



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ, ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ

**ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΧΕΙΜΑΝΣΗΣ ΟΡΕΙΝΟΥ ΚΑΙ ΠΕΔΙΝΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ *DROSOPHILA
SUZUKII* ΣΕ ΣΤΑΘΕΡΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ**

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΜΟΝΑΣΤΗΡΙΔΗΣ ΣΤΕΦΑΝΟΣ**



ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ : ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΒΟΛΟΣ 2021

ΜΕΛΕΤΗ ΤΗΣ ΔΙΑΧΕΙΜΑΝΣΗΣ ΟΡΕΙΝΟΥ ΚΑΙ ΠΕΔΙΝΟΥ ΠΛΗΘΥΣΜΟΥ *DROSOPHILA SUZUKII* ΣΕ ΣΤΑΘΕΡΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟΥ

STUDY OF THE OVERWINTERING OF A HIGHLAND AND A COASTAL POPULATION OF *DROSOPHILA SUZUKII* IN CONSTANT LABORATORY CONDITIONS

**ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ
ΜΟΝΑΣΤΗΡΙΔΗΣ ΣΤΕΦΑΝΟΣ**

Η διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΣΥΜΒΟΥΛΕΥΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Επιβλέπων: Παπαδόπουλος Νικόλαος (Καθηγητής Εφαρμοσμένης Εντομολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας)

Αθανασίου Χρήστος (Καθηγητής Εντομολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας)

Πετρόπουλος Σπυρίδωνας, (Επίκουρος Καθηγητής Λαχανοκομίας, Πανεπιστημίου Θεσσαλίας)

Ευχαριστίες

Με την ολοκλήρωση της παρούσας διπλωματικής εργασίας, αισθάνομαι την ανάγκη και την υποχρέωση να ευχαριστήσω κάποια άτομα που συνέβαλλαν σημαντικά στην πραγματοποίηση αυτής της προσπάθειας.

Αρχικά, θέλω να ευχαριστήσω τον Καθηγητή και επιβλέποντα της παρούσας μελέτης κ. Νικόλαο Παπαδόπουλο για την ευκαιρία που μου έδωσε να πραγματοποιήσω την πτυχιακή μου διατριβή στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κ. Αθανασίου Χρήστο και τον Αναπληρωτή Καθηγητή Πετρόπουλο Σπυρίδωνα, του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Ευχαριστώ θερμά την Δρ. Παπαναστασίου Στέλλα για την πολύτιμη βοήθεια της και την ορθή καθοδήγηση της καθ' όλη τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής διατριβής τόσο στο πειραματικό κομμάτι της έρευνας όσο και για την συμβολή της στη διόρθωση της πτυχιακής εργασίας.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω την οικογένεια μου και τους φίλους μου για την αμέριστη υποστήριξη και βοήθεια τους καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Το *Drosophila suzukii*, γνωστή και ως κηλιδόπτερη δροσόφιλα (Diptera: *Drosophilidae*) θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους εντομολογικούς εχθρούς των μαλακόσαρκων φρούτων σε παγκόσμιο επίπεδο με τεράστια οικονομική σημασία. Για το λόγο αυτό η επιστημονική κοινότητα μελετά συστηματικά τη συμπεριφορά και τη βιολογία της κηλιδόπτερης δροσόφιλα με σκοπό την κατανόηση της συμπεριφοράς του εντόμου και την ανάπτυξη μεθόδων και στρατηγικών αντιμετώπισης της. Βασικό στοιχείο της βιολογίας της *D. suzukii* είναι η διαχείμαση και οι μηχανισμοί επιβίωσης του εντόμου σε διαφορετικές συνθήκες. Σκοπός της παρούσας πτυχιακής διατριβής ήταν η διερεύνηση της επίδρασης δύο διαφορετικών θερμοκρασιών, σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες, στην επιβίωση του θερινού και του χειμερινού φαινότυπου, αρσενικών και θηλυκών δύο ελληνικών πληθυσμών του *D. suzukii*.

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας από το Φεβρουάριο του 2019 μέχρι τον Μάιο του 2020. Χρησιμοποιήθηκαν ένας ημι-ορεινός, ηπειρωτικός πληθυσμός από την Αγία Φωτεινή Πέλλας και ένας πεδινός πληθυσμός από τα Λεχώνια Μαγνησίας που εκτράφηκαν για 4 γενιές στο εργαστήριο. από κάθε πληθυσμό παράχθηκαν δυο φαινότυποι: ένας χειμερινός, διαχειμάζων (winter morph) και ένας θερινός, μη διαχειμάζων (summer morph). Μέσα σε διάστημα 24 ωρών από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα, τα ενήλικα των δύο φαινοτύπων και πληθυσμών χωρίζονταν με τη βοήθεια αναρροφητήρα σε αρσενικά και θηλυκά και τοποθετούνταν ανά δέκα σε ατομικά κλουβάκια με ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή και νερό. Στη συνέχεια, τα κλουβιά εκτέθηκαν στους $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ή στους $15\pm 2^{\circ}\text{C}$ έως το θάνατο όλων των ενηλίκων. Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 1600 ενήλικα *D.suzukii* και καθημερινά καταγραφόταν ο αριθμός των νεκρών ατόμων.

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο πεδινός πληθυσμός των Λεχωνίων είναι μακροβιότερος σε σχέση με τον ημι-ορεινό πληθυσμό που προήλθε από την Αγία Φωτεινή Πέλλας καθώς και ότι ο χειμερινός φαινότυπος είναι μακροβιότερος από τον θερινό φαινότυπο και στις δύο θερμοκρασίες (15°C και 25°C). Τα αρσενικά ήταν μακροβιότερα από τα θηλυκά ανεξάρτητα από την προέλευση των εντόμων, από τη θερμοκρασία διατήρησής τους και από το φαινότυπο. Τα αποτελέσματα σχολιάζονται με βάση άλλες δημογραφικές μελέτες του εντόμου και τις οικολογικές προεκτάσεις, των ευρημάτων.

Abstract

Drosophila suzukii, also known as spotted wing *droshopila* (Diptera: *Drosophilidae*) is considered one of the most important entomological pests of soft-skinned fruits worldwide with great economic importance. For this reason, the scientific community systematically studies the behavior and biology of the spotted *Drosophila* in order to understand the behavior of the insect and develop methods and strategies to address its impact on fruit production. A key element of *D. suzukii* biology is the overwintering and survival mechanisms of the insect in different conditions. The purpose of this dissertation was to investigate the effect of two different temperatures, in controlled laboratory conditions, on the survival of the summer and winter phenotype, male and female of two Greek populations of *D. suzukii*.

The experiments were performed in the Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology of the Department of Crop Production and Rural Environment at the University of Thessaly from February 2019 to May 2020. A semi-mountainous, continental population from Agia Fotini Pella and a lowland population from Lechonia, Magnesia, which were bred for 4 generations in the laboratory, were used. Two phenotypes were produced from each population: one winter morph and one summer morph. Within 24 hours of their exit from the pupae exuvia, the adults of the two phenotypes and populations were separated by an aspirator into males and females and placed in ten individual cages with free access to food and water. The cages were then exposed to 25 ± 2 ° C or 15 ± 2 ° C until all adults died. A total of 1600 *D.suzukii* adults were used and the number of deaths was recorded daily.

The results showed that the lowland population of Lechonia lived longer than the semi-mountainous population from Agia Fotini Pella and that the winter phenotype lived longer than the summer phenotype at both temperatures (15 ° C and 25 ° C). Males were longer-lived than females regardless of the insect's origin, storage temperature, and phenotype. The results are discussed based on other demographic studies of the insect and the ecological extensions of the findings.

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	III
Περίληψη.....	IV
Abstract.....	VI
Κατάλογος Εικόνων.....	IX
Κατάλογος Πινάκων.....	XII
Κατάλογος Διαγραμμάτων.....	XII
Εισαγωγή.....	- 10 -
1.1. Καταγωγή και γεωγραφική εξάπλωση.....	- 10 -
1.2. Συστηματική κατάταξη του <i>Drosophila suzukii</i>	- 11 -
1.3. Εύρος ξενιστών και οικονομική ζημία.....	- 12 -
1.4. Μορφολογικά χαρακτηριστικά του <i>Drosophila suzukii</i>	- 13 -
1.5. Βιολογικός κύκλος του <i>Drosophila suzukii</i>	- 18 -
1.6. Διαχείριση του <i>Drosophila suzukii</i>	- 20 -
1.6.1 Χαρακτηριστικά χειμερινού φαινότυπου του <i>Drosophila suzukii</i>	- 22 -
1.6.3 Αναπαραγωγική διάπαυση θηλυκών χειμερινού φαινότυπου.....	- 23 -
1.7. Αντιμετώπιση του <i>Drosophila suzukii</i>	- 24 -
1.8. Σκοπός.....	- 26 -
Υλικά και Μέθοδοι.....	- 28 -
2.1. Συνθήκες Εργαστηρίου.....	- 28 -
2.2. Μέθοδος εκτροφής και έντομα που χρησιμοποιήθηκαν.....	- 29 -
2.4. Μέθοδος παραγωγής χειμερινού φαινότυπου του εντόμου.....	- 32 -
2.5. Πειραματική διαδικασία και καταγραφή θνησιμότητας.....	- 32 -
2.6. Στατιστική ανάλυση.....	- 34 -
Αποτελέσματα & Συζήτηση.....	- 35 -
Βιβλιογραφία.....	- 46 -

Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 1. Μοντέλο πρόβλεψης (% Πιθανότητας) της παγκόσμιας γεωγραφικής εξάπλωσης και εγκατάστασης πληθυσμών του *Drosophila Suzukii*. Οι περιοχές σε κύκλο αφορούν τα σημεία εμφάνισης του εντόμου πριν την πρώτη καταγραφή στη Βραζιλία .(Marcelo Lopes-da-Silva & Norton Polo Benito .(2016) Potential spread and economic impact of invasive *Drosophila suzukii* in Brazil).

Εικόνα 2. Αυγά *Drosophila suzukii* [Bulletin OEPP/EPPO Bulletin (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*].

Εικόνα 3. Τρίτο στάδιο προνύμφης [Bulletin OEPP/EPPO Bulletin (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*] Προνύμφη *Drosophila suzukii*.

Εικόνα 4. Νύμφη *Drosophila suzukii* [Bulletin OEPP/EPPO Bulletin (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*].

Εικόνα 5. Το αναπτυγμένο ενήλικο αρσενικό *Drosophila suzukii* (<https://fruitflyidentification.org.au/species/drosophila-suzukii/>)(courtesy of Mark Blacknet).

Εικόνα 6. Δεξί φτερό αρσενικού εντόμου *Drosophila suzukii* [Bulletin OEPP/EPPO Bulletin (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*].

Εικόνα 7. Χτένια σύζευξης αρσενικών εντόμων *D.suzukii* [Bulletin OEPP/EPPO Bulletin (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*].

Εικόνα 8. Το αναπτυγμένο ενήλικο θηλυκό *Drosophila suzukii* (<https://fruitflyidentification.org.au/species/drosophila-suzukii/>)(courtesy of Mark Blacknet).

Εικόνα 9. Πριονωτός ωοθέτης θηλυκού *Drosophila suzukii* (<https://fruitflyidentification.org.au/species/drosophila-suzukii/>)(courtesy of Mark Blacknet).

Εικόνα 10. Γραφική αναπαράσταση του βιολογικού κύκλου του *Drosophila suzukii*.

Εικόνα 11. Μορφολογικές διαφορές των δύο φαινοτύπων του *Drosophila suzukii* (Shearer et al. 2016).

Εικόνα 12. Εντομοδωμάτιο του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ.

Εικόνα 13. Οι περιοχές συλλογής των πληθυσμών του *D. suzukii* που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα (Google Earth).

Εικόνα 14. Εγκατάσταση εκτροφής του *Drosophila suzukii* από προσβεβλημένα κεράσια.

Εικόνα 15. Εργαστηριακή εκτροφή *Drosophila suzukii* σε γυάλινα φιαλίδια. Διακρίνεται η τεχνητή τροφή και τα ενήλικα άτομα.

Εικόνα 16. Διαδικασία προετοιμασίας τεχνητής τροφής.

Εικόνα 17. Ατομικά κλουβιά διατήρησης ενηλίκων.

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Συστηματική κατάταξη της κηλιδόπτερης *Drosophila suzukii*.

Πίνακας 2. Μεταχειρίσεις ενηλίκων *Drosophila suzukii* για τις οποίες εκτιμήθηκε η διάρκεια ζωής.

Πίνακας 3. Μέση διάρκεια ζωής και στατιστικά εκατοστημόρια (Percentiles) αρσενικών και θηλυκών, θερινού και χειμερινού φαινότυπου, πληθυσμών της κηλιδόπτερης δροσόφιλας που συλλέχθηκαν στα Λεχώνια Μαγνησίας και στην Αγία Φωτεινή Πέλλας. Τα ενήλικα εκτέθηκαν στους 25°C ή στους 15°C σε συνθήκες εργαστηρίου.

Κατάλογος Διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1: Διάρκεια ζωής συνολικά των ενηλίκων (Α) και αρσενικών και θηλυκών (Β) θερινού και χειμερινού φαινότυπου της κηλιδόπτερης δροσόφιλας που προέρχονταν από τα Λεχώνια (αριστερά) και την Αγ. Φωτεινή (δεξιά) και εκτέθηκαν στους 15°C (επάνω) και στους 25°C (κάτω).

Διάγραμμα 2: Διάρκεια ζωής των ενηλίκων θερινού και χειμερινού φαινότυπου του *D. suzukii* που προέρχονταν από τα Λεχώνια (αριστερά) και την Αγ. Φωτεινή (δεξιά).

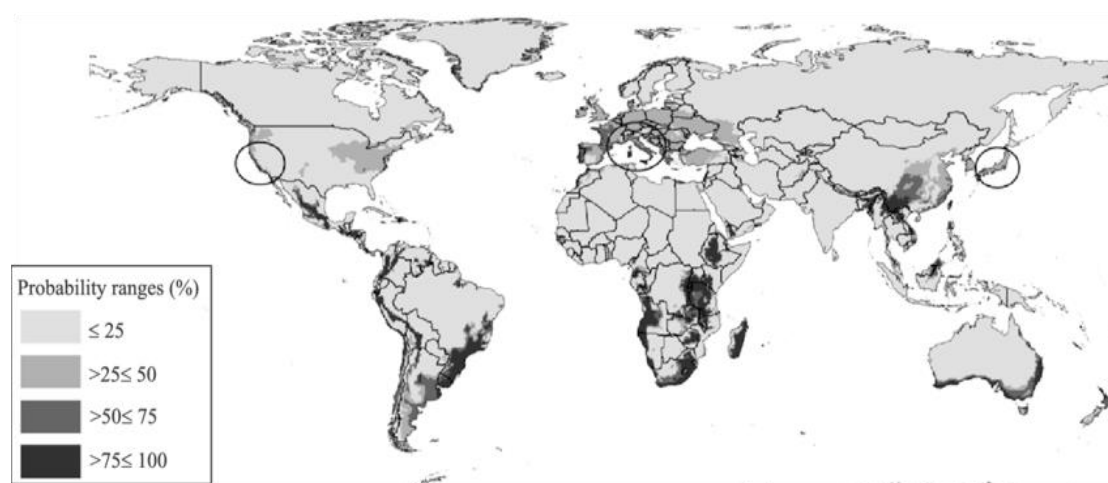
Διάγραμμα 3: Διάρκεια ζωής ενηλίκων του *Drosophila suzukii* που προέρχονταν από τα Λεχώνια (αριστερά) και την Αγ. Φωτεινή (δεξιά) τα οποία διατηρούνταν στους 15°C και στους 25°C.

Διάγραμμα 4 Διάρκεια ζωής ενηλίκων του θερινού (αριστερά) και του χειμερινού (δεξιά) φαινότυπου του *Drosophila suzukii* που διατηρούνταν στους 15°C και στους 25°C.

Εισαγωγή

1.1. Καταγωγή και γεωγραφική εξάπλωση

Το *Drosophila suzukii* (Matsumura), γνωστό και ως κηλιδόπτερη δροσόφιλα κατατάσσεται στην οικογένεια Drosophilidae και στην τάξη των Διπτέρων. Εξαιτίας του μεγάλου εύρους ξενιστών και της ικανότητας διασποράς του, σήμερα το *D. suzukii* θεωρείται είδος εισβολέας και ένας από τους σημαντικότερους εντομολογικούς εχθρούς των μαλακόσαρκων φρούτων σε παγκόσμιο επίπεδο (Walsh et al. 2011). Προέρχεται από τη νοτιοανατολική Ασία και τα τελευταία δεκαπέντε έτη εισέβαλε και εγκαταστάθηκε σε άλλες ασιατικές περιοχές, την Ευρώπη (2009) και την Αμερική (2008) (Asplen et al. 2015) (Εικόνα 1). Η εξάπλωση του εντόμου οφείλεται κυρίως στο παγκόσμιο εμπόριο φρούτων, τις παραπλήσιες κλιματικές συνθήκες των περιοχών άφιξης με τις περιοχές προέλευσης του είδους, την απουσία φυσικών εχθρών και στην αρχική έλλειψη ελέγχου για την διάδοση οποιουδήποτε είδους *Drosophila sp.* (Haye et al. 2016).



Εικόνα 1. Μοντέλο πρόβλεψης (ποσοστά πιθανοτήτων) της παγκόσμιας γεωγραφικής εξάπλωσης και εγκατάστασης πληθυσμών του *Drosophila suzukii*. Οι περιοχές σε κύκλο αφορούν τα σημεία εμφάνισης του εντόμου πριν την πρώτη καταγραφή στη Βραζιλία (Benito et al. 2016).

Στην Ελλάδα το έντομο καταγράφηκε πρώτη φορά το 2013 σε καλλιέργειες βατόμουρων και σμέουρων των Ιωαννίνων (Παπαχρήστος, 2013). Έπειτα, το 2014 το *D. suzukii* καταγράφηκε σε 18 από τις 28 Περιφερειακές Ενότητες της χώρας που ελέγχθηκαν μέσω του εθνικού προγράμματος επισκοπήσεων (Παπαχρήστος, 2016), σε ποικίλες καλλιέργειες όπως πυρηνόκαρπα, φράουλες, μούρα και σύκα. Πλέον, είναι σχεδόν βέβαιο ότι το έντομο έχει εγκατασταθεί σε όλη την Ελλάδα.

1.2. Συστηματική κατάταξη του *Drosophila suzukii*

Το γένος *Drosophila* περιλαμβάνει σχεδόν 1500 είδη εντόμων που έχουν μελετηθεί, τα περισσότερα εκ των οποίων ανήκουν σε δύο υπογένη: *Drosophila* και *Sophophora*. Η κηλιδόπτερη δροσόφιλα ανήκει στο είδος *D. suzukii* του γένους *Drosophila* και του υπογένους *Sophophora* (Diptera: Drosophilidae). Το είδος *D. suzukii* δεν θεωρείται μονοφυλετικό. Πρόσφατες μοριακές φυλογενετικές αναλύσεις υποδηλώνουν συγγενική σχέση μεταξύ *D. suzukii* και *D. biarmipes* (Yang et al. 2011). Στον παρακάτω πίνακα (Πίνακας 1) παρουσιάζεται η συστηματική κατάταξη της κηλιδόπτερης δροσόφιλας.

Πίνακας 1. Συστηματική κατάταξη της κηλιδόπτερης δροσόφιλας.

Kingdom	Animalia
Phylum	Arthropoda
Class	Insecta
Order	Diptera
Family	Drosophilidae
Genus	<i>Drosophila</i>
Subgenus	<i>Sophophora</i>
Species	<i>Drosophila suzukii</i>

1.3. Εύρος ξενιστών και οικονομική ζημία

Το *D. suzukii* έχει ευρύ φάσμα ξενιστών και προσβάλλει τόσο καλλιεργούμενους όσο και αυτοφυείς ξενιστές, με περισσότερα από 30 φυτικά είδη να έχουν αναφερθεί ως πιθανοί ξενιστές του (Cini et al. 2012). Αποτελεί σοβαρό εχθρό αρκετών καλλιεργειών κυρίως μικρών και μαλακόσαρκων φρούτων όπως είναι τα βατόμουρα, τα σμέουρα, οι φράουλες, τα μύρτιλα, καθώς και τα κεράσια (Walsh et al. 2011). Καλλιέργειες στις οποίες έχουν αναφερθεί σημαντικές οικονομικές ζημιές είναι: *Fragaria ananassa* (φράουλες), *P. armeniaca* (βερίκοκα), *Prunus avium* (κεράσια), *P. persica* (ροδάκινα), *Rubus armeniacus* (βατόμουρα Ιμαλαΐων), *R. loganobaccus*, *R. idaeus* (σμέουρα), *R. laciniatus* (μαύρα βατόμουρα), και άλλα βατόμουρα (*Rubus spp.*), *Vaccinium spp.* (μύρτιλλα). Επίσης έχουν αναφερθεί ζημιές από την κηλιδόπτερη δροσόφιλα τόσο σε επιτραπέζια όσο και σε οινοποιήσιμα σταφύλια. Το ευρύ φάσμα καλλιεργούμενων και αυτοφυών ξενιστών, με διαφορετικούς χρόνους ωρίμανσης, δυσχεραίνει τη διαχείριση του εντόμου, εξαιτίας της διαθεσιμότητας επιδεκτικών καρπών για προσβολή καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Οι καλλιεργούμενοι ξενιστές επιτρέπουν ταχεία και εντυπωσιακή αύξηση του πληθυσμού, ενώ οι αυτοφυείς ξενιστές και τα καλλωπιστικά φυτά αποτελούν καταφύγια, θέσεις διαχείμασης και πηγές επανεμφάνισης/ έξαρσης πληθυσμών του εντόμου (Cini et al., 2012).

Τα επίπεδα προσβολής και οι απώλειες στην παραγωγή είναι ιδιαίτερα έντονες στις όψιμες καλλιέργειες όταν οι πληθυσμοί του εντόμου αυξάνονται σημαντικά. Επίσης, φαίνεται ότι το *D. suzukii* επιλέγει για προσβολή και αναπτύσσεται αποτελεσματικότερα σε ώριμους καρπούς ή/και σε καρπούς με μαλακή επιδερμίδα. Η επιδεκτικότητα των καρπών στην προσβολή από το *D. suzukii* αυξάνει κατά την αλλαγή χρώματος, το οποίο συμπίπτει με τη μείωση της σκληρότητας της επιδερμίδας και τα υψηλότερα επίπεδα σακχάρων στη σάρκα (Burrack et al., 2013). Έτσι, τα επίπεδα προσβολής εμφανίζουν διαφορές μεταξύ των ξενιστών και μεταξύ των ποικιλιών ενός ξενιστή (Lee et al., 2011), ενώ εργαστηριακές παρατηρήσεις έδειξαν ότι η σκληρότητα του καρπού μπορεί να είναι ένας βασικός παράγοντας επιλογής ξενιστή (Burrack et al., 2013). Η δυνατότητα διείσδυσης του ωοθέτη στον καρπό αποτελεί ένδειξη ευαισθησίας του ξενιστή, αλλά η προσέλευση του εντόμου πιθανόν να εξαρτάται από πρόσθετους παράγοντες, όπως η

περιεκτικότητα του καρπού σε διαλυτά σάκχαρα (Burrack et al. 2013). Όταν δεν είναι διαθέσιμοι προτιμώμενοι ξενιστές ή όταν αυτοί δε βρίσκονται στο κατάλληλο στάδιο ωρίμανσης, το *D. suzukii* προσβάλλει καρπούς που είναι ήδη προσβεβλημένοι από άλλα έντομα ή παθογόνα, ή έχουν γενικά υποστεί αλλοιώσεις στην επιδερμίδα (Kanzawa 1935, Lee et al. 2011).

Οι οικονομικές απώλειες στις καλλιέργειες εξαιτίας της κηλιδόπτερης δροσόφιλας οφείλονται στη μειωμένη απόδοση, στο αυξημένο κόστος διαχείρισης με εντομοκτόνα (Goodhue et al. 2011) και στην πιθανή απόρριψη των εξαγόμενων φρούτων όταν οι καρποί υπερβαίνουν τα ανώτατα επιτρεπτά όρια υπολειμμάτων εντομοκτόνων (Haviland και Beers 2012). Ο αντίκτυπος του *D. suzukii* στην παραγωγή φρούτων είναι τεράστιος, και επηρεάζεται από τον υψηλό αριθμό γενεών (3-13) του εντόμου, την υψηλή γονιμότητα των θηλυκών και από τις πιθανές δευτερογενείς βλάβες που προκαλούνται από άλλα έντομα, μύκητες και βακτήρια (Goodhue et al. 2011, Walsh et al. 2011). Επίσης, η ικανότητα επιβίωσης και αναπαραγωγής του *D. suzukii* σε ευρύ φάσμα κλιματολογικών συνθηκών είναι άλλος ένας σημαντικός παράγοντας που επιδεινώνει την κατάσταση. Με απώλειες απόδοσης που κυμαίνονται από 30-40 έως 100% ανάλογα με την καλλιέργεια και την έκταση, οι οικονομικές απώλειες της παραγωγής φρούτων εκτιμάται ότι κοστίζουν περισσότερα από 500 εκατομμύρια δολάρια κάθε χρόνο μόνο στις ΗΠΑ (Bolda et al. 2010). Μια σχετικά πρόσφατη οικονομική μελέτη εκτιμά ότι μόνο στην επαρχία Τρέντο της Ιταλίας, περιοχές παραγωγής μαλακών φρούτων, έκτασης 400 εκταρίων, αντιμετώπισαν απώλειες περίπου 500.000 ευρώ το 2010 και 3 εκατομμύρια ευρώ το 2011 (De Ros et al. 2013). Αντίστοιχα, σε περιοχές των Η.Π.Α. οι οικονομικές επιπτώσεις λόγω εφαρμογής επιπλέον φυτοπροστατευτικών μέτρων για την αντιμετώπιση του εντόμου υπολογίζονται σε 129 με 172 εκ. δολάρια ετησίως (Bolda et al. 2010).

1.4. Μορφολογικά χαρακτηριστικά του *Drosophila suzukii*

Τα αυγά του *D. suzukii* είναι ωοειδή, γυαλιστερά και ημιδιαφανή, λευκού χρώματος με μήκος 0,2 mm (Εικόνα 2). Κάθε αυγό φέρει δύο αναπνευστικά νημάτια τα οποία εξέρχονται από την επιδερμίδα του καρπού και είναι ορατά στην επιφάνειά

του με τη βοήθεια στερεοσκοπίου (Kanzawa 1939, Walsh et al. 2011). Οι προνύμφες είναι λευκές, κυλινδρικές, με σκουρόχρωμα στοματικά μόρια και με ορατά εσωτερικά όργανα. Έχουν δύο ζεύγη σιφωνίων, το πρόσθιο και το οπίσθιο ζεύγος, που φέρουν αναπνευστικά στίγματα, ορατά σε προνύμφες τρίτου σταδίου (Εικόνα 3) (Walsh et al. 2011, Kim et al. 2017). Το *D. suzukii* έχει τρία προνυμφικά στάδια και οι πλήρως αναπτυγμένες προνύμφες τρίτου σταδίου μπορούν να φτάσουν σε μήκος έως 5,5 mm και πλάτος έως 0,8 mm (Van Timmeren et al. 2017). Η διατροφή και η ανάπτυξη των προνυμφών ολοκληρώνεται στο εσωτερικό του καρπού με αποτέλεσμα την υποβάθμιση της ποιότητάς του τόσο λόγω της διατροφικής δραστηριότητας και των προϊόντων μεταβολισμού των προνυμφών αλλά και εξαιτίας της εμφάνισης δευτερογενών προσβολών από άλλα παθογόνα. Οι νύμφες έχουν ατρακτοειδές σχήμα, κοκκινωπό/καφέ χρώμα και φέρουν πρόσθια δύο στελέχη με μικρές δακτυλιοειδής προεξοχές μήκους 3,5 mm και πλάτους 1,2 mm (Kanzawa 1935) (Εικόνα 4). Η νύμφωση πραγματοποιείται τόσο εντός όσο και εκτός των καρπών του ξενιστή, αν και η νύμφωση στο εσωτερικό των καρπών είναι περισσότερο συνήθης (Walsh et al. 2011).



Εικόνα 2. Αυγά *Drosophila suzukii* [Bulletin OEPP/EPPO (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*]



Εικόνα 3. Προνύμφη τρίτου σταδίου *Drosophilla suzukii* [Bulletin OEPP/EPPO (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*]



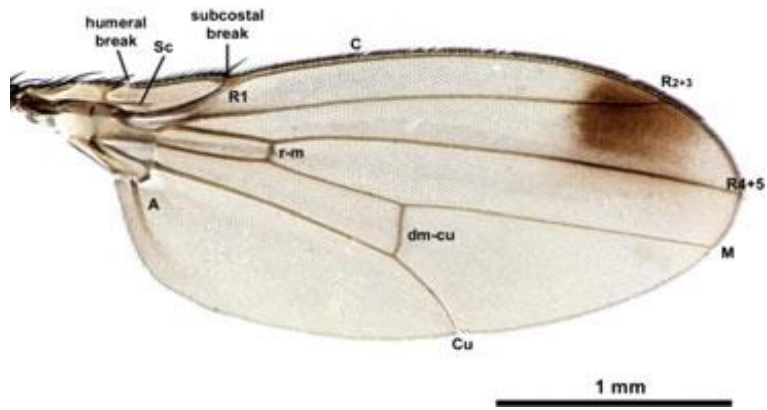
Εικόνα 4. Νύμφες *Drosophilla suzukii* [Bulletin OEPP/EPPO (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*]

Τα ενήλικα του *D. suzukii* είναι μικρά δίπτερα με μήκος περίπου 2,25-4,0 mm και άνοιγμα πτερύγων 6-8 mm. Τα αρσενικά είναι συνήθως μικρότερα (2,0-3,5 mm) από τα θηλυκά (2,5-4,0 mm) (Vlach 2010). Διαθέτουν κόκκινα μάτια, ανοιχτό καφέ έως κιτρινωπό θώρακα και μαύρες εγκάρσιες λωρίδες στην κοιλία. Οι κεραίες είναι

κοντές και παχιές με διακλαδισμένα arista. Το *D. suzukii* εκδηλώνει σεξουαλικό διμορφισμό. Τα αρσενικά έχουν μια μαύρη διακριτική κηλίδα στην εξωτερική πλευρά κάθε πτέρυγας (Εικόνα 5, 6), καθώς και δύο σειρές από σκουρόχρωμα χτένια στον ταρσό του πρόσθιου ζεύγους ποδιών (Εικόνα 7), τα οποία χρησιμοποιούνται για την αγκίστρωση και συγκράτηση του θηλυκού κατά τη διάρκεια της σύζευξης. Τα θηλυκά υπολείπονται των παραπάνω χαρακτηριστικών. Διαθέτουν πριονωτό ωοθέτη με τον οποίο διατρύπουν την επιδερμίδα του καρπού-ξενιστή, δημιουργούν οπή ωοτοκίας σε ημιώριμους και ώριμους καρπούς και αποθέτουν τα αυγά τους (Εικόνα 8, 9).



Εικόνα 5. Αρσενικό *Drosophila suzukii*. Διακρίνονται οι σκοτεινόχρωμες κηλίδες στις πτέρυγες (<https://fruitflyidentification.org.au/species/drosophila-suzukii/>).



Εικόνα 6. Δεξιά πτέρυγα αρσενικού *Drosophila suzukii*, όπου διακρίνεται η σκοτεινόχρωμη κηλίδα [Bulletin OEPP/EPPO (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*]



Εικόνα 7. Χτένια σύζευξης στον ταρσό του πρόσθιου ζεύγους ποδιών αρσενικών *Drosophila suzukii*. [Bulletin OEPP/EPPO (2013) PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*]



Εικόνα 8. Θηλυκό *Drosophila suzukii*
(<https://fruitflyidentification.org.au/species/drosophila-suzukii/>).



Εικόνα 9. Πριονωτός ωοθέτης θηλυκού *Drosophila suzukii* (<https://fruitflyidentification.org.au/species/drosophila-suzukii/>).

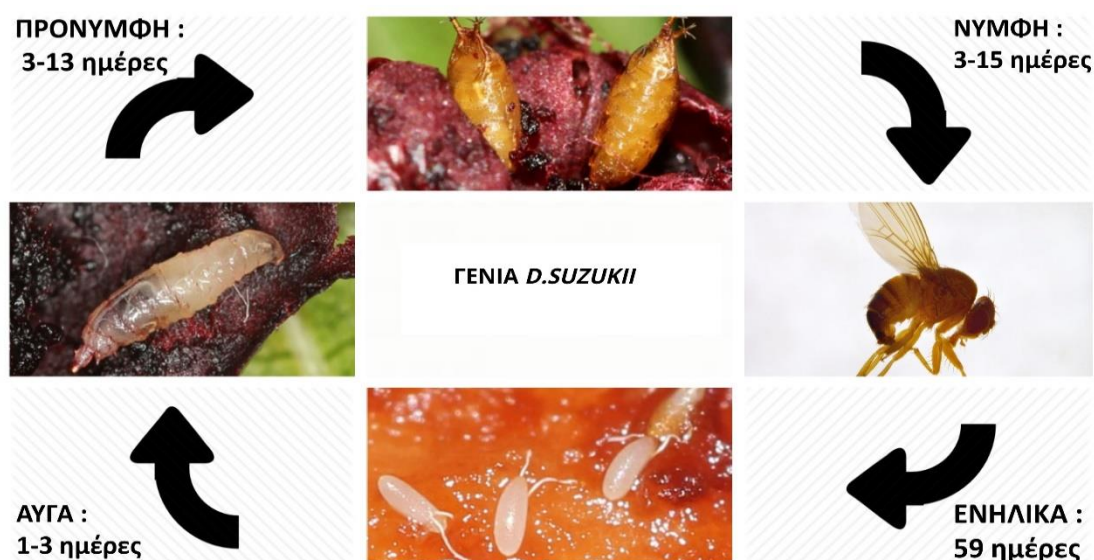
1.5. Βιολογικός κύκλος του *Drosophila suzukii*

Μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα, τα θηλυκά ωριμάζουν αναπαραγωγικά σε μία με τέσσερις ημέρες (μέση διάρκεια έως την αναπαραγωγική ωρίμανση: 2 ημέρες), συζευγνύονται και στη συνέχεια αναζητούν κατάλληλους ξενιστές για ωοτοκία (Lee et al. 2011). Η σύζευξη μπορεί να συμβεί οποιαδήποτε στιγμή της ημέρας, αλλά παρατηρείται συχνότερα όταν η θερμοκρασία είναι σχετικά υψηλή. Τα αρσενικά προσεγγίζουν και ερωτοτροπούν με τα θηλυκά ανεμίζοντας τις πτέρυγες ενώ παράλληλα χτυπούν τα πόδια τους στο υπόστρωμα (Kanzawa 1939). Η μέση διάρκεια σύζευξης είναι 26 λεπτά και μπορεί να διαρκέσει από 2 έως 85 λεπτά (Kanzawa 1939). Τα θηλυκά ξεκινούν να ωοτοκούν αμέσως μετά τη σύζευξη ενώ ενδέχεται να επανασυζευχθούν μετά από μερικές μέρες.

Τα αυγά αποτίθενται όταν η θερμοκρασία κυμαίνεται μεταξύ 10°C και 32°C με την βοήθεια του πριονωτού ωοθέτη σε ημιώριμους/ώριμους καρπούς και ο αριθμός τους κυμαίνεται από 1 έως 3, ανά ωοτοκία (Walsh et al. 2011). Η περίοδος ωοτοκίας διαρκεί από 10 έως 65 ημέρες και η ωοπαραγωγή μπορεί να φτάσει έως και 21 αυγά ανά ημέρα και από 219 έως 563 αυγά σε όλη τη διάρκεια της ζωής του

θηλυκού (Kanzawa 1939, Tochen et al., 2014). Τα αυγά εκκολάπτονται σε 1 με 3 μέρες και οι προνύμφες αναπτύσσονται μέσα σε 3 με 13 μέρες. Οι προνύμφες νυμφώνονται στο μεγαλύτερο ποσοστό τους εντός των καρπών, ενώ κάποιες εγκαταλείπουν τον καρπό και νυμφώνονται στο έδαφος. Η περίοδος παραμονής στο νυμφικό στάδιο διαρκεί από 4 έως 43 ημέρες και ο ελάχιστος, βέλτιστος και μέγιστος ενδογενής ρυθμός φυσικής αύξησης υπολογίστηκε στους 13,4°C, 21°C και 29,4°C αντίστοιχα (Tochen et al. 2014) (Εικόνα 10).

Η περίοδος ανάπτυξης των ανήλικων σταδίων από την εκκόλαψη αυγών έως την εμφάνιση ενηλίκων υπολογίστηκε περίπου στις 8 με 10 ημέρες στους 25°C, στις 12 με 15 ημέρες στους 18,3°C και στις 21 με 25 ημέρες στους 15°C, αντίστοιχα (Kanzawa 1939, Lee et al. 2011, Walsh et al. 2011). Το έντομο συμπληρώνει από 3 έως 13 γενεές ανά έτος ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες της περιοχής (Kanzawa 1939). Σύμφωνα με το μοντέλο συγκέντρωσης ημεροβαθμών που αναπτύχθηκε από τους Coor και συνεργάτες, (2010), εκτιμάται ότι το *D. suzukii* μπορεί να συμπληρώσει 3 έως 9 γενεές ετησίως στις δυτικές Ηνωμένες Πολιτείες, τον Καναδά και τη Βόρεια Ιταλία.



Εικόνα 10. Γραφική αναπαράσταση του βιολογικού κύκλου του *Drosophila suzukii*.

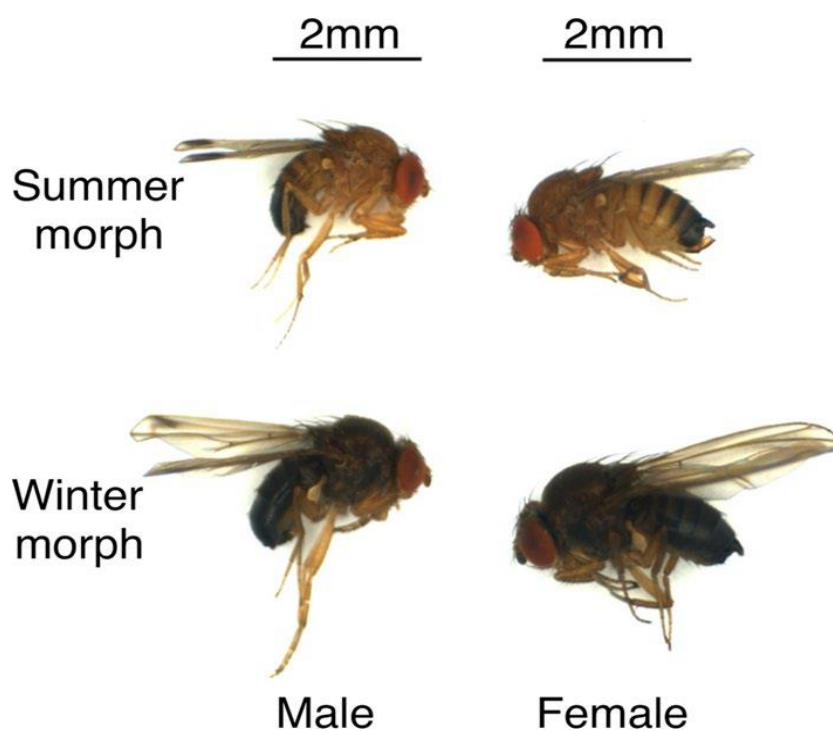
1.6. Διαχείμαση του *Drosophila suzukii*

Το *Drosophila suzukii* παρουσιάζει ευρεία γεωγραφική εξάπλωση και προκαλεί οικονομική ζημιά σε περιοχές που χαρακτηρίζονται από υποτροπικά έως και ηπειρωτικά κλίματα. Στην Ασία, από όπου προέρχεται, το *D. suzukii* απαντάται συνήθως σε μεγαλύτερα υψόμετρα και γεωγραφικά πλάτη σε σύγκριση με άλλα συγγενικά είδη της οικογένειας Drosophilidae. Παλιότερες μελέτες με αντικείμενο την αντοχή του εντόμου στο κρύο, προέβλεπαν ότι αυτό το είδος πιθανότατα δε θα κατάφερνε να επιβιώσει σε ηπειρωτικές περιοχές με παρατεταμένες περιόδους ψύχους, όπως αυτές του Καναδά, του Ανατολικού Όρεγκον, της Ουάσιγκτον, και του Μίτσιγκαν (Dalton et al. 2011). Παρά τις παραπάνω προβλέψεις, το *D. suzukii* έχει εισβάλει και εγκατασταθεί με επιτυχία στις περιοχές αυτές, επιβιώνοντας σε ένα ευρύ φάσμα περιβαλλοντικών συνθηκών που κυμαίνονται από τη Νότια Καλιφόρνια έως τη Βρετανική Κολούμπια του Καναδά (Jacobs et al. 2015). Προηγούμενες μελέτες σχετικά με τη φαινολογία διαφορετικών πληθυσμών και τη διαχείμαση του εντόμου έδειξαν ότι ο χειμώνας είναι η πιο κρίσιμη περίοδος για την επιβίωσή του και την ανάπτυξη του πληθυσμού την ερχόμενη άνοιξη (Shearer et al. 2016). Η γνώση των στρατηγικών και των μηχανισμών διαχείμασης του εντόμου είναι μείζονος σημασίας για την αξιολόγηση και την αντιμετώπιση κινδύνων για την επόμενη καλλιεργητική περίοδο.

Το *D. suzukii* διαχειμάζει ως ενήλικο σε προφυλαγμένες θέσεις όπως σε τεχνητά καταφύγια, κάτω από πεσμένα φύλλα ή ακόμα και μέσα στο χιόνι (Dalton et al. 2011, Kimura 1988, Harris et al. 2014). Τα διαχειμάζοντα άτομα είναι αδρανή και χαρακτηρίζονται από χαμηλούς μεταβολικούς ρυθμούς. Τα ενήλικα δραστηριοποιούνται την άνοιξη, αν και σε ορισμένες περιοχές μπορεί να είναι ενεργά και κατά τη διάρκεια των ζεστών χειμερινών ημερών. Το έντομο ευνοείται από συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας και μέσης θερμοκρασίας. Ωστόσο, οι χαμηλές θερμοκρασίες του χειμώνα δεν περιορίζουν την επιβίωσή του, γεγονός που αποδεικνύεται από την εγκατάστασή του σε περιοχές της Βόρειας Κίνας, των Άλπεων και στον Καναδά (Dalton et al. 2011, Shearer et al. 2016).

Τα ενήλικα του *D. suzukii* εμφανίζουν εποχική φαινοτυπική πλαστικότητα η οποία παρέχει εποχική σκληραγώγηση στο ψύχος (cold hardening) (Stephens et al. 2015, Shearer et al. 2016). Η εποχική φαινοτυπική πλαστικότητα, δηλαδή το φαινόμενο

κατά το οποίο ένας γενότυπος μπορεί να οδηγήσει σε διαφορετικούς φαινότυπους (Moczek 2010), εκδηλώνεται σταδιακά σε περιόδους εποχικής μεταβολής των περιβαλλοντικών συνθηκών και αποτελεί ουσιώδες χαρακτηριστικό της χειμερινής διάπαυσης. Το έντομο προσαρμόζει τα χαρακτηριστικά της φυσιολογίας και της μορφολογίας του ώστε να ανταπεξέλθει στις νέες συνθήκες και να επιβιώσει επιτυχώς. Κάποιες από τις προσαρμογές αυτές περιλαμβάνουν τη σύνθεση κρυσταλλικών ουσιών (μαλτόζη, τρεχαλόζη, προλίνη, πολυόλες: γλυκερόλη, σορβιτόλη ινοσιτόλη), τη μεταβολή της σύνθεσης φωσφολιπιδίων των μεμβρανών, τη ρύθμιση αντιψυκτικών πρωτεϊνών καθώς και φυσιολογικών παραγόντων δημιουργίας πυρήνων πάγου (Hahn και Denlinger 2011, Teets και Denlinger 2013). Τα ενήλικα του *D. sukikii* απαντώνται με τη μορφή δύο φαινότυπων: τον θερινό φαινότυπο (summer morph), ο οποίος επικρατεί σε περιόδους υψηλής θερμοκρασίας και μεγάλης φωτοπεριόδου (καλοκαίρι, φθινόπωρο) και δεν εμφανίζει σκληραγωγή στο ψύχος, και τον χειμερινό φαινότυπο (winter morph), ο οποίος επικρατεί σε περιόδους χαμηλών θερμοκρασιών και μικρής φωτοπεριόδου (χειμώνας, άνοιξη) και είναι ο φαινότυπος με τον οποίο το έντομο διαχειμάζει σε εύκρατα και ηπειρωτικά κλίματα (Εικόνα 11).



Εικόνα 11. Μορφολογικές διαφορές αρσενικών και θηλυκών των δύο φαινοτύπων του *Drosophila suzukii* (Shearer et al. 2016)

1.6.1 Χαρακτηριστικά χειμερινού φαινότυπου του *Drosophila suzukii*

Τα διαχειμάζοντα ενήλικα του *D. suzukii* εμφανίζονται με τη μορφή του χειμερινού φαινότυπου, φέρουν μεγαλύτερες πτέρυγες, έχουν σκουρότερο χρώμα, και τα θηλυκά βρίσκονται σε αναπαραγωγική διάπαυση (Hamby et al. 2016). Ο χειμερινός φαινότυπος χαρακτηρίζεται από μειωμένο μεταβολικό ρυθμό και από μεγαλύτερη ικανότητα συσσώρευσης θρεπτικών συστατικών κατά το προνυμφικό στάδιο. Συνεπώς ο χειμερινός φαινότυπος είναι περισσότερο ανθεκτικός στο ψύχος, αφού προηγούμενες έρευνες αναφέρουν ότι διαχειμάζοντα ενήλικα επιβιώνουν για αρκετούς μήνες σε θερμοκρασίες 1°C (Shearer et al. 2016).

Η μελάνωση του εξωσκελετού στον χειμερινό φαινότυπο φαίνεται ότι εμπλέκεται στη διαδικασία θερμορύθμισης του εντόμου σε κρύα περιβάλλοντα, μέσω της αυξημένης απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας που συμβάλλει στην αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος (Harris et al. 2013). Ακόμα, ο σκουρόχρωμος εξωσκελετός του χειμερινού φαινότυπου σε άλλα *Drosophilidae* έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ανοσίας και αντοχή σε συνθήκες μειωμένης υγρασίας (Kutch et al. 2014). Ενδιαφέρον στοιχείο αποτελεί το γεγονός ότι διαφορετικοί συνδυασμοί φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας έκθεσης του προνυμφικού σταδίου του εντόμου επηρεάζουν τα επίπεδα μελάνωσης του εξωσκελετού στο ενήλικο. Συγκεκριμένα, έκθεση σε σύντομης διάρκειας φωτόφαση, δηλαδή έκθεση σε συνθήκες «χειμερινής» φωτοπεριόδου, με παράλληλη διατήρηση της θερμοκρασίας σταθερά στους 20°C, προκάλεσε την έξοδο ενηλίκων χειμερινού φαινότυπου με μειωμένα επίπεδα μελάνωσης (Bastide 2014). Επίσης, υπάρχει μια αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ της θερμοκρασίας περιβάλλοντος και του βαθμού μελάνωσης του εντόμου. Προνύμφες που εκτράφηκαν σε θερμοκρασία 10°C σε συνθήκες «χειμερινής» φωτοπεριόδου, έδωσαν εμφανώς πιο σκουρόχρωμα ενήλικα σε σχέση με αυτές που εκτράφηκαν στους 20°C στις ίδιες συνθήκες φωτοπεριόδου. Αύξηση της μελάνωσης με έκθεση σε χαμηλές θερμοκρασίες ενδέχεται να αυξάνει την απορρόφηση UV ακτινοβολίας, αυξάνοντας έτσι τη θερμοκρασία του σώματος του εντόμου (Shearer et al. 2016).

Επιπρόσθετα με τη μελάνωση του εξωσκελετού, τα ενήλικα του χειμερινού φαινότυπου είναι μεγαλύτερα σε μέγεθος και φέρουν μεγαλύτερες πτέρυγες σε σχέση με αυτά του θερινού φαινότυπου. Το μέγεθος του σώματος και των πτερύγων

των ενηλίκων της οικογένειας *Drosophilidae* επηρεάζονται από τη θερμοκρασία ανάπτυξης και τη διατροφή των προνυμφών, καθώς και από τις συνθήκες συνωστισμού (πυκνότητα προνυμφών σε υπόστρωμα τεχνητής εκτροφής) (Shingleton et al. 2009). Έκθεση των προνυμφών σε χαμηλές θερμοκρασίες (10 – 15°C) προκαλούν την εμφάνιση ενηλίκων μεγαλύτερου μεγέθους (Shearer et al. 2016). Αν και η επίδραση της θερμοκρασίας στο μέγεθος σώματος του εντόμου δεν έχει αποσαφηνιστεί πλήρως, φαίνεται ότι η αύξηση του μεγέθους του σώματος συμβάλλει στην αποτελεσματικότερη θερμορύθμιση του οργανισμού, μεταβάλλει την φυσιολογία των μεμβρανών και παρέχει τη δυνατότητα αυξημένης αποθήκευσης σακχάρων και λιπών σε ψυχρότερα περιβάλλοντα (Ghosh et al. 2013). Τα επίπεδα μελάνωσης, το μεγαλύτερο μέγεθος του σώματος και των πτερυγών σε άτομα χειμερινού φαινότυπου, καθώς και ο λόγος του μήκους της πτέρυγας προς τον ταρσό του οπίσθιου ζεύγους ποδιών φαίνεται ότι οδηγούν σε ασφαλή συμπεράσματα για το διαχωρισμό ενηλίκων σε άτομα χειμερινού και θερινού φαινοτύπου (Tran et al. 2020).

1.6.3 Αναπαραγωγική διάπαυση θηλυκών χειμερινού φαινότυπου

Η αναπαραγωγική διάπαυση είναι μια στρατηγική διαχείμασης που χαρακτηρίζει πολλά είδη ηπειρωτικών εντόμων, συμπεριλαμβανομένου του *D. suzukii*. Επιτρέπει στα θηλυκά να διακόψουν προσωρινά την αναπαραγωγική διαδικασία, ώστε να εξοικονομήσουν ενεργειακούς πόρους και να επιβιώσουν για αρκετούς μήνες κατά τη διάρκεια αντίξων συνθηκών (Hahn και Denlinger 2011, Salminen και Hoikkala 2013). Η ωοτοκία ξεκινά και πάλι όταν η μέση ημερήσια θερμοκρασία και η φωτοπερίοδος αυξηθούν σταδιακά και οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι περισσότερο φιλικές. Σε θερμές-εύκρατες περιοχές, η φωτοπερίοδος και η θερμοκρασία είναι οι δύο βασικοί καθοριστικοί παράγοντες που προκαλούν αναπαραγωγική διάπαυση. Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν από τον Yifan Zhai (2016) μελετήθηκαν τα στάδια ανάπτυξης των ωοθηκών θηλυκών *D. suzukii* σε διαφορετικές συνθήκες φωτοπεριόδου και θερμοκρασίας και παρατηρήθηκε μεγάλη παραλλακτικότητα στην ανάπτυξη των ωοθηκών στις διαφορετικές συνθήκες. Σε χαμηλές θερμοκρασίες (10 ± 1°C) και σύντομη φωτόφαση (8L:16D) όλα τα θηλυκά

είχαν ανώριμες, μη ανεπτυγμένες ωοθήκες και κανένα σημάδι ωοτοκίας. Αντίθετα σε συνθήκες μακράς φωτόφασης (16L:8D) οι ωοθήκες αναπτύχθηκαν πιο γρήγορα, τα θηλυκά είχαν αναπτυσσόμενες ή πλήρως ανεπτυγμένες ωοθήκες και ποσοστό ωοτοκίας που έφτανε το 100% σε θερμοκρασίες πάνω από $10 \pm 1^\circ\text{C}$. Ομοίως, σε εργαστηριακές συνθήκες φωτοπεριόδου 12L:12D και θερμοκρασίας 10°C , καθώς και σε συλλήψεις σε παγίδες τον Δεκέμβριο στο Όρεγκον και στη Νέα Υόρκη δε βρέθηκαν αναπαραγωγικά ώριμα θηλυκά *D. suzukii* (Wallingford και Loeb 2016). Οι συνθήκες στις οποίες προκλήθηκε αναπαραγωγική διάπαυση στο *D. suzukii*, στα παραπάνω πειράματα, συμπίπτουν με τις κλιματολογικές συνθήκες στα τέλη του φθινοπώρου και στις αρχές του χειμώνα εύκρατων περιοχών (Mitsui et al. 2010). Επίσης, τα αποτελέσματα αυτά συμβαδίζουν με άλλες έρευνες σχετικά με την αναπαραγωγική διάπαυση σε άλλα είδη *Drosophila* (Zhai et al. 2016).

1.7. Αντιμετώπιση του *Drosophila suzukii*

Το *D.suzukii* θεωρείται ένας από τους σημαντικότερους εντομολογικούς εχθρούς των μαλακόσαρκων φρούτων σε παγκόσμιο επίπεδο με τεράστια οικονομική σημασία. Επίσης, αποτελεί έντομο καραντίνας σε περιοχές όπου δεν έχει ακόμα εγκατασταθεί. Εξαιτίας της μεγάλης ικανότητας γεωγραφικής εξάπλωσης (έντομο εισβολέας) και των τεράστιων οικονομικών ζημιών που προκαλεί, είναι απαραίτητη η ύπαρξη ενός ολοκληρωμένου συστήματος έγκαιρης προειδοποίησης, παρακολούθησης των πληθυσμών και αποτελεσματικής καταπολέμησής του.

Λόγω της υψηλής αναπαραγωγικής ικανότητάς του και των δυνατοτήτων διασποράς αυτού του εντόμου, τα συστήματα έγκαιρης προειδοποίησης θεωρούνται ζωτικής σημασίας για τις περιοχές που σήμερα δεν υπάρχει το *D. suzukii*. Μέχρι τη στιγμή εντοπισμού του *D. suzukii* τόσο στην Ευρώπη όσο και στις ΗΠΑ, ο βαθμός εγκατάστασης και εξάπλωσής ήταν τόσο μεγάλος που κρίθηκε αδύνατη η εκρίζωση των πληθυσμών και στις δύο ηπείρους (EPPO 2013). Το σύστημα παρακολούθησης του εντόμου με στόχο την έγκαιρη προειδοποίηση περιλαμβάνει τη χρήση τροφικών/δολωματικών παγίδων (Burrack et al. 2012, Papanastasiou et al. 2020). Οι παγίδες συνήθως φέρουν προσελκυστικό που αποτελείται από μίγμα μηλόξυδου ή μηλίτη (ACV) και έχουν χρησιμοποιηθεί εκτενώς για την εκτίμηση του κινδύνου σε πολλές

περιοχές. Ωστόσο, η παρακολούθηση πληθυσμών του εντόμου με συστήματα παγίδευσης δεν αποτελεί πάντα αξιόπιστη μέθοδο καθώς ενδέχεται να είναι λιγότερο ελκυστικές από τους φυσικούς ώριμους ξενιστές. Αυτό το πρόβλημα μπορεί να μειωθεί με την προσθήκη κρασιού και ζάχαρης στο ACV (Grassi και Maistri 2013). Στα μέτρα έκτακτης ανάγκης για την αποτροπή της εισαγωγής του *D. suzukii* μέσω του διεθνούς εμπορίου καρπών ξενιστών σε χώρες όπου δεν έχει εγκατασταθεί, περιλαμβάνονται ο υποκαπνισμός των φορτίων με διοξείδιο του άνθρακα ή διοξείδιο του θείου. Η παραπάνω εφαρμογή προκαλεί 100% θνησιμότητα των ανήλικων σταδίων του εντόμου και επαληθεύεται με επιθεώρηση των καρπών (DAFF 2013).

Σημαντικό είναι πριν από την προσφυγή σε χημικούς τρόπους καταπολέμησης η εφαρμογή όλων των δυνατών καλλιεργητικών τεχνικών που περιλαμβάνουν την απομάκρυνση και την καταστροφή προσβεβλημένων καρπών και καρπών σε αποσύνθεση που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν από το έντομο ως ξενιστές. Η φυσική προστασία των καλλιεργειών με χρήση δίχτυων κατά των εντόμων πριν την έναρξη της ωρίμανσης των καρπών, βρίσκεται υπό πειραματική αξιολόγηση και φαίνεται να είναι μια πολλά υποσχόμενη εναλλακτική στρατηγική ελέγχου για χρήση στο εγγύς μέλλον (Ioriatti et al. 2012). Το δίχτυ με μέγεθος οπών 1 x 1 mm και 1 x 1,6 mm εφαρμόστηκε σε μύρτιλλα και παρείχε καλό επίπεδο προστασίας, αλλά οι Grassi και Pallaoro (2012) πρότειναν τη χρήση δίχτυων με μικρότερο μέγεθος οπών 1 x 1 mm για τη μεγιστοποίηση της προστασίας των φρούτων. Το δίχτυ πρέπει να είναι ασφαλισμένο στο έδαφος και δύο στρώσεις με δίχτυα πρέπει να εφαρμόζονται στην είσοδο της σήραγγας (Grassi και Maistri 2013).

Οι υφιστάμενες προσπάθειες ελέγχου του *D. suzukii* βασίζονται σε μεγάλο βαθμό στη χρήση εντομοκτόνων. Το εύρος των εγκεκριμένων εντομοκτόνων για την καταπολέμηση του εντόμου περιλαμβάνει σπινοσύνες, οργανοφωσφορικά, πυρεθροειδή και νεονικοτινοειδή. Ωστόσο, ο σύντομος βιολογικός κύκλος του *D. suzukii* και ο μεγάλος αριθμός γενεών, απαιτεί αλληπάλληλες χημικές επεμβάσεις στο στάδιο της ωρίμανσης των καρπών, οι οποίες μπορούν να αυξήσουν τον κίνδυνο υπολειμμάτων στα φρούτα, να προκαλέσουν ανθεκτικότητα των εντόμων στα εντομοκτόνα και να επιφέρουν δυσμενείς επιπτώσεις σε οργανισμούς μη στόχους και στο περιβάλλον. Παρά το γεγονός ότι η έκθεση των εντόμων σε spinetoram, lambda-cyhalothrin και carbaryl μείωσε τον αριθμό των αυγών που αποτίθενται στα κεράσια

(Beers et al. 2011), η αποτελεσματικότητα των διαθέσιμων εντομοκτόνων έναντι των ανήλικων σταδίων του *D. suzukii* εντός των φρούτων είναι περιορισμένη και γι' αυτό ο έλεγχος του εντόμου επικεντρώνεται στην καταπολέμηση των ενηλίκων (Cini et al. 2012). Ιδιαίτερη έμφαση πρέπει να δίνεται σε διάσπαρτα οπωροφόρα δέντρα, εγκαταλελειμμένους οπωρώνες, αυτοφυή και καλλωπιστικά φυτά-ξενιστές σε ιδιωτικούς κήπους και σε κοντινά δάση, καθώς αποτελούν θέσεις αναπαραγωγής και διατήρησης πληθυσμών του εντόμου. Η διαχείριση της βλάστησης αυτής θα πρέπει περιλαμβάνεται στο πρόγραμμα διαχείρισης του εντόμου (Παπαναστασίου et al. 2020).

Η παραγωγή βιολογικών φρούτων απειλείται σοβαρά από το *D. suzukii*, καθώς επιτρέπεται η χρήση μόνο κάποιων φυσικών εντομοκτόνων για την καταπολέμηση του. Η αποτελεσματικότητα αυτών των εντομοκτόνων εναντίον του *D. suzukii* είναι χαμηλότερη από τα οργανοφωσφορικά και τα πυρεθροειδή. Οι πυρεθρίνες και το spinosad έχουν κάποιο βαθμό αποτελεσματικότητας και μπορούν να χρησιμοποιηθούν λίγες μέρες πριν από τη συγκομιδή, αλλά η υπολειμματική τους διάρκεια περιορίζεται σε λίγες ημέρες (Walsh et al. 2011, Grassi et al. 2011). Μύκητες, βακτήρια, ιοί καθώς και άλλοι φυσικοί εχθροί του εντόμου όπως αρπακτικά και παρασιτοειδή μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την καταπολέμηση του. Πρόσφατα, DNA ιοί απομονώθηκαν από είδη του γένους *Drosophila* και βρέθηκαν να συσχετίζονται με άλλους ιούς που χρησιμοποιούνται για τον έλεγχο παρασίτων (Unkless, 2011). Αυτά τα ευρήματα ανοίγουν τον δρόμο για την αξιολόγηση του ελέγχου του *D. suzukii* με εντομοπαθογόνους ιούς. Επίσης, διαρκείς έρευνες πραγματοποιούνται για τον έλεγχο της αποτελεσματικότητας πολλών παρασιτοειδών όπως το *Leptopilina heterotoma* και το *Leptopilina boulardi*. Τέλος, γίνονται έρευνες για τον εντοπισμό αποτελεσματικών ωφέλιμων αρπακτικών εντόμων καθώς και για την αποτελεσματικότητα του ενδοσυμβιωτικού βακτηρίου *Wolbachia* για την αντιμετώπιση του *D. suzukii*.

1.8. Σκοπός

Η φαινοτυπική πλαστικότητα συμβάλλει σημαντικά στην εγκατάσταση και επιτυχή επιβίωση εντόμων εισβολέων σε περιοχές με μεταβαλλόμενες συνθήκες.

Επίσης, η μελέτη των δημογραφικών χαρακτηριστικών εντομολογικών εχθρών σε διαφορετικές θερμοκρασιακές συνθήκες παρέχουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την επιβίωση και αναπαραγωγή τους σε διαφορετικά περιβάλλοντα. Δημογραφικά στοιχεία που παράγονται κατά την εκπόνηση εργαστηριακών πειραμάτων συμβάλλουν στην κατανόηση της δυναμικής των πληθυσμών σε συνθήκες υπαίθρου και της προσαρμογής εντόμων εισβολέων σε νέα ενδιαίτηματα. Παρά την εντατική μελέτη της διαχείμασης του *D. suzukii* σε διαφορετικές περιοχές του κόσμου όπου καλλιεργούνται ξενιστές του εντόμου, δεν υπάρχουν πληροφορίες σχετικά με τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των δύο φαινοτύπων ελληνικών πληθυσμών του εντόμου. Επίσης, παρά το γεγονός ότι ο χειμερινός φαινότυπος είναι περισσότερο ανθεκτικός σε δυσμενείς κλιματικές συνθήκες σε σχέση με τον θερινό φαινότυπο, δεν είναι γνωστό αν η επιβίωση των δύο φαινοτύπων ενηλίκων του εντόμου επηρεάζεται από τη θερμοκρασία έκθεσής τους, ούτε και αν υπάρχουν διαφορές στην επιβίωση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών. Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η διερεύνηση της επίδρασης δύο διαφορετικών θερμοκρασιών, σε ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες, στην επιβίωση του θερινού και του χειμερινού φαινότυπου δύο ελληνικών πληθυσμών του *D. suzukii*.

Υλικά και Μέθοδοι

2.1. Συνθήκες Εργαστηρίου

Τα πειράματα της παρούσας πτυχιακής διατριβής πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, από το Φεβρουάριο του 2019 μέχρι τον Μάιο του 2020 (Εικόνα 12). Οι συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτοπεριόδου στους χώρους του εργαστηρίου παρέμεναν σταθερές καθ' όλη τη διάρκεια διεξαγωγής των πειραμάτων. Ανάλογα με τις ανάγκες του πειράματος, χρησιμοποιήθηκαν συνθήκες θερμοκρασίας $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ και $15\pm 2^{\circ}\text{C}$, σχετικής υγρασίας (Σ.Υ.) $55\pm 5\%$ και φωτοπεριόδου 14:10 και 10:14 ώρες (Φως:Σκοτάδι).

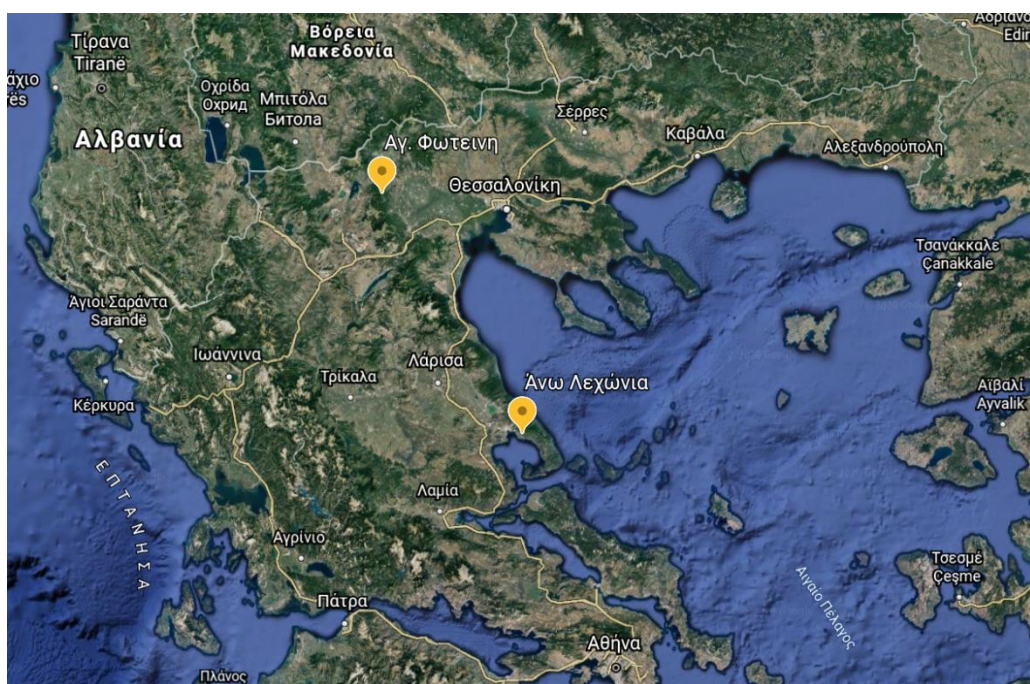
Η διατήρηση των εντόμων σε θερμοκρασία $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ πραγματοποιήθηκε σε εντομοδωμάτιο όπου οι συνθήκες θερμοκρασίας και σχετικής υγρασίας ρυθμίζονταν και διατηρούνταν σταθερές ανεξάρτητα από τις εξωτερικές συνθήκες περιβάλλοντος με τη βοήθεια κλιματικής μονάδας STULZ Comp Trol 1001 (Diamar Ltd). Αντίστοιχα, η διατήρηση των εντόμων σε θερμοκρασία $15\pm 2^{\circ}\text{C}$ πραγματοποιήθηκε σε θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών τύπου Elvem basic line PS300. Το φως στο εντομοδωμάτιο και στο θάλαμο ελεγχόμενων συνθηκών παρέχόταν από λάμπες φθορισμού (daylight type). Η έναρξη της φωτόφασης ορίστηκε στις 07:00 και η ένταση του φωτός στο εσωτερικό των κλουβιών κυμαινόταν από 1500 έως 2000 lux.



Εικόνα 12. Εντομοδωμάτιο του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ.

2.2. Μέθοδος εκτροφής και έντομα που χρησιμοποιήθηκαν

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν έντομα δύο πληθυσμών του *D. sukikii* που εκτράφηκαν για 4 γενιές (F4) σε τεχνητή εκτροφή στο εργαστήριο. Ο ένας πληθυσμός προήλθε από μια ημιορεινή ηπειρωτική περιοχή της βόρειας Ελλάδας, την Αγία Φωτεινή Πέλλας και ο άλλος πληθυσμός συλλέχθηκε από μια πεδινή παραθαλάσσια περιοχή της κεντρικής Ελλάδας, τα Λεχώνια Μαγνησίας (Εικόνα 13). Οι δύο περιοχές μελέτης απέχουν γεωγραφικά και υψομετρικά και χαρακτηρίζονται από διαφορετικές κλιματικές συνθήκες.



Εικόνα 13. Αγία Φωτεινή Πέλλας και Λεχώνια Μαγνησίας. Οι περιοχές συλλογής των πληθυσμών του *D. sukikii* που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα (Google Earth).

Τα άγρια έντομα με τα οποία εγκαταστάθηκε η τεχνητή εκτροφή στο εργαστήριο, εξήλθαν από προσβεβλημένα κεράσια που συλλέχθηκαν στις δύο παραπάνω περιοχές. Οι προσβεβλημένοι καρποί μεταφέρθηκαν στο Εργαστήριο ($\Theta: 25 \pm 2^\circ\text{C}$, Σ.Υ.: $55 \pm 5\%$, Φωτοπερίοδο 14:10 ώρες Φ:Σ) και τοποθετήθηκαν σε ειδικά διαμορφωμένες λεκάνες (Εικόνα 14). Τα ενήλικα, αμέσως μετά την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα, μεταφέρθηκαν με τη βοήθεια αναρροφητήρα (aspirator), από τις λεκάνες δειγματοληψίας καρπών σε γυάλινα φιαλίδια εκτροφής, όγκου 200ml, που περιείχαν τροφικό υπόστρωμα ωτοκίας (Εικόνα 15). Τα ενήλικα ωρίμασαν αναπαραγωγικά σε 12 με 24 ώρες, συζεύχθηκαν, και τα θηλυκά ωτόκησαν για

περίοδο τριών-τεσσάρων ημερών στο τροφικό υπόστρωμα, πριν μεταφερθούν σε νέο φιαλίδιο. Τα αυγά εκκολάφθηκαν εντός 24 ωρών και οι προνύμφες τράφηκαν ορύσσοντας στοές εντός του τροφικού υποστρώματος. Μετά την κάλυψη των διατροφικών τους αναγκών και την ολοκλήρωση της προνυμφικής τους ανάπτυξης (3 με 4 ημέρες) οι προνύμφες μετακινήθηκαν στην επιφάνεια του τροφικού υποστρώματος όπου και νυμφώθηκαν. Έπειτα από 3 με 4 ημέρες στους $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ εξήλθαν τα ενήλικα της F1 γενιάς τα οποία μεταγγίστηκαν σε νέα φιαλίδια όπου τρέφονταν, συζευγνύονταν και ωτοκούσαν. Με τον τρόπο αυτό παράχθηκαν τα ενήλικα των δύο πληθυσμών (Λεχώνια και Αγία Φωτεινή) F4 γενιάς του θερινού φαινότυπου του εντόμου.



Εικόνα 14. Εγκατάσταση εκτροφής του *D. suzukii* από προσβεβλημένα κεράσια. Οι καρποί διατηρούνταν σε ειδικά διαμορφωμένες πλαστικές λεκάνες και τα ενήλικα μεταφέρονταν και ωτοκούσαν σε τεχνητό υπόστρωμα.



Εικόνα 15. Εργαστηριακή εκτροφή *Drosophila suzukii* σε γυάλινα φιαλίδια. Διακρίνεται η τεχνητή τροφή και τα ενήλικα άτομα.

2.3. Προετοιμασία τεχνητής τροφής/τροφικού υποστρώματος

Για την προετοιμασία της τεχνητής τροφής που χρησιμοποιήθηκε τόσο ως πηγή θρεπτικών συστατικών και νερού για τα ενήλικα της εκτροφής όσο και ως υπόστρωμα ωοτοκίας και ανάπτυξης των προνυμφών χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω υλικά: 1.35 lt νερού, 8 gr Agar agar, 70 gr κρυσταλλικής ζάχαρης, 80 gr καλαμποκάλευρου, 17 gr ξηρής μαγιάς αρτοποιίας και 20 ml διαλύματος Νιπαγίνης 10% σε αιθυλική αλκοόλη.

Για την παρασκευή της τροφής, αρχικά τοποθετήθηκε στην κατσαρόλα το 1 lt νερού με το agar και τη ζάχαρη μέχρι να ξεκινήσει ο βρασμός (Εικόνα 16). Παράλληλα, σε δοχείο ανάδευσης ετοιμάστηκε το μίγμα με 0,33 lt χλιαρού νερού, καλαμποκάλευρο και ξηρή μαγιά ανακατεύοντας συνεχώς για να αποφευχθεί η δημιουργία συσσωματωμάτων στο καλαμποκάλευρο. Μόλις το μίγμα της κατσαρόλας άρχισε να βράζει προστέθηκε το μίγμα του δοχείου ανάδευσης σε αυτή, και ανακατεύοντας συνεχώς έβρασε σε χαμηλή φωτιά για περίπου 10'. Στη συνέχεια η τροφή αποσύρθηκε από τη φωτιά και προστέθηκε η Νιπαγίνη. Πριν κρυσώσει εντελώς η τροφή, μοιράστηκε στα φιαλίδια εκτροφής (περίπου 1cm ύψος στο κάθε ένα), τα οποία παρέμειναν σε θερμοκρασία δωματίου για 24h και στη συνέχεια

σκεπάστηκαν με πώμα βάμβακος και διατηρήθηκαν στους 4-5°C μέχρι να χρησιμοποιηθούν, και για μέγιστο χρονικό διάστημα έως τρεις εβδομάδες.



Εικόνα 16: Διαδικασία προετοιμασίας τεχνητής τροφής.

2.4. Μέθοδος παραγωγής χειμερινού φαινότυπου του εντόμου

Προκειμένου να παραχθούν ενήλικα χειμερινού φαινότυπου του εντόμου, θηλυκά F3 γενιάς των δύο πληθυσμών (Λεχώνια και Αγία Φωτεινή) τοποθετήθηκαν και ωτόκησαν για 72 ώρες σε γυάλινα φιαλίδια εκτροφής με τροφικό υπόστρωμα, που διατηρούνταν στους $25\pm 2^\circ\text{C}$. Στη συνέχεια τα ενήλικα απομακρύνθηκαν και τα φιαλίδια τοποθετήθηκαν στους $15\pm 2^\circ\text{C}$ και σε φωτοπερίοδο 10:14 ώρες Φ:Σ, σε κλίβανο ελεγχόμενων συνθηκών, έως την έξοδο των ενηλίκων. Η διατροφή και ανάπτυξη των προνυμφών καθώς και η παραμονή των νυμφών στις παραπάνω συνθήκες οδήγησε στην έξοδο ενηλίκων χειμερινού φαινότυπου. Η συνολική διάρκεια ανάπτυξης των ενηλίκων χειμερινού φαινότυπου από την εκκόλαψη των αυγών έως την έξοδο των ενηλίκων ήταν 40 με 45 ημέρες.

2.5. Πειραματική διαδικασία και καταγραφή θνησιμότητας

Μέσα σε διάστημα 24 ωρών από την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα, τα ενήλικα των δύο φαινοτύπων και πληθυσμών χωρίζονταν με τη βοήθεια του αναρροφητήρα (aspirator) σε αρσενικά και θηλυκά και τοποθετούνταν ανά δέκα σε ατομικά κλουβάκια με ελεύθερη πρόσβαση σε τροφή (ζάχαρη και υδρολυμένη μαγιά σε αναλογία 4:1) και νερό. Το κάθε κλουβί αποτελούταν από πλαστικό διάφανο ποτήρι όγκου 400 ml, διαμέτρου 7,5 cm και ύψους 12 cm το οποίο πλευρικά έφερε οπή διαμέτρου 3 cm καλυμμένης με κομμάτι λεπτής οργανίνης για τον επαρκή αερισμό του εσωτερικού (Εικόνα 17). Στη βάση του κλουβιού (πάνω μέρος του ποτηριού) υπήρχε προσαρμοσμένο το καπάκι πλαστικού τρυβλίου Petri διαμέτρου 9

cm. Σε αυτό υπήρχε οπή με διάμετρο περίπου 5mm στην οποία τοποθετούταν βαμβακερό φυτίλι ή μακρόστενο κομμάτι σπογγοπετσέτας που ερχόταν σε επαφή με την βάση του τρυβλίου η οποία ήταν γεμάτη με νερό. Το φυτίλι διατηρούταν πάντα υγρό ώστε να προσλαμβάνουν νερό τα ενήλικα του *D. sukii*. Η τροφή και το νερό ανανεώνονταν εβδομαδιαία. Τα ατομικά κλουβιά τοποθετούνταν ανά 11 σε πλαστικούς δίσκους και εκτέθηκαν στους $25\pm 2^{\circ}\text{C}$ ή στους $15\pm 2^{\circ}\text{C}$. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 1600 ενήλικα του *D. sukii* (Πίνακας 2). Καθημερινά καταγραφόταν ο αριθμός των νεκρών ατόμων και έτσι υπολογίστηκε η διάρκεια ζωής κάθε ενηλικού.



Εικόνα 17: Ατομικά κλουβιά διατήρησης ενηλίκων.

Πίνακας 2: Μεταχειρίσεις ενηλίκων *D. sukii* για τις οποίες εκτιμήθηκε η διάρκεια ζωής.

Πληθυσμός	Φαινότυπος	Φύλο	Θερμοκρασία έκθεσης	Αριθμός ενηλίκων
Λεχώνια	Θερινός	Αρσενικά	25°C	100
			15°C	100
		Θηλυκά	25°C	100
			15°C	100
	Χειμερινός	Αρσενικά	25°C	100
			15°C	100
		Θηλυκά	25°C	100
			15°C	100
Αγία Φωτεινή	Θερινός	Αρσενικά	25°C	100
			15°C	100
		Θηλυκά	25°C	100
			15°C	100
	Χειμερινός	Αρσενικά	25°C	100
			15°C	100
		Θηλυκά	25°C	100
			15°C	100

2.6. Στατιστική ανάλυση

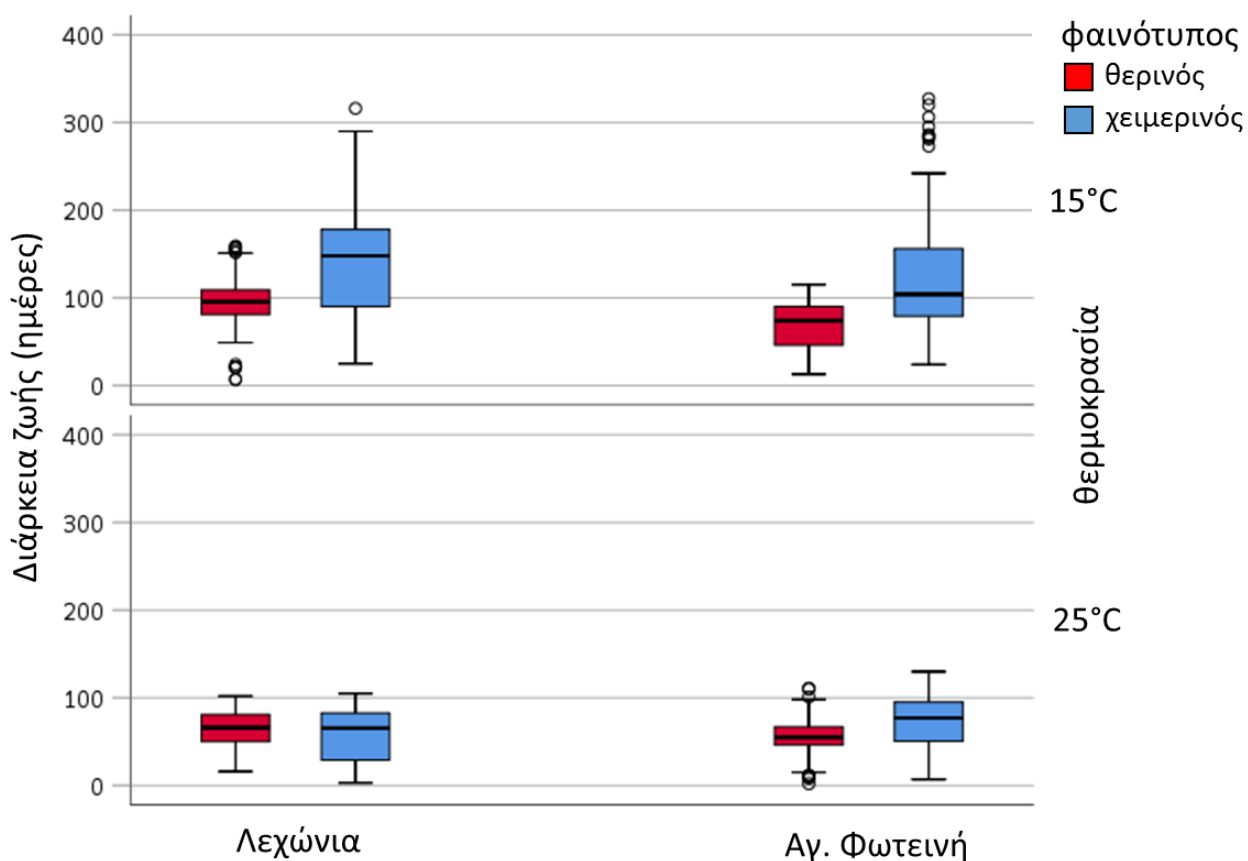
Η στατιστική ανάλυση πραγματοποιήθηκε με τη χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 26.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). 26.00. Η επίδραση του πληθυσμού (Λεχώνια, Αγ. Φωτεινή), του φαινότυπου (θερινός, χειμερινός), της θερμοκρασίας έκθεσης των ενηλίκων (15°C, 25°C) και του φύλου (αρσενικά, θηλυκά), καθώς και των μεταξύ τους αλληλεπιδράσεων, στη διάρκεια ζωής των ενηλίκων *D. sukikii* υπολογίστηκε με το μοντέλο αναλόγων κινδύνων του Cox (Cox Regression Hazards Model). Ο υπολογισμός της μέσης διάρκειας ζωής και των στατιστικών εκατοστημορίων (Percentiles) κάθε μεταχείρισης πραγματοποιήθηκε με τον εκτιμητή Kaplan Meier. Τα διαγράμματα δημιουργήθηκαν με την εφαρμογή "Chart builder" του λογισμικού SPSS 26.0.

Αποτελέσματα

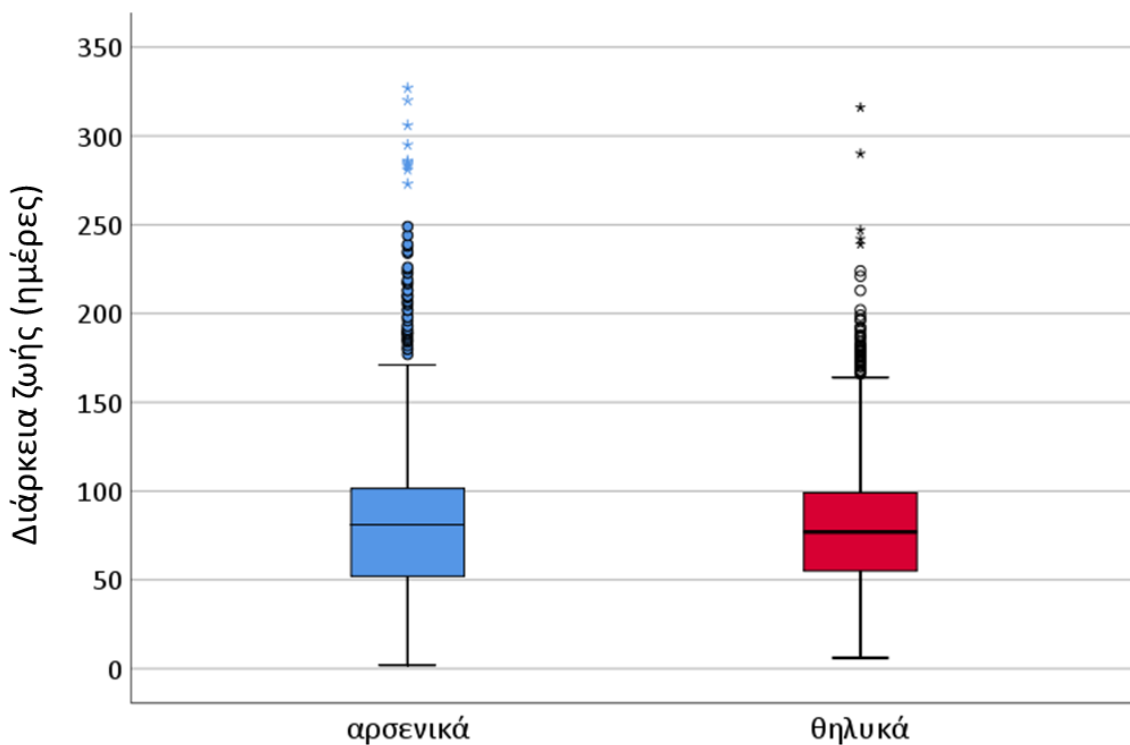
Το μοντέλο αναλόγων κινδύνων του Cox έδειξε ότι ο πληθυσμός, ο φαινότυπος του εντόμου, το φύλο και η θερμοκρασία στην οποία εκτέθηκαν τα ενήλικα της κηλιδόπτερης δροσόφιλας επηρέασαν σημαντικά την επιβίωσή τους ($P < 0,001$) (Πίνακας 3, Διάγραμμα 1, 2). Συγκεκριμένα, τα ενήλικα που προέρχονταν από τα Λεχώνια έζησαν περισσότερο από αυτά που προέρχονταν από την Αγ. Φωτεινή ανεξάρτητα από το φαινότυπο και τη θερμοκρασία έκθεσης (Wald $\chi^2 = 91,54$, $df = 1$, $P < 0.001$). Επίσης, ο χειμερινός φαινότυπος και των δύο πληθυσμών ήταν μακροβιότερος από το θερινό φαινότυπο ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία έκθεσης των ενηλίκων και το φύλο (Wald $\chi^2 = 89,31$, $df = 1$, $P < 0.001$). Τα ενήλικα και των δύο πληθυσμών και φαινοτύπων που διατηρήθηκαν στους 15°C είχαν σημαντικά μεγαλύτερη διάρκεια ζωής σε σχέση με αυτά που διατηρήθηκαν στους 25°C (Wald $\chi^2 = 187,62$, $df = 1$, $P < 0.001$) (Πίνακας 3, Διάγραμμα 1). Τα αρσενικά και των δύο πληθυσμών και φαινοτύπων που μελετήθηκαν ήταν μακροβιότερα από τα θηλυκά, ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία στην οποία διατηρήθηκαν (Wald $\chi^2 = 14,76$, $df = 1$, $P < 0.001$) (Πίνακας 3, Διάγραμμα 2).

Πίνακας 3. Μέση διάρκεια ζωής και στατιστικά εκατοστημόρια (Percentiles) αρσενικών και θηλυκών, θερινού και χειμερινού φαινότυπου, πληθυσμών της κηλιδόπτερης δροσόφιλας που συλλέχθηκαν στα Λεχώνια Μαγνησίας και στην Αγία Φωτεινή Πέλλας. Τα ενήλικα εκτέθηκαν στους 25°C ή στους 15°C σε συνθήκες εργαστηρίου.

Μεταχείριση (αριθμός ατόμων)	Παράμετροι επιβίωσης σε μέρες			
	Μέση επιβίωση \pm SE	Percentiles		
		25%	50%	75%
Λεχώνια (n=796)	88,37 \pm 1,70 α	103 \pm 2,18	82 \pm 1,11	58 \pm 1,83
Αγία Φωτεινή (n=788)	80,03 \pm 1,61 β	96 \pm 1,60	72 \pm 1,83	50 \pm 1,27
Θερινός φαινότυπος (n=795)	71,97 \pm 0,99 α	91 \pm 1,23	71 \pm 1,44	51 \pm 0,88
Χειμερινός φαινότυπος (n=789)	96,38 \pm 2,04 β	119 \pm 5,55	86 \pm 1,24	60 \pm 2,43
Αρσενικά (n=795)	86,52 \pm 1,84 α	102 \pm 2,35	81 \pm 1,48	52 \pm 1,78
Θηλυκά (n=789)	81,90 \pm 1,46 β	99 \pm 1,52	77 \pm 1,72	55 \pm 1,44
15°C (n=787)	105,78 \pm 1,88 α	134 \pm 5,11	95 \pm 1,50	73 \pm 1,77
25°C (n=797)	62,94 \pm 0,92 β	83 \pm 1,01	64 \pm 1,19	47 \pm 1,48



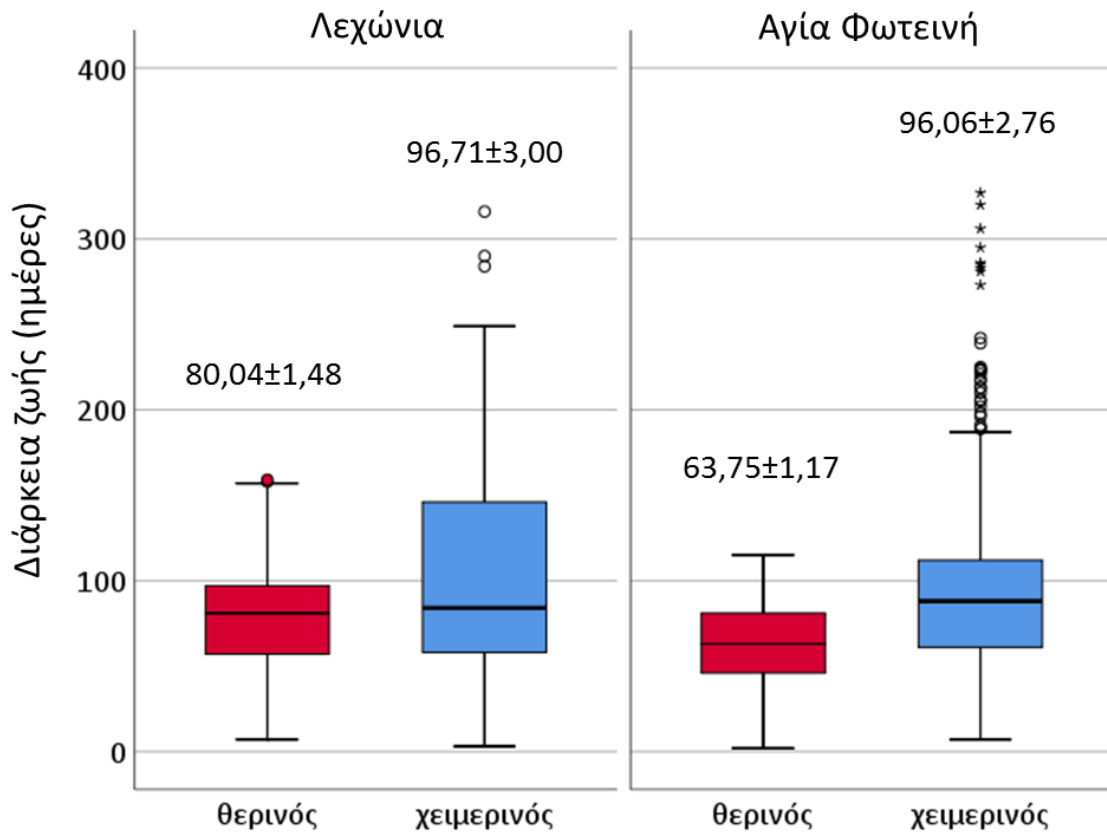
Διάγραμμα 1: Διάρκεια ζωής συνολικά των ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών) θερινού και χειμερινού φαινότυπου της κηλιδόπτερης δροσόφιλας που προέρχονταν από τα Λεχώνια (αριστερά) και την Αγ. Φωτεινή (δεξιά) και εκτέθηκαν στους 15°C (επάνω) και στους 25°C (κάτω) σε σταθερές συνθήκες εργαστηρίου.



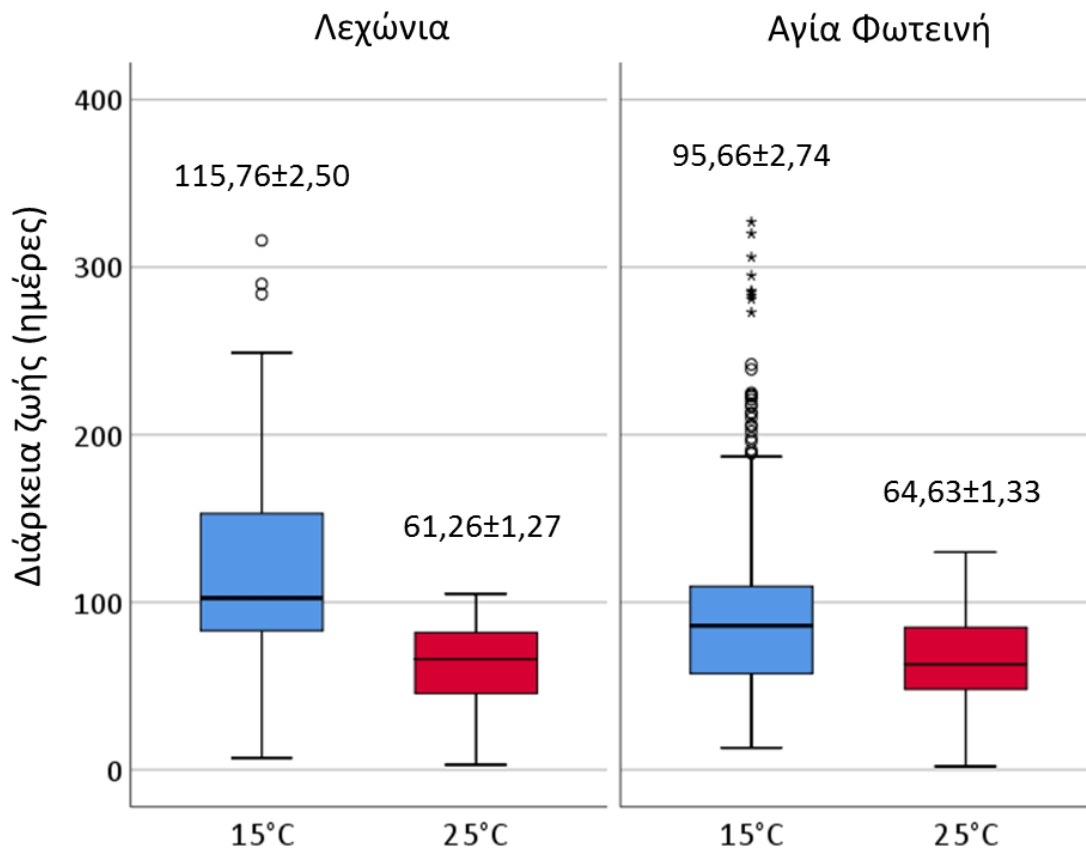
Διάγραμμα 2: Διάρκεια ζωής αρσενικών και θηλυκών της κηλιδόπτερης δροσόφιλας ανεξάρτητα από την προέλευση του πληθυσμού, τον φαινότυπο και τη θερμοκρασία έκθεσης.

Οι ανά ζεύγη αλληλεπιδράσεις μεταξύ του πληθυσμού και του φαινότυπου, του πληθυσμού και της θερμοκρασίας και του φαινότυπου και της θερμοκρασίας ήταν επίσης σημαντικές ($P < 0,001$). Η σημαντικότητα στην αλληλεπίδραση μεταξύ πληθυσμού και φαινότυπου καταδεικνύει ότι η διαφορά στη διάρκεια ζωής μεταξύ θερινού και χειμερινού φαινότυπου ήταν μεγαλύτερη στα ενήλικα που προέρχονταν από την Αγία Φωτεινή σε σχέση με αυτά που προέρχονταν από τα Λεχώνια ($\text{Wald } \chi^2 = 51,44, \text{ df} = 1, P < 0.001$) (Διάγραμμα 3). Επίσης, η σημαντικότητα στην αλληλεπίδραση μεταξύ πληθυσμού και θερμοκρασίας καταδεικνύει ότι η διαφορά στη διάρκεια ζωής μεταξύ των ενηλίκων που εκτέθηκαν στις δύο διαφορετικές θερμοκρασίες ήταν μεγαλύτερη στα ενήλικα που προέρχονταν από τα Λεχώνια σε σχέση με αυτά που προέρχονταν από την Αγία Φωτεινή ($\text{Wald } \chi^2 = 39,53, \text{ df} = 1, P < 0.001$) (Διάγραμμα 4). Τέλος, η σημαντικότητα στην αλληλεπίδραση μεταξύ φαινότυπου και θερμοκρασίας καταδεικνύει ότι η διαφορά στη διάρκεια ζωής μεταξύ

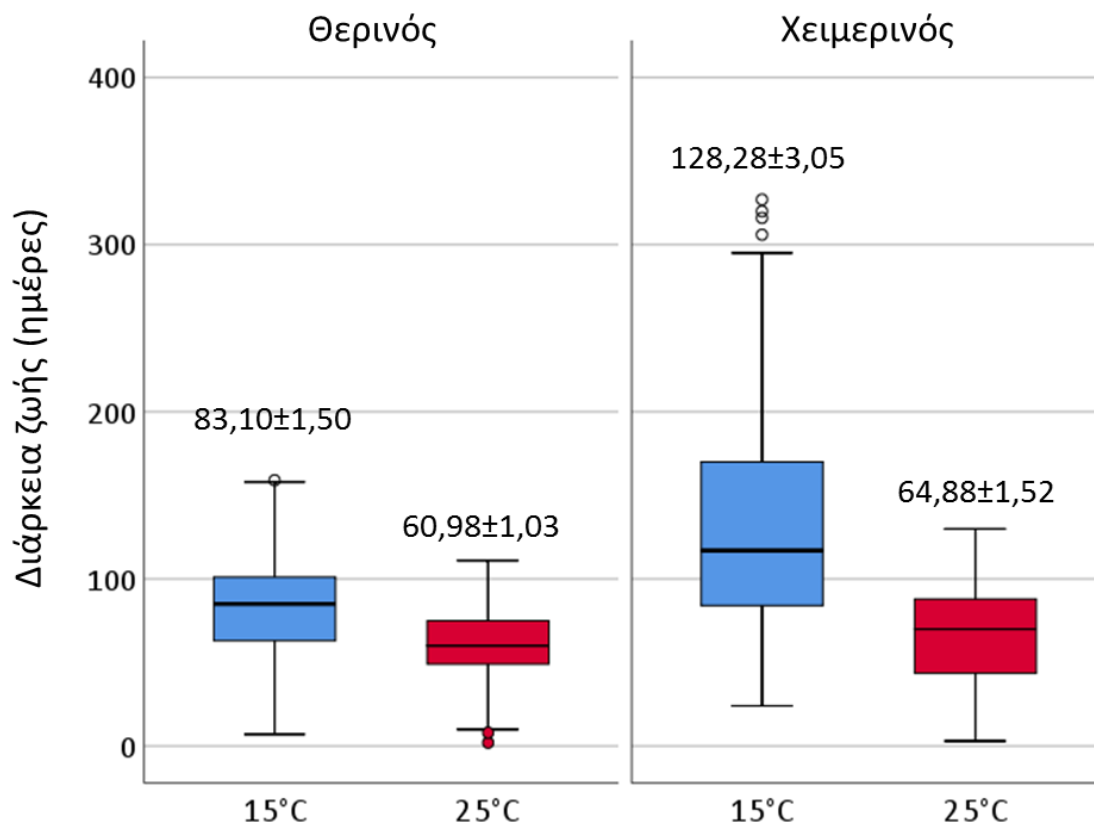
των ενηλίκων που εκτέθηκαν στις δύο διαφορετικές θερμοκρασίες ήταν μεγαλύτερη στα ενήλικα του χειμερινού σε σχέση με τα ενήλικα του θερινού φαινότυπου (Wald $\chi^2 = 64,10$, $df = 1$, $P < 0.001$) (Διάγραμμα 4).



Διάγραμμα 3: Διάρκεια ζωής των ενηλίκων θερινού και χειμερινού φαινότυπου του *D. sukikii* που προέρχονταν από τα Λεχώνια (αριστερά) και την Αγ. Φωτεινή (δεξιά).



Διάγραμμα 4: Διάρκεια ζωής ενηλίκων του *D. sukii* που προέρχονται από τα Λεχώνια (αριστερά) και την Αγ. Φωτεινή (δεξιά) και διατηρούνταν στους 15°C και στους 25°C.



Διάγραμμα 5: Διάρκεια ζωής ενηλίκων του θερινού (αριστερά) και του χειμερινού (δεξιά) φαινότυπου του *D. sukikii* που διατηρούνταν στους 15°C και στους 25°C.

Συζήτηση

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο πληθυσμός των Λεχωνίων Μαγνησίας ήταν μακροβιότερος σε σχέση με τον πληθυσμό που προήλθε από την Αγία Φωτεινή Πέλλας ανεξάρτητα από το φύλο, από τη θερμοκρασία έκθεσης των ενηλίκων και από τον φαινότυπο. Η γεωγραφική και κλιματική προσαρμογή των εντόμων προκαλεί διαφορετικά επίπεδα αντοχής σε καταπονήσεις όπως οι ακραίες θερμοκρασίες και περιλαμβάνει μεταβολές στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των πληθυσμών (ένταση διαχείμασης, αναπαραγωγική διάπαυση, μακροβιότητα) (Kimura et al. 1992, Hoffman & Parsons 1991, Hoffman et al. 2002). Συχνά, διαφορές στα δημογραφικά χαρακτηριστικά πληθυσμών ενός είδους που προέρχονται από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές, μαρτυρά κλιματική προσαρμογή των πληθυσμών αυτών στις δεδομένες συνθήκες (Hoffman et al. 2003). Η γεωγραφική παραλλακτικότητα στην κατανομή των χαρακτηριστικών αυτών μπορεί να συνδέεται με τάσεις φυσικής επιλογής. Η συγκεκριμένη προσέγγιση έχει χρησιμοποιηθεί αρκετά στην διερεύνηση των πιέσεων φυσικής επιλογής που διαμορφώνουν το μέγεθος σώματος και την ανθεκτικότητα σε καταπονήσεις αβιοτικών παραγόντων σε ενήλικα της *D. melanogaster* (Huey et al. 1991, 2000). Οι δύο πληθυσμοί της κηλιδόπτερης δροσόφιλας, που μελετήθηκαν στην παρούσα διατριβή, προέρχονταν από δύο απομακρυσμένες γεωγραφικές περιοχές που χαρακτηρίζονται από διαφορετικές κλιματικές συνθήκες, γεωγραφικό ανάγλυφο και εύρος διαθέσιμων ξενιστών. Οι δύο αυτοί πληθυσμοί εκτράφηκαν μόνο για τρεις γενεές σε σταθερές συνθήκες εργαστηρίου, μπορούν να θεωρηθούν ημι-άγριοι και ότι διατηρούν τα χαρακτηριστικά του φυσικών πληθυσμών. Συνεπώς, οι δύο πληθυσμοί ενδεχομένως (α) φέρουν διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο και (β) εμφανίζουν διαφορετικά επίπεδα προσαρμογής στην κάθε περιοχή. Παρά το γεγονός ότι το έντομο καταγράφηκε για πρώτη φορά στη χώρα μας το 2013, πιθανώς εισήλθε και εγκαταστάθηκε αρκετά νωρίτερα, δίνοντας τη δυνατότητα προσαρμογής έως κάποιο βαθμό των πληθυσμών στις κλιματικές συνθήκες της κάθε περιοχής. Επίσης, η εισβολή και εγκατάσταση του εντόμου ενδέχεται να πραγματοποιήθηκε σε διαφορετικές χρονικές στιγμές σε κάθε περιοχή με αποτέλεσμα οι διαφορετικοί πληθυσμοί του εντόμου να εμφανίζουν παραλλακτικότητα στα επίπεδα προσαρμογής στις συνθήκες της κάθε περιοχής.

Ακόμα, ενδέχεται να πραγματοποιήθηκε εισαγωγή και εγκατάσταση πληθυσμών με διαφορετικό γενετικό υπόβαθρο, και να μην υπήρξε διασπορά και γονιδιακή ροή μεταξύ των πληθυσμών των διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών της χώρας, με αποτέλεσμα οι δύο πληθυσμοί να απέχουν γενετικά. Τα παραπάνω είχαν σαν αποτέλεσμα την εκδήλωση διαφορών στη διάρκεια ζωής μεταξύ των ενηλίκων που προήλθαν από τα Λεχώνια και από την Αγία Φωτεινή.

Ο χειμερινός φαινότυπος ήταν μακροβιότερος από τον θερινό φαινότυπο ανεξάρτητα από την προέλευση του πληθυσμού, από τη θερμοκρασία έκθεσης των ενηλίκων και από το φύλο. Είναι γενικά γνωστό ότι οι διαχειμάζουσες μορφές των εντόμων που ενδημούν σε εύκρατες και βόρειες περιοχές είναι ανθεκτικότερες και επιβιώνουν αποτελεσματικότερα σε αντίξοες συνθήκες (Denlinger 2002). Οι διαχειμάζουσες μορφές της κηλιδόπτερης δροσόφιλας εμφανίζουν υψηλότερη αντοχή στο ψύχος και εκδηλώνουν προσαρμογές στη φυσιολογία και τη συμπεριφορά προκειμένου να ανταπεξέλθουν τις αντίξοες συνθήκες του χειμώνα (Dalton et al. 2001, Wallingford & Loeb 2016, Rossi-Stacconi et al. 2016). Έρευνες που αφορούν στη διαχείμαση του εντόμου καταδεικνύουν επίσης ότι τα θηλυκά της κηλιδόπτερης δροσόφιλας εισέρχονται σε αναπαραγωγική διάπαυση κατά τους ψυχρούς μήνες, παρέχοντας έτσι τους ενεργειακούς πόρους που θα διέθεταν στην παραγωγή απογόνων για την επιτυχή επιβίωση (Rossi-Stacconi et al. 2016). Επιπλέον, τα χαμηλά επίπεδα δραστηριότητας/ κίνησης και η γενικότερη αδράνεια που εκδηλώνουν τα διαχειμάζοντα ενήλικα, όπως επίσης και ο χαμηλός μεταβολικός ρυθμός συμβάλλουν στη διατήρηση των ενεργειακών αποθεμάτων στον οργανισμό και μειώνουν τις πιθανότητες καταπόνησης ή/και τραυματισμού κατά την κίνηση. Οι μηχανισμοί στους οποίους οφείλεται η αυξημένη αντοχή στο ψύχος των χειμερινών σε σχέση με τους θερινούς φαινότυπους του εντόμου δεν είναι πλήρως κατανοητοί. Παράγοντες όπως η ρύθμιση του υδατικού ισοζυγίου και των ελεύθερων ιόντων στον οργανισμό, πιθανόν μέσω του σχηματισμού γλυκερόλης, η αύξηση του μεταβολισμού των υδατανθράκων, η επιβράδυνση της κυτταρικής απόπτωσης και η σύνθεση κρουπροστατευτικών ουσιών και αντιψυκτικών πρωτεϊνών (Dalton et al. 2011, Jacobs et al. 2015, Shearer et al. 2016), ενδέχεται να συμβάλλουν στην αύξηση της ανθεκτικότητας των χειμερινών μορφών του εντόμου. Τέλος, η μελάνωση του

εξωσκελετού στον χειμερινό φαινότυπο φαίνεται ότι βελτιώνει τη θερμορύθμιση του εντόμου σε κρύα περιβάλλοντα, μέσω της αυξημένης απορρόφησης υπεριώδους ακτινοβολίας που συμβάλλει στην αύξηση της θερμοκρασίας του σώματος (Harris et al. 2013). Ακόμα, ο σκουρόχρωμος εξωσκελετός του χειμερινού φαινότυπου σε άλλα *Drosophilidae* έχει αναφερθεί ότι σχετίζεται με αυξημένα επίπεδα ανοσίας και αντοχή σε συνθήκες μειωμένης υγρασίας (Kutch et al. 2014).

Τα αρσενικά και των δύο πληθυσμών και φαινοτύπων ήταν μακροβιότερα από τα θηλυκά ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία έκθεσής τους. Προηγούμενη δημογραφική μελέτη ενός πληθυσμού του εντόμου από τη Β. Αμερική, σε σταθερές εργαστηριακές συνθήκες, δεν κατέδειξε σημαντικές διαφορές στη διάρκεια ζωής μεταξύ των δύο φύλων, χωρίς όμως να εξετάζεται η διάρκεια ζωής χειμερινών φαινοτύπων ούτε και η έκθεση των ενηλίκων σε διαφορετικές θερμοκρασίες (Emiljanowicz et al. 2014). Αντίθετα, άλλες έρευνες έδειξαν ότι τα αρσενικά της κηλιδόπτερης δροσόφιλας είναι λιγότερο ικανά να ανταπεξέλθουν σε δυσμενείς περιβαλλοντικούς παράγοντες και να διαχειμάσουν επιτυχώς σε σχέση με τα θηλυκά (Dalton et al. 2011, Wiman et al. 2014), καθώς και ότι οι πληθυσμοί των αρσενικών υποβάλλονται σε εντονότερες πληθυσμιακές συμπύξεις (bottleneck effect) σε σχέση με τα θηλυκά εξαιτίας μεγάλης θνησιμότητας κατά τη διάρκεια της διαχείμασης (Ometto et al. 2013). Ωστόσο, πολλές διαστάσεις που αφορούν τη διαχείμαση του εντόμου παραμένουν άγνωστες. Η μεγαλύτερη διάρκεια ζωής των αρσενικών σε σχέση με τα θηλυκά, που προκύπτει από τα δεδομένα μας, πιθανώς να αντικατοπτρίζει τις διαφορές στη διάρκεια ζωής μεταξύ των δύο φύλων που ανήκουν στον χειμερινό φαινότυπο. Περαιτέρω διερεύνηση της αντοχής των δύο φύλων και των δύο φαινοτύπων σε διαφορετικά θερμοκρασιακά πρωτόκολλα, με τη μελέτη τόσο των δημογραφικών χαρακτηριστικών όσο και των μηχανισμών που εμπλέκονται θα συνέβαλλε στην κατανόηση της ανταπόκρισης των αρσενικών και των θηλυκών σε διαφορετικές συνθήκες.

Η επιβίωση των ενηλίκων της κηλιδόπτερης δροσόφιλας κατά τη διατήρησή τους σε προσομοίωση ήπιων χειμερινών συνθηκών (15°C) ήταν επιτυχέστερη σε σχέση με την επιβίωσή τους σε προσομοίωση θερινών συνθηκών (25°C), και η ανταπόκριση αυτή ήταν κοινή σε ενήλικα χειμερινού και θερινού φαινότυπου που

προέρχονταν και από τις δύο περιοχές μελέτης. Είναι επίσης άξιο παρατήρησης, ότι εκτός από τον χειμερινό φαινότυπο ο οποίος αναμενόταν να επιβιώνει αποτελεσματικότερα σε χαμηλές θερμοκρασίες λόγω φυσιολογικών και μορφολογικών προσαρμογών (Stephens et al. 2015), και ο θερινός φαινότυπος εμφάνισε μεγαλύτερη διάρκεια ζωής στους 15°C. Το συγκεκριμένο εύρημα καταδεικνύει την προσαρμογή του εντόμου σε ηπειρωτικά, εύκρατα και δροσερά κλίματα και είναι σε συμφωνία με τη γεωγραφική του προέλευση που εντοπίζεται στην ηπειρωτική Νοτιοανατολική Ασία και Ιαπωνία (Benito et al. 2016). Ακραίες υψηλές και χαμηλές θερμοκρασίες απορρυθμίζουν αρκετές φυσιολογικές λειτουργίες της κηλιδόπτερης δροσόφιλας (προνυμφική ανάπτυξη, αναπαραγωγή κλπ.), αλλά η φαινοτυπική πλαστικότητα που εκδηλώνει το συγκεκριμένο είδος, συμβάλλει στην επιτυχή διαβίωσή του υπό την επικράτηση αντίξων συνθηκών (Hoffman et al. 2003). Οι πληθυσμοί του εντόμου ανταποκρίνονται αποτελεσματικότερα σε ψυχρότερα κλίματα σε σχέση με υποτροπικά και τροπικά, γεγονός που στηρίζεται από την επιτυχή διαχείμασή τους σε ψυχρότερες περιοχές και από την αδρανοποίηση της δραστηριότητάς του σε περιπτώσεις αύξησης της θερμοκρασίας και μείωσης της υγρασίας κατά τους καλοκαιρινούς μήνες σε Μεσογειακά κλίματα (Papanastasiou et al. 2020).

Συμπερασματικά, φαίνεται ότι οι πληθυσμοί της κηλιδόπτερης δροσόφιλας που ενδημούν σε διαφορετικές περιοχές της χώρας μας έχουν προσαρμοστεί έως έναν βαθμό στις συνθήκες της κάθε περιοχής και εκδηλώνουν διαφορές στα δημογραφικά τους χαρακτηριστικά (επιβίωση). Οι διαφορές στην επιβίωση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών δεν έχουν πλήρως αποσαφηνιστεί και εξαρτώνται από πλήθος παραγόντων όπως η δυνατότητα αναπαραγωγής και το κόστος που μπορεί αυτή να επιφέρει σε κάθε φύλο. Ο χειμερινός φαινότυπος είναι περισσότερο ανθεκτικός από τον θερινό και εκδηλώνει μεγαλύτερη διάρκεια ζωής ανεξάρτητα από τη θερμοκρασία του περιβάλλοντος. Επιπλέον, η αύξηση της θερμοκρασίας φαίνεται να επηρεάζει αρνητικά την επιβίωση των ενηλίκων του εντόμου. Η γνώση των δημογραφικών χαρακτηριστικών της κηλιδόπτερης δροσόφιλας, της διαχείμασης και της δυνατότητας επιβίωσης σε διαφορετικές συνθήκες περιβάλλοντος, συμβάλλουν στην κατανόηση της δυναμικής των πληθυσμών του εντόμου (π.χ. αρχικά επίπεδα πληθυσμού την άνοιξη) και στη δυνατότητα εποίκησης νέων περιοχών. Οι παραπάνω

γνώσεις χρησιμοποιούνται στην ανάπτυξη μοντέλων πρόβλεψης της πληθυσμιακής διακύμανσης του εντόμου, στην επικαιροποίηση ερευνών που αφορούν τη βιολογία του εντόμου στην αρχή της καλλιεργητικής περιόδου (early season biology) και στην αξιολόγηση/ αντιμετώπιση των κινδύνων για την επόμενη καλλιεργητική περίοδο.

Βιβλιογραφία

- Asplen, M., Anfora, G., Biondi, A., Choi, D., Chu, D., Daane, K., . . . Desneux, N. (2015). Invasion biology of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. *Journal of Pest Science*, *88*(3), 469-494.
- Bastide, H., Betancourt, A., Nolte, V., Tobler, R., Stöbe, P., Futschik, A., & Schlötterer, C. (2013). A genome-wide, fine-scale map of natural pigmentation variation in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Genet*, *9*(6), e1003534.
- B Bastide H, Yassin A, Johannig EJ, Pool JE (2014) Pigmentation in *Drosophila melanogaster* reaches its maximum in Ethiopia and correlates most strongly with ultra-violet radiation in sub-Saharan Africa. *BMC Evolutionary Biology*, *14*, 179.
- Beers E.H., Van Steenwyk R.A., Shearer P.W., Coats W.W., Grant J. A. (2011). Developing *Drosophila suzukii* management programs for sweet cherry in the Western US.- *Pest Management Science*, *67*: 1386-1395.
- Benito NP, Lopes-da-Silva M, Santos RSSd, 2016. Potential spread and economic impact of invasive *drosophila suzukii* in brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, *51*, 571-578.
- Boggs, Carol. (2009). Understanding insect life histories and senescence through a resource allocation lens. *Functional Ecology*. *23*. 27 - 37. 10.1111/j.1365-2435.2009.01527.x.
- Bolda, M., Goodhue, R., & Zalom, F. (2010). Spotted Wing *Drosophila*: potential economic impact of a newly established pest. *Agricultural and resource economics. Update, University of California. Giannini Foundation*, *13*(3), 5-8.
- Briem, F., Eben, A., Gross, J., & Vogt, H. (2016, 7 11). An invader supported by a parasite: Mistletoe berries as a host for food and reproduction of Spotted Wing *Drosophila* in early spring. *Journal of Pest Science*, *89*(3), 749-759.
- Burrack, H., Fernandez, G., Spivey, T., & Kraus, D. (2013, 10). Variation in selection and utilization of host crops in the field and laboratory by *Drosophila suzukii* Matsumara (Diptera: Drosophilidae), an invasive frugivore. *Pest Management Science*, *69*(10), 1173-1180.

- Cha, D., Adams, T., Werle, C., Sampson, B., Adamczyk, J., Rogg, H., & Landolt, P. (2014, 2). A four-component synthetic attractant for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) isolated from fermented bait headspace. *Pest Management Science*, 70(2), 324-331.
- Chen, C. P., & Walker, V. K. (1994). Cold-shock and chilling tolerance in *Drosophila*. *Journal of Insect Physiology*. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(94\)90093-0](https://doi.org/10.1016/0022-1910(94)90093-0)
- Chiu, J., Jiang, X., Zhao, L., Hamm, C., Cridland, J., Saelao, P., . . . Begun, D. (2013, 12). Genome of *Drosophila suzukii*, the Spotted Wing *Drosophila*. *G3: Genes/Genomes/Genetics*, 3(12), 2257-2271.
- Cini, A., Anfora, G., Escudero-Colomar, L., Grassi, A., Santosuosso, U., Seljak, G., & Papini, A. (2014). Tracking the invasion of the alien fruit pest *Drosophila suzukii* in Europe. *Journal of Pest Science*, 87(4), 559-566.
- Cini, A., Ioriatti, C., & Anfora, G. (2012). A review of the invasion of *Drosophila suzukii* in Europe and a draft research agenda for integrated pest management. *Bulletin of Insectology*, 65(1), 149-160.
- Coop L. (2010). Online phenology and degree-day model for agricultural and decision-making in the US.- Integrated Plant Protection Center, Botany & Plant Pathology Dep. Oregon State University, Corvallis, Oregon, USA.
- Dalton, D., Walton, V., Shearer, P., Walsh, D., Caprile, J., & Isaacs, R. (2011, 11). Laboratory survival of *Drosophila suzukii* under simulated winter conditions of the Pacific Northwest and seasonal field trapping in five primary regions of small and stone fruit production in the United States. *Pest Management Science*, 67(11), 1368-1374.
- Denlinger, D. L. (2002). Regulation of diapause. *Annual Review of Entomology*, 47(1), 93–122.
- Department of Agriculture, Fisheries and Forestry Biosecurity (2013) Final pest risk analysis report for *Drosophila suzukii*, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry, Canberra.
- De Ros, G., Anfora, G., Grassi, A., & Ioriatti, C. (2013). The potential economic impact of *Drosophila suzukii* on small fruits production in Trentino Italy. *IOBC wprs*, 10(OCTOBER), 1-4.
- De Ros, G., Conci, S., Pantezzi, T., & Savini, G. (2015). The economic impact of invasive pest *Drosophila suzukii* on berry production in the Province of Trento, Italy. *Journal of Berry Research*, 5(2), 89-96.

- Diepenbrock, L., & McPhie, D. (2018, 4). Use of a Novel Host Plant Family, Basallaceae, by *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, 120(2), 255-259.
- Fuyama Y. (1979). A visual stimulus in the courtship of *Drosophila suzukii*.- Cellular and Molecular Life Sciences, 35: 1327-1328.
- Ghosh SM, Testa ND, Shingleton AW. Temperature-size rule is mediated by thermal plasticity of critical size in *Drosophila melanogaster*. *Proc R Soc B*. 2013;280:1–8.
- Goodhue, R., Bolda, M., Farnsworth, D., Williams, J., & Zalom, F. (2011, 11). Spotted wing drosophila infestation of California strawberries and raspberries: economic analysis of potential revenue losses and control costs. *Pest Management Science*, 67(11), 1396-1402.
- Grassi, A., & Pallaoro, M. (2012). *Drosophila suzukii* (Matsumura), a revolution for soft fruits in Trentino. In: *Ecofruit. 15th International Conference on Organic Fruit-Growing. Proceedings for the conference, Hohenheim, Germany, 20-22 February 2012. Weinsberg, Germany: Fördergemeinschaft Ökologischer Obstbau e.V. (FÖKO)*, 179-186.
- Grassi, A. & Maistri, S. (2013). *Drosophila suzukii* su piccoli frutti e ciliegio. *Terra Trentina* 3 anno LVII: 47-50.
- Hahn DA, Denlinger DL, 2011. Energetics of insect diapause. *Annu Rev Entomol*, 56, 103-121.
- Hamby, K., E. Bellamy, D., Chiu, J., Lee, J., Walton, V., Wiman, N., . . . Biondi, A. (2016). Biotic and abiotic factors impacting development, behavior, phenology, and reproductive biology of *Drosophila suzukii*. *Journal of Pest Science*, 89(3), 605-619.
- Harris DW, Hamby KA, Wilson HE, Zalom FG, 2014. Seasonal monitoring of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in a mixed fruit production system. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 17, 857-864.
- Harris RM, McQuillan P, Hughes L. A test of the thermal melanism hypothesis in the wingless grasshopper *Phaulacridium vittatum*. *J Insect Sci*. 2013; 13:51.
- Hauser, M. (2011, 11). A historic account of the invasion of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the continental United States, with remarks on their identification. *Pest Management Science*, 67(11), 1352-1357.

- Haviland, D., & Beers, E. (2012). Chemical control programs for *Drosophila suzukii* that comply with international limitations on pesticide residues for exported sweet cherries. *Journal of Integrated Pest Management*, 3(2), 1-6.
- Haye, T., Girod, P., Cuthbertson, A., Wang, X., Daane, K., Hoelmer, K., . . . Desneux, N. (2016). Current SWD IPM tactics and their practical implementation in fruit crops across different regions around the world. *Journal of Pest Science*, 89(3), 643-651.
- Hoffmann, A.A., Anderson, A. & Hallas, R. 2002. Opposing clines for high and low temperature resistance in *Drosophila melanogaster*. *Ecol. Lett.* 5: 614–618.
- Hoffmann, A.A. & Parsons, P.A. 1991. *Evolutionary Genetics and Environmental Stress*. Oxford University Press, Oxford. paper .ix + 284 pp., illus. ISBN: 0-19-854081-7.
- Hoffmann, AA, Scott, M, Partridge, L, Hallas, R 2003. Overwintering in *Drosophila melanogaster*: outdoor field cage experiments on clinal and laboratory selected populations help to elucidate traits under selection. *Journal of evolutionary biology* 16(4): 614-623
- Hoffmann, A.A.; Sorensen, J.G.; Loeschcke, V. Adaptation of *Drosophila* to temperature extremes: Bringing together quantitative and molecular approaches. *J. Therm. Biol.* 2003, 28, 175–216.
- Huey, R.B., Gilchrist, G.W., Carlson, M.L., Berrigan, D. & Serra, L. 2000. Rapid evolution of a geographic cline in size in an introduced fly. *Science* 287: 308–309
- Huey, R.B., Partridge, L. & Fowler, K. 1991. Thermal sensitivity of *Drosophila melanogaster* responds rapidly to laboratory natural selection. *Evolution* 45: 751–756.
- Jakobs, R., Garipey, T., & Sinclair, B. (2015). Adult plasticity of cold tolerance in a continental-temperate population of *Drosophila suzukii*. *Journal of Insect Physiology*.
- Kanzawa T (1935). Research into the Fruit-fly *Drosophila suzukii* Matsumura (Preliminary Report). Yamanashi Prefecture Agricultural Experiment Station Report.
- Kanzawa T (1939). Studies on *Drosophila suzukii* Mats. Kofu, Yamanashi agricultural experiment station 49 pp. Abstract in *Review of Applied Entomology*, 29: 622.

- Kenis, M., Tonina, L., Eschen, R., van der Sluis, B., Sancassani, M., Mori, N., . . . Helsen, H. (2016, 7 24). Non-crop plants used as hosts by *Drosophila suzukii* in Europe. *Journal of Pest Science*, *89*(3), 735-748.
- Kim, D.; Alvarez, M.; Lechuga, L. M.; Louis, M., Species-specific modulation of food-search behavior by respiration and chemosensation in *Drosophila* larvae. *eLife* **2017**, *6*, e27057.
- Kimura MT & Anfora G (2011). Evolution and Ecology of *Drosophila suzukii*: a comparison between native and invaded areas. International meeting: *Drosophila suzukii*: new threat for European fruit production, Trento, December 2, 2011.
- Kimura, M.T., Awasaki, T., Ohtsu, T. & Shimada, K. 1992. Seasonal changes in glycogen and trehalose contents in relation to winter survival of four temperate species of *Drosophila*. *J. Insect Physiol.* 38: 871–875.
- Kutch IC, Sevgill H, Wittman T, Fedorka KM. Thermoregulatory strategy may shape immune investment in *Drosophila melanogaster*. *J Exp Biol.* 2014;217:3664–9.
- Labanowska, B., & Piotrowski, W. (2015). The Spotted Wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931)-Monitoring and First Records in Poland. *Journal of Horticultural Research*, *23*(2), 49-57.
- Lee, J., Bruck, D., Curry, H., Edwards, D., Haviland, D., Van Steenwyk, R., & Yorgey, B. (2011, 11). The susceptibility of small fruits and cherries to the spotted-wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *Pest Management Science*, *67*(11), 1358-1367.
- Lee, J., Bruck, D., Dreves, A., Ioriatti, C., Vogt, H., & Baufeld, P. (2011, 11). In Focus: Spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, across perspectives. *Pest Management Science*, *67*(11), 1349-1351.
- Lee, J., Dreves, A., Cave, A., Kawai, S., Isaacs, R., Miller, J., . . . Bruck, D. (2015, 3 1). Infestation of Wild and Ornamental Noncrop Fruits by *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Annals of the Entomological Society of America*, *108*(2), 117-129.
- Maier, C. (2012, 7). First Detection and Widespread Distribution of the Spotted Wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), in Connecticut in 2011. *Proceedings of the Entomological Society of Washington*, *114*(3), 329-337.
- Mitsui H, Beppu K, Kimura MT. Seasonal life cycles and resource uses of flower- and fruit-feeding drosophilid flies (Diptera: Drosophilidae) in central Japan. *Ent Sci.* 2010;13:60–7.

- Moczek AP. Phenotypic plasticity and diversity in insects. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2010;365(1540):593–603.
- Oepp, B., & Bulletin, E. (2013). PM 7/115 (1) *Drosophila suzukii*. *EPPO Bulletin*, 43(3), 417-424.
- Ometto L, Cestaro A, Ramasamy S, Grassi A, Revadi S, Siozios S, Moretto M, Fontana P, Varotto C, Pisani D, Dekker T, Wrobel N, Viola R, Pertot I, Cavalieri D, Blaxter M, Anfora G, RotaStabelli O (2013) Linking genomics and ecology to investigate the complex evolution of an invasive *Drosophila* pest. *Genome Biol Evol* 5(4):745–757
- Papachristos D, Matakoulis C, Papadopoulos NT, Lagouranis A, Zarpas K, Milonas P (2013) First report of the presence of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Greece. Abstracts of the 15th entomology meeting of the Hellenic Entomological Society
- Papanastasiou S, Rodovitis V, Bataka E, Verykouki E, Papadopoulos N (2020). Population dynamics of *Drosophila suzukii* in coastal and mainland sweet cherry orchards of Greece. *Insects*, 11, 621.
- Petter, F., Sunley, R., Baker, R., Baufeld, P., Grassi, A., Guitian Castrillon, J., . . . Reynaud, P. (2010). Pest risk analysis for : *Drosophila suzukii*. *European and mediterranean plant protection organization*, 1-60.
- Poyet, M., Havard, S., Prevost, G., Chabrerie, O., Doury, G., Gibert, P., & Eslin, P. (2013). Resistance of *Drosophila suzukii* to the larval parasitoids *Leptopilina heterotoma* and *Asobara japonica* is related to haemocyte load. *Physiological Entomology*, 38(1), 45-53.
- Rossi-Stacconi, M., Kaur, R., Mazzoni, V., Ometto, L., Grassi, A., Gottardello, A., . . . Anfora, G. (2016). Multiple lines of evidence for reproductive winter diapause in the invasive pest *Drosophila suzukii*: useful clues for control strategies. *Journal of Pest Science*, 89(3), 689-700.
- Salminen T, S.Hoikkala.(2013). Effect of temperature on the duration of sensitive period and on the number of photoperiodic cycles required for the induction of reproductive diapause in *Drosophila montana*. – *J. Insect Physiol.*59: 450–457.
- Sancassani, M., Tonina, L., Tirello, P., Giomi, F., Marchesini, E., Zanini, G., & Mori, N. (2016). L'.

- Shearer, P., West, J., Walton, V., Brown, P., Svetec, N., & Chiu, J. (2016). Seasonal cues induce phenotypic plasticity of *Drosophila suzukii* to enhance winter survival. *BMC Ecology*, *16*(1), 1-18.
- Shingleton, A. W., C. M. Estep, M. V. Driscoll, and I. Dworkin. 2009. Many ways to be small: different environmental regulators of size generate distinct scaling relationships in *Drosophila melanogaster*. *Proc. R Soc. B* 276: 2625–2633.
- Stephens, A., Asplen, M., Hutchison, W., & Venette, R. (2015). Cold Hardiness of Winter-Acclimated *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) Adults. *Environmental Entomology*, *44*(6), 1619-1626.
- Teets NM, Denlinger DL, 2013. Physiological mechanisms of seasonal and rapid cold-hardening in insects. *Physiol Entomol*, *38*, 105-116.
- Tochen, S., Dalton, D., Wiman, N., Hamm, C., Shearer, P., & Walton, V. (2014). Temperature-Related Development and Population Parameters for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) on Cherry and Blueberry . *Environmental Entomology*, *43*(2), 501-510.
- Toxopeus, J., Jakobs, R., Ferguson, L., Garipey, T., & Sinclair, B. (2016). Reproductive arrest and stress resistance in winter-acclimated *Drosophila suzukii*. *Journal of Insect Physiology*, *89*, 37-51.
- Tran AK, Hutchison WD, Asplen MK, 2020. Morphometric criteria to differentiate *drosophila suzukii* (diptera: Drosophilidae) seasonal morphs. *PLOS ONE*, *15*, e0228780.
- Unckless R. L., 2011.- A DNA virus of *Drosophila*.- *PLoS- ONE*, *6* (10): e26564.
- Van Timmeren S, Diepenbrock LM, Bertone MA, Burrack HJ, Isaacs R, 2017. A filter method for improved monitoring of *drosophila suzukii* (diptera: Drosophilidae) larvae in fruit. *Journal of Integrated Pest Management*, *8*.
- Vlach, J., 2010, Identifying *Drosophila suzukii*, Oregon Department of Agriculture.
- Wallingford, A., & Loeb, G. (2016). Developmental Acclimation of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) and Its Effect on Diapause and Winter Stress Tolerance. *Environmental Entomology*, *45*(4), 1081-1089.
- Walsh, D., Bolda, M., Goodhue, R., Dreves, A., Lee, J., Bruck, D., . . . Zalom, F. (2011). *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive pest of ripening soft fruit expanding its geographic range and damage potential. *Journal of Integrated Pest Management*, *2*(1), 3-9.

Yang Y, Hou ZC, Qian YH, Kang H, Zeng QT. Increasing the data size to accurately reconstruct the phylogenetic relationships between nine subgroups of the *Drosophila melanogaster* species group (Drosophilidae, Diptera). *Mol Phylogenet Evol.* 2012 Jan;62(1):214-23. doi: 10.1016/j.ympev.2011.09.018. Epub 2011 Sep 29. PMID: 21985965.

Zhai, Y., Lin, Q., Zhang, J., Zhang, F., Zheng, L., & Yu, Y. (2016). Adult reproductive diapause in *Drosophila suzukii* females. *Journal of Pest Science*, 89(3), 679-688.

Παπαναστασίου Σ. Παπαδόπουλος Ν. Σύστημα λήψης απόφασης για την αντιμετώπιση της κηλιδόπτερης δροσόφιλας, *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) σε σπωρώνες κερασιών 2020 Γεωργία Κτηνοτροφία 5; 36-39