



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

Παραδοτέο έργου Π2.2. Έκθεση αναφοράς για τις παραμέτρους που επηρεάζουν την αποτελεσματικότητα της ΓΔ εναντίον των σημαντικότερων εντόμων αποθηκών

Τύπος: Έκθεση

Υπο-παραδοτέο Π2.2.2 «Σχεδιασμός των βέλτιστων πρωτοκόλλων αξιολόγησης της αποτελεσματικότητας της γης διατόμων εναντίων των σημαντικότερων εντόμων αποθηκών»



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. Πρωτόκολλα πειραματισμού	5
3. Βιβλιογραφία	11



1. Εισαγωγικά στοιχεία

Γενικά, οι αδρανείς σκόνες, όπως η γη διατόμων, ο ζεόλιθος, ο καολίνης κ.α., χρησιμοποιούνταν από παλιά ως εντομοαπωθητικά σκευάσματα, σε διάφορες δόσεις εφαρμογής ανάλογα με το σκεύασμα και την χημική τους σύσταση (ποσοστό σε πυρίτιο κ.α.), αλλά και τη μορφολογία τους (Arthur and Puterka, 2002, Campbell et al., 2004, Eroglu et al., 2017). Ωστόσο, εκτενέστερη έρευνα για τις αδρανείς σκόνες ως εντομοκτόνα κατά των εντόμων των αποθηκευμένων προϊόντων ξεκίνησε την δεκαετία του 1950-1960, και από τότε μέχρι σήμερα έχουν γίνει αρκετές έρευνες προς αυτή την κατεύθυνση (Korunić, 1998, Subramanyam and Roesli, 2000, Baliota and Athanassiou, 2020, Zeni et al., 2021). Σήμερα, κάποιες από αυτές τις αδρανείς σκόνες, όπως η γη διατόμων, έχουν έγκριση για χρήση σε στρατηγικές ολοκληρωμένης διαχείρισης εχθρών (IPM) κατά την επεξεργασία σιτηρών και τροφίμων σε βιομηχανικό επίπεδο, ως προστατευτικά εντομοκτόνα σε δημητριακά και υπολειμματικά εντομοκτόνα για επιφάνειες κ.α. (Korunić, 1998, Subramanyam and Roesli, 2000, Stejskal et al., 2015, Hagstrum and Athanassiou, 2019, Zeni et al., 2021), και θεωρούνται από τα πιο ασφαλή εντομοκτόνα που χρησιμοποιούνται στη γεωργία, τη δημόσια υγεία και την κτηνιατρική (Korunić, 1998, Subramanyam and Roesli, 2000, Athanassiou et al., 2018, Belloti and Deyá, 2019). Για τον λόγο αυτό, η δράση τέτοιων εντομοκτόνων έχει αξιολογηθεί για στην καταπολέμηση πολλών ειδών εντόμων, και κάτω από διάφορα σενάρια εφαρμογής, όπως για παράδειγμα η μερική εφαρμογή στους σωρούς των δημητριακών, ή ο συνδυασμός των αδρανών υλών με διάφορα εντομοκτόνα (Vayias and Athanassiou, 2004, Kavallieratos et al., 2005, Athanassiou et al., 2011, Zeni et al., 2021). Για παράδειγμα, ενώ υπάρχουν αρκετά στοιχεία για τη χρήση της γης διατόμων σε όλο το σωρό των δημητριακών, τα στοιχεία που αντιστοιχούν στην εφαρμογή της γης διατόμων στην ανώτερη στοιβάδα των σωρών είναι ιδιαίτερα περιορισμένα, παρά το γεγονός ότι το σενάριο αυτό της εφαρμογής φαίνεται υποσχόμενο (Korunić, 1998, Subramanyam and Roesli, 2000, Kavallieratos et al., 2005, Athanassiou et al., 2011, Zeni et al., 2021). Παράλληλα, έχουν αξιολογηθεί διάφοροι παράμετροι που συμβάλλουν στην αύξηση ή και μείωση της εντομοκτόνου δράσης των διαφόρων σκευασμάτων. Ωστόσο, η εκτενέστερη έρευνα αφορά την γη διατόμων και ειδικότερα την χρήση της στην προστασία των αποθηκευμένων προϊόντων, με έμφαση στα αποθηκευμένα δημητριακά,



όπως το σιτάρι, το κριθάρι, ο αραβόσιτος και το ρύζι, αλλά μπορεί να χρησιμοποιηθεί και σε άλλα προϊόντα (Korunić, 1998, Subramanyam and Roesli 2000, Athanassiou et al. 2011).

Όπως έχει αναφερθεί, διάφοροι παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν και σε μεγάλο βαθμό την αποτελεσματικότητα της γης διατόμων, γεγονός που έχει αναφερθεί από πολλούς ερευνητές κατά καιρούς (Zeni et al., 2021). Ειδικότερα, η εντομοκτόνος δράση της γης διατόμων επηρεάζεται από πολλές παραμέτρους, όπως η προέλευση της γης διατόμων και οι χημικές και φυσικές της ιδιότητες και τα χαρακτηριστικά της (ποσοστό σε διάτομα, άργιλο, πυρίτιο, κοκκομετρία κ.α.), το είδος του εντόμου στόχου, το είδος του δημητριακού στο οποίο θα εφαρμοστεί η γη διατόμων, η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία του χώρου, η θερμοκρασία και η υγρασία του σπόρου, η μέθοδος εφαρμογής του σκευάσματος κ.α. (Rigaux et al., 2001, Athanassiou et al., 2004, 2005, Vayias et al., 2009). Ταυτόχρονα, όλοι οι παράγοντες που συμβάλλουν στην μείωση της ικανότητας των σωματιδίων της γης διατόμων να απορροφούν τα λιπίδια του εξωσκελετού του εντόμου μειώνει άμεσα την αποτελεσματικότητα του εντομοκτόνου σκευάσματος (Korunić et al., 1996, Korunić, 1997, 2016, Subramanyam and Roesli, 2000, Athanassiou and Kavallieratos, 2005, Vayias et al., 2006, Vayias et al., 2008). Εκτός όμως από τα διάφορα δημητριακά, φαίνεται ότι η γη διατόμων είναι αποτελεσματική και σε παράγωγα αυτών, όπως για παράδειγμα τα άλευρα (Korunić et al., 1996, Vayias and Athanassiou 2004). Η παρουσία τους όμως στα άλευρα δεν επιδρά τις διάφορες ιδιότητες του τελικού προϊόντος υπό την έννοια της αρτοποιητικής ικανότητας κτλ. (Korunić et al., 1996, 1998).

Επομένως, είναι απαραίτητο να προσδιορίσουμε αυτές τις συνθήκες και την επίδραση αυτών στην εντομοκτόνο δράση της γης διατόμων, προκειμένου να βελτιστοποιήσουμε την αποτελεσματικότητα της γης διατόμων εναντίον εντομολογικών εχθρών. Ωστόσο για την αξιολόγηση της επίδρασης τέτοιων παραγόντων, θα πρέπει να διενεργηθούν συγκεκριμένες βιοδοκιμές, ακολουθώντας εξειδικευμένα πρωτόκολλα πειραματισμού για την ορθή ανάλυση και τεκμηρίωση των αποτελεσμάτων. Κατά την υλοποίηση του παρόντος έργου, σχεδιάστηκε ένας μεγάλος αριθμός πειραματικών βιοδοκιμών, οι οποίες μπορούν να υιοθετηθούν και από άλλες ερευνητικές ομάδες.



2. Πρωτόκολλα πειραματισμού

Σε γενική περίπτωση, συγκεκριμένοι παράγοντες λαμβάνονται υπόψιν από τους ερευνητές για την ορθή αξιολόγηση της εντομοκτόνου ιδιότητας της γης διατόμων εναντίων των εντόμων αποθηκών. Για αρχή, όλα τα έντομα που θα χρησιμοποιηθούν στις βιοδοκιμές θα πρέπει να προέρχονται από τον ίδιο πληθυσμό, ο οποίος εκτρέφεται κάτω από τις ίδιες συνθήκες και υποστρώματα εκτροφής, ώστε να διασφαλιστεί η ομοιομορφία των εντόμων (πειραματικές μονάδες) στο σύνολο των μεταχειρίσεων (επαναλήψεις) (Εικόνα 1). Στο πλαίσιο αυτό, θα πρέπει να υπάρχουν εργαστηριακοί πληθυσμοί οι οποίοι να παρέχουν σχετική ομοιομορφία, η οποία είναι αποτέλεσμα της εκτροφής του πληθυσμού για κάποιες γενεές. Παρ' όλα αυτά, μπορούν να χρησιμοποιηθούν και πληθυσμοί πεδίου, όταν χρειάζεται η αξιολόγηση για την εξαγωγή συμπερασμάτων ως προς την αποτελεσματικότητα. Παράλληλα, θα πρέπει να αναφέρεται η προέλευση του πληθυσμού που θα χρησιμοποιηθεί στις βιοδοκιμές, η όλη διαδικασία της εκτροφής και διατήρησης των εντόμων όταν πρόκειται για εργαστηριακό πληθυσμό, άλλες σχετικές έρευνες στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεκριμένοι πληθυσμοί, καθώς και άλλα χαρακτηριστικά τα οποία είναι γνωστά για τους πληθυσμούς, όπως για παράδειγμα ο βαθμός ανθεκτικότητας σε εντομοκτόνα κ.α. (Εικόνα 2 και 3). Από την άλλη πλευρά, τα έντομα που θα χρησιμοποιηθούν στις βιοδοκιμές θα πρέπει να είναι της ίδιας ηλικίας, η οποία πάντα αναγράφεται στα υλικά και μεθόδους των εκάστοτε βιοδοκιμών αλλά και η μέθοδος που ακολουθήθηκε για την διασφάλισή του παράγοντα αυτού (Εικόνα 2). Αντίστοιχα πρωτόκολλα αξιολόγησης αναφέρονται σε διάφορες εργασίες, οι οποίες μπορούν να αποτελέσουν βάση για περαιτέρω έρευνες (Korunić, 1998, Subramanyam and Roesli, 2000, Vayias and Athanassiou 2004, Kavallieratos et al., 2007, Athanassiou et al. 2008, 2011).

2.1. *Insect cultures and commodities*

The three *S. oryzae* populations were obtained from stock cultures maintained on hard wheat (var. Mexa), maize (var. Dias) and barley (var. Persephone), respectively. Each stock **was kept at the laboratory for more than 5 years at 26 ± 1 °C and $65 \pm 5\%$ relative humidity (r.h.)**. Untreated, clean and infestation-free hard wheat (var. Mexa), maize (var. Dias) and barley (var. Persephone), were used for the bioassays. The moisture content (m.c.) of the



Insects and Rearing Cultures

Tribolium confusum adults less than 14 d old and 3-4th instars were used in the tests. There were 7 different populations obtained from Danish Pest Infestation Laboratory (Lyngby, Denmark), Central Science Laboratory (York, UK), Benaki Phytopathological Institute (Kifissia, Greece), Institute for Stored Product Protection (Berlin, Germany), University of Molise (Campobasso, Italy), Laboratoire Denrées Stockées (Cenon Bordeaux, France), and Tropical Scientific Research Institute (Lisbon, Portugal) (the above strains are abbreviated in the text as DK, UK, GR, GER, IT, FR and POR, respectively). All strains had been initially collected from the local fauna of each country. Both adults and larvae of the populations were reared on wheat flour plus 5% brewers yeast (by weight) at $27 \pm 1^\circ\text{C}$ and $65 \pm 5\%$ RH. The GR strain was kept at the Benaki Phytopathological Institute for >10 years, while the rest were reared in the same laboratory for >7 generations, after introduction from their respective countries of origin.

Εικόνα 1: Αναφορά της προέλευσης του πληθυσμού που θα αξιολογηθεί στις βιοδοκιμές [Πηγή: Athanassiou et al., 2008 (πάνω), Kavallieratos et al., 2007 (κάτω)]

2. Materials and Methods

2.1. Insect Species, Commodity and Formulation

Mixed-sex adults, 7–21-day-old *C. ferrugineus*, *O. surinamensis*, and *T. confusum* were used in the bioassays. All insects were taken from laboratory cultures maintained at the Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology (LEAZ), Department of Agriculture, Crop Production and Rural Environment, University of Thessaly, Nea Ionia, Magnesia, Greece, at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and $56 \pm 5\%$ RH, in continuous darkness. *Oryzaephilus surinamensis* and *C. ferrugineus* were reared in oat flakes, while *T. confusum* in whole wheat flour, according to the laboratory's rearing protocols. For the experiments, uninfested organic soft wheat, taken from a local flour mill was ground using a stainless-steel mill (Thermomix TM31-1,

Εικόνα 2: Αναφορά της διαδικασίας εκτροφής των εντόμων (Πηγή: Baliota et al., 2022)



2.1. Insect cultures

One laboratory and one field population of *L. serricornis* with different susceptibility levels to phosphine were used for laboratory experiments. The standard laboratory susceptible population of this species, referred here with the code "S population", has been maintained in the laboratory for more than 20 years with no exposure to phosphine. The field population, referred as "R population", has been collected from Malaysia in 2016. Both populations have been characterized as susceptible or resistant to phosphine by Sakka and Athanassiou (2021), following the CORESTA diagnostic protocol (CORESTA 2019). More details about other protocols used to evaluate the phosphine tolerance of the same populations are also described by Sakka et al. (2018) and Athanassiou et al. (2019).

Εικόνα 3: Αναφορά σχετικών ερευνών στις οποίες χρησιμοποιήθηκαν οι συγκεκριμένοι πληθυσμοί που πρόκειται να αξιολογηθούν στο πείραμα (Πηγή: Baliota et al., 2021).

Στις βιοδοκιμές που αφορούν την αξιολόγηση σκευασμάτων γης διατόμων που δεν είναι εμπορικά διαθέσιμα στην αγορά, δηλαδή δεν είναι τυποποιημένα και δεν φέρουν ετικέτα με τα ακριβή στοιχεία της εκάστοτε σκόνης, θα πρέπει να γίνεται όσο το δυνατόν αναλυτική περιγραφή του σκευάσματος, επισημαίνοντας όσα περισσότερα στοιχεία έχουν μετρηθεί για το συγκεκριμένο σκεύασμα (Εικόνα 4). Για παράδειγμα, η περιοχή προέλευσης, η διαδικασία παραγωγής του τελικού προϊόντος από το αρχικό πέτρωμα, η κοκκομετρία της σκόνης, το ποσοστό σε διάτομα ή άλλα στοιχεία κ.α. είναι από τα βασικά χαρακτηριστικά που είναι γνωστό ότι επηρεάζουν την εντομοκτόνο δράση της γης διατόμων (Εικόνα 4 και 5).



The content of Al_2O_3 , CaO , Fe_2O_3 , MgO , Na_2O , K_2O , and TiO_2 was determined by atomic absorption spectrometry (AAAnalyst 300, PerkinElmer, USA), while the determination of SiO_2 content was done using standard gravimetric procedure. Chemical composition of NZ was as follows: 68% SiO_2 , 14% Al_2O_3 , 4.5% CaO , 2.5% Fe_2O_3 , and up to 1.5% of MgO , Na_2O , and K_2O . After the treatment with NH_4^+ ions, the composition of NZ Modified was: 63% SiO_2 , 11% Al_2O_3 , 2.5% CaO , 0.8% Fe_2O_3 , and up to 1.5% of MgO , Na_2O , and K_2O . Contents of SiO_2 , Al_2O_3 , K_2O , Na_2O , MgO , CaO , Fe_2O_3 , and TiO_2 were: 78.8 and 63.2%, 9.4 and 10.3%, 0.8 and 0.9%, 0.1 and 0.1%, 0.1 and 0.3%, 0.6 and 1.0%, 1.1 and 1.7%, and 0.2 and 0.3%, in the DE S-1 and the DE S-2 sample, respectively.

2.1. DE Deposit Used

The DE deposit was obtained from a single mine located in the Prefecture of Thessaly in Central Greece, in the area of Elassona (Latitude: 39.894293, Longitude: 22.184054). DE sediments of this mine are characterized as clay diatoms, due to their high clay content, having a discoid and cylindrical structure [32]. Geochemical analysis of these DE sediments was carried out by CTL Group, Construction Technology Laboratories, Skokie, IL, USA. DE components that were qualitatively and quantitatively determined by this analytical procedure were SiO_2 , Al_2O_3 , Fe_2O_3 , K_2O , MgO , CaO , SO_3 , Na_2O , TiO_2 , P_2O_5 , Mn_2O_3 , SrO , Cr_2O_3 and ZnO . The sediments were found to contain 69.49% SiO_2 , 13.12% Al_2O_3 , 4.88% Fe_2O_3 , 1.85% K_2O and 1.52% MgO ; all the other elements found were below 1%. Data about

Εικόνα 4: Αναφορά των χαρακτηριστικών των σκευασμάτων γης διατόμων που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές [Πηγή: Andric et al., 2012 (πάνω), Baliota and Athanassiou, 2020 (κάτω)]

Inert Dusts. The inert dusts used in the tests were raw natural materials originating from Serbia: natural zeolites (NZ and NZ Modified, location Vranje) and DEs (DE S-1 and DE S-2, location Kolubara). To obtain NZ inert dust sample, natural zeolite was processed in the following steps: separation of nonspecific impurities (soil, rocks of different kinds, and other impurities), drying, primary crushing (jaw crusher), secondary crushing (impact crusher), and grinding (Denver ball mill; Denver Industrial Machinery, Denver, CO). Further, the NZ material was modified by NH_4^+ ion to get an NZ Modified inert dust sample. Diatomite ore processing included ore breaking up (by hand) and then grinding (under laboratory con-

Particle size distribution (inert dust samples suspended in water) in the range from 0 to lower than 63 μm (0–13, 13–18, 18–28, 28–40, 40–53, and 53–63 μm) was determined using a Cyclosizer (model M4; Weir, Tormorden, United Kingdom). The percentage of particles with diameter below 13 μm , considered as the most important size fraction with respect to the inert dust insecticidal activity, was 49.0, 51.9, 95.3, and 81.0% for NZ, NZ Modified, DE S-1, and DE S-2, respectively.



Εικόνα 5: Αναφορά των χαρακτηριστικών των σκευασμάτων γης διατόμων που χρησιμοποιήθηκαν στις βιοδοκιμές (Πηγή: Andric et al., 2012)

Στις βιοδοκιμές που αφορούν την αξιολόγηση των παραγόντων που δύναται να επηρεάσουν την εντομοκτόνο δράση της γης διατόμων, αυτοί θα πρέπει να αναγράφονται και να αιτιολογούνται με βάση παρεμφερείς βιβλιογραφικές πηγές. Για παράδειγμα, για την αξιολόγηση της επίδρασης της θερμοκρασίας στην εντομοκτόνο δράση της γης διατόμων, θα πρέπει να έχει προηγηθεί βιβλιογραφική ανασκόπηση τυχόν αντίστοιχων ή παραπλήσιων ερευνών ώστε να γίνουν κατανοητά τα πρωτόκολλα που ακολουθήθηκαν για την αξιολόγηση της επίδρασης της θερμοκρασίας αλλά και τα συμπεράσματα που προέκυψαν από την εκάστοτε έρευνα, με σκοπό την διασφάλιση του ορθού και επίκαιρου σχεδιασμού των πρωτοκόλλων πειραματισμού που θα ακολουθηθούν στο πείραμά μας. Όσον αφορά την υλοποίηση των πρωτοκόλλων, θα πρέπει να διασφαλιστεί ότι όλοι οι παράγοντες κατά τον πειραματισμό είναι σταθεροί. Για παράδειγμα, για την αξιολόγηση της επίδρασης της θερμοκρασίας στην εντομοκτόνο δράση της γης διατόμων, θα πρέπει να διασφαλίσουμε ότι, εκτός της θερμοκρασίας, όλοι οι άλλοι αβιοτικοί και βιοτικοί παράγοντες (όπως η σχετική υγρασία του χώρου, η ηλικία των εντόμων, το σκεύασμα του εντομοκτόνου κ.α.) κατά την διάρκεια του πειραματισμού θα είναι γνωστοί και σταθεροί. Ομοίως, και στην περίπτωση της αξιολόγησης συγκεκριμένων αβιοτικών παραγόντων, όπως η θερμοκρασία ή η υγρασία, θα πρέπει να υπάρχουν διαθέσιμοι θάλαμοι ελεγχόμενων συνθηκών.

Τέλος, το σημαντικότερο που πρέπει πάντα να λαμβάνουμε υπόψιν είναι η επαναληψιμότητα του πειραματισμού μας, παράγοντας που ορίζει την αξιοπιστία των αποτελεσμάτων μας. Για παράδειγμα, είναι γνωστό, ότι οι μετρήσεις της θνησιμότητας των εντόμων χαρακτηρίζονται από την αβεβαιότητα (σφάλμα) των μετρήσεων του παρατηρητή, των οργάνων μέτρησης, της πειραματικής διαδικασίας, των συνθηκών του πειραματισμού κ.α. Δεδομένου ότι ακόμα και κάτω από εργαστηριακές συνθήκες, είναι αδύνατον να προβλέψουμε και να ελέγξουμε όλους τους παράγοντες που υπεισέρχονται κατά τον πειραματισμό, δεν μπορούμε πάντα να διορθώσουμε όλα τα σφάλματα. Συνεπώς, ο μόνος τρόπος να λαμβάνουμε αξιόπιστες μετρήσεις και να ελαχιστοποιούμε όσο το δυνατόν περισσότερο την αβεβαιότητα των αποτελεσμάτων μας είναι να



επαναλάβουμε τις μετρήσεις ενός μεγέθους, με σκοπό να οδηγηθούμε σε μία κατανομή των μετρούμενων τιμών που μπορεί να αναλυθεί συστηματικά με τη στατιστική. Από την άλλη είναι εμφανές ότι τα σφάλματα πρέπει να υπολογίζονται ώστε να οδηγηθούμε σε ορθά συμπεράσματα.

A separate series of jars containing untreated commodity were used in the same way as controls. Subsequently, from each jar, three samples of 10 g of the treated grain were placed in three cylindrical plastic vials (3 cm in diameter, 8 cm high, Rotilabo Sample tins Snap on lid, Carl Roth, Germany). Then, ten adults of each species were introduced into each vial, with different series of vials per species. **The whole process was repeated two times for each combination of species—DE dose—temperature—RH (i.e., 6 vials per combination).** The vials were placed in separate chambers with the desired temperature-RH combinations. Insect mortality was evaluated after 1, 7, 14, and 21 days of exposure to the treated commodity.

Εικόνα 6: Αναφορά των επαναλήψεων των βιοδοκιμών (Πηγή: Baliota et al., 2022)

Έτσι, είναι σημαντικό να αναφέρουμε τον αριθμό των επαναλήψεων που πραγματοποιήσαμε για την αξιολόγηση συγκεκριμένου παράγοντα (Εικόνα 6) (Vayias and Athanassiou 2004, Andric et al., 2012). Επιπροσθέτως, οι διάφορες επαναλήψεις λαμβάνουν χώρα στο χώρο και το χρόνο, ενώ ταυτόχρονα θα πρέπει η κάθε επανάληψη να υποδιαιρείται σε υπο-επαναλήψεις, με σκοπό την αποφυγή των λεγομένων «ψευδο-επαναλήψεων» (pseudoreplicates). Στο πλαίσιο αυτό, είναι σαφές ότι και το πειραματικό σχέδιο πρέπει να είναι τέτοιο που να επάγει την ασφαλή εξαγωγή συμπερασμάτων (όπως για παράδειγμα το Σχέδιο των Τυχαιοποιημένων Πλήρων Ομάδων, το Σχέδιο των Υποδιαιρεμένων Τεμαχίων κα.). Οι μετρήσεις θνησιμότητας ακολουθούν την εκατοστιαία κλίμακα, ενώ ενίοτε μπορεί να χρησιμοποιηθεί και η διόρθωση ως προς το μάρτυρα, όπως η διόρθωση κατά Abbott (Subramanyam and Roesli, 2000, Athanassiou et al. 2004, 2005, Andric et al., 2012, Zeni et al., 2021, Baliota et al. 2022).



3. Βιβλιογραφία

Andric G.G., Markovic M.M., Adamovic M., Dakovic A., Golic M.P., Kljajic P.J. (2012). Insecticidal potential of natural zeolite and diatomaceous earth formulations against rice weevil (Coleoptera: Curculionidae) and red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, 105: 670-678.

Arthur F.H., Puterka G.J. (2002). Evaluation of kaolinite-based particle films to control *Tribolium* species (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Stored Product Research*, 38: 341–348.

Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Benelli G., Losic D., Usha Rani P., Desneux N. (2018). Nanoparticles for pest control: Current status and future perspectives. *Journal of Pest Science*, 91: 1–15.

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.G., Vayias B.J., Dimizas C.B., Kavallieratos N.G., Papagregoriou A.S., Buchelos C.T. (2005). Insecticidal efficacy of diatomaceous earth against *Sitophilus oryzae* (L.) (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on stored wheat: Influence of dose rate, temperature and exposure interval. *Journal of Stored Product Research*, 41: 47–55.

Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G. (2005). Insecticidal effect, and adherence of PyriSec® in different grain commodities. *Crop Protection*, 24: 703–710.

Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Vayias B.J., Panoussakis E.C. (2008). Influence of grain type on the susceptibility of different *Sitophilus oryzae* (L.) populations, obtained from different rearing media, to three diatomaceous earth formulations. *Journal of Stored Products Research*, 44: 279– 284.

Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Vayias B.J., Tomanovic Z., Petrovic A., Rozman V., Adler C., Korunic Z., Milovanovic D. (2011). Laboratory evaluation of diatomaceous



earth deposits mined from several locations in central and southeastern Europe as potential protectants against coleopteran grain pests. *Crop Protection*, 30: 329–339.

Baliota G.V., Athanassiou C.G. (2020). Evaluation of a Greek diatomaceous earth for stored product insect control and techniques that maximize its insecticidal efficacy. *Applied Science*, 10: 6441.

Baliota G.V., Athanassiou C.G. (2020). Evaluation of a Greek diatomaceous earth for stored product insect control and techniques that maximize its insecticidal efficacy. *Applied Science*, 10: 6441.

Baliota G.V., Cohnstaedt L.W., Athanassiou C.G. (2021). Response of phosphine-resistant and susceptible *Lasioderma serricorne* adults to different light spectra. *Journal of Stored Products Research*, 92: 101808.

Baliota G.V., Lampiri E., Athanassiou C.G. (2022). Differential effects of abiotic factors on the insecticidal efficacy of diatomaceous earth against three major stored product beetle species. *Agronomy*, 12: 156.

Bellotti N., Deyá C. (2019). Chapter 14. Natural products applied to antimicrobial coatings. *Stud. Nat. Prod. Chem.*, 60: 485–508.

Campbell J.F., Arthur F.H., Mullen M.A. (2004). Insect management in food processing facilities. *Advances in Food Nutrition Research*, 48: 240–295.

Eroglu N., Emekci M., Athanassiou C.G. (2017). Applications of natural zeolites on agriculture and food production. *J. Sci. Food Agric.*, 97: 3487–3499.

Hagstrum D.W., Athanassiou C.G. (2019). Improving stored product insect management: From theory to practice. *Insects*, 10: 332.

Kavallieratos N.G., Athanassiou C.G., Vayias B.J., Maistrou S.N. (2007). Influence of temperature on susceptibility of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) populations to three modified diatomaceous earth formulations. *Florida Entomologist*, 90: 616-625.



Kavallieratos N.G., Athanassiou C.G., Paschalidou F.G., Andris N.S., Tomanovic Z. (2005). Influence of grain type on the insecticidal efficacy of two diatomaceous earth formulations against *Rhyzopertha dominica* (F.) (Coleoptera: Bostrychidae). *Pest Management Science*, 61: 660–666.

Korunić Z. (1997). Rapid assessment of the insecticidal value of diatomaceous earths without conducting bioassays. *Journal of Stored Product Research*, 33: 219–229.

Korunić Z., Fields P.G., Kovacs M.I.P., Noll J.S., Lukow O.M., Demianyk C.J., Shibley K.J. (1996). The effect of diatomaceous earth on grain quality. *Postharvest Biological Technologies*, 9: 373–387.

Korunić Z. (1998). Diatomaceous earths, a group of natural insecticides. *Journal of Stored Product Research*, 34: 87–97.

Korunić Z. (2016). Overview of undesirable effects of using diatomaceous earths for direct mixing with grains. *Pesticide Fitomedicine*, 31: 9–18.

Rigaux M., Haubruge E., Fields P.G. (2001). Mechanisms for tolerance to diatomaceous earth between strains of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Entomologia Experimentalis Applicata*, 101: 33–39.

Stejskal V., Hubert J., Aulocky R., Kucerova Z. (2015). Overview of present and past and pest-associated risks in stored food and feed products: European perspective. *Journal of Stored Product Research*, 64: 122–132.

Subramanyam B., Roesli R. (2000). Inert Dusts. In *Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM*, Subramanyam, B., Hagstrum, D.W., Eds., Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, Netherlands. pp. 321–380.

Vayias B.J., Athanassiou C.G., Kavallieratos N.G., Buchelos C.T. (2006). Susceptibility of different European populations of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) to five diatomaceous earth formulations. *Journal of Economic Entomology*, 99: 1899–1904.



Vayias B.J., Athanassiou C.G., Korunić Z., Rozman V. (2009). Evaluation of natural diatomaceous earth deposits from south-eastern Europe for stored-grain protection: The effect of particle size. *Pest Management Science*, 65: 1118–1123.

Vayias B.J., Athanassiou C.G., Buchelos C.T. (2008). Evaluation of resistance development by *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) to diatomaceous earth under laboratory selection. *Journal of Stored Product Research*, 44: 162–168.

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

Zeni V., Baliota G.V., Benelli G., Canale A., Athanassiou C.G. (2021). Diatomaceous earth for arthropod pest control: Back to the future. *Molecules* 26: 7487.