

Διερεύνηση και καταγραφή της συχνότητας και της διασποράς μεταλλαγών ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα σε εχθρούς κηπευτικών καλλιεργειών της Κρήτης, και μελέτη τοξικότητας φυτοπροστατευτικών σε φυσικούς τους εχθρούς

Ακρωνύμιο Έργου: MANEKTO, ΚΥΠΕ: 3220/55

Ωφελούμενος: Άρης Ηλίας, PhD, e-mail: arishlias@yahoo.gr

Υπόβαθρο

Το φαινόμενο της ανάπτυξης ανθεκτικότητας στα εντομοκτόνα στη χώρα μας είναι εντυπωσιακό την τελευταία δεκαετία. Για κάποιους εχθρούς όπως ο τετράνυχος (*Tetranychus urticae*) και ο αλευρώδης (*Bemisia tabaci*) η ανθεκτικότητα σε διάφορα σκευάσματα έχει χαρακτηριστεί σε μοριακό επίπεδο, και έχουν εντοπιστεί μεταλλαγές ανθεκτικότητας στόχου που σχετίζονται με το φαινόμενο [1-3]. Ωστόσο, για νεοεισαχθέντες εχθρούς, όπως το λεπιδόπτερο *Tuta absoluta*, και νέας γενιάς εντομοκτόνα, όπως τα διαμίδια, η αντίστοιχη γνώση είναι σχετικά περιορισμένη. Εξαιτίας της όλο και αυξανόμενης τάσης των παραγωγών στην εφαρμογή της ολοκληρωμένης καταπολέμησης μεταξύ άλλων λόγω της επιβλημένης από την Ευρωπαϊκή νομοθεσία δραματικής μείωσης των δραστικών ουσιών αλλά και της προβληματικής, λόγω ανθεκτικότητας, καταπολέμησης έχει δοθεί μεγάλη έμφαση στην εξαπόλυση φυσικών εχθρών. Ωστόσο, οι σχετικές με τη συμβατότητα των φυτοπροστατευτικών με τους φυσικούς εχθρούς μελέτες στα οικοσυστήματα της Κρήτης είναι σχετικά περιορισμένες.

Στόχοι

- Καταγραφή συχνότητας μεταλλαγών ανθεκτικότητας στόχου πληθυσμών τετράνυχου και αλευρώδη.
- Ανάλυση του γονιδίου στόχου των διαμιδίων ryanodine receptor του λεπιδόπτερου *Tuta absoluta*.
- Αξιολόγηση της τοξικής δράσης νέας γενιάς εντομοκτόνων σε φυσικούς εχθρούς.
- Καταχώρηση δεδομένων στη Βάση Δεδομένων - Διάχυση πληροφοριών στους τελικούς χρήστες.



Σκοπός

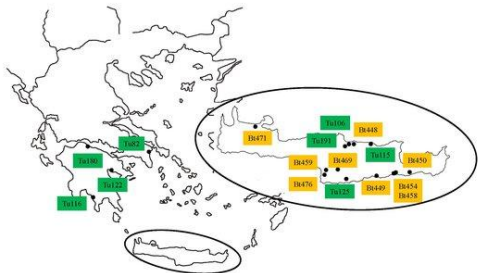
Η συμβολή στη διαχείριση της ανθεκτικότητας (Insecticide Resistance management, IRM) και την ορθολογική χρήση των φυτοπροστατευτικών στα πλαίσια προγραμμάτων ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας (IPM, Integrated Pest Management).

Πειραματικός Σχεδιασμός - Αποτελέσματα

Καταγραφή συχνότητας μεταλλαγών ανθεκτικότητας στόχου πληθυσμών τετράνυχου και αλευρώδη.

Με την χρήση μοριακών διαγνωστικών εργαλείων μελετήθηκε η συχνότητα μεταλλαγών ανθεκτικότητας σε πληθυσμούς από διαφορές περιοχές τις χώρες (Εικόνα 1).

Εικόνα 1: Γεωγραφική κατανομή των πληθυσμών τετράνυχου (Tu) και αλευρώδη (Bi) που χρησιμοποιήθηκαν.



T. urticae

- Εφαρμογή μοριακών διαγνωστικών (Taqman) σε 8 πληθυσμούς από διάφορες περιοχές της Ελλάδας (Πίνακας 1).
- Υψηλή συχνότητα (0.46) της μεταλλαγής F1538I των κανάλια νατρίου που σχετίζεται με την ανθεκτικότητα στα πυρεθρινοειδή εντομοκτόνα.
- Μέτρια συχνότητα (0.25 και 0.27) των μεταλλαγών G314D και G326E των καναλιών χλωρίου που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα στο abamectin.

Πίνακας 1: Συχνότητες 3 μεταλλαγών ανθεκτικότητας (F1538I, G314D και G326E) από μεμονωμένα θηλακά άτομα πληθυσμών τετράνυχου από την Ελλάδα με χρήση μοριακού διαγνωστικού Taqman.

Πληθυσμός	Περιοχή προέλευσης	Ξενιστής	N	Συχνότητα μεταλλαγών		
				F1538I	G314D	G326E
Tu82	Μαραθόνας, Αττική	Τριαντάφυλλο / Θ	20	0.025	1.000	1.000
Tu106	Φοινικά, Ηράκλειο	Τριαντάφυλλο / Θ	20	0.875	0.975	1.000
Tu125	Ασήμη, Ηράκλειο	Διάφορα φυτά / Y	9	0.111	0.000	0.000
Tu191	Βούτες, Ηράκλειο	Τομάτα / Θ	20	0.000	0.000	0.000
Tu115	Σισι, Λασιθί	Τριαντάφυλλο / Θ	20	0.950	0.050	0.050
Tu116	Τερψιθέα, Μεσσηνία	Φασόλι / Y	18	0.972	0.000	0.000
Tu122	Παναγιά, Αργολίδα	Κολοκύθι / Y	9	0.000	0.000	0.000
Tu180	Λίγιο, Αχαΐα	Τριαντάφυλλο / Θ	20	0.750	0.000	0.125
	Σύνολο		136	0.460	0.253	0.272

Ευχαριστίες: Το έργο εντάσσεται στην Πράξη «Εκπόνηση σχεδίων Ερευνητικών & Τεχνολογικών Αναπτυξιακών έργων Καινοτομίας (ΑγροΕΤΑΚ)» με MIS 453350, στο πλαίσιο του ΕΠ «Ανάπτυξη Ανθρώπινου Δυναμικού», ΕΣΠΑ 2007-2013. Το έργο συγχρηματοδοτείται από το Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο (ΕΚΤ) και από Εθνικούς Πόρους και συντονίζεται από τον ΕΛΓΟ-ΔΗΜΗΤΡΑ, Ινστιτούτο Ελιάς Υποτροπικών Φυτών και Αμπελώ, Τμήμα Αμπελώ Λαχανοκομίας Ανθοκομίας και Φυτοπροστασίας / Υπεύθυνη Παρακολούθησης: Δρ Αναστασία Τσαγκαράκου

B. tabaci

- Εφαρμογή μοριακών διαγνωστικών (PCR-RFLP και PASA) για δύο μεταλλαγές στα κανάλια νατρίου που σχετίζονται με την ανθεκτικότητα στα πυρεθρινοειδή, σε 9 πληθυσμούς αλευρώδη από την Κρήτη (Πίνακας 2).
- Υψηλή συχνότητα του αλληλόμορφου r1= 925I (0.69)
- Μέτριες – χαμηλές συχνότητες (0.16 και 0.15) του αλληλόμορφου r2=929V και s-αργίου τύπου, αντίστοιχα..

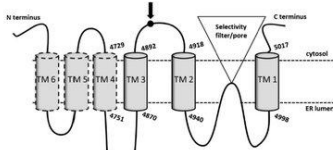
Πίνακας 2: Συχνότητες των 2 μεταλλαγών ανθεκτικότητας στα πυρεθρινοειδή (L925I και T929I) από μεμονωμένα θηλακά άτομα πληθυσμών αλευρώδη από την Κρήτη με χρήση μοριακών διαγνωστικών PCR-RFLP και PASA. Τα αλληλόμορφα έχουν ονομαστεί r1 (1925...T929), r2 (L925...T929) και s (L925...T929).

Πληθυσμός	Περιοχή προέλευσης	Ξενιστής	N	Συχνότητα αλληλόμορφων		
				r1	r2	s
Bi450	Βαϊνιά, Λασιθί	Μελιτζάνα / Θ	17	0.65	0.21	0.15
Bi454	Στόμο, Λασιθί	Μελιτζάνα / Θ	18	0.92	0.00	0.08
Bi458	Στόμο, Λασιθί	Μελιτζάνα / Θ	15	0.83	0.07	0.10
Bi459	Γριά Γκινάρα, Ηράκλειο	Μελιτζάνα / Θ	15	0.67	0.17	0.17
Bi469	Αμπελούζος, Ηράκλειο	Σπίνου / Y	19	0.18	0.18	0.63
Bi448	Κατσαμπιά, Ηράκλειο	Μελιτζάνα / Θ	9	1.00	0.00	0.00
Bi449	Άρβη, Ηράκλειο	Αγγούρι / Θ	15	0.87	0.13	0.00
Bi476	Κλημνος ποταμός, Ηράκλειο	Πιπεριά / Θ	17	0.56	0.41	0.03
Bi471	Κουντουρά, Χανιά	Τομάτα / Θ	19	0.55	0.26	0.18
	Σύνολο		144	0.69	0.16	0.15

Ανάλυση του γονιδίου στόχου των διαμιδίων ryanodine receptor του λεπιδόπτερου Tuta absoluta

- Τα διαμίδια αποτελούν μια εξαιρετικά αποτελεσματική ομάδα εντομοκτόνων στον έλεγχο του λεπιδόπτερου *Tuta absoluta*.
- Ο υπομοριακός στόχος των διαμιδίων είναι το γονίδιο που κωδικοποιεί για την πρωτεΐνη στόχο ryanodine receptor, στο νευρικό σύστημα των εντόμων (Εικόνα 2).
- Στην διεθνή βιβλιογραφία μέχρι σήμερα δεν έχει εντοπιστεί ανθεκτικότητα του εντόμου στα συγκεκριμένα σκευάσματα.

Εικόνα 2: Η σχηματική απεικόνιση του γονιδίου ryanodine receptor



- Απομόνωθηκε τμήμα του γονιδίου ryanodine receptor του λεπιδόπτερου *Tuta absoluta* με κατάλληλους εκφυλισμένους εκκινητών, βάσει διαθέσιμων νουκλεοτιδικών αλληλουχιών 9 λεπιδόπτερων της βάσης δεδομένων (NCBI).

- Σύγκριση αλληλουχιών ανθεκτικών και ευαίσθητων πληθυσμών για πιθανή παρουσία μεταλλαγής ανθεκτικότητας και αναπτυξη μοριακού διαγνωστικού για την εύκολη και γρήγορη διάγνωση της ανθεκτικότητας.

Αξιολόγηση της τοξικής δράσης νέας γενιάς εντομοκτόνων σε φυσικούς εχθρούς.

- Μελέτη τοξικής δράσης νέας γενιάς εντομοκτόνων (των χημικών ομάδων spinosin, ketoenol και thymide) σε ενήλικα άτομα αρπακτικών *Amblyseius swirskii* και *Nesidiocoris tenuis* με κατάλληλη μέθοδος βιοδοκιμών [4] .

- Στόχος είναι ο προσδιορισμός της μέγιστης και ελάχιστης συσιστώμενης δόσης για κάθε σκευάσμα - πιθανή ένταξη νέων σκευασμάτων στα πλαίσια προγραμμάτων ολοκληρωμένης φυτοπροστασίας.

Καταχώρηση δεδομένων στη Βάση Δεδομένων - Διάχυση πληροφοριών στους τελικούς χρήστες

- Σεμινάρια επιμόρφωσης της παραγωγικής βάσης.
- Εισαγωγή δεδομένων μεταλλαγών ανθεκτικότητας στη διαδικτυακή πλατφόρμα ανοικτής πρόσβασης (ΓΑΑΝΘΟΣ, www.galanthos.gr).
- Εμπλουτισμός του 'χάρτη' της βάσης δεδομένα για πληθυσμούς από την Κρήτη - Εύκολη πρόσβαση από παραγωγούς και στελέχη σχετιζόμενων με την φυτοπροστασία φορέων.

Βιβλιογραφία

- [1] Tsagarakou, A., Van Leeuwen, T., Khajehali, J., Ilias, A., Grispou, M., Williamson, M.S., Tirry, L., and Vontas, J. (2009a). Identification of pyrethroid resistance associated mutations in the para sodium channel of the two-spotted spider mite *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Insect Molecular Biology* 18, 583-593.
- [2] Dermauw, W., Ilias, A., Riga, M., Tsagarakou, A., Grbić, M., Tirry, L., Van Leeuwen, T., and Vontas, J. (2012). The cys-loop ligand-gated ion channel gene family of *Tetranychus urticae*: Implications for acaricide toxicology and a novel mutation associated with abamectin resistance. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 42, 455-465.
- [3] Tsagarakou, A., Nikou, D., Roditakis, E., Sharvit, M., Morin, S., and Vontas, J. (2009b). Molecular diagnostics for detecting pyrethroid and organophosphate resistance mutations in the Q biotype of the whitefly *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 94, 49-54.