

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

**«Επίδραση της ποικιλίας και του μεγέθους του ελαιοκάρπου στην ικανότητα
παρασιτισμού του *Aganaspis daci* σε προνύμφες του δάκου της ελιάς»**



Μαρκοπούλου Ευρυδίκη Μαρία
Επιβλέπων καθηγητής: Παπαδόπουλος Θ. Νικόλαος

Βόλος, 2020

Περιεχόμενα

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ	6
ΠΕΡΙΛΗΨΗ	7
ABSTRACT	9
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1	10
1.1 Ο δάκος της ελιάς	10
1.1.1 Γενικά	10
1.1.2 Μορφολογία	10
1.1.3 Καταγωγή και γεωγραφική εξάπλωση του δάκου της ελιάς	11
1.1.4 Βιολογία	11
1.2 Χημική και βιοτεχνική καταπολέμηση.....	13
1.2.1 Χημική καταπολέμηση.....	13
1.2.2 Μαζική παγίδευση ενηλίκων.....	14
1.2.3 Μέθοδος εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων	15
1.3 Βιολογική καταπολέμηση	16
1.3.1 Παρασιτοειδή	17
1.3.2 <i>Bacillus thuringiensis</i>	19
1.3.3 Τα ενδοσυμβιωτικά βακτήρια <i>Wolbachia</i>	20
1.4 Το παρσιτοειδές <i>Aganaspis daci</i> (Weld).....	22
1.4.1 Γενικά	22
1.4.2 Μορφολογία	22
1.4.3 Βιολογία	23
1.4.4 Ξενιστές του <i>A. daci</i>	25
1.5 Παρουσία του <i>Aganaspis daci</i> στην Ελλάδα.....	28

1.6 Σκοπός της παρούσας διατριβής	28
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2	30
2. Γενικά υλικά και μέθοδοι.....	30
2.1 Συνθήκες εργαστηρίου	30
2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν και μέθοδοι εκτροφής τους	30
2.3 Στατιστική ανάλυση	35
3 Αποτελέσματα.....	35
4 Συζήτηση	40
ΠΗΓΕΣ.....	42
Ξενόγλωσση βιβλιογραφία.....	42
Ελληνική βιβλιογραφία.....	48
Ξενόγλωσση Ηλεκτρονική βιβλιογραφία	49
Ελληνική Ηλεκτρονική βιβλιογραφία	49

**Επίδραση της ποικιλίας και του μεγέθους του ελαιόκαρπου στην ικανότητα
παρασιτισμού του *Aganaspis daci* σε προνύμφες του δάκου της ελιάς**

**Effect of the olive fruit size and cultivar on the parasitism rates of *Bactocera
oleae* (Diptera: Tephritidae) by the figitid wasp *Aganaspis daci* (Hymenoptera:
Figitidae)**

Μέλη τριμελούς εξεταστικής επιτροπής

Παπαδόπουλος Θ. Νικόλαος, Καθηγητής Εφαρμοσμένης Εντομολογίας,
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Αθανασίου Γ. Χρήστος, Καθηγητής Εντομολογίας, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Ευάγγελος Βέλλιος, Επίκουρος Καθηγητής Φυτοπαθολογίας- Σύγχρονων
Μεθόδων Διαγνωστικής, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

«Βεβαιώνω ότι είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής εργασίας, η οποία εκπονήθηκε σύμφωνα με τον Κανονισμό Εκπόνησης Πτυχιακής Εργασίας του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας»

Μαρκοπούλου Ευρυδίκη Μαρία

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η διατριβή αυτή εκπονήθηκε στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν εγκαταστάσεις και εξοπλισμός του οικείου Εργαστηρίου.

Ευχαριστώ τον καθηγητή κ. Ν. Θ. Παπαδόπουλο για την καθοδήγηση καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος. Θερμές ευχαριστίες στο μεταδιδάκτορα κ. Χ. Ιωάννου, για τις χρήσιμες συμβουλές και τη ηθική υποστήριξη. Τέλος, ευχαριστώ, τα μέλη του Εργαστηρίου για την βοήθεια και καλή συνεργασία.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν η αξιολόγηση της ικανότητας παρασιτισμού του παρασιτοειδούς *Aganaspis daci* σε προνύμφες του δάκου της ελιάς που αναπτύσσονταν σε διαφορετικές ποικιλίες και μεγέθη ελαιοκάρπων. Ειδικότερα, χρησιμοποιήθηκαν οι ποικιλίες Πηλίου, Χαλκιδικής καθώς επίσης και αγριελιές από αυτοφυή δέντρα. Επιπλέον, σε ότι αφορά την ποικιλία Χαλκιδικής, η οποία εμφανίζει μεγάλη παραλλακτικότητα ως προς το μέγεθος των ελαιοκάρπων, η μελέτη συμπεριέλαβε τρεις διακριτές κατηγορίες (μικρό, μεσαίο και μεγάλο μέγεθος) ως προς την παράμετρο αυτή.

Αφού προσδιορίστηκαν τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά (μήκος, πλάτος και πάχος σάρκας) των παραπάνω ελαιοκάρπων, αυτοί προσφέρθηκαν για ωτοκία σε γόνιμα θηλυκά του δάκου της ελιάς, προκειμένου να λάβουν 1-2 νύγματα ωτοκίας. Στη συνέχεια οι προνύμφες εντός των ελαιοκάρπων αφέθηκαν να αναπτυχθούν έως τη 2^η και 3^η ηλικία αντίστοιχα και κατόπιν προσφέρθηκαν για παρασιτισμό σε θηλυκά του *A. daci*. Παράλληλα ελαιοκαρποί οι οποίοι δέχθηκαν τις ίδιες ακριβώς μεταχειρίσεις χωρίς ωστόσο να εκτεθούν στο παρασιτοειδές, χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες. Με βάση τον αριθμό των ενηλίκων του *A. daci* και του δάκου της ελιάς που προέκυψαν από τις παρασιτισμένες νύμφες, καθώς επίσης και των ενηλίκων του δάκου που προέκυψαν από τις νύμφες του μάρτυρα προσδιορίστηκαν τόσο τα ποσοστά επιτυχούς παρασιτισμού όσο και εκείνα της επαγόμενης θνησιμότητας για την κάθε ποικιλία και μέγεθος των ελαιοκάρπων.

Τα αποτελέσματα της παρούσας μελέτης έδειξαν ότι η ποικιλία, το μέγεθος του ελαιοκάρπου καθώς επίσης και η ηλικία των προνυμφών του δάκου της ελιάς είχαν σημαντική επίδραση στα ποσοστά εξόδου ενηλίκων του *A. daci*. Τα υψηλότερα ποσοστά ενηλικίωσης του παρασιτισμού παρατηρήθηκαν στις ποικιλίες Πηλίου (9,1%) και Χαλκιδικής (11,4%) (μικρό μέγεθος). Αντιθέτως στις αγριελιές το αντίστοιχο ποσοστό ήταν μηδενικό. Στην ποικιλία Χαλκιδικής η αύξησή του μέγεθος των ελαιοκάρπων μειώνει την πιθανότητα παρασιτισμού των προνυμφών του δάκου που αναπτύσσονται στο εσωτερικό τους. Επίσης, οι προνύμφες 3^{ης} ηλικίας φαίνεται να είναι πιο δεκτικές στον παρασιτισμό από εκείνες της 2^{ης}, ανεξαρτήτως της ποικιλίας και του μεγέθους του ελαιοκάρπου. Τέλος, η επαγόμενη θνησιμότητα δεν φάνηκε να επηρεάζεται από την ποικιλία, το μέγεθος του ελαιοκάρπου και την ηλικία των προνυμφών.

Τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής αναμένεται να συμβάλλουν σημαντικά στην κατανόηση του τριτροφικού συστήματος ελαιόκαρπος, δάκος της ελιάς και *A. daci*, ανοίγοντας το δρόμο για τη δυνητική βιολογική αντιμετώπιση του σημαντικότερου εχθρού της ελαιοκαλλιέργειας με το συγκεκριμένο παρασιτοειδές.

Λέξεις κλειδιά: βιολογική καταπολέμηση, Figitidae, παρασιτοειδές, Tephritidae, ελιά

ABSTRACT

The purpose of the thesis was to evaluate the parasitism rates of *Aganaspis daci* on *Bactrocera oleae* larvae, which develop in different olive fruit sizes and cultivars, such as wild olive fruits, Piliou and Chalkidiki. The Chalkidiki cultivar presents variability in the size of the olive fruit. So, the three different sizes (small, medium, large), were set as parameters in the experiment.

First, the morphometrical characteristics of the olive fruits were measured and given to olive fruit flies, in order for the olive fruits to obtain 1-2 stings. Consequently, the larvae inside the olive fruits developed until the second and third instar and the fruits were offered to the *Aganaspis daci* for parasitism. Some olive fruits, which did not undergo parasitism, were used as control. The parasitism rates and the induced mortality rates were determined by the number of adult *A. daci* and the number of both olive fruit fly adult and larvae, for each olive fruit size.

The results of this experiment showed that the cultivar, fruit size and the larvae instar of the olive fruit fly affect the number of adult *A. daci*, which emerge from the olive fruits. The highest parasitoid adult emergence rates (parasitism) were found in Piliou cultivar (9.1%) and Chalkidiki's cultivar (small size) (11.4%). On the contrary, the parasitism rate of the wild olive fruits was almost zero. A negative correlation of the size of the olive fruit and the parasitism rate in Chalkidiki's cultivar was recorded. Moreover, the third instar larvae appear to be more "receptive" to parasitism by *A. daci* compared to 2nd instar larvae. Finally, the induced mortality rate on olive fly imatures does not seem to be affected neither by the cultivar, nor the size of the olive fruit or the *B. oleae* larvae instar.

The results of this experiment significantly contribute to the understanding of the tritrophic system of the olive fruit, the olive fruit fly and *A. daci*, in order to pursue a biological control method of the most important pest of the olive fruit production.

Keywords: biological control, Figitidae, parasitoid, Tephritidae, olive tree

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1.1 Ο δάκος της ελιάς

1.1.1 Γενικά

Το είδος *Bactrocera oleae* (Rossi), γνωστό και ως δάκος της ελιάς, είναι ο πιο σημαντικός εντομολογικός εχθρός της ελιάς στην περιοχή της Μεσογείου. Πρόκειται για ένα μονοφάγο είδος, καθώς δεν έχει άλλους ξενιστές στην φύση πέρα από την ελιά (*Olea europaea*) και την αγριελιά (*Olea oleaster*) (Ναβροζίδης



και Ανδρεάδης 2012). Ανήκει στην οικογένεια των Tephritidae, την οποία

Εικόνα 1:Ενήλικο θηλυκό του δάκου της ελιάς

απαρτίζουν κυρίως μύγες των φρούτων. Στην βιβλιογραφία δίστανται οι απόψεις για το ποιος το περιέγραψε πρώτος. Κάποιοι υποστηρίζουν ότι καταγράφηκε για πρώτη φορά από τον P.Rossi. (1790). Άλλοι πάλι το αποδίδουν στον J. F.Gmelin (1790).

1.1.2 Μορφολογία

Το ενήλικο έχει σώμα μήκους 5 mm σε καστανές αποχρώσεις, με θώρακα που φέρει 3 σκούρες γραμμές και υπόλευκο μεταθώρακα. Οι πτέρυγες είναι διαφανείς, με μια σκοτεινή περιοχή στην κορυφή τους (Εικόνα 1). Ο ωοθέτης φαίνεται καθαρά με γυμνό οφθαλμό. Το ωό είναι στενόμακρο, λευκού χρώματος. Ο ένας πόλος του είναι οξύληκτος (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003). Η προνύμφη είναι άποδη, και ακέφαλη, χαρακτηριστικό για τις μύγες των φρούτων, με χρώμα υπόλευκο ως κίτρινο (Εικόνα 2). Η νύμφη έχει μήκος 3,5-4,5 mm, ελλειψοειδές σχήμα και χρώμα που μεταβάλλεται σταδιακά από υπόλευκο ως και καφέ (Κουνατίδης 2012).



Εικόνα 2: Προνύμφη δάκου της ελιάς που προσβάλει ελαιόκαρπο

1.1.3 Καταγωγή και γεωγραφική εξάπλωση του δάκου της ελιάς

Η ακριβής καταγωγή του είδους αυτού δεν έχει βρεθεί. Υπάρχουν διάφορες θεωρίες που προσπαθούν να προσεγγίσουν το ζήτημα, με επικρατούσα άποψη την αφρικανική καταγωγή. Οι Templeton και Roderick (1992) θεωρούν ότι η πληθυσμιακή ποικιλομορφία αυξάνεται με τα χρόνια, οπότε ο παλαιότερος πληθυσμός θα έχει και την μέγιστη ποικιλομορφία. Σύμφωνα με αυτή τη θεώρηση, η μέγιστη ποικιλομορφία παρατηρείται στους αφρικανικούς πληθυσμούς, πράγμα που συνάδει και με τα συμπεράσματα από την φυλογενετική ανάλυση των Clausen (1978), Annecke και Moran (1982) και Nardi et. al. (2005). Όμως οι Augoustinos και συνεργάτες (2019) υποστηρίζουν ότι η παγκόσμιος πληθυσμός του δάκου της ελιάς μπορεί να κατηγοριοποιηθεί σε τρεις υποπληθυσμούς:

- Δυτική Μεσόγειος (φυλές της Ισπανίας και Πορτογαλίας)
- Ανατολική Μεσόγειος (φυλές της Κύπρου και του Ισραήλ)
- Κεντρική Μεσόγειος (φυλές της Ελλάδας, Ιταλίας και Τουρκίας) (Zygouridis et. al. 2009).

1.1.4 Βιολογία

Ο δάκος της ελιάς συμπληρώνει 3-4 γενιές ανά έτος (Ναβροζίδης και Ανδρεάδης 2012). Όπως έχει παρατηρηθεί και από εργαστηριακές εκτροφές, η διάρκεια του βιολογικού κύκλου εξαρτάται από τη θερμοκρασία. Η αύξηση της θερμοκρασίας συνεπάγεται την μείωση

της διάρκειας του βιολογικού κύκλου και αντίστροφα. Δεδομένου αυτών των διαφορών, αναμένεται να υπάρχουν μεγάλες αποκλίσεις στον χρόνο ολοκλήρωσης του βιολογικού κύκλου και στη φύση (Πίνακας 1) (Κουνατίδης 2012).

Πίνακας 11: Αριθμός ημερών που απαιτείται για την ολοκλήρωση των σταδίων ανάπτυξης του εντόμου σε συγκεκριμένες θερμοκρασίες (Κουνατίδης, 2012)

Θερμοκρασίες ανάπτυξης των ανήλικων σταδίων(°C) Στάδιο ανάπτυξης	12,5	30
	Προνύμφη	37
Νύμφη	48,6	9,3

Ιδιαίτερο ενδιαφέρον παρουσιάζει ο ρόλος των συμβιωτικών βακτηρίων στον δάκο της ελιάς. Σύμφωνα με τις αρχικές θεωρίες, ο δάκος της ελιάς εκκρίνει ουσίες από αδένες που βρίσκονται στην κοιλιά του εντόμου και εφαρμόζονται σαν επίχρισμα, μέσω του ωαγωγού, πάνω στα ωα. Οι ουσίες αυτές εφαρμόζονται σε συνδυασμό με συμβιωτικά βακτήρια και συγκεκριμένα το *Pseudomonas savastanoi*, τα οποία εισέρχονται μέσω της μικροπύλης στο ωό (Petri, 1910). Οι Capuzzo et al. (2005) κατάφεραν να ταυτοποιήσουν τα βακτήρια. Πρόκειται για το *Candidatus erwinia dacicola*. Ο ρόλος τους εξακριβώθηκε από τους Hagen (1966), Tzanakakis και Stavrinidis (1973), οι οποίοι κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι χωρίς τα συμβιωτικά βακτήρια η προνύμφη δεν μπορεί να επιβιώσει, αν το ωό από το οποίο προήλθε βρισκόταν σε ανώριμο ελαιόκαρπο (Κουνατίδης 2012).

1.2 Χημική και βιοτεχνική καταπολέμηση

1.2.1 Χημική καταπολέμηση

Υπάρχουν διάφορες μέθοδοι καταπολέμησης του δάκου. Η πιο δημοφιλής στην Ελλάδα είναι η χημική, η οποία διακρίνεται σε προληπτική και θεραπευτική.

Η προληπτική μέθοδος περιλαμβάνει τον ψεκασμό ενός μέρους της κόμης του δέντρου. Αρχικά τοποθετούνται παγίδες τύπου McPhail, οι οποίες περιέχουν υδατικό διάλυμα φωσφορικού ή θειικού αμμωνίου 2%. Το όριο της επέμβασης είναι 5-20 ενήλικα ανά παγίδα. Ο αριθμός των δέντρων που ψεκάζονται εξαρτάται από την πυκνότητα φύτευσης στον οπωρώνα. Για παράδειγμα, όταν πρόκειται για κανονική πυκνότητα ενδείκνυται ο ψεκασμός μέρους της κόμης κάθε τρίτου δέντρου, με ρύθμιση του ψεκαστήρα για χοντρές σταγόνες. Η ποσότητα που ψεκάζεται είναι περίπου 100 cm². Το ψεκαστικό διάλυμα, πέρα από το εντομοκτόνο, περιέχει και κάποιο τροφικό ελκυστικό. Έτσι, θανατώνονται τα θηλυκά άτομα πριν προλάβουν να ωοτοκήσουν στον καρπό, οπότε ανακόπτεται και η απότομη αύξηση του πληθυσμού. Η μέθοδος αυτή είναι περιβαλλοντικά συμβατή και συνδυάζεται με την ολοκληρωμένη αντιμετώπισης (Ναβροζίδης και Ανδρεάδης 2012). Βέβαια, υπάρχουν κάποιοι παράγοντες, οι οποίοι είναι καθοριστικοί για την επιτυχία της μεθόδου. Συγκεκριμένα, θα πρέπει το ποσοστό καρποφορίας των δέντρων στον οπωρώνα να ξεπερνά το 25%. Επίσης, μεγάλο ρόλο παίζει ο αριθμός των ψεκασμών, η ορθότητα της πρακτικής, καθώς και η το χρονικό διάστημα, κατά το οποίο εφαρμόζονται (Περιφέρεια Κρήτης 2018).

Η θεραπευτική μέθοδος αποσκοπεί στην θανάτωση των προνυμφών μέσα στον καρπό. Σε αυτή την περίπτωση, η κόμη του δέντρου καλύπτεται πλήρως με το ψεκαστικό υγρό, με ψεκαστήρες μεγάλου όγκου κυρίως. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν και επινώτιοι ψεκαστήρες μικρού όγκου. Ένα σημαντικό μειονέκτημα της μεθόδου αυτής είναι ότι δεν δρα στοχευόμενα σε έναν οργανισμό στόχο. Επιδρά και στα ωφέλιμα αρπακτικά έντομα. Συχνά, παρατηρούνται ανεξέλεγκτες αυξήσεις των πληθυσμών άλλων εχθρών της ελιάς, όπως τα κοκκοειδή (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003),

Στην χημική καταπολέμηση χρησιμοποιούνται κυρίως πυρεθροειδή (alpha-cypermethrin, beta-cyfluthrin, deltamethrin, lambda-cyhalothrin), νεονικοτενοειδή (thiacloprid), φυσικό

πύρεθρο (pyrethrins), σπινოსίνες (spinosad) και ο εντομοπαθογόνος μύκητας *Beauveria bassiana* (Ναβροζίδης και Ανδρεάδης 2012).

1.2.2 Μαζική παγίδευση ενηλίκων

Τα τελευταία χρόνια η Κοινή Αγροτική Πολιτική (ΚΑΠ) προωθεί τη μείωση χρήσης αγροχημικών, για χάρη της προστασίας του περιβάλλοντος και της ανθρώπινης υγείας, ειδικά στην παραγωγή ελαιολάδου, καθώς υπάρχει κίνδυνος απορρόφησης των ουσιών αυτών από τους καρπούς και δέσμευσή τους στο λάδι. Η μαζική παγίδευση θα μπορούσε να είναι μία εναλλακτική μέθοδος αντιμετώπισης, καθώς με την χρήση φερομονών σύζευξης ή τροφικών ελκυστικών μειώνονται τα αγροχημικά που χρησιμοποιούνται σε ένα οικοσύστημα, καθώς και οι περιβαλλοντικές επιπτώσεις τους, αλλά και οι οικονομικές ζημιές από τους εχθρούς (Noce et. al 2009).

Πολλοί παραγωγοί φτιάχνουν αυτοσχέδιες παγίδες από πλαστικά μπουκάλια διαφόρων μεγεθών, στα οποία ανοίγουν οπές για την είσοδο των εντόμων. Επίσης, υπάρχουν γυάλινες με πλαστικά μέρη και αμιγώς πλαστικές παγίδες Elkofoin, οι οποίες αποτελούνται από ένα βάζο που σκεπάζεται από μια κατασκευή ιδιαίτερου σχήματος. Μία άλλη επιλογή είναι οι παγίδες McPhail, είτε πλαστικές, είτε γυάλινες. Κάποιοι χρησιμοποιούν παγίδες από σακούλες χωρητικότητας ενός λίτρου, στις οποίες ανοίγουν τέσσερις οπές. Οι παγίδες γεμίζονται με κάποιο ελκυστικό (Elioroulos, 2007). Υπάρχει και η επιλογή των κολλητικών παγίδων από ξύλο και από χαρτί, σε μορφή φακέλου. Στις τελευταίες μπορεί να γίνει επάλειψη με τροφικό ελκυστικό και να εφαρμοστούν εξατμιστήρες φερομονών σύζευξης στην εξωτερική πλευρά τους.

Τα ελκυστικά που χρησιμοποιούνται στις παγίδες είναι είτε τροφικά, είτε φερομόνες φύλου. Σαν τροφικά ελκυστικά χρησιμοποιούνται:

- υδατικό διάλυμα θειικού αμμωνίου 2%
- διτανθρακικό αμμώνιο ή σε συνδυασμό με Dacona¹ ή οξυχλωριούχο χαλκό

¹ Πρόκειται για ουσία με ελκυστική δράση. Γενικά, χρησιμοποιείται σε συγκέντρωση 1% στο ψεκαστικό διάλυμα. Σε περιπτώσεις μεγάλης πληθυσμιακής πυκνότητας, η συγκέντρωση του μπορεί να αυξηθεί ως και 3% (Γζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003)

- dacoona, δηλαδή μείγμα υδρολυμένης πρωτεΐνης και μελάσας σε υδατικό διάλυμα 20%. Μπορεί να εφαρμοστεί και με την φερομόνη του δάκου της ελιάς (βλέπε παρακάτω)
- υδατικό διάλυμα υδρολυμένης πρωτεΐνης 3% (Υπουργείο Γεωργίας Αγροτικής Ανάπτυξης και Περιβάλλοντος 2005)

Οι συνθετικές φερομόνες που χρησιμοποιούνται σαν ελκυστικά είναι η 1,7-dioxaspiro[5.5]undecane (Broumas και Haniotakis 1994).

Σύμφωνα με τις οδηγίες φυτοπροστασίας του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης και Τροφίμων, ο πιο αποτελεσματικός τρόπος είναι ο συνδυασμός των τροφικών ελκυστικών, της φερομόνης φύλου και του ερεθίσματος του χρώματος (κίτρινο) (ΥΠΑΑΤ, 2013). Η μέθοδος αυτή συστήνεται στους παραγωγούς όταν τα επίπεδα του πληθυσμού δεν είναι αρκετά υψηλά, ώστε να αποτελούν άμεσο οικονομικό κίνδυνο. Σε περιοχές που οι πληθυσμοί είναι αυξημένοι, προτείνεται η χρήση της μαζικής παγίδευση συνδυαστικά με άλλες μεθόδους. Αν τα αποτελέσματα δεν είναι αναμενόμενα, ο παραγωγός θα πρέπει να αυξήσει την πυκνότητα των παγίδων ή να εφαρμόσει δολωματικούς ψεκασμούς σε περιοχές όπου παρατηρούνται αυξημένοι πληθυσμοί (ΥΠΑΑΤ, 2013).

1.2.3 Μέθοδος εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων

Όπως αναφέρθηκε και παραπάνω, η χημική καταπολέμηση του δάκου της ελιάς περιλαμβάνει μεταξύ άλλων τη χρήση εντομοκτόνων (π.χ. πυρεθροειδή). Δυστυχώς, τα σκευάσματα αυτά μπορούν να προκαλέσουν κινδύνους τόσο στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον (Murphy, 1986). Επομένως, είναι αναγκαίο να υπάρξει μία νέα, αποτελεσματική μέθοδος για την καταπολέμηση του δάκου της ελιάς και άλλων εντόμων οικονομικής σημασίας. Γι' αυτό τον λόγο, κάποιοι επιστήμονες προσπάθησαν να αναπτύξουν εναλλακτικές, μη χημικές μεθόδους καταπολέμησης, όπως την μέθοδο εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων.

Η τεχνική αυτή περιλαμβάνει την στείρωση εντόμων, συνήθως αρσενικών, στο στάδιο της νύμφης. Η στείρωση πραγματοποιείται με έκθεση των ανεπτυγμένων νυμφών σε ακτινοβολία γάμα από το ραδιενεργό συνθετικό ισότοπο Co_{60} . Κάποιοι ερευνητές δοκίμασαν διαφορετικές δόσεις ακτινοβολίας. Συγκεκριμένα, οι ομάδες Melis και Baccetti (1960), Baccetti και Cappellini

(1961) και Tsiropoulos και Tzanakakis (1970) βρήκαν ότι η έκθεση των ανεπτυγμένων νυμφών σε 120 Gy επιφέρει μόνιμη στειρότητα και στα δύο φύλα. Μία άλλη δοκιμή των Tzanakakis, Tsitsipis, Papageorgiou και Fytizas (1966) με δόση 80 Gy σε νύμφες, μία μέρα πριν την έξοδο του ενήλικου, έδειξε ότι προκαλείται επίσης μόνιμη στειρότητα στα δύο φύλα. Για την δόση αυτή, οι Tzanakakis, Tsitsipis και Economopoulos (1968), Tsiropoulos και Tzanakakis (1970) και Economopoulos (1972) σε τρεις ξεχωριστές μελέτες, έδειξαν ότι δεν επηρεάζει αρνητικά την ανταγωνιστικότητα των αρσενικών για σύζευξη, ούτε και την ικανότητα της σύζευξης καθ' αυτής (Estes et. al, 2012). Επίσης, οι Wimmer (2005) και Hendrichs et al. (2007) αναφέρουν ότι η στείρωση πραγματοποιείται ειδικά για το είδος στόχο. Αυτό σημαίνει ότι η μέθοδος δεν βλάπτει άλλα έντομα που δεν χρίζουν καταπολέμησης. (Ahmadi et al. 2018).

Η μέθοδος εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων έχει χρησιμοποιηθεί στο παρελθόν για καταπολέμηση δίπτερων σε άλλες χώρες, όπως την Ζανζιβάρη, την Ιαπωνία, την Αυστραλία, τις ΗΠΑ, το Μεξικό και την Χιλή (Ahmadi et al. 2018). Στην Ελλάδα έχει γίνει προσπάθεια εφαρμογής της μεθόδου αυτής, όπου έγιναν μαζικές εξαπολύσεις στειρωμένων αρσενικών του δάκου της ελιάς σε συνδυασμό με δύο δολωματικούς ψεκασμούς, με ικανοποιητικά αποτελέσματα, χωρίς ωστόσο να υιοθετηθεί περαιτέρω η διαδικασία αυτή (Τζανακάκης 2007).

1.3 Βιολογική καταπολέμηση

Αναμφισβήτητα, με την πάροδο των ετών και την αύξηση του παγκόσμιου πληθυσμού, οι ανάγκες σε τροφή αυξήθηκαν, γεγονός που οδήγησε σε μια πιο συστηματική καλλιέργεια της γης. Προκειμένου να παραχθούν αποτελεσματικά μεγάλες ποσότητες γεωργικών προϊόντων, κρίθηκε αναγκαία η χρήση εντομοκτόνων, τα οποία δυστυχώς δεν ήταν βιοδιασπώμενα, με αρνητικές επιπτώσεις στο περιβάλλον και σε άλλα είδη μη στόχους. Επίσης, πολλές δραστικές ουσίες μείζονος σημασία έχουν αποσυρθεί από τις αρμόδιες αρχές και θα πρέπει να ληφθούν κάποια μέτρα, ώστε να διατηρηθεί η δυνατότητα χρήσης των εναπομεινάντων. Επομένως, είναι απαραίτητο για μια πιο βιώσιμη γεωργική παραγωγή να στραφούμε και σε άλλες λύσεις για την αντιμετώπιση των εχθρών των καλλιεργειών. Μια τέτοια εναλλακτική αποτελεί η βιολογική καταπολέμηση, η οποία έχει καταφέρει να εξαλείψει προβλήματα με ορισμένους εχθρούς σε κάποιες καλλιέργειες (Hemati et. al. 2012).

Αν το ωφέλιμο έντομο καταφέρει να εγκατασταθεί και να ευδοκιμήσει σε μία περιοχή, η μείωση του εχθρού μπορεί να έχει μεγάλη διάρκεια ακόμα και πολλών ετών. Επομένως, η δαπάνη για τον καλλιεργητή θα είναι μικρή, υπό την προϋπόθεση ότι δεν επιβαρύνεται με έξοδα μελέτης και εκτροφής του εντόμου. Βέβαια, υπάρχουν και περιπτώσεις όπου μια ιδιωτική εταιρεία αναλαμβάνει το ρόλο αυτό, οπότε και ο καλλιεργητής προμηθεύεται από εκεί τα ωφέλιμα έντομα. Αν και η μέθοδος είναι ασφαλής για άλλους οργανισμούς (άνθρωπο, κατοικίδια, μη ανώτερα ζώα, φυτά), ο Howarth (1991) υποστηρίζεται ότι μπορεί να εκτοπίσει, βλάψει ή και εξαφανίσει υπάρχοντα χρήσιμα, ιθαγενή έντομα, έντομα μη στόχους ή και άλλα ζώα, πράγμα που δεν μπορεί να στοιχειοθετηθεί επαρκώς λόγω ελλিপών καταγραφών στις περιπτώσεις ανεπιτυχών περιπτώσεων. Άλλες πιθανές αδυναμίες είναι η χαμηλότερη αποτελεσματικότητα, σε σχέση με την χημική καταπολέμηση, τα ασταθή της αποτελέσματα ή και το γεγονός ότι άλλα έντομα στο αγροοικοσύστημα ενδέχεται να καταπολεμήσουν τα εισαγόμενα είδη, λόγω επωφελούς σχέσης με το έντομο-στόχο (π.χ. τα μυρμήγκια προστατεύουν τα κοκκοειδή, ώστε να τρέφονται με τα μελιτώδη εκκρίματα) (Τζανακάκης, 2007).

1.3.1 Παρασιτοειδή

Τα παρασιτοειδή διαφέρουν από τα παράσιτα στο γεγονός ότι τα πρώτα καταφέρνουν και σκοτώνουν τον ξενιστή τους μέχρι την ολοκλήρωση του βιολογικού τους κύκλου, σε αντίθεση με τα παράσιτα, που αν και βλάπτουν τον ξενιστή τους, δεν τον σκοτώνουν, γιατί χωρίς αυτόν δεν μπορούν να επιβιώσουν (Τζανακάκης 2007). Σύμφωνα με τον Sheldon (2020), Hoffmann και Frodsham (1993) τα χαρακτηριστικά των παρασιτοειδών είναι τα παρακάτω:

1. το κάθε είδος στοχεύει σε συγκεκριμένους ξενιστές
2. είναι μικρότερα σε μέγεθος σε σχέση με τον ξενιστή τους
3. τα θηλυκά αναζητούν ξενιστή
4. σε έναν ξενιστή μπορούν να παρασιτήσουν διαφορετικά παρασιτοειδή, όταν αυτά στοχεύουν διαφορετικές ηλικίες
5. η ωοτοκία ή η απόθεση των προνυμφών πραγματοποιείται είτε εντός του ξενιστή, είτε πάνω στον ξενιστή είτε κοντά σε αυτόν
6. τα ανήλικα στάδια του παρασιτοειδούς παραμένουν μέσα ή πάνω στον ξενιστή, ενώ τα ενήλικα ζουν ελεύθερα, συχνά με αρπακτική συμπεριφορά

7. τα ανήλικα σχεδόν πάντα θανατώνουν τον ξενιστή τους

Κάποια παρασιτοειδή δρουν ενδοπαρασιτικά, ενώ άλλα εκτοπαρασιτικά. Ο εκτοπαρασιτισμός αφορά την εξωτερική εγκατάσταση του παρασιτοειδούς στο σώμα του ξενιστή, ενώ ο ενδοπαρασιτισμός την εγκατάσταση στο εσωτερικό του σώματος του ξενιστή. Δεδομένου ότι υπάρχουν αυτές οι συμπεριφορές στην φύση, είναι εύλογο να μελετηθεί περαιτέρω το φαινόμενο αυτό, προκειμένου να χρησιμοποιηθεί προς όφελος του ανθρώπου.

Σύμφωνα με πολλούς ερευνητές, τα παρασιτοειδή βασίζονται σε οπτικά ερεθίσματα για την εύρεση του ενδιαιτήματος του ξενιστή, όσον αφορά τις μικρές αποστάσεις, ενώ με την όσφρηση μπορεί να εντοπίσει τον ξενιστή και σε μεγαλύτερες αποστάσεις (Κουνατίδης 2009).

Ιδιαίτερο ρόλο στην εύρεση του ξενιστή παίζουν σηματοχημικές ουσίες, οι οποίες επιτρέπουν στα παρασιτοειδή να επικοινωνούν μεταξύ τους και να εντοπίζουν τον ξενιστή τους. Οι ουσίες αυτές είναι καίρομένες ή συνομένες και τα παρασιτοειδή αντιλαμβάνονται την παρουσία τους από τα αισθητήρια όργανα των κεραίων και των προσακτριδών. Τα χημικά ερεθίσματα μπορούν να προκύψουν είτε από τις βιολογικές διεργασίες του ξενιστή (απόθεση αποχωρημάτων, σεξουαλικό κάλεσμα, φερομόνες συνάθροισης, έκδυση), είτε από ουσίες που εκλύονται από το φυτό κατά την τροφική δραστηριότητα του εντόμου-ξενιστή του παρασιτοειδούς, αλλά και από την συσχέτιση του εντόμου ξενιστή με το φυτό από το οποίο διατρέφεται (Κουνατίδης 2009).

Εντοπίζοντας το ενδιαίτημα που βρίσκεται ο ξενιστής, το παρασιτοειδές ανιχνεύει καίρομένες μικρής πτητικότητας από τον ξενιστή και ανταποκρίνεται με βάση αυτές. Η επιλογή του παρασιτοειδούς επηρεάζεται από την διαδικασία της μάθησης, η οποία έχει συνεισφέρει στην προτίμηση κάποιων οσμών. Το παρασιτοειδές εντοπίζει τις ουσίες στο περιβάλλον και κινείται με συγκεκριμένο τρόπο, ώστε να εντοπίσει την ακριβή πηγή έκλυσης των καίρομωνών. Στη συνέχεια φέρει τις κεραίες του σε επαφή με το σώμα του ξενιστή, στο οποίο θα επιχειρήσει δοκιμαστικά νύγματα, για να κρίνει την καταλληλότητά του. Αν επιλέξει να απορρίψει τον ξενιστή, αποθέτει φερομόνες αποτροπής ωοτοκίας, ώστε να μην επιχειρήσει ξανά το ίδιο, ούτε άλλα παρασιτοειδή του είδους να ωοτοκήσουν (Κουνατίδης 2009).

Γενικά έχουν γίνει σοβαρές προσπάθειες να εφαρμοστεί βιολογική καταπολέμηση με την χρήση παρασιτοειδών στο δάκο της ελιάς. Το *Psytallia concolor*, αποτελεί ένα από τα πιο επιτυχημένα παραδείγματα. Στο παρελθόν εξαπολύθηκε το εν λόγω παρασιτοειδές και στην

Ελλάδα χωρίς ιδιαίτερη αποτελεσματικότητα, οπότε και εγκαταλείφθηκαν οι προσπάθειες (Τζανακάκης 2007). Όμως, ο Genduso (1983) αναφέρει ότι από πολύχρονα πειράματα στην Σικελία φαίνεται ότι θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί ως μια εναλλακτική στην χημική καταπολέμηση. Αν και σε πειράματα που έγιναν το διάστημα 1997-2001 τα ποσοστά προσβολών ήταν πολύ ψηλά, φαίνεται ότι σε δύσκολες κλιματικές συνθήκες και σε υψηλές πυκνότητες του πληθυσμού του παρασιτοειδούς δεν φαίνεται να ελέγχουν αποτελεσματικά τους πληθυσμούς του δάκου της ελιάς (Delrio et al. 2005).

Παρόλα αυτά δεν είναι το μόνο παρασιτοειδές που θεωρήθηκε κατάλληλο για την αντιμετώπιση του δάκου της ελιάς. Έχουν γίνει προσπάθειες να εγκατασταθεί το *Psytallia ronerophaga* στη Μεσόγειο, όμως δεν έδωσαν ικανοποιητικά αποτελέσματα. Μετά την εισβολή του δάκου της ελιάς στην Καλιφόρνια, έγιναν περαιτέρω μελέτες για πιθανή εγκατάστασή του παραπάνω παρασιτοειδούς στην περιοχή, καθώς και για τις συνθήκες κάτω από τις οποίες θα μπορούσε η εγκατάσταση να είναι επιτυχής (Sime et. al, 2007). Άλλα παρασιτοειδή που θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν στην βιολογική καταπολέμηση του δάκου της ελιάς είναι τα *Psytalli alounsburyi*, *Utetes africanus* και *Braconceler*, όμως η αποτελεσματικότητά τους εξαρτάται σε πολλές περιπτώσεις από το μικροκλίμα της εκάστοτε περιοχής (Daane και Johnson 2010).

1.3.2 *Bacillus thuringiensis*

Οι Beegle και Yamamoto (1992) αναφέρουν ότι το *Bacillus thuringiensis* είναι ένα θετικό κατά Gram βακτήριο, που απαντάται σε πολλά ενδιαιτήματα. Κατά τη σποριοποίηση, τα σπόρια καλύπτονται από κρυστάλλους, οι οποίοι είναι τοξικοί αν καταναλωθούν από κάποια έντομα. Αυτό ισχύει για συγκεκριμένα στελέχη του βακτηρίου (Hofte και Whitely 1989, Schnepf et. al, 1998, Ohba και Aizawa 1986, Faiza et. al. 2013). Σύμφωνα με τους Hofmann et. al. (1988), ο μηχανισμός δράσης περιλαμβάνει την διάλυση του κρυστάλλου στο μέσο έντερο, την πρωτεολυτική επεξεργασία του από τις πρωτεάσες του μέσου εντέρου και την πρόσδεση της κρυσταλλικής τοξίνης στους υποδοχείς του μέσου εντέρου (Schnepf et. al 1998). Ο Τζανακάκης αναφέρει ότι η χρήση της ενδοτοξίνης του *Bacillus thuringiensis* μαζί με υδρολυμένη πρωτεΐνη 3% ήταν αποτελεσματική εναντίον ενηλίκων και προνυμφών του δάκου της ελιάς (Τζανακάκης 2007).

Σε ότι αφορά τα ενήλικα του εντόμου, σε πειράματα για την μελέτη του στελέχους 114A του βακτηρίου και τον προσδιορισμό της τοξικότητας του σε άγριο πληθυσμό του δάκου της ελιάς, χορηγήθηκε μείγμα σπορίων και κρυστάλλων σε ενήλικα άτομα μίας μέρας και οχτώ ημερών. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι τοξίνες που προκύπτουν από το μείγμα σπορίων και κρυστάλλων μειώνουν την διάρκεια ζωής των ενηλίκων και την περίοδο ωτοκίας των θηλυκών, καθώς και τον αριθμό των ωών που αποτίθενται και εκκολάπτονται (Navrozidis et. al 2000). Επιπλέον, σε εφαρμογές στον αγρό, που πραγματοποιήθηκαν τα έτη 1996, 1997 και 1998 παρατηρήθηκε ότι οι προσβολές μειώθηκαν αρκετά, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 2.

Πίνακας 2: Ποσοστά προσβολών από τον δάκο της ελιάς σε ελαιόδεντρα που ψεκάστηκαν με το *B. thuringiensis* (από Navrozidis et al. 2000)

ΕΤΟΣ	Προσβολή ελαιοκάρπου από το δάκο της ελιάς	
	ΜΑΡΤΥΡΑΣ	Ψεκασμένα με βάκκιλο
1996	58,9%	12,1%
1997	70,6%	24,7%
1998	25,9%	8,5%

1.3.3 Τα ενδοσυμβιωτικά βακτήρια *Wolbachia*

Πολλοί επιστήμονες έχουν μελετήσει το εν λόγω γένος βακτηρίων και κατέληξαν ότι εντοπίζεται στις γονάδες πολλών αρthropόδων (Werren 1997). Προκαλεί προβλήματα στην αναπαραγωγή των ειδών, καθώς επιφέρει κυτοπλασματική ασυμβατότητα, θανάτωση των αρσενικών, θηλυκοποίηση των αρσενικών και παραγωγή αποκλειστικά θηλυκών μολυσμένων ατόμων, σε περιπτώσεις παρθενογένεσης. Αυτοί οι τέσσερις φαινότυποι των *Wolbachia* δεν απαντώνται σε όλες τις τάξεις των εντόμων. Στα Δίπτερα συναντούμε δύο φαινοτύπους: την

θανάτωση των αρσενικών, όπου τα μολυσμένα αρσενικά θανατώνονται και τα μολυσμένα θηλυκά επιβιώνουν, αποκτώντας έτσι ανταγωνιστικό πλεονέκτημα, και την κυτταροπλασματική ασυμβατότητα σε άτομα που συζευγνύονται και είναι μολυσμένα με ασύμβατο στέλεχος των *Wolbachia* (Werren et. al. 2008).

Η θανάτωση των αρσενικών συμβαίνει κυρίως στο στάδιο της εμβρυογένεσης. Ο φαινότυπος του βακτηρίου ερευνήθηκε και εξακριβώθηκε στο λεπιδόπτερο *Ostrinia scapularis*. Συγκεκριμένα οι Kageyama et. al (2002) παρατήρησαν ότι τα μολυσμένα θηλυκά του είδους έδιναν μόνο θηλυκούς απογόνους. Όταν χορηγήθηκε στις μολυσμένες μητέρες τετρακυκλίνη, όλοι οι απόγονοι τους ήταν αρσενικοί. Παρόλα αυτά, οι Kageyama και Traut (2004), όπως αναφέρεται και στον Werren, Baldo και Clark, (2008), κατέληξαν πως η θανάτωση των αρσενικών προκύπτει από την θανατηφόρα θηλυκοποίηση τους στο στάδιο της προνύμφης.

Στην περίπτωση της κυτταροπλασματικής ασυμβατότητας, αν και ο μοριακός μηχανισμός δεν είναι πλήρως γνωστός, φαίνεται ότι κατά την γονιμοποίηση του ωού από το σπέρμα, τα πατρικά χρωμοσώματα, που είναι ανεπαρκώς περιελιγμένα, χάνονται κατά την εμβρυική ανάπτυξη. Αυτό όμως δεν συμβαίνει όταν το αρσενικό φέρει το ίδιο στέλεχος του βακτηρίου με το θηλυκό, γιατί τότε η λειτουργικότητα του σπέρματος αποκαθίσταται, οπότε και αναπτύσσεται το έμβρυο (Pan, et al., 2017).

Η έρευνα των Apostolakis et. al. (2011) επιβεβαιώνει ότι προκαλείται κυτοπλασματική ασυμβατότητα, όταν ο δάκος της ελιάς μολύνεται από τα ενδοσυμβιωτικά βακτήρια *Wolbachia*. Επομένως, το βακτήριο αυτό θα μπορούσε να αποτελέσει ένα μέσο καταπολέμησης του δάκου της ελιάς. Ωστόσο, το πρόβλημα που αντιμετωπίζουν οι επιστήμονες στη χρήση των ενδοσυμβιωτικών βακτηρίων *Wolbachia* στο δάκο της ελιάς είναι η δυσκολία στη μαζική εκτροφή του (Fletcher 1987, Apostolakis et al. 2011). Επιπλέον, οι μαζικές εκτροφές παράγουν αρσενικά άτομα, τα οποία δεν είναι αρκετά ανταγωνιστικά ως προς την σύζευξή τους με τα θηλυκά, σε σύγκριση με τα άγρια. Επίσης, ο διαχωρισμός των δύο φύλων δεν είναι αποτελεσματικός. Για παράδειγμα, στην εκτροφή της μύγας της Μεσογείου, για την εξαπόλυση αποκλειστικά αρσενικών ατόμων χρησιμοποιείται η φυλή tsl (thermal sensitive lethal). Το πλεονέκτημά της είναι η θανάτωση κατά 100% των θηλυκών ατόμων στο στάδιο του ωού, όταν αυτά εκτεθούν σε θερμοκρασία 37° C (Kyritsis et al. 2019). Δυστυχώς μέχρι και σήμερα δεν υπάρχει η αντίστοιχη δυνατότητα στον δάκο της ελιάς.

1.4 Το παρσιτοειδές *Aganaspis daci* (Weld)

1.4.1 Γενικά

Το *Aganaspis daci* (Weld) (Hymenoptera: Figitidae) είναι ένα μονήρες ενδοπαρασιτοειδές προνυμφών και νυμφών αρκετών ειδών της οικογένειας Tephritidae (de Pedro et. al. 2017). Έχει χρησιμοποιηθεί σε προγράμματα βιολογικής καταπολέμησης. Για παράδειγμα, το USDA το εισήγαγε στην Χαβάη το 2008, προκειμένου να ενισχυθεί η καταπολέμηση του είδους *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae) με έναν επιπλέον θανατηφόρο παράγοντα (El-Heneidy et al. 2016). Στην Ελλάδα εντοπίστηκε για πρώτη φορά στην Χίο, σε παρασιτισμένες νύμφες της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae), προερχόμενες από προσβεβλημένα σύκα (Papadopoulos και Katsoyannos 2003)

1.4.2 Μορφολογία

Ο L. H. Weld ήταν ο πρώτος που κατέγραψε το *A. daci* (Εικόνα 3) στην Μαλαισία (Andleeb Shahid και Mehmood 2010). Σύμφωνα με τις καταγραφές του, το είδος εμφανίζει διμορφισμό σε τέσσερα μορφολογικά χαρακτηριστικά: το αρσενικό έχει κεραίες με 15 μεταμερή, πιο μακριές από αυτές του θηλυκού. Επιπλέον, το θηλυκό (Εικόνα 4) έχει σώμα μήκους 2,0-2,85mm ενώ το αρσενικό μπορεί να έχει και μικρότερο μήκος, με πιο γωνιώδη κοιλιά και τέλος, ο μεταθώρακας του αρσενικού είναι πιο σφηνοειδές. Γενικά το *A. daci* έχει χρώμα μαύρο, με κοκκινωπή κάτω γνάθο, κοιλιά και πόδια. Η κεφαλή είναι λεία, λίγο πιο πλατιά από τον θώρακα. Τα μάτια φέρουν κάποιες τρίχες. Ο ωσθέτης είναι μια ευθεία κατασκευή, με μέγεθος περίπου πέντε φορές το πλάτος της κεφαλής. Οι πτέρυγες έχουν καφέ αγγεία και μέγεθος περίπου τέσσερις φορές μεγαλύτερο μέγεθος από το πλάτος της κεφαλής (Weld 1951).



Εικόνα 3: Θηλυκό *A. daci* σε ελαιόκαρπο προσβεβλημένο από το δάκο της ελιάς

1.4.3 Βιολογία

Όπως όλα τα ολομετάβολα έντομα, έτσι και το *A. daci* έχει τέσσερα στάδια: αυγό, προνύμφη, νύμφη και ενήλικο.

Τα αυγά είναι μονοεμβρυονικά και διαθέτουν λέπια. Έχουν μήκος 300-450 μm και πλάτος 150-250 μm . Η εκκόλαψη πραγματοποιείται μετά από έντονες, κυκλικές κινήσεις της κεφαλής και των τελευταίων μεταμερών της νεαρής προνύμφης, οπότε σπάει το χορίο (El-Heneidy και Ramadan 2019). Το θηλυκό συνήθως ωτοκεί σε προνύμφες του ξενιστή που έχουν φτάσει στην τρίτη ηλικία (Tormos 2013).

Σύμφωνα με τους Onruski (1994), Diaz, Guimaraes και Gallardo (2006), το *A. daci* παρουσιάζει υπερ-μεταμόρφωση (hyper-metamorphosis), χαρακτηριστικό της οικογένειας. Το χαρακτηριστικό αυτό περιλαμβάνει μεγάλες μορφολογικές διαφορές μεταξύ των τεσσάρων προνυμφικών ηλικιών (El-Heneidy et al. 2016).

Παρακάτω περιγράφεται ο βιολογικός κύκλος του *A. daci* σε ξενιστή τη μύγα της Μεσογείου στους 25 °C. Η πρώτη προνυμφική ηλικία εμφανίζεται την τέταρτη μέρα μετά την ωοτοκία, όταν ο ξενιστής σχηματίζει το νυμφικό περίβλημα. Η προνύμφη σε αυτή την ηλικία είναι ευκέφαλη, με σχεδόν κυλινδρικό, διαφανές σώμα, μήκους περίπου 650 μm και πλάτους περίπου 250 μm. Το κάθε θωρακικό μεταμερές έχει ένα ζεύγος μακρών, μαλακών εξαρτημάτων (Tormos et al. 2013). Μετά από τρεις ημέρες η προνύμφη φτάνει στη δεύτερη ηλικία. Έχει μεγαλώσει αρκετά σε μέγεθος, καθώς το μήκος της είναι 3500-4350 μm και πλάτος 550-850 μm. Η μορφολογία της έχει αλλάξει ελαφρώς, με το σώμα να είναι πιο κυλινδρικό, πλευρικά πεπλατυσμένο, υπολευκοκιτρινωπό και την κεφαλή να έχει διαφοροποιηθεί. Το τελευταίο μεταμερές έχει μία μικρή ουρά (Tormos et. al. 2013). Στην τρίτη προνυμφική ηλικία, η προνύμφη γίνεται κιτρινωπή, με αρκετά λευκά, σφαιρικά, χοντρά σημεία στο θώρακα και στην κοιλιά, με αρκετά εμφανή κεφαλή και πεπτικό σωλήνα. Είναι καμποδεόμορφη, με μήκος 1750-2000 μm και 600-750 μm πλάτος. Οι γνάθοι είναι σκληρωτισμένες και αναγνωρίζονται εύκολα στο μικροσκόπιο. Γενικά η προνύμφη σε όλα τα στάδια τρέφεται με το εσωτερικό του ξενιστή (ενδοπαρασιτική συμπεριφορά), με την διαφορά ότι η προχωρημένη προνύμφη τρίτης ηλικίας έχει σχηματίσει οπή στο σώμα του ξενιστή, έχει εξέλθει από τον ξενιστή, αλλά όχι από το νυμφικό περίβλημα, επομένως τρέφεται με το νυμφικό περίβλημα, εμφανίζοντας εκτοπαρασιτική συμπεριφορά (Tormos et. al. 2013). Στην τέταρτη και τελευταία ηλικία μεταβαίνει σε τρεις με τέσσερις ημέρες, όπου η προνύμφη συνεχίζει να έχει τους χρωματισμούς και τα σωματικά χαρακτηριστικά της τρίτης ηλικίας, με το κεφάλι να έχει μεγαλώσει, αποκτώντας ελαφρώς σφαιρικό σχήμα, με εύκολα αναγνωρίσιμες γνάθους και μήκος σώματος 3100-3750 μm και πλάτος 1500-1650 μm (Tormos et al. 2013). Στο στάδιο της νύμφης παρατηρούνται μορφολογικές αλλαγές, όπως η ανάπτυξη των ομματιδίων των σύνθετων οφθαλμών, με την διαμόρφωση της στένωσης μεταξύ θώρακα και κοιλιάς, καθώς και την διαφοροποίηση των κεραιών και των θωρακικών ποδιών. Η νύμφη του *A. daci* αρχικά είναι λευκή και στην συνέχεια σκουραίνει. Μάλιστα, τα θηλυκά και τα αρσενικά διαφέρουν. Επίσης, οι παρασιτισμένες νύμφες του ξενιστή είναι μικρότερες από τις φυσιολογικές. Τέλος, η κατάσταση αυτή ξεκινά μετά από τρεις ημέρες και διαρκεί 12-15 ημέρες, όπου και εξέρχεται το ενήλικο από την επάνω πλευρά του νυμφικού του περιβλήματος (Tormos et al. 2013).

Το *A. daci* εμφανίζει πρωτανδρία, με τα θηλυκά να εξέρχονται του νυμφικού περιβλήματος δύο ημέρες μετά τα αρσενικά. Αμέσως μετά την έξοδο των θηλυκών, τα αρσενικά επιδιώκουν

την σύζευξη με αυτά (El-Heneidy και Ramadan 2019). Το *A. daci* εμφανίζει απλοειδή προαιρετικό αρρενοτόκο παρθενογένεση. Αυτό σημαίνει ότι τα θηλυκά μπορούν να αποθέτουν γονιμοποιημένα ωά που εκκολάπτονται και προκύπτει θηλυκό άτομο ή γεννούν αγονιμοποίητα ωά και προκύπτει αρσενικό. Πρόκειται για μια αρκετά συνήθης συμπεριφορά στα Υμενόπτερα (Τζανακάκης, 2007).

1.4.4 Ξενιστές του *A. daci*

Σύμφωνα με τους Wharton et al. (1998), Onruski (1994) και Gilstrap (1998), το *A. daci* παρασιτεί μόνο είδη της οικογένειας Tephritidae (Beatriz 2009). Για το λόγο αυτό έχουν γίνει προσπάθειες για την χρήση του ως παράγοντα βιολογικής καταπολέμησης των εχθρών της οικογένειας αυτής.

1.4.4.1 *Ceratitis capitata*

Η μύγα της Μεσογείου είναι ένα πολυφάγο είδος. Προσβάλλει πάνω από 350 είδη φρούτων και λαχανικών (Liquidó et. al. 1990, Liquidó et. al. 1991). Φαίνεται ότι προτιμά τα εσπεριδοειδή (Papanastasiou et al 2017). Αν και κατάγεται από την Αφρική, έχει καταφέρει να εξαπλωθεί σε όλες της χώρες της Μεσογειακή λεκάνης, αλλά και όχι μόνο. Απαντάται σε πάνω από 100 χώρες και φαίνεται ότι καταφέρνει να προσβάλλει πάνω από 300 είδη στις χώρες αυτές (USDA, 2020).

Η διάρκεια του βιολογικού κύκλου του *A. daci* με ξενιστή την μύγα της Μεσογείου διαρκεί περίπου 32-33 ημέρες, όταν η θερμοκρασία διατηρείται στους 25°C (Tormos et. al. 2013), ωστόσο η περίοδος αυτή μπορεί να παραλλάσει ανάλογα με τον πληθυσμό του παρασιτοειδούς. Για παράδειγμα, η διάρκεια ανάπτυξης στην ίδια θερμοκρασία ανήλθε σε 34 ημέρες για τα αρσενικά και τις 37 ημέρες για τα θηλυκά του είδους που προήλθαν από το νησί της Χίου (Papadopoulos και Katsoyannos 2003).

1.4.4.2 *Rhagoletis cerasi*

Το εν λόγω είδος έχει βρεθεί σε 36 χώρες σε όλον τον κόσμο, με πιο έντονη παρουσία στην κυρίως στην Ευρώπη, λιγότερο στην Ασία και με πολύ περιορισμένα κρούσματα στις ΗΠΑ. Κύριος ξενιστής είναι η κερασιά, ενώ δευτερεύοντες είναι το μαχλέπι, η βυσσινιά, το μαύρο κεράσι και τα είδη του γένους *Lonicera*. Επίσης θεωρείται έντομο καραντίνας στο Μαρόκο, το Μεξικό και τις ΗΠΑ (USDA 2020)

Παρότι δεν υπάρχουν μελέτες αναφορικά με τη βιολογία του *A. daci* στο συγκεκριμένο ξενιστή, έχει διαπιστωθεί η παρουσία του σε παρασιτισμένες προνύμφες του *R. cerasi* που συλλέχθηκαν από βιολογικούς οπωρώνες κερασιάς στην περιοχή της Αγίας, Λάρισας το 2015 (Ιωάννου Χ. προσωπική επικοινωνία).

1.4.4.3 *Bactrocera dorsalis*

Σύμφωνα με τον Weld, το *A. daci* καταγράφηκε για πρώτη φορά να παρασιτεί το *B. dorsalis* (Weld, 1961). Κατάγεται από περιοχές της τροπικής Ασίας και πρόκειται για μία από τις σημαντικότερες μύγες των φρούτων, καθώς έχει καταφέρει να εισβάλει και να εδραιωθεί σε πολλές χώρες του κόσμου, στην Αφρική, Ασία και σε νησιά του Ειρηνικού. Οι Leblanc και Putoa την κατατάσσουν ανάμεσα στις πέντε πιο καταστροφικές και επιθετικές μύγες φρούτων παγκοσμίως (Vargas, 2007).

Σύμφωνα με την έρευνα των Clausen et al. (1965), η ανάπτυξη του *A. daci* στο *B. dorsalis* παρουσιάζει παρόμοια διάρκεια με αυτή στη μύγα της Μεσογείου, στις ίδιες συνθήκες θερμοκρασίας. Βέβαια, οι Tormos et al. (2013) διαφοροποιούνται από αυτή την άποψη.

1.4.4.4 *Bactrocera zonata*

Το *B. zonata*, γνωστό ως μύγα του ροδάκινου (peach fruit fly) σύμφωνα με τον προσβάλλει τροπικούς και υποτροπικούς καρπούς (Fletcher 1987). Αν και είναι ινδικής καταγωγής, έχει εξαπλωθεί σε διάφορες χώρες, όπως την Ινδία, το Πακιστάν, το Νεπάλ, το Μπαγκλαντές, την Σρι Λάνκα, την Βρμανία και κατά πάσα πιθανότητα στην νοτιοανατολική Ασία. Στην Αίγυπτο

φαίνεται ότι έχει εξαπλωθεί σε πολλά κυβερνεία, προκαλώντας μεγάλη οικονομική ζημιά (Hosni et al., 2012).

Ο Hussain (1995) αναφέρει ότι το *B. zonata* έχει πάνω από 50 ξενιστές, καλλιεργούμενα και άγρια είδη, με κύριους ξενιστές το γκουάβα, το μάνγκο και το ροδάκινο και δευτερεύοντες ξενιστές το βερίκοκο, το σύκο και το κίτρο (Hosni et al. 2012).

Όταν τα ενήλικα του *A. daci* παρασιτούν το είδος αυτό, η διάρκεια ανάπτυξης φτάνει τις 16-18 ημέρες για τα αρσενικά και 18-20 ημέρες για τα θηλυκά στους 20 °C (Andleeb et al. 2010).

1.4.4.5 Anastrepha suspensa

Μορφολογικά, το ενήλικο είναι κίτρινο, με μήκος σώματος 12-12mm, με μακριές πτέρυγες που φέρουν μοτίβα κίτρινο-καφέ χρώματος. Τα μοτίβα των πτερύγων είναι ελαφρώς διαφορετικά στα δύο φύλα και μάλιστα αποτελούν στοιχείο αναγνώρισης του είδους συγκριτικά με άλλα είδη του ίδιου γένους. Ο ωοθέτης είναι μικρός, με την βάση του να είναι σχετικά πλατιά και την κορυφή του να στενεύει. Η προνύμφη είναι λευκή και έχει τα τυπικά χαρακτηριστικά μιας προνύμφης μύγας φρούτων, δηλαδή κυλινδρική, με το ουριαίο κομμάτι ελαφρώς κυρτό και στοματικά μόρια σαν άγκριστρα (Andleeb et. al 2010).

Το είδος αυτό είναι ενδημικό στην Κούβα, Τζαμάικα, Hispaniola, Πουέρτο Ρίκο και Φλόριντα και αποτελεί σοβαρό ξενιστή στα ενδημικά είδη φρούτων. Προς το παρόν ως βιολογικός παράγοντας καταπολέμησης χρησιμοποιείται το *Diachasmimorpha longicaudata*, με μείωση κατά 40% του πληθυσμού του *A. suspensa*. Σύμφωνα με τους Baranowski, Glenn και Sivinski (1993) στο παρελθόν είχαν γίνει προσπάθειες εγκατάστασης του *A. daci* στην Φλόριντα, όπου η καταπολέμηση του *A. suspensa* ήταν επιτυχής. Αν και έγιναν προσπάθειες εγκατάσταση του στο Μεξικό και την Κόστα Ρίκα σύμφωνα με τους Jimenez-Jimenez (1956) και Wharton et. al. (1981) αντίστοιχα, οι τελευταίοι δεν επιβεβαιώνουν την επιτυχή εγκατάσταση του παρασιτοειδούς (Andleeb et. al 2010).

Η διάρκεια ανάπτυξης του *A. daci* είναι αρκετά μεγαλύτερη σε αυτόν τον ξενιστή. Το αρσενικό εξέρχεται της νύμφης σε 26-28 ημέρες από την ημερομηνία παρασιτισμού και το θηλυκό σε 28-30 ημέρες, στους 25 °C (Nuñez-Bueno 1982).

1.4.4.6 *Bactrocera oleae*

Σε πειράματα που έγιναν για την διάρκεια ανάπτυξης τους *A. daci* στο δάκο της ελιάς, παρατηρήθηκε ότι σε θερμοκρασία 15°C, η διάρκεια ανάπτυξης είναι κατά μέσο όρο για τα αρσενικά 177 ημέρες, ενώ για τα θηλυκά 181 ημέρες. Αντίστοιχα, σε θερμοκρασία 20°C είναι 62 ημέρες για τα αρσενικά και 68 ημέρες για τα θηλυκά και για θερμοκρασία 25°C είναι 35 ημέρες για τα αρσενικά και 38 ημέρες για τα θηλυκά (Δεληγεωργίδης 2019).

1.5 Παρουσία του *Aganaspis daci* στην Ελλάδα

Όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως, το *A. daci* εντοπίστηκε για πρώτη φορά στην Ελλάδα το 1999 στη Χίο (Papadopoulos and Katsoyannos 2003), ενώ έκτοτε η παρουσία του στο συγκεκριμένο νησί είναι συνεχής, γεγονός που μαρτυρά την επιτυχή εγκατάστασή του (Ιωάννου Χ., προσωπική επικοινωνία). Επιπλέον, το συγκεκριμένο παρασιτοειδές έχει εντοπιστεί κατά καιρούς στους Νομούς Μαγνησίας και Αττικής σε δειγματοληψίες νυφών της μύγας της Μεσογείου που προήλθαν από προσβεβλημένους καρπούς εσπεριδοειδών (μανταρίνια και νεράντζια) (Ιωάννου Χ. και Παπαχρήστος Δ. προσωπικές παρατηρήσεις), ενώ αντίστοιχες αναφορές υπάρχουν και για περιοχές της Ισπανίας (de Pedro et al. 2016). Τέλος, ενήλικα του *A. daci* ανακτήθηκαν και από νύμφες της μύγας της κερασιάς *Rhagoletis cerasi* (Linnaeus), που συλλέχθηκαν από βιολογικούς οπωρώνες της Αγίας Λάρισας το 2015 (Ιωάννου Χ. προσωπικές παρατηρήσεις). Με βάση τα παραπάνω, προκύπτει τόσο η μόνιμη εγκατάσταση όσο και η συνεχής εξάπλωση του *A. daci* στον ευρύτερο χώρο της Μεσογείου, γεγονός που το καθιστά ως ένα ιδιαίτερα ελκυστικό είδος για την αντιμετώπιση ειδών της οικογένειας Tephritidae συμπεριλαμβανομένου και του δάκου της ελιάς.

1.6 Σκοπός της παρούσας διατριβής

Παρά τις εκτεταμένες προσπάθειες αξιοποίησης συγκεκριμένων φυσικών εχθρών του δάκου της ελιάς, τα μέχρι στιγμής αποτελέσματα δεν είναι τα αναμενόμενα. Ως κυριότερη αιτία φαίνεται να είναι η περιορισμένη προσαρμοστικότητα των ξενικών/εξωτικών ειδών που εισάγονται στα νέα περιβάλλοντα που καλούνται να δράσουν. Το γεγονός αυτό θα πρέπει να στρέψει την έρευνα στην αναζήτηση φυσικών εχθρών ήδη προσαρμοσμένων στις κλιματικές συνθήκες της εκάστοτε

περιοχής. Μια τέτοια περίπτωση αποτελεί το εγκατεστημένο σε πολλές περιοχές της χώρας μας, είδος *A. daci* όπως αναφέρθηκε και προηγουμένως. Πρόσφατες συγκριτικές μελέτες αναφορικά με τη βιολογία του παρασιτοειδούς σε ξενιστή προνύμφες του δάκου της ελιάς και μύγας της Μεσογείου (τυπικός ξενιστής εκτροφής) έδειξαν παραπλήσια ικανότητα επιβίωσης και ανάπτυξης μεταξύ των δύο ξενιστών (Δεληγεωργίδης 2019). Τα αποτελέσματα αυτά ανοίγουν το δρόμο για περαιτέρω έρευνες αναφορικά με τη δυνητική αξιοποίηση του *A. daci* ως φυσικού εχθρού του δάκου της ελιάς. Έτσι, ως επόμενο βήμα της προσπάθειας αυτής, σκοπός της παρούσας πτυχιακής διατριβής ήταν η μελέτη της επίδρασης της ποικιλίας και του μεγέθους του ελαιοκάρπου στην ικανότητα του *A. daci* να παρασιτεί τις προνύμφες του δάκου της ελιάς.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2. Γενικά υλικά και μέθοδοι

2.1 Συνθήκες εργαστηρίου

Η παρούσα μελέτη πραγματοποιήθηκε στις εγκαταστάσεις του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Οι εργαστηριακές συνθήκες, κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων ήταν, θερμοκρασία 25 ± 1 °C, σχετική υγρασία $60 \pm 10\%$ και φωτοπερίοδος 14Φ:10Σ, με έναρξη της φωτόφασης στις 07:00 και λήξη στις 21:00.

2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν και μέθοδοι εκτροφής τους

2.2.1 Δάκος της ελιάς

Η εγκατάσταση της αποικίας του δάκου της ελιάς πραγματοποιήθηκε με τη συλλογή προσβεβλημένων καρπών από ελαιώνες της ευρύτερης περιοχής της Μαγνησίας. Τα ενήλικα που προέκυψαν, διατηρούνταν σε ξύλινα κλουβιά διαστάσεων 30×30×30cm, που είχαν τις τρεις πλευρές του καλυμμένες με πλαστικό πλέγμα και στη μία (πρόσθια) έφεραν υάλινη επιφάνεια (Εικόνα 4). Στην οπίσθια πλευρά υπήρχε μία οπή, η οποία καλύπτονταν με ένα πλαστικό πώμα, ώστε να πραγματοποιούνται οι απαραίτητοι χειρισμοί εντός του κλουβιού (Εικόνα 5). Σε κάθε



Εικόνα 4: Κλωβός εκτροφής δάκου της ελιάς.

κλουβί υπήρχαν 400-500 ενήλικα άτομα των δύο φύλων τα οποία είχαν πρόσβαση σε νερό και σε τροφή αποτελούμενη από μίγμα ζάχαρης και υδρολυμένης πρωτεΐνης σε αναλογία 4:1. Για τη διατήρηση της αποικίας χρησιμοποιήθηκαν ελαιόκαρποι των ποικιλιών Πηλίου και Χαλκιδικής που συλλέχθηκαν από ελαιώνες της περιοχής του Νομού Μαγνησίας και ήταν στο πλέον κατάλληλο στάδιο ωρίμανσης για ωοτοκία από το έντομο, δηλαδή πλήρους μεγέθους και πράσινου ή σκούρου πράσινου χρώματος. Μετά τη συλλογή τους, οι ελιές εμβαπτίστηκαν σε κατάλληλο διάλυμα μυκητοκτόνου, για περίπου 10 δευτερόλεπτα, με σκοπό την αποφυγή μετασυλλεκτικών σήψεων. Στη συνέχεια, αφού αφέθηκαν να στεγνώσουν, τοποθετήθηκαν ανά ποικιλία, σε γυάλινα δοχεία εντός ψυκτικού θαλάμου, θερμοκρασίας 6 – 7 °C και Σ.Υ 70-80%. Πριν προσφερθούν για ωοτοκία, οι ελιές παρέμεναν στους 25°C για διάστημα 2-3 ωρών. Οι ελαιόκαρποι τοποθετούνταν στο πάτο των ξύλινων κλουβιών, σχετικά αραιά διατεταγμένοι μεταξύ τους, ώστε να διευκολύνεται η πρόσβαση των θηλυκών και προσφέρονταν για ωοτοκία στο δάκο της ελιάς. Ανάλογα με την ηλικία και την πυκνότητα των εντόμων λόγω θνησιμότητας εντός των ξύλινων κλουβιών, η ωοτοκία διαρκούσε περίπου 2-4 ώρες και ολοκληρωνόταν όταν το πλείστο των καρπών έφερε 3 – 4 νύγματα ωοτοκίας. Στη συνέχεια, οι προσβεβλημένοι ελαιόκαρποι τοποθετούνταν επάνω σε λινάτσα ελαφρώς εμποτισμένη με νερό εντός πλαστικών λεκανών που καλύπτονταν με πλαστικό καπάκι προκειμένου να μην αφυδατωθούν.

Οι λεκάνες παρέμεναν στους 25 °C και παρατηρούνταν σε καθημερινή βάση, φροντίζοντας για την παροχή επιπρόσθετης υγρασίας, μέσω ψεκασμού, εφόσον απαιτούταν. Επιπλέον, οι καρποί που εμφάνιζαν σήψεις και μυκηλιακές υφές απομακρύνονταν για την αποφυγή πιθανών επιμολύνσεων. Έπειτα από την παρέλευση 12 – 15 ημερών, ξεκινούσε η έξοδος των προνυμφών από τους καρπούς, η οποία διαρκούσε περίπου πέντε ημέρες. Οι προνύμφες και νύμφες συλλέγονταν με προσοχή και τοποθετούνταν σε πλαστικά τρυβλία Petri 9 cm που καλύπτονταν από ένα λεπτό (5mm) στρώμα αποστειρωμένης άμμου. Με την εμφάνιση των πρώτων ενηλίκων, τα τρυβλία ανοίγονταν και τοποθετούνταν στο κλουβιά των εκτροφών προκειμένου να ολοκληρωθεί η έξοδός τους.

2.2.2 *Aganaspis daci*

Για την πραγματοποίηση των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν έντομα αποικίας του *A. daci*, προερχόμενα από το Valencian Institute of Agrarian Research της Ισπανίας, όπου διατηρείται

από το 2010, σε ξενιστή μύγα της Μεσογείου. Τα ενήλικα των δύο φύλων (200 – 300 άτομα), διατηρούνταν σε κλουβιά Plexiglas 20 x 20 x 20 cm, που είχαν τις τρεις πλευρές τους καλυμμένες με λεπτή οργαντίνα, έχοντας πρόσβαση σε νερό και τροφή (μέλι). Ως ξενιστής για τη διατήρηση του παρασιτοειδούς χρησιμοποιήθηκε επίσης η μύγα της Μεσογείου της φυλής Μπενάκειο. Η διαδικασία της εκτροφής περιελάμβανε τη συλλογή ώριμων προνυμφών 3^{ης} ηλικίας που μεταφέρονταν στην οργαντίνα της οροφής των κλουβιών εντός ενός τρυβλίου Petri, διαμέτρου 9 cm. Στο τρυβλίο Petri τοποθετούνταν ένα γυάλινο κυλινδρικό δοχείο διαμέτρου 8,5 cm και ύψους 8 cm με νερό που με το βάρος του δεν επέτρεπε στις προνύμφες να διαφύγουν. Τα θηλυκά του *A. daci* εισχωρώντας τον ωοθέτη τους δια μέσου της οργαντίνας αποκτούσαν πρόσβαση για παρασιτισμό στις προνύμφες που δραστηριοποιούνταν στο εσωτερικό του τρυβλίου. Η διάρκεια του παρασιτισμού κυμαίνονταν από 1 έως 1.5 ώρες, ανάλογα με τον αριθμό των προνυμφών της μύγας της Μεσογείου που υπήρχαν στο τρυβλίο καθώς επίσης την ηλικία και την πυκνότητα λόγω θνησιμότητας των παρασιτοειδών που υπήρχαν στα κλουβιά. Μετά την ολοκλήρωση της διαδικασίας, οι παρασιτισμένες προνύμφες μεταφέρονταν σε πλαστικά δοχεία, με αποστειρωμένη άμμο για νύμφωση. Δύο με τρεις ημέρες αργότερα, οι νύμφες κοσκινίζονταν και τοποθετούνταν σε πλαστικά τρυβλία Petri, διαμέτρου 9 cm, προκειμένου να εξέλθουν τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου από τις μη παρασιτισμένες προνύμφες αρχικά (μετά από περίπου 10 ημέρες) και τα ενήλικα του παρασιτοειδούς μετά από ένα περίπου μήνα. Με την εμφάνιση των πρώτων ενηλίκων του *A.daci*, τα τρυβλία μεταφέρονταν στα κλουβιά των εκτροφών προκειμένου να ολοκληρωθεί η έξοδος των ενηλίκων. Τα πρώτα θηλυκά εξέρχονταν 2 – 3 ημέρες, μετά την εμφάνιση των πρώτων αρσενικών.

2.2.3 Πειραματική διαδικασία



Εικόνα 5: Πειραματικοί κλωβοί, όπου δόθηκαν οι ελαιόκαρποι για παρασιτισμό στο *A. daci*

Σε ότι αφορά την επίδραση της ποικιλίας του ελαιοκάρπου στην ικανότητα παρασιτισμού του *A. daci* χρησιμοποιήθηκαν καρποί των ποικιλιών Πηλίου (μεσαίο μέγεθος), Χαλκιδικής (μεγάλο μέγεθος) και καρποί αγριελιάς (μικρό μέγεθος). Αρχικά, καταγράφηκαν τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά των ελαιόκαρπων των εξεταζόμενων ποικιλιών (μήκος και πλάτος καρπού και πάχος σάρκας). Χρησιμοποιήθηκαν 50 καρποί ανά ποικιλία. Το πάχος της σάρκας μετρήθηκε ως η ακτίνα από το μέσο της επιφάνειας του καρπού έως τον πυρήνα. Στη συνέχεια, ελαιόκαρποι από κάθε ποικιλία και καρποί αγριελιάς προσφέρθηκαν σε γόνιμα θηλυκά του δάκου για ωοτοκία, προκειμένου να λάβουν 1-2 νύγματα. Οι προσβεβλημένοι ελαιόκαρποι παρέμειναν σε συνθήκες εργαστηρίου προκειμένου οι προνύμφες του δάκου της ελιάς να αναπτυχθούν έως τη 2^η και 3^η ηλικία αντίστοιχα (Εικόνα 7). Για το σκοπό αυτό πραγματοποιούνταν συχνός δειγματοληπτικός έλεγχος των καρπών ανά τακτά χρονικά διαστήματα. Στη συνέχεια, πέντε θηλυκά του *A. daci* ηλικίας 5-10 ημερών χωρίς προηγούμενη εμπειρία ωοτοκίας μεταφέρονταν σε κλουβιά 15x15x15 cm με νερό και τροφή (μέλι) και τους προσφέρονταν 10 ελαιόκαρποι με προνύμφες των δύο αναπτυξιακών ηλικιών που αναφέρθηκαν προηγουμένως για 24 ώρες (Εικόνα 6). Μετά το πέρας του διαστήματος αυτού, οι καρποί

μεταφέρονταν σε ατομικά δοχεία για τη συλλογή των νυμφών του δάκου της ελιάς και τον προσδιορισμό των ποσοστών παρασιτισμού. Για κάθε ποικιλία και ηλικία ανάπτυξης των προνυμφών του δάκου της ελιάς (2^η και 3^η) πραγματοποιήθηκαν 10 επαναλήψεις των 10 καρπών (συνολικά 100 καρποί). Επίσης, χρησιμοποιήθηκαν ως μάρτυρες 5 επαναλήψεις των 10 προσβεβλημένων με δάκο της ελιάς καρπών (συνολικά 50 καρποί) όπου τοποθετήθηκαν σε κλουβάκια για 24 ώρες χωρίς την παρουσία του παρασιτοειδούς. Η ικανότητα παρασιτισμού των θηλυκών του *A. daci* στις διαφορετικές ηλικίες των προνυμφών του δάκου της ελιάς εντός των ποικιλιών που μελετήθηκαν προσδιορίστηκε βάσει του ποσοστού εξόδου των ενηλίκων *A. daci* και του ποσοστού της επαγόμενης θνησιμότητας, η οποία υπολογίστηκε από την παρακάτω σχέση:

$$\text{Επαγόμενη θνησιμότητα (\%)} = \{(\text{Θνησιμότητα μεταχείρισης\%} - \text{Θνησιμότητα μάρτυρα\%}) / (100 - \text{θνησιμότητα μάρτυρα\%})\} * 100.$$

Σε ότι αφορά την επίδραση του μεγέθους του ελαιόκαρπου στην ικανότητα παρασιτισμού του *A. daci*, χρησιμοποιήθηκαν καρποί της βρώσιμης ποικιλίας της Χαλκιδικής τριών διαφορετικών μεγεθών (μικρές, μεσαίες και μεγάλες) και ακολουθήθηκε η παραπάνω μεθοδολογία. Ο διαχωρισμός των τριών μεγεθών επιτεύχθηκε με τη χρήση συσκευής διαλογής και όπως και στην προηγούμενη περίπτωση πραγματοποιήθηκε καταγραφή των μορφομετρικών χαρακτηριστικών 50 καρπών από την κάθε κατηγορία οι οποίοι επιλέχθηκαν με τυχαίο τρόπο.



Εικόνα 6: Ελαιόκαρποι μέσα στον πειραματικό κλωβό, οι οποίοι ήταν προσβεβλημένοι από το *Bactrocera oleae*

2.3 Στατιστική ανάλυση

Σε ότι αφορά τα πειράματα που αφορούσαν τόσο την επίδραση των διαφορετικών ποικιλιών όσο και του μεγέθους των ελαιοκάρπων, η κανονικότητα των δεδομένων εξετάστηκε με το κριτήριο Kolmogorov–Smirnov. Η μη παραμετρική ανάλυση Kruskal-Wallis χρησιμοποιήθηκε για τη σύγκριση των μορφομετρικών χαρακτηριστικών των καρπών που χρησιμοποιήθηκαν στα εν λόγω πειράματα. Η Generalized Linear Mixed Models (GLMM) ανάλυση χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση της ποικιλίας των ελαιοκάρπων και της ηλικίας των προνυμφών αντίστοιχα, στην έξοδο του *A. daci* και στην επαγόμενη θνησιμότητα. Οι αναλύσεις Kruskal Wallis και Mann-Whitney U χρησιμοποιήθηκαν προκειμένου να μελετηθεί η επίδραση του μεγέθους του καρπού και της ηλικίας των προνυμφών στην έξοδο του *A. daci* και στην επαγόμενη θνησιμότητα. Αυτό συνέβη διότι η φύση των δεδομένων στην προκειμένη περίπτωση δεν επέτρεψε την εφαρμογή παραμετρικών αναλύσεων.

3 Αποτελέσματα

Τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά των ελαιοκάρπων των εξεταζόμενων ποικιλιών δίνονται στον Πίνακα 3. Η ποικιλία Χαλκιδικής (μεγάλες) είχε το μεγαλύτερο μέγεθος καρπού (μήκος και πλάτος) και πάχος σάρκας (Kruskal Wallistest: μήκος: $\chi^2=130,998$, $df=2$, $P<0.001$; πλάτος: $\chi^2=133.548$, $df=2$, $P<0.001$; πάχος: $\chi^2=95,815$, $df=2$, $P<0.001$).

Η ικανότητα παρασιτισμού των διαφορετικών ηλικιών των προνυμφών του δάκου εντός των ποικιλιών των ελαιοκάρπων από τα θηλυκά του *A. daci* δίνεται στον Πίνακα 4. Το μεγαλύτερο ποσοστό εξόδου ενηλίκων του παρασιτοειδούς καταγράφηκε σε προνύμφες 3^{ης} ηλικίας στην ποικιλία Πηλίου. Επίσης, οι προνύμφες 3^{ης} ηλικίας φαίνεται να είναι πιο δεκτικές στον παρασιτισμό από αυτές της 2^{ης}, ανεξαρτήτως ποικιλίας ελαιοκάρπου. Η επαγόμενη θνησιμότητα στους πληθυσμούς του δάκου της ελιάς κυμάνθηκε από 24% έως 29% και από 17% έως 27% μεταξύ των ποικιλιών στις προνύμφες 3^{ης} και 2^{ης} ηλικίας.

Επίσης, δεν εξήλθαν ενήλικα του παρασιτοειδούς από προσβεβλημένους καρπούς αγριελιάς, ανεξαρτήτως του σταδίου ανάπτυξης της προνύμφης του δάκου της ελιάς. Στους καρπούς

αγριελιάς, η επαγόμενη θνησιμότητα κυμάνθηκε από 19 έως 24% (ανάλογα του σταδίου προνύμφης), ενώ τα ποσοστά εξόδου του δάκου της ελιάς από τον μάρτυρα ήταν υψηλά (>82%).

Πίνακας 3. Μορφομετρικά χαρακτηριστικά ελαιόκαρπων

Ποικιλία ελιάς	N	Μήκος (εκ.)	Πλάτος (εκ.)	Πάχος (εκ.)
Αγριελιάς	50	2,01 ± 0,02α	1,59 ± 0,01α	0,62 ± 0,11α
Πηλίου	50	2,47 ± 0,02β	2,01 ± 0,02β	0,60 ± 0,02α
Χαλκιδικής (μεγάλες)	50	3,63 ± 0,03γ	2,52 ± 0,01γ	0,85 ± 0,01β

Πίνακας 4. Έξοδος ενηλίκων του *A. daci* και επαγόμενη θνησιμότητα σε προνύμφες του δάκου της ελιάς 2^{ης} και 3^{ης} ηλικίας που αναπτύχθηκαν σε ελαιόκαρπους των ποικιλιών Πηλίου, Χαλκιδικής (μεγάλες) και αγριελιάς.

Ηλικία προνύμφης	Ελαιόκαρπος	Έξοδος παρασίτου (%) (μ.ο. ± SE)	Επαγόμενη θνησιμότητα * (%) (μ.ο. ± SE)
L3	Αγριελιά	0α	24,4 ± 5,8α
	Πηλίου	9,1 ± 2,9β	19,4 ± 8,7α
	Χαλκιδικής (μεγάλες)	5,5 ± 1,9β	22,9 ± 7,9α
L2	Αγριελιά	0α	19,4 ± 5,4α
	Πηλίου	0,9 ± 0,9α	30,2 ± 6,5α
	Χαλκιδικής (μεγάλες)	0α	18,3 ± 11,9α

*Επαγόμενη θνησιμότητα (%) = [(θνησιμότητα μεταχείρισης – θνησιμότητα μάρτυρα) / (100 – θνησιμότητα μάρτυρα)] x 100%.

Μέσοι όροι στην ίδια στήλη που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά (LSD-test, P>0.05)

Η GLMM ανάλυση έδειξε ότι α) η ποικιλία και η ηλικία των προνυμφών είχαν σημαντική επίδραση στην έξοδο των ενηλίκων του *A. daci* και β) η ποικιλία και η ηλικία των προνυμφών

δεν έχουν σημαντική επίδραση στην επαγόμενη θνησιμότητα των ενηλίκων του δάκου της ελιάς (Πίνακας 5).

Τα μορφομετρικά χαρακτηριστικά των ελαιόκαρπων διαφορετικού μεγέθους της ποικιλίας Χαλκιδικής δίνονται στον Πίνακα 6. Το μήκος και το πλάτος του ελαιόκαρπου και το πάχος της σάρκας διαφέρει μεταξύ των τριών κατηγοριών μεγέθους των ελαιόκαρπων (Kruskal Wallis test: μήκος: $\chi^2=101,128$, $df=2$, $P<0.001$; πλάτος: $\chi^2=108,013$, $df=2$, $P<0.001$; πάχος: $\chi^2=96,764$, $df=2$, $P<0.001$). Συνεπώς, τηρούνται οι προϋποθέσεις του πειραματικού σχεδιασμού για καρπούς τριών διαφορετικών κατηγοριών μεγέθους της ποικιλίας Χαλκιδικής.

Η ικανότητα παρασιτισμού των διαφορετικών ηλικιών των προνυμφών του δάκου της ελιάς εντός των διαφορετικών μεγεθών ελαιόκαρπων της ποικιλίας Χαλκιδικής από τα θηλυκά του *A. daci* δίνεται στον Πίνακα 7. Το μεγαλύτερο ποσοστό εξόδου ενηλίκων του παρασιτοειδούς (11,4%) καταγράφηκε σε προνύμφες 3^{ης} ηλικίας στους μικρού μεγέθους καρπούς της ποικιλίας Χαλκιδικής. Επίσης, οι προνύμφες 3^{ης} ηλικίας φαίνεται να είναι πιο δεκτικές στον παρασιτισμό από εκείνες της 2^{ης}, ανεξαρτήτως μεγέθους του ελαιόκαρπου. Η επαγόμενη θνησιμότητα του πληθυσμού του δάκου της ελιάς κυμάνθηκε από 12 έως 41% και από 15% έως 42% μεταξύ των διαφορετικών μεγεθών καρπών για τις προνύμφες 3^{ης} και 2^{ης} ηλικίας, αντίστοιχα. Το μέγεθος του ελαιόκαρπου είχε σημαντική επίδραση στην έξοδο του παρασιτοειδούς (Kruskal wallis: $\chi^2=6,958$, $df=2$, $P=0,031$), αλλά όχι και στην επαγόμενη θνησιμότητα (Kruskal wallis: $\chi^2=0,617$, $df=2$, $P=0,735$). Ομοίως, το στάδιο της προνύμφης είχε σημαντική επίδραση στην έξοδο του παρασιτοειδούς (MannWhitney: $U=259,000$, $P=0,001$), αλλά όχι και στην επαγόμενη θνησιμότητα (MannWhitney: $U=444,500$, $P=0,935$).

Πίνακας 5. Μεταβλητές της GLMM ανάλυσης για την επίδραση της ποικιλίας και της ηλικίας των προνούμφων στην έξοδο των ενηλίκων του *A. daci* και στην επαγόμενη θνησιμότητα του δάκου της ελιάς.

Πηγή παραλλακτικότητας	Wald Chi-squaretest	df	P
<i>Ενήλικα του A. daci</i>			
Ποικιλία	12,671	2	0,002
Ηλικία προνούμφης	15,790	1	<0,001
Ποικιλία * Στάδιο προνούμφης	8,783	2	0,012
<i>Επαγόμενη θνησιμότητα</i>			
Ποικιλία	0,490	2	0,783
Ηλικία προνούμφης	0,002	1	0,966
Ποικιλία * Στάδιο προνούμφης	1,685	2	0,431

Πίνακας 6. Μορφομετρικά χαρακτηριστικά ελαιόκαρπων της ποικιλίας Χαλκιδικής.

Μέγεθος	N	Μήκος (εκ.)	Πλάτος (εκ.)	Πάχος (εκ.)
Χαλκιδικής (μικρές)	50	2,77 ± 0,03α	1,82 ± 0,01α	0,57 ± 0,01α
Χαλκιδικής (μεσαίες)	50	2,82 ± 0,02α	1,89 ± 0,02β	0,52 ± 0,02α
Χαλκιδικής (μεγάλες)	50	3,63 ± 0,03β	2,52 ± 0,01γ	0,85 ± 0,01β

Μέσοι όροι στην ίδια στήλη που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά (Mann-WhitneyU-test, P>0.05)

Πίνακας 7. Έξοδος *A. daci* και επαγόμενη θνησιμότητα προνυμφών 2^{ης} και 3^{ης} ηλικίας του δάκου της ελιάς που αναπτύχθηκαν σε διαφορετικού μεγέθους ελαιόκαρπους της ποικιλίας Χαλκιδικής.

Στάδιο προνύμφης	Ελαιόκαρπος	Έξοδος ενηλίκων του <i>A. daci</i> (%) (μ.ο. ± SE)	Επαγόμενη θνησιμότητα* (%) (μ.ο. ± SE)
L ₃	Χαλκιδικής (μικρές)	11,4 ± 2,8 α	41,3 ± 10,7 α
	Χαλκιδικής (μεσαίες)	3,1 ± 1,7 β	12,0 ± 6,3 β
	Χαλκιδικής (μεγάλες)	5,5 ± 1,9 β	22,9 ± 7,9 $\alpha\beta$
L ₂	Χαλκιδικής (μικρές)	3 ± 1,6 α	15,4 ± 3,9 β
	Χαλκιδικής (μεσαίες)	0,8 ± 0,8 β	42,1 ± 7,1 α
	Χαλκιδικής (μεγάλες)	0 β	18,3 ± 11,9 β

*Επαγόμενη θνησιμότητα (%) = [(θνησιμότητα μεταχείρισης – θνησιμότητα μάρτυρα) / (100 – θνησιμότητα μάρτυρα)] x 100%.

Μέσοι όροι στην ίδια στήλη που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δε διαφέρουν σημαντικά (Mann-WhitneyU-test, P>0.05)

4 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας έδειξαν ότι ο επιτυχής παρασιτισμός του *A. daci* σε προνύμφες του δάκου της ελιάς που αναπτύσσονται στο εσωτερικό των ελαιοκάρπων εξαρτάται τόσο από την ποικιλία όσο και από το μέγεθος αυτών. Επιπλέον, η ηλικία των προνυμφών του ξενιστή φαίνεται να διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην παράμετρο αυτή. Αντιθέτως, η επαγόμενη θνησιμότητα που καταγράφηκε δε φάνηκε να επηρεάζεται από τις προαναφερθείσες παραμέτρους. Σε ότι αφορά τις ποικιλίες που μελετήθηκαν, προέκυψε ότι το συγκεκριμένο παρασιτοειδές δεν προσβάλλει τις προνύμφες του δάκου που αναπτύσσονται σε αγριελιές. Το αποτέλεσμα αυτό έρχεται σε συμφωνία με προηγούμενες μελέτες που πραγματοποιήθηκαν στην Κρήτη και υποστηρίζουν ότι οι καρποί της αγριελιάς δεν αποτελούν κατάλληλους ξενιστές για τα παρασιτοειδή του δάκου της ελιάς (Neuenschwander et al.1983). Από περιοδικές παρατηρήσεις που πραγματοποιήθηκαν στους καρπούς των ποικιλιών που μελετήθηκαν, προέκυψε ότι η επισκεψιμότητα του παρασιτοειδούς στις προσβεβλημένες από το δάκο της ελιάς αγριελιές ήταν σχεδόν μηδενική σε αντίθεση με τις δύο άλλες ποικιλίες (Πηλίου και Χαλκιδικής). Αυτό δείχνει ότι τα μηδενικά ποσοστά παρασιτισμού που παρατηρήθηκαν δεν οφείλονται στην αδυναμία του *A.daci* να προσβάλλει τις προνύμφες που αναπτύσσονται στο εσωτερικό των αγριελιών αλλά στη μη ανταπόκριση των θηλυκών του παρασιτοειδούς στους εν λόγω καρπούς. Τόσο η χημική σύσταση όσο και το μικρό μέγεθος των αγριελιών μπορεί να ευθύνονται για τη μη ανταπόκριση του παρασιτοειδούς. Στο σημείο αυτό θα πρέπει να σημειωθεί ότι το *A. daci* είναι ένα γενικό παρασιτοειδές των Tephritidae (μύγες των φρούτων) τα οποία αναπτύσσονται σε μία μεγάλη γκάμα ξενιστών σε ότι αφορά τόσο τη χημική τους σύσταση όσο και το μέγεθός τους. Οπότε η απόρριψη ορισμένων κατηγοριών καρπών για την αναζήτηση ξενιστών πιθανότατα να σχετίζεται με παραμέτρους που έχουν να κάνουν με την αρμοστικότητα του παρασιτοειδούς. Για παράδειγμα, το πολύ μικρό μέγεθος των καρπών μπορεί να εκλαμβάνεται από τα θηλυκά του *A. daci* ως δείκτης ότι δε μπορούν να υποστηρίξουν την ανάπτυξη ικανού αριθμού ή και ποιότητας (μεγέθους) προνυμφών με αποτέλεσμα να τους απορρίπτουν. Με τον τρόπο αυτό το συγκεκριμένο παρασιτοειδές καταφέρνει να διατηρεί τα ενεργειακά του αποθέματα για μελλοντικές αναμετρήσεις με πιο «προσοδοφόρους» με καρπούς-ξενιστές της λείας του.

Τόσο το μέγεθος των ελαιοκάρπων όσο και η ηλικία των προνυμφών του δάκου της ελιάς προέκυψε ότι αποτελούν σημαντικό παράγοντα όσον αφορά στην ικανότητα παρασιτισμού του

A. daci. Σε συμφωνία με τα αποτελέσματά μας, αντίστοιχες μελέτες αναφορικά με είδη του γένους *Psytalia* έδειξαν ότι το αυξημένο μέγεθος καλλιεργούμενων ποικιλιών ελαιοκάρπων έχει αρνητική επίδραση στην ικανότητά τους να παρασιτούν τις προνύμφες του δάκου που αναπτύσσονται στο εσωτερικό τους (Sime et al. 2007, Wang et al. 2009a, Wang et al. 2009b). Το γεγονός αυτό έχει να κάνει με τη στρατηγική παρασιτισμού των συγκεκριμένων ειδών που συνίσταται στη διάτρηση του ελαιοκάρπου και την απόθεση των αυγών στο σώμα των προνυμφών του δάκου της ελιάς που αναπτύσσονται στο εσωτερικό τους. Συνεπώς, το μέγεθος του ωοθήτη στην προκειμένη περίπτωση αποτελεί περιοριστικό παράγοντα για τον επιτυχή παρασιτισμό όταν οι προνύμφες βρίσκονται στο εσωτερικό ευμεγέθων καρπών. Αντιθέτως, το *A. daci* έχει παρατηρηθεί ότι εισέρχεται στο εσωτερικό των καρπών εκμεταλλευόμενο την ιδιαίτερη μορφολογία του σώματός του προκειμένου να παρασιτήσει τους ξενιστές του γεγονός που φαίνεται να αποσυνδέει το μήκος του ωοθήτη με την ικανότητα παρασιτισμού στην περίπτωση αυτή (Moraiti et al. 2020). Πράγματι, η στρατηγική αυτή μπορεί να λαμβάνει χώρα σε καρπούς που η σάρκα χάνει τη συνεκτικότητά της εξαιτίας της τροφικής δραστηριότητας και της εξόδου των προνυμφών των Tephritidae με συνέπεια να διευκολύνεται η είσοδος των θηλυκών. Ωστόσο, στην περίπτωση των ελαιοκάρπων δεν παρατηρήθηκε αυτού του είδους η συμπεριφορά, καθώς η ανάπτυξη των προνυμφών του δάκου της ελιάς δεν γίνεται ακανόνιστα αλλά εντός στοών στο εσωτερικό με συνέπεια οι καρποί να διατηρούν τη συνεκτικότητά τους. Αντιθέτως, παρατηρήθηκε ότι τα θηλυκά του *A. daci* επικέντρωναν τις προσπάθειες ωοτοκίας τους στα σημεία που οι στοές προσέγγιζαν την επιφάνεια του ελαιοκάρπου. Συνεπώς με βάση το γεγονός αυτό όπως και στην προηγούμενη περίπτωση, το μήκος του ωοθήτη σε σχέση με το μέγεθος του ελαιοκάρπου δύναται να καθορίσει την επιτυχία του παρασιτισμού. Τέλος, το γεγονός ότι οι προνύμφες 3^{ης} ηλικίας ήταν πιο δεκτικές στον παρασιτισμό από το *A. daci* σε σχέση με εκείνες της 2^{ης} οφείλεται στο ότι οι πρώτες τείνουν να βρίσκονται εγγύτερα στην επιφάνεια των ελαιοκάρπων στην προσπάθειά τους να διαμορφώσουν την οπή εξόδου προκειμένου να εξέλθουν και να νυμφωθούν (Tzanakakis 2006, Wang et al. 2009b). Αντιθέτως, οι προνύμφες 2^{ης} ηλικίας όπως προέκυψε και από τους δειγματοληπτικούς ελέγχους που γίνονταν προκειμένου να προσδιοριστεί η ανάπτυξη των προνυμφών εντός των καρπών, είχαν την τάση να παραμένουν στο εσωτερικό των καρπών και μάλιστα κοντά στον πυρήνα.

Τέλος, σε ότι αφορά την επαγόμενη θνησιμότητα, κανένας από τους παράγοντες που εξετάστηκαν στη συγκεκριμένη μελέτη δε βρέθηκε να την επηρεάζει σημαντικά. Η επαγόμενη

θνησιμότητα είναι συνήθως το αποτέλεσμα της καταπόνησης που υφίστανται οι προνύμφες κατά τη δραστηριότητα των διαφόρων παρασιτοειδών. Τα αποτελέσματά μας έδειξαν ότι το *A. Daci* είναι ικανό να επιφέρει υψηλά ποσοστά που προσεγγίζουν ακόμη και το 41% στο δάκο της ελιάς. Το γεγονός αυτό φαίνεται να σχετίζεται με την «επιμονή» που έδειχναν τα θηλυκά, όπως προέκυψε από οπτικές παρατηρήσεις, να παραμένουν για αρκετή ώρα επάνω στους ελαιοκάρπους εκτελώντας επανειλημμένες δοκιμές ωοτοκίας. Ωστόσο, θα πρέπει να επισημανθεί ότι δεν υπήρχαν εναλλακτικές επιλογές (καρποί με άλλους ξενιστές όπως π.χ μύγα της Μεσογείου) στην προκειμένη περίπτωση όπως συμβαίνει στο ύπαιθρο και συνεπώς τα αποτελέσματά μας ενδέχεται να μην αντικατοπτρίζουν με απόλυτο τρόπο την πραγματικότητα.

Συμπερασματικά, η παρούσα διατριβή αποτελεί μια πρώτη προσέγγιση στο τρι-τροφικό σύστημα ελαιοκάρπος, δάκος της ελιάς και *A. daci*, προκειμένου να εξετάσει τις προοπτικές αξιοποίησης του συγκεκριμένου παρασιτοειδούς ως δυνητικού βιολογικού παράγοντα έναντι του σημαντικότερου εχθρού της ελαιοκαλλιέργειας. Τα αποτελέσματά μας ήταν αρκετά ενθαρρυντικά ωστόσο απαιτείται περαιτέρω έρευνα στο συγκεκριμένο αντικείμενο. Για παράδειγμα η αξιοποίηση πληθυσμών του *A. daci* πρόσφατα εγκατεστημένων στο εργαστήριο σε συνδυασμό με πειράματα σε κλουβιά υπαίθρου αναμένεται να δώσουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τις προοπτικές αξιοποίησής του για την αντιμετώπιση του δάκου της ελιάς.

ΠΗΓΕΣ

Ξενόγλωσση βιβλιογραφία

Ahmadi M.,Salehi B., Abd-All aA.M.M., Babaie M., 2018. Feasibility of using the radiation-based sterile insect technique (SIT) to control the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera: Tephritidae) in Iran, Applied Radiation and Isotopes, 37: 279-284

Andleeb. S., Shahid S., Mehmood R., 2010. Biology of Parasitoid *Aganaspisdaci* (Weld) (Hymenoptera: Eucolidae). Pakistan journal of scientific and industrial research. 53: 201-204

Annecke D, Moran V.C., 1982. Insects and Mites of Cultivated Plants in South Africa. Butterworths, Durban/Pretoria. *Journal of Applied Ecology*,20: 439-450

Apostolaki A., Livadaras I., Saridaki A., Chrysargyris, A., Savakis C., Bourtzis K.,2011. Transinfection of the olive fruit fly *Bactrocera oleae* with *Wolbachia*: towards a symbiont-based population control strategy, *Journal of Applied Entomology*135: 546-553

Baccetti B, Cappellini M, 1961. Ricerchesulla sterilizzazione di insetti nocivi con radiazioni ionizzanti,*Nuntius Radiologicus*, 7: 600–603.

Baranowski R., Glenn H., Sivinski J., 1993. Biological control of the Caribbean fruit fly (Diptera: Tephritidae), *Florida Entomologist*, 76: 245-251

Beatriz D., Guimarães J., Gallardo F., 2009. Systematic Review of species of the genus *Aganaspis*Lin (Hymenoptera: Figitidae: Eucilinae). *Transactions of the American Entomological Society*, 132: 271-277

Beegle C. C., Yamamoto T., 1992. History of *Bacillus thuringiensis*, Berliner research and development. *The Canadian Entomologist*, 24: 587–616

Bourtzis K., Braig H.R., Karr T., 2003. Cytoplasmic incompatibility. In: Bourtzis K, Miller T.(Eds.), *Insect symbiosis*, CRC Press, Boca Raton, pp: 217–246

Broumas T., Haniotakis G., 1994. Comparative field studies of various traps and attractants of the olive fruit fly *Bactrocera oleae*, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 73: 145-150

Clausen C.P., 1978. Tephritidae. In Clausen C.P. (Ed.), *Introduced Parasites and Predators of Arthropod Pests and Weeds: A World Review*, USDA Handbook 480,pp: 320–325

Daane K. M., Johnson, M. W., 2010. Olive Fruit Fly: Managing an Ancient Pest in Modern Times, *Annual Review of Entomology*, 55: 151-169

Delrio G., Lentini A., Satta A., 2005. Biological Control of Olive Fruit Fly through Inoculative Releases of *Opius concolor* (Szepl.), *Integrated Protection of Olive Crops*, 28: 53-58

Diaz N.B., Guimarães J.A, Gallardo F.E.. 2006. Systematic review of species of the genus *Aganaspis* Lin (Hymenoptera: Figidae: Eucoilinae), Transactions of the American Entomological Society, 132: 219-238

El-Heneidy A., 2017. Adaptation and first field release of *Aganaspis daci* (Weld), a larval parasitoid of the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saund.), in Egypt, Conference: Proceedings of the 9th ISFFEI

El-Heneidy A., Ramadan M. M., 2019. Identity and biology of *Aganaspis daci* (Weld) (Hymenoptera: Figitidae), recently introduced to Egypt for biological control of *Bactrocera zonata* (Diptera: Tephritidae) Successful use of *Trichogramma* for controlling the sugar-cane borer, *Chilo agamemnon* in sugar-cane fields in Egypt, Cereal aphids pest management, 155: 17-37

Eliopoulos P.A., (2007) Evaluation of commercial traps of various designs for capturing the olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae), International Journal of Pest Management, 53: 245-252

Estes A. M., Nestel D., Belcari A., Jessup A., Rempoulakis P., Economopoulos A. P., 2012. A basis for the renewal of sterile insect technique for the olive fly, *Bactrocera oleae* (Rossi), Journal of Applied Entomology, 136

Genduso, P., 1981. Attuali conoscenze sulla lotta biologica contro la mosca delle olive a mezzo di entomofagi. Informatore Fitopatologico, 31: 57–59

Hofte H., Whitely H. R., 1989., Insecticidal Crystal Proteins of *Bacillus thuringiensis*, Microbiological Reviews, 53: 242-255.

Hagen K.S., 1966. Dependence of the olive fly *Dacus oleae* larvae on symbiosis with *Pseudomonas savastanoi* for the utilization of olive. Nature (London), 209: 423-424

Hanife G., 2014. Embryonic development of the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* (Rossi) (Diptera: Tephritidae), in vivo, Turkish Journal of Zoology, 38: 598-602

Hemati S. A., Naseri B., Nouri Ganbalani G., Rafiee Dastjerdi H., Golizadeh A., 2012. Effect of different host plants on nutritional indices of the pod borer, *Helicoverpa armigera*. Journal of Insect Science, 12: 55.

Hoffmann M.P., Frodsham A.C., 1993. Natural Enemies of Vegetable Insect Pests.,Health, 8

Hofmann C., Lüthy P., Hütter R., Pliska V.. 1988. Binding of the delta-endotoxin from *Bacillus thuringiensis* to brush-border membrane vesicles of the cabbage butterfly (*Pieris brassicae*). European Journal of Biochemistry, 173: 85–91

Hosni M., El-Hussieni M., El-Heneidy A., Atalla F., 2012. Biological Aspects of the Peach Fruit Fly, *Bactrocera zonata* (Saund.) (Diptera: Tephritidae) and its Parasitoid Species, *Aganaspis daci* (Weld) (Hymenoptera: Eucoilidae), Egyptian Journal of Biological Pest Control, 21: 137-142

Howarth F. G., 1991. Environmental impacts of classical biological control, Annual Review of Entomology 36: 485-509

Ilias F. ,Gaouar N., Medjdoub K., Awad M., 2013. Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* on Larvae and Adults of *Bactrocera oleae* (Gmelin) (Diptera:Tephritidae), Journal of Environmental Protection, 4: 480-485 Jose,P. A., Ben-Yosef,M., Jurkevite,E., YuvalB. (2019) Symbiotic bacteria affect oviposition behavior in the olive fruit fly *Bactrocera oleae*, Journal of Insect Physiology,Vol. 117,

Kageyama D., Nishimura G., Hoshizaki S., Ishikawa Y., 2002. Feminizing *Wolbachia* in an insect, *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae), Heredity, 88: 444–449

Kageyama D., Traut W., 2004. Opposite sex-specific effects of *Wolbachia* and interference with the sex determination of its host *Ostrinia scapularis*, Proceedings of the Royal Society of London, 271: 251–258

Kyritsis G., Augustinos A., Livadaras I., Cáceres C., Bourtzis, K., Papadopoulos, N., 2019. Medfly-*Wolbachia* symbiosis: genotype x genotype interactions determine host's life history traits under mass rearing conditions. BMC Biotechnology

Liquido N.J., Cunningham R.T., Nakagawa S., 1990. Host plants of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) on the island of Hawaii (1949–1985 survey). Journal of Economic Entomology, 83: 1863–1878.

Liquido N.J., Shinoda L.A., Cunningham R.T., 1991. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) an annotated world review. Miscellaneous Publications 77 Entomological Society Am. Lanham, pp. 1863–78

Melis A., Baccetti B., 1960. Metodi di lotta vecchi e nuovi sperimentati contro principali fitofagi dell'olivo in Toscana nel. *Redia* 45, *Informato refitopatologico* 1-2: 57-59

Murphy S.D., 1986. Toxic effects of pesticides, In: Klaassen C.D. (Ed.), Casarett and Doull's toxicology: The Basic Science of Poisons, MacMillan: New York, pp. 519-581

Nardi F., Carapelli A., Dallai R., Roderick G.K., Frati F., 2005. Population structure and colonization history of the olive fly, *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae), *Molecular Ecology*, 14: 2729–2738

Navrozidis E.I, Vasara E, Karamanlidou G, Salpiggidis G.K, Kolia S.I, 2000. Biological Control of *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) Using a Greek *Bacillus thuringiensis* Isolate, *Journal of Economic Entomology*, 93: 1657–1661

Neuenschwander P., Bigler F., Delucchi V., Michelakis S., 1983. Natural enemies of preimaginal stages of *Dacus oleae* (Gmel.) (Dipt., Tephritidae) in western Crete. I. Bionomics and phonologies, *Bollettino del Laboratorio di Entomologia Agraria 'Filippo Silvestri'*, 40: 3-32.

Noce M.E., Belfiore T., Scalercio S., Vizzarri V., Iannotta N. 2009. Efficacy of new mass-trapping devices against *Bactrocera oleae* (Diptera, Tephritidae) for minimizing pesticide input in agroecosystems, *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 44: 442-448

Nunez – Bueno L., 1982. *Trybliographa daci* (Weld) (Hymenoptera: Cynipoidae): Biology and aspects of the relationship with its host *Anastrepha suspense* (Loew) (Diptera: Tephritidae), Ph.D. Thesis, University of Florida, pp. 153

Ohba M., Aizawa K., 1986. Distribution of *Bacillus thuringiensis* in Soils of Japon, *Journal of Invertebrate Pathology*, 47pp: 277-282

O'Neill S.L., Hoffmann A.A., Werren J.H., 1997. Influential passengers: inherited microorganisms and arthropod reproduction. Oxford University Press, Oxford

Ovruski S.M., 1994. Immature stages of *Aganaspis pelleranoi* (Brèthes) (Hymenoptera: Cynipoidea: Eucoilidae), a parasitoid of *Ceratitis capitata* (Wied.). *Journal of Hymenoptera Research*, 3: 233–239

Pan X., Thiem S., Xi Z.. 2017. *Wolbachia*-Mediated Immunity Induction in Mosquito Vectors, In:Wickel, S. K., Aksoy S., Dimopoulos G. (Eds.), *Arthropod Vector: Controller of Disease Transmission*, Academic Press, pp. 35-58

Papadopoulos N., Katsoyannos B., 2003, Field parasitism of *Ceratitis capitata* larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. *BioControl*, 48: 191–195

Papanastasiou S.A., Bali E.M.D., Ioannou C.S., Papachristos D.P., Zarpas K.D., Papadopoulos N.T, 2017. Toxic and hormetic-like effects of three components of citrus essential oils on adult Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*). *PLOS ONE* 12

Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Dean, D. H., 1998. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins, *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 62: 775–806

Sime K., Daane K., Kirk A., Andrews J., Johnson M., Messing R., 2007. *Psytalia ponerophaga* (Hymenoptera: Braconidae) as a potential biological control agent of olive fruit fly *Bactrocera oleae* (Diptera: Tephritidae) in California, *Bulletin of Entomological Research*, 97: 233-242

Tormos J., De Pedro L., Beitia F., Sabater B., Asís J., Polidori C., 2013. Development, Preimaginal Phases and Adult Sensillar Equipment in *Aganaspis* Parasitoids (Hymenoptera: Figitidae) of Fruit Flies. *Microscopy and Microanalysis*, 19: 1475-1489

Tsiropoulos G.J., Tzanakakis M.E., 1970. Mating frequency and inseminating capacity of radiation-sterilized and normal males of the olive fruit fly. *Annals of the Entomological Society of America*, 63: 1007–1010

Tzanakakis M.E., 2006. *Insects and mites feeding on olive: distribution, importance habits seasonal development and dormancy*. Brill Academic Publication, Leiden

Tzanakakis M., Tsitsipis J., Economopoulos A., 1968,. Frequency of mating in females of the olive fruit fly under laboratory conditions, *Journal of Economic Entomology*,. 61: 1309–1312

Tzanakakis M.E, Msitsipis J., Papageorgiou M., Fytizas E., 1966a. Gamma radiation-induced dominant lethality to sperm of olive fruit fly. *Journal of Economic Entomology*, . 59: 214–216

Tzanakakis M.E., 2003. Seasonal development and dormancy of insects and mites feeding on olive: a review, *Netherlands Journal of Zoology*, 52: 87

Tzanakakis M.E., Stavrinidis A.S., 1973. Inhibition of development of larvae of the olive fruit fly, *Dacus oleae* (Diptera: Tephritidae), in olives treated with streptomycin, *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 16: 39-47

Vargas R.I., Leblanc L., Putoa R., Eitam A., 2007. Impact of introduction of *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae) and classical biological control releases of *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae) on economically important fruit flies in French Polynesia, *Journal of Economic Entomology*, 100: 670-9

Wang X.G., Johnson M.W., Daane K.M., Yokoyama, V.Y., 2009a. Larger olive fruit size reduces the efficiency of *Psytalia concolor*, as a parasitoid of the olive fruit fly, *Biological Control*, 49: 45–51

Wang X.G., Nadel H., Johnson M.W., Daane K.M., Hoelmer K., Walton V.M., Pickett C.H., Sime K.R., 2009b. Crop domestication relaxes both top-down and bottom-up effects on a specialist herbivore, *Basic and Applied Ecology*, 10: 216–227

Werren, J.H, 1997. Biology of *Wolbachia*, *Annual Review of Entomology*, 42:587-609

Werren J.H. and Baldo L., Clarck M.E, 2008. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology, *Nature Reviews Microbiology*, 6:741-751

Weld L. H., 1951. A new species of Trybliographa (Hymenoptera: Cynipidae). *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society*, pp. 331 – 332.

Zygouridis N. E., Augustinos A. A., Zalom F. G., Mathiopoulos K. D., 2009. Analysis of olive fly invasion in California based on microsatellite markers, *Heredity*, 102: 402–412

Ελληνική βιβλιογραφία

Δεληγεωργίδης, Ν, 2019. Βιολογία του παρασιτοειδούς *Aganaspis daci* σε προνύμφες και νύμφες του δάκου της ελιάς και της μύγας της Μεσογείου σε σταθερές συνθήκες στο εργαστήριο, *Μεταπτυχιακή Διατριβή, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος*

Κουνατίδης, Η. , 2009. Βιολογία και γενετική του δάκου της ελιάς με κλασσικές και σύγχρονες μεθόδους, Διδακτορική Διατριβή, Τμήμα Βιολογίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Θεσσαλονίκη

Ναβροζίδης, Ε.Ι., Ανδρεάδης Σ.Σ., 2012. Ειδική Γεωργική Εντομολογία, CCity Publish, Θεσσαλονίκη

Τζανακάκης, Μ.Ε., 2007. Εντομολογία, University Studio Press, Θεσσαλονίκη

Ξενόγλωσση Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

http://entnemdept.ufl.edu/creatures/fruit/tropical/olive_fruit_fly.htm (retrieved 21/01/2020)

Sheldon, A. (2020, 25 Φεβρουαρίου). Biological Control: Parasitoids. Retrieved from: <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/parasitoids.php>

United States Department of Agriculture-Animal and Plant Health Inspection Service (2020, 13 Φεβρουαρίου). Plant Pest and Disease Programs. Retrieved from: https://www.aphis.usda.gov/plant_health/plant_pest_info/fruit_flies/downloads/fruitfly-trapping-guidelines.pdf

Ελληνική Ηλεκτρονική βιβλιογραφία

Υπουργείο Γεωργίας Αγροτικής Ανάπτυξης και Περιβάλλοντος, 2005. Η καταπολέμηση του Δάκου της ελιάς. Retrieved from: [http://www.moa.gov.cy/moa/da/da.nsf/All/59FDB03C747214A6C2257A22003F48D2/\\$file/Kata_polemisiDakouElias.pdf?OpenElement](http://www.moa.gov.cy/moa/da/da.nsf/All/59FDB03C747214A6C2257A22003F48D2/$file/Kata_polemisiDakouElias.pdf?OpenElement)

Διεύθυνση Αγροτικής Οικονομίας, Περιφέρεια Κρήτης, 2018. Η Αντιμετώπιση του Δάκου. Retrieved from: <https://www.crete.gov.gr/wp-content/uploads/2018/11/fylladio-dakoktonias-teliko-1.pdf>