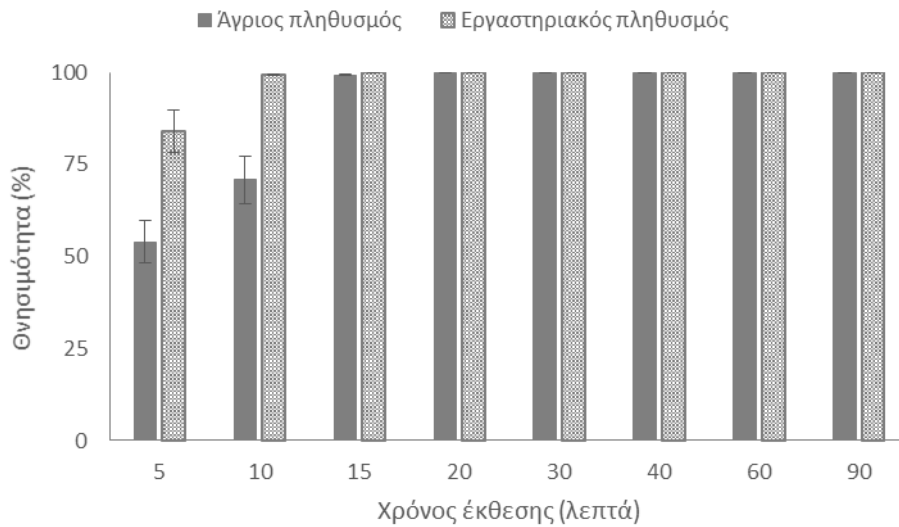
Διάγραμμα 3. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *S. granarius*, μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



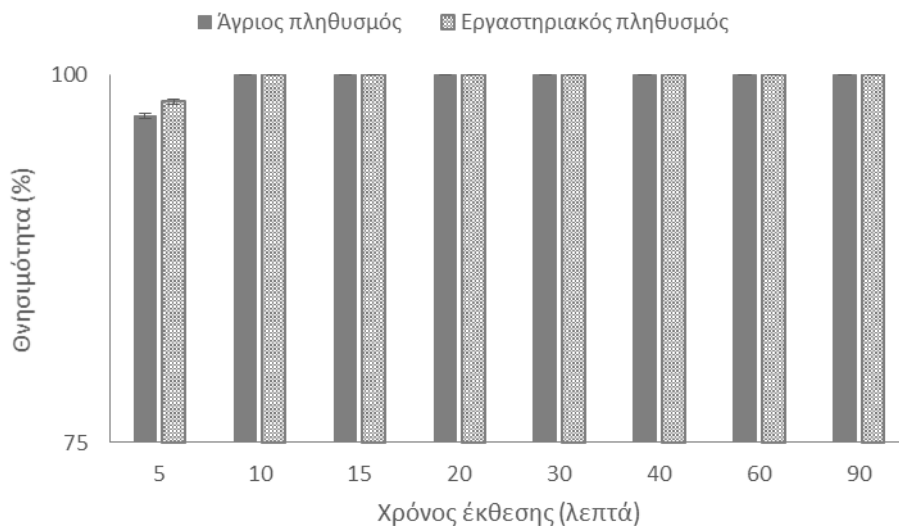
Διάγραμμα 4. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *R. dominica* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



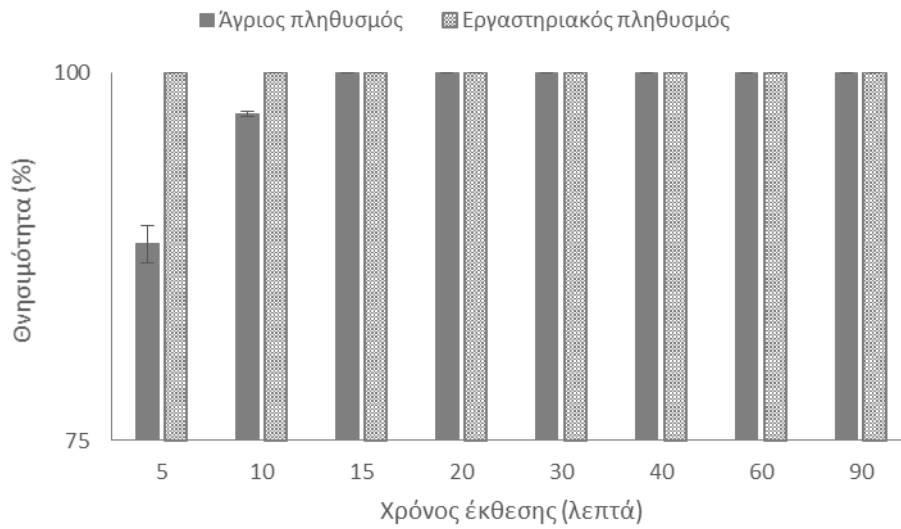
Διάγραμμα 5. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *T. castaneum* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



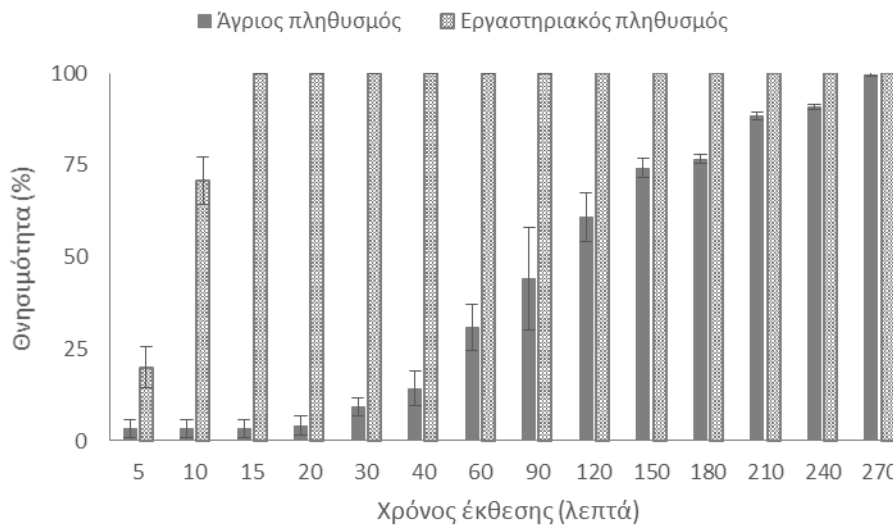
Διάγραμμα 6. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *T. confusum* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



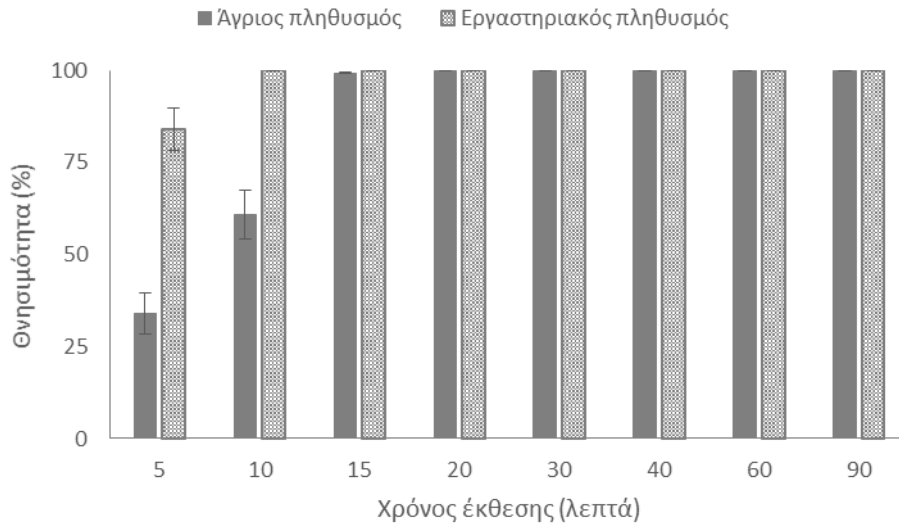
Διάγραμμα 7. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *T. molitor* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



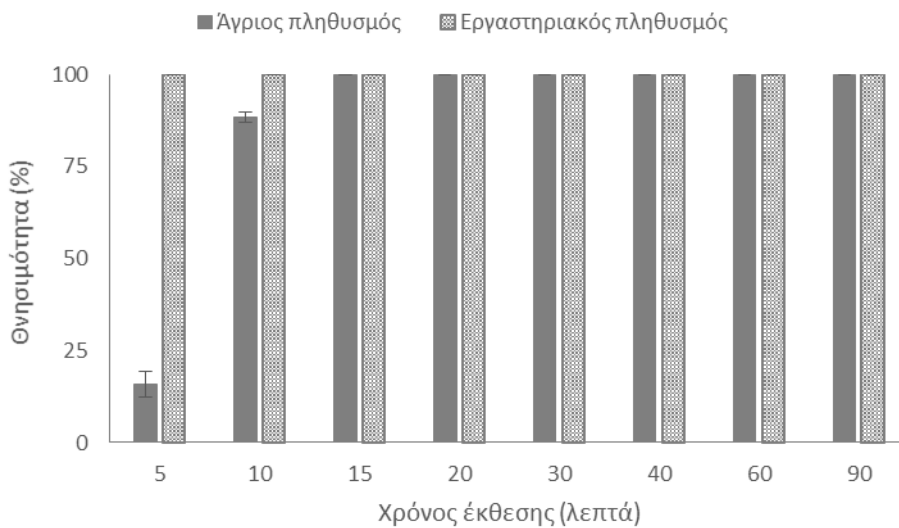
Διάγραμμα 8. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *L. oryzae* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



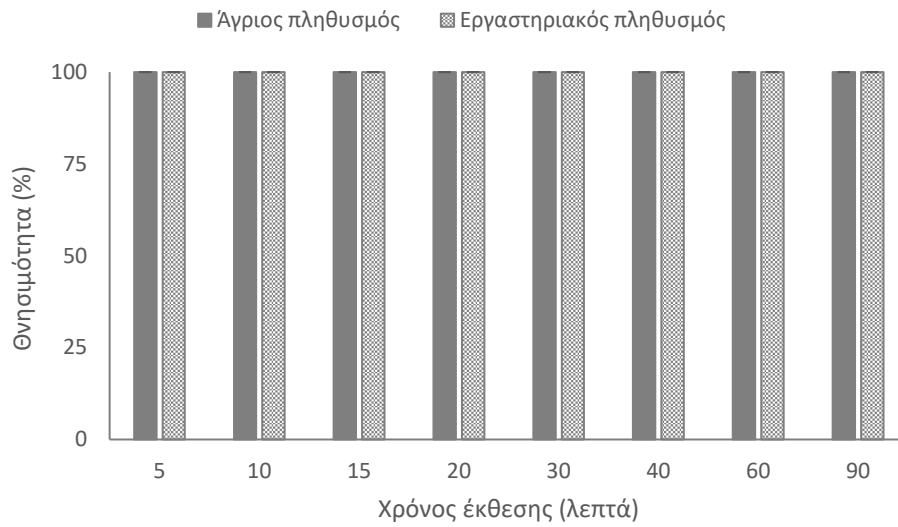
Διάγραμμα 9. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *C. ferrugineus* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



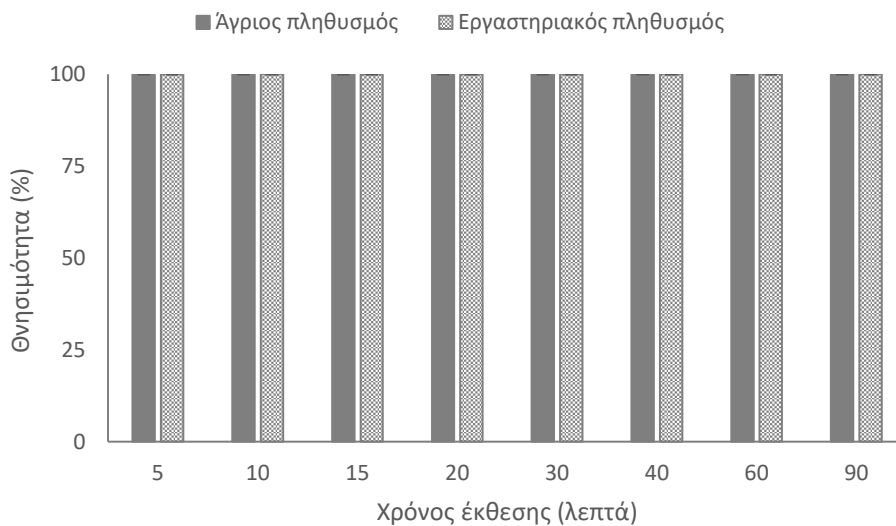
Διάγραμμα 10. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *A. obtectus* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



Διάγραμμα 11. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *O. surinamensis* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



Διάγραμμα 12. Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *P. interpunctella* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



Διάγραμμα 13 Ποσοστιαία κατανομή των νεκρών ακμαίων των πληθυσμών *E. elutella* μετά από έκθεση τους στα 3000 ppm φωσφίνης για διάφορα χρονικά διαστήματα.



4. Πρωτόκολλο βιοδοκιμών με εντομοκτόνα επαφής

Τα εντομοκτόνα επαφής που χρησιμοποιήθηκαν αφορούν τις παρακάτω τρεις δραστικές ουσίες: deltamethrin (Seguro 2,5 EC, Agrotechnica), cypermethrin (Farmathrin 10ES, Farma-Chem SA) και pirimiphos-methyl (Actellic 50 EC, SYNGENTA Hellas). Τα παραπάνω σκευάσματα επιλέχθηκαν γιατί χρησιμοποιούνται ευρέως για απεντομώσεις αποθηκών και κλειστών χώρων, ενώ μέχρι και πρόσφατα ήταν τα μοναδικά τα οποία είχαν έγκριση για απ' ευθείας εφαρμογή σε δημητριακά στη χώρα μας. Δυο δόσεις, όπου υπολογίστηκαν με βάση την συνιστώμενη δόση του εκάστοτε σκευάσματος αξιολογήθηκαν στις βιοδοκιμές. Έτσι, για τις δραστικές deltamethrin και cypermethrin, εφαρμόστηκε 1 ppm (1 mg δραστικής ουσίας / 1000 γρ σπόρων) και για το pirimiphos-methyl εφαρμόστηκαν 4 ppm, ενώ για την αξιολόγηση της ανθεκτικότητας, υπολογίστηκε το δεκαπλάσιο αυτών, δηλαδή 10 ppm για τα deltamethrin και cypermethrin και 40 ppm για το pirimiphos-methyl (Εικόνα 7).



Εικόνα 7: Υπολογισμός δόσεων των εντομοκτόνων επαφής και προετοιμασία των σκευασμάτων για την εφαρμογή τους στον σπόρο.



Ποσότητες σπασμένου μαλακού σιταριού προετοιμάστηκαν για τον ψεκάσμό (Εικόνα 8Α). Έπειτα, προετοιμάστηκαν τα ψεκαστικά διαλύματα κάθε εντομοκτόνου με την αραιώση του εντομοκτόνου σκευάσματος σε απιονισμένο νερό, με διαφορετικά διαλύματα ανά εντομοκτόνο και δόση (Εικόνα 8B). Και για τα τρία εντομοκτόνα, σε κάθε ποσότητα σπόρου εφαρμόστηκε όγκος ψεκαστικού διαλύματος ίσου με 1 ml, όπως προτείνεται και από αντίστοιχες μελέτες (Arthur 2004, 2018, Arthur et al. 2009, Arthur and Subramanyam, 2012). Αντίστοιχα, ποσότητες που ψεκάστηκαν με 1 ml απιονισμένο νερό αποτέλεσαν τους μάρτυρες του πειράματος. Η εφαρμογή των εντομοκτόνων στο σιτάρι έγινε με τη χρήση του αερογράφου Kyoto BD – 183 K (Grapho-tech, Ιαπωνία) (Εικόνα 8 και 9). Τα ψεκαστικά διαλύματα ανακινούνταν καλά ανά τακτά χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια του ψεκάσμου. Στη συνέχεια, 1ml ψεκαστικού διαλύματος εισάγονταν με τη βοήθεια πιπέτας στον αερογράφο (Εικόνα 9) και πραγματοποιούνταν ο ψεκάσμος, λαμβάνοντας όλα τα προβλεπόμενα μέτρα ατομικής προστασίας. Μετά τον ψεκάσμό το σιτάρι επέστρεφε στο γυάλινο βάζο όπου και αφηνόταν λίγη ώρα μέχρι να στεγνώσει. Έπειτα, ποσότητα περί τα 10 γρ ψεκασμένου σπόρου εισήχθησαν σε πλαστικά κυλινδρικά φιαλίδια (3 εκ. σε διάμετρο, 8 εκ. σε ύψος) (Εικόνα 10), με διαφορετικά σερ φιαλιδίων ανά δόση, εντομοκτόνο και επανάληψη. Δέκα ακμαία από κάθε είδος και πληθυσμό, ηλικίας μικρότερης των 7 ημερών προθέτονταν σε κάθε φιαλίδιο, με διαφορετικά σερ φιαλιδίων για κάθε είδος και πληθυσμό. Στην συνέχεια τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν σε θαλάμους ελεγχόμενων συνθηκών θερμοκρασίας 25°C, και σχετικής υγρασίας 55%. Τα φιαλίδια ελέγχθηκαν σε 3, 9 και 14 ημέρες έκθεσης για την θνησιμότητα των ακμαίων, με τα νεκρά άτομα να αφαιρούνται και τα ζωντανά να επιστρέφουν στα φιαλίδια. Η όλη διαδικασία επαναλήφθηκε 6 φορές, δηλ. σε 3 επαναλήψεις με 2 υπο-επαναλήψεις, με νέα παραγωγή δόσεων εντομοκτόνου κάθε φορά.



Εικόνα 8: Ποσότητες σιταριού προς ψεκάσμό (A) και εργαλεία ψεκάσμού (B)



Εικόνα 9: Εισαγωγή 1ml ψεκαστικού διαλύματος με πιπέτα στον αερογράφο



Εικόνα 10: Πλαστικά φιαλίδια βιοδοκιμών

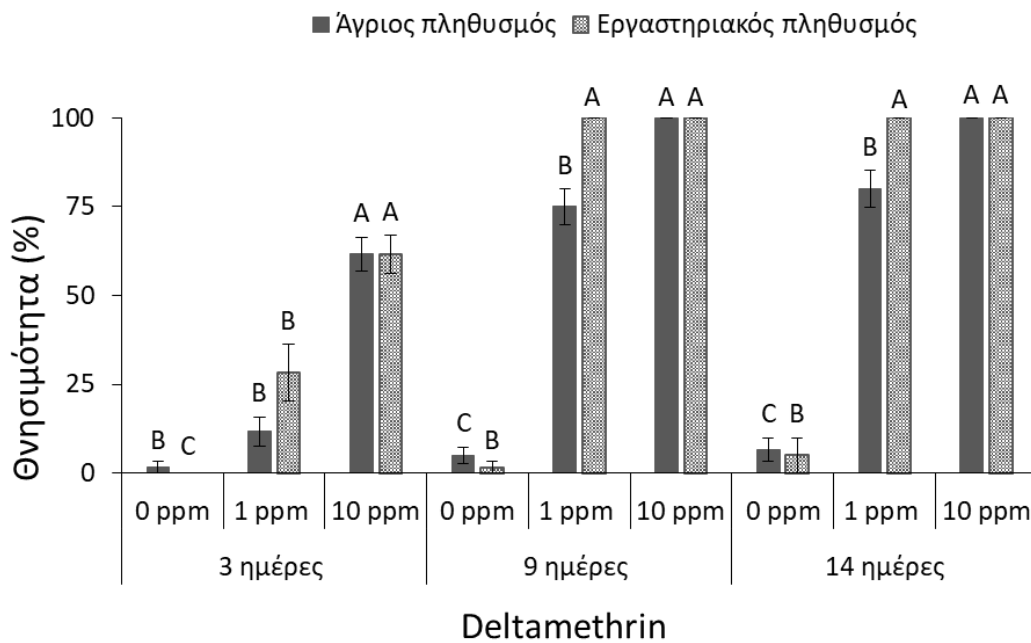
4.1. Αποτελέσματα βιοδοκιμών

Rhizopertha dominica

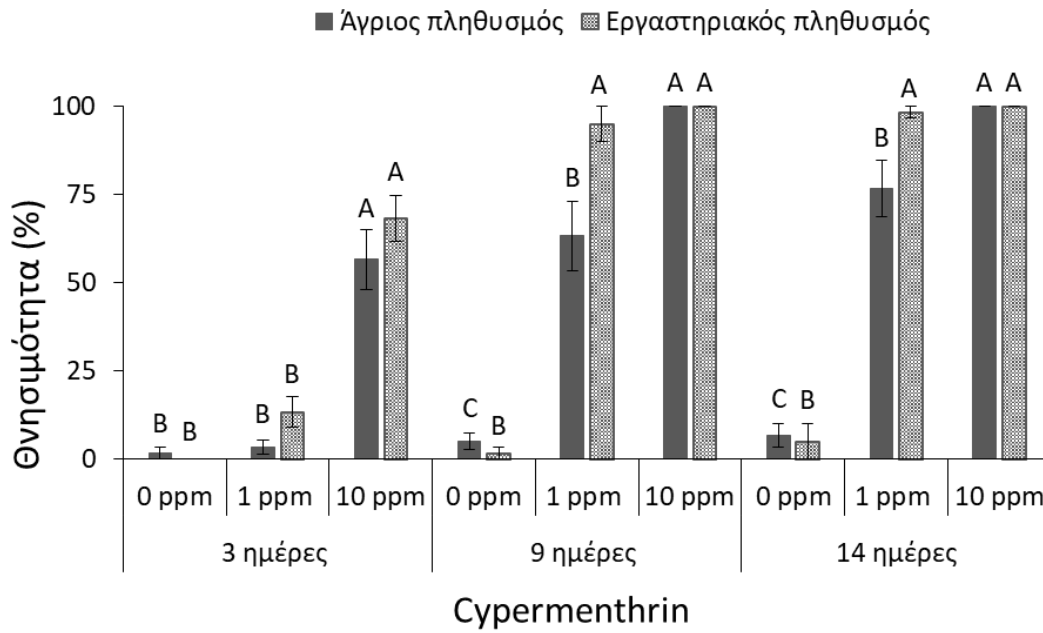
Η θνησιμότητες που παρουσίασε ο άγριος πληθυσμός του *R. dominica* έπειτα από έκθεσή του σε τρεις δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, στα διαστήματα των 3, 9 και 14 ημερών παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 14, όπου με την δόση 0 ppm, αντιστοιχούν τα φιαλίδια που ψεκάστηκαν μόνο με νερό, δηλαδή οι μάρτυρες. Όπως είναι φανερό, πλήρης θνησιμότητα του εργαστηριακού πληθυσμού επετεύχθη την 9^η ημέρα έκθεσης στην συνιστώμενη δόση του 1 ppm deltamethrin, όχι όμως και του άγριου πληθυσμού όπου μόνο το 80% του πληθυσμού θανατώθηκε με το πέρας των 14 ημερών έκθεσης. Ωστόσο πλήρης θνησιμότητα (δηλ. 100 %) του άγριου πληθυσμού επετεύχθη στην δόση των 10 ppm της ίδιας δραστικής. Η θνησιμότητα του μάρτυρα και των δυο πληθυσμών ήταν πολύ χαμηλή καθ' όλη την διάρκεια του πειραματισμού. Έτσι, ο άγριος πληθυσμός θεωρείται ως ανθεκτικός στη δραστική deltamethrin, χρησιμοποιώντας την συνιστώμενη δόση εφαρμογής (1 ppm). Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στην περίπτωση του cypermethrin στις ίδιες δόσεις και στους ίδιους χρόνους έκθεσης για τους δυο πληθυσμούς του *R. dominica* (Διάγραμμα 15). Η θνησιμότητα ήταν ανάλογη της δόσης, με το μέγιστο αυτής (100%) να παρουσιάζεται στην μέγιστη δόση την 9^η ημέρα έκθεσης και στους δυο πληθυσμούς. Από την άλλη πλευρά, η συνιστώμενη δόση δεν ήταν αρκετή για να καταπολεμήσει ικανοποιητικά τον



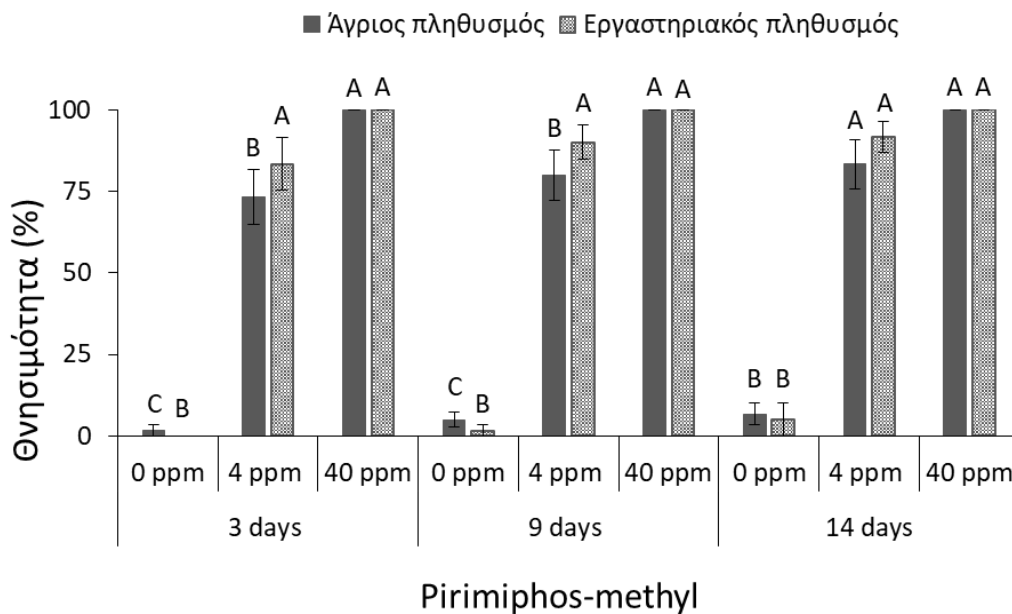
άγριο πληθυσμό, με 76% θνησιμότητα μετά τις 14 ημέρες έκθεσης. Σε όλες τις περιπτώσεις, θνησιμότητα χαμηλότερη του 6% παρατηρήθηκε στους μάρτυρες και των δυο πληθυσμών. Παρόμοια ποσοστά θνησιμότητας παρατηρήθηκαν μεταξύ των δυο πληθυσμών του εντόμου όταν εκτέθηκαν στην δραστική ουσία pirimiphos-methyl (Διάγραμμα 16). Η συνιστώμενη δόση δεν μπόρεσε να καταπολεμήσει πλήρως κανέναν από τους δυο πληθυσμούς του είδους έως και την 14^η ημέρα έκθεσης, ενώ 100% θνησιμότητα επετεύχθη από την 3^η ημέρα έκθεσης στην μεγαλύτερη δόση των 40 ppm, ανεξαρτήτως πληθυσμού. Με βάση τα αποτελέσματα του Διαγράμματος 16, το είδος *R. dominica* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο στη δραστική pirimiphos-methyl.



Διάγραμμα 14. Θνησιμότητα των πληθυσμών *R. dominica* εκτιθέμενο σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



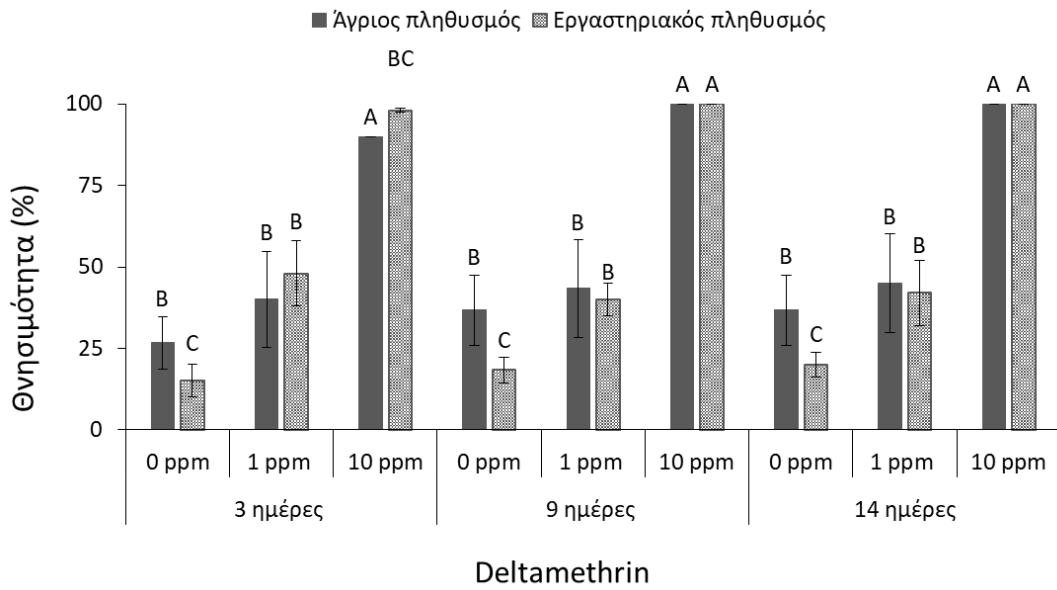
Διάγραμμα 15. Θνησιμότητα των πληθυσμών *R. dominica* εκτιθέμενο σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



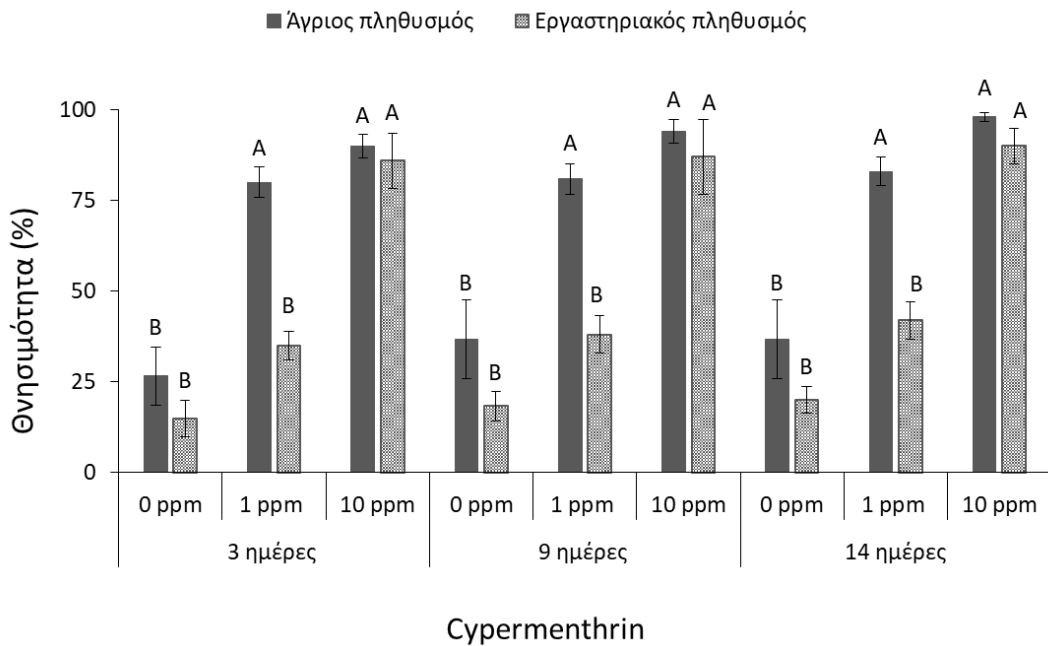
Διάγραμμα 16. Θνησιμότητα των πληθυσμών *R. dominica* εκτιθέμενο σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

*Sitophilus granarius*

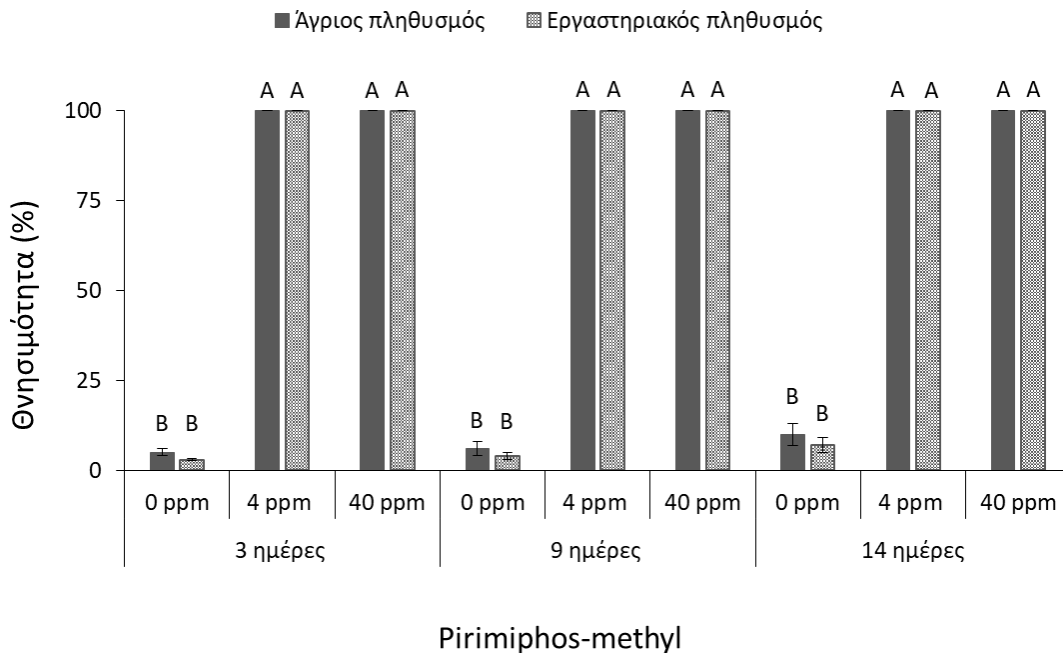
Η θνησιμότητα που παρουσίασε ο άγριος πληθυσμός του *S. granarius* έπειτα από έκθεσή του στις δυο δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin (1 και 10 ppm), στα διαστήματα των 3, 9 και 14 ημερών παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 17. Με την δόση 0 ppm, αντιστοιχούν τα φιαλίδια που ψεκάστηκαν μόνο με νερό, δηλαδή οι μάρτυρες. Η συνιστώμενη δόση του 1 ppm δεν κατάφερε να καταπολεμήσει κανέναν από τους δυο πληθυσμούς του είδους, μέχρι και την 14^η ημέρα έκθεσης. Από την άλλη πλευρά, 100% θνησιμότητα και των δυο πληθυσμών επετεύχθη την 9^η ημέρα έκθεσης στην δόση των 10 ppm deltamethrin. Η θνησιμότητα του μάρτυρα και των δυο πληθυσμών δεν ξεπέρασε το 50% καθ' όλη την διάρκεια του πειραματισμού (Διάγραμμα 17). Έτσι, ο άγριος πληθυσμός θεωρείται ευαίσθητος στη δραστική deltamethrin, αφού δεν υπήρξαν διαφορές μεταξύ του ευαίσθητου στην δραστική εργαστηριακού πληθυσμού και του συλλεχθέντα από τις αποθήκες του συνεταιρισμού άγριου πληθυσμού. Πλήρης καταπολέμηση του είδους επετεύχθη μόνο όταν χρησιμοποιήθηκε η υψηλή δόση εφαρμογής (10 ppm). Στην περίπτωση του cypermethrin, τα αποτελέσματα φανερώνουν την αδυναμία της δραστικής να καταπολεμήσει το είδος, ανεξαρτήτως πληθυσμού και δόσης, αφού καμία από τις δόσεις και τους χρόνους έκθεσης δεν θανάτωσαν το 100% των δυο πληθυσμών (Διάγραμμα 18). Αντιθέτως, πολύ αποτελεσματική φάνηκε να είναι η δραστική pirimiphos-methyl εναντίον του *S. granarius*, με 100% θνησιμότητα από την 3^η ημέρα έκθεσης και στους δυο πληθυσμούς (Διάγραμμα 19). Με βάση τα αποτελέσματα του Διαγράμματος 19, το *S. granarius* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο στη δραστική pirimiphos-methyl.



Διάγραμμα 17. Θνησιμότητα των πληθυσμών *S. granarius* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Διάγραμμα 18. Θνησιμότητα των πληθυσμών *S. granarius* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



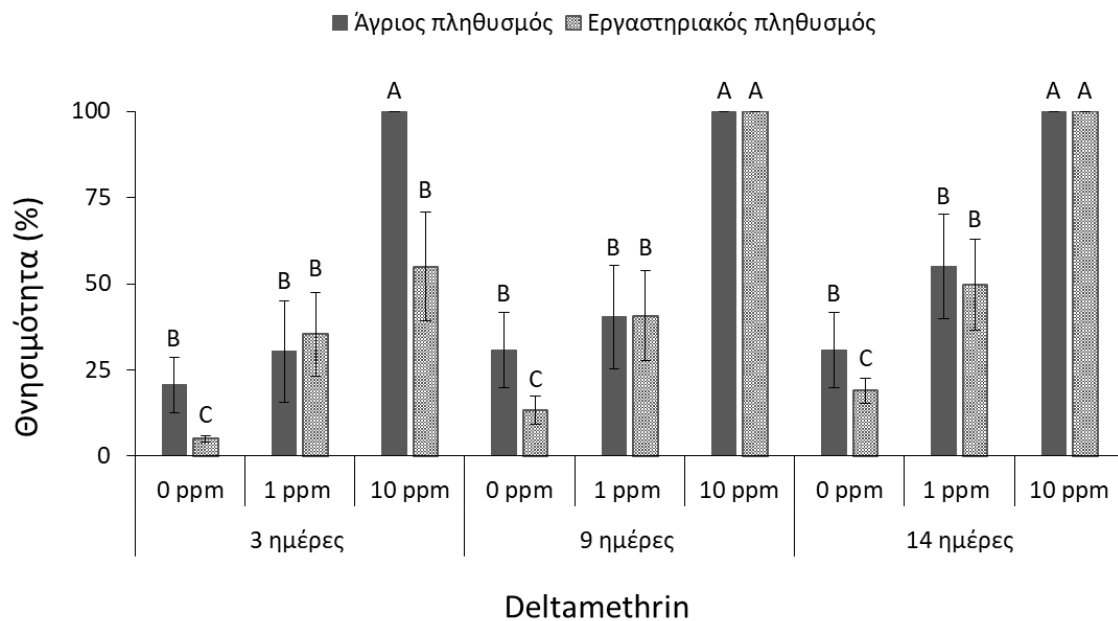
Διάγραμμα 19. Θνησιμότητα των πληθυσμών *S. granarius* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

Sitophilus oryzae

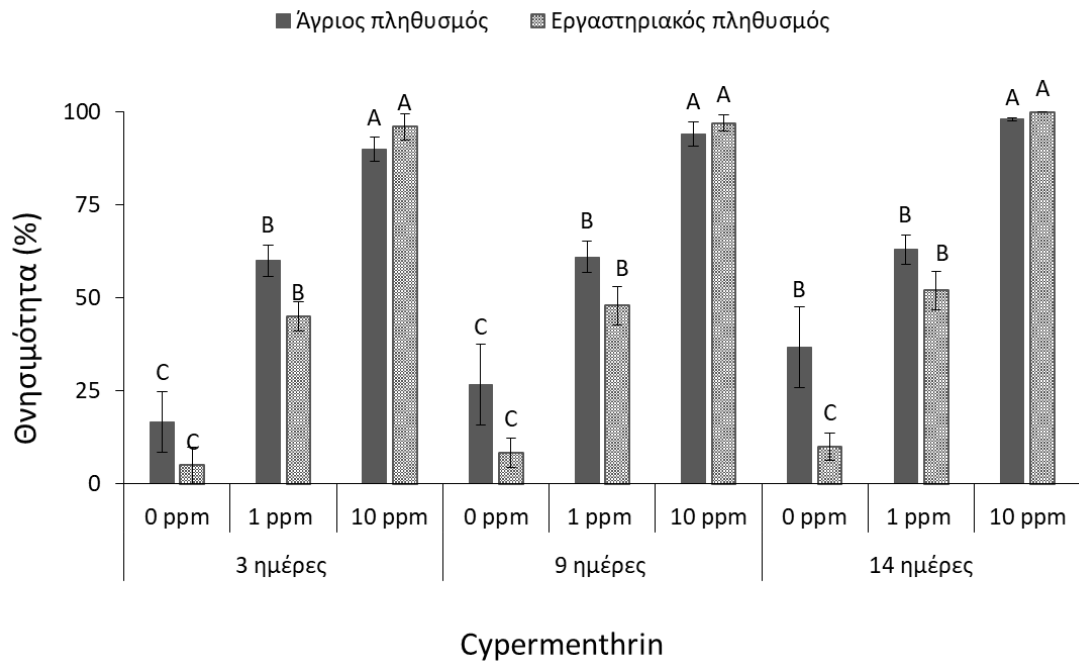
Η θνησιμότητα που παρουσίασε ο άγριος πληθυσμός του *S. oryzae* έπειτα από έκθεσή του στις δυο δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin (1 και 10 ppm), στα διαστήματα των 3, 9 και 14 ημερών παρουσιάζονται στο Διάγραμμα 20. Με την δόση 0 ppm, αντιστοιχούν τα φιαλίδια που ψεκάστηκαν μόνο με νερό, δηλαδή οι μάρτυρες. Η συνιστώμενη δόση του 1 ppm δεν κατάφερε να καταπολεμήσει κανέναν από τους δυο πληθυσμούς του είδους, μέχρι και την 14^η ημέρα έκθεσης. Από την άλλη πλευρά, 100% θνησιμότητα του άγριου πληθυσμού επετεύχθη την 3^η ημέρα έκθεσης και του εργαστηριακού στην 9^η ημέρα έκθεσης στην δόση των 10 ppm deltamethrin. Με βάση τα δεδομένα, ο άγριος πληθυσμός θεωρείται ως ευαίσθητος στην δραστική, αλλά το είδος σχετικά ανεκτικό στην συνιστώμενη δόση του 1 ppm. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και για την δραστική cypermethrin (Διάγραμμα 21), αφού λιγότερο του 75% και των δυο πληθυσμών θανατώθηκαν και με το πέρας των 14^{ων} ημερών έκθεσης. Αντίστοιχα, δεν καταπολεμήθηκε το 100% των πληθυσμών παρά μόνο την 14^η ημέρα έκθεσης και μόνο για τον εργαστηριακό πληθυσμό. Αντιθέτως, πολύ αποτελεσματική



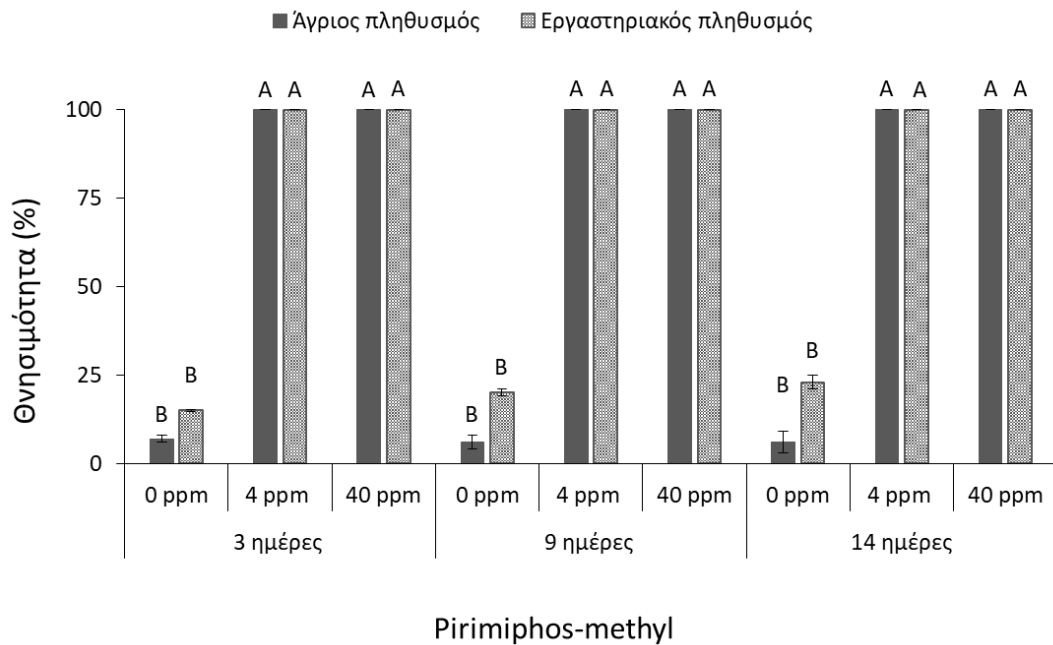
φάνηκε να είναι η δραστική pirimiphos-methyl εναντίον του *S. oryzae*, με 100% θνησιμότητα από την 3^η ημέρα έκθεσης και στους δυο πληθυσμούς (Διάγραμμα 22). Με βάση τα αποτελέσματα, ο άγριος πληθυσμός του *S. oryzae* θεωρήθηκε ως ευαίσθητος και στις τρεις δραστικές ουσίες που εξετάστηκαν.



Διάγραμμα 20. Θνησιμότητα των πληθυσμών *S. oryzae* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



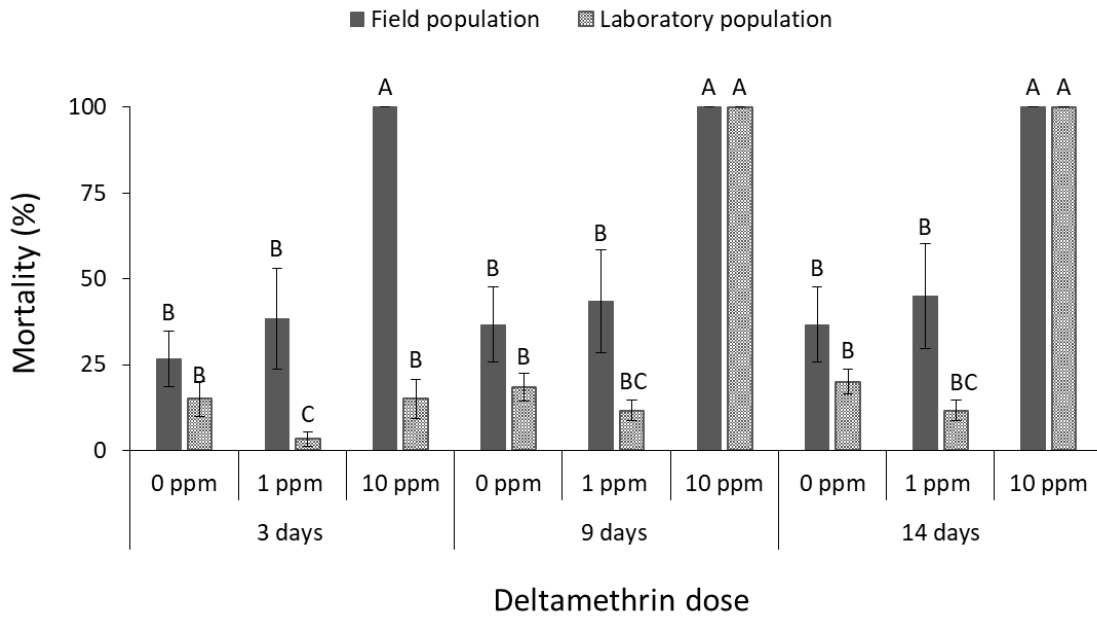
Διάγραμμα 21. Θνησιμότητα των πληθυσμών *S. oryzae* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



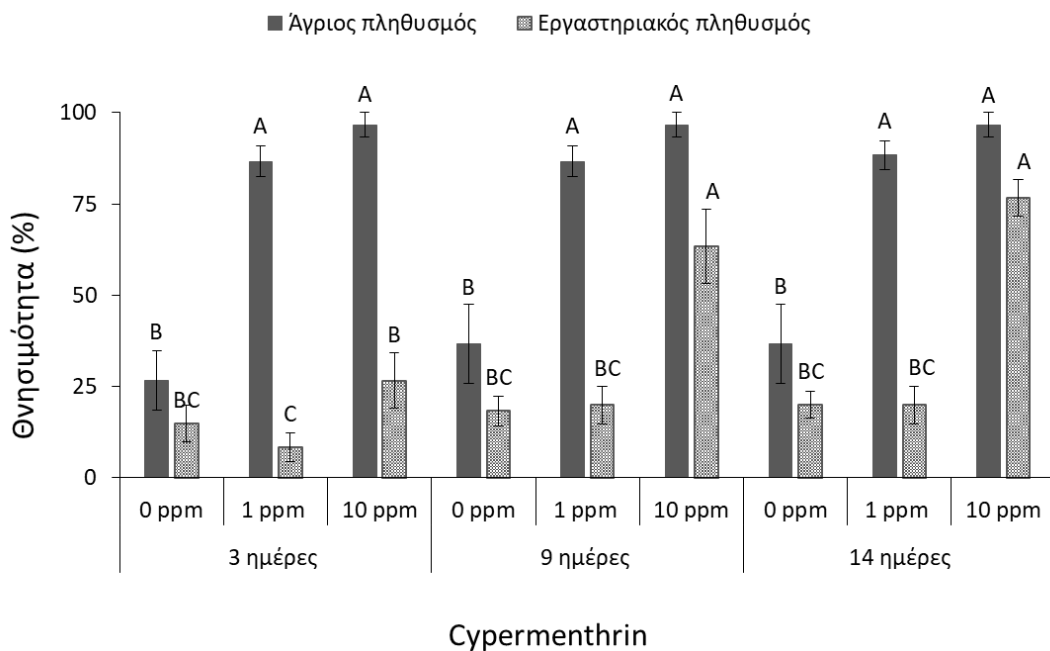
Διάγραμμα 22. Θνησιμότητα των πληθυσμών *S. oryzae* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

*Sitophilus zeamais*

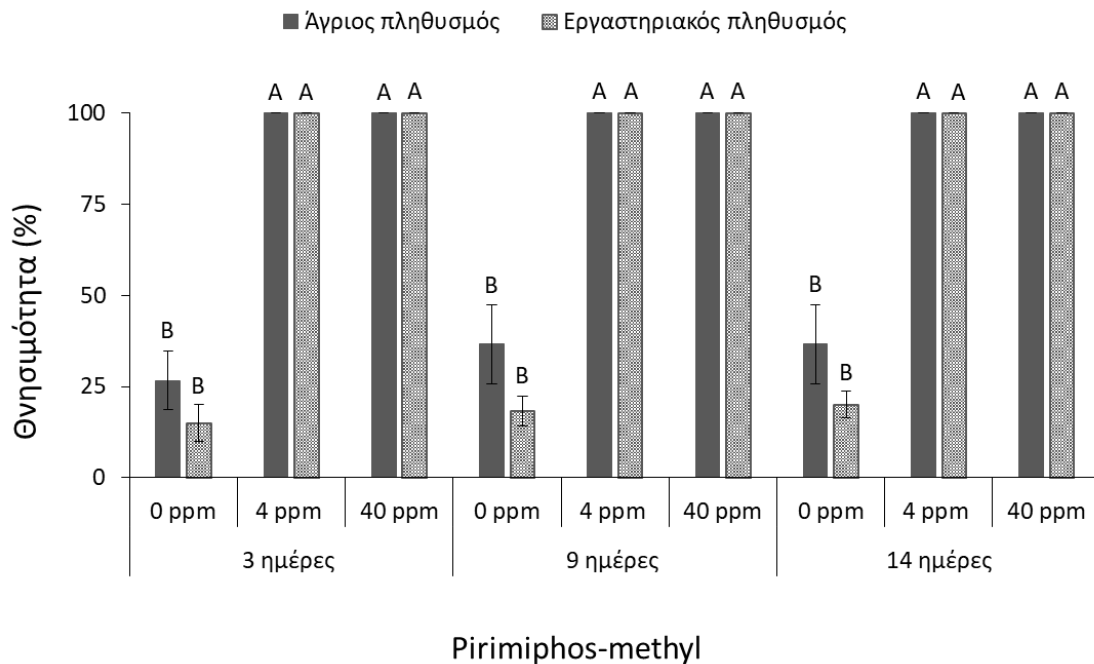
Στα παρακάτω Διαγράμματα παρατίθενται τα επίπεδα θνησιμότητας του *S. zeamais* έπειτα από έκθεσή του στις δραστικές ουσίες. Σε όλες τις μεταχειρίσεις, τα ποσοστά θνησιμότητας ήταν ανάλογα της δόσης και του χρόνου έκθεσης αλλά όχι μεταξύ των πληθυσμών στην δραστική ουσία. Ειδικότερα, στην περίπτωση της δραστικής deltamethrin, πλήρης έλεγχος του άγριου πληθυσμού επετεύχθη με το πέρας της 3^{ης} ημέρας σε αντίθεση με την 9^η ημέρα έκθεσης του εργαστηριακού, στην υψηλότερη δόση των 10 ppm (Διάγραμμα 23). Πολύ χαμηλά ήταν τα ποσοστά θνησιμότητας και στους δυο πληθυσμούς, στην συνιστώμενη δόση του 1 ppm στην ίδια δραστική. Παρόμοια αποτελέσματα εμφανίζονται και για την δραστική cypermethrin, όπου η συνιστώμενη δόση (1 ppm) δεν ήταν ικανή να καταπολεμήσει επαρκώς το έντομο, αφού την 14^η ημέρα η θνησιμότητα δεν ξεπέρασε το 25% στον εργαστηριακό πληθυσμό (Διάγραμμα 24). Η θνησιμότητα του άγριου πληθυσμού ήταν υψηλότερη σε σχέση με αυτή του εργαστηριακού, ωστόσο αντίστοιχη διαφορά παρατηρήθηκε και στους μάρτυρες μεταξύ των δυο πληθυσμών. Για τον λόγο αυτό, θεωρούμε ότι η υψηλή θνησιμότητα του άγριου πληθυσμού πιθανών να οφείλεται σε άλλους παράγοντες. Αντιθέτως η δραστική ουσία pirimiphos-methyl καταπολέμησε πλήρως (100 % θνησιμότητα) το είδος αυτό στη συνιστώμενη δόση από την 3^η ημέρα έκθεσης, ανεξαρτήτως του πληθυσμού που εξετάστηκε (Διάγραμμα 25).



Διάγραμμα 23. Θνησιμότητα των πληθυσμών *S. zeamais* εκτιθέμενο σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Διάγραμμα 24. Θνησιμότητα των πληθυσμών *S. zeamais* εκτιθέμενο σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



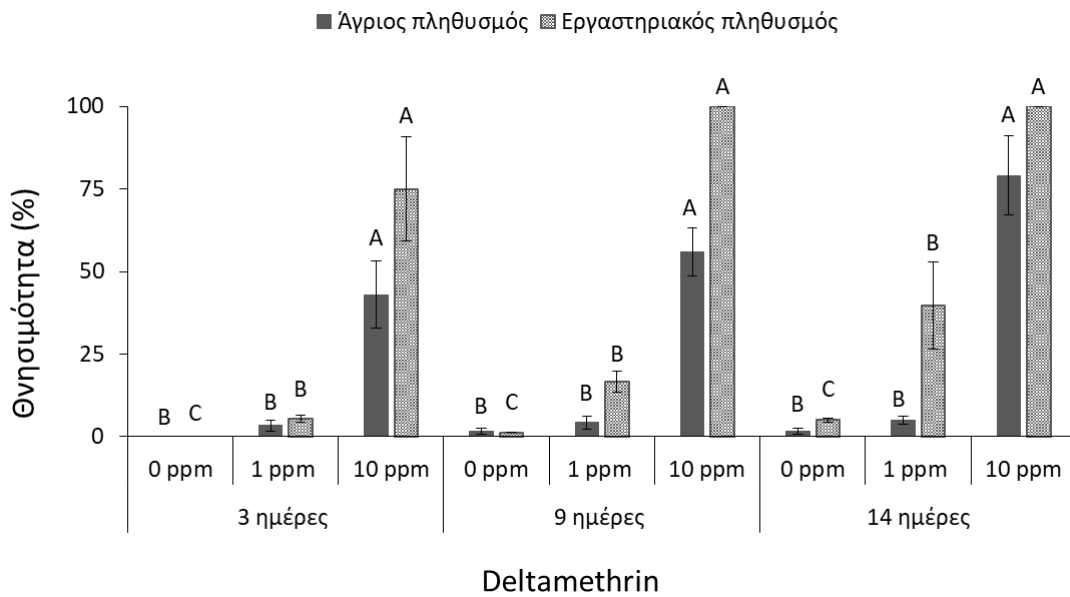
Διάγραμμα 25. Θνησιμότητα των πληθυσμών *S. zeamais* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

Tribolium confusum

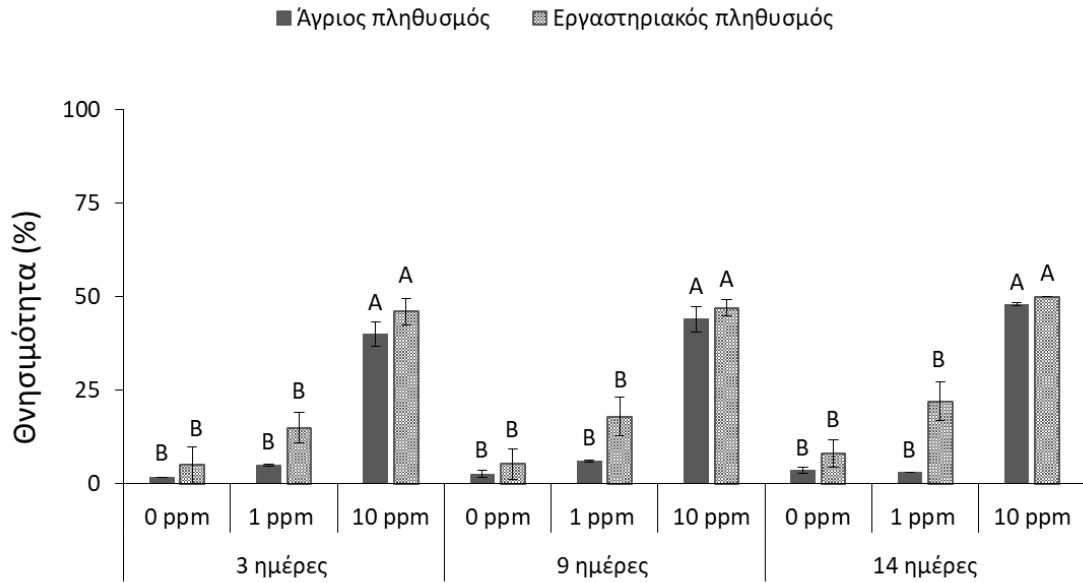
Στα παρακάτω Διαγράμματα παρατίθενται τα επίπεδα θνησιμότητας του *T. confusum* έπειτα από έκθεσή του στις δραστικές ουσίες. Στην περίπτωση της δραστικής deltamethrin, καμία από τις δόσεις δεν κατάφερε να ελέγξει πλήρως τον άγριο πληθυσμό σε αντίθεση με την 100% θνησιμότητα του εργαστηριακού πληθυσμού στην 9^η ημέρα έκθεσης στην υψηλότερη δόση των 10 ppm (Διάγραμμα 26). Πολύ χαμηλά ήταν τα ποσοστά θνησιμότητας και στους δυο πληθυσμούς, στην συνιστώμενη δόση του 1 ppm στην ίδια δραστική, και ειδικά του άγριου πληθυσμού όπου η θνησιμότητα δεν ξεπέρασε το 10% (Διάγραμμα 26). Παρόμοια αποτελέσματα εμφανίζονται και για την δραστική cypermethrin, όπου καμία από τις δόσεις δεν ήταν ικανή να καταπολεμήσει επαρκώς το έντομο, αφού την 14^η ημέρα η θνησιμότητα δεν ξεπέρασε το 50% ανεξαρτήτως πληθυσμού (Διάγραμμα 27). Η θνησιμότητα του άγριου πληθυσμού ήταν χαμηλότερη σε σχέση με του εργαστηριακού στην συνιστώμενη δόση του 1 ppm. Για τον λόγο αυτό,



θεωρούμε ότι άγριος πληθυσμός *T. confusum* πιθανών να φέρει ανθεκτικά στην δραστική ακμαία. Αντιθέτως η δραστική pirimiphos-methyl καταπολέμησε πλήρως το έντομο στην συνιστώμενη δόση από την 3^η ημέρα έκθεσης, ανεξαρτήτως πληθυσμού (Διάγραμμα 28).

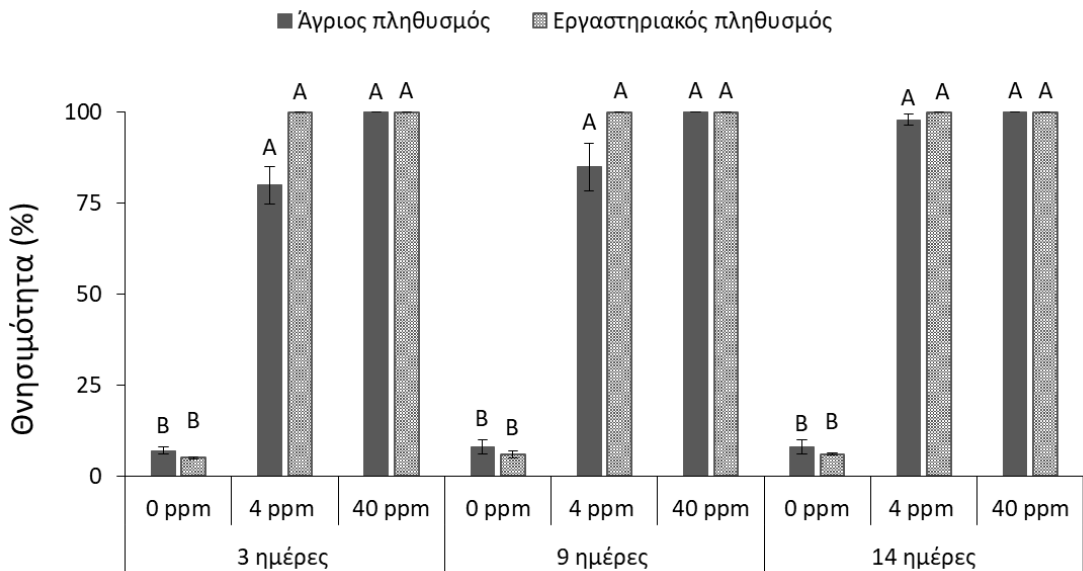


Διάγραμμα 26. Θνησιμότητα των πληθυσμών *T. confusum* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Cypermethrin

Διάγραμμα 27. Θνησιμότητα των πληθυσμών *T. confusum* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

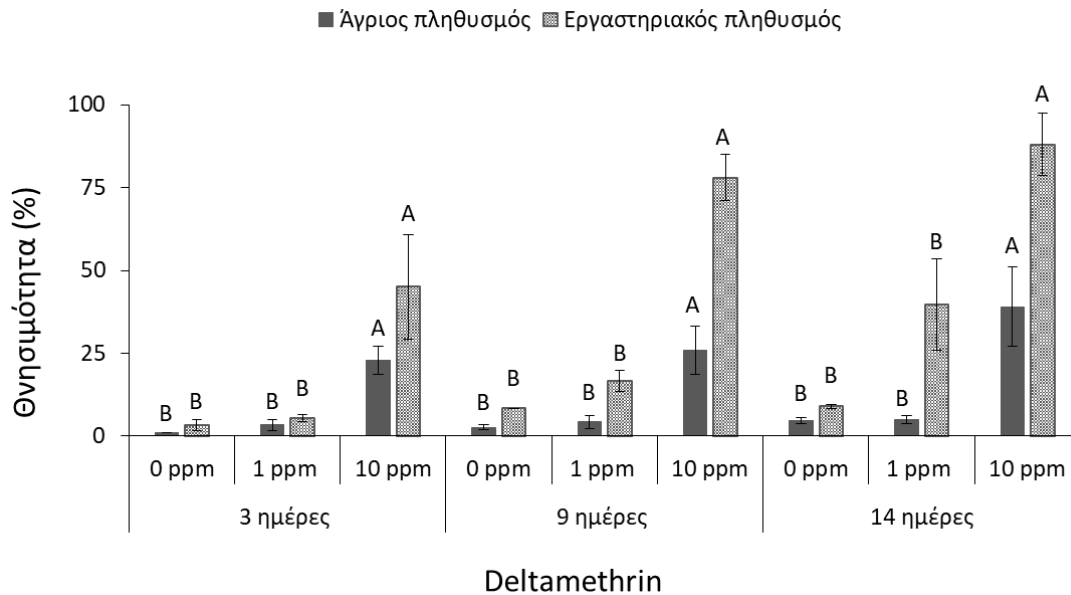


Pirimiphos-methyl

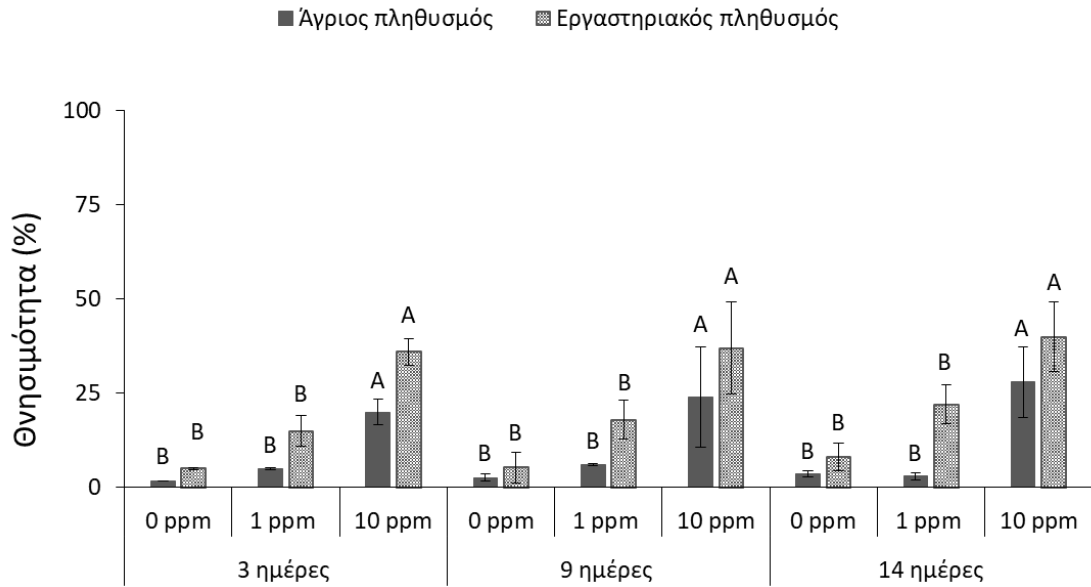
Διάγραμμα 28. Θνησιμότητα των πληθυσμών *T. confusum* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

*Tribolium castaneum*

Στην περίπτωση της δραστικής deltamethrin εναντίον του *T. castaneum*, καμία από τις δόσεις δεν κατάφερε να ελέγξει πλήρως το είδος (Διάγραμμα 29). Πολύ χαμηλά ήταν τα ποσοστά θνησιμότητας και στους δυο πληθυσμούς, στην συνιστώμενη δόση του 1 ppm στην ίδια δραστική, και ειδικά του άγριου πληθυσμού όπου η θνησιμότητα δεν ξεπέρασε το 10% (Διάγραμμα 29). Παρόμοια αποτελέσματα εμφανίζονται και για την δραστική cypermethrin, όπου καμία από τις δόσεις δεν ήταν ικανή να καταπολεμήσει επαρκώς το έντομο, αφού την 14^η ημέρα η θνησιμότητα δεν ξεπέρασε το 50% ανεξαρτήτως πληθυσμού (Διάγραμμα 30). Η θνησιμότητα του άγριου πληθυσμού ήταν χαμηλότερη σε σχέση με του εργαστηριακού στην συνιστώμενη δόση του 1 ppm. Για τον λόγο αυτό, θεωρούμε ότι άγριος πληθυσμός *T. castaneum* πιθανώς να φέρει ανθεκτικά στην δραστική ακμαία. Αντιθέτως η δραστική pirimiphos-methyl καταπολέμησε πλήρως το έντομο στην συνιστώμενη δόση από την 3^η ημέρα έκθεσης, ανεξαρτήτως πληθυσμού (Διάγραμμα 31).

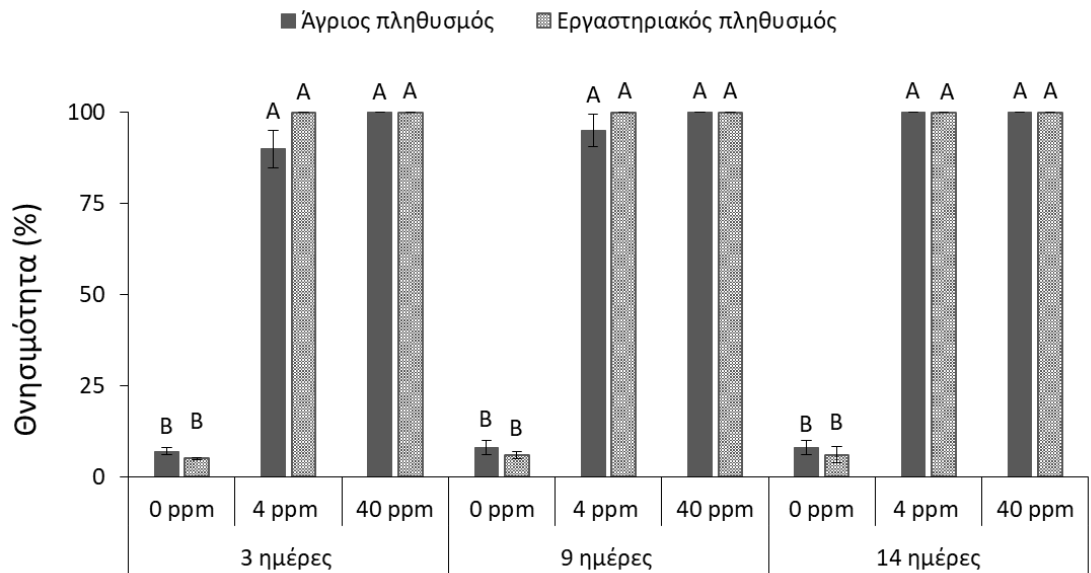


Διάγραμμα 29. Θνησιμότητα των πληθυσμών *T. castaneum* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Cypermethrin

Διάγραμμα 30. Θνησιμότητα των πληθυσμών *T. castaneum* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



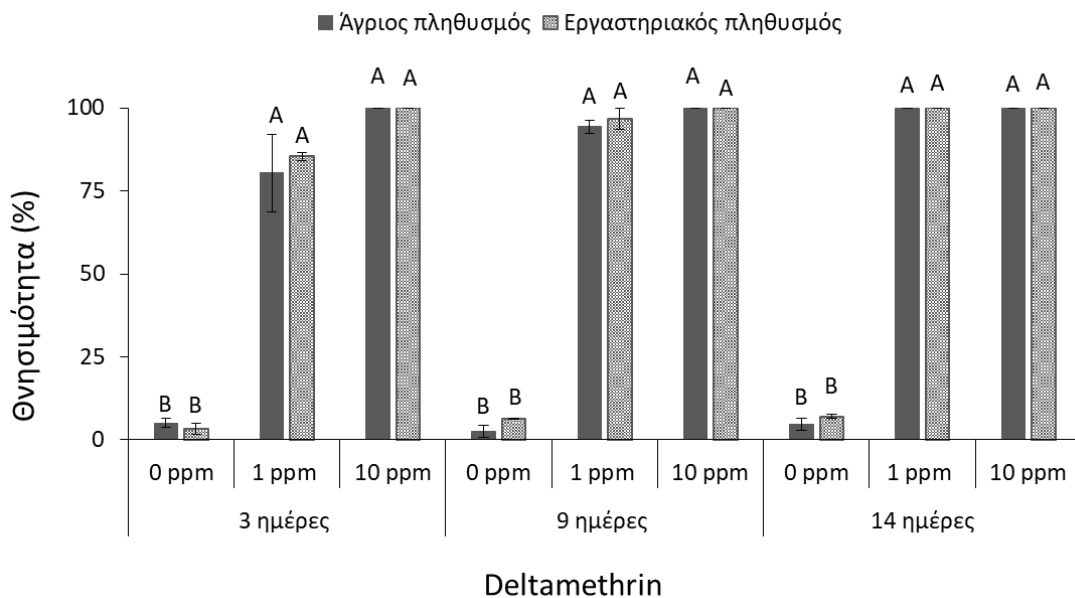
Pirimiphos-methyl

Διάγραμμα 31. Θνησιμότητα των πληθυσμών *T. castaneum* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

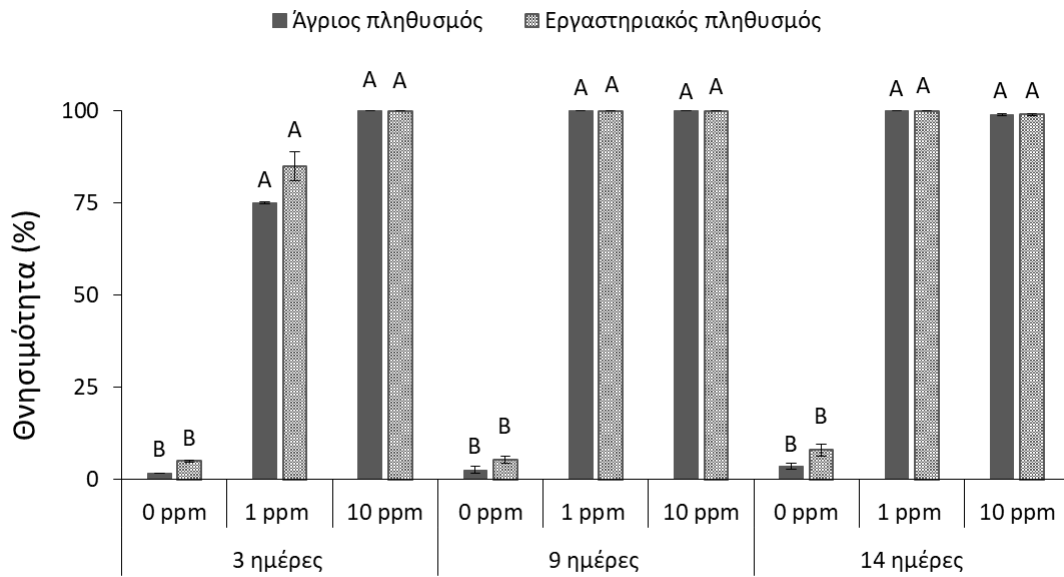


Latheticus oryzae

Το είδος φάνηκε να είναι ευαίσθητο σε όλες τις δραστικές που εξετάστηκαν. Πιο συγκεκριμένα, πολύ υψηλή θνησιμότητα παρουσιάστηκε ανεξαρτήτως πληθυσμού, δόσης και χρόνου έκθεσης στην δραστική deltamethrin (Διάγραμμα 32), στην cypermethrin (Διάγραμμα 33) και στην pirimiphos-methyl (Διάγραμμα 34). Συνεπώς, το *L. oryzae* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο σε όλες της δραστικές επαφής που χρησιμοποιήθηκαν.

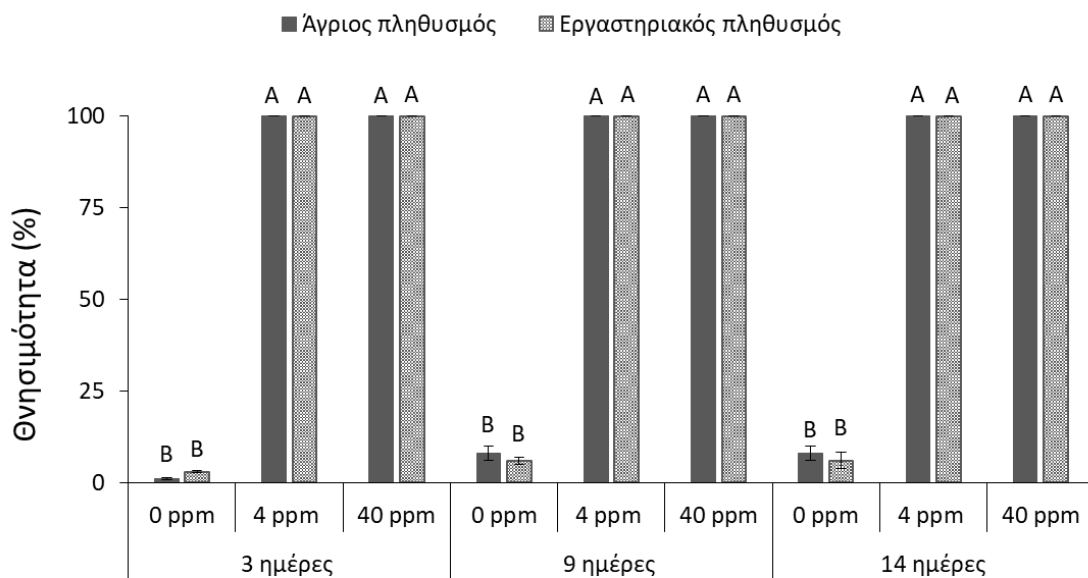


Διάγραμμα 32. Θνησιμότητα των πληθυσμών *L. oryzae* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Cypermethrin

Διάγραμμα 33. Θνησιμότητα των πληθυσμών *L. oryzae* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

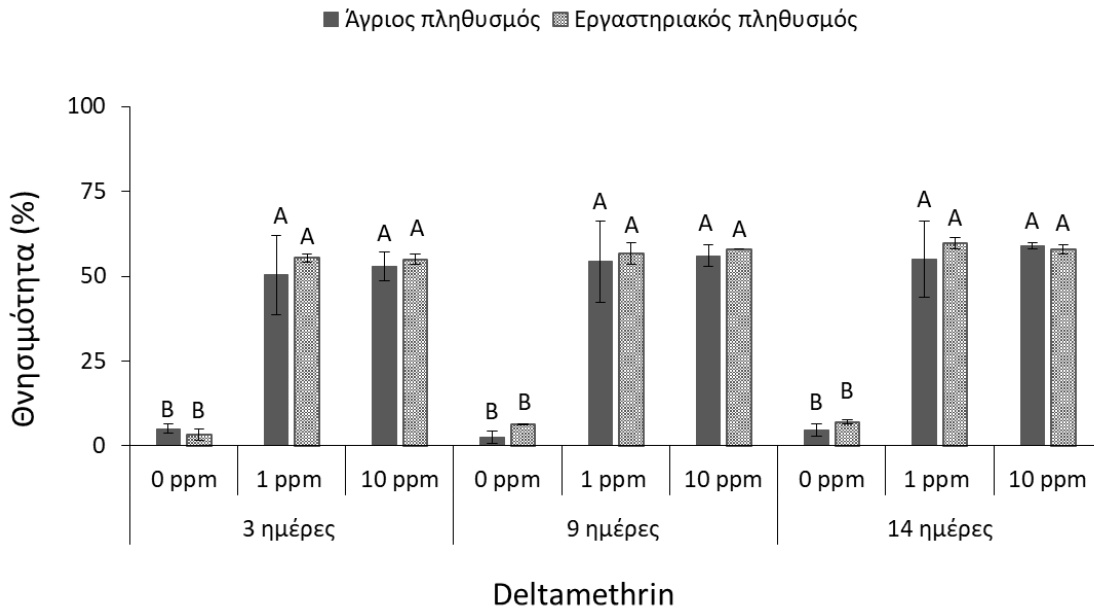


Pirimiphos-methyl

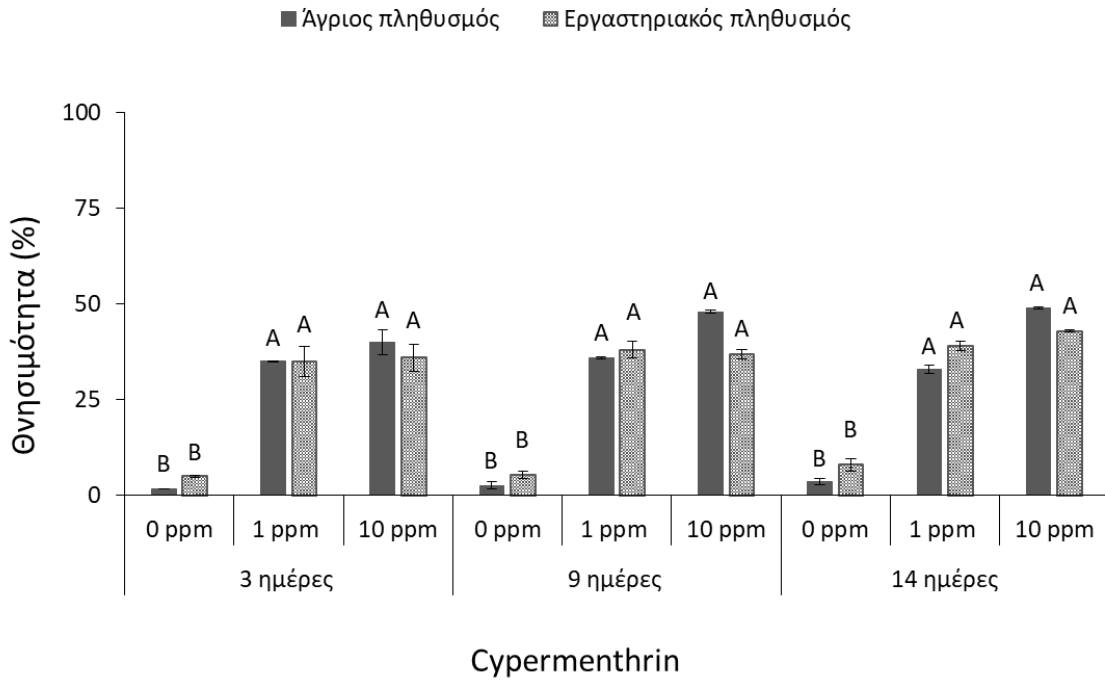
Διάγραμμα 34. Θνησιμότητα των πληθυσμών *L. oryzae* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

*Tenebrio molitor*

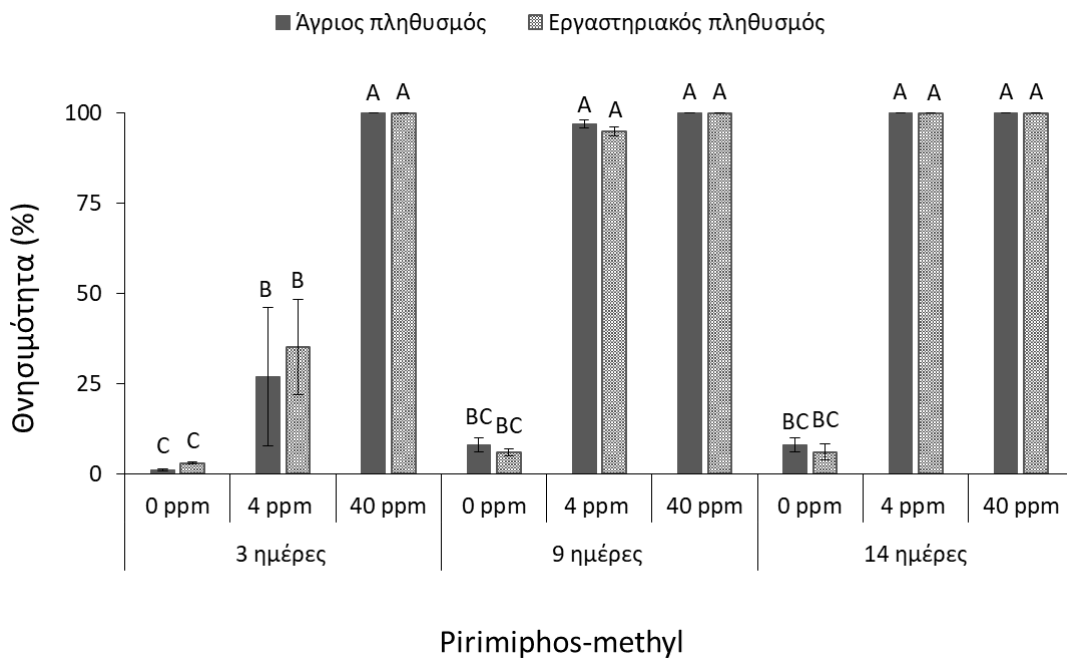
Το *T. molitor* φάνηκε να μην επηρεάζεται σημαντικά από την εντομοκτόνο δράση των πυρεθρινοειδών deltamethrin (Διάγραμμα 35) και cypermethrin (Διάγραμμα 36), αφού καμία από τις δραστικές δεν κατάφερε να επιτύχει πάνω από 60% θνησιμότητα, ανεξαρτήτως πληθυσμού. Αντιθέτως, μεγάλα ποσοστά θνησιμότητας παρατηρήθηκαν και στις δυο δόσεις του pirimiphos-methyl (Διάγραμμα 37). Γενικά, ο άγριος πληθυσμός θεωρήθηκε ως ευαίσθητος σε όλες τις δραστικές που αξιολογήθηκαν στις διάφορες σειρές βιοδοκιμών.



Διάγραμμα 35. Θνησιμότητα των πληθυσμών *T. molitor* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



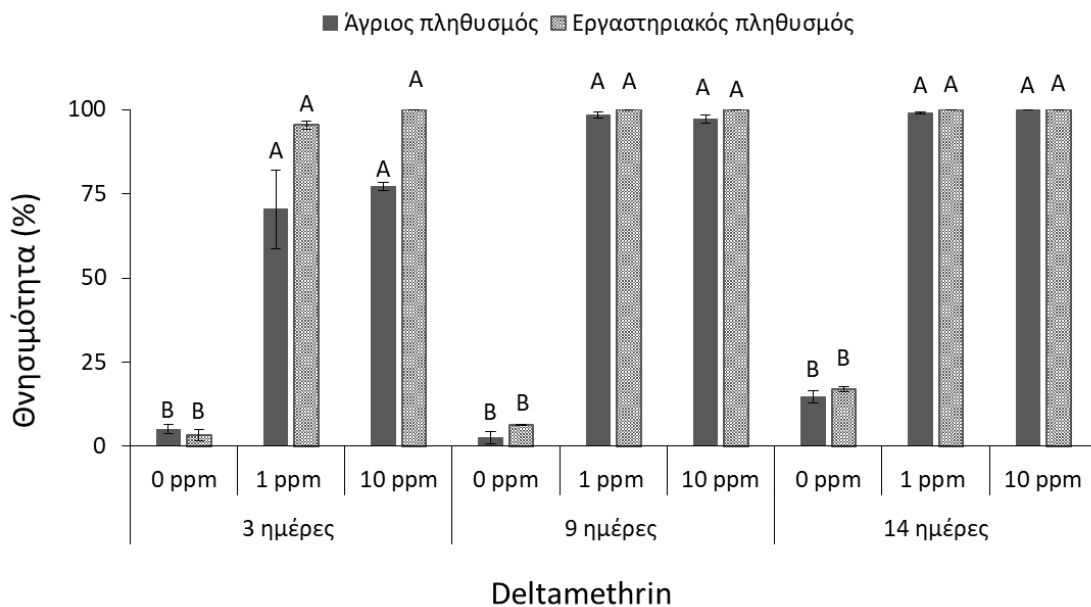
Διάγραμμα 36. Θνησιμότητα των πληθυσμών *T. molitor* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



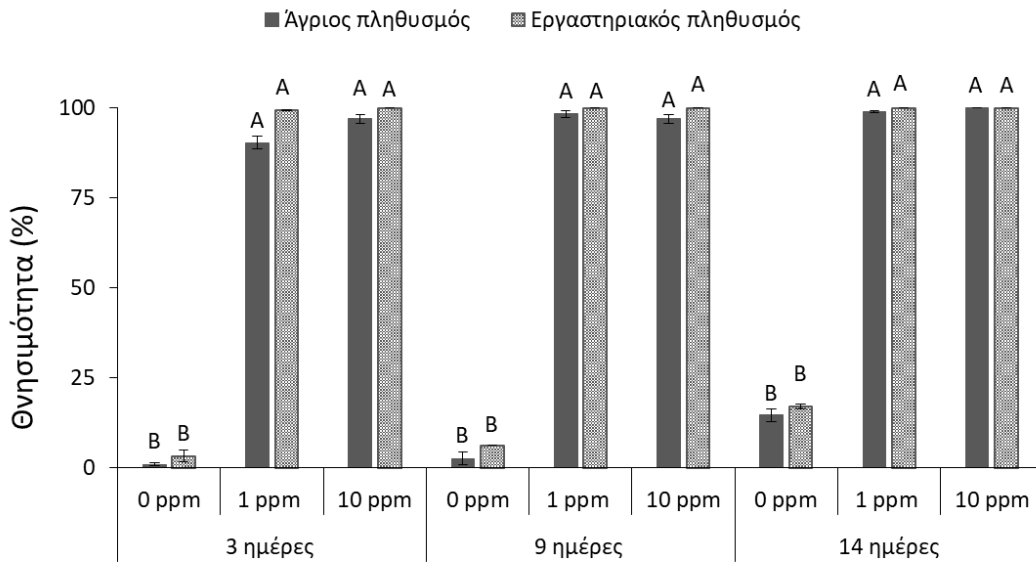
Διάγραμμα 37. Θνησιμότητα των πληθυσμών *T. molitor* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

*Oryzaephilus surinamensis*

Το είδος φάνηκε να είναι ευαίσθητο σε όλες τις δραστικές που εξετάστηκαν. Πιο συγκεκριμένα, πολύ υψηλή θνησιμότητα παρουσιάστηκε ανεξαρτήτως πληθυσμού, δόσης και χρόνου έκθεσης στην δραστική deltamethrin (Διάγραμμα 38), στην cypermethrin (Διάγραμμα 39) και στην pirimiphos-methyl (Διάγραμμα 40). Συνεπώς, το *O. surinamensis* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο σε όλες της δραστικές επαφής.

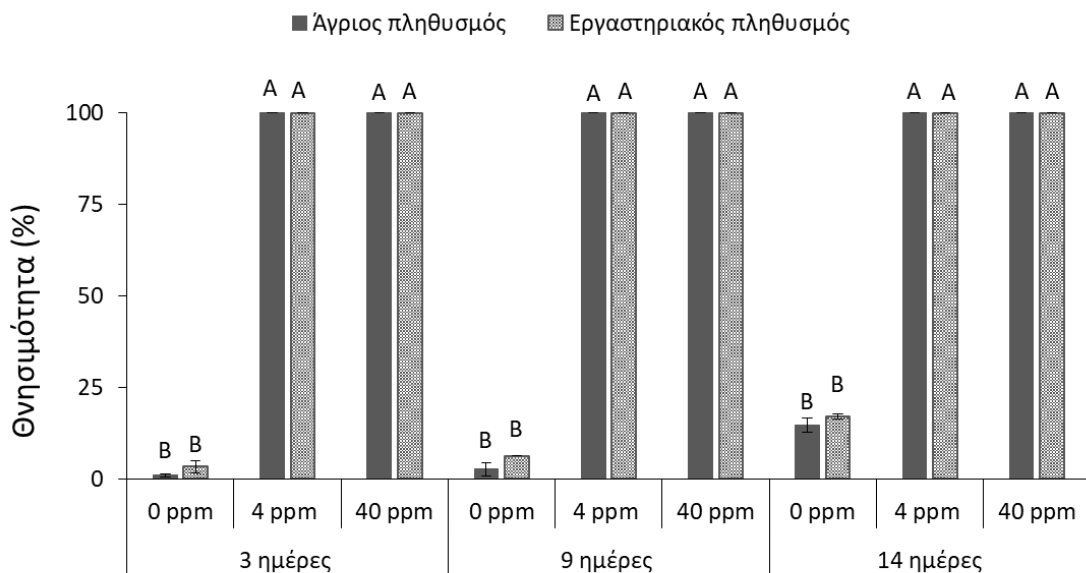


Διάγραμμα 38. Θνησιμότητα των πληθυσμών *O. surinamensis* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Cypermethrin

Διάγραμμα 39. Θνησιμότητα των πληθυσμών *O. surinamensis* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

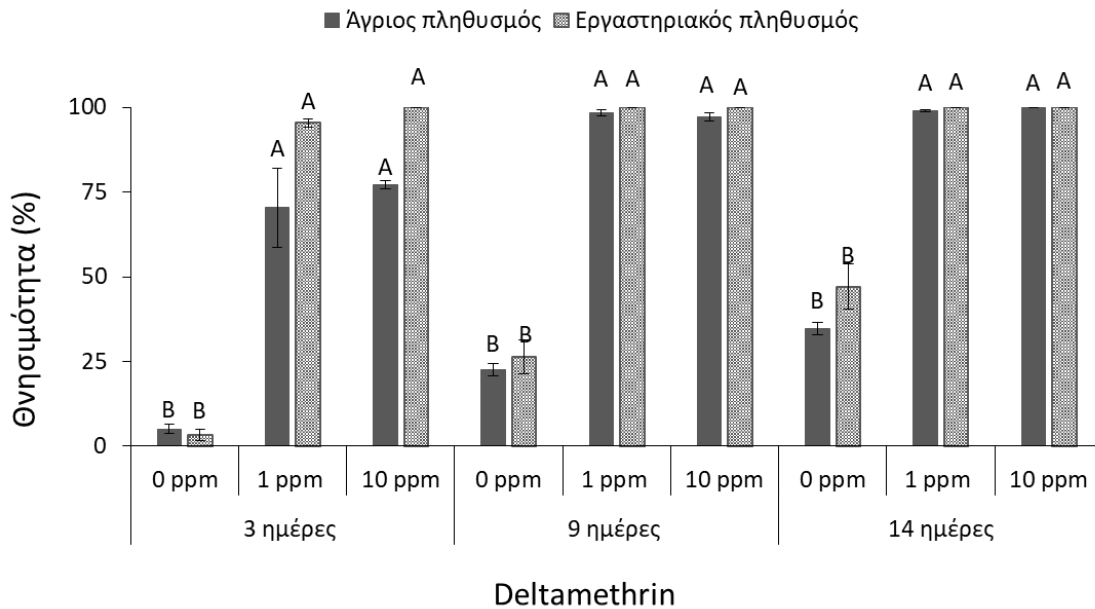


Pirimiphos-methyl

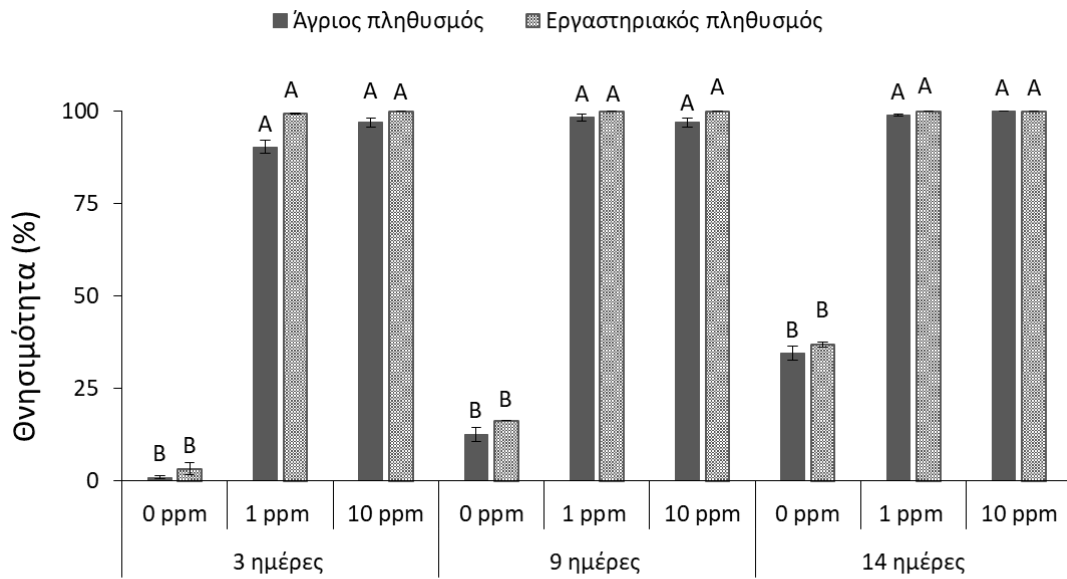
Διάγραμμα 40. Θνησιμότητα των πληθυσμών *O. surinamensis* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

*Acanthoscelides obtectus*

Το είδος φάνηκε να είναι ευαίσθητο σε όλες τις δραστικές που εξετάστηκαν. Πιο συγκεκριμένα, πολύ υψηλή θνησιμότητα παρουσιάστηκε ανεξαρτήτως πληθυσμού, δόσης και χρόνου έκθεσης στην δραστική deltamethrin (Διάγραμμα 41), στην cypermethrin (Διάγραμμα 42) και στην pirimiphos-methyl (Διάγραμμα 43). Συνεπώς, το *A. obtectus* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο σε όλες της δραστικές επαφής.

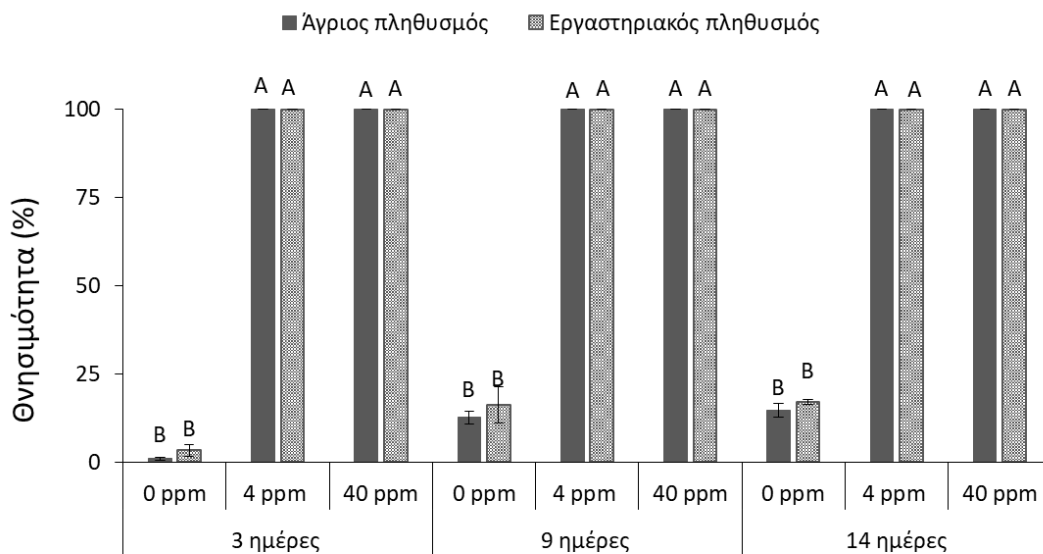


Διάγραμμα 41. Θνησιμότητα των πληθυσμών *A. obtectus* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Cypermethrin

Διάγραμμα 42. Θνησιμότητα των πληθυσμών *A. obtectus* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

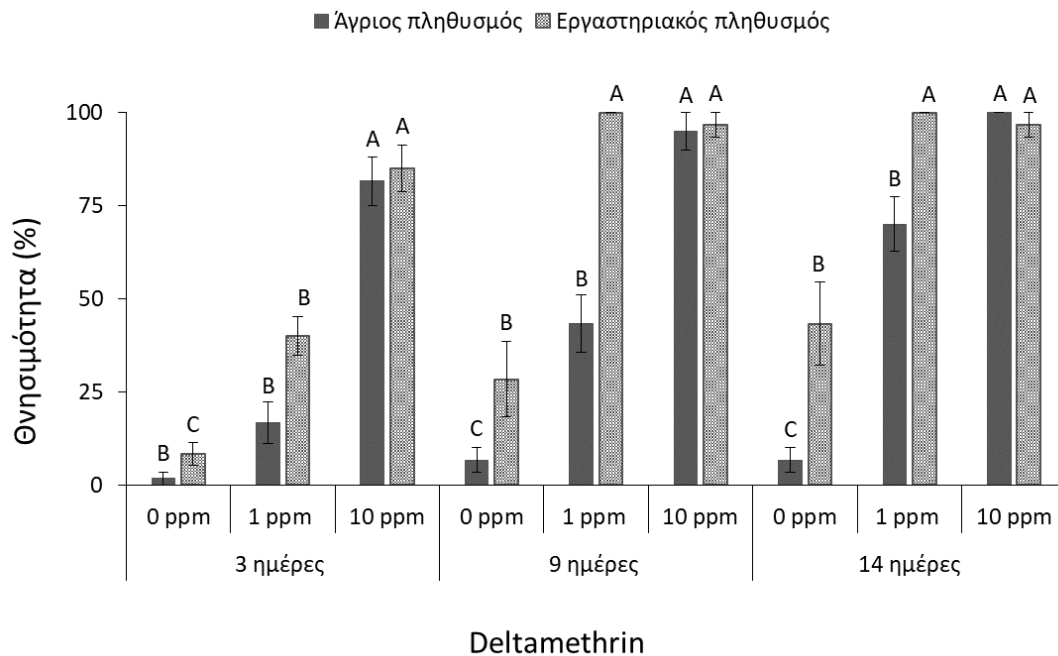


Pirimiphos-methyl

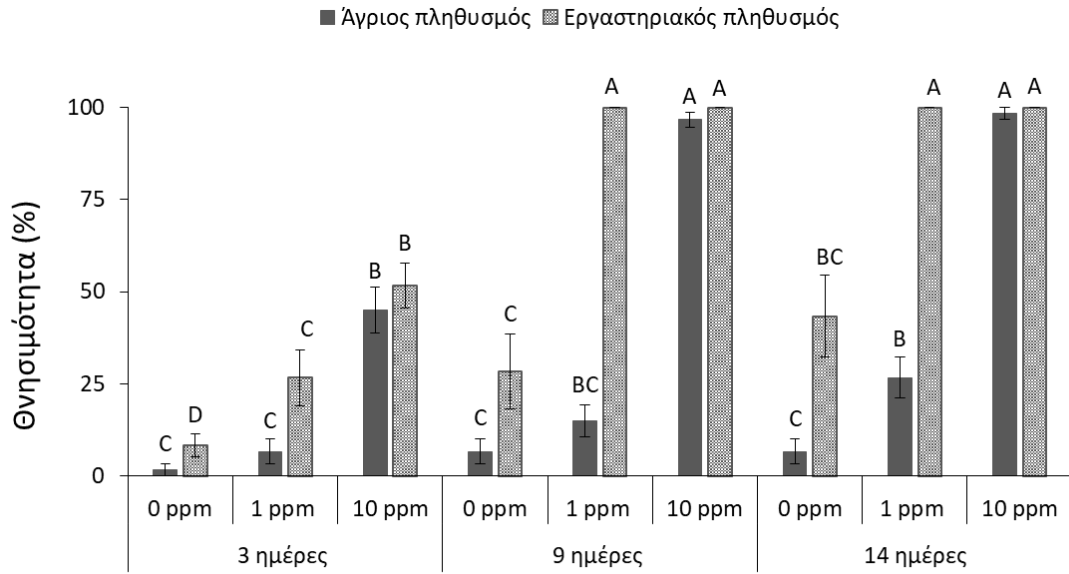
Διάγραμμα 43. Θνησιμότητα των πληθυσμών *A. obtectus* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

*Cryptolestes ferrugineus*

Ενδιαφέρον προκαλεί το είδος *C. ferrugineus* καθώς τα ποσοστά θνησιμότητας διαφέρουν από δραστική σε δραστική. Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 44, η έκθεση του εντόμου στην συνιστώμενη δόση της δραστικής deltamethrin δεν κατάφερε να καταπολεμήσει πλήρως τα ακμαία του άγριου πληθυσμού σε αντίθεση με την 100% θνησιμότητα του εργαστηριακού πληθυσμού από την 9^η ημέρα έκθεσης. Μόνο η δεκαπλάσια δόση μπόρεσε να καταπολεμήσει πλήρως τον άγριο πληθυσμό, αλλά μόνο την 14^η ημέρα έκθεσης. Παρόμοια αποτελέσματα παρατηρήθηκαν και στη δραστική cypermethrin, αφού η θνησιμότητα του άγριου πληθυσμού δεν ξεπέρασε το 25% στην συνιστώμενη δόση (Διάγραμμα 45). Αντιθέτως, η δραστική pirimiphos-methyl θανάτωσε το 100% των εντόμων, ακόμα και στην χαμηλότερη δόση από την 3^η κιόλας ημέρα, ανεξαρτήτως πληθυσμού (Διάγραμμα 46). Συγκρίνοντας τους δυο πληθυσμούς, θεωρούμε ότι ο άγριος είναι ανθεκτικός στις δραστικές ουσίες deltamethrin και cypermethrin.

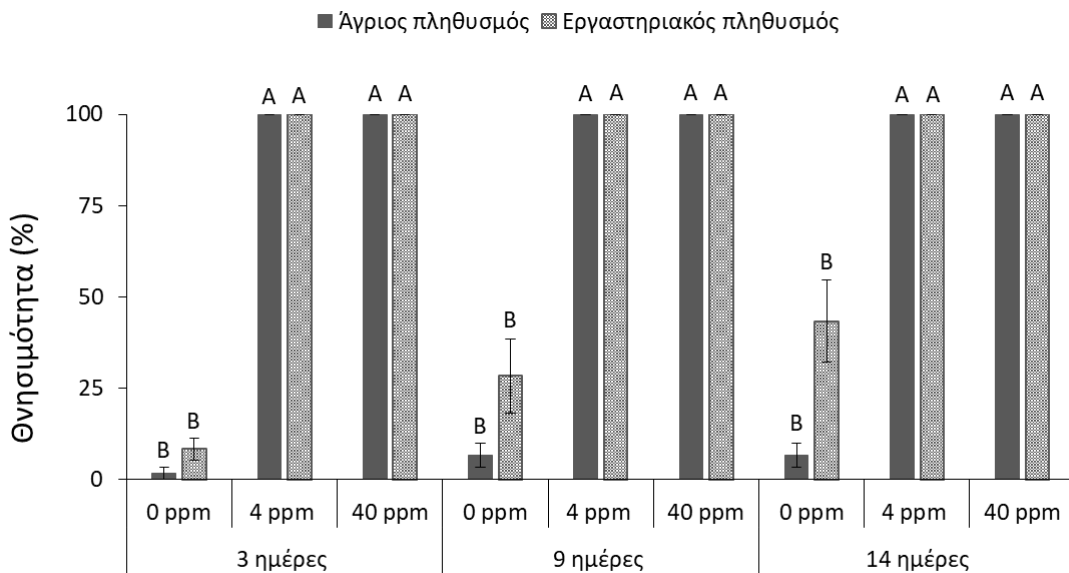


Διάγραμμα 44. Θνησιμότητα των πληθυσμών *C. ferrugineus* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Cypermethrin

Διάγραμμα 45. Θνησιμότητα των πληθυσμών *C. ferrugineus* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

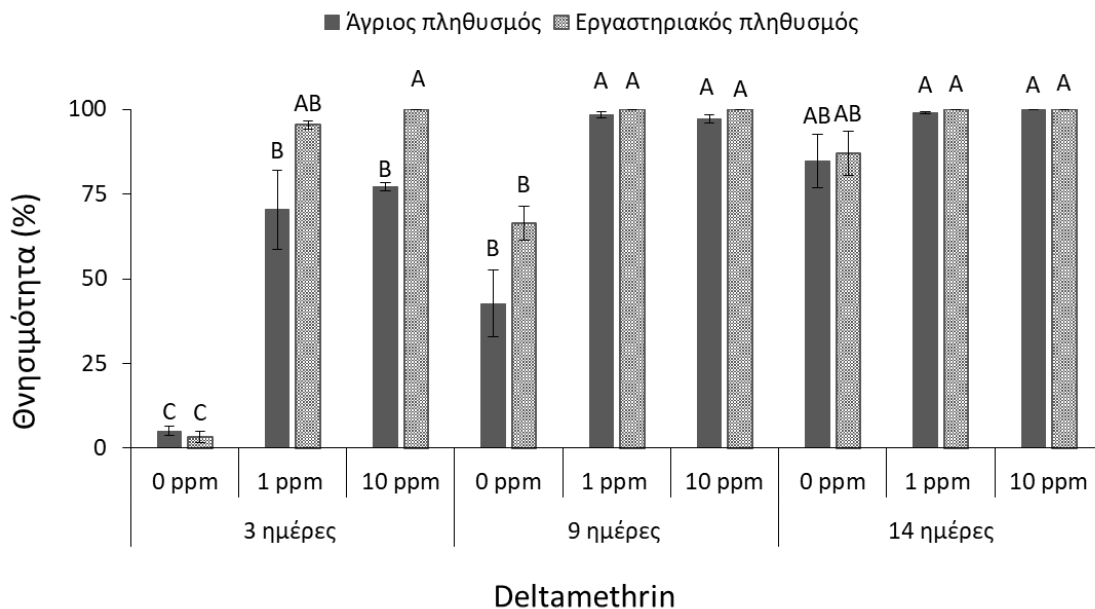


Pirimiphos-methyl

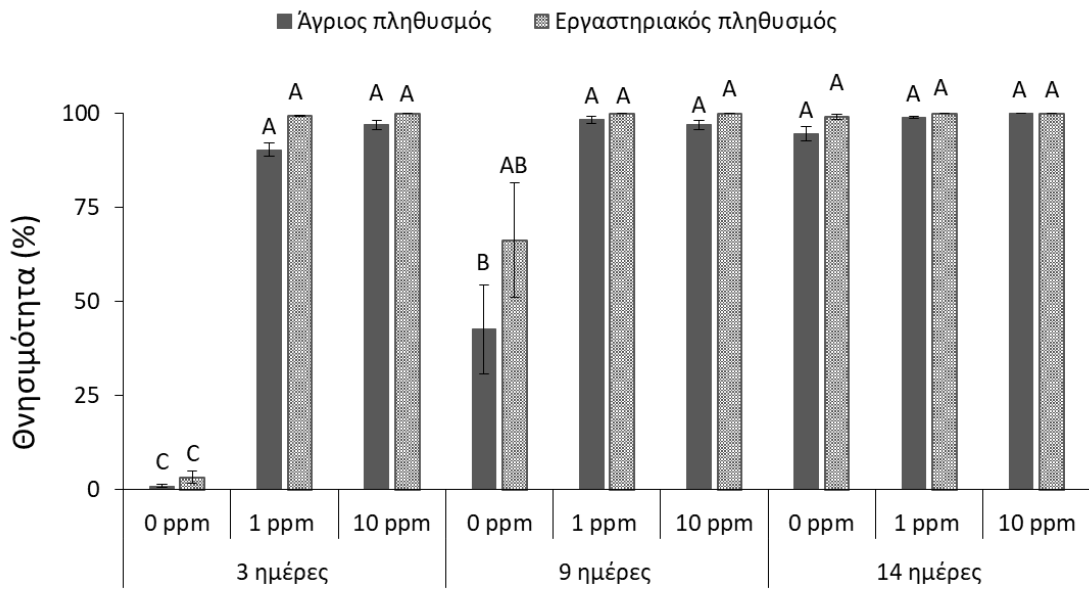
Διάγραμμα 46. Θνησιμότητα των πληθυσμών *C. ferrugineus* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

*Plodia interpunctella*

Το είδος φάνηκε να είναι ευαίσθητο σε όλες τις δραστικές που εξετάστηκαν. Πιο συγκεκριμένα, πολύ υψηλή θνησιμότητα παρουσιάστηκε ανεξαρτήτως πληθυσμού, δόσης και χρόνου έκθεσης στην δραστική deltamethrin (Διάγραμμα 47), στην cypermethrin (Διάγραμμα 48) και στην pirimiphos-methyl (Διάγραμμα 49). Συνεπώς, το *P. interpunctella* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο σε όλες της δραστικές επαφής που εξετάστηκαν.

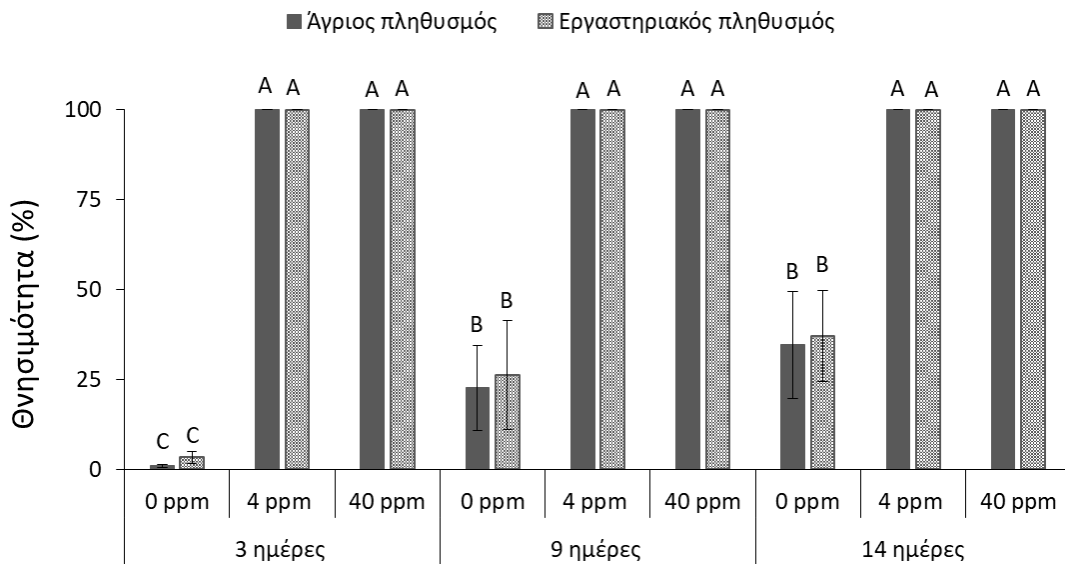


Διάγραμμα 47. Θνησιμότητα των πληθυσμών *P. interpunctella* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Cypermenthrin

Διάγραμμα 48. Θνησιμότητα των πληθυσμών *P. interpunctella* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



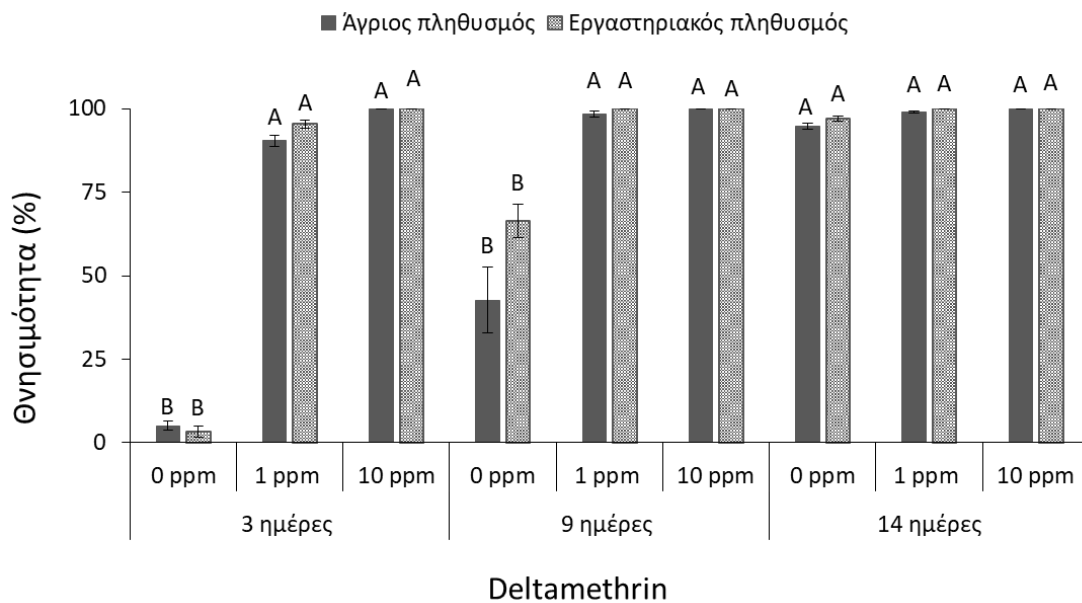
Pirimiphos-methyl

Διάγραμμα 49. Θνησιμότητα των πληθυσμών *P. interpunctella* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.

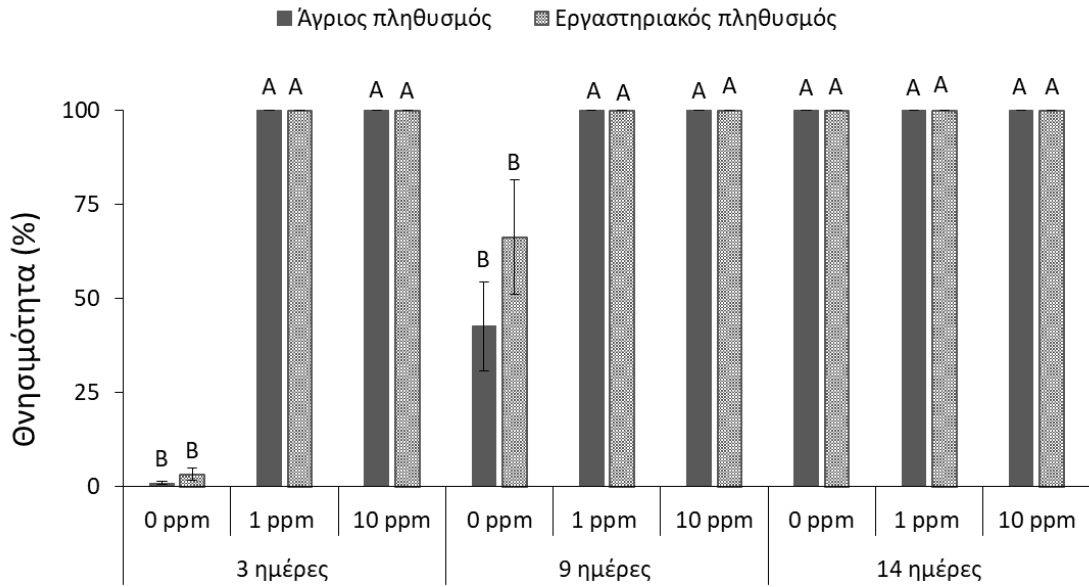


Ephestia elutella

Το είδος φάνηκε να είναι ευαίσθητο σε όλες τις δραστικές που εξετάστηκαν. Πιο συγκεκριμένα, πολύ υψηλή θνησιμότητα παρουσιάστηκε ανεξαρτήτως πληθυσμού, δόσης και χρόνου έκθεσης στην δραστική deltamethrin (Διάγραμμα 50), στην cypermethrin (Διάγραμμα 51) και στην pirimiphos-methyl (Διάγραμμα 52). Συνεπώς, το είδος *E. elutella* θεωρήθηκε ως ευαίσθητο και στις τρεις δραστικές επαφής που εξετάστηκαν.

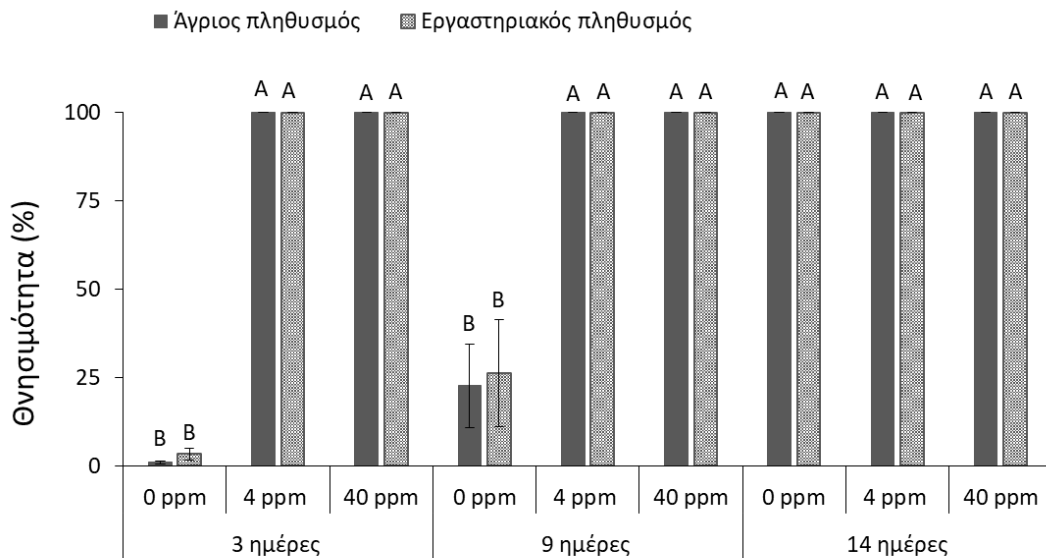


Διάγραμμα 50. Θνησιμότητα των πληθυσμών *E. elutella* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου deltamethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Cypermethrin

Διάγραμμα 51. Θνησιμότητα των πληθυσμών *E. elutella* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου cypermethrin, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



Pirimiphos-methyl

Διάγραμμα 52. Θνησιμότητα των πληθυσμών *E. elutella* εκτιθέμενοι σε τρεις διαφορετικές δόσεις του εντομοκτόνου pirimiphos-methyl, σε διαφορετικούς χρόνους έκθεσης.



5. Συμπεράσματα

Τα αποτελέσματα της παρούσας έρευνας δείχνουν ότι τα έντομα των ειδών *S. zeamais*, *C. ferrugineus* και *T. castaneum* τα οποία συλλέχθηκαν από τις αποθήκες του συνεταιρισμού, βρέθηκαν να είναι ανθεκτικά στη φωσφίνη. Η ανθεκτικότητα στη φωσφίνη είναι γενετικά ελεγχόμενο και κληρονομούμενο χαρακτηριστικό που επιτρέπει στα έντομα να επιβιώσουν σε μία δόση φωσφίνης που κανονικά θα σκότωνε τα έντομα. Πολύ λίγα δεδομένα υπάρχουν διαθέσιμα για την ανθεκτικότητα στη φωσφίνη στην Ευρώπη. Οι Agrafioti et al. (2019), εξέτασαν 53 διαφορετικούς πληθυσμούς εντόμων αποθηκών από διάφορες περιοχές της Ελλάδας με αντίστοιχα της παρούσας μελέτης πρωτόκολλα αξιολόγησης της φωσφίνης, και βρήκαν 43 ανθεκτικούς πληθυσμούς, χωρίς όμως να διαχωρίζεται η ισχυρή ανθεκτικότητα. Επιπλέον, σε πρόσφατες μελέτες σε διάφορες περιοχές του κόσμου, συμπεριλαμβανομένων των ΗΠΑ, Αυστραλία και Κίνα, καθώς και σε διάφορες περιοχές της Ευρώπης, ανιχνεύτηκε ανθεκτικότητα στη φωσφίνη στα σημαντικότερα και πιο διαδεδομένα είδη εντόμων-εχθρών των αποθηκευμένων αγροτικών προϊόντων (Zettler and Cuperus 1990, Cao et al. 2003, Benhalima et al. 2004, Ahmedani et al. 2007, Agrafioti et al. 2019). Μέχρι στιγμής, η φωσφίνη διαδραματίζει το πιο σημαντικό ρόλο στις μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις των δημητριακών και είναι το πιο συχνά χρησιμοποιούμενο αέριο για τον έλεγχο εντόμων αποθηκών σε αποθήκες, σιλό, μεταφορικά μέσα και προϊόντα όπως δημητριακά, καπνός, όσπρια και αποξηραμένα φρούτα (Athanassiou and Arthur 2018, Sakka et al. 2018, Athanassiou et al. 2019a, b). Πράγματι, έπειτα από συζήτηση με τους παραγωγούς του συνεταιρισμού, η πλειοψηφία αυτών ανέφερε πως βασίζεται στις απεντομώσεις με χρήση φωσφίνης για την προστασία των σιτηρών και οσπρίων που αποθηκεύουν.

Ταυτόχρονα, υπό δοκιμή πληθυσμοί των εντόμων μπορεί να μην παρουσίασαν σαφείς ενδείξεις ανθεκτικότητας με την εφαρμογή των δραστικών deltamethrin, cypermethrin και pirimiphos-methyl, ωστόσο σε πολλές περιπτώσεις, οι συνιστώμενες δόσεις δεν μπόρεσαν να καταπολεμήσουν πλήρως τους πληθυσμούς. Είναι σημαντικό να αναφερθεί, ότι πληθυσμοί εντόμων που δέχονται την επίδραση κάποιας εντομοκτόνου ουσίας και επιβιώνουν, αποτελούν σημείο αναφοράς για την σταδιακή ανάπτυξη ανθεκτικότητας στην ουσία αυτή. Πολυάριθμα είναι και τα δεδομένα ανθεκτικότητας, ιδιαίτερα στις δραστικές deltamethrin και pirimiphos-methyl για μεγάλο αριθμό



εντόμων αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων και τροφίμων, από διάφορες περιοχές του κόσμου (Zettler and Cuperus 1990, Arthur 1996, Athanassiou and Arthur 2018). Έτσι, παρά τα όποια πλεονεκτήματά τους, τα προστατευτικά σπόρων, δηλ. τα εντομοκτόνα επαφής που αξιολογήθηκαν εδώ, δεν αποτελούν ολοκληρωμένη λύση για τα αποθηκευμένα δημητριακά, δηλ. δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν με καλά αποτελέσματα για όλα τα είδη-στόχους και για όλους του πληθυσμούς. Στην παρούσα μελέτη, παρά τις όποιες αποκλίσεις, υπάρχουν είδη τα οποία χαρακτηρίστηκαν ως ανθεκτικά και για τις τρεις δραστικές που εξετάστηκαν, υπό την έννοια της υψηλής επιβίωσης σε δόσεις που κανονικά θανατώνουν τον αντίστοιχο πληθυσμό. Παρ' όλα αυτά, η γνώση του είδους του εντόμου μπορεί να δώσει κάποιες κατευθύνσεις σχετικά με την επιλογή του εντομοκτόνου επαφής, καθώς κάποια είδη μπορούσαν να ελεγχθούν με συγκεκριμένες δραστικές, όπως για παράδειγμα τα είδη των λεπιδοπτέρων, ή το *A. obtectus*.

Συνεπώς, η ύπαρξη ανθεκτικών πληθυσμών καθιστά αδύνατη την απεντόμωση του προϊόντος με τις συνήθεις δραστικές ουσίες και επιτακτική την ανάγκη εξεύρεσης λύσεων για την διαχείριση των εντομολογικών προσβολών, πάντα με γνώμονα την εφαρμογή μιας «πράσινης» αντιμετώπισης. Λύση στο πρόβλημα μπορεί να αποτελέσει η εφαρμογή γης διατόμων, μέθοδος που έχει αναγνωριστεί ως μια από τις αποτελεσματικότερες για την αντιμετώπιση εντομολογικών προσβολών στις αποθήκες. Δεδομένου ότι η γη διατόμων είναι συμβατή με την βιολογική γεωργία και υπάρχει ήδη έγκριση για απ' ευθείας εφαρμογή σε αποθηκευμένα γεωργικά προϊόντα, όπως τα δημητριακά κα., πληροί τις προϋποθέσεις για μια βιώσιμη και οικολογική προσέγγιση των απεντομώσεων (Arthur 1996, Athanassiou et al. 2003, 2004, Vayias and Athanassiou 2004, Arthur and Athanassiou 2018). Επιπροσθέτως, με βάση και πρότερες μελέτες, η υπολειμματική δράση της γης διατόμων φαίνεται να είναι μεγάλη, καθώς παρέχει προστασία για μεγάλο χρονικό διάστημα, όταν οι συνθήκες είναι κατάλληλες κατά την αποθήκευση (Athanassiou et al. 2005). Οι περαιτέρω μελέτες, δίνουν περισσότερες πληροφορίες για την χρήση της γης διατόμων ως κύρια μέθοδο προστασίας των αποθηκευμένων γεωργικών προϊόντων.



6. Βιβλιογραφία

Ahmedani M.S., Shaheen N., Ahmedani M.Y., Aslam M. (2007). Status of phosphine resistance in khapra beetle, *Trogoderma granarium* (everts) strains collected from remote villages of Rawalpindi District. *Pakistan Entomology*, 29: 95–102.

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

Arthur F.H. (2000). Toxicity of diatomaceous earth to red flour beetles and confused flour beetles (Coleoptera: Tenebrionidae): effects of temperature and relative humidity. *Journal of Economic Entomology*, 93: 526–532.

Arthur F.H. (2004). Evaluation of methoprene alone and in combination with diatomaceous earth to control *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) on stored wheat. *Journal of Stored Product Research*, 40: 485-498.

Arthur F.H. (2018). Susceptibility of stored grain insects to the insect growth regulator methoprene. In: Adler C.S., Opit G., Fürstenau B., Müller-Blenkle C., Kern P., Arthur F.H., Athanassiou C.G., Bartosik R., Campbell J., Carvalho M.O., Chayaprasert W., Fields P., Li Z., Maier D., Nayak M., Nukenine E., Obeng-Ofori D., Phillips T., Riudavets J., Throne J., Schöller M., Stejskal V., Talwana H., Timlick B., Trematerra P. (Eds.), *Stored Products Protection. Proceedings of the twelfth International Working Conference on Stored Product Protection*, 7-11 October, Berlin, Germany, Julius Kühn-Institut, Germany, pp. 789-794.

Arthur F.H., Liu S., Zhao B., Phillips T.W. (2009). Residual efficacy of pyriproxyfen and hydroprene applied to wood, metal and concrete for control of stored-product insects. *Pest Management Science*, 65: 791-797.

Arthur F.H., Subramanyam B.H. (2012). Chemical control in stored products. In: Hagstrum, D.W., Philips, T.W., Cuperus, G. (Eds.), *Stored product protection*. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service, pp. 95-100.

Agrafioti P., Athanassiou C.G., Nayak M.K. (2019). Detection of phosphine resistance in major stored-product insects in Greece and evaluation of a field resistance test kit. *Journal of Stored Product Research*, 82: 40–47.



Agrafioti P., Brabec D. L., Morrison III W.R., Campbell J.F., Athanassiou C.G. (2020). Scaling recovery of susceptible and resistant stored product insects after short exposures to phosphine by using automated video- tracking software. *Pest Management Science*, 77: 1245-1255.

Athanassiou C.G., Arthur F.H. (2018). *Recent Advances in Stored Product Protection*, p. 273.

Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Tsaganou F.C., Vayias B.J., Dimizas C.B., Buchelos C.T. (2003). Effect of grain type on the insecticidal efficacy of SilicoSec against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Crop Protection*, 22: 1141-1147.

Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Andris N.S. (2004). Insecticidal effect of three diatomaceous earth formulations against adults of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) on oat, rye and triticale. *Journal of Economic Entomology*, 97: 2160– 2167.

Athanassiou C., Kavallieratos N., Economou L., Dimizas C., Vayias B., Tomanović S., Milutinović M. (2005). Persistence and efficacy of three diatomaceous earth formulations against *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) on wheat and barley. *Journal of Economic Entomology*, 94: 1404 - 1412. doi: 10.1603/0022-0493-98.4.1404

Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Brabec D.L., Agrafioti P., Sakka M., Campbell J. F. (2019a). Using immobilization as a quick diagnostic indicator for resistance to phosphine. *Journal of Stored Product Research*, 82: 17-26.

Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Brabec D.L., Oppert B., Guedes R.N.C., Campbell J.F. (2019b). From immobilization to recovery: Towards the development of a rapid diagnostic indicator for phosphine resistance. *Journal of Stored Product Research*, 80: 28– 33.

Benhalima H., Chaudhry M.Q., Mills K.A., Price N.R. (2004). Phosphine resistance in stored-product insects collected from various grain storage facilities in Morocco. *Journal of Stored Product Research*, 40: 241–49.



Cao Y., Son Y., Sun G.Y. (2003). A survey of psocid species infesting stored grain in China and resistance to phosphine in field populations of *Liposcelis entomophila* (Enderlein) Psocoptera: Liposcelididae). In Proceedings of the 8th International Working Conference on Stored Product Protection, ed. PF Credland, DM Armitage, CH Bell, PM Cogan, E Highley, pp. 662–67. Wallingford, UK: CAB Int.

Cotton R.T. (1960). Pests of Stored Grain and Grain Products. Burgess Publishing Co., Minneapolis, U.S.A. pp. 306.

Sakka M., Riga M., Vontas J., Gotze C., Allegra J., Jakob G., Athanassiou C.G. (2018). Evaluation of tolerance/resistance to phosphine of stored product beetle populations from Europe, by using different diagnostic methods. In: Adler, C.S., Opit, G., Fürstenau, B., Müller-Blenkle, C., Kern, P., Arthur, F.H, Athanassiou, C.G., Bartosik, R., Campbell, J., Carvalho, M.O., Chayaprasert, W., Fields, P., Li, Z., Maier, D., Nayak, M., Nukenine, E., Obeng-Ofori, D., Phillips, T., Riudavets, J., Throne, J., Schöller, M., Stejskal, V., Talwana, H., Timlick, B., Trematerra, P. (Eds.), Stored Products Protection. Proceeding of the twelfth International Working Conference on Stored Product Protection, 7-11 October, Berlin, Germany, pp. 1008- 1013.

Sinha R.N., Watters F.L. (1985). Insect Pests of Flour Mills, Grain Elevators and Feed Mills and Their Control, Research. Branch Agric. Canada: pp. 290.

Steuerwald R., Dierks-Lange H., Schmitt S. (2006). Rapid bioassay for determining the phosphine tolerance. In: Lorini, I., Bacaltchuk, B., Beckel, H., Deckers, D., Sundfeld, E., dos Santos, J.P., Biagi, J.D., Celaro, J.C., Faroni, L. R. D'A., L.de O. F., Bortolini, Sartori, M.R., Elias, M.C., Guedes, R.N.C., da Fonseca, R.G., Scussel V.M. (Eds.), Proceedings of the ninth International Working Conference on Stored Product Protection, 15-18 October 1994. Campinas. ABRAPOS, Brasil, p. 306-311.

Vayias B.J., Athanassiou C.G. (2004). Factors affecting the insecticidal efficacy of the diatomaceous earth formulation SilicoSec against adults and larvae of the confused flour beetle, *Tribolium confusum* DuVal (Coleoptera: Tenebrionidae). Crop Protection, 23: 565–573.



Zettler J.L., Cuperus G.W. (1990). Pesticide resistance in *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) in wheat. *Journal of Economic Entomology*, 83: 1677–81.