

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ
ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**ΕΛΚΥΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΩΡΙΜΩΝ
ΦΡΟΥΤΩΝ ΕΠΙ ΤΟΥ *DROSOPHILA SUZUKII***

ΜΠΕΛΕΝΙΩΤΗ ΜΑΡΙΑ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2016

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΚΡΗΤΗΣ

ΤΜΗΜΑ ΧΗΜΕΙΑΣ

**ΑΠΟΜΟΝΩΣΗ ΚΑΙ ΣΥΝΘΕΣΗ ΦΥΣΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ
ΜΕ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΤΙΚΟΤΗΤΑ**

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΧΗΜΕΙΑΣ



ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΔΙΠΛΩΜΑ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

**ΕΛΚΥΣΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΟΥΣΙΩΝ ΩΡΙΜΩΝ
ΦΡΟΥΤΩΝ ΕΠΙ ΤΟΥ *DROSOPHILA SUZUKII***

ΜΠΕΛΕΝΙΩΤΗ ΜΑΡΙΑ

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΧΑΝΙΩΤΑΚΗΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΗΡΑΚΛΕΙΟ 2016

UNIVERSITY OF CRETE

DEPARTMENT OF CHEMISTRY

**ISOLATION AND SYNTHESIS OF NATURAL PRODUCTS
WITH BIOLOGICAL ACTIVITY**

LABORATORY ANALYTICAL CHEMISTRY



MASTER THESIS

**ATTRACTIVENESS OF RIPE FRUIT VOLATILE
COMPOUNDS TO *DROSOPHILA SUZUKII***

BELENIOTI MARIA

MASTER THESIS SUPERVISOR: CHANIOTAKIS NIKOLAOS

HERAKLION 2016

Στους γονείς μου, Γιώργο και Ελένη

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ

Χανιωτάκης Νικόλαος(Επιβλέπων Καθηγητής)

Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

Βόντας Ιωάννης

Αναπληρωτής Καθηγητής Γεωπονικού Πανεπιστημίου Αθηνών

Κατερινόπουλος Χαράλαμπος

Καθηγητής Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας του Τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης στα πλαίσια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών 'Απομόνωση και Σύνθεση Φυσικών Προϊόντων με Βιολογική Δραστικότητα' και στο εργαστήριο Μοριακής Εντομολογίας του Τμήματος Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης.

Αρχικά θα ήθελα να ευχαριστήσω το Πανεπιστήμιο Κρήτης και ειδικότερα το Τμήμα Χημείας και τα μέλη του, που με δέχτηκαν στο Πρόγραμμα των Μεταπτυχιακών Σπουδών, καθώς και για τις υποδομές και το υλικοτεχνικό υλικό που μου προσέφεραν.

Θα ήθελα να εκφράσω την ευγνωμοσύνη μου στον επιβλέποντα καθηγητή μου, κ. Χανιωτάκη που με εμπιστεύτηκε και δέχτηκε να συμμετέχω στην ερευνητική του ομάδα στο εργαστήριο Αναλυτικής Χημείας και να τον ευχαριστήσω για την υπομονή, τη συνεργασία και την πολύτιμη καθοδήγηση του αυτά τα χρόνια.

Ευχαριστώ θερμά τα μέλη της Εξεταστικής Επιτροπής: τον καθηγητή Τμήματος Επιστήμης Φυτικής Παραγωγής του Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθήνας, Βόντα Ιωάννη και τον καθηγητή του τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου Κρήτης, Κατερινόπουλο Χαράλαμπο για τη συμμετοχή τους στην αξιολόγηση της εργασίας μου.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω την ομάδα του εργαστηρίου και ιδιαίτερα τον φίλο μου Ρούσσο Γιώργο για την πολύτιμη βοήθεια, την καθοδήγηση και τη στήριξη του.

Τέλος ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στους φίλους μου για την υπομονή και την συμπαράσταση και πάνω από όλα στους γονείς μου, Γιώργο και Ελένη καθώς και στην αδερφή μου, Εύη για την ηθική και οικονομική στήριξη τους όλα αυτά τα χρόνια για να πραγματοποιήσω τα όνειρα μου.

Μιωλεμώτη Μαρία

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΕΞΕΤΑΣΤΙΚΗ ΕΠΙΤΡΟΠΗ.....	I
ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	II
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ	III
ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	1
ABSTRACT	2

ΜΕΡΟΣ Α

ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	4
1. <i>Drosophila suzukii</i>	4
1.1. Μορφολογία και Βιολογία του <i>Drosophila suzukii</i>	6
1.2. Διασπορά του <i>Drosophila suzukii</i>	12
1.3. Ξενιστές του <i>Drosophila suzukii</i>	14
1.4. Ζημίες.....	16
1.5. Οικονομικές επιπτώσεις.....	17
2. Ολφακτορικό Σύστημα Εντόμων – Ελκυστικές Ουσίες	20
2.1. Χημικοδεκτικά Αισθητήρια	20
2.2. Ολφακτορικό Σύστημα του <i>Drosophila suzukii</i>	21
2.3. Πτητικές Ουσίες.....	23
3. Μέθοδοι Ελέγχου Ελκυστικότητας Πτητικών Ουσιών	27
4. Μελέτες ελκυστικότητας για το <i>Drosophila suzukii</i>	31
5. Ολοκληρωμένη Διαχείριση Επιβλαβών Οργανισμών.....	33

ΜΕΡΟΣ Β

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ.....	36
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ.....	37
6. Επιβεβαίωση ύπαρξης <i>Drosophila suzukii</i> στο νομό Ηρακλείου	37
7. Καλλιέργεια Πληθυσμού.....	39
8. Έλεγχος Ελκυστικότητας Ουσιών.....	40
8.1. Κατασκευή Ολφακτομέτρου.....	40
8.2. Βελτιστοποίηση συνθηκών λειτουργίας ολφακτομέτρου.....	41
8.3. Βιοδοκιμές.....	41
ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ	44
Α. Θηλυκά Ακμαία.....	45
Α.1. Απόκριση θηλυκών ακμαίων σε κάθε ουσία χωριστά.....	45
Α.2. Απόκριση θηλυκών ακμαίων σε συνδυασμούς ουσιών.....	51
Β. Αρσενικά Ακμαία	53
Β.1. Απόκριση αρσενικών ακμαίων σε κάθε ουσία χωριστά.....	53
Β.2. Απόκριση αρσενικών ακμαίων σε συνδυασμούς ουσιών.....	57
Γ. Σύγκριση Αρσενικών και Θηλυκών.....	59
ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	61
ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ.....	63
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ	64
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	65
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ.....	71

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το *Drosophila suzukii* (Matsumura), είναι μία μύγα φρούτων, με χαρακτηριστικό γνώρισμα τις μαύρες κηλίδες στα φτερά του αρσενικού εντόμου (**Spotted Wing Drosophila, SWD**). Είναι ένα πολυφάγο έντομο, έχοντας ως ξενιστές τα μικρά φρούτα και συγκεκριμένα τα καρποφόρα, τα σταφύλια, τα βατόμουρα, τα σμέουρα κ.α. Ο ωothέτης του θηλυκού μπορεί να προκαλέσει καταστροφές στα φρούτα μειώνοντας την εμπορική τους αξία. Το εξαιρετικά ζημιογόνο έντομο, *Drosophila suzukii*, έχει ήδη καταγραφεί σε Ασία, Αμερική και Ευρώπη προκαλώντας μεγάλες οικονομικές ζημιές και πλέον η εξάλειψη και ο περιορισμός του εντόμου δεν φαίνεται να είναι εφικτά.

Στις μέρες μας ο κυριότερος τρόπος αντιμετώπισης των επιβλαβών οργανισμών είναι τα εντομοκτόνα, γεγονός όμως που επιβαρύνει το περιβάλλον λόγω της αλόγιστης χρήσης τους. Παράλληλα χρησιμοποιούνται δολωματικές παγίδες οι οποίες εμπεριέχουν διάλυμα από πτητικές ουσίες όπως αιθανόλη, οξικό οξύ και αιθανικό αιθυλεστέρα ή χυμούς φρούτων από σταφύλια και μήλα που έχουν υποστεί ζυμώσεις έχοντας ως στόχο τον έλεγχο του πληθυσμού του εντόμου. Βασικό μειονέκτημα των παγίδων αυτών είναι η μειωμένη αποτελεσματικότητά και η εκλεκτικότητά τους ως προς το έντομο-στόχο.

Στην παρούσα εργασία, κατασκευάζεται μια βελτιστοποιημένη μορφή γυάλινου ολφακτομέτρου και πραγματοποιούνται βιοδοκιμές με στόχο τη μελέτη ελκυστικότητας των πτητικών ουσιών, αιθανόλη, οξικό οξύ, λιναλοόλη και βενζαλδεΐδη, μόνες τους και σε συνδυασμό, ως προς τα θηλυκά και τα αρσενικά ενήλικα του εντόμου.

Οι δύο βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ελκυστικότητα των ουσιών είναι η συγκέντρωση της ουσίας και η κατάσταση του εντόμου (ατροφία ή μη). Ο παράγοντας τροφής διαφοροποιεί τη συμπεριφορά μόνο των θηλυκών ακμαίων και όχι των αρσενικών. Τα θηλυκά αποκρίνονται διαφορετικά σε μια ουσία και η απόκρισή τους εξαρτάται άμεσα από την ανάγκη της ωοτοκίας ή της τροφής. Την μεγαλύτερη ελκυστικότητα την εμφάνισε ο συνδυασμός αιθανόλης και οξικού οξέος, και για θηλυκά και για τα αρσενικά ακμαία, ανεξαρτήτως κατάστασης (ατροφίας ή μη). Τέλος, ο συνδυασμός αιθανόλης, οξικού οξέος και λιναλοόλης είναι εξίσου ελκυστικός μόνο για τα θηλυκά ακμαία που έχουν την ανάγκη για ωοτοκία.

Λέξεις Κλειδιά: *Drosophila suzukii*, ελκυστικότητα, ολφακτόμετρο, πτητικές ουσίες

ABSTRACT

Drosophila suzukii, (Matsumura), the fruit fly Spotted Wing *Drosophila* (SWD), is one of the most serious polyphagous pest of many small fruits, specifically stone fruits, berries and grapes. Ovipositor of the female can cause physical damages to the host fruit upon insertion, rending it soft and thus of no commercial value. *Drosophila suzukii* has already been recorded in America and Europe, causing significant economic damages.

Nowadays, the main way to control and manage fruit flies is the use of insecticides, which can cause various environmental problems. Another control method is the use of traps. These traps are loaded with ethanol, acetic acid and ethyl acetate, and have been shown to be effective in trapping *Drosophila suzukii*. The use of fermented fruit juices, especially from grapes and apples, has also been shown to be quite effective for the control of fruit flies. The main disadvantage of these traps is the reduced effectiveness and selectivity to the target insect.

In this study, we have developed a custom, dual choice, Y-shaped glass tube (olfactometer) with which we examined the efficacy of several volatile compounds as SWD attractants. We used acetic acid, ethanol, linalool and benzaldehyde, either separately or in different combinations, on both male and female SWD insects.

We have shown that the two main factors affecting the attractiveness of the baits are the concentration of the compounds, and the pest state (starvation or not). The starvation factor influences the behavior of female and not the male ones. The females respond differently to a attractants and their response is directly dependent on the need of oviposition or feed. The most attractive bait combination contains ethanol and acetic acid and acts on both female and male SWD. Finally, the mixture of ethanol, acetic acid and linalool is attractive for only female that are in need for oviposition.

Key Words: *Drosophila suzukii*, attractiveness, olfactometer, volatile compounds

ΜΕΡΟΣ Α

ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η οικονομία πολλών χωρών της Αμερικής, της Ασίας και κυρίως της Μεσογείου, εξαρτάται άμεσα από τη γεωργία, ένα σημαντικό κομμάτι της οποίας αποτελούν οι καλλιέργειες φρούτων. Τα φρούτα όμως γίνονται συχνά στόχος διαφόρων επιβλαβών οργανισμών που είτε ζουν παρασιτικά με τη βοήθειά τους, είτε τα χρησιμοποιούν για την εναπόθεση αυγών και την αναπαραγωγή τους. Αυτό οδηγεί σε μερική ή ακόμα και σε ολική καταστροφή των παραγόμενων φρούτων και έχει ως συνέπεια την μεγάλη οικονομική ζημία για μια χώρα. Για το λόγο αυτό κρίνεται επιτακτική η προστασία των καλλιεργειών από τέτοιου είδους οργανισμούς.

1. *Drosophila suzukii*

Ένας εξαιρετικά επιζήμιος οργανισμός στην παραγωγή φρούτων είναι το δίπτερο έντομο *Drosophila suzukii* (*D. suzukii*), το οποίο θα μας απασχολήσει στη συγκεκριμένη εργασία. Το *D. suzukii* ανήκει στην κλάση των εντόμων, στην τάξη των δίπτερων και στην οικογένεια των Drosophilidae. Περισσότερες λεπτομέρειες για την κατανόηση της ταξινόμησής του στο ζωικό βασίλειο, φαίνονται στον παρακάτω πίνακα 1.

Πίνακας 1: Ταξινόμική περιγραφή του εντόμου *D. suzukii*

Κλάση: Έντομα
Τάξη: Δίπτερα
Οικογένεια: Drosophilidae
Γένος: <i>Drosophila</i>
Είδος: <i>Suzukii</i>

Η οικογένεια δίπτερων εντόμων Drosophilidae αριθμεί περισσότερα από 3.750 είδη σε όλο τον κόσμο και 2.000 από αυτά ανήκουν στο γένος *Drosophila*, ένα γένος με ποικίλα

είδη (Ashburner *et al.*, 2005, Van Der Linde and Houle 2008). Μόνο στην Αυστραλία έχουν περιγραφεί περίπου 34 είδη *Drosophila* και τα 22 από αυτά προέρχονται από το υπογένος της ομάδας *Sophophora* (Ashburner *et al.*, 2005).

Η υποομάδα του *D. suzukii* θεωρείται πολυφυλετική, δηλαδή έχει περισσότερες από μία προγονικές καταγωγές. Πρόσφατες έρευνες υποστηρίζουν ότι η ταξινομική θέση της υποομάδας *suzukii* συνδέεται στενά με εκείνη της *takahashii* και της *melanogaster* (Yang *et al.*, 2012 και Ometto *et al.*, 2013).

Το είδος *melanogaster* έχει μελετηθεί εκτεταμένα σε διάφορους επιστημονικούς κλάδους όπως η Γενετική, η Βιολογία και η Εντομολογία λόγω της οικολογικής του προσαρμογής και του υψηλού αναπαραγωγικού ρυθμού του (Ometto *et al.*, 2013). Το *D. melanogaster* είναι γνωστό ως την ‘κοσμοπολίτικη’ μύγα φρούτων, η οποία τρέφεται κατά κύριο λόγο με προϊόντα ζύμωσης και το θηλυκό εναποθέτει τα αυγά του σε πεσμένα υπερώριμα φρούτα (Mitsui *et al.*, 2010, Ometto *et al.*, 2013, Walsh *et al.*, 2011).

Το είδος *suzukii* είναι μια νέα μύγα φρούτων που απασχολεί την επιστημονική κοινότητα τα τελευταία χρόνια, στην προσπάθεια να δημιουργηθούν νέα επιστημονικά δεδομένα για την αντιμετώπισή του. Είναι ένα ιθαγενές έντομο της Νοτιοανατολικής Ασίας, το οποίο έχει εξαπλωθεί και εγκατασταθεί στην Αμερική και στην Ευρώπη. Βασική ειδοποιός διαφορά με το *D. melanogaster*, που το καθιστά άκρως επικίνδυνο, είναι ότι το θηλυκό έντομο εναποθέτει τα αυγά του σε ώριμους καρπούς που βρίσκονται ακόμα πάνω στους κλάδους, προκαλώντας ζημιές και επιφέροντας τεράστιες οικονομικές απώλειες (De Bruyne *et al.*, 2010).

1.1. Μορφολογία και Βιολογία του *Drosophila suzukii*

Βασικό εργαλείο για τον έλεγχο και την αποτελεσματική αντιμετώπιση ενός εντόμου είναι η μελέτη των μορφολογικών χαρακτηριστικών του, ο βιολογικός του κύκλος καθώς και η οικολογία του.

1.1.1. Βιολογικός Κύκλος¹ (Life Cycle)

Τα ενήλικα του *D. suzukii* συνήθως χρειάζονται δύο με τρεις ημέρες μετά την εμφάνισή τους για να γίνουν σεξουαλικά ώριμα, ενώ το μεγαλύτερο διάστημα που έχει καταγραφεί είναι δεκατρείς ημέρες (Kanzawa 1935, Kanzawa 1939). Η διάρκεια ζωής τους κυμαίνεται κατά μέσο όρο στις 21 με 66 ημέρες. Το θηλυκό (Εικόνα 1.1) έχει τη δυνατότητα να εναποθέσει 7-16 αυγά ανά ημέρα, ενώ βρέθηκε με εργαστηριακές δοκιμές ότι μπορεί να γεννήσει έως και 384 αυγά καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του (Kanzawa 1939). Επιπλέον, στο ίδιο φρούτο μπορούν να εναποθέσουν τα αυγά τους περισσότερα από ένα θηλυκά. Τα αυγά κατανέμονται τυχαία μέσα στον καρπό και ο αριθμός τους εξαρτάται από το στάδιο ωρίμανσης του φρούτου (Mitsui *et al.*, 2006).



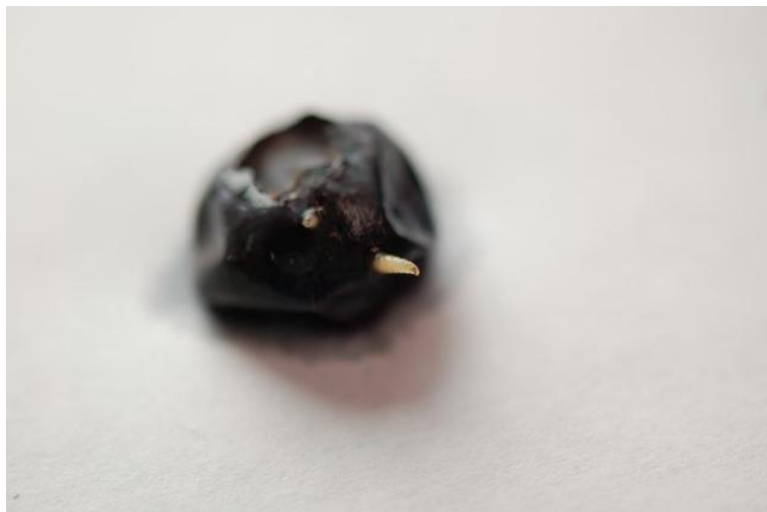
Εικόνα 1.1: Θηλυκό του *D. suzukii* τη στιγμή που ωτοκεί

Photo credit to Dr. Elizabeth Beers, Orchard Pest Management Online, Washington State University

¹ Βιολογικός Κύκλος ενός εντόμου (*Life Cycle*) είναι το σύνολο των σταδίων ανάπτυξης του, από την ωοτοκία μέχρι και το ενήλικο άτομο (ακμαίο).

Ο χρόνος ανάπτυξης των αυγών μεταβάλλεται ανάλογα με τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Συνήθως, εκκολάπτονται μέσα σε μία ημέρα, αλλά εν δυνάμει μπορούν είτε γρηγορότερα είτε σε μεγαλύτερο διάστημα, το οποίο υπολογίζεται από 20 ώρες έως και 4 ημέρες (Kanzawa 1939).

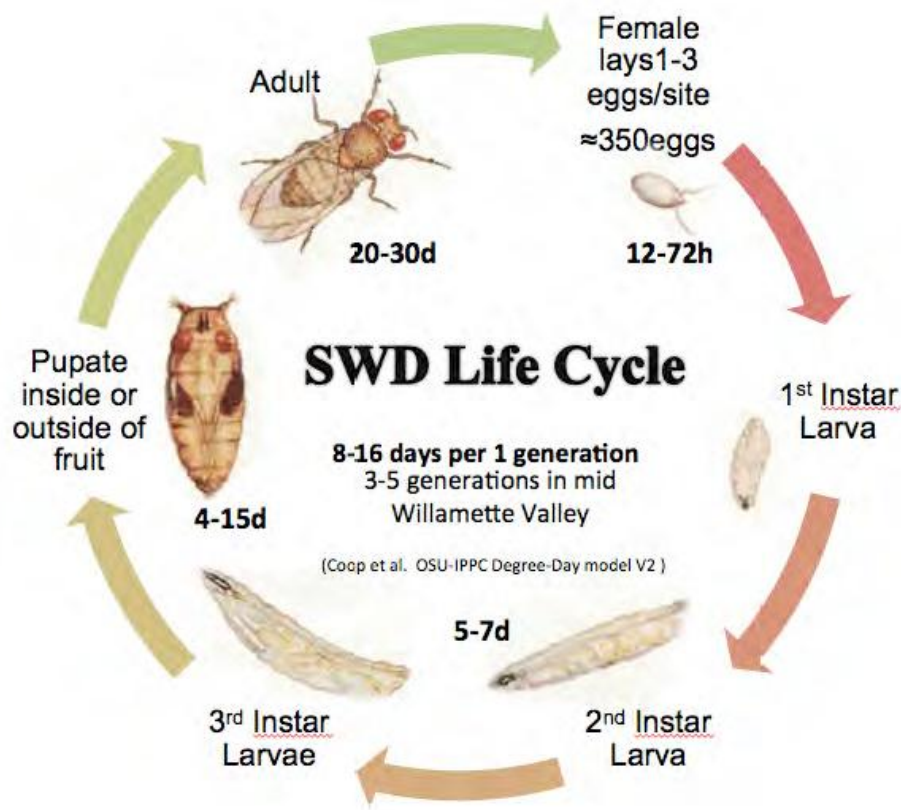
Το δεύτερο στάδιο του βιολογικού κύκλου είναι οι προνύμφες όπου χρειάζονται πέντε με επτά ημέρες για να ολοκληρωθεί η διατροφή τους (Εικόνα 1.2) και να περάσουν στο τρίτο στάδιο, της νύμφης (Kanzawa 1939).



Εικόνα 1.2: Προνύμφη του *D. suzukii* η οποία τρέφεται με βατόμουρο
Photo credit to Dr. Amy J. Dreves, Oregon State University, Crop & Soil Science Dept

Εκείνες με τη σειρά τους απαιτούν κατά μέσο όρο 4-14 ημέρες για να καταναλώσουν όλα τα απαραίτητα θρεπτικά συστατικά που χρειάζονται και να μεταβούν στο ενήλικο στάδιο (Kanzawa 1939)

Στην παρακάτω εικόνα 1.3 παρουσιάζεται σχηματικά ο βιολογικός κύκλος του *D. suzukii*, ο οποίος επηρεάζεται άμεσα από τη θερμοκρασία και μπορεί να διαρκέσει από μία έως δύο εβδομάδες, ένα μήνα και πολύ περισσότερο σε ψυχρότερες καιρικές συνθήκες (Coop and Dreves 2013).



Εικόνα 1.3: Γραφική απεικόνιση του Βιολογικού Κύκλου του *Drosophila suzukii*
Diagram credit to Tanya Telshow, Oregon State University, Crop & Soil Science Dept

Ακόμα και σε εργαστηριακές συνθήκες, ο χρόνος ενός βιολογικού κύκλου εξαρτάται άμεσα από τη θερμοκρασία. Στους 15°C απαιτούνται 21-25 ημέρες, ενώ στους 25°C απαιτούνται 8-13 ημέρες (Kanzawa 1939). Σε πρόσφατες εργαστηριακές δοκιμές στις Η.Π.Α. αποδείχτηκε ότι μία γενεά μπορεί να ολοκληρωθεί σε 12 ημέρες στους 26°C (Brewer *et al.*, 2011). Το μικρό χρονικό διάστημα που απαιτείται για την ολοκλήρωση ενός κύκλου, είναι ένας από τους βασικούς λόγους που το καθιστούν επικίνδυνο, μιας και επιτρέπει στο *D. suzukii* να ολοκληρώνει αρκετές γενεές σε μία εποχή, με δυνατότητα να φτάσει μέχρι και τις 13 (Kanzawa 1939). Κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου, όπου οι θερμοκρασίες μειώνονται, τα ακμαία εισέρχονται σε διάπαυση² μέχρι και την επόμενη άνοιξη όπου οι θερμοκρασίες γίνονται πιο ευνοϊκές (Kanzawa 1939).

² Διάπαυση καλείται η κατάσταση των εντόμων κατά την οποία αναστέλλεται η ανάπτυξή τους σε ορισμένο στάδιο του βιολογικού τους κύκλου, ακόμα και αν οι συνθήκες του περιβάλλοντος είναι ευνοϊκές.

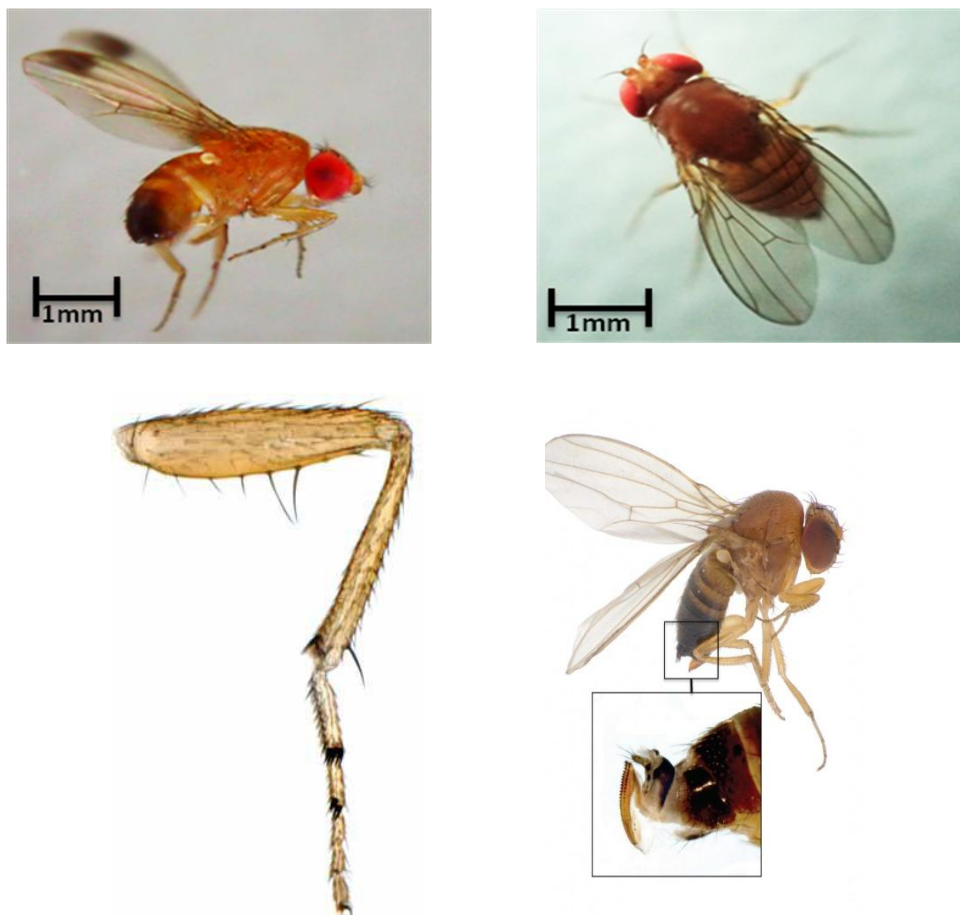
Γενικότερα το *D. suzukii* προτιμάει ήπιο κλίμα αλλά μπορεί όμως να επιβιώσει και σε συνθήκες ψύχους (Kanzawa 1939). Τα ενήλικα άτομα είναι σε θέση να αντέχουν σε μεγαλύτερες περιόδους ψύχους σε σχέση με τις προνύμφες ή τις νύμφες ενώ τα θηλυκά μπορούν να επιβιώσουν και τον χειμώνα βρίσκοντας εναλλακτικούς τρόπους σίτισης, δηλαδή μη καρποφόρες καλλιέργειες (Walsh *et al.*, 2011). Η βέλτιστη ενεργητικότητα των εντόμων είναι στους 20°C. Αν και η δραστηριότητά τους μειώνεται σε θερμοκρασία άνω των 30°C και κάτω των 0°C, υπάρχει σημαντικός αριθμός που καταφέρνει να επιβιώσει και αυτό αποδεικνύεται με το γεγονός ότι το *D. suzukii* έχει εδραιωθεί στο νησί Χοκάιντο της Ιαπωνίας, όπου οι χειμώνες έχουν κατά μέσο όρο -4 έως -12°C (Kimura 2004). Έχει επίσης παρατηρηθεί ότι τα θηλυκά γονιμοποιούνται πριν από το χειμώνα, γεγονός που αυξάνει την ικανότητα επιβίωσής τους την περίοδο αυτή (Walsh *et al.*, 2011). Παράλληλα είναι πολύ ευαίσθητα σε ξηρά κλίματα, ωστόσο έχουν την ικανότητα να αναπτύσσουν ανθεκτικότητα με την πάροδο του χρόνου και να εγκλιματίζονται σε διαφορετικές κλιματολογικές συνθήκες δημιουργώντας μηχανισμούς άμυνας (Davidson 1990, Bradley *et al.*, 1999).

Η παρακολούθηση του *D. suzukii* σε περιοχές που έχει εγκατασταθεί, όπως στην κοιλάδα Willamette του Όρεγκον, παρέχει στους καλλιεργητές πληροφορίες για τη διαχείριση και την πυκνότητα του πληθυσμού. Επιπλέον είναι σημαντική για την εκτίμηση της πρόωρης αύξησής του καθώς και για το χρονοδιάγραμμα έναρξης της ωοτοκίας στις καρποφόρες καλλιέργειες (Walsh *et al.*, 2011).

1.1.2. Μορφολογία

Το ακμαίο του *D. suzukii* είναι ένα μικρό έντομο (fruit fly) μήκους 2-3,5mm και το άνοιγμα των φτερών του είναι 6-8mm (Kanzawa 1939, Kawase and Uchino 2005). Έχει χρώμα κίτρινο-καφέ, με μαύρες ζώνες στην κοιλιά και οφθαλμούς ζωρού κόκκινου χρώματος. Τα αρσενικά ακμαία (2,6-2,8mm) είναι συνήθως μικρότερα από τα θηλυκά (3,2-3,4mm) και μπορούν πολύ εύκολα να διακριθούν σε σχέση με τα άλλα είδη του γένους *Drosophila* εξαιτίας των δύο μαύρων κηλίδων που έχουν στην άκρη των πρόσθιων πτερυγών, εξ' ου και το χαρακτηριστικό του όνομα **Spotted Wing Drosophila (SWD)** (Εικόνα 1.4). Αξίζει να σημειωθεί ότι οι κηλίδες στα φτερά των αρσενικών εμφανίζονται μερικές ώρες μετά την έξοδο (εμφάνιση) των ακμαίων. Επιπλέον, έχουν δύο σειρές από σκουρόχρωμα χτένια σε κάθε πρόσθιο ταρσό (μέρος του ποδιού του εντόμου) (Εικόνα 1.4).

Τα θηλυκά ακμαία δεν έχουν κανένα από τα δύο αυτά χαρακτηριστικά. Διαθέτουν έναν μεγάλο πριονωτό ωοθέτη, που τον χρησιμοποιούν για να τρυπήσουν την εξωτερική επιφάνεια των φρούτων και να εναποθέσουν τα αυγά τους (Kanzawa 1939, Dreves *et al.*, 2009, Hauser *et al.*, 2009).



Εικόνα 1.4: Ακμαίο αρσενικό (πάνω αριστερά), ακμαίο θηλυκό (πάνω δεξιά), σκουρόχρωμα χτένια στον πρόσθιο ταρσό του αρσενικού (κάτω αριστερά) και πριονωτός ωσθέτης (κάτω δεξιά) (Dreves *et al.*, 2009)

Τα αυγά είναι λευκού χρώματος και κατά μέσο όρο το μέγεθός τους είναι 0,62 x 0,18 mm (μήκος x πλάτος) (Kanzawa 1939). Κατά μήκος του αυγού υπάρχουν δύο σωλήνες που χρησιμοποιούνται για την αναπνοή, με μήκος 0,67mm (Εικόνα 1.5).

Οι προνύμφες διακρίνονται σε 3 προνυμφικά στάδια, το μέγεθος των οποίων υπολογίζεται κατά μέσο όρο 0,67 x 0,17mm, 2,13 x 0,40mm και 3,94 x 0,88 mm για το πρώτο, το δεύτερο και το τρίτο στάδιο αντίστοιχα (Kanzawa 1939). Το χρώμα τους είναι λευκό και μπεζ (Εικόνα 1.5).



Εικόνα 1.5: Αυγά με τους αναπνευστικούς σωλήνες (αριστερά) και προνύμφη μέσα σε κεράσι (Bolda *et al.*, 2009)

Οι νύμφες του εντόμου έχουν σκούρο καφέ χρώμα και μέγεθος 3 x 1mm (Kanzawa 1939) (Εικόνα 1.6). Η διαδικασία της αναπνοής πραγματοποιείται από δύο διακριτές κωνοειδείς προεξοχές του κεφαλιού με μήκος 0,3mm (Εικόνα 1.6) οι οποίες χωρίζονται σε οκτώ περαιτέρω τμήματα στα άκρα (Kanzawa 1935). Τα μη ενήλικα στάδια της ζωής του εντόμου είναι μορφολογικά όμοια (Ferrar 1987) και η αναγνώριση του εντόμου σε αυτό το στάδιο είναι αρκετά δύσκολη. Ωστόσο, τα ανώριμα στάδια μπορούν να προσδιοριστούν με μοριακή ανάλυση (Hauser 2011, Okanta 1968).



Εικόνα 1.6: Νύμφη κατά την έξοδό της από ένα φρούτο (αριστερά) και μετά από αυτήν (δεξιά) (Dreves *et al.*, 2009)

1.2. Διασπορά του *Drosophila suzukii*

Ένα επιπλέον χαρακτηριστικό του εντόμου *D. suzukii* που το καθιστά εξαιρετικά επικίνδυνο είναι η ραγδαία διασπορά του τα τελευταία χρόνια από την Ασία στην Αμερική και εν συνεχεία στην Ευρώπη.

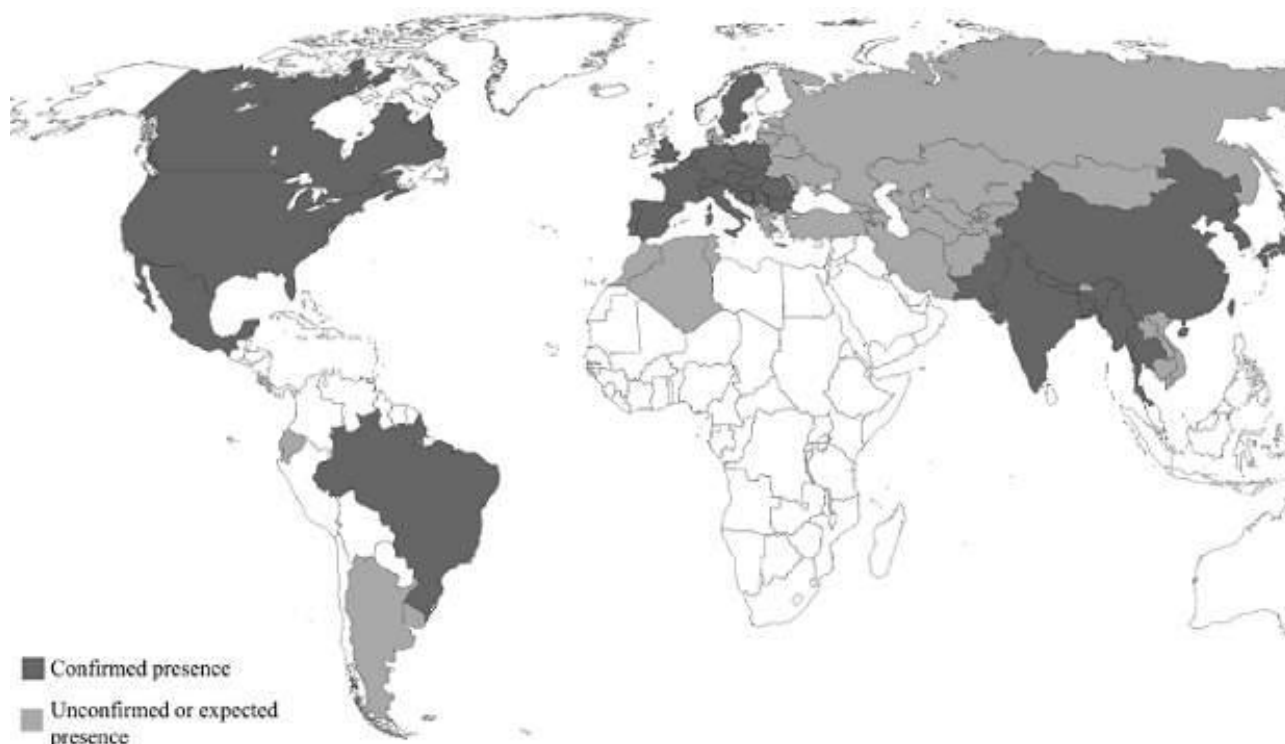
1.2.1. Ασία και Αμερική

Το *D. suzukii* θεωρείται ιθαγενές έντομο της Ασίας (Kanzawa 1935, Dreves *et al.*, 2009, Hauser *et al.*, 2009), υπόθεση που πρόσφατα αποδείχθηκε με γενετική ανάλυση (Ometto 2013). Η πρώτη περιγραφή έγινε στην Ιαπωνία το 1916 και εν συνεχεία επεκτάθηκε στην Κίνα και στην Κορέα (Kanzawa 1935, Hauser *et al.*, 2009, Lee 1964). Στην Ινδία και το Πακιστάν έχει περιορισμένη κατανομή και ειδικότερα συναντάται στα μεγάλα υψόμετρα των βόρειων περιοχών (Hauser *et al.*, 2009, Singh and Bhatt 1988, Singh and Negi 1989, (Amin Ud Din *et al.*, 2005). Επίσης, έχει καταγραφεί στη Μιανμάρ (Toda 1991), στην Ταϊλάνδη (Okada 1976) και στην Άπω Ανατολή της Ρωσίας (Sidorenko 1992) (Εικόνα 1.7).

Στη Βόρεια Αμερική το *D. suzukii* έχει καταγραφεί από τις Η.Π.Α. μέχρι και τον Καναδά. Η πρώτη καταγραφή έγινε στη Χαβάη το 1980 (Kaneshiro 1983). Το 2008 καταγράφεται στην Καλιφόρνια (Lee *et al.*, 2011b) και από τότε έχει εξαπλωθεί στη Φλόριντα, στο Όρεγκον, στην Ουάσιγκτον και στην Κολομβία (WSUE 2009, Hueppelshueser 2009, Snyder 2010). Στις Η.Π.Α. δεν υφίστανται περιορισμοί 'καραντίνας'³ και αυτό είχε ως αποτέλεσμα η κατανομή του πληθυσμού να επεκταθεί και στις ανατολικές πολιτείες μέχρι το 2009 (Hauser *et al.*, 2009).

Αργότερα ο πληθυσμός του εντόμου επιβεβαιώνεται στο Μεξικό, στη Βόρεια και Νότια Καρολίνα, τη Λουιζιάνα, τη Γιούτα και το Μίσιγκαν. (NAPPO 2011, Burrack 2010, Isaacs *et al.*, 2010). Παράλληλα, το έντομο καταγράφεται στη Κεντρική και Νότια Αμερική (Hauser 2011) (Εικόνα 1.7).

³ Επιβλαβής οργανισμός καραντίνας θεωρείται ένας οργανισμός με πιθανή οικονομική σημασία για την περιοχή η οποία κινδυνεύει από αυτόν και στην οποία δεν είναι ακόμη παρών, ή είναι παρών αλλά δεν έχει εξαπλωθεί ευρέως και βρίσκεται υπό επίσημο έλεγχο.



Εικόνα 1.7: Παγκόσμιος χάρτης διασποράς του *D. suzukii* μέχρι και το Μάιο 2015
<http://www.freshplaza.com/>

1.2.2. Ευρώπη

Στην Ευρώπη, η πρώτη αναφορά γίνεται το φθινόπωρο του 2008 στην Ισπανία (Calabria *et al.*, 2012) καθώς και στην Τοσκάνη της Ιταλίας (Raspi *et al.*, 2011). Το 2009 ενήλικος πληθυσμός του *D. suzukii* αναγνωρίζεται σε περιοχές της Ισπανίας στα σύνορά της με τη Γαλλία (Grassi *et al.*, 2009, Calabria *et al.*, 2012). Από το 2010 έως και το 2011 το εύρος κατανομής του πληθυσμού του εντόμου αυξάνεται.

Στην Ιταλία καταγράφεται σε πολλές περιοχές (Franchi and Barani 2011, Pansa *et al.*, 2011, Süß and Costanzi 2011, Griffó *et al.*, 2012) όπως και στη Γαλλία (Mandrin *et al.*, 2010, Weydert and Bourgouin 2011). Εν συνεχεία, γίνεται η πρώτη καταγραφή σε πολλές άλλες Ευρωπαϊκές χώρες όπως στην Ελβετία (Baroffio and Fisher, 2011), στη Σλοβενία (Seljiak, 2011), στην Κροατία, στην Αυστρία (Lethmayer, 2011), στη Γερμανία (Vogt *et al.*, 2012) και στο Βέλγιο (Εικόνα 1.1.7). Το καλοκαίρι του 2014 καταγράφεται για πρώτη φορά και στην Ελλάδα (Εικόνα 1.7).

1.3. Ξενιστές του *Drosophila suzukii*

Το *D. suzukii* όπως έχει αναφερθεί και παραπάνω είναι ένα εξαιρετικά πολυφάγο έντομο. Το εύρος ξενιστών⁴ του ποικίλει και περιλαμβάνει καλλιεργούμενα φρούτα, άγριες ποικιλίες αυτών και ζιζάνια. Ειδικότερα οι προτιμώμενοι ξενιστές είναι τα καρποφόρα (κεράσια, ροδάκινα, βερίκοκα, νεκταρίνια) οι φράουλες και τα σταφύλια, αλλά παρ' όλα αυτά σε περίπτωση απουσίας αυτών μπορεί να βρει διαφορετικές πηγές τροφής επί παραδείγματι, καρπούς βελανιδιάς (Kanzawa 1935).

Η μεγάλη ποικιλία των ήδη τεκμηριωμένων ξενιστών καθώς και η παρουσία του στα καλλωπιστικά αυτοφυή φυτά (άγριο τριαντάφυλλο, κρανιά, κουτσουπιά, καμέλια) σε όλα τα παράκτια κράτη του Ειρηνικού, του Ατλαντικού ωκεανού και της Μεσογείου υποδηλώνει την ύπαρξη εναλλακτικών πηγών τροφής. Αυτό σε συνδυασμό με το ότι οι ξενιστές του, εναλλακτικοί και μη, ωριμάζουν όλο τον χρόνο σε διαφορετικές χρονικές στιγμές επιδεινώνει την ανησυχία για την εξάπλωση του εντόμου (Mitsui *et al.*, 2010). Στον παρακάτω πίνακα οι ξενιστές ομαδοποιούνται με βάση την οικογένεια (Πίνακας 2) (Kanzawa 1939, Grassi *et al.*, 2012, Lee *et al.*, 2011b, Seljak, 2011, Walsh *et al.*, 2011).

⁴ Στην Εντομολογία, με τον όρο 'φυτό-ξενιστής' νοείται κάθε φυτό που προσβάλλεται από ένα φυτοφάγο έντομο, παρά το ότι η σχέση μεταξύ των δύο ειδών δεν είναι σχέση ξενιστή-παρασίτου. Συνεπώς, κατά κανόνα χρησιμοποιούμε τους όρους 'φυτό-ξενιστής' και 'έντομο-εχθρός'.

Πίνακας 2: Ομαδοποίηση ξενιστών με βάση την οικογένεια

Plant Family	Backyard fruits	Wildland, ornamental fruits and weeds
Rosaceae	Asian pear Asian plum (Prunus spp.) Blackberry (Rubus spp.) Cherry (Prunus spp.) [*] Damaged apples [*] Italian prune (Prunus domestica) [*] Loganberry (Rubus ursinus var. loganobaccus) [*] Marionberry (Rubus L. subgenus Rubus) [*] Other caneberries Peach (Prunus spp.) [*] Plumcot Raspberry (Rubus spp.) [*] Strawberry (Fragaria spp.) [*]	Wild rose; rose hips (Rosa spp.) Flowering crabapple (Malus spp.) Hawthorne (Crateagus spp.) Himalayan wild blackberry (Rubus armeniacus)1 Mountain ash (Sorbus spp.) Ornamental blackberry/raspberry Ornamental plum and cherry (Prunus spp.) Elderberry (Sambucus spp.)
Ericaceae	Blueberry (Vaccinium spp.) [*]	
Elaeagnaceae		Sea buckthorn (Hippophae rhamnoides)
Sapindaceae		Soapberry (Sapindus spp.)
Caprifoliaceae		Japanese honeysuckle (Lonicera japonica) Snowberry (Symphoricarpos spp.)
Moraceae	Fig (Ficus spp.) [*]	Mulberry (Morus spp.)1 Osage orange (Maclura pomifera)
Cornaceae		Japanese dogwood (Cornus kousa)1
Vitaceae	Grape, Table and Wine (Vitis spp.)	
Solanaceae	Damaged tomatoes [*]	Nightshade (Solanum spp.) Pokeweed (Phytolacca sp.)
Ebenaceae	Damaged persimmons (Diospyros spp.)	
Actinidiaceae	Kiwi (Actinidia spp.) [*]	

^{*} Επιβεβαιωμένες προσβολές

1.4. Ζημίες

Τα περισσότερα είδη της οικογένειας Drosophilidae εναποθέτουν τα αυγά τους σε μη υγιή και υπερώριμα φρούτα σε αντίθεση με το *D. suzukii* που τα εναποθέτει σε ώριμα και υγιή, μη τραυματισμένα φρούτα (Sasaki and Sato 1995). Ως εκ τούτου ώριμοι καρποί προτιμώνται σε σύγκριση με τους υπερώριμους (Mitsui *et al.*, 2006).

Οι περισσότερες ζημίες προκαλούνται από τις προνύμφες που τρέφονται με τη σάρκα των φρούτων δημιουργώντας καφέ, μαλακές και βυθισμένες περιοχές στο φλοιό (Εικόνα 1.8) (Kanzawa 1939, Mitsui *et al.* 2006, Lee *et al.* 2001b). Αυτό θέτει σε κίνδυνο την εμπορευσιμότητα των φρούτων, καθώς δημιουργεί κατάλληλο περιβάλλον για προσέλκυση και άλλων εντόμων, όπως για παράδειγμα του *D. melanogaster* (Bolda *et al.*, 2010).



Εικόνα 1.8: Μολυσμένο βατόμουρο (αριστερά), παρουσίαση μαλακών και βυθισμένων περιοχών δύο εβδομάδες μετά την έξοδο του *D. suzukii* (δεξιά) Photo by Vaughn Walton

Ωστόσο η εισαγωγή του οδοντωτού ωοθήτη στο ‘δέρμα’ του καρπού μπορεί να προκαλέσει φυσική βλάβη, καθώς παθογόνα, όπως νηματοειδείς μύκητες, ζύμες και βακτήρια έχουν πλέον πρόσβαση στο εσωτερικό του φρούτου, γεγονός που μπορεί να προκαλέσει δευτερογενείς λοιμώξεις, ταχύτερη φθορά και περαιτέρω απώλειες, (Εικόνα 1.9) (Hauser and Damus 2009).



Εικόνα 1.9: Αρχική βλάβη από τις προνύμφες γύρω από το σημείο εναπόθεσης των αυγών (αριστερά), δευτερογενή προσβολή από παθογόνα (μέση και δεξιά) Photo credit to Dr. Martin Hauser, California Dept. of Food & Agriculture, Sacramento, USA

1.5. Οικονομικές επιπτώσεις

Ο υπολογισμός του κόστους που συνδέεται με τις ζημίες τις οποίες προκαλεί το *D. suzukii* είναι ένα πολύπλοκο έργο με διάφορους παράγοντες άμεσου και έμμεσου κόστους, που θα πρέπει να συνυπολογιστεί η αλληλεξάρτηση τους (Goodhue *et al.*, 2011, Walsh *et al.*, 2011). Το έντομο αποτελεί μέγιστο οικολογικό, περιβαλλοντικό και οικονομικό κίνδυνο τόσο σε εγχώριο όσο και σε παγκόσμιο επίπεδο.

Είδη, όπως το *D. suzukii* που έχουν τη δυνατότητα να εγκαθιδρύνονται και να καταλαμβάνουν εκτάσεις θεωρούνται κύρια αιτία πολλών αρνητικών επιπτώσεων που εντοπίζονται στη βιοποικιλότητα, στην υγεία και την ευζωία των ζώων καθώς και στην ομαλή και ανεμπόδιστη παραγωγή των καλλιεργειών σε όλο τον κόσμο (Bolda *et al.*, 2010, Goodhue *et al.*, 2011). Αν και είναι δύσκολο να εκτιμηθεί η οικονομική ζημία του *D. suzukii* για τους λόγους που αναφέρθηκαν παραπάνω, έχουν γίνει προσπάθειες προσέγγισης κυρίως στην Αμερική και όχι τόσο πολύ σε ευρωπαϊκό επίπεδο (Bolda *et al.*, 2010, Goodhue *et al.*, 2011).

Το 2008 οι πολιτείες της Καλιφόρνιας, του Όρεγκον και της Ουάσιγκτον παρήγαγαν το 84% των κερασιών, το 83% της φράουλας, το 26% του βατόμουρου και το 100% άλλων μούρων. Θεωρώντας ως ενιαία αυτές τις 5 καλλιέργειες, το 76% παράχθηκε σε αυτές τις 3 πολιτείες και η χρηματική της αξία ανέρχεται στα 2,6\$ δισεκατομμύρια. Εάν υποθεθεί ότι η μέση απώλεια από το *D. suzukii* για κάθε καλλιέργεια αντιστοιχεί στο 20%, τότε οι 3 αυτές πολιτείες υπολογίζεται ότι θα μπορούσαν να έχουν ζημίες της τάξεως των 511.000.000\$ το χρόνο (Bolda *et al.*, 2010). Στον Πίνακα 3, αναφέρεται το κόστος παραγωγής από την πολιτεία για κάθε καλλιέργεια, το μερίδιο παραγωγής της (USDA NASS 2009) καθώς και οι υπολογισμοί των ζημιών που αναφέρθηκαν παραπάνω.

Πίνακας 3: Οικονομικές ζημιές εξαιτίας της D. suzukii

	California	Oregon	Washigton	Three state tottal
Strawberries				
Total farmgate value *	1544.7	16.8	10.1	1571.5
Share of U.S. production	82%	1%	1%	83%
Total losses	308.9	3.4	3.4	314.3
Blueberries				
Total farmgate value *	49.1	49.4	43.4	141.9
Share of U.S. production	9%	9%	85	26%
Total losses	9.8	9.9	8.7	28.4
Rasberries Blackberries				
Total farmgate value *	179.5	41.7	92.1	313.3
Share of U.S. production	57%	13%	29%	100%
Total losses	35.9	8.3	18.4	62.7
Cherries				
Total farmgate value *	194.5	58.7	297.1	550.3
Share of U.S. production	30%	9%	45%	84%
Total losses	38.3	9.9	57.8	105.9
All above crops				
Total farmgate value *	1967.9	166.5	442.6	2.577
Share of U.S. production	58%	5%	13%	76%
Total losses	393	31.4	86.9	511.3

Calculations based on USDA National Agricultural Statistics Service 2009 data for 2008

*Farmgate values and total losses given in \$Million

Όσον αφορά την Ευρώπη, το 2010 στην επαρχία Trento (Βόρεια Ιταλία) σε καλλιέργεια φρούτων 400 εκταρίων οι καλλιεργητές κλήθηκαν να αντιμετωπίσουν οικονομική απώλεια της τάξεως των 500.000€ ενώ το 2011 η απώλεια υπολογίστηκε στα 3.000.000€ (Ioriatti *et al.*, 2011).

Παρόλα αυτά για να διαπιστωθεί αν αξίζει η δαπάνη για την προστασία των καλλιεργειών από ένα επιβλαβή οργανισμό θα πρέπει να υπολογιστεί το όριο οικονομικής ζημίας.

Όριο Οικονομικής Ζημίας= Όριο Ανεκτής Πυκνότητας⁵

Στο όριο οικονομικής ζημίας θα πρέπει να συνυπολογίζεται και η τελική χρήση του προϊόντος. Για παράδειγμα τα φρέσκα φρούτα της αγοράς έχουν μεγαλύτερη αξία, άρα χαμηλότερο όριο ζημίας σε σύγκριση με τους καρπούς που υπόκεινται σε επεξεργασία, η οποία το αυξάνει.

Μια πιο πρόσφατη ανάλυση έδειξε ότι το κόστος ελέγχου του *D. suzukii* σε καλλιέργεια σμέουρων και φράουλας είναι πολύ μικρότερο από μία επικείμενη καταστροφή από το έντομο (Goodhue *et al.*, 2011).

Επιπλέον θα πρέπει να συνυπολογίζονται και οι επιπτώσεις που προκύπτουν από την καταπολέμηση ή μη ενός εντόμου. Η μη καταπολέμηση μπορεί να επιφέρει επιπτώσεις στην βιοποικιλότητα των ζώων. Είναι γνωστό ότι μόνο η σάρκα των ώριμων φρούτων κινδυνεύει από το *D. suzukii* και είναι απίθανο να επηρεάσει αρνητικά την ανάπτυξη των σπόρων, τον αριθμό και την βιωσιμότητά τους. Είναι όμως πιθανό η κακή ποιότητα και η μειωμένη διαθεσιμότητα των καρπών που προκύπτει από τη διατροφή των προνυμφών, να επηρεάσουν άλλα είδη πουλιών ή θηλαστικών που τρέφονται από αυτά. Επιπλέον, η καταπολέμηση με την αλόγιστη χρήση χημικών εντομοκτόνων μπορεί να βλάψει το περιβάλλον (Goodhue *et al.*, 2011).

⁵ Το Όριο Ανεκτής Πυκνότητας είναι η μικρότερη πυκνότητα πληθυσμού του εντόμου που θα μειώσει την αξία της παραγωγής σε επίπεδα μεγαλύτερα από το κόστος της αντιμετώπισής του.

2. Ολφакτορικό Σύστημα Εντόμων – Ελκυστικές Ουσίες

2.1. Χημικοδεκτικά Αισθητήρια

Ο τρόπος λειτουργίας των αισθήσεων αποτελεί έναν από τους αρχαιότερους μηχανισμούς για την ανίχνευση χημικών ουσιών και έχει αναλυθεί στο έπακρον είτε πρόκειται για ένα μονοκύτταρο βακτήριο, είτε για ένα πολυκύτταρο οργανισμό (Steiger *et al.*, 2011, Wyatt 2003). Στα έντομα, τα χημικοδεκτικά αισθητήρια είναι όργανα που βρίσκονται κάτω από το δερμάτιο, όπου στα σημεία εκείνα είναι συνήθως λεπτό και έχει πόρους δια των οποίων το χημικό ερέθισμα φτάνει στις άκρες των νευρικών δενδριτικών ινιδίων του νευρικού κυττάρου. Η ανίχνευση των χημικών ουσιών πραγματοποιείται με την **όσφρηση**, τη **γεύση** και τη **γενική χημική αίσθηση** (Tzanakakis 1995).

Η **όσφρηση** διεγείρεται από μικρές συγκεντρώσεις ατμών ποικίλων ουσιών που είναι σχετικά πτητικές στις συνηθισμένες θερμοκρασίες. Με την όσφρηση, το έντομο αντιλαμβάνεται χημικές ουσίες που βρίσκονται στην αέρια φάση και η πηγή τους βρίσκεται σε κάποια απόσταση, μικρή ή μεγάλη, από τα οσφρητικά του όργανα. Η όσφρηση είναι μια από τις πιο χρήσιμες αισθήσεις των εντόμων. Κατευθύνει τα έντομα προς τον ξενιστή ή την τροφή τους, τους επιτρέπει να αναγνωρίσουν επιφάνειες κατάλληλες για ωοτοκία ή άτομα του ίδιου είδους ή να αποφύγουν επικίνδυνες γι' αυτά θέσεις. Παράλληλα, ελκύει μεταξύ τους τα ενήλικα των δύο φύλων και στη συνέχεια τα βοηθάει ώστε να γίνει η σύζευξη, τα κάνει ικανά να αντιλαμβάνονται τις σημαντικές για τη ζωή τους φερομόνες και άλλους χημικούς αγγελιαφόρους και γενικά τα καθοδηγεί ίσως περισσότερο από οποιαδήποτε άλλη αίσθηση (Vosshall and Stocker, 2007, Siddiqi 1987, Menzel and Müller 1996, Cha *et al.*, 2012, Tzanakakis 1995).

Η **γεύση** διεγείρεται από σχετικά μεγάλες συγκεντρώσεις μη πτητικών ερεθιστικών ουσιών που συνήθως ακουμπούν στα αισθητήρια όργανα γεύσης ως υδατικά διαλύματα. Αντί του όρου γεύση, πολλοί χρησιμοποιούν τον όρο **χημική αίσθηση επαφής**. Με τη γεύση το έντομο αντιλαμβάνεται χημικά ερεθίσματα εξ' επαφής. Αισθητήρια γεύσης βρίσκονται στη στοματική κοιλότητα, στα στοματικά μύρια και ιδιαίτερα στις προσακτρίδες, στον ωοθέτη, στην κάτω επιφάνεια των ταρσών, στις άκρες των κνημών και λιγότερα συχνά στις κεραίες.

Ουσίες όπως σάκχαρα, αμινοξέα και άλλες θρεπτικές ή μη, μόνες τους ή σε συνδυασμούς, όταν δεν ξεπερνούν ορισμένη συγκέντρωση, προκαλούν το έντομο να φάει και ονομάζονται **φαγοδιεγερτικές** (προκλητικές βρώσης/διεγερτικές βρώσης), ενώ όσες εμποδίζουν τη βρώση ονομάζονται **φαγοαποτρεπτικές** (αποτρεπτικές βρώσης) (Tzanakakis 1995).

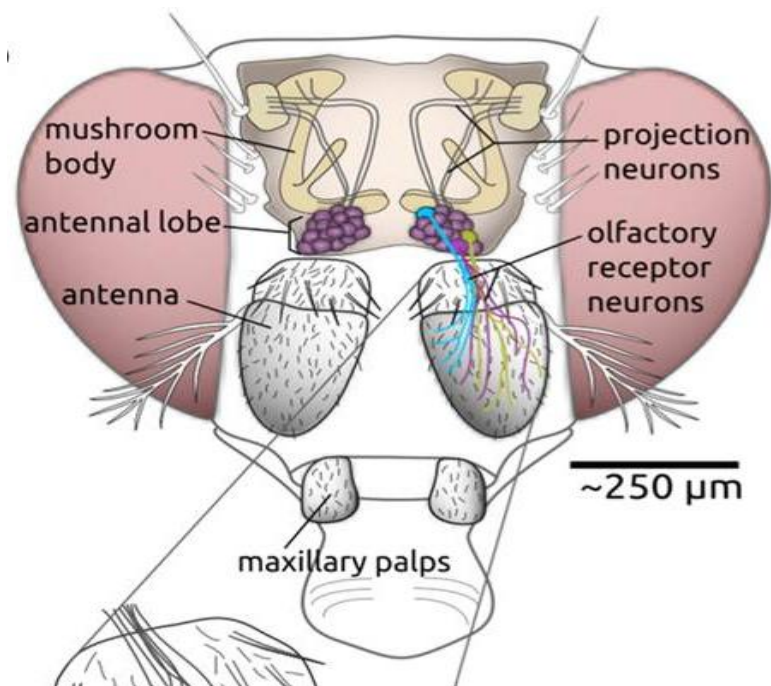
Η γενική χημική αίσθηση κάνει τα έντομα να αισθάνονται μεγάλες συγκεντρώσεις ερεθιστικών ουσιών στον χώρο όπου βρίσκονται. Τέτοιες ουσίες είναι η αμμωνία, το χλώριο και ορισμένα αιθέρια έλαια. Όταν διεγερθούν τα σχετικά αισθητήρια, το έντομο εκδηλώνει αντιδράσεις αποφυγής. Τα αισθητήρια ερεθιστικών ουσιών είναι διάσπαρτα σ' όλο το σώμα του εντόμου (Tzanakakis 1995).

2.2. Ολφακτορικό Σύστημα του *Drosophila suzukii*

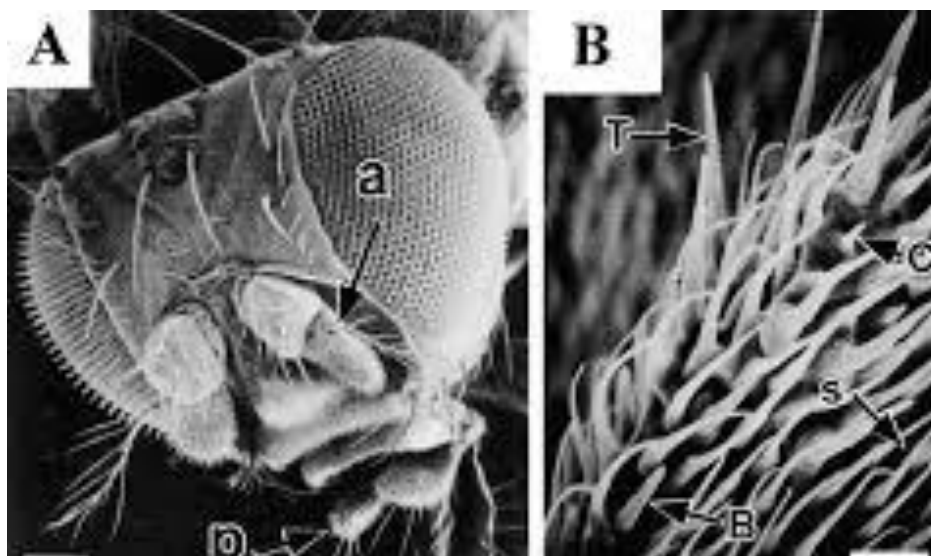
Το τρίτο τμήμα της κεραίας του *Drosophila*, το λεγόμενο μαστίγιο (flagellum) είναι αυτό που συμμετέχει στο μηχανισμό της όσφρησης (Vosshall and Stocker, 2007). Στον οσφρητικό προσανατολισμό της μύγας εκτός από το μαστίγιο συμμετέχουν και οι γναθικές προσακτρίδες (maxillary palp). Και τα δύο αυτά όργανα αποτελούνται από τριχίδια, αισθητήρια όργανα που ονομάζονται sensilla και αποτελούν τις βασικές λειτουργικές μονάδες του οσφρητικού συστήματος, όντας κύτταρα ή ομάδες εξειδικευμένων κυττάρων που δέχονται ποικίλα εξωτερικά ερεθίσματα, όπως οπτικά, ήχου, χημικά, θερμοκρασίας, υγρασίας και μηχανικά (De Bruyne *et al.*, 2001, Hallem and Carlson 2004, Tzanakakis 1995).

Τα αισθητήρια όργανα έχουν υδρόφοβη μεμβράνη επιτρέποντας στα λιπόφιλα μόρια των οσμών να περάσουν μέσα από μικρούς πόρους, να εισαχθούν στο υδατικό διάλυμα φτάνοντας στους νευρώνες του οσφρητικού υποδοχέα (ORN, **O**lfactory **R**ecceptor **N**eurons). Κάθε sensilla αποτελείται από ένα έως τέσσερις ORNs και αυτοί με τη σειρά τους από τους δενδρίτες (De Bruyne *et al.*, 2001,1999). Τα αισθητήρια όργανα ανταποκρίνονται σε διαφορετικά ερεθίσματα, παράγουν ηλεκτρικό σήμα και το αποστέλλουν στο “mushroom body” (μανιταροειδής σώμα) και στις πλευρικές περιοχές του εγκεφάλου (Εικόνα 2.1).

Το “mushroom body” είναι υπεύθυνο για την οσφρητική αντίληψη και τη μνήμη, ενώ τα πλευρικά τμήματα του εγκεφάλου είναι υπεύθυνα για την αντίδραση του εντόμου στο εκάστοτε ερέθισμα (Masse *et al.*, 2009). Ανάλογα με το είδος του εντόμου και τα χημικά ερεθίσματα που μπορεί να αντιληφθεί η κεραία, τα αισθητήρια όργανα μπορεί να φτάσουν και τα 100.000 όπως στη *Maduca sexta* (Sanes and Hildebrand 1976). Στο *Drosophila* υπάρχουν 3 μεγάλοι τύποι αισθητηρίων οργάνων στην κεραία, τα οποία διαφέρουν ως προς το σχήμα, το μέγεθος και τη λειτουργία. Διαχωρίζονται σε βασικονικά (basiconic), τριχοειδή (tricoid) και κοιλοκωνικά (coeloconic) sensilla (Εικόνα 2.2) (Stocker 1944). Συνολικά τα αρσενικά ακμαία έχουν περίπου 419 αισθητήρια όργανα (sensilla) ενώ τα θηλυκά ακμαία 457, εκ των οποίων περίπου τα 120 αισθητήρια όργανα είναι τριχοειδή, και τα υπόλοιπα είναι βασικονικά και κοιλοκωνικά.



Εικόνα 2.1: Ανατομική περιγραφή κεφαλής του *D. sukikii* <http://www.nature.com/>



Εικόνα 2.2: Αισθητήρια όργανα όσφρησης (*Olfactory Sensilla*)

(A) Το τρίτο τμήμα της κεραίας, μαστίγιο (*flagellum*) (a), προσακτρίδες *maxillary palp* (p)
Scale bar, 100 mm

(B) Τρεις τύποι αισθητήριων οργάνων στο μαστίγιο όπου “T” (*tricoid*), “C” (*coleoconic*), “B” (*basiconic*) και “s” τριχίδια που ονομάζονται *spinules* (“s”). Scale bar, 5 mm (Riesgo-Escovar *et al.*, 1995)

Όλα τα βασικονικά αισθητήρια είναι υπεύθυνα για την ανίχνευση πτητικών ουσιών για τον εντοπισμό της τροφής (De Bruyne *et al.*, 2011, Hallem *et al.*, 2004, Yao *et al.*, 2005). Τα τριχοειδή είναι υπεύθυνα για την ανίχνευση φερομονών και στην περίπτωση του *D. melanogaster*, του οξικού (Z)-οκταδεκ-1-ένυλο εστέρα (cis vaccenyl acetate, CVA), μία από τις σημαντικότερες φερομόνες που χρησιμοποιεί το αρσενικό όταν είναι σεξουαλικό ώριμο για να προσελκύσει το θηλυκό. Τέλος, τα κοίλοκωνικά ανιχνεύουν οξέα, την αμμωνία και την υγρασία (Benton *et al.*, 2009, Galizia and Rössler 2010, Yao *et al.*, 2005). Οι γναθικές προσακτρίδες είναι δευτερεύοντα οσφρητικά όργανα του *Drosophila* και συνυπάρχουν κοντά στη προβοσκίδα (De Bruyne *et al.*, 1999). Σε σύγκριση με την κεραία έχουν μικρότερο αριθμό αισθητήριων οργάνων και αποτελούνται από μία μόνο κατηγορία, τα βασικονικά (Singh and Nayak 1985). Υπάρχουν μόνο 60 βασικονικά αισθητήρια τα οποία παρουσιάζουν ιδιαίτερη ευαισθησία στις πτητικές ουσίες (De Bruyne *et al.*, 1999).

2.3. Πτητικές Ουσίες

Οι σημειοχημικές⁶ πτητικές ενώσεις μεταδίδονται μέσω του αέρα και λειτουργούν και μέσω επαφής. Η πτητικότητα της ουσίας καθορίζει σε μεγάλο βαθμό πώς και πότε θα εντοπιστεί από κάποιο έντομο. Τα σημειοχημικά υποδιαιρούνται σε δύο κύριες κατηγορίες, τα αλληλοχημικά και τις φερομόνες, αναλόγως αν οι αλληλεπιδράσεις (οι πληροφορίες που μεταβιβάζονται) αφορούν τα έντομα και το περιβάλλον ή αν αφορούν τα έντομα μεταξύ τους.

2.3.1. Αλληλεπίδραση Περιβάλλοντος-Εντόμου

Στην αλληλεπίδραση μεταξύ εντόμου και περιβάλλοντος μεσολαβεί η υποκατηγορία των σημειοχημικών, τα αλληλοχημικά. Τα αλληλοχημικά χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες:

- **αλλομόνες (allomones)**, όταν από τη δράση τους ωφελείται μόνο το είδος πομπός

⁶ Σημειοχημικά ή σηματοχημικά (*Semiochemicals*) είναι σύνθετες ενώσεις, που παράγονται από ζωντανούς οργανισμούς και μετέχουν σε αλληλεπιδράσεις μεταξύ οργανισμών.

- **συνομόνες (synomones)**, όταν από τη δράση τους ωφελείται και ο πομπός και ο δέκτης
- **καιρομόνες (kairomones)**, όταν από τη δράση τους ωφελείται μόνο το είδος δέκτης

Υπάρχουν 3 κατηγορίες καιρομομών (Metcalf and Metcalf 1992):

- **ελκυστικές**, έλκουν το έντομο στο φυτό
- **ανασταλτικές**, επιβραδύνουν την κίνηση του εντόμου ή την σταματούν
- **διεγερτικές**, δίνουν το ερέθισμα στο έντομο να τραφεί και να εναποθέσει τα αυγά του

Οι πτητικές ουσίες φύλλων λειτουργούν ως ελκυστικές ουσίες και διασπείρονται μέσω του αέρα για να προσελκύσουν τα έντομα σε μεγάλη απόσταση. Όταν το έντομο έχει έρθει σε κοντινή απόσταση ή σε επαφή με το ελκυστικό φυτό εκλύονται οι πτητικές ουσίες λειτουργώντας ως ανασταλτικές ή διεγερτικές. Τα θηλυκά ακμαία του *D. suzukii* ακολουθούν αυτές τις πτητικές ουσίες για να βρουν τον κατάλληλο ξενιστή για να τραφούν και εν συνεχεία να ωοτοκήσουν (Ioannou *et al.*, 2012).

Οι πτητικές ουσίες των φρούτων είναι κυρίως εστέρες, αλκοόλες, αλδεΐδες, κετόνες, λακτόνες, τερπενοειδή και καρτοτενοειδή, και υπάρχουν πολλά μονοπάτια που εμπλέκονται στη σύνθεσή τους. Δεν έχει περιγραφεί η σύνθεση των πτητικών ουσιών σε όλα τα φρούτα, αλλά είναι κοινή σε αρκετά. Οι πτητικές ουσίες που είναι υπεύθυνες για το άρωμα των φρούτων συντίθενται από αμινοξέα, λιπίδια, υδρογονάνθρακες και μεμβρανικά λιπίδια, μέσω συγκεκριμένων μηχανισμών, όπως ενζυματικές τροποποιήσεις, υδροξυλιώσεις, ακετυλιώσεις και μεθυλιώσεις (Sanz *et al.*, 1997). Σημαντικό βήμα στη σύνθεση των πτητικών ουσιών είναι η διαθεσιμότητα των πρωτογενών υποστρωμάτων, συμπεριλαμβανομένων των λιπαρών οξέων και των αμινοξέων (Dudareva *et al.*, 2004).

Επίσης, στην αλληλεπίδραση μεταξύ φυτού και εντόμου παίζουν σημαντικό ρόλο και τα προϊόντα ζύμωσης, τα οποία μεταβάλλουν ανάλογα την συμπεριφορά του εντόμου. Τα προϊόντα ζύμωσης δημιουργούνται κατά τη διαδικασία ωρίμανσης και σήψης των φρούτων αποκτώντας το δικό τους πτητικό προφίλ και ανήκουν στην κατηγορία των συνομομών (Tzanakakis 1995).

Οι συγκεντρώσεις των πτητικών ουσιών παίζουν σημαντικό ρόλο. Στην περίπτωση χαμηλής συγκέντρωσης υπάρχει πιθανότητα να μην μπορεί να ανιχνευθεί από το έντομο,

ενώ στην περίπτωση υψηλής συγκέντρωσης, το οσφρηστικό σύστημα του εντόμου κορένεται και η ουσία γίνεται απωθητική (Stensmyr *et al.*, 2002).

Το *D. melanogaster* προσελκύεται σε υψηλές συγκεντρώσεις από την αιθανόλη, ενώ σε άλλα υποείδη η αιθανόλη είναι απωθητική (Parsons & Sprnce, 1981).

2.3.2. Αλληλεπίδραση Εντόμων ίδιου είδους

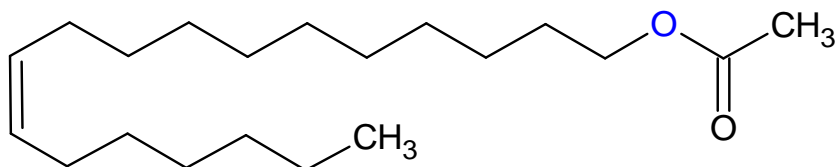
Στην αλληλεπίδραση αυτή μεσολαβεί η υποκατηγορία των σημειοχημικών, οι φερομόνες. Είναι σύνθετα χημικά που παράγονται από ένα άτομο του είδους, λαμβάνονται από ένα άλλο του ίδιου είδους και προκαλούν μια καθορισμένη συμπεριφορά, ή μια φυσιολογική αντίδραση στον παραλήπτη.

Οι φερομόνες με βάση την πράξη για την οποία θέλουν να ενημερώσουν τα άλλα μέλη διαχωρίζονται σε (Landolt 1997):

- ‘συναγερμού’
- συνάθροισης ή φερομόνες ζευγαρώματος

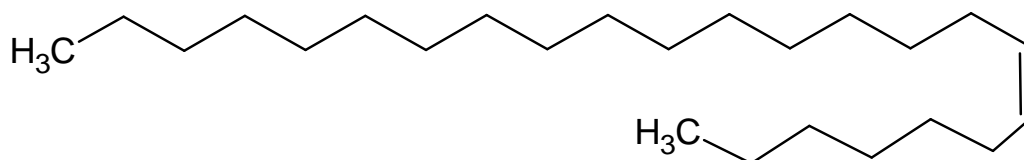
Οι φερομόνες είναι μίγματα δύο ή περισσότερων χημικών ενώσεων και χρειάζεται να είναι επακριβώς αναμειγμένες για να είναι βιολογικά ενεργές. Απαντούνται ως αλκοόλες ή αλδεΐδες και συνήθως μεταφέρονται μέσω του αέρα.

Στις περισσότερες περιπτώσεις είναι υψηλής πτητικότητας και τα μηνύματα διαδίδονται άμεσα σε μεγάλες αποστάσεις ενώ εξαρτώνται από πολλούς εξωγενείς παράγοντες, όπως ο άνεμος, ο οποίος μπορεί να διαταράξει την ακολουθία των σιγνάλων. Είδη του *Drosophila* έχουν αποδειχθεί ότι για να αυξήσουν την πυκνότητα της ωτοκίας απελευθερώνουν φερομόνες συνάθροισης, οι οποίες αυξάνουν την επιβίωση των προνυμφών (Wertheim *et al.*, 2002). Στο *D. melanogaster* οι φερομόνες εκλύονται από τον εξωσκελετό του εντόμου (Cobb and Jallon 1990). Το αρσενικό παράγει τον οξικό (Z) οκταδεκ-1-ένυλο εστέρα (11-cis-vaccenyl acetate, VCA) σαν φερομόνη, με σκοπό την πρόκληση επιθετικών συμπεριφορών μεταξύ των αρσενικών στη διάρκεια του ζευγαρώματος με σκοπό να αποτραπούν πολλαπλές συζεύξεις (Εικόνα 2.3) (Wang and Anderson 2010).



Εικόνα 2.3: 11-cis-vaccenyl acetate

Μία άλλη φερομόνη που παράγεται από το αρσενικό με σκοπό να αυξήσει τη δεκτικότητα των θηλυκών στη διάρκεια του ζευγαρώματος είναι το τριακοντ-7-ένιο (Εικόνα 2.4) (Grillet *et al.*, 2006).



Εικόνα 2.4: 7-tricosene

3. Μέθοδοι Ελέγχου Ελκυστικότητας Πτητικών Ουσιών

Εργαστηριακά η ελκυστικότητα των πτητικών ουσιών ελέγχεται με:

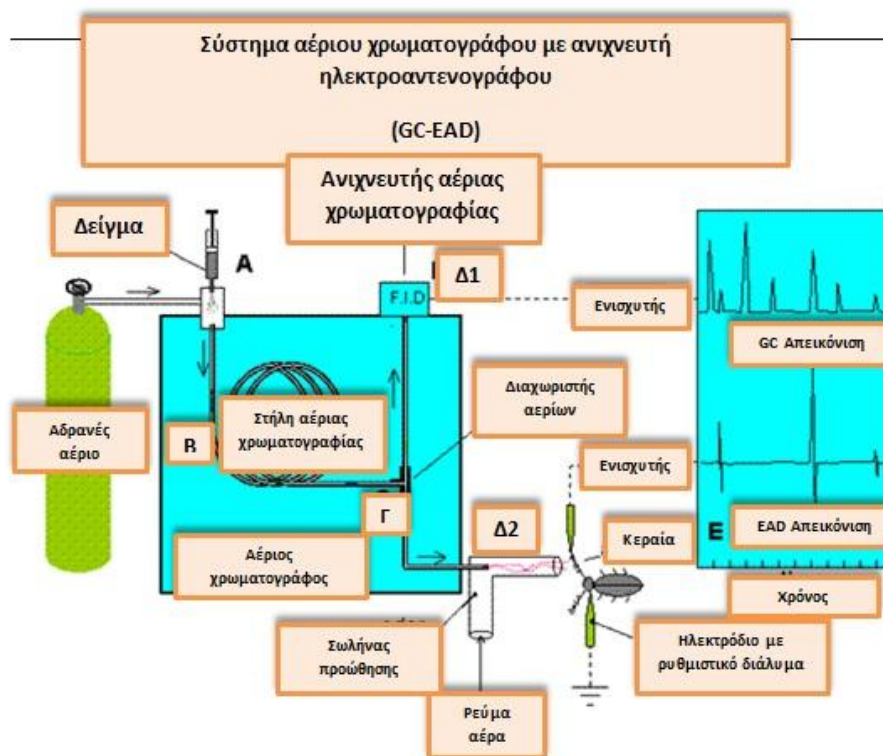
- Σύστημα Αέριας Χρωματογραφίας - Ηλεκτροαντενογραφίας (**GC-EAD, Gas Chromatographic-ElectroAntennographic Detection**)
- Βιοδοκιμές με τη χρήση ολφακτομέτρου

Το **GC-EAD** είναι αναλυτική τεχνική που επιτρέπει την ταχεία αναγνώριση των ενώσεων σε σύνθετα μείγματα που διεγείρουν τα οσφρητικά αισθητήρια ενός εντόμου. Η τεχνική αυτή αναγνωρίζει ποια χημικά ερεθίσματα και σε πιο βαθμό γίνονται αντιληπτά ή μη από τα έντομα.

Αυτή η πληροφορία είναι χρήσιμη προκειμένου να ανιχνεύονται δυνητικά χρήσιμες ενώσεις, όπως είναι οι φερομόνες των εντόμων καθώς και οι ελκυστικές πτητικές ουσίες των φρούτων. Η εφαρμογή και η επιτυχία της μεθόδου αυτής βασίζεται στο γεγονός ότι η τάση (διαφορά δυναμικού) μεταξύ της άκρης και της βάσης της κεραίας ενός εντόμου μπορεί να μετρηθεί όταν η κεραία είναι εκτεθειμένη σε οσμές βιολογικής σημασίας για το έντομο. Η τάση αυτή αντιπροσωπεύει το σύνολο των αντιδράσεων των οσφρητικών νευρώνων εντός της κεραίας, και το πλάτος της τάσης αντιστοιχεί χονδρικά με την ευαισθησία ενός εντόμου σε μια συγκεκριμένη ένωση. Η παρουσία ισχυρών αποκρίσεων της κεραίας ή αποκρίσεων σε πολύ χαμηλές συγκεντρώσεις, υποδεικνύουν μεγαλύτερη πιθανότητα μία ένωση να μπορεί να επηρεάζει τη συμπεριφορά ενός εντόμου.

Ως εκ τούτου, το ηλεκτροαντενογράφημα βοηθάει στη διαλογή πτητικών ενώσεων που βρίσκονται στο περιβάλλον ενός εντόμου και επιτρέπει τον εντοπισμό όσων είναι πιθανότερο να έχουν επίδραση στη συμπεριφορά του. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα την ταυτοποίηση των ενώσεων που μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τροποποίηση της συμπεριφοράς των εντόμων.

Στην εικόνα 3.1 απεικονίζεται ένα σύστημα αέριου χρωματογράφου (GC) με ανιχνευτή ιονισμού φλόγας (FID) και ηλεκτροαντενογράφου (EAD) και στην εικόνα 3.2 απεικονίζεται ο ηλεκτροαντενογράφος.

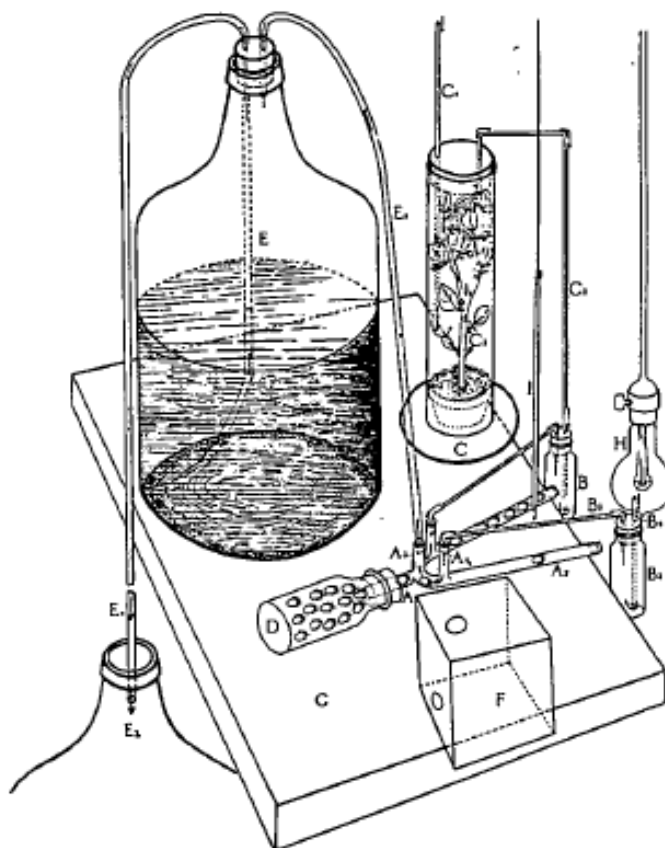


Εικόνα 3.1: Σύστημα Αέριου Χρωματογράφου (GC) με Ανιχνευτή Ιονισμού Φλόγας (FID) και Ηλεκτροαντενογράφου (EAD) <http://www.trichoindo.gr/>



Εικόνα 3.2: Ηλεκτροαντενογράφος και D. suzukii Courtesy of Dr. Dong Cha USDA

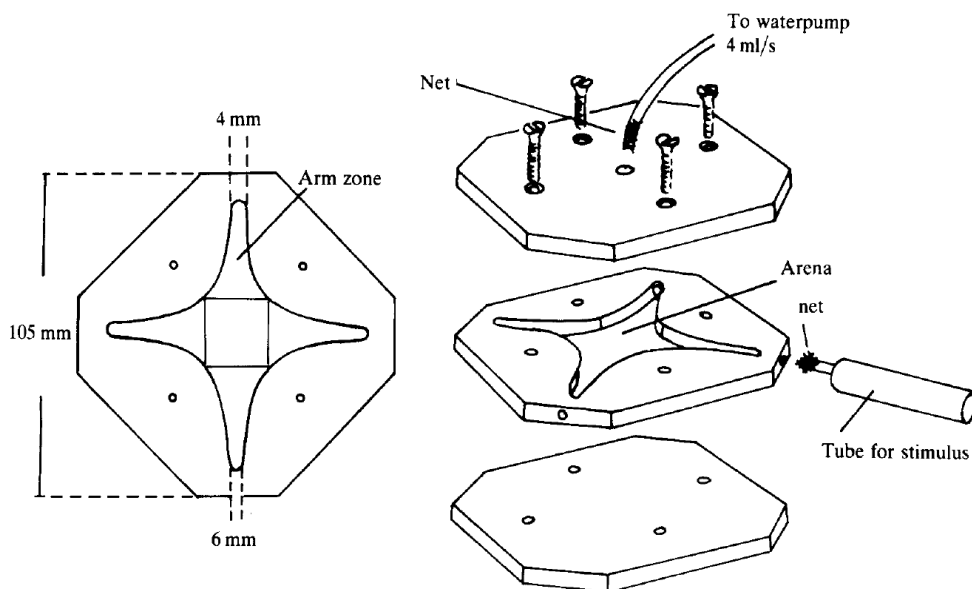
Το **ολφακτόμετρο** (*olfactometer Y-tube*) ανακαλύφθηκε το 1924 από τον Norman McIndoo, εντομολόγο, ο οποίος κάνοντας μια μελέτη σχετικά με εντομοαπωθητικές και ελκυστικές ουσίες εφηύρε το συγκεκριμένο εξοπλισμό και έφερε την επανάσταση στην μελέτη ελκυστικότητας ουσιών στα έντομα (Εικόνα 3.3) (McIndoo 1926).



Εικόνα 3.3: Το πρώτο Y-tube olfactometer <https://simonleather.wordpress.com>

Το πρώτο ολφακτόμετρο χρησιμοποιήθηκε για να ελεγχθεί αν το *Leptinotarsa decemlineata* (σκαθάρι πατάτας) ανταποκρίνεται στην οσμή των ανθέων της πατάτας. Ο ένας βραχίονας συνδέεται με την οσμή των ανθέων και ο άλλος με νερό (control), και τα σκαθάρια καλούνται να επιλέξουν έναν από τους δύο. Το 70% των σκαθαριών επέλεξαν το βραχίονα με την οσμή. Στο τέλος της εν λόγω μελέτης υπήρξαν στοιχεία που απέδειξαν ότι και άλλα είδη εντόμων όπως λεπιδόπτερα και δίπτερα ανταποκρίνονται σε τέτοιου είδους βιοδοκιμές.

Αργότερα, κατασκευάστηκαν και άλλοι τύποι ολφακτομέτρων, όπως το T-tube και το ολφακτόμετρο τεσσάρων θέσεων (four-way olfactometer), όπου δοκιμάστηκε η ύπαρξη φερομόνης στην αφίδα, *Schizaphis borealis* (Εικόνα 3.4) (Pettersson, 1970).



Εικόνα 3.4: Ολφακτόμετρο τεσσάρων θέσεων <https://simonleather.wordpress.com>

Το συγκεκριμένο ολφακτόμετρο έχει τέσσερις διαφορετικές οσφρητικές περιοχές και μία ουδέτερη κεντρική ζώνη, τα έντομα που δοκιμάζονται έχουν τη δυνατότητα είτε να εισέλθουν σε μία από τις οσφρητικές περιοχές είτε να μείνουν, είτε να φύγουν. Μέχρι τώρα έχουν κατασκευαστεί διάφοροι τύποι ολφακτομέτρων με πολλές τροποποιήσεις, έχοντας ως στόχο την καλύτερη αποτελεσματικότητά τους για διαφορετικές τάξεις εντόμων (Vet *et al.*, 1983).

4. Μελέτες ελκυστικότητας για το *Drosophila suzukii*

Οι λιγοστές επιστημονικές μελέτες που έχουν γίνει για την ελκυστικότητα ουσιών ως προς το *D. suzukii* δεν παρέχουν αρκετά δεδομένα για την πλήρη αποκρυπτογράφηση της συμπεριφοράς του εντόμου ως προς τα ερεθίσματα που αυτό αντιλαμβάνεται από το περιβάλλον του.

Τα λίγα πειράματα που έχουν γίνει, έχουν επικεντρωθεί στην αναλυτική τεχνική της Αέριας Χρωματογραφίας-Ηλεκτροαντενογραφίας (GC-EAD, Gas Chromatographic-Electroantennographic Detection), αναλύοντας τις ουσίες στις οποίες αποκρίνονται οι κεραίες του *D. suzukii* και εν συνεχεία οι ουσίες αυτές εξετάζονται σε πειράματα αγρού με τη χρήση δολωματικών παγίδων.

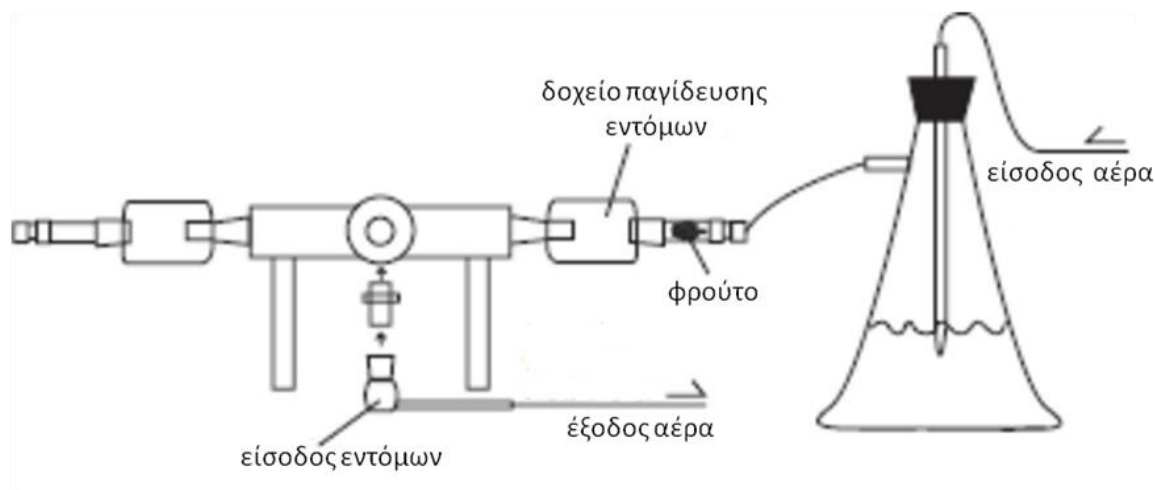
Για παράδειγμα, μελετητές προσδιόρισαν με την τεχνική GC-EAD οκτώ πτητικές ουσίες από κρασί σταφυλιών ποικιλίας Μερλό (αιθανόλη, οξικό οξύ, 3-υδροξυβουτανόνη, 3-υδροξυβουτανοϊκό αιθυλεστέρα, 3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη, 2-υδροξυπροπανοϊκό-3-μεθυλοβουτυλεστέρα, 2-φαινυλοαιθανόλη, βουτανοδιοϊκό διαιθυλεστέρα) και πέντε πτητικές ουσίες από ξύδι ρυζιού (οξικό οξύ, αιθανόλη, 3-υδροξυβουτανόνη, 3-υδροξυβουτανοϊκό αιθυλεστέρα, 2-φαινυλοαιθανόλη), στις οποίες αποκρίνονται οι κεραίες του *D. suzukii*. Εν συνεχεία, πραγματοποίησαν πειράματα στον αγρό, όπου σύγκριναν την ελκυστικότητα των δύο παραπάνω μειγμάτων με μείγμα αιθανόλης και οξικού οξέος και διαπίστωσαν ότι το τελευταίο εμφάνισε μικρότερη ελκυστικότητα (Dong *et al.*, 2012). Η συγκεκριμένη μελέτη επιβεβαιώνει την αρχική θεωρία του Landolt ότι τα προϊόντα ζύμωσης που προέρχονται από το κρασί και το ξύδι είναι ελκυστικά. Το οξικό οξύ, η αιθανόλη, ο 3-υδροξυβουτανοϊκός αιθυλεστέρας και η 2-φαινυλοαιθανόλη, τα οποία είναι κοινά και στα δύο μείγματα καθώς και η 3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη, ο 2-υδροξυπροπανοϊκός-3-μεθυλοβουτυλεστέρας και ο βουτανοδιοϊκός διαιθυλεστέρας είναι προϊόντα ζύμωσης, τα οποία παράγονται από ζύμες και βακτήρια γαλακτικού οξέος (Dong *et al.*, 2012) και παίζουν σημαντικό ρόλο στην ελκυστικότητα των εντόμων του γένους *Drosophila* (Becher *et al.*, 2012).

Το 2013 σε μία άλλη μελέτη, χρησιμοποιώντας αρχικά την τεχνική GC-EAD και εν συνεχεία πειράματα στον αγρό προσπάθησαν να προσδιορίσουν ποιες πτητικές ουσίες ξεχωριστά ή σε συνδυασμό μπορούν να έλκουν περισσότερο το SWD. Εξετάστηκαν 13 ουσίες (3-υδροξυβουτανόνη, 2-φαινυλοαιθανόλη, προπανοϊκός-2-υδροξυπροπυλεστέρας, οξικός-2-μεθυλοβουτυλεστέρας, 3-υδροξυβουτανοϊκός αιθυλεστέρας, βουτανοδιοϊκός διαιθυλεστέρας, 3-μεθυλοθειό-1-προπανόλη, (2E,4E)-2,4-εξανοδιενοϊκός αιθυλεστέρας, 2-υδροξυπροπανοϊκός-3-μεθυλοβουτυλεστέρας, βουτανοϊκός αιθυλεστέρας, 1-εξανόλη, 3-μεθυλοβουτανοϊκός αιθανοϊκός-εστέρας, οξικός αιθυλεστέρας) από τις οποίες ο συνδυασμός της 3-υδροξυβουτανόνης, του προπανοϊκού-2-υδροξυπροπυλεστέρα και της 3-μεθυλοθειό-1-προπανόλης παρουσίασε μεγαλύτερη απόκριση των εντόμων όταν συγκρίθηκε με μείγμα αιθανόλης και οξικού οξέος. Επιπλέον, ο συνδυασμός οξικού οξέος, αιθανόλης, 3-

υδροξυβουτανόνης, προπανοϊκού-2-υδροξυπροπυλεστέρα και της 3-μεθυλοθειό-1-προπανόλης ήταν εξίσου ελκυστικός όταν συγκρίθηκε με απλό διάλυμα κρασιού και ξυδιού. Αφαιρώντας τον προπανοϊκό-2-υδροξυπροπυλεστέρα από το παραπάνω μείγμα των πέντε ουσιών δε διαπιστώθηκε καμία μείωση στην ελκυστικότητα. Όταν, όμως αφαιρέθηκε οποιαδήποτε άλλη ουσία παρατηρήθηκε σημαντική μείωση στην ελκυστικότητα (Dong *et al.*, 2013).

Όσο αφορά στα πειράματα των βιοδοκιμών, τα περισσότερα που έχουν πραγματοποιηθεί με τη χρήση ολφακτομέτρου, επικεντρώνονται στον έλεγχο ελκυστικότητας φρούτων και όχι πτητικών ουσιών.

Το 2013 χρησιμοποιήθηκε ολφακτόμετρο τεσσάρων οσφρητικών θέσεων (Εικόνα 4.1) με σκοπό να ελεγχθεί η απόκριση των θηλυκών ατόμων του *D. sukukii* σε οσφρητικά ερεθίσματα σύκων και μούρων (Doris *et al.*, 2013). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα θηλυκά ανταποκρίθηκαν και στις δύο διαφορετικές οσμές των φρούτων.



Εικόνα 4.1: Ολφακτόμετρο τεσσάρων θέσεων (Doris *et al.*, 2013)

Επιπλέον βιοδοκιμές έχουν πραγματοποιηθεί με τη χρήση ολφακτομέτρου για να μελετηθεί η απόκριση των θηλυκών και των αρσενικών του *D. sukukii* σε εκχυλίσματα φρούτων. Κατέληξαν ότι η ελκυστικότητα των εκχυλισμάτων φρούτων, στα αρσενικά και στα θηλυκά, κατατάσσεται ως εξής: σμέουρο \geq φράουλα \geq βατόμουρο \geq κεράσι (Abraham *et al.*, 2015).

Σε μία πρόσφατη μελέτη χρησιμοποιήθηκε ολφακτόμετρο τύπου Y, όπου ελέγχθηκε ο -3-μεθυλοβουτανικός αιθανοϊκός-εστέρας, εμφανίζοντας μεγάλη ελκυστικότητα στα θηλυκά. Ο λόγος που επέλεξαν τη συγκεκριμένη ουσία για τις βιοδοκιμές ήταν γιατί

πραγματοποιώντας πειράματα με GC-EAD, σε διαφορετικά είδη φρούτων (φράουλες, κεράσια, σμέουρα και βατόμουρα), παρατήρησαν ότι ήταν η μόνη ουσία όπου έδωσε εξίσου απόκριση η κεραία του *D. suzukii* (Revadi *et al.*, 2015).

5. Ολοκληρωμένη Διαχείριση Επιβλαβών Οργανισμών

Το πρώτο βήμα για την αποτελεσματική διαχείριση του *D. suzukii* είναι η αξιόπιστη παρακολούθηση του πληθυσμού και εν συνεχεία η αντιμετώπισή του. Μέχρι στιγμής, η παρακολούθηση και η ανίχνευση του εντόμου έχει βασιστεί σε μεθόδους παγίδευσης, είτε κίτρινες κολλητικές παγίδες, είτε δολωματικές (Εικόνα 5.1).



Εικόνα 5.1:Κίτρινη κολλητική παγίδα (αριστερά), πλαστικό κύπελλο με μηλόξυδο (δεξιά)
<http://ext100.wsu.edu/skagit/agriculture/swd/>

Κατά καιρούς έχουν χρησιμοποιηθεί διαφορετικά δολώματα, γνωρίζοντας ότι τα ενήλικα άτομα έλκονται από προϊόντα ζύμωσης, τα οποία προέρχονται από το κρασί και το ξύδι (Landolt *et al.*, 2012a,b). Τέτοια δολώματα είναι τα παρακάτω μείγματα:

- ζάχαρη, αλκοόλη, ξύδι και κρασί (Wu *et al.*, 2007)
- υπερώριμες μπανάνες, πολτοποιημένες φράουλες, μηλόξυδο ή μαγιά (OSU 2009a)
- μηλόξυδο

Τα διαλύματα που περιέχουν κατά κύρια βάση ζύδι μήλου είναι κατάλληλα για τη σύλληψη πολλών εντόμων της οικογένειας Drosophilidae και όχι μόνο, μιας και για την πλειοψηφία αυτών των εντόμων είναι απαραίτητα τα προϊόντα ζύμωσης σε όλα τα στάδια του βιολογικού τους κύκλου. Σε πειράματα αγρού, τα διαλύματα που περιέχουν πτητικές ουσίες, όταν συγκρίθηκαν με διαλύματα που περιείχαν μηλόξυδο δεν έδειξαν σημαντική αύξηση αποτελεσματικότητας. Επομένως, κανένα από αυτά τα δολώματα δεν μπορεί να θεωρηθεί άκρως αποτελεσματικό για το *D. suzukii* (Cini *et al.*, 2012), εξαιτίας της μειωμένης εκλεκτικότητας ως προς το έντομο στόχο.

Μετά τη συλλογή των πληροφοριών για την ύπαρξη του εντόμου, απαιτείται η αντιμετώπισή του. Τα εντομοκτόνα όπως η σπινοςίνη, τα οργανοφωσφορικά και τα πυρεθροειδή είναι τα κύρια μέσα που χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπισή του. Βασικό μειονέκτημα είναι ότι αυτές οι ευρέως φάσματος ενώσεις για να θεωρηθούν άκρως αποτελεσματικές θα πρέπει να εφαρμόζονται τακτικά με αποτέλεσμα τη θανάτωση πολλών ωφελίμων εντόμων. Επίσης η αλόγιστη χρήση τους οδηγεί σε πιθανή εμφάνιση ανθεκτικότητας και η εφαρμογή τους κατά το στάδιο ωρίμανσης των φρούτων μπορεί να αυξήσει τα υπολείμματα στον καρπό, με αποτέλεσμα τη μη τήρηση των Πρωτόκολλων Ολοκληρωμένης Διαχείρισης Επιβλαβών Οργανισμών (**Protocols of Integrated Pest Management**) (Burrack *et al.*, 2012, Cini *et al.*, 2012). Τέλος, οι βιολογικές καλλιέργειες είναι εκείνες που απειλούνται περισσότερο από το *D. suzukii*, μιας και ελάχιστα εντομοκτόνα είναι εγκεκριμένα στη βιολογική καλλιέργεια, εκ των οποίων ακόμα λιγότερα έχουν αυξημένη αποτελεσματικότητα (Walsh *et al.*, 2011).

Εναλλακτικοί τρόποι διαχείρισης του εντόμου θα μπορούσαν να αντιμετωπίσουν αποτελεσματικά το *D. suzukii* μειώνοντας τις αρνητικές επιπτώσεις της χρήσης φυτοφαρμάκων. Τέτοιοι τρόποι είναι ο βιολογικός τρόπος αντιμετώπισης με τη μορφή παρασίτων ή άλλων αρπακτικών εντόμων, συμβιωτικοί μικροοργανισμοί με τη μορφή του *Wolbachia bacteria* και τεχνικές ανάσχεσης ζευγαρώματος (Chabert *et al.*, 2012, Cini *et al.*, 2012, Dreves & Langelotto Rhodaback, 2011, Lee *et al.*, 2011).

ΜΕΡΟΣ Β

ΣΚΟΠΟΣ ΤΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Το έντομο *Drosophila suzukii*, όπως περιγράφεται στο πρώτο μέρος της διατριβής είναι ένα εξαιρετικά πολυφάγο έντομο έχοντας ήδη προκαλέσει τις πρώτες οικονομικές ζημιές σε Ασία, Αμερική και Ευρώπη. Η εξάλειψη και ο περιορισμός του εντόμου δεν φαίνεται να είναι εφικτά. Το καλοκαίρι του 2014 εμφανίζεται και στην Ελλάδα προκαλώντας μεγάλη ανησυχία στους επαγγελματίες αγρότες.

Μέχρι σήμερα η παρακολούθηση και η ανίχνευση του εντόμου έχει βασιστεί σε μεθόδους παγίδευσης, μη εξειδικευμένες για το *Drosophila suzukii* και χωρίς υψηλές αποδόσεις (Walsh *et al.*, 2011). Δυστυχώς, η γνώση σχετικά με το πώς αντιδρούν τα αισθητήρια όργανα του εντόμου σε σχέση με την διατροφή, τη σύζευξη και την ωτοκία είναι εξαιρετικά φτωχή. Η ταυτοποίηση των πιο ενεργών πτητικών ουσιών που βρίσκονται στους καρπούς των φρούτων-ξενιστών, εργαστηριακές μελέτες με χρήση ολφακτομέτρου και έπειτα πειράματα στον αγρό, θα είχε ως αποτέλεσμα να αποκρυπτογραφηθεί η χημική οικολογία του *Drosophila suzukii* και να δημιουργηθεί ένα πιο εκλεκτικό και αποτελεσματικό δόλωμα.

Η μελέτη και η πλήρης αποκωδικοποίηση των αντιδράσεων ενός εντόμου σε διαφορετικά οσφρητικά ερεθίσματα του περιβάλλοντος, μπορεί να προσφέρει τις απαραίτητες πληροφορίες για τη δημιουργία νέων τρόπων παρακολούθησης και ελέγχου, φιλικότερων προς το περιβάλλον και εξίσου αποτελεσματικών, όπως είναι τα σκευάσματα τύπου “attract and kill”, τα οποία έχουν δείξει ελπιδοφόρα αποτελέσματα σε διάφορες μελέτες (Kanzawa 1934, Wu *et al.*, 2007). Το κύριο πλεονέκτημα των σκευασμάτων αυτών είναι ότι δεν έρχονται σε επαφή με το παραγόμενο προϊόν και δε διαχέουν καμία εντομοκτόνο ουσία στο περιβάλλον. Το έντομο προσελκύεται, προσροφάει τη δραστική ουσία και θανατώνεται.

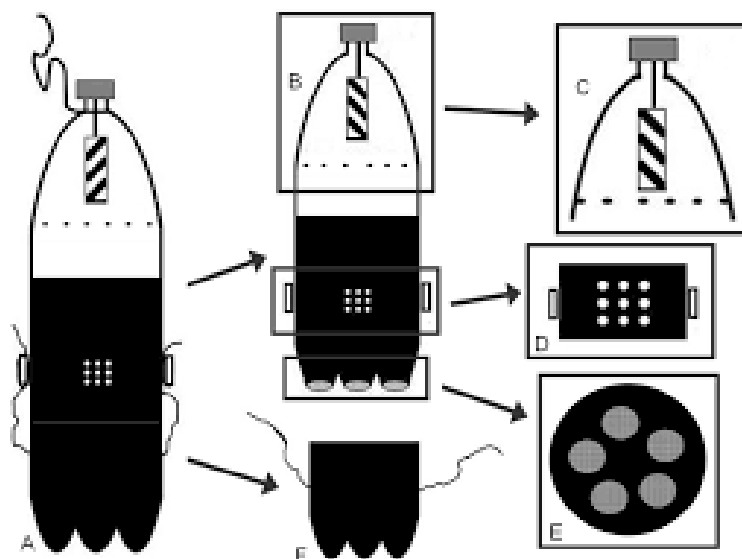
Σκοπός, λοιπόν, της παρούσας διατριβής είναι αρχικά να κατασκευαστεί μια βελτιστοποιημένη μορφή ολφακτομέτρου και να προσδιοριστεί ο ακριβής τρόπος λειτουργίας του σε βιοδοκιμές με ενήλικα του *Drosophila suzukii*. Εν συνεχεία να δημιουργηθεί η γνώση για το πώς αντιδρά το έντομο σε πτητικές ουσίες φρούτων-ξενιστών και πώς διαφοροποιείται η συμπεριφορά των θηλυκών και των αρσενικών σε συνθήκες ατροφίας ή μη.

Αυτή η γνώση θα βοηθήσει στον προσδιορισμό των πιο ελκυστικών ουσιών ως προς το *Drosophila suzukii*, έτσι ώστε να μπορούν να χρησιμοποιηθούν αρχικά σε παγίδες για τον έλεγχο της κατανομής του πληθυσμού του εντόμου και στη συνέχεια στη δημιουργία ενός φυτοπροστατευτικού σκευάσματος τύπου ‘attract and kill’.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

6. Επιβεβαίωση ύπαρξης *Drosophila suzukii* στο νομό Ηρακλείου

Το πρώτο στάδιο της πειραματικής διαδικασίας περιλαμβάνει τη συλλογή φυσικού πληθυσμού του *D. suzukii* και αυτό επιτυγχάνεται με την κατασκευή δολωματικών παγίδων (Εικόνα 6.1) (Roque *et al.*, 2011).



Εικόνα 6.1: Τρόπος κατασκευής δολωματικής παγίδας (Freda and Braverman 2013)

Οι παγίδες αυτές κατασκευάζονται με τη χρήση πλαστικών μπουκαλιών και ως δόλωμα χρησιμοποιείται μείγμα από πολτοποιημένη μπανάνα, χυμό μήλου και μαγιά, το οποίο τοποθετείται στο κάτω μέρος της παγίδας (F) (Freda and Braverman 2013). Το μείγμα διαχωρίζεται από το υπόλοιπο μέρος, με λεπτή γάζα, (E) προστατεύοντας τα έντομα από την επαφή τους με το υγρό και τη θανάτωσή τους. Στο αμέσως επόμενο τμήμα της παγίδας ανοίγονται οπές διαστάσεων 0,5cm x 2cm (D), οι οποίες αποτελούν την έξοδο της οσμής και ταυτόχρονα διευκολύνουν την είσοδο των εντόμων στο εσωτερικό της. Τα σκοτεινά σημεία του σχήματος βάφονται με κόκκινο και μαύρο χρώμα, τα οποία έχουν βρεθεί να είναι ιδιαίτερα ελκυστικά για τα έντομα της οικογένειας *Drosophilidae* (Basoalto *et al.*, 2013). Τέλος, στο εσωτερικό του πάματος τοποθετείται εμποτισμένο διηθητικό χαρτί με σκοπό την παροχή της σχετικής υγρασίας (C).

Οι παγίδες τοποθετήθηκαν σε καλλιέργειες βερικοκιάς, συκιάς και πορτοκαλιάς, από τον Ιούλιο μέχρι και τον Σεπτέμβριο του 2015 στο Κορακοβούνι, στις Βούτες, στο Φόδελε και στη Χερσόνησο του νομού Ηρακλείου. Στις παρακάτω αεροφωτογραφίες σημειώνονται

με κόκκινο τα σημεία, όπου τοποθετήθηκαν ενδεικτικά οι παγίδες σε δύο από τις περιοχές. (Εικόνα 6.2).



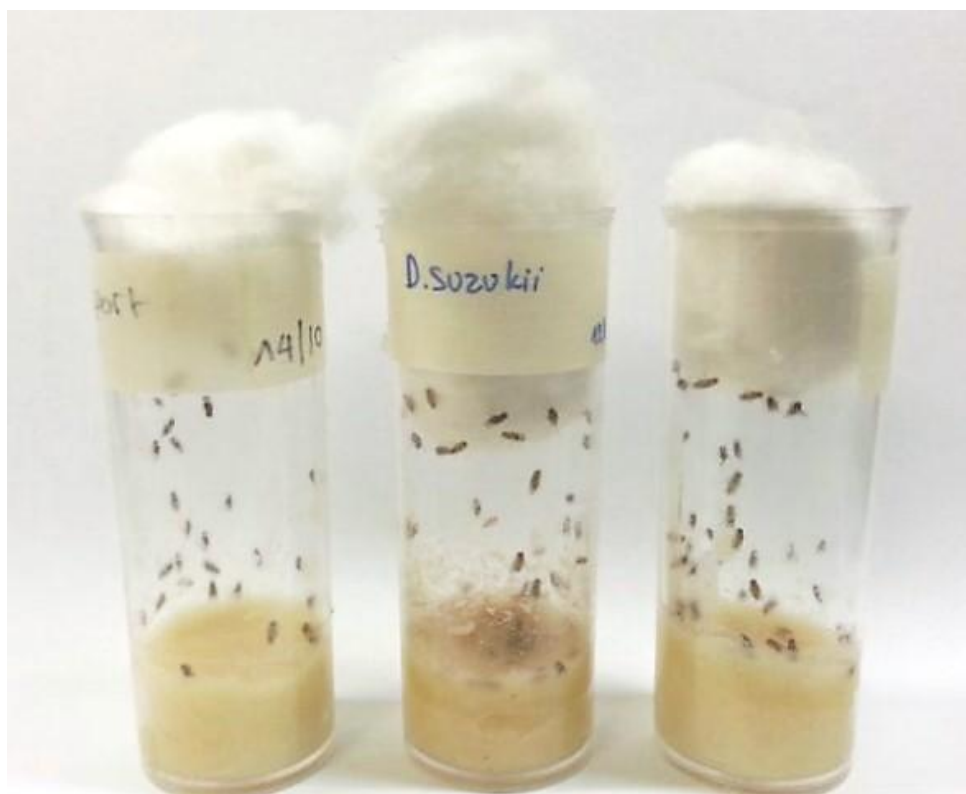
*Εικόνα 6.2: Περιοχές όπου τοποθετήθηκαν παγίδες για το *D. suzukii*. Περιοχή Βουτών (αριστερά) και Περιοχή Χερσονήσου (δεξιά)*

Οι παγίδες αντικαθίστανται ανά επτά μέρες και οι συλλήψεις μεταφέρονται στο εντομοτροφείο του τμήματος Βιολογίας με σκοπό την αναγνώριση και την καλλιέργεια του εντόμου.

7. Καλλιέργεια Πληθυσμού

Τα αποτελέσματα των συλλήψεων από τις περιοχές που τοποθετήθηκαν οι δολωματικές παγίδες επιβεβαίωσαν την ύπαρξη πληθυσμού. Το έντομο αναγνωρίστηκε μέσω του αρσενικού από τις μαύρες κηλίδες στα φτερά, που είναι ευδιάκριτες. Ωστόσο, η καλλιέργεια του φυσικού πληθυσμού δεν ήταν εφικτή εξαιτίας της δυσκολίας στην αναγνώριση των θηλυκών ενηλίκων και κατ' επέκταση της μη σύζευξής τους. Για το λόγο αυτό πραγματοποιήθηκε προμήθεια και καλλιέργεια εργαστηριακού πληθυσμού από το Beldade Laboratory, Instituto Gulbenkian de Ciência, Oeiras, της Πορτογαλίας.

Οι απαραίτητες συνθήκες για την καλλιέργεια του πληθυσμού είναι φωτοπερίοδος 16:8 LD (Light-Dark, 16 ώρες φως και 8 ώρες σκοτάδι), θερμοκρασία 23-25°C και σχετική υγρασία 65±5% (Revadi *et al.*, 2015). Τα έντομα τοποθετούνται σε αποστειρωμένα δοχεία εκτροφής (vials) που περιέχουν ειδική τροφή (Παράρτημα 1) (Εικόνα 7.1)



Εικόνα 7.1: Δοχεία εκτροφής του *D. suzukii*

8. Έλεγχος Ελκυστικότητας Ουσιών

8.1. Κατασκευή Ολφακτομέτρου

Ο έλεγχος της ελκυστικότητας των πτητικών ουσιών πραγματοποιείται με βιοδοκιμές χρησιμοποιώντας ολφακτόμετρο. Στην παρούσα μελέτη σχεδιάστηκε και κατασκευάστηκε μία βελτιστοποιημένη μορφή, βασισμένη σε πρότυπα χαρακτηριστικά (Revadi *et al.*, 2015). Όλα τα εξαρτήματα του ολφακτομέτρου, εκτός από τον κύριο κορμό, τύπου Y, σχεδιάστηκαν και κατασκευάστηκαν κατά τη διάρκεια αυτής της μελέτης με σκοπό την βελτιστοποίησή του.

Το ολφακτόμετρο σχήματος Y (Εικόνα 8.1) έχει εσωτερική διάμετρο 0,7 mm και δύο εσωτερικές διακλαδώσεις των 10 cm με γωνία 50°.



Εικόνα 8.1: Ολφακτόμετρο τύπου Y

Ο κάθε βραχίονας ενώνεται με γυάλινο δοχείο, στο οποίο έχει ενσωματωθεί στρόφιγγα με μεταλλική κυκλική προέκταση επιτυγχάνοντας την παγίδευση των εντόμων για την ευκολότερη καταμέτρησή τους. Ακολουθεί γυάλινο δοχείο στο οποίο τοποθετείται διηθητικό χαρτί (0,5 cm x 4 cm) εμποτισμένο με την προς έλεγχο πτητική ουσία στον ένα βραχίονα και με διηθητικό χαρτί εμποτισμένο με υπερκάθαρο νερό ως λευκό (control) στον άλλο. Το κάθε δοχείο ενώνεται με δίλαιμη σφαιρική φιάλη των 250 ml, όπου περιέχει υπερκάθαρο νερό. Από το δεύτερο λαιμό εισέρχεται καθαρός αέρας από φιάλη, περνώντας μέσω του νερού με σκοπό τη δημιουργία σταθερής σχετικής υγρασίας. Η ροή του αέρα ρυθμίζεται με ροόμετρο, με σκοπό την ομαλή και ελεγχόμενη μεταφορά της οσμής στα έντομα.

8.2. Βελτιστοποίηση συνθηκών λειτουργίας ολφακτομέτρου

Για να διαπιστωθεί ότι το ολφακτόμετρο που κατασκευάστηκε λειτουργεί σωστά, πραγματοποιούνται βιοδοκιμές με στέλεχος yellow-white του *D. melanogaster* (IMBB/ITE), που έχει μελετηθεί πιο εκτεταμένα ώστε να επιβεβαιωθούν βιβλιογραφικά πειράματα.

Μελέτη ροής αέρα

Αρχικά εφαρμόστηκε η ροή αέρα 300ml/min από αναφορές στη βιβλιογραφία (Doris *et al.*, 2013), παρατηρήθηκε όμως ότι τα ακμαία του *D. suzukii* δεν ανταποκρινόντουσαν σε αυτή, διότι η ενεργητικότητά τους ήταν περιορισμένη. Επομένως, η ροή μειωνόταν σταδιακά μέχρι να βρεθεί η βέλτιστη και τα έντομα να αποκρίνονται άμεσα στην ουσία. Η ιδανική ροή του αέρα για τη διεξαγωγή των βιοδοκιμών ορίστηκε στα 30ml/min.

Οι υπόλοιπες συνθήκες από τη βιβλιογραφία (Doris *et al.*, 2013) τηρήθηκαν πιστά, με σχετική υγρασία (65±5%). Το ολφακτόμετρο τοποθετείται σε απόσταση 56cm υπό λαμπτήρα φωτός ημέρας (120W) και προστατεύεται από εξωγενή οπτικά ερεθίσματα με τη χρήση χάρτινης κατασκευής. Τα πειράματα πραγματοποιούνται σε σταθερή θερμοκρασία 20°C (Doris *et al.*, 2013).

8.3. Βιοδοκιμές

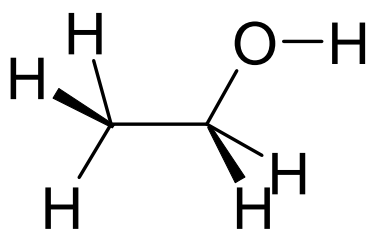
Πριν από κάθε βιοδοκιμή, είκοσι έντομα (ηλικίας 2-7 ημερών) τοποθετούνται με το δοχείο εκτροφής για μερικά λεπτά σε πάγο με σκοπό την αναισθητοποίηση και την εύκολη μεταφορά τους, χωρίς να διαφύγουν στο περιβάλλον (Baron and Dickinson 2000). Εν συνεχεία, αφού έχει ρυθμιστεί η λειτουργία του ολφακτομέτρου, τοποθετούνται, είτε είκοσι

θηλυκά είτε είκοσι αρσενικά, στον κεντρικό βραχίονα και αφήνονται 30 λεπτά για να εγκλιματιστούν. Ακολουθεί ο εμποτισμός του διηθητικού χαρτιού με 10μL υδατικού διαλύματος με την ουσία προς εξέταση και 10μL υπερκάθαρου νερού, τα οποία τοποθετούνται στους δυο βραχίονες αντίστοιχα (Thomas 2014).

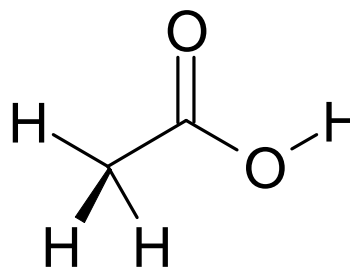
Τα έντομα αφήνονται για 30 λεπτά να κινηθούν και να επιλέξουν προς τα που θα κατευθυνθούν. Μετά το πέρας του χρόνου αυτού, οι μεταλλικές στρόφιγγες κλείνονται και πραγματοποιείται καταμέτρηση. Τα έντομα τα οποία δεν επέλεξαν κάποια από τις δύο επιλογές καταγράφονται ως “no choice”. Η ίδια διαδικασία επαναλαμβάνεται 10 φορές για την κάθε παράμετρο που εξετάζεται και κανένα από τα έντομα δε χρησιμοποιείται δεύτερη φορά στην ίδια βιοδοκιμή.

Παράμετροι προς εξέταση

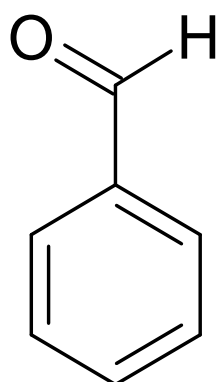
Η βασική παράμετρος που μελετάται είναι η ουσία. Οι ουσίες που εξετάζονται ως προς την ελκυστικότητα τους είναι η αιθανόλη (σ.ζ. 78,4°C), το οξικό οξύ (σ.ζ. 118°C), η λιναλοόλη (σ.ζ. 198°C), η βενζαλδεΐδη (σ.ζ. 178,1°C) και συνδυασμός αυτών.



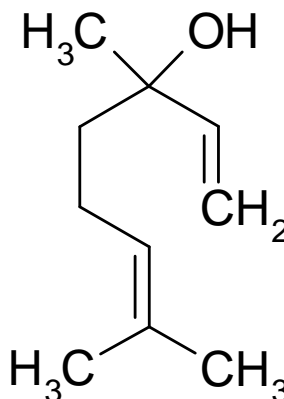
Αιθανόλη



Οξικό οξύ



Βενζαλδεΐδη



Λιναλοόλη

Ο λόγος που επιλέχθηκαν οι συγκεκριμένες ουσίες είναι ότι η αιθανόλη και το οξικό οξύ είναι προϊόντα ζύμωσης και είναι ήδη γνωστό ότι ελκύουν το *D. sukii* (Landolt *et al.*, 2012), ενώ η λιναλόλη και η βενζαλδεΐδη είναι οι ουσίες που είναι υπεύθυνες για το χαρακτηριστικό άρωμα των κερασιών, ιδιαίτερα προτιμώμενος ξενιστής από το έντομο (Muna *et al.*, 2013).

Έπειτα εξετάστηκε η παράμετρος της συγκέντρωσης της ουσίας. Αρχικά, μελετήθηκαν οι καθαρές ουσίες και παρατηρήθηκε η πλήρης ακινησία των εντόμων. Στη συνέχεια ακολουθήθηκαν βιβλιογραφικές αναφορές και μελετήθηκαν υδατικά διαλύματα των ουσιών με συγκεντρώσεις 10ng/μL (Thomas 2014) και 5ng/μL.

Παράλληλα, η ελκυστικότητα εξετάστηκε σε σχέση με το φύλο του εντόμου, καθώς και το αν υπάρχει διαφοροποίηση όταν τα έντομα υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας ή μη. Για τις συνθήκες ατροφίας, τα έντομα μεταφέρονται σε δοχείο εκτροφής χωρίς τροφή και αφήνονται για 12 ώρες πριν την κάθε βιοδοκιμή (Revadi *et al.*, 2015).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΒΙΟΔΟΚΙΜΩΝ

Τα αποτελέσματα των βιοδοκιμών αναλύονται με γραφήματα που δείχνουν στον άξονα y το ποσοστό του πληθυσμού που κινήθηκε στο βραχίονα του ολφακτομέτρου που περιέχει διάλυμα της εκάστοτε ουσίας ή συνδυασμού ουσιών, ενώ το συμπληρωματικό ποσοστό δείχνει τον πληθυσμό που κινήθηκε στον βραχίονα που περιέχει το λευκό. Στον άξονα x αναλύονται η ουσία ή κάποια παράμετρος.

Οι ουσίες που εξετάστηκαν ήταν η αιθανόλη, το οξικό οξύ, η λιναλοόλη και η βενζαλδεΐδη, καθώς και τρεις συνδυασμοί αυτών, αιθανόλη-οξικό οξύ, αιθανόλη-οξικό οξύ-λιναλοόλη, αιθανόλη-οξικό οξύ-βενζαλδεΐδη.

Τα αποτελέσματα αναλύονται σε 2 μεγάλες κατηγορίες, θηλυκά και αρσενικά ακμαία, και σε κάθε κατηγορία αναλύονται οι επιμέρους παράμετροι που μελετήθηκαν, όπως η ουσία, η συγκέντρωσή της και η κατάσταση των εντόμων (ατροφία ή μη).

A. Θηλυκά Ακμαία

A.1. Απόκριση θηλυκών ακμαίων σε κάθε ουσία χωριστά

Όπως αναφέρθηκε και στο πειραματικό, αφού ρυθμιστεί η λειτουργία του ολφακτομέτρου αρχίζουν οι βιοδοκιμές για τον έλεγχο ελκυστικότητας⁷. Αρχικά, εξετάστηκε η απόκριση των θηλυκών ακμαίων σε συγκεντρώσεις των ουσιών σε υδατικό διάλυμα 10ng/μL και 5ng/μL σε κατάσταση ατροφίας ή μη.

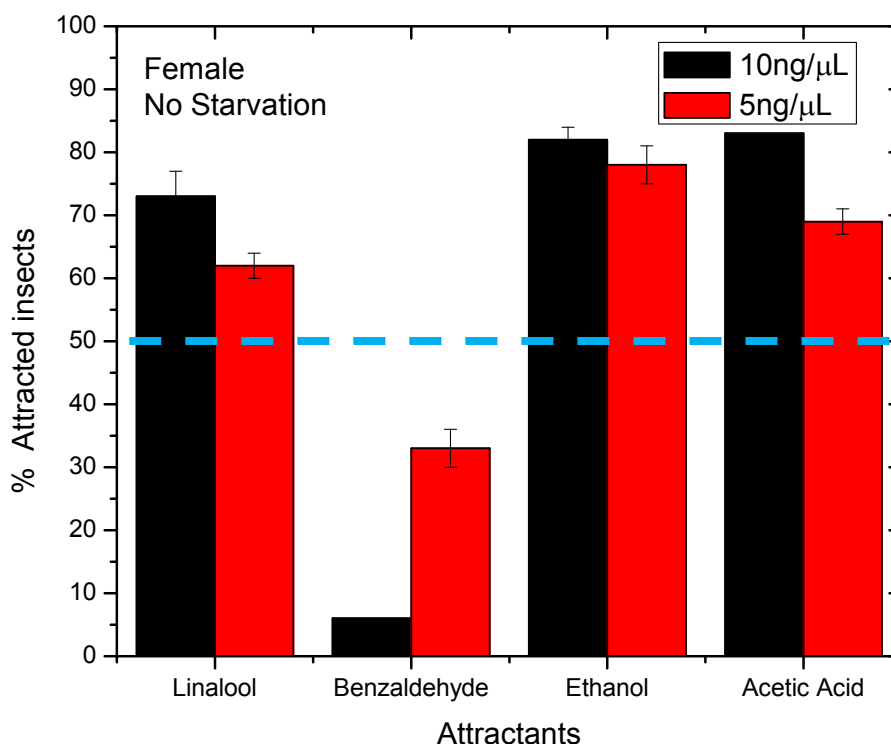
Κατάσταση μη Ατροφίας

Στο παρακάτω γράφημα (A.1) παρουσιάζεται η ελκυστικότητα των εξεταζόμενων ουσιών, στις δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις (10ng/μL και 5ng/μL), ως προς τα θηλυκά ακμαία τα οποία δεν υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας.

Παρατηρείται ότι τα θηλυκά, τα οποία δεν υποβάλλονται σε ατροφία, και η συγκέντρωση των πτητικών ουσιών είναι 10ng/μL έλκονται περισσότερο από το οξικό οξύ, την αιθανόλη, και λιγότερο από τη λιναλοόλη με ποσοστά 83,0%, 82±2% και 73±4% αντίστοιχα. Η βενζαλδεΐδη παρατηρείται ότι είναι απωθητική⁸ γιατί τα έντομα επέλεξαν τον βραχίονα με την ουσία με ποσοστό 6,0%, ενώ το 94,0% επέλεξε το βραχίονα με το λευκό. Επίσης, είναι εμφανές ότι η μείωση της συγκέντρωσης σε 5ng/μL έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της ελκυστικότητας, με την αιθανόλη αυτή τη φορά να είναι περισσότερο ελκυστική με 78±3%, το οξικό οξύ με 69±2%, και τη λιναλοόλη με 62±2%. Η βενζαλδεΐδη είναι η μόνη ουσία στην οποία παρατηρείται αντίθετη συμπεριφορά δηλαδή με τη μείωση της συγκέντρωσης στα 5ng/μL μειώνεται η απωθητικότητα της σε ποσοστό 33±3%.

⁷ Ελκυστική θεωρείται η ουσία, η οποία όταν χρησιμοποιείται στο ολφακτόμετρο ελκύει προς αυτήν πάνω από το 50% των εντόμων, σε στατιστικά σημαντικό πληθυσμό.

⁸ Απωθητική θεωρείται μία ουσία η οποία όταν χρησιμοποιείται στο ολφακτόμετρο κατευθύνει προς το βραχίονα που εμπεριέχει το control πάνω από το 50% των εντόμων, σε στατιστικά σημαντικό πληθυσμό.



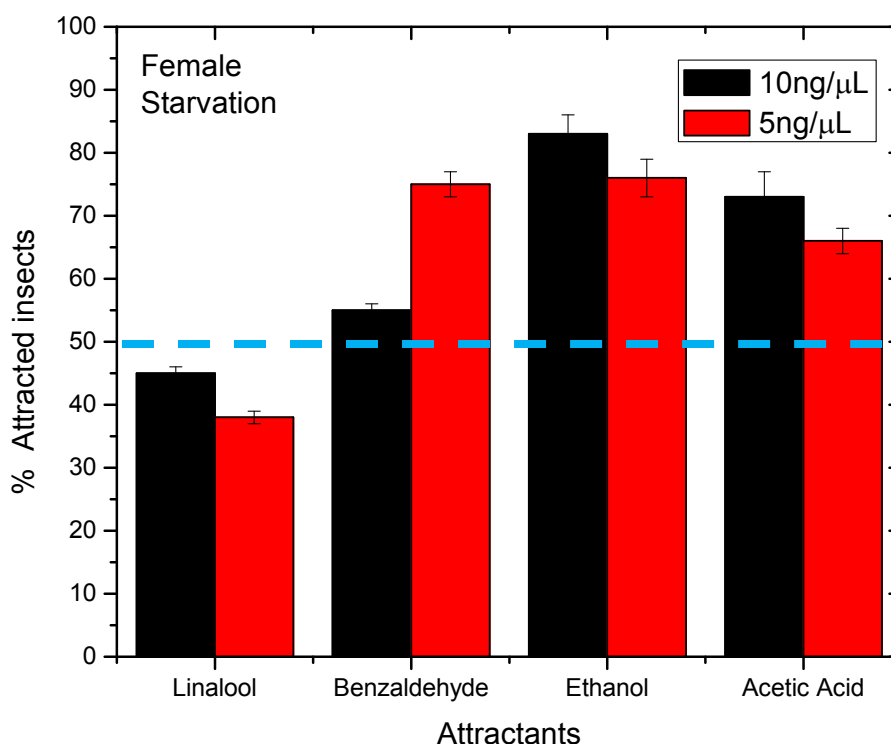
Γράφημα A.1: Το ποσοστό των θηλυκών ακμαίων σε μη απροφία (no starvation) που κινήθηκαν προς τις ελκυστικές ουσίες, σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις, 10ng/μL (μαύρο) και 5ng/μL (κόκκινο)

Η μεγάλη ελκυστικότητα του οξικού οξέος ήταν αναμενόμενη μιας και πειράματα στον αγρό έδειξαν ότι το οξικό οξύ είναι αρκετά ελκυστικό για το SWD (Landolt *et al.*, 2011). Επίσης το οξικό οξύ είναι η κύρια πτητική ουσία στο ξύδι και είναι ήδη γνωστό ότι οξέα με μικρές ανθρακικές αλυσίδες έλκουν αρκετά έντομα (Hibbard *et al.*, 1997). Η αιθανόλη δεν έδειξε μεγάλη ελκυστικότητα όταν συγκρίθηκε με το οξικό οξύ, σε πειράματα στον αγρό, (Landolt *et al.*, 2011) σε αντίθεση, με τις βιοδοκιμές που πραγματοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, οι οποίες έδειξαν ότι η αιθανόλη έχει εξίσου μεγάλη ελκυστικότητα με το οξικό οξύ. Αυτό μπορεί να οφείλεται στη συγκέντρωση της ουσίας (Stensmyr *et al.*, 2002), γιατί είναι ξεκάθαρο ότι και από τις δικές μας μελέτες η συγκέντρωση μιας ουσίας παίζει καθοριστικό ρόλο για την ελκυστικότητά της.

Η ελκυστικότητα της λιναλοόλης ήταν και αυτή αναμενόμενη διότι είναι μία ουσία όπου βρίσκεται σχεδόν σε όλα τα φρούτα-ξενιστές του *D. suzukii*. Επιπλέον, σε πειράματα με την αναλυτική τεχνική GC-EAD, έχει παρατηρηθεί ότι η κεραία του εντόμου δίνει απόκριση σε πολλά είδη φρούτων όπου υπήρχε η λιναλοόλη (Revadi *et al.*, 2015). Η βενζαλδεΰδη βρίσκεται σε μεγάλη συγκέντρωση στον προτιμώμενο ξενιστή, κεράσι, του SWD, παρόλα αυτά θεωρείται απωθητική σε σύγκριση με τις υπόλοιπες ουσίες.

Κατάσταση Ατροφίας

Στη συνέχεια επαναλαμβάνονται οι ίδιες βιοδοκιμές, με θηλυκά ακμαία τα οποία υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας με σκοπό να ελεγχθεί τυχόν διαφοροποίηση (Γράφημα Α.2).



Γράφημα Α.2: Το ποσοστό των θηλυκών ακμαίων σε ατροφία (*starvation*) που κινήθηκαν ως προς τις ελκυστικές ουσίες, σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις, όπου 10ng/μL (μαύρο) και 5ng/μL (κόκκινο)

Διαπιστώνεται ότι τα θηλυκά τα οποία υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας και όταν η συγκέντρωση των πτητικών ουσιών είναι 10ng/μL έλκονται περισσότερο από την αιθανόλη με ποσοστό 83±3%, το οξικό οξύ με 73±4% και τη βενζαλδεΐδη με 55±1%. Η λιναλοόλη στις συγκεκριμένες συνθήκες θεωρείται ουδέτερη⁹ με ποσοστό 45±1%, γιατί δεν επηρεάζει

⁹ Ουδέτερη θεωρείται μία ουσία η οποία δεν επηρεάζει την κατανομή των εντόμων.

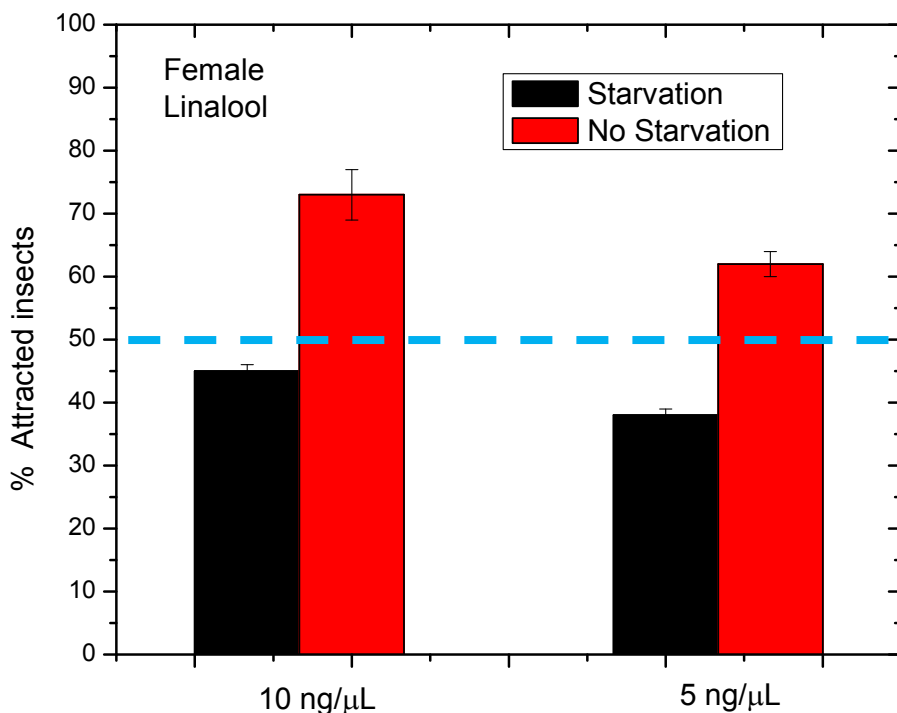
ιδιαίτερα την απόκριση των εντόμων, μιας και στο βραχίονα όπου είχε τοποθετηθεί το λευκό κινήθηκαν το $55\pm 1\%$. Επιπλέον, μειώνοντας τη συγκέντρωση σε $5\text{ng}/\mu\text{L}$ παρατηρείται η ίδια ακριβώς συμπεριφορά όπως με τα έντομα, τα οποία δεν υποβάλλονται σε ατροφία, δηλαδή μειώνεται η απόκρισή τους, εκτός από τη βενζαλδεΐδη όπου η απόκριση των εντόμων αυξάνεται. Η αιθανόλη εξακολουθεί να εμφανίζει τη μεγαλύτερη ελκυστικότητα με ποσοστό $76\pm 3\%$, ενώ τα αντίστοιχα ποσοστά είναι για το οξικό οξύ $66\pm 2\%$, για τη βενζαλδεΐδη $75\pm 2\%$ και για τη λιναλοόλη $38\pm 1\%$.

Από τα γραφήματα (A.1) και (A.2) φαίνεται ότι όταν αλλάζει η κατάσταση του εντόμου (ατροφία ή μη) και ανεξαρτήτως συγκέντρωσης η ελκυστικότητα ορισμένων ουσιών διαφοροποιείται. Αυτό αναφέρεται και σε παλιότερες μελέτες, που δείχνουν ότι η κατάσταση ατροφίας επηρεάζει την απόκριση του *D. suzukii* (Becher *et al.*, 2010). Η ελκυστικότητα της αιθανόλης παραμένει σταθερή, του οξικού οξέος παρουσιάζει μια μικρή μείωση, ενώ για τη λιναλοόλη και τη βενζαλδεΐδη, κρίνεται απαραίτητη η περαιτέρω διερεύνησή τους.

Διερεύνηση της απόκρισης SWD στη λιναλοόλη και στη βενζαλδεΐδη

Εξαιτίας, της ιδιαίτερης συμπεριφοράς που παρουσίασαν τα έντομα ως προς τη λιναλοόλη και τη βενζαλδεΐδη σε σχέση με τις άλλες ουσίες, στα γραφήματα (A.3) και (A.4) αναλύονται εκτενέστερα η απόκριση των θηλυκών ακμαίων σε συνθήκες ατροφίας ή μη για τις δύο αυτές ουσίες.

Η συγκέντρωση της λιναλοόλης φαίνεται να μην παίζει καθοριστικό ρόλο για την ελκυστικότητά της. Σε συνθήκες ατροφίας, μειώνοντας τη συγκέντρωση της λιναλοόλης παρατηρείται αντίστοιχη μείωση με αυτή που παρατηρείται όταν το έντομο βρίσκεται σε συνθήκες μη ατροφίας. Σε σταθερή όμως συγκέντρωση της ουσίας ($10\text{ng}/\mu\text{L}$ ή $5\text{ng}/\mu\text{L}$) η κατάσταση του εντόμου (ατροφία ή μη) επηρεάζει σημαντικά την απόκρισή του. Και στις δύο συγκεντρώσεις λιναλοόλης παρατηρείται σημαντική αύξηση της απόκρισης των εντόμων όταν τα έντομα δε βρίσκονται σε κατάσταση ατροφίας ($45\pm 1\%$ έναντι $73\pm 4\%$ στα $10\text{ng}/\mu\text{L}$ και $38\pm 1\%$ έναντι $62\pm 2\%$ στα $5\text{ng}/\mu\text{L}$).



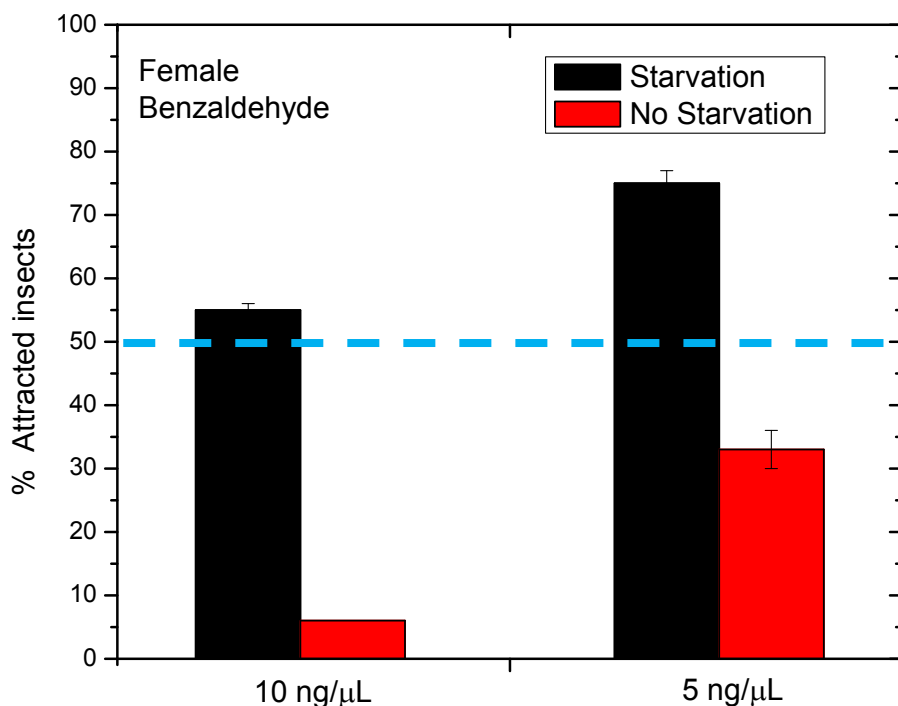
Γράφημα A.3: Το ποσοστό των θηλυκών ακμαίων που κινήθηκαν ως προς τη λιναλοόλη στις δύο συγκεντρώσεις (10ng/μL και 5ng/μL), υπό ατροφία (μαύρο) και μη ατροφία (κόκκινο)

Το γεγονός υποδεικνύει ότι η λιναλοόλη είναι ελκυστική μόνο για τα ακμαία, τα οποία αναζητούν τον κατάλληλο ξενιστή για να ωτοκήσουν, ενώ μειώνεται η απόκρισή τους, όταν αναζητούν τον κατάλληλο ξενιστή για να τραφούν. Γενικά τα θηλυκά του *D. suzukii* έλκονται από τη μυρωδιά των προϊόντων ζύμωσης για να τραφούν, αλλά προτιμούν να βρίσκουν μη κατεστραμμένα φρούτα για να ωτοκήσουν (Mitsui *et al.*, 2006, Walsh *et al.*, 2011)

Αντίθετα με τη λιναλοόλη, για τη βενζαλδεΰδη διαπιστώνεται ότι και η συγκέντρωση και η κατάσταση του εντόμου παίζουν σημαντικό ρόλο στην απόκρισή του. Και στις δύο περιπτώσεις (ατροφία ή μη) μειώνοντας τη συγκέντρωση της βενζαλδεΰδης αυξάνεται σημαντικά η απόκριση των εντόμων. Στην περίπτωση χαμηλής συγκέντρωσης υπάρχει πιθανότητα η ουσία να μην μπορεί να ανιχνευθεί από το έντομο, ενώ στην περίπτωση υψηλής συγκέντρωσης, το οσφρηστικό σύστημα του εντόμου κορένεται και η ουσία γίνεται απωθητική (Stensmyr *et al.*, 2002). Ταυτόχρονα για την ίδια συγκέντρωση ουσίας τα έντομα σε κατάσταση ατροφίας παρουσιάζουν πολύ μεγαλύτερη απόκριση, όπου καθιστούν τη βενζαλδεΰδη ελκυστική, απ' ότι σε κατάσταση μη ατροφίας που είναι απωθητική. Στο γράφημα (A.4) σε συγκέντρωση 10ng/μL παρατηρείται απόκριση 55±1%

σε συνθήκες ατροφίας, ενώ 6,0% σε μη ατροφία. Αντίστοιχα στα 5ng/μL η ελκυστικότητα φτάνει το 75±2% σε ατροφία έναντι του 33±3% σε μη ατροφία.

Συμπεραίνεται, λοιπόν, ότι η απόκριση των εντόμων στη βενζαλδεΰδη αυξάνεται και με τη μείωση της συγκέντρωσης σε 5ng/μL αλλά και όταν τα θηλυκά ακμαία έχουν υποβληθεί σε συνθήκες ατροφίας, δηλαδή έχουν αυξημένη την ανάγκη της τροφής.



Γράφημα Α.4: Το ποσοστό των θηλυκών ακμαίων που κινήθηκαν ως προς τη βενζαλδεΰδη στις δύο συγκεντρώσεις (10ng/μL και 5ng/μL), υπό ατροφία (μαύρο) και μη ατροφία (κόκκινο)

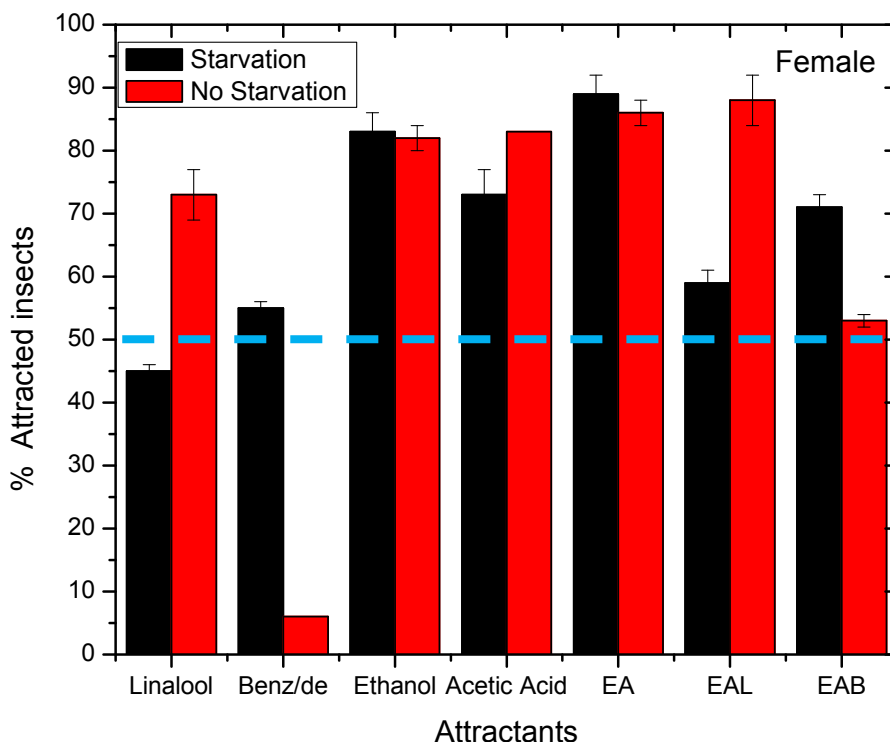
A.2. Απόκριση θηλυκών ακμαίων σε συνδυασμούς ουσιών

Μετά την ολοκλήρωση των παραπάνω βιοδοκιμών παρατηρήθηκε ότι σε όλες τις ουσίες που εξετάστηκαν, εκτός της βενζαλδεΐδης, η ιδανικότερη συγκέντρωση στην οποία τα θηλυκά αποκρίνονται περισσότερο είναι τα 10ng/μL.

Επομένως, στη συνέχεια μελετήθηκε η ελκυστικότητα των τριών συνδυασμών που αναφέρθηκαν παραπάνω (αιθανόλη - οξικό οξύ, αιθανόλη - οξικό οξύ - λιναλοόλη και αιθανόλη - οξικό οξύ - βενζαλδεΐδη) με συνολική συγκέντρωση ουσιών 10ng/μL με σκοπό να συγκριθεί η ελκυστικότητα των συνδυασμών σε σχέση με τις μεμονωμένες ουσίες. Στο γράφημα (A.5) παρουσιάζονται τα αποτελέσματα της απόκρισης των θηλυκών ακμαίων στους συνδυασμούς των ουσιών σε ατροφία ή μη. Για συγκριτικούς σκοπούς συμπεριλαμβάνονται στο γράφημα και τα αποτελέσματα ελκυστικότητας στις μεμονωμένες ουσίες.

Ο συνδυασμός αιθανόλης και οξικού οξέος είναι ο πιο ελκυστικός ως προς τα θηλυκά ακμαία, είτε αυτά έχουν υποβληθεί σε συνθήκες ατροφίας (ποσοστό 89±3%), είτε μη ατροφίας (ποσοστό 86±2%) σε σχέση με τους άλλους συνδυασμούς ουσιών. Επιπλέον η απόκριση των εντόμων στο συνδυασμό αιθανόλης - οξικού οξέος είναι ελαφρώς αυξημένη σε σχέση με την απόκριση σε κάθε ουσία ξεχωριστά. Ο συνδυασμός αιθανόλης - οξικού οξέος έχει επιβεβαιωθεί ως πιο ελκυστικός σε διάφορα είδη του *Drosophila* όπως και στο *D. suzukii*. Η αυξημένη ελκυστικότητα του διαλύματος αιθανόλης - οξικού οξέος φαίνεται να μην οφείλεται στην κάθε ουσία ξεχωριστά, αλλά στο σχηματισμό του οξικού εστέρα (Landolt *et al.*, 2011). Πειράματα με GC-EAD έδειξαν ότι ουσίες όπως εστέρες και αλκοόλες είναι πιο εύκολα ανιχνεύσιμες από το θηλυκό του *D. suzukii* (Revadi *et al.*, 2015).

Η προσθήκη της λιναλοόλης στο συνδυασμό αιθανόλης - οξικού οξέος διατηρεί την ελκυστικότητα στα θηλυκά, τα οποία δεν υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας, με ποσοστό 88±4%, ενώ η απόκριση μειώνεται για τα θηλυκά που υποβάλλονται σε ατροφία με ποσοστό 59±2%. Παρατηρείται δηλαδή ότι ο συνδυασμός αιθανόλης - οξικού οξέος - λιναλοόλης είναι πιο ελκυστικός για τα θηλυκά, τα οποία αναζητούν ξενιστή, με το κριτήριο της ωτοκίας, παρά με το κριτήριο της τροφής. Γεγονός που ήταν αναμενόμενο, μιας και η λιναλοόλη όταν μελετήθηκε μόνη της, γράφημα (A.3), τα έντομα έδειξαν παρόμοια συμπεριφορά, δηλαδή αποκρίθηκαν πολύ περισσότερο σε αυτήν όταν είχαν την ανάγκη της ωτοκίας σε αντίθεση με εκείνα που είχαν την ανάγκη της τροφής.



Γράφημα A.5: Το ποσοστό των θηλυκών ακμαίων που κινήθηκαν προς τις ελκυστικές ουσίες με τελική συγκέντρωση 10ng/μL, υπό ατροφία (μαύρο), μη ατροφία (κόκκινο), EA (ethanol και acetic acid), EAL (ethanol, acetic acid και linalool) και EAB (ethanol, acetic acid και benzaldehyde)

Η προσθήκη της βενζαλδεΐδης στο συνδυασμό αιθανόλης - οξικού οξέος μειώνει την ελκυστικότητά του στα θηλυκά, τα οποία δεν υποβάλλονται σε ατροφία, με ποσοστό 53±1%, ενώ η απόκριση των θηλυκών αυξάνεται όταν υποβάλλονται σε ατροφία με ποσοστό 71±2%. Παρατηρείται δηλαδή ότι ο συνδυασμός αιθανόλης - οξικού οξέος - βενζαλδεΐδης είναι ελκυστικός για τα θηλυκά, τα οποία αναζητούν ξενιστή με κριτήριο την τροφή, κάτι το οποίο αναμενόταν, γιατί η βενζαλδεΐδη είχε δείξει αντίστοιχη συμπεριφορά, γράφημα (A.4) όταν εξετάστηκε μόνη της.

B. Αρσενικά Ακμαία

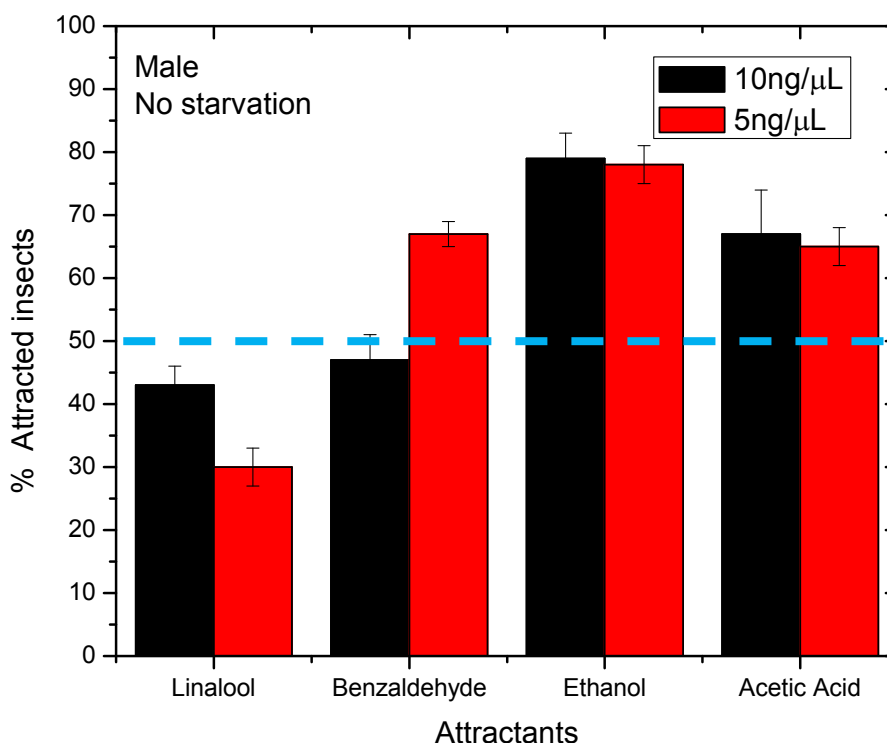
Οι βιοδοκιμές στα αρσενικά ακμαία πραγματοποιούνται ώστε να εξεταστεί η τυχόν διαφοροποίηση στη συμπεριφορά τους από τα θηλυκά. Αξίζει να σημειωθεί ότι είναι η πρώτη φορά που πραγματοποιούνται βιοδοκιμές για έλεγχο ελκυστικότητας πτητικών ουσιών με χρήση ολφακτομέτρου στα αρσενικά άτομα του *D. suzukii*.

B.1. Απόκριση αρσενικών ακμαίων σε κάθε ουσία χωριστά

Αρχικά, εξετάστηκε η απόκριση των αρσενικών ακμαίων σε συγκεντρώσεις ουσιών 10ng/μL και 5ng/μL σε κατάσταση ατροφίας ή μη.

Κατάσταση μη Ατροφίας

Στο παρακάτω γράφημα (A.6) παρουσιάζεται η ελκυστικότητα των εξεταζόμενων ουσιών, στις δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις (10ng/μL και 5ng/μL), ως προς τα αρσενικά ακμαία τα οποία δεν υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας.

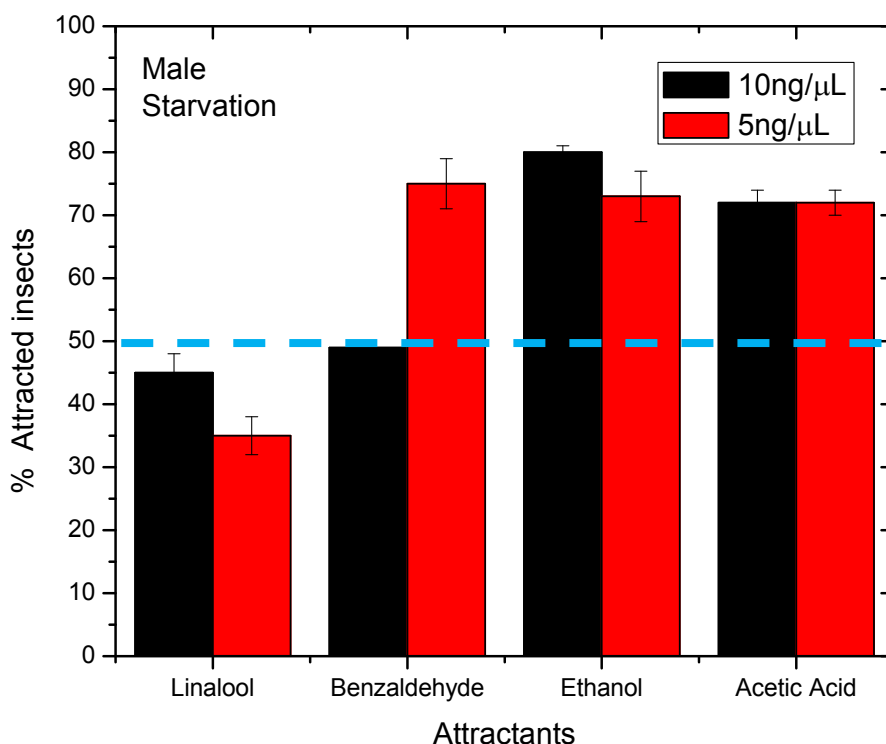


Γράφημα A.6: Το ποσοστό των αρσενικών ακμαίων σε μη ατροφία (no starvation) που κινήθηκαν προς τις ελκυστικές ουσίες, σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις, 10ng/μL (μαύρο) και 5ng/μL (κόκκινο)

Η ελκυστικότητα της αιθανόλης στα 10ng/μL είναι 79±4%, ενώ στα 5ng/μL 78±3%. Το οξικό οξύ στα 10ng/μL είναι στο 67±7%, ενώ στα 5ng/μL στο 65±3%. Παρατηρείται λοιπόν ότι η αιθανόλη και το οξικό οξύ είναι οι πιο ελκυστικές ουσίες και για τα αρσενικά τα οποία δεν υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας και επίσης είναι οι μόνες ουσίες που όταν αλλάζει η συγκέντρωσή τους δεν παρατηρούνται στατιστικά μεγάλες διαφορές στην ελκυστικότητα. Η βενζαλδεΐδη με συγκέντρωση 10ng/μL είναι ουδέτερη με ποσοστό 47±4%, ενώ για συγκέντρωση βενζαλδεΐδης 5ng/μL η ελκυστικότητα της αυξάνεται στο 67±2%. Η λιναλοόλη θεωρείται ουσία απωθητική για τα αρσενικά ακμαία. Όταν η συγκέντρωσή της είναι 10ng/μL έχει ποσοστό 43±3%, ενώ μειώνεται στο 30±3% στα 5ng/μL.

Κατάσταση Ατροφίας

Στη συνέχεια, επαναλαμβάνονται οι ίδιες βιοδοκιμές με αρσενικά ακμαία τα οποία υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας με σκοπό να ελεγχθεί τυχόν διαφοροποίηση (Γράφημα Α.7).



Γράφημα Α.7: Το ποσοστό των αρσενικών ακμαίων σε ατροφία (starvation) που κινήθηκαν ως προς τις ελκυστικές ουσίες, σε δύο διαφορετικές συγκεντρώσεις, όπου 10ng/μL (μαύρο) και 5ng/μL (κόκκινο)

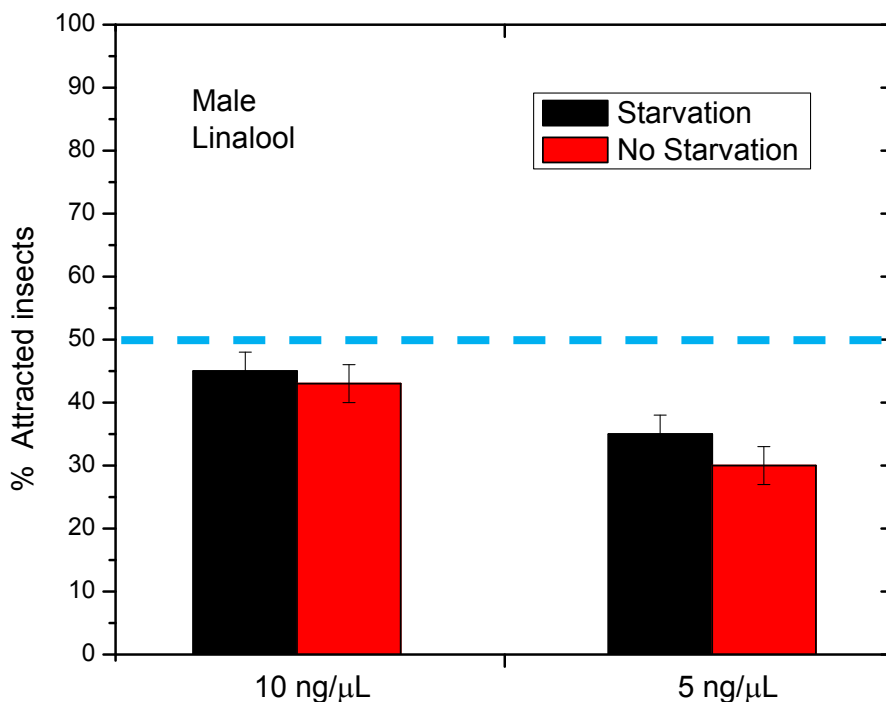
Όταν τα αρσενικά υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας η αιθανόλη και στις δύο συγκεντρώσεις συνεχίζει να εμφανίζει τη μεγαλύτερη ελκυστικότητα ($80\pm 1\%$ στα $10\text{ng}/\mu\text{L}$ και $73\pm 4\%$ στα $5\text{ng}/\mu\text{L}$). Το οξικό οξύ και στις δύο συγκεντρώσεις παρουσιάζει την ίδια ελκυστικότητα στα $72\pm 2\%$. Ακολουθεί η βενζαλδεΐδη με συγκέντρωση στα $5\text{ng}/\mu\text{L}$ με $75\pm 4\%$, ενώ στα $10\text{ng}/\mu\text{L}$ η απόκριση των ακμαίων μειώνεται στα $49\pm 1\%$. Τέλος, η απόκριση των ακμαίων μειώνεται σε συγκέντρωση λιναλοόλης $10\text{ng}/\mu\text{L}$ σε ποσοστό $45\pm 3\%$, ενώ στα $5\text{ng}/\mu\text{L}$ εμφανίζουν ποσοστό $35\pm 3\%$. Συγκρίνοντας τη συμπεριφορά των αρσενικών και στις δύο συγκεντρώσεις ($10\text{ng}/\mu\text{L}$ και $5\text{ng}/\mu\text{L}$), όταν υποβάλλονται σε ατροφία ή όχι, δεν παρατηρούνται στατιστικά σημαντικές μεγάλες διαφορές στην απόκρισή τους. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι τα αρσενικά επιλέγουν ένα ξενιστή με μοναδικό κριτήριο την τροφή.

Η λιναλοόλη και η βενζαλδεΐδη ήταν οι μόνες ουσίες που παρουσίασαν κάποια διαφοροποίηση στην ελκυστικότητά των αρσενικών όταν μελετήθηκαν ως προς την επίδραση των διαφορετικών συγκεντρώσεων. Για το λόγο αυτό η συμπεριφορά των SWD στα δυο αυτές ουσίες αναλύεται εκτενέστερα παρακάτω.

Διερεύνηση της απόκρισης SWD στη λιναλοόλη και στη βενζαλδεΐδη

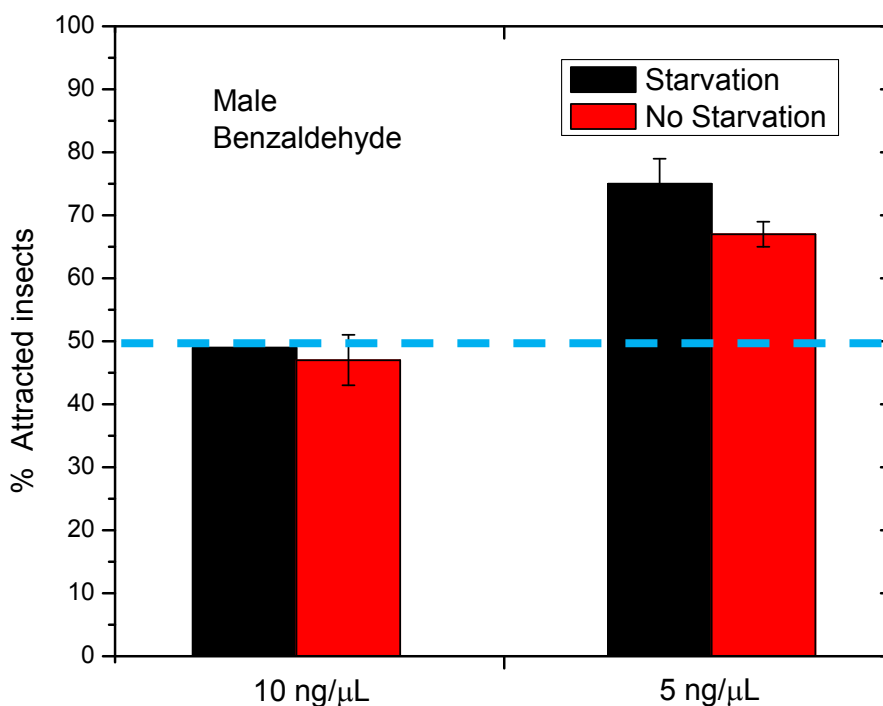
Όταν η συγκέντρωση της λιναλοόλης είναι $10\text{ng}/\mu\text{L}$ και τα αρσενικά υποβάλλονται σε ατροφία η απόκρισή τους φτάνει στο $45\pm 3\%$, ενώ όταν δεν υποβάλλονται στο $43\pm 3\%$. Αντίστοιχα για τα $5\text{ng}/\mu\text{L}$ σε συνθήκες ατροφίας η απόκρισή τους φτάνει στο $35\pm 3\%$, ενώ όταν δεν υποβάλλονται στο $30\pm 3\%$. Παρατηρείται λοιπόν ότι η συμπεριφορά των αρσενικών ακμαίων σε κάθε συγκέντρωση λιναλοόλης δεν διαφοροποιείται σημαντικά όταν υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας ή μη, αντίθετα με τα θηλυκά ακμαία. Παράλληλα η μείωση της συγκέντρωσης λιναλοόλης από $10\text{ng}/\mu\text{L}$ σε $5\text{ng}/\mu\text{L}$ μειώνει ελαφρά την απόκριση των εντόμων. Από τα αποτελέσματα αυτά φαίνεται ότι ο παράγοντας τροφή δεν παίζει ρόλο στην ελκυστικότητα της λιναλοόλης.

Όταν η συγκέντρωση της βενζαλδεΐδης είναι $10\text{ng}/\mu\text{L}$ και τα αρσενικά υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας η ελκυστικότητα φτάνει στο $49\pm 1\%$, ενώ όταν δεν υποβάλλονται στο $47\pm 4\%$. Αντίστοιχα για τα $5\text{ng}/\mu\text{L}$ σε συνθήκες ατροφίας η ελκυστικότητα φτάνει στο $75\pm 4\%$, ενώ όταν δεν υποβάλλονται στο $67\pm 2\%$.



Γράφημα A.8: Το ποσοστό των αρσενικών ακμαίων που κινήθηκαν ως προς τη λιναλόλη στις δύο συγκεντρώσεις (10ng/μL και 5ng/μL), υπό ατροφία (μαύρο) και μη ατροφία (κόκκινο)

Διαπιστώνεται λοιπόν ότι και στη βενζαλδεΰδη ο παράγοντας τροφής δεν παίζει καθοριστικό ρόλο στην ελκυστικότητα, αλλά η συγκέντρωσή είναι αυτή που έχει σημαντική επίδραση. Συγκεκριμένα παρατηρείται ότι η απόκριση των εντόμων στη βενζαλδεΰδη αυξάνεται σε χαμηλότερη συγκέντρωση. Η ίδια συμπεριφορά έχει παρατηρηθεί και στην περίπτωση των θηλυκών ακμαίων. Αξίζει να σημειωθεί ότι η συμπεριφορά αυτή είναι αντίθετη από αυτή της λιναλοόλης.

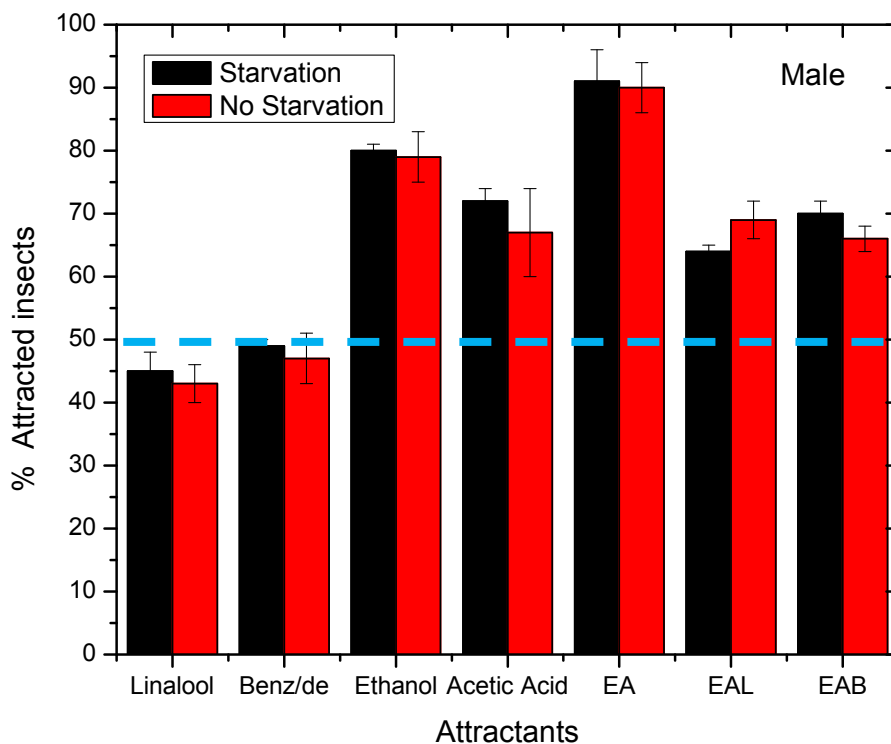


Γράφημα A.9: Το ποσοστό των αρσενικών ακμαίων που κινήθηκαν ως προς τη βενζαλδεΐδη στις δύο συγκεντρώσεις (10ng/μL και 5ng/μL), υπό ατροφία (μαύρο) και μη ατροφία (κόκκινο)

B.2. Απόκριση αρσενικών ακμαίων σε συνδυασμούς ουσιών

Όπως και στα θηλυκά έτσι και στα αρσενικά πραγματοποιήθηκαν βιοδοκιμές με τους συνδυασμούς των ουσιών, έχοντας συνολική συγκέντρωση 10ng/μL (Γράφημα A.10). Ο λόγος που επιλέχθηκε αυτή η συγκέντρωση είναι γιατί και στα αρσενικά τα 10ng/μL παρουσίασαν τη μεγαλύτερη ελκυστικότητα, εκτός από τη βενζαλδεΐδη.

Όσον αφορά και τα αρσενικά, διαπιστώνεται ότι ο συνδυασμός αιθανόλης και οξικού οξέος είναι ο πιο ελκυστικός και για τα ακμαία που υποβάλλονται σε ατροφία με ποσοστό $91\pm 5\%$ και για αυτά που δεν υποβάλλονται με ποσοστό $90\pm 4\%$.

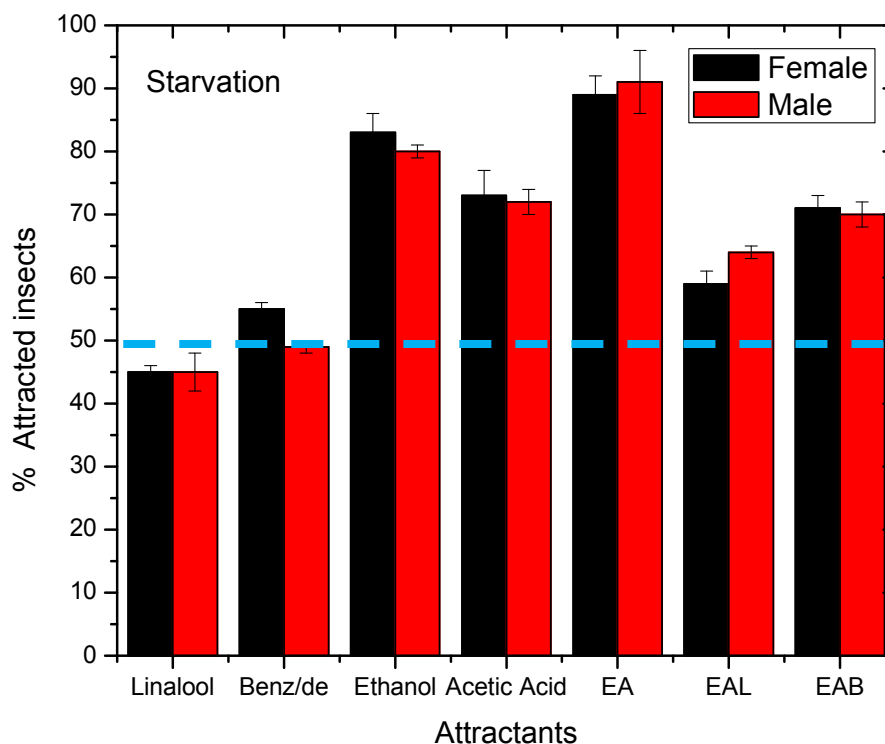


Γράφημα A.10: Το ποσοστό των αρσενικών ακμαίων που κινήθηκαν προς τις ελκυστικές ουσίες με τελική συγκέντρωση 10ng/μL, υπό ατροφία (μαύρο), μη ατροφία (κόκκινο), EA (ethanol και acetic acid), EAL (ethanol , acetic acid και linalool) και EAB (ethanol, acetic acid και benzaldehyde)

Επιπλέον παρατηρείται ότι δεν υπάρχουν σημαντικές στατιστικές διαφοροποιήσεις στην ελκυστικότητα όλων των ουσιών όταν αλλάζει η κατάσταση του εντόμου (ατροφία ή όχι). Παρατηρείται μόνο μια ελάχιστη αύξηση όταν υποβάλλονται σε ατροφία, το οποίο είναι λογικό να αυξάνεται η απόκριση τους στην ουσία μιας και η ανάγκη για τροφή είναι μεγαλύτερη.

Γ. Σύγκριση Αρσενικών και Θηλυκών

Τέλος, τα αποτελέσματα συγκεντρώνονται σε δύο γραφήματα (Α.11) και (Α.12), όπου μελετάται η τυχόν διαφοροποίηση στην απόκριση των θηλυκών και των αρσενικών ακμαίων σε κατάσταση ατροφίας και μη.

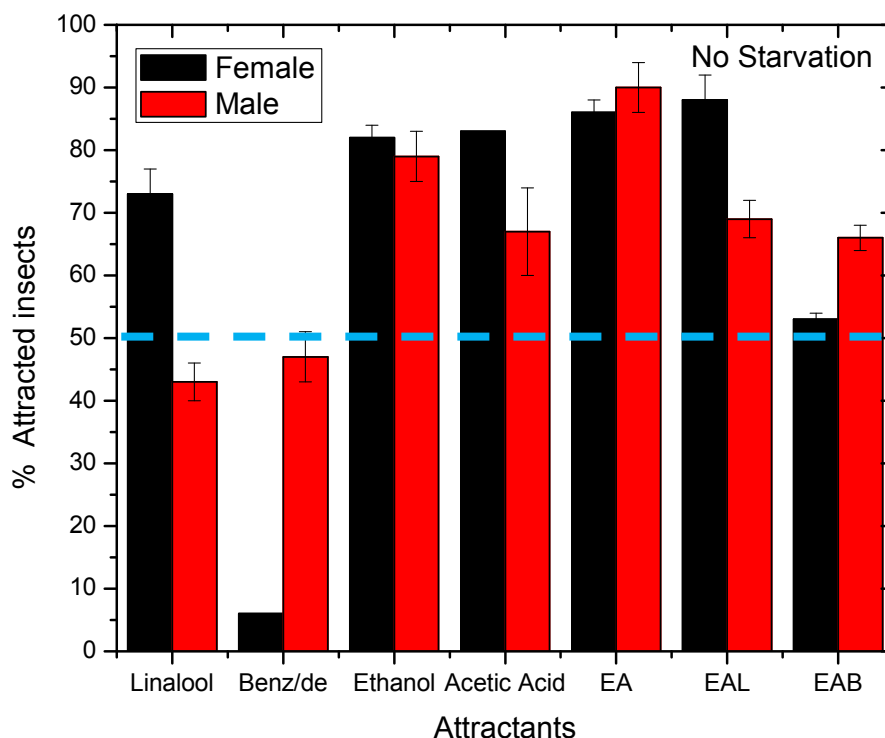


Γράφημα Α.11: Το ποσοστό των ακμαίων που κινήθηκε ως προς τις ελκυστικές ουσίες με τελική συγκέντρωση 10ng/μL, τα οποία υποβλήθηκαν σε συνθήκες ατροφίας, όπου θηλυκό (μαύρο), αρσενικό (κόκκινο), EA (ethanol και acetic acid), EAL (ethanol, acetic acid και linalool) και EAB (ethanol, acetic acid και benzaldehyde)

Συγκρίνοντας την απόκριση μεταξύ θηλυκών και αρσενικών, τα οποία έχουν υποβληθεί σε συνθήκες ατροφίας παρατηρείται ότι δεν υπάρχουν μεγάλες στατιστικές διαφορές μεταξύ των δύο φύλων σε καμία από τις ουσίες οι οποίες εξετάστηκαν. Αυτό συμβαίνει διότι σε συνθήκες ατροφίας τα έντομα, ανεξαρτήτως φύλου, έλκονται με βασικό κριτήριο την τροφή.

Σε αντίθεση με το παραπάνω, όταν συγκριθεί η απόκριση των δύο φύλων σε συνθήκες μη ατροφίας, παρατηρείται ότι υπάρχουν μεγάλες στατιστικές διαφορές στη λιναλοόλη και

στη βενζαλδεΐδη καθώς και στους συνδυασμούς ουσιών που τις εμπεριέχουν (Γράφημα A.12).



Γράφημα A.12: Το ποσοστό των ακμαίων που κινήθηκε ως προς τις ελκυστικές ουσίες με τελική συγκέντρωση 10ng/μL, τα οποία υποβλήθηκαν σε συνθήκες μη ατροφίας, όπου θηλυκό (μαύρο), αρσενικό (κόκκινο), EA (ethanol και acetic acid), EAL (ethanol, acetic acid και linalool) και EAB (ethanol, acetic acid και benzaldehyde)

Η απόκριση των αρσενικών ακμαίων στη λιναλοόλη και στη βενζαλδεΐδη σε συνθήκες μη ατροφίας είναι παρόμοια με εκείνη των αρσενικών ακμαίων, τα οποία υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας.

Αντίθετα, η απόκριση των θηλυκών στη λιναλοόλη και στη βενζαλδεΐδη διαφοροποιείται ανάλογα με την κατάσταση του θηλυκού ακμαίου (Γραφήματα A.11 και A.12)

Συμπεραίνεται, λοιπόν ότι όταν υπάρχει βασικό κριτήριο η τροφή, η απόκριση των εντόμων, αρσενικών και θηλυκών, είναι σχεδόν η ίδια. Όταν όμως υπάρχει το κριτήριο της ωοτοκίας, οι αποκρίσεις διαφοροποιούνται.

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα εργασία μελετήθηκε η ελκυστικότητα ουσιών ως προς τα θηλυκά και αρσενικά ακμαία του *Drosophila suzukii*. Σκοπός ήταν να αναλυθεί η απόκριση του εντόμου σε πτητικές ουσίες φρούτων-ξενιστών και να εξεταστούν τυχόν διαφοροποιήσεις στη συμπεριφορά των θηλυκών και των αρσενικών όταν αυτά υποβάλλονται σε συνθήκες ατροφίας ή μη. Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα να δημιουργηθεί η απαραίτητη γνώση για να βρεθούν ουσίες με υψηλή ελκυστικότητα και εκλεκτικότητα και μεταγενέστερα να μπορούν χρησιμοποιηθούν είτε για τον έλεγχο κατανομής του πληθυσμού του εντόμου, είτε για τη δημιουργία ενός φυτοπροστατευτικού σκευάσματος, τύπου 'attract & kill'.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα οι δύο βασικοί παράγοντες που επηρεάζουν την ελκυστικότητα των ουσιών είναι:

- η συγκέντρωση της ουσίας και
- η κατάσταση του εντόμου (ατροφία ή μη)

Το βασικό συμπέρασμα είναι τα έντομα αποκρίνονται σε όλες τις ουσίες οι οποίες εξετάστηκαν, είτε λιγότερο είτε περισσότερο, γεγονός που τις καθιστά ελκυστικές ή απωθητικές. Εξάγεται επίσης το συμπέρασμα ότι η πιο ελκυστική συγκέντρωση από τις δύο που εξετάστηκαν είναι τα 10ng/μL, σχεδόν για όλες τις ουσίες που ελέγχθηκαν (λιναλοόλη, βενζαλδεΰδη, αιθανόλη και οξικό οξύ), για τα θηλυκά και τα αρσενικά ακμαία, ανεξαρτήτου κατάστασης (ατροφίας ή μη).

Η βενζαλδεΰδη και η λιναλοόλη είναι οι μόνες ουσίες που παρουσίασαν διαφορετική συμπεριφορά σε σχέση με τις υπόλοιπες ουσίες αφού ο παράγοντας ατροφία μεταβάλλει την απόκριση των θηλυκών εντόμων. Πιο συγκεκριμένα, η βενζαλδεΰδη δεν αποδεικνύεται ελκυστική, εμφανίζει όμως περισσότερη ελκυστικότητα σε μικρότερη συγκέντρωση, η οποία αυξάνεται ακόμα περισσότερο όταν τα θηλυκά αναζητούν τροφή.

Η λιναλοόλη, στα θηλυκά, εμφανίζει μεγαλύτερη ελκυστικότητα σε υψηλότερη συγκέντρωση ακόμη και όταν τα έντομα δεν υποβάλλονται σε ατροφία. Συμπεραίνεται λοιπόν, ότι η λιναλοόλη έλκει τα θηλυκά που επιλέγουν έναν ξενιστή με σκοπό την ωοτοκία.

Γενικά, με τα συγκριτικά πειράματα που πραγματοποιήθηκαν σε θηλυκά και αρσενικά ακμαία διαπιστώθηκε ο παράγοντας ατροφίας διαφοροποιεί τη συμπεριφορά μόνο των θηλυκών ακμαίων και όχι των αρσενικών, μιας και τα αρσενικά επιλέγουν τον ξενιστή με

βασικό κριτήριο την τροφή. Αντίθετα, τα θηλυκά αποκρίνονται διαφορετικά σε μία ουσία ανάλογα με την ανάγκη που έχουν, δηλαδή να ωτοκήσουν ή να τραφούν.

Όταν οι ουσίες που μελετήθηκαν συνδυάστηκαν μεταξύ τους, παρατηρήθηκε ότι ο συνδυασμός αιθανόλης και οξικού οξέος, και στα θηλυκά και στα αρσενικά είναι ο πιο ελκυστικός ανεξάρτητα από την κατάσταση των εντόμων (ατροφία ή μη). Μάλιστα η απόκριση των εντόμων στο συνδυασμό είναι ελαφρώς αυξημένη σε σχέση με την απόκριση σε κάθε ουσία ξεχωριστά.

Τέλος, τα θηλυκά ακμαία σε κατάσταση μη ατροφίας παρουσιάζουν τη μεγαλύτερη απόκριση στο συνδυασμό αιθανόλης, οξικού οξέος και λιναλοόλης. Με δεδομένο ότι τα έντομα σ' αυτές τις συνθήκες έχουν αυξημένη την ανάγκη για ωτοκία, το αποτέλεσμα αυτό αποδεικνύεται αρκετά σημαντικό γιατί δίνει τη δυνατότητα παγίδευσης και αντιμετώπισης του εντόμου επιτρέποντας τη μείωση του πληθυσμού του.

ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΟΙ ΣΤΟΧΟΙ

Η μελέτη για την εύρεση του ιδανικότερου ελκυστικού για το *Drosophila suzukii* είναι ένα μεγάλο εγχείρημα με αρκετές παραμέτρους που θα πρέπει να συνυπολογιστούν. Μελλοντικές ενέργειες που θα μας φέρουν πιο κοντά σε ένα καλύτερο αποτέλεσμα είναι περισσότερες βιοδοκιμές με τη χρήση ολφακτομέτρου, όπου θα ελέγχονται οι πτητικές ουσίες. Αυτό θα έχει ως αποτέλεσμα να βρεθεί η ιδανική συγκέντρωση κάθε ουσίας στην οποία παρατηρείται η μεγαλύτερη ελκυστικότητα. Παράλληλα, βιοδοκιμές με άλλα δίπτερα της οικογένειας Drosophilidae με σκοπό να μελετηθεί η εκλεκτικότητα είναι ένας μελλοντικός στόχος. Επιπλέον, είναι απαραίτητη χρήση στατιστικού προγράμματος με το οποίο θα πραγματοποιείται η ανάλυση των δεδομένων ως προς όλες τις παραμέτρους που εξετάζονται ταυτόχρονα.

Επιπλέον, η επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων της παρούσας εργασίας με πειράματα στον αγρό είναι ένας από τους σημαντικότερους μελλοντικούς στόχους, διότι όπως αναφέρθηκε και παραπάνω η εύρεση του ιδανικότερου ελκυστικού είναι πολύ-παραγοντικό ζήτημα. Σε 'πραγματικό' περιβάλλον, όταν οι ουσίες τοποθετηθούν σε παγίδες, η ελκυστικότητα μπορεί να επηρεαστεί από τις καιρικές συνθήκες, αλλά και από παράγοντες μη αναμενόμενους όπως για παράδειγμα το χρώμα των παγίδων.

Τέλος, η μελέτη των κεραιών του *Drosophila suzukii* έτσι ώστε να σχεδιαστεί και να κατασκευαστεί βιοαισθητήρας, ο οποίος να μπορεί να έχει την ίδια επιλεκτικότητα με τις κεραιές του εντόμου.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Παράρτημα 1. Παρασκευή τροφής

Η τροφή παρασκευάστηκε με άγαρ (45gr), καλαμποκάλευρο (125gr), ζάχαρη (200gr) και θρεπτική μαγιά (70gr) σε 1L απιονισμένου νερού. Στο μείγμα προστέθηκε επιπλέον 2L απιονισμένου νερού και θερμάνθηκε για 15 λεπτά. Εν συνεχεία θερμάνθηκε μέχρι τους 63°C και προστέθηκαν 17,7mL προπιονικού οξέος συγκέντρωσης 1M και 33,3 mL αιθανόλης με καθαρότητα 95%. Η τροφή μπορεί να αποθηκευτεί στους 4°C για περίπου 3 μήνες (Dalton *et al.*, 2011).

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abraham J., Zhang A., Angeli S., Abubeker S., Michel C., Feng Y., and Rodriguez-Saona C. (2015)** Behavioral and Antennal Responses of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) to Volatiles From Fruit Extracts. *Environ. Entomol.* 44(2),356–367.
- Am H., Sttidier E., Rauscher S. (1975)** The electroantennographic detector-a selective and sensitive tool in the gas chromatographic analysis of insect pheromones. *Zeitschrift für Naturforschung* 30c,722-5.
- Amin ud Din M., Mazhar K., Haque S., Ahmed M. (2005)** A preliminary report on *Drosophila* fauna of Islamabad (Capital, Pakistan). *DIS* 88, 6–7.
- Ashburner M., Golic K., Hawley, SH. (2005)** *Drosophila: A Laboratory Handbook*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Barata, A., Malfeito-ferreira, M. and Loureiro V. (2012)** The microbial ecology of wine grape berries. *Int. J. Food Microbiol.* 153,243–259.
- Barron, A.B. Anaesthetising (2000)** *Drosophila* for behavioural studies. *Journal of Insect Physiology.* 46,439-442.
- Baroffio C., Fischer S., (2011)** Neue Bedrohung für Obstplantagen und Beerenpflanzen: die Kirschessigfliege.- *UFARevue*, 11,46-47.
- BCMAL Spotted Wing Drosophila (Fruit Fly) Pest Alert. December (2009)** British Columbia Ministry of Agriculture and Lands. <http://www.al.gov.bc.ca/cropprot/swd.htm> (Accessed 18 January 2010).
- Becher, P. G., Bengtsson, M., Hansson, B. S., and Witzgall P. (2010)** Flying the fly: long-range flight behavior of *Drosophila melanogaster* to attractive odors. *J. Chem. Ecol.* 36,599–607.
- Becher P. G., Flick G., Rozpedowska E., Schmidt A., Hagman A., Lebreton S., Larsson M. C., Hansson B. S., Piškur J., Witzgall P., and Bengtsson M. (2012)** Yeast, not fruit volatiles mediate *Drosophila melanogaster* attraction, oviposition and development. *Funct. Ecol.* 26,822–828.
- Benton, R., Vannice, K.S., Gomez-Diaz, C., Vosshall, L.B., 2009.** Variant ionotropic glutamate receptors as chemosensory receptors in *Drosophila*. *Cell* 136,149–62.
- Bolda M., Coates WW., Grant JA., Zalom FG., Van Steenwyk R., Caprile J., Flint ML 2009** Spotted Wing Drosophila, *Drosophila suzukii*: A New Pest in California. University of California Statewide Integrated Pest Management Program.
- Bradley TJ., Williams AE., Rose MR. (1999)** Physiological responses to selection for desiccation resistance in *Drosophila melanogaster*. *Integrative and Comparative Biology* 39,337-345.
- Brewer LJ., Walton V., Dreves A., Shearer P., Zalom F., Walsh D. (2011)** Biology and management of spotted wing drosophila on small and stone fruits: Year 1 reporting cycle. Department of Horticulture, Oregon State University.
- Burrack HJ. (2010)** NC Small Fruit, Specialty Crop, and Tobacco IPM Blog. Assistant Professor & Extension Specialist, North Carolina University. <http://ncsmallfruitsipm.blogspot.com/>.
- Burrack H.J., Smith J.P., Pfeiffer D.G., Koehler G., Leforest, J., (2012)** Using volunteer based networks to track *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) an invasive pest of fruit crops. *J. Integ. Pest Manag.* 3,1-5.
- Calabria G., Maca J., Bachli G., Serra L., Pascual M., (2012)** First records of the potential pest species *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) in Europe.- *J. Ap. Ent.*, 136,139-147.
- Cha D.H., Adams T., Rogg H., Landolt P.J., (2012)** Identification and field evaluation of fermentation volatiles from wine and vinegar that mediate attraction of spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*. *J.Chem. Ecol.* 38,1419-1431.

- Chabert S., Allemand R., Poyet M., Eslin P., Gibert P., (2012)** Ability of European parasitoids (Hymenoptera) to control a new invasive Asiatic pest, *Drosophila suzukii*. Biol. Cont.63,40-47.
- 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. Bull. Insect. 65,149-60.
- Cobb M., and J.-M. Jallon. (1990)** Pheromones, mate recognition and courtship stimulation in the *Drosophila melanogaster* species sub-group. Anim. Behav. 39,1058–1067.
- Coop, Leonard, and Amy J. Dreves (2013)** "Predicting when spotted wing drosophila begins activity using a degree day model." Whatcom Ag Monthly 2.3, 1-6. Agriculture in Whatcom County.
- DAFF (2010)** Verification visit to the USA; *Drosophila suzukii*. Trip Report. Plant Division, Department of Agriculture, Fisheries and Forestry.
- David J.R., Capy P., (1988)** Genetic variation of *Drosophila melanogaster* natural populations. Trends Genet. 4, 106–111.
- Davidson JK. (1990)** Nonparallel geographic patterns for tolerance to cold and desiccation in *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. Austr. J. Zool. 38,155-161.
- De Bruyne, M., Smart, R., Zammit, E., Warr, C.G., (2010)** Functional and molecular evolution of olfactory neurons and receptors for aliphatic esters across the *Drosophila* genus. J. Comp. Physiol. A. Neuroethol. Sens. Neural. Behav. Physiol. 196, 97–109.
- Dudareva, N., Pichersky E., Gershenzon J. (2004)** Biochemistry of plant volatiles. Plant Physiol., 135, 1893-1902.
- Dong H. Cha & Todd Adams & Helmuth Rogg & Peter J. Landolt (2012)** Identification and Field Evaluation of Fermentation Volatiles from Wine and Vinegar that Mediate Attraction of Spotted Wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii* J. Chem. Ecol. 38,14190-1431.
- Dong H Ch., Adams T., Twerle C., Sampson BJ., Adamczyk JJ. Jr, Rogg H. and Landolt PJ. (2013)** A four-component synthetic attractant for *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) isolated from fermented bait headspace. Pest. Man. Sc. 70(2), 324-3.
- Doris YU, Zalom F. G., and Hamby K. A. (2013)** Host Status and Fruit Odor Response of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) to Figs and Mulberries. J. Econ. Entomol. 106(4),1932-1937.
- Dreves, A., & Langellotto-Rhodaback, G. (2011)** Protecting garden fruits from spotted wing drosophila. Oregon State University.
- Dreves AJ., Walton V., Fisher G. (2009)** A new pest attacking healthy ripening fruit in Oregon. Spotted wing *Drosophila*: *Drosophila suzukii* (Matsumura). EM 8991 October 2009. Oregon State University.
- Ferrar P. (1987)** A guide to the breeding habits and immature stages of Diptera Cyclorrhapha – Family Drosophilidae. Entomonograph Scandinavian Science Press, Leiden, Copenhagen, (1) 143–161.
- Franchi A., Barani A. (2011)** Un nuovo agente di danno per frutta e vite in Emilia.- Notiziario Fitopatologico, 2, 14.
- Galizia, C.G., Rössler, W., (2010)** Parallel olfactory systems in insects: anatomy and function. Annu. Rev. Entomol. 55, 399–420.
- Goodhue R. E., Bolda M., Farnsworth D., Williams J. C., Zalom F. G., (2011)** Spotted wing drosophila infestation of California strawberries and raspberries: economic analysis of potential revenue losses and control costs.- Pest Management Science, 67, 1396-1402.
- Grassi A., Palmieri L., Giongo L., (2009)** Nuovo fitofago peri piccoli frutti in Trentino.- Terr. Trent., 55 (10), 19-23.
- Grassi A., Palmieri L., Giongo L., (2012)** *Drosophila* (Sophophora) *suzukii* (Matsumura), new pest of soft fruits in Trentino (North-Italy) and in Europe.- IOBC/wprs Bulletin, 70, 121-128.
- Griffo R., Frontuto A., Cesaroni C., Desantis M., (2012)** L'insetto *Drosophila suzukii* sempre più presente in Italia.- L'Informatore Agrario, 68 (9), 56-60.

- Grillet, M., L. Dartevelle, and J.-F. Ferveur. (2006)** A *Drosophila* male pheromone affects female sexual receptivity. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 273, 315–323.
- Guruprasad BR., Nedge S., Krishna MS. (2010)** Seasonal and altitudinal changes in population density of 20 species of *Drosophila* in Chamundi hill. *J.Ins. Sc.* 10: Article 123.
- Guruprasad BR, Pathak P. (2011)** Studies on *Drosophila* biodiversity of Harangi Forest: Coorg District, Karnataka. *Dros. Info. Serv.* 94, 93–95.
- Hallem E.A., Ho M.G., Carlson J.R., (2004)** The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* antenna. *Cell* 117, 965–979.
- Hauser M., Gaimari S., Damus M. (2009)** *Drosophila suzukii* new to North America. *Fly Times* 43, 12–15.
- Hauser M (2011)** Historic account of the invasion of *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) in the continental United States, with remarks on their identification. *P. Man. Sc.* 67, 1352–1357.
- Heuskin S., Verheggen F.J., Haubruge E. et al. (2011)** The use of semiochemical slow-release devices in integrated pest management strategies. *Biot. Agr. Soc. Env.*, 15, 459–470.
- Hiroi M., Tanimura T., Marion-Poll F., (2008)** Hedonic taste in *Drosophila* revealed by olfactory receptors expressed in taste neurons. *PLoS One* 3, 2610.
- Hueppelsheuser T (2009)** Spotted Wing Drosophila (SWD) (*Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Update November 25, 2009. British Columbia Ministry of Agriculture and Lands.
- Ioannou C. S., N. T. Papadopoulos N. A., Kouloussis C. I., Tananaki and B. I. Katsoyannos. (2012)** Essential oils of citrus fruit stimulate oviposition in the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Physiol. Entomol.* 37, 330–339.
- Ioriatti C., Frontuto A., Grassi A., Anfora G., Simoni S., (2011)** *Drosophila suzukii*, una nuova specie invasiva dannosa alle colture di piccoli frutti.- Accademia dei Georgofili, Giornata di studio “Criticità e prospettive delle emergenze fitosanitarie, 1 December 2011, Firenze, Italy.
- Isaacs R, Hahn N, Tritten B, Garcia C (2010)** Spotted Wing Drosophila: A new invasive pest of Michigan fruit crops, MSU Extension Bulletin E-3140. Michigan State University.
- Kaneshiro KY (1983)** *Drosophila* (Sophophora) *suzukii* (Matsumura). *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.* 24, 179.
- 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 Agric. Exp. Sta. 49 pp.
- Kawase S, Uchino K, (2005)** Effect of mesh size on *Drosophila suzukii* adults passing through the mesh. Annual Report of the Kanto-Tosan Pl. Prot. Soc. 52, 99–101.
- Kimura MT. (1988)** Adaptations to temperate climates and evolution of over-wintering strategies in the *Drosophila melanogaster* species group. *Evolution* 42, 1288-1297.
- Landolt, P., T. Adams, and H. Rogg. (2012a)** Trapping spotted wing Drosophila, *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), with combinations of vinegar and wine, and acetic acid and ethanol. *J. Appl. Entomol.* 136, 148– 154.
- Landolt, P. J., Adams, T., Davis, T., and Rogg, H. (2012b)** Spotted wing Drosophila, *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae), trapped with combinations of wines and vinegars. *Flo. Entomol.* 95,326–332.
- Lee TJ (1964)** Taxonomy, and Geographical Distribution of Drosophilidae (Diptera) in Korea. Reprinted from the Chungang University Theses Collection 9, 424–459.
- Lee JC, Bruck DJ, Dreves AJ, Loriaatto C, Vogt H, Baufield P (2011b)** In Focus: Spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*, across perspectives. *P. Manag. Sc.* 67, 1349–1480.
- Lethmayer C., (2011)** Gefährliche Fliegen für Äpfel & Co.- Bessers Obst, 12, 4-5.

- Mandrin J. F., Weydert C., Trottin-Caudal Y., (2010)** Un nouveau ravageur des fruits: *Drosophila suzukii*. Premiers dégâts observés sur cerises.- Infos CTIFL, 266, 26-33.
- Masse, N. Y., G. C. Turner and G. S. X. E. Jefferis. (2009)** Olfactory information processing in *Drosophila*. Curr. Biol. 19, 700–713.
- McIndoo, N.E. (1926)** An insect olfactometer. J. Econ. Entom. 19, 545-571.
- Menzel, R. and Müller, U. (1996)** M Learning and memory in honey bees: from behavior to neural substrates. Annu. Rev. Neurosci. 19, 379-404.
- Metcalf R. L., and E. R. Metcalf. (1992)** Plant kairomones in insect ecology and control. Chapman and Hall, London, Great Britain.
- Mitsui H., Takahashi K.H, and Kimura M.T. (2006)** Spatial distributions and clutch sizes of *Drosophila* species ovipositing on cherry fruits of different stages. Popul. Ecol. 48,233-237.
- Mitsui H., Beppu K., Kimura M.T., (2010)** Seasonal life cycles and resource uses of flower- and fruit-feeding drosophilid flies (Diptera: Drosophilidae) in central Japan. Entomol. Sci. 13, 60-67.
- NAPPO (2011)** Detection of spotted-winged drosophila (*Drosophila suzukii* Matsumura) in the Municipality of Los Reyes, State of Michoacan, Mexico. Official Pest Reports. North America's Plant Protection Organization.
- Okada T (1968)** Systematic study of the early stages of Drosophilidae 56–58. Bunka Zugeisha, Tokyo.
- Okada T., (1976)** New distribution records of the Drosophilids in the oriental region.- Makunagi, 8, 1-8 (in Japanese).
- 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., Rota-Stabelli O., (2013)** Linking genomics and ecology to investigate the complex evolution of an invasive *Drosophila* pest. Genome Biol. Evol. 5, 745–757.
- OSU (2009a)** A new pest attacking healthy ripening fruit in Oregon: Spotted Wing *Drosophila*, *Drosophila suzukii* (Matsumura) Regional Pest Alert: Oregon State University Extension Publication. Webpage: http://www.nwsmallfruits.org/alerts/2009-09-09_Regional_Pest_Alert-Spotted_Wing_Drosophila.pdf.
- Parsons, P.A. & Spence, G.E. (1981)** Ethanol utilization: threshold differences among three species. The American Naturalists, 117,568–571.
- Pansa M. G., Frati S., Baudino M., Tavella L., Alma A.,(2011)**Prima segnalazione di *Drosophila suzukii* in Piemonte.- Prot. Colt. 2, 108.
- Pettersson, J. (1970)** An aphid sex attractant I Biological studies. Entomologia Scandinavica 1, 63-73.
- Raspi A., Canale A., Canovai R., Conti B., Loni A., Strumia F., (2011)** Insetti delle aree protette del comune di San Giuliano Terme.- Felici Editore, San Giuliano Terme, Pisa, Italy.
- Revadi S., Vitagliano S., Rossi Stacconi V., Ramasamy S., Mansourian S., Carlin C., Vrhovsek U., Becher G., Mazzoni V., Stabelli R., Angeli S., Dekker T. and Anfora G. (2015)** Olfactory responses of *Drosophila suzukii* females to host plant volatiles. Phy. Ent. 40, 56-64.
- Riesgo-Escovar J., Raha D. and Carlson J. (1995)** Requirement for a phospholipase C in odor response: Overlap between olfaction and vision in *Drosophila*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92, 2864-2868.
- Riesgo-Escovar J.R., Piekos W.B., Carlson J.R., (1997)** The *Drosophila* antenna: ultrastructural and physiological studies in wild-type and lozenge mutants. J. Comp. Physiol. A. 180, 151- 60.
- Sanz C., Olias J.M., Perez A.G. (1997)** Aroma biochemistry of fruits and vegetables. In Phytochemistry of Fruit and Vegetables; Oxford University Press Inc.: New York, pp. 125-155.
- Sasaki M., Sato R., (1995)** Bionomics of the cherry drosophila, *Drosophila suzukii* Matsumura (Diptera: Drosophilidae) in Fukushima prefecture (Japan) - Annual Report of the Society of Pl. Pr. N. Japan, 46, 164-172.

- Seljak G., (2011)** Spotted wing Drosophila, *Drosophila suzukii* (Matsumura), a new pest of berry-fruit in Slovenia - Sadjarstvo, 22 (3), 3-5.
- Siddiqi O. (1987)** Neurogenetics of olfaction in *Drosophila melanogaster*. Trends Genet. 3, 137-142.
- Sidorenko V. S., (1992)** New and unrecorded species of Drosophilidae from Soviet Far East (Diptera, Brachycera).- Spixiana, 15, 93-95.
- Singh, N.R., Nayak, S. V., 1985.** Fine structure and primary sensory projections of sensilla on the maxillary palp of *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae). Int. J. Insect Morphol. Embryol. 14, 291–306
- Singh BK, Bhatt M (1988)** A preliminary report on the Drosophilidae of the Kumaun region with description of two new species and three new records. Or. Ins. 22, 147-161.
- Singh BK, Negi NS (1989)** Drosophilidae of the Garhwal region with the description of one new species. Proc. Zool. Soc. Calcutta 40, 19-26.
- Steiger S., Schmitt T., Schaefer H.M., (2011)** The origin and dynamic evolution of chemical information transfer. Proc. Biol. Sci. 278, 970-979.
- Stensmyr M.C., Giordano E., Balloi A., Angioy A., Hansson B.S., (2002)** Novel natural ligands for *Drosophila* olfactory receptor neurones. J. Exp. Biol. 206, 715-724.
- Stocker, R.F., (1994)** The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. Cell Tissue Res. 275, 3-26.
- Süss L., Costanzi M., (2011)** Presence of *Drosophila suzukii* (Matsumura, 1931) (Diptera Drosophilidae) in Liguria (Italy) - J. Ent. and Acar. Res., 42, 185-188.
- Takamori (2006)** *Drosophila subpulchrella*, a new species of the *Drosophila suzukii* species group from Japan and China (Diptera: Drosophilidae). Entom. Sc. 9, 121-128.
- Thomas L., pdf document, (2014)** Indetification of *Drosophila suzukii* attractants and deterrents. <http://openarchive.acadiau.ca/cdm/ref/collection/HTheses/id/966>
- Toda MJ (1991)** Drosophilidae (Diptera) in Myanmar (Burma) VII. The *Drosophila melanogaster* species-group, excepting the *D. montium* species sub-group. Orient. Ins. 25, 69-94.
- Tzanakakis Minos E. (1995)** Entomology, University Studio Press, Thessaloniki.
- USDA National Agricultural Statistics Service. (2009)** Noncitrus fruits and nuts 2008 summary. Publ. Fr Nt 1-3 (09). U. S. Dept. Food Agric. Natl. Agric. Stat. Serv. Washington, DC.
- Van Der Linde K, Houle D (2008)** A supertree analysis and literature review of the genus *Drosophila* and closely related genera (Diptera, Drosophilidae). Ins. Syst. & Evol. 39, 241-267.
- Vet L.E.M., Van Lenteren J.C., Heymans M., & Meelis, E. (1983)** An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. Phys. Entom., 8, 97-106.
- Vogt H., Baufeld P., Gross J., Kopler K., Hoffmann C., (2012)** *Drosophila suzukii*: eine neue bedrohung für den Europäischen obst- und weinbau – bericht über eine international tagung in trient, 2, Dezember 2011.- J. Kultur., 64, 68-72.
- Vosshall Leslie B. and Reinhard F. Stocke (2007)** Molecular Architecture of Smell and Taste in *Drosophila*, Ann. Rev. Neurosc., 30, 505-533.
- Walse S.S., Krugner R., Tebbets J.S., (2012)** Postharvest treatment of strawberries with methyl bromide to control spotted wing drosophila, *Drosophila suzukii*. J. Asia-Pacific Entom. 15, 451-456.
- Walsh D.B., Bolda M.P., Goodhue R.E., Dreves A.J., Lee J., Bruck D.J., Walton V.M., Neal S.D.O., Zalom F.G., (2011)** *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae): Invasive Pest of Ripening Soft Fruit Expanding Its Geographic Range and Damage Potential. J. Integr. Pest Manag. 1-8.
- Wang L., and D. J. Anderson. (2010)** Identification of an aggression-promoting pheromone and its receptor neurons in *Drosophila*. Nature. 463, 227-231.

- Wertheim B., J. Marchais L. E. Vet and M. Dicke. (2002)** Allee effect in larval resource exploitation in *Drosophila*: an interaction among density of adults, larvae, and micro-organisms. *Ecol. Entomol.* 27, 608-617.
- Weydert C., Bourgouin B., (2011)** *Drosophila suzukii* menace l'arboriculture fruitière et les petits fruits. Point de situation sur cette mouche, ravageur nouveau et déjà très nuisible, et ce qu'on peut faire contre elle.- *Phytoma*, 650,16-20.
- Wu S., Tai H., Li Z., Wang X., Yang S., Sun W, Xiao C., (2007)** Field Evaluation of different trapping methods of Cherry Fruit Fly, *Drosophila suzukii*. *J. Yunnan Agric. Un.* 22, 776-778.
- Wyatt T.D., (2003)** *Pheromones and Animal Behaviour: Communication by Smell and Taste.* Cambridge Univ. Press 6 London.
- WSUE (2009)** Spotted Wing *Drosophila* could pose threat for Washington Fruit Growers: Pest with a taste for soft fruits moves north from California into Oregon and Washington-Regional research and extension effort proposed. WSU Extension. Washington State University.
- Yang Y, Hou Z, Qian Y, Kang H, Zeng Q (2012)** Increasing the data size to accurately reconstruct the phylogenetic relationships between nine subgroups of the *Drosophila melanogaster* species group (Drosophilidae, Diptera). *Mol. Phyl. and Evol.* 62, 214-223.
- Yano T., Aimi T., Nakano Y., and Tamai M. (1997)** Prediction of the concentrations of ethanol and acetic acid in the culture broth of a rice vinegar fermentation using near-infrared spectroscopy. *J. Ferment. Bioeng.* 84,461-465.
- Yao C.A., Ignell R., Carlson J.R., (2005)** Chemosensory coding by neurons in the coeloconic sensilla of the *Drosophila* antenna. *J. Neurosci.* 25, 8359-67.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

Όνομα:	Μαρία
Επώνυμο:	Μπελενιώτη
Ιδιότητα:	Γεωπόνος
Ημερομηνία γεννήσεως:	13 Ιανουαρίου 1989
Οικογενειακή κατάσταση:	Άγαμη
Τηλέφωνο επικοινωνίας:	+30 6959880755
Διεύθυνση ηλεκτρονικού ταχυδρομείου:	maria_belenioti@hotmail.com chemp779@edu.chemistry.uoc.gr

ΣΠΟΥΔΕΣ

- **Ιούλιος 2013-Μάρτιος 2016**

Μεταπτυχιακές σπουδές στο πρόγραμμα «*Απομόνωση και Σύνθεση Φυσικών Προϊόντων με Βιολογική Δραστικότητα*» του τμήματος Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης. Η διπλωματική μου εργασία πραγματοποιείται στο εργαστήριο της Αναλυτικής Χημείας με επιβλέποντα τον κ. Νικόλαο Χανιωτάκη και στο εργαστήριο Μοριακής Εντομολογίας στο τμήμα Βιολογίας του Πανεπιστημίου Κρήτης με υπεύθυνο τον κ. Ιωάννη Βόντα. Το θέμα της διπλωματικής εργασίας είναι '*Ελκυστική Δράση Πτητικών Ουσιών Ωριμων Φρούτων επί του Drosophila suzukii*'.

- **Οκτώβριος 2006-Ιανουάριος 2012**

Πτυχίο στο Τμήμα **Αγροτικής Οικονομίας και Διοίκηση Αγροτικών Επιχειρήσεων** στο Δημοκρίτειο Πανεπιστήμιο Θράκης με βαθμό 7,01 «*Λίαν Καλώς*»

- **Οκτώβριος 2010 - Μάιος 2011**

Η πτυχιακή μου εργασία πραγματοποιήθηκε στον τομέα της: «*Μελέτης της σύστασης αιθέριων ελαίων των φυτών Mentha spicata και Mentha longifolia όπως και της αντιμικροβιακής τους δράσης ενάντια στο βακτήριο Staphylococcus aureus. Έλεγχος της σχέσης δομής αντιμικροβιακής δράσης των κύριων συστατικών τους*»

ΓΝΩΣΕΙΣ ΞΕΝΩΝ ΓΛΩΣΣΩΝ

- **Αγγλικά:** Κάτοχος αγγλικού τίτλου “First Certificate in English, University of Cambridge”.
- **Γερμανικά:** Κάτοχος γερμανικού τίτλου “Zertificat”
- **Πορτογαλικά:** Βασική Γνώση

ΓΝΩΣΕΙΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΥ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΗ

- **Κάτοχος ECDL** (Microsoft Word, Excel, Powerpoint, Outlook, Access).

ΕΠΙΜΟΡΦΩΣΗ-ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ

- Νοέμβριος 2008
Συμμετοχή σε ημερίδα με θέμα «*Οι κοινωνικές και περιβαλλοντικές διαστάσεις του μάρκετινγκ στο πλαίσιο της εταιρικής κοινωνικής ευθύνης*», στο πλαίσιο του Money Show.
- Οκτώβριος 2008
Συμμετοχή σε 4μηνο εκπαιδευτικό σεμινάριο «*Μηχανογραφημένης λογιστικής και κοστολόγησης*».
- Ιανουάριος 2009
Συμμετοχή στο σεμινάριο «*Μέθοδοι θρέψης και φυτοπροστασίας με φυσικές και χημικές μεθόδους*».
- Απρίλιος 2009
Συμμετοχή στο σεμινάριο «*Κηπουρική για αρχάριους - παρουσίαση για να δημιουργήσετε το δικό σας βιολογικό κήπο*»
- Ιούνιος 2010
Συμμετοχή στην 2ημερη ημερίδα με θέμα «*Εισαγωγή στα αυτοφυή φυτά με αρωματική και καλλωπιστική χρήση*»
- Νοέμβριος 2014
Συμμετοχή στο τριήμερο εκδηλώσεων σχετικά με «*Μετάβαση σε ένα ισχυρό αειφόρο αγροδιατροφικό σύστημα*»
- Μάιος 2015
Συμμετοχή στο διεθνές συνέδριο του Οργανισμού **IOBC** με θέμα “**Integrated Protection of Olive Crops**”

ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- Μάρτιος 2015

Συμμετοχή στην οργάνωση στο Δεύτερο Συνέδριο του Ευρωπαϊκού Προγράμματος **Chain Reaction** που διοργανώθηκε στο Τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης σχετικά με τη: *«Διερευνητική μάθηση και την εφαρμογή της στη διδασκαλία των φυσικών επιστημών στη Δευτεροβάθμια εκπαίδευση».*

- Οκτώβριο 2015

Συμμετοχή στο 16ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο με εικονογραφημένη εργασία (poster) και συμμετοχή σε διαγωνισμό φοιτητών με προφορική εργασία με θέμα *«Απόκριση *Drosophila suzukii* (Diptera:Drosophilidae) σε χημικές ουσίες και ανθεκτικότητα της σε εντομοκτόνα»*

- Νοέμβριος 2015

Συμμετοχή στην ημερίδα που πραγματοποιήθηκε προς τιμήν της Μαρία Χατζημαρινάκη στο τμήμα Χημείας του Πανεπιστημίου Κρήτης με παρουσίαση

ΕΡΓΑΣΙΑΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

- Ιούνιος 2010-Σεπτέμβριος 2010

Υπάλληλος στο χημείο της «**Ένωσης Αγροτικών Συνεταιρισμών Ηρακλείου**» στα πλαίσια πρακτικής άσκησης στον τομέα της ανάλυσης κρασιών, μετρήσεις οξύτητας, πυκνότητας οίνου, αγωγιμότητας και pH.

- Μάιος 2011-Σεπτέμβριος 2011

Υπάλληλος στο χημείο της «**Ένωσης Αγροτικών Συνεταιρισμών Ηρακλείου**» στα πλαίσια πρακτικής άσκησης στον τομέα της ανάλυσης κρασιών, μετρήσεις οξύτητας, πυκνότητας οίνου, αγωγιμότητας και pH.

- Μάρτιος 2013-Δεκέμβριος 2015

Υπάλληλος στην ατομική επιχείρηση 'Ευρικλής Φιτσάκης -ΔΑΚΟΦΑΚΑ' ως γεωπόνος.