



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ**

**Σχολή Γεωπονικών Επιστημών**

**Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού Περιβάλλοντος**

**ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«Αειφόρος Αγροτική Παραγωγή και Διαχείριση Περιβάλλοντος»**

**ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ**

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αρσενικών σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον, επηρεάζουν την επιλογή σύζευξης και την αρμοστικότητα των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου (*Ceratitis capitata*).

Παυλίδης Κυριάκος

**Βόλος, 2017**

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αρσενικών σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον, επηρεάζουν την επιλογή σύζευξης και την αρμοστικότητα των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου (*Ceratitis capitata*).

Παυλίδης Κυριάκος

**Τριμελής συμβουλευτική επιτροπή**

Παπαδόπουλος Νικόλαος	Καθηγητής Εφαρμοσμένης Εντομολογίας του τμήματος Γ. Φ. Π. Α. Π. του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας	Εισηγητής
Αθανασίου Χρήστος	Αναπληρωτής Καθηγητής Εντομολογίας του τμήματος Γ. Φ. Π. Α. Π. του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας	Μέλος
Σφουγγάρης Αθανάσιος	Καθηγητής Διαχείρισης Οικοτόπων και Βιοποικιλότητας του τμήματος Γ. Φ. Π. Α. Π. του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας	Μέλος

Copyright © Παυλίδης Κυριάκος, 2017

Με επιφύλαξη παντός δικαιώματος. All rights reserved.

Απαγορεύεται η αντιγραφή, αποθήκευση και διανομή της παρούσας διατριβής, εξ ολοκλήρου ή τμήματος αυτής, για εμπορικό σκοπό. Επιτρέπεται η ανατύπωση, αποθήκευση και διανομή για σκοπό μη κερδοσκοπικό, εκπαιδευτικής ή ερευνητικής φύσης, υπό την προϋπόθεση να αναφέρεται η πηγή προέλευσης.

Η έγκριση της Μεταπτυχιακής Διατριβής Ειδίκευσης από το Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας δε δηλώνει αποδοχή των γνώμων του συγγραφέα.

## Πρόλογος

Η παρούσα μεταπτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε κατά τα έτη 2016 - 2017 στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά, τον επιβλέποντα της μεταπτυχιακής μου διατριβής, καθηγητή Εφαρμοσμένης Εντομολογίας του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κ. Παπαδόπουλο Νικόλαο, για την ανάθεση του θέματος, την καθοδήγηση του κατά τον σχεδιασμό των πειραμάτων και τις συμβουλές και διορθώσεις του κατά την συγγραφή του κειμένου της διατριβής και της παρουσίασης των αποτελεσμάτων.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες απευθύνω προς τον διδάκτορα κ. Ιωάννου Χαράλαμπο, για την συνεργασία και καθοδήγηση του κατά τον σχεδιασμό και την εκτέλεση των πειραμάτων και την διδάκτορα κ. Παπαναστασίου Στέλλα για την βοήθεια της στην στατιστική ανάλυση και την παρουσίαση των αποτελεσμάτων.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, για την συνεχή υποστήριξη και συμπαράσταση τους, καθ' όλη τη διάρκεια των σπουδών μου.

## Περίληψη

Η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), είναι ένα εξαιρετικά πολυφάγο είδος, με μεγάλη οικονομική σημασία και ευρεία γεωγραφική εξάπλωση καθώς είναι εγκατεστημένο σε πολλές τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές σε ολόκληρο τον κόσμο.

Σε πολλά είδη εντόμων, η διατήρηση των αρσενικών σε ομάδες με δύο ή περισσότερα αρσενικά σε ένα χώρο συγκεκριμένων διαστάσεων (συνωστισμός), προκαλεί αλλαγές στη σεξουαλική συμπεριφορά τους. Οι επιδράσεις του συνωστισμού των αρσενικών, φαίνεται να επηρεάζουν την αρμοστικότητα των θηλυκών, καθώς και τα χαρακτηριστικά της σύζευξης σε διαφορετικά είδη εντόμων. Οι επιδράσεις του συνωστισμού των αρσενικών, που τρέφονται σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον, στην επιλογή σύζευξης και στην αρμοστικότητα των θηλυκών δεν έχουν μελετηθεί μέχρι σήμερα στην μύγα της Μεσογείου.

Στην παρούσα εργασία διατηρήσαμε αρσενικά της μύγας της Μεσογείου, από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την σύζευξη, σε 3 διαφορετικά επίπεδα ανταγωνισμού: μεμονωμένα αρσενικά, ομάδες των 2 και ομάδες 5 αρσενικών. Συγκεκριμένα, το πρώτο μέρος του πειράματος περιλάμβανε τις δοκιμές επιλογής, όπου τα θηλυκά είχαν την δυνατότητα να επιλέξουν σεξουαλικό σύντροφο μεταξύ μεμονωμένων αρσενικών και αρσενικών που διατηρήθηκαν σε ομάδες (2 ή 5 ατόμων), καταγράφοντας παράλληλα τη διάρκεια και το χρόνο μέχρι την έναρξη της σύζευξης. Το δεύτερο μέρος του πειράματος περιλάμβανε δοκιμές χωρίς δυνατότητα επιλογής σεξουαλικού συντρόφου από τα θηλυκά (1 αρσενικό από τις 3 μεταχειρίσεις), καταγράφοντας τη διάρκεια και το χρόνο μέχρι την έναρξη της σύζευξης, την ωοπαραγωγή και την εκκόλαψη των αυγών, καθώς και τη διάρκεια ζωής των θηλυκών.

Η ανάλυση των αποτελεσμάτων από τις δοκιμές σύζευξης με επιλογή σεξουαλικού συντρόφου από τα θηλυκά έδειξαν ότι οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αρσενικών πριν από την σύζευξη δεν επηρεάζουν την επιλογή σύζευξης των θηλυκών. Η μέση διάρκεια σύζευξης ήταν μεγαλύτερη στα θηλυκά και αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 ατόμων σε σχέση με αυτή μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα. Η μέση διάρκεια σύζευξης δε διέφερε σημαντικά στα θηλυκά και αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 5 ατόμων σε

σχέση με αυτή μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα. Επιπλέον, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αρσενικών δεν επηρεάζουν το χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα ή σε συνθήκες συνωστισμού (ομάδες των 2 ή των 5 ατόμων). Τα αποτελέσματα των δοκιμών χωρίς επιλογή σεξουαλικού συντρόφου από τα θηλυκά, έδειξαν ότι ο τρόπος διατήρησης των αρσενικών (μεμονωμένα ή σε ομάδες των 2 και 5 ατόμων) μέχρι την ημέρα των δοκιμών σύζευξης, δεν επηρεάζει την επιλογή τους από τα θηλυκά για σύζευξη, τη διάρκεια και το χρόνο έως της σύζευξης, τη διάρκεια ζωής, την ωοπαραγωγή και την εκκόλαψη των αυγών των θηλυκών. Ωστόσο, η σύζευξη ενεργοποιεί την ωοπαραγωγή των θηλυκών, καθώς τα θηλυκά που έμειναν παρθένα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους ωοτόκησαν σημαντικά μικρότερο αριθμό αυγών σε σχέση με τα θηλυκά που συζεύχθηκαν.

Τα ευρήματα της παρούσας εργασίας βοηθούν στην καλύτερη κατανόηση της σεξουαλικής συμπεριφοράς της μύγας της Μεσογείου, ενώ παράλληλα οι πληροφορίες αυτές θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν στην αύξηση της ανταγωνιστικότητας των στείρων αρσενικών που χρησιμοποιούνται στα πλαίσια της μεθόδου εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων.

**Λέξεις κλειδιά:** *Ceratitis capitata*, συνωστισμός, αλληλεπιδράσεις αρσενικών, επιλογή σύζευξης, αρμοστικότητα θηλυκών

## Summary

The Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) is an extremely polyphagous species of great economic importance, because of its wide geographical distribution (many tropical, semi-tropical and temperate areas all over the world), the severe infestation rates on fresh fruits and the quarantine regulations that restrict fruit trading between infested and non infested areas.

In many insect species, the holding conditions (crowding) of males (that result in male-male interactions), may elicit changes in their sexual. Male – male interactions (crowding) have been found to affect the female fitness and the copula characteristics. However, the effects of male interactions on female mating choice and fitness traits have not been addressed for the Mediterranean fruit fly.

In the current project, we maintained male Mediterranean fruit flies from the beginning of adult life (adult eclosion from pupae) until mating tests in 3 different crowding conditions: isolated males (kept in individually), kept in groups of 2 individuals, and in groups of 5 individuals in the same cage volume. The first part of the current study included choice mating tests, where females had the possibility to choose a sexual partner between isolated males and males kept in the two crowding treatments above. The latency to mate and the copula duration was recorded. The second part involved no choice mating trials considering males of the three treatments above. Copula characteristics (latency to mate time and copula duration) as well as egg laying patterns and egg hatch rates were recorded daily throughout the life span of females.

Choice experiments revealed that no effects of male holding conditions on female mating choice. Copula duration was longer when females mated with males that were kept in group of two before the mating trials, compared to individually kept males. No differences were reported in copula duration when individually kept males were compared against males kept in groups of five. In addition, the interaction between males did not affect the latency to mate between females and males that were kept individually or in crowding conditions (groups of 2 or 5 elements). No choice tests revealed that male crowding condition before copulation had no effects on female mating choice, copula duration and the latency to mate time. Likewise no effects of male crowding on female lifespan, oviposition patterns, fecundity and egg

hatch rates were reported. The cohort of females that kept virgin (non mated) laid significantly fewer eggs than females mated regardless of the male crowding conditions.

The results of the current Master's thesis contribute to better understanding the sexual behavior of the Mediterranean fruit fly and may contribute to increase the performance of released males in Sterile Insect Release Programs.

**Key words:** *Ceratitidis capitata*, crowding, males interactions, sexual selection, females fitness



Εγώ, ο Παυλίδης Κυριάκος, είμαι ο συγγραφέας αυτής της Μ.Δ.Ε. Αυτή η Μ.Δ.Ε. αντικατοπτρίζει την έρευνα που έγινε από εμένα και δεν έχει υποβληθεί (εξ ολοκλήρου ή μέρος της) σαν προπτυχιακή διατριβή ή Μ.Δ.Ε. ή ως μέρος Διδακτορικής Διατριβής σε αυτό ή άλλο Προπτυχιακό ή Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Σπουδών Ιδρυμάτων Τριτοβάθμιας Εκπαίδευσης του εσωτερικού ή εξωτερικού. Όποια συνεργασία καθώς και το μέγεθος αυτής δηλώνονται επακριβώς στο αντίστοιχο πεδίο αυτής της διατριβής. Επίσης, έχω διαβάσει όλες τις βιβλιογραφικές αναφορές που παρατίθενται στο τέλος.

Ως επιβλέπων της έρευνας που περιγράφεται σε αυτή τη διατριβή, δηλώνω ότι όλοι οι όροι του Εσωτερικού Κανονισμού του Μεταπτυχιακού Προγράμματος Σπουδών του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος έχουν τηρηθεί από τον κο Παυλίδη Κυριάκο.

## Πίνακας Περιεχομένων

1. ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά.....	1
1.2 Γεωγραφική κατανομή.....	3
1.3 Ξενιστές και οικονομική σημασία.....	5
1.4 Βιολογία και φαινολογία.....	6
1.5 Αντιμετώπιση.....	8
1.5.1 Παρακολούθηση των πληθυσμιακών διακυμάνσεων.....	8
1.5.2 Μαζική παγίδευση.....	9
1.5.3 Χημική αντιμετώπιση.....	10
1.5.4 Βιολογική αντιμετώπιση.....	11
1.5.5 Μέθοδος εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων (Sterile Insect Technique).....	13
1.5.6 Καλλιεργητικά μέτρα.....	16
1.5.7 Νομοθετικά μέτρα.....	16
1.6 Σεξουαλική συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου.....	17
1.6.1 Κατανομή του σπέρματος (Sperm allocation).....	20
1.6.2 Ρόλος των συνοδών εκκριμάτων των αρσενικών.....	22
1.7 Επιδράσεις συνωστισμού στη συμπεριφορά σύζευξης.....	23
1.8 Σκοπός.....	24
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	26
2.1 Συνθήκες εργαστηρίου.....	26
2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν και μέθοδος εκτροφής τους.....	26
2.3 Πειραματική διαδικασία.....	29
2.3.1 Πειράματα επιλογής.....	31
2.3.2 Πειράματα μη επιλογής.....	32
2.4 Στατιστική ανάλυση.....	32
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	33
3.1 Πειράματα επιλογής.....	33
3.2 Πειράματα μη επιλογής.....	39
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	48
5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	56

## 1. ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

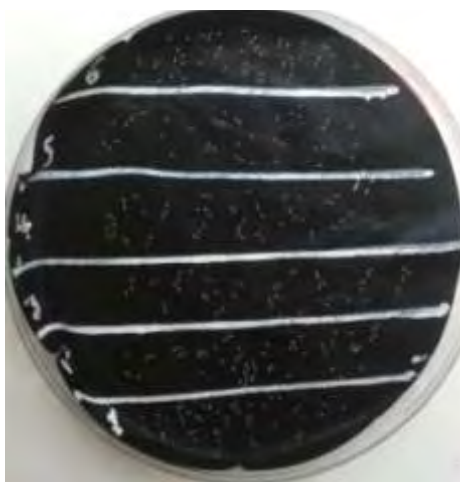
Η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), ανήκει στην τάξη των Διπτέρων, στην οικογένεια Tephritidae και στο άρθροισμα Ceratidini (De Meyer, 2000). Η οικογένεια Tephritidae περιλαμβάνει περίπου 4800 εγγεγραμμένα είδη που ανήκουν σε 500 γένη και είναι κατά κύριο λόγο φυτοφάγα (95%) (Virgilio et al., 2014) με εξαίρεση τα είδη της υποοικογένειας Tachiniscidae που είναι παρασιτοειδή και της υποοικογένειας Phytalmiinae που είναι σαπροφάγα (Díaz-Fleischer et al., 2001). Μεταξύ των φυτοφάγων ειδών το 35% προσβάλλει καρπούς, το 40 % ανθοκεφαλές φυτών της οικογένειας Asteraceae και το 25% προσβάλλει φύλλα, βλαστούς και ρίζες (White and Elson-Harris, 1992). Τα είδη που προσβάλλουν καρπούς κατανέμονται κυρίως σε πέντε κύρια γένη: *Anastrepha* (Schiner), *Rhagoletis* (Loew), *Ceratitis* (Macleay), *Dacus* (Fabricius) και *Bactrocera* (Macquart) (Virgilio et al., 2014). Το γένος *Ceratitis* περιλαμβάνει πάνω από 90 είδη (De Meyer, 2000), με πολλά από αυτά να είναι εξαιρετικά πολυφάγα όπως η μύγα της Μεσογείου, *C. capitata*, ένα χωροκατακτητικό είδος που είναι εγκατεστημένο σε πολλές τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές σε όλο τον κόσμο (Szyniszewska and Tatem, 2014).

### 1.1 Μορφολογικά χαρακτηριστικά

Το ενήλικο της μύγας της Μεσογείου, έχει μήκος 4 - 6 mm και πλάτος 1,2 - 2 mm. Ο θώρακας και οι πτέρυγες φέρουν, μαύρες, καστανές και κίτρινες κηλίδες. Η κεφαλή είναι κίτρινη, με πιο σκούρο χρώμα ανάμεσα στις βάσεις των κεραιών (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Τα δύο τμήματα της βάσης των κεραιών έχουν καστανέρυθρο χρωματισμό, ενώ η arista σχεδόν μαύρο. Οι σύνθετοι οφθαλμοί έχουν ιριδίζων πορφυρό έως καστανέρυθρο χρωματισμό και ανάμεσα τους υπάρχουν μαύρες τρίχες. Οι πτέρυγες είναι διαφανής, με μήκος περίπου 4,5 mm η καθεμία και φέρουν καστανέρυθρες και μαύρες ζώνες και κηλίδες. Το νωτιαίο τμήμα του θώρακα είναι γυαλιστερό μαύρο με διακριτές υπόλευκες ζώνες ενώ το κοιλιακό είναι κίτρινο. Το scutellum έχει μαύρο χρωματισμό στο μεγαλύτερο τμήμα του, ενώ η κοιλιά είναι πορτοκαλοκίτρινη με δύο καστανέρυθρες εγκάρσιες ζώνες. Τα πόδια είναι κιτρινέρυθρα και οι οπίσθιες κνήμες έχουν κίτρινες σκληρές τρίχες. Το αρσενικό

διακρίνεται από το θηλυκό από ένα ζεύγος έμμισχον, ροπαλοειδών εξαρτημάτων που βρίσκονται στο μέτωπο. Παράλληλα, το θηλυκό φέρει τον ωοθέτη στην άκρη της κοιλιάς του, με χρώμα κιτρινέρυθρο και στην άκρη καστανό, μήκους 0,9 - 1,3 mm (Papadopoulos, 2004).

Τα αυγά είναι λεία, λευκά και ελλειπτικού σχήματος με διαστάσεις 0,9 – 1,1 mm σε μήκος και 0,2 - 0,3 mm σε διάμετρο (Εικόνα 1). Εισάγονται στους καρπούς του ξενιστή με τον ωοθέτη του θηλυκού. Οι προνύμφες (Εικόνα 2) είναι άποδες, υπόλευκου χρώματος και κυλινδρικού σχήματος, με το πρόσθιο μέρος του σώματος στενότερο από το οπίσθιο. Υπάρχουν τρία προνυμφικά στάδια που διαφέρουν στο σχήμα, στο μέγεθος και στο χρώμα των στοματικών αγκίστρων. Οι προνύμφες πρώτου σταδίου έχουν μήκος 0,17 - 2,2 mm, του δευτέρου σταδίου 2,3 - 5 mm και του τρίτου 6 - 10 mm. Η νύμφη (Εικόνα 3) έχει ελλειψοειδές σχήμα, με διαστάσεις 4,4 – 4,5 mm σε μήκος και 2 - 2,5 mm σε διάμετρο. Το χρώμα της νύμφης κυμαίνεται από ανοικτοκάστανο έως σκοτεινοκάστανο και εξαρτάται από το είδος του ξενιστή στον οποίο έχει αναπτυχθεί η προνύμφη (Papadopoulos, 2004).



**Εικόνα 1:** Αυγά της μύγας της Μεσογείου



**Εικόνα 2:** Προνύμφες της μύγας της Μεσογείου σε υποστρώματα εμποτισμένα με τεχνητή τροφή



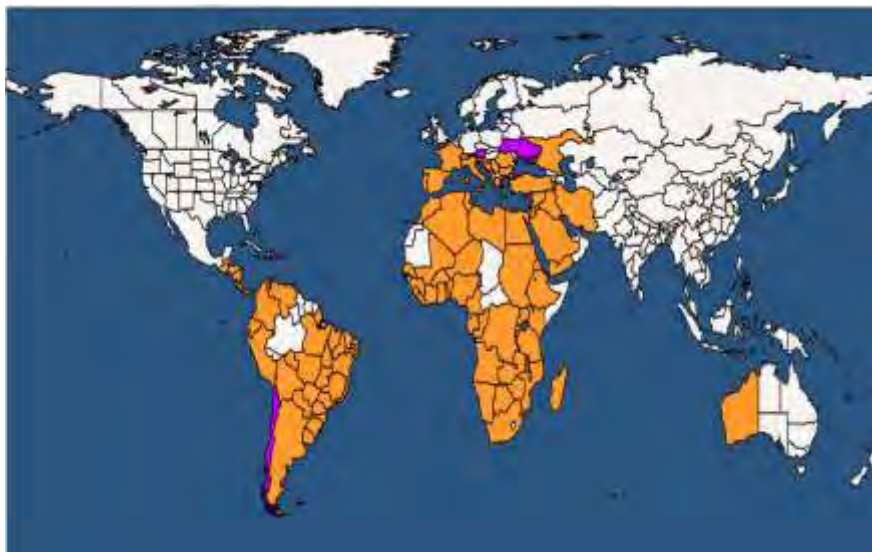
**Εικόνα 3:** Νύμφες της μύγας της Μεσογείου

## 1.2 Γεωγραφική κατανομή

Η μύγα της Μεσογείου κατάγεται από την τροπική Αφρική και συγκεκριμένα από περιοχές νότια της ερήμου Σαχάρας. Η εισβολή του εντόμου στην λεκάνη της Μεσογείου, πραγματοποιήθηκε είτε μέσω της κοιλάδας του Νείλου και στη συνέχεια μέσω των ακτών της Μέσης Ανατολής, είτε μέσω της Ισπανίας από τη Βορειοδυτική ακτή της Αφρικής και του Γιλβάρτάρ. Από την Ισπανία, είναι πιθανόν να μεταφέρθηκε στο Νέο Κόσμο (Λατινική Αμερική) (Kourti et al., 1992; Malacrida et al., 1992).

Κατάλληλες περιοχές για την ανάπτυξη του *C. capitata* βρίσκονται μεταξύ 45° Βόρειου και 45° Νότιου γεωγραφικού πλάτους (Εικόνα 4). Η μύγα της Μεσογείου, έχει αναφερθεί σε πολλά μέρη της Αφρικής, της Μέσης Ανατολής, της

Δυτικής Αυστραλία, στις περισσότερες χώρες της Κεντρικής και Νότιας Αμερικής και στα νησιά του Ατλαντικού, του Ειρηνικού και του Ινδικού Ωκεανού. Έχει εισβάλει πολλές φορές στη Βόρεια Αμερική και πιστεύεται ότι είναι εγκατεστημένη στην Καλιφόρνια. Στην Ευρώπη, εμφανίζεται σε όλες τις χώρες της λεκάνης της Μεσογείου και στην Πορτογαλία (Papadopoulos, 2004). Στη χώρα μας απαντάται από την Κρήτη έως και τη Βόρεια Ελλάδα και προκαλεί συχνές και σοβαρές ζημιές σε ποικιλία καλλιεργειών (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).



**Εικόνα 4:** Γεωγραφική κατανομή *Ceratitidis capitata* (Πηγή: EPPO)

Η μύγα της Μεσογείου εμφανίζει έντονες πληθυσμιακές μεταβολές ανάλογα με την εποχή, καθώς οι περιβαλλοντικές συνθήκες (κυρίως η θερμοκρασία) δεν είναι κατάλληλες όλο το χρόνο, στα περισσότερα μέρη, για την αύξηση του πληθυσμού της. Οι Szyniszewska and Tatem (2014), πρόβλεψαν την πιθανή καταλληλότητα διαφόρων περιοχών στην εμφάνιση και στην αύξηση του πληθυσμού της μύγας της Μεσογείου. Την περίοδο Ιανουάριου – Απριλίου, κατάλληλες περιοχές είναι εκείνες γύρω από τον κόλπο του Μεξικού, τη λεκάνη της Καραϊβικής, του Πάμπα της Αργεντινής και της Ανατολικής Βραζιλίας. Στην Αφρική, υψηλή καταλληλότητα έχει το νότιο τμήμα της ηπείρου καθώς και οι περιοχές της ζώνης του Σαχέλ, καθώς οι περιβαλλοντικές συνθήκες είναι κατάλληλες για την αύξηση του πληθυσμού της μύγας της Μεσογείου. Επιπλέον, υψηλή καταλληλότητα παρουσιάζει η νοτιοανατολική Ασία, όπου η μύγα της Μεσογείου δεν έχει εμφανιστεί, ενώ οι χώρες της λεκάνης της Μεσογείου, παρουσιάζονται ως λιγότερο κατάλληλες για αυτή την περίοδο. Την περίοδο Μαΐου – Αυγούστου (καλοκαίρι στο βόρειο ημισφαίριο)

κατάλληλες περιοχές είναι οι περισσότερες περιοχές της Ευρώπης, της Βόρειας Αμερικής, της Ασίας, της Κεντρικής Αφρικής και της Βόρειας Αυστραλίας. Την περίοδο Σεπτεμβρίου – Δεκεμβρίου μεγαλύτερο βαθμό καταλληλότητας έχουν οι περιοχές της λεκάνης της Μεσογείου, οι νοτιοανατολικές περιοχές των Η.Π.Α και η καταλληλότητα αυτή εξαπλώνεται σε περιοχές του νότιου ημισφαιρίου.

### 1.3 Ξενιστές και οικονομική σημασία

Η μύγα της Μεσογείου είναι έντομο πολυφάγο, για το οποίο έχουν αναφερθεί πάνω από 350 είδη φυτών – ξενιστών από 67 διαφορετικές οικογένειες. Το 40 % των ξενιστών της μύγας της Μεσογείου, ανήκει στις οικογένειες Myrtaceae (6%), Rosaceae (10%), Rutaceae (9%), Sapotaceae (9%), και Solanaceae (6%) (Liquidio et al, 1991). Ως κοσμοπολίτικο έντομο αναπτύσσεται σε τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές. Στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές είναι σημαντικός εχθρός σε καλλιέργειες καφέ (*Coffea arabica*), μάνγκο (*Manifera indica*), παπάγιας (*Carica papaya*), αβοκάντο (*Persea americana*), γκουάβας (*Psidium guajava*), πορτοκαλιού (*Citrus sinensis*), νεραντζιάς (*Citrus aurantium*), σύκου (*Ficus carica*), γκρέιπφρουτ (*Citrus x paradise*), φραγκόσυκου (*Opuntia vulgaris*), μούσμουλου (*Eriobotrya japonica*) και ανατολίτικου λωτού (*Diospyros kaki*) (Papadopoulos, 2004). Σε εύκρατες περιοχές, καθώς και στη χώρα μας προκαλεί σοβαρές ζημιές σε εσπεριδοειδή, αχλάδια (*Pyrus communis*), μήλα (*Malus domestica*), ροδάκινα (*Prunus persicae*), βερίκοκα (*Prunus armeniaca*), σύκα κ.α. (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Το σύνολο αυτών των ξενιστών, περιλαμβάνει ευνοϊκούς και μη ευνοϊκούς ξενιστές για τα ανήλικα στάδια ανάπτυξης και την ωοτοκία των ενηλίκων. Οι περισσότερες δραστηριότητες των ενηλίκων όπως η εκδήλωση της σεξουαλικής συμπεριφοράς, λαμβάνει χώρα σε συγκεκριμένους ξενιστές (Papadopoulos et al, 2015).

Η μύγα της Μεσογείου είναι από τα πιο επιβλαβή έντομα σε όλο τον κόσμο, με τα επίπεδα προσβολής σε κάποιους ξενιστές να φτάνουν το 100 %, αν δεν εφαρμοστούν μέτρα αντιμετώπισης. Υπολογίζεται ότι η μύγα της Μεσογείου, προκαλεί ετήσιες ζημιές 242 εκατομμυρίων δολαρίων Η.Π.Α. στη Βραζιλία (Oliveira et al., 2013), ενώ η ετήσιες ζημιές που θα προκαλούσε στο Ισραήλ, την Ιορδανία και



την Παλαιστίνη εάν δεν εφαρμόζονταν μέτρα για την αντιμετώπιση του *C. capitata*, υπολογίζεται σε 365 εκατομμύρια δολάρια Η.Π.Α., ποσό που φτάνει σχεδόν το μισό της αξίας της συνολικής παραγωγής (Enkerlin and Mumford, 1997). Διεξάγονται εντατικά προγράμματα ελέγχου από διεθνείς και εθνικούς οργανισμούς, με σκοπό τον περιορισμό της εξάπλωσης του εντόμου ή την εκρίζωση του σε περιοχές που έχει εγκατασταθεί. Είναι έντομο καραντίνας για πολλές χώρες, όπως οι Η.Π.Α. και η Ιαπωνία, στις οποίες έχουν υιοθετηθεί αυστηροί κανονισμοί που περιορίζουν την εμπορία νωπών φρούτων και λαχανικών (White and Elson-Harris, 1992; Papadopoulos, 2004).

#### **1.4 Βιολογία και φαινολογία**

Η μύγα της Μεσογείου είναι ένα πολυκυκλικό είδος, το οποίο συμπληρώνει 3-7 γενιές το έτος. Ο αριθμός των γενεών που συμπληρώνονται κάθε έτος, εξαρτάται από την περιοχή, τη θερμοκρασία, τα είδη και τη διαθεσιμότητα των ξενιστών. Η ανάπτυξη του πληθυσμού του *C. capitata*, επιβραδύνεται σε χαμηλές θερμοκρασίες, με χαμηλότερο όριο για την ανάπτυξη των πληθυσμών του 10 - 12°C. Στις βορειότερες περιοχές της Μεσογείου, για να αντιμετωπίσει της χαμηλές χειμερινές θερμοκρασίες, το *C. capitata* διαχειμάζει ως προνύμφη εντός προσβεβλημένων καρπών ή ως νύμφη στο έδαφος. Αντίθετα, στις νοτιότερες περιοχές της Μεσογείου, καθώς και στις τροπικές και υποτροπικές περιοχές, αναπτύσσεται καθ' όλη τη διάρκεια του έτους, με την ανάπτυξη να μειώνεται όταν επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες (Papadopoulos, 2004).

Τα ενήλικα εμφανίζουν την άνοιξη και η αναπαραγωγική τους ωρίμανση εξαρτάται από τις κλιματολογικές συνθήκες και τη λήψη απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, μετά την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα. Λαμβάνουν πρωτεΐνες από περιττώματα πουλιών και αποσυντιθέμενους καρπούς και υδατάνθρακες από μελιτώματα και χυμούς ώριμων φρούτων. Για την αναπαραγωγική ωρίμανση, τη σύζευξη και την απόθεση αυγών, το χαμηλότερο όριο θερμοκρασίας είναι περίπου 16°C (Delrio and Cocco, 2012). Η περίοδος προωτοκίας ποικίλει μεταξύ των ατόμων του *C. capitata* και η διάρκεια της αυξάνεται με τη μείωση της

θερμοκρασίας. Σε άγρια θηλυκά η μέση περίοδος προωτοκίας ήταν 37,4 ημέρες σε 24:13°C (μέγιστη: ελάχιστη) και 9,5 ημέρες σε 29:18°C (Vargas et al., 2000).

Τα θηλυκά αφού ωριμάσουν αναπαραγωγικά και συζευχθούν, ανοίγουν με τον ωοθέτη τους, μία οπή βάθους λίγων χιλιοστών σε ώριμους ή ημιώριμους καρπούς και τοποθετούν μέχρι 10 αυγά στον κάθε καρπό. Καθ' όλη τη διάρκεια ζωής τους, τα θηλυκά μπορούν να ωοτοκήσουν 300-1000 αυγά (Papadopoulos, 2004). Μετά την ωοτοκία το θηλυκό εναποθέτει στον καρπό μία φερομόνη αποτροπής ωοτοκίας, η οποία αποτρέπει την ωοτοκία άλλων θηλυκών στον ίδιο καρπό. Η δράση της φερομόνης αποτροπής ωοτοκίας διαρκεί περισσότερο από 6 ημέρες (Prokopy et al, 1978).

Οι αναπτυσσόμενες προνύμφες δημιουργούν στοά μέσα στον καρπό και η διάρκεια της ανάπτυξης τους, καθώς και η επιβίωση τους εξαρτάται από το είδος του ξενιστή. Η διάρκεια του προνυμφικού σταδίου σε άγριους πληθυσμούς στους 25 °C, σε 15 διαφορετικούς καρπούς ξενιστών, κυμάνθηκε 7-14 ημέρες, με ποιο σύντομη διάρκεια ανάπτυξης να παρατηρείτε σε μάνγκο, σύκο, πορτοκάλι και γκρέιπφρουτ με 7.2, 8.2, 9, 9 ημέρες, αντίστοιχα (Carey, 1984). Ωστόσο ο μέσος χρόνος ανάπτυξης για τους περισσότερους ξενιστές του εντόμου είναι μικρότερος από 10 ημέρες (Krainacker et al, 1987). Τα μεγαλύτερα ποσοστά επιβίωσης των προνυμφών (>50 %), παρατηρήθηκαν σε μάνγκο, σύκα, ροδάκινα και δαμάσκηνα (Carey, 1984), ενώ η επιβίωση των προνυμφών στα εσπεριδοειδή εξαρτάται από την ποικιλία και το τμήμα του καρπού (flavedo, albedo και pulp) που θα αναπτυχθούν οι προνύμφες. Η ανάπτυξη των προνυμφών στο flavedo οδηγεί στη θνησιμότητα όλων των ατόμων, ενώ η επιβίωση στο albedo είναι πολύ χαμηλή (9,8-17,4%), σε σχέση με το εσωτερικό του καρπού (pulp) που είναι ευνοϊκό (Papachristos et al, 2008). Επιπλέον, ωοτοκία των θηλυκών σε προϋπάρχουσες πληγές στους καρπούς των εσπεριδοειδών, αυξάνει την επιβίωση των προνυμφών, γιατί εκτίθεται λιγότερο στα τοξικά αιθέρια έλαια του flavedo (Papadopoulos et al, 2015). Εξαίρεση αποτελεί η νεραντζιά όπου παρατηρήθηκε μικρή επιβίωση των προνυμφών στο flavedo (22,5%), ενώ στο albedo ήταν πολύ μεγαλύτερη (76%) (Papachristos et al, 2008). Οι εκκολαπτόμενες προνύμφες αφού τραφούν με τη σάρκα των καρπών και ολοκληρώσουν την ανάπτυξη τους, εγκαταλείπουν τον καρπό και νυμφώνονται στο έδαφος σε μικρό βάθος (έως 5 cm) (Papadopoulos, 2004).

Η διάρκεια ζωής των ενηλίκων εξαρτάται κυρίως από τη θερμοκρασία, τα είδη και τη διαθεσιμότητα των ξενιστών. Σε άγριους πληθυσμούς της Χαβάης, η έκθεση των ενηλίκων σε εναλλασσόμενες θερμοκρασίες έδειξε μία μέση διάρκεια ζωής 116 ημερών σε θερμοκρασίες 24:13°C (μέγιστη:ελάχιστη) ενώ σε θερμοκρασίες 35:24°C η μέση διάρκεια ζωής ήταν 40 ημέρες (Vargas et al, 2000). Γενικά, οι Μεσογειακοί πληθυσμοί του *C. capitata* (Ελλάδα, Πορτογαλία,) έχουν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής σε σχέση με τους τροπικούς πληθυσμούς (Χαβάη, Γουατεμάλα, Κένυα), πιθανόν επειδή η εποχικότητα των ξενιστών σε εύκρατα οικοσυστήματα να καθορίζει τη μεγαλύτερη διάρκεια ζωής, προκειμένου να επιβιώσουν σε περιόδους έλλειψης ξενιστών (Diamantidis et al, 2009).

Τα ενήλικα του *C. capitata*, καθώς τρέφονται με τροφές πλούσιες σε άζωτο λαμβάνουν μία ποικιλία μικροοργανισμών κυρίως εντεροβακτηριοειδή (Enterobacteriaceae) τα οποία μαζί με άλλα αποτελούν τη μικροχλωρίδα του πεπτικού συστήματός τους. Τα πιο σημαντικά είδη που βρίσκονται σε υψηλά ποσοστά στο στάδιο της προνύμφης είναι τα *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pectobacterium* spp. *Citrobacter freundii* και *Providencia stuartii* και φαίνεται ότι είναι υπεύθυνα για την παροχή του αζώτου στο έντομο, ενώ μερικά από αυτά έχουν και πηκτινολυτική δράση (π.χ *Pectobacterium* spp). Τα θηλυκά κατά τη διάρκεια της ωοτοκίας μεταφέρουν τα βακτήρια αυτά στους απογόνους τους αλλά και στους καρπούς, όπου τα βακτήρια πολλαπλασιάζονται, προκαλώντας σήψη αυτών (Yuval et al, 2010). Επιπλέον, εκτός από την άμεση ζημιά που προκαλούν οι προνύμφες στους καρπούς, παρατηρούνται δευτερογενείς μολύνσεις μυκητών και βακτηρίων που επιταχύνουν την σήψη των καρπών. Κατά τη διάρκεια της σήψης των καρπών, ωοτοκούν και άλλα είδη εντόμων όπως *Lamprolonchaea* spp., *Drosophila* spp., ή *Carpophilus* spp., των οποίων οι προνύμφες επιτείνουν περαιτέρω την προσβολή (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).

## 1.5 Αντιμετώπιση

### 1.5.1 Παρακολούθηση των πληθυσμιακών διακυμάνσεων

Η παρακολούθηση των πληθυσμών των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου γίνεται παραδοσιακά με τη χρήση παγίδων, οι οποίες αναρτώνται λίγες εβδομάδες

πριν αρχίσουν οι καρποί να γίνονται δεκτικοί για ωστοκία (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Η παγίδευση των ενηλίκων είναι ουσιαστικής σημασίας για την λήψη αποφάσεων που αφορούν την αντιμετώπιση του εντόμου, όπως την εφαρμογή δολωματικών ψεκασμών ή ψεκασμών πλήρους κάλυψης, την εφαρμογή βιολογικών παραγόντων και την εξαπόλυση στειρωμένων εντόμων (SIT).

Οι παγίδες τύπου McPhail και οι παγίδες Jackson (τύπου Δέλτα) είναι οι συχνότερα χρησιμοποιούμενες. Οι παγίδες McPhail, χρησιμοποιούσαν στο παρελθόν υδρολυμένη πρωτεΐνη ως ελκυστικό για την προσέλκυση και των δύο φύλων, ενώ σήμερα χρησιμοποιούνται οι ουσίες οξικό αμμώνιο, 1,4-διαμινοβουτάνιο (putrescine) και τριμεθυλαμίνη (BOLURE dispensers). Ο συνδυασμός αυτών των ουσιών, αποτελεί το πιο αποτελεσματικό σύστημα παγίδευσης των θηλυκών του *C. capitata*, σε σχέση με τα προϊόντα υδρόλυσης πρωτεϊνών (Κατσόγιαννος και Παπαδόπουλος, 1997; Epsky et al., 1999). Οι παγίδες Jackson, χρησιμοποιούν την παραφερομόνη trimedlure και συλλαμβάνουν αρσενικά του *C. capitata* (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Πιο ελκυστική ουσία από το trimedlure, είναι το a-copaene (σε ίσους όγκους), ένα δευτερεύον συστατικό των αιθέριων ελαίων πολλών φυτών-ξενιστών της μύγας της Μεσογείου (εσπεριδοειδή, γκουάβα και μάνγκο). Η ένωση a-copaene μπορεί να χρησιμεύσει ως ένα χημικό σήμα για τον εντοπισμό της περιοχής συνάντησης των δύο φύλων για σύζευξη (Nishida et al, 2000) και επιπλέον αυξάνει την αναπαραγωγική επιτυχία των αρσενικών (Shelly et al 2008). Το a-copaene, δεν χρησιμοποιείται για την παρακολούθηση του πληθυσμού των ενηλίκων, επειδή η συγκέντρωσή της στα φυτά είναι πολύ χαμηλή και η σύνθεση του είναι δύσκολη και δαπανηρή (Nishida et al, 2000).

### **1.5.2 Μαζική παγίδευση**

Η μέθοδος της μαζικής παγίδευσης αφορά την εγκατάσταση υψηλής πυκνότητας παγίδων στον αγρό, με σκοπό την σύλληψη όσο το δυνατόν μεγαλύτερου αριθμού ενηλίκων, ώστε να επέλθει μείωση του πληθυσμού της μύγας της Μεσογείου σε επίπεδα χαμηλότερα από το όριο οικονομικής ζημιάς της καλλιέργειας. Η αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου με τη μέθοδο της μαζικής παγίδευσης, μπορεί να δώσει ικανοποιητικά αποτελέσματα, ιδιαίτερα σε περιοχές με χαμηλή πυκνότητα

πληθυσμού του εντόμου ή σε απομονωμένους οπωρώνες (Navarro-Llopis et al., 2008). Για την προσέλκυση των ενηλίκων του *C. capitata* χρησιμοποιούνται κυρίως παγίδες τύπου McPhail, με τις ουσίες οξικό αμμώνιο, 1,4-διαμινοβουτάνιο και τριμεθυλαμίνη, μέσα σε ειδικούς εξατμιστήρες (Κατσόγιαννος και Παπαδόπουλος, 1997; Epsky et al., 1999). Επιπλέον, η εφαρμογή των παραπάνω ουσιών, σε πλαστικές, κίτρινες, κολλητικές σφαίρες (διαμέτρου 7,5 cm), αποδείχθηκε πιο αποτελεσματική από τις παγίδες τύπου McPhail και για τα δύο φύλα (Katsoyannos and Papadopoulos, 2004).

Η πυκνότητα των παγίδων ποικίλει, ανάλογα με τα επίπεδα του πληθυσμού και τον τύπο της παγίδας. Σε πειράματα που έγιναν στην Ισπανία ικανοποιητικά αποτελέσματα έδωσε η πυκνότητα 50 παγίδων/ha, μόνο σε χαμηλή πυκνότητα πληθυσμού του εντόμου. Ωστόσο, για τη μείωση του κόστους και για την βελτίωση της μεθόδου, οι εξατμιστήρες πρέπει να έχουν μεγάλη διάρκεια δράσης (>3 μήνες) και η διάρκεια δράση τους να αξιολογείται σε διαφορετικές κλιματικές συνθήκες (κυρίως θερμοκρασία και υγρασία) (Navarro-Llopis et al., 2008).

### 1.5.3 Χημική αντιμετώπιση

Η χημική αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου, αφορά δολωματικούς ψεκασμούς ή ψεκασμούς πλήρους κάλυψης με στόχο την αποτροπή της ωοτοκίας των θηλυκών στους καρπούς (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Τα ενήλικα είναι το μόνο στάδιο ανάπτυξης της μύγας της Μεσογείου που μπορεί να εκτεθεί στα εντομοκτόνα, γιατί τα αυγά και οι προνύμφες αναπτύσσονται μέσα στον καρπό και οι χρησιμοποιούμενες δραστικές ουσίες στην Ευρώπη, έχουν μη διασυστηματική δράση (π.χ. οργανοφωσφορικά και πυρεθροειδή) (Delrio and Cocco, 2012).

Οι δολωματικοί ψεκασμοί βασίζονται στην προσέλκυση των εντόμων, συνήθως με υδρολυμένη πρωτεΐνη 2 % και στη θανάτωση τους από την λήψη ή την επαφή με ένα εντομοκτόνο (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Ενθαρρυντικά αποτελέσματα έδωσε στον αγρό, ο συνδυασμός τροφικών ελκυστικών με ρυθμιστές ανάπτυξης των εντόμων (Insect Growth Regulator, IGR) όπως το lufenuron το οποίο προκαλεί σταδιακή μείωση του πληθυσμού του εντόμου μέσω της επαγωγής στειρότητας σε φυσικούς πληθυσμούς (Alemany et al., 2008). Το lufenuron μειώνει

τη βιωσιμότητα των αυγών, τόσο στα θηλυκά που εκτίθησαν στην ένωση αυτή, όσο και στα θηλυκά που δεν είχαν εκτεθεί αλλά είχαν συζευχτεί με αρσενικά που ήρθαν σε επαφή με το lufenuron (Casana-Giner et al., 1999). Οι ψεκασμοί πλήρους κάλυψης των δέντρων, καλό θα ήταν να αποφεύγονται γιατί μειώνουν τους φυσικούς εχθρούς και προκαλούν εξάρσεις πληθυσμών άλλων εχθρών (π.χ. κοκκοειδών) (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).

#### 1.5.4 Βιολογική αντιμετώπιση

Η βιολογική καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου, αφορά την εξαπόλυση ιθαγενών ή εξωτικών παρασιτοειδών σε μια περιοχή και μπορεί επίσης να συνδυαστεί, με την εξαπόλυση στειρωμένων εντόμων (SIT) (Rendon et al., 2006). Στην Ελλάδα, ανάλογη προσπάθεια δεν έχει αναφερθεί, εκτός από την εξαπόλυση του παρασιτοειδούς *Dirhinus giffardii* (Hymenoptera: Chalcididae), το οποίο εισήχθη από το Ισραήλ το 1962, χωρίς να αναφερθεί από τότε η παρουσία του (Greathead, 1976 από Papadopoulos and Katsoyannos, 2003). Ωστόσο, τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα παρασιτοειδή εναντίον της μύγας της Μεσογείου καθώς και άλλων ειδών της οικογένειας Tephritidae, ανήκουν στην τάξη των Υμενοπτέρων και στην οικογένεια Braconidae. Τα κυριότερα είδη ανήκουν στο γένος *Fopius* (π.χ. *F. arisanus*) τα οποία παρασιτούν τα αυγά και τις νύμφες του εντόμου και στο γένος *Diachasmimorpha* (π.χ. *D. longicaudata*, *D. tryoni*, *D. krausii*) τα οποία παρασιτούν τις προνύμφες και τις νύμφες του *C. capitata* (Vargas et al., 2002; Rendon et al., 2006; Rousse and Quilici, 2009).

Πρόσφατες μελέτες, έδειξαν ότι δύο προνύμφες του παρασιτοειδούς *D. longicaudata* μπορούν να αναπτυχθούν στο *C. capitata* όταν η αναλογία εξαπολυόμενων παρασιτοειδών προς ενήλικα της μύγας της Μεσογείου είναι 4:1 και 2:1 (παρασιτοειδές: ξενιστής) (Altafini et al., 2013). Το παρασιτοειδές *Fopius arisanus*, παρουσιάζει υψηλότερα ποσοστά παρασιτισμού, ρυθμού εξόδου των ενηλίκων και αναλογία φύλου μεγαλύτερη προς τα θηλυκά, όταν εκτραφεί σε αυγά του *C. capitata* σε σχέση με τα αυγά του *Anastrepha fraterculus* (Groth et al., 2016). Επιπλέον, το *F. arisanus* δεν ανταποκρίνεται σε δολώματα πρωτεΐνης και η εφαρμογή

δολωματικών ψεκασμών που περιέχουν spinosad ή phloxine B έχει μικρή επίδραση στο παρασιτοειδές (Vargas et al., 2002).

Αποτελεσματική μορφή βιολογικής καταπολέμησης, στην περιοχή της Μεσογείου, μπορεί να αποτελέσει το παρασιτοειδές *Aganaspis daci* (Hymenoptera: Figitidae). Το είδος αυτό αρχικά καταγράφηκε σε προνύμφες του είδους *Dacus* spp. στην Μαλαισία (Weld, 1951). Το *A. daci* έχει εισαχθεί σε αρκετές χώρες για την αντιμετώπιση ειδών της οικογένειας Tephritidae, όπως του *Bactrocera dorsalis* στη Χαβάη (Clausen et al., 1965) και ειδών του γένους *Anastrepha* στην Φλώριδα (Baranowski et al., 1993) και στην Κόστα Ρίκα (Wharton et al., 1981), ενώ για την καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά στη Γαλλία τη δεκαετία του 1970 (Nunez-Bueno, 1982 από Papadopoulos and Katsoyannos, 2003). Στην Ελλάδα, βρέθηκε στην Χίο, σε νύμφες της μύγας της Μεσογείου που προέρχονταν από προσβεβλημένα σύκα, όπου σημειώθηκε συνολική θνησιμότητα των νυμφών από το παρασιτοειδές 62-65% (Papadopoulos and Katsoyannos, 2003). Επιπλέον, σε παράκτια περιοχή της Συρίας, το *A. daci* βρέθηκε να είναι το κυρίαρχο είδος (99,1%) του συνόλου των παρασιτοειδών σε 9 διαφορετικούς ξενιστές της μύγας της Μεσογείου (εσπεριδοειδή, πυρηνόκαρπα κ.α.). Το *A. daci* καταγράφονταν στους οπωρώνες από το Μάιο μέχρι τον Σεπτέμβριο, ενώ τα μέγιστα επίπεδα του πληθυσμού και παρασιτισμού του, παρατηρήθηκαν τον Ιούνιο και τον Αύγουστο, αντίστοιχα (Ali et al., 2016). Επιπλέον, σε εργαστηριακές συνθήκες, τα υψηλότερα ποσοστά παρασιτισμού και γονιμότητας (αριθμός παραγόμενων απογόνων) του παρασιτοειδούς, καθώς και αναλογία φύλου μεγαλύτερη προς τα θηλυκά, παρατηρήθηκε σε θερμοκρασίες 23 - 25°C. Ωστόσο, το *A. daci* δείχνει μία εξαιρετική ικανότητα να εντοπίζει, να συλλαμβάνει και να παρασιτεί τις προνύμφες και τις νύμφες της μύγας της Μεσογείου τόσο σε εργαστηριακές συνθήκες όσο και σε συνθήκες αγρού (De Pedro et al., 2017).

Για την βιολογική καταπολέμηση του εντόμου, εκτός από τα παρασιτοειδή έχουν χρησιμοποιηθεί αποτελεσματικά τόσο στο εργαστήριο όσο και στον αγρό, οι εντομοπαθογόνοι μύκητες *Paecilomyces fumosoroseus*, *Metarhizium anisopliae* και *Beauveria bassiana* κατά των νυμφών και των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου (Castillo et al., 2000; Beris et al., 2013; Qazzaz et al., 2015). Οι εντομοπαθογόνοι μύκητες μπορούν να εφαρμοστούν στο έδαφος κατά των νυμφών ή να συνδυαστούν με τροφικά ελκυστικά σε δολωματικούς ψεκασμούς εναντίον των ενηλίκων της μύγας

της Μεσογείου (Beris et al., 2013). Επιπλέον, το μείγμα των μυκητών *M. anisopliae* και *B. bassiana*, παρουσιάζει μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα εναντίον του *C. capitata*, σε σχέση με την μεμονωμένη εφαρμογή τους (Khlaywi et al., 2014). Οι μύκητες *Aspergillus ochraceus*, *Verticillium lecanii*, (Castillo et al., 2000), *Entomophthora muscae* και *E. schizophorae*. (Uziel et al., 2003) καθώς και στελέχη των νηματωδών *Heterorhabditis bacteriophora*, *Steinernema feltiae*, *Steinernema carpocapsae* (Gazit et al., 2000; Karagoz et al., 2009) έχουν αναφερθεί να παρασιτούν στη μύγα της Μεσογείου. Επιπλέον, αποτελεσματικό στην καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου είναι το βιολογικό εντομοκτόνο spinosad, μία ένωση που προέρχεται από το βακτήριο *Saccharopolyspora spinosa* (Vargas et al., 2002).

### **1.5.5 Μέθοδος εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων (Sterile Insect Technique, SIT)**

Η μέθοδος εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων, χρησιμοποιείται στο πλαίσιο της ολοκληρωμένης διαχείρισης επιβλαβών οργανισμών (IPM) και έχει χρησιμοποιηθεί με επιτυχία εναντίον της μύγας της Μεσογείου. Περιλαμβάνει την εκτροφή και την εξαπόλυση μεγάλου αριθμού στειρωμένων αρσενικών εντόμων, με σκοπό τη σύζευξη με τα άγρια θηλυκά και την εναπόθεση άγονων αυγών, με αποτέλεσμα τη σταδιακή μείωση του άγριου πληθυσμού. Εφαρμόζεται με σκοπό την πρόληψη, τον περιορισμό ή την εξάλειψη του πληθυσμού του εντόμου, εντός μιας οριοθετημένης γεωγραφικά περιοχής. Ως εκ τούτου, η επιτυχής εφαρμογή της μεθόδου απαιτεί μακροπρόθεσμο σχεδιασμό και συντονισμένη συνεργασία όλων των εμπλεκόμενων φορέων (κρατικών φορέων, εταιριών, αγροτικών συνεταιρισμών κ.τ.λ.) (FAO / IAEA, 2007; Rami Reddy and Rashmi, 2016).

Οι προνύμφες του *C. capitata*, τρέφονται σε δίαιτες που περιλαμβάνουν πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, βιταμίνες του συμπλέγματος Β, και ανόργανα άλατα. Ακολούθως, οι νύμφες 1-2 ημέρες πριν την έξοδο των ενηλίκων, εκτίθενται σε ακτινοβολία γ που παράγεται από ραδιενεργά ισότοπα (Co-60 ή Cs-137) με σκοπό την στειρώση τους (Bakri et al., 2005). Επιπλέον, εφαρμόζεται φθορίζουσα χρωστική (σε μορφή σκόνης) με σκοπό την επισήμανση των ενηλίκων καθώς εξέρχονται από το νυμφικό περίβλημα. Τα νεαρά εξερχόμενα ενήλικα τρέφονται με μίγμα ζάχαρης και νερού και σε ηλικία 3 - 4 ημερών, ψύχονται στους περίπου 4 °C και τοποθετούνται σε



ψυκτικές μηχανές εξαπολύσεις που είναι εγκατεστημένες σε αεροσκάφη ή άλλα κατάλληλα πτητικά μέσα. Ο αριθμός των στερημένων αρσενικών που θα εξαπολυθούν σε μία περιοχή, εξαρτάται από την υπάρχουσα πυκνότητα του άγριου πληθυσμού η οποία εκτιμάτε με παγίδες, καθώς και από το στόχο της εφαρμογής της μεθόδου. Η αναλογία στερημένων προς άγριων αρσενικών, είναι χαμηλή με στόχο την πρόληψη (25-50:1), ενώ πολύ μεγαλύτερη όταν ως στόχος έχει τεθεί ο περιορισμός (50-150:1) ή η εξάλειψη του εντόμου από μια περιοχή (100-150:1) (FAO / IAEA, 2007).

Η ποιότητα των στερημένων εντόμων επηρεάζεται αρνητικά ως αποτέλεσμα της τεχνητής μαζικής εκτροφής. Για την αντιμετώπιση αυτών των προβλημάτων, έχει αναπτυχθεί ένα σύστημα εκτροφής που ονομάζεται «filter rearing system». Αρχή του συστήματος αυτού, είναι η διατήρηση της μητρικής αποικίας με χαμηλή πυκνότητα ενηλίκων και προνυμφών και κάτω από «ημι-φυσικές» περιβαλλοντικές συνθήκες, συνεπώς, με μειωμένη πίεση επιλογής. Οι αποικίες ελέγχονται σε κάθε γενεά και αφαιρούνται τα ανεπιθύμητα άτομα (Fisher and Caceres, 2000; Caceres, 2002).

Για την απελευθέρωση μόνο αρσενικών ατόμων, έχουν δημιουργηθεί δύο τύποι στελεχών γενετικού διαχωρισμού του φύλου (Genetic Sexing Strains, GSS). Ο πρώτος τύπος, βασίζεται σε μια υποτελή μετάλλαξη (wp), όπου το χρώμα των θηλυκών νυμφών αλλάζει από καφέ σε λευκό, με αποτέλεσμα να διαχωρίζονται από τις καφέ νύμφες των αρσενικών. Ο δεύτερος τύπος, φέρει μία επιπλέον μετάλλαξη, που βασίζεται στην ευαισθησία των στελεχών σε θανατηφόρες θερμοκρασίες (wp / TSL). Σε αυτή την περίπτωση, τα θηλυκά έμβρυα θανατώνονται μετά από έκθεση των αυγών σε θερμοκρασία >34 °C για 24 ώρες, χωρίς να επηρεάζονται τα έμβρυα των αρσενικών (Fisher and Caceres, 2000; Caceres, 2002).

Η χρήση της ακτινοβολίας για τη στείρωση των εντόμων, προκαλεί ανεπιθύμητες επιπτώσεις στην σεξουαλική ανταγωνιστικότητα τους, μειώνοντας την αποτελεσματικότητα της μεθόδου. Εναλλακτική λύση της στείρωσης των εντόμων με ραδιενεργό ακτινοβολία, αποτελεί το σύστημα RIDL (Release of Insects carrying a Dominant Lethal), το οποίο βασίζεται στη διαγονιδιακή εμβρυϊκή θνησιμότητα. Συγκεκριμένα διαγονιδιακά αρσενικά φέρουν ένα κυρίαρχο θανατηφόρο γονίδιο σε ομοζυγωτία, το οποίο βρίσκεται σε καταστολή, λόγω της παρουσίας της τετρακυκλίνης στην τροφή των προνυμφών (δεν απαντάτε στη φύση). Όταν τα

διαγονιδιακά αρσενικά συζευχτούν με τα άγρια θηλυκά (απουσία τετρακυκλίνης), προκύπτουν απόγονοι ετερόζυγοι στο γονίδιο, οι οποίοι θανατώνονται λόγω απουσίας της τετρακυκλίνης στη φύση (Gong et al., 2005).

Για την πρόκληση στειρότητας στα έντομα, έχει προταθεί επίσης η μέθοδος της κυτοπλασμικής ασυμβατότητας (CI), η οποία προκαλείται από τη μεταφορά στελεχών, του ενδοκυτταρικού συμβιωτικού βακτηρίου *Wolbachia pipiensis*. Η κυτοπλασμική ασυμβατότητα προκαλεί εμβρυική θνησιμότητα, κατά τη σύζευξη μολυσμένων αρσενικών με μη μολυσμένα θηλυκά (μονόδρομη) ή με θηλυκά που έχουν διαφορετικό βακτηριακό στέλεχος (αμφίδρομη). Το βακτήριο έχει την ιδιότητα να τροποποιεί τα χρωμοσώματα κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης, επηρεάζοντας τον συγχρονισμό των μιτωτικών διαιρέσεων (Zabalou et al., 2004). Η μέθοδος έχει ήδη εφαρμοστεί για την αντιμετώπιση των κουνουπιών *Culex pipiens fatigans* (Diptera: Culicidae) (Laven, 1967) και για την μύγα των κερασιών *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae) (Boller, 1989). Πρόσφατα, η μέθοδος χρησιμοποιήθηκε με επιτυχία σε στελέχη (wp / TSL, Vienna 8) της μύγας της Μεσογείου, με την εισαγωγή του βακτηρίου *Wolbachia* το οποίο προερχόταν από το *R. cerasi*, καθώς οι άγριοι πληθυσμοί του *C. capitata* δεν φέρουν το βακτήριο. Η μέθοδος μπορεί να εφαρμοστεί με βάση τη μονόδρομη προσέγγιση, γιατί εξαπολύονται μόνο αρσενικά του *C. capitata*, ενώ η εξαπόλυση μολυσμένων θηλυκών θα οδηγούσε σε γόνιμες συζεύξεις (Zabalou et al., 2009). Επιπλέον, οι Sarakatsanou et al. (2011), έδειξαν ότι οι επιδράσεις από τη μεταφορά στελεχών της *Wolbachia* στα δημογραφικά χαρακτηριστικά του *C. capitata* διαφέρουν μεταξύ των διαφορετικών στελεχών της *Wolbachia* (wCer2 και wCer4) και μεταξύ των χρησιμοποιούμενων σειρών του *C. capitata* (Μπενάκιο και Vienna 8 GSS). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το στέλεχος της *Wolbachia* wCer2 μειώνει την επιβίωση των αυγών και των νυμφών και στις δύο σειρές του *C. capitata* ενώ αυξάνει την επιβίωση των προνυμφών στη σειρά Vienna 8 και δεν επιδρά στην επιβίωση των προνυμφών της σειράς Μπενάκιο. Επιπλέον, η μόλυνση με το στέλεχος της *Wolbachia* wCer2 μειώνει την επιβίωση από το αυγό στο ενήλικο μόνο στη σειρά Μπενάκιο, ενώ προκαλεί μείωση της διάρκειας ανάπτυξης από το αυγό στο ενήλικο και στις δύο σειρές. Η μόλυνση με το στέλεχος της *Wolbachia* wCer2 μειώνει τη γονιμότητα και τη διάρκεια ζωής των θηλυκών και στις δύο σειρές, ενώ μείωση της διάρκειας ζωής των αρσενικών παρατηρήθηκε μόνο στη σειρά Μπενάκιο. Ωστόσο, τα

διαφορετικά στελέχη *Wolbachia*, επηρεάζουν διαφορετικά την θνησιμότητα και την διάρκεια ανάπτυξης των ανήλικων σταδίων του *C. capitata*, καθώς και τη μακροζωία των ενηλίκων και την γονιμότητα των θηλυκών.

Πιο απλά και οικονομικά μέσα, έχουν χρησιμοποιηθεί επίσης, για την αύξηση της σεξουαλικής ανταγωνιστικότητας των στειρωμένων αρσενικών, όπως η έκθεση τους πριν την εξαπόλυση, σε άρωμα ελαίου ρίζας πιπερόριζας (*Zingiber officinale*) που περιέχει την ένωση a-copaene, χωρίς να επηρεάζεται η ικανότητα πτήσης ή η μακροβιότητα των εντόμων (Shelly et al., 2005). Επιπλέον, η εφαρμογή διαφόρων βακτηρίων (π.χ. *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp. κ.α.) ως προβιοτικών στη διατροφή των εντόμων, βελτιώνει τα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά (π.χ. αύξηση μεγέθους των ενηλίκων) και αυξάνει την σεξουαλική τους ανταγωνιστικότητα, καθώς η ακτινοβολία γ, επηρεάζει αρνητικά τη δομή της μικροχλωρίδας του πεπτικού συστήματος των εντόμων (Gavriel et al., 2010; Hamden et al., 2013).

#### **1.5.6 Καλλιεργητικά μέτρα**

Για την αποτελεσματική αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου, είναι σημαντικό να λαμβάνονται τα κατάλληλα καλλιεργητικά μέτρα σε συνδυασμό με τις παραπάνω μεθόδους. Αυτά, αφορούν κυρίως την καταστροφή των προσβεβλημένων καρπών και τυχόν άλλων ξενιστών χωρίς οικονομική σημασία. Οι Chueca et al. (2013), παρατήρησαν μείωση του πληθυσμού του εντόμου 27 - 46% την επόμενη καλλιεργητική περίοδο στον αγρό, μέσω της χρήσης καταστροφέα, για την άλεση των προσβεβλημένων καρπών.

#### **1.5.7 Νομοθετικά μέτρα**

Η μύγα της Μεσογείου είναι έντομο καραντίνας για πολλές χώρες, όπως οι Η.Π.Α. και η Ιαπωνία, στις οποίες έχουν υιοθετηθεί αυστηροί κανονισμοί που περιορίζουν την εμπορία νωπών φρούτων και λαχανικών. Τα νομοθετικά μέτρα, στοχεύουν στην παρεμπόδιση της μεταφοράς προσβεβλημένων καρπών από το *C. capitata*, σε «αμόλυντες» περιοχές (White and Elson-Harris, 1992; Papadopoulos, 2004). Για το λόγο αυτό, πριν την εισαγωγή των καρπών εφαρμόζονται

φυτουγεινομικά μέτρα από τις αρμόδιες υπηρεσίες, που αυτά αφορούν μετασυλλεκτικές μεταχειρίσεις των καρπών όπως η έκθεση σε θανατηφόρες υψηλές ή χαμηλές θερμοκρασίες, καθώς και η χρήση ιονίζουσας ακτινοβολίας, ανάλογα με την ευαισθησία του προϊόντος. Ωστόσο, κύρια πρακτική εφαρμογή έχουν οι θερμοκρασίες κοντά στους 0 ° C, όπου σύμφωνα με τους κανονισμούς του USDA – APHIS οι καρποί εκτίθενται σε 0, 0.55, 1.11, 1.66, ή 2.22 ° C για 10, 11, 12, 14, ή 16 ημέρες (Delrio and Cocco, 2012).

### **1.6 Σεξουαλική συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου**

Η σεξουαλική επιλογή διατυπώθηκε για πρώτη φορά από τον Δαρβίνο (1859, 1871) για να εξηγήσει το πλεονέκτημα που έχουν ορισμένα άτομα έναντι άλλων ατόμων του ίδιου φύλου και είδους, σε σχέση με την επιτυχία τους στην αναπαραγωγή. Η σεξουαλική επιλογή διαιρείται στον ανταγωνισμό μεταξύ των αρσενικών κυρίως, για την πρόσβαση στα θηλυκά (Intrasexual selection) και στην ισχυρή επιλογή κυρίως του θηλυκού, για το αρσενικό που θα συζευχθεί (Intersexual selection). Οι δύο μορφές ανταγωνισμού, δεν συνδέονται αναγκαία καθώς μπορεί να προκύψει ανταγωνισμός μεταξύ των αρσενικών, αλλά καθοριστικός παράγοντας είναι η επιλογή του θηλυκού για το αρσενικό που θα συζευχθεί (Møller and Pomiankowski, 1993; Miller, 2013).

Η διαφορετική συμπεριφορά των δυο φύλων οφείλεται στην διαφορά του μεγέθους των γαμετών (ανισογαμία). Τα θηλυκά παράγουν λίγους και μεγάλους γαμέτες, έτσι απαιτούν μεγαλύτερη ενεργειακή επένδυση, σε σχέση με τα αρσενικά που παράγουν μεγάλο αριθμό πολύ μικρότερων γαμετών. Η αναπαραγωγική επιτυχία των αρσενικών εξαρτάται από τον αριθμό των επιτυχών συζεύξεων και από τη γονιμοποίηση του μέγιστου αριθμού αυγών, σε αντίθεση με την αναπαραγωγική επιτυχία των θηλυκών που περιορίζεται από τη «φυσιολογία» τους, με αποτέλεσμα, τα θηλυκά να ασκούν ισχυρή σεξουαλική επιλογή προς τα αρσενικά, έτσι ώστε να παράγουν την υψηλότερη ποιότητα απογόνων (Kodric–Brown and Brown, 1987). Τα θηλυκά επιλέγουν τα αρσενικά με βάση την αρμοστικότητα τους (fitness) καθώς καθορίζει την επιβίωση των γονιδίων στις επόμενες γενιές. Η «παρουσίαση» της αρμοστικότητας των αρσενικών μπορεί να βασίζεται στην παροχή ή την επίδειξη

φυσικών πόρων, σε μορφολογικά χαρακτηριστικά (μέγεθος, συμμετρία, επιτυχή ανάπτυξη) ή σε συγκεκριμένες συμπεριφορές (Miller, 2013). Υπάρχουν όμως περιπτώσεις, αντιστροφής των ρόλων (ανταγωνισμός μεταξύ θηλυκών και επιλογή από τα αρσενικά) όταν η αναπαραγωγική επένδυση των αρσενικών είναι μεγαλύτερη από των θηλυκών ή όταν τα αρσενικά παρέχουν σημαντικούς πόρους για την αναπαραγωγή (Clutton-Brock, 2007).

Τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου είναι πολυγαμικά ενώ τα θηλυκά είναι μάλλον ολιγαμικά και μπορούν να συζευχτούν μία ή περιστασιακά δύο φορές. Μελέτες άγριων πληθυσμών του εντόμου, στην Ελλάδα και στο Ισραήλ έδειξαν 20 - 50 % συχνότητα επανασύζευξης των θηλυκών (Bonizzoni et al., 2002, 2006). Τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου, αφού τραφούν και ωριμάσουν αναπαραγωγικά, χρησιμοποιούν ένα σύστημα εκδήλωσης σεξουαλικής συμπεριφοράς που χαρακτηρίζεται ως «lek». Τα αρσενικά συγκεντρώνονται στην κάτω επιφάνεια των φύλλων φυτών ξενιστών (συνήθως ένα αρσενικό σε κάθε φύλλο) και εκδηλώνουν ομαδικά «σεξουαλικό κάλεσμα», εκθέτοντας προς τα πάνω το τελευταίο τμήμα του επιθηλιακού τους όρθρου και απελευθερώνοντας σεξουαλική φερομόνη, με σκοπό την προσέλκυση των θηλυκών (Arita and Kaneshiro, 1989). Τα θηλυκά επιλέγουν ποια από τα «leks» θα επισκεφθούν και ποια και πόσα αρσενικά θα αξιολογήσουν πριν την σύζευξη (Shelly, 2000). Το αρσενικό, «υπερασπίζεται» την επιφάνεια του φύλλου ως θέση σύζευξης, απωθώντας τυχόν άλλα αρσενικά εισβολείς (Arita and Kaneshiro, 1989). Η συγκέντρωση των αρσενικών στα «leks» γίνεται τις θερμότερες ώρες της μέρας σε χαμηλότερες και ποιο εσωτερικές θέσεις μέσα στην κόμη του δέντρου ενώ σε υψηλότερες και εξωτερικές θέσεις νωρίς το πρωί και αργά το απόγευμα (Kaspi and Yuval, 1999). Οι θέσεις πρέπει να είναι κατάλληλες για την προσέλκυση των θηλυκών και να παρέχουν προστασία από τον άνεμο, την άμεση ηλιακή ακτινοβολία, την απώλεια νερού και την θήρευση (Prokopy and Hendrichs, 1979; Kaspi and Yuval, 1999).

Όταν το θηλυκό πλησιάσει το αρσενικό ξεκινά η «ερωτοτροπία» (courting) η οποία περιλαμβάνει: α) Συνεχείς δονήσεις των πτερύγων (wing fanning) από το αρσενικό για καλύτερη διάχυση της φερομόνης, κάμπτοντας την κοιλιά εσωτερικά. (β) Ρυθμικές κινήσεις των πτερύγων εμπρός και πίσω, παράγοντας ήχους (wing buzzing), χωρίς την παρουσία φερομόνης, με ταυτόχρονες, ταχείες κινήσεις του κεφαλιού (head rocking), προς όλες τις κατευθύνσεις (Briceno et al., 1996). Στη

συνέχεια, το αρσενικό ανεβαίνει πάνω στην πλάτη του θηλυκού και αν γίνει αποδεκτό ξεκινά η σύζευξη. Η σύζευξη διαρκεί περίπου 2-3 ώρες. Το θηλυκό μπορεί να απορρίψει το αρσενικό σε οποιοδήποτε στάδιο της ερωτοτροπίας ακόμα και μετά την προσγείωση του αρσενικού στην πλάτη του θηλυκού (Whittier et al., 1994).

Η αναπαραγωγική επιτυχία μεταξύ των αρσενικών δεν είναι ομοιόμορφη, καθώς πολλά αρσενικά μένουν χωρίς σεξουαλικό σύντροφο, ενώ λίγα αρσενικά συζευγνύονται αρκετές φορές κατά τη διάρκεια της ζωής τους (Shelly, 2000; Whittier et al., 1994). Η ανεπάρκεια πρωτεΐνης στη διατροφή των άγριων αρσενικών προκαλεί υστέρηση της σεξουαλικής τους ωριμότητας και μειώνει τη συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος (Papadopoulos et al., 1998). Επιπλέον, η ένταξη της πρωτεΐνης στη διατροφή άγριων αρσενικών αυξάνει την αναπαραγωγική τους επιτυχία, χωρίς εμφανή επίδραση στη διάρκεια ζωής τους, στη διάρκεια της σύζευξης, καθώς και στην τάση των θηλυκών για επανασύζευξη (Shelly and Kennelly, 2002). Ωστόσο, τα αρσενικά που τρέφονται με πρωτεΐνη κατά τη διάρκεια των ανήλικων και ενήλικων σταδίων έχουν μεγαλύτερη αναπαραγωγική επιτυχία σε σχέση με τα αρσενικά που στερούνταν πρωτεΐνη κατά τα ανήλικα στάδια και τρέφονται με πρωτεΐνη μόνο κατά τη διάρκεια των ενήλικων σταδίων (Roriz and Joachim-Bravo, 2013).

Η επιλογή των αρσενικών από τα θηλυκά, βασίζεται κυρίως σε μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως το μέγεθος των αρσενικών και κυρίως το μήκος του θώρακα (Rodríguez et al., 2002), καθώς και από τη συμμετρία του σώματος τους (Hunt et al., 2004). Η ηλικία των αρσενικών μπορεί επίσης να επηρεάσει την επιλογή των θηλυκών. Νεαρά θηλυκά (10 ή 15 ημερών) επιλέγουν κυρίως νεαρά αρσενικά ενώ τα ηλικιωμένα θηλυκά (40 ημερών) είναι λιγότερο επιλεκτικά (Shelly et al., 2011; Papanastasiou et al., 2013) και επιπλέον είναι πιο δεκτικά, ανεξάρτητα από τη διατροφή τους (πρωτεΐνη ή ζάχαρη). Ωστόσο, τα νεαρά θηλυκά επιλέγουν ηλικιωμένα αρσενικά σε συνθήκες απουσίας ανταγωνισμού μεταξύ ηλικιωμένων και νεαρών αρσενικών. Επιπλέον, η ηλικία των αρσενικών, δεν επηρεάζει την εκδήλωση σεξουαλικής συμπεριφοράς (σεξουαλικό κάλεσμα και ερωτοτροπία) και δεν υπάρχουν διαφορές στην ποσότητα του σπέρματος που μεταφέρεται στα θηλυκά (Papanastasiou et al., 2011). Η αυξημένη δεκτικότητα και η μειωμένη επιλεκτικότητα που παρουσιάζουν τα ηλικιωμένα θηλυκά, οφείλεται στον αυξημένο κίνδυνο

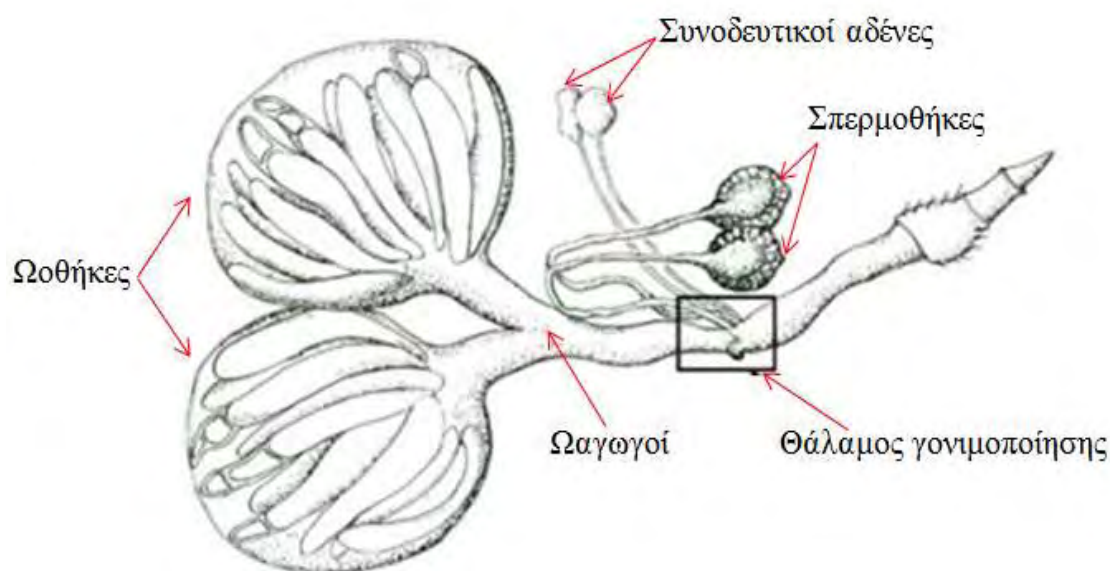
θνησιμότητας και στη μειωμένη πιθανότητα αναπαραγωγής λόγω γήρανσης (Papanastasiou et al., 2013).

Τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου είναι γνωστό ότι ανταγωνίζονται μεταξύ τους, για την πρόσβαση στα θηλυκά εκδηλώνοντας συχνά επιθετικές συμπεριφορές (Arita & Kaneshiro, 1989; Briceño et al., 1999). Πρόσφατες μελέτες έδειξαν ότι, εκτός από τον ανταγωνισμό μεταξύ των αρσενικών, μπορεί να προκύψει μια μορφή ανταγωνισμού μεταξύ των θηλυκών. Τα σεξουαλικά ώριμα και παρθένα θηλυκά, εκδηλώνουν επιθετική συμπεριφορά μεταξύ τους ή κατά τη διάρκεια της σύζευξης ενός ζευγαριού. Η επιθετική συμπεριφορά μεταξύ των θηλυκών, μειώνεται μετά τη σύζευξη, ωστόσο παραμένει σε υψηλά επίπεδα κατά τη διάρκεια της σύζευξης ενός ζευγαριού (Papadopoulos et al., 2009).

### **1.6.1 Κατανομή του σπέρματος (Sperm allocation)**

Το αναπαραγωγικό σύστημα του θηλυκού της μύγας της Μεσογείου αποτελείται από ένα ζεύγος σπερμοθηκών (κατ' άλλους σπερματοθήκες), ένα ζεύγος συνοδευτικών αδένων (accessory glands) και ένα ζεύγος ωοθηκών που μέσω των οαγωγών ενώνονται στο θάλαμο γονιμοποίησης (fertilization chambers) (Εικόνα 6) (Scolari et al., 2014). Οι σπερμοθήκες και οι συνοδευτικοί αδένες ενώνονται με το θάλαμο γονιμοποίησης που αυτός, αποτελείται από 80 - 100 ωοειδής ή σφαιρικές κυψελίδες που η κάθε μία φιλοξενεί 1-5 σπερματοζώαρια (Marchini et al., 2001). Τα όργανα αποθήκευσης του σπέρματος, είναι οι δύο σπερμοθήκες που χρησιμοποιούνται για τη μακροπρόθεσμη αποθήκευση του σπέρματος και ο θάλαμος γονιμοποίησης, όπου το σπέρμα αποθηκεύεται βραχυπρόθεσμα, καθώς συμπληρώνεται περιοδικά από τις σπερμοθήκες, λειτουργώντας ως σημείο στάσης για τη γονιμοποίηση. Η βιωσιμότητα του σπέρματος διατηρείται εξίσου και στα δύο όργανα καθώς έχει παρατηρηθεί >80 % βιωσιμότητα του σπέρματος σε χρονικό διάστημα 18 ημερών μετά την μεταφορά του σπέρματος από το αρσενικό. Η παρουσία πολλών οργάνων αποθήκευσης, επιτρέπει στα θηλυκά να διαχωρίσουν και να χειριστούν το σπέρμα από διαφορετικά αρσενικά, ελέγχοντας έτσι την γονιμοποίηση (Twig and Yuval, 2005). Ως εκ τούτου, επιτρέπουν τον έλεγχο της πατρότητας των απογόνων τους και την επιλεκτική ενεργοποίηση του σπέρματος

μέσω εκκρίσεων των συνοδευτικών αδένων πάνω από το θάλαμο γονιμοποίησης (Marchini et al., 2001).



**Εικόνα 6:** Αναπαραγωγικό σύστημα θηλυκού της μύγας της Μεσογείου (Twig and Yuval, 2005 - Τροποποιημένη).

Σε είδη με εσωτερική γονιμοποίηση, οι μηχανισμοί που εμπλέκονται μετά τη σύζευξη όπως ο ανταγωνισμός του σπέρματος (sperm competition) και η κρυπτική επιλογή του θηλυκού (cryptic female choice) είναι δύσκολο να διαχωριστούν και να ερμηνευθούν (Bertin et al., 2010). Τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου που έχουν επανασυζευχθεί, αποθηκεύουν το σπέρμα και από τους δύο συντρόφους και μπορούν να παράγουν απογόνους από διαφορετικά αρσενικά (Bonizzoni et al., 2006). Ωστόσο, ένα σαφές πλεονέκτημα στο σύνολο των απογόνων παρατηρείτε υπέρ του δεύτερου αρσενικού, τις πρώτες μέρες ωοτοκίας του θηλυκού. Καθώς το σπέρμα του δεύτερου αρσενικού εξαντλείται με την πάροδο του χρόνου, το σπέρμα από το πρώτο αρσενικό γίνεται περισσότερο διαθέσιμο για γονιμοποίηση. Το αποτέλεσμα αυτό οφείλεται στην κατανομή του σπέρματος από τα αποθηκευτικά όργανα του θηλυκού δίνοντας την προτεραιότητα στο νεότερο σπέρμα (Bonizzoni et al., 2006; Bertin et al., 2010; Scolari et al., 2014). Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες θηλυκών που έχουν επανασυζευχθεί (με διαφορά 24 h μεταξύ των συζεύξεων), έδειξαν ότι η αρχική κατανομή του σπέρματος στα όργανα αποθήκευσης των θηλυκών δεν διατηρείται, καθώς μετά από 7 ημέρες από τη δεύτερη σύζευξη, το σπέρμα των δύο αρσενικών



αναμειγνύεται ομοιογενώς (Scolari et al., 2014). Η χρησιμοποίηση σπέρματος από διαφορετικά αρσενικά, αντιπροσωπεύει μία στρατηγική προσαρμογής για τη διατήρηση της γενετικής ποικιλομορφίας των πληθυσμών μειώνοντας το κόστος ενδοδιασταύρωσης, μέσω της σύζευξης των απογόνων, που προέρχονται από το ίδιο θηλυκό (Bertin et al., 2010; Scolari et al., 2014).

### **1.6.2 Ρόλος των συνοδών εκκριμάτων των αρσενικών**

Το αναπαραγωγικό σύστημα των αρσενικών περιλαμβάνει τους όρχεις, τους συνοδευτικούς αδένες και τον εκφορητικό αγωγό. Τα αρσενικά κατά τη διάρκεια της σύζευξης, μεταφέρουν στα θηλυκά, τα σπερματοζωάρια που παράγονται στους όρχεις, μαζί με συνοδά εκκρίματα που παράγονται κυρίως στους συνοδευτικούς αδένες (MAGs), με περιορισμένη συμμετοχή του εκφορητικού αγωγού στην εκκριτική δραστηριότητα. Τα συνοδά εκκρίματα περιλαμβάνουν πρωτεΐνες (Acps) που διαφέρουν στα ποιοτικά τους χαρακτηριστικά ανάλογα με τον τύπο των συνοδευτικών αδένων. Ο πρώτος τύπος περιλαμβάνει ένα ζεύγος μεγάλων σε μήκος μεσοδερμικών αδενών σωληνοειδούς μορφής, που εκκρίνουν ουσίες που περιέχουν λιπίδια, πολυσακχαρίτες και πρωτεΐνες, ενώ ο δεύτερος τύπος περιλαμβάνει μία ομάδα με βραχείς εκτοδερμικούς αδένες που παράγουν κατά κύριο λόγο πρωτεϊνούχες εκκρίσεις (Marchini et al., 2003; Marchini and Del Bene, 2006).

Η μεταφορά των συνοδών εκκριμάτων κατά τη διάρκεια της σύζευξης προκαλεί σημαντικές αλλαγές στη συμπεριφορά των θηλυκών. Η προσθήκη συνοδών εκκριμάτων με έκχυση σε παρθένα θηλυκά, προκάλεσε μία μετάβαση από την προσέλκυση των σεξουαλικών φερομονών των αρσενικών, στην προσέλκυση των πτητικών ερεθισμάτων των καρπών με σκοπό την ωοτοκία (Jang, 1995; 2002). Επιπλέον, οι Gabrieli et al. (2016), μέσω της γενετικής μηχανικής δημιούργησαν αρσενικά χωρίς όρχεις, διατηρώντας άθικτα τα υπόλοιπα όργανα. Τα αρσενικά αυτά ήταν σε θέση να συζευχθούν όπως τα άγρια και να μειώσουν τη σεξουαλική δεκτικότητα των θηλυκών για επανασύζευξη, προκαλώντας αυξημένα ποσοστά ωοτοκίας. Συνεπώς η μεταφορά των σπερματοζωαρίων δεν είναι απαραίτητη για τη μείωση της σεξουαλικής δεκτικότητας και για την αύξηση της ωοτοκίας των θηλυκών.

## 1.7 Επιδράσεις συνωστισμού στη συμπεριφορά σύζευξης

Ο συνωστισμός (crowding) αφορά την υψηλή πυκνότητα εντόμων σε ένα χώρο συγκεκριμένων διαστάσεων (π.χ. κλουβί). Η αύξηση της πυκνότητας των αρσενικών σε κλουβιά (διαμέτρου 5,5 cm και ύψους 12 cm) μειώνει την επιβίωση τους και αυξάνει σημαντικά τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Αντίθετα, η αύξηση της πυκνότητας των θηλυκών δεν επηρεάζει την επιβίωση τους και δεν μεταβάλλει σημαντικά την αύξηση της επιθετικότητας τους (Gaskin et al., 2002). Η αύξηση της θνησιμότητας των εντόμων, λόγω συνωστισμού δεν επηρεάζεται από την ηλικία των ενηλίκων (Carey et al., 1995). Μελέτες στελεχών μαζικής εκτροφής έδειξαν ότι ο αυξημένος συνωστισμός προκαλεί μείωση της διάρκειας της ερωτοτροπίας (courtship), καθώς υπάρχει αυξημένη πιθανότητα διακοπής της ερωτοτροπίας από άλλα ενήλικα. Επιπλέον παρατηρήθηκαν προσπάθειες των αρσενικών να συζευχθούν (να ανέβουν στην πλάτη των θηλυκών), χωρίς να προηγηθεί ερωτοτροπία (Briceno and Eberhard, 1998). Οι Gaskin et al. (2002), στις ίδιες συνθήκες παρατήρησαν μείωση της σεξουαλικής επιτυχίας των αρσενικών καθώς παρουσίαζαν μία «λανθασμένη» κατεύθυνση ερωτοτροπίας (δεν απευθύνεται προς τα θηλυκά), με απόπειρες σύζευξης άλλων αρσενικών.

Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των εντόμων που διατηρούνται σε ομάδες (αρσενικών ή θηλυκών), προκαλούν αλλαγές στη συμπεριφορά διατροφής των ατόμων. Η διατήρηση ενηλίκων του είδους *Dacus ciliatus* (Diptera: Tephritidae) σε ζεύγη (ίδιου ή αντίθετου φύλου), αυξάνει τον μεταβολισμό των ατόμων και την κατανάλωση τροφής (κυρίως πρωτεϊνών), σε σχέση με τα μεμονωμένα άτομα. Οι αλλαγές στη συμπεριφορά σίτισης, έχουν συσχετιστεί με την αναπαραγωγή (διατήρηση ατόμων αντίθετου φύλου) και την αύξηση των αλληλεπιδράσεων (διατήρηση ατόμων ίδιου φύλου) (Zur et al., 2009). Τα μεμονωμένα άτομα, περνάνε σε μία κατάσταση αναπαραγωγικής αναμονής (reproductive 'waiting-mode'), καθώς μειώνουν τους μεταβολικούς τους ρυθμούς (αύξηση της διάρκειας ζωής), όταν η πιθανότητα σύζευξης είναι περιορισμένη, μέχρι να βρεθεί σεξουαλικός σύντροφος.

Ωστόσο, η διατήρηση των αρσενικών σε ομάδες σε συνθήκες μειωμένου συνωστισμού, δεν προκαλεί σημαντική μείωση της επιβίωσής τους (6 αρσενικά σε κλουβιά χωρητικότητας 2 L), σε σχέση με τα μεμονωμένα αρσενικά. Αντίθετα στις ίδιες συνθήκες παρατηρείτε δραματική μείωση της επιβίωσης των αρσενικών (55-

70% σε σχέση με τα μεμονωμένα) μεταξύ των αλληλεπιδράσεων αρσενικών-θηλυκών, λόγω των μεγάλων ενεργειακών απαιτήσεων που δαπανώνται από τα αρσενικά κατά την ερωτοτροπία (όχι τη σύζευξη) (Papadopoulos et al., 2010). Επιπλέον, το σεξουαλικό κάλεσμα δεν έχει προφανείς επιπτώσεις στη διάρκεια ζωής των αρσενικών (Papadopoulos et al., 2004) και έχει παρατηρηθεί ότι η γειννίαση των αρσενικών μεταξύ τους, αυξάνει την ποσότητα της παραγόμενης φερομόνης, καθώς και τη διάρκεια του σεξουαλικού καλέσματος (McDonald., 1987). Η αύξηση της πυκνότητας των αρσενικών κάτω από μειωμένες συνθήκες συνωστισμού, φαίνεται ότι δεν επηρεάζει την επιβίωση των αρσενικών και θα μπορούσε να αυξήσει τη σεξουαλική τους ανταγωνιστικότητα (Papadopoulos et al., 2010).

## 1.8 Σκοπός

Ο ανταγωνισμός του σπέρματος (sperm competition), ορίζεται ως ο ανταγωνισμός μεταξύ του σπέρματος δύο ή περισσότερων αρσενικών για τη γονιμοποίηση ενός συγκεκριμένου συνόλου ωαρίων (Parker, 1970; Wedell et al., 2002). Η σεξουαλική συμπεριφορά ενός αρσενικού μεταβάλλεται με την παρουσία ενός αντίπαλου (SC risk), είτε πριν είτε κατά τη διάρκεια της σύζευξης ή με την παρουσία πολλών αντιπάλων πριν από την σύζευξη (SC intensity) (Parker et al., 1997; Kelly and Jennions, 2011). Συγκεκριμένα, τα αρσενικά πολλών ειδών αξιολογούν το επίπεδο του ανταγωνισμού και ανταποκρίνονται προσαρμοστικά μεταφέροντας περισσότερα σπερματοζώαρια ή συνοδά εκκρίματα κατά τη σύζευξη (Wedell et al., 2002) ή / και μεταβάλλουν την διάρκεια και το χρόνο μέχρι την έναρξη της σύζευξης (mating latency). Η ποσότητα του σπέρματος που μεταφέρεται, εξαρτάται από το επίπεδο της επένδυσης των αρσενικών, ανάλογα με το επίπεδο του ανταγωνισμού, ενώ η διάρκεια της σύζευξης καθορίζεται από τις άμεσες αλληλεπιδράσεις των δύο φύλων (Bretman et al., 2013).

Η διατήρηση των αρσενικών του *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) μαζί με «αντίπαλα» αρσενικά πριν από τη σύζευξη, προκαλεί αύξηση της διάρκειας της σύζευξης (Bretman et al., 2013) και μεταφορά μεγαλύτερης ποσότητας συνοδών εκκριμάτων με αποτέλεσμα την αύξηση της ωοτοκίας των θηλυκών (Wigby et al., 2009). Σε αρσενικά του *Anastrepha fraterculus* (Diptera:

Terphritidae) παρατηρήθηκε μείωση του χρόνου μέχρι την έναρξη της σύζευξης και αύξηση της ποσότητας του σπέρματος που μεταφέρεται στο θηλυκό, με την παρουσία αντίπαλων αρσενικών κατά τη διάρκεια της σύζευξης (Abraham et al, 2015). Ο Gage (1991), παρατήρησε μεγαλύτερη ποσότητα σπέρματος στις σπερμοθήκες των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, μετά από τη σύζευξη τους, με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ζεύγη σε σχέση με τα αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα. Επιπλέον η σύζευξη των αρσενικών που διατηρήθηκαν σε ζεύγη έγινε παρουσία του δεύτερου αρσενικού.

Στην μύγα της Μεσογείου, δεν έχει μελετηθεί μέχρι σήμερα, εάν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αρσενικών που διατηρούνται σε ομάδες πριν από την σύζευξη, θα μπορούσε να επηρεάσει την επιλογή σύζευξης και την αρμοστικότητα των θηλυκών. Στην παρούσα εργασία διατηρήσαμε αρσενικά της μύγας της Μεσογείου, από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την σύζευξη, σε 3 διαφορετικά επίπεδα ανταγωνισμού: Μεμονωμένα αρσενικά, ομάδες των 2 και ομάδες 5 αρσενικών. Συγκεκριμένα, το πρώτο μέρος του πειράματος περιλάμβανε τα πειράματα επιλογής, όπου τα θηλυκά είχαν την δυνατότητα να επιλέξουν σεξουαλικό σύντροφο μεταξύ μεμονωμένων αρσενικών και αρσενικών που διατηρήθηκαν σε ομάδες (2 ή 5 ατόμων), καταγράφοντας παράλληλα τη διάρκεια και το χρόνο μέχρι την έναρξη της σύζευξης. Το δεύτερο μέρος του πειράματος περιλάμβανε τα πειράματα μη επιλογής σεξουαλικού συντρόφου από τα θηλυκά (1 αρσενικό από τις 3 μεταχειρίσεις), καταγράφοντας τη διάρκεια και το χρόνο μέχρι την έναρξη της σύζευξης, την ωοπαραγωγή και την εκκόλαψη των αυγών, καθώς και τη διάρκεια ζωής των θηλυκών.

## 2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

### 2.1 Συνθήκες εργαστηρίου

Τα πειράματα, πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας από την άνοιξη του 2016 έως το χειμώνα του 2017. Η διεξαγωγή των πειραμάτων έγινε σε εντομοδομάτια ελεγχόμενων συνθηκών και συγκεκριμένα σε θερμοκρασία  $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ , σχετική υγρασία  $65\% \pm 5\%$  και φωτοπερίοδο 14 ωρών φωτός:10 ωρών σκοτάδι, με ώρα έναρξης της φωτόφασης στις 07:00 το πρωί και ώρα λήξης στις 21:00 το βράδυ. Το φως στο χώρο των πειραμάτων προερχόταν από λαμπτήρες φθορίου και συμπληρωνόταν από φυσικό φως που περνούσε από τέσσερα μεγάλα παράθυρα στην βόρεια πλευρά της οροφής.

### 2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν και μέθοδος εκτροφής τους

Σε όλα τα πειράματα της παρούσας διατριβής, τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν προέρχονταν από προσβεβλημένους καρπούς μανταρινιών (*Citrus reticulata* Blanco) από την περιοχή των Λεχωνίων Μαγνησίας και εκτράφηκαν για ορισμένο αριθμό γενεών (μέχρι  $F_8$ ) σε τεχνητές συνθήκες εκτροφής στο εργαστήριο. Οι προσβεβλημένοι καρποί μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο ( $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) και τοποθετήθηκαν σε πλαστικές λεκάνες πάνω σε στρώμα στεγνής και αποστειρωμένης, λεπτόκοκκης άμμου, πάχους περίπου 2 mm. Οι προνύμφες μετά την ολοκλήρωση της ανάπτυξης τους, εγκατέλειπαν τους καρπούς και νυμφώνονταν στο στρώμα της άμμου. Η συλλογή των νυμφών πραγματοποιήθηκε με κοσκίνισμα της άμμου και ακολούθως οι νύμφες τοποθετούνταν σε πλαστικά τρυβλία Petri διαμέτρου 9 cm (Εικόνα 2.1), στα οποία σημειώθηκε η ημερομηνία νύμφωσης.

Πριν την έξοδο των ενηλίκων τα τρυβλία τοποθετούνταν σε τετράγωνα ξύλινα κλουβιά διαστάσεων 30 x 30 x 30 cm, τα οποία είχαν τις τρεις πλευρές τους καλυμμένες με πλαστικό πλέγμα, μία με γυαλί και δύο με ξύλο (Εικόνα 2.2). Τα ενήλικα, μετά την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα, είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε νερό (πλαστικά φιαλίδια που στο πάνω μέρος τους διερχόταν φυτίλι, το οποίο ένωνε το νερό με το εξωτερικό περιβάλλον του κλουβιού) και τροφή. Η τροφή των

ενηλίκων, ήταν μίγμα υδρολυμένης μαγιάς (MP Biomedicals LLC., France), κρυσταλλικής ζάχαρης και νερού σε αναλογία 1:4:5, αντίστοιχα και προσφερόταν στα ενήλικα, στην επιφάνεια πλαστικών τρυβλίων Petri διαμέτρου 9 cm, με τη μορφή στερεοποιημένων σταγόνων. Μετά την αναπαραγωγική ωρίμανση και την σύζευξη των ενηλίκων (10-15 ημέρες μετά την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα), τα θηλυκά ωοτοκούσαν σε τεχνητό υπόστρωμα ωοτοκίας (dome). Το υπόστρωμα ωοτοκίας ήταν ένα κοίλο, πλαστικό ημισφαίριο, διαμέτρου 5 cm, πάχους 1.5 mm και χρώματος κόκκινου, το οποίο έφερε περίπου 50 ομοιόμορφα κατανεμημένες οπές διαμέτρου 1 mm, μέσα στις οποίες τα θηλυκά απόθεταν τα αυγά τους στο εσωτερικό του ημισφαιρίου. Το κάθε ημισφαίριο ήταν προσαρμοσμένο σε ένα κάλυμμα πλαστικού τρυβλίου Petri διαμέτρου 5,5 cm, στο οποίο είχε δημιουργηθεί οπή διαμέτρου 5 cm. Στην βάση του τρυβλίου, τοποθετήθηκε χυμός πορτοκαλιού, για την διέγερση της ωοτοκίας των θηλυκών και για την διατήρηση υψηλής σχετικής υγρασίας, για να μην αφυδατώνονται τα αυγά (Boller, 1985). Με τη βοήθεια μαλακού πινέλου, συλλέγονταν τα αυγά από την κάτω επιφάνεια του ημισφαιρίου και μεταφέρονταν σε θρεπτικό υπόστρωμα για την εκκόλαψη των αυγών και την ανάπτυξη των προνυμφών. Το υπόστρωμα αυτό αποτελούνταν από δίσκους βάμβακος διαμέτρου 5 cm, εμποτισμένους με τεχνητή τροφή, που αποτελούσαν από 100 gr κρυσταλλικής ζάχαρης, 100 gr μαγιά μύρας, 50 gr σογιάλευρου, 2 gr μίγματος αλάτων, 8 gr ασκορβικού οξέος, 8 gr κιτρικού οξέος, 1,5 gr προπιονικού νατρίου διαλυμένα σε 500 ml νερού (Boller, 1985). Οι εμποτισμένοι δίσκοι τοποθετούνταν σε γυάλινα τρυβλία διαμέτρου 9 cm, τα οποία είχαν αποστειρωθεί πριν την χρήση τους με καθαρό οινόπνευμα. Τα τρυβλία, κλείνονταν με το κάλυμμα τους, για την αποφυγή της απώλειας υγρασίας και της αφυδάτωσης των αυγών και τοποθετούνταν πάνω σε στρώμα, στεγνής και αποστειρωμένης, λεπτόκοκκης άμμου, πάχους περίπου 5 mm, μέσα σε πλαστικές λεκάνες (Εικόνα 2.3). Η ανάπτυξη των προνυμφών στο θρεπτικό υπόστρωμα, στις συνθήκες του εργαστηρίου (25 °C), ολοκληρωνόταν σε 8-10 ημέρες. Μετά την ολοκλήρωση της ανάπτυξης τους, τα τρυβλία ανοίγονταν και οι ανεπτυγμένες προνύμφες εξέρχονταν από το τρυβλίο και νυμφώνονταν στην άμμο. Δύο έως τρεις ημέρες μετά τη νύμφωση, η άμμος απομακρυνόταν με κοσκίνισμα και οι νύμφες τοποθετούνταν σε πλαστικά τρυβλία Petri διαμέτρου 9 cm. Η έξοδος των ενηλίκων διαρκούσε 9-10 ημέρες μετά τη νύμφωση. Με την επανάληψη αυτής της μεθόδου λήφθηκαν τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν για τα πειράματα της παρούσας διατριβής.



**Εικόνα 2.1:** Συλλογή των νυμφών της μύγας της Μεσογείου, σε τρυβλία Petri μετά το κοσκίνισμα της άμμου.



**Εικόνα 2.2:** Ξύλινο κλουβί για την διατήρηση των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου



**Εικόνα 2.3:** Εκτροφή προνυμφών της μύγας της Μεσογείου σε υποστρώματα εμποτισμένα με τεχνητή τροφή

## 2.3 Πειραματική διαδικασία

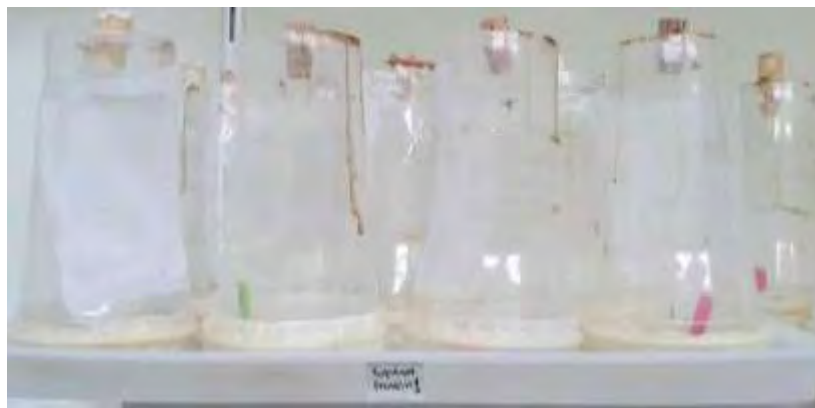
Για τα πειράματα επιλογής χρησιμοποιήθηκαν έντομα της F<sub>5</sub> γενιάς και για τα πειράματα μη επιλογής έγιναν δύο ξεχωριστά πειράματα με έντομα F<sub>5</sub> και F<sub>8</sub> γενιάς, αντίστοιχα. Για τους σκοπούς των πειραμάτων, πριν την έξοδο των ενηλίκων, τα τρυβλία με τις νύμφες (περίπου 100 νύμφες σε κάθε τρυβλίο) τοποθετούνταν σε κλουβιά Plexiglas διαστάσεων 20 x 20 x 20 cm, τα οποία είχαν τις τρεις πλευρές τους καλυμμένες με πλαστικό πλέγμα (Εικόνα 2.4). Τα ενήλικα διαχωρίζονταν με βάση το φύλο, εντός 24 ωρών από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα και τοποθετούνταν σε ατομικά κλουβιά. Τα ατομικά κλουβιά ήταν κατασκευασμένα από διαφανή ποτήρια χωρητικότητας 400 ml και για τον αερισμό των κλουβιών υπήρχε ένα άνοιγμα 3 x 8 cm που ήταν καλυμμένο με πλαστικό πλέγμα (Εικόνα 2.5). Στη βάση του ποτηριού υπήρχε μια οπή περίπου 1cm για την είσοδο του εντόμου στο ατομικό κλουβί, ενώ στο στόμιο του ποτηριού προσαρμόστηκε με χαρτοταινία, κάλυμμα πλαστικού τρυβλίου Petri διαστάσεων 9 cm. Στο κάλυμμα του τρυβλίου Petri υπήρχε μία οπή 0,5 cm στην οποία διερχόταν φυτίλι, που ένωνε τη βάση του τρυβλίου η οποία περιείχε 5ml νερό, με το εσωτερικό του κλουβιού. Στα εσωτερικά τοιχώματα όλων των ατομικών κλουβιών τοποθετήθηκε η τροφή των ενηλίκων (μίγμα υδρολυμένης μαγιάς, κρυσταλλικής ζάχαρης και νερού σε αναλογία 1:4:5, αντίστοιχα). Στα πειράματα μη επιλογής, τα ατομικά κλουβιά των θηλυκών είχαν επιπλέον ένα κοίλο, κόκκινο, πλαστικό ημισφαίριο, διαμέτρου 5 cm και πάχους 1,5 mm, ως υπόστρωμα ωοτοκίας (dome) των θηλυκών (Εικόνα 2.6). Το υπόστρωμα ωοτοκίας έφερε περίπου 50 ομοιόμορφα κατανεμημένες οπές διαμέτρου 1 mm και είχε προσαρμοστεί στο κάλυμμα του τρυβλίου Petri. Κάτω από το υπόστρωμα τοποθετήθηκε ένα φιαλίδιο με 5ml χυμό πορτοκαλιού (εμπορίου) αραιωμένο με νερό, σε αναλογία 2:1 αντίστοιχα. Ο χυμός ανανεωνόταν κάθε 2 ημέρες και το νερό κάθε 4 ημέρες.

Σε όλα τα πειράματα πριν την είσοδο των αρσενικών στα ατομικά κλουβιά, τα αρσενικά σημάνθηκαν στον πρόνωτο με ξεχωριστό χρώμα μη τοξικής χρωστικής, για την κάθε μεταχείριση. Η ακινητοποίηση των αρσενικών για την σήμανση τους, περιλάμβανε την τοποθέτησή τους σε φάκελο από πλαστικό πλέγμα και την σήμανση τους με νερομπογιά (Εικόνα 2.7).





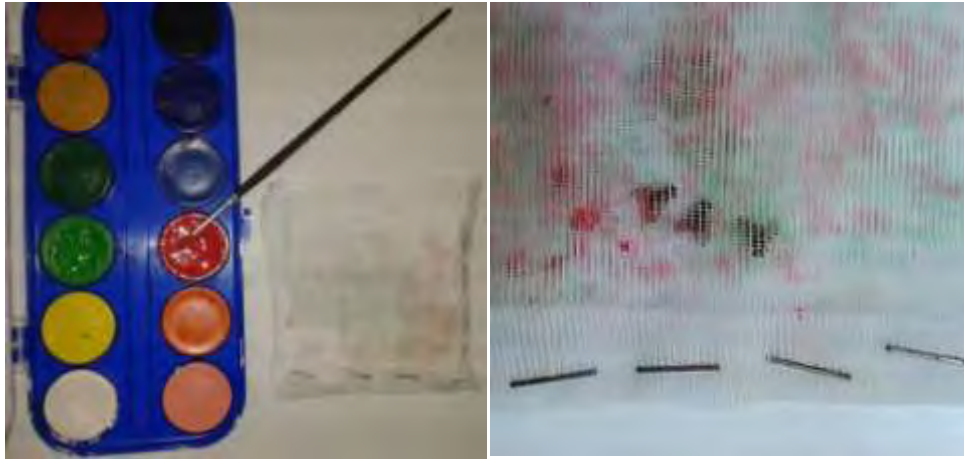
**Εικόνα 2.4:** Κλουβιά Plexiglas 20 x 20 x 20 cm για τη διατήρηση των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που χρησιμοποιήθηκαν για τους σκοπούς των πειραμάτων



**Εικόνα 2.5:** Ατομικά κλουβιά αρσενικών και θηλυκών για τα πειράματα επιλογής και αρσενικών για τα πειράματα μη επιλογής.



**Εικόνα 2.6:** Ατομικά κλουβιά θηλυκών για τα πειράματα μη επιλογής.



**Εικόνα 2.7:** «Φάκελος» από πλαστικό πλέγμα, για την ακινητοποίηση των ενηλίκων με σκοπό τη σήμανση τους με νερομπογιά.

### 2.3.1 Πειράματα επιλογής

Για τα πειράματα επιλογής, μετά την έξοδο των ενηλίκων από το νυμφικό περίβλημα, 150 θηλυκά διατηρήθηκαν μεμονωμένα σε ατομικά κλουβιά και 300 αρσενικά χωρίστηκαν σε 3 μεταχειρίσεις που αποτελούνταν από 1, 2 και 5 αρσενικά ανά ατομικό κλουβί, αντίστοιχα. Όλα τα ενήλικα παρέμειναν σε αυτές τις συνθήκες μέχρι την ηλικία των 14 ημερών για να ωριμάσουν αναπαραγωγικά, χωρίς να συζευχθούν. Στις 06:00 το πρωί της ημέρας διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης με επιλογή (ηλικία ενηλίκων 15 ημερών), εισάγαμε στα μισά ατομικά κλουβιά των θηλυκών 1 αρσενικό από αυτά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα και 1 αρσενικό από αυτά που διατηρήθηκαν σε ζεύγη (1 vs 2) ενώ στα υπόλοιπα κλουβιά των θηλυκών εισάγαμε 1 αρσενικό από αυτά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα και 1 αρσενικό από αυτά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 5 ατόμων (1 vs 5). Οι παρατηρήσεις πραγματοποιήθηκαν κάθε 10 λεπτά από τις 06:00 έως τις 16:00 και καταγράφονταν η επιλογή του θηλυκού για σύζευξη μεταξύ των δύο αρσενικών, καθώς και η διάρκεια και ο χρόνος μέχρι την έναρξη της σύζευξης. Με την έναρξη της σύζευξης το αντίπαλο αρσενικό απομακρυνόταν από το κλουβί των θηλυκών. Η προαναφερθείσα πειραματική διαδικασία των πειραμάτων επιλογής πραγματοποιήθηκε 2 φορές με έντομα της ίδιας γενιάς ( $F_5$  γενιά).

### 2.3.2 Πειράματα μη επιλογής

Για τα πειράματα μη επιλογής, χρησιμοποιήθηκαν οι ίδιες μεταχειρίσεις αρσενικών (1, 2 και 5 αρσενικά ανά ατομικό κλουβί, αντίστοιχα) και 75 θηλυκά διατηρήθηκαν μεμονωμένα σε ατομικά κλουβιά με υπόστρωμα ωοτοκίας (dome). Όλα τα ενήλικα παρέμειναν σε αυτές τις συνθήκες μέχρι την ηλικία των 14 ημερών για να ωριμάσουν αναπαραγωγικά, χωρίς να συζευχθούν. Τα κλουβιά των θηλυκών χωρίστηκαν σε 3 ομάδες (25 κλουβιά ανά ομάδα) και την 15<sup>η</sup> ημέρα της ενήλικης ζωής στις 06:00 το πρωί, εισάγαμε 1 μεμονωμένο αρσενικό από την κάθε μεταχείριση των αρσενικών σε μία ομάδα θηλυκών. Συγκεκριμένα, σε 25 κλουβιά θηλυκών εισάγαμε 1 αρσενικό από αυτά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, σε άλλα 25 κλουβιά θηλυκών εισάγαμε 1 αρσενικό από αυτά που διατηρήθηκαν σε ζεύγη και στα υπόλοιπα 1 αρσενικό από αυτά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 5 ατόμων. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιήθηκαν κάθε 10 λεπτά από τις 06:00 έως τις 16:00 και καταγράφονταν η επιλογή για σύζευξη ή μη του θηλυκού, καθώς και η διάρκεια και ο χρόνος μέχρι την έναρξη της σύζευξης. Επιπλέον, καθ'όλη τη διάρκεια ζωής των θηλυκών (μετά τη σύζευξη) καταγραφόταν καθημερινά η ωοπαραγωγή και η εκκόλαψη των αυγών, καθώς και η διάρκεια ζωής των θηλυκών. Η προαναφερθείσα πειραματική διαδικασία των πειραμάτων επιλογής πραγματοποιήθηκε ξεχωριστά δύο φορές, με έντομα της F<sub>5</sub> και F<sub>8</sub> γενιάς, αντίστοιχα.

### 2.4 Στατιστική ανάλυση

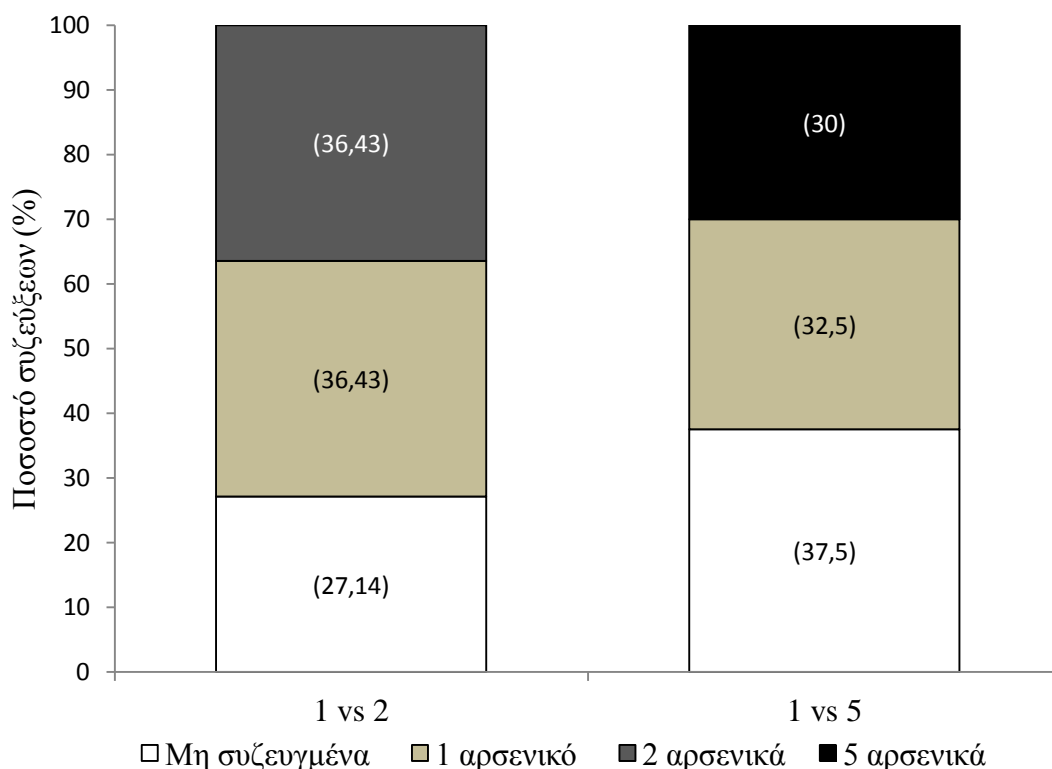
Η ανάλυση των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πακέτο SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL., USA). Η σύγκριση των ποσοστών σύζευξης θηλυκών που συζεύχθηκαν με τα αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων (διατήρηση μεμονωμένα, σε ομάδες των 2 και σε ομάδες των 5 ατόμων) στις δοκιμές με επιλογή και στις δοκιμές χωρίς επιλογή, πραγματοποιήθηκε με το κριτήριο  $\chi^2$ . Η επίδραση του τρόπου διατήρησης των αρσενικών στη μέση διάρκεια σύζευξης και στο χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης για τις δοκιμές επιλογής, πραγματοποιήθηκε με το  $t$  κριτήριο ανεξάρτητων δειγμάτων (independent sample t-test), ενώ για τις δοκιμές χωρίς επιλογή με την ανάλυση παραλλακτικότητας (One-Way ANOVA). Οι συγκρίσεις της μέσης ωοπαραγωγής των θηλυκών που συζεύχθηκαν με αρσενικά των παραπάνω μεταχειρίσεων πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση διπλής παραλλακτικότητας δύο

παραγόντων (Two-Way ANOVA). Η επίδραση του τρόπου διατήρησης των αρσενικών στο ποσοστό εκκόλαψης των αυγών εξετάστηκε με την ανάλυση διπλής παραλλακτικότητας δύο παραγόντων (One-Way ANOVA) μετά από κατάλληλη τροποποίηση των δεδομένων που δεν ακολουθούσαν κανονική κατανομή. Τέλος, η επίδραση της σύζευξης με αρσενικά των παραπάνω μεταχειρίσεων στην επιβίωση των θηλυκών, ελέγχθηκε με το μοντέλο ανάλογων κινδύνων Cox (Cox proportional hazard model).

### **3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ**

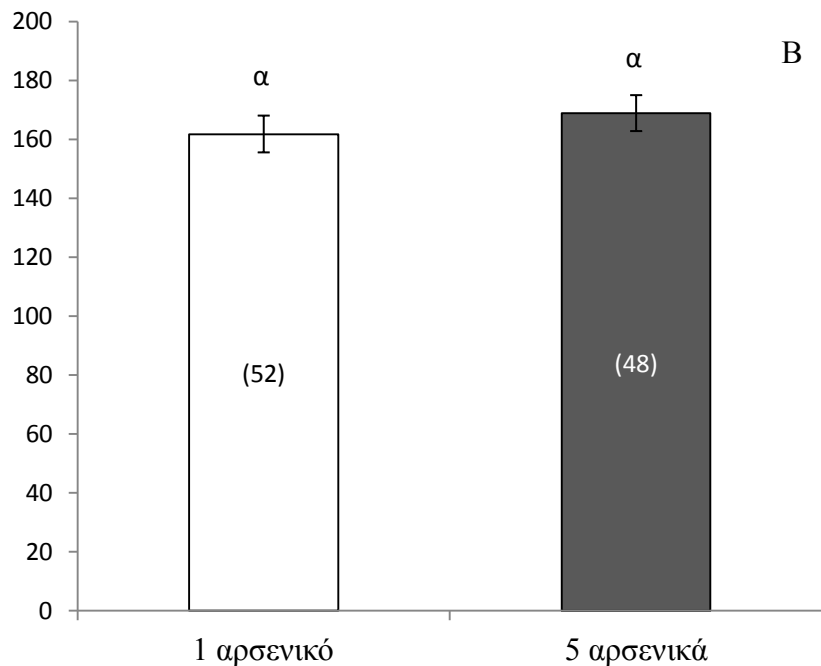
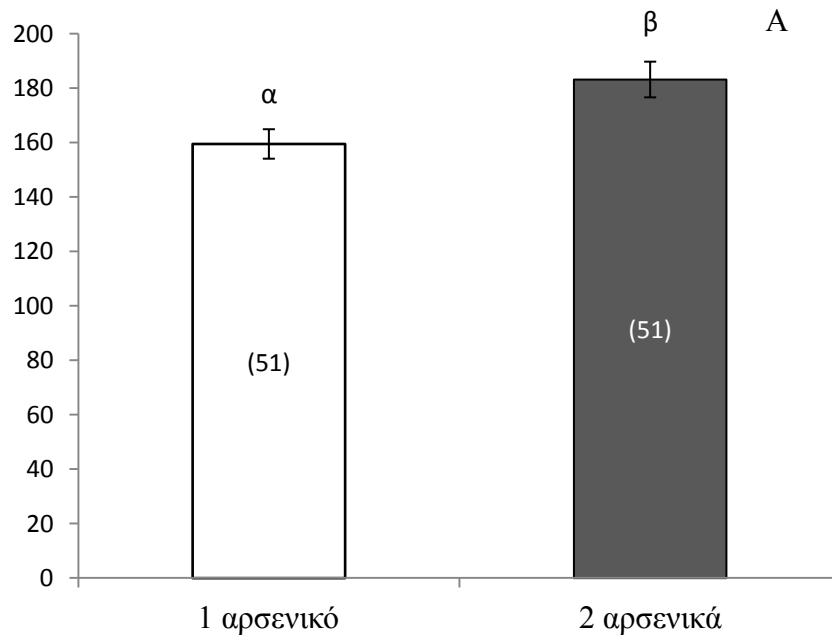
#### **3.1 Πειράματα επιλογής**

Στο Διάγραμμα 1, παρουσιάζεται η επιλογή των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου για σεξουαλικό σύντροφο, μεταξύ αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα και σε ομάδες των 2 ατόμων και μεταξύ αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα και σε ομάδες των 5 ατόμων, πριν τις δοκιμές σύζευξης. Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα ποσοστά σύζευξης θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν είτε μεμονωμένα είτε σε ομάδες των 2 ατόμων, δε διέφερε σημαντικά ( $\chi^2 = 0,01$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,92$ ), ενώ αντίστοιχα ήταν και τα αποτελέσματα των ποσοστών σύζευξης μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν είτε μεμονωμένα είτε σε ομάδες των 5 ατόμων ( $\chi^2 = 0,09$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,764$ ). Συνεπώς, παρά το γεγονός ότι στην περίπτωση που τα αρσενικά διατηρούνταν σε ομάδες των 5 ατόμων επιλέγονταν λιγότερο συχνά από τα θηλυκά για σύζευξη, φαίνεται ότι ο τρόπος διατήρησης των αρσενικών (μεμονωμένα ή σε ομάδες) μέχρι την ημέρα των δοκιμών σύζευξης, δεν επηρέασαν σημαντικά την επιλογή τους από τα θηλυκά για σύζευξη.



**Διάγραμμα 1:** Επιλογή των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου για σεξουαλικό σύντροφο, μεταξύ ενός αρσενικού που διατηρήθηκε μεμονωμένο και ενός αρσενικού που διατηρήθηκε σε ομάδες των 2 ατόμων (1 vs 2) και μεταξύ ενός αρσενικού που διατηρήθηκε μεμονωμένο και ενός αρσενικού που διατηρήθηκε σε ομάδες των 5 ατόμων (1 vs 5), από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης. Το ποσοστό των θηλυκών που δεν συζεύχθηκαν ή συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων δίνεται σε παρένθεση.

Στο Διάγραμμα 2, παρουσιάζεται η μέση διάρκεια σύζευξης των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου με αρσενικά που μέχρι την ημέρα που πραγματοποιήθηκαν οι δοκιμές σύζευξης διατηρούνταν μεμονωμένα ή σε συνθήκες συνωστισμού (ομάδες των 2 ή των 5 ατόμων). Η μέση διάρκεια σύζευξης μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 ατόμων ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα (t-test,  $P < 0,05$ ) (Πίνακας 1). Δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στη μέση διάρκεια της σύζευξης μεταξύ των θηλυκών που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 5 ατόμων και των θηλυκών που συζεύχθηκαν με μεμονωμένα αρσενικά (t-test,  $P > 0,05$ ) (Πίνακας 1).

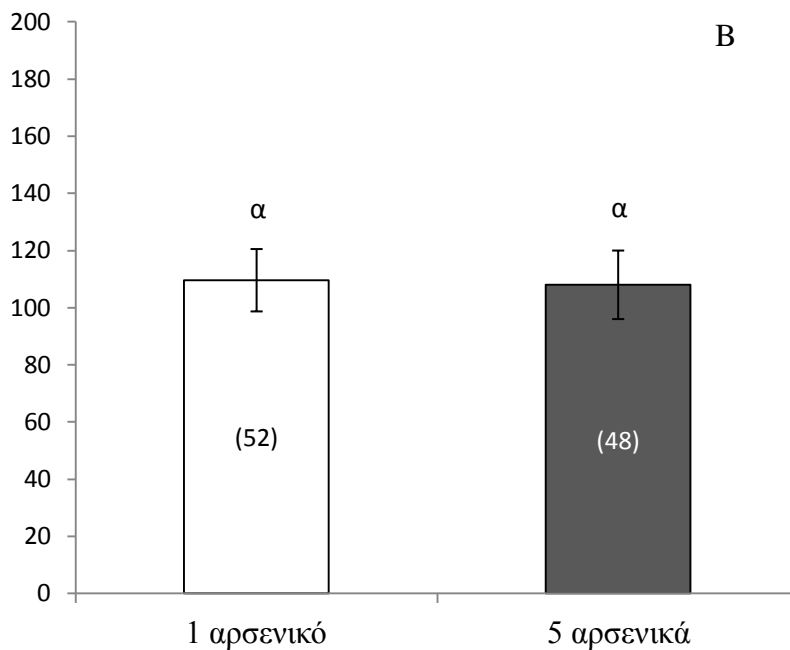
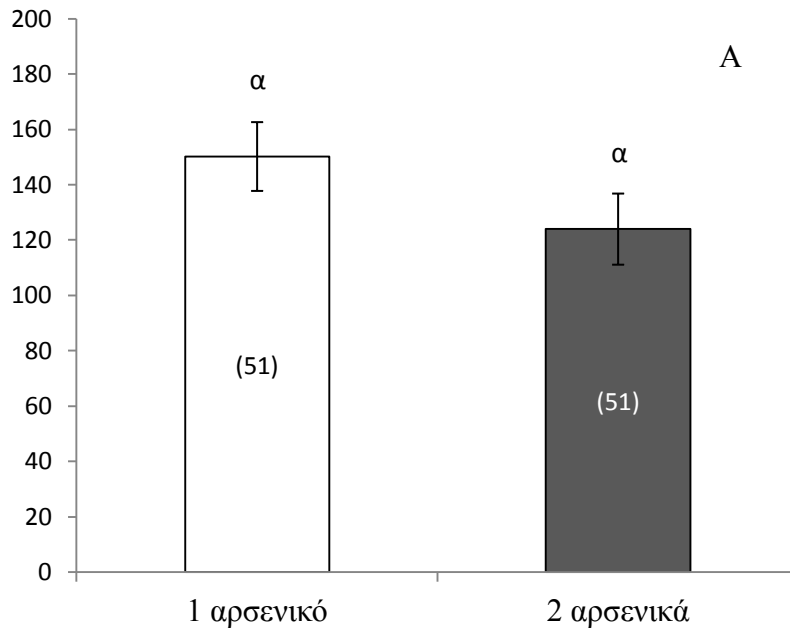


**Διάγραμμα 2:** Μέση διάρκεια σύζευξης θηλυκών της μύγας της Μεσογείου με αρσενικά που διατηρήθηκαν είτε μεμονωμένα είτε σε ομάδες των 2 ατόμων (A) και με αρσενικά που διατηρήθηκαν είτε μεμονωμένα είτε σε ομάδες των 5 ατόμων (B), από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης. Ο αριθμός των θηλυκών που συζεύχθηκαν με αρσενικά της κάθε μεταχείρισης δίνεται σε παρένθεση. Οι μέσοι όροι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά ( $P > 0,05$ ).

**Πίνακας 1:** Σύγκριση μέσων όρων, της διάρκειας της σύζευξης με το *t* κριτήριο ανεξάρτητων δειγμάτων (independent sample t-test), μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρούνταν μεμονωμένα ή σε ομάδες των 2 ατόμων (1 vs 2) και μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρούνταν μεμονωμένα ή σε ομάδες των 5 ατόμων (1 vs 5).

Πηγή παραλλακτικότητας	<i>t</i>	df	<i>P</i>
Συνωστισμός			
1 vs 2	-2,784	100	0,006
1 vs 5	-0,600	98	0,550

Στο Διάγραμμα 3, παρουσιάζεται ο μέσος χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, με αρσενικά που μέχρι την ημέρα που πραγματοποιήθηκαν οι δοκιμές σύζευξης διατηρούνταν μεμονωμένα ή σε συνθήκες συνωστισμού (ομάδες των 2 ή των 5 ατόμων). Ο μέσος χρόνος μέχρι την έναρξη της σύζευξης ήταν μικρότερος μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 ατόμων σε σχέση με αυτόν μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, χωρίς όμως να διαφέρουν σημαντικά (t-test,  $P < 0,05$ ) (Πίνακας 2). Επιπλέον, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στο μέσο χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης μεταξύ των θηλυκών που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 5 ατόμων και των θηλυκών που συζεύχθηκαν με μεμονωμένα αρσενικά (t-test,  $P > 0,05$ ) (Πίνακας 2).



**Διάγραμμα 3:** Χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης θηλυκών της μύγας της Μεσογείου με αρσενικά που διατηρήθηκαν είτε μεμονωμένα είτε σε ομάδες των 2 ατόμων (A) και με αρσενικά που διατηρήθηκαν είτε μεμονωμένα είτε σε ομάδες των 5 ατόμων (B), από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης. Ο αριθμός των θηλυκών που συζεύχθηκαν με αρσενικά της κάθε μεταχείρισης δίνεται σε παρένθεση. Οι μέσοι όροι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά ( $P > 0,05$ ).

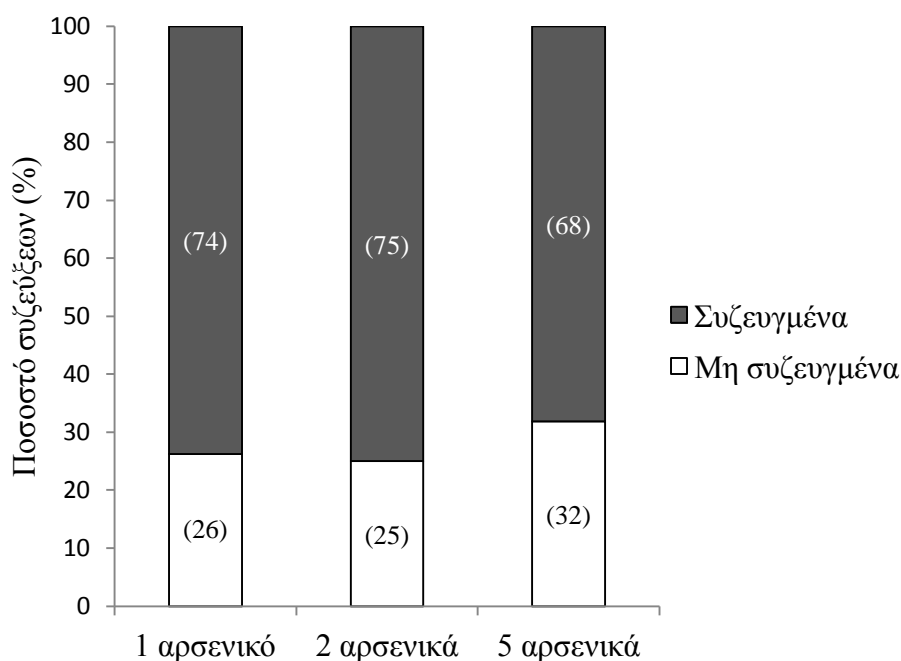


**Πίνακας 2:** Σύγκριση μέσων όρων, του χρόνου έως την έναρξη της σύζευξης με το *t* κριτήριο ανεξάρτητων δειγμάτων (independent sample t-test), μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρούνταν μεμονωμένα ή σε ομάδες των 2 ατόμων (1 vs 2) και μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρούνταν μεμονωμένα ή σε ομάδες των 5 ατόμων (1 vs 5).

Πηγή παραλλακτικότητας	<i>t</i>	df	<i>P</i>
Συνωστισμός			
1 vs 2	1,467	100	0,145
1 vs 5	0,031	98	0,975

### 3.2 Πειράματα μη επιλογής

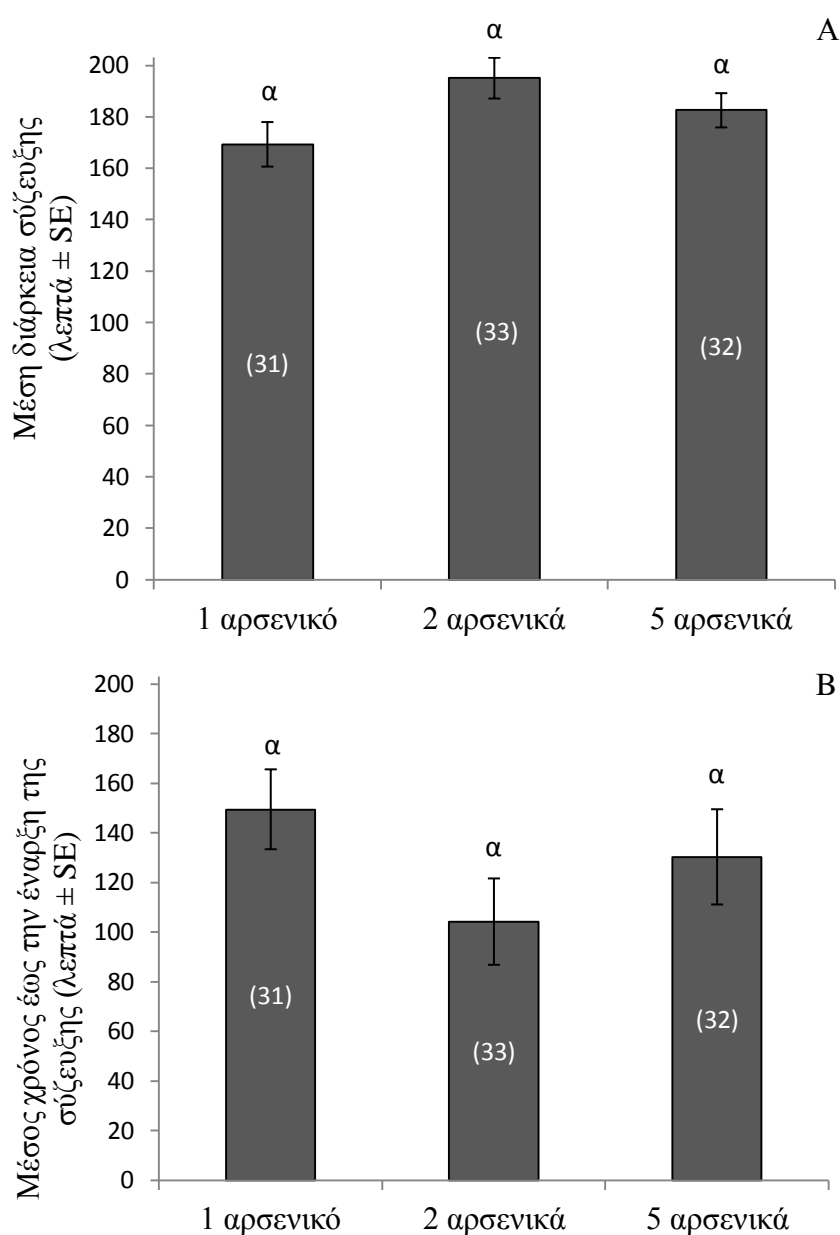
Στο Διάγραμμα 4, παρουσιάζεται το ποσοστό σύζευξης των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου που συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων. Τα θηλυκά συζεύχθηκαν σε μικρότερο ποσοστό με αρσενικά που διατηρούνταν σε ομάδες των 5 ατόμων σε σχέση με τα αρσενικά των δύο άλλων μεταχειρίσεων, χωρίς όμως να διαφέρουν σημαντικά ( $\chi^2 = 0,281$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0,869$ ).



**Διάγραμμα 4:** Ποσοστά συζεύξεων μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που, από την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης, διατηρήθηκαν μεμονωμένα (1 αρσενικό), σε ομάδες των 2 ατόμων (2 αρσενικά) και ομάδες των 5 ατόμων (5 αρσενικά). Το ποσοστό των θηλυκών που δε συζεύχθηκαν ή συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων δίνεται σε παρένθεση.

Στο Διάγραμμα 5, δίνεται η μέση διάρκεια σύζευξης και ο μέσος χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης, των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, που συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων. Τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 και των 5 ατόμων, εμφάνισαν μεγαλύτερη μέση διάρκεια σύζευξης και μικρότερο μέσο χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης σε σχέση

με τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρούνταν μεμονωμένα, χωρίς όμως οι τιμές να διαφέρουν σημαντικά ( $P > 0,05$ ) (Πίνακας 3).

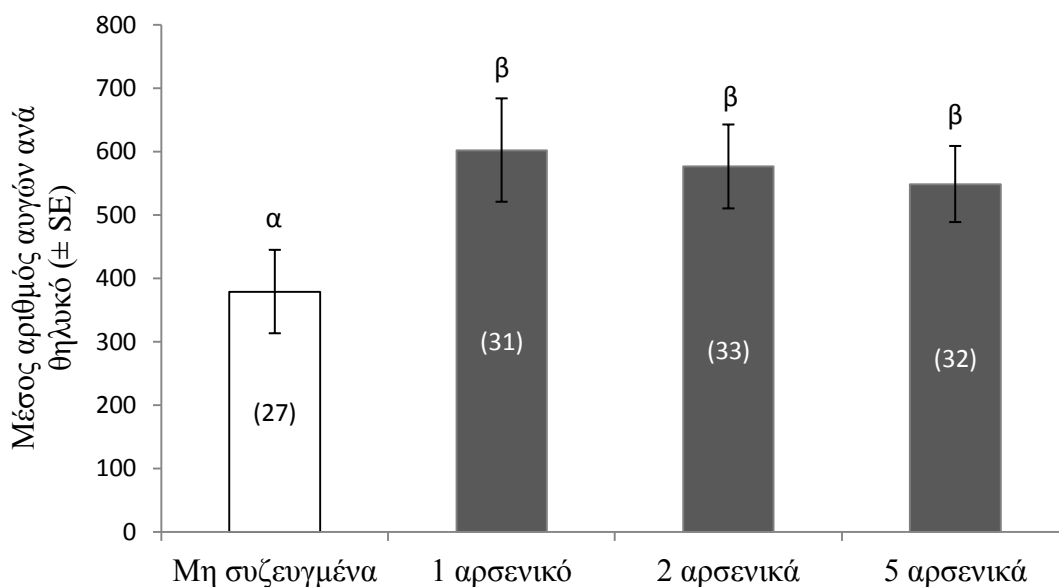


**Διάγραμμα 5:** Μέση διάρκεια σύζευξης (A) και μέσος χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης (B) των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα (1 αρσενικό), σε ομάδες των 2 ατόμων (2 αρσενικά) και ομάδες των 5 ατόμων (5 αρσενικά), από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης. Ο αριθμός των θηλυκών που συζεύχθηκαν με αρσενικά της κάθε μεταχείρισης δίνεται σε παρένθεση. Οι μέσοι όροι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά ( $P > 0,05$ ).

**Πίνακας 3:** Σύγκριση μέσων όρων, της διάρκειας σύζευξης και του χρόνου έως την έναρξη της σύζευξης με την ανάλυση παραλλακτικότητας (One-Way ANOVA), θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, σε ομάδες των 2 ατόμων και ομάδες των 5 ατόμων, πριν τις δοκιμές σύζευξης.

<b>Πηγή παραλλακτικότητας</b>	<b>df</b>	<b>Μέσα τετράγωνα</b>	<b>F</b>	<b>P</b>
Συνωστισμός				
Διάρκεια σύζευξης	2,93	5293,598	2,735	0,070
Χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης	2,93	16563,058	1,663	0,195

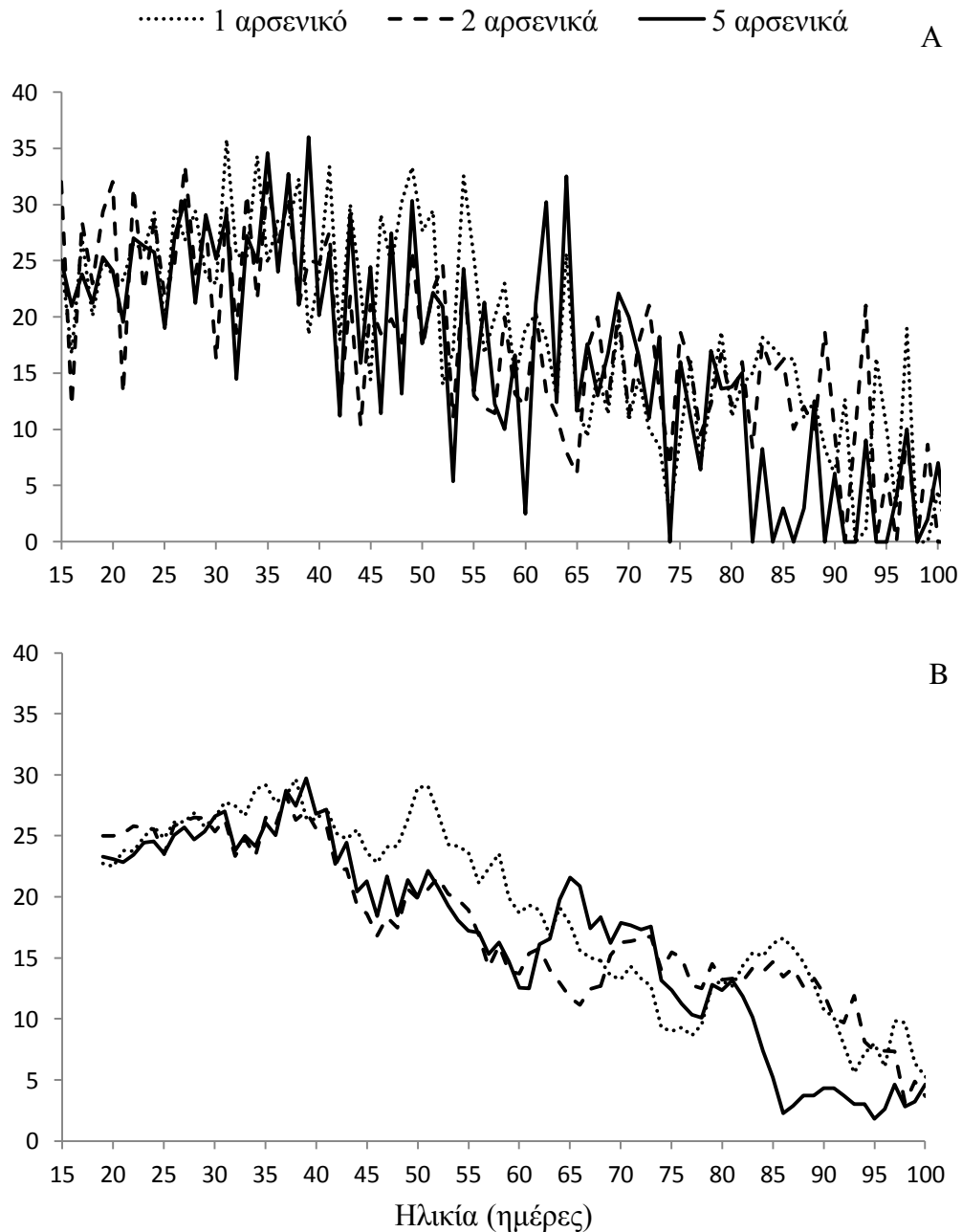
Στο Διάγραμμα 6, παρουσιάζεται ο μέσος συνολικός αριθμός αυγών ανά θηλυκό της μύγας της Μεσογείου που δε συζεύχθηκαν ή συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων. Τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρούνταν μεμονωμένα εκδήλωσαν μεγαλύτερη μέση ωοπαραγωγή, από τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 ή 5 ατόμων, χωρίς όμως στατιστικώς σημαντικές διαφορές ( $F = 2,005$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0,139$ ). Τα θηλυκά που έμειναν παρθένα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους γέννησαν σημαντικά μικρότερο αριθμό αυγών σε σχέση με τα θηλυκά που συζεύχθηκαν ( $F = 23,04$ ,  $df = 1$ ,  $P < 0,001$ ) (Πίνακας 4).



**Διάγραμμα 6:** Μέσος συνολικός αριθμός αγών ανά θηλυκό της μύγας της Μεσογείου που δε συζεύχθηκε (Μη συζευγμένα) ή συζεύχθηκε με αρσενικό που διατηρήθηκε μεμονωμένο (1 αρσενικό), ή σε ομάδες των 2 ατόμων (2 αρσενικά) ή σε ομάδες των 5 ατόμων (5 αρσενικά), από την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης. Ο αριθμός των θηλυκών που δε συζεύχθηκαν ή συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων δίνεται σε παρένθεση. Οι μέσοι όροι που συνοδεύονται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά ( $P > 0,05$ ).

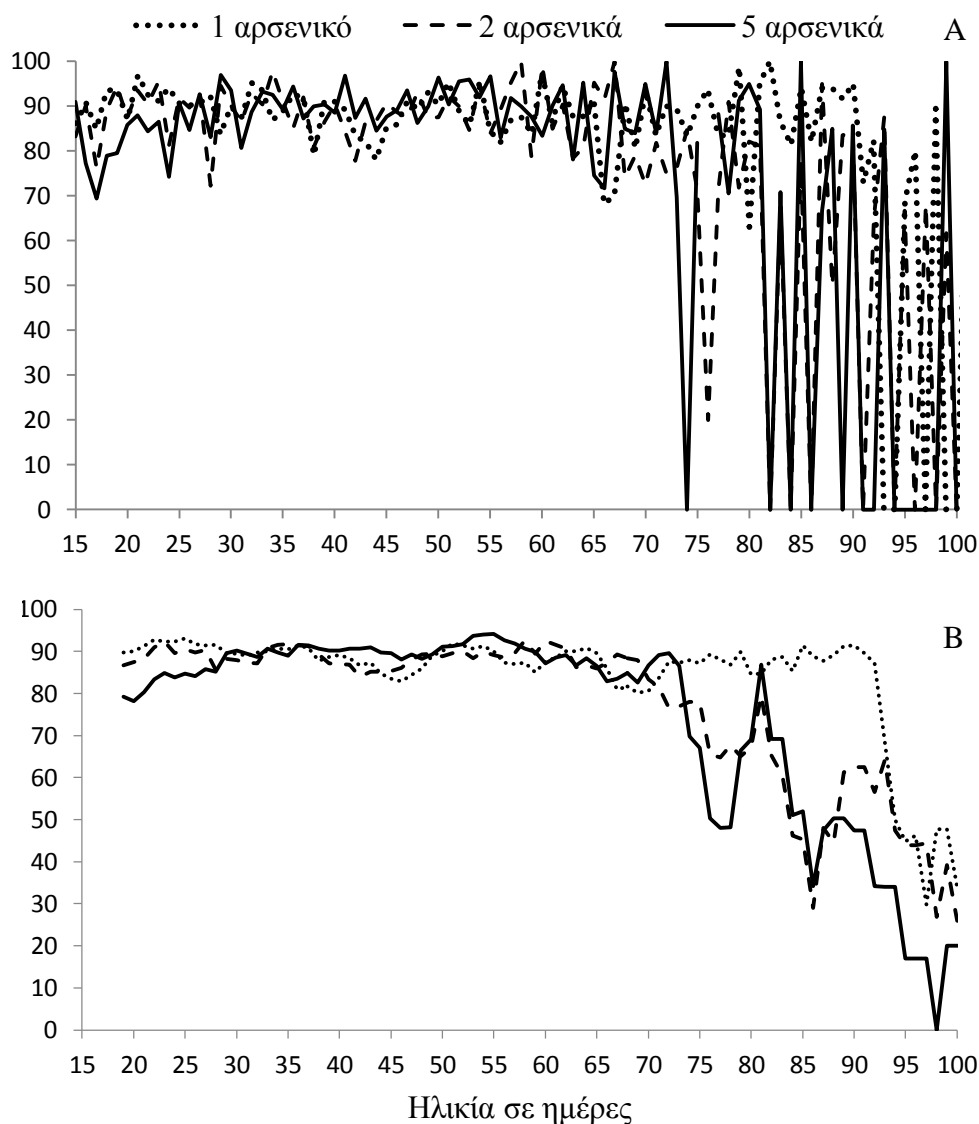
Στο Διάγραμμα 7, δίνεται ο μέσος αριθμός αγών σε σχέση με την ηλικία των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, που συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων. Ο ρυθμός ωοτοκίας όλων των θηλυκών ακολούθησε ανοδική πορεία από την σύζευξη μέχρι την ηλικία των 40 ημερών. Σε μεγαλύτερες ηλικίες ο ρυθμός ωοτοκίας όλων των θηλυκών μειώθηκε σταδιακά. Μεγαλύτερη μείωση του ρυθμού ωοτοκίας, παρατηρήθηκε στα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 και 5 ατόμων, από την ηλικία των 40 μέχρι 60 ημερών, σε σχέση αυτά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα. Από την ηλικία των 60 μέχρι 80 ημερών μεγαλύτερη μείωση του ρυθμού ωοτοκίας, εμφάνισαν τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, σε σχέση αυτά που συζεύχθηκαν με αρσενικά των άλλων δύο μεταχειρίσεων. Σε μεγαλύτερες ηλικίες, ο ρυθμός ωοτοκίας ήταν μεγαλύτερος

για τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 και 5 ατόμων, σε σχέση με αυτά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα.



**Διάγραμμα 7:** Πραγματικές τιμές (A) και κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 5 ημερών (B), του μέσου αριθμού αυγών σε σχέση με την ηλικία των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, σε ομάδες των 2 ατόμων και ομάδες των 5 ατόμων, από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης.

Στο Διάγραμμα 8, παρουσιάζεται το ποσοστό εκκόλαψης των αυγών σε σχέση με την ηλικία των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, που συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων. Το ποσοστό εκκόλαψης των αυγών στο σύνολο των θηλυκών, διατηρήθηκε στο ίδιο επίπεδο από την ηλικία των 15 μέχρι 70 ημερών. Σε μεγαλύτερες ηλικίες το ποσοστό εκκόλαψης των αυγών θηλυκών που είχαν συζευχθεί με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 και 5 ατόμων, μειώθηκε σταδιακά μέχρι την λήξη της περιόδου ωοπαραγωγής τους. Το ποσοστό εκκόλαψης αυγών που προήλθαν από θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρούνταν μεμονωμένα διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα μέχρι την ηλικία των 90 ημερών ενώ σε μεγαλύτερες ηλικίες το ποσοστό εκκόλαψης μειώθηκε σταδιακά μέχρι την λήξη της περιόδου ωοπαραγωγής τους.

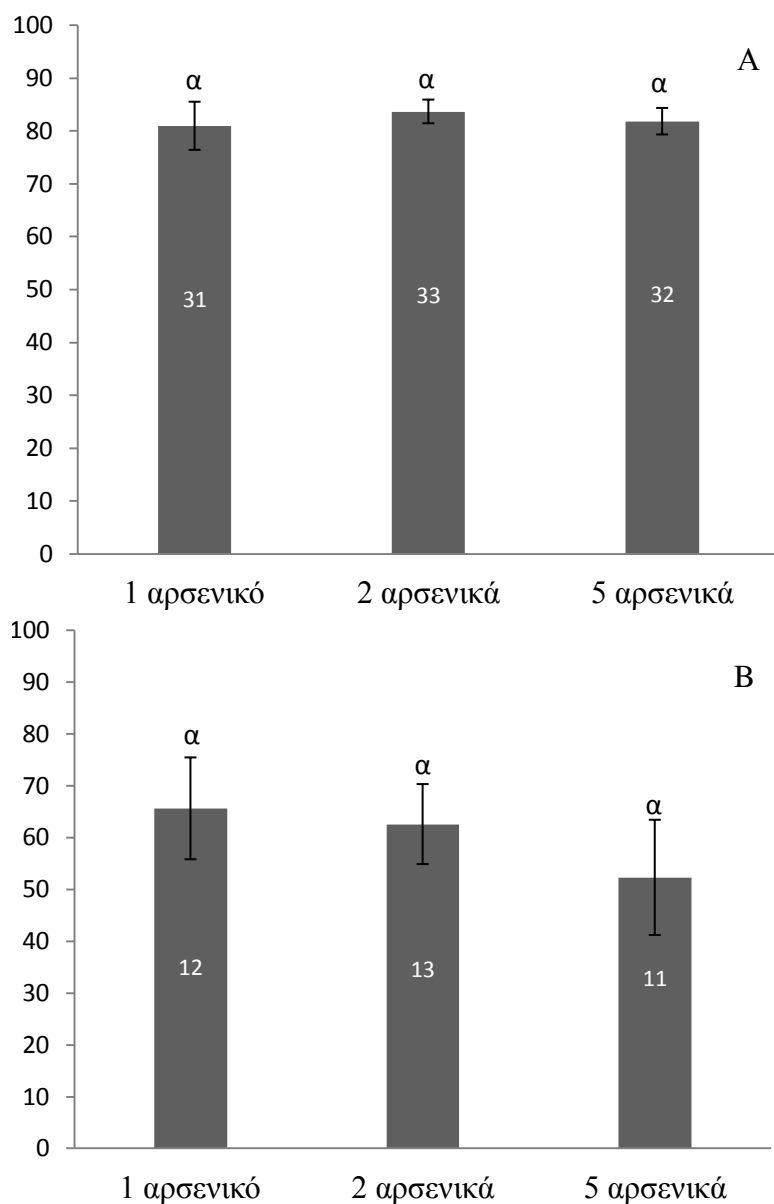


**Διάγραμμα 8:** Πραγματικές τιμές (A) και κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 5 ημερών (B) του ποσοστού εκκόλαψης των αυγών σε σχέση με την ηλικία θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, σε ομάδες των 2 ατόμων και ομάδες των 5 ατόμων, από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης.

Στο Διάγραμμα 9, παρουσιάζεται το μέσο ποσοστό εκκόλαψης αυγών που ωοτοκήθηκαν από τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου κατά τα χρονικά διαστήματα από τη σύζευξη μέχρι την ηλικία των 70 ημερών και από την ηλικία των 71 έως 100 ημερών. Το μέσο ποσοστό εκκόλαψης των αυγών δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ των θηλυκών που συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων κατά το χρονικό διάστημα από την σύζευξη μέχρι την ηλικία των 70 ημερών ( $F = 0,142$ ,  $df = 2$ ,  $P =$

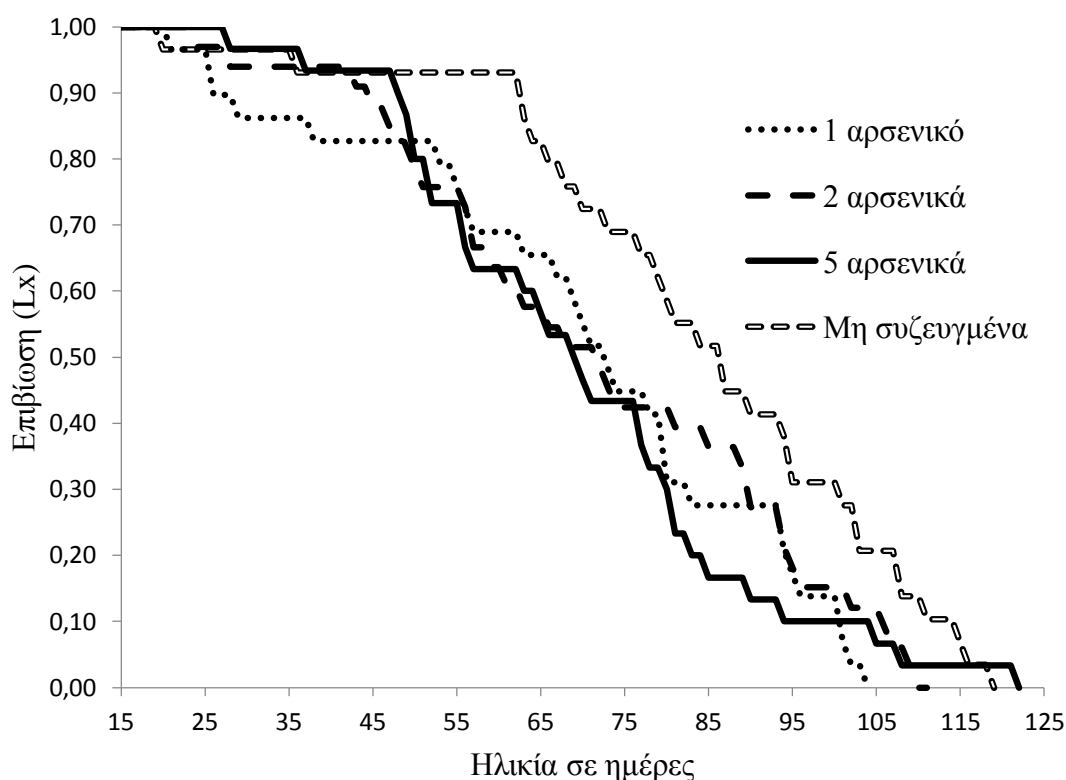


0,868). Σε μεγαλύτερες ηλικίες ο μέσος αριθμός αυγών που εκκολάφθηκαν ήταν μικρότερος στα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 5 ατόμων, χωρίς όμως στατιστικές σημαντικές διαφορές ( $F = 0,514$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0,603$ ).



**Διάγραμμα 9:** Μέσο ποσοστό εκκόλαψης αυγών που φωτοκλήθηκαν από τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου κατά τα χρονικά διαστήματα από τη σύζευξη μέχρι την ηλικία των 70 ημερών (A) και από την ηλικία των 71 έως 100 ημερών (B). Τα θηλυκά συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα (1 αρσενικό), σε ομάδες των 2 ατόμων (2 αρσενικά) και ομάδες των 5 ατόμων (5 αρσενικά), από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης.

Στο Διάγραμμα 10 παρουσιάζεται η επιβίωση των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου που δε συζευχθήκαν ή συζεύχθηκαν με τα αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων. Η μακροβιότητα των θηλυκών που δε συζεύχθηκαν ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη από εκείνη των θηλυκών που συζεύχθηκαν, χωρίς όμως να διαφέρουν σημαντικά (Wald test  $t = 3,362$ ,  $df = 1$ ,  $P = 0,067$ ) (Πίνακας 4). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στη μέση διάρκεια ζωής των συζευγμένων θηλυκών (Wald test  $t = 2,180$ ,  $df = 2$ ,  $P = 0,336$ ). Αναλυτικότερα, έως την 20<sup>η</sup> ημέρα της ενήλικης ζωής, ζούσε το σύνολο των θηλυκών και των 3 μεταχειρίσεων. Από την 20<sup>η</sup> μέχρι την 50<sup>η</sup> ημέρα της ενήλικης ζωής των θηλυκών η θνησιμότητα ήταν μεγαλύτερη στα θηλυκά που συζεύχθηκαν με μεμονωμένα αρσενικά σε σχέση με τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 και των 5 ατόμων. Σε μεγαλύτερες ηλικίες η θνησιμότητα αυξήθηκε σταδιακά στο σύνολο των συζευγμένων θηλυκών.



**Διάγραμμα 10:** Καμπύλες επιβίωσης των θηλυκών που δε συζεύχθηκαν ή συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, σε ομάδες των 2 ατόμων και ομάδες των 5 ατόμων, από την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης.

**Πίνακας 4:** Μέση διάρκεια ζωής και μέσος αριθμός αυγών μη συζευγμένων θηλυκών και θηλυκών που συζεύχθηκαν με αρσενικά που διατηρούνταν μεμονωμένα, σε ομάδες των 2 και σε ομάδες των 5 ατόμων μέχρι την ημέρα διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης. Οι μέσοι όροι σε κάθε στήλη που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά ( $P > 0,05$ ).

Μεταχείριση	Μέση διάρκεια ζωής (ημέρες $\pm$ SE)	Μέσος αριθμός αυγών ανά θηλυκό ( $\pm$ SE)
Μη συζευγμένα	83 $\pm$ 6,20α	379 $\pm$ 65,81α
1 αρσενικό	69 $\pm$ 4,37α	602 $\pm$ 81,56β
2 αρσενικά	72 $\pm$ 4,16α	576 $\pm$ 66,23β
5 αρσενικά	72 $\pm$ 4,04α	549 $\pm$ 60,09β

#### 4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

Τα αποτελέσματα των δοκιμών επιλογής σεξουαλικού συντρόφου από τα θηλυκά του *C. capitata*, έδειξαν ότι α) οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αρσενικών δεν επηρεάζουν την επιλογή σύζευξης των θηλυκών, β) η μέση διάρκεια σύζευξης είναι μεγαλύτερη στα θηλυκά και αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 ατόμων σε σχέση με αυτή μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, ενώ δεν διέφερε σημαντικά η μέση διάρκεια σύζευξης στα θηλυκά και αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 5 ατόμων σε σχέση με αυτή μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα. γ) Ο χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα ή σε συνθήκες συνωστισμού (ομάδες των 2 ή των 5 ατόμων).

Τα αποτελέσματα των δοκιμών χωρίς την επιλογή σεξουαλικού συντρόφου από τα θηλυκά, έδειξαν ότι α) ο τρόπος διατήρησης των αρσενικών (μεμονωμένα ή σε ομάδες των 2 και 5 ατόμων) μέχρι την ημέρα των δοκιμών σύζευξης, δεν επηρέασε σημαντικά την επιλογή τους από τα θηλυκά για σύζευξη, β) η διάρκεια της σύζευξης και ο χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης, δεν διέφερε σημαντικά μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα ή σε συνθήκες συνωστισμού (ομάδες των 2 ή των 5 ατόμων), γ) τα θηλυκά που έμειναν παρθένα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους ωτόκησαν σημαντικά μικρότερο αριθμό αυγών σε σχέση με

τα θηλυκά που συζεύχθηκαν, ενώ η μέση ωοπαραγωγή καθώς και το μέσο ποσοστό εκκόλαψης των αυγών μεταξύ των συζευγμένων θηλυκών δεν διέφερε σημαντικά. δ) Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αρσενικών πριν τις δοκιμές σύζευξης δεν επηρεάζουν την διάρκεια ζωής των συζευγμένων θηλυκών. Τέλος, ε) η διάρκεια ζωής των θηλυκών που έμειναν παρθένα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους δεν διέφερε σε σχέση με αυτή των συζευγμένων θηλυκών.

### **Επιλογή σεξουαλικού συντρόφου από τα θηλυκά**

Στα περισσότερα είδη εντόμων τα αρσενικά ανταγωνίζονται μεταξύ τους για την πρόσβαση στα θηλυκά, αλλά καθοριστικός παράγοντας είναι η επιλογή του θηλυκού για το αρσενικό που θα συζευχθεί (Møller and Pomiankowski, 1993; Miller, 2013). Η επιλογή των θηλυκών της *Drosophila melanogaster* για σεξουαλικό σύντροφο μεταξύ αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα και σε ομάδες των 2 ατόμων (για 3 ημέρες πριν τις δοκιμές σύζευξης) δεν διέφερε σημαντικά (Bretman et al., 2013). Στην παρούσα εργασία η επιλογή σεξουαλικού συντρόφου από τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου, δεν επηρεάστηκε από τον τρόπο διατήρησης των αρσενικών (μεμονωμένα ή σε ομάδες), στις δοκιμές με επιλογή καθώς και στις δοκιμές χωρίς επιλογή. Τα αρσενικά και τα θηλυκά της παρούσας εργασίας τράφηκαν σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον (μίγμα υδρολυμένης μαγιάς, κρυσταλλικής ζάχαρης και νερού σε αναλογία 1:4:5, αντίστοιχα). Ωστόσο, ίδια συμπεράσματα προκύπτουν όταν τα αρσενικά βρίσκονται υπό συνθήκες διατροφικής καταπόνησης (διατροφή με κρυσταλλική ζάχαρη μόνο) και τα θηλυκά τρέφονται σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον (Παπαδογιώργου, 2017).

Πολλές μελέτες, εργαστηριακών πληθυσμών του *C. capitata*, δείχνουν ότι η διατροφή των αρσενικών (πρωτεΐνη και ζάχαρη ή ζάχαρη), δεν επηρεάζει την αναπαραγωγική επιτυχία τους (παραγωγή φερομόνης, συμμετοχή σε leks και σύζευξη), όταν τα θηλυκά τρέφονται σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον (Shelly and Kennelly, 2002; Shelly and McInnis, 2003; Joachim-Bravo et al., 2009). Αντίθετα, μελέτες άγριων πληθυσμών του *C. capitata* δείχνουν ότι η απουσία της πρωτεΐνης στη διατροφή των αρσενικών, στο στάδιο του ενηλίκου, μειώνει την αναπαραγωγική επιτυχία τους (Papadopoulos et al., 1998; Shelly and Kennelly, 2002). Η διαφορά αυτή οφείλεται στη διατροφή των προνυμφών, καθώς οι εργαστηριακοί πληθυσμοί

τρέφονται με τεχνητές τροφές (υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη), ενώ οι προνύμφες των άγριων πληθυσμών τρέφονται με τους καρπούς των ξενιστών (χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη) (Joachim-Bravo et al., 2009). Οι Roriz and Joachim-Bravo (2013), έδειξαν ότι τα αρσενικά που τρέφονται με πρωτεΐνη κατά τη διάρκεια των ανήλικων σταδίων και στερούνται την πρωτεΐνη κατά τη διάρκεια των ενήλικων σταδίων έχουν παρόμοια αναπαραγωγική επιτυχία σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονται με πρωτεΐνη κατά τη διάρκεια των ανήλικων και ενήλικων σταδίων. Οι παρατηρούμενες ομοιότητες στη συμπεριφορά των αρσενικών που τρέφονται με πρωτεΐνη μόνο κατά τη διάρκεια των ανήλικων σταδίων και αυτών που τρέφονται με πρωτεΐνη στα ανήλικα και ενήλικα στάδια, πιθανόν να οφείλεται στο γεγονός ότι και οι δύο ομάδες αρσενικών μεταβολίζουν τα αποθέματα πρωτεΐνης που απέκτησαν κατά τη διάρκεια του προνυμφικού σταδίου. Ωστόσο, τα θηλυκά υπό συνθήκες διατροφικής καταπόνησης, επιλέγουν καλά τρεφόμενα αρσενικά, είτε λόγω της αρμοστικότητας (fitness) που δείχνουν τα αρσενικά αυτά, είτε λόγω της ποιότητας της φερομόνης που παράγουν ή και τα δύο (Joachim-Bravo et al., 2009). Επιπλέον, η σύζευξη αυξάνει τη διάρκεια ζωής μόνο στα θηλυκά που στερούνται πρωτεΐνη, καθώς φαίνεται να επωφελούνται από τα συνοδά εκκρίματα του σπέρματος των αρσενικών (Papanastasiou et al., 2013).

Συνεπώς, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου, δεν επηρεάζουν την επιλογή σύζευξης των θηλυκών που τρέφονται σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον, ανεξάρτητα από τη διατροφή των αρσενικών στο στάδιο του ενηλίκου και εφόσον στα ανήλικα στάδια τράφηκαν με τροφές με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

### **Διάρκεια σύζευξης**

Η διάρκεια της σύζευξης ποικίλει ανάλογα με το είδος του εντόμου και με το επίπεδο του ανταγωνισμού. Στην *Drosophila bifasciata*, η παρουσία «αντιπάλων» αρσενικών πριν την σύζευξη, δεν έχει επίδραση στη διάρκεια της σύζευξης, σε αντίθεση με τα *D. subobscura* και *D. acanthoptera* όπου η παρουσία μόνο ενός αντίπαλου αρσενικού πριν τη σύζευξη, αυξάνει τη διάρκεια της σύζευξης και τα θηλυκά των ειδών αυτών σπάνια επανασυζευγνύονται (Lize et al., 2012 a, b). Στην *D. melanogaster* τα αρσενικά ανταποκρίνονται πλαστικά με την παρουσία αντίπαλων αρσενικών είτε πριν είτε κατά τη διάρκεια της σύζευξης, προσαρμόζοντας τη

βέλτιστη διάρκεια σύζευξης ανάλογα με το επίπεδο του ανταγωνισμού (Bretman et al., 2010; 2012).

Γενικά, η διαδικασία της σύζευξης μπορεί να διακριθεί α) στην εισαγωγή του γενετικού οπλισμού του αρσενικού (intromission) στην αναπαραγωγική κοιλότητα του θηλυκού, β) στη μεταφορά σπέρματος γ) στην μετασυζευκτική «επιτήρηση» (mate guarding) πριν το φυσικό διαχωρισμό του ζευγαριού (Papanastasiou et al., 2011). Η αύξηση ή η μείωση της διάρκειας της σύζευξης μπορεί να οφείλεται στην αύξηση της διάρκειας ή στη συντόμευση ενός ή περισσότερων από τα παραπάνω στάδια. Στη μύγα της Μεσογείου και γενικά στα Tephritidae, η διάρκεια της σύζευξης καθορίζεται από το θηλυκό (Field and Yuval, 1999; Fritz, 2009; Abraham et al., 2014). Στην παρούσα εργασία, οι δοκιμές σύζευξης με επιλογή, έδειξαν ότι ο συνωστισμός των αρσενικών αυξάνει τη διάρκεια της σύζευξης μόνο στα θηλυκά και αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 ατόμων σε σχέση με αυτή μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, ενώ δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στη μέση διάρκεια σύζευξης μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα και σε ομάδες των 5 ατόμων. Η διαφορά στην επίδραση του συνωστισμού (ομάδες των 2 ή των 5 αρσενικών), στη διάρκεια της σύζευξης μπορεί να είναι ένα μέτρο «χειραγώγησης» από τα θηλυκά ή/και να οφείλεται στο μέγεθος του σώματος των δύο φύλων. Τα «μικρόσωμα» θηλυκά συμμετέχουν σε συντομότερες συζεύξεις λόγω μικρότερης αντίστασης στην εισαγωγή του γενετικού οπλισμού του αρσενικού (intromission) ή τα αρσενικά χρειάζονται μεγαλύτερη διείσδυση για να φτάσουν στην αναπαραγωγική κοιλότητα ενός «μεγαλόσωμου» θηλυκού. Τα «μεγαλόσωμα» αρσενικά συμμετέχουν σε συντομότερες συζεύξεις (Taylor and Yuval, 1999) ή το μέγεθος του σώματος των αρσενικών δεν επιδρά στη διάρκεια της σύζευξης (Taylor et al., 2000). Στο *Anastrepha fraterculus* η παρουσία «αντίπαλων» αρσενικών πριν ή κατά τη διάρκεια της σύζευξης δεν επηρεάζει τη διάρκεια της σύζευξης, αλλά αυτή μεταβάλλεται από το μέγεθος του σώματος των δύο φύλων, καθώς «μικρόσωμα» θηλυκά ή αρσενικά συμμετέχουν σε συντομότερες συζεύξεις (Abraham et al., 2015).

Στις δοκιμές χωρίς επιλογή σεξουαλικού συντρόφου από τα θηλυκά, ο συνωστισμός των αρσενικών (ομάδες των 2 ή των 5 ατόμων), δεν επηρέασε την διάρκεια της σύζευξης. Η διαφορά μεταξύ των δοκιμών με επιλογή και χωρίς επιλογή μπορεί να οφείλεται στους παράγοντες που αναφέρθηκαν παραπάνω ή στο γεγονός

ότι στις δοκιμές επιλογής η παρουσία του «αντίπαλου» αρσενικού (το αντίπαλο αρσενικό απομακρυνόταν από το κλουβί με την έναρξη της σύζευξης) αυξάνει τη διάρκεια της σύζευξης των θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 ατόμων.

### **Χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης**

Σύμφωνα με τη θεωρία του ανταγωνισμού του σπέρματος (sperm competition), η σεξουαλική συμπεριφορά του αρσενικού μεταβάλλεται με την παρουσία ενός αντίπαλου (SC risk), είτε πριν είτε κατά τη διάρκεια της σύζευξης ή με την παρουσία πολλών αντιπάλων πριν από την σύζευξη (previous SC intensity) (Parker et al., 1997; Kelly and Jennions, 2011). Ο χρόνος μέχρι την έναρξη της σύζευξης θα μπορούσε να είναι ένα μέτρο αποδοχής των θηλυκών ή ένα μέτρο της «χειραγώγησης» των αρσενικών. Στο *A. fraterculus* η παρουσία αντιπάλων αρσενικών πριν ή κατά τη διάρκεια της σύζευξης προκαλεί μείωση του χρόνου έως την έναρξη της σύζευξης (Abraham et al., 2015). Ωστόσο, η παρουσία αντιπάλων αρσενικών στο είδος *D. melanogaster* δεν έχει επίδραση στο χρόνο μέχρι την έναρξη της σύζευξης (Bretman et al., 2012), ανεξάρτητα από τη διατροφική κατάσταση των αρσενικών (Mason et al., 2016).

Στην παρούσα εργασία, ο χρόνος μέχρι την έναρξη της σύζευξης δεν διέφερε στις δοκιμές σύζευξης με επιλογή, όπου το θηλυκό είχε την δυνατότητα να επιλέξει μεταξύ δύο αρσενικών που προέρχονταν από τις τρεις μεταχειρίσεις (μεμονωμένα vs ομάδες των 2 αρσενικών και μεμονωμένα vs ομάδες των 5 αρσενικών). Επιπλέον, ίδια συμπεράσματα προκύπτουν, όταν τα αρσενικά βρίσκονται υπό συνθήκες διατροφικής καταπόνησης (Παπαδογιώργου, 2017). Αντίθετα, στις δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή, στα θηλυκά και αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 και 5 ατόμων, η σύζευξη ξεκινούσε γρηγορότερα, σε σχέση με τα θηλυκά και αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα, χωρίς όμως να διαφέρουν σημαντικά. Ωστόσο, όταν τα αρσενικά βρίσκονται υπό συνθήκες διατροφικής καταπόνησης, η σύζευξη θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 5 ατόμων πριν τις δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή (previous SC intensity), παρουσίαζαν μικρότερο χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης σε σχέση με τα θηλυκά και αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα. Στις ίδιες συνθήκες, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στο χρόνο έως την

έναρξη της σύζευξης μεταξύ θηλυκών και αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα και σε ομάδες των 2 ατόμων (previous SC risk) (Παπαδογιώργου, 2017).

Όταν τα αρσενικά βρίσκονται υπό συνθήκες διατροφικής καταπόνησης, στις δοκιμές σύζευξης με επιλογή, φαίνεται ότι η παρουσία του «αντίπαλου» αρσενικού πριν την έναρξη της σύζευξης (current SC risk), προκαλεί τον ανταγωνισμό των αρσενικών που διατηρήθηκαν μεμονωμένα πριν τις δοκιμές σύζευξης, καθώς δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στο χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης στις δοκιμές σύζευξης με επιλογή, ενώ παρατηρήθηκαν διαφορές όταν τα αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων ήταν μεμονωμένα στις δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή. Στην παρούσα εργασία, όπου τα αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων τρέφονταν σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον, υπήρχε η «τάση» μείωσης του χρόνου έως την έναρξη της σύζευξης για τα αρσενικά που διατηρήθηκαν σε ομάδες των 2 και 5 ατόμων, ωστόσο η διαφορά δεν ήταν σημαντική. Συνεπώς, τα αρσενικά του *C. capitata* υπό συνθήκες διατροφικής καταπόνησης, ανταποκρίνονται πλαστικά μειώνοντας το χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης, ανάλογα με το επίπεδο του ανταγωνισμού (αριθμός αντίπαλων αρσενικών).

### **Μέση ωοπαραγωγή και μέσο ποσοστό εκκόλαψης αυγών των θηλυκών**

Τα αρσενικά πολλών ειδών αξιολογούν το επίπεδο του ανταγωνισμού και ανταποκρίνονται προσαρμοστικά μεταφέροντας μεγαλύτερη ποσότητα σπερματοζωαρίων κατά τη σύζευξη (Wedell et al., 2002). Για παράδειγμα τα αρσενικά του *Tenebrio molitor* μεταφέρουν μεγαλύτερη ποσότητα σπερματοζωαρίων με την παρουσία ενός αντίπαλου αρσενικού, 5 ημέρες πριν την σύζευξη, 5 λεπτά πριν την σύζευξη ή κατά τη διάρκεια της σύζευξης (Gage and Baker, 1991). Στο *A. fraterculus* τα αρσενικά μεταφέρουν περισσότερα σπερματοζωάρια με την παρουσία αντίπαλων αρσενικών (10 αρσενικά) κατά τη διάρκεια της σύζευξης (current SC intensity), αλλά αυτή η ανταπόκριση των αρσενικών δεν παρατηρείται από τις αλληλεπιδράσεις των αρσενικών πριν την σύζευξη ή με την παρουσία χαμηλού αριθμού αντίπαλων αρσενικών κατά τη διάρκεια της σύζευξης (1 ή 2 αρσενικά) (Abraham et al., 2015).



Στην παρούσα εργασία, δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στη μέση ωοπαραγωγή και στο μέσο ποσοστό εκκόλαψης αυγών των θηλυκών που συζεύχθηκαν με τα αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων. Επιπλέον, ίδια συμπεράσματα προκύπτουν, όταν τα αρσενικά βρίσκονται υπό συνθήκες διατροφικής καταπόνησης (Παπαδογιώργου, 2017). Ωστόσο, ο Gage (1991) παρατήρησε μεγαλύτερη ποσότητα σπερματοζωαρίων στις σπερμοθήκες των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, όταν τα αρσενικά διατηρήθηκαν σε ζεύγη πριν την σύζευξη και η σύζευξη έγινε παρουσία του «αντίπαλου» αρσενικού, σε σχέση με τα αρσενικά που διατηρήθηκαν μεμονωμένα πριν και κατά τη διάρκεια της σύζευξης. Συνεπώς, οι αλληλεπιδράσεις των αρσενικών επηρεάζουν τη μέση ωοπαραγωγή των θηλυκών με την παρουσία «αντίπαλων» αρσενικών κατά τη διάρκεια της σύζευξης. Πιθανόν, αυτή η συμπεριφορά των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου να σχετίζεται με τις συγκεντρώσεις σε lek (συνάντηση πολλών αντιπάλων) για την εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος (Arita and Kaneshiro, 1989), όπως φαίνεται να συμβαίνει στο *A. fraterculus* (Abraham et al., 2015). Η επίδραση στην ωοπαραγωγή των θηλυκών, από τις αλληλεπιδράσεις των αρσενικών κατά τη διάρκεια της σύζευξης, δεν εξετάστηκαν στην παρούσα εργασία και χρειάζεται περαιτέρω έρευνα.

Τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου που παρέμειναν παρθένα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους είχαν σημαντικά μικρότερη μέση ωοπαραγωγή από τα συζευγμένα θηλυκά, υποδηλώνοντας ότι η σύζευξη ενεργοποιεί την ωοπαραγωγή στα θηλυκά που τρέφονται σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον (Papanastasiou et al., 2013), ανεξάρτητα από την διατροφική κατάσταση των αρσενικών (Παπαδογιώργου, 2017). Ωστόσο, τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που τράφηκαν σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον (ανεξάρτητα από τη μεταχείριση), ωοτόκησαν σημαντικά περισσότερα αυγά, από τα θηλυκά που συζεύχθηκαν με αρσενικά που τράφηκαν σε φτωχό διατροφικό περιβάλλον (Παπαδογιώργου, 2017). Τα αποτελέσματα μας, συμφωνούν με τα ευρήματα των Costa et al. (2012), που έδειξαν ότι τα αρσενικά που τρέφονται με τροφές με υψηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη παράγουν και μεταφέρουν περισσότερα σπερματοζωάρια κατά τη διάρκεια της σύζευξης σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονται με τροφές με χαμηλή περιεκτικότητα σε πρωτεΐνη.

## Διάρκεια ζωής των θηλυκών

Στην παρούσα εργασία η μέση διάρκεια ζωής των θηλυκών που συζεύχθηκαν με αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων, δεν διέφερε σημαντικά. Το αποτέλεσμα αυτό, οφείλεται στο γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκε σημαντική διαφορά στη μέση ωοπαραγωγή των θηλυκών που συζεύχθηκαν με τα αρσενικά των τριών μεταχειρίσεων, ώστε να επέλθει μείωση της επιβίωσης των θηλυκών λόγω αύξησης της κατανομής των ενεργειακών πόρων από την ωοπαραγωγή. Επιπλέον, ίδια συμπεράσματα προκύπτουν όταν τα αρσενικά βρίσκονται υπό συνθήκες διατροφικής καταπόνησης και τα θηλυκά τρέφονται σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον (Παπαδογιώργου, 2017). Συνεπώς ο συνωστισμός των αρσενικών πριν την σύζευξη (ομάδες των 2 ή 5 ατόμων), δεν επηρεάζει την διάρκεια ζωής των θηλυκών που τρέφονται σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον, ανεξάρτητα από τη διατροφή των αρσενικών.

Τα θηλυκά που δε συζεύχθηκαν έζησαν περισσότερο σε σχέση με αυτά που συζεύχθηκαν, χωρίς όμως να διαφέρουν σημαντικά. Αντίθετα, οι Papanastasiou et al. 2013, έδειξαν ότι η σύζευξη διεγείρει την ωοπαραγωγή και μειώνει την επιβίωση στα θηλυκά που τρέφονται σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον. Οι διαφορές στα αποτελέσματα μας, δείχνουν ότι τα συζευγμένα θηλυκά πιθανόν να επωφελοούνται από τα συνοδά εκκρίματα του σπέρματος των αρσενικών.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Abraham, S., Rull, J., Mendoza, M., Liendo, M.C., Devescovi, F., Roriz, A.K., Kovaleski, A., Segura, D.F., Vera, M.T. (2014). Differences in sperm storage and remating propensity between adult females of two morphotypes of the *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) cryptic species complex. *Bulletin of Entomological Research*, 104: 376-382.
- Abraham, S., Vera, M.T., Pérez-Staples, D. (2015). Current Sperm Competition Determines Sperm Allocation in a Tephritid Fruit Fly. *Ethology*, 121: 451–461.
- Aleman, A., Gonzales, A., Juan, A., Tur, C. (2008). Evaluation of a chemosterilization strategy against *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Mallorca island (Spain). *Journal of Applied Entomology* 132: 746 – 752.
- Ali, Y.A., Ahmad, M.A., Amar, A.J., Darwish, Y.R., Izzo, M.A., Al-Ahmad, A.S. (2016). Field parasitism levels of *Ceratitidis capitata* larvae (Diptera: Tephritidae) by *Aganaspis daci* on different host fruit species in the coastal region of Tartous, Syria, *Biocontrol Science and Technology*, 26: 1617-1625.
- Altafini, D.L., Redaelli, L.R., Jahnke, S.M. (2013). Superparasitism of *Ceratitidis capitata* and *Anastrepha fraterculus* (Diptera: Tephritidae) by *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae). *Florida Entomologist* 96:391-395.
- Arita, L. H. and Kaneshiro, K. Y. (1989) .Sexual selection and lek behavior in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Pacific Science*, Vol.43, pp.135 - 143.
- Bakri, A., Mehta, K., Lance, D.R. (2005). Sterilizing insects with ionizing radiation. In: *Sterile Insect Technique Principles and practice in area-wide integrated pest management* (ed. by Dyck, V.A. Hendrichs, J., and Robinson, A.S.), Springer, Netherlands, pp. 233-268.
- Baranowski, R., Glenn, H., Sivinski, J. (1993). Biological control of the Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 76: 245-251.

- Beris, E.I., Papachristos, D.P., Fytrou, A., Antonatos, S.A., Kontodimas, D.C. (2013). Pathogenicity of three entomopathogenic fungi on pupae and adults of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Pest Science*, 86: 275-284.
- Bertin, S., Scolari, F., Guglielmino, C.R., Bonizzoni, M., Bonomi, A., Marchini, D., Gomulski, L.M., Gasperi, G., Malacrida, A.R., Matessi, C. (2010). Sperm storage and use in polyandrous females of the globally invasive fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Journal of Insect Physiology*, 56: 1542-1551.
- Boller, E.F. (1985). *Rhagoletis cerasi* and *Ceratitis capitata*. In: Handbook of insect rearing. (ed. by Sing P, Moore RF, Elsevier) Amsterdam, The Netherlands, pp. 135–144.
- Boller, E.F. (1989). Cytoplasmic incompatibility. In: *Rhagoletis cerasi*, fruit flies, their biology, natural enemies and control. (Ed. by Robinson AS, Hooper G, Elsevier) Amsterdam, pp. 69–74.
- Bonizzoni, M., Gomulski, L.M., Mossinson, S., Guglielmino, C.R., Malacrida, A.R., Yuval, B., Gasperi G. (2006). Is polyandry a common event among wild populations of the pest *Ceratitis capitata*? *Journal of Economic Entomology* 99: 1420– 1429.
- Bonizzoni, M., Katsoyannos, B.I., Marguerie, R., Guglielmino, C.R., Gasperi, G., Malacrida A., Chapman T. (2002). Microsatellite analysis reveals remating by wild Mediterranean fruit fly females, *Ceratitis capitata*. *Molecular Ecology*, 11: 1915 – 1921.
- Bretman, A., Fricke, C., Hetherington, P., Stone, R., Chapman, T. (2010). Exposure to rivals and plastic responses to sperm competition in *Drosophila melanogaster*. *Behavioral Ecology*, 21: 317-321.
- Bretman, A., Westmancoat, J.D., Gage, M.J., Chapman, T. (2012). Individual plastic responses by males to rivals reveal mismatches between behaviour and fitness outcomes. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 279: 2868-2876.

- Bretman, A., Westmancoat, J.D., Chapman T. (2013). Male control of mating duration following exposure to rivals in fruitflies. *Journal of Insect Physiology*, 59: 824–827
- Briceño, R. D., Ramos, D., Eberhard, W. G. (1999). Aggressive behavior in medflies (*Ceratitidis capitata*) and its modification by mass rearing (Diptera: Tephritidae). *Journal of the Kansas Entomological Society*, 71: 17-27.
- Briceño, R.D. and Eberhard, W.G. (1998). Medfly courtship duration: a sexually selected reaction norm changed by crowding. *Ethology, Ecology and Evolution*, 10: 369–382
- Briceño, R.D., Ramos, D., Eberhard, W.G. (1996). Courtship behavior of male *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Captivity. *Florida Entomologist*, 79: 130 – 143
- Caceres, C. (2002). Mass rearing of temperature sensitive genetic sexing strains in the Mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*). *Genetica*, 116: 107-16.
- Carey, J.R. (1984). Host-specific demographic studies of the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata*. *Ecological Entomology*, 9: 261-270.
- Carey, J.R., Liedo, P., Vaupel, J.W. (1995). Mortality dynamics of density in the Mediterranean fruit fly. *Experimental gerontology*, 30: 605-629.
- Casana-Giner, V., Gandia-Balaguer, A., Mengod-Puerta, C., Primo-Millo, J., Primo-Yufer, E. (1999). Insect growth regulators as chemosterilants for *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Economic Entomology*, 92: 303-308.
- Castillo, M.A., Moya, P., Hernández, E., Primo-Yúfera, E. (2000). Susceptibility of *Ceratitidis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. *Biological control*, 19: 274-282.
- Chueca, P., Garcera, C., Urbaneja A., Molto, E. (2013) A new mechanised cultural practice to reduce *Ceratitidis capitata* Wied. populations in area-wide IPM. *Spanish Journal of Agricultural Research* 11: 1129-1136.

- Clausen, C.P., Clancy, D.W., Chock, Q.C. (1965). Biological control of the Oriental fruit fly (*Dacus dorsalis* Hendel) and other fruit flies in Hawaii. U. S. Dep. Agric. Tech. Bull. 1322: 1-102.
- Clutton-Brock, T. (2007). Sexual selection in males and females. *Science*, 318: 1882–1885 .
- Costa, A.M., Anjos- Duarte, C.S., Roriz, A.K.P., Dias, V.S., Joachim- Bravo, I.S. (2012). Male diet and age influence to inhibit female remating in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, 136: 456-463.
- De Meyer, M.D. (2000). Systematic revision of the subgenus *Ceratitis* MacLeay s.s (Diptera, Tephritidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 128(4): 439-467.
- De Pedro, L., Beitia, F., Ferrara, F., Asís, J.D., Sabater-Muñoz, B., Tormos, J. (2017). Effect of host density and location on the percentage parasitism, fertility and induced mortality of *Aganaspis daci* (Hymenoptera: Figitidae), a parasitoid of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Crop Protection*, 92: 160-167.
- Delrio, G. and Cocco, A. (2012). Tephritidae. Integrated Control of Citrus Pests in the Mediterranean Region (ed. by Vacante V. & Gerson U.), Bentham, Italy pp. 206-222
- Diamantidis, A.D., Papadopoulos, N.T., Nakas, C.T., Wu, S., Muller, H-G, Carey, J.R. (2009). Life history evolution in a globally invading tephritid: patterns of survival and reproduction in medflies from six world regions. *Biological Journal of the Linnean Society* 97(1): 106–117.
- Díaz-Fleischer, F., Papaj, D.R., Prokopy, R.J., Norrbom, A.L., Aluja, M. (2001). Evolution of Fruit Fly Oviposition Behavior. In: Aluja M, Norrbom AL, editors. *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. Boca Raton: CRC Press. pp. 811-841.
- Enkerlin, W. and Mumford, J. (1997). Economic Evaluation of Three Alternative Methods for Control of the Mediterranean Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) in

- Israel, Palestinian Territories, and Jorda. *Journal of Economic Entomology*, 90: 1066-1072.
- Epsky, N.D., Hendrichs, J., Katsoyannos, B.I., Vasquez, L.A., Ros, J.P., Zümreoglu, A., Pereira, R., Bakri, A., Seewooruthun, S.I., Heath, R.R. (1999). Field evaluation of female-targeted trapping systems for *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in seven countries. *Journal of Economic Entomology*, 92: 156-164.
- FAO/IAEA. (2007). Guideline for packing, shipping, holding and release of sterile flies in Area-wide fruit fly control programmes (ed. Enkerlin, W.R.). Rome, pp. 21-23, 58.
- Field, A. and Yuval, B. (1999). Nutritional status affects copula duration in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Insecta Tephritidae). *Ethology Ecology & Evolution*, 11(1): 61-70.
- Fisher, K. and Caceres, C. (2000). A filter rearing system for mass reared genetic sexing strains of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). In: Area-wide control of fruit flies and other insect pests. Joint proceedings of the international conference on area-wide control of insect pests, 28 May-2 June, 1998 and the Fifth International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, Penang, Malaysia, 1-5 June, 1998 (pp. 543-550). Penerbit Universiti Sains Malaysia.
- Fritz, A.H. (2009). Sperm storage is not subject to cephalic control in the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. *Journal of insect behavior*, 22: 412-422.
- Gabrieli, P., Scolari, F., Di Cosimo, A., Savini, G., Fumagalli, M., Gomulski, L.M., Malacrida, A.R., Gasperi, G. (2016). Sperm-less males modulate female behaviour in *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 79: 13-26.
- Gage, M.J. and Baker, R.R. (1991). Ejaculate size varies with socio- sexual situation in an insect. *Ecological Entomology*, 16: 331-337.
- Gage, M.J.G. (1991). Risk of sperm competition directly affects ejaculate size in the Mediterranean fruit fly. *Animal Behaviour*, 42: 1036-1037.

- Gaskin, T., Futerman, P., Chapman, T. (2002). Increased density and male–male interactions reduce male longevity in the medfly, *Ceratitis capitata*. *Animal Behaviour*, 63: 121–129.
- Gavriel, S., Jurkevitch, E., Gazit, Y., Yuval, B. (2010). Bacterially enriched diet improves sexual performance of sterile male Mediterranean fruit flies. *Journal of Applied Entomology*, 135: 564–573.
- Gazit, Y., Rossler, Y., Glazer, I. (2000). Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology*, 10: 157-164.
- Gong, P., Epton, M.J., Fu, G., Scaife, S., Hiscox, A., Condon, K.C., Condon, G.C., Morrison, N.I., Kelly, D.W., Dafa'alla, T., Coleman, P.G., Alphey, L. (2005) A dominant lethal genetic system for autocidal control of the Mediterranean fruit fly. *Natural Biotechnology*, 23:453-456.
- Groth, M. Z., Loeck, A. E., Nornberg, S. D., Bernardi, D., Nava, D. E. (2016). Biology of *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae) in Two Species of Fruit Flies. *Journal of Insect Science* 16: 96; 1–7.
- Hamden, H., Guerfali, M.M., Fadhil, S., Saidi, M., Chevri er, C. (2013). Fitness improvement of mass-reared sterile males of *Ceratitis capitata* (Vienna 8 strain) (Diptera: Tephritidae) after gut enrichment with probiotics. *Journal of Economic Entomology* 106: 641-647.
- Hunt, M.K., Nicholls, C.J., Wood, R.J., Rendon, A.P., Gilburn, A.S. (2004) Sexual selection for symmetrical male medflies (Diptera: Tephritidae) confirmed in the field. *Biological Journal of the Linnean Society*, 81: 347–355.
- Jang, E.B. (1995). Effects of mating and accessory gland injections on olfactory-mediated behavior in the female Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Journal of Insect Physiology*, 41: 705-710.
- Jang, E.B. (2002). Physiology of mating behavior in Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): Chemoreception and male accessory gland fluids in female post-mating behavior. *Florida Entomologist*, 85: 89–93.



- Joachim-Bravo, I.S., Anjos, C.S., Costa, A.M. (2009). The role of protein in the sexual behaviour of males of *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae): mating success, copula duration and number of copulations. *Zoologia (Curitiba)*, 26: 407-412.
- Karagoz, M., Gulcu, B., Hazir, C., Kaya, H.K., Hazir, S. (2009). Biological control potential of Turkish entomopathogenic nematodes against the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata*. *Phytoparasitica*, 37: 153–159.
- Kaspi, R. and Yuval, B. (1999). Mediterranean fruit fly leks: factors affecting male location. *Functional Ecology*, 13: 539–545
- Katsoyannos, B. I. and Papadopoulos, N. T. (2004). Evaluation of synthetic female attractants against *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in sticky coated spheres and McPhail type traps. *Journal of Economic Entomology*, 97: 21-26.
- Kelly, C.D. and Jennions, M.D. (2011). Sexual selection and sperm quantity: meta-analysis of strategic ejaculation. *Biological Reviews*, 86: 863-884.
- Khlaywi, S.A., Khudhair, M.W., Alrubeai, H.F., Shbar, A.K., Hadi, S.A. (2014). Efficacy of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to control Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *International Journal of Entomological Research*, 2(3): 169-173.
- Kodric – Brown, A. and Brown, J.H. (1987). Anisogamy, sexual selection and the evolution and maintenance of sex. *Evolutionary Ecology*, 1: 95-105.
- Kourti, A., Loukas, M., Sourdis, J. (1992). Dispersion pattern of the medfly from its geographic centre of origin and genetic relationships of the medfly with two close relatives. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 63: 63-69.
- Krainacker, D.A., Carey, J.R., Vargas, R.I. (1987). Effect of larval host on life history traits of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *Oecologia*, 73: 583-590.
- Laven, H. (1967). Eradication of *Culex pipiens fatigans* through cytoplasmic incompatibility. *Nature*, 216: 383-384.

- Liquido, N.J., Shinoda, L.A., Cunningham, R.T. (1991). Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera, Tephritidae) an annotated world review. *Miscellaneous Publications. Entomological Society of America*, 77: 1-52.
- Lize, A., Doff, R.J., Smaller, E.A., Lewis, Z., Hurst, G.D. (2012a). Perception of male–male competition influences *Drosophila* copulation behaviour even in species where females rarely remate. *Biology letters*, 8: 35-38.
- Lize, A., Price, T.A., Marcello, M., Smaller, E.A., Lewis, Z., Hurst, G.D. (2012b). Males do not prolong copulation in response to competitor males in the polyandrous fly *Drosophila bifasciata*. *Physiological entomology*, 37: 227-232
- Malacrida, A.R., Guglielmino, C.R., Gasperi, G., Baruffi, L., Milani, R. (1992). Spatial and temporal differentiation in colonizing populations of *Ceratitis capitata*. *Heredity*, 69: 101-111.
- Marchini, D. and Del Bene, G. (2006) Comparative fine structural analysis of the male reproductive accessory glands in *Bactrocera oleae* and *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae), *Italian Journal of Zoology*, 73(1): 15-25.
- Marchini, D., Del Bene, G., Cappelli, L., Dallai, R. (2003). Ultrastructure of the male reproductive accessory glands in the medfly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) and preliminary characterization of their secretions. *Arthropod Structure & Development*, 31: 313–327.
- Marchini, D., Del Bene, G., Falso, L.F., Dallai, R. (2001). Structural organization of the copulation site in the medfly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) and observations on sperm transfer and storage. *Arthropod Structure & Development*, 30: 39-54.
- Mason, J.S., Rostant, W.G., Chapman, T. (2016). Resource limitation and responses to rivals in males of the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Journal of evolutionary biology*, 29: 2010-2021.
- McDonald, P.T. (1987). Intragroup stimulation of pheromone release by male Mediterranean fruit flies. *Annals of the Entomological Society of America*, 80: 17–20.

- Miller, C.W. (2013). Sexual selection: male-male competition. The Princeton guide to evolution, pp. 641-646.
- Møller, A.P. and Pomiankowski, A. (1993). Fluctuating asymmetry and sexual selection. *Genetica*, 89: 267-269.
- Navarro-Llopis, V., Alfaro, F., Dominguez, J., Sanchis, J., Primo, J. (2008) Evaluation of traps and lures for mass trapping of Mediterranean fruit fly in citrus groves. *Journal of Economic Entomology*, 101: 126-131.
- Nishida, R., Shelly, T.E., Whittier, T.S., Kaneshiro, K.Y. (2000). A-copaene, a potential rendezvous cue for the mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*? *Journal of Chemical Ecology*, 26: 87-100.
- Oliveira, C.M., Auad, A.M., Mendes, S.M., Frizzas, M.R. (2013). Economic impact of exotic insect pests in Brazilian agriculture. *Journal of Applied Entomology*, 137: 1–15.
- Papachristos, D.P., Papadopoulos, N.T. Nanos, G.D. (2008). Survival and development of immature stages of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in citrus fruit. *Journal of Economic Entomology*, 101: 866–872
- Papadopoulos, N.T. (2004). Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Wiedemann), (Diptera: Tephritidae). In: *Encyclopedia of Entomology* (ed. by Capinera, L. J.), Springer, Netherlands pp. 2319-2321.
- Papadopoulos, N.T. and Katsoyannos, B.I. (2003). Field parasitism of *Ceratitidis capitata* larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. *Biocontrol*, 48: 191–195.
- Papadopoulos, N.T., Carey, J.R., Liedo, P., Müller, H.G., Sentürk, D. (2009). Virgin females compete for mates in the male lekking species *Ceratitidis capitata*. *Physiological Entomology*, 34: 238–245.
- Papadopoulos, N.T., Katsoyannos, B.I., Kouloussis, N.A., Carey, J.R., Muller, H.G., Zhang, Y. (2004). High sexual signalling rates of young individuals predict extended life span in male Mediterranean fruit flies. *Oecologia*, 138: 127–134.
- Papadopoulos, N.T., Katsoyannos, B.I., Kouloussis, N.A., Economopoulos, A.P., Carrey, J.R. (1998). Effect of adult age, food, and time of day on sexual

- calling incidence of wild and mass-reared *Ceratitis capitata* males. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 89: 175–182.
- Papadopoulos, N.T., Liedo, P., Muller, H.G., Wang, J.L., Molleman, F., Carey, J.R. (2010). Cost of reproduction in male medflies: The primacy of sexual courting in extreme longevity reduction. *Journal of Insect Physiology*, 56: 283-287.
- Papadopoulos, N.T., Papachristos, D.P., and Ioannou, C.S. (2015). Citrus fruits and the Mediterranean fruit fly. *Acta Horticulturae* 1065, pp. 1009-1018.
- Papanastasiou, S.A., Diamantidis, A.D., Nakas, C.T., Carey, J.R., Papadopoulos, N.T. (2011). Dual reproductive cost of aging in male medflies: dramatic decrease in mating competitiveness and gradual reduction in mating performance. *Journal of Insect Physiology*, 57: 1368-1374.
- Papanastasiou, S.A., Nakas, C.T., Carey, J.R., Papadopoulos, N.T. (2013). Condition-Dependent Effects of Mating on Longevity and Fecundity of Female Medflies: The Interplay between Nutrition and Age of Mating. *PLOS ONE*, 8: e70181.
- Parker, G.A. (1970). Sperm competition and its evolutionary consequences in insects. *Biological Reviews*, 45: 525-567.
- Parker, G.A., Ball, M.A., Stockley, P., Gage, M.J.G. (1997). Sperm competition games: a prospective analysis of risk assessment. *Proceedings: Biological Sciences*, 264: 1793-1802.
- Prokopy, R.J. and Hendrichs, J. (1979). Mating behavior of *Ceratitis capitata* on a field-caged host tree. *Annals of Entomological Society of America*, 72: 642–648.
- Prokopy, R.J., Ziegler, J.R., Wong, T.T.Y. (1978). Deterrence of repeated oviposition by fruit-marking pheromone in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Chemical Ecology*, 4: 55-63.
- Qazzaz, F.O., Al-Masri, M.I., Barakat, R.M. (2015). Effectiveness of *Beauveria bassiana* Native Isolates in the Biological Control of the Mediterranean Fruit Fly (*Ceratitis capitata*). *Advances in Entomology*, 3: 44-55.

- Rami Reddy, P.V. and Rashmi, M.A. (2016). Sterile Insect Technique (SIT) as a component of area-wide integrated management of fruit flies: Status and scope. *Pest Management in Horticultural Ecosystems*, 22: 1-11.
- Rendon, P., Sivinski, J., Holler, T., Bloem, K., Lopez, M., Martinez, A., Aluja, M. (2006). The effects of sterile males and two braconid parasitoids, *Fopius arisanus* (Sonan) and *Diachasmimorpha krausii* (Fullaway) (Hymenoptera), on caged populations of Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera: Tephritidae) at various sites in Guatemala. *Biological Control*, 36: 224-231.
- Rodriguero, M.S., Vilardi, J.C., Vera, M.T., Cayol, J.P., Rial, E., (2002). Morphometric traits and sexual selection in medfly (Diptera: Tephritidae) under field cage conditions. *Florida Entomologist*, 85: 143-149.
- Roriz, A.K.P. and Joachim-Bravo, I.S. (2013). The relevance of age and nutritional status on the mating competitiveness of medfly males (Diptera: Tephritidae). *Zoologia*, 30: 506-512.
- Rousse, P. and Quilici, S. (2009). Recent advances in biological control of fruit fly pests. *Current Trends in Fruit Fly Control on Perennial Crops and Research Prospects*. Transworld Research Network, Trivandrum, India.
- Sarakatsanou, A., Diamantidis, A.D., Papanastasiou, S.A., Bourtzis, K., Papadopoulos, N.T. (2011). Effects of Wolbachia on fitness of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology*, 135: 554-563.
- Scolari, F., Yuval, B., Gomulski, L. M., Schetelig, M. F., Gabrieli, P., Bassetti, F., Wimmer, E.A., Malacrita A. R., Gasperi, G. (2014). Polyandry in the medfly- shifts in paternity mediated by sperm stratification and mixing. *BMC Genetics*, 15: S10.
- Shelly, T.E. (2000). Male signalling and lek attractiveness in the Mediterranean fruit fly. *Animal Behaviour*, 60: 245–251.

- Shelly, T.E. and Kennelly, S. (2002). Influence of male diet on male mating success and longevity and female remating in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Florida Entomologist*, 85: 572–579.
- Shelly, T.E. and McInnis, D.O. (2003). Influence of adult diet on the mating success and survival of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) from two mass-rearing strains on field-caged host trees. *Florida Entomologist*, 86: 340-344.
- Shelly, T.E., McInnis, D.O., Rendon, P. (2005). The sterile insect technique and the Mediterranean fruit fly: Assessing the utility of aromatherapy in large field enclosures. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 116: 199–208.
- Shelly, T.E., Cowan, A.N., Edu, J., Pahio, E., (2008). Mating success of male Mediterranean fruit flies following exposure to two sources of a-copaene, manuka oil and mango. *Florida Entomologist*, 91: 9-15.
- Shelly, T.E., Edu, J., Pahio, E. (2011). Female medflies mate selectively with young males but gain no apparent fitness benefits. *Journal of Insect Behavior*, 24: 55–66.
- Szyniszewska, A.M., Tatem, A.J. (2014). Global Assessment of Seasonal Potential Distribution of Mediterranean Fruit Fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *PLOS ONE*, 9: e111582.
- Taylor, P.W., Kaspi, R.O.Y., Yuval, B.O.A.Z. (2000). Copula duration and sperm storage in Mediterranean fruit flies from a wild population. *Physiological Entomology*, 25: 94-99.
- Taylor, P.W. and Yuval, B. (1999). Postcopulatory sexual selection in Mediterranean fruit flies: advantages for large and protein-fed males. *Animal Behaviour*, 58: 247-254.
- Twig, E. and Yuval, B. (2005). Function of multiple sperm storage organs in female Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*, Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Physiology*, 51: 67-74.

- Uziel, A., Levy, K., Yuval, B. (2003). Infection of *Ceratitis capitata* by two species of the *Entomophthora muscae* species complex (Zygomycetes: Entomophthorales) in the field. *Phytoparasitica*, 31: 204-206.
- Vargas, R. I., Miller, N. W., Prokopy, R. J. (2002). Attraction and feeding responses of Mediterranean fruit fly and a natural enemy to protein baits laced with two novel toxins, phloxin B and Spinosad. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 102: 273–282.
- Vargas, R.I., Ramadan, M., Hussain, T., Mochizuki, N., Bautista, R.C., Stark, J.D. (2002). Comparative demography of six fruit fly (Diptera: Tephritidae) parasitoids (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, 25: 30-40.
- Vargas, R.I., Walsh, W.A., Kanehisa, D., Stark, J.D., Nishida, T. (2000). Comparative demography of three Hawaiian fruit flies (Diptera: Tephritidae) at alternating temperatures. *Annals of the Entomological Society of America*, 93: 75-81.
- Virgilio M, White I, De Meyer M (2014) A set of multi-entry identification keys to African frugivorous flies (Diptera, Tephritidae). *ZooKeys*, 428: 97–108.
- Wedell, N., Gage, M.J.G., Parker, G.A. (2002). Sperm competition, male prudence and sperm limited females. *Trends in Ecology and Evolution*, 17: 313–320.
- Weld, L.H. (1951). A New Species of *Trybliographa* (Hymenoptera: Cynipidae). *Proceedings, Hawaiian Entomological Society*, 14: 331-332.
- Wharton, R.A., Gilstrap, F.E., Rhodei, R.H., Fischel, M.M., Hart, W.G. (1981). Hymenopterus egg-pupal and larval-pupal parasitoids of *Ceratitis capitata* and *Anastrepha spp.* (Diptera: Tephritidae) in Costa Rica. *Entomophaga*, 26: 285-290.
- White, I.M. and Elson-Harris, M.M. (1992). *Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics*. CAB International, U.K.
- Whittier, T.S., Nam F.Y., Shelly, T.E., Kaneshiro, K.Y. (1994). Male courtship success and female discrimination in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior*, 7: 159-170.

- Whittier, T.S., Nam, F.Y., Shelly, T.E., Kaneshiro, K.Y. (1994). Male courtship success and female discrimination in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior*, 7: 159-170.
- Wigby, S., Sirot, L.K., Linklater, J.R., Buehner, N., Calboli, F.C.F., Bretman, A., Wolfner, M.F., Chapman, T. (2009). *Drosophila melanogaster* males modify seminal fluid protein transfer in response to social cues and artificial selection on accessory gland size. *Current Biology*, 19: 751–757.
- Yuval, B., Ben-Ami, E., Ben-Yosef, M., Jurkevitch, E. (2010). The Mediterranean fruit fly and its bacteria – potential for improving sterile insect technique operations. *Journal of Applied Entomology*, 137: 39-42.
- Zabalou, S., Riegler, M., Theodorakopoulou, M., Stauffer, C., Savakis, C., Bourtzis, K., (2004). *Wolbachia*-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. *National Academy of Sciences of the USA*, 101: 15042– 15045.
- Zabalou, S., Apostolaki, A., Livadaras, I., Franz, G., Robinson, A.S., Savakis, C., Bourtzis, K. (2009). Incompatible insect technique: incompatible males from a *Ceratitis capitata* genetic sexing strain. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 132: 232–240
- Zur, T., Nemny-Lave, E., Papadopoulos, N.T., Nestel, D. (2009). Social interactions regulate resource utilization in a Tephritid fruit fly. *Journal of Insect Physiology*, 55: 890–897.
- Κατσόγιαννος, Β.Ι. και Παπαδόπουλος Ν.Θ. (1997). Αξιολόγηση ορισμένων τύπων παγίδων και τριών ελκυστικών ουσιών για τη μύγα της Μεσογείου *Ceratitis capitata*. Περίλ. Ανακ. 7<sup>ο</sup> Πανελ. Εντομολ. Συν., Καβάλα.
- Παπαδογιώργου Γ. (2017). Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ αρσενικών σε φτωχό διατροφικό περιβάλλον, επηρεάζουν την επιλογή σύζευξης και την αρμοστικότητα των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου (*Ceratitis capitata*). Μεταπτυχιακή διατριβή, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.



Τζανακάκης, Μ.Ε., Κατσόγιαννος, Β.Ι. (2003). Έντομα καρποφόρων δέντρων και αμπέλου. Εκδόσεις Αγροτύπος, Αθήνα.