

Πασχαλίτσα Αρλεκίνος: Ένα χωροκατακτητικό έντομο με ιδιαίτερες άμυνες



ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Φοιτητής: Παγωμένος Γεώργιος

Επιβλέπουσα καθηγήτρια :Δήμητρα Ζωάκη-Μαλισιόβα

Άρτα, 2016

Θα ήθελα να ευχαριστήσω όλα τα παιδιά που κάναμε παρέα όσο ήμουν φοιτητής και ειδικότερα τον Βασιλείου Λεωνίδα, την Γελαδάρη Μαργαρίτα, τον Γκούρα Ταξιάρχη και τον Βασιλακάκο Κωνσταντίνο. Έπειτα θα ήθελα να ευχαριστήσω τους καθηγητές μου, οι οποίοι μου μετέδωσαν τις γνώσεις τους. Θα ήθελα να ευχαριστήσω την κυρία Ζωάκη-Μαλισιόβα για αυτό το υπέροχο θέμα. Ένα τεράστιο ευχαριστώ στα αδέρφια μου, που με στήριξαν και με στηρίζουν μέχρι σήμερα και συνεχίζουν να με βοηθάνε. Ένα τεράστιο, επίσης, ευχαριστώ στους γονείς μου που με στήριξαν, με πίστεψαν και μου έδωσαν την ευκαιρία να σπουδάσω σε αυτό το ΤΕΙ. Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω εσάς που διαβάσετε την εργασία μου.

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

1. Περίληψη.....	σελ. 4
2. Εισαγωγή.....	σελ. 5
3. <i>Harmonia axyridis</i>	σελ. 8
3.1 Γενικά χαρακτηριστικά του εντόμου....	σελ. 8
3.1.1 Βιολογικός κύκλος και ωτοκία...	σελ. 10
3.1.2 Ανάπτυξη και διατροφή.....	σελ. 13
3.1.3 Διαφορές από άλλα Coccinellidae...	σελ. 17
3.2 Εξάπλωση του εντόμου.....	σελ. 21
3.2.1 Η εξάπλωση του παγκοσμίως.....	σελ. 21
3.2.2 Η εισαγωγή του στην Ελλάδα.....	σελ. 29
3.3 Οι άμυνες που διαθέτει το έντομο.....	σελ. 31
3.4 Οι κίνδυνοι που μπορεί να προκαλέσει..	σελ. 48
3.4.1 Κίνδυνοι για τον άνθρωπο.....	σελ. 49
3.4.2 Κίνδυνοι για ορισμένες καλλιέργειες	σελ. 49
4. Συμπεράσματα.....	σελ.50
5. Βιβλιογραφία.....	σελ. 51
6. Πηγές.....	σελ. 55

1.Περίληψη

Η εργασία αναφέρεται στο έντομο *Harmonia axyridis* και περιλαμβάνει τα γενικά χαρακτηριστικά του εντόμου, τον βιολογικό του κύκλο, την διατροφή του και τις διαφορές του από άλλα συγγενικά του είδη. Επίσης αναφέρεται η εξάπλωση του στον κόσμο, η είσοδος του στην Ελλάδα και οι τρόποι με τους οποίους αμύνεται, στο νέο του περιβάλλον στις διάφορες χώρες εισβολής. Τέλος γίνεται αναφορά στους κινδύνους που μπορεί να προκαλέσει είτε στον άνθρωπο είτε σε ορισμένες καλλιέργειες.

2. Εισαγωγή

Οι πασχαλίτσες (Coccinellidae) είναι πολύ αγαπητά έντομα προς όλους μας. Τα περισσότερα είδη της οικογένειας αυτής είναι θηρευτές. Ως θηρευτές επιζήμιων εντόμων, μπορούμε να τις εκλάβουμε ως συμμάχους μας. Για αυτόν τον λόγο χρησιμοποιούμε τα παραπάνω έντομα, είτε στην βιολογική καλλιέργεια είτε στην ολοκληρωμένη διαχείριση.

Στα πλαίσια της πτυχιακής μου εργασίας θα αναφερθώ σε ένα είδος της οικογένειας Coccinellidae, το *Harmonia axyridis*(Εικ. 1).



Εικόνα 1: *Harmonia axyridis*

Το έντομο εντοπίστηκε για πρώτη φορά από τον Pallas το 1773, ο οποίος του έδωσε αρχικά την ονομασία *Coccinella axyridis*. Ωστόσο προτάθηκαν και οχτώ νέα συνώνυμα για αυτό το είδος όπως:

- *Coccinella bisex-notata* (Herbst 1793),

- *Coccinella 19-sinata* (Faldermann 1835),
- *Coccinella conspicua*(Faldermann 1835,
- *Coccinella aulica*(Faldermann 1835),
- *Harmonia spectabilis*(Falderman 1835),
- *Coccinella succinea*(Hop 1845),
- *Anatis circe* (Mulsant 1850)και
- *Ptychanatis yedoensis* (Takizawa 1917).

Η κατάταξη του γένους άλλαξε σε *Leis* από τον Mulsant το 1850 και έπειτα σε *Ptychanatis* από τον Crotch το 1874. Το 1885, ο Weise πρότεινε αυτό το έντομο να μεταφερθεί στο υπογένος *Harmonia* του γένους *Coccinella*. Ενώ αργότερα κατά τα έτη 1915 και 1943, ο Jacobson και ο Timberlake, αντίστοιχα, προήγαγαν το *Harmonia* σε γένος.

Ταξινόμηση του εντόμου:

Κλάση: Insecta

Τάξη: Coleoptera

Οικογένεια: Coccinellidae

Γένος: *Harmonia*

Είδος: *axyridis*

Κοινή ονομασία: Ασιατική πολύχρωμη πασχαλίτσα. Το έντομο αναφέρεται με πολλές ονομασίες όπως: πασχαλίτσα Αρλεκίνος και πασχαλίτσα του Χάλογουιν(Halloween).

Ο τόπος καταγωγής του είναι η Ασία, με εξάπλωση από την Ανατολική Ασία έως την κεντρική Σιβηρία, το Καζακστάν και το Ουζμπεκιστάν δυτικά. Μέσω της Ρωσίας νότια στα Ιμαλάια και στα ανατολικά έως την ακτή του ειρηνικού. Και στην Ιαπωνία συμπεριλαμβανομένων της Κορέας, της Μογγολίας, της Κίνας και του Ταϊβάν.

Χρησιμοποιείται κυρίως για την αντιμετώπιση μαλακόσωμων εντόμων όπως αφίδες και κοκκοειδή. Στα πλαίσια της βιολογικής αντιμετώπισης το έντομο έχει εισαχθεί σε πολλές χώρες ανάμεσα τους και η Ελλάδα.

Αυτό το είδος λέγεται ότι είναι χωροκατακτητικό, διότι μειώνει την δυναμική των ντόπιων πληθυσμών. Θα επηρεάσει, λοιπόν, τα οικοσυστήματα της Ελλάδας; Θα είναι θετική ή αρνητική η εγκατάσταση του στο Ελληνικό περιβάλλον; Αυτά τα ερωτήματα μεταξύ άλλων καταβάλλεται προσπάθεια να απαντηθούν στα πλαίσια της παρούσας εργασίας.

3. *Harmonia axyridis*

Την τελευταία δεκαετία έχει αρχίσει να απασχολεί τους εντομολόγους ένα ιδιαίτερο Coccinellidae, το *Harmonia axyridis*. Το έντομο αυτό έχει τραβήξει το ενδιαφέρον των εντομολόγων για πολλούς λόγους και μερικοί από αυτούς αναπτύσσονται στην παρούσα εργασία. Αναφορά γίνεται στην χωροκατακτητικότητα του, στις άμυνες του και στους κινδύνους που μπορεί να προκαλέσει.

3.1 Γενικά χαρακτηριστικά του εντόμου

Το έντομο *Harmonia axyridis* ανήκει στην οικογένεια των Coccinellidae και έχει πολλές ονομασίες. Εκτός από τις πολλές ονομασίες, παρουσιάζει και έντονη ποικιλοχρωμία και μεγάλη ποικιλία στον αριθμό των στίγμάτων από 0-21 στίγματα(Εικ. 2).Χρώματα όπως το κόκκινο, το πορτοκαλοκόκκινο, το πορτοκαλοκίτρινο και το μαύρο με στίγματα πορτοκαλοκόκκινα ή μαύρα. Συχνά στη βιβλιογραφία αναφέρονται οι διάφορες μορφές αυτές με συγκεκριμένες ονομασίες, όπως π.χ. για το κόκκινο, το πορτοκαλοκόκκινο και το πορτοκαλοκίτρινο με μαύρα στίγματα είναι το *Succinea*. Το μαύρο χρώμα με δύο κόκκινα στίγματα ονομάζεται *Conspicua*, ενώ το μαύρο χρώμα με τέσσερα κόκκινα στίγματα ονομάζεται *Spectabilis*.



Εικόνα 2: Η ποικιλοχρωμία του είδους

Το σχήμα του είναι κυκλικό και το μέγεθος του είναι μεγάλο για Coccinellidae από 5,5-8,5 mm (Εικ. 3).



Εικόνα 3: Το μέγεθος του εντόμου

Άλλο χαρακτηριστικό του είναι ένα άσπρο ή κρεμ πρόνωτο με το πολύ 5 ξεχωριστές ή ενωμένες κηλίδες σχηματίζοντας 2 καμπύλες γραμμές που του δίνουν ένα σχήμα «M» ή «W»(εξαρτάται από την οπτική γωνία), του οποίου σχήματος το χρώμα είναι σχεδόν πάντα καφέ ή κόκκινο-καφέ (Εικ. 4).



Εικόνα 4: Το χαρακτηριστικό «Μ» στο πρόνωτο

3.1.1 Βιολογικός κύκλος και ωτοκία

Ο βιολογικός κύκλος του εντόμου *Harmonia axyridis* είναι παρόμοιος με όλων των αφιδοφάγων κοκκινελλίδων. Ξεκινώντας από το αυγό, περνάει σε τέσσερα προνυμφικά στάδια, έπειτα περνάει στην νύμφη και καταλήγει στο τέλειο έντομο (Εικ. 5).



Εικόνα 5: Ο βιολογικός κύκλος του εντόμου

Σε συνθήκες εργαστηρίου τα θηλυκά μπορούν να παράγουν έως και 3819 αυγά με τον ρυθμό των 25.1 αυγών ανά ημέρα σύμφωνα με τους Hukusima και τον Kamei(Koch RL, 2003). Αντίθετα από τον Σταθά αναφέρεται ως ελάχιστη τιμή της μέγιστης ημερήσιας γονιμότητας τα 1642 αυγά. Τα θηλυκά συνήθως ωοτοκούν σε ομάδες των 20-30 αυγών περίπου. Σύμφωνα με τους Σταθά, Γιαννόπαπα και Κοντοδήμα η αναπαραγωγική δραστηριότητα της πασχαλίτσας Αρλεκίνος η οποία μελετήθηκε υπό ελεγχόμενες εργαστηριακές συνθήκες, με θήραμα το *Aphis fabae*, η μέση γονιμότητα επί συνόλου 30 θηλυκών σε θερμοκρασία $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, σχετική υγρασία $65\pm 2\%$ και φωτοπερίοδο 16 ωρών βρέθηκε να είναι 1641.6 ± 420.95 αυγά. Οι μέγιστες τιμές γονιμότητας ανά ημέρα ήταν 59-78 αυγά. Σχετικά με τον αριθμό των αυγών ανά ωοτοκία, αναφέρεται ότι στο σύνολο των 1671 ωοτοκιών που μελετήθηκαν κατά την διάρκεια της έρευνας, το 13.2% απαρτίζεται από 1-10 αυγά, το 26.5% από 11-20 αυγά, το 25.7% από 21-30 αυγά. Ωοτοκίες της τάξης των 31-40, 41-50, 51-60, 61-70 και 71-78 αυγών αντιστοιχούν στα ποσοστά 18.3%, 8.5%, 5.5%, 1.8% και 0.5% της ίδιας έρευνας.

Παράλληλα στην έρευνα των παραπάνω μετρήθηκε η διάρκεια της περιόδου πριν από την ωοτοκία κάτω από τις ακόλουθες διαφορετικές θερμοκρασιακές συνθήκες: $15\pm 1^{\circ}\text{C}$, $20\pm 1^{\circ}\text{C}$, $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ και $30\pm 1^{\circ}\text{C}$ (να σημειωθεί ότι η σχετική υγρασία ήταν $65\pm 2\%$ και η φωτοπερίοδος 16 ώρες σε κάθε θερμοκρασία).

Η περίοδος προ-ωοτοκίας ήταν αντίστοιχα 21, 10.8, 7.2 και 4.6 ημέρες. Από αυτές τις ενδείξεις υπολογίστηκε ότι το κατώτατο όριο ανάπτυξης της περιόδου πριν την ωοτοκία είναι 11.3° C και η θερμική σταθερά είναι 90.1 βαθμοημέρες. Άξιο αναφοράς είναι ότι εξετάστηκαν οι ωοθήκες του εντόμου με ανατομές των τέλειων και απεφάνθη ότι κάθε ωοθήκη απαρτίζεται από 30 ωοφόρους σωλήνες. Αξιοσημείωτο επίσης είναι πως αυτά τα έντομα εναποθέτουν έναν αριθμό μη γονιμοποιημένων ωών , ώστε να εξασφαλίσουν τροφή στις νεοεκκολαφθείσες προνύμφες. Επίσης πολύ σημαντική είναι η δράση του βακτηρίου της *Harmonia axyridis* που θανατώνει ένα μέρος των αρσενικών αυγών , τα οποία θα γίνουν και αυτά τροφή για τις νεοεκκολαφθείσες προνύμφες. Ουσιαστικά το βακτήριο αυτό είναι ανενεργό στα περισσότερα έντομα και γίνεται ενεργό μόνο σε ένα μικρό μέρος του πληθυσμού. Το εν λόγω βακτήριο είναι του γένους *Spiroplasma* και αναφέρεται στην ξένη βιβλιογραφία ως «male killing» βακτήριο.



Εικόνα 6: Ωοτοκία

3.1.2 Ανάπτυξη και διατροφή

Η ανάπτυξη του εντόμου, όπως προαναφέρθηκε περιλαμβάνει εκτός από το στάδιο της ωοτοκίας και τα προνυμφικά στάδια. Σύμφωνα με διάφορες μελέτες η μέση διάρκεια κάθε σταδίου στους 26°C τρεφόμενο με την αφίδα του μπιζελιού (*Acyrtosiphum pisum*) αναφέρεται στις 17.5 ημέρες, με το αυγό να χρειάζεται για να εκκολαφθεί 2.8 ημέρες (Εικ. 7), η προνύμφη 1^{ου} σταδίου να χρειάζεται 2.5 ημέρες, η προνύμφη 2^{ου} σταδίου χρειάζεται 1.5 ημέρες, η προνύμφη 3^{ου} σταδίου χρειάζεται 1.8 ημέρες και η προνύμφη 4^{ου} σταδίου χρειάζεται 4.4 ημέρες (Εικ. 8). Τέλος η νύμφη για να εκκολαφθεί χρειάζεται 4.5 ημέρες (Εικ. 9 και 10). Στις ΗΠΑ η ανάπτυξη από αυγό σε ακμαίο έδειξε να χρειάζεται 267.3 βαθμοημέρες πάνω από το κατώτερο όριο ανάπτυξης, που είναι στους 11.2°C, ενώ στην Γαλλία έδειξε να χρειάζεται 231.3 βαθμοημέρες πάνω από το κατώτερο όριο ανάπτυξης στους 10.5°C (Koch RL, 2003).

Σε μελέτη των Σταθάς, Κοντοδήμας και Ηλιόπουλος για την ανάπτυξη του εντόμου σε συνθήκες 25°C, 65±5% σχετικής υγρασίας και 16 ώρες φως ανά ημέρα παρατηρήθηκε ότι η μέση διάρκεια ανάπτυξης των προνυμφών είναι 2.73 ημέρες για τις προνύμφες 1^{ου} σταδίου, 1.84 για τις προνύμφες 2^{ου} σταδίου, 2.17 για τις προνύμφες 3^{ου} σταδίου και 4.37 για τις προνύμφες 4^{ου} σταδίου, τιμές που επιβεβαιώνουν την προαναφερόμενη διάρκεια ανάπτυξης.

Οι θερμοκρασίες επηρεάζουν εκτός από τον ρυθμό ανάπτυξης και το βάρος των ακμαίων. Για παράδειγμα, προνύμφες που μεγαλώνουν σε υψηλότερες θερμοκρασίες παράγουν μικρότερα ακμαία από ότι προνύμφες που μεγάλωσαν σε χαμηλότερες θερμοκρασίες.

Η διατροφή είναι άλλος ένας παράγοντας που πρέπει να λαμβάνεται υπ' όψιν για την ανάπτυξη των προνυμφών. Οι Hukusima και Ohwaki ανακάλυψαν ότι ο ρυθμός ανάπτυξης μειώθηκε με την αύξηση της

κατανάλωσης των αφίδων. Τα είδη των αφίδων που καταναλώθηκαν και τα είδη των φυτών που αναπτύχθηκαν οι αφίδες μπορούν να επηρεάσουν τον ρυθμό ανάπτυξης των προνυμφών, την μακροζωία των ακμαίων και την γονιμότητα τους. Τα τέλεια έντομα της πασχαλίτσας αρλεκίνος ζουν συνήθως από 30 έως 90 ημέρες ανάλογα την θερμοκρασία. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν περιπτώσεις που ζουν μέχρι και τρία χρόνια. Τέλος σύμφωνα με τον Σταθά (1999), οι περίοδοι πριν το ζευγάρισμα και πριν την ωοτοκία μειώνονται καθώς αυξάνεται η θερμοκρασία.



Εικόνα 7: Νεοεκκολαφθείσες προνύμφες



Εικόνα 8: Η προνύμφη 4^{ου} σταδίου του εντόμου



Εικόνα 9: Η νύμφη



Εικόνα 10: Η νύμφη

Όπως προαναφέρθηκε στην εισαγωγή, το έντομο *Harmonia axyridis* τρέφεται με αφίδες. Εκτός από τις αφίδες τρέφεται και με κοκκοειδή. Αυτά είναι τα έντομα στα οποία η *Harmonia axyridis* δείχνει ιδιαίτερη διατροφική προτίμηση και παίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξη της όπως αναφέρεται παρακάτω.

Το κυριότερο μέρος της μελέτης των Σταθά, Κοντοδήμα και Ηλιόπουλου, αφορούσε την κατανάλωση τροφής από την πασχαλίτσα αρλεκίνο, σε ελεγχόμενες συνθήκες (25°C, 65±5% Σ.Υ. και 16 ώρες φως ανά ημέρα). Το έντομο με το οποίο τράφηκε η πασχαλίτσα αρλεκίνος ήταν το *Aphis fabae*. Παρατηρήθηκε και καταγράφηκε η κατανάλωση τροφής ανά ημέρα τόσο στα προνυμφικά στάδια όσο και στα τέλεια έντομα. Έπειτα υπολογίστηκε η επί του συνόλου μέση κατανάλωση τροφής των προνυμφικών σταδίων κατά την διάρκεια ανάπτυξης τους και η μέση συνολική κατανάλωση τροφής των τέλειων εντόμων(αρσενικών και θηλυκών) καθ' όλη την διάρκεια της

ζωής τους. Υπολογίστηκε ότι κατά τα προνυμφικά στάδια η κατανάλωση τροφής επί του συνόλου κυμάνθηκε μεταξύ 11-23 ενήλικα άτομα της *Aphis fabae* για το 1^ο προνυμφικό στάδιο, 10-28 για το 2^ο προνυμφικό στάδιο, 31-53 για το 3^ο προνυμφικό στάδιο και 148-314 για το 4^ο προνυμφικό στάδιο. Η κατανάλωση τροφής των τέλειων εντόμων της πασχαλίτσας αρλεκίνου ανά ημέρα, ήταν 7-136 ενήλικα της αφίδας για τα αρσενικά και 10-155 για τα θηλυκά.

Οι ίδιοι συγγραφείς (Σταθάς, Κοντοδήμας και Ηλιόπουλος) σε συνέχεια της έρευνας τους σε ελεγχόμενες συνθήκες (θερμοκρασία στους $25 \pm 0.5^\circ\text{C}$, η Σ.Υ. στο $60 \pm 5\%$ και διάρκεια φωτοπεριόδου 16 ώρες φως και 8 ώρες σκοτάδι) εκτροφής τόσο των αφίδων όσο και του *Harmonia axyridis* εξέτασαν την ημερήσια κατανάλωση τροφής των τεσσάρων προνυμφικών σταδίων της ασιατικής πολύχρωμης πασχαλίτσας με την αφίδα *Dysaphis crataegi* (ενήλικα άτομα της αφίδας που καταβρόχθιζαν οι προνύμφες ανά ημέρα). Η εκτροφή των αφίδων έγινε σε φυτό κολοκυθιάς (*Curcubita moschata*) στο εργαστήριο. Για την εργασία αυτή χρησιμοποιήθηκαν 25 προνύμφες της πασχαλίτσας που μεγάλωσαν ξεχωριστά από την εκκόλαψη τους έως την ενηλικίωση τους, σε αεριζόμενα πλαστικά τριβλία τύπου Petri διαμέτρου 9cm. Το τάισμα γινόταν καθημερινά με άπτερες μορφές ενηλίκων της αφίδας και οι μετρήσεις κατανάλωσης τροφής ήταν καθημερινές. Η προνύμφη 1^{ου} σταδίου χρειάστηκε να καταναλώσει επί του συνόλου 3-8 ενήλικες αφίδες ώστε να αναπτυχθεί. Η προνύμφη 2^{ου} σταδίου χρειάστηκε 4-14 ενήλικες αφίδες ώστε να αναπτυχθεί. Η προνύμφη 3^{ου} σταδίου κατανάλωσε 12-32 ενήλικα της αφίδας *Dysaphis crataegi*. Τέλος, η προνύμφη 4^{ου} σταδίου χρειάστηκε να καταναλώσει 95-141 ενήλικες αφίδες.

Σύμφωνα με τις παραπάνω δύο εργασίες η πασχαλίτσα Αρλεκίνος χρειάζεται πολλά άτομα αφίδας ώστε να αναπτυχθεί. Αυτό θεωρείται ένα σημαντικό πλεονέκτημα απέναντι σε άλλα έντομα και φυσικά την

κατατάσσει στην κατηγορία του πολύ αξιόλογου θηρευτή αφίδων (Εικ. 11).



Εικόνα 11: Προνύμφη που τρέφεται με αφίδα

Θα πρέπει να σημειωθεί όμως, ότι έχει παρατηρηθεί έντονα ο κανιβαλισμός στις τάξεις αυτού του είδους. Τα έντομα όταν δεν έχουν τροφή θα φάνε με σχετική ευκολία το διπλανό τους έντομο. Το αξιοπρόσεκτο στον κανιβαλισμό αυτού του είδους είναι ότι θα φάνε πιο εύκολα και πιο συχνά ένα ξένο άτομο, παρά ένα άτομο το οποίο προέρχεται από την ίδια μάνα.

3.1.3 Διαφορές με άλλα Coccinellidae

Εκτός από το σχήμα «M» στο πρόνωτο και τις διαφορές στο μέγεθος (θυμίζουμε ότι είναι πολύ μεγάλο για Coccinellidae) υπάρχουν και άλλες διαφορές κυρίως στην εμφάνιση. Στη συνέχεια αναφέρονται μερικά παραδείγματα με διαφορές ανάμεσα στις άλλες πασχαλίτσες και στην πασχαλίτσα Αρλεκίνος και δίνονται πληροφορίες, ώστε να κατανοήσει ο αναγνώστης ποιες δεν είναι πασχαλίτσες Αρλεκίνος.

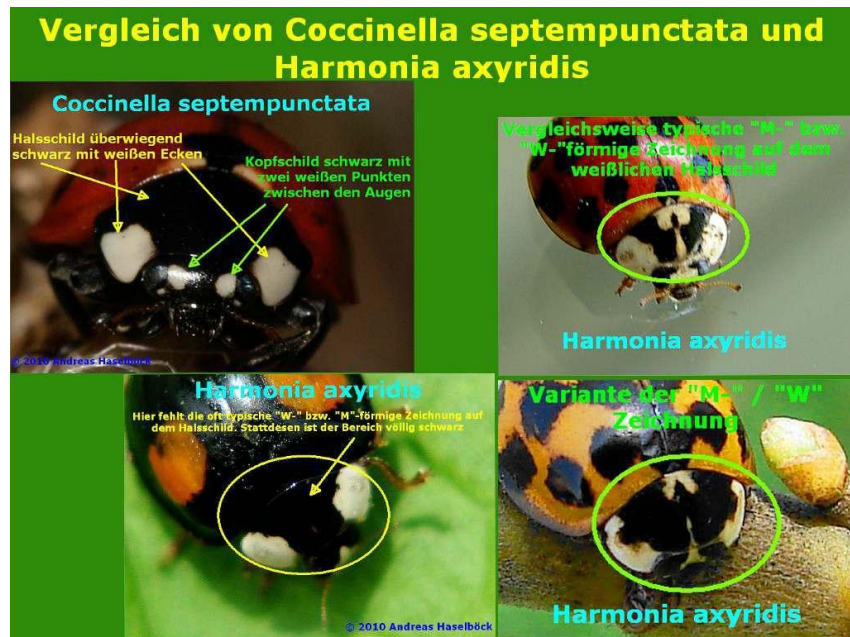
1. Διαφορά μεγέθους και τοποθέτησης στιγμάτων ανάμεσα στα Coccinellidae *Harmonia axyridis* και *Adalia bipunctata*(Εικ. 12).



Εικόνα 12: Διαφορά μεγέθους και στιγμάτων

Όπως φαίνεται στην παραπάνω εικόνα η πασχαλίτσα Αρλεκίνος είναι κατά πολύ μεγαλύτερη από την πασχαλίτσα *Adalia bipunctata*. Ένα άλλο χαρακτηριστικό είναι ότι οι 2 μπροστινές κηλίδες της *Adalia bipunctata* βρίσκονται στην βάση των ελύτρων, ενώ της *Harmonia axyridis* βρίσκονται πιο μέσα.

2. Σύγκριση της *Harmonia axyridis* και της *Coccinella septempunctata*. Διαφορές στο πρόνωτο και στην κεφαλή (Εικ. 13).



Εικόνα 13: Διαφορές στις κεφαλές των δύο εντόμων

Στην Εικόνα 13 φαίνεται κυρίως το χαρακτηριστικό «M» στο πρόνωτο για την *Harmonia axyridis* και ότι στην *Coccinella septempunctata* είναι κυρίως μαύρο με δύο άσπρα στίγματα. Ένα άλλο χαρακτηριστικό, που φαίνεται στην εικόνα είναι τα δύο άσπρα στίγματα ανάμεσα στα μάτια της *Coccinella septempunctata*.

3. Σύγκριση του *Harmonia axyridis* με το *Adalia decempunctata*. Διαφορές στην κεφαλή, στην τοποθέτηση των στιγμάτων και στο σχήμα (Εικ. 14).



Εικόνα 14: Διαφορές στο σχήμα του σώματος, της κεφαλής και στα στίγματα

Στην παραπάνω εικόνα φαίνεται ότι η πασχαλίτσα Αρλεκίνος έχει πιο κυκλικό σχήμα από την άλλη. Ένα άλλο χαρακτηριστικό το οποίο διακρίνεται είναι η θέση των κηλίδων σε κάθε μία. Αξιοπρόσεκτη σε αυτήν την εικόνα είναι η κεφαλή, που όπως φαίνεται στην πασχαλίτσα Αρλεκίνος είναι πιο βαθύ το σχήμα το οποίο κάνει και έχει μία πιο απότομη κατάληξη.

Ποιά πασχαλίτσα δεν είναι Αρλεκίνος;

-Αν είναι, όπως είχαμε πει και στην εισαγωγή, μικρότερη των 5mm σε μήκος. Αν έχει λευκές ή υπόλευκες κηλίδες ή ρίγες. Αν έχει πορτοκαλί χρώμα και έχει τριχίδια σε όλο της το σώμα.

-Αν είναι κόκκινη με επτά κηλίδες τότε είναι *Coccinella septempunctata* ή *Coccinella undecimnotata*.

-Αν είναι μαύρη με 4 ή 6 κόκκινα στίγματα, από τα οποία τα 2 ή 3 βρίσκονται στις άκρες του μπροστινού τμήματος των ελύτρων, τότε είναι η μελανώδης μορφή της *Adalia decempunctata*.

3.2 Εξάπλωση του εντόμου

Η *Harmonia axyridis* ως αδηφάγος θηρευτής ταυτίστηκε ως παράγοντας βιολογικού ελέγχου για τις αφίδες και τα κοκκοειδή. Έτσι εισήχθη σε θερμοκήπια, σε καλλιεργήσιμα χωράφια και σε κήπους σε πολλές χώρες, συμπεριλαμβανομένων των Η.Π.Α και της Ευρώπης.

3.2.1 Η εξάπλωση του παγκοσμίως

Το έντομο *Harmonia axyridis* κατάγεται από την Ασία. Πιο συγκεκριμένα από την Κίνα, την Ιαπωνία, την Κορέα, την Μογγολία και την ανατολική Ρωσία, παρ' όλο που δεν έχει καταγραφεί ακόμα ολόκληρο το εύρος καταγωγής του. Στην Ρωσία τα είδη βρίσκονται το λιγότερο ως προς τα βόρεια, ως το Κρασνογιάρσκ [Krasnoyarsk (νότια Σιβηρία)] ως προς τα δυτικά μέχρι τα βουνά Αλτάι (Altai) και Νοβοσιμπίρσκ (Novosibirsk) και το εύρος ξεπερνά από την ανατολική ακτογραμμή [μέσω της περιοχής Αμούρ (Amur), της επικράτειας Καμπαρόφσκιγ (Khabarovsk) και της επικράτειας Πριμορσκι (Primorye) και πέρα στα νησιά Σακχαλίνσκαγια (Sakhalin) και Κουρίλες (Kuril)]. Ο Kuznetson προτείνει επίσης ότι το εύρος πρέπει να συμπεριλαμβάνει και το βόρειο Καζακστάν, αφού οι εισαγωγές που έχουν γίνει είναι στα νοτιοανατολικά. Ωστόσο, μελέτες με δείγματα της *Harmonia axyridis* από το Καζακστάν δεν υποδεικνύουν καμία εμφανή γενετική τροποποίηση από τους πληθυσμούς του δυτικού κομματιού του εύρους καταγωγής της, υπαινίσσονται δε ότι αυτό το είδος μπορεί να είναι ντόπιο σε αυτήν την χώρα. Η παρουσία του στην Ταϊβάν και στα Ιμαλία τεκμηριώθηκε, αλλά είναι υπό αμφισβήτηση

διότι στην προηγούμενη περίπτωση πιθανότατα να μπερδεύτηκαν με την *H. gedoensis* (Takizawa).

Στην βόρεια Αμερική η *Harmonia axyridis*, ιαπωνικής προέλευσης, πρωτοεισήχθη το 1916 στις Η.Π.Α.(Πίνακας 2 και Εικόνα 16) . Ωστόσο, παρά τις επαναλαμβανόμενες εξαπολύσεις (τουλάχιστον 14 σε διάφορες πολιτείες μεταξύ του 1964 και του 1982) η πασχαλίτσα Αρλεκίνος δεν είχε αναφερθεί ως εγκατεστημένη στην χώρα μέχρι το 1988, όπου εγκατεστάθει στην Λουιζιάνα. Το είδος αυτό εξαπλώθηκε πολύ γρήγορα και μέχρι το 1994 είχε παρουσιαστεί σε τουλάχιστον 24 πολιτείες,(δυτική και από την ανατολική ακτή). Η πασχαλίτσα συνέχισε να βρίσκεται και σε άλλες πολιτείες και για πρώτη φορά καταγράφηκε στην Μοντάνα το 2006 και στην Αριζόνα το 2008, αφήνοντας το Γουαϊόμινγκ και την Αλάσκα ως τις μόνες πολιτείες χωρίς καταγραφή αυτού του είδους. Η πολύχρωμη Ασιατική πασχαλίτσα εγκαταστάθηκε στον Καναδά το 1994 και γρήγορα εξαπλώθηκε στο μεγαλύτερο κομμάτι της νότιας χώρας. Έχοντας καταγραφεί πρόσφατα στη Νιουφάουντλαντ (το 2009, αν και είχαν παρατηρηθεί πιο πριν δείγματα αυτού του είδους από το 2000), το είδος έχει βρεθεί τώρα σε όλες τις πολιτείες εκτός από τις δύο προαναφερόμενες. Η πασχαλίτσα του Χάλογουιν εισήχθη στο Μεξικό ως βιολογικός παράγοντας ελέγχου στις πολιτείες Τσιουάουα, Κολίμα και Γιουκατάν. Το είδος αυτό εξαπλώθηκε σε πέντε ακόμα πολιτείες(που δεν είχε εξαπολυθεί) (Κοαχουίλα, Χαλίσκο, Μορέλος, Πουέμπλα και πολιτεία του Μεξικό) και βρέθηκε εγκατεστημένο στην πιο νότια πολιτεία το Τσιάπας, που συνορεύει με την Γουατεμάλα.

Στην νότια Αμερική η πρώτη καταγραφή της πασχαλίτσας Αρλεκίνος προήλθε από την Αργεντινή. Το είδος εισήχθη ως βιολογικός παράγοντας ελέγχου πρώτα στην Μεντόζα το 1986 και καταγράφηκε στο Μπουένος Άιρες το 2001, στην Σάντα Φε το 2004 και στο Έντρε Ρίος το 2008. Έτσι φαίνεται ότι ήταν ευρέως διαδεδομένο στο βόρειο

μισό της χώρας. Το *Harmonia axyridis* εισήχθη στην Χιλή το 1998. Χωρίς να υπάρχει καταγραφή εγκατάστασης εκείνη την χρονιά. Η πρώτη καταγραφή του είδους στην φύση είναι το 2003, χωρίς όμως περαιτέρω αναφορές μέχρι σήμερα. Παρ' όλα αυτά η πασχαλίτσα Αρλεκίνος είναι καθαρά εγκατεστημένη στην κεντρική Χιλή, με 17 καταγραφές(συμπεριλαμβανομένων και των προνυμφών) σε διάφορες τοποθεσίες και βιότοπους στις περιοχές Μετροπόλιταν και Βαλπαραΐσο. Το είδος αυτό είναι άφθονο σε ισχύ με συνάθροιση πάνω από 650 άτομα του εντόμου είχαν αναφερθεί σε διαμέρισμα στο Σαντιάγο τον Μάιο του 2010. Απ' όσο γνωρίζουμε η πασχαλίτσα αυτή δεν έχει εξαπολυθεί ακόμα σκόπιμα στην Βραζιλία, αλλά έχει καταγραφεί σε 4 περιοχές(Παράνα το 2002, στο Σάο Πάολο το 2004, Μινάς Γκεραΐς το 2006 και στην Μπραζίλια το 2009) που μας υποδεικνύει μια βορεινή εξάπλωση στην ανατολική πλευρά της χώρας(Πίνακες 1&2). Το *H. axyridis* εγκαταστάθηκε στην Παραγουάη και διαδόθηκε στα νότια της χώρας με αναφορές από το Κααγκουάζου, Κορονέλ Μπογκάδο και Καακουπέ. Η παλαιότερη καταγραφή έγινε στο Κααγκουάζου το 2006, όπου είχαν καταγραφεί ενήλικα και προνύμφες σε βαμβακοκαλλιέργεια. Από το 2003 βρίσκεται στο Περού και έχει αναφερθεί στην Λίμα και στην Τουμπές, όπου και οι δύο αυτές περιοχές βρίσκονται από την μεριά του Ειρηνικού. Προφανώς το είδος καθιερώνεται και στο Περού και είναι κοινό σε ισχύ. Έχει αναφερθεί παρουσία του εντόμου και στην δυτική Κολομβία. Η τελευταία χώρα της Νότιας Αμερικής στην οποία έχει βρεθεί το *Harmonia axyridis* είναι η Ουρουγουάη, όπου και έχει πρόσφατα αναφερθεί και ως εγκατεστημένο. Αναφορές από το Κανελόνες(βρέθηκαν ενήλικα αργά το 2009 και στην ίδια περιοχή βρέθηκαν προνύμφες νωρίς το 2010) και από το Μοντεβιδέο. Και οι δύο αυτές περιοχές είναι στα νότια της χώρας. Από ότι φαίνεται η πασχαλίτσα Αρλεκίνος έχει εξαπλωθεί ταχύτατα στην νότια Αμερική και θα εισβάλει σε περαιτέρω χώρες.

Table III. Relation between species and abundance of Coccinellidae specimens in different periods of sampling: 1999-2002 and 2006-2007, in Capão do Tigre, Curitiba, Paraná, Brazil.

Coccinellidae species	Sep.99 - Sep.00	Rel. Freq.	Sep.01 - Aug.02	Rel. Freq.	Oct.06 - Sep.07	Rel. Freq.
<i>Harmonia axyridis</i>	0		60	10.24%	947	91.23%
<i>Olla v-nigrum</i>	8	1.48%	10	1.71%	32	3.08%
<i>Cycloneda sanguinea</i>	313	58.07%	498	84.98%	21	2.02%
<i>Coccidophilus citricola</i>	0		0		19	1.83%
<i>Scymnus</i> sp.	52	9.65%	2	0.34%	10	0.96%
<i>Hippodamia convergens</i>	111	20.59%	6	1.02%	5	0.48%
<i>Cycloneda pulchella</i>	10	1.85%	0		3	0.29%
<i>Curinus coeruleus</i>	0		4	0.68%	1	0.09%
<i>Psyllobora gratiosa</i>	26	4.82%	0		0	
<i>Eriopis connexa</i>	16	2.97%	5	0.85%	0	
<i>Rodolia cardinalis</i>	2	0.37%	0		0	
<i>Hyperaspis festiva</i>	1	0.18%	0		0	
<i>Cycloneda ocelligera</i>	0		1	0.17%	0	
Total	539	99.98%	586	99.99%	1038	99.98%

Πίνακας 1: Παράδειγμα χωροκατακτητικότητας στην Βραζιλία

Στην Ευρώπη, πρόωρες εισαγωγές της *Harmonia axyridis* έγιναν στην ανατολική Ευρώπη περιλαμβανομένης της Ουκρανίας το 1964(για έλεγχο των αφίδων στα φρουτόδεντρα) και της Λευκορωσίας το 1968. Στην δυτική Ευρώπη, η πασχαλίτσα Αρλεκίνος πρωτοχρησιμοποιήθηκε ως βιολογικός παράγοντας ελέγχου το 1982 στην Γαλλία και εμφανίστηκε πρώτη φορά στην αγορά το 1995 από διάφορες εταιρείες κάνοντας το είδος αυτό εμπορικά διαθέσιμο. Εγκαταστάθηκε στα τέλη της δεκαετίας του '90 και επεκτάθηκε η εμβέλεια της ταχύτατα, ειδικότερα από το 2002. Η εξάπλωση της και η διανομή της *H. axyridis* στην Ευρώπη έγινε λεπτομερώς από τον Brown, ο οποίος ανέφερε την εγκατάσταση της σε τουλάχιστον 13 χώρες της Ευρώπης. Παρ' όλα αυτά το είδος συνεχίζει να εξαπλώνεται ταχύτατα και είναι γνωστό ότι έχει εγκατασταθεί σε 13 χώρες ακόμα (Πίνακας 2 και Εικόνα 15). Στην δύση υπάρχουν πρόσφατες πρώτες καταγραφές (2010) στην Ιρλανδία (αν και η εγκατάσταση της δεν έχει ακόμα επιβεβαιωθεί) και στην ανατολή η εμβέλεια της εγκατάστασης της τώρα περιλαμβάνει την Πολωνία(2006),την Ουγγαρία(2008),την Σλοβακία(2008),την Λετονία(2009),την Ρουμανία(2009) και την Ουκρανία(2009). Στα νότια η Κροατία, η Σερβία, η Σλοβενία και η Βουλγαρία έχουν εγκατεστημένους πληθυσμούς και το είδος έχει πρόσφατα καταγραφεί και στην Βοσνία-Ερζεγοβίνη(2010). Η πιο

βόρεια περιοχή στην οποία έχει καταγραφεί η πασχαλίτσα Αρλεκίνος, είναι το Τρόντχαϊμ της Νορβηγίας.

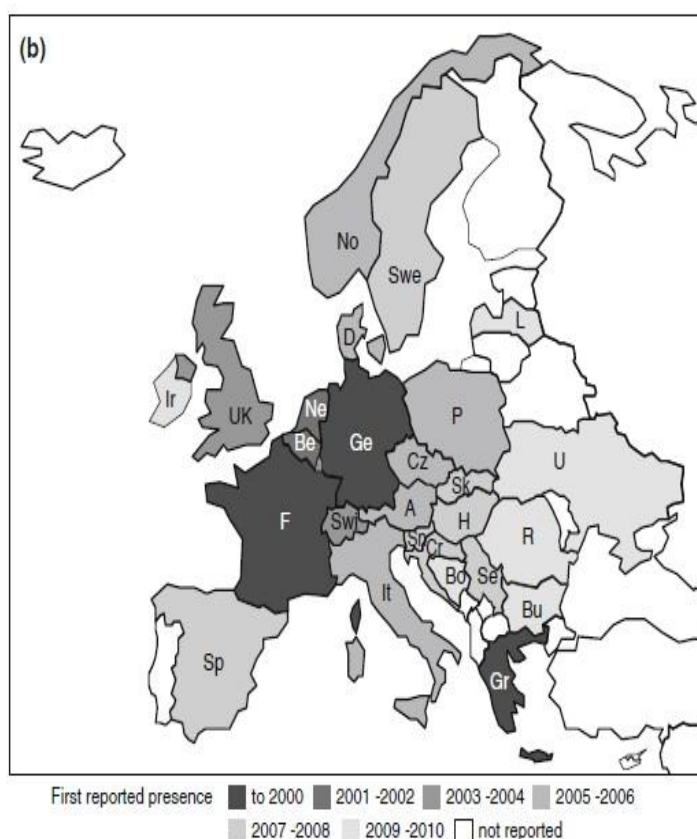


Fig. 1 The known distribution of *Harmonia axyridis* (based on confirmed reports of the species in the wild) up to and including 2010: a globally; b in Europe. Note: in most cases entire countries are coloured, but this does not mean that *H. axyridis* necessarily occurs throughout. A Austria, Be Belgium, Bo Bosnia

and Herzegovina, Bu Bulgaria, Cr Croatia, Cz Czech Republic, D Denmark, F France, Ge Germany, Gr Greece, H Hungary, Ir Ireland, It Italy, L Latvia, Ne Netherlands, No Norway, P Poland, R Romania, Se Serbia, Sk Slovakia, Sn Slovenia, Sp Spain, Swe Sweden, Swi Switzerland, U Ukraine, UK United Kingdom

Springer

Εικόνα 15: Διασπορά του *Harmonia axyridis* στην Ευρώπη

Η πασχαλίτσα Αρλεκίνος εισήχθη στην Τυνησία και στην Αίγυπτο. Η κατάσταση του είδους στην βόρεια Αφρική μας είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστη. Παρ' όλα αυτά το έντομο αυτό ίσως να έχει εγκατασταθεί γύρω από το Κάιρο όπως ανέφερε ο Brown όπου πρόσφατα εξακολουθούσε να εξαπολύεται ως παράγοντας βιολογικού ελέγχου στην Αίγυπτο. Στην Νότια Αφρική η Ασιατική πολύχρωμη πασχαλίτσα έχει εγκατασταθεί από το 2001, όταν και καταγράφηκε στο Κέϊπ Τάουν και στο Στέλλενμπος (Δυτική Επαρχία της Κέϊπ) με

παρουσία προνυμφών και νυμφών. Στην αρχή αυτό πέρασε σε μεγάλο βαθμό απαρατήρητο, αλλά μέχρι αργά το 2006, όταν το *Harmonia axyridis* ξαναβρέθηκε στην Δυτική Επαρχία του Κέϊπ, ο Ρίααν Σταλς σταδιακά κατέγραφε την εξάπλωση του είδους στην Νότια Αφρική. Με αυτόν τον τρόπο η πασχαλίτσα Αρλεκίνος έχει καταγραφεί σε όλες τις εννιά επαρχίες όπως ακολουθούν: Δυτικό Κέϊπ(2001), Ανατολικό Κέϊπ(2006), Κουαζούλου-Νατάλ, Ελεύθερη Πολιτεία και Γκαουτένγκ(όλες αυτές το 2009), Μπουμαλάνγκα, Βόρειο Κέϊπ, Βορειοδυτική Επαρχία και Λιμπόπο(όλες αυτές το 2009). Το είδος δεν θεωρείται ότι εισήχθηκε εκούσια στην Νότια Αφρική και ο Σταλς υποθέτει ότι η πρώτη άφιξη του στην Δυτική Επαρχία του Κέϊπ έγινε μέσω της ανθρώπινης μεταφοράς(μέσω θαλάσσης, αέρος και οδικώς). Το Λεσότο(ορεινή χώρα πλήρως περικυκλωμένη από την Νότια Αφρική) είναι η δεύτερη χώρα που έχουν επιβεβαιωθεί καταγραφές του *H. axyridis*. Το είδος εγκαταστάθηκε εκεί, ανακαλύφθηκε τον Ιούνιο του 2008 και καταγράφηκε σε ύψος μέχρι τα 2500 μέτρα. Το 2010 η πασχαλίτσα Αρλεκίνος βρέθηκε στην ανατολική ακτή της Κένυας και πιθανόν να εγκαταστάθηκε εκεί, επιδεικνύοντας ανοχή στο τροπικό κλίμα. Το *H. axyridis* πιθανόν να έχει παρουσιαστεί, αλλά να μην έχει καταγραφεί σε άλλες περιοχές της Αφρικής.

Στην Αυστραλία η πολύχρωμη Ασιατική πασχαλίτσα δεν είναι γνωστό αν έχει εγκατασταθεί. Παρ' όλα αυτά υπάρχουν καταγεγραμμένα παραδείγματα για είδη που φτάνουν στην Αυστραλία. Εισήχθη ακούσια με εξοπλισμό ανασκαφής στο Μπένμπαρι (Δυτική Αυστραλία) το 2008, αλλά όλα τα δείγματα ήταν νεκρά και περίπου 20 άτομα του εντόμου αυτού(μερικά ζώντα και μερικά στο στάδιο της νύμφωσης) είχαν ανακοπεί στο Ντάρβιν(Βόρεια Περιοχή), έχοντας καταφθάσει μέσω αέρος από τις Η.Π.Α. το 2009.

Table 1 The global distribution of *Harmonia axyridis*, listed by continent and country

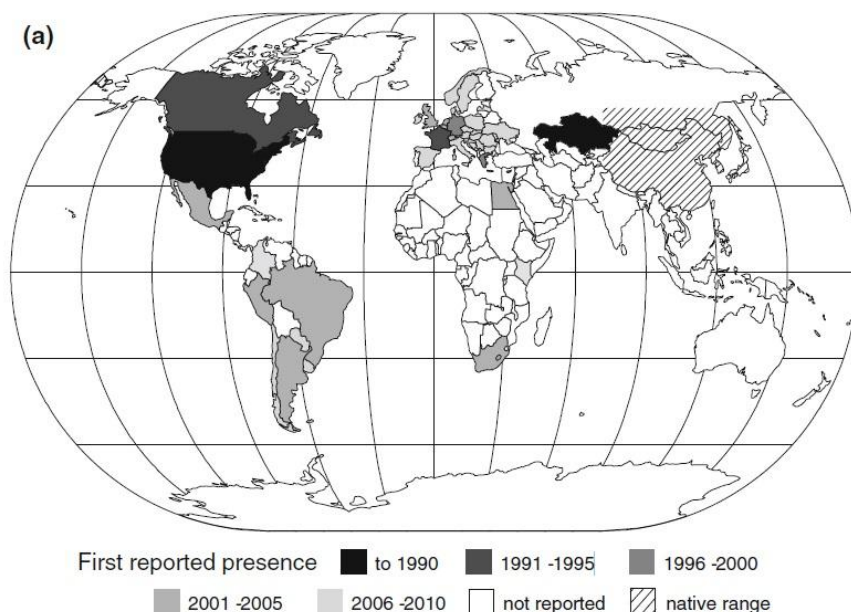
Country	Year of first record in the wild (not necessarily established)	Deliberately introduced? (Earliest year of introduction)	Evidence of establishment?	References
Asia				
Russia (Eastern, S. Siberia), Mongolia, China, Japan and Korea	N/A (native range)	N/A	N/A	Dobzhansky (1933) and K (1997)
Kazakhstan	Unknown	Yes (1968)	Yes	Hodek (1973)
Georgia	Unknown	Yes (1927)	Unknown	Poutsma et al. (2008)
North America				
USA	1988	Yes (1916)	Yes	Chapin and Brou (1991)
Canada	1994	No	Yes	Coderre et al. (1995)
Mexico	Pre 2006	Yes (pre 2001)	Yes	Koch et al. (2006)
South America				
Argentina	2001	Yes (1986)	Yes	Saini (2004)
Brazil	2002	No	Yes	de Almeida and da Silva (2006)
Chile	2003	Yes (1998)	Yes	Grez et al. (2010)
Peru	2003	No	Yes	Grez et al. (2010)
Paraguay	2006	No	Yes	Silvie et al. (2007)
Uruguay	2009	No	Yes	Nedvěd and Krejčík (2010)
Colombia	2010	No	Unknown	J. Lundgren (personal communication)
Europe				
France	1991	Yes (1982)	Yes (2003)	Coutanceau (2006) and Fe (1997)
Greece	1998	Yes (1994)	Limited	Kontodimas et al. (2008)
Germany	1999	Yes (1997)	Yes	Tolasch (2002)
Belgium	2001	Yes (1997)	Yes	Adriaens et al. (2003)
Netherlands	2002	Yes (1996)	Yes	Cuppen et al. (2004)
England	2003	No	Yes	Majerus et al. (2006)
Switzerland	2004	Yes (1996)	Yes	Klausnitzer (2004)
Luxembourg	2004	No	Yes	Schneider and Loomans (2004)
Italy	2006	Yes (1990s)	Yes	Brown et al. (2008a) and (2008)
Czech Republic	2006	Yes (2003)	Yes	Brown et al. (2008a)
Denmark	2006	Yes (2000s)	Yes	Brown et al. (2008a) and Harding (2009)

Πίνακας 2: Παγκόσμια εξάπλωση του *Harmonia axyridis*

Table 1 continued

Country	Year of first record in the wild (not necessarily established)	Deliberately introduced? (Earliest year of introduction)	Evidence of establishment?	References
Austria	2006	No	Yes	Rabitsch and Schuh (2006)
Norway	2006	No	Yes	Staverloekk et al. (2006)
Poland	2006	No	Yes	Przewozny et al. (2006)
Wales	2006	No	Yes	Brown et al. (2008b)
Spain	2007	Yes (1995)	No	Goldarazena and Calvo (2007)
Liechtenstein	2007	No	Yes	Brown et al. (2008a)
N. Ireland	2007	No	No	Murchie et al. (2008)
Scotland	2007	No	Yes	Holroyd et al. (2008)
Sweden	2007	No	Yes	Brown et al. (2008a)
Croatia	2008	No	Yes	Stanković et al. (2010)
Hungary	2008	No	Yes	Merkl (2008)
Serbia	2008	No	Yes	Thalji and Stojanović (2008)
Slovakia	2008	No	Yes	O. Nedvěd and V. Mašková (in press, communications)
Slovenia	2008	No	Yes	Bravničar et al. (2009)
Ukraine	2009	Yes (1964)	Yes	Marko and Pozsgai (2009)
Bulgaria	2009	No	Yes	Tomov et al. (2009)
Latvia	2009	No	Yes	Barševskis (2009)
Romania	2009	No	Yes	Marko and Pozsgai (2009)
Bosnia and Herzegovina	2010	No	No	Kuljer (2010)
Ireland	2010	No	No	http://www.invasivespecies.ie
Belarus	Unknown	Yes (1968)	Unknown	Sidlyarevich and Voronov (2008)
Portugal	None	Yes (1984)	No	
Africa				
South Africa	2001	No	Yes	Stals and Prinsloo (2001)
Egypt	Pre 2007	Yes (pre 2000)	Limited	Ferran et al. (2000)
Lesotho	2008	No	Yes	Stals (2010)
Kenya	2010	No	Limited	Nedvěd et al. (in press)
Tunisia	None	Yes	No	EPPO (2002)
Australia				
Australia	None, but imported specimens intercepted	No	No	Smith (2008)

Πίνακας 2 (Συνέχεια)



Εικόνα 16: Πρώτη καταγραφή του εντόμου

3.2.2 Η εισαγωγή του στην Ελλάδα

Στην Ελλάδα το *Harmonia axyridis* πρωτοεισήχθη το 1994 και μεταξύ των ετών 1994-1999 είχαμε εξαπολύσεις εκατοντάδων χιλιάδων τέλειων εντόμων του είδους αυτού. Οι εξαπολύσεις έγιναν σε διάφορα είδη φυτών όπως παραδείγματος χάρη τριανταφυλλιές, βερικοκιές, εσπεριδοειδή και άλλα. Οι εξαπολύσεις έγιναν στην νότια Ελλάδα, στην κεντρική και σε ορισμένα νησιά(Πίνακας 3). Στο μεσοδιάστημα των ετών 1995 με 2007 έλαβαν χώρα διάφορες δειγματοληψίες, που ως στόχο είχαν την διερεύνηση της εγκατάστασης ή μη του εντόμου. Κατά της διάρκεια της έρευνας βρέθηκαν μόνο στην περιοχή της Αττικής λιγότερα από 50 άτομα. Σύμφωνα με τις παραπάνω μετρήσεις αντιλαμβανόμαστε ότι το *Harmonia axyridis* έχει την δυνατότητα να διαχειμάσει στην Ελλάδα, αλλά είναι σπάνιο φαινόμενο και σε πολύ μικρούς πληθυσμούς. Η αρχική εκτίμηση ήταν ότι το γεγονός αυτό επιδεικνύει ότι η πασχαλίτσα Αρλεκίνος είναι ακίνδυνη για το

οικοσύστημα και την βιοποικιλότητα της Ελλάδας. Πριν από λίγα χρόνια ξεκίνησε η ανεξέλεγκτη εξάπλωση του στις χώρες της βόρειας και κεντρικής Ευρώπης. Εικάζεται ότι καθίσταται αναγκαία ειδικά σε περιοχές στην βόρεια και κεντρική Ελλάδα να καταγραφεί η επαναφορά μετά από νέα εντατική προσπάθεια επισκόπησης του εντόμου με δειγματοληψίες. Αυτό συμβαίνει διότι το μικροκλίμα στις περιοχές αυτές είναι αρκετά όμοιο με της βόρειας Ευρώπης, που καθίσταται ευνοϊκό για την ανάπτυξη και εξάπλωση της πασχαλίτσας Αρλεκίνος.

TABLE I. Releases and records of *H. axyridis* during 1995–1999 in Greece.

Area	Plant	Aphid pest	Released <i>H. axyridis</i> adults					Recorded <i>H. axyridis</i> larvae/adults							
			1995	1996	1997	1998	1999	1995 after release	1996 after release	1997 after release	1998 before release	1998 after release	1999 before release	1999 after release	
I.*	orange, lemon, clementine	<i>Toxoptera aurantii</i> , <i>Aphis spiraeicola</i> , <i>A. gossypii</i>	600	640	1240	4100	2240	29/16	9/6			83/32	112/44		
II.	faba beans, rose, almond trees, lettuce	<i>Aphis fabae</i> , <i>Macrosiphum rosae</i> , <i>Hyalopteris pruni</i> , <i>Nasonovia ribis-nigri</i>	660	740	1440	1720	1800	18/7	9/6	145/65	0/36	89/46	0/41	27/28	
III.	sour orange, rose	<i>A. spiraeicola</i> , <i>A. gossypii</i> , <i>M. rosae</i>	600	1200	1400	420	180	11/4	20/15	93/52					
IV.	squash, cucumber, lucerne	<i>Dysaphis crataegi</i> , <i>Myzus persicae</i> , <i>Acyrtosiphon pisum</i>			2400	3800	4800			79/64		23/32			
V.	moschato squash	<i>D. crataegi</i>		840	2000	400									
VI.	orange	<i>T. aurantii</i> , <i>A. spiraeicola</i> , <i>A. gossypii</i>		1000	450	2260	800								
VII.*	mandarin	<i>T. aurantii</i>	320	400	640	720	800	4/3		2/3		15/10	1/4		
VIII.*	orange	<i>A. spiraeicola</i> , <i>A. gossypii</i>			560	240									
IX.	orange				600	260									
X.	lemon	<i>A. spiraeicola</i> , <i>A. gossypii</i>		2000	560	1800									
XI.	clementine		360	550	1640		7/8	21/14			88/57				
XII.	lemon	<i>T. aurantii</i>	400	820	1260										
XIII.	orange	<i>A. spiraeicola</i> , <i>A. gossypii</i>		800	1260	1200									
XIV.	orange			640	1420										
XV.	orange				800	800			6/8		24/21				
XVI.	apricot tree	<i>Myzus persicae</i>		950	880										
XVII.*	sour orange, orange			1300	1800	1450	3100		4/5	9/14	20/13	9/			
XVIII.	orange			1600	2000	3000	2000		8/3	6/6	99/40	25/20			
XIX.	orange			720	400	560			5/7	2	2/1				
XX.	orange			480	520				2/2		4/6				
XXI.	lemon, orange	<i>T. aurantii</i> , <i>A. spiraeicola</i> , <i>A. gossypii</i>		1540	2120	2400	1220								
XXII.	orange			800	700	1000			10/4	8/4	3/6				
XXIII.	orange			800	700	850	850								
XXIV.	orange		260	650		440									
XXV.	sour orange		240	580	540	640									
XXVI.	orange		340		880	720	6/1				13/16	30/29			
XXVII.	orange		420		700	540									
XXVIII.	maize	<i>Rhopalosiphum padi</i>				840									

LOCALITIES: Central Greece: I. – Marathon Attica, II. – Varympompi Attica, III. – Glyfada Attica, IV. – Aliartos Voiotia, V. – Agrinio Aitolokarnania, VI. – Filothei Arta. Insular Greece: VII. – Campos Chios, VIII. – Chania Crete, IX. – Fodele Crete, X. – Karystos Euvoia. Peloponnesus: XI. – Galatas Troizinia, XII. – Kiato Korinthos, XII. – Vrachati Korinthos, XIV. – Xylokastro Korinthos, XV. – Zeygolatío Korinthos, XVI. – Zeygolatío Korinthos, XVII. – Leonidion Arcadia, XVIII. – Kalamata Messinia, XIX. – Kyparissia Messinia, XX. – Skala Lakonia, XXI. – Elaionas Achaia, XXII. – Akrata Achaia, XXIII. – Nea Kios Argolida, XXIV. – Dalamana Argolida, XXV. – Nayplion Argolida, XXVI. – Gastouni Ilia, XXVII. – Lexaina Ilia, XXVIII. – Stavrodromi Ilia.

PLANTS: Orange – *Citrus sinensis*, lemon – *C. limon*, clementine – *C. reticulata*, sour orange: *C. aurantium*, mandarin: *C. deliciosa*, faba beans: *Vicia faba*, rose: *Rosa* sp., almond trees: *Pyrus amygdalus*, lettuce: *Lactuca sativa*, squash: *Cucurbita pepo*, moschato squash: *C. moschata*, cucumber: *Cucumis sativus*, lucerne: *Medicago sativa*, apricot tree: *Prunus armeniaca*, maize: *Zea mays*.

* Release-locations of *H. axyridis* adults in 1994 (Katsoyannos et al., 1997).

Πίνακας 3:Εξαπόλυση και καταγραφή του *Harmonia axyridis* στην Ελλάδα

3.3 Οι άμυνες που διαθέτει το έντομο

Η πασχαλίτσα Αρλεκίνος έχει εξαπλωθεί παγκοσμίως και στην συντριπτική πλειοψηφία έχει καταφέρει, εκτός του να κυριαρχήσει στα άλλα είδη και να εγκατασταθεί με επιτυχία. Σε αυτά βοήθησαν οι ιδιαίτερες άμυνες που διαθέτει.

Οι άμυνες της προήλθαν έπειτα από έναν αριθμό προσαρμογών και στο γεγονός ότι έχει ένα ανώτερο ανοσοποιητικό σύστημα με μεγάλη ανθεκτικότητα στους παρασιτικούς μύκητες. Μία από αυτές τις προσαρμογές είναι και τα μικροσπορίδια τα οποία είναι διαφορετικά από των ντόπιων πληθυσμών όπως π.χ. του *Adalia bipunctata* και του *Coccinella septempunctata*. Πράγματι πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι το *Harmonia axyridis* έχει ένα διεπίπεδο έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα, που χαρακτηρίζει τα συστατικά συντεθειμένου χαμηλού μοριακού όγκου αντιμικροβιακής χημικής ένωσης αρμονίνης [(17R,9Z) -1,17-diamino-octadec-9-ene] και ένα ευρύ φάσμα επαγωγίμων αντιμικροβιακών πεπτιδίων(AMPs).

Ακολουθώντας μία πειραματική πρόκληση που περιλαμβάνει την έγχυση βακτηριδίων, η συγκέντρωση της αρμονίνης στην αιμόλεμφο μειώνεται, αλλά αυτό αντισταθμίζεται από την επαγόμενη σύνθεση των AMPs. Αυτή η εναλλαγή μεταξύ συστατικών και επαγωγίμων μηχανισμών μπορεί να αντανακλά σε μια εναλλαγή, η οποία προκύπτει από κοστολογήσεις που αφορούν την καταλληλότητα,

σχετίζονται με την ταυτόχρονη σύνθεση αρμονίνης και AMPs. Η αλληλουχία του μεταγραφικού του *H. axyridis* στην πλατφόρμα Roche 454 FLX είχε ως αποτέλεσμα την ταυτοποίηση πάνω από 50 AMPs, ο υψηλότερος αριθμός που έχει αναφερθεί μέχρι τώρα σε έναν πολυκύτταρο οργανισμό. Το ποικίλο φάσμα των AMPs περιλαμβάνει γονίδια, που κωδικοποιούνται για 10 attacins, 13 coleoptericsines, 4 coleoptericsin-like πεπτίδια, 19 defensins και 4 thaumatins. Επιπροσθέτως τα γονίδια που κωδικοποιούν 10 διαφορετικές λυσοζύμες ταυτοποιήθηκαν. Τέσσερις εκπροσωπούν του κοτόπουλου(συμβατική) (c-type) υποοικογένεια και έξι που εκπροσωπούν τη ασπόνδυλη(i-type) υποοικογένεια. Οι λυσοζύμες είναι μια εξελικτικά-συντηρημένη ομάδα ενζύμων, όπου διαμεσολαβούν στη έμφυτη ανοσία. Η εξάπλωση τους από τον διπλασιασμό γονιδίων και την ακολουθία απόκλισης έχει επίσης μεταφραστεί σε λειτουργική ποικιλομορφία. Οι c-types λυσοζύμες είναι δομικά συσχετισμένες με την καλά χαρακτηρισμένη λυσοζύμη που βρίσκεται στην albumin των αυγών της κότας και ουσιαστικά κατέχει δραστηριότητα μουραμιδάσης, κάνοντας τα ικανά να σπάσουν τα τοιχώματα των βακτηρίων. Πολύ λιγότερα είναι γνωστά για τις i-type λυσοζύμες, αλλά συνήθως περιλαμβάνουν ξεχωριστούς τομείς με μουραμιδισιακή και ισοπεπτιδική δραστηριότητα, παρ' όλο που οι συγκεκριμένες λυσοζύμες πιστεύεται ότι εκλείπουν προηγούμενης κυριαρχίας, ενώ η παρουσία της ισοπεπτιδικής δραστηριότητας δεν είναι ξεκάθαρη. Πιο πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι οι c-type λυσοζύμες κατέχουν, επίσης βιολογικές λειτουργίες δεν σχετίζονται με την μουραμιδισιακή δραστηριότητα π.χ. η α-lactalbumin των θηλαστικών (το οποίο φυλογενετικά συσπειρώνεται με τις c-types λυσοζύμες, αλλά έχει έλλειψη καταλυτικών καταλοίπων) ρυθμίζει τη σύνθεση της λακτόζης. Σύμπλεγμα μερικώς αναπτυσσόμενης α-lactalbumin ή η λυσοζύμη του γάλακτος του αλόγου με ελαϊκό οξύ είναι κυτταροτοξικές και μπορεί να βοηθήσουν στο να αποτραπεί ο καρκίνος. Επιπροσθέτως η μη

βακτηριολυτική πρωτεΐνη, που μοιάζει με λυσοζύμη c-type SSLP1, σπερματοζωαρίων και θεωρείται ότι παίζει ένα ρόλο στη ένωση σπέρματος-αυγού.

Οι αντιδραστικές ζύμωσης στο εμπρόσθιο έντερο περιλαμβανομένου των μηρυκαστικών, των φυλλοφάγων πιθήκων colobine και των hoatzins (το μόνο γνωστό πουλί με εμπρόσθιο έντερο ζύμωσης), οι πεπτικές c-type λυσοζύμες με διακριτά φυσικοχημικά χαρακτηριστικά έχουν εξελιχθεί, ενεργοποιώντας την χρήση θρεπτικών συστατικών αφομοιωμένων από συμβατικά βακτήρια. Λειτουργικά παρόμοιες πεπτικές c-type λυσοζύμες μέσα στην μύγα των φρούτων (*Drosophila melanogaster*) και στην οικιακή μύγα (*Musca domestica*) διασπών τα βακτήρια όταν τα έντομα τρέφονται με αποσυντετημένη ύλη. Τα έντερα των τρεφόμενων με αίμα triatomine εντόμων, όπως το *Rhodnius prolixus*, το *Triatoma brasiliensis* και το *Triatoma infestans* επίσης περιέχουν c-type λυσοζύμες οι οποίες μπορούν να χωνέψουν συμβιωτικούς οργανισμούς, οι οποίοι πολλαπλασιάζονται ραγδαία στο πρόσθιο μεσέντερο μετά από ένα γεύμα με αίμα. Μία c-type λυσοζύμη μέσα στο έντερο του κουνουπιού της ελονοσίας (*Anopheles gambiae*) βρέθηκε να συνδέει τις ωοθήκες, που σχηματίστηκαν μετά την μόλυνση, με το *Plasmodium berghei* ή με το *Plasmodium falciparum* και παραδόξως να προωθεί την ανάπτυξη των παρασίτων.

Από την βιβλιογραφική ανασκόπηση στα πλαίσια της παρούσας εργασίας διαπιστώνεται ότι οι δύο c-types λυσοζύμες του *H. axyridis* κατέχουν μουραμιδισιακή ικανότητα και με αυτόν τον τρόπο έχουν καθοριστικό ρόλο στο έμφυτο ανοσοποιητικό σύστημα. Μία από τις δύο δομικά ευκρινείς λυσοζύμες παράγεται συνεχώς, ενώ η άλλη είναι επαγόμενη κατά την διάρκεια μίας ανοσοποιητικής αντίδρασης και ιδιαίτερα στο έντερο. Η επαγόμενη λυσοζύμη (αλλά όχι η συστατική σχέση της) επέδειξε συνεργασία με την αρμονίνη και, σε ένα

μεγαλύτερο βαθμό, με δύο coleopterics εκπροσωπώντας τα πιο δυνατά επαγόμενα AMPs σε αυτά τα είδη.

Στην προσπάθεια να κατανοηθεί καλύτερα η δράση των λυσοζυμών έγινε μία έρευνα με βάση την αλληλουχική ευθυγράμμιση και την φυλογενετική ανάλυση. Η συγκεκριμένη έρευνα έδειξε ότι τέσσερα πολυπεπτιδικά κωδικοποιημένα cDNAs με ομοιότητα στις c-type λυσοζύμες, αναγνωρίστηκαν στο μεταγραφικό του *H. axyridis* και προσωρινά ονομάστηκαν c-lys1, c-lys2, c-lys3 και c-lys4. Οι συμπερασματικές αμινοξικές αλληλουχίες περιείχαν 8 συντηρημένα κατάλοιπα κυστεΐνης σχηματίζοντας τους 4 δισουλφικούς δεσμούς των c-type λυσοζυμών και το N-τερματικών πεπτιδίων του σήματος για το ευκαρυωτικό εκκριτικό μονοπάτι, όπως είναι προβλεπόμενο με το PrediSi. Οι μοριακές μάζες των προβλεπόμενων ωριμασμένων πολυπεπτιδίων υπολογίστηκαν χρησιμοποιώντας το ProtParam και είναι τα επακόλουθα: 13.2 kDa(c-lys1), 13.6 kDa(c-lys2), 13.8 kDa(c-lys3) και 14 kDa(c-lys4). Τα πολυπεπτίδια c-lys1, c-lys2 και c-lys4 βρέθηκε ότι έχουν βασικά ισοηλεκτρικά σημεία (pI= 8.95, 9.13 και 8.18 αντίστοιχα) ενώ το c-lys3 βρέθηκε ότι έχει όξινα ισοηλεκτρικά σημεία (pI= 5.46). Τα υπολείμματα του γλουταμινικού οξέος καθώς και του ασπαρτικού που χρειάστηκαν για την μουραμιδιασική δραστηριότητα, ήταν και τα δύο υπαρκτά μέσα στο c-lys3 και στο c-lys4, αλλά το ασπαρτικό υπόλειμμα ήταν απών στο c-lys1 και στο c-lys2. Περαιτέρω εξάγεται το συμπέρασμα ότι μόνο τα c-lys3 και τα c-lys4 πιθανολογείται να είναι καταλυτικά ενεργά. Για την φυλογενετική ανάλυση συγκρίθηκαν τις τέσσερις c-types λυσοζύμες της πασχαλίτσας Αρλεκίνος με λυσοζύμες αρθροπόδων τα οποία είχαν προηγουμένως ερευνηθεί στο mRNA και/ή σε πρωτεϊνικά επίπεδα. Επίσης συμπεριλήφθησαν οι αλληλουχίες των πέντε μη κατηγοριοποιημένων c-types λυσοζυμών που εντοπίστηκαν στην ολοκληρωμένη γονιδιωματική αλληλουχία του κόκκινου σκαθαριού του αλεύρου *Tribolium castaneum* και οι μεγάλες μη κατηγοριοποιημένες πολύ-λυσοζύμες από το *D. melanogaster* και το *A. gambiae* τα οποία

εμπεριέχουν 4 και 5 λυσοζυμικά πεδία αντίστοιχα. Η πολλαπλή αλληλουχική ευθυγράμμιση με την χρήση του αλγόριθμου ClustalW ακολουθούμενη από την κατασκευή ενός φυλογενετικού δένδρου αποκαλύπτουν ότι τα c-lys1 και τα c-lys2 συμπλεγμένα μαζί με άλλες ανενεργά καταλυτικές πρωτεΐνες σχηματίζουν μια μικρή υπό-ομάδα από πρωτεΐνες που μοιάζουν με λυσοζύμες. Οι υποτιθέμενες μουραμιδάσεις τα c-lys3 και τα c-lys4 ενωμένες μέσα σε ένα περαιτέρω διακριτό γκρουπ, θέτουν σε κίνδυνο τις 4 πιθανώς ενεργές λυσοζύμες από τις *D. melanogaster* και *A. Gambiae* πολύ-λυσοζύμες και την λυσοζύμη από το μαλακό τσιμπούρι *Ornithodoros moubata*. Σε όλα τα τέσσερα πολυπεπτιδικά είδη του *H. axyridis* αναγνωρίστηκε μια μικρή αλληλουχία πλούσια σε υπολείμματα ασπαρτικού οξέος που θυμίζει την δεσμευτική θέση του ασβεστίου η οποία είναι παρούσα στις λυσοζύμες αλογίσσιου γάλακτος και στην ανθρώπινη α-lactalbumin, αλλά όχι στην ανθρώπινη λυσοζύμη ή στην λυσοζύμη από τα αυγά της κότας (Fig. 1).

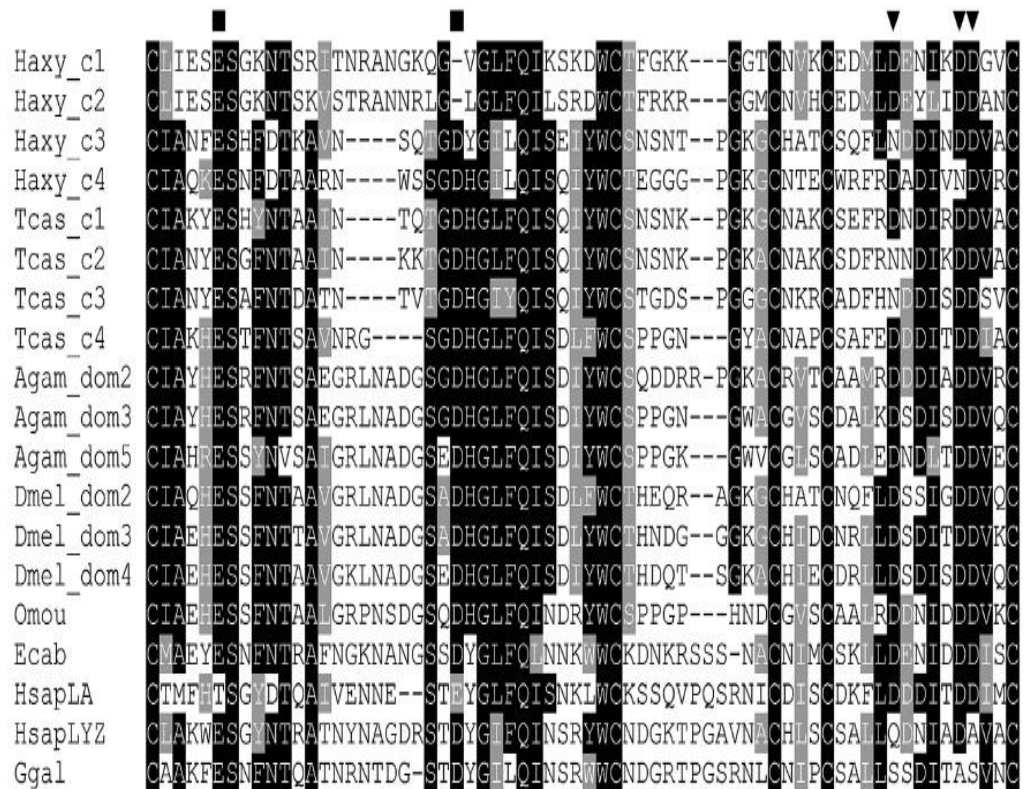


Fig. 1. Multiple sequence alignment of the *H. axyridis* c-type lysozymes with selected lysozymes from other species. The positions of the catalytic glutamic acid (E) and aspartic acid (D) residues essential for muramidase activity are indicated by square symbols. The aspartic acid residues involved in Ca^{2+} binding in equine milk lysozyme (Ecab) and human α -lactalbumin (HsaLA) are marked by triangles. Black and gray shading represent amino acid identity and similarity, respectively. From the multi-lysozymes of *A. gambiae* (Agam) and *D. melanogaster* (Dmel) only the domains (dom) containing both catalytic residues were selected. Tcas, *T. castaneum* (beetle); Omou, *O. moubata* (tick); HsapLYZ, human lysozyme; Ggal, hen egg-white lysozyme. Only the sequences from the second to the sixth conserved cysteine residue are shown. The alignment of the complete sequences is shown in Appendix: Supplementary Fig. S1.

Στην συνέχεια της έρευνας από τους Vogel, Vilcinskas και την Pöppel εξετάστηκε η εκφραστική ανάλυση. Η έρευνα εστιάζεται στην σύσταση των λυσοζυμών *c-lys3* και *c-lys4* της *Harmonia axyridis* με ποσοτική σε πραγματικό χρόνο RT-PCR προκειμένου να συγκριθεί η σταθερή κατάσταση των mRNA επιπέδων των ατόμων που δεν είχαν εμβολιαστεί καθώς και εκείνων που εμβολιάστηκαν με έγχυση βακτηριδιακού εναιωρήματος. Όταν αναλύθηκε το ολικό εκχύλισμα RNA από ολόκληρα άτομα, δεν βρέθηκαν αποδεικτικά στοιχεία για την διαμόρφωση της σύστασης της *c-lys3* ενώ το *c-lys4* μειώθηκε κατά 1.8 φορές (Fig.2). Σε απομονωμένο εντερικό ιστό, παρατηρήθηκε μια μέτρια αύξηση κατά 1.5 δίπλωμα στο επίπεδο *c-lys3* mRNA αλλά

μια ακόμα πιο έντονη αύξηση κατά 8 διπλώματα στο επίπεδο του c-lys4 mRNA.

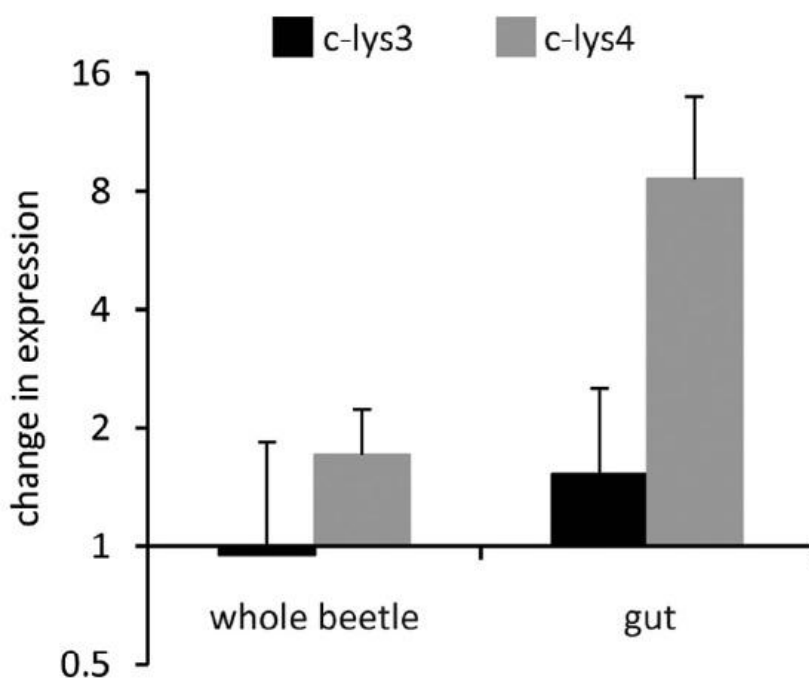
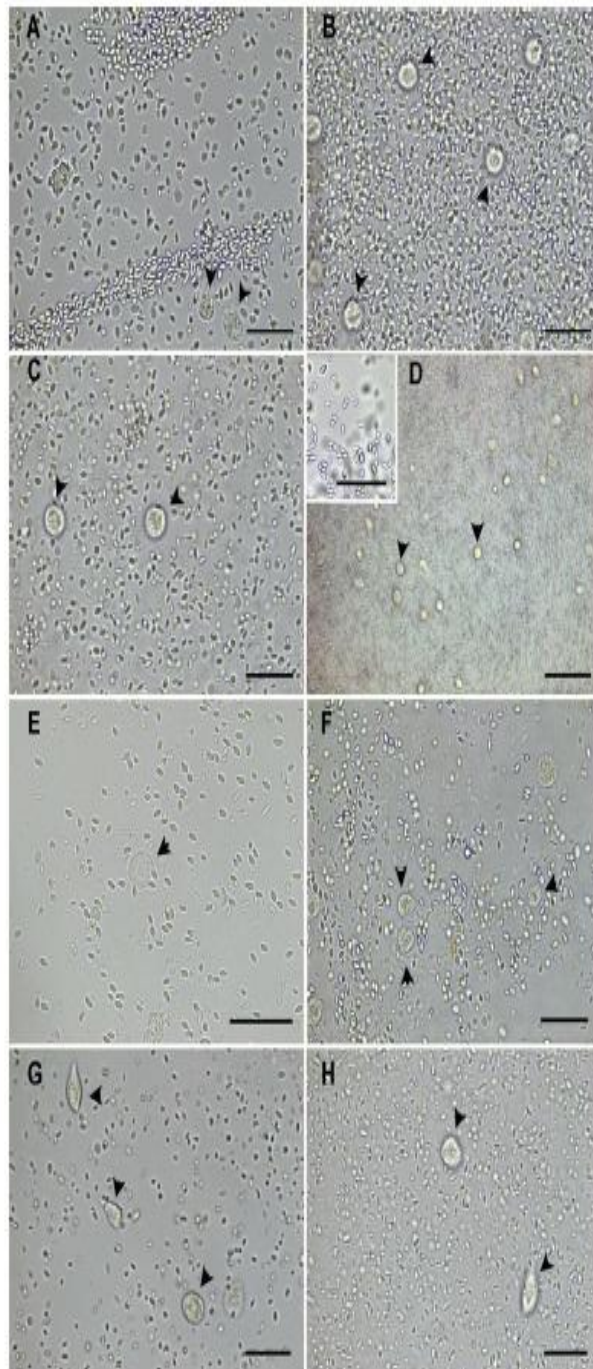


Fig. 2. Expression analysis of *H. axyridis* lysozymes. The transcript abundance of c-lys3 and c-lys4 was determined 12 h after bacteria injection by quantitative real-time PCR and reported relative to uninfected beetles. Whole beetles and isolated guts were analyzed in three independent experiments. Error bars indicate standard deviation.

Μία άλλη ισχυρή άμυνα που έχει ευνοήσει την πασχαλίτσα Αρλεκίνο είναι τα μικροσπορίδια. Για να μπορέσουν οι ερευνητές να κατανοήσουν καλύτερα τον τρόπο λειτουργίας τους και την μοναδικότητά τους αποφάσισαν να κάνουν ανάλυση δειγμάτων της αιμόλεμφο που απομονώθηκαν από το *H. axyridis*, όπου διαπιστώθηκε μεγάλος αριθμός μικροσποριδίων στα αιμοκύτταρα. Τα έντομα δεν παρουσίασαν σημάδια μόλυνσης ούτε μειωμένη απόδοση στην θήρευση της αφίδας ή στην γονιμότητα, παρά του ότι μεταφέρουν ένα υψηλό μικροσποριδιακό φορτίο. Τα μικροσπορίδια είναι σπόρια που σχηματίζουν υποχρεωτικά παράσιτα που βρίσκονται σε ζώα ξενιστές και συχνά σχετίζονται με έντομα. Αναπαράγονται μέσα σε κύτταρα ξενιστών ακολουθώντας την έγχυση του μικροβιακού πλάσματος μέσω εξωθήσιμων σωλήνων, το οποίο

παρατηρήθηκε επίσης σε σταθερά δείγματα. Όλα τα άτομα του *H. axyridis* που συλλέχθηκαν από διάφορες περιοχές σε όλη την Γερμανία, βρέθηκαν να μεταφέρουν μικροσπορίδια και το ίδιο ίσχυε και για τα θηλυκά άτομα του είδους από διαφορετικά γεωγραφικά δειγματοληπτικά σημεία ξεκινώντας από Κίνα, Ιαπωνία και Κορέα (χώρες καταγωγής) έως τους χωροκατακτητικούς πληθυσμούς της Ευρώπης και της Βόρειας και της Νότιας Αμερικής(Γράφημα 1).



Microsporidia in the hemolymph of *H. axyridis* sampled from different geographic regions. Fresh hemolymph samples from adult *H. axyridis* females showing the high concentration of spores between the larger hemocytes (arrowheads). Scale bars = 20 μm unless stated otherwise. The samples were collected from populations at different geographical sites: (A) Beijing, China; (B) Brussels, Belgium; (C) Santiago, Chile; (D) Fuchu, Japan (scale bar = 50 μm in the main image, and 20 μm in the inset image); (E) Cuneo, Italy; (F) Korea; (G) Novosibirsk, Russian Federation; (H) Brookings, USA.

Γράφημα 1

Αυτό ήταν σημαντικό εύρημα επειδή μέχρι την καταγραφή του, υπήρχε μικρή πληροφόρηση σχετικά με την διανομή μικροσποριδίων σε ντόπιους και σε χωροκατακτητικούς πληθυσμούς.

Παρόλο που όπως προαναφέρθηκε η αφθονία των μικροσποριδιακών σπόρων δεν βλάπτουν τους πληθυσμούς του *H. axyridis*, η ένεση μικροσποριδίων καθαρισμένη από την αιμόλεμφο του *H. axyridis* μέσα στο *C. septempunctata* σκότωσε όλα τα άτομα μέσα στο διάστημα των δύο εβδομάδων και τα πτώματα ήταν γεμάτα με μικροσπορίδια. Αυτή η παρατήρηση οδήγησε τους ερευνητές στην υπόθεση ότι τα μικροσπορίδια που μεταφέρονται από το *H. axyridis* είναι υπεύθυνα για την θνησιμότητα του *C. septempunctata* είτε με την ένεση από την αιμόλεμφο του *H. axyridis* είτε από την θήρευση των αυγών του *H. axyridis*. Δεδομένου ότι: α) η ενδοοικογενειακή θήρευση είναι μία κύρια επιλεκτική δύναμη ανάμεσα στις ανταγωνιστικές πασχαλίτσες, β) η οριζόντια μεταφορά μικροσποριδίων λαμβάνει χώρα μεταξύ ειδών πασχαλίτσας μέσω της ενδοοικογενειακής θήρευσης και γ) τα άτομα του *C. septempunctata* πεθαίνουν όταν προσβληθούν από τα μικροσπορίδια του *H. axyridis*, διαπιστώνουμε ότι αυτά τα παράσιτα πιθανόν να βοήθησαν στην παγκόσμια χωροκατακτητική επιτυχία του *H. axyridis* και τα μικροσπορίδια της αποτελούν ένα ιδανικό μοντέλο ανάλυσης στο ρόλο των παρασίτων στις αντιδράσεις ανάμεσα στα είδη των εντόμων και τους ανταγωνιστές τους και τους θηρευτές τους. Ωστόσο, ποσοτικά δεδομένα χρειάζονται για να διευκρινιστεί το αντίκτυπο των παρασίτων στις κοινότητες και ο συνδυασμός των θεωρητικών και εμπειρικών μελετών χρειάζεται για να εξεταστεί πώς οι επιδράσεις του παρασιτισμού κλιμακώνονται στο κοινοτικό επίπεδο. Για να διερευνηθεί η δυναμική προσφορά των μικροσποριδίων του *H. axyridis* σε τόσες κοινοτικού επιπέδου διαδικασίες, πρώτα πρέπει να αναθεωρηθεί τι είναι γνωστό για τα μικροσπορίδια στα κολεόπτερα (ιδιαίτερα στις κοκκινελίδες), έπειτα να συγκεντρωθούμε στις παθογενέσεις των μικροσποριδίων του *H. axyridis* και τέλος να

θεωρηθούν οι δυνατότητες των παρασίτων ως βιολογικά όπλα ώστε να προάγουν χωροκατακτητική επιτυχία.

Τα μικροσπορίδια είναι υποχρεωτικά ενδοκυτταρικά παράσιτα τα οποία είναι εξειδικευμένοι συγγενείς μυκήτων. Περισσότερα από 1200 είδη έχουν περιγραφεί και τα περισσότερα μολύνουν έντομα, περιλαμβανομένων των κολεοπτέρων, συνήθως ακολουθώντας την στοματική πρόσληψη των ώριμων εξωκυτταρικών σπόρων τα οποία προστατεύονται από παχιά χιτινώδη κυτταροτοιχώματα. Η μόλυνση του ξενιστή επιτυγχάνεται από την προεξοχή ενός πολικού σωλήνα που εγχύνει το μολυσματικό περιεχόμενο των σπόρων (το σπορόπλασμα) μέσα στα κύτταρα του ξενιστή έχοντας σαν αποτέλεσμα τον σχηματισμό σχετικά εύκολων δομημάτων γνωστά ως meronts. Αυτά αντιγράφονται και τελικά διαφοροποιούνται σε sporonts, τα οποία διασπώνται για να σχηματίσουν σποροβλαστίδια που τελικά σχηματίζουν τους ώριμους σπόρους, έτσι ολοκληρώνεται η φάση γνωστή σαν σπορογένεση. Πρόσφατη γονιδιακή ανάλυση αποκάλυψε ότι εξελικτικές στρατηγικές που προάγουν την ταχύτατη ενδοκυτταρική αύξηση των μικροσποριδίων σαν βάση για την ποικίλη συνεισφορά ανάμεσα στα ζώα και στα κύτταρα του ξενιστή.

Η έρευνα για φυσικά παθογόνα ή παράσιτα των κολεοπτέρων με το ενδεχόμενο να δράσουν ως βιολογικοί παράγοντες ελέγχου αποκάλυψε έναν αριθμό μικροσποριδιακών ειδών, όπως εκείνα που μολύνουν το κόκκινο σκαθάρι του αλεύρου (*Tribolium castaneum*), διάφορα φλοιοφάγα σκαθάρια, Chrysomelidae όπως το *Phyllobrotica armata*, σκαθάρια «ψύλλους» όπως τα *Phyllotreta atra* και το *P. indulata*, το δορυφόρο της πατάτας (*Leptinotarsa decemlineata*) και διάφορα Curculinidae. Έντομα τα οποία θηρεύουν πάνω σε επιβλαβή έντομα, όπως οι παρασιτικές σφήκες, συχνά μεταφέρουν μικροσπορίδια που επίσης μολύνουν το θήραμα. Ωστόσο, η χρήση των μικροσποριδίων για τον έλεγχο των εισαγόμενων απειλών είναι αμφιλεγόμενη. Τα μικροσπορίδια είναι συχνά παράσιτα της

πασχαλίτσας και η αναγνώριση νέων ειδών απέχει πολύ από την ολοκλήρωση.

Microsporidial species in different coccinellids (according to Saito & Bjørnson, 2006; Bjørnson *et al.*, 2011; Steele & Bjørnson, 2013).

Microsporidial species	Coleopteran species	Sites of infection	Spore form
<i>Nosema hippodamiae</i> (Lipa & Steinhaus, 1959)	<i>Hippodamia convergens</i>	Midgut, fat body	Ovoid
<i>Nosema tracheophila</i> (Cali & Briggs, 1967)	<i>Coccinella septempunctata</i>	Tracheal epithelium, hemocytes, connective tissue	Ovoid
<i>Nosema coccinellae</i> (Lipa, 1968)	<i>Adalia bipunctata</i>	Midgut epithelium, Malpighian tubules, gonads, nerves, muscle	Ellipsoidal
	<i>Coccinella quinquepunctata</i>		
	<i>Coccinella septempunctata</i>		
	<i>Exochomus quadripustulatus</i>		
	<i>Hippodamia tredecimpunctata</i>		
<i>Tubulinosema hippodamiae</i> (Saito & Bjørnson, 2006, 2008; Bjørnson <i>et al.</i> , 2011)	<i>Myrrha octodecimguttata</i>		Pyriform
	<i>Hippodamia convergens</i>	Pyloric valve epithelium, hindgut epithelium, Malpighian tubules, connective tissue, ovary, fat body	
<i>Nosema thomsoni</i> -like microsporidium (Vilcinskis <i>et al.</i> , 2013)	<i>Harmonia axyridis</i>	Hemolymph (spores), hemocytes, fat body, ovaries, connective tissue sheaths surrounding midgut and muscles	Ovoid
<i>Nosema adaliae</i> (Steele & Bjørnson, 2013)	<i>Adalia bipunctata</i>	Ovaries, testes, midgut epithelium, Malpighian tubules, hindgut, fat body, ventral nerve cord, muscle	Ovoid

Πίνακας 4

Η απελευθέρωση των ειδών της πασχαλίτσας ως βιολογικός παράγοντας ελέγχου μπορεί να προάγει την διασπορά των μικροσποριδίων σε νέες περιοχές και πιθανόν σε νέους ξενιστές της οικογένειας των κοκκινελλίδων.

Στο *H. axyridis* η ενίσχυση μικρών υπομονάδων ριβοσωμικών RNA (rRNA) γονιδίων χρησιμοποιώντας μια ποικιλία από σύνολα υποκινητών είχε ως αποτέλεσμα την ανίχνευση ενός μικροσποριδιακού 16S rRNA γονιδίου με $\geq 99\%$ ταυτοσημία με μέλη του κλάδου των *Nosema nairimorpha*, με το *Nosema thomsoni*,

στενότερο συγγενή. Ωστόσο, η σχέση ανάμεσα σε πρόσφατα ταυτοποιημένα μικροσπορίδια και των γνωστών παθογόνων θα παραμείνει ασαφής μέχρι η γονιδιωματική αλληλουχία να είναι διαθέσιμη. Το γένος *Nosema* περιλαμβάνει 80 είδη περιλαμβανομένων μερικών που είναι κοινά σε ξενιστές της οικογένειας των κοκκινελλίδων. Ορισμένες προηγούμενες μελέτες έχουν ταυτοποιήσει 2 μορφολογικά ξεχωριστούς τύπους μικροσποριδιακών σπόρων (πρωταρχικούς και περιβαλλοντικούς σπόρους) με διαφορετικές λειτουργίες. Οι πυκνοί περιβαλλοντικοί σπόροι θεωρείται ότι προάγουν μόλυνση, ενώ οι λιγότερο πυκνοί πρωταρχικοί πιστεύεται ότι εμβολιάζουν διάφορους ιστούς του ξενιστή. Οι άδειοι σπόροι που παρατηρήθηκαν στο μικροσκόπιο πιθανόν αντιπροσωπεύουν πρωταρχικούς σπόρους οι οποίοι έχουν ήδη εξάγει το περιεχόμενο τους ή πρωταρχικοί σπόροι που δεν επέζησαν.

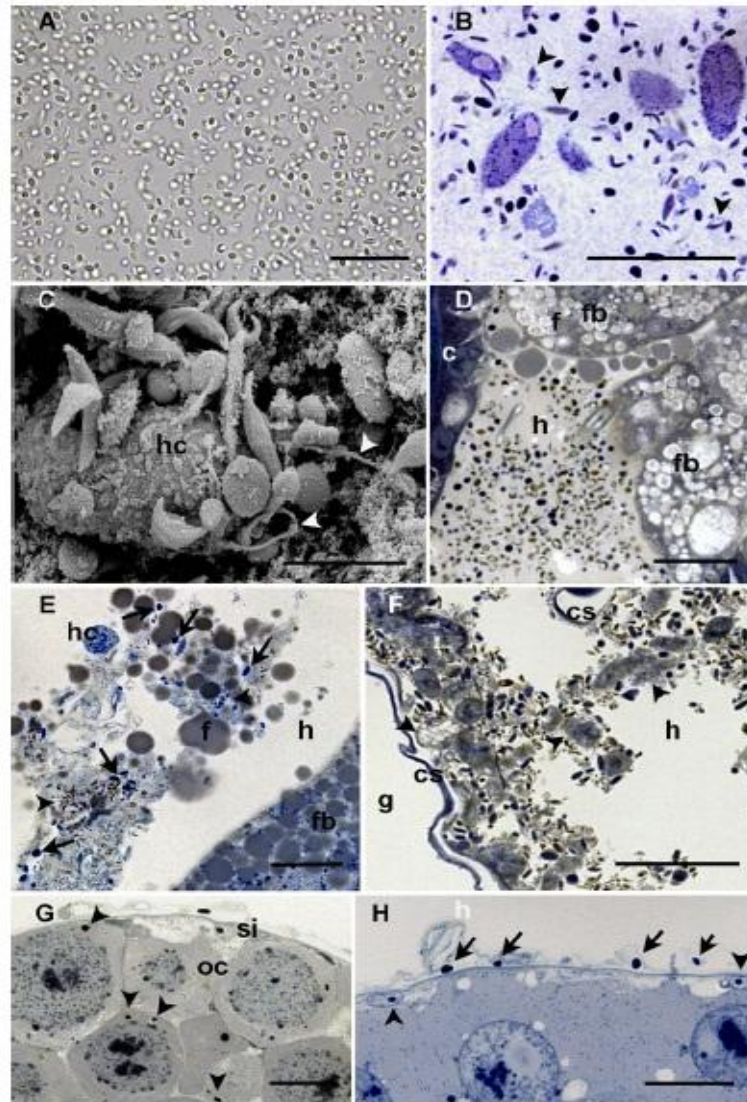
Η αιμόλεμος του *H. axyridis* φαίνεται να περιέχει ασθενώς χρωματισμένους πρωταρχικούς και έντονα χρωματισμένους περιβαλλοντικούς σπόρους (Γράφημα 2B και 2D). Παρ' όλο που πολλοί πρωταρχικοί σπόροι ανιχνεύθηκαν, η απαλλαγή του πολικού νήματος διαπιστώνεται σπάνια μόνο μετά την σταθεροποίηση και ποτέ σε φρέσκα δείγματα αιμολέμφου (Γράφημα 2C). Η ορατότητα του εξωθημένου πολικού σωλήνα πιθανόν να εξαρτάται από το είδος: δεν έχει παρατηρηθεί ποτέ στην περίπτωση του *N. hippodamiae* κατά την διάρκεια των μολύνσεων του *Hippodamia convergens*, αλλά μπορεί να παρατηρηθεί στο *N. tracheophilla* κατά την διάρκεια των μολύνσεων του *C. septempunctata*.

Δείγματα αιμολέμφου, ετοιμάστηκαν από τελικά έμβρυα του *H. axyridis* που απομονώθηκαν από αυγά και νεοεκκολαφθείσες προνύμφες που απομονώθηκαν πριν τραφούν με το κέλυφος του αυγού, περιείχαν επίσης σπόρους οι οποίοι δεν προκάλεσαν κανένα εμφανές σύμπτωμα μόλυνσης. Η μικροσποριδιακή μόλυνση συνήθως

τροποποιεί τον βιολογικό κύκλο του ξενιστή, στις σοβαρότερες περιπτώσεις σκοτώνοντας τον ξενιστή και/ή καθυστερώντας την κανονική του ανάπτυξη των προνυμφών αποτρέποντας έτσι την έναρξη της ωρίμανσης. Σε άλλες περιπτώσεις η μόλυνση μειώνει την φυσική κατάσταση και επομένως επηρεάζει την ανάπτυξη, την θνησιμότητα, την αναλογία του φύλου, τη γονιμότητα και/ή την μακροζωία ολόκληρων πληθυσμών. Η ικανότητα των μικροσποριδίων να καθυστερούν την ανάπτυξη των προνυμφών έχει περιγραφεί σε ορισμένα είδη της πασχαλίτσας, αν και το αντίκτυπο της θνησιμότητας της προνύμφης/του ενήλικου και η παραγωγή αυγών μπορεί να ποικίλλει αρκετά ανάλογα με τον ξενιστή. Δεν ήταν δυνατή η έρευνα για τις επιπτώσεις των μικροσποριδίων σε παραμέτρους όπως η κινητικότητα, το ζευγάρωμα, η ωοτοκία, η θνησιμότητα και η ανάπτυξη του *H. axyridis*, επειδή δεν έχουν βρεθεί ελεύθερα-μικροσποριδίων άτομα και ούτε ήταν δυνατό να πολλαπλασιαστούν εκτρεφόμενα έντομα που θεραπεύτηκαν με μικροσποριδιακή σύνθεση φουμαγιλλίνης.

Τα μικροσπορίδια των κολεοπτέρων δεν φαίνεται γενικά να παρουσιάζουν ειδικότητα στους ιστούς και ο βαθμός μόλυνσης (συμπαγής μόλυνση ενάντια διεσπαρμένης μόλυνσης) στους ίδιους ιστούς μπορεί να ποικίλλει ανάμεσα σε διάφορα είδη. Φωτομικροσκοπική επιθεώρηση αποκάλυψε μεγάλη αφθονία των σπόρων στην αιμόλεμφο του *H. axyridis*. Η μέση συγκέντρωση ήταν $6.45 \times 10^6 \pm 7.82 \times 10^5$ στο 4^ο προνυμφικό στάδιο και $13.34 \times 10^6 \pm 6.12 \times 10^6$ στα ενήλικα άτομα (η απόκλιση του μέσου όρου και του σταθερού του δείγματος που ελήφθη από 30 άτομα). Ανακαλύφθηκαν μικροσπορίδια του *H. axyridis* στα αιμοκύτταρα, στο λίπος του σώματος και στις ωοθήκες καθώς επίσης και στο συνδετικό ιστό που περιβάλλει το μέσο έντερο, τους γεννητικούς αδένες και τον μυϊκό ιστό (Γράφημα 2). Αυτά τα σημεία μόλυνσης δείχνουν μικρές διαφορές στην ευαισθησία ανάμεσα στα είδη των κοκκινελλίδων τον

υψηλό αριθμό σπόρων στην αιμόλεμφο του *H. axyridis*, οι σπόροι στους ιστούς εντοπίστηκαν σε σημεία και δεν υπήρξε καμία απόδειξη σοβαρής ζημιάς στους ιστούς ή στα όργανα.



Microscopic documentation of microsporidia infection in *Harmonia axyridis*. (A) Fresh ovoid spores in the hemolymph of adult *H. axyridis* collected in anticoagulant saline, scale bar = 20 μm . (B) Semithin section of hemolymph pellet reveals weakly stained primary spores (arrowheads) and intensely stained environmental spores, scale bar = 20 μm . (C) Scanning electron micrograph of spores with extruded polar filaments (white arrowheads) surrounding a hemocyte, scale bar = 5 μm . (D) Cross section through the abdomen of L2 instar larva reveals numerous densely stained environmental spores and weakly stained primary spores in the hemolymph and the hemocoel between the organs, scale bar = 20 μm . (E) Microsporidial spores (arrows) and presumptive sporoblasts (arrowheads) in the disintegrating fat body cells of adult beetles, scale bar = 20 μm . (F) Semithin section through the posterior glands of the female reproductive organ. Infected and partly disintegrating hemocytes (arrowheads) aggregate along the whole connective tissue sheath of the gland, scale bar = 20 μm . (G) Semithin section through the vitellarium of the *H. axyridis* ovary with spores in the peritoneal sheath surrounding the ovariole and few apparent sporoblasts in the ooplasm of young oocytes (arrowheads), scale bar = 20 μm . (H) Magnification of vitellarium. Environmental spores are distributed in the outer ovariole sheath (arrows) and apparent sporoblasts are found in small interstitial cells (arrowheads), scale bar = 20 μm . Key: c, cuticle; cs, connective tissue sheath; f, fat droplets; fb, fat body; g, gland; h, hemocoel; hc, hemocyte; oc, young oocytes; si, somatic interstitial cells. Further information on the material and methods used in this microscopic analysis can be found in the electronic supplement.

Γράφημα 2

Στα ενήλικα *H. axyridis*, σπόροι βρέθηκαν στον συνδετικό ιστό των θηκών που περιβάλλουν τους μύες και στο επιθήλιο του μεσέντερου, αλλά οι ιστοί από μόνοι τους στερούνται σπόρων και εκεί εμφανίσθηκε να μην υπάρχει επίπτωση στην κινητικότητα. Ωστόσο η 2^{ου} σταδίου προνύμφη (Γράφημα 2D) περιείχε πυκνά χρωματισμένα εγκλείσματα εντός των κυστιδίων στο άνω μέρος του επιθήλιου του μεσεντέρου, ενδεχομένως να αντιπροσωπεύουν σποροβλαστούς. Σε αντίθεση, η ενδοκυτταρική μόλυνση των μυϊκών ινών από μικροσπορίδια έχει καταγραφεί και σε άλλα έντομα και αυτό πιθανόν να θέσει σε κίνδυνο την κινητικότητά τους.

Η μικροσποριδιακή μόλυνση των ελεύθερα κυκλοφορούντων αιμοκυττάρων παρατηρήθηκε σπάνια στο *H. axyridis*, αλλά τα πλασμοκύτταρα συγκεντρώθηκαν μαζί κοντά στα νήματα του συνδετικού ιστού που κατά προτίμηση είχε μολυνθεί. Ο Laigo και ο Paschke περιέγραψαν αυτήν την διαδικασία σαν την μετατροπή των ελεύθερα κυκλοφορούντων αιμοκυττάρων σε καθιστικά κύτταρα κατά την διάρκεια της μόλυνσης, αποδεικνύοντας ότι ο εμβολιασμός με *Nosema* spp. μειώνει το ολικό ποσό των αιμοκυττάρων στον ξενιστή και μπορεί να τονώσει την ανάπτυξη του συνδετικού ιστού. Τοιουτοτρόπως, τα μικροσπορίδια μπορεί να στρατολογήσουν

αιμοκύτταρα ως όχημα για διασκορπισμό μέσα στα hemocoel. Τα πειράματα έδειξαν ότι αυτή είναι επίσης η περίπτωση για τα μικροσπορίδια στο *H. axyridis*. Παρατηρήθηκε επίσης μία περιορισμένη μόλυνση από το σωματικό λίπος σε προνύμφες και ενήλικα. Στην τελευταία περίπτωση, η μόλυνση περιορίστηκε σε μεμονωμένους λοβούς στους οποίους τα κύτταρα του σωματικού λίπους αποσυντέθηκαν και σταγόνες λίπους και κοκκίδια πρωτεϊνών διασκορπίστηκαν μέσα στην αιμόλεμφο. Η μόλυνση του σωματικού λίπους έχει παρατηρηθεί σε ορισμένες κοκκινελλίδες που περιέχουν μικροσπορίδια.

Η παρουσία μικροσποριδίων στους θηλυκούς γενετικούς ιστούς του *H. axyridis* υποδηλώνει την πιθανότητα της μετάδοσης από την μητέρα, η οποία είναι ευρέως διαδεδομένη ανάμεσα στα κολεόπτερα. Όλα τα στάδια της ζωής των μικροσποριδίων στο *H. axyridis* παρατηρήθηκαν στις θήκες των ωοθηκών, τους τροφικούς θαλάμους, στα θυλακοειδή κύτταρα, στα ωάρια και στα αυγά, αλλά η ωογένεση γενικά δεν επηρεάστηκε. Στις ωοθήκες των ενήλικων *H. axyridis*, τα σημεία μόλυνσης φάνηκαν να εμφανίζονται συγκεντρωμένα στον συνδετικό ιστό των περιτονιακών καλυμμάτων εγκλείοντας τον τροφικό θάλαμο και τα ωάρια. Μικροσπορίδια μόνο περιστασιακά σε τροφοκύτταρα και σε σωματικά κύτταρα του συνδετικού ιστού του τροφικού θαλάμου. Η διαδικασία της μόλυνσης μέσα στις ωοθήκες, μπορεί επομένως να συμβεί όπως αναφέρθηκε προηγουμένως: τα μικροσπορίδια μολύνουν τα ωάρια μέσω των θηκών των ωοθηκών και του θυλακοειδή επιθηλίου με εξώθηση του πολικού σωλήνα και στην συνέχεια να εκμεταλλευτούν τις ενδοκυτταρικές συνδέσεις μεταξύ των κυττάρων του ωοθυλακίου και των ωαρίων.

Τέλος πρέπει να γίνει αναφορά και στον τρίτο τρόπο που αμύνεται η πασχαλίτσα Αρλεκίνος, καθώς και κάποιους άλλους παράγοντες που την ευνόησαν. Ο τρίτος τρόπος που αμύνεται η Ασιατική πολύχρωμη

πασχαλίτσα είναι ένας χημικός τύπος ο οποίος ονομάζεται αρμονίνη. Δυστυχώς έχει μόνο ταυτοποιηθεί και δεν έχουν γίνει γνωστές όλες του οι ιδιότητες. Τα μόνα γνωστά για την αρμονίνη είναι ότι έχει αντιβακτηριδιακή και αντιπαρασιτική ιδιότητα και επομένως κάνει πιο ανθεκτική την πασχαλίτσα Αρλεκίνο. Μία μελέτη επιβεβαίωσε την παρουσία της αρμονίνης στα αυγά της πασχαλίτσας Αρλεκίνου και οι συγγραφείς αξίωσαν ότι συντίθεται για να προστατέψει τα αυγά από ενδοοικογενειακή θήρευση, αυτό διαπιστώθηκε όταν ένα μεγάλο ποσοστό ντόπιων πασχαλιτσών *C. septempunctata* παρουσίασε μεγάλη θνησιμότητα όταν τρέφονταν με αυγά της *H. axyridis*. Η αλκαλοειδής αρμονίνη βρέθηκε να αυξάνεται σε αφθονία καθώς το αυγό αναπτυσσόταν σε προνύμφη, φθάνοντας τα υψηλότερα επίπεδα στην αιμόλεμφο στα ενήλικα άτομα. Αυτή η ανακάλυψη ήταν ενδιαφέρουσα διότι οι ιδιότητες της αρμονίνης φαίνεται να συνδυάζονται άριστα με τα AMPs ή ακόμα και να συμπληρώνουν τα AMPs. Άλλη ιδιότητα που έχει η *H. axyridis* είναι η έκφραση αντιμυκητιακών βακτηρίων της οικογένειας των coleoptericsins τα οποία την καθιστούν πιο ανθεκτική στο εντομοπαθογόνο μύκητα *Beauveria bassiana*. Μέσα από μελέτες διαπιστώνεται, ότι διάφοροι αναπαραγωγικοί παράγοντες προάγουν με επιτυχία την χωροκατακτητικότητα του *H. axyridis*. Για παράδειγμα, τέτοιοι παράγοντες είναι, ότι τα αρσενικά άτομα του εντόμου αυτού έχουν μεγαλύτερη επιτυχία αναπαραγωγής όταν εισβάλουν σε νέους βιότοπους και τα θηλυκά αναπαράγονται γρηγορότερα και παράγουν περισσότερα αυγά. Ένας άλλος παράγοντας είναι το ευρύ φάσμα των θερμοκρασιών που επιτρέπει στο έντομο μεγάλες μεταναστεύσεις σε τόπους διαχείμασης.

3.4 Κίνδυνοι που μπορεί να προκαλέσει

Σε όλες τις χώρες που εισέβαλε η πασχαλίτσα Αρλεκίνος είχε ραγδαίο ρυθμό ανάπτυξης, γεγονός που έχει ως συνέπεια την απειλή της

βιοποικιλότητας μέσω της θήρευσης του σε μη ζημιογόνα είδη εντόμων. Ένας άλλος κίνδυνος είναι ότι επηρεάζει τον άνθρωπο άμεσα ή έμμεσα, καθώς και τις καλλιέργειες.

3.4.1 Κίνδυνοι για τον άνθρωπο

Οι κίνδυνοι για τον άνθρωπο είναι περισσότερο υλικές ζημιές, όπως η καταστροφή των εσωτερικών των τοίχων λόγω υπερπληθυσμού και διαχείμασης. Οι πασχαλίτσες αυτές έχει παρατηρηθεί, έντονα σε Αγγλία και ΗΠΑ, ότι εισβάλλουν και στα σπίτια από μικρές οπές στους τοίχους και πολλές φορές διαχειμάζουν εκεί μέσα με συνέπεια να τρώνε τα ξύλα ή να ανοίγουν τρύπες έτσι ώστε να χωρέσουν περισσότερα άτομα. Ένας άλλος κίνδυνος είναι ότι έχει παρατηρηθεί παρουσία του εντόμου αυτού να προκαλείται αλλεργική ρινίτιδα στους ανθρώπους.

3.4.2 Κίνδυνοι για τις καλλιέργειες

Εκτός από τους κινδύνους στον άνθρωπο και στο περιβάλλον, η πασχαλίτσα Αρλεκίνος μπορεί να προκαλέσει και διάφορες ζημιές στις καλλιέργειες. Έχει παρατηρηθεί στην Αμερική ότι προκαλεί προβλήματα στην παραγωγή και στην επεξεργασία των μήλων, των αχλαδιών και των σταφυλιών καθώς κατά τους φθινοπωρινούς μήνες σε κάποιες περιοχές τρέφεται με χυμούς ώριμων φρούτων.

4. Συμπεράσματα

Μπορούμε να ξεχωρίσουμε εύκολα την *H. axyridis* ανάμεσα σε όλα τα είδη της οικογένειας των κοκκινελλίδων λόγω του μεγέθους της, του σχήματος «Μ» στο πρόνωτο και λόγω της ποικιλοχρωμίας της. Είναι γνωστό πως είναι από τους πιο επιτυχημένους εισβολείς και έχει εισβάλλει σχεδόν σε κάθε γωνιά του πλανήτη. Μπορεί να προκαλέσει υλικές ζημιές και προβλήματα υγείας στους ανθρώπους, καθώς και προβλήματα στις καλλιέργειες. Τέλος, οι άμυνες που διαθέτει αυτό το έντομο είναι ιδιαίτερες και πολύ ενδιαφέρουσες αφού συνδυάζονται και οι τρεις βασικές της άμυνες αρμονικά, όπως αναφέρει και το όνομά της.

5.Βιβλιογραφία

1. BrownPMJ, AdriaensT, BathonH, CuppenJ, GoldarazenaA, HäggT, KenisM, KlausnitzerBEM, KovářI, LoomansAJM, MajerusMEN, NedvedO, PedersenJ, RabitschW, RoyHE, TernoisV, ZakharovIA, RoyDB (2008a). *Harmonia axyridis* in Europe: spread and distribution of a non-native coccinellid. *BioControl*: 53: 5-21.
2. Brown PMJ. , Roy HE, Rothery P, Roy DB, Ware RL & Majerus MEN (2008b). *Harmonia axyridis* in Great Britain: analysis of the spread and distribution of a non-native coccinellid. *BioControl*: 53: 55-68.
3. Chapin JB,Brou VA (1991). *Harmonia axyridis* (Pallas), the 3rd species of the genus to be found in the United States (Coleoptera, Coccinellidae). *Proc EntomolSoc Wash* 93: 630–635.
4. Goetz DW (2008). *Harmonia axyridis* ladybug invasion and allergy. *Allergysthma Proc.* 29(2): 123-129.
5. Gordon RD (1985). The Coleoptera (Coccinellidae) of America north of Mexico. *J N Y EntomolSoc* 93: 1–912.
6. Iablokoff -Khnzorian SM (1982). Les Coccinelles; Coleoptères-Coccinellidae.Société Nouvelle des Editions Boubée, Paris, 568 pp.
7. Katsoyannos P, Kontodimas DC, Stathas GJ, Tsartsalis, CT (1997). Establishment of *Harmonia axyridis* on citrus and some data on its phenology in Greece.*Phytoparasitica* 25: 183-191.
8. Koch RL (2003) Themulticoloured Asian lady beetle, *Harmoniaaxyridis*: a review of its biology, uses in biological control and non-target impacts. *J Insect Sci* 3: 32.
9. Kontodimas DC, Stathas GJ, Martinou AF.(2008). Status of the aphidophagous predator *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae) in Greece. *Eur. J. Entomol.* (inpress).
10. Koyama SZ,Majerus MEN (2008).Interactions between the parasitoid wasp *Dinocampuscoccinellae* and two species of coccinellid from Japan and Britain. *BioControl* 53: 253–264.

11. Lucas E, Labrie G, Vincent C, Kovach J (2007). The multicolored Asian ladybeetle, *Harmonia axyridis* – beneficial or nuisance organism? In: Vincent C, Goettel M, Lazarovitz G (eds) Biological control: a global perspective. CABI Publishing, UK.
12. Majerus MEN, Roy HE (2005). Scientific opportunities presented by the arrival of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*, in Britain. *Antenna* 29: 196–208.
13. Majerus MEN, Mabbott P, Rowland F, Roy HE (2006a). The harlequin ladybird, *Harmonia axyridis*, arrives in Britain. *Entomol. Mon. Mag.* 142:87–92.
14. Majerus M, Strawson V, Roy H (2006b). The potential impacts of the arrival of the harlequin ladybird, *Harmonia axyridis* (Pallas) (Coleoptera: Coccinellidae), in Britain. *Ecol. Entomol.* 31: 207–215.
15. Pell JK, Baverstock J, Roy HE, Ware RL, Majerus MEN (2008). Intraguild predation involving *Harmonia axyridis*: a review of current knowledge and future perspectives. *BioControl* 53: 147-168.
16. Roy HE, Brown P, Majerus MEN (2006). *Harmonia axyridis*: a successful biocontrol agent or an invasive threat? In: Eilenberg J, Hokkanen H (eds) An ecological and societal approach to biological control. Kluwer, The Netherlands.
17. Snyder WE, Evans EW (2006). Ecological effects of invasive arthropod generalist predators. *Ann Rev EcolEvolSyst* 37: 95–122.
18. Ware RL, Majerus MEN (2008). Intraguild predation of immature stages of British and Japanese coccinellids by the invasive ladybird *Harmonia axyridis*. *BioControl* 53: 169-188
19. Aksyutova, L.N. and Gul'dyaeva, T.I. (1977) [Insect enemies of orchard pests in the Amur region.] *Zashch. Rast.* 5: 26 [in Russian].
20. Dong, Y.G. (1988) [Trials on the control of *Aphis gossypii* Glover with *Coccinella axyridis* (Pallas)] *Zhejiang Agric. Sci.* 3: 135-139 [in Chinese].

21. Fan, Y.H. and Yang, S.Y. (1983) Occurrence of *Leis axyridis* (Pallas) (Col.: Coccinellidae). Nat.Enemies Insects KunchongTiandi 5: 94-96. [Rev. Appl. Entomol. (1984) 72: 319]
22. Gao, J.F. (1990) [Survey for the natural enemies of soybean aphids in Tonghua.] Chin. J. Biol.Control 6: 90 [in Chinese].
23. Garcia, V. (1986) Approaches to integrated control of some citrus pests in the Azores and Algarve (Portugal). in: Cavalloro, R. and Martino, E.D. [Eds.] Integrated Pest Control in Citrus Groves. Proc. CEC Experts' Meeting (Acireale, Italy), pp. 557-559.
24. Katsoyannos, P. (1993) IPM for citrus insect pests in northern Mediterranean countries. FAO Plant Prot. Bull. 41: 177-197.
25. Katsoyannos, P. and Stathas, G.J. (1991) [*Dysaphiscrataegi* (Homoptera, Aphidoidea, Aphididae) as a suitable prey for coccinellid predators in insectary rearings.] Proc. 4th Panhellenic Congress of Entomology Volos, Greece), [in Greek].
26. Koval, Yu.V. , Zderchuk, I.S. and Voronin, K.E. (1973) [Physiological and biochemical factors, favouring acclimatisation of the Far Eastern Harmoniacoccinellid *Leis axyridis* Pall. in Soviet Bukovina.] Tr. Vses. Nauchno-issled. Inst. Zashch. Rast. 36: 33-42 [in Russian].
27. McClure, M.S. (1987) Potential of the Asian predator, *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae), to control *Matsucoccus resinosae* Bean and Godwin (Homoptera: Margarodidae) in the United States. Environ. Entomol. 16: 224-230.
28. Obata, S. and Johki, Y. (1990) Distribution and behaviour of adult ladybird *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera, Coccinellidae), around aphid colonies. Jpn. J. Entomol. 58: 839-845.
29. Περιοδικό «ΓΕΩΡΓΙΑ ΚΤΗΝΟΤΡΟΦΙΑ» Τεύχος 7^ο/2008 Σεπτέμβριος Άρθρο «Η απειλητική πασχαλίτσα αρλεκίνος» σελ. 34-37.
30. Πρακτικά 8^{ου} Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου Χαλκίδα, 2-5 Νοεμβρίου 1999, Σελ. 56 Αναπαραγωγική δραστηριότητα του αρπακτικού εντόμου *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae) Γ.Ι. Σταθάς, Ι. Γιαννόπουλος και Δ.Χ. Κοντοδήμας

31. 14ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ναύπλιο, 11-14 Οκτωβρίου 2011, Σελ. 304 Κατανάλωση αφίδων *Dysaphis crataegi*(Hemiptera: Aphididae) από τις προνύμφες του αρπακτικού εντόμου *Harmonia axyridis*(Coleoptera: Coccinellidae) , Γ.Ι. Σταθάς, Δ.Χ. Κοντοδήμας και Π.Α. Ηλιόπουλος

6. Πηγές

1. https://en.wikipedia.org/wiki/Harmonia_axyridis
2. <http://ento.psu.edu/extension/factsheets/multicolored-asian-lady-beetle>
3. https://www.google.gr/search?q=Harmonia+axyridis&biw=1366&bih=681&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ei=m010VP_ZNsHpaNyOgYAE&ved=0CCwQsAQ
4. <http://www2.ca.uky.edu/entomology/entfacts/ef416.asp>
5. <http://www.pubfacts.com/detail/25120181/Characterization-and-analysis-of-structural-isomers-of-dimethyl-methoxypyrazines-in-cork-stoppers-an>
6. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1744-7917.12159/pdf>
7. <http://www.sciencedaily.com/releases/2013/05/130516142541.htm>
8. https://www.researchgate.net/publication/269189947_Two_c-type_lysozymes_boost_the_innate_immune_system_of_the_invasive_ladybird_Harmonia_axyridis
9. <https://www.researchgate.net>

