



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
Σχολή Γεωπονικών Επιστημών
Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού
Περιβάλλοντος

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
Αειφόρος Αγροτική Παραγωγή και Διαχείριση Περιβάλλοντος

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ & ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ ΕΙΔΙΚΕΥΣΗΣ

«Επίδραση αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών και των συστατικών τους σε βιολογικές παραμέτρους της μύγας της Μεσογείου»

Παπαδάκη Σταματούλα

Γεωπόνος

Βόλος, 2019

«Επίδραση αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών και των συστατικών τους σε βιολογικές παραμέτρους της μύγας της Μεσογείου»

Παπαδάκη Σταματούλα

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Επιβλέπων: Δρ. Παπαδόπουλος Νικόλαος (Καθηγητής Εφαρμοσμένης Εντομολογίας στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας)

Μέλος: Δρ. Αθανασίου Χρήστος (Καθηγητής Εντομολογίας στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας)

Μέλος: Δρ. Παπαχρήστος Δημήτριος (Γεωπόνος, Εντομολόγος, Ερευνητής Β' στο Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο)

Copyright © Παπαδάκη Σταματούλα, 2019.

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- Ευχαριστίες

Το πειραματικό μέρος της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής, έλαβε μέρος στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, κατά το έτος 2014. Στο κείμενο που ακολουθεί, αρχικά εξετάζεται η πιθανή τοξικότητα της ακετόνης, που χρησιμοποιήθηκε ως μάρτυρας και διαλύτης, σε ενήλικα θηλυκά άτομα της μύγας της Μεσογείου. Επίσης έγινε προσδιορισμός της τοξικότητας των αιθέριων ελαίων τριών εσπεριδοειδών (πορτοκαλιού, λεμονιού, περγαμόντου) καθώς επίσης και η επίδραση που έχουν τα αιθέρια έλαια των συγκεκριμένων εσπεριδοειδών σε βιολογικές παραμέτρους ενήλικων θηλυκών ατόμων της μύγας της Μεσογείου. Συγκεκριμένα, εξετάστηκε η επίδραση που έχουν στην επιβίωση αλλά και στην ωοπαραγωγή τους. Τέλος, μελετήθηκε η επίδραση που έχουν υποθανατηφόρες δόσεις αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε άγριους πληθυσμούς της μύγας της Μεσογείου. Το πρώτο κεφάλαιο συμπεριλαμβάνει γενικές πληροφορίες για τη μύγα της Μεσογείου και πληροφορίες για τις επιδράσεις (τοξικές και μη) που έχουν τα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών στη μύγα της Μεσογείου. Το δεύτερο κεφάλαιο αφορά στα Υλικά και τις Μεθόδους που χρησιμοποιήθηκαν και ακολουθήθηκαν. Τα δύο τελευταία κεφάλαια συμπεριλαμβάνουν την παρουσίαση των αποτελεσμάτων και τη σχετική συζήτηση και συμπεράσματα που προέκυψαν από την αξιολόγηση των αποτελεσμάτων.

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά τον επιβλέποντα καθηγητή μου, κύριο Νικόλαο Παπαδόπουλο, Καθηγητή Εφαρμοσμένης Εντομολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για την εμπιστοσύνη που μου έδειξε για την ανάθεση του θέματος και την πολύτιμη καθοδήγησή του καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας αλλά και της συγγραφής της παρούσας διατριβής, καθώς επίσης και για την υπομονή του. Επιπλέον, θα ήθελα να ευχαριστήσω τον Καθηγητή κύριο Χρήστο Αθανασίου και τον Δρα Δημήτριο Παπαχρήστο για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή. Επίσης, ευχαριστώ θερμά την Δρα Στέλλα Παπαναστασίου για την καθοδήγηση και τη βοήθειά της σε όλα τα επιμέρους στάδια της εργασίας, από το πειραματικό σκέλος μέχρι τη

συγγραφή και τις διορθώσεις. Τέλος, ευχαριστώ τον κύριο Κώστα Ζάρπα για τη βοήθειά του για το τελικό αποτέλεσμα του κειμένου.

Περίληψη

Η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους εχθρούς για την παγκόσμια παραγωγή φρούτων. Τα εσπεριδοειδή συμπεριλαμβάνονται ανάμεσα στους σημαντικότερους ξενιστές του εντόμου με την προτίμηση που εκδηλώνει η μύγα της Μεσογείου σε αυτά τα οφείλεται τόσο σε μορφολογικά χαρακτηριστικά (σχήμα, μέγεθος, χρώμα) όσο και σε χημικές ουσίες που εκλύονται από το φλοιό τους. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών προσελκύουν τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου και αποτρέπουν την ωτοκία των θηλυκών. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η διερεύνηση της τοξικότητας των αιθέριων ελαίων των εσπεριδοειδών (πορτοκαλιού, λεμονιού, περγαμόντου) σε ενήλικα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου καθώς επίσης και των επιδράσεων των υποθανατηφόρων δόσεων των παραπάνω αιθέριων ελαίων στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των θηλυκών. Τέλος, διερευνήθηκε η επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε θηλυκά που εκτράφηκαν για μια γενεά σε τρεις διαφορετικούς καρπούς ξενιστών.

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, όπου επικρατούσαν σταθερές συνθήκες (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτοπερίοδος). Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή των πειραμάτων προήλθαν από την εργαστηριακή φυλή «Μπενάκειο» που εκτρέφεται σε συνθήκες εργαστηρίου για περισσότερο από 30 χρόνια.

Πιο αναλυτικά, στην πρώτη ενότητα μελετήθηκε η πιθανή τοξικότητα της ακετόνης στα ενήλικα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου. Αφότου αποδείχθηκε πως η ακετόνη δεν είχε καμία τοξική επίδραση στον υπό εξέταση πληθυσμό, χρησιμοποιήθηκε ως διαλύτης των αιθερίων ελαίων και στα επόμενα πειράματα.

Στη δεύτερη ενότητα διερευνήθηκε η τοξικότητα των αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου στα ενήλικα θηλυκά του *C. capitata*, ώστε να προσδιοριστεί το LD₅₀ για το κάθε αιθέριο έλαιο. Με διαδοχικές αραιώσεις των αιθέριων ελαίων με ακετόνη, έγινε ο υπολογισμός της ποσότητας των αιθέριων ελαίων που ήταν ικανές να σκοτώσουν το 50% του υπό εξέταση πληθυσμού. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως το αιθέριο έλαιο

πορτοκαλιού ήταν το πιο τοξικό από τα τρία αιθέρια έλαια, ακολουθούσε το αιθέριο έλαιο περγαμόντου και το αιθέριο έλαιο λεμονιού ήταν το λιγότερο τοξικό απ' όλα.

Στην τρίτη ενότητα μελετήθηκε η επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων (LD_{20}) αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου. Συγκεκριμένα, διερευνήθηκε η επίδραση που έχουν τα αιθέρια έλαια του πορτοκαλιού, του λεμονιού και του περγαμόντου στην ωοπαραγωγή και τη θνησιμότητα ενήλικων θηλυκών. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα θηλυκά στα οποία εφαρμόστηκε υποθανατηφόρος δόση αιθέριου ελαίου λεμονιού ήταν τα μακροβιότερα, ακολουθούσαν τα θηλυκά στα οποία εφαρμόστηκε αιθέριο έλαιο περγαμόντου και πορτοκαλιού χωρίς να εμφανίζουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους στη διάρκεια ζωής τους. Τα θηλυκά στα οποία εφαρμόστηκε ακετόνη (μάρτυρες) έζησαν στατιστικώς σημαντικά λιγότερο σε σχέση με τα θηλυκά στα οποία εφαρμόστηκε υποθανατηφόρος δόση αιθέριου ελαίου εσπεριδοειδούς. Η εφαρμογή υποθανατηφόρου δόσης (LD_{20}) αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών αύξησε σημαντικά την ωοπαραγωγή των θηλυκών σε σχέση με αυτή των θηλυκών που αποτελούσαν το μάρτυρα ανεξάρτητα από το είδος του αιθέριου ελαίου. Επιπλέον, η υποθανατηφόρος δόση (LD_{20}) αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών αύξησε σημαντικά την περίοδο ωοτοκίας των θηλυκών, χωρίς όμως στατιστικώς σημαντική επίδραση στην περίοδο μετά των ωοτοκία.

Στην τέταρτη και τελευταία ενότητα μελετήθηκαν οι πιθανές επιδράσεις που μπορεί να έχουν οι υποθανατηφόρες δόσεις LD_{50} αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε θηλυκά της εργαστηριακής φυλής «Μπενάκειο» που εκτράφηκαν για μια γενεά σε καρπούς (νεράντζι, μήλο και ροδάκινο). Τα αποτελέσματα έδειξαν πως τα ποσοστά των νεκρών θηλυκών δε διέφεραν σημαντικά μεταξύ αυτών που προήλθαν από εκτροφή σε νεράντζια και από άλλους ξενιστές που δεν ήταν εσπεριδοειδή (μήλα, ροδάκινα) σε κανένα από τα χρονικά διαστήματα μετά την εφαρμογή. Τα αποτελέσματα ήταν παραπλήσια όταν τα ροδάκινα και τα μήλα αντιμετωπίστηκαν ως ξεχωριστοί ξενιστές στη στατιστική ανάλυση. Ωστόσο, τα θηλυκά που προήλθαν από εκτροφή σε νεράντζια ήταν ελαφρώς περισσότερο ανθεκτικά στην τοξικότητα του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε σύγκριση με τα θηλυκά που εκτράφηκαν σε άλλους ξενιστές. Τέλος, όταν οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε θηλυκά

τριών μεταχειρίσεων (εκτροφή σε νεράντζια, μήλα και ροδάκινα) αυτά που εκτράφηκαν σε μήλα έδειξαν τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στην τοξικότητα αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού ενώ τα θηλυκά που προήλθαν από ροδάκινα ήταν τα πιο ευαίσθητα.

Με βάση τα παραπάνω αποτελέσματα προκύπτει ότι τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών (ειδικά του πορτοκαλιού) θα μπορούσαν μελλοντικά να χρησιμοποιηθούν στην βιολογική καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου, λόγω της τοξικής τους επίδρασης κατά των ενηλίκων θηλυκών. Επίσης, τα αποτελέσματα θα μπορούσαν να φανούν χρήσιμα και να αξιοποιηθούν και στον τομέα της παραγωγής και εξαπόλυσης στείρων εντόμων για τη μείωση τοπικών πληθυσμών του εντόμου.

Λέξεις κλειδιά: πορτοκάλι, λεμόνι, περγαμόντο, τοξικότητα, υποθανατηφόρες δόσεις, θνησιμότητα, ωοπαραγωγή, ξενιστές.

Summary

The Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) (medfly), is considered as one of the most important pests for the world fruit production. Citrus fruits are among the most preferable hosts for medfly. The preference that medfly exhibits towards them has been attributed to both morphological characteristics (shape, size, colour) as well as to the chemical substances released from citrus peel. Previous studies have shown that citrus essential oils attract male medflies and deter female oviposition. The aim of the present dissertation was to investigate the toxicity effects of citrus essential oils (orange, lemon, bergamot) on adult female medflies as well as the effect of sub lethal doses on female demographic characteristics. Finally, we studied the effect of sub lethal dose of sweet orange essential oil on females that had been reared for one generation in three different fruit hosts.

The experiments were conducted at the Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology of the University of Thessaly in constant laboratory conditions (temperature, relative humidity, photoperiod). Insects used in the experiments originated from a laboratory adapted medfly strain “Benakeio” that has been reared in laboratory conditions for over 30 years.

Specifically, in the first section the possible toxicity of acetone on adult female medflies, was studied. After proving that acetone has no toxic effect on the studied population, it was used as a solvent of citrus essential oils during the following experiments.

In the second section, the toxicity that orange, lemon and bergamot essential oils have on adult female *C. capitata* was explored, in order to identify the LD₅₀ for each essential oil. The amount of citrus essential oils capable of killing 50% of the studied population was calculated through successive dilutions of the essential oils with acetone. The results indicated that the orange essential oil was the most toxic of all three used in the experiment, followed by the bergamot essential oil and the lemon essential oil which was the least toxic.

In the third section, we studied the effect that sublethal doses (LD₂₀) of citrus essential oils have on the demographic characteristics of adult female medflies. In detail, the effect orange, lemon and bergamot essential oils on egg production and mortality of female medflies, was investigate. The results showed that females subjected to the sub lethal dose of lemon essential oil

lived longer, followed by the bergamot essential oil and orange essential oil. No significant differences were observed in the lifespan of females subjected to the three citrus essential oils. Females subjected to acetone alone (control) lived significantly less than their counterparts subjected to sublethal doses of citrus essential oils. Application of the sublethal dose (LD₂₀) of citrus essential oils, increased significantly the egg production in relation to control group of females, regardless of the type of essential oil. Moreover, the sublethal dose (LD₂₀) of citrus essential oils significantly extended the period of egg production, however without any statistical significance on the post egg-laying period.

In the fourth and final section, we studied the possible effects of sublethal doses of the orange essential oil (LD₅₀) on females of the laboratory strain “Benakeio” that have been reared for one generation in host fruit (bitter orange, apple and peach). The results showed that there was no statistically significant difference in the percentage of dead females which were bred in bitter oranges versus in other non-citrus hosts (apples, peaches), during any of the time periods following the application. Results were similar when the peaches and apples were considered as autonomous hosts in the statistical analysis. However, females bred on bitter oranges were slightly more resistant to the toxicity of the orange essential oil in comparison to the females bred in other hosts. Finally, the analyses conducted on females bred on bitter oranges, apples and peaches showed that the samples bred in apples had the highest resistance to the orange essential oil toxicity, while females bred in peaches were more susceptible and sensitive.

According to the findings of the present research it can be deduced that citrus essential oils (especially from oranges) could potentially be used for the biological control of medfly in the future, due to their toxic effect on adult females. Additionally, the results could be useful and utilized in Sterile Insect Technique for the reduction of local insect populations.

Keywords: orange, lemon, bergamot, toxicity, sublethal doses, mortality, egg-production, hosts.

Εγώ, η Παπαδάκη Σταματούλα, είμαι η 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 Μ.Δ.Ε. ή ως μέρος Διδακτορικής Διατριβής σε αυτό ή άλλο 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 την κα Παπαδάκη Σταματούλα.

Περιεχόμενα

1. Εισαγωγή.....	2
Περιγραφή του εντόμου.....	3
Προέλευση και Γεωγραφική κατανομή.....	7
Οικονομική σημασία και ξενιστές.....	10
Βιολογία και συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου.....	13
Αντιμετώπιση.....	20
Επίδραση αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών στη μύγα της Μεσογείου..	23
Τοξικές επιδράσεις αιθέριων ελαίων.....	24
Σκοπός της παρούσας διατριβής.....	26
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	28
Συνθήκες εργαστηρίου.....	28
Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν.....	28
Εκτροφή των εντόμων.....	29
Αιθέρια έλαια.....	31
Πειραματική διαδικασία.....	31
<u>Πείραμα 1</u> : Πιθανή τοξικότητα διαλύτη-ακετόνης.....	31
<u>Πείραμα 2</u> : Προσδιορισμός τοξικότητας αιθέριων ελαίων σε ενήλικα θηλυκά	33
<u>Πείραμα 3</u> : Επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου.....	36
<u>Πείραμα 4</u> : Επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε θηλυκά της φυλής Μπενάκειο που εκτράφηκαν για μια γενεά σε καρπούς ξενιστών	38
Στατιστική επεξεργασία.....	40
3. Αποτελέσματα.....	42
Πιθανή τοξικότητα διαλύτη-ακετόνης.....	42
Προσδιορισμός τοξικότητας αιθέριων ελαίων σε ενήλικα θηλυκά.....	42
Επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου.....	44
Επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε θηλυκά της φυλής Μπενάκειο που εκτράφηκαν για μια γενεά σε καρπούς ξενιστών	49
4. Συζήτηση- Συμπεράσματα.....	51
Βιβλιογραφία.....	53

1. Εισαγωγή

Η Μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata*, είναι ένα ολομετάβολο έντομο που ανήκει στην τάξη των Διπτέρων (Diptera) και είναι μέλος της οικογένειας Tephritidae. Το γένος *Ceratitis* περιλαμβάνει πάνω από 90 είδη, τα οποία κατάγονται από τροπικές περιοχές της Αφρικής και συγκεκριμένα από τις υποτροπικές περιοχές νοτιοανατολικά της ερήμου της Σαχάρα (De Meyer, 2000). Η συστηματική κατάταξη του εντόμου είναι η ακόλουθη:

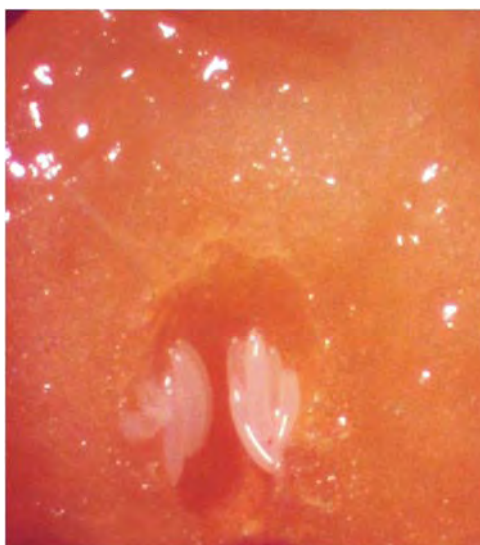
Φύλο	Αρθρόποδα
Κλάση	Έντομα
Υπόκλαση	Γναθωτά- Κεραιωτά
Διαίρεση	Πτερυγωτά
Υποδιαίρεση	Ενδοπτερυγωτά
Τάξη	Δίπτερα
Υπόταξη	Βραχύκερα
Οικογένεια	Tephritidae
Γένος	<i>Ceratitis</i>
Είδος	<i>capitata</i>

Λόγω της ευρείας εξάπλωσής της, της ικανότητας επιβίωσης σε ψυχρά κλίματα σε σχέση με άλλα είδη μυγών των φρούτων και του μεγάλου εύρους ξενιστών κατατάσσεται ανάμεσα στους, από οικονομικής απόψεως, σημαντικότερους εχθρούς των καρποφόρων δέντρων παγκοσμίως. Η μύγα της Μεσογείου προσβάλλει πάνω από 350 είδη φρούτων (Paradopoulos et al., 2002). Στην Ελλάδα η εξάπλωσή της φτάνει από την Κρήτη μέχρι την Βόρεια Ελλάδα και οι ζημιές που προκαλεί, εκτός από τα εσπεριδοειδή, αφορούν στα

μηλοειδή, τα πυρηνόκαρπα, τα σύκα, καθώς και άλλα φρούτα (Διαμαντίδης, 2009).

Περιγραφή του εντόμου

Τα ωά (Εικόνα 1.1) είναι μικρά, στενόμακρα, ελλειπτικού σχήματος, λεία με γυαλιστερό λευκό χρώμα και αφή ζελατινώδη. Έχουν μήκος 0,9 - 1,1 mm και διάμετρο 0,2 - 0,3 mm και εισάγονται μέσα στους ιστούς του ξενιστή μέσω του ωοθέτη των θηλυκών ατόμων (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003).



Εικόνα 1.1. Ωά μύγας Μεσογείου μέσα σε καρπό νεραντζιού
(φωτ. Σ. Παπαναστασίου)

Οι προνύμφες είναι μικρές, ακέφαλες και άποδες, (διακρίνεται μόνο μία σκούρα κατά μήκος γραμμή στο ύψος της κεφαλής, ο κεφαλοφαρυγγικός σκελετός). Επίσης είναι κυλινδρικές, πιο στενές στο πρόσθιο μέρος και έχουν λευκοκίτρινο χρωματισμό. Τα οπίσθια δύο αναπνευστικά στίγματα, στην άκρη της κοιλίας, αποτελούνται από τρία στενόμακρα σε σχήμα σχισμής ανοίγματα το καθένα (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Υπάρχουν τρεις προνυμφικές ηλικίες που διακρίνονται μεταξύ τους με βάση το σχήμα, το μέγεθος και το χρώμα των στοματικών αγκίστρων (White & Elson- Harris, 1992).

Η προνύμφη 1^{ης} ηλικίας έχει μήκος 0,17 - 2,2 mm, η 2^{ης} ηλικίας 2,3 - 5 mm και αυτές της 3^{ης} ηλικίας 6 - 10 mm (Papadopoulos, 2004). Οι προνύμφες βρίσκονται πολλές μαζί στη σάρκα των καρπών και όταν ολοκληρωθεί η ανάπτυξή τους, μετακινούνται, με συσπείρωση και προώθησή εντός των καρπών στα εξωτερικά στρώματά του. Λίγο πριν τη νύμφωση, οι πλήρως ανεπτυγμένες προνύμφες εγκαταλείπουν τον καρπό, πέφτουν στο έδαφος όπου αναζητούν καταφύγιο είτε κάτω από υλικά, φύλλα ή μπαίνουν στο έδαφος όπου νυμφώνονται.

Η νύμφη (pupa) (Εικόνα 1.2) έχει ελλειψοειδές (βαρελοειδές) σχήμα, με χρώμα που ποικίλει από υπόλευκο έως σκούρο καστανό, ανάλογα με ξενιστή στον οποίο αναπτύσσονται οι προνύμφες. Το μήκος της κυμαίνεται από 4 - 4,5 mm και η διάμετρος από 2 - 2,5 mm. Επίσης βρίσκεται συνήθως στο έδαφος (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003, Papadopoulos, 2004).



Εικόνα 1.2. Νύμφες - pupae της μύγας της Μεσογείου.

Το ενήλικο (Εικόνα 1.3) έχει μήκος σώματος που ποικίλει από 4 έως 6 mm και πλάτος 1,2 - 2 mm. Γενικά το μέγεθος των ενήλικων είναι μικρότερο από αυτό της οικιακής μύγας (κυμαίνεται περίπου στα 2/3 του μεγέθους της). Τα πόδια είναι κιτρινέρυθρα και οι οπίσθιες κνήμες φέρουν κίτρινες σκληρές τρίχες. Η κοιλιακή του επιφάνεια είναι κίτρινη έως και πορτοκαλί με δύο καστανέρυθρες εγκάρσιες ζώνες και πολλά λεπτά στίγματα. Ο θώρακας είναι μαύρος στα νώτα με ανοιχτόχρωμες κηλίδες. Διαθέτει διαφανείς, λεπτές πτέρυγες, μήκους 4,5 mm, με μαύρες και καφέ ζώνες ανοιχτού χρώματος στο οπίσθιο τμήμα. Βασικό χαρακτηριστικό του εντόμου είναι πως όταν στέκεται ακίνητο ή βαδίζει, κρατάει τις πτέρυγές του μισάνοιχτες και με κάποια κλίση της οπίσθιας παραφυής τους προς το υπόστρωμα. Η κεφαλή του εντόμου είναι κιτρινωπή, πιο σκοτεινό ανάμεσα στις βάσεις των κεραιών, με μαύρες τρίχες ανάμεσα στους σύνθετους λαμπερούς οφθαλμούς, οι οποίοι έχουν πράσινο σμαραγδένιο χρώμα. Οι κεραίες έχουν καστανέρυθρο χρωματισμό (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003, Papadopoulos, 2004).

Η διάκριση των δύο φύλων του εντόμου γίνεται από ένα ζεύγος έμμισχων ροπαλοειδών αποφύσεων (orbital blisters), καφέ-γκρι χρώματος στο μέτωπο των αρσενικών. Επίσης, το μήκος της κοιλίας του θηλυκού (σε σχέση με το αρσενικό) είναι μεγαλύτερο από το πλάτος του, ενώ ο ωοθήτης είναι κιτρινέρυθρος, με καστανή άκρη και έχει μήκος 0,9 - 1,3 mm (Εικόνα 1.3) (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003, Papadopoulos, 2004).



Εικόνα 1.3. Ενήλικο αρσενικό (αριστερά) και ενήλικο θηλυκό (δεξιά) της μύγας της Μεσογείου.
(Φωτ. Ν. Παπαδόπουλος)



Εικόνα 1.4. Ενήλικο θηλυκό άτομο της μύγας της Μεσογείου. Διακρίνεται ο ωοθέτης.

Προέλευση και Γεωγραφική κατανομή

Η μύγα της Μεσογείου αποτελεί ένα από τα πιο κοσμοπολίτικα και επιζήμια έντομα των καλλιεργειών σε όλο τον κόσμο, προσβάλλοντας πάνω από 350 διαφορετικά είδη φρούτων, λαχανικών, ακόμη και καρυδιών. Για πρώτη φορά περιγράφηκε από τον Wiedemann το 1824. Σύμφωνα με τις περισσότερες μελέτες, φαίνεται πως το συγκεκριμένο έντομο προέρχεται από περιοχές της δυτικής Αφρικής και τα τελευταία 200 χρόνια έχει εξαπλωθεί στη λεκάνη της Μεσογείου, τη κεντρική και νότια Αμερική και την Αυστραλία (Οικονόμου, 2006).

Η γεωγραφική εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου διευρύνεται συνεχώς, καθώς διαθέτει εξαιρετική ικανότητα προσαρμογής (Katsoyannos et al., 1997). Έχει προσαρμοστεί σε περιοχές με πολύ διαφορετικούς κλιματικούς τύπους (εύκρατες, τροπικές περιοχές) (Papadopoulos et al., 2002). Η προσαρμοστικότητα της μύγας της Μεσογείου στο εκάστοτε περιβάλλον, είτε

εξαιτίας της γρήγορης ολοκλήρωσης του βιολογικού κύκλου της, είτε λόγω της καλύτερης αξιοποίησης των διαθέσιμων φυσικών πόρων, ενισχύει τη μεγάλη γεωγραφική εξάπλωσή της. Σε αυτό, επίσης συμβάλλει και ο ανθρώπινος παράγοντας (παγκόσμιο εμπόριο), καθιστώντας την σημαντικό εισβολέα και οικονομικά επιζήμιο σε παγκόσμιο επίπεδο (Malacrida et al., 2007, Οικονόμου, 2006). Παρακάτω ακολουθούν αναφορές της μύγας της Μεσογείου ανά ήπειρο (Εικόνα 1.5).

ΑΜΕΡΙΚΗ

Στις αρχές του περασμένου αιώνα η μύγα της Μεσογείου καταγράφηκε για πρώτη φορά στην Αμερικάνικη ήπειρο και συγκεκριμένα στη Βραζιλία το 1905 (Malacrida et al., 1992) και στην Καλιφόρνια το 1975 (Meyer et al., 2000).

Σήμερα η παρουσία της έχει επιβεβαιωθεί σε όλες τις χώρες της Αμερικής, εκτός του Καναδά. Στο Μεξικό υπάρχουν αναφορές που υποστηρίζουν ότι συντονισμένες προσπάθειες οδήγησαν στην εξάλειψή της. Το ίδιο σημειώθηκε και στη βόρεια Αμερική, στις περιοχές της Φλόριντα, του Τέξας αλλά και στο Όκλαντ της Νέας Ζηλανδίας, όπου μετά την εξάλειψη της μύγας Μεσογείου στην περιοχή δε σημειώθηκε περαιτέρω ανίχνευση και καταγραφής της παρουσίας της (Weems et al., 2001). Στην Καλιφόρνια των ΗΠΑ υπάρχουν δύο αντικρουόμενες απόψεις για την εγκατάσταση η μη της μύγας της Μεσογείου.

Η μύγα της Μεσογείου απαντάται επιπλέον, σε όλες τις χώρες της νότιας Αμερικής, σε νησιά του Ατλαντικού ωκεανού και του Ινδικού, καθώς επίσης σε χώρες της Αφρικής και της μέσης Ανατολής.

ΩΚΕΑΝΙΑ

Η αποίκιση της Αυστραλίας έγινε το 1893 στην περιοχή Perth (Sproul, 2001). Παρ' όλα αυτά, η εγκατάσταση του *C. capitata* στην δυτική Αυστραλία θεωρείται δευτερογενές γεγονός εποίκισμού, δεδομένου ότι η λεκάνη της Μεσογείου αποτελεί πιθανότατα την πρωταρχική περιοχή «εισβολής» του από την τροπική Αφρική απ' όπου και κατάγεται (Bonizzoni et al., 2000).

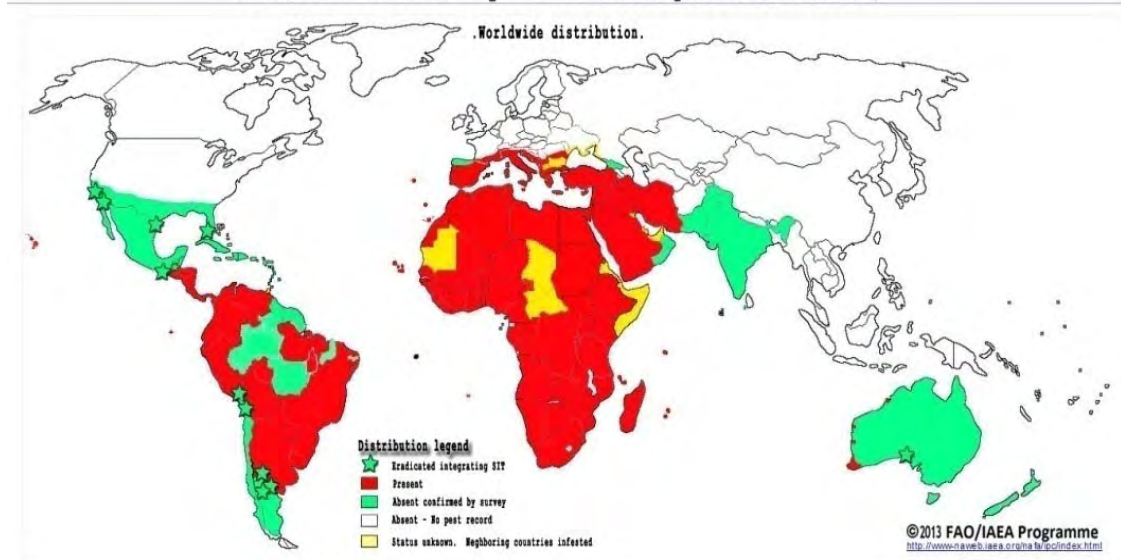
ΕΥΡΩΠΗ

Το έντομο καταγράφηκε για πρώτη φορά σε χώρες της Μεσογείου, όπου και είναι ευρύτατα διαδεδομένο, όπως η Ισπανία και η Ιταλία, στα μέσα του 18^{ου} αιώνα (Malacrida et al., 1992). Σήμερα, σε πολλές χώρες της Ευρώπης, όπως Αυστρία, Κύπρο, Γαλλία, Ιταλία, Αλβανία, Μάλτα, Πορτογαλία, Ισπανία, Γιουγκοσλαβία, Βέλγιο, Γερμανία και Ουγγαρία έχει παρατηρηθεί η παρουσία της μύγας της Μεσογείου (White & Elson-Harris, 1992).

Στην Ελλάδα αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Παπαγεωργίου το 1915, ως μύγα των μανταρινιών. Βρέθηκε να προκαλεί εκτεταμένες ζημιές σε καλλιέργειες εσπεριδοειδών στην Αττική και στην Αίγινα (Fimiani, 1989). Στην βόρεια Ελλάδα για πρώτη φορά αναφέρθηκε το 1959 (Paradopoulos et al., 2001b). Σήμερα αναφέρεται η παρουσία της σε όλη σχεδόν τη χώρα, ιδιαίτερα στις κεντρικές και νότιες περιοχές όπου καλλιεργούνται εσπεριδοειδή, στα νησιά αλλά και στη βόρεια Ελλάδα (Παπαδόπουλος, 1999).

Είναι εμφανές ότι η εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου, με όλες τις επιπτώσεις που προκαλεί, έχει απασχολήσει ερευνητές σε παγκόσμιο επίπεδο. Αποτελεί εξαιρετικής σημασίας η συνεχής έρευνα της επιστημονικής κοινότητας επί της αντιμετώπισης της ζημιογόνου δράσης του εντόμου, λόγω των οικονομικών επιπτώσεων που προκαλεί η εξάπλωση και ιδιαίτερη προσαρμοστικότητά της.

Mediterranean Fruit Fly - *Ceratitis capitata* (Wiedemann)



Εικόνα 1.5. Γεωγραφική κατανομή του *Ceratitis capitata* (με λευκό χρώμα οι περιοχές που δεν έχει παρατηρηθεί ποτέ, με κόκκινο χρώμα οι περιοχές που παρατηρείται συνέχεια, με πράσινο χρώμα οι περιοχές που έχει κάνει την εμφάνιση του δευτερογενώς και με κίτρινο οι περιοχές που παρατηρήθηκε για πρώτη φορά) (<http://www.naweb.iaea.org/nafa/news/images/Distribution-Mediterranean-fruit-fly-Ceratitis-capitata.jpg>)

Οικονομική σημασία και ξενιστές

Η μύγα της Μεσογείου αποτελεί το πλέον πολυφάγο είδος της οικογένειας Tephritidae, προσβάλλοντας ημιώριμους, σχεδόν ώριμους ή και ώριμους καρπούς πολλών φυτικών ειδών αλλά και εμπορικά σημαντικών καλλιεργειών, προκαλώντας συχνά σοβαρές οικονομικές ζημιές. Επίσης θεωρείται εχθρός καραντίνας για πολλούς οργανισμούς φυτοπροστασίας (EPPO, APPPC, COSAVE, OIRSA, PPPO κ.ά.). Λόγω της οικονομικής σπουδαιότητας του εντόμου, οι νόμοι της καραντίνας στοχεύουν στην παρεμπόδιση εισόδου και εγκατάστασης των εντόμων σε περιοχές όπου δεν έχει ήδη εγκατασταθεί και εφαρμόζονται με ιδιαίτερη αυστηρότητα.

Η μύγα της Μεσογείου μετακινείται από οπωρώνα σε οπωρώνα πετώντας, ενώ εισβάλλει σε νέες περιοχές με τη βοήθεια της ανάπτυξης του διεθνούς εμπορίου. Επιπλέον, έχει ένα μεγάλο αριθμό ξενιστών, πολλοί από

τους οποίους έχουν εξαιρετική οικονομική σημασία αφού ανήκουν στα κατεξοχήν καλλιεργούμενα είδη φυτών. Επομένως, από γεωγραφικής άποψης, η σημασία της παρακολούθησης των πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου είναι προφανής. Παρακάτω ακολουθεί αναφορά των κυριότερων ξενιστών σε διάφορες περιοχές ανά τον κόσμο, εστιάζοντας στην Ελλάδα, όπου αφορά η συγκεκριμένη διατριβή.

ΞΕΝΙΣΤΕΣ

Στη δυτική Αυστραλία και σε εύκρατες περιοχές, ιδιαίτερα στην περιοχή της Μεσογείου, τα πυρηνόκαρπα, τα γιγαρτόκαρπα, τα εσπεριδοειδή, η μουσμουλιά (*Eriobotrya japonica*), ο λωτός (*Diospyrus kaki*) και η γκουάβα (*Psidium guajava*), είναι ιδιαίτερα ευαίσθητα είδη. Επίσης σοβαρές ζημιές προκαλεί και σε καλλιέργειες τροπικών και υποτροπικών περιοχών, σε παπάγια (*Carica papaya*), τομάτα (*Solanum lycopersicum*), καφέ (*Coffea arabica*), μάνγκο (*Mangifera indica*), αβοκάντο (*Persea americana*) και άλλα. Στη νότια Αφρική κατά καιρούς έχουν αναφερθεί ζημιές της μύγας της Μεσογείου και σε σταφύλια (*Vitis vinifera*). Κατά τα έτη 2007 – 2008 παρατηρήθηκε εκτεταμένη προσβολή και στην Ελλάδα, κυρίως σε περιοχές της Κρήτης, στην ποικιλία Σουλτανίνα, χωρίς όμως να δημιουργηθούν έντονες οικονομικά ζημιογόνες επιπτώσεις (Ροδιτάκης και συνεργάτες, 2009)

Στη χώρα μας έχει καταγραφεί πως η μύγα της Μεσογείου προκαλεί ιδιαίτερα σημαντικές και πιο συχνές ζημιές στις νοτιότερες περιοχές και στα νησιά κυρίως σε εσπεριδοειδή, όπως μανταρίνια (*Citrus reticulata*), πορτοκάλια (*C. sinensis*), καθώς και σε σύκα (*Ficus carica*), ροδάκινα (*Prunus persica*), βερίκοκα (*P. armeniaca*), μήλα (*Malus domestica*), αχλάδια (*P. communis*), κυδώνια (*Cydonia oblonga*) και άλλα φρούτα. Αντίθετα, στη βόρεια Ελλάδα προσβάλλει πιο συχνά τα γιγαρτόκαρπα, πυρηνόκαρπα, σύκα ακόμη και λωτούς.

Αν και υπάρχουν δεδομένα ζημιών που προκαλούνται από τη μύγα της Μεσογείου σε παγκόσμια κλίμακα, στη χώρα μας τα σχετικά στοιχεία δεν είναι λεπτομερή. Αναμφισβήτητα, η μύγα της Μεσογείου αποτελεί έναν από τους σοβαρότερους εχθρούς των καλλιεργειών στην Ελλάδα, αλλά η στάση που κρατούν οι γεωπόνοι και οι καλλιεργητές, για την καταπολέμησή της, δεν το

επιβεβαιώνει. Αυτό γίνεται, διότι δεν κρίνεται πάντα αναγκαίο, αφού στη χώρα μας οι καλλιέργειες οπωροφόρων δέντρων, που αποτελούν τον κύριο στόχο προσβολής του *C. capitata* (σύκα, εσπεριδοειδή), βρίσκονται κυρίως σε περιοχές κοντά ή μεταξύ ελαιώνων. Έτσι με την καταπολέμηση του δάκου της ελιάς αντιμετωπίζεται ταυτόχρονα και η μύγα της Μεσογείου.

Σύμφωνα με τα προαναφερθέντα είναι εμφανής η ευρεία εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου σε πληθώρα ξενιστών. Όμως, παρακάτω σημειώνονται έρευνες όπου έχουν βρεθεί συγκεκριμένοι ξενιστές με μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στην προσβολή του εντόμου. Η σημασία των συγκεκριμένων ξενιστών έχει άμεση συνάρτηση με την επιλογή των μεταβλητών των πειραμάτων της παρούσας διατριβής

Ανθεκτικότητα ξενιστών

Όσον αφορά στην ανθεκτικότητα των διαφόρων ξενιστών από προσβολές της μύγας της Μεσογείου, πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η εναπόθεση αυγών από τα θηλυκά στη σάρκα των καρπών εσπεριδοειδών, δεν ήταν εφικτή (Papachristos & Papadopoulos, 2009) λόγω του μεγέθους του ωοθήτη.

Η αντίσταση των εσπεριδοειδών στην προσβολή από τη μύγα της Μεσογείου αποδίδεται σε πληθώρα παραγόντων, όπως η τοξική επίδραση των χημικών χαρακτηριστικών του φλοιού (κυρίως αιθέριων ελαίων), η παραγωγή εκκριμάτων κόμμεως, ο σχηματισμός σκληρών κάλων γύρω από τις κοιλότητες ωοτοκίας που προκαλούν ασφυξία στα αυγά, το πάχος του φλοιού, ελαστική και μηχανική αντίσταση που αποτρέπει τις προνύμφες να εισχωρήσουν στα πιο θρεπτικά σαρκώδη τμήματα του φρούτου (Ioannou et al., 2012). Τα συγκεκριμένα ευρήματα μπορούν να αποτελέσουν την αρχή για την μείωση των αρνητικών επιδράσεων της μύγας της Μεσογείου στις καλλιέργειες, παγκοσμίως.

Οικονομική σημασία

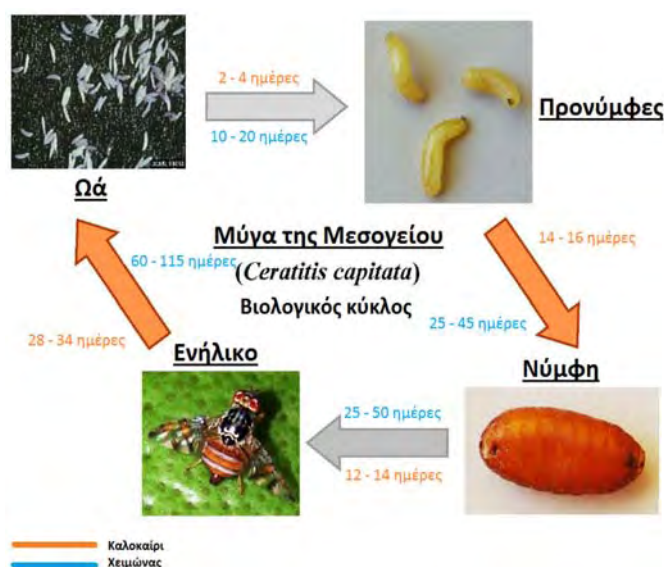
Η ανάπτυξη των ανθρώπινων δραστηριοτήτων (εμπόριο) ακολουθείται από παγκόσμια ανησυχία σχετικά με τις οικονομικές επιπτώσεις από την εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου και γενικότερα των ειδών της οικογένειας Terphritidae. Η παρουσία και εγκατάσταση της μύγας σε μία περιοχή, μπορεί να προκαλέσει σημαντικές οικονομικές απώλειες, όχι μόνο λόγω της άμεσης ζημιάς στις καλλιέργειες, αλλά και εξαιτίας του κόστους που απαιτείται για την παρακολούθηση, τον έλεγχο, την αντιμετώπιση ή διατήρηση του πληθυσμού της κάτω από το όριο οικονομικής ζημιάς.

Βιολογία και συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου

Η μύγα της Μεσογείου, στην Ελλάδα, έχει 3-7 γενεές το έτος, ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες κάθε περιοχής αλλά και κάθε έτους (Εικόνα 1.6). Σε πιο θερμά κλίματα (περιοχές με ήπιους χειμώνες) μπορεί να συμπληρώσει και περισσότερες γενεές, διαχειμάζοντας ως προνύμφη μέσα στους καρπούς ξενιστές που παραμένουν στα δέντρα ή έχουν πέσει στο έδαφος ή ως νύμφη στο έδαφος (βάθος έως 8cm) (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003, Papadopoulos et al., 1996). Είναι σημαντικό να σημειωθεί ότι έρευνες έχουν δείξει πως σε καλλιέργειες μήλων (Βόρεια Ελλάδα) επιμηκύνεται η ανάπτυξη της προνύμφης λόγω ιδιαίτερων χαρακτηριστικών του ξενιστή καθώς επίσης και των χαμηλών θερμοκρασιών της περιοχής. Λόγω αυτού, ένας μικρός πληθυσμός προνυμφών καταφέρνει να επιβιώσει και μέσα στους ξενιστές (μήλα) για περίπου 5 μήνες, Νοέμβριος-Μάρτιος (Papadopoulos et al., 2002). Επιπλέον μπορεί να διαχειμάζει κατά ένα μικρό ποσοστό και σαν ενήλικο σε περιοχές με ήπιο χειμώνα (όπως Κρήτη και νότια παράλια Μεσογείου), αλλά τα ενήλικα δεν επιβιώνουν περισσότερο από 1-2 εβδομάδες σε παρατεταμένες θερμοκρασίες κάτω από τους 5°C (Πελεκάσης, 1991). Τις τελευταίες δεκαετίες, πιθανά και λόγω των κλιματικών αλλαγών και της προσαρμοστικότητας του εντόμου, έχει παρατηρηθεί η εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου και πιο βόρεια (χαμηλότερη μέση θερμοκρασία) στην Ελλάδα (Παπαδόπουλος και συνεργάτες, 2012).

Το ενήλικο εμφανίζεται την άνοιξη και η τροφή του περιέχει υγρές ζαχαρούχες και αζωτούχες ουσίες, όπως νέκταρ, γύρη, μελιτώδη απεκκρίματα εντόμων (κοκκοειδή), περιττώματα πουλιών ή και ουσίες που μπορεί το σάλιο του να τις ρευστοποιήσει για να τις καταπιεί με την εκτατή σπογγίζουσα, μυζητική προβοσκίδα του (Paradopoulos et al., 1998a, Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003).

Συνήθως το 50% των ενηλίκων πεθαίνει κατά τους 2 πρώτους μήνες. Σε περίπτωση ολοκληρωτικής έλλειψης τροφής τα ενήλικα επιβιώνουν 2-4 ημέρες. Αντίθετα, επιβιώνουν περισσότερο κάτω από ευνοϊκές συνθήκες διατροφής και όχι υψηλές θερμοκρασίες. Ο βιολογικός κύκλος συμπληρώνεται σε 25 περίπου ημέρες σε 24-25°C και σχετική υγρασία 60-70% (Πελεκάσης, 1991), αλλά βασικός παράγοντας για την ολοκλήρωση του είναι οι εξωτερικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Ο βιολογικός κύκλος μπορεί να διαρκέσει από 5 εβδομάδες έως και 5 μήνες. Τα ενήλικα είναι ώριμα αναπαραγωγικά μετά από 4-15 ημέρες. Χρησιμοποιώντας τον άνεμο κατά τις πτητικές τους διαδρομές, τα ενήλικα μπορούν να καλύψουν αρκετά μεγάλες αποστάσεις προς αναζήτηση τροφής και περιοχών ωοτοκίας. Ωστόσο, οι πληθυσμοί του εντόμου, σε περίπτωση ευνοϊκών συνθηκών (όπως η επάρκεια της τροφής), δεν μπαίνουν στη χρονοβόρα και ενεργοβόρα διαδικασία εύρεσης νέων περιοχών (Paradopoulos et al., 2001).



Εικόνα 1.6. Βιολογικός κύκλος της μύγας της Μεσογείου
(<http://www.organicgardeninfo.com/mediterranean-fruit-fly.html>)

Έχει παρατηρηθεί ότι συγκεκριμένα φυτικά συστατικά (όπως έλαια πορτοκαλιού, πιπερόριζας κ.α.), τείνουν να έχουν επίδραση στη συμπεριφορά σύζευξης αλλά και στην επιτυχία της, αυξάνοντας τη σεξουαλική ανταγωνιστικότητα (Papadopoulos et al., 2006, Shelly et. al 2008). Επίσης, η διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης αλλά και των σακχάρων στη διατροφή των εντόμων είναι πολύ σημαντική για την επιτυχία της διαδικασίας της αναπαραγωγής. Βασικό ρόλο στην επιτυχία, την διάρκεια, την ποσότητα και την ποιότητα της σύζευξης παίζει η αφθονία τους και η λήψη αυτών πριν την έναρξή της.

Τα αρσενικά συνήθως δείχνουν σεξουαλική δραστηριότητα περίπου 4 ημέρες μετά τη μεταμόρφωσή τους και ζευγαρώνουν συνήθως την 5η ημέρα. Τα περισσότερα θηλυκά είναι έτοιμα να ζευγαρώσουν σε 6-8 ημέρες μετά τη μεταμόρφωσή τους από το νυμφικό στάδιο (Μαυρομάτης, 2008). Η διαδικασία της σύζευξης των ατόμων της μύγας της Μεσογείου, είναι μία πολύπλοκη διαδικασία και αποτελείται από μία αλληλουχία προγαμιαίων συμπεριφορών (και από τα δύο φύλα), οι οποίες αναλύονται παρακάτω.

Τα αρσενικά άτομα της μύγας της Μεσογείου, πριν ξεκινήσουν τη διαδικασία αναπαραγωγής, δημιουργούν τα επονομαζόμενα “Leks”, τα οποία είναι συναθροίσεις των εντόμων στην κάτω επιφάνεια των φύλλων των ξενιστών. Αυτό είναι η αφετηρία του ερωτικού καλέσματος των θηλυκών ατόμων από τα αρσενικά. Συγκεκριμένα, τα αρσενικά προσελκύουν τα θηλυκά με την έκλυση φερομόνης (η οποία γίνεται νωρίς το πρωί έως το απόγευμα) (Papadopoulos et al., 1998, 2004) (Εικόνα 1.7).



Εικόνα 1.7. Έκλυση φερομόνης από αρσενικό.
(φωτ. Σ. Παπαναστασίου)

Η έκλυση της φερομόνης από τα αρσενικά, συνοδεύεται από μία συνεχή δόνηση των πτερύγων, ενώ ταυτόχρονα γίνεται κάμψη της κοιλιάς του εσωτερικά προσκαλώντας τα θηλυκά. Εν συνεχεία, ξεκινά η οπτική επαφή με ένα θηλυκό άτομο στο άμεσο κοντινό του περιβάλλον (Εικόνα 1.8). Έπειτα, ακολουθεί το στάδιο της εντονότερης, συνεχόμενης κίνησης των πτερύγων, όπου κινούνται ρυθμικά μπρος-πίσω παράγοντας θορύβους, καταλήγοντας στο στάδιο της απόπειρας σύζευξης από το αρσενικό. Αυτό επιτυγχάνεται όταν τα άτομα των δύο φύλων έχουν έρθει πολύ κοντά και είναι προσανατολισμένα αντικρίζοντας το ένα το άλλο υπό γωνία. Αφού το αρσενικό προσγειωθεί στην πλάτη του θηλυκού, κουνάει το σώμα του κοφτά και έπειτα περιστρέφεται κατά 180° . Με τις άκρες των πίσω ποδιών του τρίβει και ακινητοποιεί την άκρη του γενετικού οπλισμού του θηλυκού και ακολουθεί η σύζευξη (Briceno et al., 1996) (Εικόνα 1.9).



Εικόνα 1.8. Οπτική επαφή αρσενικού και θηλυκού ατόμου της μύγας της Μεσογείου.
Ερωτικό κάλεσμα.

Τα θηλυκά παρουσιάζονται εξαιρετικά επιλεκτικά κατά την επιλογή συντρόφου και είναι σύνηθες το φαινόμενο της απόρριψης του αρσενικού. Οι κεραίες των αρσενικών, το μέγεθός τους καθώς επίσης και ποικίλα μορφογενετικά γνωρίσματα, όπως το μήκος του θώρακα, αποτελούν κριτήρια επιλογής για τα θηλυκά (Robinson et al., 2002, Rodriguez et al., 2002). Σε αυτό το σημείο της ζωής τους, αρσενικά και θηλυκά, χρησιμοποιούν διαφορετικά συνθήματα για τη μεγιστοποίηση της «καταλληλότητάς τους» (Papadopoulos et al., 2006).



Εικόνα 1.9. Σύζευξη μύγας της Μεσογείου.

Η πιο σημαντική θέση σύζευξης, συνήθως, είναι η κάτω επιφάνεια των φύλλων, όπως επίσης και η επιφάνεια των καρπών. Εφόσον τελειώσει η σύζευξη, ξεκινάει η αναζήτηση από τα θηλυκά, ώριμων καρπών για ωοτοκία. Η επιτυχία της αναπαραγωγής επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό από την ικανότητα των θηλυκών να εντοπίσουν και να ωοτοκήσουν σε φρούτα κατάλληλων ξενιστών, που επιτρέπουν την επιβίωση και την ανάπτυξη των προνυμφών. Στα φυτοφάγα έντομα, όπως η μύγα της Μεσογείου, η επιλογή χώρου ωοτοκίας μπορεί να θεωρηθεί σαν μία μορφή μητρικής επένδυσης, όπου τα θηλυκά επενδύουν χρόνο και ενέργεια προκειμένου να επιλέξουν χώρους όπου οι απόγονοί τους έχουν περισσότερες πιθανότητες να επιβιώσουν. Για να ανταπεξέλθουν σε αυτή την ανάγκη, τα θηλυκά που ωοτοκούν βασίζονται στις οπτικές, χημικές αισθήσεις αλλά και σε αισθήσεις αφής ώστε να έχουν πρόσβαση σε πληθώρα ερεθισμάτων από τον περιβάλλοντα χώρο και να κάνουν την καταλληλότερη επιλογή (Ioannou et al., 2012). Η διαδικασία της αναζήτησης συνεχίζεται από τη διαδικασία της ωοτοκίας, κατά την οποία τα θηλυκά ανοίγουν οπή (νύγμα) στο περικάρπιο ή μεσοκάρπιο χρησιμοποιώντας

τον ωοθήτη και τοποθετούν ομάδες (clutch) από 1-6 ωά στο βάθος της οπής. Η οπή ωοτοκίας είναι συνήθως ευδιάκριτη. Ακόμα, τα θηλυκά μπορεί να ωοτοκήσουν σε σχισμές ή τραύματα του φλοιού καρπών ή και σε οπές ωοτοκίας άλλων θηλυκών του είδους του και οι προνύμφες αναπτύσσονται σε ώριμους καρπούς (Paraj et al., 1989, Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Συχνά στην περιοχή του καρπού γύρω από το νύγμα ωοτοκίας εμφανίζεται σκούρος αποχρωματισμός σε ανοιχτόχρωμους καρπούς και το αντίθετο σε καρπούς σκούρου χρώματος. Επίσης σε αρκετές περιπτώσεις παρατηρείται ροή κόμμεως από την οπή ωοτοκίας (Τσιτσιπής, 1999). Η μύγα της Μεσογείου ωοτοκεί σε όποια είδη καρπών βρίσκει σε κάθε περιοχή, κάθε εποχή και μπορεί να πετάξει σε αποστάσεις εκατοντάδων μέτρων για να βρει κατάλληλο καρπό για ωοτοκία. Συνεπώς, σε περιοχές όπου το σχετικό ζεστό κλίμα ευνοεί την ανάπτυξη του εντόμου και ιδιαίτερα όπου υπάρχει ποικιλία ειδών - ξενιστών, ο κίνδυνος προσβολής υπάρχει σχεδόν κάθε έτος (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003).

Ένα θηλυκό μπορεί να ωοτοκήσει έως και πάνω από 40 αυγά την ημέρα (σε διαφορετικούς καρπούς), έχει δε την ικανότητα να παράγει κατά μέσο όρο πάνω από 300 αυγά στη διάρκεια της ζωής του κάτω από άριστες συνθήκες (Papadopoulos et al. 1996).

Τα μικρά υπόλευκα ωά εκκολάπτονται μέσα στον καρπό σε 2 – 4 ημέρες σε θερμοκρασία 24°C, αλλά δεν αναπτύσσονται σε θερμοκρασία κάτω από 10°C.

Οι προνύμφες δεν μπορούν να αναπτυχθούν σε θερμοκρασίες κάτω από τους 8°C. Η ταχύτητα με την οποία αναπτύσσονται οι προνύμφες μπορεί επίσης να σχετίζεται με τον καρπό- ξενιστή. Η ανάπτυξη, για παράδειγμα, είναι πιο αργή στα μήλα και διαδοχικά ταχύτερη στα αχλάδια, ροδάκινα και σύκα. Οι ώριμες προνύμφες ζουν στον καρπό ενώ αυτός βρίσκεται ακόμη στο δέντρο ή έχει πέσει στο έδαφος. Οι προνύμφες βρίσκονται η μία κοντά στην άλλη και κατατρώγουν τους ιστούς του ώριμου ή σχεδόν ώριμου καρπού, ορύσσοντας στοές στη σάρκα του. Η τροφική δραστηριότητα των προνυμφών επικεντρώνεται στα σαρκώδη τμήματα των καρπών- ξενιστών. Ακόμα όμως και μετά τη συγκομιδή του καρπού συνεχίζεται η δραστηριότητα των προνυμφών.

Σε έναν καρπό, σχετικά μεγάλου μεγέθους, μπορεί να βρεθούν μέχρι και 100 προνύμφες. Το νυμφικό στάδιο διαρκεί 7-11 ημέρες σε άριστες συνθήκες. Μετά την ολοκλήρωση της ανάπτυξής τους οι προνύμφες εγκαταλείπουν τους καρπούς, αφήνοντας ορατή σπή στην επιδερμίδα τους και νυμφώνονται σε σχετικά μικρό βάθος στο έδαφος.

Εκτός της άμεσης ζημιάς (διάβρωση και νέκρωση σάρκας καρπών) που προκαλείται από τη βρώση με τους ιστούς του ξενιστή, οι προνύμφες είναι υπεύθυνες για δευτερογενείς ζημιές, αφού ο καρπός είναι δυνατόν να μολυνθεί από βακτήρια, μύκητες και άλλους μικροοργανισμούς που επιτείνουν τη ζημιά και συντελούν στην πιο γρήγορη σήψη του. Προσβεβλημένοι καρποί, όταν οι προνύμφες εκκολαφθούν, είναι ακατάλληλοι για κατανάλωση, συνεπώς η ζημιά μπορεί να είναι σοβαρή αν το έντομο δεν καταπολεμηθεί έγκαιρα. Όταν ο καρπός αρχίζει να σαπίζει, τότε ωτοκοούν εκεί ορισμένα σαπροφάγα έντομα, όπως τα *Lamprolonchaea* spp., *Drosophila* spp., ή *Carpophilus* spp.

Τέλος, σε περιοχές όπου κατά κανόνα δεν γίνεται καταπολέμηση του εντόμου, η πυκνότητα πληθυσμού του και οι ζημιές που προκαλεί είναι μεγαλύτερες προς το τέλος της θερμής εποχής (Αύγουστο-Νοέμβριο) (Paradopoulos et al. 1996, Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003).

Αντιμετώπιση

Η αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου είναι ιδιαίτερα δύσκολη, λόγω του μεγάλου αριθμού των γενεών που ολοκληρώνει κάθε έτος, την εξαιρετικά μεγάλη πολυφαγία της και τη συνήθειά της να προσβάλλει τους ξενιστές σε ώριμο ή ημιώριμο στάδιο (κοντά στη συγκομιδή).

Στόχοι των προγραμμάτων αντιμετώπισης της μύγας της Μεσογείου, είναι η μείωση των πληθυσμών του εντόμου σε μία ευρύτερη περιοχή (ή η διατήρησή τους κάτω από το όριο οικονομικής ζημιάς) και η προστασία των καρπών στο στάδιο της ωρίμανσης και της συγκομιδής. Τα δραστικότερα μέτρα αντιμετώπισης λαμβάνονται συνήθως την περίοδο λίγο πριν την ωρίμανση των καρπών (Υπουργείο Γεωργίας Κύπρου, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωργίας, Σεπτέμβριος, 2005). Επίσης αξίζει να αναφερθεί πως

υπάρχουν πλέον αρκετές έρευνες που στοχεύουν στη βελτίωση των μεθόδων ελέγχου για τον περιορισμό του πληθυσμού του συγκεκριμένου εντόμου (Katsoyannos et al., 1996).

Η αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου συνήθως δεν είναι αποτελεσματική στο επίπεδο μεμονωμένων οπωρώνων. Έτσι, ένας βασικός τρόπος ελέγχου του πληθυσμού της μύγας της Μεσογείου, διεθνώς είναι η εφαρμογή περιφερειακών προγραμμάτων αντιμετώπισης, τα οποία σε ορισμένες περιπτώσεις μπορεί να είναι και διασυνοριακά. Ο συγκεκριμένος τρόπος αντιμετώπισης βασίζεται κυρίως στην παρακολούθηση του πληθυσμού. Αυτό γίνεται είτε με τη χρήση παγίδων, είτε με δειγματοληψίες καρπών και τη διενέργεια δολωματικών ψεκασμών. Σε περίπτωση υψηλής πυκνότητας πληθυσμών πραγματοποιούνται ψεκασμοί κάλυψης με χημικά εντομοκτόνα.

Επιπλέον, ένας ακόμη τρόπος αντιμετώπισης είναι οι βιολογική καταπολέμηση, όπως η εξαπόλυση στειρωμένων εντόμων ή παρασιτοειδών. Ο φιλικός προς το περιβάλλον αυτός τρόπος, βρίσκεται σε προτεραιότητα τόσο στον Ευρωπαϊκό χώρο, όσο και σε διεθνές επίπεδο.

Θα πρέπει επίσης να αναφερθεί ότι πολύ σημαντικός παράγοντας για την αποτελεσματική αντιμετώπισή της μύγας της Μεσογείου είναι η λήψη καλλιεργητικών μέτρων. Σε αυτά συμπεριλαμβάνονται η συλλογή, η απομάκρυνση και καταστροφή των προσβεβλημένων καρπών πριν την συγκομιδή, καθώς επίσης και η μείωση των μη καλλιεργούμενων άγριων ξενιστών. Επιπλέον, γίνεται και απεντόμωση των φρούτων μετασυλλεκτικά (όταν η προσβολή βρίσκεται σε αρχικό στάδιο), με τη χρήση υψηλών και χαμηλών θερμοκρασιών και ακτινοβολίας γ.

Μελλοντικά, μπορεί επίσης να χρησιμοποιηθεί η μέθοδος του «ασύμβατου εντόμου» (όπου εκμεταλλευόμαστε την παρουσία συμβιωτικών βακτηρίων που προκαλούν κυτταροπλασματική ασυμβατότητα και μειώνεται ο φυσικός πληθυσμός του εντόμου) και η οποία βρίσκεται ακόμη σε πειραματικό στάδιο. Τέλος, τα τελευταία έτη γίνονται έρευνες με σκοπό να μελετηθεί και αξιοποιηθεί εμπορικά η τοξικότητα που φαίνεται να έχουν τα αιθέρια έλαια κάποιων φυτών σε διάφορα επιζήμια για τη γεωργία έντομα, όπως η μύγα της

Μεσογείου (Hagenetal., 1981, Economopoulos et al., 1996, Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003, Papadopoulos & Katsogyannos, 2003, Zabalou et al., 2004, Parachristos & Papadopoulos, 2009).

Κάποιες από τις παραπάνω μεθόδους, πολλές φορές χρησιμοποιούνται συνδυαστικά, ώστε να υπάρξει το καλύτερο δυνατό αποτέλεσμα.

Στην Ελλάδα η αντιμετώπιση του εντόμου βρίσκεται ακόμη στο επίπεδο του παραγωγού με εφαρμογές ψεκασμών (δολωματικοί, καλύψεως), οι οποίοι γίνονται με τη συμβουλή από τους τοπικούς γεωπόνους ή των Περιφερειακών Κέντρων Προστασίας Φυτών και Ποιοτικού Ελέγχου. Τα διάφορα Περιφερειακά Κέντρα Προστασίας Φυτών χρησιμοποιώντας παγίδες (π.χ. Jackson με ελκυστικό την παραφερομόνη trimedlure) παρακολούθησης πληθυσμών, καταγράφουν τις πτήσεις των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου και στη συνέχεια εκδίδουν δελτία «Γεωργικών Προειδοποιήσεων» και προτείνουν εφαρμογή μέτρων αντιμετώπισης.

Είναι φανερό, πως στη χώρα μας, λόγω της εκτεταμένης παρουσίας της μύγας της Μεσογείου σε πολλές διαφορετικές περιοχές και ποικίλες καλλιέργειες, τα μέτρα που λαμβάνονται για την αντιμετώπισή της δεν είναι αρκετά. Θα πρέπει να γίνουν συντονισμένες προσπάθειες σε περιφερειακό, ακόμη και σε εθνικό επίπεδο για την παρακολούθηση, καταγραφή και όπου κρίνεται απαραίτητη, την παρέμβαση για την αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου. Αυτό μπορεί να επιτευχθεί με την εκτίμηση της εποχικής και χωρικής κατανομής του εντόμου σε μία περιοχή (με τη μελέτη της βιοοικολογίας του και την εγκατάσταση παγίδων). Έπειτα, με λεπτομερείς μελέτες της δυναμικής των πληθυσμών και τη βοήθεια της σύγχρονης τεχνολογίας (GPS, GIS), αφού συλλεχθούν και αναλυθούν τα στοιχεία αυτά, θα χρησιμοποιούνται για τη λήψη αποφάσεων, ώστε να αυξηθεί η αποτελεσματικότητα, με τη μικρότερη δυνατή περιβαλλοντική επιβάρυνση, καθώς επίσης και το χαμηλότερο δυνατό κόστος (Παπαδόπουλος και συνεργάτες, 2010).

Επίδραση αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών στη μύγα της Μεσογείου

Η μύγα της Μεσογείου χρησιμοποιεί οσφρητικά, και οπτικά ερεθίσματα όταν αναζητά καταφύγιο, τροφή και θέση ωοτοκίας. Σε πειράματα που έχουν γίνει έχει αποδειχθεί πως τα αιθέρια έλαια των ξενιστών παίζουν σημαντικό ρόλο στην επιλογή των παραπάνω ζωτικών πόρων από τα ενήλικα άτομα της μύγας της Μεσογείου. Ανάμεσα στους εκατοντάδες ξενιστές της μύγας της Μεσογείου, τα εσπεριδοειδή αποτελούν μία από τις σημαντικότερες ομάδες.

Μελέτες που έγιναν τα τελευταία χρόνια έδειξαν ότι χημικά ερεθίσματα που προέρχονται τόσο από τη σάρκα (χυμός) όσο και από το φλοιό των καρπών (αιθέρια έλαια) των εσπεριδοειδών παίζουν σημαντικό ρόλο στη συμπεριφορά του εντόμου (Paraj et al., 1989).

Σε άλλα πειράματα που έχουν διεξαχθεί στη Χίο, αρσενικά και θηλυκά άτομα του εντόμου *C. capitata* έδειξαν έντονη προτίμηση σε οσμές που προέκυπταν από τη σάρκα ξεφλουδισμένων πορτοκαλιών και σε φυσικό τυποποιημένο χυμό πορτοκαλιού. Επίσης, τα αρσενικά προσελκύνονταν έντονα στα οσμηρά ερεθίσματα που απελευθερώνονται από τομές της ελαιώδους περιοχής (φλούδας) ώριμων πορτοκαλιών και λιγότερο σε τομές που έγιναν σε άγουρα πορτοκάλια και λεμόνια, ενώ αυξήθηκε η σεξουαλική τους δραστηριότητα αλλά και η επιτυχία της σύζευξης (Katsoyannos et al., 1997). Σε μεταγενέστερες έρευνες αποδείχθηκε πως η έκθεση των αρσενικών ατόμων της μύγας της Μεσογείου, σε οσμή προερχόμενη από τομές σε φλοιό εσπεριδοειδών και σε αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών, αυξάνουν την ανταγωνιστικότητά τους στη σύζευξη, σε σχέση με αρσενικά άτομα που δεν είχαν εκτεθεί σε παρόμοιες οσμές. Επιπλέον, η έκθεση σε αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών αυξάνει τη συχνότητα εκδήλωσης των σεξουαλικών καλεσμάτων των αρσενικών και πιθανώς την ποσότητα και την ποιότητα της σεξουαλικής φερομόνης (Paradopoulos et al., 2001, 2006).

Τα θηλυκά άτομα, με βάση την όσφρηση, προσελκύνονται περισσότερο από πορτοκάλια και λεμόνια, σε σχέση με τα αρσενικά. Τα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών (με εξαίρεση το λεμόνι, καθώς αιθέριο έλαιο του λεμονιού υπολείπονταν σημαντικά σε περιεκτικότητα λιμονενίου σε σχέση με τα υπόλοιπα) επιδρούν θετικά στα θηλυκά άτομα, αυξάνοντας το ποσοστό των

ωοτοκούντων θηλυκών και μειώνοντας τη διάρκεια περιόδου προωτοκίας. Επιπλέον, γεννούν πολλά περισσότερα αυγά σε τεχνητά υποστρώματα που έχουν έλαιο από φλούδα εσπεριδοειδών, σε σχέση με τεχνητά υποστρώματα που δεν έχουν οσμές (Ioannou et al., 2012). Βάση άλλων πειραμάτων που έχουν γίνει, τα θηλυκά προσγειώνονται και περνούν περισσότερο χρόνο σε σφαίρες από τις οποίες εκλύεται φερομόνη αρσενικών εκτεθειμένων σε έλαια πορτοκαλιάς και λιγότερο σε αυτές από τις οποίες εξέρχεται φερομόνη μη εκτεθειμένων αρσενικών (Papadopoulos et al., 2006). Επίσης, τα θηλυκά προτιμούν να εναποθέτουν τα ωά τους σε πορτοκάλια που εκλύουν περισσότερα αιθέρια έλαια (έχει γίνει τομή με τεχνητό τρόπο), παρά σε πορτοκάλια που εκλύουν φυσιολογικά τα αιθέρια έλαιά τους (χωρίς καμία παρέμβαση) (Katsoyannos et al., 1996).

Τοξικές επιδράσεις αιθέριων ελαίων

Οι επιδράσεις των αιθέριων ελαίων των φρούτων στις διάφορες δραστηριότητες της μύγας της Μεσογείου είναι προφανείς. Παρ' όλα αυτά, οι επιδράσεις αυτές δεν είναι πάντα θετικές. Παρακάτω, παρατίθενται οι τοξικές επιδράσεις που μπορεί να έχουν τα αιθέρια έλαια των φρούτων εσπεριδοειδών και μπορεί να επηρεάσουν αρνητικά (μειώνοντας την επιβίωση, τη γονιμότητα και τη μακροζωία) τις δραστηριότητες των ατόμων της μύγας της Μεσογείου.

Οι τοξικές αυτές επιδράσεις μπορούν να θεωρηθούν μηχανισμοί άμυνας των φρούτων κατά της μύγας της Μεσογείου και άρα να προσφέρουν έναν δυνητικό τρόπο αντιμετώπισής της. Διάφορες ποικιλίες εσπεριδοειδών ασκούν επιρροές στον κύκλο ζωής της μύγας, ειδικά στα ανώριμα στάδια, σε ποικίλες παραμέτρους, όπως τα ποσοστά επιβίωσης και τους χρόνους ανάπτυξης. Τα χημικά και φυσικά χαρακτηριστικά του φλοιού των εσπεριδοειδών δείχνουν να αποτελούν ένα σημαντικό εμπόδιο στην προσβολή των καρπών από τη μύγα της Μεσογείου (Parachristos et al., 2008). Ο φλοιός των εσπεριδοειδών αποτελεί το πρώτο εμπόδιο που συναντούν τα αυγά και οι προνύμφες των Τερηριτιδαε. Για να επιβιώσουν και να αναπτυχθούν οι νεοεισαχθείσες προνύμφες, πρέπει να βρουν τρόπο να περάσουν από το φλοιό προς το πιο θρεπτικό σαρκώδες τμήμα του φρούτου. Χαρακτηριστικά του φλοιού και ειδικά

το πάχος του, εμποδίζουν τα θηλυκά να γεννήσουν αυγά μακριά από το τμήμα του φλοιού που έχει τοξικές ιδιότητες, με αποτέλεσμα την υψηλή θνησιμότητα ανήλικων ατόμων της μύγας της Μεσογείου (Papachristos et al., 2008). Σύμφωνα με πειράματα που έχουν γίνει, το ποσοστό της εναπόθεσης των αυγών στην περιοχή του φλοιού (flavedo ή albedo) των φρούτων διέφερε ανάλογα με την ποικιλία των εσπεριδοειδών.

Τα θηλυκά άτομα είναι ικανά να εντοπίζουν τις δόσεις των αιθέριων ελαίων των φλοιών των εσπεριδοειδών, καθώς επίσης και τις ατομικές ενώσεις της σύνθεσής τους (Ioannou et al., 2012). Επίσης, τα ωτοκοκύντα θηλυκά έχουν την τάση να εναποθέτουν τα ωά τους μέσα ή κοντά σε πληγές καρπών εσπεριδοειδών, ώστε να κατευθύνουν την ωτοκία μακριά από τις τοξικές περιοχές της φλούδας. Αυτός είναι ένας τρόπος προσαρμογής τους, στις συνθήκες αυτές (Papadopoulos et al., 2013). Επιπλέον, τα θηλυκά όταν ωτοκοκύν στους υγιείς ιστούς των φρούτων των εσπεριδοειδών, έχουν την ικανότητα να το κάνουν αποφεύγοντας τους ελαιογόνους αδένες των φρούτων (που είναι πηγές των αιθέριων ελαίων) και οι οποίοι είναι ιδιαίτερα τοξικοί για τις προνύμφες (Papachristos and Papadopoulos, 2009).

Σε προγενέστερα πειράματα βρέθηκε ότι, τα θηλυκά εναπόθεσαν περισσότερα αυγά σε τεχνητά υποστρώματα σε σχέση με τους καρπούς εσπεριδοειδών (με εξαίρεση το νεράντζι). Η παραπάνω διαπίστωση οδήγησε στο συμπέρασμα πως τα περισσότερα εσπεριδοειδή προκαλούν μία σημαντική μείωση της αναπαραγωγικής ικανότητας της μύγας της Μεσογείου. Αυτό εξηγείται λόγω της παρουσίας συγκεκριμένων σημαντικών ελαιωδών αδένων στην περιοχή του φλοιού (flavedo και albedo) των φρούτων. Τα σημαντικά αυτά έλαια των φρούτων προφανώς αυξάνουν το βαθμό αντίστασης των εσπεριδοειδών στην προσβολή της μύγας της Μεσογείου (Papachristos & Papadopoulos, 2009).

Τα ποιοτικά χαρακτηριστικά των αιθέριων ελαίων (πέρα από τη δόση) μπορούν να επηρεάσουν την αποτελεσματικότητά τους ως αμυντικοί μηχανισμοί (Ioannou et al., 2012). Οι διαφορές στη σύνθεση αιθέριων ελαίων του φλοιού μεταξύ των διαφορετικών ειδών εσπεριδοειδών είναι αποτέλεσμα των έμφυτων βοτανικών χαρακτηριστικών τους. Μία σειρά από μελέτες που

έχουν διεξαχθεί από τους Papadopoulos et al. (2006), δείχνουν ότι κατά την ωρίμανση των εσπεριδοειδών, παρουσιάζονται ριζικές αλλαγές στις ιδιότητες του κάθε είδους. Πιο συγκεκριμένα, καθώς τα εσπεριδοειδή ωριμάζουν, η περιεκτικότητα των αιθέριων ελαίων του φλοιού, σε λιναλούλη (που είναι υπεύθυνη για τη θνησιμότητα προνυμφών) σταδιακά μειώνεται και το λιγότερο τοξικό λιμονένιο καθίσταται το κύριο συστατικό. Επίσης βάση αυτού, άλλη έρευνα έχει δείξει πως τα αιθέρια έλαια του πορτοκαλιού και του νεραντζιού (96,2% και 97,4% λιμονένιο αντίστοιχα) είναι τοξικότερα από αυτά του λεμονιού (74,3% λιμονένιο) εναντίον των προνυμφών της μύγας της Μεσογείου (Papadopoulos et al., 2006).

Συμπερασματικά, οι υψηλές συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών έχουν αρνητικές επιπτώσεις στην ωστοκία, αυτό σημαίνει μείωση της εκκόλαψης των αυγών, αυξημένη θνησιμότητα των προνυμφών πρώιμου σταδίου, ή καταστολή της ανάπτυξής τους, (Papadopoulos et al., 2006) καθώς επίσης και μείωση της επιβίωσης τόσο των αρσενικών, όσο και των θηλυκών ενήλικων ατόμων της μύγας της Μεσογείου.

Σκοπός της παρούσας εργασίας

Πολλά είδη εσπεριδοειδών θεωρούνται από τους κυριότερους ξενιστές της μύγας της Μεσογείου. Επομένως, η αλληλεπίδραση μεταξύ των ξενιστών και της συμπεριφοράς των ατόμων της μύγας της Μεσογείου είναι αδιαμφισβήτητη. Η μελέτη της επίδρασης των αιθέριων ελαίων των εσπεριδοειδών στον σοβαρό αυτό εντομολογικό εχθρό τους, είναι πολύ σημαντική. Ενώ, έχει μελετηθεί εκτενώς η επίδραση των αιθέριων ελαίων των εσπεριδοειδών στα μικρά (πρώιμα) στάδια της μύγας της Μεσογείου, δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες για την επίδρασή τους στα ενήλικα στάδια.

Σκοπός της εργασίας αυτής, ήταν

- ο προσδιορισμός της τοξικότητας τριών αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών (πορτοκάλι- *C. sinensis*, λεμόνι- *C. limon* και περγαμόντο- *C. bergamina*) σε ενήλικα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου

- η μελέτη της επίδρασης των αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών, στις βιολογικές παραμέτρους (επιβίωση και ωοπαραγωγή) θηλυκών της μύγας της Μεσογείου
- η διερεύνηση της επίδρασης υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού στην ανθεκτικότητα/ανεκτικότητα θηλυκών εργαστηριακής φυλής που εκτράφηκαν σε καρπούς διαφορετικών ξενιστών για μία γενεά

2.Υλικά και Μέθοδοι

Συνθήκες εργαστηρίου

Τα πειράματα της παρούσας Μεταπτυχιακής διατριβής πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, στο Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, στο Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Τα πειράματα διήρκησαν περίπου 6 μήνες και συγκεκριμένα από το Μάρτιο του 2014 έως το Σεπτέμβριο του 2014.

Οι συνθήκες στους εργαστηριακούς χώρους ήταν σταθερές, καθ' όλη τη διάρκεια των πειραμάτων. Η θερμοκρασία ήταν $25\pm 2^{\circ}\text{C}$, η σχετική υγρασία ήταν $60\pm 5\%$ (Σ.Υ) και η φωτοπερίοδος 14:10 (Φ:Σ.), με τη φωτόφαση από τις 7:00 π.μ. έως και τις 9:00 μμ. Η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία στους πειραματικούς χώρους ρυθμιζόνταν και διατηρούνταν σταθερές ανεξάρτητα από τις εξωτερικές συνθήκες περιβάλλοντος με τη βοήθεια κλιματικής μονάδας STULZ Comp Trol 1001 (Diamar Ltd). Ο φωτισμός στον πειραματικό χώρο του εργαστηρίου προέρχονταν από λαμπτήρες φθορισμού (daylight type), καθώς και από φυσικό φωτισμό, μέσω των παραθύρων που βρίσκονται στην οροφή των εγκαταστάσεων. Η φωτοπερίοδος στους χώρους εκτροφής και στους χώρους διεξαγωγής των πειραμάτων ρυθμιζόταν με ειδικές συσκευές (χρονόμετρα), προσαρμοσμένες στην περιοχή ηλεκτρικού ρεύματος των λαμπτήρων. Η ένταση του φωτός στον πειραματικό χώρο ήταν 1500 lux και ο αερισμός ήταν πάντα επαρκής.

Επιπλέον, κατά την εκτέλεση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν κλίβανοι αποστείρωσης για την αποστείρωση της άμμου που χρησιμοποιήθηκε στις εκτροφές, θάλαμοι χαμηλών θερμοκρασιών για την αποθήκευση των αιθέριων ελαίων και κατάλληλοι αποθηκευτικοί χώροι.

Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, χρησιμοποιήθηκαν έντομα από την εργαστηριακή φυλή «Μπενάκειο» της μύγας της Μεσογείου, τα οποία εκτρέφονται στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του

Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, για πάνω από 30 χρόνια, σε σταθερές ελεγχόμενες συνθήκες, οι οποίες αναφέρθηκαν παραπάνω.

Εκτροφή των εντόμων

Η εκτροφή των εντόμων έγινε σε ειδικά δωμάτια, ελεγχόμενων συνθηκών, με σταθερή θερμοκρασία, σχετική υγρασία και φωτοπερίοδο. Η εκτροφές έγιναν σε ξύλινα κλουβιά (30x30x30cm) (Εικόνα 2.1).



Εικόνα 2.1 Ξύλινο κλουβί εκτροφής μύγας της Μεσογείου.

Το κάθε κλουβί από τη μία πλευρά ήταν ανοικτό, με προσαρμοσμένο ένα κομμάτι συρμάτινου πλέγματος, ώστε να αερίζεται. Μία άλλη πλευρά του κλουβιού ήταν με γυαλί που μας επέτρεπε να εποπτεύουμε τον πληθυσμό. Επίσης μέσα στο κλουβί πάντα υπήρχε διαθέσιμο καθαρό νερό για τα έντομα αλλά και τροφή (υδρολυμένη πρωτεΐνη, ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:4:5, αντίστοιχα). Οι εκτροφές ξεκινούσαν από τα αυγά που συλλέγονταν (με τη βοήθεια μαλακού πινέλου) από προηγούμενες γενεές, τοποθετούνταν 100-150 αυγά σε βαμβάκι με ειδική τροφή, πάνω σε δίσκο βάμβακος και μέσα σε τριβλίο. Η τροφή των προνυμφών αποτελούνταν από 100gr ζάχαρη, 100gr μαγιά

μπύρας, 50gr αλευριού σόγιας, 8gr ασκορβικού οξέος, 8gr κιτρικού οξέος, 2gr μίγματος αλάτων και 1,5gr προπιονικού νατρίου, διαλυμένα σε 500ml νερού. Έπειτα τα τρυβλία τοποθετούνταν σε λεκάνες με αποστειρωμένη άμμο και κάθε φορά αναγράφονταν η ημερομηνία συλλογής. Εν συνεχεία προστίθεντο βαμβάκια εμποτισμένα με τροφή, όποτε κρινόταν ότι είναι απαραίτητο. Μετά από 6-7 περίπου ημέρες οι προνύμφες άρχιζαν να εξέρχονται από τα τρυβλία και να νυμφωθούν στην άμμο. Όταν όλες οι προνύμφες είχαν νυμφωθεί, τότε γίνονταν κοσκίνισμα της άμμου και συλλογή των νυμφών. Τέλος, οι νύμφες τοποθετούνταν σε τρυβλία Petri και καταγραφόταν η ημερομηνία νύμφωσης. Οι νύμφες που συλλέγονταν τοποθετούνταν σε νέο, καθαρό ξύλινο κλουβί με νερό και τροφή ενηλίκων. Έπειτα από δέκα περίπου ημέρες εξέρχονταν τα ενήλικα από το νυφικό περίβλημα και γινόταν καταγραφή της ημερομηνίας εξόδου τους. Τα ενήλικα έπειτα από 5 περίπου ημέρες ήταν ώριμα αναπαραγωγικά και συνεπώς έτοιμα να συζευχθούν. Τότε τοποθετούνταν στο κλουβί τεχνικά υποστρώματα ωτοκίας, πλαστικά ημισφαίρια, κόκκινου χρώματος (dome) (Εικόνα 2.2).



Εικόνα 2.2. Τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας (dome).

Τα υποστρώματα αυτά έφεραν μικρές οπές, ομοιόμορφα κατανεμημένες, εντός των οποίων τα θηλυκά τοποθετούσαν τον ωothήτη και εναπόθεταν τα αυγά στο εσωτερικό του. Η διαδικασία επαναλαμβανόταν συστηματικά, ώστε να διατηρείται η εκτροφή των εντόμων μας. Τα έντομα που

χρησιμοποιήθηκαν για τη διεξαγωγή των πειραμάτων της παρούσας διατριβής ήταν ενήλικα, ώριμα αναπαραγωγικά και τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη.

Αιθέρια έλαια

Τα αιθέρια έλαια, που χρησιμοποιήθηκαν για την διεκπεραίωση των πειραμάτων, προήλθαν από το Μπενάκειο Φυτοπαθολογικό Ινστιτούτο, με τη βοήθεια του Δρ. Δ. Παπαχρήστου του τμήματος Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας. Πρόκειται για αιθέρια έλαια από καρπούς εσπεριδοειδών και πιο συγκεκριμένα αιθέρια έλαια από πορτοκάλι, λεμόνι και περγαμόντο και εξήχθησαν με τη μέθοδο της απόσταξης. Η αποθήκευσή τους, στο Εργαστήριο Εντομολογίας όπου διεξήχθησαν τα πειράματα για τη συγκεκριμένη μελέτη, έγινε σε ειδικούς θαλάμους συντήρησης με σταθερή θερμοκρασία $5 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Για τις διαφορετικές εφαρμογές πραγματοποιούνταν αραιώσεις των συγκεκριμένων αιθέριων ελαίων με ακετόνη.

Πειραματική διαδικασία

2.1 Πιθανή τοξικότητα διαλύτη-ακετόνης

Πριν την διερεύνηση της τοξικότητας των αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών πραγματοποιήθηκε έλεγχος της τοξικότητας της ακετόνης (διαλύτης), που χρησιμοποιήθηκε στις αραιώσεις των αιθέριων ελαίων, σε ενήλικα θηλυκά, με τοπική εφαρμογή καθαρής ακετόνης στην κοιλιακή χώρα των εντόμων. Για τον προσδιορισμό της επίδρασης της ακετόνης χρησιμοποιήθηκαν 40 θηλυκά άτομα από την εργαστηριακή φυλή Μπενάκειο της μύγας της Μεσογείου. Η πειραματική διαδικασία που ακολουθήθηκε είναι όμοια με αυτή που εφαρμόστηκε κατά τη διεξαγωγή του πειράματος που διερευνούσε την τοξικότητα των αιθέριων ελαίων τριών εσπεριδοειδών (πορτοκάλι, λεμόνι, περγαμόντο) και περιγράφεται αναλυτικά παρακάτω.

Συγκεκριμένα, χρησιμοποιήθηκαν ατομικά πλαστικά κλουβάκια (εικόνα 2.3). Το κάθε κλουβί αποτελούνταν από ένα πλαστικό ποτήρι, στο οποίο η μία του πλευρά ήταν ανοικτή με προσαρμοσμένο ένα κομμάτι οργανίνης, που

επέτρεπε τον αερισμό, ενώ στο κάτω μέρος ήταν κολλημένο με χαρτοταινία το πάνω τμήμα ενός τρυβλίου Petri. Το τρυβλίο είχε εσοχή, μέσα από την οποία περνούσε απορροφητικό πανάκι ώστε να παρέχεται νερό στα άτομα που θα βρίσκονταν μέσα στο κλουβί. Επίσης στα τοιχώματα του κλουβιού τοποθετήθηκε τροφή με τη χρήση πιπέτας Pasteur. Το κλουβί τοποθετήθηκε στη βάση του αντίστοιχου τρυβλίου, μέσα στην οποία είχε τοποθετηθεί νερό.



Εικόνα 2.3. Ατομικά κλουβιά εντόμων.

Όταν τα ενήλικα έφτασαν στην ηλικία των 3 ημερών, έγινε τυχαία συλλογή κάποιων θηλυκών από την εκτροφή. Κάθε φορά χρησιμοποιούνταν πεντάδες ατόμων.

Για την εφαρμογή του ελαίου πραγματοποιήθηκε πρώτα αναισθητοποίηση των εντόμων. Η εκάστοτε πεντάδα θηλυκών ατόμων τοποθετήθηκε σε ειδικό μικρό κυλινδρικό βαζάκι με καπάκι όπου υπήρχε μία τρύπα. Μέσα από το κενό αυτό εισάχθηκε ποσότητα CO₂ που ήταν ικανή να αναισθητοποιήσει τα έντομα (Εικόνα 2.4).



Εικόνα 2.4. Σύστημα αναισθητοποίησης ενήλικων της μύγας της Μεσογείου με CO₂ .

Έπειτα τα έντομα τοποθετήθηκαν σε ειδική πλάκα σε ύπτια θέση και έγινε τοπική εφαρμογή, στην περιοχή της κοιλίας, ποσότητας ακετόνης (2μl/ άτομο). Για τη διαδικασία αυτή χρησιμοποιήθηκε μικροσύριγγα (0-10μl) και πιπέτες Pipettman (0-20μl). Εν συνεχεία, η κάθε πεντάδα ατόμων τοποθετήθηκε με μαλακή λαβίδα και ιδιαίτερη προσοχή, για αποφυγή τραυματισμών, στα ατομικά κλουβιά, που αναφέρθηκαν παραπάνω, και τα οποία ήταν αριθμημένα. Τα κλουβιά τοποθετήθηκαν ανά 11 ή 12 σε πλαστικούς δίσκους (ανάλογα με το μέγεθος του δίσκου) και μεταφέρθηκαν σε δωμάτια με ελεγχόμενες συνθήκες απ' όπου και έγινε η παρακολούθηση και η καταμέτρηση της θνησιμότητάς τους, σε ειδικά πρωτόκολλα μετά από 24 ώρες.

2.2 Προσδιορισμός τοξικότητας αιθέριων ελαίων σε ενήλικα θηλυκά

Σκοπός του πειράματος ήταν να ελεγχθεί η τοξικότητα των αιθέριων ελαίων του πορτοκαλιού, του λεμονιού και του περγαμόντου. Συγκεκριμένα έγινε υπολογισμός της ποσότητας αιθέριου ελαίου που ήταν ικανή να σκοτώσει το 50% του πληθυσμού της εργαστηριακής εκτροφής "Μπενάκειο" της μύγας της Μεσογείου. Για την περάτωση του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 1160 θηλυκά άτομα της μύγας της Μεσογείου. Η διαδικασία, που αναφέρθηκε παραπάνω για τον προσδιορισμό της πιθανής τοξικότητας του διαλύτη (ακετόνης), επαναλήφθηκε για διάφορες συγκεντρώσεις αιθέριων ελαίων

εσπεριδοειδών, ώστε με ακρίβεια να γίνει ο υπολογισμός του LD₅₀ από κάθε αιθέριο έλαιο. LD₅₀ είναι η απαιτούμενη δόση κάθε αιθέριου ελαίου που χρειάζεται για να πεθάνουν τα μισά μέλη του ελεγχόμενου πληθυσμού (μέση θανατηφόρος δόση). Οι αρχικές αραιώσεις ήταν 1% και 50% από κάθε αιθέριο έλαιο και ανάλογα με τα αποτελέσματα της τοξικότητας που εμφάνιζε στα θηλυκά άτομα της εκτροφής, ακολούθησαν και οι υπόλοιπες αραιώσεις, οι οποίες όπως ήταν αναμενόμενο, ήταν διαφορετικές για το κάθε είδος αιθέριο ελαίου εσπεριδοειδούς, καθώς είχαν διαφορετική τοξική επίδραση. Ο υπολογισμός της ποσότητας αιθέριου ελαίου κάθε αραιώσης έγινε με την απλή μέθοδο των τριών, καθώς η χρησιμοποιούμενη ποσότητα διαλύματος ήταν 250μl κάθε φορά. Οι αραιώσεις που ακολούθησαν ήταν 10% και 20% για τα αιθέρια έλαια πορτοκαλιού και λεμονιού και 0,1% και 0,5% για το αιθέριο έλαιο περγαμόντου. Έπειτα ακολούθησαν 3% και 5% για το πορτοκάλι και το λεμόνι και 0,2% και 0,3% για το περγαμόντο. Επίσης, έγιναν οι εφαρμογές 0,5%, 1,5%, 2% και 2,5% αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού και λεμονιού και 0,4% και 0,6% αιθέριου ελαίου περγαμόντου (Πίνακας 2.1). Η κάθε αραιώση εφαρμόστηκε σε τουλάχιστον 40 άτομα στην ηλικία των 3 ημερών.

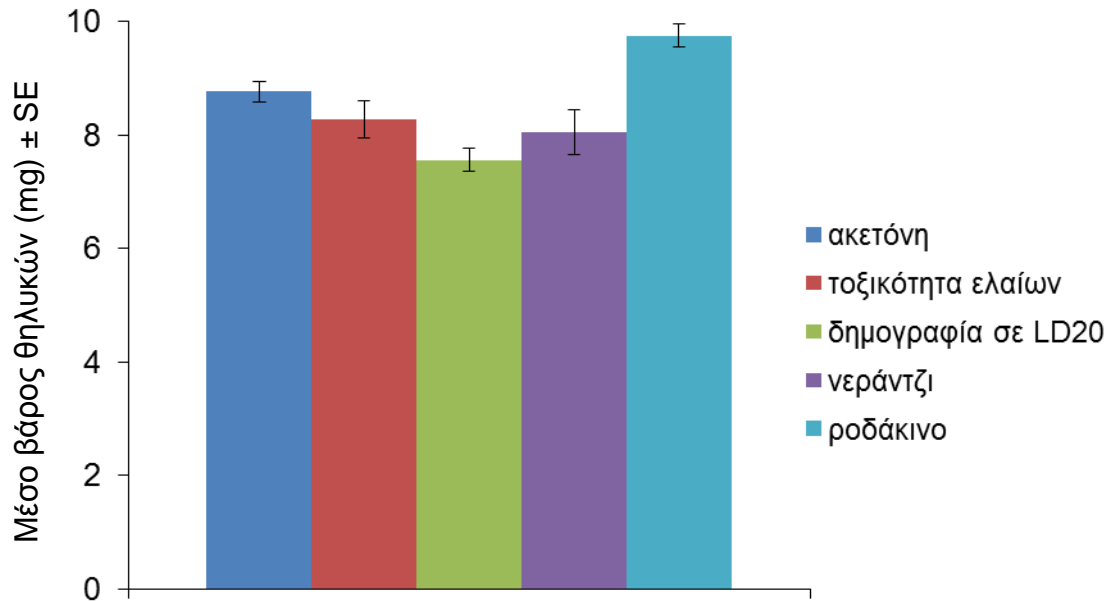
Πίνακας 2.1. Αραιώσεις αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου που εφαρμόστηκαν σε ενήλικα θηλυκά ώστε να βρεθεί το LD₅₀ για το εκάστοτε αιθέριο έλαιο.

	Πορτοκάλι	Λεμόνι	Περγαμόντο
Αραιώσεις (%)	0,5	0,5	0
	1	1	0,1
	1,5	1,5	0,2
	2	2	0,3
	2,5	2,5	0,4
	3	3	0,5
	5	5	0,6
	10	10	1
	20	20	50
	50	50	

Τέλος, σε κάθε πείραμα πραγματοποιούνταν ζύγιση αντιπροσωπευτικού αριθμού θηλυκών (15-30 ατόμων), με ζυγό ακριβείας Precisa 40SM- 200A (± 0.01 mg) (Εικόνα 2.5), ώστε να εξασφαλιστεί ότι η επίδραση των αιθέριων ελαίων δεν επηρεάστηκε από το μέγεθος/βάρος των θηλυκών. Το μέσο βάρος των θηλυκών κάθε μεταχείρισης δίνεται στο Διάγραμμα 2.1. Δεν παρατηρήθηκαν στατιστικώς σημαντικές διαφορές στο βάρος μεταξύ των θηλυκών που ζυγίστηκαν ($P > 0,05$).



Εικόνα 2.5. Ζυγός ακριβείας Precisa 40SM- 200A.



Διάγραμμα 2.1. Μέσο βάρος ενήλικων θηλυκών για τις διάφορες μεταχειρίσεις (βλέπε παρακάτω)

2.3 Επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου

Σκοπός του συγκεκριμένου πειράματος ήταν να καταγραφεί η επίδραση που έχουν οι υποθανατηφόρες δόσεις αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών στις βιολογικές παραμέτρους της μύγας της Μεσογείου. Συγκεκριμένα, διερευνήθηκε η επίδραση που έχουν τα αιθέρια έλαια του πορτοκαλιού, του λεμονιού και του περγαμόντου στην ωοπαραγωγή και τη θνησιμότητα ενήλικων θηλυκών ατόμων της εργαστηριακής φυλής «Μπενάκειο» της μύγας της Μεσογείου. Υποθανατηφόρος δόση αιθέριου ελαίου, θεωρείται η ποσότητα του αιθέριου ελαίου που δεν προκαλεί θάνατο στο σύνολο των ατόμων του υπό εξέταση πληθυσμού. Για να καταγράψουμε τις επιδράσεις, έγινε τοπική εφαρμογή υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών (πορτοκαλιού, λεμονιού, περγαμόντου) στην κοιλιακή χώρα των θηλυκών στην ηλικία των 3 ημερών. Οι δόσεις ανέρχονταν στο LD₂₀ του κάθε αιθέριου ελαίου, το οποίο είχε υπολογιστεί στα αποτελέσματα του πρώτου πειράματος. Συγκεκριμένα, η ποσότητα αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού που χρησιμοποιήθηκε

ήταν 1,49 nl/θηλυκό, λεμονιού 4,65 nl/θηλυκό και περγαμόντου 3,26 nl/θηλυκό. Οι ποσότητες των αιθέριων ελαίων ήταν διαλυμένες σε 2 μl διαλύματος ακετόνης, ενώ στο μάρτυρα χρησιμοποιήθηκαν 2 μl καθαρής ακετόνης σε κάθε θηλυκό.

Για το δεύτερο πείραμα, χρησιμοποιήθηκαν εκ νέου ατομικά πλαστικά κλουβάκια. Τα κλουβάκια αυτά ήταν παρόμοια με το πρώτο πείραμα, με τη μόνη διαφορά πως στη βάση το τρυβλίο Petri έφερε σε ειδική οπή ένα τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας (κόκκινο πλαστικό ημισφαίριο- dome). Επίσης, από τη βάση του κλουβιού διαπερνούσε το απορροφητικό πανάκι για το νερό (Εικόνα 2.6). Στην ηλικία των 3 ημερών, πραγματοποιήθηκε εφαρμογή καθαρής ακετόνης (μάρτυρας) και υποθανατηφόρων δόσεων (LD_{20}) αιθέριων ελαίων (διάλυμα ακετόνης και ελαίων), με μικροσύριγγα (0-10μl). Έπειτα τα θηλυκά τοποθετήθηκαν σε αριθμημένα ατομικά κλουβάκια (1 θηλυκό/κλουβί).



Εικόνα 2.6. Ατομικά κλουβάκια εντόμων με υπόστρωμα ωτοκίας

Για την εφαρμογή του μάρτυρα χρησιμοποιήθηκαν 30 άτομα, αλλά χρειάστηκε να γίνει επανάληψη, καθώς υπήρχε υψηλή θνησιμότητα, οπότε χρησιμοποιήθηκαν επιπλέον 30 θηλυκά. Για τις εφαρμογές των αιθέριων ελαίων χρησιμοποιήθηκαν 50 άτομα για το καθένα αιθέριο έλαιο. Τα κλουβιά με

τον ίδιο τρόπο τοποθετήθηκαν σε πλαστικούς δίσκους και μεταφέρθηκαν σε δωμάτια με ελεγχόμενες συνθήκες.

Καθημερινά γινόταν καταμέτρηση και καταγραφή σε ειδικά πρωτόκολλα της θνησιμότητας και της ωοπαραγωγής του κάθε ατόμου.

Η συλλογή από το υπόστρωμα ωοτοκίας και καταμέτρηση των ωών, γίνονταν με υγρό πινέλο και τοποθέτησή τους πάνω σε δίσκο καλυμμένο με ένα υγρό μαύρο ύφασμα για να γίνεται πιο εύκολα η διάκρισή και καταμέτρησή τους, μακροσκοπικά (με γυμνό μάτι). Η καταμέτρηση της θνησιμότητας και της ωοπαραγωγής συνεχίστηκε για το κάθε άτομο σε καθημερινή βάση μέχρι το τέλος της ζωής του.

Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 210 ενήλικα θηλυκά. Η ζύγιση αντιπροσωπευτικού μεγέθους (10-15 άτομα) του πληθυσμού των εντόμων έγινε και σε αυτό το πείραμα.

2.4 Επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε θηλυκά της φυλής Μπενάκειο που εκτράφηκαν για μια γενεά σε καρπούς ξενιστών

Σε αυτό το πείραμα διερευνήθηκε η επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού στη θνησιμότητα θηλυκών της φυλής Μπενάκειο της μύγας της Μεσογείου που εκτράφηκαν για μία γενεά σε διαφορετικούς καρπούς ξενιστών. Συγκεκριμένα τα θηλυκά εκτράφηκαν σε εσπεριδοειδή (νεράντζια), γιγαρτόκαρπα (μήλα) και πυρηνόκαρπα (ροδάκινα). Παρατηρήθηκε εάν και κατά πόσο δημιουργήθηκε κάποιο είδος ανεκτικότητας ή αυξήθηκε η ανεκτικότητα των ατόμων στα αιθέρια έλαια του πορτοκαλιού.

Για τους σκοπούς του πειράματος στα κλουβιά της εργαστηριακής εκτροφής «Μπενάκειο» τοποθετήθηκαν καρποί, ώστε τα θηλυκά άτομα της εργαστηριακής φυλής να ωοτοκήσουν και να προκύψουν θηλυκά από προνύμφες που τράφηκαν εντός των καρπών. Οι καρποί νεραντζιάς συλλέχθηκαν από δέντρα στο κέντρο της πόλης του Βόλου, ενώ το εργαστήριο Εντομολογίας προμηθεύτηκε τους καρπούς ροδακινιάς και μηλιάς από την

αγορά. Τα φρούτα τοποθετήθηκαν στα κλουβιά των εκτροφών (Εικόνα 2.7) για μικρό χρονικό διάστημα (10 - 20 min.), ώστε τα θηλυκά των εκτροφών να γεννήσουν ικανοποιητικό αριθμό ωών εντός των φρούτων αλλά να μην υπάρξει υψηλή ανταγωνιστικότητα μεταξύ των προνυμφών ώστε να παραχθεί πληθυσμός, κανονικού μεγέθους, από τους ξενιστές αυτούς.



Εικόνα 2.7. Ξύλινο κλουβί εκτροφής μύγας της Μεσογείου με καρπούς νεραντζιάς στο εσωτερικό για την ωοτοκία και τη δημιουργία νέων πληθυσμών

Στη συνέχεια οι καρποί μεταφέρθηκαν στους 25 °C και τοποθετήθηκαν σε πλαστικές λεκάνες διαστάσεων 45x35 cm βάση, 16 cm ύψος, επάνω σε λεπτό στρώμα άμμου πάχους 2 cm περίπου. Στη συνέχεια οι λεκάνες σκεπάστηκαν με τμήματα λεπτής οργανίνης. Η άμμος βοήθησε στη συγκράτηση των χυμών των αποσυντετημένων καρπών και αποτέλεσε το υπόστρωμα νύμφωσης των εξερχόμενων προνυμφών. Κάθε δύο περίπου ημέρες γινόταν έλεγχος της εξόδου και της νύμφωσης των προνυμφών, οι οποίες συλλέχθηκαν με τη βοήθεια μαλακής λαβίδας από το υπόστρωμα της άμμου. Μετά την έξοδο και τη νύμφωση του συνόλου των προνυμφών, οι καρποί απομακρύνθηκαν, με προσοχή, από τις λεκάνες και ακολούθησε κοσκίνισμα της άμμου με σκοπό τη συγκέντρωση όλων των εναπομεινάντων νυμφών. Ανά διαστήματα γινόταν ανανέωση της άμμου καθώς αποκτούσε υψηλή υγρασία.

Ο έλεγχος του κάθε δείγματος διήρκησε τουλάχιστον 15 ημέρες ανάλογα το είδος του καρπού και ολοκληρώθηκε με το πλύσιμο της άμμου για τη συλλογή και των τελευταίων νυμφών που πιθανόν υπήρχαν και καταγράφηκαν οι εκάστοτε ημερομηνίες. Από το κάθε είδος καρπού παράχθηκε ικανοποιητικός πληθυσμός για την επιτυχή διεξαγωγή του πειράματος. Τέλος, οι νύμφες που συλλέχθηκαν από τα διάφορα είδη καρπών τοποθετήθηκαν σε τρυβλία Petri και μεταφέρθηκαν σε κατάλληλο εργαστηριακό χώρο ελεγχόμενων συνθηκών, αφού πρώτα είχε γίνει καταγραφή των πληροφοριών κάθε συλλογής σε καρτέλα πάνω στο εκάστοτε τρυβλίο. Εν συνεχεία, οι προνύμφες χωρίστηκαν σε μικρότερους πληθυσμούς και τοποθετήθηκαν σε κλουβιά εκτροφής, με νερό και τροφή όπως και στα προηγούμενα πειράματα. Τα κλουβιά παρέμειναν στο εργαστήριο σε ελεγχόμενες συνθήκες ώστε να προκύψουν τα ενήλικα της πειραματικής διαδικασίας. Αφού ολοκληρώθηκε η έξοδος των ενηλίκων και στην ηλικία των 3 ημερών, ακολουθώντας την ίδια μέθοδο με το πρώτο πείραμα, έγινε εφαρμογή αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε συγκέντρωση LD₅₀. Τα άτομα τοποθετήθηκαν ανά πεντάδες σε ατομικά αριθμημένα κλουβιά με επαρκή τροφή και νερό. Τα κλουβιά τοποθετήθηκαν πάλι σε δίσκους και μεταφέρθηκαν σε δωμάτια με ελεγχόμενες συνθήκες απ' όπου έγινε η παρακολούθηση και η καταμέτρηση της θνησιμότητάς τους, σε ειδικά πρωτόκολλα ανά 24 ώρες και για 3 ημέρες.

Στατιστική επεξεργασία

Οι στατιστικές αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν με χρήση του στατιστικού πακέτου SPSS 24.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Τα στοιχεία θνησιμότητας των βιοδοκιμών που πραγματοποιήθηκαν για κάθε δόση αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου υποβλήθηκαν σε ανάλυση Probit και υπολογίστηκαν οι τιμές των θανατηφόρων δόσεων (Lethal Doses – LD) LD₂₀, LD₅₀ και LD₉₀ καθώς και τα 95% όρια εμπιστοσύνης τους. Οι συγκρίσεις μεταξύ των τιμών LD₂₀, LD₅₀ και LD₉₀ έγιναν με βάση την αλληλοεπικάλυψη των ορίων εμπιστοσύνης. Η επίδραση των υποθανατηφόρων δόσεων LD₂₀ κάθε αιθέριου ελαίου στην επιβίωση των θηλυκών, στην περίοδο ωοτοκίας και στην περίοδο μετά την ωοτοκία υπολογίστηκαν με τον εκτιμητή Kaplan Meier και οι συγκρίσεις πραγματοποιήθηκαν με το κριτήριο log rank (Mantel-Cox). Η επίδραση των υποθανατηφόρων δόσεων LD₂₀ των αιθέριων ελαίων στην ωοτοκία των

θηλυκών υπολογίστηκε με τη Ανάλυση Παραλλακτικότητας (Univariate ANOVA). Ο έλεγχος της κανονικότητας των δεδομένων έγινε με το κριτήριο Levene ($P > 0,05$) και οι ανά δύο συγκρίσεις των μέσων όρων έγιναν με το κριτήριο της Ελάχιστης Κοινής Διαφοράς (Least Significant Difference – LSD; $P < 0,05$). Τέλος, η τοξική επίδραση της LD₅₀ αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε θηλυκά της φυλής Μπενάκειο που εκτράφηκαν για μία γενιά σε νεράντζια, ροδάκινα και μήλα πραγματοποιήθηκε με τη μονοπαραγοντική ANOVA (Univariate ANOVA). Τα στοιχεία που χρησιμοποιήθηκαν στις αναλύσεις ήταν τα ποσοστά των νεκρών θηλυκών κάθε επανάληψης. Ο έλεγχος της κανονικότητας των δεδομένων έγινε με το κριτήριο Levene ($P < 0,05$) και οι ανά δύο συγκρίσεις των μέσων όρων έγιναν με το κριτήριο Least Significant Difference – LSD ($P < 0,05$).

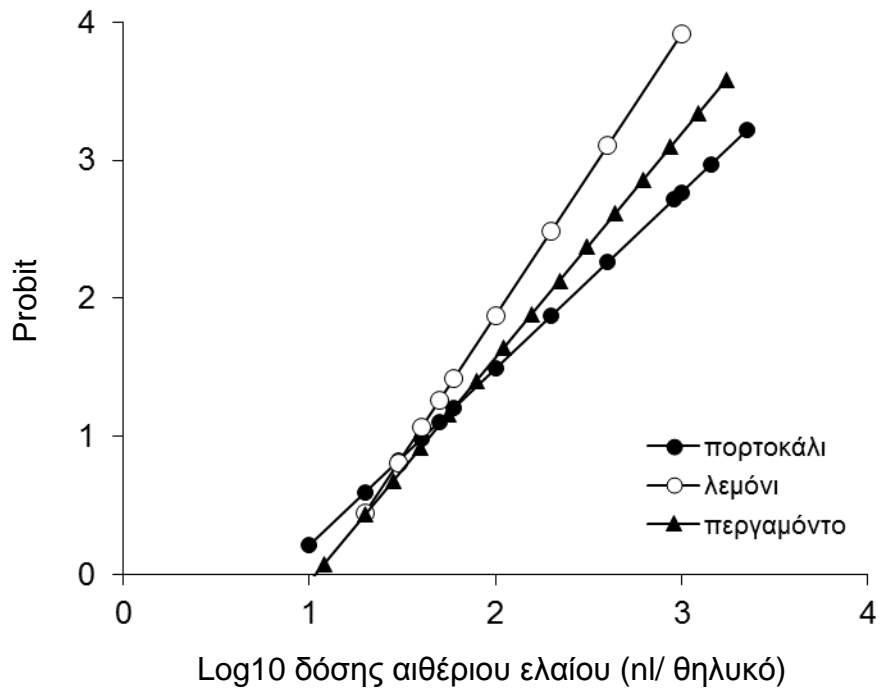
3 Αποτελέσματα

3.1. Πιθανή τοξικότητα διαλύτη (ακετόνης)

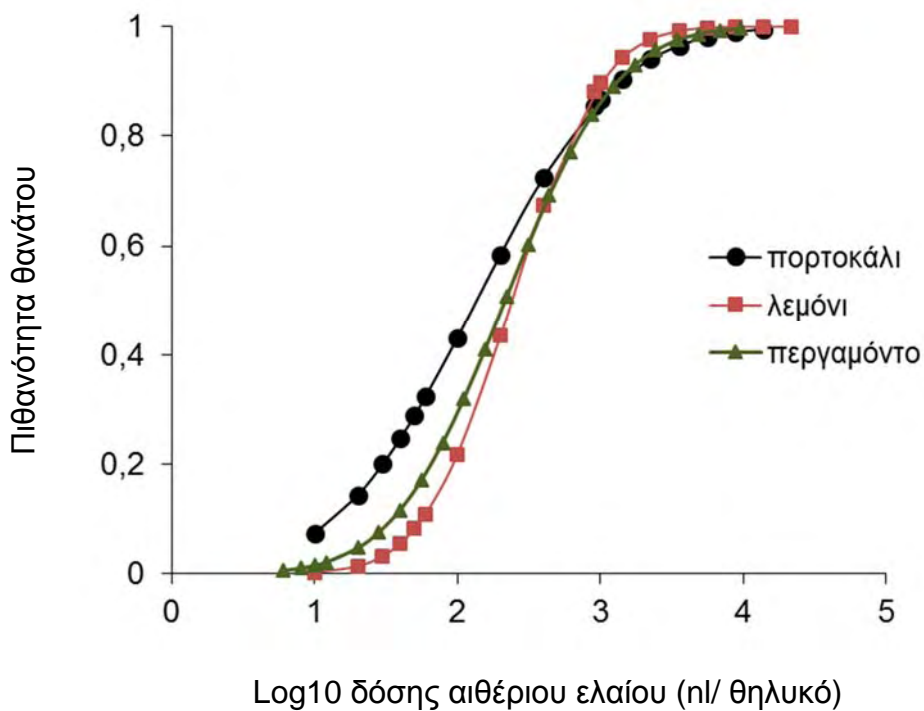
Τα αποτελέσματα στο πείραμα αυτό ήταν τα αναμενόμενα, καθώς δεν υπήρξαν τοξικές επιδράσεις της ακετόνης (διαλύτη) στον υπό εξέταση πληθυσμό. Συγκεκριμένα το πρώτο 24ωρο δεν υπήρξε καμία απώλεια, ενώ στις 48 και 72 ώρες υπήρξαν από δύο απώλειες σε κάθε μέτρηση. Συνολικά, υπήρξαν 4 απώλειες σε δείγμα 40 ατόμων τα πρώτα τρία 24ωρα.

3.2. Προσδιορισμός τοξικότητας αιθέριων ελαίων σε ενήλικα θηλυκά

Στα Διαγράμματα 3.1 και 3.2 δίνονται οι καμπύλες Probit και η πιθανότητα θανάτου των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου σε σχέση με τη δόση (nl) του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου που εφαρμόστηκε στην κοιλιακή χώρα. Το αιθέριο έλαιο πορτοκαλιού ήταν το πιο τοξικό από τα τρία αιθέρια έλαια με $LD_{50} = 6,81$ (0,26 - 15,11), το αιθέριο έλαιο περγαμόντου ήταν το δεύτερο πιο τοξικό $LD_{50} = 10,77$ (6,31 - 55,82) και το αιθέριο έλαιο λεμονιού ήταν το λιγότερο τοξικό απ' όλα $LD_{50} = 12,03$ (2,03 - 21,02). Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην τοξικότητα μεταξύ των τριών αιθέριων ελαίων που δοκιμάστηκαν (Πίνακας 3.1).



Διάγραμμα 3.1: Καμπύλες probit για τα αιθέρια έλαια πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου.



Διάγραμμα 3.2. Πιθανότητα θανάτου σε σχέση με την ποσότητα (nl) αιθέριου ελαίου των εσπεριδοειδών πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου που εφαρμόστηκε στην κοιλιακή χώρα θηλυκών της μύγας της Μεσογείου.

Πίνακας 3.1. Θανατηφόρες δόσεις (lethal doses – LD) LD₂₀, LD₅₀, και LD₉₀ για τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου στα οποία εφαρμόστηκαν τοπικά διαλύματα αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών (πορτοκάλι, λεμόνι, περγαμόντο) σε ακετόνη.

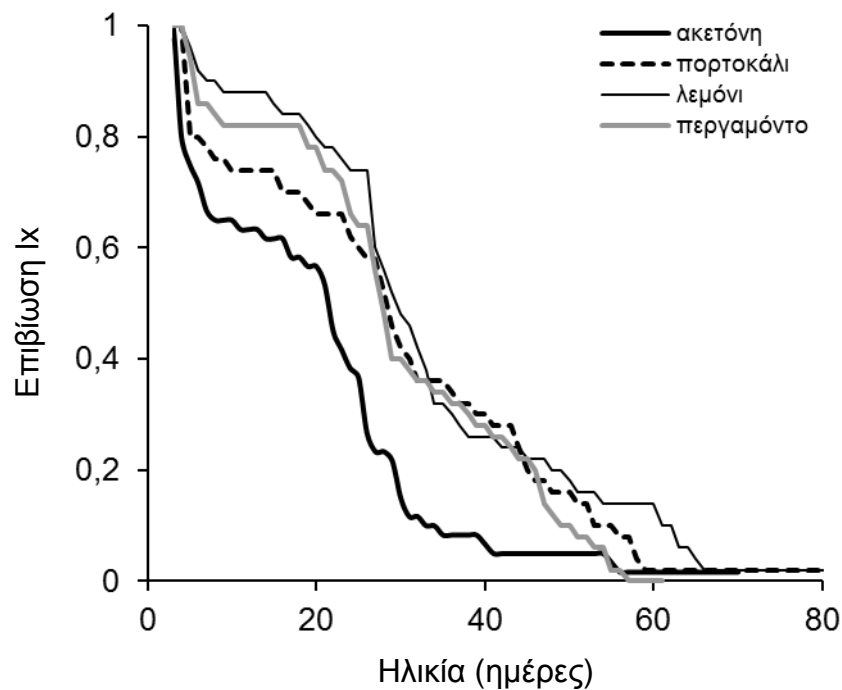
	Δόση σε nl/θηλυκό (95% όρια εμπιστοσύνης – CI ^α)			Κλίση ± SE	χ ^{2β}	df
	LD ₂₀	LD ₅₀	LD ₉₀			
Πορτοκάλι	1,49 (0,03-5,52)	6,81 (0,26-15,11)	68,47 (34,89-580,45)	1,28 ± 0,19	32,25	8
Λεμόνι	4,65 (0,11-10,32)	12,03 (2,03-21,02)	51,12 (28,98-355,51)	2,04 ± 0,24	50,92	8
Περγαμόντο	3,26 (0,32-5,65)	10,77 (6,31-55,82)	66,38 (23,2-47269,3)	1,62 ± 0,22	29,97	6

^α οι τιμές LD₂₀, LD₅₀ και LD₉₀ θεωρούνται ότι διαφέρουν στατιστικώς σημαντικά όταν τα 95% CI δεν αλληλεπικαλύπτονται.

^βχ² goodness-of-fit test (P>0,05).

3.3 Επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου

Στο Διάγραμμα 3.3 δίνονται οι καμπύλες επιβίωσης των θηλυκών στα οποία, την 3^η ημέρα μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα, εφαρμόστηκαν υποθανατηφόρες δόσεις LD₂₀ αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου καθώς και των θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκε καθαρός διαλύτης – ακετόνη και αποτέλεσαν το μάρτυρα. Τα θηλυκά στα οποία εφαρμόστηκε υποθανατηφόρος δόση αιθέριου ελαίου λεμονιού ήταν τα μοκροβιότερα ακολουθούμενα από αυτά στα οποία εφαρμόστηκε αιθέριο έλαιο περγαμόντου και πορτοκαλιού χωρίς να εμφανίζουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές μεταξύ τους στις διάρκειες ζωής τους. Ωστόσο, τα θηλυκά στα οποία εφαρμόστηκε ακετόνη και αποτέλεσαν το μάρτυρα έζησαν σημαντικά λιγότερο σε σχέση με τα θηλυκά στα οποία εφαρμόστηκε υποθανατηφόρος δόση αιθέριου ελαίου εσπεριδοειδούς (Πίνακας 3.2).

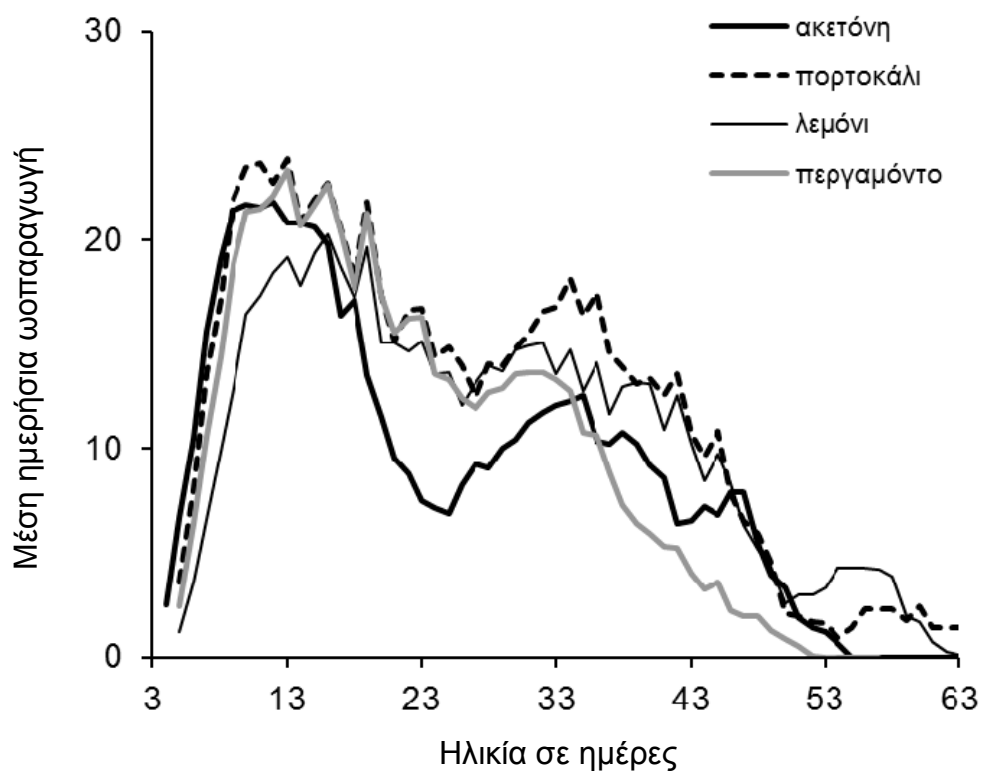


Διάγραμμα 3.3. Καμπύλες επιβίωσης των θηλυκών στα οποία την 3^η ημέρα μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα εφαρμόστηκαν 2 μl διαλυμάτων υποθανατηφόρων δόσεων LD₂₀ αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου και θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκε ίση ποσότητα διαλύτη (ακετόνης) και αποτελούσαν το μάρτυρα.

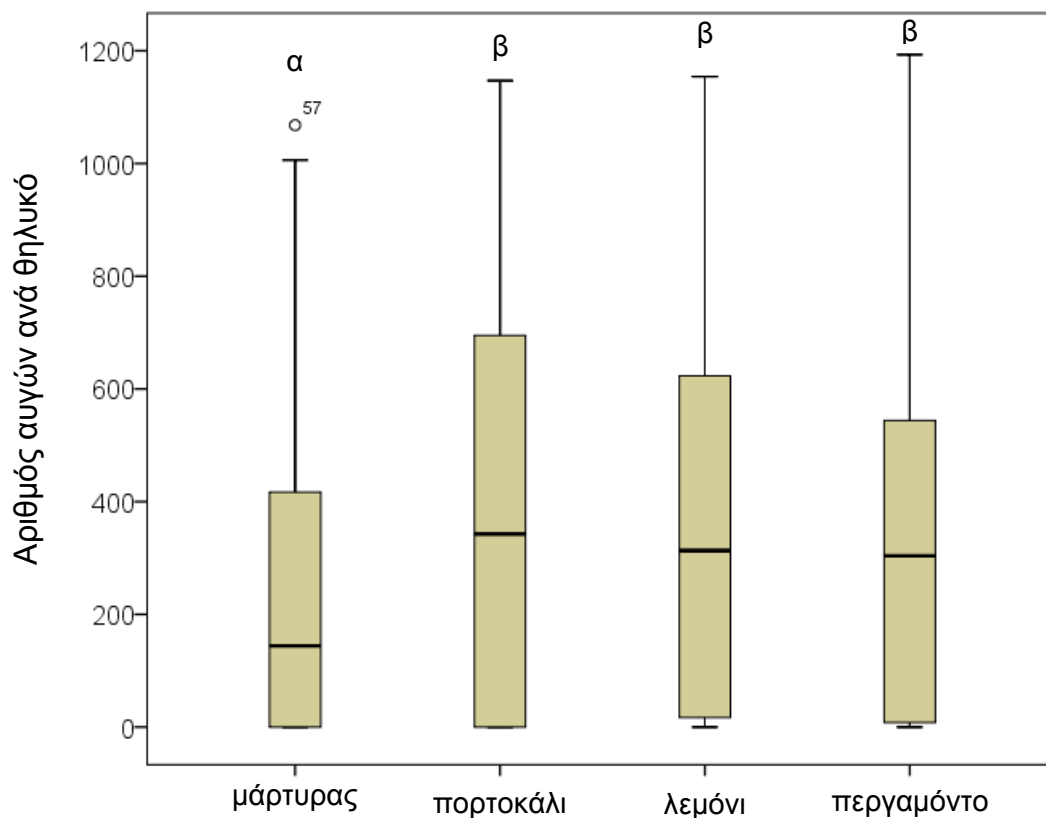
Πίνακας 3.2. Μέση διάρκεια ζωής και τεταρτημόρια (quartiles) των θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκε ακετόνη και αποτελούσαν το μάρτυρα και των θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκε η υποθανατηφόρος δόση LD₂₀ διαλυμάτων των αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου σε ακετόνη.

Παράμετροι επιβίωσης σε μέρες (αριθμός θηλυκών)				
Θηλυκά μεταχειρίσεων	M.O. ± SE	Quartiles		
		25	50	75
μάρτυρας(n=60)	21,50±2,09α	28±2,24	23±1,10	6±0,86
πορτοκάλι(n=50)	28,36±2,68 β	43±3,62	28±1,76	9±6,82
λεμόνι (n=50)	32,36±2,54β	41±7,25	29± 2,02	23 ±2,17
περγαμόντο (n=50)	28,70±2,14β	42±4,83	27±0,88	20±5.82

Στο Διάγραμμα 3.4 δίνεται η μέση ημερήσια ωοπαραγωγή (κυλιόμενος μέσος όρος 5 ημερών) θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκαν υποθανατηφόρες δόσεις LD₂₀ αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου καθώς και των θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκε καθαρός διαλύτης – ακετόνη και αποτέλεσαν το μάρτυρα. Η εφαρμογή υποθανατηφόρου δόσης LD₂₀ αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών αύξησε σημαντικά την ωοπαραγωγή των θηλυκών σε σχέση με την ωοπαραγωγή θηλυκών που αποτελούσαν το μάρτυρα ($F = 2,752$, $df = 3, 209$, $P < 0,05$) ανεξάρτητα από το είδος του αιθέριου ελαίου (Διάγραμμα 4.5). Επιπλέον, η υποθανατηφόρος δόση LD₂₀ αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών αύξησε σημαντικά την περίοδο ωοτοκίας των θηλυκών (Log-Rank Mantel-Cox $\chi^2 = 10,03$, $df = 3$, $P < 0,05$) χωρίς όμως στατιστικώς σημαντική επίδραση στην περίοδο μετά την ωοτοκία (Πίνακας 3.3).



Διάγραμμα 3.4. Καμπύλες ωοπαραγωγής (κυλιόμενος μέσος όρος 5 ημερών) των θηλυκών στα οποία την 3^η ημέρα μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα εφαρμόστηκαν 2 μλ διαλυμάτων υποθανατηφόρων δόσεων LD₂₀ αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου και θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκε ίση ποσότητα διαλύτη (ακετόνης) και αποτελούσαν το μάρτυρα.



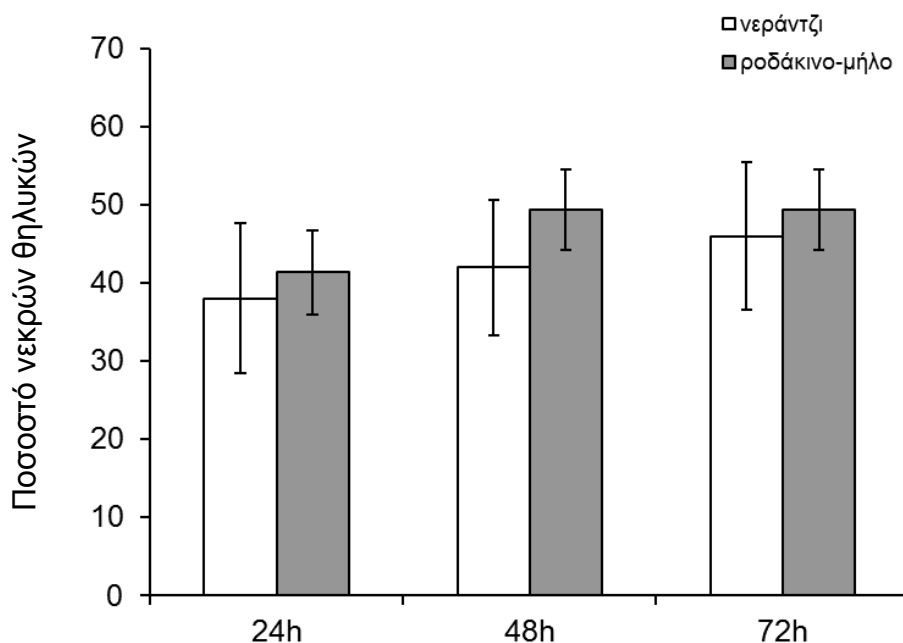
Διάγραμμα 3.5. Κυτιογράμματα (boxplots) με τη διασπορά της ωοπαραγωγής θηλυκών στα οποία την 3^η ημέρα μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα εφαρμόστηκαν 2 μl διαλυμάτων υποθανατηφόρων δόσεων LD₂₀ αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου και θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκε ίση ποσότητα διαλύτη (ακετόνης) και αποτελούσαν το μάρτυρα.

Πίνακας 3.3. Μέση περίοδος ωτοκίας και μέση περίοδος μετά την ωτοκία θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκε ακετόνη και αποτελούσαν το μάρτυρα και θηλυκών στα οποία εφαρμόστηκε η υποθανατηφόρος δόση LD₂₀ διαλυμάτων των αιθέριων ελαίων πορτοκαλιού, λεμονιού και περγαμόντου σε ακετόνη.

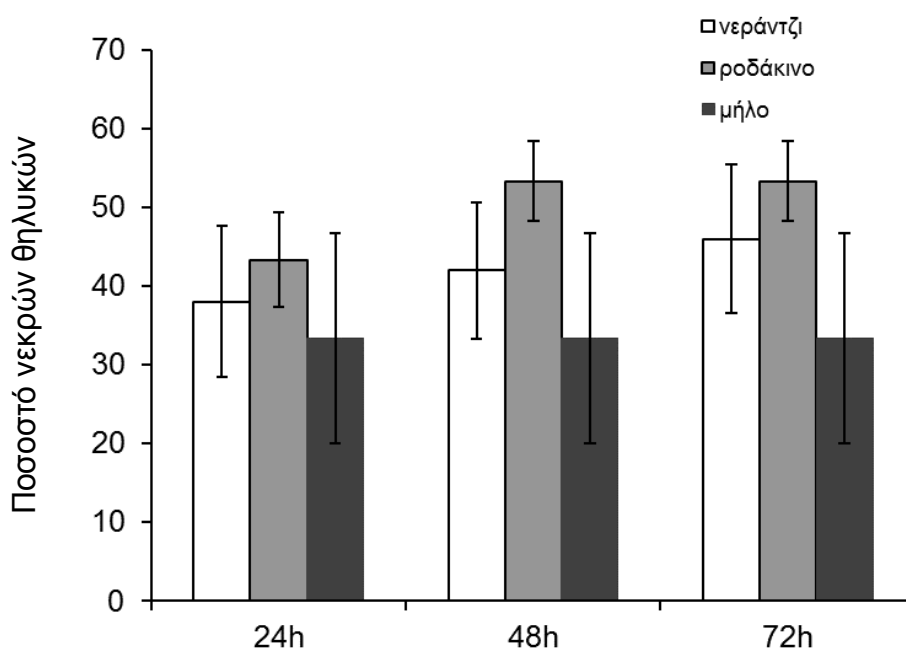
Θηλυκά μεταχειρίσεων	Περίοδος ωτοκίας ± SE	Περίοδος μετά την ωτοκία ± SE
μάρτυρας(n=37)	18,30 ±1,61 α	4,19 ±1,70 α
πορτοκάλι(n=36)	26,22 ± 2,36 β	4,72 ± 1,28 α
λεμόνι (n=42)	23,40 ± 2,16 β	4,88 ± 1,58 α
περγαμόντο (n=39)	21,77 ± 1,86 β	4,41 ± 1,08 α

3.4 Επίδραση υποθανατηφόρων δόσεων αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε θηλυκά της φυλής Μπενάκειο που εκτράφηκαν για μια γενεά σε καρπούς

Στο Διάγραμμα 3.6 δίνονται τα ποσοστά θνησιμότητας των θηλυκών που εκτράφηκαν για μια γενεά σε καρπούς ξενιστών, στα οποία εφαρμόστηκε η LD₅₀ πορτοκαλιού που υπολογίστηκε στο πρώτο κεφάλαιο της παρούσας διατριβής (6,81nl), μετά από 24, 48 και 72 ώρες. Τα ποσοστά των νεκρών θηλυκών δεν διέφεραν σημαντικά ($F = 0,107$, $df = 1,24$, $P > 0,05$) μεταξύ αυτών που προήλθαν από εκτροφή σε νεράντζια και από άλλους ξενιστές που δεν ήταν εσπεριδοειδή (μήλα, ροδάκινα) σε κανένα από τα χρονικά διαστήματα μετά την εφαρμογή (Διάγραμμα 3.6 A). Τα αποτελέσματα ήταν παραπλήσια όταν τα ροδάκινα και τα μήλα αντιμετωπίστηκαν ως αυτόνομοι ξενιστές στη στατιστική ανάλυση ($F = 0,239$, $df = 2,24$, $P > 0,05$) (Διάγραμμα 3.6 B). Τα θηλυκά που προήλθαν από εκτροφή σε νεράντζια ήταν ελαφρώς περισσότερο ανθεκτικά στην τοξικότητα του αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού σε σύγκριση με τα θηλυκά που εκτράφηκαν σε ξενιστές – μη εσπεριδοειδή (Διάγραμμα 3.6 A). Ωστόσο, όταν οι αναλύσεις πραγματοποιήθηκαν σε θηλυκά τριών μεταχειρίσεων (εκτροφή σε νεράντζια, μήλα και ροδάκινα) αυτά που εκτράφηκαν σε μήλα έδειξαν τη μεγαλύτερη ανθεκτικότητα στην τοξικότητα αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού ενώ τα θηλυκά που προήλθαν από ροδάκινα ήταν τα πιο ευαίσθητα (Διάγραμμα 3.6 B).



Διάγραμμα 3.6 Α. Ποσοστά νεκρών θηλυκών 24, 48 και 72 ώρες μετά την εφαρμογή LD₅₀ πορτοκαλιού. Τα έντομα της φυλής Μπεννακείου εκτράφηκαν για μια γενιά σε νεράντζια, ροδάκινα και μήλα.



Διάγραμμα 3.6 Β. Ποσοστά νεκρών θηλυκών 24, 48 και 72 ώρες μετά την εφαρμογή LD₅₀ πορτοκαλιού. Τα έντομα της φυλής Μπεννακείου εκτράφηκαν για μια γενιά σε νεράντζια, ροδάκινα και μήλα.

4 Συζήτηση- Συμπεράσματα

Είναι γνωστό πως η μύγα της Μεσογείου είναι το πλέον πολυφάγο είδος της οικογένειας Tephritidae. Ένας από τους προτιμώμενους ξενιστές της είναι οι καλλιέργειες εσπεριδοειδών, οι οποίες αποτελούν έναν από τους κυριότερους στόχους προσβολής. Τα δέντρα των προσβληθέντων καλλιεργειών, παρ' όλα αυτά, με την πάροδο των χρόνων, έχουν αναπτύξει ένα φυσικό τρόπο αντίστασης στις προσβολές της μύγας της Μεσογείου. Η αντίσταση των εσπεριδοειδών σε επιθέσεις της μύγας της Μεσογείου αποδίδεται σε πληθώρα παραγόντων (Ioannou et al., 2012), ωστόσο, τα επίπεδα προσβολής των φρούτων ενδέχεται να ποικίλουν σε μεγάλο βαθμό ανάμεσα στα είδη των εσπεριδοειδών και τη διαφορετική αντίσταση των ποικιλιών τους στην προσβολή του συγκεκριμένου εντόμου (Parachristos et al., 2008). Ένα από τα βασικότερα χαρακτηριστικά που έχουν αναπτύξει τα εσπεριδοειδή κατά της προσβολή από τη μύγα της Μεσογείου είναι τα αιθέρια έλαια που βρίσκονται στο φλοιό των καρπών τους και τα οποία μπορεί να είναι τοξικά. Κύριο λόγο στην τοξικότητα των αιθέριων ελαίων έχουν οι συγκεντρώσεις των επιμέρους συστατικών τους. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι τα συστατικά των αιθέριων ελαίων και συγκεκριμένα το λιμονένιο και το α-πινένιο προκαλούν ιδιαίτερα αυξημένη τοξικότητα στη μύγα της Μεσογείου. Αυτό εξηγεί και τα αποτελέσματα των πειραμάτων της παρούσας διατριβής καθώς οι συγκεντρώσεις του πορτοκαλιού σε λιμονένιο είναι 96,2%, του περγαμόντου 53,2% και του λεμονιού 74,3%. Έτσι, φαίνεται πως οι καλλιέργειες πορτοκαλιάς έχουν αναπτύξει αποτελεσματικότερη αντίσταση στις επιθέσεις της μύγας της Μεσογείου σε σχέση με άλλα είδη εσπεριδοειδών, καθώς τα αιθέρια έλαια του πορτοκαλιού είναι τοξικότερα από αυτά του περγαμόντου και του λεμονιού για τα ενήλικα θηλυκά του είδους.

Επιπλέον, θα πρέπει να αναφερθεί πως τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών, πέραν της τοξικής επίδρασης που έχουν στη μέση διάρκεια ζωής της μύγας της Μεσογείου, φαίνεται να έχουν σημαντική επίδραση και στην ωοπαραγωγική ικανότητα των θηλυκών του εντόμου, επηρεάζοντας έτσι έναν ακόμη σημαντικό παράγοντα διατήρησής του, καθιστώντας τα βασικό τρόπο αντίστασης των καλλιεργειών κατά των επιθέσεων της μύγας της Μεσογείου (Parachristos & Papadopoulos, 2009). Οι υψηλές συγκεντρώσεις αιθέριων

ελαίων εσπεριδοειδών μπορεί να έχουν αρνητικές επιπτώσεις στη μέση διάρκεια ζωής και στην ωτοκία, ωστόσο, όταν τα αιθέρια έλαια είναι σε μικρές υποθανατηφόρες δόσεις και η μύγα της Μεσογείου έρχεται σε επαφή με αυτά, αυξάνεται η μέση διάρκεια της ζωής της καθώς και η ωοπαραγωγική της ικανότητα.

Σημαντικό ρόλο, στην ανθεκτικότητα που αναπτύσσει η μύγα της Μεσογείου κατά των αιθέριων ελαίων των φρούτων, παίζει η προέλευση του πληθυσμού της. Όταν πληθυσμός που προέρχεται από πυρηνόκαρπα ή γιγαρτόκαρπα εκτεθεί σε υποθανατηφόρες δόσεις αιθέριου ελαίου πορτοκαλιού, παρουσιάζει υψηλότερη θνησιμότητα σε σχέση με αυτόν που προέρχεται από καλλιέργεια εσπεριδοειδών. Ο πληθυσμός που προέρχεται από καλλιέργειες εσπεριδοειδών φαίνεται πως αναπτύσσει ένα είδος ανθεκτικότητας σε αιθέρια έλαια πορτοκαλιού, και άρα μειώνεται η θνησιμότητά του.

Εν κατακλείδι, θα πρέπει να επισημανθεί πως πρωτεύοντα ρόλο στην επιτυχημένη αντιμετώπιση του ζημιογόνου αυτού εντομολογικού εχθρού παίζει η προσεκτική και συστηματική μελέτη του βιολογικού του κύκλου για τις διάφορες περιοχές που παρατηρείται η παρουσία του.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης, μελλοντικά, θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην βιολογική καταπολέμηση των εντόμων, με τη δημιουργία βιολογικών σκευασμάτων με βάση τα αιθέρια έλαια των εσπεριδοειδών για την καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου. Επίσης, τα αποτελέσματα σχετικά με την επιμήκυνση της μέσης διάρκειας ζωής των εντόμων και την αύξηση της ωτοκίας μετά την έκθεσή τους σε υποθανατηφόρες δόσεις αιθέριων ελαίων εσπεριδοειδών, θα μπορούσαν να φανούν χρήσιμα και να αξιοποιηθούν στον τομέα της παραγωγής και εξαπόλυσης στέρων εντόμων για τη μείωση τοπικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου.

Βιβλιογραφία

Διαμαντίδης Δ. Α. (2009). Μελέτη της βιοποικιλότητας και της συμπεριφοράς διαφορετικών πληθυσμών της Μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Διδακτορική διατριβή Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.

Μαυρομάτης Αθανάσιος (2008). Επιζήμια έντομα ροδακινιάς, βερικοκιάς, δαμασκηνιάς. Δυνατότητες ολοκληρωμένης αντιμετώπισης. Πτυχιακή εργασία, ΤΕΙ Κρήτης.

Οικονόμου Α. (2006). Διδακτορική Διατριβή, Ανάλυση φυσικών πληθυσμών της μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata* - διερεύνηση της σχέσης γενοτύπου και των ξενιστών της με τη χρήση μικροδορυφορικών δεικτών, 1-93, Τμήμα Βιολογίας, Πανεπιστήμιο Πατρών.

Παπαδόπουλος Ν.Θ. (1999). Μελέτη της Βιολογίας και Οικολογίας της μύγας της Μεσογείου *Ceratits capitata* (Diptera: Tephritidae) στη βόρεια Ελλάδα. Διδακτορική Διατριβή, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης.

Παπαδόπουλος Ν.Θ. & Σταυρίδης Δ. (2010). Η μύγα της Μεσογείου: 5^η Πανελλήνια Συνάντηση Φυτοπροστασίας: Ποιότητα και ασφάλεια των γεωργικών προϊόντων – τροφίμων, Λάρισα.

Παπαδόπουλος Ν.Θ., Σταυρίδης Δ., Ζάρπας Κ. & Διαμαντίδης Α. (2012). Η μύγα της Μεσογείου στην Ελλάδα: υφιστάμενη κατάσταση και σχεδιασμός της αντιμετώπισής της, Γεωργία - Κτηνοτροφία, τεύχος 7/2012, σελ.38-44.

Πελεκάσης Κ. (1991). Μαθήματα Γεωργικής Εντομολογίας, β τόμος Ειδική Εντομολογία. Α.Γ.Σ.Α. 554 σελ.

Ροδιπάκης Ε., Τσαγκαράκου και Ροδιπάκης Ν.Ε. και Σταματάκης Π. (2009). Η μύγα της Μεσογείου στα επιτραπέζια σταφύλια της ποικιλίας σουλτανίνα. *ΕΘΙΑΓΕ*, 35, 18-19.

Τζανακάκης Μ. Ε. & Κατσόγιαννος Β.Ι. (2003). Έντομα Καρποφόρων Δέντρων και Αμπέλου, Εκδόσεις Αγρότυπος, Αθήνα.

Τσιτσιπής Ι.Α. (1999). Σημειώσεις στο μάθημα Εφαρμοσμένη Εντομολογία. Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Θεσσαλίας, Βόλος. Υπουργείο Γεωργίας Κύπρου, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωργίας, Σεπτέμβριος, 2005.

Ξένη

Bonizzoni M., Malacrida A.R., Guglielmino C.R., Gomulski LM., Gasperi G. & Zheng L. (2000). Microsatellite polymorphism in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Insect Molecular Biology*, 9(3): 251 – 261.

Briceno R. D., Ramos W. G. (1996). Courtship behavior of male *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in captivity. *Florida Entomologist* 79(2): 130-142.

De Meyer M. (2000). Phylogeny of the genus *Ceratitis* (Dacinae: Ceratitidini) in Fruit flies (Tephritidae): Phylogeny and evolution of behavior, CRP Press, Boca Raton, Florida. (eds M. Aluja & A.L. Norrbon): 409-428.

Economopoulos, A. P. B., Papadopoulos N., Matzos P., Mavrikakis P., Dimakis H., Dretakis M., Yassar M., Dretakis M., Fafoukakis (1996). Mediterranean fruit fly integrated control: Combination of genetic sexing sterilized males with lure and kill of wild flies. 20th Intern' I Congr. Entomol., Firenze, 25-31 Aug. 1996, abstract 22-059.

Fimiani P. (1989). Mediterranean region pp. 39-50. In A. S Robinson and G. Hooper [eds.], Fruit Flies: their biology, natural enemies & control. World crop pest, vol. 3A. Elsevier Amsterdam.

Hagen B. S., Allen W. W., Tassan R. L. (1981). Mediterranean fruit fly: The worst way be yet to come. California Agriculture, March- April 1981: 5-7.

Ioannou C. S., Papadopoulos N. T., Koulousis N. A., Tanaki C. I., Katsoyannos B. I. (2012). Essential oils of citrus fruit stimulate oviposition in the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).

Katsoyannos B. I., Koulousis N. A., Papadopoulos N. T. (1997). Response of *Ceratitis capitata* to citrus chemicals under semi-natural conditions. Ecologia Experimentalis et Applicata 82:181-188.

Malacrida A.R., Gomulski L.M., Bonizzoni M., Bertin S., Gasperi G., Guglielmino C.R. (2007). Globalization and fruit fly invasion and expansion: the medfly paradigm. Genetica 131: 1-9. doi:10.1007/s10709-006-9117-2.

Malacrida A. R., Guglielmino C. G., Gasperi G. (1992) Spatial & temporal differentiation in colonizing fruit fly populations of *Ceratitis capitata*. Heredity, 69, 101-111.

Meyers J., Simberloff D., Kuris A. M., Carey J. R. (2000). Eradication revisited: dealing with exotic species. Trends in Ecology and Evolution, 15, 316-320.

Papachristos P. D., Papadopoulos N. T. (2009). Are citrus species favorable hosts for the Mediterranean fruit fly? A demographic perspective. Entomologia Experimentalis et Applicata, 132, 155.

Papachristos P. D., Papadopoulos N. T., Nanos G. D. (2008). Survival and development stages of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in citrus fruit.

Papadopoulos N. T. (1999). Study on the biology and ecology of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Northern Greece, pp. 198 Agriculture. Aristotle University of Thessaloniki, Thessaloniki, Greece.

Papadopoulos N.T. (2004). Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). In Encyclopedia of Entomology, Kluwer Academic Press, (ed J. Caminera), Vol2: 1367-1370.

Papadopoulos N.T., Carrey J.R., Katsoyannos B.I., Koulousis N.A. (1996). Overwintering of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Northern Greece. Annals of the Entomological Society of America, 89: 526-534.

Papadopoulos N.T., Carrey J.R., Katsoyannos B.I., Koulousis N.A. (2001b). Seasonal and annual occurrence of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Northern Greece. Annals of the Entomological Society of America, Vol. 94, no.1: 41-50.

Papadopoulos N.T., Katsoyannos B.I. (2003). Field parasitism of *Ceratitis capitata* larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. Biocontrol 48: 191- 195.

Papadopoulos N.T., Katsoyannos B.I., Carrey J.R. (1998b). Temporal changes in the composition of the overwintering larval population of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Northern Greece. Annals of the Entomological Society of America Vol.91, no.4: 430-434.

Papadopoulos N.T., Katsoyannos B.I., Carrey J.R. (2002). Demographic parameters of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) reared in apples. Annals of the Entomological Society of America Vol.95, no.5 :564-569.

Papadopoulos N.T., Katsoyannos B.I., Carrey J.R., Kouloussis N.A. (2001b). Seasonal and annual occurrence of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Northern Greece. Annals of the Entomological Society of America Vol.94,no.1 : 41 -50.

Papadopoulos N.T., Katsoyannos B.I., Kouloussis N.A., Economopoulos A.P., Carrey J.R. (1998a). 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., Katsoyannos B.I., Koulousis N.A., Hendrichs J. (2001a). Effect of orange peel substances on mating competitiveness of male *Ceratitis capitata*. Entomologia Experimentalis et Applicata 99:253-261.

Papadopoulos N.T., Plant R.E., Carey J.R. (2013). From trickle to flood: the large-scale, cryptic invasion of California by tropical fruit flies. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences 280. doi:10.1098/rspb.2013.1466.

Papadopoulos N. T., Shelly T. E., Niyazi N., Jang E. (2006). Olfactory and behavioral mechanism underlying enhanced mating competitiveness following exposure to ginger root oil in males of Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae).

Papaj D.R., Katsoyannos B.I., Hendrichs J. (1989). Use of fruit wounds in oviposition by Mediterranean fruit flies. Entomol. Exp. Appl. 53: 203-209.

Robinson S.A., Cayol J.P., Hendrichs J. (2002). Recent findings on med fly sexual behavior: Implications for SIT. Florida Entomologist 85(1): 171- 181.

Rodriguero S. A., Vilardi J. C., Vera M. T., Cayol J. P., Rial E. (2002). Morphometric traits and sexual selection in med fly (Diptera: Tephritidae) under field cage conditions. Florida Entomologist 85(1): 143-149.

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(1): 9-15.

Sproul A. (2001). The fight against fruit flies in Western Australia. Bulletin no. 4504. Department of Agriculture Western Australia, Perth.

White I. M., Elson- Harris M. (1992). Fruit Flies of Economic Significance Their Identification and Bionomics. C. A. B. INTERNATIONAL: WALLINGFORD, ENGLAND, UK.

Zabalou S., Riegler M., Theodorakopoulou M., Stauffer C., Savakis C., Bourtzis K. (2004). Wolbachia- induced cytoplasmic incompatibility as means for insect pest population control. Proc Natl Acad Sci USA 101 15042- 5.

ΕΙΚΟΝΕΣ

“Updated Mediterranean Fruit Fly Global Distribution Map.” Joint FAO/IAEA Programme - Nuclear Techniques in Food and Agriculture, Joint FAO/IAEA Division of Nuclear Techniques in Food and Agriculture, 2013, www-naweb.iaea.org/nafa/news/2013-medfly-global-map.html. 27 January 2019.