

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ
ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ

**Μελέτη της διάπαυσης ορεινών και πεδινών πληθυσμών της
μύγας των κερασιών, *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera:
Tephritidae).**

Στέλλα Α. Παπαναστασίου
Γεωπόνος

Μεταπτυχιακή Διατριβή

Βόλος 2007

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες	3
Περίληψη	4
Summary	7
1. Γενική Εισαγωγή	9
1.1. Συστηματική κατάταξη του <i>Rhagoletis cerasi</i>	9
1.2. Γεωγραφική εξάπλωση	9
1.3. Ξενιστές	11
1.4. Μορφολογία	11
1.5. Βιολογία και συμπεριφορά	15
1.6. Σημασία του <i>R. cerasi</i> για την Ελλάδα	18
1.7. Αντιμετώπιση του <i>R. cerasi</i>	21
1.8. Διάπαυση	23
1.8.1. Περιβαλλοντική προσαρμογή και εποχική αδράνεια	23
1.8.2. Διάκριση διάπαυσης και quiescence	24
1.8.3. Είδη και στάδια διάπαυσης	25
1.8.4. Διάπαυση στο <i>Rhagoletis cerasi</i>	26
1.9. Ρύθμιση των ενεργειακών αποθεμάτων	27
1.10. Σκοπός της μεταπτυχιακής διατριβής	28
2. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι	29
2.1. Περιοχές έρευνας	29
2.2. Συνθήκες εργαστηρίου	34
2.3. Συλλογή νυμφών	34
3. Φαινολογία Ενηλίκων και Περάτωση της Διάπαυσης στις Περιοχές Δάφνης Κοζάνης και Καλών Νερών Μαγνησίας	36
3.1. Εισαγωγή	36
3.2. Υλικά και Μέθοδοι	36
3.2.1. Φαινολογία	36
3.2.2. Περάτωση διάπαυσης στο ύπαιθρο	38

3.2.3.	Περάτωση διάπαυσης στο εργαστήριο	39
3.3.	Αποτελέσματα	41
3.3.1.	Φαινολογία.....	41
3.3.2.	Περάτωση διάπαυσης στο ύπαιθρο.....	49
3.3.3.	Περάτωση διάπαυσης στο εργαστήριο	61
3.4.	Συζήτηση.....	73
4.	Μεταβολή των Ενεργειακών Αποθεμάτων Νυμφών	75
4.1.	Εισαγωγή	75
4.2.	Υλικά και μέθοδοι	76
4.2.1.	Πείραμα στο ύπαιθρο	77
4.2.2.	Πείραμα στο εργαστήριο.....	77
4.3.	Βιοχημική ανάλυση.....	77
4.3.1.	Προσδιορισμός λιπιδίων – γλυκογόνου – υδατανθράκων	78
4.3.2.	Προσδιορισμός πρωτεϊνών.....	80
4.4.	Αποτελέσματα	80
4.4.1.	Μεταβολή ενεργειακών αποθεμάτων σε συνθήκες υπαίθρου.....	80
4.4.2.	Μεταβολή των ενεργειακών αποθεμάτων σε συνθήκες εργαστηρίου 85	
4.5.	Συζήτηση.....	90
5.	Συμπεράσματα και συζήτηση	91
	Βιβλιογραφία.....	95

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή της μεταπτυχιακής μου διατριβής κ. Ν. Θ. Παπαδόπουλο για την επιλογή του θέματος, τις πολύτιμες συμβουλές κατά την εκτέλεση των πειραμάτων και για τις διαφωτιστικές υποδείξεις και διορθώσεις στη συγγραφή του κειμένου της διατριβής.

Οφείλω ακόμα να ευχαριστήσω τους καθηγητές κ. Β. Ι. Κατσόγιαννο και κ. Δ. Κ. Σταμόπουλο για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες οφείλω στον καθηγητή κ. Β. Ι. Κατσόγιαννο για τη βοήθεια στη συμπλήρωση της βιβλιογραφίας του *R. cerasi* και στους μετεωρολόγους της αεροπορικής βάσης Αγχιάλου και του αεροδρομίου Καστοριάς για την παραχώρηση μετεωρολογικών στοιχείων.

Επίσης, ευχαριστώ την ομάδα του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π. Θ. και ιδιαίτερα τον υποψήφιο διδάκτορα κ. Αλ. Διαμαντίδη και το γεωπόνο, επιστημονικό συνεργάτη κ. Σπύρο Ανδρέου για τη βοήθεια και τις χρήσιμες υποδείξεις που μου προσέφεραν κατά την εκτέλεση των πειραμάτων και τη συγγραφή του κειμένου, καθώς και τη Μ. Γιαννάκου για την ηθική συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια των εργασιών μου.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, την αδερφή μου και τους φίλους μου για τη διαρκή στήριξη κατά τη διάρκεια των σπουδών μου.

Περίληψη

Τα έτη 2005 και 2006 μελετήθηκε η φαινολογία, η περάτωση της διάπαυσης και η ρύθμιση των ενεργειακών αποθεμάτων σε έναν ορεινό και έναν πεδινό πληθυσμό της μύγας των κερασιών *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera: Tephritidae). Οι δύο πληθυσμοί προέρχονταν από τη Δάφνη Κοζάνης (1050 m υψόμετρο, βορειοδυτική ηπειρωτική Ελλάδα) και από τα Καλά Νερά Μαγνησίας (20 m υψόμετρο, παραθαλάσσια περιοχή, κεντρική Ελλάδα). Οι παραπάνω περιοχές απέχουν περίπου 300 km και διαφέρουν αρκετά ως προς τις κλιματικές συνθήκες. Η παρακολούθηση της πτήσης των ενηλίκων στις δύο παραπάνω περιοχές, τη διετία 2005 – 2006, πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια κίτρινων κολλητικών παγίδων. Νύμφες των δύο πληθυσμών, που συλλέχθηκαν από προσβεβλημένα, στη φύση, κεράσια (συλλογή κερασιών τέλος Μαΐου – αρχές Ιουλίου), εκτέθηκαν τόσο στην ορεινή όσο και στην πεδινή περιοχή. Για τη μελέτη της περάτωσης της διάπαυσης κάθε 15 ημέρες δείγμα 50 νυμφών από τον κάθε πληθυσμό μεταφερόταν στο εργαστήριο και παρέμεινε στους 25 °C μέχρι την έξοδο των ενηλίκων. Η περάτωση της διάπαυσης καθορίστηκε από τον αριθμό των εξερχόμενων ενηλίκων. Οι μεταβολές των ενεργειακών αποθεμάτων κατά τη μακρά περίοδο του νυμφικού σταδίου μελετήθηκαν στις παραπάνω δύο περιοχές και στο εργαστήριο με μετρήσεις της περιεκτικότητας των νυμφών (δείγματα 30 νυμφών μεταφέρονταν στο εργαστήριο κάθε μήνα) σε λιπίδια, πρωτεΐνες, σάκχαρα και γλυκογόνο.

Η πτήση των ενηλίκων διήρκησε περίπου 1,5 μήνα και στις δύο περιοχές, από τα τέλη Απριλίου έως τις αρχές Ιουνίου στην πεδινή περιοχή και από τις αρχές Ιουνίου έως τα μέσα Ιουλίου στην ορεινή περιοχή. Το μέγιστο των συλλήψεων σημειώθηκε στα μέσα Μαΐου για τον πεδινό πληθυσμό και στα τέλη Ιουνίου για τον ορεινό πληθυσμό.

Ο πεδινός πληθυσμός περάτωσε τη διάπαυση στο τέλος Φεβρουαρίου στην πεδινή περιοχή και στα μέσα Δεκεμβρίου στην ορεινή περιοχή. Αντίστοιχα, ο ορεινός πληθυσμός περάτωσε τη διάπαυση στο τέλος Ιανουαρίου στην ορεινή περιοχή, ενώ δεν κατάφερε να περατώσει τη διάπαυση στην πεδινή περιοχή (ποσοστό εξόδου ενηλίκων 40% από δείγματα

που μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο στα μέσα Απριλίου). Φαίνεται πως οι απαιτήσεις του ορεινού πληθυσμού σε χαμηλές θερμοκρασίες για την περάτωση της διάπαυσης δεν ικανοποιούνται στις πεδινές περιοχές. Αντίθετα ο πεδινός πληθυσμός περατώνει νωρίτερα τη διάπαυση στην ορεινή περιοχή ικανοποιώντας τις ανάγκες του σε χαμηλές θερμοκρασίες σε μικρότερο χρονικό διάστημα. Συνεπώς, όσο χαμηλότερη η θερμοκρασία και μακρύτερη η διάρκεια των χαμηλών θερμοκρασιών τόσο μικρότερο το διάστημα για την περάτωση της διάπαυσης. Επιπλέον, τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν πως η ένταση της διάπαυσης διαφέρει μεταξύ των δύο πληθυσμών, καταδεικνύοντας (α) την υψηλή προσαρμογή των πληθυσμών στις τοπικές συνθήκες που έχει ως στόχο το συγχρονισμό της εξόδου των ενηλίκων με την ωρίμανση των κερασιών και (β) πιθανή «χρονική» ασυμβατότητα που ίσως να δείχνει αδυναμία ροής γονιδίων μεταξύ των δύο πληθυσμών και συνεπώς ενδεχόμενη αφετηρία αλλοπάτριας ειδογένεσης. Η κατανόηση των θερμοκρασιακών απαιτήσεων των νυμφών για την περάτωση της διάπαυσης μπορεί να αξιοποιηθεί σε προσπάθειες για την αποτελεσματικότερη εκτροφή του *R. cerasi* στο εργαστήριο και συνεπώς στην υιοθέτηση συστημάτων αντιμετώπισης που βασίζονται στην μαζική εκτροφή εντόμων.

Στη μακρά περίοδο του νυμφικού σταδίου (χαρακτηρίζεται ως κλειστό σύστημα από ενεργειακής πλευράς) του *R. cerasi* πραγματοποιούνται διάφορες φυσιολογικές διεργασίες (περάτωση της διάπαυσης, μεταδιαπαυτική εξέλιξη και μεταμόρφωση), που απαιτούν μεταβολή της αποθηκευμένης ενέργειας (λιπίδια, πρωτεΐνες) σε άμεσα καταναλώσιμες μορφές ενέργειας (σάκχαρα, γλυκογόνο). Από τα αποτελέσματά μας προκύπτει πως (α) κατά τη μακρά περίοδο του νυμφικού σταδίου δεν παρατηρήθηκαν μεγάλες απώλειες ενέργειας σε κανέναν από τους δύο πληθυσμούς στις αντίστοιχες τοπικές συνθήκες, (β) παρατηρήθηκε σταδιακή μείωση της περιεκτικότητας των νυμφών σε λιπίδια με αντίστοιχη αύξηση της περιεκτικότητάς τους σε πρωτεΐνη, (γ) οι ποσότητες σε γλυκογόνο και σάκχαρα παρέμειναν σχετικά σταθερές, με έντονες αυξομειώσεις 2 – 3 εβδομάδες πριν την έξοδο των ενηλίκων. Η σταδιακή μετατροπή της αποθηκευμένης ενέργειας από τα λιπίδια σε αναγκαίες για τη μορφογένεση πρωτεΐνες καθώς και οι απότομες μεταβολές στο γλυκογόνο και στα σάκχαρα πιθανόν να συνδέονται με την περάτωση της διάπαυσης και την είσοδο του εντόμου στη περίοδο της

μεταδιαπαιτικής εξέλιξης που χαρακτηρίζεται από εντονότερη μεταβολική δραστηριότητα. Η περαιτέρω μελέτη της μεταβολής των ενεργειακών αποθεμάτων των νυμφών του *R. cerasi*, ιδιαίτερα στο μεταδιαπαιτικό στάδιο, και η συσχέτισή της με την ένταση της διάπαισης, μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες για την πρόβλεψη της εμφάνισης των ενηλίκων σε φυσικές συνθήκες.

Diapause of a highland and a coastal population of the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera: Tephritidae)

Summary

Adult phenology, diapause termination and the regulation of energetic reserves of *Rhagoletis cerasi* pupae were studied during 2005 and 2006 in a highland and a coastal population of Greece. The highland population originated from Dafni Kozanis (northwest mainland Greece; 1050 m altitude, absolute minimum temperature -17.6 °C, absolute maximum temperature 37 °C), and the coastal population from Kala Nera Magnisias (central Greece; 20 m altitude, absolute minimum temperature -6.6 °C, absolute maximum temperature 37.8 °C coastal area). The climate of the highland area is characterized by fresh, dry summers and cold winters with temperatures often falling below 0 °C. On the contrary, the climate of the coastal area is characterized by warm and dry summers followed by mild and wet winters with temperatures scarcely reaching the freezing point.

In order to record adult population dynamics we used yellow, sticky Rebell traps. The pupae used in this experiment were obtained from field infested cherries that had been collected during May, June, and July and were exposed to both the highland and the coastal area. In order to study the diapause termination a sample of 50 pupae was transferred to the laboratory every 15 days and maintained at 25 °C until the emergence of all adults. Diapause termination was determined by the number of emerging adults. The regulation of the energetic reserves during pupal stage was studied by measuring the level of lipids, proteins, sugars and glycogen in pupae of both populations (a sample of 20 pupae was transferred every month to the laboratory).

Adult flight lasted approximately 1.5 months in both areas, from the end of April to the beginning of June in the coastal area and from the beginning of June to the middle of July in the highland area. The pick of flight was recorded in the middle of May for the coastal population whilst at the end of June for the highland population.

The coastal population terminated diapause at the end of February in the local conditions and in the middle of December in the highland area. The highland population terminated diapause at the end of January in the local conditions, but failed to terminate diapause in the coastal area (only 40% of pupae gave adults in the middle of April). Apparently, the highland population demands for low temperatures are not satisfied in the coastal area. On the other hand, the coastal population terminates diapause sooner in the highland. Hence, the lower the prevailing temperatures and the longer the cold period, the faster the diapause termination. Our results suggest that the two populations differ in diapause intensity indicating a) a strong adaptation of each population to the local conditions, and b) a possible “temporal” incompatibility between the two populations, which may indicate progression of an allopatric speciation. A better understanding of diapause termination could lead to a more efficient rearing of *R. cerasi* in the laboratory opening up possibilities for establishing mass rearing and Sterile Insect Release Technology for the management of this pest.

During the long period of the pupal stage of *R. cerasi* a number of physiological processes take place, which require the transformation of “stored energy” (lipids, proteins) to energy forms that can be readily used (sugars, glycogen). Our results reveal a) similar trends in energetic reserves between the two populations (b) no substantial energy loss during the long pupal stage, c) a gradual decrease of the lipid quantity and a simultaneous increase of the protein quantity d) the quantities of glycogen and sugars remained rather stable, with fluctuations 2-3 weeks before adult’s emergence. Changes on the energetic reserves of pupae may indicate important physiological phases of the pupae such as diapause termination. The importance of our findings to predict adult emergence and to better understand the pupae physiology in *R. cerasi* is discussed.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. Γενική Εισαγωγή

1.1. Συστηματική κατάταξη του *Rhagoletis cerasi*

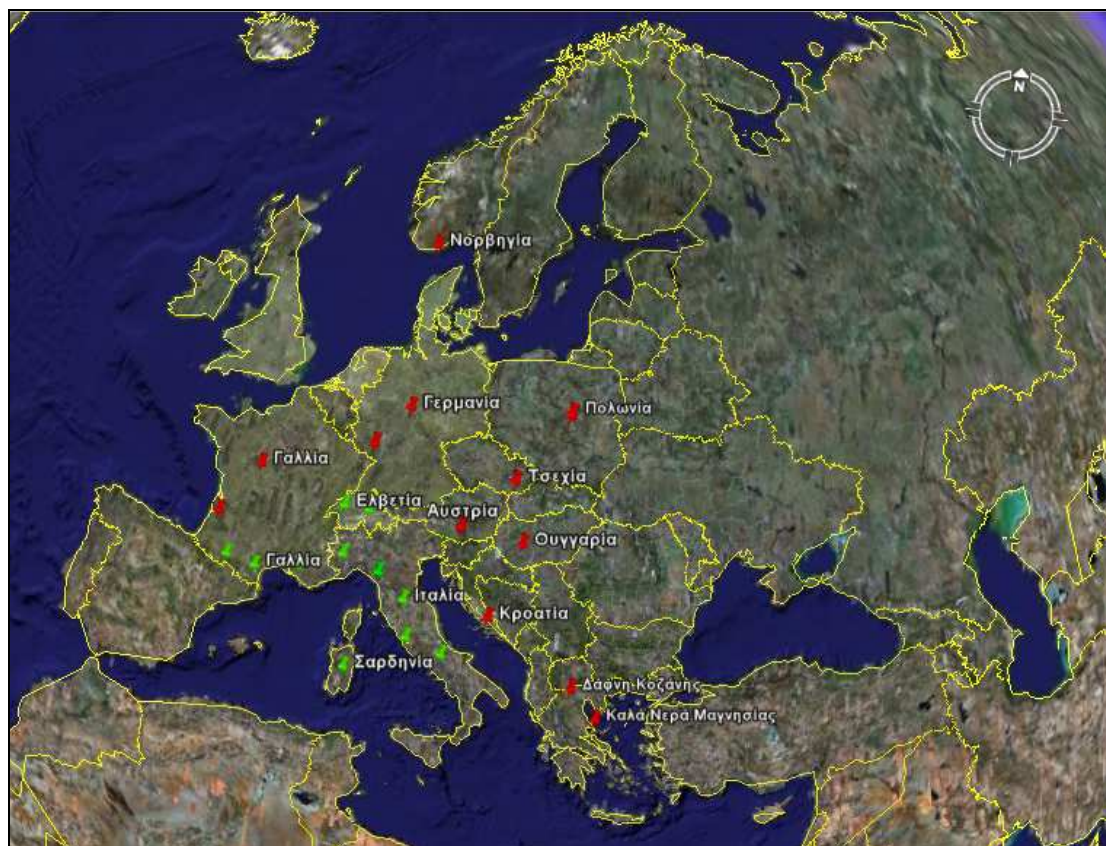
Η μύγα των κερασιών, *Rhagoletis cerasi* L. είναι ένα από τα 65 περίπου είδη που ανήκουν στο γένος *Rhagoletis* της οικογένειας Tephritidae, της τάξης Diptera (White and Elson-Harris 1992). Είδη του γένους *Rhagoletis* συναντώνται στην Αμερικανική Ήπειρο, στην Ευρώπη και στις εύκρατες περιοχές της Ασίας (White and Elson-Harris 1992). Τα περισσότερα είδη *Rhagoletis* είναι στενοφάγα και προσβάλλουν τους καρπούς ορισμένων στενά συγγενικών ειδών φυτών, σε αντίθεση με άλλα σημαντικά γένη της οικογένειας Tephritidae όπως τα γένη *Anastrepha*, *Bactrocera*, *Ceratitis* και *Dacus* που προσβάλλουν πλήθος ξενιστών (White and Elson-Harris 1992). Στο παρελθόν το *R. cerasi* αναφερόταν και ως *Musca cerasi* (Linnaeus), *R. cerasorum* (Dufour), *R. liturata* (Robineau- Desvoidy), *R. signata* (Meigen), *Trypeta signata* (Meigen), *Urophora cerasorum* (Dufour) και *U. liturata* (Robineau- Desvoidy). Επίσης, σύμφωνα με τους White και Elson-Harris (1992) υπάρχουν βιότυποι και υποείδη όπως τα *R. cerasi fasciata* Rohdendorf, *R. cerasi nigripes* Rohdendorf και *R. cerasi obsoleta* Hering που δύσκολα διαχωρίζονται.

1.2. Γεωγραφική εξάπλωση

Όπως φαίνεται στην Εικόνα 1 το *R. cerasi* απαντάται σε όλη την Ευρωπαϊκή ήπειρο, από τις σκανδιναβικές ακτές έως τις χώρες της Μεσογείου και από τον Ατλαντικό ωκεανό έως τα Βαλκάνια. Από πολύ νωρίς διαπιστώθηκε κυτταροπλασματική ασυμβατότητα μεταξύ πληθυσμών της μύγας των κερασιών (Boller et al. 1976, Matolin 1976) και αυτό οδήγησε στη διάκριση δύο φυλών (βόρεια και νότια) (White and Elson-Harris 1992). Νεότερες έρευνες έδειξαν πως η κυτταροπλασματική ασυμβατότητα που εκδηλώνεται στο *R. cerasi* οφείλεται στη *Wolbachia* (α – υποομάδα, μητρικά κληρονομούμενων πρωτεοβακτηρίων) που προκαλεί αναπαραγωγικές

ανωμαλίες στον εκάστοτε ξενιστή (Riegler and Stauffer 2002). Μέχρι στιγμής έχει βρεθεί πως το *R. cerasi* είναι μολυσμένο με δύο στελέχη της *Wolbachia* (*wCer1* και *wCer2*) ενώ υπάρχουν πληθυσμοί ταυτόχρονα μολυσμένοι και με τα δύο παραπάνω στελέχη (*wCer1+2*). Η γεωγραφική εξάπλωση του *wCer1* στέλεχος της *Wolbachia* αφορά πληθυσμούς της κεντρικής και βόρειας Ευρώπης (βόρεια φυλή) ενώ το στέλεχος *wCer1+2* βρέθηκε σε πληθυσμούς της κεντρικής και νότιας Ευρώπης (νότια φυλή) (Εικόνα 1).

Κυτταροπλασματική – αναπαραγωγική ασυμβατότητα παρατηρήθηκε ανάμεσα σε αρσενικά άτομα της νότιας φυλής (*wCer1+2*) και σε θηλυκά άτομα της βόρειας φυλής (*wCer1*) (Riegler and Stauffer 2002). Η αναπαραγωγική ασυμβατότητα μεταξύ της νότιας και της βόρειας φυλής προτάθηκε για τον έλεγχο του *R. cerasi* στην Κρήτη (Neuenschwander et al. 1983). Ο πληθυσμός της Κρήτης πιθανόν να εισήχθη στο νησί με κεράσια από τη βόρεια Ελλάδα και είναι προσβεβλημένος με το στέλεχος *wCer1* της *Wolbachia*. Εξαπόλυση αρσενικών ατόμων προσβεβλημένων με το στέλεχος *wCer1+2* θα είχε σαν συνέπεια την αδυναμία παραγωγής απογόνων.



Εικόνα 1: Γεωγραφική εξάπλωση της βόρειας και της νότιας φυλής του *R. cerasi* (φωτ. <http://earth.google.com/>).

1.3. Ξενιστές

Το *R. cerasi* είναι είδος εξαιρετικά oligοφάγο. Προσβάλλει τους καρπούς της κερασιάς, *Prunus avium* L. και σπανιότερα τους καρπούς της βυσσινιάς *Prunus cerasus* L. Προσβολές έχουν παρατηρηθεί και σε αυτοφυή ή καλλωπιστικά είδη του γένους *Lonicera* της οικογένειας Caprifoliaceae και ιδιαίτερα στα είδη *L. xylosteum* L. και *L. tartarica* L. που όμως σπάνια συναντώνται στη χώρα μας (Τζανακάκης and Κατσόγιαννος 2003). Ωστόσο, εξαιτίας των διαφορών στη φαινολογία που παρουσιάζουν οι πληθυσμοί που προσβάλλουν φυτά του γένους *Prunus* με αυτούς που προσβάλλουν φυτά του γένους *Lonicera* είναι πιθανό να πρόκειται για δύο διαφορετικές φυλές ή ακόμα και για δύο διαφορετικά είδη (White και Elson-Harris, 1992 από Haisch και Chwala, 1979). Την υπόθεση αυτή ενισχύουν νεότερες μελέτες που αποδεικνύουν τάσεις συμπάτριας ειδογένεσης, μέσω επιλογής διαφορετικού ξενιστή, στο συγγενές είδος *Rhagoletis pomonella* (Linn et al. 2003, Linn et al. 2004, Linn et al. 2005). Οι οικολογικές ομοιότητες που εμφανίζουν το *R. cerasi* και το *R. pomonella* (δύο ξενιστές, προσαρμογή της φαινολογίας και της συμπεριφοράς στον κάθε ξενιστή) αυξάνουν τις πιθανότητες εκδήλωσης του φαινομένου ειδογένεσης και στη μύγα των κερασιών (Schwarz et al. 2003). Επιπλέον, το *R. cerasi* προσβάλλει και τα είδη *Prunus serotina* και *P. mahaleb* ενώ ορισμένα άγρια είδη κερασιάς (*Prunus spp.*) λειτουργούν σαν καταφύγια, για τους πληθυσμούς του (White και Elson-Harris, 1992 από Hendel, 1927, Seguy, 1934 και Thiem, 1934).

Το *R. cerasi* αποτελεί το σημαντικότερο εχθρό των κερασιών τόσο στη χώρα μας όσο και σε άλλες χώρες της Ευρώπης (Fimiani 1989), καθώς επίσης και τον μοναδικό εχθρό της οικογένειας Tephritidae στην κεντρική και βόρεια Ευρώπη (White and Elson-Harris 1992). Βέβαια, τα τελευταία έτη έχει διαπιστωθεί η παρουσία του *R. completa* και του *R. singulata*, δύο Αμερικανικών ειδών σε χώρες της Ευρώπης, χωρίς ωστόσο να έχει μελετηθεί, μέχρι στιγμής, η σημασία τους για τις καλλιέργειες (Vogt 2007).

1.4. Μορφολογία

Το ενήλικο (Εικόνα 2), σύμφωνα με τους Τζανακάκη και Κατσόγιαννο (2003) έχει μήκος 4-5 mm, χρώμα σώματος μαύρο λαμπερό και με το

πρόσθιο τμήμα της κεφαλής καθώς και τις κεραίες κίτρινα ή κιτρινωπά. Το scutellum έχει έντονο κίτρινο χρώμα ενώ οι πτέρυγες φέρουν 4 μαύρες ζώνες σε χαρακτηριστική διάταξη. Οι 3 από αυτές εκτείνονται εγκάρσια στην πτέρυγα ενώ η τέταρτη καλύπτει, κατά μήκος, την κορυφή της πτέρυγας και ενώνεται με την τρίτη ζώνη σχηματίζοντας σχεδόν ορθή γωνία με αυτή. Στην πρόσθια παραυφή της πτέρυγας υπάρχει συνήθως μια μικρή μαύρη κηλίδα ανάμεσα στην δεύτερη και τρίτη εγκάρσια ζώνη (Τζανακάκης and Κατσόγιαννος 2003). Τα αρσενικά είναι μικρότερα από τα θηλυκά στα οποία και διακρίνεται ευκρινώς ο ωοθέτης.

Το αυγό έχει μήκος 0,5 mm, είναι λευκό, στενόμακρο, ελλειψοειδές και ελαφρώς κυρτό, ενώ η προνύμφη (Εικόνα 3) έχει μήκος από 0,6 mm (νεαρή) έως 6 mm (πλήρως ανεπτυγμένη), πλάτος 1.5 mm και χρώμα λευκό ή υπόλευκο. Είναι ακέφαλη και άποδη όπως είναι όλες οι προνύμφες της οικογένειας Terphritidae με το πρόσθιο τμήμα του σώματος στενότερο από το εδραίο. Η νύμφη (Εικόνα 4) περιβάλλεται από νυμφικό περίβλημα (pupaarium) μήκους 4 mm και διαμέτρου 2 mm, κιτρινωπού έως ανοιχτού καστανού χρώματος, ελλειψοειδούς σχήματος με έμφαση στις μεσοδακτύλιες γραμμές (Τζανακάκης and Κατσόγιαννος 2003).



Εικόνα 2: Ενήλικο θηλυκό του *R. cerasi*. Διακρίνεται το κίτρινο- πορτοκαλί scutellum, οι χαρακτηριστικές μαύρες ζώνες των πτερύγων και ο ωσθέτης.



Εικόνα 3: α) Καρποί κερασιών προσβεβλημένοι από προνύμφες *R. cerasi*. Διακρίνεται μια προνύμφη σε κάθε καρπό, β) Προνύμφη εντός του καρπού σε μεγέθυνση (φωτ. Ν. Θ. Παπαδόπουλος).



Εικόνα 4: Νύμφες του *Rhagoletis cerasi*.

1.5. Βιολογία και συμπεριφορά

Η μύγα των κερασιών είναι μονοκυκλικό έντομο και διαχειμάζει ως νύμφη μέσα στο έδαφος. Η έξοδος των ενηλίκων πραγματοποιείται την άνοιξη, Απρίλιο – Μάιο, ή στις αρχές του καλοκαιριού, ανάλογα με την περιοχή, λίγο πριν τα κεράσια γίνουν επιδεκτικά προσβολής. Το στάδιο αυτό συμπίπτει με την αλλαγή του χρώματος των καρπών από κίτρινο σε ρόδινο. Η έξοδος των ενηλίκων από το νυμφικό περίβλημα πραγματοποιείται κυρίως τις πρωινές ώρες και τα ενήλικα είναι ικανά για πτήση και αναζήτηση τροφής περίπου 2 ώρες αργότερα. Έτσι ο χρόνος που παραμένουν στο έδαφος πριν απομακρυνθούν είναι λίγος (Boller and Prokory 1976). Συνήθως η έξοδος των θηλυκών την άνοιξη προηγείται αυτής των αρσενικών και ο συγχρονισμός της εξόδου των δύο φύλων παρατηρείται την περίοδο της μέγιστης εξόδου των ενηλίκων (Boller and Prokory 1976). Μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα τα ενήλικα χρειάζονται τροφή για να ωριμάσουν αναπαραγωγικά. Συνήθως, οι διατροφικές τους προτιμήσεις δε σχετίζονται με τον κύριο ξενιστή,

όπου αναπτύσσεται η προνύμφη γι' αυτό και η αναζήτηση τροφής μπορεί να τα οδηγήσει σε διάφορα είδη φυτών της γειτονικής βλάστησης. Όμως, όταν υπάρχει επάρκεια τροφής, η διατροφή, σύζευξη και ωοτοκία πραγματοποιείται σε κοντινά σημεία σε σχέση με το σημείο εξόδου τους. Παρατηρήσεις στο εργαστήριο έδειξαν πως τα ενήλικα του *R. cerasi* είναι ικανά για πτήσεις αρκετών χιλιομέτρων (Boller and Prokory 1976). Αυτό δείχνει πως η καταστροφή των κερασιών και των εναλλακτικών ξενιστών σε μια ευρεία περιοχή μπορεί να οδηγήσει σε αυξημένη διασπορά του ενήλικου πληθυσμού.

Σύμφωνα με τον Boller (1976), η κύρια πηγή τροφής για τα ενήλικα είναι εκκρίσεις μελιτογόνων εντόμων, φυτικοί χυμοί, βακτήρια, ζύμες, σπόρια μυκήτων και γενικά πρωτεϊνούχες τροφές ή τροφές πλούσιες σε άζωτο. Επιπλέον, επειδή τα μελιτώματα είναι φτωχά σε ορισμένα ουσιώδη αμινοξέα, υπάρχουν υποψίες πως τα θρεπτικά στοιχεία που λείπουν από την τροφή παρέχονται στο έντομο από συμβιωτικούς μικροοργανισμούς.

Τα ενήλικα, αφού τραφούν και ωριμάσουν αναπαραγωγικά, 12 με 24 ώρες μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα (Katsoyannos 1975), μετακινούνται στις κερασιές για να συζευχθούν και να ωοτοκήσουν (Εικόνα 5). Το άρωμα του ημιώριμου- ώριμου καρπού και ενδεχομένως οσμές του φυλλώματος προσελκύουν τα έντομα και πιθανώς διεγείρουν την ωοτοκία (Boller and Prokory 1976).

Τα παρθένα θηλυκά προσελκύονται σε μικρές αποστάσεις από μια φερομόνη που εκλύουν τα αρσενικά (Katsoyannos 1976). Μετά τη σύζευξη, τα θηλυκά ωοτοκούν στα κεράσια ανοίγοντας μια οπή με τον ωοθέτη τους. Ο καρπός επιλέγεται κυρίως με βάση τα φυσικά χαρακτηριστικά του όπως είναι το σχήμα, η αντίθεση του χρώματός του με το φόντο, πιθανότατα το μέγεθος καθώς και άλλους, απροσδιόριστους μέχρι στιγμής, παράγοντες. Η διείδυση του ωοθέτη εξαρτάται από την διαπερατότητα του φλοιού και από τη σκληρότητα του μεσοκαρπίου. Συνήθως, σε κάθε κεράσι τοποθετείται ένα μόνο αυγό (στο μεσοκάρπιο), εκτός από περιπτώσεις υψηλού πληθυσμού της μύγας, και αυτό επιτυγχάνεται με την απελευθέρωση της φερομόνης αποτροπής ωοτοκίας, αμέσως μετά την ωοτοκία (Katsoyannos 1975). Αυτό έχει σαν αποτέλεσμα την ομοιόμορφη διασπορά των απογόνων στην πλειοψηφία των διαθέσιμων καρπών.

Μετά την εκκόλαψη η προνύμφη τρέφεται στο μεσοκάρπιο ορύσσοντας στοά, καταστρέφοντας με τον τρόπο αυτό τον καρπό. Όταν ικανοποιήσει τις διατροφικές της ανάγκες και ολοκληρώσει την ανάπτυξή της, εγκαταλείπει τον καρπό και πέφτει στο έδαφος όπου και νυμφώνεται, συνήθως νωρίς το πρωί, με την πρωινή άνοδο της θερμοκρασίας να αποτελεί το βασικό ερέθισμα για την εγκατάλειψη του καρπού (Boller and Prokopy 1976). Εκεί και σε βάθος 2 – 10 cm παραμένει σε υποχρεωτική διάπαυση για όλη τη διάρκεια του χειμώνα (Τζανακάκης and Κατσόγιαννος 2003). Οι προνύμφες που βρίσκονται στο στάδιο της νύμφωσης είναι ευάλωτες τόσο στην ξηρασία όσο και στη θήρευση ιδιαίτερα από μυρμήγκια.

Το μεγαλύτερο ποσοστό των νυμφών παραμένει σε υποχρεωτική διάπαυση για όσο διαρκεί ο χειμώνας. Τα ενήλικα εξέρχονται από το νυμφικό περίβλημα μετά τη συμπλήρωση ενός συγκεκριμένου χρονικού διαστήματος σε χαμηλές θερμοκρασίες, οπότε και περατώνεται η διάπαυση και ενός διαστήματος σε υψηλές θερμοκρασίες για την ολοκλήρωση της μεταδιαπαιτικής εξέλιξης. Την άνοιξη, η άνοδος της θερμοκρασίας και τα επίπεδα της υγρασίας αποτελούν κύριους παράγοντες που επιδρούν στην έξοδο των ενηλίκων από τις νύμφες. Ωστόσο, οι συνθήκες μπορεί να είναι ανεπαρκείς για την ολοκλήρωση της διάπαυσης ενός ποσοστού του πληθυσμού, το οποίο δεν καταφέρνει να περατώσει τη διάπαυση την επόμενη άνοιξη, παραμένοντας στο στάδιο της νύμφης στο έδαφος για δύο ή και μέχρι πέντε ακόμα χειμώνες (Boller and Prokopy 1976).



Εικόνα 5: Σύζευξη σε καρπό κερασιού (φωτ. <http://www.bba.bund.de/>)

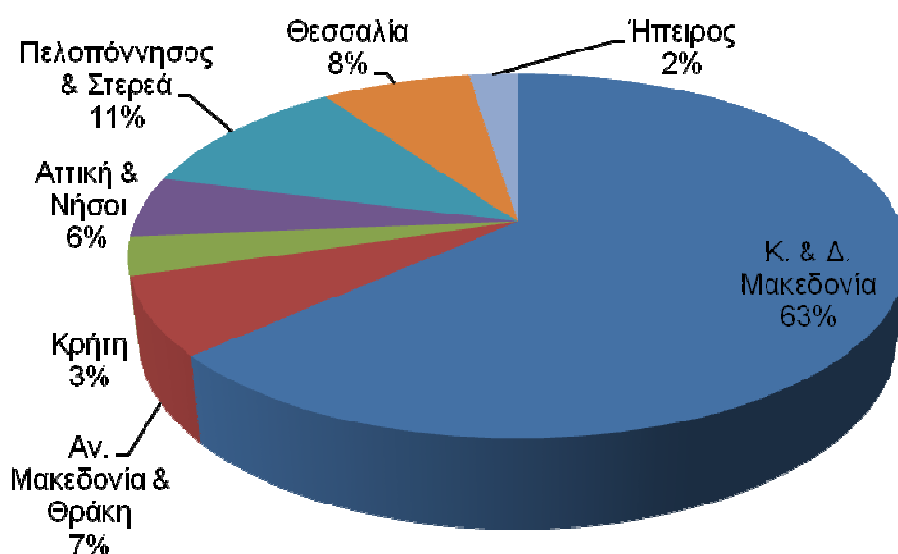
1.6. Σημασία του *R. cerasi* για την Ελλάδα

Η καλλιέργεια της κερασιάς κατέχει σημαντική θέση στο σύνολο της γεωργικής παραγωγής της χώρας μας (Κατσόγιαννος et al. 2000). Η παραγωγή των κερασιών διέγραψε ταχεία ανοδική πορεία όταν το 1988 εγκρίθηκε η επέκταση της καλλιέργειας στα 11.000 στρέμματα (Νικολακάκης 1988), φτάνοντας το 1990 να καλλιεργούνται στη χώρα μας 50.000 στρέμματα (Χατζηχαρίσης 1990) ενώ την περίοδο από το 1996 ως 2000 η καλλιεργούμενη έκταση έφτασε τα 90.000 στρέμματα (Κατσόγιαννος et al. 2000). Παράλληλα, η συνολική ετήσια παραγωγή κερασιών ανήλθε από τους 30.000 με 34.000 τόνους έως το 1989 στους 43.000 τόνους το 1995 με τάσεις διπλασιασμού τα τελευταία έτη (Κουκουργιάννης 2000).

Όσον αφορά τη διάθεση του προϊόντος, το 20 με 25% της παραγωγής των κερασιών εξάγεται ενώ το 75 με 80% διατίθεται στην εγχώρια αγορά είτε σε νωπή μορφή είτε μεταποιημένο. Η κεντρική και δυτική Μακεδονία εξάγει περίπου το 50% της συνολικής παραγωγής της, ποσότητα που αποτελεί το σύνολο των κερασιών που εξάγονται ενώ αποδέκτες των εξαγωγών είναι σε

ποσοστό 95% η Γερμανία και η Ολλανδία (Κουκουργιάννης 2000). Αξίζει να σημειωθεί πως την πενταετία 1983-1988 οι εξαγωγές των ελληνικών κερασιών τριπλασιάστηκαν (Νικολακάκης 1988) ενώ μέχρι το 1995 σταθεροποιήθηκαν σε επίπεδο 8.000 με 10.000 τόνους ετησίως (Κουκουργιάννης 2000).

Η κερασοκαλλιέργεια, αν και συναντάται σε ολόκληρη τη χώρα, εντοπίζεται κυρίως σε ορεινές και ημιορεινές περιοχές (95% της έκτασης). Η Κεντρική και η Δυτική Μακεδονία αποτελούν τις κύριες κερασοπαραγωγικές περιοχές της χώρας (Διάγραμμα 1) (Κουκουργιάννης 2000).



Διάγραμμα 1: Έκταση της καλλιέργειας της κερασιάς στις περιοχές της Ελλάδας (% της συνολικής, 1992) (Κουκουργιάννης 2000)

Με την πάροδο των χρόνων από 1988 και μετά, οι συνθήκες καλλιέργειας της κερασιάς βελτιώθηκαν ενώ παράλληλα επιλέχθηκαν από τους παραγωγούς, με τη συμβολή του Υπουργείου Γεωργίας, και εγκαταστάθηκαν ποικιλίες και υποκείμενα κερασιάς περισσότερο συμβατά με τις εδαφοκλιματικές συνθήκες της κάθε περιοχής. Έτσι, σε πεδινές και ημιορεινές περιοχές καλλιεργούνται κυρίως πρώιμες ή μεσοπρώιμες ποικιλίες όπως είναι η Μπουρλά (Bigarreau Burlat ή B. Hatif Burlat) και η Χάρντυ

Τζάιαντ (Bigarreau Stark Hardy Giant) ενώ σε ημιορεινές και ορεινές προτιμώνται κυρίως μεσοπρώιμες και όψιμες ποικιλίες όπως τα Τραγανά Έδεσσας.

Κάθε χρόνο η επίτευξη μιας επαρκούς και κερδοφόρου παραγωγής κερασιών είναι γινόμενο αρκετών παραγόντων όπως οι κλιματικές συνθήκες, η επίδραση των εχθρών και των ασθενειών. Στην περίπτωση των καιρικών συνθηκών, τα κυριότερα προβλήματα που προκύπτουν λόγω βροχοπτώσεων, κατά την περίοδο της άνθησης ή της ωρίμανσης των καρπών, είναι η κακή γονιμοποίηση και το σχίσσιμο των καρπών αντίστοιχα (Χατζηχαρίσης). Όσον αφορά τα παθογόνα, στην Ελλάδα, τα κυριότερα είναι η φαιά σήψη (*Monilia cinerea*), το κορύνιο (*Coryneum beijerinckii*), το βακτηριακό έλκος (*Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum*) και ο ιός της νεκρωτικής κηλίδωσης των πυρηνόκαρπων ενώ από τους εχθρούς, ο κυριότερος είναι η μύγα των κερασιών *Rhagoletis cerasi* (Νικολακάκης 1988).

Η μύγα των κερασιών συναντάται σε όλους τους οπωρώνες με κερασιές στη χώρα μας, από τη Μακεδονία και τη Θράκη έως την Πελοπόννησο και την Κρήτη (Παπαδόπουλος και συνεργάτες- αδημοσίευτα στοιχεία). Σύμφωνα με τους Haniotakis και συνεργάτες (1989), μέχρι το 1978 συναντιόταν μόνο σε περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας όπου καλλιεργούνταν κεράσια. Το 1978 για πρώτη φορά παρατηρήθηκε προσβολή των κερασιών της ανατολικής Κρήτης όμως η εισαγωγή του εντόμου στο νησί θα πρέπει να είχε πραγματοποιηθεί πολύ νωρίτερα αφού το 1979 παρατηρήθηκε έξαρση του πληθυσμού και της προσβολής.

Το *R. cerasi* προσβάλλει περισσότερο τις μαλακόσαρκες, μεσοόψιμες και όψιμες ποικιλίες και λιγότερο τις πρώιμες (Νικολακάκης 1988) (Κατσόγιαννος et al. 2000). Σύμφωνα με τον Τζανακάκη (1980) σε χρονιές έντονης προσβολής το ποσοστό ζημιάς μπορεί να φτάσει το 50 με 100%. Οι προνύμφες, που τρέφονται στο εσωτερικό του καρπού, υποβαθμίζουν το προϊόν τόσο με την παρουσία τους όσο και με τα αποχωρήματά τους ως αποτέλεσμα της διατροφικής τους δραστηριότητας. Επιπλέον, οι προσβεβλημένοι καρποί είναι ευάλωτοι σε δευτερογενείς μολύνσεις από παθογόνους μικροοργανισμούς και είναι δύσκολο έως αδύνατο να διαχωριστούν από τους υγείς αν δεν αναζητηθεί η προνύμφη, υποβαθμίζοντας το σύνολο της παραγωγής του οπωρώνα.

1.7. Αντιμετώπιση του *R. cerasi*

Τα τελευταία έτη η αντιμετώπιση της μύγας των κερασιών γίνεται προληπτικά. Πραγματοποιούνται συνήθως δύο ψεκασμοί κάλυψης κατά των ενηλίκων καθώς και των προνυμφών που βρίσκονται μέσα στον καρπό. Οι ψεκασμοί γίνονται «ημερολογιακά», σε επίπεδο παραγωγού, ανεξάρτητα από τη διαπίστωση της παρουσίας του εντόμου στον αγρό, και χρησιμοποιούνται, για το σκοπό αυτό, οργανοφωσφορικά και άλλα εντομοκτόνα όπως dimethoate, formothion, parathion, malathion, trichlorfon, fenthion (Κατσόγιαννος et al. 2000). Οι ψεκασμοί κάλυψης δημιουργούν μια σειρά από προβλήματα:

- Τις περισσότερες φορές οι ψεκασμοί γίνονται άσκοπα αφού δεν υπάρχει καμία πληροφορία για τα επίπεδα του πληθυσμού του εντόμου στον αγρό. Αυτό έχει σαν συνέπεια την αύξηση του κόστους παραγωγής, την επιβάρυνση του περιβάλλοντος με χημικά αλλά και την έκθεση του παραγωγού σε επικίνδυνες ουσίες για την υγεία.
- Υπάρχει δυσκολία εκτέλεσης των ψεκασμών ιδιαίτερα σε δένδρα μεγάλου μεγέθους και σε οπωρώνες με ανώμαλο εδαφικό ανάγλυφο (Χανιωτάκης et al. 1991).
- Διαταράσσεται η οικολογική ισορροπία του οπωρώνα ή της ευρύτερης περιοχής με αποτέλεσμα την έξαρση, δευτερεύουσας σημασίας, πληθυσμών εχθρών της κερασιάς.
- Επειδή η εποχή των ψεκασμών απέχει χρονικά λίγο από την εποχή συγκομιδής, υπάρχει κίνδυνος υπολειμμάτων εντομοκτόνων στα συγκομισμένα κεράσια.

Τελευταία εφαρμόστηκαν με αρκετά μεγάλη επιτυχία δολωματικοί ψεκασμοί. Στην Κρήτη εφαρμόζονται 2 με 3, με τον πρώτο να πραγματοποιείται μόλις εμφανιστούν τα ενήλικα και τον δεύτερο 10 ημέρες αργότερα, καλύπτοντας ένα μέρος μόνο της κόμης του δέντρου. Οι ψεκασμοί γίνονται με την ευθύνη και την επίβλεψη των κοινοτήτων και των αγροτικών συνεταιρισμών και καλύπτουν ολόκληρες περιοχές (Τζανακάκης and Κατσόγιαννος 2003). Οι δολωματικοί ψεκασμοί εμφανίζουν το πλεονέκτημα συμπίεσης της άσκοπης χρήσης μεγάλων ποσοτήτων εντομοκτόνων. Σαν αποτέλεσμα, το περιβάλλον επιβαρύνεται λιγότερο, το κόστος αντιμετώπισης

του εντόμου μειώνεται και ο παραγωγός – χειριστής του ψεκαστικού εκτίθεται λιγότερο σε χημικά, επικίνδυνα για την υγεία του. Ωστόσο, η αποτελεσματικότητα των δολωματικών ψεκασμών προϋποθέτει οργάνωση και συντονισμό σε επίπεδο περιοχής και όχι εφαρμογή από μεμονωμένους παραγωγούς (Χανιωτάκης et al. 1991).

Για την παρακολούθηση του πληθυσμού του *R. cerasi* χρησιμοποιούνται χρωματικές παγίδες. Ως αποτέλεσμα της έντονης προσέλκυσης των ενηλίκων του *R. cerasi* από το κίτρινο χρώμα (Prokopy and Boller 1971), η ομάδα του Ομοσπονδιακού Σταθμού Αγροτικών Ερευνών του Βέντενσβιλ της Ελβετίας δημιούργησε το 1978 τις κίτρινες κολλητικές παγίδες *Rebell*[®] (Κατσόγιαννος 1996). Στην Ελβετία πραγματοποιείται συστηματική παρακολούθηση της πορείας του ενήλικου πληθυσμού του εντόμου αλλά και άμεση αντιμετώπισή του με μαζική παγίδευση, περιορίζοντας σημαντικά τους χημικούς ψεκασμούς. Στην Ελλάδα η αποτελεσματικότερη και ασφαλέστερη αντιμετώπιση του εντόμου προϋποθέτει τη γνώση της βιολογίας και φαινολογίας του καθώς και τον προσδιορισμό των ορίων ανοχής, τα οποία έχουν προσδιοριστεί σε άλλες χώρες της Ευρώπης. Για τον καθορισμό των ορίων ανεκτής προσβολής πρέπει να ληφθούν υπόψη οι κλιματικές συνθήκες της περιοχής, η ποικιλία των κερασιών, το ύψος της παραγωγής τη δεδομένη καλλιεργητική περίοδο, η δεκτικότητα της προσβολής από τους καταναλωτές κ.α. (Κατσόγιαννος 1996).

Άλλες μέθοδοι που βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό επίπεδο και που υπόσχονται πολλά για το μέλλον του ελέγχου της μύγας των κερασιών είναι η εξαπόλυση στείρων εντόμων, οι ψεκασμοί των κερασιών με φυσική ή συνθετική φερομόνη αποτροπής ωτοκίας (Katsoyannos and Boller 1976), (Katsoyannos and Boller 1980), η εξαπόλυση ενηλίκων φυλών που εκδηλώνουν αναπαραγωγική ασυμβατότητα (Neuenschwander et al. 1983) (Prokopy and Boller 1971) και η χρήση φυτών παγίδων όπως είδη του γένους *Lonicera* (Κατσόγιαννος 1996).

Γενικά, οι σύγχρονες, βασικές αρχές αντιμετώπισης του εντόμου στοχεύουν στην επικαιρότητα και την απόλυτη αναγκαιότητα των ψεκασμών με κατάλληλα, αποτελεσματικά, φιλικά προς το περιβάλλον σκευάσματα και στις εναλλακτικές μεθόδους αντιμετώπισης του εντόμου. Όπως είναι φυσικό, τα παραπάνω προϋποθέτουν επαρκή γνώση της βιοοικολογίας και

συμπεριφοράς του εντόμου σε τοπικό επίπεδο. Η βιολογία της μύγας των κερασιών έχει μελετηθεί διεξοδικά σε χώρες της βόρειας και κεντρικής Ευρώπης, όμως λίγες μελέτες έχουν πραγματοποιηθεί μέχρι στιγμής στην Ελλάδα. Ελάχιστες είναι και οι έρευνες που αφορούν την καταπολέμηση του *R. cerasi* στη χώρα μας.

1.8. Διάπαυση

1.8.1. Περιβαλλοντική προσαρμογή και εποχική αδράνεια

Προκειμένου να αντιμετωπίσει τις τιμές των αβιοτικών παραγόντων που βρίσκονται κοντά ή εκτός των ορίων ανοχής του, κάθε οργανισμός αναπτύσσει μηχανισμούς που ελέγχουν τις φυσιολογικές λειτουργίες και μεταβάλλουν τη συμπεριφορά του. Τέτοιου είδους μηχανισμοί είναι ο εγκλιματισμός (τροποποίηση του εύρους ανοχής), η χειμέρια νάρκη στα θηλαστικά, ο λήθαργος των φυτών και η διάπαυση των εντόμων.

Τα έντομα αντιμετωπίζουν τις απρόβλεπτες, μη περιοδικές μεταβολές των αβιοτικών παραγόντων, με προσαρμογές της φυσιολογίας και συμπεριφοράς και με γενετικό πολυμορφισμό που προστατεύει τους πληθυσμούς από εξαφάνιση. Από την άλλη πλευρά, οι προβλέψιμες, περιοδικές μεταβολές των περιβαλλοντικών συνθηκών οδηγούν στη δημιουργία φυσιολογικών και ηθολογικών κύκλων, που βασίζονται σε λεπτούς χρονομετρικούς μηχανισμούς του οργανισμού και σχετικό νευροενδοκρινή έλεγχο της ανάπτυξης, εξέλιξης, αναπαραγωγής και συμπεριφοράς. Αυτοί εκδηλώνονται συνήθως με τη μορφή εποχικής αδράνειας (Tauber et al. 1986). Μάλιστα, σύμφωνα με τον Τζανακάκη (1995) τα περισσότερα είδη εντόμων εμφανίζουν περιόδους εποχικής αδράνειας, μία ή περισσότερες φορές το χρόνο.

Η εποχική αδράνεια είναι μια εποχικά επαναλαμβανόμενη (επανερχόμενη) περίοδος (φαινόφαση) στα φυτά ή στα ζώα κατά την οποία η ανάπτυξη, η εξέλιξη και η αναπαραγωγή αναστέλλονται (Tauber et al. 1986). Πρόκειται για μια γενική έκφραση που καλύπτει κάθε φάση αναστολής της ανάπτυξης, που προσαρμόζεται στις εκάστοτε συνθήκες (οικολογικά ή εξελικτικά σημαντική και όχι τεχνητά προκαλούμενη) και συνήθως

συνοδεύεται από μεταβολική αναστολή (Danks 2004). Η εποχική αδράνεια διακρίνεται σε quiescence και σε διάπαυση.

1.8.2. Διάκριση διάπαυσης και quiescence

Η διάπαυση είναι μια νευροορμονικά ελεγχόμενη δυναμική κατάσταση χαμηλής μεταβολικής δραστηριότητας (Tauber et al. 1986). Πρόκειται για προγραμματισμένη αναστολή της ανάπτυξης ή/και της μορφογένεσης (τυπικά προκαλούμενης από τη φωτοπερίοδο, τη θερμοκρασία ή άλλους παράγοντες) που ξεκινά πριν την εμφάνιση των δυσμενών συνθηκών ενώ το τέλος της δε συμπίπτει με το τέλος αυτών (Danks 2004, Kostal 2006). Η quiescence είναι μια άμεση ανταπόκριση του εντόμου στις δυσμενείς συνθήκες του περιβάλλοντος που ολοκληρώνεται μετά το πέρας αυτών. Πρόκειται για αντιστρεπτή κατάσταση, μειωμένης μεταβολικής δραστηριότητας που προκαλείται από έλλειψη τροφής και από ακραίες τιμές θερμοκρασίας και υγρασίας. Αποτελεί το συνηθέστερο μέσο αντιμετώπισης έκτακτων ακραίων περιβαλλοντικών συνθηκών από τα έντομα.

Η διάπαυση διαφέρει από την quiescence γιατί α) προκαλείται από συνθήκες που προμηνύουν την έλευση δυσμενών συνθηκών και όχι από τις ίδιες τις δυσμενείς συνθήκες, β) η διάρκειά της συνήθως είναι ανεξάρτητη από τη διάρκεια των δυσμενών συνθηκών, γ) προκαλεί λήξη ή αλλαγή της νευροενδοκρινούς δραστηριότητας σε καθορισμένα, για κάθε είδος, στάδια του βιολογικού κύκλου του εντόμου, δ) αν η διαδικασία εισόδου στη διάπαυση ξεκινήσει και στη συνέχεια επικρατήσουν ευνοϊκές συνθήκες για ανάπτυξη, η μεταβολική δραστηριότητα δεν επανέρχεται, ε) η ανάπτυξη συνεχίζεται μόνο μετά την ολοκλήρωση προγραμματισμένων φυσιολογικών διεργασιών και μετά την ολοκλήρωσή της, αν οι συνθήκες είναι δυσμενείς, το έντομο μπορεί να εισέλθει σε quiescence.

Η διάπαυση είναι περισσότερο μέσο συγχρονισμού του βιολογικού κύκλου του εντόμου με ευνοϊκές συνθήκες του περιβάλλοντος παρά μέσο αποφυγής δυσμενών καιρικών συνθηκών. Ο ρόλος της είναι διπλός αφού αφενός συγχρονίζει το κατάλληλο στάδιο του εντόμου με το κατάλληλο για προσβολή στάδιο του ξενιστή και αφετέρου συγχρονίζει την ενηλικίωση του

πληθυσμού ώστε να επιτυγχάνεται η ταυτόχρονη παρουσία των δύο φύλων για σύζευξη.

Τα διάφορα είδη εντόμων εισέρχονται σε διάπαυση σε διαφορετικά στάδια του βιολογικού τους κύκλου (αυγό, προνύμφη, νύμφη, ενήλικο). Στα ανήλικα στάδια η διάπαυση εκδηλώνεται σαν ανάσχεση της ανάπτυξης ενώ στα ενήλικα σαν αναπαραγωγική ανωριμότητα (αναπαραγωγική διάπαυση) (Τζανακάκης 1995). Οι διαπαύουσες μορφές εμφανίζουν ιδιαίτερη συμπεριφορά με χαρακτηριστικότερη την παραμονή σε προφυλαγμένες θέσεις μέχρι το τέλος της διάπαυσης, τη μειωμένη μεταβολική δραστηριότητα και τη μειωμένη αντίδραση σε τροφικά και αναπαραγωγικά ερεθίσματα. Τα παραπάνω έχουν σαν αποτέλεσμα την αύξηση της αντοχής του εντόμου στις δυσμενείς συνθήκες.

1.8.3. Είδη και στάδια διάπαυσης

Η διάπαυση διακρίνεται σε προαιρετική (facultative) που παρατηρείται σε άτομα ορισμένης γενεάς ή γενεών και υποχρεωτική (obligate) που παρατηρείται σε όλα τα άτομα κάθε γενεάς, ανεξάρτητα από τις εκάστοτε συνθήκες του περιβάλλοντος. Επίσης ανάλογα με την εποχή έναρξης και περάτωσης της η διάπαυση διακρίνεται σε φθινοπωρινοχειμερινή, θερινοφθινοπωρινοχειμερινή και θερινή. Το χαρακτηριστικό της θερινής διάπαυσης είναι ότι ακολουθείται πάντα από χειμερινή ενεργό φάση (Τζανακάκης 1995).

Σύμφωνα με τον Kostal (2006) στην υποχρεωτική διάπαυση η έναρξη της ανάσχεσης της ανάπτυξης δεν απαιτεί εξωγενές σήμα γιατί αντιπροσωπεύει ένα σταθερό στοιχείο του προγράμματος οντογένεσης που εκφράζεται ανεξάρτητα από τις περιβαλλοντικές συνθήκες. Λόγω της μεγάλης ποικιλότητας στην έκφραση της διάπαυσης, υπάρχει εξίσου μεγάλη δυσκολία στην εύρεση γενικών αρχών που να τη διέπουν. Σ' αυτό συντελεί και το γεγονός της, μέχρι στιγμής, περιορισμένης γνώσης της φυσιολογίας της διάπαυσης (Denlinger 2002).

Η περίοδος της διάπαυσης χωρίζεται σε έναρξη, διατήρηση και περάτωση (Kostal 2006). Κατά τη φάση της έναρξης, ο μεταβολικός ρυθμός πέφτει σχετικά γρήγορα ενώ η ένταση της διάπαυσης βρίσκεται στο μέγιστο

βαθμό ή μπορεί ακόμα και να αυξάνει. Ιδιαίτερες συμπεριφορές και φυσιολογικές δραστηριότητες (μετανάστευση, εύρεση κατάλληλου μικροπεριβάλλοντος, διατροφική δραστηριότητα, συσσώρευση ενεργειακών αποθεμάτων κ.λπ.), που συμβαίνουν στο έντομο χρησιμεύουν στην εξασφάλιση της επιβίωσής του κατά την περίοδο της αναστολής της ανάπτυξης και του μεταβολισμού.

Η φάση της διατήρησης χαρακτηρίζεται από συνεχή αναστολή της ανάπτυξης και σχετικά χαμηλό και σταθερό μεταβολικό ρυθμό, παρά το γεγονός ότι οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι ικανοποιητικές για φυσιολογικές και μορφογενετικές διαδικασίες. Σε μερικά είδη η διάπαυση περατώνεται ξαφνικά και ακολουθεί άμεση συνέχιση της ανάπτυξης. Άλλα είδη δεν μπορούν να περατώσουν τη διάπαυση υπό σταθερές συνθήκες και τελικά πεθαίνουν.

Συνθήκες – ερεθίσματα (stimuli), που είτε είναι απαραίτητα είτε παρεμβάλλονται, ωθούν τη διαδικασία της διάπαυσης στο τέλος της, δηλαδή στη φάση της περάτωσης. Το πέρας της διάπαυσης συνδέεται με την πλήρη αποκατάσταση της ικανότητας για άμεση ανάπτυξη. Η ικανότητα αυτή μπορεί να πραγματοποιηθεί άμεσα όταν οι συνθήκες το επιτρέπουν ή να παρεμποδιστεί εξωγενώς από αντίξοες συνθήκες κατά τη φάση της μεταδιαπαυτικής εξέλιξης και το έντομο να εισέλθει σε quiescence. Σ' αυτή την περίπτωση η άμεση ανάπτυξη επανέρχεται μόνο υπό την επίδραση περιβαλλοντικών συνθηκών που θα το επιτρέψουν (Kostal 2006).

1.8.4. Διάπαυση στο *Rhagoletis cerasi*

Όπως περιγράφηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο (σελ. 14), το *R. cerasi*, μετά τη νύμφωση, εισέρχεται σε υποχρεωτική διάπαυση έως την επόμενη άνοιξη. Η περάτωση της διάπαυσης πραγματοποιείται κατά τη διάρκεια του χειμώνα ή νωρίς την άνοιξη, μετά τη συμπλήρωση συγκεκριμένου αριθμού ημεροβαθμών σε χαμηλές θερμοκρασίες. Η μεταδιαπαυτική εξέλιξη, που ολοκληρώνεται με την έξοδο των ενηλίκων, απαιτεί την άθροιση συγκεκριμένου αριθμού ημεροβαθμών πάνω από τη θερμοκρασία ουδό. Η ένταση της διάπαυσης και η εποχή περάτωσής της, συνήθως διαφέρει μεταξύ των πληθυσμών του εντόμου και εξαρτάται από τις κλιματικές συνθήκες και τη

φαινολογία των ποικιλιών κερασιάς της κάθε περιοχής. Η υποχρεωτική διάπαυση του *R. cerasi* είναι ο σημαντικότερος παράγοντας συγχρονισμού των ενηλίκων με την εποχή ωρίμανσης των κερασιών.

Ποσοστό 20 – 30% των νυμφών του *R. cerasi* παραμένει σε διάπαυση περισσότερο από 8 – 9 μήνες. Η παρατεταμένη παραμονή στο στάδιο της διάπαυσης μπορεί να φτάσει τα 5 έτη (Boller and Prokopy 1976) και αποτελεί χαρακτηριστικό εξελικτικής προσαρμογής που διασφαλίζει την επιβίωση του πληθυσμού σε περίπτωση μειωμένης καρποφορίας ή καταστροφής του ξενιστή. Το φαινόμενο της παραλλακτικότητας στην ένταση της διάπαυσης παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον, ιδιαίτερα σε μονοκυκλικά είδη όπως το *R. cerasi*, αφού μπορεί να αποτελεί το εξελικτικό σημείο αφετηρίας ενός μηχανισμού αύξησης του οικολογικού εύρους του οργανισμού (Hayes 1982).

1.9. Ρύθμιση των ενεργειακών αποθεμάτων

Ο τρόπος με τον οποίο τα έντομα διαχειρίζονται και επενδύουν την ενέργεια, που προσλαμβάνουν μέσω της τροφής, έχει μελετηθεί εκτενώς (Gordon 1972, Ohtsu et al. 1995, Saunders 2000, Canavoso et al. 2001). Πρόσφατες μελέτες έδειξαν πως σε κάθε οργανισμό, κυριότεροι «αποδέκτες» της διαθέσιμης ενέργειας είναι η μακροβιότητα και η αναπαραγωγή. Η επένδυση της ενέργειας στην παράταση της ζωής επιφέρει ενεργειακό κόστος στην αναπαραγωγή. Αντίστοιχα, η παραγωγή απογόνων έχει σαν συνέπεια τη μείωση της ενέργειας που θα επενδυόταν στη μακροβιότητα (Kirkwood and Austad 2000, Partridge 2001). Στα έντομα, έχουν πραγματοποιηθεί κάποιες μελέτες των ενεργειακών αποθεμάτων και της επιρροής τους στην αναπαραγωγή και τη γήρανση σε ορισμένα γένη της οικογένειας Tephritidae όπως στη μύγα της Μεσογείου (Warburg and Yuval 1996, 1997, Carey et al. 1998, 1999, Carey et al. 2001, Nestel et al. 2005). Ωστόσο, η ρύθμιση των ενεργειακών αποθεμάτων του *R. cerasi* δεν έχει μελετηθεί μέχρι στιγμής σε κανένα στάδιο του βιολογικού του κύκλου. Η μελέτη των ενεργειακών αποθεμάτων (πρωτεΐνες, λιπίδια, σάκχαρα και γλυκογόνο) σε διαπαύουσες νύμφες του *R. cerasi* μπορεί να δώσει πληροφορίες σχετικά με την πορεία της μεταμόρφωσης και της διάπαυσης.

1.10. Σκοπός της μεταπτυχιακής διατριβής

Η διάπαυση της μύγας των κερασιών έχει μελετηθεί σε πληθυσμούς της κεντρικής Ευρώπης, χωρίς όμως να έχουν πραγματοποιηθεί μελέτες σε ελληνικούς πληθυσμούς (Vallo et al. 1976, Baker and Miller 1978). Όπως προαναφέρθηκε, το *R. cerasi* εισέρχεται σε διάπαυση στο στάδιο της νύμφης. Το στάδιο αυτό εμφανίζει μεγάλο ενδιαφέρον στα πλείστα είδη των εντόμων αφού χαρακτηρίζεται από στατικότητα και από μη εισροή ενέργειας, ενώ παράλληλα διενεργούνται σημαντικές φυσιολογικές διαδικασίες που οδηγούν στη μεταμόρφωση. Όταν, στο στάδιο της νύμφωσης υπεισέρχεται και ο παράγοντας της διάπαυσης, η κατάσταση περιπλέκεται και το ενδιαφέρον αυξάνει.

Η παρούσα διατριβή ασχολείται με τη μελέτη της διάπαυσης ενός ορεινού και ενός πεδινού πληθυσμού του *R.cerasi*. Συγκεκριμένα εστιάζει στην περάτωση της διάπαυσης των δύο πληθυσμών σε συνθήκες υπαίθρου και σε σταθερές συνθήκες στο εργαστήριο και τα στοιχεία συμπληρώνονται με τη φαινολογία των ενηλίκων στις δύο περιοχές και με τη μελέτη του τρόπου ρύθμισης των ενεργειακών αποθεμάτων στο στάδιο της νύμφης. Τα αποτελέσματα της μελέτης βοηθούν στην πληρέστερη κατανόηση της βιολογίας του εντόμου και των πιθανών ειδογενετικών μηχανισμών και επιπλέον μπορούν να συμβάλλουν στο σχεδιασμό αποτελεσματικότερων μοντέλων πρόβλεψης και ελέγχου των πληθυσμών.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2. Γενικά Υλικά και Μέθοδοι

2.1. Περιοχές έρευνας

Η μελέτη της διάπαυσης και της μεταβολής των ενεργειακών αποθεμάτων των νυμφών του *R. cerasi* πραγματοποιήθηκε τη διετία 2005 – 2006 σε έναν ορεινό και έναν πεδινό πληθυσμό της μύγας των κερασιών τόσο σε συνθήκες υπαίθρου, όσο και στο εργαστήριο. Ο ορεινός πληθυσμός προήλθε από την περιοχή της Δάφνης του νομού Κοζάνης. Η περιοχή της Δάφνης (1050 μέτρα υψόμετρο) είναι ηπειρωτική (40.3° βόρειο γεωγραφικό πλάτος, 21.5° γεωγραφικό μήκος), με απόλυτη ελάχιστη θερμοκρασία -17,6 °C και απόλυτη μέγιστη θερμοκρασία 37 °C. Το κλίμα της χαρακτηρίζεται από δροσερά και ξηρά καλοκαίρια και από κρύους χειμώνες με συχνή πτώση των θερμοκρασιών κάτω από το μηδέν (Διάγραμμα 2). Στην περιοχή της Δάφνης δεν πραγματοποιείται συστηματική καλλιέργεια κερασιών. Εντούτοις, τόσο μέσα στο χωριό όσο και περιφερειακά υπάρχουν μεμονωμένες κερασιές οι οποίες δε δέχονται κανενός είδους μεταχείριση με χημικά μέσα. Επιπλέον, στη δασική έκταση γύρω από το χωριό υπάρχουν διάσπαρτες αρκετές αγριοκερασιές.

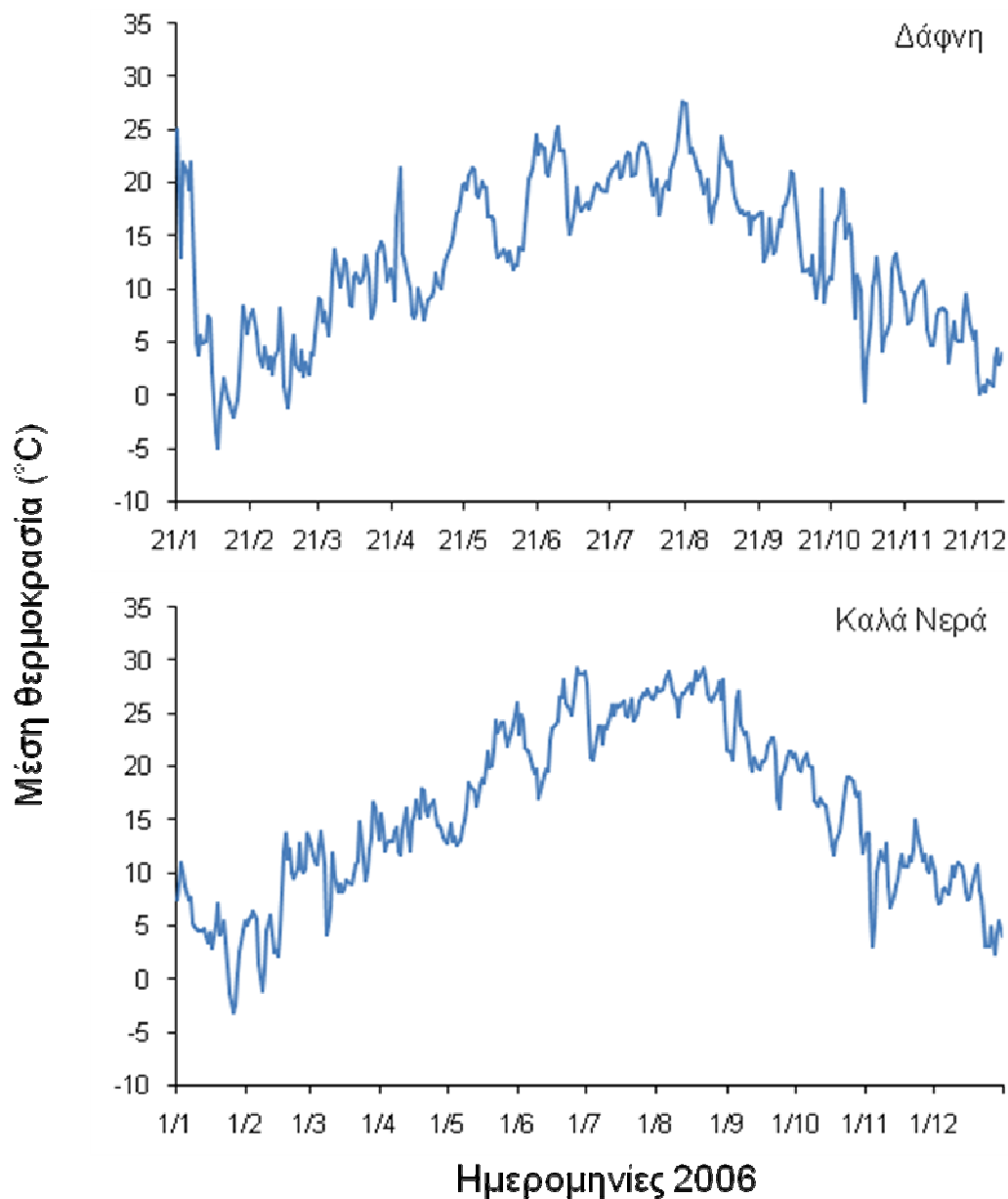
Ο πεδινός πληθυσμός προήλθε από την περιοχή Καλών Νερών του νομού Μαγνησίας. Η περιοχή των Καλών Νερών (20 m υψόμετρο) είναι παραθαλάσσια (39.3° βόρειο γεωγραφικό πλάτος, 23.0° γεωγραφικό μήκος) με απόλυτη ελάχιστη θερμοκρασία -6,6 °C και απόλυτη μέγιστη θερμοκρασία 37,8 °C. Το κλίμα χαρακτηρίζεται γενικά από θερμά και ξηρά καλοκαίρια και από ήπιους και υγρούς χειμώνες, ενώ η θερμοκρασία σπάνια πέφτει κάτω από 0 °C (Διάγραμμα 2). Στα Καλά Νερά γίνεται συστηματική καλλιέργεια πολλών οπωροφόρων δέντρων όπως κερασιές, μηλιές, αχλαδιές, κυδωνιές, ροδακινιές, βερικοκιές, κ.λπ.

Οι δύο περιοχές απέχουν περίπου 300 km και διαφέρουν αρκετά ως προς το γεωγραφικό ανάγλυφο και τις κλιματικές συνθήκες (Εικόνα 6). Η θερμοκρασία της κάθε περιοχής καταγράφεται με τη βοήθεια αυτόματων καταγραφικών Hobo[®] (Onset) (Εικόνα 7) και σε κάποιες περιπτώσεις τα στοιχεία συμπληρώθηκαν από τους μετεωρολογικούς σταθμούς του

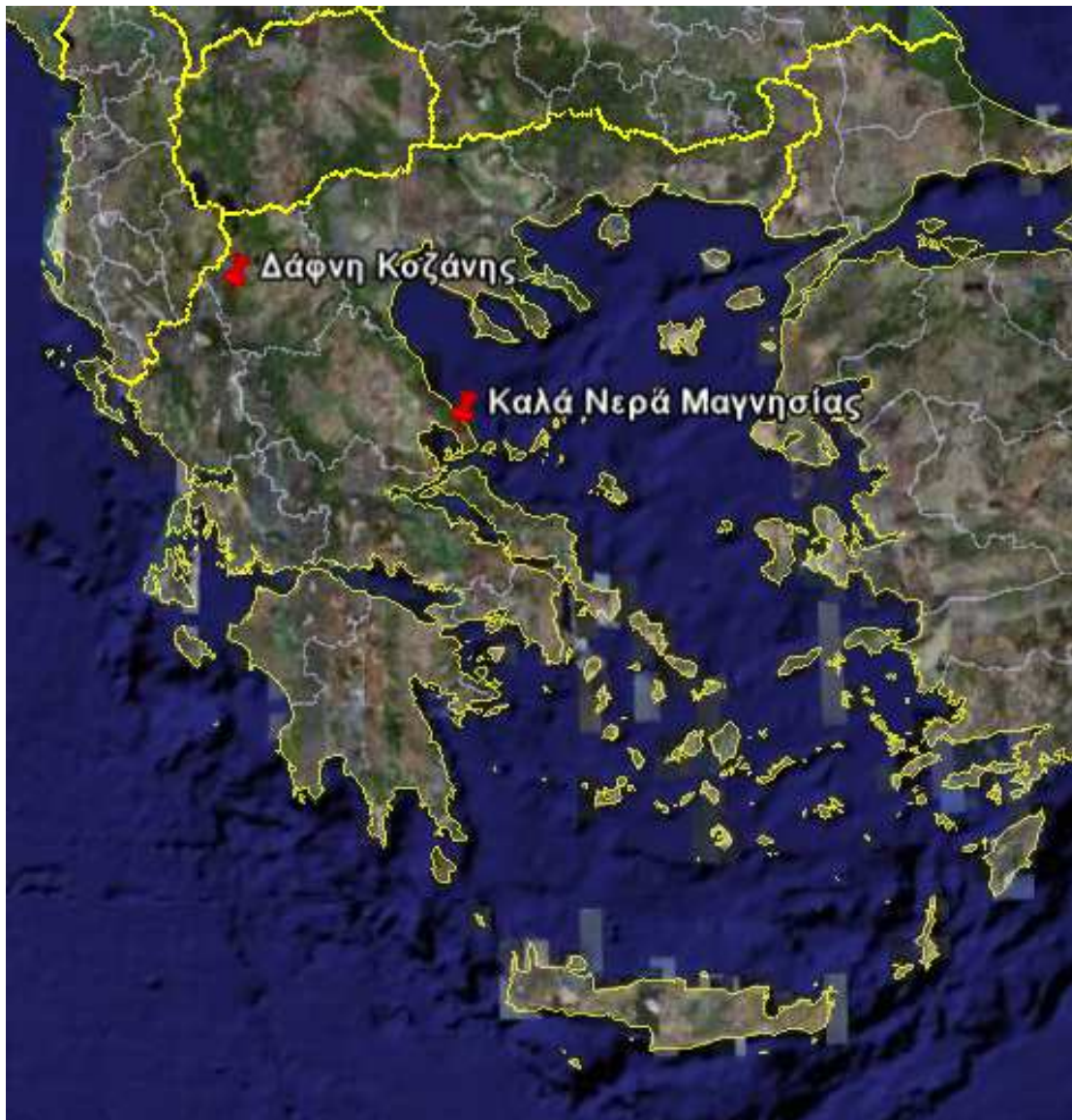
αεροδρομίου Καστοριάς, για την περιοχή της Δάφνης Κοζάνης, και της αεροπορικής βάσης Αγκιάλου, για την περιοχή των Καλών Νερών Μαγνησίας.

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν τη διετία 2005 και 2006 στις δύο παραπάνω περιοχές και στο εργαστήριο. Στα πλαίσια των πειραμάτων παρακολουθήσαμε την πτήση των ενηλίκων των δύο πληθυσμών με τη βοήθεια πλαστικών, κίτρινων, χρωματικών, κολλητικών παγίδων τύπου *Rebell*[®] (*Waedenswil*, Ελβετία) οι οποίες αποτελούνται από δύο πλαστικές επιφάνειες (15x20 cm η κάθε μία) τοποθετημένες κάθετα η μία στην άλλη (Εικόνα 8). Οι παγίδες τοποθετούνταν σε ύψος 1,5 με 2 m από το έδαφος σε μεμονωμένα δέντρα στη Δάφνη και σε έναν οπωρώνα στα Καλά Νερά, κατά την περίοδο της πτώσης των σεπάλων. Ο έλεγχος των παγίδων γινόταν μία – δύο φορές την εβδομάδα.

Για τη μελέτη της διάπαυσης και της μεταβολής των ενεργειακών αποθεμάτων των νυμφών συλλέχθηκαν προσβεβλημένα κεράσια από την ορεινή και την πεδινή περιοχή. Από τα κεράσια προήλθαν οι νύμφες που χρησιμοποιήθηκαν στα παραπάνω πειράματα. Η διαδικασία συλλογής των νυμφών περιγράφεται αναλυτικότερα στο υποκεφάλαιο 2.3.



Διάγραμμα 2: Μέση ημερήσια θερμοκρασία από τον Ιανουάριο έως το Δεκέμβριο του 2006 στις περιοχές Δάφνη Κοζάνης και Καλά Νερά Μαγνησίας. Οι θερμοκρασίες καταγράφονταν με τη βοήθεια αυτόματων καταγραφικών θερμοκρασίας (Hobo®) στην περιοχή της Δάφνης καθώς και στο μετεωρολογικό σταθμό του Στρατιωτικού Αεροδρομίου Αγχιάλου που βρίσκεται σε απόσταση 10 km από την περιοχή Καλών Νερών.



Εικόνα 6: Οι περιοχές της Δάφνης Κοζάνης και των Καλών Νερών Μαγνησίας απ' όπου προέρχονται οι δύο πληθυσμοί μελέτης του *R. cerasi* (φωτ. <http://earth.google.com/>).



Εικόνα 7: Αυτόματο καταγραφικό θερμοκρασίας Hobo[®] (Onset) (φωτ. <http://onsetcomp.com/>).



Εικόνα 8: Κίτρινη κολλητική παγίδα Rebell[®] (φωτ. Ν. Θ. Παπαδόπουλος).

2.2. Συνθήκες εργαστηρίου

Η διεξαγωγή των πειραμάτων έγινε τη χρονική περίοδο 2005 και 2006 στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Στους χώρους που χρησιμοποιήθηκαν διατηρούνταν σταθερές συνθήκες και συγκεκριμένα θερμοκρασία 25 ± 2 °C, σχετική υγρασία $60 \pm 5\%$ και φωτοπερίοδος 14:10 (Φ:Σ) με τη φωτόφαση να διαρκεί από τις 06:00 έως τις 20:00. Η πηγή του τεχνητού φωτισμού προερχόταν από λαμπτήρες φθορίου και συμπληρωνόταν από φυσικό φως που εισερχόταν στο δωμάτιο από ένα παράθυρο βορεινής έκθεσης.

Επιπλέον, κατά την εκτέλεση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν κλίβανοι αποστείρωσης, θάλαμοι χαμηλών θερμοκρασιών (+5 °C, -20 °C και -80 °C) και κατάλληλοι αποθηκευτικοί χώροι. Στο σύνολο των εργαστηριακών οργάνων που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκτέλεση της βιοχημικής μεθόδου, για τον καθορισμό των ενεργειακών αποθεμάτων των νυμφών, συμπεριλήφθηκαν: ένας ζυγός ακριβείας Precisa 40SM- 200A (± 0.01 mg), ένα Vortex VELP SCIENTIFICA Zx³, μία φυγόκεντρος KUBOTA 3500, ένα θερμομπλόκ BIOLINE scientific BH100, ένα φασματοφωτόμετρο BIO-TEK ELx808 συνδεδεμένο με ηλεκτρονικό υπολογιστή, τέσσερις πιπέτες Pipetman P₂₀, P₁₀₀, P₂₀₀, P₁₀₀₀ και μικροπλάκες ELISA. Αναλυτική περιγραφή της μεθόδου και των αντιδραστηρίων που χρησιμοποιήθηκαν δίνεται στο κεφάλαιο «Ρύθμιση ενεργειακών αποθεμάτων των νυμφών».

2.3. Συλλογή νυμφών

Σε όλα τα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν έντομα από προσβεβλημένους καρπούς κερασιάς, στη φύση, οι οποίοι συλλέχθηκαν στις δύο παραπάνω περιοχές έρευνας. Οι κερασιές που χρησιμοποιήθηκαν για τη συλλογή δε δέχτηκαν κανενός είδους χημικές επεμβάσεις. Κατά τη συλλογή, συλλέγονταν κεράσια που βρίσκονταν πάνω στο δέντρο και τοποθετούνταν σε πλαστικές σακούλες παρεμβάλλοντας, κάθε τόσο, απορροφητικό χαρτί κουζίνας ανάμεσα στα κεράσια. Στη συνέχεια μεταφέρονταν στο εργαστήριο (25 °C) και τοποθετούνταν σε πλαστικές λεκάνες διαστάσεων 45 x 35 cm

βάση, 16 cm ύψος. Αναλυτικότερα, τα προσβεβλημένα κεράσια απλώνονταν επάνω σε λεπτό στρώμα άμμου πάχους 2 cm περίπου. Στη συνέχεια οι λεκάνες σκεπάζονταν με τμήματα λεπτής οργανίνης. Η άμμος βοηθούσε στη συγκράτηση των χυμών των αποσυντεθημένων κερασιών και αποτελούσε το υπόστρωμα νύμφωσης των εξερχόμενων προνυμφών. Κάθε μέρα ελεγχόταν η έξοδος και η νύμφωση των προνυμφών οι οποίες συλλέγονταν με τη βοήθεια λαβίδας από το υπόστρωμα της άμμου. Μετά την έξοδο και τη νύμφωση του συνόλου των προνυμφών, τα κεράσια απομακρύνονταν, με προσοχή, από τις λεκάνες και ακολουθούσε κοσκίνισμα της άμμου με σκοπό τη συγκέντρωση όλων των νυμφών. Ο έλεγχος του κάθε δείγματος διαρκούσε τουλάχιστον 15 ημέρες και ολοκληρωνόταν με το πλύσιμο της άμμου για να συλλεχθούν και οι τελευταίες νύμφες που πιθανόν υπήρχαν. Τέλος οι νύμφες χωρίζονταν σε ομάδες των τριάντα ή των πενήντα ατόμων (ανάλογα με την περαιτέρω μεταχείριση) και τοποθετούνταν σε πλαστικά φιαλίδια (erpendorf) στα οποία προηγουμένως είχε διατριθεί το πώμα για την εξασφάλιση οξυγόνου στο εσωτερικό. Σε κάθε φιαλίδιο αναγραφόταν η προέλευση και η μεταχείριση του δείγματος.

Περισσότερες λεπτομέρειες για τα υλικά και τις μεθόδους δίνονται στα επιμέρους κεφάλαια.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3. Φαινολογία Ενηλίκων και Περάτωση της Διάπαυσης στις Περιοχές Δάφνης Κοζάνης και Καλών Νερών Μαγνησίας

3.1. Εισαγωγή

Η φαινολογία των ενηλίκων της μύγας των κερασιών και άλλα στοιχεία της βιολογίας του εντόμου έχουν μελετηθεί εκτενώς σε χώρες της κεντρικής Ευρώπης (Katsoyannos 1975, Remund and Boller 1975, Katsoyannos 1976) (Baker and Miller 1978, Haisch and Chwala 1979, Remund et al. 1980, Agee et al. 1982, Boller 1985, Boller et al. 1998, Skaar 1999, Voigt 1999, Riegler and Stauffer 2002, Schwarz et al. 2003). Όμως, σχετικά περιορισμένα είναι τα στοιχεία για τη δυναμική πληθυσμών της μύγας της κερασιάς στη χώρα μας. Η πορεία της πτήσης των ενηλίκων έχει μελετηθεί σε περιοχές της βόρειας Ελλάδας (Κατσόγιαννος et al. 1991, Κατσόγιαννος 1996, Κατσόγιαννος et al. 2000) και στην Κρήτη (Neuenschwander et al. 1983, Χανιωτάκης et al. 1991). Από τις λίγες σχετικά μελέτες που να αφορούν τη διάπαυση του *R. cerasi* και έχουν γίνει κατά κύριο λόγο σε χώρες της κεντρικής Ευρώπης (Vallo et al. 1976, Baker and Miller 1978), καμία δεν αφορά τη χώρα μας και τους ελληνικούς πληθυσμούς του εντόμου.

Η φαινολογία και η διάπαυση του *R. cerasi* μελετήθηκαν σε μία ορεινή και μια πεδινή περιοχή της Ελλάδας. Συγκεκριμένα ερευνήσαμε: α) την πορεία της πτήσης των ενηλίκων β) την περάτωση της διάπαυσης νυμφών ορεινών και πεδινών πληθυσμών στο ύπαιθρο και γ) την περάτωση της διάπαυσης σε σταθερές συνθήκες στο εργαστήριο.

3.2. Υλικά και Μέθοδοι

3.2.1. Φαινολογία

Η φαινολογία του *R. cerasi* μελετήθηκε τη διετία 2005 – 2006 στις δύο απομακρυσμένες περιοχές της Δάφνης Κοζάνης (ορεινή περιοχή) και των Καλών Νερών Μαγνησίας (πεδινή περιοχή). Για λεπτομερή περιγραφή των δύο περιοχών βλέπε το κεφάλαιο «Γενικά Υλικά και Μέθοδοι». Οι

παρατηρήσεις έγιναν σε μεμονωμένες κερασιές της περιοχής Δάφνης Κοζάνης, για τον ορεινό πληθυσμό και σε οπωρώνα της περιοχής Καλών Νερών Μαγνησίας, για τον πεδινό πληθυσμό. Ο πειραματικός κερασεώνας στα Καλά Νερά Μαγνησίας δε δέχτηκε ψεκασμούς καθ' όλη τη διάρκεια των παρατηρήσεων, ενώ οι κερασιές της Δάφνης Κοζάνης δεν υποβλήθηκαν σε κανενός είδους μεταχείριση με χημικά μέσα, τουλάχιστον τα τελευταία 30 έτη. Η πορεία της πτήσης των ενηλίκων, και στις δύο περιοχές, μελετήθηκε με κίτρινες, χρωματικές, κολλητικές παγίδες τύπου *Rebell*[®]. Αναλυτική περιγραφή των παγίδων και λεπτομέρειες σχετικές με την ανάρτησή τους στους οπωρώνες δίνεται στο κεφάλαιο «Γενικά Υλικά και Μέθοδοι».

Στην περιοχή της Δάφνης Κοζάνης κατά το 2005 και 2006 τοποθετήθηκαν 3 παγίδες. Το 2005 η τοποθέτηση των παγίδων έγινε στις 27 Μαΐου και η αφαίρεσή τους στις 24 Ιουλίου, ενώ το 2006 οι παγίδες τοποθετήθηκαν στις 10 Μαΐου και αφαιρέθηκαν στις 22 Ιουλίου. Στην περιοχή Καλών Νερών Μαγνησίας κατά το 2005 τοποθετήθηκαν 6 παγίδες. Η τοποθέτησή τους έγινε στις 5 Μαΐου ενώ η αφαίρεσή τους στις 27 Ιουνίου. Το 2006, 4 παγίδες τοποθετήθηκαν στις 11 Απριλίου και απομακρύνθηκαν στις 30 Ιουνίου. Όπως φαίνεται από τις ημερομηνίες, στην περιοχή της Δάφνης Κοζάνης η διαδικασία τοποθέτησης των παγίδων πραγματοποιήθηκε, περίπου, ένα δεκαπενθήμερο αργότερα, σε σχέση με την τοποθέτηση των παγίδων στα Καλά Νερά Μαγνησίας, λόγω της οψιμότητας των κερασιών. Σε όλες τις περιπτώσεις η ανάρτηση των παγίδων συνέπιπτε με το φαινολογικό στάδιο της κερασιάς «πτώση πετάλων».

Ο έλεγχος των παγίδων και η καταμέτρηση των εντόμων γινόταν, και στις δύο περιοχές, μία ή δύο φορές την εβδομάδα. Για την καταμέτρηση των ενηλίκων, οι παγίδες απομακρύνονταν από τα δέντρα. Με τη βοήθεια λαβίδας καταμετρούνταν τα ενήλικα του *R. cerasi* και στη συνέχεια αφαιρούνταν όλα τα έντομα και τα ξένα σώματα που είχαν προσκολληθεί, για να μπορέσει η ίδια παγίδα να ξαναχρησιμοποιηθεί. Η αντικατάσταση των παγίδων με νέες πραγματοποιούνταν μετά την εξασθένιση της κολλητικής τους επιφάνειας, που συνέπιπτε με τον έλεγχό τους για 2 φορές. Η πάροδος δύο εβδομάδων χωρίς συλλήψεις ενηλίκων του *R. cerasi* θεωρήθηκε ως το πέρας της πτήσης.

3.2.2. Περάτωση διάπαυσης στο ύπαιθρο

Τη διετία 2005 – 2006 μελετήσαμε την περάτωση της διάπαυσης του *R. cerasi* στο ύπαιθρο. Οι περιοχές μελέτης ήταν, όπως και στη μελέτη της φαινολογίας των ενηλίκων, η Δάφνη Κοζάνης (ορεινή) και τα Καλά Νερά Μαγνησίας (πεδινή).

Συγκεκριμένα, για να μελετήσουμε την πορεία της περάτωσης της διάπαυσης της μύγας των κερασιών στο ύπαιθρο, συλλέξαμε νύμφες των δύο πληθυσμών και τις εκθέσαμε στις συνθήκες υπαίθρου των δύο περιοχών για προκαθορισμένα χρονικά διαστήματα. Στη συνέχεια, οι νύμφες μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο (25 °C) όπου και παρακολούθησαμε την πορεία εξόδου των ενηλίκων. Στο εργαστήριο, καταγραφόταν ημερησίως ο αριθμός των αρσενικών και των θηλυκών ατόμων που περάτωναν τη διάπαυση και εξέρχονταν από το νυμφικό περίβλημα, και υπολογιζόταν το συνολικό ποσοστό εξόδου των ενηλίκων, το οποίο αποτελούσε το κριτήριο περάτωσης της διάπαυσης.

Κάθε ένας από τους δύο πληθυσμούς των νυμφών (ορεινός και πεδινός) εκτέθηκε στις συνθήκες υπαίθρου της περιοχής προέλευσής του αλλά και στις συνθήκες της άλλης περιοχής όπου επικρατούν πολύ διαφορετικές κλιματικές συνθήκες. Με τον τρόπο αυτό προσπαθήσαμε να διαπιστώσουμε α) αν η περάτωση της διάπαυσης ακολουθεί την ίδια πορεία για τους δύο πληθυσμούς στις διαφορετικές συνθήκες β) πόσο διαφέρει χρονικά η έξοδος των ενηλίκων από την εποχή ωρίμανσης των κερασιών και αν υπάρχει δυνατότητα συγχρονισμού της φαινολογίας του εντόμου και του ξενιστή της νέας περιοχής. Το παραπάνω πειραματικό σχέδιο επιτρέπει τη σύγκριση της έντασης της διάπαυσης μεταξύ των δύο πληθυσμών και πιθανόν την απάντηση ερωτημάτων σχετικά με τη ροή γονιδίων μεταξύ του ορεινού και πεδινού πληθυσμού στην περίπτωση που συνυπάρχουν σε μια περιοχή.

Αναλυτικά, για τη μελέτη της διάπαυσης του ορεινού και του πεδινού πληθυσμού του *R. cerasi* το 2005 συλλέχθηκαν προσβεβλημένα κεράσια από την περιοχή της Δάφνης Κοζάνης και των Καλών Νερών Μαγνησίας. Τα κεράσια μεταφέρονταν στο εργαστήριο, τοποθετούνταν σε λεκάνες με άμμο

και η πορεία της νύμφωσης ελεγχόταν όπως περιγράφεται στο κεφάλαιο «Γενικά Υλικά και Μέθοδοι».

Ακολουθώντας την παραπάνω μέθοδο, συλλέχθηκαν συνολικά 2.400 νύμφες. Από αυτές, 1.200 νύμφες προήλθαν από τον ορεινό πληθυσμό της Δάφνης Κοζάνης και 1.200 από τον πεδινό πληθυσμό των Καλών Νερών Μαγνησίας. Το σύνολο των νυμφών χωρίστηκε σε ομάδες των 50 ατόμων τα οποία τοποθετήθηκαν σε πλαστικά φιαλίδια (erpendorf). Οι νύμφες παρέμειναν σε συνθήκες εργαστηρίου [θερμοκρασία 25 ± 2 °C, σχετική υγρασία $60 \pm 5\%$, φωτοπερίοδος 14:10 (Φ:Σ) με φωτόφαση τις 06:00 έως τις 20:00] όλο τον Ιούλιο και στις 28 Αυγούστου τις μεταφέραμε σε συνθήκες υπαίθρου.

Αναλυτικά, από τις νύμφες του ορεινού πληθυσμού του *R. cerasi* της Δάφνης, 600 μεταφέρθηκαν στην περιοχή της Δάφνης Κοζάνης και 600 μεταφέρθηκαν στην περιοχή των Καλών Νερών Μαγνησίας. Με ανάλογο τρόπο, 600 νύμφες του πεδινού πληθυσμού των Καλών Νερών Μαγνησίας μεταφέρθηκαν στη Δάφνη Κοζάνης και 600 στα Καλά Νερά. Έτσι, μελετήθηκε η περάτωση της διάπαυσης σε 4 ομάδες νυμφών, δηλαδή σε έναν ορεινό και έναν πεδινό πληθυσμό του εντόμου, σε συνθήκες τόσο μιας ορεινής όσο και μιας πεδινής περιοχής.

Κάθε μήνα, κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου, και κάθε 15 ημέρες κατά τους χειμερινούς και ανοιξιάτικους μήνες, μέχρι τα τέλη Απριλίου 2005, ένα δείγμα 50 νυμφών από κάθε ομάδα μεταφερόταν στο εργαστήριο και παρέμενε στις παραπάνω σταθερές συνθήκες μέχρι την έξοδο των ενηλίκων. Η περάτωση της διάπαυσης καθορίστηκε από τον αριθμό των ενηλίκων που εξήλθαν.

3.2.3. Περάτωση διάπαυσης στο εργαστήριο

Τη διετία 2005 – 2006 μελετήσαμε την περάτωση της διάπαυσης της μύγας των κερασιών στο εργαστήριο. Οι πληθυσμοί του *R. cerasi* που χρησιμοποιήθηκαν για το σκοπό αυτό προήλθαν, και πάλι, από την ορεινή περιοχή της Δάφνης Κοζάνης και από την πεδινή περιοχή των Καλών Νερών Μαγνησίας. Οι νύμφες των δύο πληθυσμών που συλλέξαμε, εκτέθηκαν σε συνδυασμούς περιόδων χαμηλών (5 °C) και υψηλών (25 °C) θερμοκρασιών.

Συγκεκριμένα, προσπαθήσαμε να διαπιστώσουμε πώς επιδρά στην περάτωση της διάπαυσης α) η διάρκεια έκθεσης νυμφών του ορεινού πληθυσμού σε υψηλές θερμοκρασίες και β) η έκθεση νυμφών του ορεινού και πεδινού πληθυσμού σε διαφορετικούς συνδυασμούς περιόδων υψηλών και χαμηλών θερμοκρασιών.

Η επίδραση της περιόδου έκθεσης σε υψηλές θερμοκρασίες, στην περάτωση της διάπαυσης, μελετήθηκε σε νύμφες μόνο του ορεινού πληθυσμού. Για το σκοπό αυτό, 350 νύμφες του πληθυσμού της Δάφνης χωρίστηκαν σε δείγματα 50 ατόμων (7 δείγματα) και τοποθετήθηκαν σε πλαστικά φιαλίδια (erpendorf). Αναλυτική περιγραφή της συλλογής των νυμφών δίνεται στο κεφάλαιο «Γενικά Υλικά και Μέθοδοι» και στο υποκεφάλαιο 3.2.2 «Περάτωση της διάπαυσης στο ύπαιθρο». Το σύνολο των νυμφών παρέμεινε σε σταθερή θερμοκρασία (25 °C) όλο τον Ιούλιο και στη συνέχεια, κάθε μήνα ένα δείγμα 50 νυμφών μεταφερόταν στους 5 °C για 5 μήνες (172 ημέρες). Μετά την πάροδο των 5 μηνών σε χαμηλή θερμοκρασία, οι νύμφες μεταφέρθηκαν και πάλι στους 25 °C και παρακολούθησαμε την πορεία εξόδου των ενηλίκων.

Η επίδραση της διάρκειας συνδυασμών υψηλών (25 °C) και χαμηλών (5 °C) θερμοκρασιών στην περάτωση της διάπαυσης μελετήθηκε και στους δύο πληθυσμούς του *R. cerasi*. Αναλυτικά, συλλέξαμε 350 νύμφες από τη Δάφνη και 350 νύμφες από τα Καλά Νερά, τις χωρίσαμε σε ομάδες των 50 ατόμων (7 δείγματα) και τις τοποθετήσαμε σε πλαστικά φιαλίδια (erpendorf). Οι νύμφες των δύο πληθυσμών παρέμειναν σε σταθερή θερμοκρασία 25 °C όλο τον Ιούλιο και στη συνέχεια, κάθε μήνα, ένα δείγμα 50 νυμφών κάθε πληθυσμού μεταφερόταν στους 5 °C. Η διαδικασία μεταφοράς δειγμάτων από τους 25 °C στους 5 °C συνεχίστηκε για 7 μήνες (μέχρι τον Μάρτιο). Τον Μάρτιο επαναφέραμε όλα τα δείγματα στους 25 °C και παρακολούθησαμε την πορεία εξόδου των ενηλίκων. Με το πείραμα αυτό, θελήσαμε να προσεγγίσουμε το βέλτιστο συνδυασμό υψηλών και χαμηλών θερμοκρασιών ώστε να μεγιστοποιήσουμε το ποσοστό εξόδου των ενηλίκων για τον καθένα από τους δύο πληθυσμούς μας. Η διαχείριση των νυμφών στο εργαστήριο είναι πολύ σημαντική για την εκτροφή του *R. cerasi* και ενδεχομένως μπορεί να αξιοποιηθεί σε προσπάθειες ανάπτυξης μεθόδων μαζικής εκτροφής.

Και στα δύο παραπάνω πειράματα, ο αριθμός των αρσενικών και θηλυκών ατόμων που εξέρχονταν από τα νυμφικά περιβλήματα καταγραφόταν καθημερινά. Έτσι υπολογίσαμε το συνολικό ποσοστό εξόδου των ενηλίκων το οποίο αποτελούσε το κριτήριο περάτωσης της διάπαυσης.

3.3. Αποτελέσματα

3.3.1. Φαινολογία

Στο Διάγραμμα 3 δίνεται η απόλυτη ελάχιστη και μέγιστη ημερήσια θερμοκρασία της ορεινής και πεδινής περιοχής για το 2006. Το εύρος των θερμοκρασιών που επικρατεί σε κάθε περιοχή και που αποτελεί έναν από τους κυριότερους παράγοντες διαμόρφωσης του κλίματος, επηρεάζει τη φαινολογία των κερασιών της περιοχής και την πτήση των ενηλίκων του *R. cerasi*. Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 4 η πορεία της πτήσης των ενηλίκων στην περιοχή της Δάφνης Κοζάνης ήταν παραπλήσια τα έτη 2005 και 2006. Συγκεκριμένα, η έναρξη της πτήσης σημειώθηκε στα τέλη Μαΐου, το μέγιστο το δεύτερο δεκαπενθήμερο του Ιουνίου και το τέλος μετά τα μέσα Ιουλίου. Η διάρκεια της πτήσης ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη το 2006.

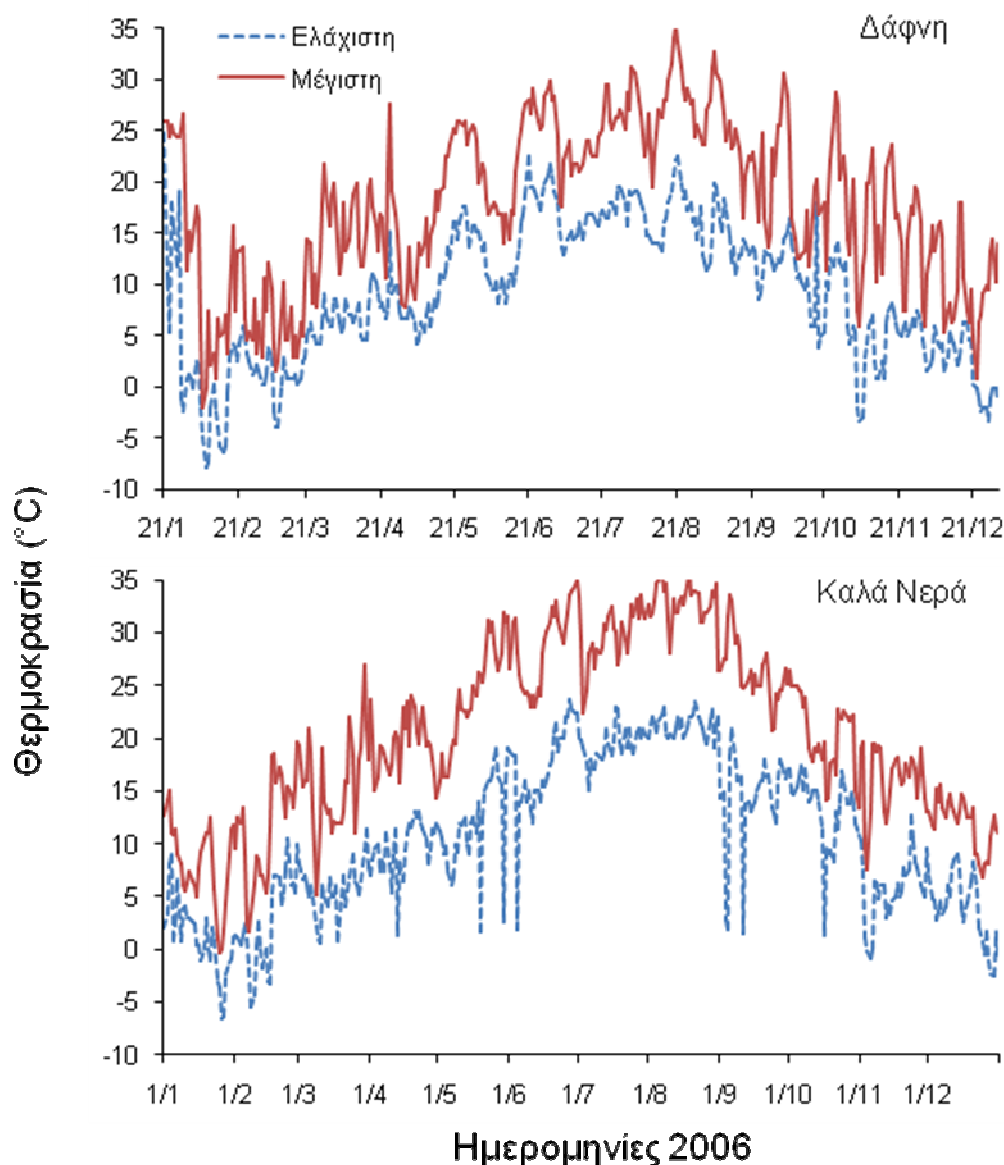
Το 2005, η πτήση των θηλυκών ξεκίνησε 15 ημέρες νωρίτερα από εκείνη των αρσενικών. Σημειώνεται ότι έως τις αρχές Ιουνίου, ο αριθμός των συλληφθέντων θηλυκών ήταν σχεδόν διπλάσιος από εκείνο των αρσενικών. Από τα μέσα Ιουνίου και μετά οι συλλήψεις των αρσενικών ξεπέρασαν εκείνες των θηλυκών. Το μέγιστο της πτήσης τόσο για τα αρσενικά όσο και για τα θηλυκά σημειώθηκε στα τέλη Ιουνίου. Οι συλλήψεις και για τα δύο φύλα μειώθηκαν σταδιακά από το τέλος Ιουνίου έως το τέλος Ιουλίου οπότε και σημειώθηκε το τέλος της πτήσης.

Το 2006, η έναρξη συλλήψεων των αρσενικών προηγήθηκε αυτής των θηλυκών και στη συνέχεια οι συλλήψεις αρσενικών και θηλυκών ατόμων ακολούθησαν όμοια πορεία μέχρι τα μέσα Μαΐου. Το μέγιστο της πτήσης σημειώθηκε στις 24 Ιουνίου και για τα δύο φύλα με την παγίδευση τριπλάσιου αριθμού αρσενικών απ' ότι θηλυκών εντόμων. Στα τέλη Ιουνίου παρατηρήθηκε κατακόρυφη πτώση στις συλλήψεις που οφειλόταν στην απότομη πτώση της θερμοκρασίας και την εκδήλωση βροχοπτώσεων στα

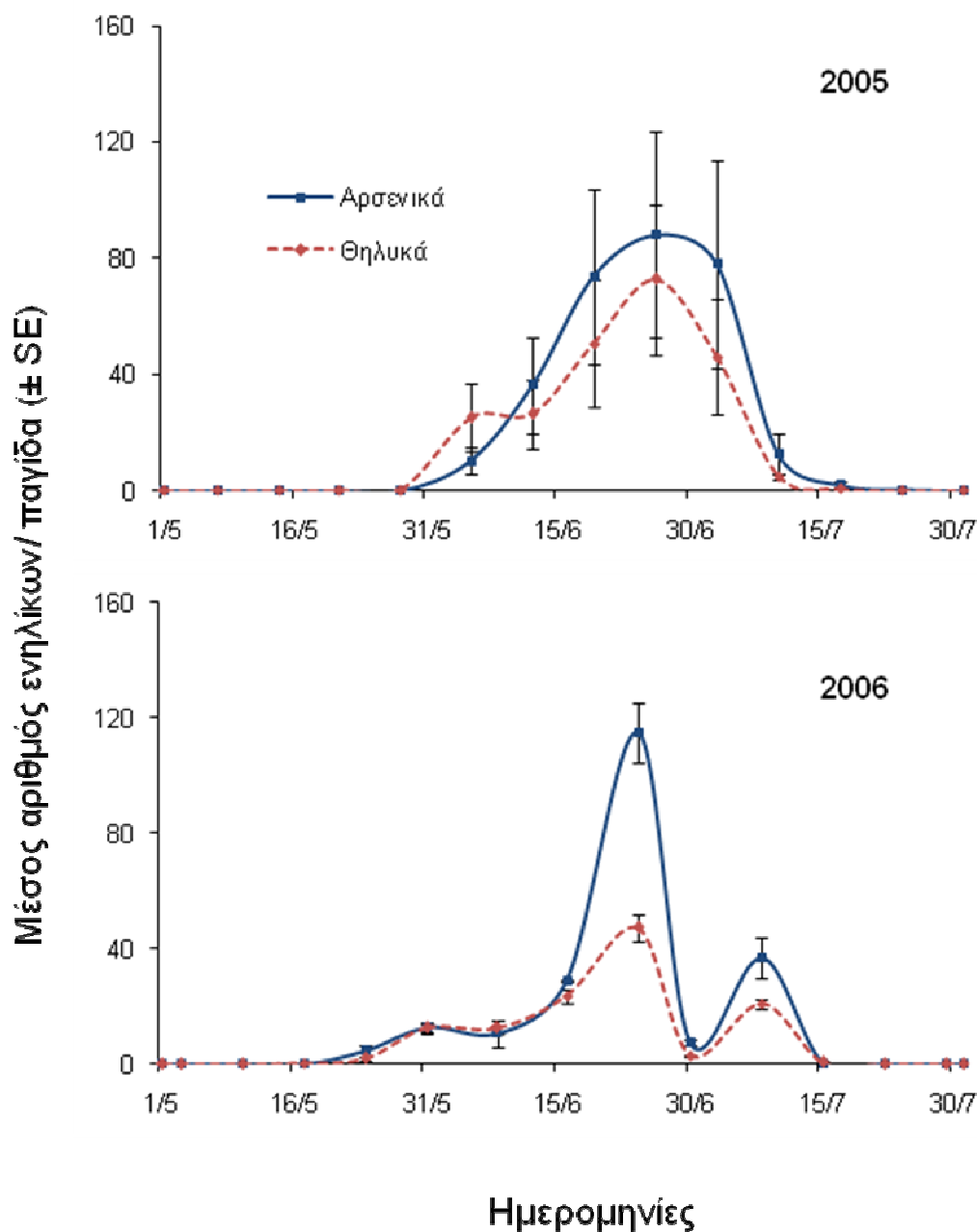
μέσα Ιουνίου διάρκειας 20 ημερών περίπου (Διάγραμμα 3). Στη συνέχεια, την πρώτη εβδομάδα του Ιουλίου παρατηρήθηκε εκ νέου αύξηση των συλλήψεων, με τα αρσενικά άτομα και πάλι να υπερβαίνουν σε αριθμό τα θηλυκά, ενώ το τέλος των συλλήψεων σημειώθηκε στα μέσα Ιουλίου. Ο μέσος αριθμός των συλληφθέντων αρσενικών ανά παγίδα υπερέβαινε αυτόν των θηλυκών και τα δύο έτη (Πίνακας 1).

Στο Διάγραμμα 5 δίνεται η πορεία πτήσης των ενηλίκων της μύγας των κερασιών για τη διετία 2005 – 2006, στα Καλά Νερά Μαγνησίας. Το 2005, αν και οι παγίδες τοποθετήθηκαν στις κερασιές την περίοδο της πτώσης των πετάλων, φαίνεται ότι δεν προλάβουμε την έναρξη της πτήσης. Το 2006, οι παγίδες τοποθετήθηκαν αρκετά νωρίτερα και οι πρώτες συλλήψεις ενηλίκων έγιναν στα μέσα Απριλίου. Το μέγιστο της πτήσης σημειώθηκε στα μέσα Μαΐου ενώ το τέλος των συλλήψεων καταγράφηκε, και για τα δύο έτη, το πρώτο δεκαήμερο του Ιουνίου. Και τα δύο έτη οι συλλήψεις των δύο φύλων ακολούθησαν παράλληλη αυξητική πορεία με τα παγιδευμένα αρσενικά να ξεπερνούν σε αριθμό τα θηλυκά (Πίνακας 1).

Η πορεία της πτήσης των ενηλίκων το 2005 δίνεται συγκριτικά για τις δύο περιοχές στο Διάγραμμα 6. Από το Διάγραμμα φαίνεται ξεκάθαρα πως οι συλλήψεις των ενηλίκων στη Δάφνη σημειώθηκαν 1,5 μήνα αργότερα απ' ό τι στα Καλά Νερά. Με ανάλογο τρόπο, το 2006 η πτήση των ενηλίκων μεταξύ των δύο περιοχών, διέφερε χρονικά με τις συλλήψεις του ορεινού πληθυσμού να σημειώνονται ένα μήνα αργότερα από αυτές του πεδινού πληθυσμού (Διάγραμμα 7). Συγκεκριμένα, στη Δάφνη Κοζάνης η διάρκεια της πτήσης των ενηλίκων σημειώθηκε από τα μέσα Μαΐου έως τα μέσα Ιουλίου και στα Καλά Νερά Μαγνησίας από τα μέσα Απριλίου έως τα μέσα Ιουνίου. Ο μέσος αριθμός ενηλίκων του πεδινού πληθυσμού ανά παγίδα ξεπερνούσε αυτόν του ορεινού πληθυσμού (Πίνακας 1) ενώ το μέγιστο των συλλήψεων στη Δάφνη παρατηρήθηκε 1,5 μήνα αργότερα από ότι στα Καλά Νερά.



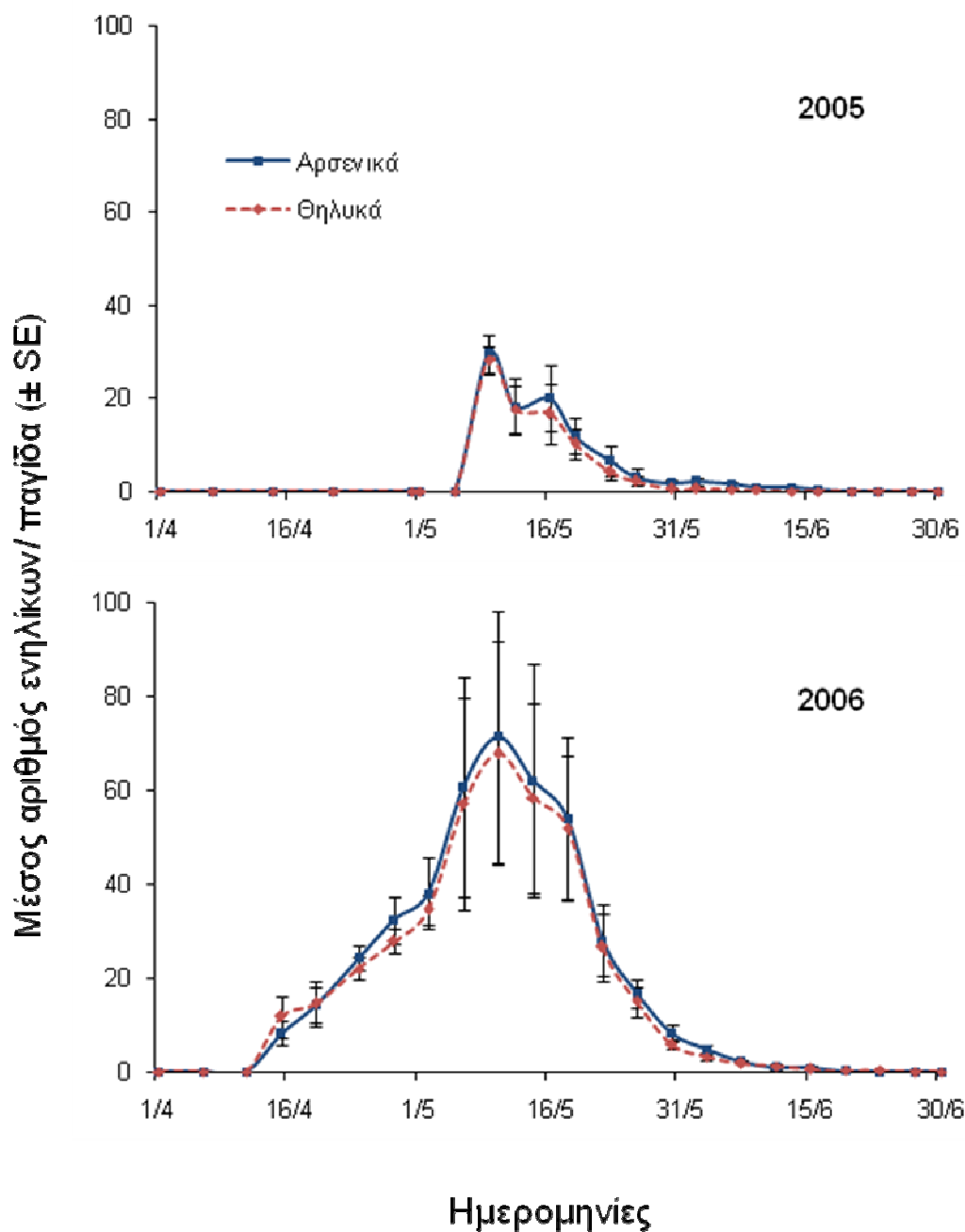
Διάγραμμα 3: Απόλυτη ελάχιστη και μέγιστη ημερήσια θερμοκρασία από τον Ιανουάριο έως το Δεκέμβριο του 2006 στις περιοχές Δάφνη Κοζάνης και Καλά Νερά Μαγνησίας. Οι θερμοκρασίες καταγράφονταν με τη βοήθεια αυτόματων καταγραφικών θερμοκρασίας (Hobo) στην περιοχή της Δάφνης καθώς και στο μετεωρολογικό σταθμό του Στρατιωτικού Αεροδρομίου Αγχιάλου που βρίσκεται σε απόσταση 10 κμ από την περιοχή Καλών Νερών.



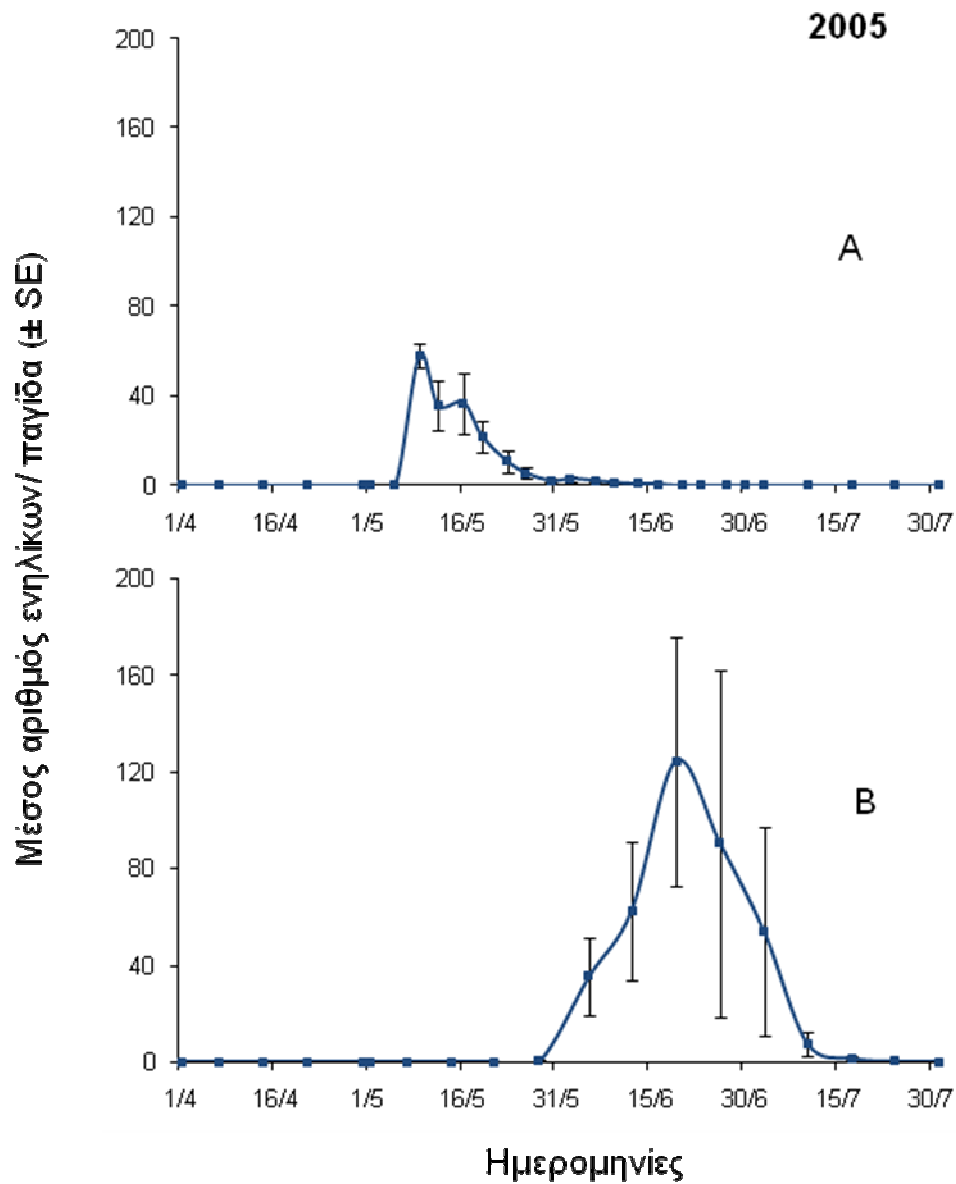
Διάγραμμα 4: Συγκριτική πορεία συλλήψεων ενήλικων του *R. cerasi* σε κίτρινες κολλητικές παγίδες Rebell στην περιοχή Δάφνη Κοζάνης τα έτη 2005 και 2006.

Πίνακας 1: Μέσοι όροι συλλήψεων καθώς και αναλογία φύλου των συλληφθέντων ατόμων για την περιοχή της Δάφνης και Καλών Νερών τα έτη 2005 και 2006.

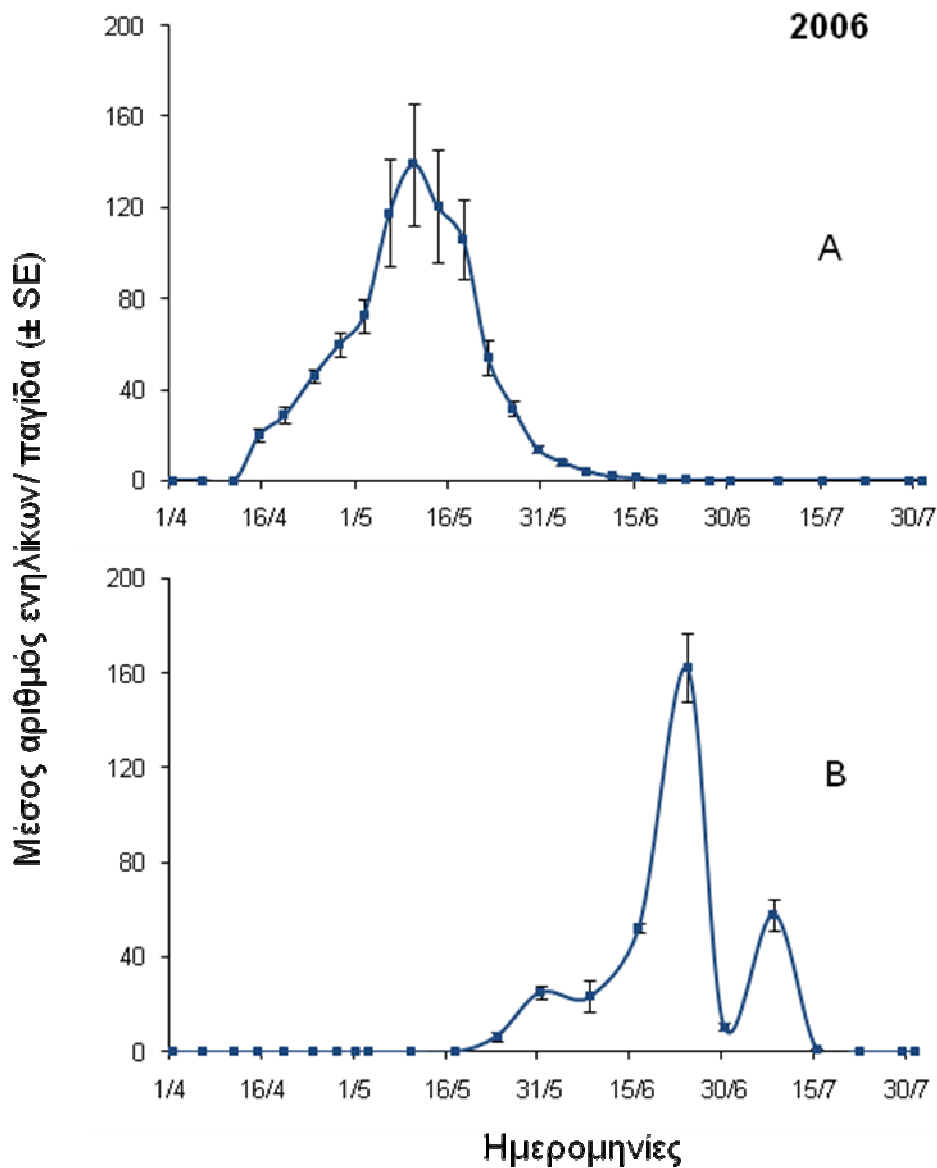
Ετος	Περιοχή	Αριθμός Παγίδων	Μ.Ο. Ενηλίκων/ Παγίδα ± SE			Αναλογία φύλου: αρσενικά/ θηλυκά
			Αρσενικά	Θηλυκά	Σύνολο	
2005	Δάφνη	3	301,3±26,5	226,7±18,9	528,0±44,9	1,33
	Καλά Νερά	6	96,3±4,7	80,5±4,3	176,8±9,8	1,20
2006	Δάφνη	3	217,0±19,9	123,3±8,6	340,0±28,1	1,76
	Καλά Νερά	4	427,0±14,3	400,0±13,2	827,0±27,5	1,07



Διάγραμμα 5: Συγκριτική πορεία συλλήψεων ενηλίκων του *R. cerasi* σε κίτρινες κολλητικές παγίδες Rebell στην περιοχή Καλών Νερών Μαγνησίας τα έτη 2005 και 2006.



Διάγραμμα 6: Πορεία συλλήψεων ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών) του *R. cerasi* στις περιοχές Καλών Νερών Μαγνησίας (A) και Δάφνη Κοζάνης (B) το 2005.



Διάγραμμα 7: Πορεία συλλήψεων ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών) του *R. cerasi* στις περιοχές Καλών Νερών Μαγνησίας (A) και Δάφνη Κοζάνης (B) το 2006.

3.3.2. Περάτωση διάπαυσης στο ύπαιθρο

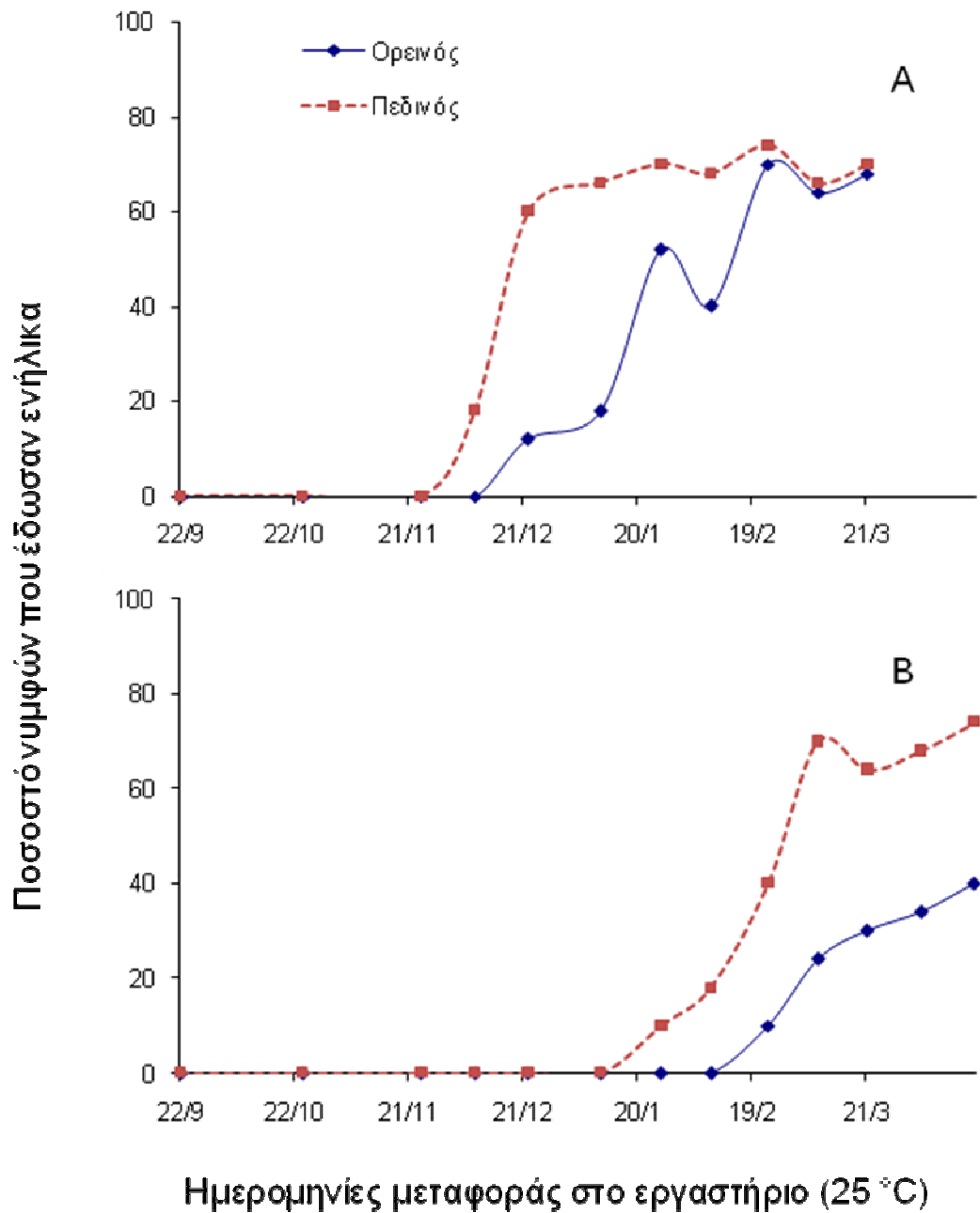
Η πορεία της περάτωσης της διάπαυσης για τους δύο πληθυσμούς του *R. cerasi* στην ορεινή και πεδινή περιοχή δίνεται συγκριτικά στο Διάγραμμα 8. Όπως φαίνεται, ο πεδινός πληθυσμός περάτωσε τη διάπαυση νωρίτερα από τον ορεινό τόσο στη Δάφνη όσο και στα Καλά Νερά. Συγκεκριμένα, ποσοστό μεγαλύτερο από 60% των νυμφών του πεδινού πληθυσμού έδωσε ενήλικα στις 22 Δεκεμβρίου στις συνθήκες της Δάφνης ενώ μόνο 12% του ορεινού πληθυσμού έδωσε ενήλικα την ίδια εποχή. Ο ορεινός πληθυσμός περάτωσε τη διάπαυση στις 23 Φεβρουαρίου στη Δάφνη με ποσοστό εξόδου 70%. Στα Καλά Νερά, στις 23 Φεβρουαρίου, το ποσοστό των νυμφών του πεδινού πληθυσμού που έδωσαν ενήλικα ήταν 40%, ενώ του ορεινού πληθυσμού, την ίδια ημερομηνία, ήταν μόλις 10%. Στις 8 Μαρτίου ο πεδινός πληθυσμός περάτωσε τη διάπαυση με ποσοστό εξόδου ενηλίκων 70% ενώ μόνο 24% των νυμφών του ορεινού πληθυσμού έδωσαν ενήλικα την ίδια ημερομηνία. Η περάτωση της διάπαυσης των πρώτων ατόμων, μεταξύ ορεινού και πεδινού πληθυσμού, στις συνθήκες της Δάφνης εμφάνισε χρονική απόκλιση δύο εβδομάδων ενώ στις συνθήκες των Καλών Νερών, ένα μήνα.

Το υψηλότερο ποσοστό των νυμφών που έδωσαν ενήλικα για τον ορεινό και τον πεδινό πληθυσμό ήταν 70 και 74% αντίστοιχα, στις συνθήκες της Δάφνης, και προέρχονταν από δείγματα που είχαν παραμείνει στο ύπαιθρο έως τις 23 Φεβρουαρίου. Στις συνθήκες των Καλών Νερών, το μέγιστο ποσοστό νυμφών του ορεινού πληθυσμού που έδωσαν ενήλικα ήταν 40% και παρατηρήθηκε σε νύμφες που παρέμειναν στο ύπαιθρο έως τις 18 Απριλίου, ενώ το μέγιστο ποσοστό νυμφών του πεδινού πληθυσμού που έδωσαν ενήλικα ήταν 70% και σημειώθηκε στις 8 Μαρτίου. Ένα σημαντικό ποσοστό νυμφών και των δύο πληθυσμών (20-30%) φαίνεται πως παραμένει σε διάπαυση για περισσότερα του ενός έτη. Επιπλέον, η έκθεση των νυμφών του ορεινού πληθυσμού στις συνθήκες υπαίθρου των Καλών Νερών για περισσότερο από επτά μήνες (από 28 Αυγούστου 2005 έως 18 Απριλίου 2006), δεν ήταν ικανή για την περάτωση της διάπαυσης (ποσοστό μόλις 40% των νυμφών έδωσε ενήλικα).

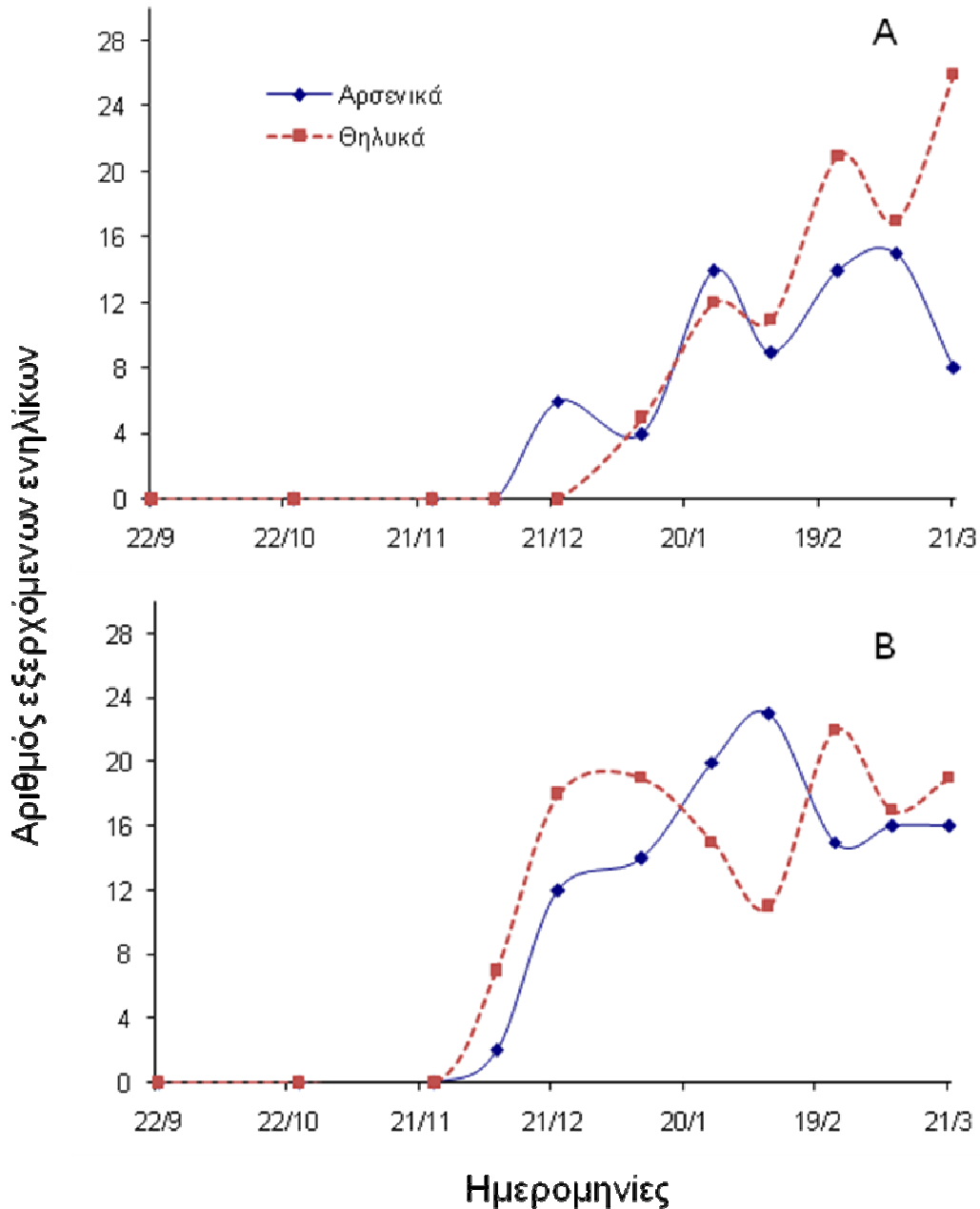
Η πορεία της περάτωσης της διάπαυσης για τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα του ορεινού και του πεδινού πληθυσμού στις συνθήκες της Δάφνης

δίνεται στο Διάγραμμα 9 και στις συνθήκες των Καλών Νερών στο Διάγραμμα 10. Όπως φαίνεται, σε όλες σχεδόν τις περιπτώσεις ο αριθμός των νυμφών που έδωσαν θηλυκά ξεπέρασε συνολικά αυτόν των αρσενικών. Η μέση διάρκεια εξόδου των θηλυκών, μετά τη μεταφορά στο εργαστήριο, ήταν μικρότερη από αυτή των αρσενικών (Πίνακες 2 και 3). Η πορεία περάτωσης της διάπαυσης διέφερε επίσης, ανάμεσα σε αρσενικά και θηλυκά άτομα. Στον ορεινό πληθυσμό, στις συνθήκες της Δάφνης, τα αρσενικά περάτωσαν πρώτα τη διάπαυση ενώ στον πεδινό πληθυσμό συνέβη το αντίθετο. Η ανάλυση παραλλακτικότητας τριών παραγόντων με τον πληθυσμό ως πρώτο παράγοντα, την ημερομηνία μεταφοράς στους 25 °C ως δεύτερο παράγοντα και το φύλο ως τρίτο παράγοντα έδειξε πως ο πληθυσμός (ορεινός, πεδινός), η διάρκεια παραμονής σε συνθήκες υπαίθρου, το φύλο και η αλληλεπίδραση πληθυσμού και διάρκειας παραμονής σε συνθήκες υπαίθρου έχουν σημαντική επίδραση στη μεταδιαπαιτική εξέλιξη των νυμφών, και στις δύο περιοχές (Πίνακας 4).

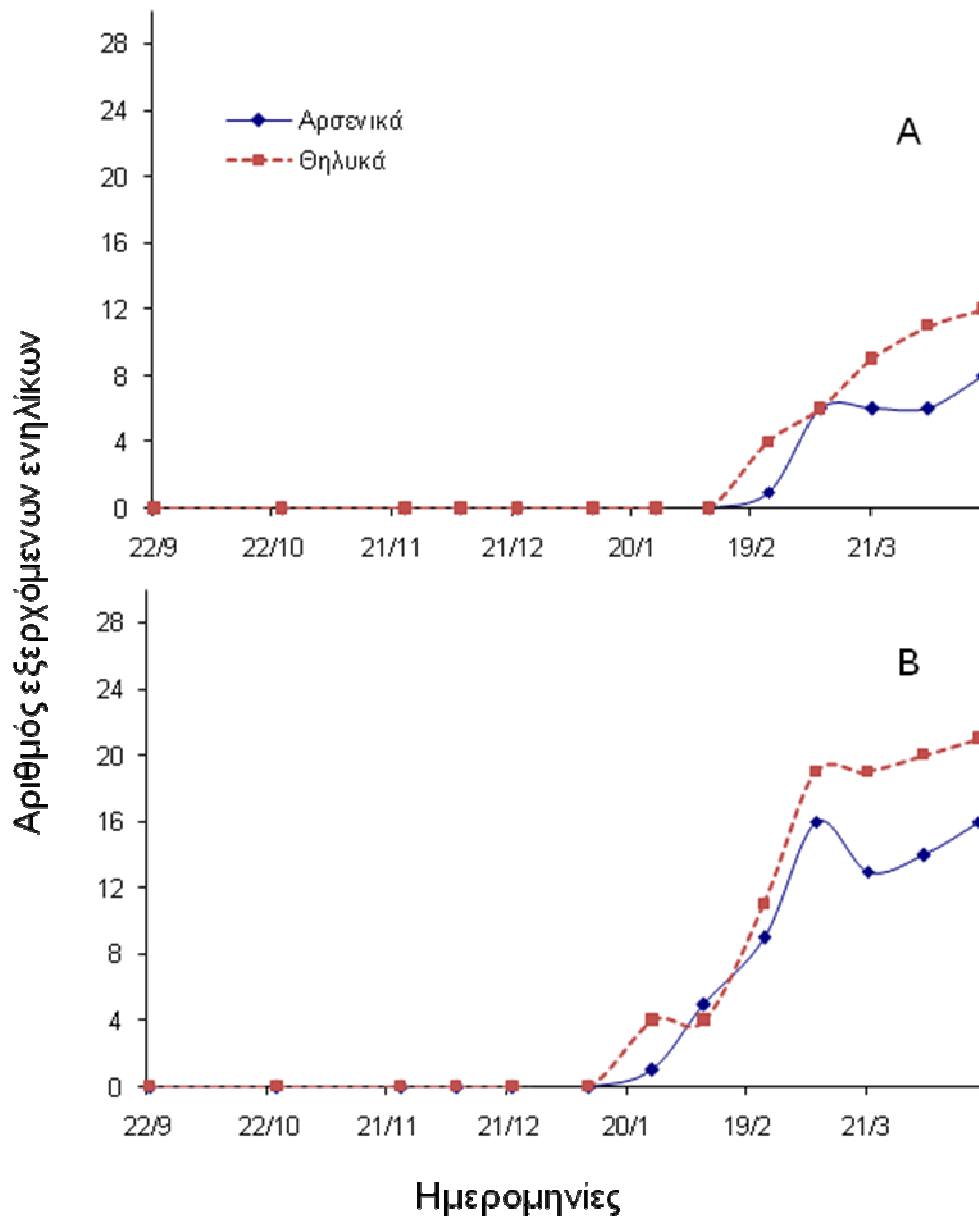
Το ποσοστό των νυμφών που περάτωνα τη διάπαυση αυξανόταν όσο το χρονικό διάστημα που παρέμεναν σε συνθήκες υπαίθρου αυξανόταν, δηλαδή όσο αργότερα μεταφέρονταν στο εργαστήριο. Ακόμη, το απαιτούμενο διάστημα παραμονής των νυμφών στις συνθήκες εργαστηρίου (25 °C) για την ολοκλήρωση της μεταδιαπαιτικής εξέλιξης και την έξοδο των ενηλίκων, ήταν μικρότερο όσο περισσότερο διάστημα παρέμεναν οι νύμφες σε συνθήκες υπαίθρου (Διαγράμματα 11,12,13,14).



Διάγραμμα 8: Περάτωση της διάπαισης του ορεινού και πεδινού πληθυσμού του *R. cerasi*, στο ύπαιθρο, για τις περιοχές της Δάφνης (A) και των Καλών Νερών (B), το 2005-2006.



Διάγραμμα 9: Πορεία εξόδου ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών), σε σχέση με την ημερομηνία μεταφοράς των νυμφών στο εργαστήριο, του ορεινού (A) και πεδινού (B) πληθυσμού του *R. cerasi* στην περιοχή Δάφνης Κοζάνης κατά το 2005-2006, κάθε δείγμα αποτελούνταν από 50 νύμφες.



Διάγραμμα 10: Πορεία εξόδου των ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών), σε σχέση με την ημερομηνία μεταφοράς των νυμφών στο εργαστήριο, του ορεινού (A) και πεδινού (B) πληθυσμού του *R. cerasi* στην περιοχή Καλών Νερών Μαγνησίας κατά το 2005-2006, κάθε δείγμα αποτελούνταν από 50 νύμφες.

Πίνακας 2: Μέση διάρκεια εξόδου, σε ημέρες, και αναλογία φύλου ενηλίκων του ορεινού και πεδινού πληθυσμού που γερότωσαν τη διάπαιση στην ορεινή περιοχή της Δάφνης

Ημερομηνία μεταφοράς στο εργαστήριο (25 °C)	Ορεινός Πληθυσμός (Δάφνη)			Πεδινός Πληθυσμός (Καλά Νερά)		
	Αναλογία φύλου αρσενικών/θηλυκά	Μέση διάρκεια εξόδου (ημέρες ±SE)		Αναλογία φύλου αρσενικών/θηλυκά	Μέση διάρκεια εξόδου (ημέρες ±SE)	
		Αρσενικά	Θηλυκά		Αρσενικά	Θηλυκά
22/9/2005	-	0	0	-	0	0
24/10/2005	-	0	0	-	0	0
24/11/2005	-	0	0	-	0	0
8/12/2005	-	0	0	0.29	32.0±1.0	29.6±0.6
22/12/2005	-	37.8±0.7	0	0.67	30.7±1.0	29.4±0.8
10/1/2006	0.80	28.0±1.1	29.2±0.7	0.74	27.0±1.0	24.4±0.9
26/1/2006	1.17	28.4±0.8	27.2±1.0	1.33	23.1±0.6	22.7±0.7
8/2/2006	0.82	28.0±0.9	24.2±1.1	2.09	21.6±0.7	20.2±0.6
23/2/2006	0.67	24.4±0.7	24.3±0.6	0.68	22.6±0.8	21.0±0.4
8/3/2006	0.68	22.8±1.1	21.7±0.5	0.94	20.2±0.5	19.4±0.2
21/3/2006	0.31	16.9±0.4	16.8±0.5	0.84	15.5±0.3	15.2±0.3

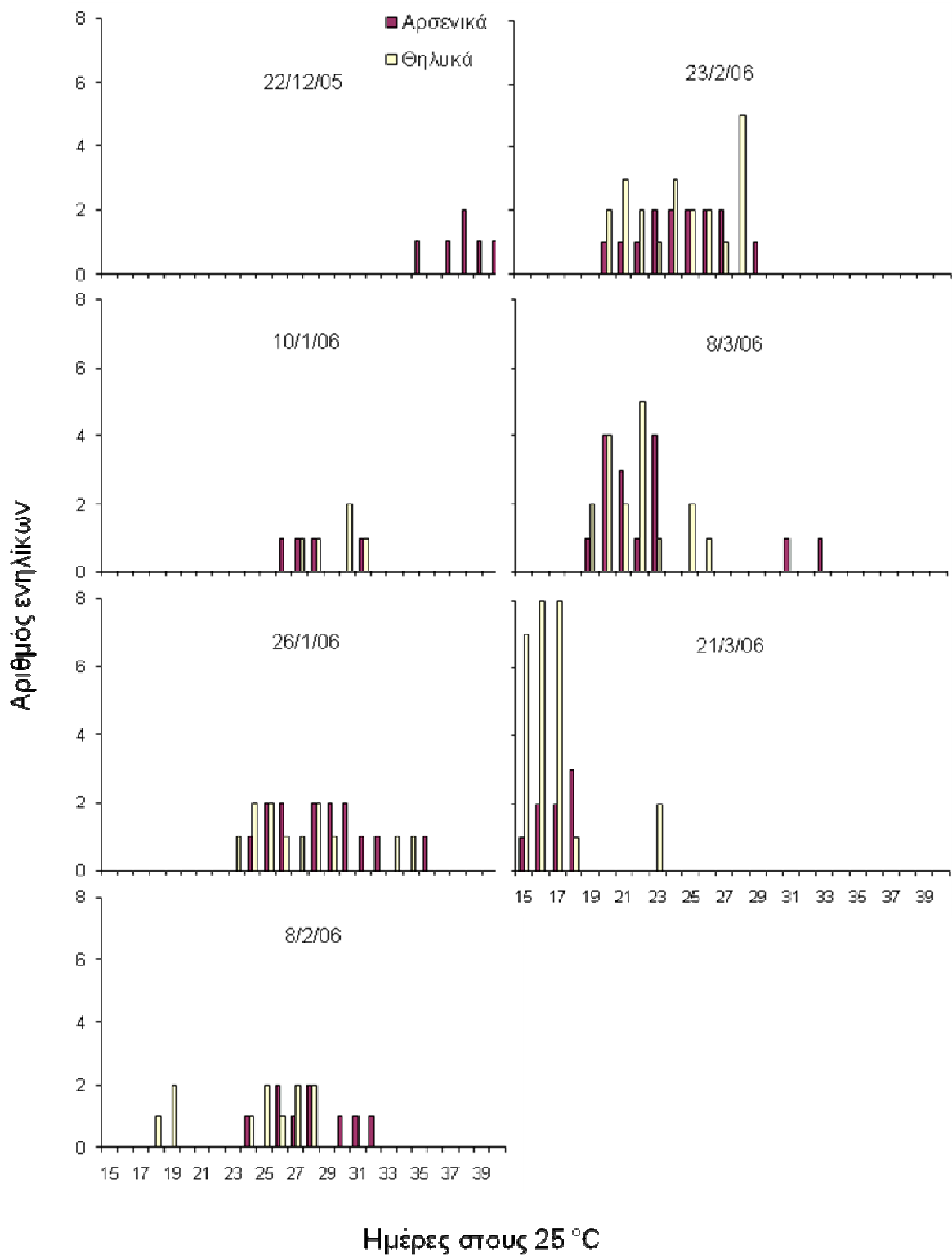
Πίνακας 3: Μέση διάρκεια εξόδου, σε ημέρες, και αναλογία φύλου ενηλίκων του σρεινού και πεδινού πληθυσμού του περάτωσαν τη διάτρυση στην πεδινή περιοχή των Κάλων Νερών.

Ημερομηνία μεταφοράς στο εργαστήριο (25 C)	Ορεινός Πληθυσμός (Δάφνη)			Πεδινός Πληθυσμός (Καλα Νερά)		
	Αναλογία φύλου αρσενικά/θηλυκά	Μέση διάρκεια εξόδου (ημέρες ±SE)		Αναλογία φύλου αρσενικά/θηλυκά	Μέση διάρκεια εξόδου (ημέρες ±SE)	
		Αρσενικά	Θηλυκά		Αρσενικά	Θηλυκά
22/9/05	-	0	0	-	0	0
24/10/05	-	0	0	-	0	0
24/11/05	-	0	0	-	0	0
3/12/05	-	0	0	-	0	0
22/12/05	-	0	0	-	0	0
10/1/06	-	0	0	-	0	0
26/1/06	-	0	0	-	0	0
8/2/06	-	0	0	0.25	28.0±0.0	29.0±2.9
23/2/06	0.25	37.0±0.0	29.5±2.5	1.25	31.6±1.6	24.8±3.2
8/3/06	1.00	24.3±2.8	21.5±2.3	0.84	25.9±2.6	23.1±1.6
21/3/06	0.67	23.3±1.1	21.0±1.3	0.68	16.2±0.9	15.2±1.5
4/4/06	0.55	15.3±2.1	16.5±1.4	0.70	12.2±1.5	10.8±1.3
18/4/06	0.67	4.5±1.1	3.9±0.7	0.76	5.8±1.2	4.0±0.8
					1.2±0.1	1.3±0.2

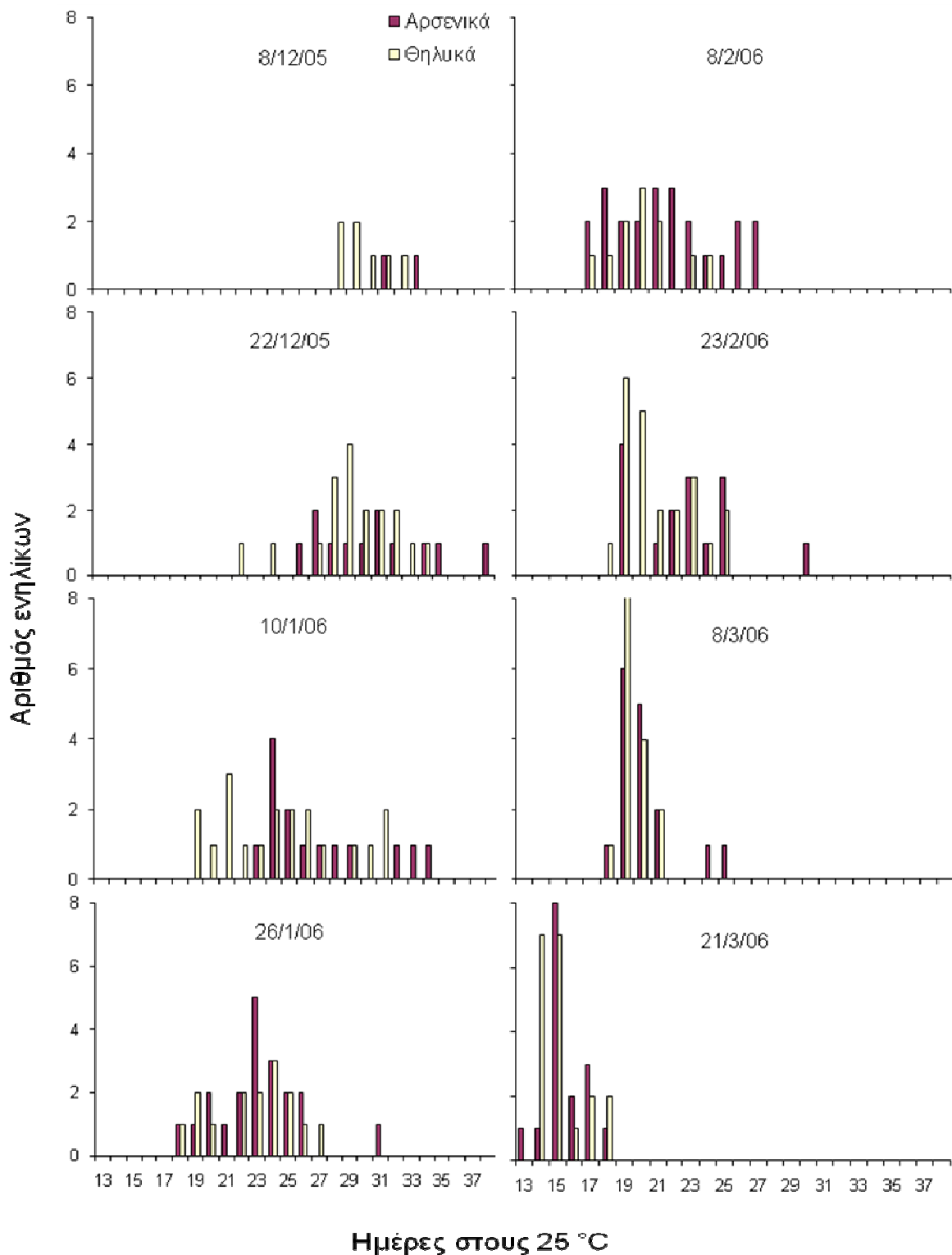
Πίνακας 4. Ανάλυση παραλλακτικότητας των επιδράσεων του πληθυσμού (πρώτος παράγοντας, δύο επίπεδα: ορεινός – πεδινός), του φύλου (δευτερός παράγοντας, δύο επίπεδα: αρσενικά, θηλυκά) και της ημερομηνίας δειγματοληψίας (трίτος παράγοντας) στη χρονική διαφορά φρεσινικά, μεταβολή των ενθλιπών μετά τη μεταφορά των γυμνών στους 25 °C. Οι γυμνές του κάθε πληθυσμού τρέφονταν, μέχρι τη μεταφορά τους στο εργαστήριο, στο ύπαιθρο.

Πηγή παραλλακτικότητας	Περιοχή προέλευσης και πληθυσμός			
	df	F	df	F
Πληθυσμός	1	132.5*	1	105.3*
	7	127.2*	6	108.4*
Δειγματοληψία	1	10.1*	1	5.3*
	6	4.5*	4	5.8*
Δε.γματοληψία X Πληθυσμός	1	0.3	1	0.4
	7	0.8	6	1.1
Δειγματοληψία X Φύλο	5	1.5	4	0.6
	379		217	

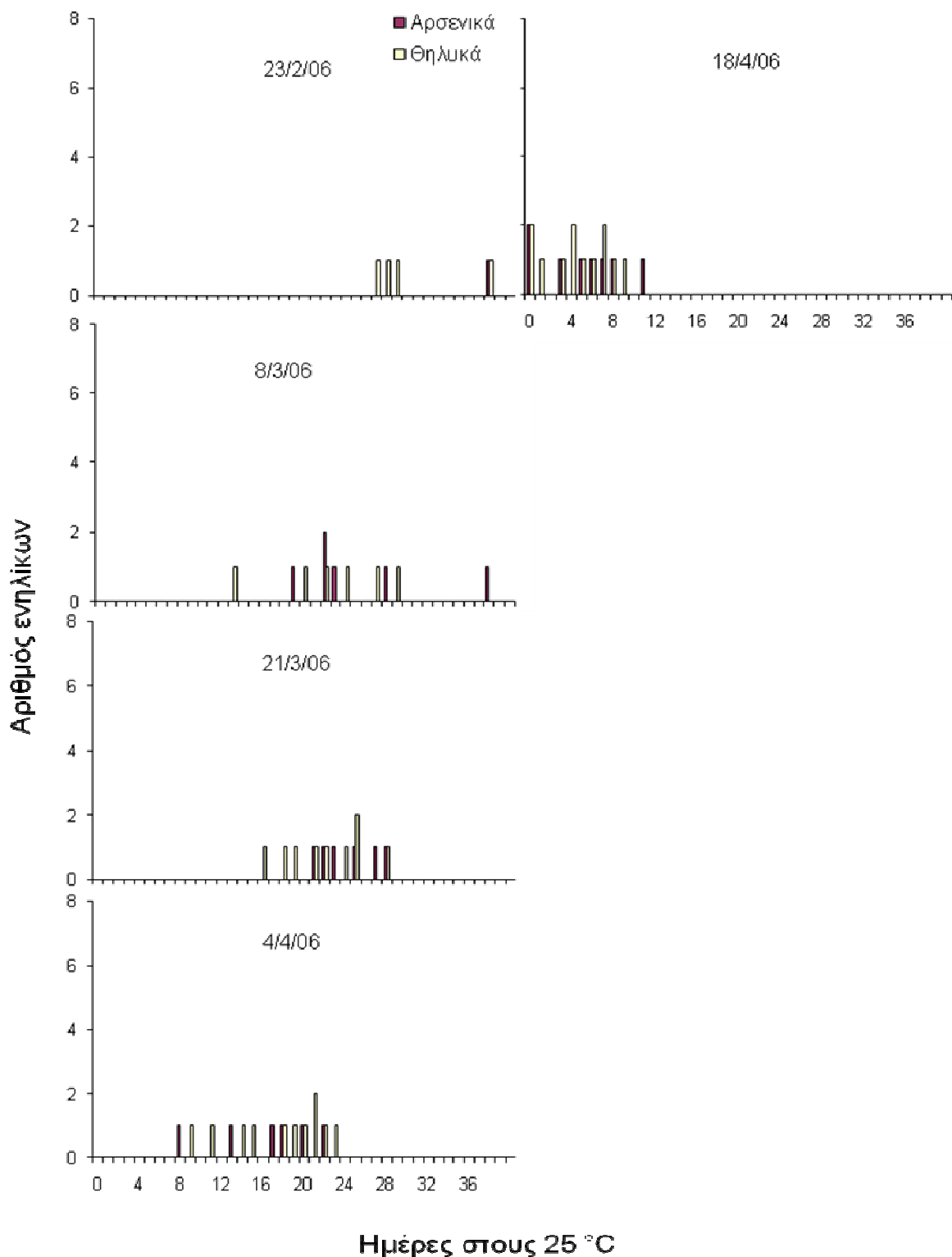
Το αστεράκι δείχνει τη σημαντικότητα σε επίπεδο $P = 0.05$.



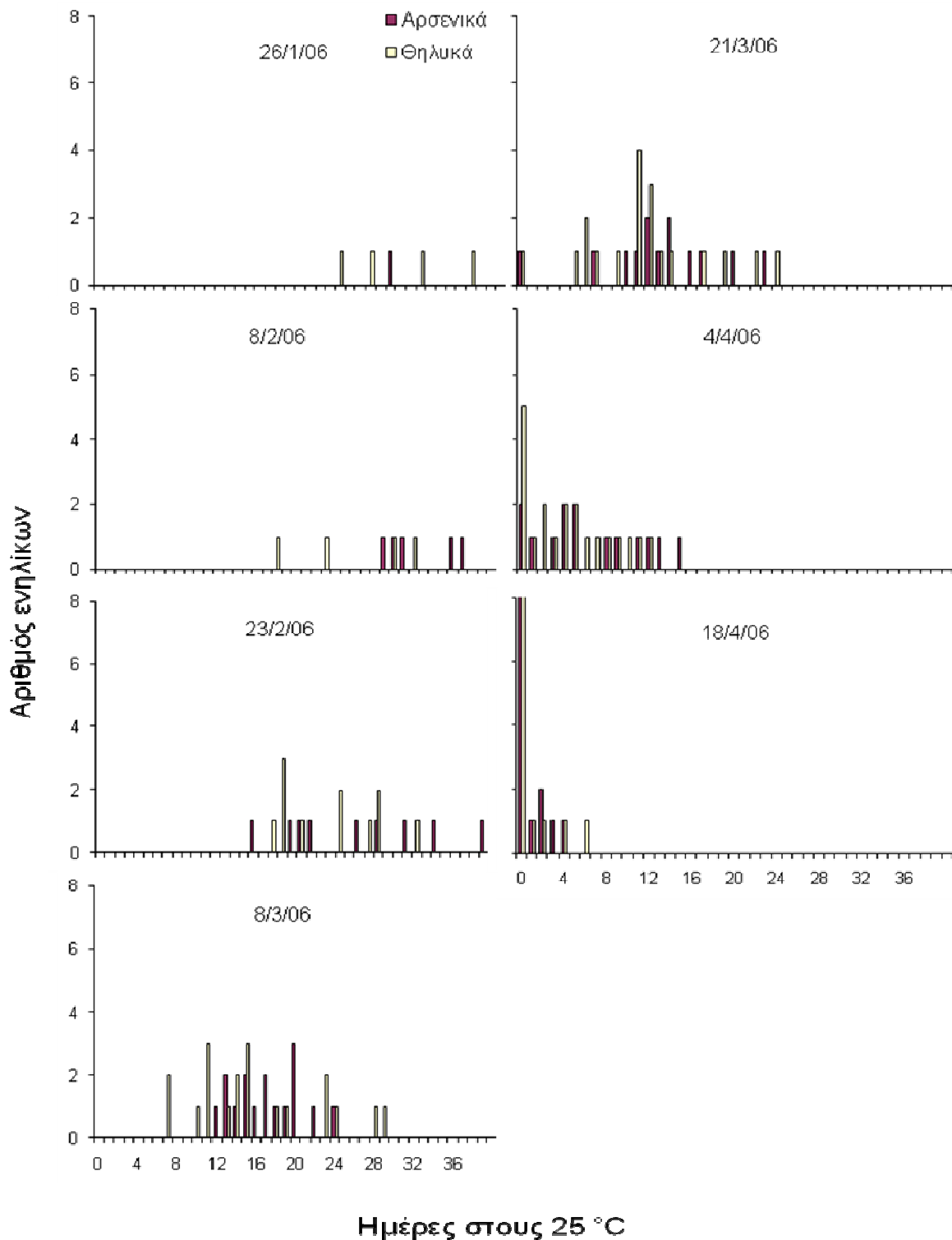
Διάγραμμα 11. Πορεία εξόδου των ενηλίκων του ορεινού πληθυσμού στο εργαστήριο, σε σχέση με το διάστημα παραμονής των νυμφών στους 25 °C μετά τη μεταφορά τους από το ύπαιθρο. Η ημερομηνία μεταφοράς των νυμφών από το ύπαιθρο στο εργαστήριο φαίνεται στο πάνω μέρος κάθε διαγράμματος. Έως τη μεταφορά τους στο εργαστήριο οι νύμφες παρέμειναν στην ορεινή περιοχή.



Διάγραμμα 12: Πορεία εξόδου των ενηλίκων του πεδινού πληθυσμού στο εργαστήριο, σε σχέση με το διάστημα παραμονής των νυμφών στους 25 °C μετά τη μεταφορά τους από το ύπαιθρο. Η ημερομηνία μεταφοράς των νυμφών από το ύπαιθρο στο εργαστήριο φαίνεται στο πάνω μέρος κάθε διαγράμματος. Έως τη μεταφορά τους στο εργαστήριο οι νύμφες παρέμειναν στην ορεινή περιοχή



Διάγραμμα 13: Πορεία εξόδου των ενηλικών του ορεινού πληθυσμού στο εργαστήριο, σε σχέση με το διάστημα παραμονής των νυμφών στους 25 °C μετά τη μεταφορά τους από το ύπαιθρο. Η ημερομηνία μεταφοράς των νυμφών από το ύπαιθρο στο εργαστήριο φαίνεται στο πάνω μέρος κάθε διαγράμματος. Έως τη μεταφορά τους στο εργαστήριο οι νύμφες παρέμειναν στην πεδινή περιοχή.



Διάγραμμα 14: Πορεία εξόδου των ενηλίκων του πεδινού πληθυσμού στο εργαστήριο, σε σχέση με το διάστημα παραμονής των νυμφών στους 25 °C μετά τη μεταφορά τους από το ύπαιθρο. Η ημερομηνία μεταφοράς των νυμφών από το ύπαιθρο στο εργαστήριο φαίνεται στο πάνω μέρος κάθε διαγράμματος. Έως τη μεταφορά τους στο εργαστήριο οι νύμφες παρέμειναν στην πεδινή περιοχή.

3.3.3. Περάτωση διάπαυσης στο εργαστήριο

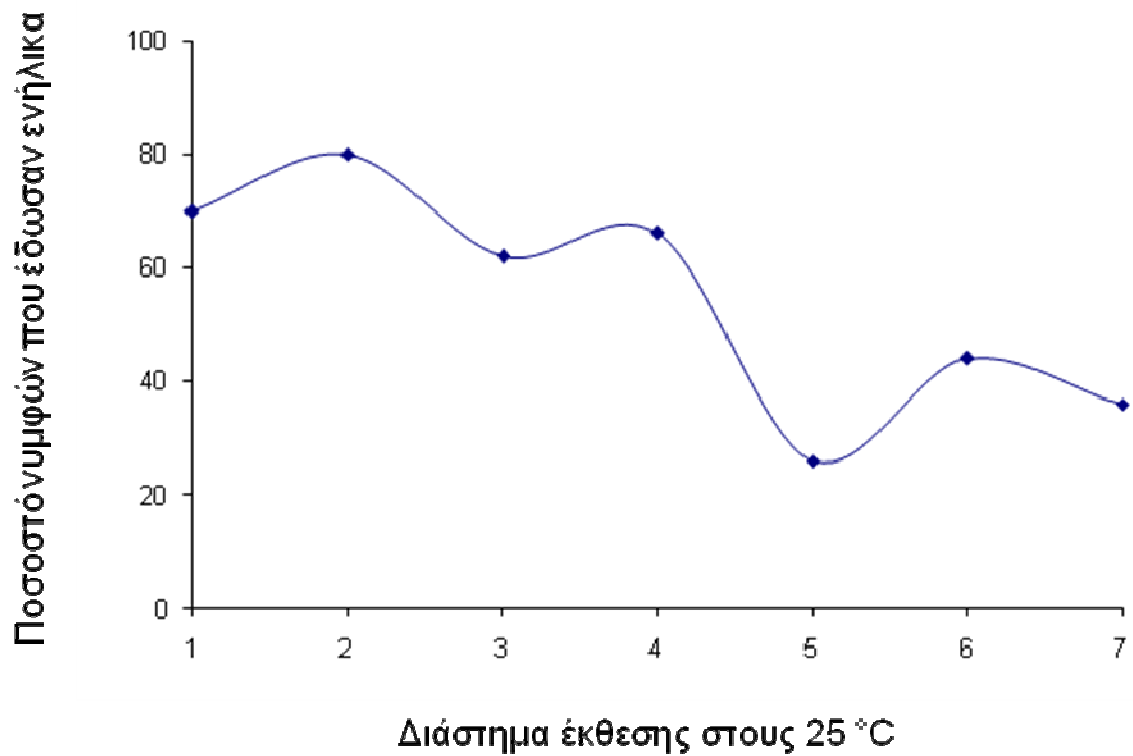
Η πορεία της περάτωσης της διάπαυσης του ορεινού πληθυσμού σε σχέση με την περίοδο έκθεσης σε υψηλές θερμοκρασίες φαίνεται στο Διάγραμμα 15. Όσο μικρότερο ήταν το διάστημα παραμονής των νυμφών σε υψηλές θερμοκρασίες τόσο υψηλότερο ήταν το ποσοστό εξόδου των ενηλίκων. Έτσι, παραμονή διάρκειας ενός μήνα στους 25 °C οδήγησε σε περάτωση της διάπαυσης το 70% του πληθυσμού, ενώ παραμονή επτά μηνών στους 25 °C οδήγησε σε περάτωση της διάπαυσης μόλις το 36% του πληθυσμού. Το υψηλότερο ποσοστό των νυμφών που έδωσαν ενήλικα έφτασε το 80% και προήλθε από το δείγμα που παρέμεινε στους 25 °C για δύο μήνες. Σημειώνεται πως σε όλες τις περιπτώσεις η διάρκεια παραμονής σε χαμηλή θερμοκρασία (5 °C) ήταν 172 ημέρες.

Η συγκριτική πορεία εξόδου των αρσενικών και θηλυκών ατόμων του ορεινού πληθυσμού δίνεται στο Διάγραμμα 16. Σε γενικές γραμμές ο αριθμός των νυμφών που έδωσαν θηλυκά άτομα ήταν, όπως και στην περίπτωση περάτωσης της διάπαυσης στο ύπαιθρο, μεγαλύτερος από εκείνον που έδωσε αρσενικά (Πίνακας 5). Οι νύμφες που παρέμειναν στους 25 °C για έναν μήνα, έδωσαν διπλάσια θηλυκά απ' ό,τι αρσενικά άτομα ενώ η διαφορά μεταξύ θηλυκών και αρσενικών ήταν μεγάλη και στο δείγμα που παρέμεινε δύο μήνες στους 25 °C. Η επίδραση υψηλής θερμοκρασίας για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα εξομάλυνε τη διαφορά εξερχόμενων θηλυκών και αρσενικών ατόμων και σε δύο περιπτώσεις ο αριθμός των αρσενικών ξεπέρασε αυτόν των θηλυκών. Η ανάλυση παραλλακτικότητας δύο παραγόντων με τη διάρκεια παραμονής των νυμφών του πληθυσμού της Δάφνης στους 25 °C (πριν την μεταφορά τους για 5 μήνες στους 5 °C) ως πρώτο παράγοντα και του φύλου ως δεύτερο παράγοντα έδειξε πως η παραμονή των νυμφών στους 25 °C έχει σημαντική επίδραση στην ταχύτητα της μεταδιαπαιτικής εξέλιξης. Αντίθετα, το φύλο και η αλληλεπίδραση φύλου και διάρκειας παραμονής στους 25 °C δεν είχαν σημαντική επίδραση (Πίνακας 6).

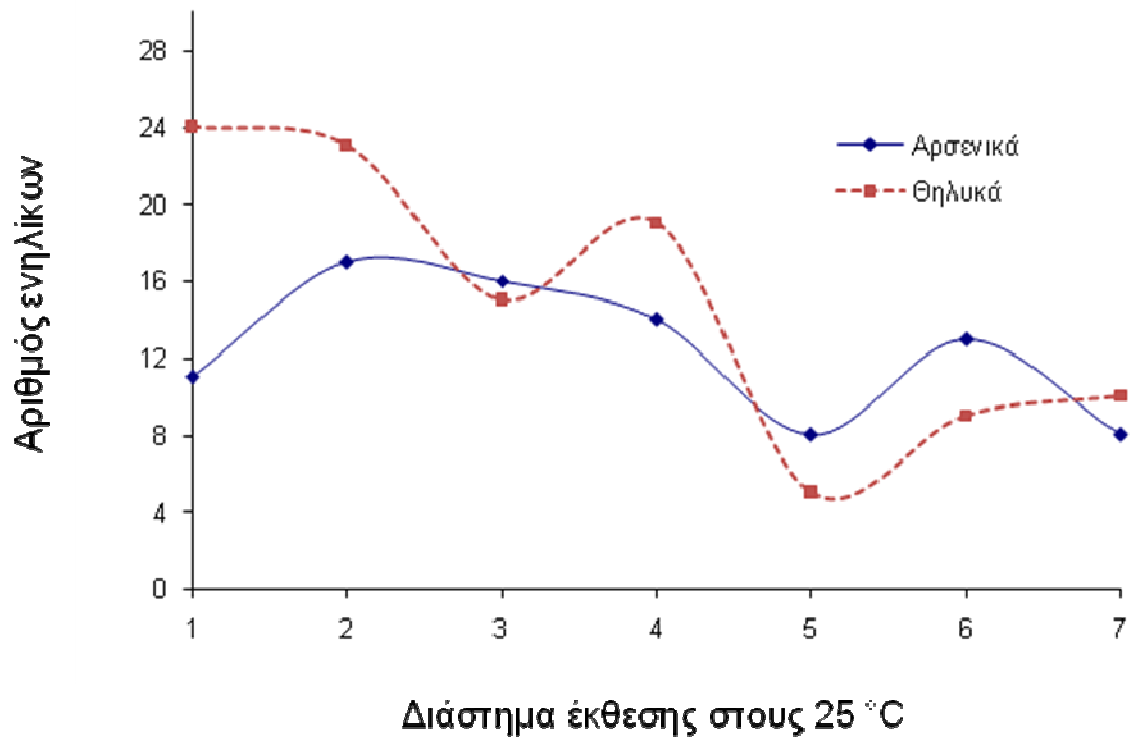
Στο Διάγραμμα 17 φαίνεται πως το χρονικό διάστημα που απαιτούνταν για την ολοκλήρωση της μεταδιαπαιτικής εξέλιξης και την έξοδο των ενηλίκων μετά την εκ νέου μεταφορά στους 25 °C ήταν μικρότερο, όσο λιγότερο είχαν εκτεθεί οι νύμφες σε υψηλές θερμοκρασίες.

Η πορεία περάτωσης της διάπαυσης του ορεινού και του πεδινού πληθυσμού μετά την επίδραση διαφόρων συνδυασμών υψηλών και χαμηλών θερμοκρασιών δίνεται στο Διάγραμμα 18. Το ποσοστό των νυμφών που έδωσαν ενήλικα τόσο στον ορεινό όσο και στον πεδινό πληθυσμό ήταν μεγαλύτερο όταν παρέμειναν μεγάλο χρονικό διάστημα σε χαμηλή θερμοκρασία (5 °C) και μικρό χρονικό διάστημα σε υψηλή θερμοκρασία (25 °C). Το υψηλότερο ποσοστό των νυμφών του ορεινού πληθυσμού που έδωσαν ενήλικα ήταν 94% και είχαν παραμείνει δύο μήνες στους 25 °C και έξι μήνες στους 5 °C. Αντίστοιχα, το υψηλότερο ποσοστό νυμφών του πεδινού πληθυσμού ήταν 70% και είχαν παραμείνει τρεις μήνες στους 25 °C και πέντε μήνες στους 5 °C. Η επίδραση των υπόλοιπων συνδυασμών των υψηλών και χαμηλών θερμοκρασιών που αφορούσαν διαστήματα μικρότερα των τεσσάρων μηνών στους 5 °C και μεγαλύτερα των τεσσάρων μηνών στους 25 °C φαίνεται πως εμπόδισε την επιτυχή περάτωση της διάπαυσης και στους δύο πληθυσμούς.

Στο Διάγραμμα 19 δίνεται η πορεία εξόδου των αρσενικών και θηλυκών ατόμων του ορεινού και πεδινού πληθυσμού. Ο αριθμός των νυμφών που έδωσαν θηλυκά ήταν και πάλι υψηλότερος εκείνων που έδωσαν αρσενικά. Η μέση διάρκεια εξόδου των ενηλίκων του ορεινού και πεδινού πληθυσμού δεν εμφάνισε διαφορά ανάμεσα σε θηλυκά και αρσενικά άτομα (Πίνακας 7). Τόσο στον ορεινό όσο και στον πεδινό πληθυσμό η μεγαλύτερη επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών και η μικρότερη επίδραση υψηλών θερμοκρασιών είχε σαν αποτέλεσμα την ταχύτερη περάτωση της διάπαυσης μεγάλου ποσοστού των νυμφών. Όσο ο συνδυασμός των θερμοκρασιών μεταβαλλόταν ώστε η διάρκεια της επίδρασης υψηλών θερμοκρασιών να αυξάνει με παράλληλη μείωση της επίδρασης χαμηλών θερμοκρασιών, τόσο αργότερα πραγματοποιούνταν η έξοδος των ενηλίκων με ταυτόχρονη μείωση του ποσοστού των νυμφών που περάτωναν τη διάπαυση. Η επίδραση χαμηλής θερμοκρασίας για λιγότερο από τέσσερις μήνες και υψηλής θερμοκρασίας για περισσότερο από πέντε μήνες, σχεδόν μηδένισε το ποσοστό των νυμφών που έδωσαν ενήλικα (Διαγράμματα 20 και 21).



Διάγραμμα 15: Περάτωση της διάτρωσης του ορεινού πληθυσμού του *R. cerasi* σε σχέση με την επίδραση υψηλών θερμοκρασιών πριν από την έκθεση των νυμφών για 5 μήνες στους 5 °C. Μετά την έκθεση στους 5 °C οι νύμφες μεταφέρθηκαν στους 25 °C ώστε να ολοκληρωθεί η μεταδιαπαιτική εξέλιξη.



Διάγραμμα 16: Πορεία εξόδου ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών) του ορεινού πληθυσμού του *R. cerasi* σε σχέση με την επίδραση υψηλών θερμοκρασιών πριν από την έκθεση των νυμφών για 5 μήνες στους 5 °C. Μετά την έκθεση στους 5 °C οι νύμφες μεταφέρθηκαν στους 25 °C ώστε να ολοκληρωθεί η μεταδιαπαιτική εξέλιξη.

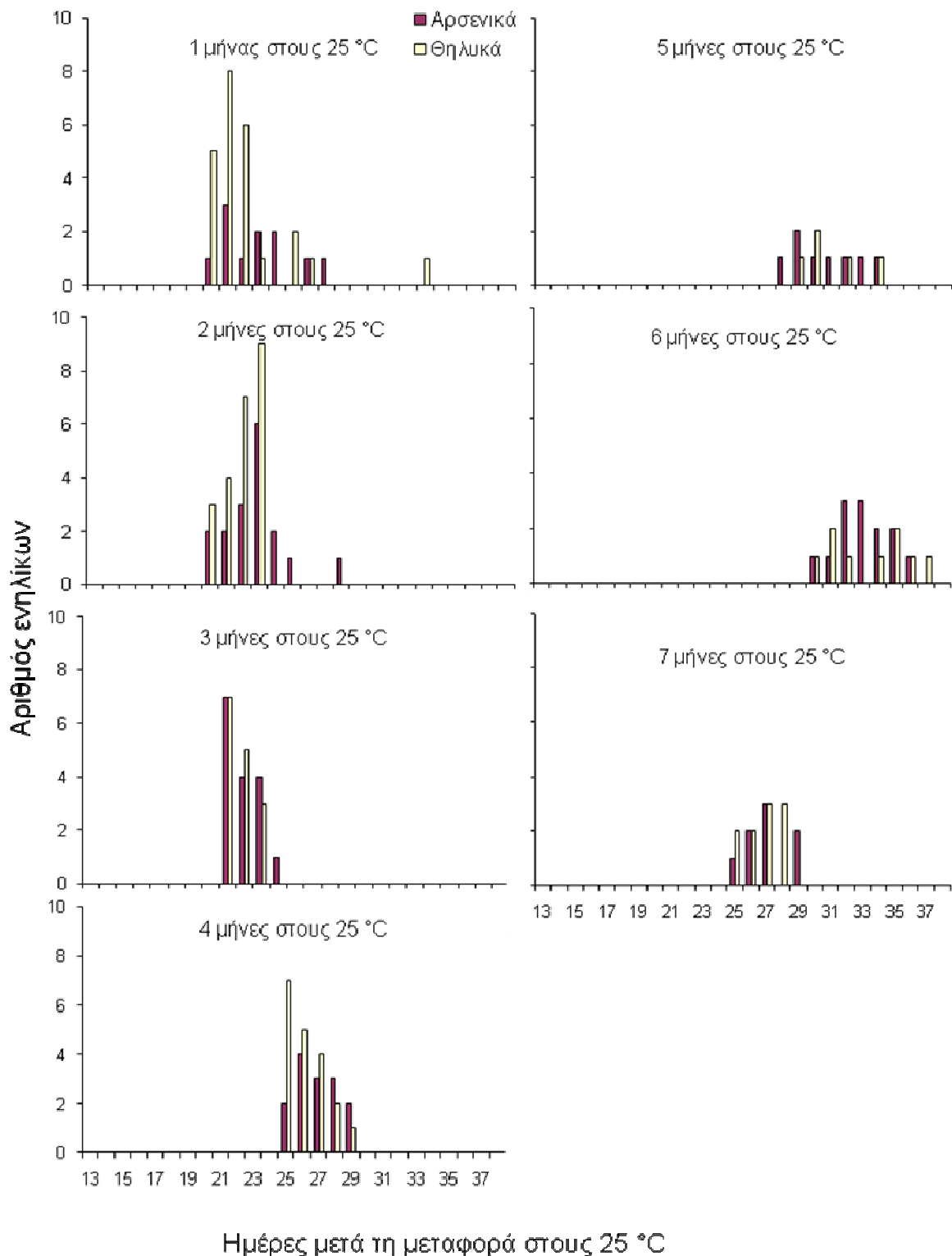
Πίνακας 5: Μέση διάρκεια εξόδου, σε ημέρες, και αναλογία φύλου ενηλίκων του ορεινού πλγθυσμού σε σχέση με την επίδραση υψηλών θερμοκρασιών πριν από την έκθεση των νυμφών για 5 μήνες στους 5 °C. Μετά την έκθεση στους 5 °C οι νύμφες μεταφέρθηκαν στους 25 °C ώστε να ολοκληρωθεί η μεταδιαπαιτική εξέλιξη

Διάρκεια έκθεσης (μήνες)		Αναλογία φύλου αρσενικά/θηλυκά	Μέση διάρκεια εξόδου (ημέρες ±SE)	
5 C	25 C		Αρσενικά	Θηλυκά
5	1	0.46	22.9±0.7	22.2±0.6
5	2	0.74	22.8±0.5	22.0±0.2
5	3	1.07	21.9±0.2	21.7±0.2
5	4	0.74	26.9±0.4	26.2±0.3
5	5	1.60	30.6±0.8	31.0±0.9
5	6	1.44	33.1±0.5	33.4±0.8
5	7	0.80	27.0±0.5	26.7±0.4

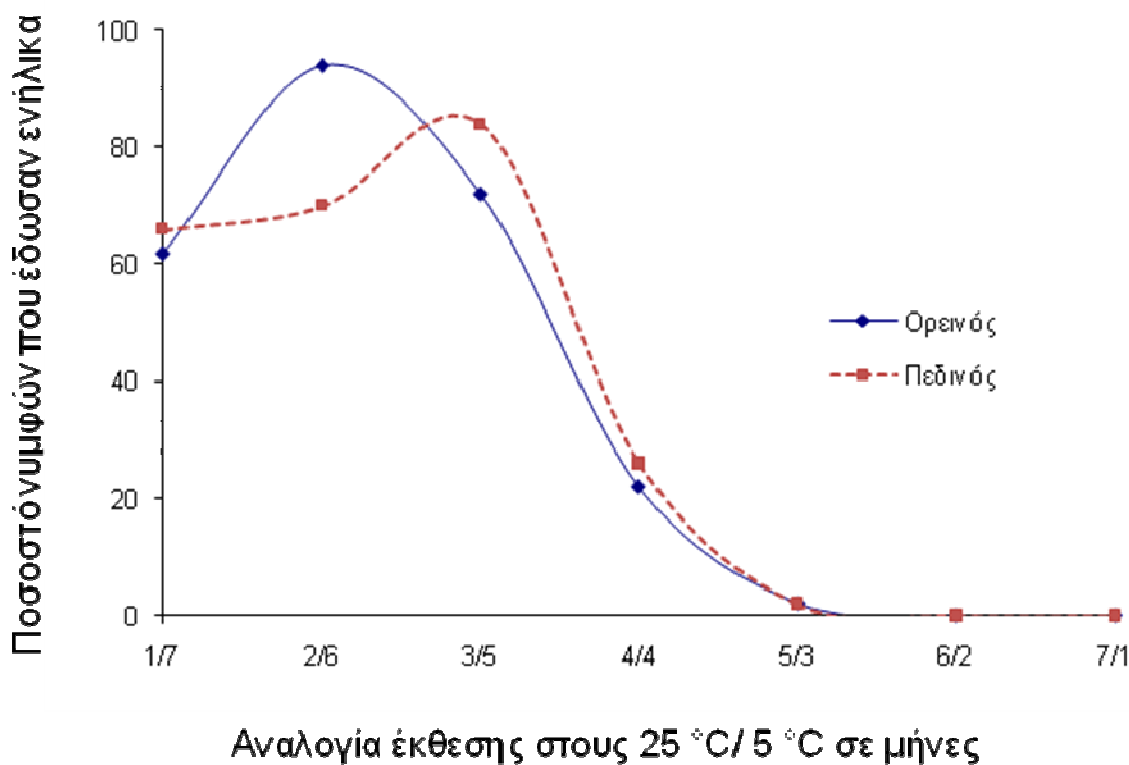
Πίνακας 6. Ανάλυση παραλλακτικότητας των επιδράσεων της διάρκειας παραμονής των νυμφών του πλήθυσμού της Δέφνης στους 25 °C (πριν την μεταφορά τους για 5 μήνες στους 5 °C, πρώτος παράγοντας) και του φύλου (δευτερος παράγοντας, δύο επίπεδα: αρσενικά, θηλυκά) στη χρονική διάρκεια για την έξοδο των ενηλίκων μετά τη μεταφορά των νυμφών στους 25 °C για την ολοκλήρωση της μεταδιπλασιαστικής εξέλιξης.

Πηγή παραλλακτικότητας	df	Τιμές F
Διάρκεια παραμονής στους 25 °C	6	342.35*
Φύλο	1	2.45
Διάρκεια παραμονής στους 25 °C X Φύλο	6	0.436
Σφάλμα	178	

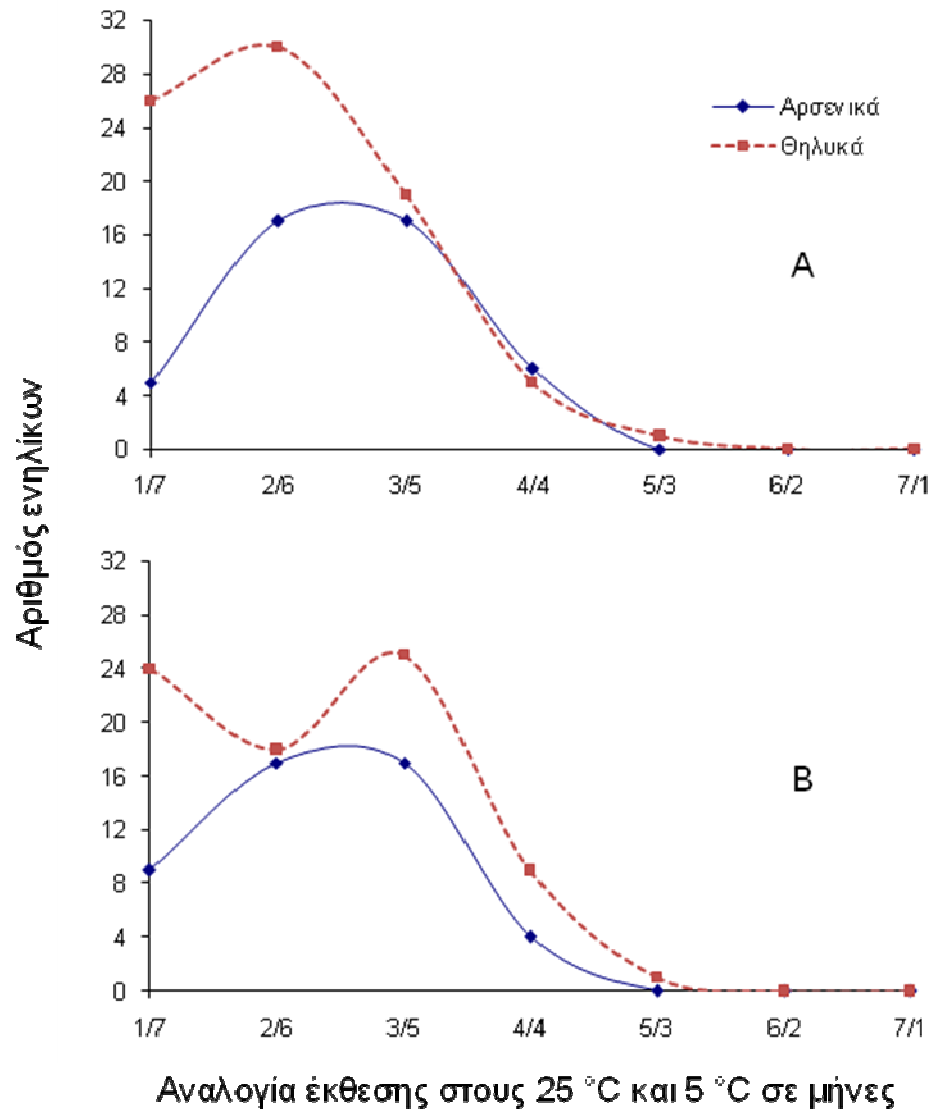
Το αστεράκι δείχνει τη σημαντικότητα σε επίπεδο $P = 0.05$.



Διάγραμμα 17: Πορεία εξόδου ενηλίκων του πληθυσμού της Δάφνης σε σχέση με το διάστημα παραμονής των νυμφών στους 25 °C μετά από έκθεσή τους για 5 μήνες στους 5 °C. Στο πάνω μέρος κάθε διαγράμματος δίνεται η διάρκεια έκθεσης του δείγματος σε θερμοκρασία 25 °C πριν την τοποθέτησή του στους 5 °C.



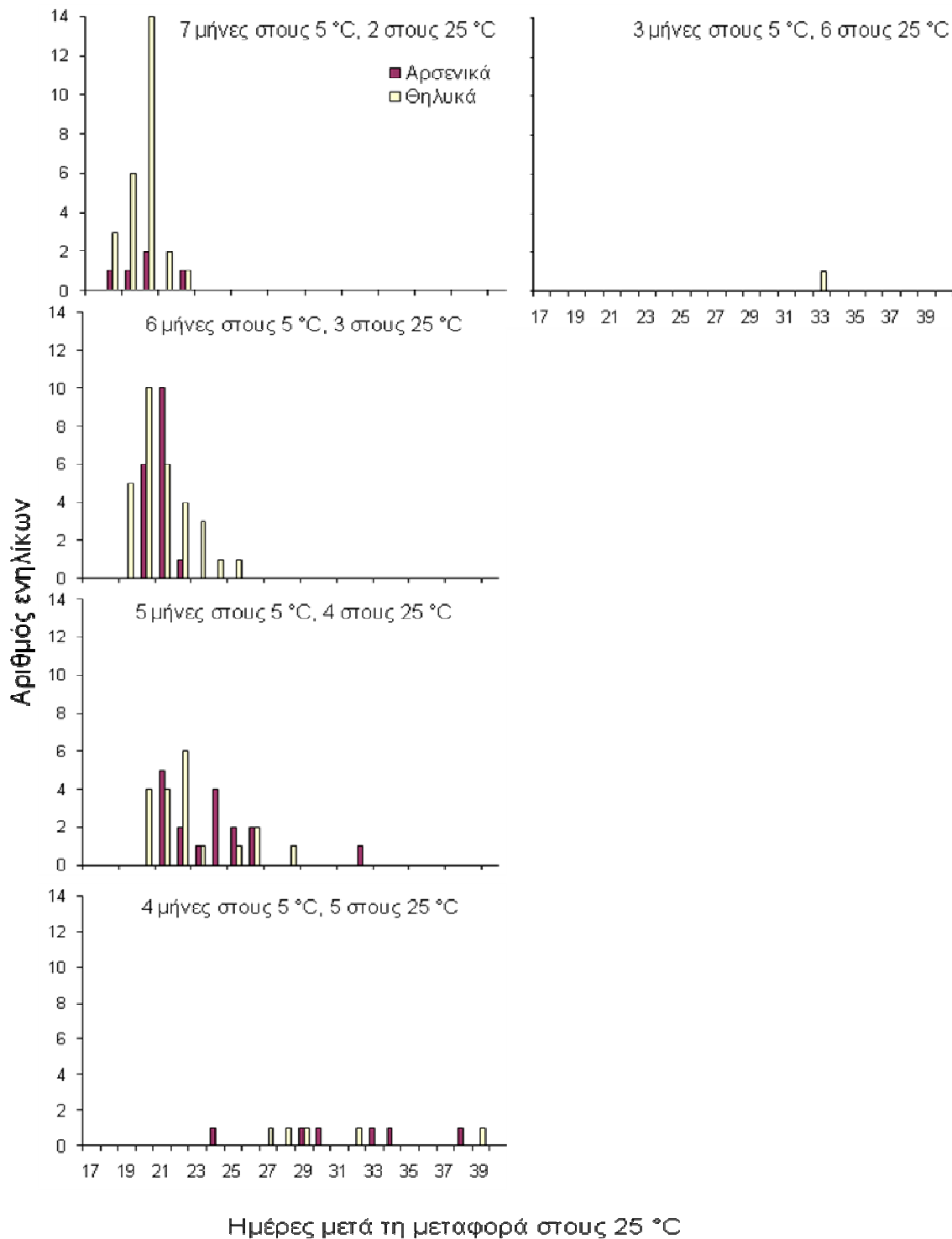
Διάγραμμα 18: Περάτωση της διάπαυσης του ορεινού και πεδινού πληθυσμού του *R. cerasi* σε συνθήκες εργαστηρίου, μετά από έκθεσή τους σε συνδυασμούς υψηλών (25 °C) και χαμηλών (5 °C) θερμοκρασιών για συνολικό διάστημα 8 μηνών. Μετά το πέρας των προηγούμενων συνδυασμών θερμοκρασιών οι νύμφες μεταφέρθηκαν στους 25 °C για να ολοκληρωθεί η μεταδιαπαιτική εξέλιξη.



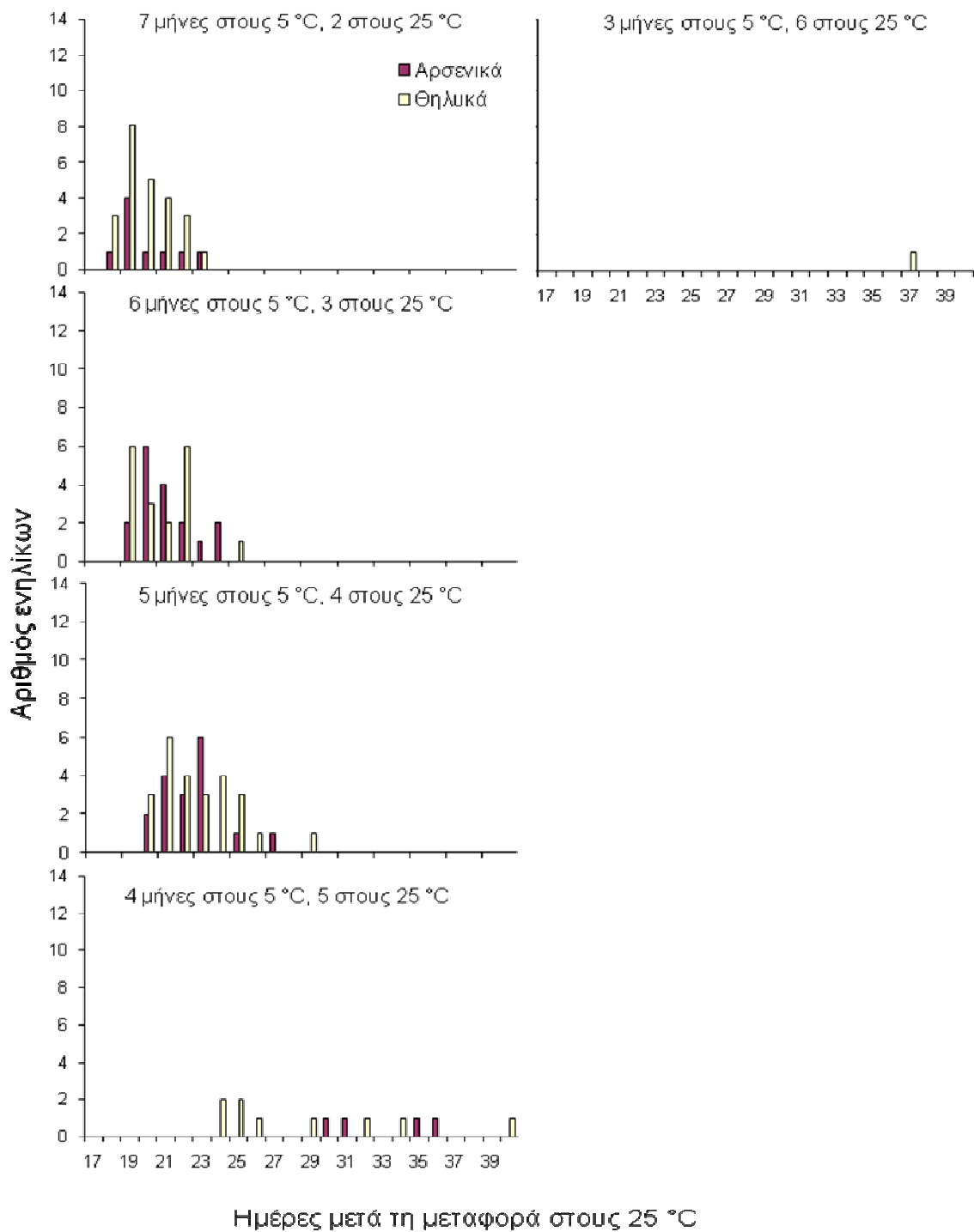
Διάγραμμα 19: Πορεία εξόδου ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών), του ορεινού (A) και πεδινού (B) πληθυσμού του *R. cerasi* σε συνθήκες εργαστηρίου, μετά από έκθεσή τους σε συνδυασμούς υψηλών (25 °C) και χαμηλών (5 °C) θερμοκρασιών για συνολικό διάστημα 8 μηνών. Μετά το πέρας των προηγούμενων συνδυασμών θερμοκρασιών οι νύμφες μεταφέρθηκαν στους 25 °C για να ολοκληρωθεί η μεταδιαπαιτική εξέλιξη. Κάθε δείγμα αποτελούνταν από 50 νύμφες.

Πίνακας 7: Μέση διάρκεια εξόδου, σε ημέρες, και αναλογία φύλου ενηλίκων του ορεινού και πεδινού πληθυσμού που περάτησαν τη διάπαυση στο εργαστήριο μετά από έκθεσή τους σε συνδυασμούς υψηλών (25 °C) και χαμηλών (5 °C) θερμοκρασιών για συνολικό διάστημα 8 μηνών. Μετά το πέρας των προηγούμενων συνδυασμών θερμοκρασιών οι νύμφες μεταφέρθηκαν στους 25 °C για να ολοκληρωθεί η μεταδιαπαυτική εξέλιξη.

5 C	25 C	Διάρκεια εκθέσης (μήνες)	Ορεινός Πληθυσμός (Δάφνη)		Πεδινός Πληθυσμός (Καλά Νερά)			
			Αναλογία φύλου αρσενικά/θηλυκά	Μέση διάρκεια εξόδου (ημέρες ±SE)		Αναλογία φύλου αρσενικά/θηλυκά	Μέση διάρκεια εξόδου (ημέρες ±SE)	
				Αρσενικά	Θηλυκά		Αρσενικά	Θηλυκά
7	1	0.19	19.8±0.7	19.7±0.2	0.38	20.0±0.6	20.0±0.3	
6	2	0.57	20.7±0.1	20.9±0.3	0.94	21.0±0.4	20.7±0.4	
5	3	0.89	23.6±0.7	22.3±0.5	0.68	22.4±0.4	22.8±0.4	
4	4	1.20	31.3±2.0	31.3±2.2	0.44	33.0±1.5	28.8±1.8	
3	5	0.00	0	33.3±0.0	0.00	0	37.0±0.0	
2	6	-	0	0	-	0	0	
1	7	-	0	0	-	0	0	



Διάγραμμα 20: Πορεία εξόδου των ενηλίκων του πληθυσμού της Δάφνης σε συνθήκες εργαστηρίου, μετά από έκθεσή τους σε συνδυασμούς υψηλών (25 °C) και χαμηλών (5 °C) θερμοκρασιών για συνολικό διάστημα 8 μηνών. Μετά το πέρας των προηγούμενων συνδυασμών θερμοκρασιών οι νύμφες μεταφέρθηκαν στους 25 °C για να ολοκληρωθεί η μεταδιαπαιτική εξέλιξη. Στο πάνω μέρος κάθε διαγράμματος αναγράφεται ο συνδυασμός υψηλών και χαμηλών θερμοκρασιών στις οποίες υποβλήθηκαν οι νύμφες.



Διάγραμμα 21: Πορεία εξόδου των ενηλίκων του πληθυσμού των Καλών Νερών σε συνθήκες εργαστηρίου μετά από έκθεσή τους σε συνδυασμούς υψηλών (25 °C) και χαμηλών (5 °C) θερμοκρασιών για συνολικό διάστημα 8 μηνών. Μετά το πέρας των προηγούμενων συνδυασμών θερμοκρασιών οι νύμφες μεταφέρθηκαν στους 25 °C για να ολοκληρωθεί η μεταδιαπαιτική εξέλιξη. Στο πάνω μέρος κάθε διαγράμματος αναγράφεται ο χρονικός συνδυασμός υψηλών και χαμηλών θερμοκρασιών στις οποίες υποβλήθηκαν οι νύμφες.

3.4. Συζήτηση

Η διαφορά στη φαινολογία των ενηλίκων του ορεινού και του πεδινού πληθυσμού του *R. cerasi* δείχνει τη στενή προσαρμογή του εντόμου στις τοπικές συνθήκες και στη φαινολογία του ξενιστή του. Άλλωστε η πτήση των ενηλίκων του *R. cerasi* επηρεάζεται από τις κλιματικές μεταβολές που χαρακτηρίζουν κάθε περιοχή (Kovanci and Kovanci 2006). Η εμφάνιση και πτήση των ενηλίκων σε κάθε περιοχή θα πρέπει να συνδέεται με τα προγράμματα αντιμετώπισης του εντόμου. Η παρακολούθηση των πληθυσμών ή ακόμα και η απλή διαπίστωση της παρουσίας του εντόμου δίνουν το πλεονέκτημα της επιλογής του τρόπου αντιμετώπισής του συμβάλλοντας στον περιορισμό της χρήση εντομοκτόνων (Κατσόγιαννος et al. 1991, Κατσόγιαννος et al. 2000). Μέχρι σήμερα, στη χώρα μας, για την αντιμετώπιση του *R. cerasi* εφαρμόζονται ημερολογιακά ψεκασμοί. Ωστόσο, η γνώση της φαινολογίας του εντόμου σε συνδυασμό με γνώση των κλιματικών συνθηκών της περιοχής και της ποικιλίας των κερασιών λαμβάνοντας υπόψη κοινωνικοοικονομικούς παράγοντες (ανοχή προσβεβλημένων καρπών), συμβάλλει στον καθορισμό ορίων επέμβασης και ανεκτής προσβολής με αποτέλεσμα τον αρτιότερο έλεγχο του εντόμου.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της μελέτης της διάπαυσης σε συνθήκες υπαίθρου, ο πεδινός πληθυσμός έχει μικρότερες απαιτήσεις σε διάρκεια χαμηλών θερμοκρασιών προκειμένου να περατώσει τη διάπαυση, σε σύγκριση με τον ορεινό πληθυσμό. Άλλωστε ο ορεινός πληθυσμός αποτυγχάνει να περατώσει τη διάπαυση στην πεδινή περιοχή λόγω μη ικανοποίησης των αναγκών του σε χαμηλές θερμοκρασίες. Από τα αποτελέσματά μας προκύπτει πως όσο χαμηλότερη η θερμοκρασία και μακρύτερη η διάρκεια των χαμηλών θερμοκρασιών τόσο μικρότερο το διάστημα για την περάτωση της διάπαυσης. Επίσης, φαίνεται πως η ένταση της διάπαυσης διαφέρει μεταξύ των δύο πληθυσμών, καταδεικνύοντας (α) την υψηλή προσαρμογή των πληθυσμών στις τοπικές συνθήκες που έχει ως στόχο το συγχρονισμό της εξόδου των ενηλίκων με την ωρίμανση των κερασιών και (β) πιθανή «χρονική» ασυμβατότητα που ίσως να δείχνει αδυναμία ροής γονιδίων μεταξύ των δύο πληθυσμών και συνεπώς ενδεχόμενη αφετηρία αλλοπάτριας ειδογένεσης. Άλλωστε, η μικρή χρονική

απόκλιση της έντασης της διάπαυσης σε πληθυσμούς συγγενικών ειδών του *R. cerasi* όπως το *R. pomonella* οδήγησε σε διαφοροποίηση νέων φυλών και σε συμπάτρια ειδογένεση (Feder et al. 2003).

Τα αποτελέσματα της μελέτης της διάπαυσης στο εργαστήριο δείχνουν πως η ένταση της διάπαυσης του *R. cerasi* εξαρτάται από την επίδραση χαμηλών και υψηλών θερμοκρασιών κατά τη διάρκεια του νυμφικού σταδίου. Φαίνεται πως η επίδραση μεγάλης διάρκειας υψηλών θερμοκρασιών κατά τη διαπαυτική περίοδο επιφέρει δυσμενή αποτελέσματα παρατείνοντας την περίοδο της μεταδιαπαυτικής εξέλιξης και μειώνοντας το ποσοστό των νυμφών που περατώνουν τη διάπαυση. Η κατανόηση των θερμοκρασιακών απαιτήσεων των νυμφών για την περάτωση της διάπαυσης μπορεί να αξιοποιηθεί σε προσπάθειες για την αποτελεσματικότερη εκτροφή του *R. cerasi* στο εργαστήριο και συνεπώς στην υιοθέτηση συστημάτων αντιμετώπισης που βασίζονται στην μαζική εκτροφή εντόμων.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4. Μεταβολή των Ενεργειακών Αποθεμάτων Νυμφών

4.1. Εισαγωγή

Οι διατροφικές συνήθειες των εντόμων και ο συνδυασμός των γενικών αρχών ρύθμισης της προσληφθείσας ενέργειας και του μεταβολισμού των θρεπτικών στοιχείων έχουν μελετηθεί διεξοδικά τα τελευταία 20 – 30 χρόνια (Gordon 1972, Canavoso et al. 2001). Επιπλέον, η αξιολόγηση της τροφής που προσλαμβάνουν τα έντομα, με βάση την επίδρασή της στα χαρακτηριστικά της βιολογίας τους (ανάπτυξη, σύζευξη, μακροβιότητα) μελετήθηκε στα ανήλικα και ενήλικα στάδια πολλών ειδών εντόμων (Han and Bause 1998, Renault et al. 2002, Ding et al. 2003, Casas et al. 2005). Μελέτες σχετικές με τα αποθέματα λιπιδίων, σακχάρων, γλυκογόνου και πρωτεϊνών κατά τη διάρκεια της διάπαυσης έδωσαν σημαντικές πληροφορίες για τη φυσιολογία της διάπαυσης και την επίδραση των κλιματικών συνθηκών στις φυσιολογικές διεργασίες των εντόμων (Ohtsu et al. 1995, Saunders 2000). Στα Δίπτερα της οικογένειας Tephritidae, αρκετές μελέτες έχουν γίνει σχετικά με τη μεταβολή των ενεργειακών αποθεμάτων τόσο στα ενήλικα (Warburg and Yuval 1996, 1997, Yuval et al. 1998, Nestel et al. 2005) όσο και στα ανήλικα στάδια (Nestel et al. 2003, Nestel et al. 2004). Οι περισσότερες από αυτές αφορούν τη μύγα της Μεσογείου και είδη *Anastrepha* όχι όμως και τη μύγα των κερασιών, η οποία λόγω της μονοκυκλικότητας, της υποχρεωτικής διάπαυσης και του στενού εύρους ξενιστών της, αποκλίνει αρκετά σε ότι αφορά τη βιολογία της.

Το *R. cerasi* εισέρχεται σε υποχρεωτική διάπαυση στο στάδιο της νύμφης. Το στάδιο αυτό εμφανίζει μεγάλο ενδιαφέρον στα πλείστα είδη των εντόμων αφού χαρακτηρίζεται από στατικότητα (είναι ακίνητο) και από μη εισροή ενέργειας (δεν τρέφεται), ενώ παράλληλα διενεργούνται σημαντικές φυσιολογικές διαδικασίες που οδηγούν στη μεταμόρφωση. Η διάπαυση στο νυμφικό στάδιο συνδέεται α) με τη μείωση του μεταβολικού ρυθμού β) με το συγχρονισμό της εξόδου των ενηλίκων με ευνοϊκές κλιματικές συνθήκες και γ) με τη φαινολογία του ξενιστή, και συνεπώς συμβάλλει στην επιτυχή αναπαραγωγή των μονοκυκλικών και άλλων εντόμων που διαπαύουν στο

νυμφικό στάδιο. Το *R. cerasi* αποτελεί τυπικό παράδειγμα συγχρονισμού της εμφάνισης των ενηλίκων με την ωρίμανση των κερασιών για την εξασφάλιση της επιτυχούς αναπαραγωγής. Συνεπώς η μελέτη των ενεργειακών αποθεμάτων στις διαπαύουσες νύμφες θα βοηθήσει στην κατανόηση των μηχανισμών που εμπλέκονται στον παραπάνω συγχρονισμό ξενιστή – εχθρού.

Στη μακρά περίοδο του νυμφικού σταδίου του *R. cerasi* (8 με 9 μήνες), το οποίο χαρακτηρίζεται ως κλειστό σύστημα από ενεργειακής πλευράς, πραγματοποιούνται διάφορες φυσιολογικές διεργασίες όπως είναι η περάτωση της διάπαυσης, η μεταδιαπαυτική εξέλιξη και η μεταμόρφωση. Οι διεργασίες αυτές απαιτούν μεταβολή της αποθηκευμένης ενέργειας (λιπίδια, πρωτεΐνες) σε άμεσα καταναλώσιμες μορφές ενέργειας (σάκχαρα, γλυκογόνο). Οι μεταβολές των ενεργειακών αποθεμάτων θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν ως δείκτες της φυσιολογικής κατάστασης των νυμφών και να αξιοποιηθούν σε πρότυπα πρόγνωσης της εμφάνισης των ενηλίκων την άνοιξη.

Σκοπός του παρόντος κεφαλαίου ήταν η μελέτη της μεταβολής των ενεργειακών αποθεμάτων σε έναν πεδινό και έναν ορεινό πληθυσμό της μύγας των κερασιών τόσο στο ύπαιθρο όσο και σε σταθερές συνθήκες στο εργαστήριο.

4.2. Υλικά και μέθοδοι

Τη διετία 2005 – 2006 μελετήσαμε τη ρύθμιση των ενεργειακών αποθεμάτων σε νύμφες ορεινού και πεδινού πληθυσμού του *R. cerasi*, σε συνθήκες υπαίθρου και σε συνθήκες εργαστηρίου. Οι νύμφες που χρησιμοποιήθηκαν για το σκοπό αυτό συλλέχθηκαν στην περιοχή της Δάφνης Κοζάνης (ορεινός πληθυσμός) και Καλών Νερών Μαγνησίας (πεδινός πληθυσμός). Η λεπτομερής περιγραφή των περιοχών καθώς και του τρόπου συλλογής των νυμφών δίνεται στο κεφάλαιο «Γενικά Υλικά και Μέθοδοι».

4.2.1. Πείραμα στο ύπαιθρο

Για τη μελέτη της μεταβολής των ενεργειακών αποθεμάτων των δύο πληθυσμών σε συνθήκες υπαίθρου, συλλέξαμε δείγμα 240 νυμφών από κάθε μία από τις παραπάνω περιοχές και το χωρίσαμε τυχαία σε 9 δείγματα των 30 ατόμων. Τα δείγματα τοποθετήθηκαν σε πλαστικά φιαλίδια (erpendorf) και εκτέθηκαν στις συνθήκες υπαίθρου της περιοχής από όπου προέρχονταν (ορεινός πληθυσμός – ορεινή περιοχή, πεδινός πληθυσμός – πεδινή περιοχή) αμέσως μετά τη συλλογή τους. Στη συνέχεια, κάθε μήνα, από τον Αύγουστο του 2005 έως τον Φεβρουάριο του 2006 και κάθε 15 μέρες από τον Μάρτιο και μετά, ένα δείγμα 30 ατόμων του κάθε πληθυσμού μεταφερόταν στο εργαστήριο, αποθηκευόταν στους -20 °C και υποβαλλόταν σε ανάλυση για τον καθορισμό των ενεργειακών αποθεμάτων των νυμφών.

4.2.2. Πείραμα στο εργαστήριο

Με ανάλογο τρόπο, για τη μελέτη της μεταβολής των ενεργειακών αποθεμάτων των δύο πληθυσμών, σε συνθήκες εργαστηρίου, συλλέξαμε 720 νύμφες του ορεινού πληθυσμού από τη Δάφνη και 720 νύμφες του πεδινού πληθυσμού από τα Καλά Νερά. Οι νύμφες του κάθε πληθυσμού χωρίστηκαν σε 24 δείγματα των 30 ατόμων, τοποθετήθηκαν σε πλαστικά φιαλίδια (erpendorf) και παρέμειναν σε θερμοκρασία 25 °C για τρεις μήνες, αμέσως μετά τη συλλογή τους. Έπειτα, τοποθετήθηκαν στο ψυγείο, σε θερμοκρασία 5 °C. Κάθε 15 ημέρες, ένα δείγμα 30 νυμφών αποθηκευόταν στους -20 °C μέχρι τον καθορισμό των ενεργειακών του αποθεμάτων. Εξαίρεση αποτέλεσε η περίοδος μεταφοράς των νυμφών από τους 25 °C στους 5 °C, και αντίστροφα, κατά τη διάρκεια της οποίας τα δείγματα αποθηκεύονταν στους -20 °C κάθε δύο μέρες.

4.3. Βιοχημική ανάλυση

Η μελέτη των ενεργειακών αποθεμάτων των νυμφών πραγματοποιήθηκε με τη μέτρηση της περιεκτικότητας κάθε νύμφης σε λιπίδια, σάκχαρα, γλυκογόνο και πρωτεΐνες. Για τη μέτρηση των ουσιών αυτών εφαρμόσαμε τη βιοχημική μέθοδο ανάλυσης που περιγράφεται από

τους Yuval και Nestel (Yuval et al. 1998) (Nestel et al. 2003) (Nestel et al. 2004) για όλα τα παραπάνω δείγματα.

Αρχικά το κάθε δείγμα (30 ατόμων) χωρίστηκε σε τρεις δεκάδες από τις οποίες η μία χρησιμοποιήθηκε για τη μέτρηση των λιπιδίων, των σακχάρων και του γλυκογόνου, η δεύτερη για τη μέτρηση των πρωτεϊνών και η τρίτη αποθηκεύτηκε στους $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ με σκοπό να ξαναχρησιμοποιηθεί σε περίπτωση λάθους ή ατυχήματος κατά την εξέλιξη της διαδικασίας. Πριν την ανάλυση, οι νύμφες των δύο δεκάδων ζυγίστηκαν, η καθεμία χωριστά, σε ζυγό ακριβείας και τοποθετήθηκαν σε πλαστικά φιαλίδια (erpendorf) με ανάλογη σήμανση. Αναλυτική περιγραφή των εργαστηριακών οργάνων, που χρησιμοποιήθηκαν στις παραπάνω αναλύσεις, δίνεται στο κεφάλαιο «Γενικά Υλικά και Μέθοδοι».

4.3.1. Προσδιορισμός λιπιδίων – γλυκογόνου – υδατανθράκων

Για τον προσδιορισμό των λιπιδίων, του γλυκογόνου και των υδατανθράκων κάθε νύμφη ομογενοποιήθηκε σε 200 μl 2% Na_2SO_4 και προστέθηκαν 1300 μl διαλύματος chloroform: methanol (1:2) για την εξαγωγή των λιπιδίων και των υδατανθράκων. Στη συνέχεια, τα ομογενοποιημένα άτομα ανακινήθηκαν σε Vortex και φυγοκεντρήθηκαν στις 10.000rpm και σε θερμοκρασία $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ για δέκα λεπτά.

Για τον καθορισμό της ποσότητας των λιπιδίων, 500μl από το περιεχόμενο κάθε φιαλιδίου τοποθετήθηκε σε νέο φιαλίδιο και το περιεχόμενο εξατμίστηκε στο θερμομπλόκ στους $75\text{ }^{\circ}\text{C}$. Αντίστοιχα, για την προετοιμασία των πρότυπων διαλυμάτων τοποθετήθηκαν σε επτά φιαλίδια από 0 έως 30 μl Triolein (10mg/ml) και εξατμίστηκαν στο θερμομπλόκ. Στη συνέχεια, σε κάθε φιαλίδιο προστέθηκαν 300μl H_2SO_4 και τοποθετήθηκαν στους $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ για 10 λεπτά. Τέλος 30 μl κάθε δείγματος αντέδρασαν σε μικροπλάκα ELISA με 270 μl αντιδραστηρίου βανιλίνης [διάλυμα 600 mg βανιλίνης σε 100 ml απεσταγμένο νερό ($50\text{ }^{\circ}\text{C}$) και 400 ml H_3PO_4 85%]. Η πλάκα ELISA παρέμεινε σε θερμοκρασία δωματίου για 20 με 30 λεπτά και η περιεκτικότητα σε λιπίδια μετρήθηκε στο φασματοφωτόμετρο στα 490 nm.

Για τον προσδιορισμό της ποσότητας των υδατανθράκων 300 μl κάθε δείγματος, από το αρχικό διάλυμα chloroform: methanol (1:2), μεταφέρθηκαν σε νέο φιαλίδιο και εξατμίστηκαν στο θερμομπλόκ στους $75\text{ }^{\circ}\text{C}$. Αφού

προστέθηκαν 400 μl απεσταγμένου νερού, 50 μl από το κάθε δείγμα αραιώθηκαν σε 150 μl απεσταγμένου νερού. Για την προετοιμασία των πρότυπων διαλυμάτων τοποθετήθηκαν σε επτά φιαλίδια από 0 έως 30 μl Glucose Standard και από 200 έως 170 μl απιονισμένου νερού αντίστοιχα. Ακολούθησε προσθήκη 1000 μl Anthrone Reagent [60 mg Anthrone διαλυμένα σε 20 ml H₂SO₄ (αναλογία 3:1)] στα δείγματα και στα πρότυπα και μετά την ανακίνηση στο Vortex, τοποθετήθηκαν στους 90 °C. Τέλος, 300 μl κάθε δείγματος τοποθετήθηκαν στα βοθρία πλάκας ELISA και η ανάγνωση έγινε στο φασματοφωτόμετρο στα 630 nm.

Ο προσδιορισμός της ποσότητας του γλυκογόνου πραγματοποιήθηκε στο ίζημα που δημιουργήθηκε μετά την ομογενοποίηση των νυμφών. Αρχικά, προστέθηκαν 400 μl αιθανόλης 80% και τα δείγματα ανακινήθηκαν στο Vortex ώστε να διαλυθεί πλήρως το ίζημα. Αφού αφαιρέθηκε η περίσσεια της αλκοόλης και τα πιθανά υπολείμματα υδατανθράκων, τα δείγματα τοποθετήθηκαν στο θερμομπλόκ στους 75 °C μέχρι την πλήρη εξάτμιση του διαλύματος. Έπειτα, σε κάθε φιαλίδιο προστέθηκαν 400 μl απεσταγμένου νερού, ανακινήθηκαν στο Vortex και θερμάνθηκαν στους 90 °C για 10 λεπτά ώστε να διαλυθεί η γλυκόζη. Πενήντα μl από κάθε δείγμα μεταφέρθηκαν σε νέο φιαλίδιο και αραιώθηκαν σε 150 μl απεσταγμένου νερού. Για την προετοιμασία των πρότυπων διαλυμάτων, κατ' ανάλογο τρόπο με τους υδατάνθρακες, σε επτά φιαλίδια τοποθετήθηκαν από 0 έως 30 μl Glycogen Standard (1mg/ml) και από 200 έως 170 μl απεσταγμένο νερό αντίστοιχα. Ακολούθησε προσθήκη 1000 μl Anthrone Reagent [20 mg Anthrone διαλυμένα σε 20 ml H₂SO₄ (αναλογία 1:1)] σε δείγματα και πρότυπα και μετά την ανακίνηση στο Vortex τοποθετήθηκαν στους 90 °C. Τέλος, 300 μl κάθε δείγματος τοποθετήθηκαν στα βοθρία πλάκας ELISA και η ανάγνωση έγινε στο φασματοφωτόμετρο στα 630 nm.

Η ποσότητα κάθε συστατικού καθορίστηκε από καμπύλες αναφοράς, ενώ για τις καμπύλες χρησιμοποιήθηκαν τα πρότυπα Triolein, Glucose και Glycogen.

4.3.2. Προσδιορισμός πρωτεϊνών

Για τον προσδιορισμό των πρωτεϊνών, κάθε νύμφη του δείγματος ομογενοποιήθηκε σε 300 μl PBS₁ (PBS₁: αραίωση 1/20 PBS₂₀) [PBS₂₀ (Phosphate Buffer Saline): διάλυμα 160 gr NaCl, 6.8 gr NaH₂PO₄ και 24.2 gr Na₂HPO₄ σε 1000 ml απεσταγμένο νερό] και ο όγκος του τελικού διαλύματος συμπληρώθηκε με 900 μl PBS₁. Τα ομογενοποιημένα άτομα ανακινήθηκαν στο Vortex και φυγοκεντρήθηκαν στις 10.000rpm και σε θερμοκρασία 25 °C για 4 λεπτά. Για την προετοιμασία των πρότυπων διαλυμάτων τοποθετήθηκαν σε επτά φιαλίδια από 10 έως 70 μl διαλύματος BSA₂ (BSA₂: αραίωση 1/10 BSA₁) (BSA₁: 1 mg Bovine Serum Albumin σε 1 ml απεσταγμένο νερό) και από 790 έως 730 μl PBS₁ αντίστοιχα. Στη συνέχεια προστέθηκαν σε δείγματα και πρότυπα διαλύματα 200 μl Bradford reagent (BIO-RAD) και μετά την ανακίνηση στο Vortex, 300 μl κάθε δείγματος τοποθετήθηκαν στα βοθρία πλάκας ELISA. Η ανάγνωση της οπτικής πυκνότητας για τον προσδιορισμό της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνη έγινε, μέσα σε 20 με 30 λεπτά, στο φασματοφωτόμετρο, στα 595 nm. Η ποσότητα των πρωτεϊνών καθορίστηκε από την καμπύλη αναφοράς για την οποία χρησιμοποιήθηκε το πρότυπο διάλυμα BSA₁.

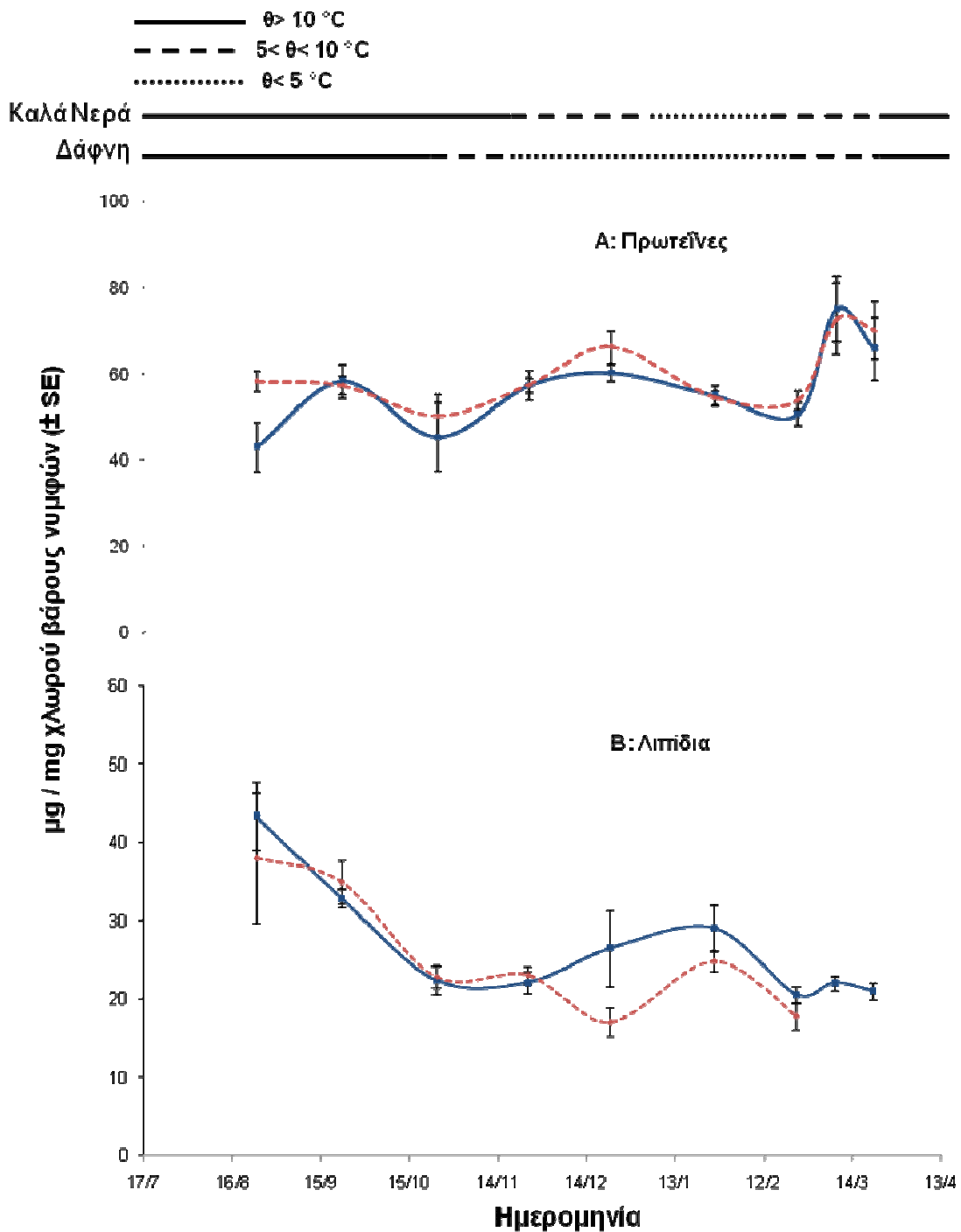
4.4. Αποτελέσματα

4.4.1. Μεταβολή ενεργειακών αποθεμάτων σε συνθήκες υπαίθρου

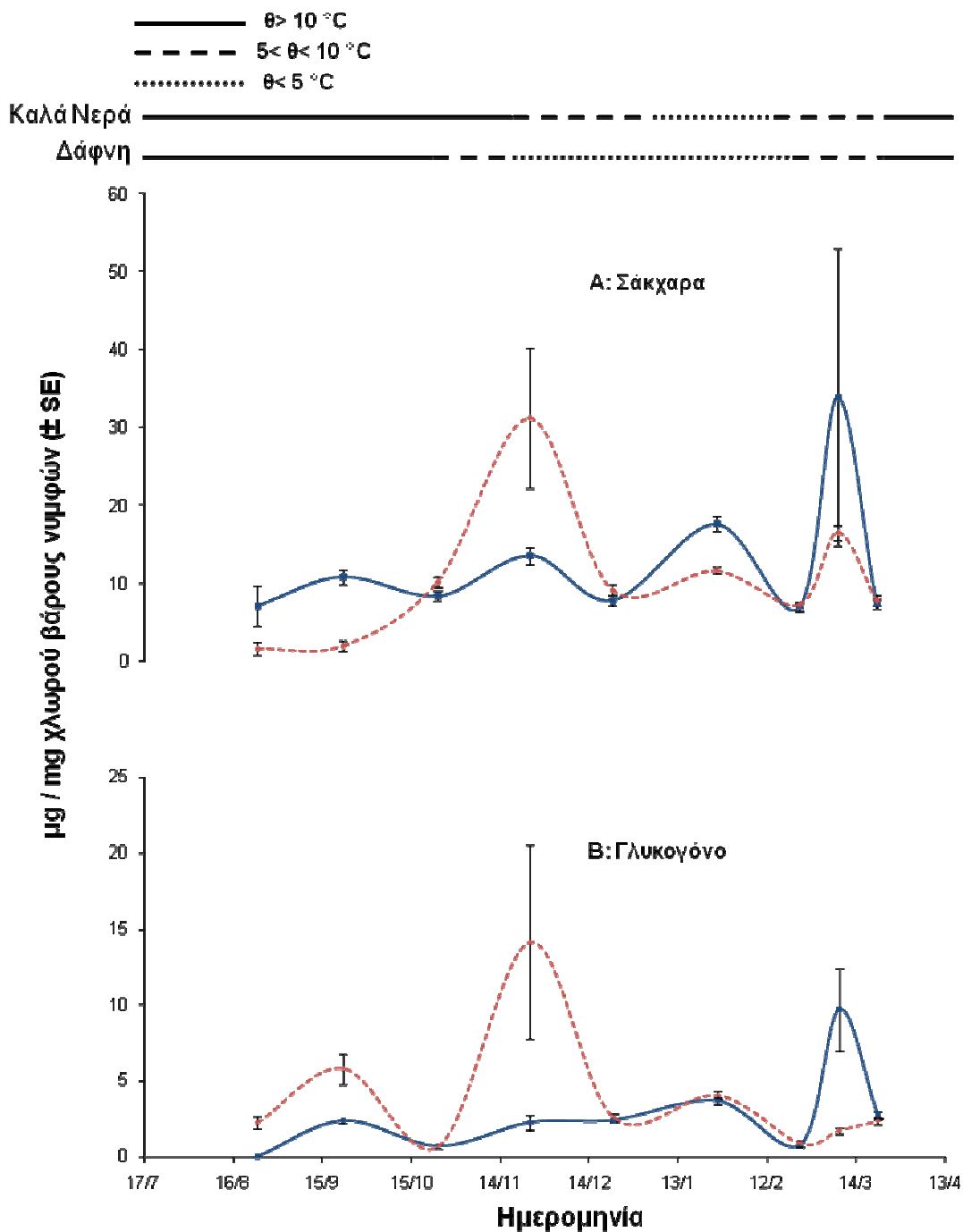
Στο Διάγραμμα 22 δίνεται η πορεία της περιεκτικότητας των νυμφών του ορεινού και του πεδινού πληθυσμού του *R. cerasi* σε πρωτεΐνες και λιπίδια κατά τη διάρκεια έκθεσής τους στις συνθήκες υπαίθρου της περιοχής τους. Όπως φαίνεται, η πορεία περιεκτικότητας των νυμφών σε πρωτεΐνες ήταν παραπλήσια για τους δύο πληθυσμούς, παρέμεινε σταθερή έως και την άνοιξη και μετά τα μέσα Φεβρουαρίου παρουσίασε μια τάση αύξησης. Αντίθετα, η περιεκτικότητα των νυμφών σε λιπίδια εμφάνισε καθοδική πορεία ακολουθώντας παραπλήσια τάση και στους δύο πληθυσμούς. Στην περίπτωση αυτή δεν παρατηρήθηκαν χαρακτηριστικές διακυμάνσεις της ποσότητας, κατά τη μετάβαση στις υψηλότερες θερμοκρασίες της άνοιξης.

Η περιεκτικότητα των νυμφών σε σάκχαρα και γλυκογόνο δίνεται στο Διάγραμμα 23. Όπως φαίνεται, η μεταβολή στην ποσότητα των δύο συστατικών δεν εμφάνισε ξεκάθαρη τάση αύξησης ή μείωσης σε κανέναν από τους δύο πληθυσμούς. Ωστόσο, εκδηλώθηκαν έντονες διακυμάνσεις στις ποσότητες τόσο των σακχάρων όσο και του γλυκογόνου κατά τις περιόδους πτώσης (μετά τα μέσα Οκτωβρίου) και ανόδου (στις αρχές Μαρτίου) της θερμοκρασίας και στους δύο πληθυσμούς. Αξιοσημείωτο είναι το γεγονός ότι στον πεδινό πληθυσμό οι διακυμάνσεις ήταν εντονότερες κατά την πτώση της θερμοκρασίας λόγω έλευσης του χειμώνα ενώ στον ορεινό πληθυσμό το αντίστοιχο συνέβη κατά την άνοδο της θερμοκρασίας την άνοιξη.

Η ανάλυση παραλλακτικότητας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων των επιδράσεων του ορεινού και του πεδινού πληθυσμού και της ημερομηνίας δειγματοληψίας στην περιεκτικότητα των νυμφών του *R. cerasi* σε λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και γλυκογόνο δίνεται στον Πίνακα 8. Ο πληθυσμός είχε σημαντική επίδραση στην περιεκτικότητα των νυμφών σε λιπίδια, η ημερομηνία δειγματοληψίας είχε σημαντική επίδραση στην περιεκτικότητα των νυμφών σε λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και γλυκογόνο ενώ η αλληλεπίδραση της ημερομηνίας δειγματοληψίας και του πληθυσμού ήταν σημαντική στην περιεκτικότητα των λιπιδίων και του γλυκογόνου.



Διάγραμμα 22: Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (A) και λιπίδια (B) νυμφών του ορεινού (συνεχής γραμμή) και πεδινού (διακεκομμένη γραμμή) πληθυσμού του *R. cetrasi* σε συνθήκες υπαίθρου (2005 – 2006). Η μεταβολή της θερμοκρασίας για τις δύο περιοχές δίνεται στο πάνω μέρος του διαγράμματος.



Διάγραμμα 23: Περιεκτικότητα σε σάκχαρα (A) και γλυκογόνο (B) νυμφών του ορεινού (συνεχής γραμμή) και πεδινού (διακεκομμένη γραμμή) πληθυσμού του *R. cethesi* σε συνθήκες υπαίθρου (2005 – 2006). Η μεταβολή της θερμοκρασίας για τις δύο περιοχές δίνεται στο πάνω μέρος του διαγράμματος.

Πίνακας 8. Ανάλυση παραλλακτικότητας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων των επιδράσεων του πλήθους (δύο επίπεδα: φρεινός, πεδινός) και της ημερομηνίας δειγματοληψίας στην περιεκτικότητα των νυμφών του *R. cerasi* σε λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και γλυκογόνο στο ύπαιθρο.

Πηγή παραλλακτικότητας	df	Τιμές F και σημαντικότητα			
		Λιπίδια	Πρωτεΐνες	Υδατάνθρακες	Γλυκογόνο
Πλήθος	1	33.20*	1.5	0.54	1.92
Σφάλμα	18				
Δειγματοληψία	8	22.42*	6.46*	4.37*	4.48*
Δειγματοληψία Χ Πλήθος	8	4.81*	0.63	1.81	4.75*
Σφάλμα	144				

Το αστεράκι δείχνει τη σημαντικότητα σε επίπεδο $P = 0.05$.

4.4.2. Μεταβολή των ενεργειακών αποθεμάτων σε συνθήκες εργαστηρίου

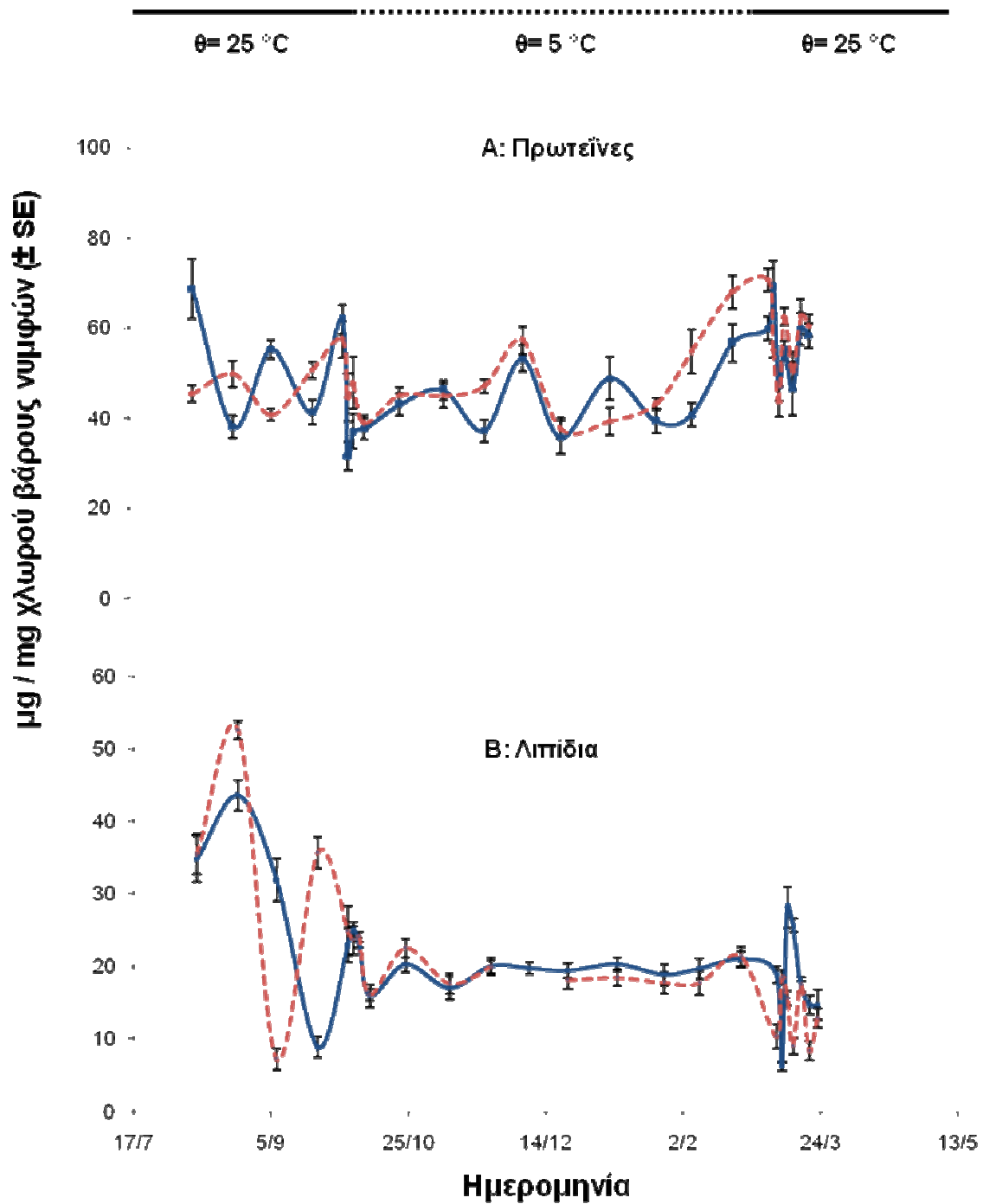
Στο Διάγραμμα 24 δίνεται η μεταβολή της περιεκτικότητας των νυμφών του ορεινού και του πεδινού πληθυσμού του *R. cerasi* σε πρωτεΐνες και λιπίδια κατά τη διάρκεια έκθεσής τους σε συνθήκες εργαστηρίου. Η περιεκτικότητα των νυμφών σε πρωτεΐνες ακολούθησε και πάλι όμοια πορεία στους δύο πληθυσμούς, με τάση αύξησης, στα στάδια της μεταδιαπαυτικής εξέλιξης. Η μεταβολή της θερμοκρασίας από τους 25 °C στους 5 °C συνοδεύτηκε από έντονες αυξομειώσεις της ποσότητας των πρωτεϊνών. Η μεταβολή της ποσότητας των πρωτεϊνών ήταν ομαλότερη στο διάστημα της έκθεσης στους 5 °C ενώ μετά την εκ νέου μεταφορά στους 25 °C παρατηρήθηκαν και πάλι έντονες αυξομειώσεις στην ποσότητα των πρωτεϊνών, με τάση για συνολική αύξηση της περιεκτικότητας των νυμφών σε πρωτεΐνη καθώς πλησίαζε η έξοδος των ενηλίκων.

Η περιεκτικότητα των νυμφών σε λιπίδια μειώθηκε και στους δύο πληθυσμούς, όπως και στην περίπτωση έκθεσης των νυμφών στις συνθήκες υπαίθρου. Οι δύο πληθυσμοί εμφάνισαν έντονες διακυμάνσεις στην ποσότητα των λιπιδίων και πριν την επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών, με τον πεδινό πληθυσμό να εκδηλώνει νωρίτερα τις διακυμάνσεις από τον ορεινό. Κατά την παραμονή των νυμφών στους 5 °C η περιεκτικότητά τους σε λιπίδια παρέμεινε σταθερή και νέες αυξομειώσεις παρατηρήθηκαν μετά τη μεταφορά τους και πάλι στους 25 °C. Οι αυξομειώσεις αυτές πιθανότατα δείχνουν έντονη μεταβολική δραστηριότητα.

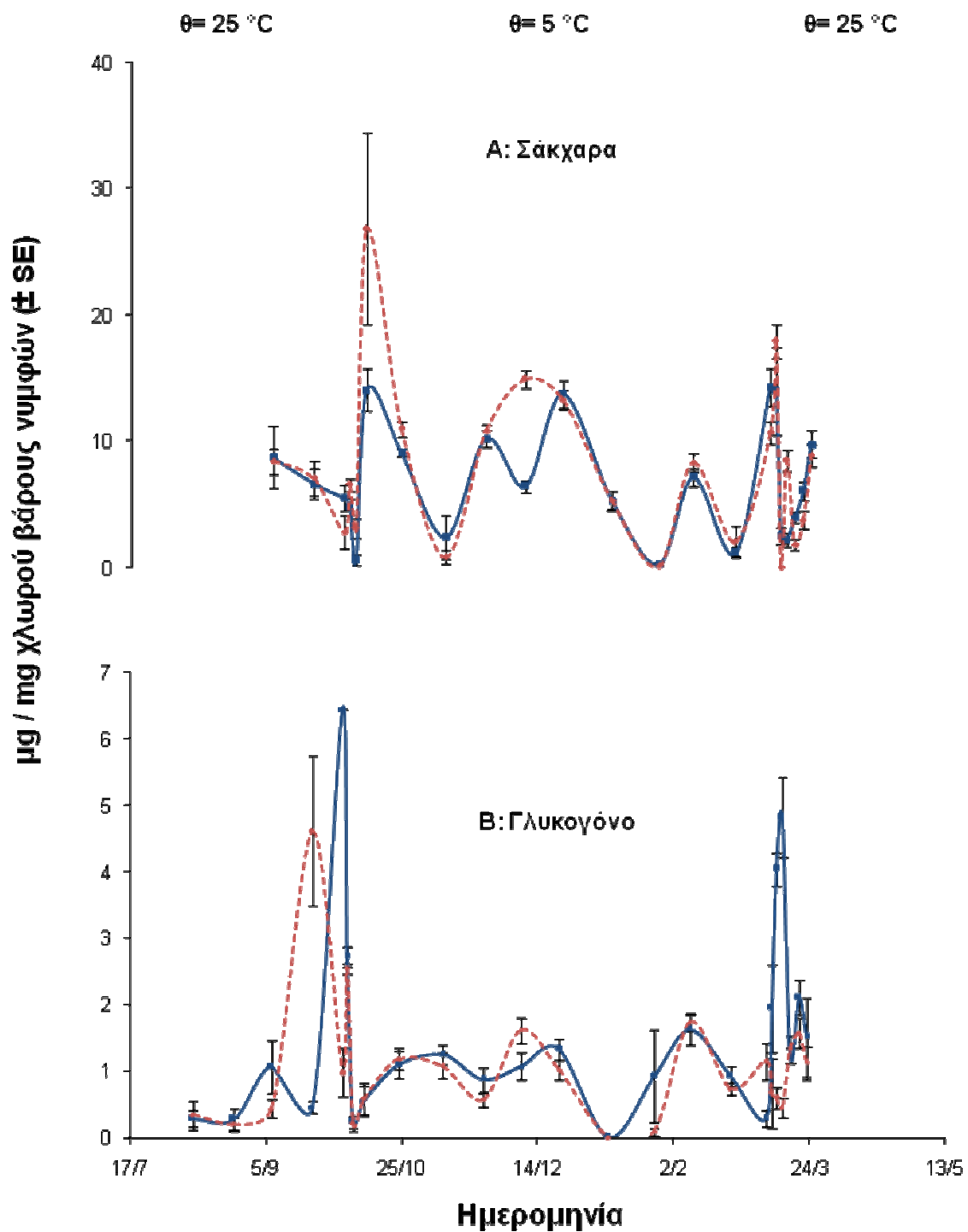
Στο Διάγραμμα 25 φαίνεται η πορεία της περιεκτικότητας των νυμφών σε σάκχαρα και γλυκογόνο. Η ποσότητα του γλυκογόνου εμφάνισε έντονη αυξομείωση τον Οκτώβριο, πριν την τοποθέτησή των νυμφών στους 5 °C και μετά τη μεταφορά τους από τους 5 °C στους 25 °C, ενώ παρέμεινε σχετικά σταθερή κατά την παραμονή τους στους 5 °C. Η ποσότητα των υδατανθράκων δεν εμφάνισε σαφή τάση.

Η ανάλυση παραλλακτικότητας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων των επιδράσεων του ορεινού και του πεδινού πληθυσμού και της ημερομηνίας δειγματοληψίας στην περιεκτικότητα των νυμφών του *R. cerasi* σε λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και γλυκογόνο δίνεται στον Πίνακα 9. Ο πληθυσμός

είχε σημαντική επίδραση στην περιεκτικότητα των νυμφών σε λιπίδια και πρωτεΐνες, η ημερομηνία δειγματοληψίας είχε σημαντική επίδραση στην περιεκτικότητα των νυμφών σε λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και γλυκογόνο ενώ η αλληλεπίδραση της ημερομηνίας δειγματοληψίας και του πληθυσμού ήταν σημαντική στην περιεκτικότητα λιπιδίων, πρωτεϊνών, υδατανθράκων και γλυκογόνου.



Διάγραμμα 24: Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες (A) και λιπίδια (B) νυμφών του ορεινού (συνεχής γραμμή) και πεδινού (διακεκομμένη γραμμή) πληθυσμού του *R. celtasi* σε συνθήκες εργαστηρίου. Η μεταβολή της θερμοκρασίας δίνεται στο πάνω μέρος του διαγράμματος.



Διάγραμμα 25: Περιεκτικότητα σε σάκχαρα (Α) και γλυκογόνο (Β) νυμφών του ορεινού (συνεχής γραμμή) και πεδινού (διακεκομμένη γραμμή) πληθυσμού του *R. cerasi* σε συνθήκες εργαστηρίου. Η μεταβολή της θερμοκρασίας δίνεται στο πάνω μέρος του διαγράμματος.

Πίνακας 9. Ανάλυση παραλλακτικότητας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων στις επιδράσεις του πληθυσμού (δύο επίπεδα: ορεινός, πεδινός) και της ημερομηνίας δειγματοληψίας στην περιεκτικότητα των νυμφών του *R. cerasi* σε λιπίδια, πρωτεΐνες, υδατάνθρακες και γλυκογόνο στο εργοστάσιο.

Γηγή παραλλακτικότητας	df	Τιμές F και σημαντικότητα			
		Λιπίδια	Πρωτεΐνες	Υδατάνθρακες	Γλυκογόνο
Πληθυσμός	1	9.23*	4.63*	3.02	4.23
Σφάλμα	18				
Δειγματοληψία	23	64.89*	13.77*	27.21*	2.36*
Δειγματοληψία Χ Πληθυσμός	23	43.06*	4.11*	3.24*	2.27*
Σφάλμα	414				

Το αστεράκι δείχνει τη σημαντικότητα σε επίπεδο $P = 0.05$.

4.5. Συζήτηση

Η σχετικά περιορισμένη μείωση της ποσότητας των ενεργειακών αποθεμάτων των νυμφών, των δύο πληθυσμών φανερώσει πως κατά τη μακρά περίοδο του νυμφικού σταδίου δεν παρατηρούνται μεγάλες απώλειες ενέργειας σε κανένα από τους δύο πληθυσμούς, στις αντίστοιχες τοπικές συνθήκες. Η σταδιακή μείωση της ποσότητας των λιπιδίων με ταυτόχρονη αύξηση της ποσότητας των πρωτεϊνών μαρτυρεί τη μετατροπή της αποθηκευμένης, με τη μορφή λιπιδίων, ενέργειας στις απαραίτητες για τη μεταμόρφωση πρωτεΐνες. Επιπλέον, οι έντονες διακυμάνσεις της περιεκτικότητας των νυμφών σε λιπίδια και πρωτεΐνες τόσο κατά την πτώση όσο και κατά την άνοδο της θερμοκρασίας, ίσως καταδεικνύουν την αύξηση της μεταβολικής δραστηριότητας του εντόμου κατά την έναρξη και περάτωση της διάπαυσης και ιδιαίτερα κατά την είσοδο του εντόμου στη μεταδιαπαιτική εξέλιξη. Το ίδιο μαρτυρούν και οι έντονες αυξομειώσεις των ποσοτήτων των σακχάρων και του γλυκογόνου, συστατικών που αποτελούν άμεσα καταναλώσιμες μορφές ενέργειας.

Η περαιτέρω μελέτη της μεταβολής των ενεργειακών αποθεμάτων των νυμφών του *R. cerasi*, ιδιαίτερα στο μεταδιαπαιτικό στάδιο, και η συσχέτισή της με την ένταση της διάπαυσης, μπορεί να δώσει χρήσιμες πληροφορίες για την πρόβλεψη της εμφάνισης των ενηλίκων σε φυσικές συνθήκες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5. Συμπεράσματα και συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής οδηγούν στα ακόλουθα συμπεράσματα σχετικά με τη φαινολογία των ενηλίκων, την ένταση της διάπαυσης και τη μεταβολή των ενεργειακών αποθεμάτων νυμφών του ορεινού και του πεδινού πληθυσμού, του *R. cerasi*.

Η φαινολογία των ενηλίκων των δύο πληθυσμών ακολουθεί τη φαινολογία των κερασιών της περιοχής από την οποία προέρχονται. Η πτήση των ενηλίκων του ορεινού πληθυσμού ξεκινάει σχεδόν δύο μήνες αργότερα από την πτήση των ενηλίκων του πεδινού πληθυσμού. Διαφορές εμφανίζονται και στη φαινολογία μεταξύ αρσενικών και θηλυκών ατόμων. Ο μέσος αριθμός των συλληφθέντων αρσενικών ανά παγίδα είναι μεγαλύτερος από το μέσο αριθμό των θηλυκών. Όμως η αναλογία φύλου στα ενήλικα που εξέρχονται από τις νύμφες την άνοιξη είναι υπέρ των θηλυκών. Η έναρξη συλλήψεων των θηλυκών προηγείται αυτής των αρσενικών. Συνεπώς φαίνεται πως τα θηλυκά έχουν μικρότερης διάρκειας μεταδιαπαιτική εξέλιξη σε σχέση με τα αρσενικά και έτσι εξέρχονται πρώτα από τις νύμφες την άνοιξη και συλλαμβάνονται στις παγίδες. Η υπέρ των αρσενικών αναλογία φύλου των συλλήψεων στις παγίδες πιθανόν να οφείλεται στην αυξημένη προσέλκυση των αρσενικών στις παγίδες Rebell, ή σε αλλαγές της αναλογίας φύλου στη φύση υπέρ των αρσενικών λόγω αυξημένης θνησιμότητας των θηλυκών και πιθανής διασποράς τους σε γειτονικούς κερασεώνες.

Τα αποτελέσματά μας δείχνουν πως η φαινολογία των ενηλίκων, ο συγχρονισμός της εμφάνισης των δύο φύλων και συγχρονισμός των ενηλίκων με την περίοδο ωρίμανσης των κερασιών ρυθμίζεται κυρίως από τη διάπαυση και τη μεταδιαπαιτική εξέλιξη. Η φαινολογία των ενηλίκων έχει έντονα τοπικό χαρακτήρα που θα πρέπει να λαμβάνεται υπόψη στο σχεδιασμό της αντιμετώπισης του *R. cerasi*. Η συγκέντρωση ημεροβαθμών σε χαμηλές θερμοκρασίες κατά τη διάπαυση και σε υψηλές θερμοκρασίες κατά τη μεταδιαπαιτική εξέλιξη καθορίζει το ποσοστό και την εποχή εξόδου των ενηλίκων από το νυμφικό περίβλημα. Οι δύο πληθυσμοί διαφέρουν στην ένταση της διάπαυσης. Ο ορεινός πληθυσμός απαιτεί μεγαλύτερη διάρκεια

χαμηλών θερμοκρασιών για την περάτωση της διάπαυσης με αποτέλεσμα να αποτυγχάνει να περατώσει τη διάπαυση στην πεδινή περιοχή. Ο πεδινός πληθυσμός έχει ανάγκη μικρότερης διάρκειας χαμηλών θερμοκρασιών για την περάτωση της διάπαυσης με αποτέλεσμα να περατώνει νωρίτερα τη διάπαυση στην ορεινή περιοχή. Και στις δύο περιπτώσεις παρατηρείται έλλειψη συγχρονισμού σε περιοχές με διαφορετικές κλιματικές συνθήκες. Η επικράτηση υψηλών θερμοκρασιών μετά την περάτωση της διάπαυσης επιδρά στη διάρκεια της μεταδιαπαυτικής εξέλιξης και στην έξοδο των ενηλίκων. Όσο υψηλότερη και μεγαλύτερη διάρκεια είναι η θερμοκρασία νωρίς την άνοιξη τόσο συντομότερη είναι η διάρκεια της μεταδιαπαυτικής εξέλιξης. Οι διαφορετικές θερμοκρασιακές απαιτήσεις των δύο πληθυσμών στο στάδιο της διάπαυσης είναι αποτέλεσμα της στενής προσαρμογής τους στις τοπικές κλιματικές συνθήκες.

Η στενή εξελικτική προσαρμογή του κάθε πληθυσμού στις συνθήκες της περιοχής του και η αδυναμία συγχρονισμού της εμφάνισης των ενηλίκων διαφορετικών πληθυσμών κάτω από τις ίδιες συνθήκες δείχνουν πιθανή αδυναμία ροής γονιδίων μεταξύ των διαφορετικών πληθυσμών. Το φαινόμενο αυτό αποτελεί ίσως αφετηρία αλλοπάτριας ειδογένεσης σε πληθυσμούς του *R. cerasi*.

Η αναλογία φύλου των ενηλίκων που εξέρχονται από τις νύμφες εξαρτάται από την πορεία περάτωσης της διάπαυσης και είναι υπέρ των θηλυκών, την άνοιξη, όταν το μέγιστο ποσοστό των νυμφών έχει περατώσει τη διάπαυση. Όπως προαναφέρθηκε, ο μέσος αριθμός συλλήψεων αρσενικών ανά παγίδα είναι μεγαλύτερος από των θηλυκών. Πέρα των εξηγήσεων που δίνονται παραπάνω, για την εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων σε ότι αφορά την αναλογία φύλου των εξερχόμενων από τις νύμφες ατόμων, αλλά και των συλληφθέντων στις παγίδες, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη πως 20 – 30% των νυμφών παραμένουν σε διάπαυση περισσότερο από ένα χειμώνα, και δε γνωρίζουμε την αναλογία φύλου των νυμφών που διαπαύουν για περισσότερα από ένα έτη.

Η περάτωση της διάπαυσης σε σταθερές συνθήκες στο εργαστήριο έδειξε πως η παρατεταμένη έκθεση των νυμφών σε υψηλές θερμοκρασίες πριν την επίδραση χαμηλών θερμοκρασιών έχει αρνητική επίδραση στο ποσοστό εξόδου των ενηλίκων και επιμηκύνει τη διάρκεια της

μεταδιαπαιτικής εξέλιξης. Οι απρόβλεπτες κλιματικές συνθήκες μπορεί να αποτελούν έναν από τους παράγοντες ενεργοποίησης των μηχανισμών παράτασης της διαπαιτικής περιόδου του *R. cerasi* και αύξησης του ποσοστού που διαπαύει για διάστημα μεγαλύτερο από ένα έτος. Οι μηχανισμοί αυτοί πιθανόν να λειτουργούν ως δικλείδα ασφαλείας για την επιβίωση του πληθυσμού, μέσω του συγχρονισμού της εξόδου των ενηλίκων με την ωρίμανση των κερασιών σε επόμενα έτη.

Τα ενεργειακά αποθέματα των δύο πληθυσμών μεταβάλλονται με παρόμοιο τρόπο κατά τη διάρκεια της διάπαυσης. Σε γενικές γραμμές δεν παρατηρήθηκαν μεγάλες απώλειες ενέργειας, κυρίως λόγω μειωμένου μεταβολικού ρυθμού. Η μείωση της ποσότητας των λιπιδίων και η αύξηση της ποσότητας των πρωτεϊνών πιθανώς να σχετίζεται με τη μεταμόρφωση. Οι απότομες μεταβολές στις ποσότητες των υδατανθράκων και του γλυκογόνου ίσως σηματοδοτούν την περάτωση της διάπαυσης και την είσοδο του εντόμου στο μεταδιαπαιτικό στάδιο που χαρακτηρίζεται από αυξημένη μεταβολική δραστηριότητα.

Από τα παραπάνω προκύπτει πως για το σχεδιασμό και την εφαρμογή πληθυσμιακών μοντέλων παρακολούθησης της μύγας των κερασιών, στη χώρα μας, πρέπει να ληφθεί υπόψη η προσαρμογή του εντόμου στις τοπικές συνθήκες και ο συγχρονισμός του με τη φαινολογία των ποικιλιών κερασιάς της κάθε περιοχής. Η μελέτη της φαινολογίας του εντόμου σε τοπικό επίπεδο, κάθε καλλιεργητική περίοδο, σε συνδυασμό με τις κλιματικές συνθήκες μπορεί να οδηγήσει στη δημιουργία αξιόπιστων πληθυσμιακών προτύπων, για κάθε περιοχή, με σκοπό την αποτελεσματικότερη και φιλικότερη προς το περιβάλλον αντιμετώπιση της μύγας των κερασιών. Τα επίπεδα των ενεργειακών αποθεμάτων σε διαπαύουσες νύμφες μπορούν να δώσουν χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την ένταση της διάπαυσης και να χρησιμοποιηθούν στην πρόγνωση της εποχής εξόδου των ενηλίκων.

Όπως είναι φυσικό, η παρούσα διατριβή καλύπτει ένα μικρό μέρος της μελέτης της βιολογίας της μύγας των κερασιών. Για τη βαθύτερη κατανόηση της βιολογίας του εντόμου θα πρέπει να πραγματοποιηθεί περαιτέρω έρευνα που να αφορά στη (α) φαινολογία και διάπαυση περισσότερων ελληνικών πληθυσμών της μύγας της κερασιάς, (β) συλλογή δημογραφικών στοιχείων για διαφορετικούς βιοτύπους του εντόμου, (γ) μελέτη της ρύθμισης των

ενεργειακών αποθεμάτων των ενηλίκων και (δ) δημιουργία πληθυσμιακών προτύπων που θα βασίζεται στο συνδυασμό όλων των παραπάνω στοιχείων για αντιπροσωπευτικές περιοχές της χώρας, σημαντικές στην καλλιέργεια της κερασιάς.

Βιβλιογραφία

- Agee, H. R., E. Boller, U. Remund, J. C. Davis, and D. L. Chambers. 1982.** Spectral Sensitivities and Visual Attractant Studies on the Mediterranean Fruit-Fly, *Ceratitis-Capitata* (Wiedemann), Olive Fly, *Dacus-Oleae* (Gmelin), and the European Cherry Fruit-Fly, *Rhagoletis-Cerasi* (L) (Diptera, Tephritidae). *Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie-Journal of Applied Entomology* 93: 403-412.
- Baker, C. R. B., and G. W. Miller. 1978.** Effect of temperature on postdiapause development of four geographical populations of european cherry fruit fly (*Rhagoletis cerasi*). *Entomologia Experimentalis et Applicata* 23: 1-13.
- Boller, E. F. 1985.** *Rhagoletis cerasi* and *Ceratitis capitata*, pp. 135-144. In P. Sing and R. F. Moore [eds.], *Handbook of Insect Rearing*. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands.
- Boller, E. F., and R. J. Prokopy. 1976.** Bionomics and management of *Rhagoletis*. *Annual Review of Entomology* 21: 223-146.
- Boller, E. F., B. I. Katsoyannos, and C. Hippe. 1998.** Host races of *Rhagoletis cerasi* L. (Dipt., Tephritidae): Effect of prior adult experience on oviposition site preference. *Journal of Applied Entomology-Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie* 122: 231-237.
- Boller, E. F., R. K., V. V., and B. G.L. 1976.** Incompatible races of European Cherry Fruit Fly *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae), their origin and potential use in biological control. *Entomol. exp. appl.* 20: 237-247.
- Canavoso, L. E., Z. E. Jouni, K. J. Karnas, J. E. Pennington, and M. A. Wells. 2001.** Fat metabolism in insects. *Annual Review of Entomology* 21: 23-46.
- Carey, J. R., P. Liedo, H. G. Muller, J. L. Wang, and J. M. Chiou. 1998.** Relationship of age patterns of fecundity to mortality, longevity, and lifetime reproduction in a large cohort of Mediterranean fruit fly females. *Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences* 53: B245-B251.

- Carey, J. R., P. Liedo, H. G. Muller, J. L. Wang, and J. M. Chiou. 1999.** Mortality oscillations induced by periodic starvation alter sex-mortality differentials in Mediterranean fruit flies. *Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences* 54: B424-B431.
- Carey, J. R., P. Liedo, H. G. Muller, J. L. Wang, B. Love, L. Harshman, and L. Partridge. 2001.** Female sensitivity to diet and irradiation treatments underlies sex-mortality differentials in the Mediterranean fruit fly. *Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences* 56: B89-B93.
- Casas, J., S. Pincebourde, N. Mandon, F. Vannier, R. Poujol, and D. Giron. 2005.** Lifetime nutrient dynamics reveal simultaneous capital and income breeding in a parasitoid. *Ecology* 86: 545-554.
- Danks, H., V. 2004.** Seasonal adaptations in arctic insects. *Integr. Comp. Biol.* 44: 85-94.
- Denlinger, D., L. 2002.** Regulation of diapause. *Annual Review of Entomology* 47: 93-122.
- Ding, L., Y. Li, and M. Goto. 2003.** Physiological and biochemical changes in summer and winter diapause and non-diapause pupae of the cabbage armyworm, *Mamestra brassicae* L. during long-term cold acclimation. *Journal of Insect Physiology* 49: 1153-1159.
- Feder, J. L., S. H. Berlocher, J. B. Roethele, H. Dambroski, J. J. Smith, W. L. Perry, V. Gavrilovic, K. E. Filchak, J. Rull, and M. Aluja. 2003.** Allopatric genetic origins for sympatric host-plant shifts and race formation in *Rhagoletis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 10314-10319.
- Fimiani, P. 1989.** Mediterranean region, pp. 39-50. *In* A. S. Robinson and G. Hooper [eds.], *Fruit flies: their biology, natural enemies and control*. Elsevier, Amsterdam.
- Gordon, H. T. 1972.** Interpretations of Insect Quantitative Nutrition pp. 73-105. *In* J. G. Rodriguez [ed.], *Insect and Mite Nutrition*. North-Holland Publishing Company, Amsterdam.
- Haisch, A., and D. Chwala. 1979.** Influence of Alternating Temperatures Upon the Course of Diapause of the European-Cherry-Fruit-Fly,

- Rhagoletis-Cerasi Diptera, Trypetidae. *Entomologia Generalis* 5: 231-239.
- Han, E. N., and E. Bauce. 1998.** Timing of diapause initiation, metabolic changes and overwintering survival of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* *Ecological Entomology* 23: 160.
- Hayes, L., J. . 1982.** Diapause and Diapause Dynamics of *Colias alexandra* (Lepidoptera: Pieridae). *Oecologia (Berlin)* 53: 317-322
- Katsoyannos, B. I. 1975.** Oviposition-detering, male-arresting, fruit-marking pheromone in *Rhagoletis cerasi*. *Environmental Entomology* 4: 801-807.
- Katsoyannos, B. I. 1976.** Female Attraction to Males in *Rhagoletis-Cerasi* (Diptera- Tephritidae). *Environmental Entomology* 5: 474-476.
- Katsoyannos, B. I., and E. F. Boller. 1976.** First field applicaton [in Switzerland] of oviposition-detering marking pheromone of European cherry fruit fly [*Rhagoletis cerasi*]. *Environ-Entomol* 5: 151-152.
- Katsoyannos, B. I., and E. F. Boller. 1980.** 2nd Field Application of Oviposition-Detering Pheromone of the European Cherry Fruit-Fly, *Rhagoletis-Cerasi* L (Diptera, Tephritidae). *Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie-Journal of Applied Entomology* 89: 278-281.
- Kirkwood, T. B. L., and S. N. Austad. 2000.** Why do we age? *Nature* 408: 233-238.
- Kostal, V. 2006.** Eco-physiological phases of insect diapause. *Journal of Insect Physiology* 52: 113-127.
- Kovanci, O. B., and B. Kovanci. 2006.** Effect of altitude on seasonal flight activity of *Rhagoletis cerasi* flies (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Entomological Research* 96: 345-351.
- Linn, C., J. L. Feder, S. Nojima, H. R. Dambroski, S. H. Berlocher, and W. Roelofs. 2003.** Fruit odor discrimination and sympatric host race formation in *Rhagoletis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 11490-11493.
- Linn, C. E., H. R. Darnbroski, J. L. Feder, S. H. Berlocher, S. Nojima, and W. L. Roelofs. 2004.** Postzygotic isolating factor in sympatric speciation in *Rhagoletis* flies: Reduced response of hybrids to parental

host- fruit odors. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 101: 17753-17758.

Linn, J. C. E., H. Dambroski, N. S., J. L. Feder, B. S. H., Roelofs, and W. L. 2005. Variability in response specificity of apple, hawthorn, and flowering dogwood-infesting *Rhagoletis* flies to host fruit volatile blends: implications for sympatric host shifts. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 116

55–64.

Matolin, S. 1976. Mechanism causing incompatibility between different strains of *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae). *Acta Entomologica Bohemoslovaca* 73: 289-296.

Nestel, D., E. Nemny-Lavy, and C. L. Chang. 2004. Lipid and protein loads in pupating larvae and emerging adults as affected by the composition of Mediterranean fruit fly (*Ceratitis capitata*) meridic larval diets. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 56: 97-109.

Nestel, D., D. Tolmasky, A. Rabossi, and L. A. Quesada-Allue. 2003. Lipid, carbohydrates and protein patterns during metamorphosis of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 96: 237-244.

Nestel, D., N. T. Papadopoulos, P. Liedo, L. Gonzales-Ceron, and J. R. Carey. 2005. Trends in lipid and protein contents during medfly aging: An harmonic path to death. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 60: 130-139.

Neuenschwander, P., S. Michelakis, K. Russ, and E. Hoblaus. 1983. Ecological studies on *Rhagoletis cerasi* L. in Crete for the use of the incompatible insect technique, pp. 41-51. *In* R. Cavalloro [ed.], *Fruit Flies of Economic Importance*. Proceedings CEC/IOBC International Symposium, Athens.

Ohtsu, T., M. T. Kimura, and S. Hori, H. 1995. The influence of eclosion timing on winter survival and triacylglycerol accumulation in four temperate species of *Drosophila*. *Physiological Entomology* 20: 248-252.

Partridge, L. 2001. Evolutionary theories of ageing applied to long-lived organisms. *Experimental gerontology* 36: 641-650.

- Prokopy, R. J., and E. F. Boller. 1971.** Response of European cherry fruit flies to colored rectangles J. Econ.Entomol. 64: 1444-1447.
- Remund, U., and E. F. Boller. 1975.** Size criteria for adults and for sexing pupae of *Rhagoletis cerasi*. J. Econ.Entomol. 69: 136-138.
- Remund, U., B. I. Katsoyannos, and E. F. Boller. 1980.** Distribution of eggs of the cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera, Tephritidae), under field conditions Switzerland. Zur Eiverteilung der Kirschenfliege, *Rhagoletis cerasi* L. (Dipt., Tephritidae), im Freiland. Mitt Schweiz Entomol Ges Bull Soc Entomol Suisse 53: 401-405.
- Renault, D., F. Hervant, and P. Vernon. 2002.** Comparative study of the metabolic responses during food shortage and subsequent recovery at different temperatures in the adult lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae). Physiological Entomology 27: 291-301.
- Riegler, M., and C. Stauffer. 2002.** Wolbachia infections and superinfections in cytoplasmically incompatible populations of the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* (Diptera, Tephritidae). Molecular Ecology 11: 2425-2434.
- Saunders, D. S. 2000.** Larval diapause duration and fat metabolism in three geographical strains of the blow fly, *Calliphora vicina*. Journal of Insect Physiology 46: 509-517.
- Schwarz, D., B. A. McPheron, G. B. Hartl, E. F. Boller, and T. S. Hoffmeister. 2003.** A second case of genetic host races in *Rhagoletis*? A population genetic comparison of sympatric host populations in the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi*. Entomologia Experimentalis Et Applicata 108: 11-17.
- Skaar, E. 1999.** Adult emergence and swarming activity of the Cherry fruit fly, related to meteorological factors (Preliminary project results). IOBC wprs Bulletin 22: 75-80.
- Tauber, M., J., C. Tauber, A., and S. Masaki. 1986.** Seasonal adaptations of insects.
- Vallo, V., U. Remund, and E. F. Boller. 1976.** Storage conditions of stockpiled diapausing pupae of *Rhagoletis cerasi* for obtaining high emergence rates. Entomophaga 21: 251-256.

- Vogt, H. 2007.** Short information about an invasive *Rhagoletis* species in Germany. TEAM Newsletter 4: 6-7.
- Voigt, E. 1999.** Further data on the flight activity of cherry fruit fly (*Rhagoletis cerasi* L.). IOBC wprs Bulletin 22: 85-91.
- Warburg, M. S., and B. Yuval. 1996.** Effects of diet and activity on lipid levels of adult Mediterranean fruit flies. *Physiological Entomology* 21: 151-158.
- Warburg, M. S., and B. Yuval. 1997.** Effects of energetic reserves on behavioral patterns of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Oecologia* 112: 314-319.
- White, I. M., and M. M. Elson-Harris. 1992.** Fruit Flies of Economic Significance Their Identification and Bionomics. C.A.B. INTERNATIONAL:, WALLINGFORD, ENGLAND, UK.
- Yuval, B., R. Kaspi, S. Shloush, and M. S. Warburg. 1998.** Nutritional reserves regulate male participation in Mediterranean fruit fly leks. *Ecological Entomology* 23: 211-215.
- Κατσόγιαννος, Β. Ι. 1996.** Η μύγα των κερασιών. Βιολογία, καταπολέμηση, παρακολούθηση του πληθυσμού στη Βόρεια Ελλάδα και σύγκριση αποτελεσματικότητας διαφόρων τύπων παγίδων. Γεωργία και Κτηνοτροφία 2: 34-44.
- Κατσόγιαννος, Β. Ι., Ν. Θ. Παπαδόπουλος, and Δ. Σταυρίδης. 2000.** Η μύγα των κερασιών: Παρακολούθηση του πληθυσμού του εντόμου και της προσβολής των κερασιών σε διάφορες περιοχές της βόρειας Ελλάδας κατά τα έτη 1996 και 1997 και ένα πείραμα καταπολέμησης με δολωματικό ψεκασμό. Γεωργία και Κτηνοτροφία 2: 38-48.
- Κατσόγιαννος, Β. Ι., Ν. Κουλούσης, Σ. Παπαδοπούλου, Δ. Τάσκος, Α. Καραβαϊζίδης, and Μ. Μανωλάκης. 1991.** Παρακολούθηση του πληθυσμού του εντόμου *Rhagoletis cerasi* σε κερασιές και βυσσινιές στην περιοχή Μίκρας Θεσσαλονίκης και ύψος της προσβολής ορισμένων ποικιλιών. , Πρακτικά Δ' Πανελληνίου Εντομολογικού Συνεδρίου, Βόλος.
- Κουκουργιάννης, Β. 2000.** Οι τάσεις στην παραγωγή και εμπορία των κερασιών. Γεωργία και Κτηνοτροφία.

- Νικολακάκης, Ν. 1988.** Παρόν και μέλλον της κερασοκαλλιέργειας. Γεωργική Τεχνολογία: 29-40.
- Τζανακάκης, Μ., Ε., and Β. Κατσόγιαννος, Ι. 2003.** Έντομα καρποφόρων δέντρων και αμπέλου, Αθήνα.
- Τζανακάκης, Μ. Ε. 1995.** Εντομολογία, Θεσσαλονίκη.
- Χανιωτάκης, Γ., Μ., Μ. Μαλλιάρος, Μ. Κοζυράκης, and Κ. Μπονάτσος. 1991.** Πειράματα καταπολέμησης της μύγας του κερασιού *Rhagoletis cerasi* στην Κρήτη. Αποτελέσματα πρώτου έτους, Α' Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο Αθήνα.
- Χατζηχαρίσης, Ι. Α. 1990.** Η καλλιέργεια της κερασιάς. Υφιστάμενη κατάσταση και προοπτικές. Ποικιλίες. Γεωργία και Κτηνοτροφία 5: 21-25.
- Χατζηχαρίσης, Ι. Α. 2000.** Τα ιδιαίτερα προβλήματα της καλλιέργειας της κερασιάς και η αντιμετώπισή τους. Γεωργία και Κτηνοτροφία.