



Επίδραση της ηλικίας και άλλων παραγόντων στη
συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis*
capitata (Diptera: Tephritidae)

Στέλλα Α. Παπαναστασίου
Γεωπόνος

Διδακτορική Διατριβή

Βόλος, 2014

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ.....	9
ΕΥΡΕΙΑ ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	11
SUMMARY	17
1 ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	21
1.1 Έννοια της συμπεριφοράς.....	21
1.2 Είδη συμπεριφοράς.....	23
1.2.1 Εγγενής συμπεριφορά	25
1.2.2 Επίκτητη συμπεριφορά	30
1.2.3 Σύνθετη συμπεριφορά	33
1.3 Μεταβολή της συμπεριφοράς σε σχέση με την ηλικία.....	33
1.4 Γήρανση: εξελικτικές θεωρίες και χρήση των εντόμων για τη μελέτη της	34
1.5 Κόστος αναπαραγωγής	38
1.6 Η μύγα της Μεσογείου	41
1.6.1 Γενικά χαρακτηριστικά.....	41
1.6.2 Συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου.....	43
1.6.2.1 Σεξουαλική συμπεριφορά των αρσενικών	44
1.6.2.2 Συμπεριφορά ωτοκίας των θηλυκών	45
1.6.3 Σχέση ηλικίας και συμπεριφοράς στη μύγα της Μεσογείου.....	46
1.6.4 Σημασία της τροφής στη συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου	47
1.7 Σκοπός της παρούσας διατριβής.....	48
2 ΓΕΝΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	51
2.1 Εργαστηριακές συνθήκες.....	51
2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν και μέθοδος εκτροφής	51
2.3 Κλουβιά διατήρησης εντόμων.....	55
2.4 Παρακολούθηση συμπεριφοράς ενηλίκων.....	57
2.5 Περιγραφή βασικών συμπεριφορών των ενηλίκων	60
2.6 Μέθοδος καταμέτρησης σπέρματος στις σπερμοθήκες των θηλυκών και στους όρχεις των αρσενικών	64

3	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ, ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ.....	67
3.1	Περίληψη.....	67
3.2	Εισαγωγή.....	68
3.3	Υλικά και μέθοδοι.....	71
3.3.1	Γενικά.....	71
3.3.2	Διατήρηση εντόμων και διεξαγωγή παρατηρήσεων	71
3.3.3	Στατιστική ανάλυση	72
3.4	Αποτελέσματα	73
3.4.1	Επίδραση της τροφής και του φύλου στην επιβίωση	73
3.4.2	Επίδραση της ηλικίας, της τροφής και του φύλου στην ημερήσια δραστηριότητα	73
3.4.3	Επίδραση της ηλικίας, της τροφής και του φύλου στη συχνότητα εκδήλωσης ανάπαυσης	75
3.4.4	Επίδραση της ηλικίας, της τροφής και του φύλου στη συχνότητα βάδισης.....	76
3.4.5	Μεταβολή των κυριότερων συμπεριφορών σε σχέση με την ηλικία 77	
3.5	Συζήτηση	88
4	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΣΤΟ ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΟ ΚΑΛΕΣΜΑ ΤΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ.....	93
4.1	Περίληψη.....	93
4.2	Εισαγωγή.....	94
4.3	Υλικά και μέθοδοι.....	98
4.3.1	Γενικά.....	98
4.3.2	Διατήρηση εντόμων και διεξαγωγή παρατηρήσεων	99
4.3.3	Στατιστική ανάλυση	99
4.4	Αποτελέσματα	100
4.4.1	Επίδραση της τροφής και της ηλικίας στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος.....	100
4.4.2	Συσχέτιση της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος με την επιβίωση των αρσενικών	102
4.5	Συζήτηση	110

5	ΣΧΕΣΗ ΤΗΣ ΜΑΚΡΟΒΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΥΠΤΙΑΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΤΥΠΟΥ “SUPINE” ΤΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ.....	115
5.1	Περίληψη.....	115
5.2	Εισαγωγή.....	115
5.3	Υλικά και μέθοδοι.....	119
5.3.1	Διατήρηση εντόμων και καταγραφή ύπτιας συμπεριφοράς.....	119
5.3.2	Στατιστική ανάλυση.....	120
5.4	Αποτελέσματα.....	121
5.4.1	Εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς σε σχέση με το φύλο και την ηλικία.....	121
5.4.2	Επιβίωση, μη υγιής και υγιής περίοδος ζωής.....	121
5.4.3	Ρυθμοί επικινδυνότητας.....	122
5.5	Συζήτηση.....	128
6	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ, ΤΟ ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΟ ΚΑΛΕΣΜΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΥΠΤΙΑΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΤΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ.....	131
6.1	Περίληψη.....	131
6.2	Εισαγωγή.....	132
6.3	Υλικά και μέθοδοι.....	135
6.3.1	Γενικά.....	135
6.3.2	Διατήρηση εντόμων και διεξαγωγή παρατηρήσεων.....	135
6.3.3	Στατιστική ανάλυση.....	136
6.4	Αποτελέσματα.....	137
6.4.1	Επίδραση της τροφής και της εναλλαγής της στην επιβίωση των αρσενικών.....	137
6.4.2	Επίδραση της εναλλαγής της τροφής και της ηλικίας στο σεξουαλικό κάλεσμα.....	138
6.4.3	Επίδραση της εναλλαγής της τροφής στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος βραχύβιων και μακρόβιων αρσενικών.....	141
6.4.4	Επίδραση της εναλλαγής της τροφής και της ηλικίας στην εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς.....	141
6.4.5	Επίδραση της εναλλαγής της τροφής στην εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς βραχύβιων και μακρόβιων αρσενικών.....	142
6.5	Συζήτηση.....	154

6.5	Συζήτηση.....	155
7	ΔΙΠΤΟ ΤΟ ΚΟΣΤΟΣ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΣΤΗ ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ.....	161
7.1	Περίληψη.....	161
7.2	Εισαγωγή.....	162
7.3	Υλικά και μέθοδοι.....	164
7.3.1	Γενικά.....	164
7.3.2	Τύποι δοκιμών σύζευξης και διατήρηση εντόμων	165
7.3.3	Δοκιμές σύζευξης με επιλογή.....	165
7.3.4	Δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή	166
7.3.5	Στατιστική ανάλυση.....	167
7.4	Αποτελέσματα	167
7.4.1	Επίδραση της ηλικίας στην ανταγωνιστικότητα και ικανότητα σύζευξης των αρσενικών.....	167
7.4.2	Επίδραση της ηλικίας και του ανταγωνισμού στη σύζευξη των αρσενικών	168
7.4.3	Επίδραση της ηλικίας των αρσενικών στα χαρακτηριστικά της σύζευξης.....	169
7.4.4	Διαφορές στη μεταφορά και αποθήκευση του σπέρματος σε σχέση με την ηλικία των αρσενικών.....	169
7.5	Συζήτηση.....	178
8	ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΥΖΕΥΞΗΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΚΑΙ ΩΟΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΘΗΛΥΚΩΝ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ.....	185
8.1	Περίληψη.....	185
8.2	Εισαγωγή.....	186
8.3	Υλικά και μέθοδοι.....	191
8.3.1	Γενικά.....	191
8.3.2	Διατήρηση εντόμων και πειραματικό πλάνο.....	191
8.3.3	Δοκιμές σύζευξης.....	192
8.3.4	Στατιστική ανάλυση.....	193
8.4	Αποτελέσματα	193
8.4.1	Επίδραση της τροφής και της ηλικίας στη δεκτικότητα των θηλυκών για σύζευξη.....	193

8.4.2 Επίδραση της τροφής και της ηλικίας στα χαρακτηριστικά σύζευξης.....	194
8.4.3 Επίδραση της τροφής και της σύζευξης στην επιβίωση	194
8.4.4 Επίδραση της τροφής, της σύζευξης και της ηλικίας στην ωοπαραγωγή	196
8.5 Συζήτηση.....	210
8.5.1 Η γήρανση και η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης αυξάνουν τη δεκτικότητα σύζευξης στα θηλυκά	210
8.5.2 Τα χαρακτηριστικά της σύζευξης επηρεάζονται μόνο από την ηλικία του θηλυκού	212
8.5.3 Η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή αυξάνει την αρμοστικότητα των θηλυκών	213
8.5.4 Η σύζευξη διεγείρει την ωοπαραγωγή και αυξάνει τη θνησιμότητα μόνο στα θηλυκά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη.....	214
8.5.5 Η σύζευξη αυξάνει την επιβίωση των θηλυκών που στερούνται πρωτεΐνης.....	215
9 ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ, ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ, ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ, ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ	219
ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ.....	225
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ	227
ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ	251

ΠΡΟΛΟΓΟΣ - ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα διατριβή εκπονήθηκε κατά τα έτη 2008 – 2013 στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Το κείμενο που ακολουθεί αποτελείται από έξι αυτοτελή κεφάλαια που εξετάζουν την επίδραση της ηλικίας (με έμφαση στη γήρανση) στη συμπεριφορά των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου. Παράγοντες όπως το είδος της τροφής και η σύζευξη συμπληρώνουν το σύνολο των αποτελεσμάτων και την εξαγωγή συμπερασμάτων. Επιπλέον, η διατριβή περιλαμβάνει τρία κεφάλαια που αφορούν γενικές πληροφορίες για τη μύγα της Μεσογείου και τη συμπεριφορά της, τα υλικά που χρησιμοποιήθηκαν και τις μεθόδους που εφαρμόστηκαν και τέλος, την ανακεφαλαίωση και συζήτηση των αποτελεσμάτων. Κάθε κεφάλαιο περιλαμβάνει περίληψη, εισαγωγή, υλικά και μεθόδους, αποτελέσματα και συζήτηση. Εξαιτίας της αυτοτέλειας των κεφαλαίων κάποιες επαναλήψεις, ιδίως στην εισαγωγή και τα υλικά και μεθόδους του κάθε κεφαλαίου, ήταν αναπόφευκτες.

Ευχαριστώ θερμά τον Καθηγητή κ. Ν. Θ. Παπαδόπουλο, επιβλέποντα της διδακτορικής μου διατριβής, για την ανάθεση του θέματος, τη συνεχή καθοδήγηση και βοήθεια στην εκτέλεση των πειραμάτων και στην παρουσίαση των αποτελεσμάτων, καθώς και για τις διορθώσεις του στο κείμενο της διατριβής. Επίσης, ευχαριστώ τους καθηγητές κ. Β. Ι. Κατσόγιαννο και Δ. Κ. Σταμόπουλο, μέλη της συμβουλευτικής επιτροπής, για τις υποδείξεις και τη συμβολή τους στην παρουσίαση του κειμένου.

Ακόμα, οφείλω να ευχαριστήσω για τη συμμετοχή τους στην εξεταστική επιτροπή την καθηγήτρια κ. Μ. Σαββοπούλου-Σουλτάνη, τους αναπληρωτές καθηγητές κ. Ν. Α. Κουλούση και Χ. Αθανασίου και τον επίκουρο καθηγητή Χ. Νάκα.

Ευχαριστώ τον καθηγητή του Πανεπιστημίου της Καλιφόρνιας Davis, Dr J. R. Carey για τις χρήσιμες υποδείξεις του κατά τη συγγραφή ορισμένων επιστημονικών δημοσιεύσεων που προέκυψαν από τη διατριβή αυτή και τον επίκουρο καθηγητή κ. Χ. Θ. Νάκα για τη βοήθεια του στη στατιστική επεξεργασία των αποτελεσμάτων.

Θερμές ευχαριστίες εκφράζονται στην κ. Μ. Γιαννάκου, τεχνικό προσωπικό του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ., και στη Ν. Amengual, περιβαλλοντολόγο, συνεργάτη μέσω του προγράμματος Leonardo Da Vinci, για την πολύτιμη βοήθεια τους κατά την εκτέλεση ορισμένων πειραμάτων. Ευχαριστώ ακόμα τους διδάκτορες Εντομολογίας κ. Κ. Ζάρπα και Ε. Penarrubia-Maria για τις εποικοδομητικές συζητήσεις σε θέματα εντομολογίας, καθώς και το διδάκτορα κ. Α. Διαμαντίδη για την άψογη συνεργασία μας σε ένα από τα κεφάλαια της παρούσας διατριβής.

Τέλος, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, την αδελφή μου και τον κ. Α. Γκανούρη για τη διαρκή τους συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της διδακτορικής μου διατριβής.

ΕΥΡΕΙΑ ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Μελετήθηκε σε σταθερές συνθήκες στο εργαστήριο (25 °C) η συμπεριφορά ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) με έμφαση στις μεγαλύτερες ηλικίες (40 – 70 ημερών). Χρησιμοποιήθηκαν έντομα που προήλθαν από προσβεβλημένους καρπούς που συλλέχθηκαν στην περιοχή των Λεχωνίων και της Αγχιάλου του νομού Μαγνησίας και εκτράφηκαν για 1 έως 3 γενεές (F₁ – F₃) στο εργαστήριο.

Στην πρώτη ενότητα πειραμάτων (Κεφάλαιο 3) μελετήθηκε σε εργαστηριακές συνθήκες η μεταβολή της συμπεριφοράς αρσενικών και θηλυκών, που τρέφονταν με ζάχαρη ή με ζάχαρη και πρωτεΐνη, καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνταν καθημερινά από τις 10:00 έως τις 12:00 και καταγράφονταν επτά βασικές συμπεριφορές [διατροφική δραστηριότητα, πρόσληψη νερού, βάδιση, ηρεμία, εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος για τα αρσενικά, προσπάθεια ωτοκίας για τα θηλυκά και εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς (supine)]. Επιπλέον, καταγράφηκε η επιβίωση όλων των ενηλίκων. Οι συμπεριφορές ομαδοποιήθηκαν σε δύο κατηγορίες: δραστηριότητα και αδράνεια. Στην κατηγορία της δραστηριότητας συμπεριλήφθηκαν η βάδιση, η πρόσληψη τροφής και νερού, η προσπάθεια ωτοκίας των θηλυκών και το σεξουαλικό κάλεσμα αρσενικών. Στην κατηγορία της αδράνειας συμπεριλήφθηκαν η ανάπαυση και η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι αρσενικά και θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έζησαν περισσότερο από αυτά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ήταν περισσότερο δραστήρια σε κάθε ηλικιακή κλάση σε σχέση με αυτά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Ωστόσο, τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν μικρότερη δραστηριότητα από τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Τα αρσενικά ήταν συνολικά περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά ανεξάρτητα από το είδος της τροφής και την ηλικία. Η δραστηριότητα των ενηλίκων μειωνόταν σε σχέση με την ηλικία, ανεξάρτητα από το είδος της τροφής. Η συχνότητα βάδισης των αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με τα αρσενικά που

στερούνταν πρωτεΐνης, παρά το γεγονός ότι συνολικά εκδήλωναν εντονότερη δραστηριότητα. Τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη εκδήλωναν υψηλότερη συχνότητα βάδισης, επιβεβαιώνοντας τη συνολικά εντονότερη δραστηριότητά τους σε σχέση με τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Τα θηλυκά εκδήλωσαν υψηλότερη συχνότητα βάδισης σε σχέση με τα αρσενικά ανεξάρτητα από την ηλικία και την τροφή.

Στο Κεφάλαιο 4 μελετήθηκε η επίδραση της τροφής και της ηλικίας στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών. Αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ωρίμασαν γρηγορότερα σεξουαλικά και εκδήλωναν σεξουαλικό κάλεσμα με σημαντικά υψηλότερη συχνότητα σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους, συμπεριλαμβανομένων και των μεγαλύτερων ηλικιών. Η ηλικία επέδρασε αρνητικά στη συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος ανεξάρτητα από τη διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή. Τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εμφάνισαν ξεκάθαρο μοτίβο εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος σε σχέση με την ηλικία, που χαρακτηρίζεται από μια σύντομη περίοδο αδράνειας έως τη σεξουαλική ωρίμανση την οποία ακολουθεί μια μεγάλη περίοδος συχνής εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος και ολοκληρώνεται από μια σύντομη περίοδο αδράνειας έως το θάνατο, στα μακρόβια αρσενικά. Η υψηλή συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος εμφάνισε θετική συσχέτιση με την επιβίωση στα αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη. Τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη δεν εμφάνισαν ξεκάθαρο μοτίβο εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος σε σχέση με την ηλικία ούτε και συσχέτιση της μακροβιότητας με τη συχνότητα εκδήλωσής του.

Η επόμενη ενότητα (Κεφάλαιο 5) επικεντρώθηκε στην επίδραση της ηλικίας και της τροφής στην εκδήλωση της ύππιας συμπεριφοράς (surpine) των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου. Η περίοδος εκδήλωσης ύππιας συμπεριφοράς ορίστηκε ως μη υγιής και έγινε προσπάθεια καθορισμού της σχέσης της με τη μακροβιότητα και με την υγιή περίοδο ζωής των ενηλίκων. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τα μακροβιότερα άτομα εκδήλωναν ύππια συμπεριφορά ενώ τα βραχύβια συνήθως πέθαιναν πριν την εκδήλωση της ύππιας συμπεριφοράς. Αρσενικά και θηλυκά είχαν παραπλήσιο προσδόκιμο ζωής αλλά τα αρσενικά εκδήλωσαν μεγαλύτερο προσδόκιμο υγιούς ζωής. Το

φύλο και η τροφή είχαν σημαντική επίδραση στη διάρκεια της υγιούς περιόδου πριν την εκδήλωση της ύππιας συμπεριφοράς καθώς και στη συνολική διάρκεια της υγιούς ζωής. Παρά τις μεγάλες διαφορές στη μακροβιότητα των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη σε σχέση με αυτά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, οι διαφορές στη διάρκεια της υγιούς περιόδου της ζωής ήταν μικρές (64% και 61%, ζάχαρη και ζάχαρη και πρωτεΐνη, αντίστοιχα). Παραπλήσια ήταν τα αποτελέσματα και για τα αρσενικά με τη διάρκεια της υγιούς περιόδου της ζωής να αποτελεί το 77% και το 72% της συνολικής διάρκειας ζωής για τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και με ζάχαρη και πρωτεΐνη, αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής συμφωνούν με το μοντέλο «δυναμικής ισορροπίας» της υγιούς γήρανσης, το οποίο υποστηρίζει ότι η διάρκεια της μη υγιούς περιόδου και η συνολική διάρκεια ζωής μεταβάλλονται αναλογικά.

Στο Κεφάλαιο 6 μελετήθηκε η επίδραση της εναλλαγής της τροφής (μεταφορά από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη και αντίστροφα) στην επιβίωση, τη συχνότητα εκδήλωσης του σεξουαλικού κάλεσματος και τη συχνότητα εκδήλωσης ύππιας συμπεριφοράς των αρσενικών. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνταν καθημερινά από τις 10:00 έως τις 12:00 και η εναλλαγή της τροφής πραγματοποιήθηκε στην ηλικία των 15 ημερών, που ορίζει την ολοκλήρωση της σεξουαλικής ωρίμανσης για τα άγρια αρσενικά της μύγας της Μεσογείου. Ο διατροφικός περιορισμός (έλλειψη πρωτεΐνης) μετά το στάδιο της σεξουαλικής ωρίμανσης μείωσε σημαντικά την επιβίωση των αρσενικών ενώ η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης μετά την σεξουαλική ωρίμανση αύξησε την επιβίωσή τους. Το προσδόκιμο ζωής ήταν παραπλήσιο μεταξύ των αρσενικών που είχαν συνεχώς πρόσβαση σε πρωτεΐνη και εκείνων που στερούνταν πρωτεϊνούχου τροφής έως την ηλικία των 15 ημερών, καθώς και μεταξύ των αρσενικών που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη μόνο μέχρι τη σεξουαλική τους ωρίμανση και εκείνων που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη. Η τροφή επηρέασε σημαντικά τόσο το σεξουαλικό κάλεσμα όσο και τη συχνότητα εκδήλωσης ύππιας συμπεριφοράς. Αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωναν σεξουαλικό κάλεσμα συχνότερα από τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη καθ' όλη τη διάρκεια ζωής τους. Αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη έως την ηλικία των 15 ημερών και στη συνέχεια με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωναν σεξουαλικό

κάλεσμα σε επίπεδα παραπλήσια με τα αρσενικά που είχαν συνεχώς πρόσβαση σε πρωτεΐνη. Αντίθετα, εκείνα που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έως την ηλικία των 15 ημερών και στη συνέχεια μόνο με ζάχαρη μείωσαν σημαντικά τη συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος μετά την εναλλαγή της τροφής. Αρσενικά που απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη μετά τη σεξουαλική ωρίμανση αύξησαν άμεσα το σεξουαλικό κάλεσμα, ενώ εκείνα που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη μόνο έως τη σεξουαλική ωρίμανση διατήρησαν το σεξουαλικό κάλεσμα σε σχετικά υψηλά επίπεδα έως την ηλικία των 50 ημερών. Η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος ήταν σημαντικά υψηλότερη στα μακρόβια αρσενικά όταν η εναλλαγή της τροφής πραγματοποιήθηκε από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη, όχι όμως όταν πραγματοποιήθηκε από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη. Η ύπτια συμπεριφορά ήταν συχνότερη και εκδηλώθηκε για μεγαλύτερη χρονική περίοδο και από μεγαλύτερο ποσοστό αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη και εντάθηκε σε προχωρημένες ηλικίες σε όλα τα διατροφικά πρωτόκολλα.

Στο Κεφάλαιο 7, μελετήθηκε η επίδραση της ηλικίας στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης (επιτυχία σύζευξης σε συνθήκες ανταγωνισμού με νεαρά αρσενικά) και στην ικανότητα σύζευξης (επιτυχία σύζευξης σε συνθήκες έλλειψης ανταγωνισμού) των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου. Πραγματοποιήθηκαν δοκιμές σύζευξης με θηλυκά που είχαν τη δυνατότητα επιλογής ανάμεσα σε νεαρά και σε αρσενικά μεγαλύτερης ηλικίας και δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή, με αρσενικά συγκεκριμένης ηλικίας. Η πιθανότητα σύζευξης αρσενικών μεγάλης ηλικίας μειώθηκε δραματικά σε συνθήκες ανταγωνισμού με νεαρότερα αρσενικά. Η ικανότητα σύζευξης των αρσενικών μειώθηκε σταδιακά σε σχέση με την ηλικία αλλά γρηγορότερα αρσενικά γίνονταν αποδεκτά για σύζευξη από τα θηλυκά σε ικανοποιητικό βαθμό απουσία ανταγωνισμού. Γρηγορότερα αρσενικά πέτυχαν μικρότερης διάρκειας συζεύξεις απ' ό,τι τα νεαρά αρσενικά ενώ ο χρόνος έως τη σύζευξη, που υποδηλώνει την επιλεκτικότητα των θηλυκών για σύζευξη, αυξανόταν σε σχέση με την ηλικία των αρσενικών. Η ποσότητα των σπερματοζωαρίων που μετέφεραν τα αρσενικά στις σπερμοθήκες των θηλυκών δεν επηρεάστηκε από την ηλικία των αρσενικών. Τα θηλυκά αποθήκευαν ασύμμετρα το σπέρμα στις σπερμοθήκες τους ανεξάρτητα από την ηλικία του αρσενικού. Η ποσότητα

σπέρματος δε διέφερε σημαντικά στους όρχεις συζευγμένων και μη συζευγμένων αρσενικών και αυξανόταν σε σχέση με την ηλικία.

Τέλος, στο Κεφάλαιο 8, μελετήθηκε η επίδραση της ηλικίας σύζευξης (νεαρή – 15 ημερών και προχωρημένη – 40 ημερών) και της τροφής στην επιβίωση και την ωοτοκία των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου. Καταγράφηκαν η διάρκεια ζωής, η ωοπαραγωγή και τα χαρακτηριστικά σύζευξης θηλυκών που συζεύχθηκαν σε νεαρή και σε προχωρημένη ηλικία και τρέφονταν με ζάχαρη ή με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Η συνθήκη (διατροφική κατάσταση και ηλικία) καθόρισε τη θετική ή αρνητική επίδραση της σύζευξης στα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου. Τα μεγάλης ηλικίας θηλυκά ήταν περισσότερο δεκτικά και λιγότερο επιλεκτικά όσον αφορά τη σύζευξη, σε σχέση με τα νεαρά θηλυκά, ανεξάρτητα από την τροφή. Η σύζευξη αύξησε σημαντικά τη διάρκεια ζωής των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Αντίθετα, η σύζευξη διέγειρε την ωοπαραγωγή στα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και μείωσε την επιβίωσή τους. Τόσο οι θετικές όσο και οι αρνητικές επιπτώσεις της σύζευξης στη θνησιμότητα των θηλυκών εκδηλώθηκαν με μεγάλη χρονική καθυστέρηση.

Τα παραπάνω αποτελέσματα συμβάλλουν στη χαρτογράφηση της συμπεριφοράς της μύγας της Μεσογείου, ενός από τους σημαντικότερους οργανισμούς μοντέλα, σε σχέση με την ηλικία και με τη διατροφική συνθήκη (διαθεσιμότητα ή έλλειψη πρωτεϊνούχου τροφής). Επιπλέον, μελετώνται σε βάθος, υπό τω πρίσμα της ηλικίας και της τροφής, κάποιες από τις σημαντικότερες συμπεριφορές των ενηλίκων, όπως η σύζευξη, το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών, η ωοπαραγωγή των θηλυκών και η ύπτια συμπεριφορά, που ενδέχεται, ανάλογα με τη συνθήκη, να επηρεάζουν την αρμοστικότητα και να επιφέρουν κόστος στην επιβίωση των δύο φύλων. Συζητιέται η συνεισφορά των ευρημάτων στην κατανόηση της συμπεριφοράς του *Ceratitis capitata* καθώς και στην εφαρμογή τους στη μελέτη της γήρανσης και προτείνονται δυνατότητες περαιτέρω έρευνας.

SUMMARY

Although the behavior of the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) has been studied in great extent, the effect of age on medfly behavior remains poorly understood. This information is missing regarding other Tephritids and insect – model systems, in general. The aim of the current doctorate dissertation was to elucidate the effect of age (with emphasis to extreme ages) and of other factors, such as diet and mating, on the behavior of adult medflies. Experiments were conducted, under constant laboratory conditions (25 ± 1 °C), in the Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology, University of Thessaly, Greece during 2008 – 2013 and are deployed in Chapters 3 to 8. Flies used in the experiments were obtained from field infested fruits (collected from the area of Volos, Greece) and were reared under laboratory conditions for 1 – 3 generations (F_1 – F_3). General introductory information regarding insect behavior, theories of aging, age-related behavioral alterations in insects and the medfly are elaborated in Chapter 1. The utilization and application of materials and methods during the experiments are presented in Chapter 2. Conclusions drawn by this thesis, theoretical and practical applications and future research opportunities are discussed in Chapter 9.

In Chapter 3 we studied the effect of diet (sugar, sugar plus yeast hydrolysate) on the daily activity of males and females during their life course. Following a 2-hours daily observation (10:00 – 12:00), we recorded the frequency of expression of 7 common behaviors (feeding, drinking, walking, resting, sexual signaling of males, oviposition attempts of females and supine behavior). The lifespan of all adult medflies was also recorded. Resting and supine behavior were grouped as “inactivity” whilst the rest of the behaviors were grouped as “activity”. Adult medflies fed the full diet (sugar plus yeast hydrolysate) lived significantly longer than those fed only sugar. Males fed the full diet were more active than males fed only sugar during their entire lifespan. Nevertheless, females fed the full diet were less active than females fed only sugar. Males were more active than females regardless of the diet and the age. Adult activity decreased in older ages regardless of the diet. Despite the fact that protein-fed males were more active than protein-deprived

males, in total, their daily frequency of walking was significantly lower. The daily frequency of walking for protein-deprived females was higher than that of females fed the full diet. Females exhibited a higher walking frequency than males regardless of the age and the food regime.

In Chapter 4, we studied the effect of diet (sugar, sugar plus yeast hydrolysate) and age on the daily rates of sexual signaling of male medflies. Males fed the full diet reached sooner the reproductive maturity and exhibited higher rates of sexual signaling than males fed only sugar during their entire lifespan, including extreme ages. Aging reduced the rates of sexual signaling regardless of the diet regime. A clear age-related pattern of sexual signaling was exhibited by males fed the full diet, characterized by a short period of non-signaling activity until attainment of sexual maturity, followed by a long period of frequent sexual signaling and concluded by a short period of pause in signaling activity, prior to death for the long-lived males. High rates of sexual signaling were positively correlated with longevity in protein-fed males. However, no clear pattern of sexual signaling in relation to age and no correlation (positive or negative) between signaling activity and longevity were recorded for the protein-deprived males.

In Chapter 5, we examined the relationship between the period of unhealthy life and longevity in the medfly by using the first sign of supine behavior (upside down, immobile) in medflies as an indication of their poor health and by altering cohort longevity through dietary manipulations. For longer lived medflies it was more likely to observe the supine behavior while shorter lived flies would more likely die before exhibiting the supine behavior. Males had similar total life expectancy as females but a longer healthy life expectancy. The total number of healthy days, spent in the pre-supine period, and the amount of healthy life span as a fraction of the total lifespan varied with both sex and diet. Despite the large difference in longevity between both male and female medflies when reared on sugar-only diet versus on full diet, the differences in the fraction of their lifespans in the healthy state were relatively modest (64 vs 61% in females and 77 vs 72% in males). This finding that there is no significant change in the proportion of the life course in the unhealthy state is consistent with the “dynamic equilibrium” model of healthy aging.

In Chapter 6, we explored the effect of diet manipulation [diet switch from sugar only to sugar plus yeast hydrolysate (protein) and vice versa] on the sexual signaling and the supine behavior of male medflies. Following a 2-hours daily observation (10:00 – 12:00) we recorded the sexual signaling and the supine behavior of each male throughout the life course. Diet switch was applied at the age of 15 days that defines the attainment of sexual maturity in wild male medflies. Protein deprivation after day 15th decreased significantly male survival while protein availability at the same age increased survival in comparison to males that had continuous access to full and sugar only diet, respectively. The life expectancy of males with a constant access to full diet was similar to that of males that obtained access to full diet after sexual maturity. Moreover, the life expectancy of males with constant access to a sugar only diet was similar to that of males that were deprived of protein after attaining sexual maturity. Diet significantly affected both sexual signaling and supine behavior. The frequency of sexual signaling of males that had constant access to full diet was higher throughout their entire lifespan compared to males that fed a sugar only diet. Males fed only sugar until the age of 15 days and then switched to a full diet performed similar sexual signaling rates with males fed continuously a full diet. On the contrary, males fed a full diet until the age of 15 days and then switched to a sugar only diet reduced significantly the frequency of sexual signaling. Males that gained access to a full diet after attaining sexual maturity increased rapidly their sexual signaling, while males that had access to a full diet only until sexual maturity maintained their sexual signaling in relatively high levels up to day 50. Long-lived males exhibited significantly higher rates of sexual signaling when the diet switched from sugar only to sugar and protein but not when it switched from sugar and protein to sugar only. Males fed continuously a full diet exhibited supine behavior more frequently and for longer periods. Supine behavior increased in older ages in all dietary protocols.

In Chapter 7, we tested the effect of age on the mating competitiveness (mating success against younger rivals) and the mating performance (mating success in conditions lacking competition) of males. The mating probability of older males decreased significantly when competing with younger males. Aging gradually reduced the mating performance but older males were still

accepted as mating partners in conditions lacking competition. Therefore, older males were capable of performing the complete repertoire of sexual performance but failed to be chosen by females in the presence of young rivals. Older males achieved shorter copulations than younger ones, and female readiness to mate was negatively affected by male age. Older and younger males transferred similar amount of spermatozooids to female spermathecae. Females stored spermatozooids asymmetrically in the two spermathecae regardless the age of their mating partner. Aging positively affected the amount of spermatozooids in testes of both mated and non-mated males. No significant differences were observed on the amount of spermatozooids between mated and non-mated males.

Finally, in Chapter 8, we studied the effects of protein deprivation and age of mating (young – 15 days old and old – 40 days old) on female fitness traits (survival and fecundity). We recorded the lifespan, fecundity and copulation characteristics (latency to mate and copulation duration) of females mated at young or at old age and fed a full or a protein deprived diet. The findings suggest that condition (nutritional status and age) defined the positive or negative output of mating in female medflies. Old females were more receptive and less selective in mating than young females regardless of the food regime. Mating significantly increased the longevity of protein-deprived females. On the contrary, mating boosted the egg production and reduced the longevity of protein-fed females. Mortality responses (negative or positive) to mating were expressed after a long lag phase.

The results of the current thesis contribute to the “behavioral mapping” of the Mediterranean fruit fly, an important model organism for aging research and a major pest of agricultural commodities. The effects of three vital conditions (age, age of mating, adult diet) on selected fitness traits of both males and females were also explored. The results demonstrate that important behaviors of adult medflies, such as copulation, sexual signaling, oviposition and supine behavior, may affect several fitness components and induce a cost on survival of both sexes, depending on the condition. The contribution of these findings towards understanding the behavior of the medfly, as well as their implications for the research of aging are being discussed and possibilities for future research are being proposed.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1 ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Έννοια της συμπεριφοράς

Γενικά, ως συμπεριφορά ορίζεται το ενδογενώς κατευθυνόμενο σύστημα προσαρμοσμένων ενεργειών (δράση, αντίδραση) που προκαλούνται από εσωτερικά ή/και εξωτερικά ερεθίσματα. Η συμπεριφορά περιλαμβάνει τις σχέσεις του ζώου με άλλα άτομα του είδους του, με άτομα άλλων ειδών και με το περιβάλλον. Στόχος της εκδήλωσης συγκεκριμένων στερεότυπων συμπεριφοράς σε κάθε είδος είναι η προσαρμογή και η επιβίωση, τουλάχιστον μέχρι την επιτυχημένη αναπαραγωγή, που μεταφράζεται και ως αύξηση της αρμοστικότητας (fitness) (Matthews & Matthews, 2010). Η συμπεριφορά αποτελεί έναν φαινότυπο του οποίου η ανάπτυξη και η έκφραση επηρεάζονται τόσο από γενετικούς όσο και από περιβαλλοντικούς παράγοντες. Η εκδήλωση μιας συμπεριφοράς από έναν οργανισμό είναι μια σύνθετη διαδικασία – αποτέλεσμα μιας σειράς νευρικών ώσεων και μυϊκών συσπάσεων που ακολουθούν συγκεκριμένη ροή και καταλήγουν συνήθως στην παραγωγή μιας κίνησης. Εξωτερικά ερεθίσματα προερχόμενα από το περιβάλλον διαβίωσης του οργανισμού γίνονται αντιληπτά, διέρχονται από διαδικασία ερμηνείας και αξιολόγησης και οδηγούν στην εκδήλωση ή όχι μιας συμπεριφοράς. Στην ουσία αυτό που ο παρατηρητής αποκαλεί «συμπεριφορά» είναι μια αλληλουχία βασικών, επιμέρους συμπεριφορών που συνιστούν το υπό παρατήρηση αποτέλεσμα (Klowden, 2007; Ploger & Yasukawa, 2003).

Η παρατήρηση και η ερμηνεία συμπεριφορών των οργανισμών μπορεί να πραγματοποιηθεί με διαφορετικές προσεγγίσεις. Ένα από τα πεδία έρευνας επικεντρώνεται στους μηχανισμούς που ελέγχουν τη συμπεριφορά (συγκριτική ψυχολογία και φυσιολογία των ζώων) και συγκεκριμένα στις φυσιολογικές λειτουργίες του οργανισμού κατά την εκδήλωσή της (όργανα που συμμετέχουν στην αντίληψη ενός ερεθίσματος, μεταφορά σήματος μέσω του νευρικού συστήματος, έκκριση και μεταβολή επιπέδου ορμονών, λήψη απόφασης και εκδήλωση της συμπεριφοράς). Μια δεύτερη προσέγγιση επικεντρώνεται στη λειτουργική σημασία και εξέλιξη των χαρακτηριστικών της

συμπεριφοράς στο πλαίσιο του φυσικού περιβάλλοντος του οργανισμού (ηθολογία) (Matthews & Matthews, 2010). Στόχος της ηθολογίας είναι η κατανόηση του ρόλου του περιβάλλοντος, της οικολογίας, της φυσιολογίας και της εξέλιξης στη διαμόρφωση του συνόλου των συμπεριφορών κάθε είδους. Εκτός από τη διερεύνηση των αιτίων και των κινήτρων για την εκδήλωση της συμπεριφοράς στο πλαίσιο της ηθολογίας δημιουργούνται θεωρητικά πρότυπα των συστημάτων που αναγνωρίζουν το ερέθισμα και των μηχανισμών που προκαλούν τη συμπεριφορά (μηχανισμοί δράσης) (Ploger & Yasukawa, 2003).

Ένα τρίτο πεδίο έρευνας ασχολείται με τη μελέτη της αλληλεπίδρασης του οργανισμού με το αβιοτικό και βιοτικό περιβάλλον και τη σχέση της με την εκδήλωση της συμπεριφοράς (συμπεριφορική οικολογία ή οικολογία της συμπεριφοράς). Επίσης, οι έρευνες «λειτουργικής ανάλυσης» (functional analysis) επικεντρώνονται στη σχέση της εκδήλωσης μιας συμπεριφοράς με την αρμοστικότητα του οργανισμού. Συγκεκριμένα, στις μελέτες αυτού του είδους ελέγχεται αν μια συγκεκριμένη συμπεριφορά ενισχύει την ικανότητα του οργανισμού που την εκδηλώνει να επιβιώνει και/ ή να αναπαράγεται καθώς επίσης και το μηχανισμό με τον οποίο αυτό επιτυγχάνεται. Συνήθως η παρατήρηση επικεντρώνεται στο αν τα άτομα που εκδηλώνουν τη συμπεριφορά ζουν περισσότερο, πετυχαίνουν περισσότερες συζεύξεις, γίνονται αποδεκτά για σύζευξη γρηγορότερα, παράγουν περισσότερους και μακροβιότερους απογόνους. Στην περίπτωση που η συμπεριφορά βελτιώνει την επίδοση του ατόμου σε ένα από τα παραπάνω χαρακτηριστικά σε σύγκριση με άτομα που δεν εκδηλώνουν τη συμπεριφορά αυτή, τότε η συμπεριφορά εξυπηρετεί τη συγκεκριμένη λειτουργία δηλαδή λειτουργεί για την αύξηση της αρμοστικότητας (Ploger & Yasukawa, 2003). Πιο πρόσφατα, η σημαντική τεχνολογική πρόοδος στη γενετική ανέδειξε την προσέγγιση της συμπεριφορικής γενετικής (behavioral genetics) που εξετάζει το ρόλο και τη συμβολή των γονιδίων στην εκδήλωση μιας συμπεριφοράς. Όλες οι παραπάνω προσεγγίσεις, αν και χρησιμοποιούν διαφορετικά εργαλεία έχουν ένα κοινό στόχο: την κατανόηση των τρόπων με τους οποίους προκαλείται και παράγεται μια συμπεριφορά.

Η μελέτη της συμπεριφοράς των εντόμων ως ξεχωριστό πεδίο έρευνας είναι, συγκριτικά με άλλες επιστήμες, σχετικά πρόσφατη και ίσως στερείται το

θεωρητικό υπόβαθρο που φέρουν άλλες περισσότερο ώριμες επιστήμες (π.χ. φυσική, χημεία). Επιπλέον, καθώς περισσότερο από τα τρία τέταρτα του ζωικού βασιλείου είναι έντομα, η συμπεριφορά τους δεν μπορεί παρά να είναι σε μεγάλο βαθμό άγνωστη. Για παράδειγμα, πληροφορίες σχετικά με το εύρος και τη συμπεριφορά εύρεσης ξενιστή είναι γνωστές μόλις για το 5% των ειδών εντόμων που έχουν περιγραφεί έως τώρα (Matthews & Matthews, 2010). Ωστόσο, τα έντομα παρέχουν κάποια από τα εντυπωσιακότερα και πιο αναλυτικά παραδείγματα συμπεριφορικών φαινομένων στα πεδία της επικοινωνίας, της ερωτοτροπίας, του μιμητισμού και της ανάπτυξης κοινωνικότητας.

1.2 Είδη συμπεριφοράς

Η παρατήρηση της συμπεριφοράς των ζώων έχει ανθρωποκεντρική αφετηρία και επιπλέον η περιγραφή της στηρίζεται στον ανθρώπινο λόγο/ γλώσσα που διαμορφώνεται με βάση την ανθρώπινη εμπειρία, καθιστώντας δύσκολη την αποστασιοποιημένη ερμηνεία της. Σχεδόν όλοι οι περιγραφικοί όροι εμπεριέχουν ανθρωποκεντρική σημασία που συχνά υποδηλώνει σκοπό ή/και κίνητρο με βάση την ανθρώπινη συμπεριφορά, με συνέπεια κάποιες φορές οι ερευνητές να οδηγούνται σε εννοιολογικές παγίδες όπως ο ανθρωπομορφισμός και η τελεολογία (teleology). Ο ανθρωπομορφισμός είναι η απόδοση ανθρώπινων χαρακτηριστικών σε άλλα είδη, όπως για παράδειγμα η «στρατιωτική πειθαρχία των μυρμηγκιών». Η τελεολογία είναι η δογματική αντίληψη ότι οι φυσικές διεργασίες των εντόμων πραγματοποιούνται με συγκεκριμένους σκοπούς. Για παράδειγμα πιστεύουμε λανθασμένα ότι οι μέλισσες επισκέπτονται τα άνθη με σκοπό την εύρεση νέκταρος αλλά στην πραγματικότητα προσελκύονται από συγκεκριμένα ερεθίσματα των ανθέων και το αποτέλεσμα είναι η συλλογή νέκταρος (Matthews & Matthews, 2010).

Παρά την πιθανότητα εννοιολογικών λαθών, ανάλογα με την περίπτωση που μελετάται, η συμπεριφορά των ζώων διακρίνεται σε εγγενή (innate), επίκτητη (learned) και σύνθετη (complex). Η εγγενής συμπεριφορά κληρονομείται και δε φαίνεται να σχετίζεται με το ιστορικό προηγούμενων εμπειριών, η επίκτητη αποκτάται μέσω της εμπειρίας και επηρεάζεται από τη

διάρκεια και τη χρονική στιγμή έναρξης της εμπειρίας και η σύνθετη είναι συνδυασμός εγγενούς και επίκτητης συμπεριφοράς. Συνεπώς, ο χειρισμός των εμπειριών σε άτομα μικρής ηλικίας μπορεί, θεωρητικά, αργότερα να επηρεάσει την επίκτητη αλλά όχι και την εγγενή συμπεριφορά. Ωστόσο, υπάρχουν περιπτώσεις στις οποίες μια γνωστή επίκτητη συμπεριφορά εμφανίζεται και εκδηλώνεται σωστά, χωρίς το άτομο να έχει προηγούμενη εμπειρία, και περιπτώσεις στις οποίες μια εγγενής συμπεριφορά δεν εκδηλώνεται σωστά, αφού ο χειρισμός των εμπειριών σε μικρότερη ηλικία μπορεί, για παράδειγμα, να επηρεάσει το μυϊκό ή το νευρικό σύστημα και κατά συνέπεια την κίνηση. Πρόσφατα έχει γίνει περισσότερο αποδεκτή η άποψη ότι επίκτητες και εγγενείς συμπεριφορές δεν αντιπροσωπεύουν τελείως διαφορετικές αναπτυξιακές διαδικασίες και ακόμα ότι πολλά είδη εντόμων στηρίζονται αποκλειστικά στη μάθηση για την εκδήλωση σημαντικών συμπεριφορών όπως η διατροφή, η αποφυγή άρπαγα, η επιθετικότητα ή ακόμα και η σεξουαλική συμπεριφορά (Dukas, 2008). Έτσι η εκδήλωση της συμπεριφοράς μπορεί να αντιμετωπιστεί ως ένα εύρος διαφορετικών επιπέδων «επίκτητου» και «εγγενούς» (Ploger & Yasukawa, 2003).

Τα έντομα, παρά την έλλειψη «ευφυΐας» και προνοητικότητας, αποτελούσαν ανέκαθεν αντικείμενα μελέτης της συμπεριφοράς γιατί, συγκριτικά με άλλα αρθρόποδα, έχουν σχετικά απλό νευρικό σύστημα, και αντιδρούν με χαρακτηριστικό τρόπο σε εξωτερικά ερεθίσματα. Συμπεριφορές που παρατηρούνται συνήθως στα έντομα περιλαμβάνουν αυθόρμητες ενέργειες που σχετίζονται με τις ενδογενείς, φυσιολογικές ανάγκες του οργανισμού καθώς και αντιδράσεις σε εξωτερικά ερεθίσματα. Η αποφυγή κινδύνου (π.χ. άρπαγας) είναι ένα από τα πιο κλασικά παραδείγματα αντίδρασης σε εξωτερικό ερέθισμα ενώ η κατασκευή φωλιάς και η σύνθεση βομβυκίου αποτελούν συμπεριφορές που ενεργοποιούνται ενδογενώς και είναι ανεξάρτητες από την ύπαρξη εξωτερικού ερεθίσματος. Ωστόσο, συμπεριφορές που σχετίζονται με ενέργειες όπως η ανεύρεση τροφής, η αναπαραγωγή, η μετανάστευση και η διασπορά προϋποθέτουν τόσο το γενετικό υπόβαθρο όσο και το κατάλληλο εξωτερικό ερέθισμα για την εκδήλωσή τους.

1.2.1 Εγγενής συμπεριφορά

Η εγγενής συμπεριφορά είναι γενετικά προκαθορισμένη. Έτσι, τα άτομα κάθε είδους κληρονομούν μια σειρά συμπεριφορών (ηθόγραμμα) με τον ίδιο τρόπο που κληρονομούν μορφολογικά χαρακτηριστικά όπως το χρώμα και οι νευρώσεις των πτερυγών. Γενικά, μια εγγενής συμπεριφορά έχει τα εξής χαρακτηριστικά: α) είναι κληρονομήσιμη, δηλαδή μεταβιβάζεται από γενιά σε γενιά και συνεπώς είναι κωδικοποιημένη στο DNA του είδους, β) είναι έμφυτη, γι' αυτό παρατηρείται σε άτομα που εκτρέφονται απομονωμένα από τα υπόλοιπα, γ) είναι στερεοτυπική και εκδηλώνεται με τον ίδιο τρόπο κάθε φορά και από κάθε άτομο, δ) είναι ανελαστική δηλαδή δεν τροποποιείται σε σχέση με την ανάπτυξη ή την εμπειρία και ε) είναι ολοκληρωμένη και εκφράζεται πλήρως την πρώτη φορά εκδήλωσής της (Meyer, 2009).

Εκτός από την περίπτωση του ανθρώπινου είδους, όπου η συμπεριφορά καθορίζεται ίσως σε μεγαλύτερο βαθμό από τη συνείδηση, την κουλτούρα και τις κοινωνικές σχέσεις παρά από την έκφραση κάποιων γονιδίων, σε οργανισμούς όπως τα έντομα, μεγάλο εύρος της συμπεριφοράς έχει γενετική βάση (Klowden, 2007). Πολλά είδη εγγενούς συμπεριφοράς αυξάνουν την αρμοστικότητα των οργανισμών που τα εκδηλώνουν, γι' αυτό και εξαρτώνται σε μεγάλο βαθμό από την έκφραση συγκεκριμένων γονιδίων, που επιλέχθηκαν όταν ο οργανισμός κατάφερε επιτυχώς να επιβιώσει σε ένα περιβάλλον. Για παράδειγμα, η αναπαραγωγική συμπεριφορά του *Drosophila melanogaster* είναι προγραμματισμένη από γονίδια που καθορίζουν άμεσα την ανάπτυξη του κεντρικού νευρικού συστήματος. Η σύζευξη στα αρσενικά του *D. melanogaster* περιλαμβάνει συγκεκριμένη αλληλουχία σταθερών πρότυπων ενεργειών που πρέπει να εκτελεστούν πριν την έναρξη της σύζευξης. Τα αναπαραγωγικά ώριμα αρσενικά ερωτοτροπούν με θηλυκά αλλά ποτέ με άλλα αρσενικά σε φυσικές συνθήκες, ενώ τα θηλυκά δεν εκδηλώνουν συμπεριφορά ερωτοτροπίας. Το τελετουργικό της ερωτοτροπίας περιλαμβάνει έναν αριθμό σταδίων που επαναλαμβάνονται με τον ίδιο τρόπο από όλα τα αρσενικά, ανεξάρτητα από την αποδοχή τους από τα θηλυκά. Το γονίδιο *fru* παίζει σημαντικό ρόλο στη λειτουργία των νευρικών συνδεσμολογιών που ελέγχουν τη συμπεριφορά ερωτοτροπίας των αρσενικών, ενώ άλλα γονίδια ελέγχουν την ανάπτυξη του αναπαραγωγικού

συστήματος των δύο φύλων (*dsx*), το τραγούδι ερωτοτροπίας (*per*), κ.λπ. (Klowden, 2007).

Επειδή η εγγενής συμπεριφορά είναι κωδικοποιημένη στο DNA του οργανισμού υπόκειται σε αλλαγές μέσω μετάλλαξης, ανασυνδυασμού και φυσικής επιλογής. Δηλαδή, όπως και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά, οι εγγενείς συμπεριφορές είναι φυλογενετικές προσαρμογές με εξελικτική προϊστορία. Αρκετά συχνά, συγκριτικές μελέτες συγγενικών ειδών αποκαλύπτουν πιέσεις επιλογής που προκαλούν εξελικτικές μεταβολές στη συμπεριφορά ή βοηθούν στην εξήγηση ασυνήθιστων συμπεριφορών. Για παράδειγμα, η ερωτοτροπία σε πολλά είδη εντόμων (Mecoptera, Diptera, Hymenoptera, Hemiptera) περιλαμβάνει την προσφορά «γαμήλιου δώρου» (nuptial gift) από το αρσενικό στο θηλυκό προκειμένου να το δελεάσει και να πετύχει τη σύζευξη (Schowalter, 2011). Τα «γαμήλια δώρα» είναι συνήθως σπόροι, νέκταρ, έντομα- θηράματα, αδενικές εκκρίσεις και έχουν διατροφική αξία για το θηλυκό. Σε κάποια είδη Διπτέρων της οικογένειας Empididae (dance flies) η ερωτοτροπία περιλαμβάνει την προσφορά από το αρσενικό στο θηλυκό μιας μικρής σφαίρας από μετάξι την οποία το θηλυκό ξετυλίγει κατά τη σύζευξη (Schowalter, 2011). Στα λιγότερο εξελιγμένα είδη το γαμήλιο δώρο είναι συνήθως ένα θήραμα τυλιγμένο με μετάξι με το οποίο τρέφεται το θηλυκό κατά τη σύζευξη, ενώ σε περισσότερο εξελιγμένα είδη η σφαίρα από μετάξι δεν περικλείει θήραμα (empty nuptial gift) (Cumming, 1994; Sadowski et al., 1999). Στα είδη όπου τα αρσενικά προσφέρουν μόνο μια σφαίρα από μετάξι, χωρίς το περιεχόμενο της τροφής, εκμεταλλεύονται την εγγενή ανταπόκριση των θηλυκών στο ερέθισμα του γαμήλιου δώρου (Meyer, 2009).

Η εξέλιξη των εγγενών συμπεριφορών οδήγησε σε αρκετά παραδείγματα πολύπλοκων και ιδιαίτερων συμπεριφορών όπως ο χορός των μελισσών και η ερωτοτροπία πολλών ειδών εντόμων. Παρά το γεγονός ότι αυτές οι συμπεριφορές φαίνονται «έξυπνες» και «σκόπιμες» είναι γενετικά καθορισμένες και αποτέλεσμα εκατομμυρίων χρόνων φυσικής επιλογής. Στα έντομα, οι εγγενείς συμπεριφορές αντιμετωπίζονται σαν προγραμματισμένες αντιδράσεις σε εξωτερικά ερεθίσματα και διακρίνονται σε α) αντανακλαστικές κινήσεις (reflexes), β) κινήσεις προσανατολισμού (kinesis, taxis) και γ) σταθερά πρότυπα ενεργειών (fixed action patterns) (Matthews & Matthews, 2010).

Μια από τις πιο βασικές εγγενείς συμπεριφορές, η αντανακλαστική κίνηση, αποτελεί ένα στερεότυπο ταχέων αυτόνομων συμπεριφορών που εξαρτάται από σχετικά απλές συνδεσμολογίες νευρώνων (Matthews & Matthews, 2010). Κατά την εκδήλωση αντανακλαστικής κίνησης, η αλληλουχία των νευρικών σημάτων μεταδίδονται ανάμεσα σε τουλάχιστον δύο νευρώνες: έναν αισθητήριο νευρώνα που ανιχνεύει το ερέθισμα και έναν νευρώνα κίνησης που συνδέεται με τον αισθητήριο νευρώνα και δίνει την εντολή για αντίδραση σε έναν μυ ή σε έναν αδένα. Συχνά, στο σύστημα των νευρώνων παίρνει μέρος και ένας τρίτος συνδετικός νευρώνας που βρίσκεται μεταξύ του αισθητηρίου και του νευρώνα κίνησης και που συνδέεται με άλλους νευρώνες για τη μετάδοση του σήματος στον εγκέφαλο και σε άλλα μέρη του νευρικού συστήματος. Τα περισσότερα έντομα εκδηλώνουν αντανακλαστική κίνηση - «ξάφνιασμα» προκαλούμενη από μικρές ενοχλήσεις αλλά και αντανακλαστική - «φυγή» προκαλούμενη από μεγαλύτερες ενοχλήσεις (Meyer, 2009).

Η συμπεριφορά προσανατολισμού είναι ένα σύνολο από συντονισμένες κινήσεις (βάδιση, πτήση, κολύμβηση κ.λπ.) που πραγματοποιείται σαν αντίδραση σε κάποιο εξωτερικό ερέθισμα και διακρίνεται σε «κίνηση» (kinesis) και «τάξη» (taxis). Οι συμπεριφορές προσανατολισμού είναι δείκτης προσαρμοστικότητας για το έντομο και αυξάνουν την επιβίωση αφού βοηθούν στον εντοπισμό ή στην αποφυγή ενός ερεθίσματος. Απαρτίζονται από ένα σύνολο νευρικών μηνυμάτων που απαιτούν τουλάχιστον έναν αισθητήριο δέκτη. Πιο αναλυτικά, η «κίνηση» είναι η μεταβολή στην ταχύτητα (orthokinesis) ή η μεταβολή στο ρυθμό αλλαγής κατεύθυνσης (klinokinesis) και είναι πάντα ευθέως ανάλογη με την ένταση του ερεθίσματος. Η «κίνηση» πραγματοποιείται χωρίς συγκεκριμένο προσανατολισμό γι' αυτό το έντομο που την εκδηλώνει κινείται τυχαία. Η μεταβολή στην ταχύτητα ή στο ρυθμό αλλαγής κατεύθυνσης αυξάνουν την πιθανότητα εντοπισμού του ερεθίσματος αλλά δεν το εγγυώνται. Η «τάξη» είναι μια κίνηση κατευθείαν προς (θετική) ή από (αρνητική) ένα ερέθισμα. Η ένταση του ερεθίσματος αυξάνει καθώς το έντομο κινείται προς την πηγή και μειώνεται καθώς απομακρύνεται. Η klinotaxis περιλαμβάνει κίνηση της κεφαλής και του σώματος από τη μια πλευρά στην άλλη με διαδοχικές, ταυτόχρονες αξιολογήσεις της έντασης του ερεθίσματος καθώς το έντομο κινείται. Η tropotaxis απαιτεί την ύπαρξη ενός ζεύγους αισθητήρων στην κάθε

πλευρά του σώματος ώστε το σήμα να εξισορροπείται μεταξύ των αισθητήρων. Επίσης, ανάλογα με την πηγή του ερεθίσματος η «τάξη» διακρίνεται σε φωτοτάξη (phototaxis), γεωτάξη (geotaxis), θιγμοτάξη (thigmotaxis) κ.λπ.. Δύο ειδικές περιπτώσεις «φωτοτάξης» είναι η νωτιαία αντίδραση στο φως (telotaxis) και η χρήση του φωτός σαν πυξίδα (menotaxis). Κατά τη νωτιαία αντίδραση στο φως το έντομο προσανατολίζει την κίνησή του μόνιμα σε γωνία 90° σε σχέση με την φωτεινή πηγή. Διατηρώντας τον ήλιο πάντα πάνω από τη ράχη του το έντομο, κατά την πτήση ή την κολύμβηση, διασφαλίζει ότι κινείται παράλληλα με το έδαφος ή την επιφάνεια του νερού. Για παράδειγμα, το σκαθάρι δύτης (Coleoptera: Dytiscidae) κολυμπάει παράλληλα με την επιφάνεια του νερού με τη ράχη του στραμμένη προς το φως. Ο προσανατολισμός του βασίζεται στην telotaxis με αποτέλεσμα να συγχέει την κίνησή του και να κολυμπάει ανάποδα σε ενυδρείο που φωτίζεται στον πυθμένα. Το πιο κοινό παράδειγμα εντόμου που χρησιμοποιεί το φως σαν πυξίδα είναι η εργάτρια μέλισσα η οποία προσανατολίζεται και βρίσκει το δρόμο προς την κυψέλη με βάση τη γωνία που σχηματίζει η κατεύθυνσή της σε σχέση με τον ήλιο (Meyer, 2009).

Τέλος, ίσως το πιο ενδιαφέρον είδος εγγενούς συμπεριφοράς είναι τα τυποποιημένα προγράμματα κίνησης γνωστά ως «καθορισμένα πρότυπα ενεργειών» (fixed action patterns) που περιγράφηκαν για πρώτη φορά από τους K. Lorenz και N. Tinbergen το 1930 (Matthews & Matthews, 2010). Τα καθορισμένα πρότυπα ενεργειών είναι μια σειρά συντονισμένων κινήσεων που πραγματοποιούνται στο σύνολό τους σαν μια ενότητα χωρίς διακοπή. Ενεργοποιούνται από ένα εξωτερικό ερέθισμα που καλείται ερέθισμα κλειδί, ερέθισμα σήμα ή ενεργοποιητής και εμφανίζουν κάποια κοινά χαρακτηριστικά: α) εκδηλώνονται ολοκληρωμένα από όλα τα άτομα του είδους, β) μετά την έναρξή τους, πραγματοποιούνται χωρίς την ύπαρξη θετικής ανατροφοδότησης ή συνεχιζόμενων εξωτερικών ερεθισμάτων και γ) προϋποθέτουν το συντονισμό διαφόρων μυϊκών ομάδων (Klowden, 2007; Matthews & Matthews, 2010). Ένα παράδειγμα καθορισμένου πρότυπου ενεργειών είναι η συμπεριφορά θήρευσης του *Mantis religiosa* (Dictyoptera: Mantidae). Ο ενεργοποιητής στην περίπτωση αυτή είναι μια οποιαδήποτε κίνηση ενός αντικειμένου σε μέγεθος θηράματος που βρίσκεται σε απόσταση βολής. Όταν η κίνηση θήρευσης ξεκινάει, το *M. religiosa* δεν μπορεί να

αλλάξει την κατεύθυνση ή να σταματήσει στην περίπτωση που το θήραμα φύγει από τη θέση του. Καθορισμένα πρότυπα ενεργειών αποτελούν η συμπεριφορά ερωτοτροπίας, η θήρευση ή η συλλογή τροφής, η κατασκευή φωλιάς καθώς και ενέργειες επίθεσης ή διαφυγής σε πολλά είδη εντόμων. Σε αντίθεση με την αντανακλαστική κίνηση το καθορισμένο πρότυπο ενεργειών περιλαμβάνει αντίδραση ολόκληρου του σώματος του εντόμου και συχνά απαιτείται ένα κατώτερο επίπεδο εσωτερικής ετοιμότητας (Meyer, 2009).

Τα καθορισμένα πρότυπα ενεργειών σπάνια ενεργοποιούνται στο γενικό περιβαλλοντικό πλαίσιο χωρίς τη δράση του ενεργοποιητή ενώ το αντίστροφο είναι πιο πιθανό. Για παράδειγμα, τα αρσενικά του γένους *Drosophila* εκδηλώνουν συμπεριφορά ερωτοτροπίας απέναντι σε φελλό εμποτισμένο με τη σεξουαλική φερομόνη των θηλυκών παρά το γεγονός ότι ο φελλός δε θυμίζει σε τίποτα άλλο το θηλυκό. Κάποιες φορές είναι δυνατή η δημιουργία ενός υπερβολικού ερεθίσματος που να προκαλεί πιο έντονη και ολοκληρωμένη αντίδραση σε σχέση με έναν κανονικό ενεργοποιητή. Για παράδειγμα οι παραγωγοί μήλων εκμεταλλεύονται την προσέλκυση των θηλυκών του *Rhagoletis pomonella* στα μήλα για να ωτοκήσουν με σκοπό την καταπολέμησή τους. Κρεμώντας στις μηλιές κόκκινες πλαστικές σφαίρες, διπλάσιου μεγέθους από ότι οι καρποί, επικαλυμμένες με κόλλα προσελκύουν θηλυκά που αντιδρούν εντονότερα στο μεγάλο μέγεθος της σφαίρας - ενεργοποιητή (Meyer, 2009).

Τέλος, η εκτέλεση ενός καθορισμένου πρότυπου ενεργειών μπορεί να οδηγήσει το έντομο στην ανίχνευση του ενεργοποιητή δεύτερου καθορισμένου πρότυπου ενεργειών το οποίο μπορεί με τη σειρά του να οδηγήσει στην ανίχνευση του ενεργοποιητή τρίτου καθορισμένου πρότυπου ενεργειών κ.ο.κ.. Ο τύπος αυτός συμπεριφορικού χειμάρρου εμφανίζεται συχνά στα έντομα. Για παράδειγμα η συμπεριφορά θήρευσης της σφήκας *Philanthus triangulum* ακολουθεί μια σειρά τριών καθορισμένων προτύπων ενεργειών (Matthews & Matthews, 2010 από Tinbergen, 1950). Ο πρώτος ενεργοποιητής είναι το οπτικό ερέθισμα που προκαλεί τη σφήκα να κυνηγήσει το θήραμα. Έπειτα, το χημικό προφίλ του θηράματος αποτελεί το δεύτερο ενεργοποιητή που προκαλεί τη σύλληψη του θηράματος. Τέλος, η επαφή και αναγνώριση του θηράματος μέσω της αφής αποτελούν τον τρίτο ενεργοποιητή που προκαλεί το νύγμα και την ωτοκία της σφήκας (Meyer, 2009).

Στην περίπτωση που ένα πρότυπο καθορισμένων ενεργειών εκπληρώνει ή ικανοποιεί μια φυσιολογική ορμή καλείται «πράξη κατανάλωσης» (consummatory act). Για παράδειγμα, τα γεύματα αίματος των κουνουπιών ικανοποιούν την πείνα τους. Επιπλέον, κάθε συμπεριφορά που αυξάνει την πιθανότητα ενός ατόμου να συναντήσει έναν ενεργοποιητή μιας πράξης κατανάλωσης συχνά καλείται «συμπεριφορά διέγερσης της διάθεσης» (appetitive behavior). Συνεπώς, ο ήχος του ερωτικού καλέσματος των τζιτζικιών μπορεί να θεωρηθεί συμπεριφορά διέγερσης της διάθεσης αφού αυξάνει τις πιθανότητες να βρεθεί ερωτικός σύντροφος και να ικανοποιηθεί η ορμή για αναπαραγωγή (Meyer, 2009).

Τέλος, σε ένα περιβάλλον όπου κυριαρχεί πλήθος ερεθισμάτων, υπάρχουν κάποια ερεθίσματα ικανά να προκαλέσουν διαφορετικές ή ακόμα και αντίθετες/αντιφατικές συμπεριφορές. Υπό κανονικές συνθήκες η εκδηλωθείσα συμπεριφορά εξαρτάται από την ένταση και αποτελεσματικότητα των ερεθισμάτων – ενεργοποιητών και καταπιέζει την ταυτόχρονη εκδήλωση άλλων συμπεριφορών. Για παράδειγμα, η συμπεριφορά φυγής, στα περισσότερα έντομα, εμποδίζεται κατά τη διάρκεια της σύζευξης, καθιστώντας το ζευγάρι ευάλωτο στους θηρευτές. Στην περίπτωση ανταγωνισμού ερεθισμάτων που οδηγούν σε αντιφατικές συμπεριφορές, πραγματοποιούνται μη λειτουργικές στερεοτυπικές ενέργειες που καλούνται «δραστηριότητες μετατόπισης» (displacement activities). Οι πιο γνωστές από αυτές περιλαμβάνουν συμπεριφορές καθαριότητας και περιποίησης (grooming). Όταν μια μέλισσα δεχτεί δύο αντιφατικά ερεθίσματα σχετικά με την παραμονή σε μια πηγή τροφής ή τη φυγή, είναι πιθανό να αρχίσει την καθαριότητα και περιποίηση (grooming) τμημάτων του σώματός της ανεξάρτητα από την ποσότητα της γύρης ή της σκόνης που βρίσκεται κολλημένη επάνω της (Matthews & Matthews, 2010).

1.2.2 Επίκτητη συμπεριφορά

Παλιότερα ήταν αποδεκτό ότι τα έντομα έχουν μικρή ή μηδενική ικανότητα μάθησης λόγω του μικρού εγκεφάλου τους και της σύντομης διάρκειας της ζωής τους. Οι πρώτες αποδείξεις της ικανότητας μάθησης στα έντομα προήλθαν από μελέτες με μέλισσες και παρασιτοειδή (Hammer &

Menzel, 1995; Vet et al., 1995). Ωστόσο, είναι πλέον αποδεδειγμένο τόσο γενετικά (Davis, 2005) όσο και συμπεριφορικά ότι οι προνύμφες της *Drosophila* μαθαίνουν να αποφεύγουν τροφή και οσμές συνδεδεμένες με ηλεκτρικές ώσεις (Aceves-Pina & Quinn, 1979), ενώ μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα, τα μυρμήγκια μαθαίνουν να αναγνωρίζουν την οσμή της φωλιάς τους. Πρόσφατες μελέτες υποδεικνύουν ότι πολλά είδη εντόμων μαθαίνουν κατά τη διάρκεια των σημαντικότερων δραστηριοτήτων της ζωής τους και ότι τα άτομα κάθε είδους εκδηλώνουν γενετικά βασισμένη παραλλακτικότητα στην ικανότητα μάθησης (Dukas, 2008; Matthews & Matthews, 2010; Papaj & Lewis, 1993).

Η μάθηση ή επίκτητη συμπεριφορά μπορεί να οριστεί ως η συνεχώς μεταβαλλόμενη συμπεριφορά που είναι αποτέλεσμα της εμπειρίας. Η μνήμη, η ικανότητα να αποθηκεύονται πληροφορίες, είναι προαπαιτούμενη και δημιουργεί μια συσχέτιση μεταξύ ερεθίσματος και αντίδρασης που δε θα υπήρχε χωρίς προηγούμενη εμπειρία με το ερέθισμα αυτό (Dukas, 2008). Επειδή η νεοεκκολαφθείσα προνύμφη δεν έχει προηγούμενη εμπειρία, οι αρχικές της συμπεριφορές είναι εξ' ολοκλήρου εγγενείς. Κατά την έναρξη της ενήλικης ζωής απαιτούνται ικανότητες και γνώση που αποκτώνται μέσω δοκιμής και λάθους, παρατήρηση άλλων ατόμων ή μνήμη παλιότερων γεγονότων. Γενικά, σε αντίθεση με τις εγγενείς συμπεριφορές οι επίκτητες συμπεριφορές είναι α) μη κληρονομήσιμες και αποκτώνται μόνο μέσω παρατήρησης και εμπειρίας β) εξωγενείς, γι' αυτό δεν παρατηρούνται σε άτομα που εκτρέφονται σε απομόνωση, γ) ευμετάβλητες, δηλαδή αποτελούν τελετουργικά που μπορεί να αλλάξουν με την πάροδο του χρόνου, δ) προσαρμόσιμες και ικανές να τροποποιηθούν προκειμένου να ταιριάζουν περισσότερο σε μεταβαλλόμενες συνθήκες και ε) προοδευτικές, δηλαδή είναι δυνατό να υποβληθούν σε βελτίωση ή τελειοποίηση με εξάσκηση. Παρ' όλο που τα έντομα έχουν απλοϊκό νευρικό σύστημα διαθέτουν σε ένα βαθμό ικανότητα μάθησης μέσω α) εθισμού – εξοικείωσης, β) κλασικής εξαρτημένης μάθησης, γ) συντελεστικής μάθησης, δ) λανθάνουσας μάθησης και ε) αποτύπωσης (Meyer, 2009).

Εθισμός ή εξοικείωση είναι η εκμάθηση της αγνόησης ασήμαντων, άσχετων ή επαναλαμβανόμενων ερεθισμάτων. Για παράδειγμα, ένα ρεύμα αέρα στους κέρκους της κατσαρίδας προκαλεί τη γρήγορη φυγή της. Η

συνεχής επανάληψη, όμως, του ερεθίσματος έχει σαν αποτέλεσμα τη μείωση της αντίδρασης και τελικά την κατάργησή της. Σε κάποια είδη εντόμων, η ευρεία χρήση της σεξουαλικής φερομόνης διαταράσσει την αναπαραγωγική τους συμπεριφορά γιατί τα αρσενικά εξοικειώνονται με το οσμηρό ερέθισμα της σεξουαλικής φερομόνης των θηλυκών και σταματούν να ανταποκρίνονται σε αυτό.

Κλασική εξαρτημένη είναι η μάθηση της σύνδεσης ενός ερεθίσματος με κάποιο άλλο, άσχετο ερέθισμα. Οι μέλισσες μαθαίνουν να συνδέουν τα χρώματα και τα αρώματα των λουλουδιών με την έκκριση νέκταρος. Πειράματα έχουν δείξει ότι οι μέλισσες μπορούν να μάθουν να συλλέγουν ζαχαρόνερο από πιάτα συγκεκριμένου χρώματος. Αν ένα μπλε πιάτο με νερό βρίσκεται δίπλα σε ένα κίτρινο πιάτο με ζαχαρόνερο οι εργάτριες μέλισσες θα συνδέσουν γρήγορα το κίτρινο χρώμα με την τροφή, ακόμα και αν αλλάξει η θέση των πιάτων. Αν στη συνέχεια το ζαχαρόνερο τοποθετηθεί στο μπλε πιάτο οι μέλισσες θα συνεχίζουν να συλλέγουν από το κίτρινο πιάτο αγνοώντας το μπλε μέχρι τελικά να «μάθουν», μέσω δοκιμής και λάθους, ότι η τροφή είναι στο μπλε πιάτο.

Η συντελεστική μάθηση στηρίζεται στην ικανότητα μνήμης της έκβασης προηγούμενων γεγονότων και ανάλογης τροποποίησης μελλοντικών συμπεριφορών. Θετικές επιπτώσεις ανατροφοδοτούν και ενισχύουν τη συμπεριφορά και αυξάνουν την πιθανότητα εμφάνισής της στο μέλλον, ενώ αρνητικές επιπτώσεις έχουν το αντίστροφο αποτέλεσμα. Ένα παράδειγμα συντελεστικής μάθησης είναι η ικανότητα των κατσαρίδων να κινούνται σε έναν απλό λαβύρινθο για την εύρεση τροφής.

Η λανθάνουσα μάθηση περιλαμβάνει τη μνήμη στερεοτύπων ή γεγονότων όταν δεν υπάρχει εμφανής ανταμοιβή ή τιμωρία που να συνδέεται με τη συμπεριφορά. Κάποια είδη σφήκας (*Philanthus* spp.) (sand wasps) μαθαίνουν τη θέση της φωλιάς τους κάνοντας μικρές αναγνωριστικές πτήσεις κάθε φορά που αφήνουν τη φωλιά. Τα μυρμήγκια θυμούνται μια σειρά ορόσημων που ακολουθούν κατά μήκος του μονοπατιού τους ακόμα και αντίστροφα για την εύρεση της φωλιάς τους. Οι εργάτριες μέλισσες εκδηλώνουν λανθάνουσα μάθηση όταν ακολουθούν το χορό των συλλεκτριών και στη συνέχεια τον χρησιμοποιούν για να βρουν την πηγή νέκταρος (Matthews & Matthews, 2010; Riley et al., 2005).

Η αποτύπωση είναι μια ειδική περίπτωση προγραμματισμένης μάθησης που πραγματοποιείται στην αρχή της ζωής και μόνο κατά τη διάρκεια μιας σύντομης περιόδου που καλείται «κρίσιμη περίοδος». Κατά τη διάρκεια αυτού του σύντομου διαστήματος το έντομο αποκτά ανεξίτηλη μνήμη κάποιου συγκεκριμένου σημαντικού ερεθίσματος του περιβάλλοντος στο οποίο βρίσκεται (γεύση του φυτού ξενιστή, μυρωδιά της φωλιάς κ.λπ.). Η μνήμη αυτή διατηρείται σε όλη τη διάρκεια ζωής και ανακαλείται όποτε είναι ανάγκη. Οι προνύμφες των μυγών των φρούτων αποτυπώνουν τη γεύση και οσμή της τροφής τους (Tully et al., 1994). Όταν οι προνύμφες εκτρέφονται σε μέσο που περιέχει εκχύλισμα μήλου, τα ενήλικα θηλυκά που προκύπτουν δείχνουν έντονη προτίμηση για τα μήλα κατά την αναζήτηση ξενιστή με σκοπό την ωοτοκία.

1.2.3 Σύνθετη συμπεριφορά

Συχνά είναι αρκετά δύσκολος ο διαχωρισμός μεταξύ εγγενών και επίκτητων συμπεριφορών γιατί στην ουσία πρόκειται για τα δύο άκρα μιας συνέχειας. Οι περισσότερες συμπεριφορές δεν είναι εξολοκλήρου ούτε εγγενείς ούτε επίκτητες και σε κάποιες περιπτώσεις οι εγγενείς συμπεριφορές μπορεί να τροποποιηθούν ή να διαμορφωθούν μέσω της εξάσκησης ή/ και της εμπειρίας. Η ικανότητα πτήσης των ακρίδων είναι εγγενής αλλά τα μεγαλύτερης ηλικίας έμπειρα άτομα καταναλώνουν λιγότερη ενέργεια κατά την πτήση απ' ό τι τα μη έμπειρα άτομα κάτι που δείχνει ότι τα μεγαλύτερης ηλικίας άτομα «έμαθαν» να πετούν πιο αποτελεσματικά (Matthews & Matthews, 2010). Επιπλέον, επίκτητες συμπεριφορές μπορεί να ενσωματώνουν ή να στηρίζονται σε στοιχεία εγγενών συμπεριφορών. Άλλωστε, η ικανότητα της μάθησης, της σύνδεσης και της μνήμης αποτελούν εγγενή χαρακτηριστικά του νευρικού συστήματος του εντόμου.

1.3 Μεταβολή της συμπεριφοράς σε σχέση με την ηλικία

Η μεταβολή της συμπεριφοράς των εντόμων σε σχέση με την ηλικία έχει μελετηθεί περισσότερο σε κοινωνικά είδη και κυρίως στη μέλισσα (*Apis mellifera*) και σε είδη μυρμηγκιών. Στο στάδιο του ενήλικου η εργάτρια

μέλισσα εκδηλώνει στερεοτυπική και εξαρτώμενη από την ηλικία μεταβολή των εργασιών που πραγματοποιεί (προσωρινός ή ηλικιακός πολυθητισμός). Οι αλλαγές της συμπεριφοράς, παρ' ότι είναι ευέλικτες και σε ορισμένες περιπτώσεις αναστρέψιμες, παρατηρούνται σε όλες τις εργάτριες του μελισσιού και είναι αποτέλεσμα σύνθετης αλληλεπίδρασης του ενδοκρινικού συστήματος, του κοινωνικού περιβάλλοντος καθώς και δομικών αλλαγών που πραγματοποιούνται κατά την ανάπτυξη (Matthews & Matthews, 2010). Το εύρος των μελετών που αφορούν αλλαγές στη συμπεριφορά σε σχέση με την ηλικία ενήλικων εντόμων μη κοινωνικών ειδών είναι εντυπωσιακά περιορισμένο. Για παράδειγμα είναι γνωστό ότι οι ήχοι που παράγουν κατά την πτήση τα σεξουαλικά ώριμα θηλυκά κουνούπια διαφέρουν από αυτούς που παράγουν θηλυκά νεαρής ηλικίας. Τα αρσενικά διακρίνουν τους ήχους που παράγουν τα πρώτα και προσπαθούν να συζευχθούν μαζί τους αυξάνοντας τις πιθανότητες να αφήσουν απογόνους (Roth, 1948). Επιπλέον, σε περιπτώσεις ειδών όπου τα αρσενικά εκδηλώνουν επιθετική συμπεριφορά και εδαφική κυριαρχία, η ηλικία σε συνδυασμό με το μέγεθος του αρσενικού, την επίτευξη συζεύξεων και την προηγούμενη εμπειρία σε μονομαχίες καθορίζει τον νικητή (Matthews & Matthews, 2010). Η μελέτη της συμπεριφοράς σε σχέση με την ηλικία αρχίζει να κερδίζει το ενδιαφέρον των ερευνητών που ασχολούνται με τις μύγες των φρούτων και οι σχετικές πληροφορίες αναπτύσσονται σε επόμενες ενότητες.

1.4 Γήρανση: εξελικτικές θεωρίες και χρήση των εντόμων για τη μελέτη της

Παρά το γεγονός ότι η έννοια της γήρανσης (senescence) είναι σε γενικές γραμμές κατανοητή και γίνεται καθημερινά αντιληπτή ο ορισμός της είναι μια πιο σύνθετη διαδικασία. Η γήρανση χαρακτηρίζεται από διαταραχή της ομοιόστασης του οργανισμού, από μειωμένη ανταπόκριση σε συνθήκες καταπόνησης και από αύξηση της πιθανότητας εμφάνισης ασθενειών (De Loof, 2011). Ο Medawar (1952) όρισε τη γήρανση ως το σύνολο των μεταβολών που αυξάνουν προοδευτικά την πιθανότητα θανάτου ενός οργανισμού. Επίσης, ως γήρανση ορίζεται η προοδευτική ελάττωση της λειτουργικότητας ή η βαθμιαία μείωση των φυσιολογικών λειτουργιών σε

σχέση με την ηλικία, συμπεριλαμβανομένης και της αναπαραγωγής (λειτουργική γήρανση) (Lopez-Otin et al., 2013; Partridge & Mangel, 1999). Ακόμα, ως γήρανση χαρακτηρίζεται η ενδογενής, αναπόφευκτη και μη αναστρέψιμη διαδικασία απώλειας της βιωσιμότητας και αύξησης της ευπάθειας που σχετίζεται άμεσα με την ηλικία (Comfort, 1964).

Οι εξελικτικές θεωρίες της γήρανσης και της μακροβιότητας προσπαθούν να εξηγήσουν τις αξιοσημείωτες διαφορές στους ρυθμούς γήρανσης και στις καταγεγραμμένες μακροβιότητες μεταξύ των ειδών που πραγματοποιούνται μέσω διαδικασιών μετάλλαξης και επιλογής. Εκτός από τη μετάλλαξη και τη φυσική επιλογή το κόστος αναπαραγωγής και η κατανομή ενέργειας μεταξύ μακροβιότητας και παραγωγής απογόνων αποτελούν παράγοντες εξελικτικής πίεσης και διαμορφώνουν την πρόοδο της γήρανσης στα διάφορα είδη οργανισμών (Gavrilov & Gavrilova, 2002). Οι σύγχρονες αποδείξεις της γήρανσης και της περιορισμένης μακροβιότητας στηρίζονται κυρίως σε δύο βασικές εξελικτικές θεωρίες: τη θεωρία της συσσώρευσης μεταλλάξεων (mutation accumulation theory) (Medawar, 1952) και τη θεωρία της ανταγωνιστικής πλειοτροπίας (antagonistic pleiotropy theory) (Williams, 1957).

Σύμφωνα με τη θεωρία της συσσώρευσης μεταλλάξεων η γήρανση από εξελικτικής πλευράς είναι το αναπόφευκτο αποτέλεσμα της μείωσης της ισχύος της φυσικής επιλογής σε σχέση με την ηλικία. Προβλέπει επίσης ότι η συχνότητα των ασθενειών εξαιτίας γενετικών αιτιών αυξάνει σε μεγάλες ηλικίες. Τα άτομα ενός πληθυσμού που φέρουν επιβλαβείς μεταλλάξεις έχουν λιγότερες πιθανότητες να αναπαραχθούν όταν η μετάλλαξη εκφράζεται σε νεαρή ηλικία. Αντίθετα, τα άτομα στα οποία μια μετάλλαξη εκφράζεται σε προχωρημένη ηλικία είναι πιθανότερο να έχουν ήδη αναπαραχθεί πριν την εκδήλωση του χαρακτήρα της μετάλλαξης (π.χ. ασθένεια, σύνδρομο κ.λπ.). Επομένως, μια μετάλλαξη που επιφέρει θνησιμότητα σε νεαρή ηλικία έχει λιγότερες πιθανότητες να κληροδοτηθεί στους απογόνους, λόγω θανάτου του ατόμου πριν την ηλικία αναπαραγωγής, με αποτέλεσμα να μην αποτελεί επιλέξιμο χαρακτήρα. Ωστόσο, όταν η έκφραση της μετάλλαξης περιορίζεται μόνο σε προχωρημένες ηλικίες δεν υπόκειται στη διαδικασία της φυσικής επιλογής γιατί τα άτομα που τη φέρουν την έχουν ήδη κληροδοτήσει στους απογόνους. Μετά από διαδοχικές γενεές, τέτοιου τύπου μεταλλάξεις

συσσωρεύονται και εκφράζονται σε προχωρημένη ηλικία με αποτέλεσμα αυξημένα επίπεδα θνησιμότητας σε μεγάλες ηλικίες (Medawar, 1952).

Η θεωρία της ανταγωνιστικής πλειοτροπίας βασίζεται σε δύο παραδοχές. Η πρώτη είναι ότι ένα συγκεκριμένο γονίδιο μπορεί να επηρεάζει όχι μόνο ένα αλλά περισσότερα χαρακτηριστικά ενός οργανισμού (πλειοτροπία) και η δεύτερη είναι ότι οι πλειοτροπικές αυτές επιδράσεις μπορεί να επηρεάζουν την αρμοστικότητα του οργανισμού με αντίθετο (ανταγωνιστικό) τρόπο. Τα πλειοτροπικά γονίδια ελέγχουν περισσότερα από ένα χαρακτηριστικά του οργανισμού, εκ των οποίων τουλάχιστον ένα χαρακτηριστικό έχει θετική επίδραση σε νεαρή ηλικία και παράλληλα τουλάχιστον ένα άλλο επιδρά αρνητικά σε μεγαλύτερη ηλικία. Κατά συνέπεια, τα πλειοτροπικά γονίδια επηρεάζουν θετικά την αρμοστικότητα του οργανισμού σε νεαρή ηλικία αλλά επιφέρουν επιβλαβείς επιδράσεις στον οργανισμό σε προχωρημένη ηλικία. Για παράδειγμα, αν το ίδιο γονίδιο ευθύνεται για την αυξημένη αναπαραγωγή σε νεαρή ηλικία και τη μείωση της ευρωστίας (γήρανση) σε προχωρημένη ηλικία τότε ο χαρακτήρας αυτός επιλέγεται εξαιτίας των πλεονεκτημάτων που παρέχει σε νεαρή ηλικία αντισταθμίζοντας το μετέπειτα κόστος. Τα γονίδια αυτά διατηρούνται στον πληθυσμό εξαιτίας της θετικής επίδρασης στην αναπαραγωγή σε νεαρές ηλικίες παρά την αρνητική τους επίδραση (γήρανση) αργότερα στη ζωή. Ο Williams (1957) παρατήρησε επίσης ότι η φυσική επιλογή μεροληπτεί υπέρ των νεαρών, έναντι των προχωρημένων, ηλικιών στις περιπτώσεις που προκύπτει σύγκρουση συμφερόντων η οποία προκαλείται από τα πλειοτροπικά γονίδια. Η θεωρία της ανοσοποιητικής γήρανσης αποτελεί προέκταση της θεωρίας της ανταγωνιστικής πλειοτροπίας και υποστηρίζει ότι το γονίδιο που είναι υπεύθυνο για την παραγωγή αντισωμάτων σε νεαρή ηλικία είναι υπεύθυνο και για την απορρύθμιση ή την υπολειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος σε προχωρημένη ηλικία.

Οι δύο παραπάνω θεωρίες δεν αλληλοαναιρούνται και μπορούν να λειτουργούν παράλληλα. Η μόνη τους διαφορά έγκειται στο ότι κατά τη θεωρία της συσσώρευσης μεταλλάξεων, τα γονίδια επιβλαβών επιδράσεων που εκφράζονται σε προχωρημένη ηλικία συσσωρεύονται παθητικά κατά τη διαδοχή των γενεών, ενώ κατά τη θεωρία της ανταγωνιστικής πλειοτροπίας τα γονίδια αυτά επιλέγονται ενεργά μέσω της φυσικής επιλογής (Gavrilov &

Gavrilova, 2002). Οι νεότερες θεωρίες που αναπτύχθηκαν για την εξήγηση του φαινομένου της γήρανσης στηρίζονται στις βασικές θεωρίες του Medawar (1952) και του Williams (1957) και μπορούν να κατηγοριοποιηθούν σε δύο ομάδες: σε αυτές που μελετούν το φαινόμενο σε κυτταρικό και γενετικό επίπεδο (τυχαίες μεταλλάξεις, οξειδωτική καταπόνηση) και σε αυτές που μελετούν το φαινόμενο σε λειτουργικό επίπεδο (λειτουργικές εκφράσεις γονιδίων σε προχωρημένη ηλικία).

Η εξήγηση του φαινομένου της γήρανσης σε μοριακό - κυτταρικό επίπεδο πραγματοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Denham Harman (1956) και είναι σήμερα γνωστή ως «θεωρία των ελεύθερων ριζών» (free radical theory). Σύμφωνα με αυτή οι ελεύθερες ρίζες οξυγόνου που δημιουργούνται κατά τις φυσιολογικές μεταβολικές διαδικασίες παίζουν σημαντικό ρόλο στη διαδικασία της γήρανσης προκαλώντας αύξηση των οξειδωτικών βλαβών στα μακρομόρια. Σε κυτταρικό επίπεδο, τα μιτοχόνδρια αποτελούν τον κύριο στόχο των ελεύθερων ριζών εξαιτίας της άμεσης εμπλοκής τους στη μεταβολική διαδικασία (Muller et al., 2007). Η θεωρία των ελεύθερων ριζών τροποποιήθηκε αργότερα στη «θεωρία της οξειδωτικής καταπόνησης» (oxidative stress theory of aging) γιατί και άλλες οξυγονούχες ενώσεις, όπως τα υπεροξειδία και οι αλδεΐδες οι οποίες δεν είναι ελεύθερες ρίζες, παίζουν εξίσου σημαντικό ρόλο στην οξειδωτική καταπόνηση των κυττάρων. Η έλλειψη ισορροπίας μεταξύ οξειδωτικών και αντιοξειδωτικών ενώσεων οδηγεί σε συσσώρευση οξειδωτικών βλαβών στα κύτταρα σε σχέση με την ηλικία με αποτέλεσμα την προοδευτική μείωση της κυτταρικής λειτουργικότητας που εκφράζεται με το φαινότυπο της γήρανσης (Sohal & Weindruch, 1996). Η θεωρία των ελεύθερων ριζών έχει αποδειχθεί από μελέτες στον νηματώδη *Caenorhabditis elegans* και στη μύγα των φρούτων *D. melanogaster* (ανασκόπηση από τους Muller et al., 2007). Ωστόσο, πρόσφατη μελέτη θέτει σε αμφισβήτηση τα παραπάνω ευρήματα γιατί η απενεργοποίηση πλήθους γονιδίων αντιοξειδωτικής δράσης δεν επιφέρουν μείωση της επιβίωσης σε ποντίκια (Pérez et al., 2009).

Οι μύγες των φρούτων και άλλοι οργανισμοί (νηματώδεις, ποντίκια) έχουν χρησιμοποιηθεί εντατικά για τη μελέτη του φαινομένου της γήρανσης (Grotewiel et al., 2005). Οι περισσότερες έρευνες επικεντρώνονται στα γονίδια που ευθύνονται για τις επιβλαβείς διαδικασίες που οδηγούν στη γήρανση ενώ

μικρότερη έμφαση έχει δοθεί, μέχρι στιγμής, στις φυσιολογικές δυσλειτουργίες που συνοδεύουν το φαινόμενο της γήρανσης. Η μελέτη της λειτουργικής γήρανσης αποτελεί επίπονη διαδικασία γιατί προϋποθέτει τη διερεύνηση της συμπεριφοράς ή/και της λειτουργίας ενός οργάνου ή συστήματος του οργανισμού καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής του. Κατά συνέπεια μπορεί να δώσει σημαντικές πληροφορίες για την ύφεση βασικών φυσιολογικών λειτουργιών που μειώνουν την ποιότητα της ζωής και την επιβίωση, για την κατανόηση των μηχανισμών που συνδέουν το λειτουργικό τμήμα της ζωής με τη συνολική διάρκεια ζωής και για τη δημιουργία βιοδεικτών γήρανσης (biomarkers of aging) (Grotewiel et al., 2005). Από τις μύγες των φρούτων το *D. melanogaster* εκδηλώνει πολλές φυσιολογικές και συμπεριφορικές δυσλειτουργίες σε σχέση με την ηλικία. Κάποιες από αυτές είναι η αρνητική γεωτάξη, η κίνηση, η οσφρητική ικανότητα, η μνήμη και η μάθηση, ο κερκάδιος ρυθμός καθώς και το αναπαραγωγικό δυναμικό. Πολλά γονίδια του *D. melanogaster* εμφανίζουν ομόλογα γονίδια στα θηλαστικά και ορισμένες από της φυσιολογικές και συμπεριφορικές δυσλειτουργίες σε προχωρημένη ηλικία είναι κοινές και στον άνθρωπο. Επιπλέον, τα τελευταία χρόνια δύο βασικές συμπεριφορές της μύγας της Μεσογείου, το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών και η ύππια συμπεριφορά που εκδηλώνεται από το σύνολο σχεδόν των ενηλίκων βρέθηκε ότι σχετίζονται με τη μακροβιότητα και τη γήρανση (Papadopoulos et al., 2002a; Papadopoulos et al., 2004). Η ύππια συμπεριφορά χαρακτηρίστηκε ως βιοδείκτης γήρανσης και αποτελεί σημαντικό εργαλείο εκτίμησης της ηλικίας θανάτου των ενηλίκων. Με βάση τα παραπάνω είναι προφανές ότι οι μύγες των φρούτων αποτελούν εξαιρετικούς οργανισμούς-μοντέλα για τη μελέτη της γήρανσης.

1.5 Κόστος αναπαραγωγής

Σήμερα είναι γενικά αποδεκτό ότι η αύξηση της αναπαραγωγής σε μια συγκεκριμένη ηλικία επιφέρει κόστος (cost of reproduction) που μεταφράζεται σε μείωση της αναμενόμενης αναπαραγωγής και αύξηση της θνησιμότητας σε προχωρημένη ηλικία (Partridge & Harvey, 1985). Αρκετές από τις έρευνες που μελετούν την επίδραση της αναπαραγωγής στην επιβίωση και την κατανομή της ενέργειας (energetic tradeoffs) μεταξύ αναπαραγωγής και

διατήρησης του σώματος (soma maintenance) χρησιμοποιούν ως οργανισμούς πρότυπα - μοντέλα διάφορα είδη εντόμων (Carey et al., 1998b; Creighton et al., 2009; Partridge & Farquhar, 1981; Partridge et al., 1987). Το κόστος αναπαραγωγής επικεντρώνεται κατά κύριο λόγο στα θηλυκά αφού σε γενικές γραμμές το κόστος παραγωγής σπέρματος και συνοδών εκκριμάτων από τα αρσενικά θεωρείται χαμηλό. Από την άλλη πλευρά η παραγωγή αυγών από τα θηλυκά αποτελεί εξαιρετικά ενεργοβόρο διαδικασία. Η παραγωγή και εναπόθεση λεκίθου για την ανάπτυξη των ωαρίων και τη δημιουργία αυγών προϋποθέτει την κατανάλωση μεγάλης ποσότητας λιπιδίων, πρωτεϊνών και υδατανθράκων από τους λιπώδεις ιστούς και την αιμόλεμφο. Η επένδυση ενέργειας και άλλων στοιχείων (π.χ. αμινοξέα) στην παραγωγή αυγών πραγματοποιείται σε βάρος άλλων φυσιολογικών διεργασιών με αποτέλεσμα την εξουθένωση του θηλυκού και τη μείωση της επιβίωσης (De Loof, 2011). Ωστόσο, το παραπάνω επιχείρημα ευσταθεί όταν η πρόσληψη ενέργειας και άλλων θρεπτικών στοιχείων είναι περιορισμένη και δεν επαρκεί για την κάλυψη του συνόλου των αναγκών. Συνεπώς το κόστος της αναπαραγωγής εξαρτάται από τη συνθήκη (condition dependent). Ο κυριότερος αντίλογος στο κόστος παραγωγής αυγών των θηλυκών προέρχεται από μελέτες σε κοινωνικά είδη εντόμων, όπως η μέλισσα, όπου η βασίλισσα ζει 20 φορές περισσότερο από την εργάτρια και γεννάει έως 2000 αυγά καθημερινά.

Η διαδικασία της σύζευξης και της μεταφοράς σπέρματος επιφέρει επίσης κόστος στην επιβίωση των θηλυκών. Στα θηλυκά αρκετών ειδών εντόμων προκαλούνται τραυματισμοί τόσο κατά τις απόπειρες όσο και κατά τη διάρκεια της σύζευξης και ακόμα μηχανική καταπόνηση της διόδου σύζευξης εξαιτίας της δομής του γενετικού οπλισμού του αρσενικού. Το σπέρμα των αρσενικών παρά το ότι συχνά ενισχύει την παραγωγή αυγών, παρέχει προστατευτική δράση από παθογόνα, καθυστερεί την αναπαραγωγική γήρανση και σε ορισμένες περιπτώσεις μεταφέρει νερό και θρεπτικά συστατικά μπορεί να έχει και αρνητικές επιδράσεις στην αρμοστικότητα του θηλυκού (De Loof, 2011). Σήμερα είναι γνωστό ότι η σύζευξη επιφέρει κόστος επιβίωσης στα θηλυκά των *Callosobruchus maculatus* και *Megachile rotundata* ενώ μεταφορά μεγάλης ποσότητα συνοδών εκκριμάτων μειώνει την επιβίωση των θηλυκών *Cyrtodiopsis dalmanni* (den Hollander & Gwynne,

2009; Pomiankowski et al., 2005; Rossi et al., 2010). Ακόμα, τόσο η ωοπαραγωγή όσο και η έκθεση θηλυκών *D. melanogaster* σε αρσενικά χωρίς την επίτευξη σύζευξης μειώνουν τη διάρκεια ζωής των πρώτων (Partridge et al., 1987). Επίσης, οι Partridge και Farquhar (1981) διαπίστωσαν μείωση της επιβίωσης των αρσενικών *D. melanogaster* ως αποτέλεσμα συχνών συζεύξεων σε νεαρή ηλικία. Εντατικές έρευνες της επίδρασης της σύζευξης και της μεταφοράς σπέρματος στο *D. melanogaster* οδήγησαν σε εξαιρετικά ευρήματα σχετικά με το κόστος της σύζευξης. Ένα πεπτίδιο φύλου (sex peptide) που περιέχεται στις πρωτεΐνες (*Acps*) των συνοδών εκκριμάτων του αρσενικού προκαλεί μείωση της επιβίωσης και καταστέλλει τη δεκτικότητα επανασύζευξης των θηλυκών (Chapman et al., 1995; Wigby & Chapman, 2005). Εντούτοις, νεώτερη έρευνα αποδεικνύει ότι η επίδραση της σύζευξης στην αρμοστικότητα των θηλυκών *D. melanogaster* ποικίλλει σε σχέση με τις διαφορετικές συνθήκες διατροφής. Συγκεκριμένα, η έκθεση των θηλυκών στο πεπτίδιο μπορεί να επιφέρει θετικά ή αρνητικά αποτελέσματα ανάλογα με το διατροφικό τους επίπεδο, καταδεικνύοντας ότι η συνθήκη παίζει σημαντικό ρόλο στην έκφραση του κόστους αναπαραγωγής στα θηλυκά του *D. melanogaster* (Fricke et al., 2010). Τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου εμφανίζουν δύο τύπους γήρανσης που σχετίζονται άμεσα με τη σύζευξη και τη διέγερση της ωοπαραγωγής (Carey et al., 1998b). Κατά τον «τύπο της αναμονής» τα θηλυκά εκδηλώνουν χαμηλή θνησιμότητα και ωοπαραγωγή ενώ κατά τον «αναπαραγωγικό τύπο» τα θηλυκά αυξάνουν την ωοπαραγωγή με παράλληλη αύξηση της θνησιμότητας, διαδικασίες που ενεργοποιούνται μετά τη σύζευξη.

Οι φυσιολογικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στο κόστος που επιφέρει η αναπαραγωγική διαδικασία έχουν μελετηθεί σε μικρότερο βαθμό σε σχέση με τις βιολογικές παραμέτρους (ωοπαραγωγή, επιβίωση). Κάποιοι από τους μηχανισμούς που αποδεικνύουν την ύπαρξη κόστους αναπαραγωγής περιλαμβάνουν τη ρύθμιση ορισμένων ορμονών [ορμόνη νεότητας (JH), εκδυστεροειδή, ινσουλίνη], το μεταβολισμό, τη λειτουργία του ανοσοποιητικού συστήματος, τις αμυντικές διαδικασίες σε συνθήκες καταπόνησης και τοξικότητας και τη λειτουργία πρωτεϊνών που σχετίζονται με την αναπαραγωγή (π.χ. *Acps*) (Harshman & Zera, 2007). Από τους παραπάνω μηχανισμούς, ο μεταβολισμός και οι ουσίες ρυθμιστές του, φαίνεται να

κατέχουν ουσιαστικό ρόλο στην έκφραση του κόστους της αναπαραγωγικής διαδικασίας. Το μονοπάτι της ινσουλίνης (Insulin Signaling Pathway, ISP) ρυθμίζει την κατανομή της ενέργειας μεταξύ διατήρησης και λειτουργίας του σώματος (soma maintenance) και αναπαραγωγής. Από την άλλη μεριά, η διαθεσιμότητα θρεπτικών στοιχείων και ο μεταβολισμός τους επηρεάζουν τη σύνθεση της ινσουλίνης. Το αναπαραγωγικό σύστημα επικοινωνεί με το μεταβολισμό, ο οποίος καθορίζει τη διαθεσιμότητα της ενέργειας στις διάφορες λειτουργίες του οργανισμού, μέσω των ορμονών. Συνεπώς, η έκφραση του κόστους αναπαραγωγής είναι διαδικασία πολύπλοκη και εξαρτώμενη από πολλούς παράγοντες, που σχετίζεται άμεσα με το μεταβολισμό και κατά συνέπεια με την ενεργειακή κατάσταση του οργανισμού (Harshman & Zera, 2007).

1.6 Η μύγα της Μεσογείου

1.6.1 Γενικά χαρακτηριστικά

Η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann), ανήκει στην οικογένεια Tephritidae των Διπτέρων. Είναι εξαιρετικά πολυφάγο είδος (> 300 είδη ξενιστών) και αποτελεί έναν από τους σημαντικότερους εχθρούς της παγκόσμιας παραγωγής φρούτων (Liquidó et al., 1991; Papadopoulos et al., 2001). Λεπτομερής αναφορά των ξενιστών που προσβάλλει η μύγα της Μεσογείου δίνεται από τους Liquidó και συνεργάτες (1991) και στη βάση δεδομένων του Ευρωπαϊκού και Μεσογειακού Οργανισμού Φυτοπροστασίας (European and Mediterranean Plant Protection Organization) (EPPO, 2013). Είναι πολυκυκλικό είδος συμπληρώνοντας, ανάλογα με τη γεωγραφική περιοχή, το κλίμα και τη διαθεσιμότητα ξενιστών, αρκετές γενεές το έτος (Fletcher, 1989). Επιπλέον, πρόκειται για κοσμοπολίτικο είδος το οποίο προερχόμενο από την υποσαχάριο κεντρική – ανατολική Αφρική εξαπλώθηκε και εγκαταστάθηκε στις περισσότερες τροπικές και εύκρατες περιοχές της γης (Ευρώπη, Κεντρική, Νότια και Βόρεια Αμερική, Μέση Ανατολή, Αυστραλία, Νησιά Ατλαντικού και Ινδικού Ωκεανού, Ανατολική Ασία) (Malacrida et al., 2007; Papadopoulos et al., 2013; White & Elson-Harris, 1992).

Η μορφολογία των ανήλικων και των ενήλικων σταδίων της μύγας της

Μεσογείου περιγράφονται με λεπτομέρεια από τους Τζανακάκη και Κατσόγιαννο (2003) και από το Διαμαντίδη (2008). Χαρακτηριστικό των ενήλικων αρσενικών που τα διαφοροποιεί από τα θηλυκά είναι δύο έμμισχες κερατοειδείς αποφύσεις (pair of orbital setae) (White & Elson-Harris, 1992) στο πρόσθιο τμήμα της κεφαλής. Χαρακτηριστικό των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου, όπως και άλλων ειδών της οικογένειας Tephritidae είναι ο προεξέχων ωοθέτης στο τελευταίο τμήμα της κοιλίας.

Τα ενήλικα, αμέσως μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα, αναζητούν τροφή (πρωτεϊνούχα – ζαχαρούχα υποστρώματα) με σκοπό την αναπαραγωγική ωρίμανση (Christenson & Foote, 1960). Μετά τη σύζευξη τα θηλυκά ωοτοκούν σε ημιώριμους ή ώριμους καρπούς 1 – 6 αυγά, είτε διατρυπώντας με τον ωοθέτη τους το περικάρπιο ή το μεσοκάρπιο είτε χρησιμοποιώντας παλιότερες σχισμές και τραύματα του καρπού (Paraj et al., 1989). Μετά την εκκόλαψή τους, οι προνύμφες αρχίζουν τη διατροφική τους δραστηριότητα στην περιοχή του μεσοκαρπίου διαβρώνοντας το σαρκώδες τμήμα και υποβαθμίζοντας τον καρπό. Η ζημιά συνεχίζεται και μετά τη συγκομιδή ή/και την απομάκρυνση των προνυμφών από τον καρπό λόγω ανάπτυξης δευτερογενών προσβολών από μύκητες και βακτήρια. Μόλις ολοκληρώσουν την ανάπτυξή τους οι προνύμφες εγκαταλείπουν τον καρπό και νυμφώνονται σε μικρό βάθος στο έδαφος (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003).

Η στρατηγική αντιμετώπισης της μύγας της Μεσογείου εξαρτάται από την κλίμακα παραγωγής φρούτων, την έκταση των καλλιεργούμενων οπωρώνων, την αγροτική πολιτική που ακολουθείται στη χώρα παραγωγής, το είδος της καλλιέργειας (συμβατική, ολοκληρωμένη, βιολογική), τις πιθανές εξαγωγές καθώς και το οικονομικό πλαίσιο στο οποίο εντάσσονται όλα τα παραπάνω. Η εφαρμογή της συμβατικής μεθόδου αντιμετώπισης της μύγας της Μεσογείου, που εφαρμόζεται κατά κύριο λόγο στη χώρα μας, στηρίζεται στην παρακολούθηση των πληθυσμών με παγίδες (π.χ. McPhail και Jackson) ή με δειγματοληψίες καρπών, και στη λήψη αποφάσεων για διεξαγωγή ψεκασμών κάλυψης κυρίως με εκλεκτικά εντομοκτόνα νέας γενιάς (Παπαδόπουλος & Σταυρίδης, 2010; Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Περισσότερο σύγχρονες πρακτικές για τον έλεγχο των πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου, οι οποίες είτε εφαρμόζονται είτε βρίσκονται σε πειραματικό

στάδιο, περιλαμβάνουν την εξαπόλυση στειρωμένων εντόμων (Sterile Insect Technique – SIT), τη μέθοδο κυτταροπλασματικής ασυμβατότητας (Incompatible Insect Technique – IIT), τη μαζική παγίδευση και τη χρήση εχθρών και παθογόνων (παρασιτικά υμενόπτερα, εντομοπαθογόνοι μύκητες και νηματώδεις) (Dyck et al., 2005; Epsky et al., 1996; Epsky et al., 1999; Gazit et al., 2000; Jordao-Paranhos et al., 2003; Papadopoulos & Katsoyannos, 2003; Uziel et al., 2003; Vreysen et al., 2007; Zabalou et al., 2009). Κάποιες από τις παραπάνω πρακτικές συχνά εφαρμόζονται συνδυαστικά για μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα. Επίσης, τα καλλιεργητικά μέτρα περιλαμβάνουν την απομάκρυνση και καταστροφή των προσβεβλημένων καρπών, τη μείωση των αυτοφυών ξενιστών σε φρουτοπαραγωγικές περιοχές, καθώς και την απεντόμωση των φρούτων μετασυλλεκτικά όταν η προσβολή βρίσκεται σε αρχικό στάδιο. Τέλος, λόγω του οικονομικού και κατ' επέκταση κοινωνικού αντίκτυπου που προκαλεί η εισβολή και εγκατάσταση της μύγας της Μεσογείου σε νέες περιοχές εφαρμόζονται νόμοι καραντίνας σε περιοχές όπου δεν υπάρχει το έντομο (Bacon et al., 2012; Mitchell & Saul, 1990; Mumford, 2002).

1.6.2 Συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου

Τις τελευταίες δεκαετίες η συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου έχει αποτελέσει αντικείμενο εντατικής μελέτης. Μέχρι σήμερα υπάρχει εκτεταμένη διαθέσιμη βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση πλήθους παραγόντων, όπως η τροφή, η φυλή, τα αιθέρια έλαια στη σεξουαλική συμπεριφορά των ενηλίκων (Aluja & Norrbom, 2000; Fletcher, 1989; Robinson & Hooper, 1989). Οι έρευνες επικεντρώνονται κατά κύριο λόγο στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου, κυρίως στο πλαίσιο της τεχνικής εξαπόλυσης στειρωμένων εντόμων όπου η ποιότητα των μαζικά εκτρεφόμενων στειρωμένων αρσενικών αξιολογείται τακτικά (Calcagno et al., 1999; Shelly, 1999; Shelly et al., 2005; Shelly et al., 2006). Παρά την εντατική προσπάθεια κατανόησης των μηχανισμών της σεξουαλικής συμπεριφοράς του συγκεκριμένου οργανισμού, πολλές πτυχές, όπως για παράδειγμα η συμπεριφορά των αρσενικών πριν την απόπειρα σύζευξης (mounting attempt), η ανταπόκριση των θηλυκών στην ερωτοτροπία των αρσενικών, η

ερωτοτροπία κατά τη διάρκεια της σύζευξης παραμένουν άγνωστες ή δεν έχουν πλήρως διερευνηθεί (Eberhard, 2000). Επιπλέον, η επικέντρωση των ερευνών στη σεξουαλική συμπεριφορά του εντόμου είχε σαν συνέπεια σημαντικές ελλείψεις σε θέματα σχετικά με το σύνολο του φάσματος της συμπεριφοράς των ενηλίκων αν και, σχετικά πρόσφατα, το ενδιαφέρον προς την κατεύθυνση αυτή αυξάνεται (Carey et al., 2006).

1.6.2.1 Σεξουαλική συμπεριφορά των αρσενικών

Η σεξουαλική συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου έχει μελετηθεί εκτενώς. Τα αρσενικά του είδους δημιουργούν χαρακτηριστικές συναθροίσεις, στην κάτω επιφάνεια των φύλλων φυτών ξενιστών, γνωστές σαν "leks" και εκδηλώνουν σεξουαλικό κάλεσμα, εκλύοντας σεξουαλική φερομόνη, βασικό στοιχείο της πολύπλοκης αναπαραγωγικής συμπεριφοράς του είδους, με στόχο την προσέλκυση των θηλυκών (Eberhard, 2000; Sivinski et al., 2000; Yuval & Hendrichs, 2000). Η εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος πραγματοποιείται από τα αρσενικά με χαρακτηριστική στάση κατά την οποία συστρέφουν την κοιλιά προς τα πάνω και εκθέτουν το ακραίο τμήμα του εδρικού τους επιθήλιου (Arita & Kaneshiro, 1986). Τα θηλυκά προσελκύονται στα "leks" και μετά από μια αρκετά πολύπλοκη διαδικασία ερωτοτροπίας επιλέγουν το σεξουαλικό τους σύντροφο. Αν και οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των ενηλίκων παραμένουν σε μεγάλο βαθμό ανεξερεύνητες, είναι γνωστό ότι τα ενήλικα και των δύο φύλων εκδηλώνουν επιθετική συμπεριφορά κατά την ερωτοτροπία (Briceno et al., 1999; Papadopoulos et al., 2009). Η συμπεριφορά ερωτοτροπίας ξεκινά αμέσως μόλις ένα αρσενικό προσεγγίσει το θηλυκό και συνήθως περιλαμβάνει ταχύ ανέμισμα των πτερύγων, κίνηση της κεφαλής, συστροφή της κοιλίας και παραγωγή ήχων (Briceno & Eberhard, 2000; Prokory & Hendrichs, 1979). Στη συνέχεια το αρσενικό επιχειρεί να ανέβει στη ράχη του θηλυκού και εφόσον γίνει αποδεκτό αρχίζει η σύζευξη που διαρκεί κατά μέσο όρο 2 με 3 ώρες (Whittier et al., 1992) και οδηγεί στη μεταφορά σπέρματος στις σπερμοθήκες του θηλυκού (Yuval et al., 1996). Το αναπαραγωγικό σύστημα της μύγας της Μεσογείου δε στηρίζεται στην άμεση απόκτηση πόρων του θηλυκού από το αρσενικό. Κατά συνέπεια, η προτίμηση και αποδοχή ενός σεξουαλικού συντρόφου από το θηλυκό ενδέχεται να

βασίζεται στην ποιότητα των χαρακτηριστικών της σεξουαλικής συμπεριφοράς του αρσενικού (ποσότητα και ποιότητα σεξουαλικής φερομόνης) (Shelly et al., 2011) και στη σωματική του ακεραιότητα (π.χ. συμμετρία, ακέραιες ή φθαρμένες πτέρυγες) (Hunt et al., 1998; Hunt et al., 2004).

1.6.2.2 Συμπεριφορά ωτοκίας των θηλυκών

Όπως προαναφέρθηκε, το εύρος ξενιστών της μύγας της Μεσογείου ξεπερνάει τα 350 είδη, γεγονός που αντικατοπτρίζει την πλαστικότητα των θηλυκών στην επιλογή ξενιστή με σκοπό την ωτοκία (Carey, 1984). Η συμπεριφορά ωτοκίας εμφανίζει μεγάλο ενδιαφέρον εξαιτίας των χρήσιμων πληροφοριών που παρέχει σε ερωτήματα που αφορούν τόσο τη συμπεριφορική έρευνα (φυσιολογία, επίκτητη συμπεριφορά) όσο και την εφαρμοσμένη έρευνα (προσέλκυση και αντιμετώπιση με παγίδες) (Katsoyannos, 1989). Τα θηλυκά είναι ικανά να παράγουν συνολικά 300 έως 1000 αυγά, ωτοκώνοντας καθημερινά για όλη τους τη ζωή, και προκειμένου να το πετύχουν είναι απαραίτητο να διατρέφονται με πρωτεϊνούχες ουσίες (Christenson & Foote, 1960). Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι πριν τη σύζευξη τα θηλυκά προσελκύονται στη σεξουαλική φερομόνη των αρσενικών, ενώ μετά τη σύζευξη (μεταφορά σπέρματος και συνοδών ουσιών) αλλάζουν προτίμηση και προσελκύονται στις οσμές των καρπών ξενιστών (Jang, 1995). Επίσης, παλαιότερη μελέτη αναφέρει ότι πριν τη σύζευξη τα θηλυκά εκδηλώνουν τάσεις διασποράς και μετανάστευσης με σκοπό την ανεύρεση τροφής, ενώ μετά τη σύζευξη μετακινούνται σε περιορισμένη έκταση, εφόσον υπάρχει διαθεσιμότητα καρπών για ωτοκία (Prokopy & Roitberg, 1989). Η επιλογή του καρπού για την εναπόθεση των αυγών εξαρτάται από το μέγεθος, το σχήμα, το χρώμα, το στάδιο ωρίμανσης, την ύπαρξη αμυχών από προηγούμενες ωτοκίες, την πιθανότητα ο καρπός να είναι κατειλημμένος από άλλο θηλυκό, την παρουσία φερομόνης αποτροπής ωτοκίας, τη διαθεσιμότητα διαφορετικών ειδών ξενιστών κ.λπ. (Yuval & Hendrichs, 2000). Άλλος ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει την αποδοχή από το θηλυκό ενός καρπού για ωτοκία είναι η προηγούμενη εμπειρία του. Παλιότερες μελέτες έδειξαν ότι είναι πιθανότερο να επιλεγεί για ωτοκία ένας γνώριμος καρπός στον οποίο το θηλυκό έχει αποθέσει τα αυγά του ξανά στο

παρελθόν (Paraj & Lewis, 1993). Το θηλυκό αφού επιλέξει των καρπό, διατρυπά το περικάρπιο με τον ωοθέτη και αποθέτει τα αυγά του σε ομάδες, ο αριθμός των οποίων ποικίλλει ανάλογα με το μέγεθος του καρπού και την ύπαρξη ή όχι φερομόνης αποτροπής ωοτοκίας (Paraj et al., 1990). Τέλος, μετά την ολοκλήρωση της εναπόθεσης των αυγών, το θηλυκό εξάγει τον ωοθέτη και τον σέρνει στην επιφάνεια αρχικά γύρω από το νύγμα ωοτοκίας και στη συνέχεια σε μεγαλύτερη επιφάνεια του καρπού σημαίνοντάς τον με φερομόνη αποτροπής ωοτοκίας (Diaz-Fleischer et al., 2000).

1.6.3 Σχέση ηλικίας και συμπεριφοράς στη μύγα της Μεσογείου

Η εκδήλωση του συνόλου των καθημερινών συμπεριφορών σε σχέση με την ηλικία άρχισε να μελετάται στις μύγες των φρούτων τα τελευταία έτη (Carey et al., 2006). Είναι γενικά αποδεκτό ότι εγγενή είδη συμπεριφοράς δε μεταβάλλονται σε σχέση με την ηλικία ενώ επίκτητα είδη συμπεριφοράς όπως η αναζήτηση τροφής, η σεξουαλική συμπεριφορά ή η ωοτοκία επηρεάζονται από πλήθος παραγόντων και ενδέχεται να μεταβάλλονται σε μεγαλύτερες ηλικίες (Matthews & Matthews, 2010). Σήμερα είναι γνωστό ότι νεαρής ηλικίας ενήλικα της μύγας της Μεσογείου εκδηλώνουν συχνότερη συμπεριφορά βάδισης ενώ άλλες συμπεριφορές, όπως η περιποίηση (grooming) δε μεταβάλλονται σε σχέση με την ηλικία (Carey et al., 2006). Επιπλέον, δύο από τις πιο χαρακτηριστικές συμπεριφορές του είδους, το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών και η ύπτια συμπεριφορά εμφανίζουν μεγάλη συσχέτιση με την ηλικία και αποτελούν δείκτες της ηλικίας θανάτου των ενηλίκων (Papadopoulos et al., 2002a; Papadopoulos et al., 2004; Zhang et al., 2006). Εκτός από το τρίπτυχο ηλικία – σεξουαλικό κάλεσμα – επιβίωση, φαίνεται ότι η ηλικία έχει σημαντική επίδραση στη σύνθεση της σεξουαλικής φερομόνης των αρσενικών καθώς και στην ελκυστικότητα και προτίμησή τους από τα θηλυκά (Flath et al., 1993; Shelly et al., 2011). Σε γενικές γραμμές φαίνεται ότι τα θηλυκά διακρίνουν και αξιολογούν την ποιότητα των αρσενικών και τελικά επιλέγουν τα νεαρότερα αρσενικά για σύζευξη (Neto et al., 2009). Η διάρκεια της σύζευξης φαίνεται ότι δεν επηρεάζεται από την ηλικία των αρσενικών (Liedo et al., 2002) και ακόμα ότι τα θηλυκά αυξάνουν τη δεκτικότητα για σύζευξη σε σχέση με την ηλικία (Anjos-Duarte et al., 2011).

Εντούτοις, οι παραπάνω μελέτες δεν εξετάζουν προχωρημένες ηλικίες. Επιπλέον, η δια βίου καθημερινή δραστηριότητα των ενηλίκων δεν έχει μελετηθεί μέχρι στιγμής στα δύο φύλα και σε σχέση με το διατροφικό περιβάλλον. Επίσης, η σεξουαλική και αναπαραγωγική συμπεριφορά, τα χαρακτηριστικά της σύζευξης και η ανταγωνιστικότητα των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου αξιολογήθηκε, μέχρι στιγμής, μόνο σε ένα μικρό ηλικιακό εύρος, μέχρι τη σεξουαλική ωρίμανση, ενώ δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής στοιχεία που να αφορούν την αλληλεπίδραση της τροφής και της ηλικίας στα παραπάνω βιολογικά χαρακτηριστικά του εντόμου.

1.6.4 Σημασία της τροφής στη συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου

Η συμπεριφορά διατροφής αρσενικών και θηλυκών της μύγας της Μεσογείου από τη στιγμή της εξόδου από το νυμφικό περίβλημα έως τη σεξουαλική ωρίμανση σχετίζεται άμεσα με την αναπαραγωγή. Τα θηλυκά αναζητούν τροφή πλούσια σε σάκχαρα και πρωτεΐνη προκειμένου να ωριμάσουν τα αυγά τους, επιλέγουν το αρσενικό με τα βέλτιστα χαρακτηριστικά προκειμένου να συζευχθούν και εντοπίζουν κατάλληλους καρπούς για την ωτοκία των γονιμοποιημένων αυγών τους. Τα αρσενικά πρέπει, επίσης, να τραφούν με ζάχαρη και πρωτεΐνη πριν τη συμμετοχή τους στην εξαιρετικά ενεργοβόρο και χρονοβόρο σεξουαλική συμπεριφορά που περιλαμβάνει την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος σε συναθροίσεις τύπου lek και τη φρούρηση καρπών (fruit guarding) (Prokopy & Hendrichs, 1979; Whittier et al., 1992; Yuval & Hendrichs, 2000). Η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης είναι πολύ σημαντική για την αναπαραγωγική επιτυχία τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών. Θηλυκά που έχουν πρόσβαση σε πρωτεΐνη αυξάνουν την ωοπαραγωγή ενώ τα αρσενικά που τρέφονται με πρωτεϊνούχες τροφές συμμετέχουν περισσότερο σε "leks", πετυχαίνουν περισσότερες συζεύξεις και καταστέλλουν την επιθυμία επανασύζευξης στις σεξουαλικές συντροφές τους (Blay & Yuval, 1997; Yuval et al., 1998). Παρά τις υπάρχουσες πληροφορίες σχετικά με τη διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης στη σεξουαλική συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου, δεν είναι ακόμα γνωστή η επίδραση της τροφής στο σύνολο της δραστηριότητας των ενηλίκων. Ακόμα, η

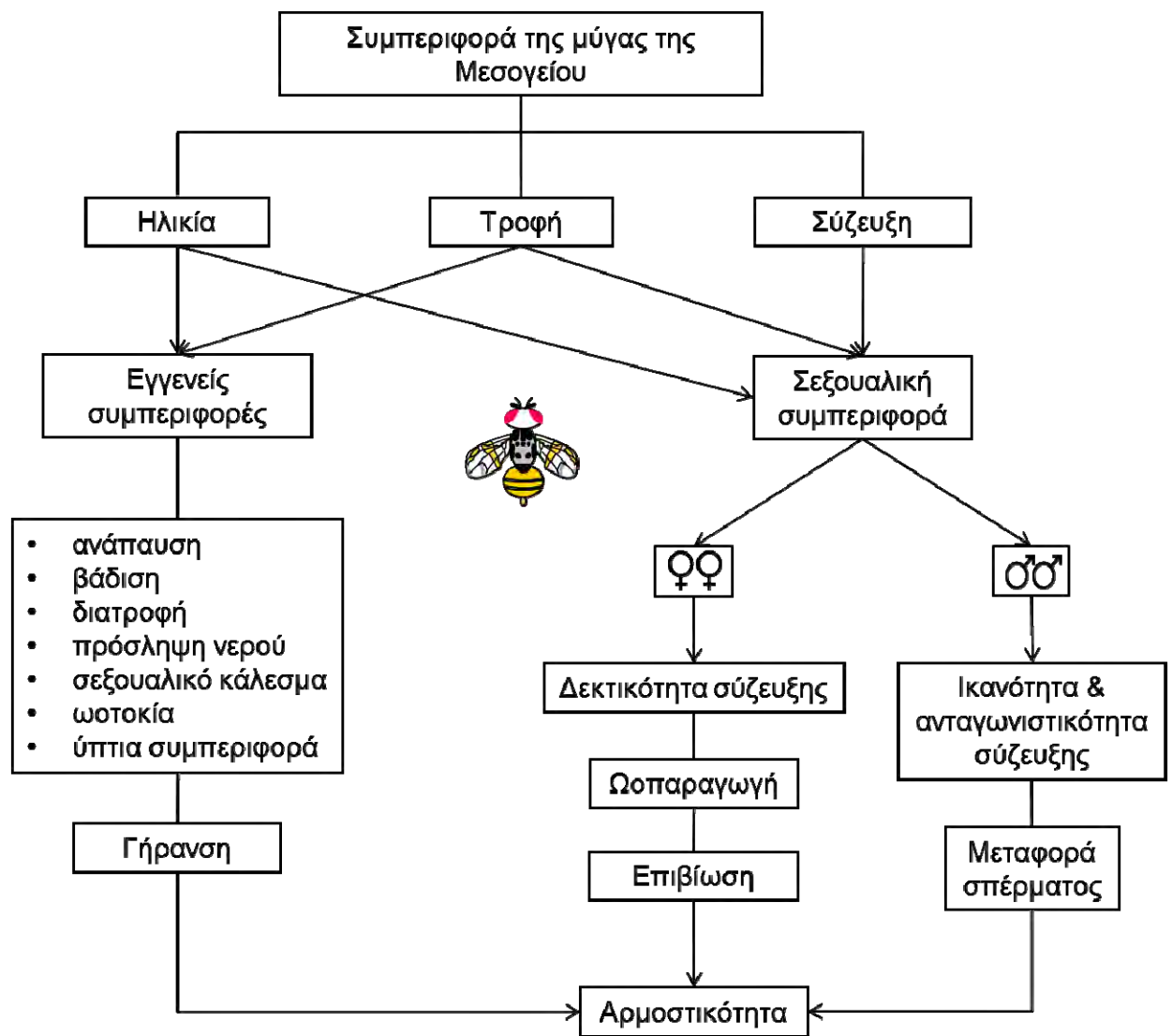
αλληλεπίδραση της τροφής και της ηλικίας στη μεταβολή της συμπεριφοράς των ενηλίκων παραμένει μέχρι στιγμής αδιευκρίνιστη.

1.7 Σκοπός της παρούσας διατριβής

Στην παρούσα διατριβή διερευνήθηκε α) η συμπεριφορά των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου στο πλαίσιο διαφορετικών συνθηκών, όπως η ηλικία, η τροφή και η σύζευξη, β) η επίδραση της γήρανσης στις βιολογικές παραμέτρους και στη σεξουαλική συμπεριφορά των ενηλίκων και γ) το πιθανό κόστος της αναπαραγωγικής συμπεριφοράς σε σχέση με την ηλικία και την τροφή. Για το λόγο αυτό μελετήθηκε, αρχικά, η δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών σε ένα πλούσιο και ένα φτωχό διατροφικό περιβάλλον σε σχέση με την ηλικία με ιδιαίτερη έμφαση στη δια βίου εκδήλωση των κυριότερων συμπεριφορών των δύο φύλων σε δύο είδη τροφής (Σχήμα 1.1). Στο σύνολο των παραπάνω πειραμάτων, που αποτέλεσαν τη βάση χαρτογράφησης του συμπεριφορικού εύρους της μύγας της Μεσογείου, μελετήθηκε η σχέση ορισμένων συμπεριφορών με την επιβίωση των ενηλίκων. Η εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς θεωρήθηκε ως δείκτης έναρξης της μη υγιούς περιόδου ζωής των δύο φύλων και συσχετίστηκε με τη συνολική διάρκεια ζωής και την υγιή περίοδο ζωής. Το σεξουαλικό κάλεσμα και η ύπτια συμπεριφορά των αρσενικών μελετήθηκαν, επιπρόσθετα, στο πλαίσιο του διατροφικού περιορισμού και της εναλλαγής της τροφής καθ' όλη τη διάρκεια της ενήλικης ζωής τους. Οι δύο αυτές συμπεριφορές εμφανίζουν έντονη συσχέτιση με την ηλικία και δίνουν σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη διαφοροποίηση της συμπεριφοράς κατά τη γήρανση ανάλογα με τη διατροφική συνθήκη. Στη συνέχεια, η μελέτη επικεντρώθηκε στη σεξουαλική – αναπαραγωγική συμπεριφορά των ενηλίκων σε σχέση με την ηλικία και την τροφή (Σχήμα 1.1). Έτσι, πραγματοποιήθηκαν δοκιμές σύζευξης αρσενικών διαφορετικών ηλικιών και εκτιμήθηκε η σεξουαλική ικανότητα και ανταγωνιστικότητά τους σε σχέση με νεαρά αρσενικά. Επίσης, καταγράφηκαν τα χαρακτηριστικά των συζεύξεων αρσενικών διαφορετικών ηλικιών και η ποσότητα σπέρματος που μεταφέρθηκε στις σπερμοθήκες των θηλυκών. Τέλος, κατ' αντιστοιχία, μελετήθηκε η δεκτικότητα σύζευξης θηλυκών διαφορετικών ηλικιών σε σχέση με το διατροφικό περιβάλλον και εκτιμήθηκε το κόστος της σύζευξης και της

ωοπαραγωγής στην επιβίωσή τους, σε ένα πλούσιο και ένα φτωχό διατροφικό περιβάλλον.

Ο πειραματικός σχεδιασμός της παρούσας διατριβής αντιμετωπίζει την ηλικία και τη γήρανση σαν βασικούς παράγοντες που επιδρούν τόσο στην καθημερινή δραστηριότητα των ενηλίκων όσο και στη σεξουαλική συμπεριφορά των δύο φύλων. Το κόστος εκδήλωσης των καθημερινών δραστηριοτήτων και της σεξουαλικής συμπεριφοράς σε όλα τα διαστήματα ηλικιών εκτιμάται σε σχέση με τις συνθήκες διατροφής. Το σύνολο των πειραμάτων πραγματοποιήθηκε σε σταθερές εργαστηριακές συνθήκες και αναπτύσσεται σε έξι επιμέρους κεφάλαια.



Σχήμα 1.1. Λογική αλληλουχία του πειραματικού σχεδιασμού της παρούσας διδακτορικής διατριβής.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2 ΓΕΝΙΚΑ ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Εργαστηριακές συνθήκες

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας από τον Ιούλιο του 2008 έως τα μέσα του 2012 (Εικόνα 2.1). Κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων, στους εργαστηριακούς χώρους επικρατούσαν σταθερές συνθήκες και συγκεκριμένα: θερμοκρασία 25 ± 1 °C, σχετική υγρασία $65 \pm 5\%$ και φωτοπερίοδος 14:10 (Φ:Σ), με τη φωτόφαση να διαρκεί από τις 07:00 έως τις 21:00. Η θερμοκρασία και η σχετική υγρασία ρυθμιζόνταν και διατηρούνταν σταθερές ανεξάρτητα από τις συνθήκες του περιβάλλοντος με τη βοήθεια κλιματικής μονάδας STULZ CompTrol 1001 (Diamar Ltd.). Το φως, στο χώρο όπου πραγματοποιήθηκαν οι παρατηρήσεις, προερχόταν από λαμπτήρες φθορίου και συμπληρωνόταν από το φυσικό φως που έμπαινε στο εντομοδωμάτιο από τα τέσσερα παράθυρα της οροφής. Η ένταση του φωτός στα ράφια όπου διατηρούνταν τα κλουβιά με τα έντομα κατά τη διάρκεια των πειραμάτων κυμαινόταν από 800 έως 1000 lux. Η εκτροφή των πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διατριβή διατηρήθηκε σε χώρο όπου επικρατούσαν οι παραπάνω συνθήκες με τη διαφορά ότι το φως προερχόταν αποκλειστικά από λαμπτήρες φθορίου (ένταση από 1500 έως 2000 lux). Η φωτοπερίοδος στους χώρους της εκτροφής και της διεξαγωγής των πειραμάτων ρυθμιζόταν με συσκευές – χρονόμετρα προσαρμοσμένες στην παροχή ηλεκτρικού ρεύματος των λαμπτήρων.

2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν και μέθοδος εκτροφής

Σε όλα τα πειράματα που πραγματοποιήθηκαν στο πλαίσιο της παρούσας διατριβής χρησιμοποιήθηκαν ενήλικα άγριου πληθυσμού της μύγας της Μεσογείου προερχόμενα από προσβεβλημένους καρπούς που συλλέγονταν στην ευρύτερη περιοχή των Λεχωνίων και της Αγκιάλου του

νομού Μαγνησίας. Οι προσβεβλημένοι καρποί [εσπεριδοειδή το χειμώνα (νεράντζια, μανταρίνια), πυρηνόκαρπα το καλοκαίρι (βερίκοκα, βανίλιες) και γιγαρτόκαρπα (κυρίως αχλάδια) το φθινόπωρο] μεταφέρονταν στο εργαστήριο (25 ± 1 °C) και τοποθετούνταν σε πλαστικές λεκάνες πάνω σε στρώμα στεγνής και αποστειρωμένης, λεπτόκοκκης άμμου. Οι λεκάνες καλύπτονταν με κομμάτι οργανίνας για αποφυγή ωτοκίας άλλων εντόμων (π.χ. δροσόφιλα) στους καρπούς. Μετά το πέρας της διατροφικής δραστηριότητας, οι προνύμφες εγκατέλειπαν τους καρπούς και νυμφώνονταν στο υπόστρωμα της άμμου. Οι νύμφες συλλέγονταν με κοσκίνισμα της άμμου, τοποθετούνταν σε πλαστικά τρυβλία Petri διαμέτρου 9 cm, όπου σημειωνόταν η ημερομηνία νύμφωσης, και διατηρούνταν στις σταθερές συνθήκες του εργαστηρίου. Λίγο πριν την έξοδο των ενηλίκων τα τρυβλία, με περίπου 200 νύμφες το καθένα, τοποθετούνταν σε ξύλινα κλουβιά διαστάσεων 30 x 30 x 30 cm, τα οποία είχαν τις τρεις πλευρές τους καλυμμένες με πλαστικό πλέγμα, τη μια με γυαλί και τις δύο με ξύλο (Εικόνα 2.2). Μετά την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα, τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε νερό (πλαστικά φιαλίδια γεμάτα με νερό και φτίλι) και τροφή [υδρολυμένη μαγιά (MP Biomedicals, LLC., France), κρυσταλλική ζάχαρη (σακχαρόζη) και νερό σε αναλογία 1:4:5].

Επειδή τόσο οι συνθήκες του περιβάλλοντος (εποχή, θερμοκρασία, είδος ξενιστή) (Krainacker et al., 1987) όσο και η παρατεταμένη εκτροφή σε τεχνητό υπόστρωμα στο εργαστήριο (Diamantidis et al., 2011b; Rull et al., 2005) επηρεάζουν τις βιολογικές παραμέτρους των πληθυσμών στα Terphritidae, στα πειράματα της παρούσας διατριβής χρησιμοποιήθηκαν έντομα F₁ έως F₃ γενεάς που εκτρέφονταν από τα έντομα που αποτελούσαν τον άγριο πληθυσμό. Δέκα με 15 ημέρες μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα τα ενήλικα του άγριου πληθυσμού ολοκλήρωναν την αναπαραγωγική τους ωρίμανση και συζευγνύονταν. Τα θηλυκά ωτοκούσαν σε τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας (dome) που αποτελούταν από ένα κόκκινο, πλαστικό ημισφαίριο διαμέτρου 5 cm και πάχους 1,5 cm το οποίο έφερε 40 – 50 ομοιογενώς κατανομημένες οπές, διαμέτρου 1 mm. Τα αυγά συλλέγονταν από την κοιλότητα του τεχνητού υποστρώματος ωτοκίας με τη βοήθεια μαλακού πινέλου και μεταφέρονταν σε τεχνητή τροφή που αποτελούταν από

100 gr κρυσταλλικής ζάχαρης (σακχαρόζη), 100 gr μαγιά μπίρας, 50 gr σογιάλευρου, 8 gr κιτρικού οξέος, 8 gr ασκορβικού οξέος, 2 gr μίγματος αλάτων, 1.5 gr προπιονικού νατρίου και 500 ml νερού (Boller, 1985). Οι προνύμφες ολοκλήρωναν την ανάπτυξή τους μετά από 7 περίπου ημέρες στις σταθερές συνθήκες του Εργαστηρίου και νυμφώνονταν σε στρώμα αποστειρωμένης άμμου. Μετά την ολοκλήρωση της νύμφωσης, οι νύμφες συλλέγονταν σε τρυβλίο Petri διαμέτρου 9 cm. Αναλυτική περιγραφή της μεθόδου εκτροφής που ακολουθείται στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ. δίνεται από τον Διαμαντίδη (2008) και από τη Sarakatsanou και συνεργάτες (2011).



Εικόνα 2.1. Τυπικό εντομοδωμάτιο Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας όπου επικρατούν σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας, υγρασίας και φωτοπεριόδου. Διακρίνονται τα ράφια με τα ατομικά κλουβιά εντόμων, ο πάγκος εργασίας και οι λαμπτήρες φθορίου.



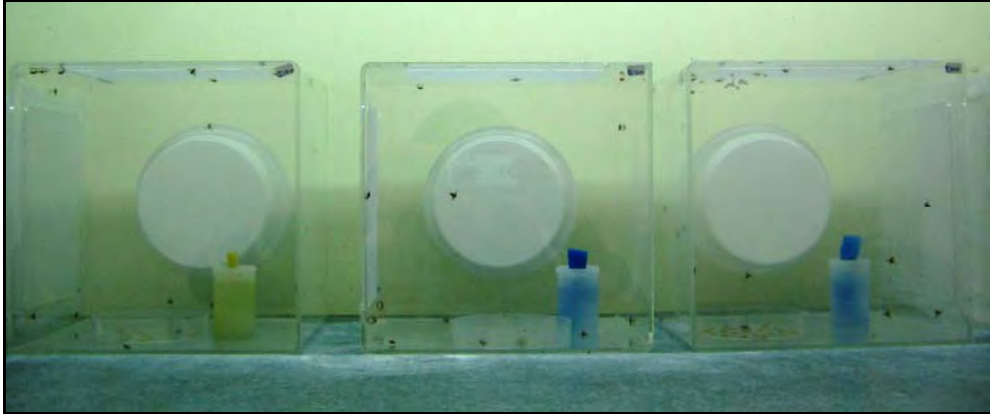
Εικόνα 2.2. Ξύλινο κλουβί διατήρησης άγριου πληθυσμού για την εκτροφή της μύγας της Μεσογείου.

2.3 Κλουβιά διατήρησης εντόμων

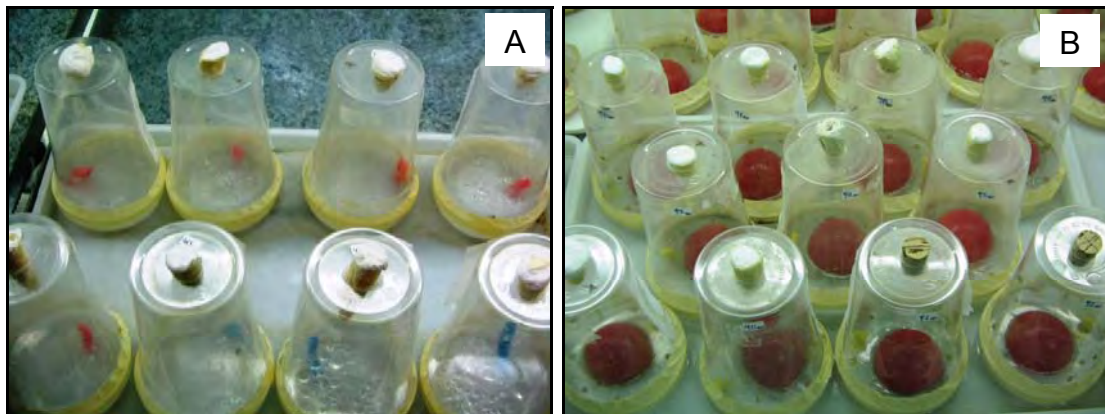
Ανάλογα με την πειραματική διαδικασία που θα ακολουθούσε, τα έντομα αμέσως μετά την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα, διατηρούνταν είτε σε κλουβιά Plexiglas 20 x 20 x 20 cm (Εικόνα 2.3) είτε σε ατομικά κλουβιά (Εικόνα 2.4). Τα κλουβιά από Plexiglas είχαν τις 3 πλευρές τους καλυμμένες με λεπτή οργαντίνα για αερισμό και στη μια πλευρά υπήρχε η είσοδος που έκλεινε με πλαστικό γιαουρτόκουτο αντίστοιχης διαμέτρου. Σε κάθε κλουβί Plexiglas τοποθετούταν τρυβλίο με τροφή ενηλίκων [ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό σε αναλογία (4:1:5) ή μόνο κρυσταλλική ζάχαρη (σακχαρόζη)] και πλαστικό φιαλίδιο με νερό και φιτίλι. Για την αποφυγή συνωστισμού στα κλουβιά τοποθετούνταν έως 20 ενήλικα της μύγας της Μεσογείου.

Τα ατομικά κλουβιά αποτελούνταν από διαφανή, πλαστικά ποτήρια χωρητικότητας 400 ml, προσαρμοσμένα σε τρυβλία Petri διαμέτρου 9 cm (Εικόνα 2.4 A, B). Τα ποτήρια έφεραν στο πλευρικό τοίχωμα οπή 5 x 5 cm καλυμμένη με οργαντίνα για να επιτρέπεται ο αερισμός. Ανάλογα με τη φύση του πειράματος τα τρυβλία της βάσης των κλουβιών είτε έφεραν τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας (dome) είτε όχι. Το τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας αποτελούταν από ένα κόκκινο, πλαστικό ημισφαίριο (βλέπε Ενότητα 2.2) προσαρμοσμένο στο τρυβλίο Petri που αποτελούσε τη βάση του ατομικού κλουβιού (Εικόνα 2.4 B). Στα τοιχώματα και στη βάση κάθε κλουβιού τοποθετούταν τροφή (ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό σε αναλογία 4:1:5 ή μόνο διάλυμα ζάχαρης σε νερό σε αναλογία 1:3) και στο τρυβλίο που ήταν προσαρμοσμένο στη βάση του κλουβιού τοποθετούνταν νερό και φιτίλι. Στα ατομικά κλουβιά, ανάλογα με τη φύση του πειράματος τοποθετούνταν από 1 έως 4 άτομα. Η τροφή και το νερό ανανεώνονταν κάθε εβδομάδα σε όλους τους τύπους κλουβιών.

Για την απλούστευση της περιγραφής των πειραμάτων και της παρουσίασης των αποτελεσμάτων η τροφή που περιείχε ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό αναφέρεται ως «ζάχαρη και πρωτεΐνη» και η τροφή που περιείχε ζάχαρη και νερό αναφέρεται ως «ζάχαρη». Περισσότερες λεπτομέρειες σχετικά με τη διατήρηση των εντόμων δίνονται στα επί μέρους κεφάλαια.



Εικόνα 2.3. Κλουβιά Plexiglas 20 x 20 x 20 cm που χρησιμοποιήθηκαν για τη διατήρηση των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου και για τις δοκιμές σύζευξης του Κεφαλαίου 7.



Εικόνα 2.4. Ατομικά κλουβιά διατήρησης ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου (A) χωρίς υπόστρωμα ωοτοκίας, (B) με τεχνητό υπόστρωμα ωοτοκίας (dome).

2.4 Παρακολούθηση συμπεριφοράς ενηλίκων

Κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων που περιγράφονται στα Κεφάλαια 3, 4, 5 και 6 καταγράφηκε η συμπεριφορά, ατομικά για το κάθε ενήλικο, με καθημερινές δίωρες παρατηρήσεις από τις 10:00 έως τις 12:00. Συγκεκριμένα καταγραφόταν η συμπεριφορά που εκδήλωνε το κάθε άτομο, ανά 10 λεπτά (13 παρατηρήσεις) από την ημέρα εξόδου του από το νυμφικό περίβλημα έως το θάνατο. Συνολικά χαρακτηρίστηκαν 7 διαφορετικές συμπεριφορές: βάδιση, ανάπαυση, διατροφή, πρόσληψη νερού, εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος για τα αρσενικά, προσπάθεια ωτοκίας για τα θηλυκά και εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς. Συμπεριφορές όπως πτήση, καθαρισμός, περιποίηση (grooming) και κίνηση πτερυγών, κίνηση κεφαλής κ.λπ. ομαδοποιήθηκαν ως εκδήλωση «άλλης συμπεριφοράς».

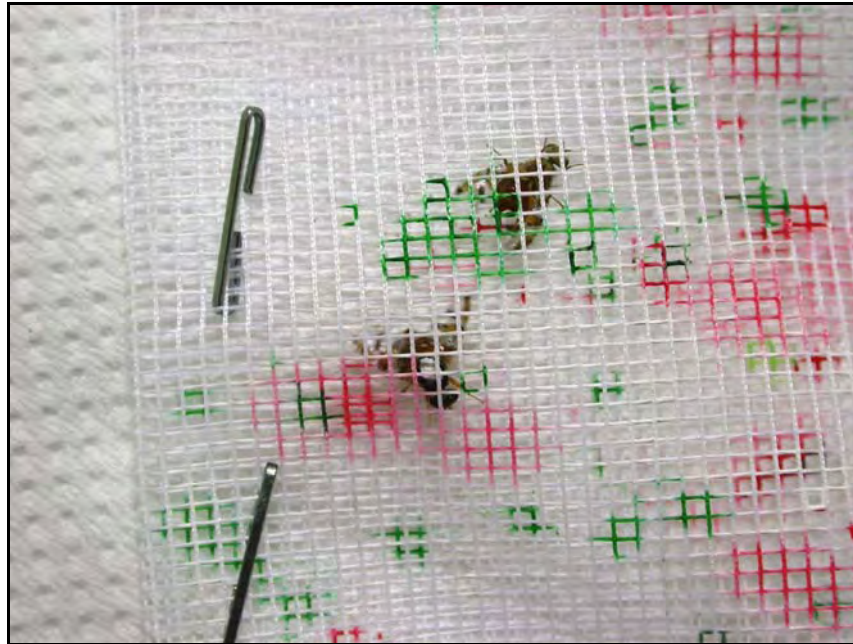
Στα Κεφάλαια 7 και 8 περιγράφονται πειράματα που περιλαμβάνουν δοκιμές σύζευξης. Στο Κεφάλαιο 7 οι δοκιμές σύζευξης πραγματοποιήθηκαν σε κλουβιά Plexiglas (20 x 20 x 20 cm) με 10 θηλυκά και 10 αρσενικά στα πειράματα χωρίς επιλογή ή με 10 θηλυκά και 20 αρσενικά (10 μάρτυρας και 10 μεταχείριση) στα πειράματα με επιλογή σε κάθε κλουβί – επανάληψη, αντίστοιχα. Τα αρσενικά τοποθετούνταν στα κλουβιά με τα θηλυκά στις 06:00 και οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνταν από τις 07:00 έως τις 16:00, κάθε 15 λεπτά. Κατά το χρονικό διάστημα από τις 06:00 έως τις 07:00 δεν παρατηρήθηκε καμία σύζευξη. Κάθε φορά που δημιουργούταν ένα νέο ζευγάρι καταγραφόταν η ώρα έναρξης της σύζευξης, το ζευγάρι απομακρυνόταν προσεκτικά από το κλουβί και τοποθετούταν σε μικρό πλαστικό φιαλίδιο με διάτρητο καπάκι για να ολοκληρώσει ανενόχλητο τη σύζευξη (Εικόνα 2.5). Μετά το διαχωρισμό του ζευγαριού, καταγραφόταν η ώρα τερματισμού της σύζευξης και τα δύο άτομα διατηρούνταν σε ξεχωριστά ατομικά κλουβιά, για την αποφυγή επανασύζευξης, μέχρι την καταμέτρηση των σπερματοζωαρίων στις σπερμοθήκες του θηλυκού και στους όρχεις του αρσενικού, η οποία πραγματοποιούνταν την επομένη της δόκιμης σύζευξης.

Στο Κεφάλαιο 8 οι δοκιμές σύζευξης ολοκληρώθηκαν σε ατομικά κλουβιά με υπόστρωμα ωτοκίας. Σε κάθε κλουβί, που περιείχε ένα θηλυκό, τοποθετούνταν 3 αρσενικά. Και στην περίπτωση αυτή, όπως και στις δοκιμές σύζευξης του Κεφαλαίου 7, τα αρσενικά εισάγονταν στα ατομικά κλουβιά στις

06:00 και οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνταν από τις 07:00 έως τις 16:00 κάθε 15 λεπτά. Καμία σύζευξη δεν πραγματοποιήθηκε στο χρονικό διάστημα 06:00 – 07:00. Μόλις ξεκινούσε η σύζευξη σε κάποιο ατομικό κλουβί, καταγραφόταν η ώρα έναρξης και απομακρύνονταν τα δύο αρσενικά που δεν επιλέχθηκαν από το θηλυκό για σύζευξη. Όταν το ζευγάρι διαχωριζόταν, καταγραφόταν η ώρα τερματισμού της σύζευξης και το αρσενικό απομακρυνόταν από το κλουβί. Για την εξομοίωση της επίδρασης που μπορεί να επέφεραν οι συνθήκες συνωστισμού που επικρατούσαν στα ατομικά κλουβιά στις βιολογικές παραμέτρους των θηλυκών, κατά τη διάρκεια των δοκιμών σύζευξης τοποθετούνταν 3 θηλυκά στα κλουβιά των παρθένων θηλυκών του μάρτυρα. Προκειμένου να είναι δυνατός τόσο ο διαχωρισμός των θηλυκών του μάρτυρα, μετά το τέλος των δοκιμών σύζευξης στο Κεφάλαιο 8 όσο και ο διαχωρισμός των αρσενικών της μεταχείρισης και του μάρτυρα στις δοκιμές σύζευξης με επιλογή στο Κεφάλαιο 7, τα έντομα σημαίνονταν με νερομπογιά στον πρυνώτο μια ημέρα πριν τις δοκιμές σύζευξης. Η διαδικασία ακινητοποίησης των ενηλίκων με σκοπό τη σήμανσή τους περιλάμβανε είτε την τοποθέτησή τους σε φάκελο από οργαντίνα με ανοιχτές τις 2 από τις 4 πλευρές του (Εικόνα 2.6) είτε αναισθητοποίησή τους με CO₂ (Εικόνα 2.7).



Εικόνα 2.5. Ζευγάρι που διατηρούταν σε πλαστικό φιαλίδιο έως την περάτωση της σύζευξης κατά τη διεξαγωγή δοκιμών σύζευξης (Κεφάλαιο 7).



Εικόνα 2.6. Φάκελος από οργανίνα όπου ακινητοποιούνταν τα ενήλικα με σκοπό τη σήμανσή τους με νερομπογιά.



Εικόνα 2.7. Σύστημα αναισθητοποίησης ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου με CO₂.

2.5 Περιγραφή βασικών συμπεριφορών των ενηλίκων

Όπως αναφέρθηκε στην προηγούμενη ενότητα (2.4) στα Κεφάλαια 3, 4, 5 και 6 καταγράφηκε η συμπεριφορά που εκδήλωναν αρσενικά και θηλυκά της μύγας της Μεσογείου από την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα έως το θάνατο. Οι παρατηρήσεις επικεντρώθηκαν στις εξής συμπεριφορές: ανάπαυση (resting), βάδιση (walking), διατροφή (feeding), πρόσληψη νερού (drinking), εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος για τα αρσενικά (sexual signaling), προσπάθεια ωτοκίας για τα θηλυκά (oviposition attempt) και εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς (supine behavior). Η εκδήλωση συμπεριφορών όπως πτήση (flying), καθάρισμα (grooming) και κίνηση πτερύγων, κίνηση της κεφαλής (head rocking) κ.λπ. ορίστηκε γενικά ως εκδήλωση «άλλης συμπεριφοράς».

Η συμπεριφορά καταγραφόταν ως ανάπαυση όταν τη στιγμή της παρατήρησης το ενήλικο βρισκόταν ακίνητο, σε κατάσταση ηρεμίας σε οποιοδήποτε σημείο του ατομικού κλουβιού (δάπεδο, τοιχώματα) (Εικόνα 2.8). Στην περίπτωση που κατά τη διάρκεια της ανάπαυσης το ενήλικο περιποιούταν και καθάριζε μέρη του σώματος του (grooming) η συμπεριφορά καταγραφόταν ως «άλλη συμπεριφορά». Όταν κατά τη στιγμιαία παρατήρηση το ενήλικο αρσενικό ή θηλυκό βάδιζε σε οποιοδήποτε σημείο του κλουβιού, η συμπεριφορά καταγραφόταν ως βάδιση. Επιπλέον, στην περίπτωση που το ενήλικο διατρεφόταν, ανάλογα με τη μεταχείριση, είτε με ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό σε αναλογία 4:1:5 είτε με ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:3, εκτείνοντας τη σπογγίζουσα μυζητική προβοσκίδα και ακουμπώντας τη σταγόνα της τροφής με τη λαβέλλα (labella, μορφή διπλού σφουγγαριού) η συμπεριφορά καταγραφόταν ως διατροφή (Εικόνα 2.9). Αντίστοιχα, η συμπεριφορά καταγραφόταν ως πρόσληψη νερού όταν το ενήλικο εκτείνοντας την προβοσκίδα άγγιζε με τη λαβέλλα το φιλί που ήταν προσαρμοσμένο στο δάπεδο του κλουβιού και ερχόταν σε επαφή με το νερό του τρυβλίου.

Το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου παίζει σημαντικό ρόλο στη σεξουαλική συμπεριφορά του είδους και περιλαμβάνει την έκλυση σεξουαλικής φερομόνης με σκοπό την προσέλκυση των θηλυκών. Η έκλυση της σεξουαλικής φερομόνης πραγματοποιείται με την αναστροφή του μεμβρανώδους επιθηλίου του ορθού του αρσενικού που

μακροσκοπικά μοιάζει με δομή μικρής σταγόνας. Το επιθήλιο του ορθού συνδέεται με δύο αδένες που παράγουν τη σεξουαλική φερομόνη και όταν είναι διογκωμένο διακρίνονται δύο μικρές σχισμές αριστερά και δεξιά απ' όπου εκλύεται η φερομόνη (Arita & Kaneshiro, 1986). Όταν το αρσενικό δεν εκδηλώνει σεξουαλικό κάλεσμα και δεν ερωτοτροπεί με το θηλυκό, το επιθήλιο του ορθού παραμένει αναδιπλωμένο εντός των τελευταίων κοιλιακών μεταμερών. Κάθε φορά που κατά την παρατήρηση το αρσενικό είχε ανεστραμμένο και διογκωμένο το επιθήλιο του ορθού με αποτέλεσμα να μοιάζει με μικρή «σταγόνα» η συμπεριφορά καταγραφόταν ως εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος (Εικόνα 2.10).

Κατά τη διάρκεια των παρατηρήσεων της συμπεριφοράς, τα θηλυκά διατηρήθηκαν σε ατομικά κλουβιά χωρίς τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας (λεπτομέρειες δίνονται στην Ενότητα 2.3). Ωστόσο, τα θηλυκά εκδήλωναν προσπάθεια ωτοκίας που είτε οδηγούσε στην απόθεση αυγών σε οποιοδήποτε σημείο του κλουβιού (δάπεδο, τοιχώματα, τροφή, οργανίνα αερισμού) είτε όχι. Στην περίπτωση που παρατηρούταν συστροφή της κοιλίας με ταυτόχρονη έκταση του ωοθέτη και πίεση σε κάποιο από τα προαναφερθέντα σημεία του κλουβιού η συμπεριφορά καταγραφόταν ως προσπάθεια ωτοκίας, ανεξάρτητα από το αν οδηγούσε στην απόθεση αυγών ή όχι.

Τέλος, η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς (supine) περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Papadopoulos και συνεργάτες (2002a), υποδεικνύει λειτουργικό περιορισμό του εντόμου, συνδέεται με τη στιγμή θανάτου του και χαρακτηρίστηκε ως βιοδείκτης γήρανσης (biomarker of aging). Κατά την εκδήλωσή της το ενήλικο αναπαύεται σε ύπτια θέση με το νωτιαίο τμήμα του θώρακα στο δάπεδο του κλουβιού. Έχοντας αποκτήσει τη θέση αυτή το ενήλικο μπορεί να κουνάει τα πόδια και τα στοματικά του μόρια (Εικόνα 2.11). Το έντομο μοιάζει νεκρό ή ετοιμοθάνατο αλλά είναι ικανό να επανέλθει αυτόνομα στη φυσική του στάση. Μετά το πέρας της εκδήλωσης ύπτιας συμπεριφοράς και την επαναφορά του στην κανονική του στάση μπορεί να εκδηλώνει φυσιολογικές λειτουργίες (διατροφή, βάδιση, σεξουαλικό κάλεσμα κ.λπ.) κάτι που καθιστά αδύνατο το διαχωρισμό του από άτομα που δεν εκδηλώνουν ύπτια συμπεριφορά. Η παρατήρηση ενηλίκου στη στάση που περιγράφεται παραπάνω καταγραφόταν ως εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς.



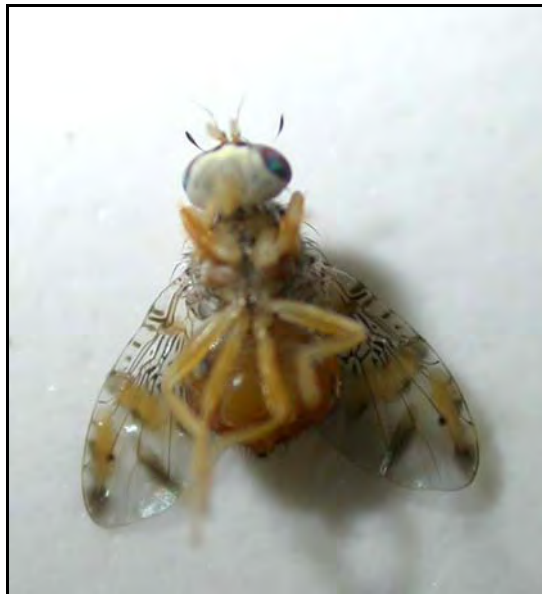
Εικόνα 2.8. Θηλυκό μύγας της Μεσογείου σε κατάσταση ηρεμίας. Η συμπεριφορά αυτή καταγραφόταν ως ανάπαυση.



Εικόνα 2.9. Θηλυκό μύγας της Μεσογείου κατά τη διατροφή του με σταγόνα ζάχαρης, υδρολυμένης μαγιάς και νερού σε αναλογία 4:1:5. Διακρίνεται η εκτεταμένη προβοσκίδα και η λαβέλλα που αγγίζει τη σταγόνα τροφής.



Εικόνα 2.10. Αρσενικό μύγας της Μεσογείου που εκδηλώνει σεξουαλικό κάλεσμα. Διακρίνεται το ανεστραμμένο και διογκωμένο επιθήλιο του ορθού.



Εικόνα 2.11. Αρσενικό μύγας της Μεσογείου που εκδηλώνει ύπτια συμπεριφορά (surine).

2.6 Μέθοδος καταμέτρησης σπέρματος στις σπερμοθήκες των θηλυκών και στους όρχεις των αρσενικών

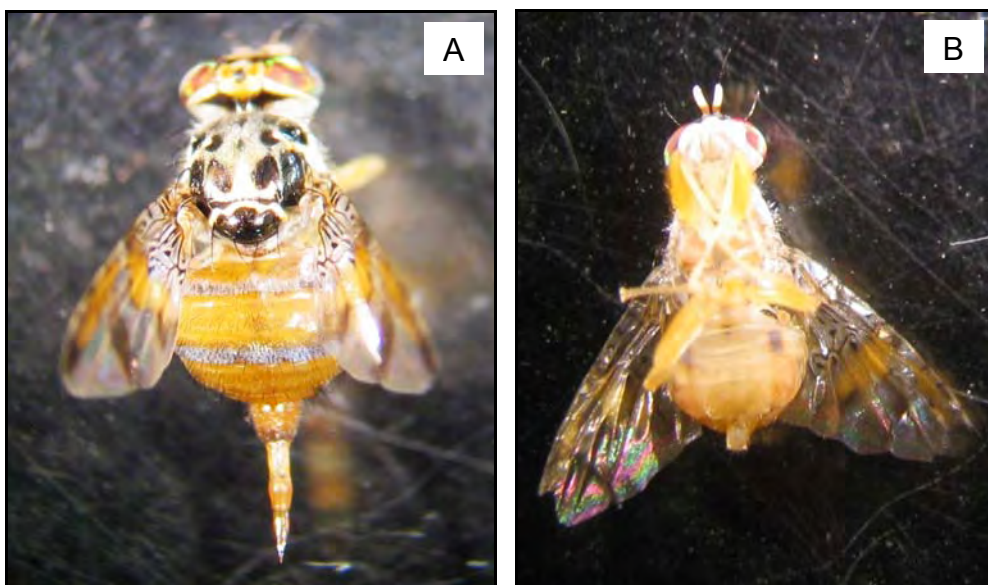
Όπως αναφέρθηκε στην υποενότητα 2.4 εκτιμήθηκε ο αριθμός των σπερματοζωαρίων στις σπερμοθήκες των θηλυκών και στους όρχεις των αρσενικών στο πλαίσιο των πειραμάτων που περιγράφονται στο Κεφάλαιο 7. Για το σκοπό αυτό, τα ενήλικα τοποθετούνταν, για 10 λεπτά, σε χαμηλή θερμοκρασία (-4 °C) προκειμένου να αναισθητοποιηθούν και στη συνέχεια ακολουθούσε η αφαίρεση των σπερμοθηκών και των όρχεων, με τη βοήθεια στερεοσκοπίου. Για την εκτίμηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων στις σπερμοθήκες των θηλυκών και στους όρχεις των αρσενικών ακολουθήθηκε, με μικρές τροποποιήσεις, η μέθοδος που περιγράφεται από τους Twig και Yuvai (2005). Αναλυτικότερα, κάθε άτομο τοποθετούταν σε αντικειμενοφόρο πλάκα σε μεγέθυνση 10x (Εικόνα 2.12), στο στερεοσκόπιο, και με τη χρήση δύο λαβίδων ο θώρακας αποχωριζόταν από την κοιλία. Στη συνέχεια, διατηρούταν στο οπτικό πεδίο μόνο η κοιλία και αυξάνοντας τη μεγέθυνση (20x) προστίθεντο 10 μl Tween (0,1%) (Εικόνα 2.13).

Για την καταμέτρηση των σπερματοζωαρίων στις σπερμοθήκες των θηλυκών, ο ωσθέτης αποχωριζόταν προσεκτικά από την κοιλία, με τη βοήθεια δύο λαβίδων, και μαζί του εξέρχονταν οι δύο σπερμοθήκες (Εικόνα 2.14 A). Οι ιστοί απομακρύνονταν από τις σπερμοθήκες χρησιμοποιώντας δύο εντομολογικές καρφίτσες. Οι σπερμοθήκες μεταφέρονταν σε νέα αντικειμενοφόρο και στην καθεμιά τοποθετούνταν 50 μl διπλά απεσταγμένου νερού με 0,1% Tween. Χρησιμοποιώντας τη μύτη μιας εντομολογικής καρφίτσας διαρρηγνυόταν η κάθε σπερμοθήκη χωριστά και ξεπλενόταν μέσα σε erpendorf με 150 μl διπλά απεσταγμένου νερού. Το περιεχόμενο των δύο erpendorf ανακινούταν στο Vortex για 2,5 min και 10 μl από το καθένα μεταφερόταν σε νέα αντικειμενοφόρο. Το διάλυμα αφηνόταν να στεγνώσει σε θερμοκρασία δωματίου, για 30 λεπτά περίπου, και η μέτρηση των σπερματοζωαρίων πραγματοποιούνταν σε μικροσκόπιο αντιθέτου φάσεως σε μεγέθυνση x100 ή x200.

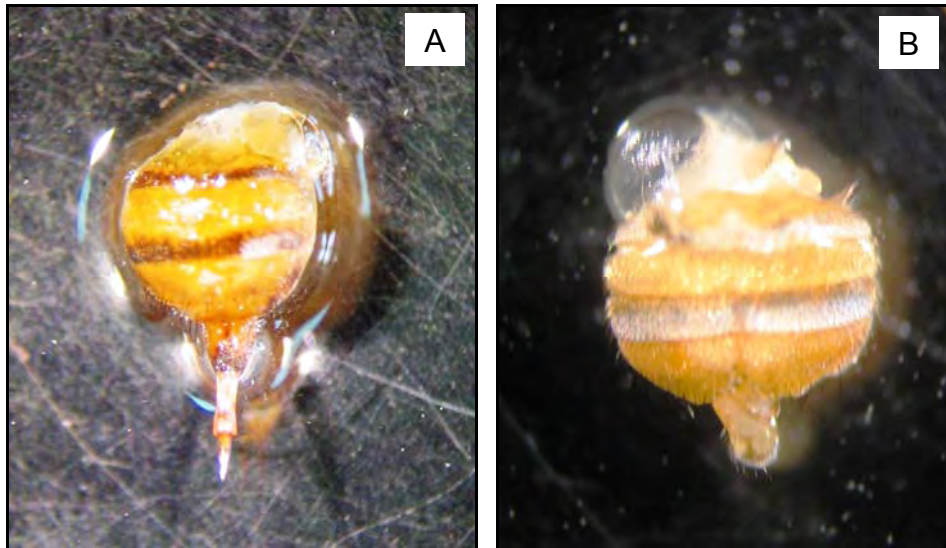
Για την εκτίμηση των σπερματοζωαρίων στους όρχεις των αρσενικών το δέρμα της κοιλίας απομακρυνόταν και οι όρχεις αποχωριζόνταν από το υπόλοιπο αναπαραγωγικό σύστημα του αρσενικού (Εικόνα 2.14 B). Ο κάθε

όρχις τοποθετούταν σε νέα αντικειμενοφόρο πλάκα με 50 μl διαλύματος διπλά απεσταγμένου νερού και Tween (0,1%), όπου με τη μύτη μιας εντομολογικής καρφίτσας διαρρηγνυόταν και το περιεχόμενο ξεπλενόταν στο εσωτερικό ενός errendorf με 350 μl διπλά απεσταγμένου νερού. Το περιεχόμενο των δύο errendorf ανακινούταν για 4 – 5 λεπτά (Vortex) και 10 μl από το καθένα μεταφέρονταν σε νέα αντικειμενοφόρο πλάκα. Το παρασκεύασμα παρέμενε σε θερμοκρασία δωματίου προκειμένου να στεγνώσει και η καταμέτρηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων πραγματοποιούνταν σε μικροσκόπιο αντιθέτου φάσεως σε μεγέθυνση x100 ή x200.

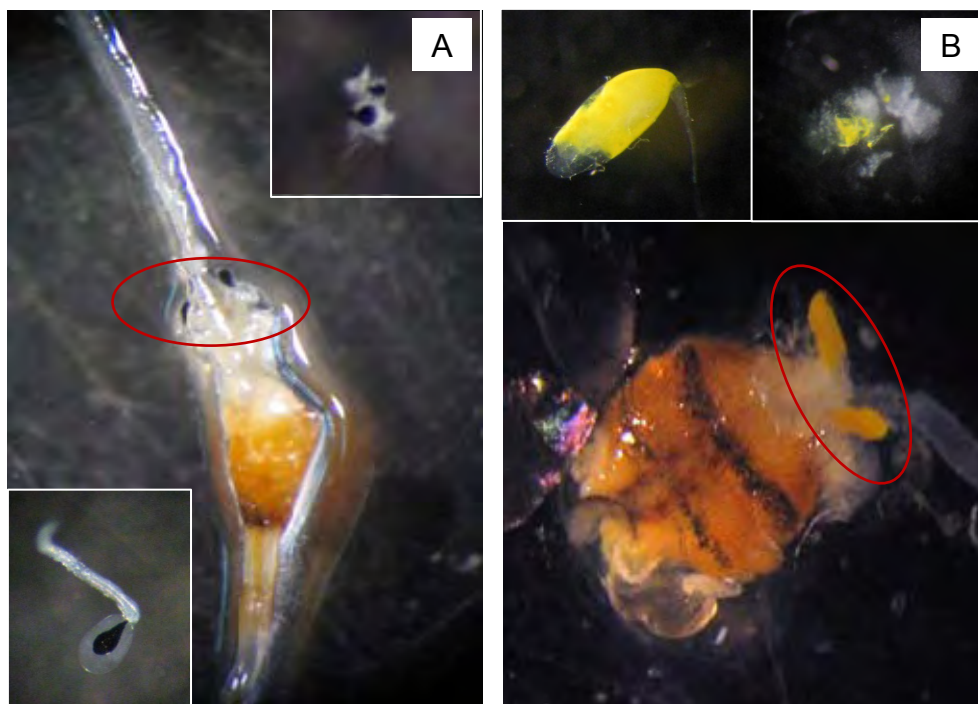
Μετά την καταμέτρηση των σπερματοζωαρίων στο παρασκεύασμα των 10 μl των σπερμοθηκών και των όρχεων, ο συνολικός αριθμός των σπερματοζωαρίων υπολογιζόταν με αναγωγή στον αρχικό όγκο (200 μl για την κάθε σπερμοθήκη και 400 μl για κάθε όρχι). Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε για όλες τις μεταχειρίσεις του πειράματος (λεπτομέρειες της πειραματικής διαδικασίας δίνονται στα υλικά και μεθόδους του Κεφαλαίου 7).



Εικόνα 2.12. Αναισθητοποιημένο θηλυκό (A) και αρσενικό (B) της μύγας της Μεσογείου, σε μεγέθυνση 10x στο στερεοσκόπιο.



Εικόνα 2.13. Κοιλία θηλυκού (A) και αρσενικού (B) της μύγας της Μεσογείου, σε μεγέθυνση 20x στο στερεοσκόπιο, μετά τον αποχωρισμό τους από το υπόλοιπο σώμα του ενηλικού για τη μέτρηση των σπερματοζωαρίων.



Εικόνα 2.14. (A) Ωοθήης θηλυκού μετά τον αποχωρισμό του από την κοιλία. Διακρίνονται οι σπερμοθήκες μαύρου χρώματος. Κάτω αριστερά η σπερμοθήκη σε μεγέθυνση και πάνω δεξιά η σπερμοθήκη διαρρηγμένη με το λευκό σπέρμα στο εσωτερικό της. (B) Κοιλία αρσενικού με μερικώς αποχωρισμένη την επιδερμίδα. Διακρίνονται οι πορτοκαλοκίτρινοι όρχεις. Πάνω αριστερά ο όρχις σε μεγέθυνση και πάνω δεξιά ο διαρρηγμένος όρχις με το σπέρμα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ, ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΤΟΥ ΦΥΛΟΥ ΣΤΗΝ ΚΑΘΗΜΕΡΙΝΗ ΔΡΑΣΤΗΡΙΟΤΗΤΑ ΤΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ

3.1 Περίληψη

Η συμπεριφορά των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου και ιδιαίτερα η ημερήσια δραστηριότητα μπορεί να επηρεαστεί από την ηλικία, από το διατροφικό περιβάλλον και ακόμα να διαφέρει μεταξύ αρσενικών και θηλυκών. Η επίδραση της ηλικίας στην εκδήλωση εγγενών συμπεριφορών έχει μελετηθεί σε αρσενικά της μύγας της Μεσογείου σε ένα είδος τροφής. Όμως, δεν υπάρχουν στοιχεία σχετικά με την εκδήλωση της καθημερινής συμπεριφοράς των θηλυκών καθώς και σχετικά με την επίδραση χαμηλής διατροφικής αξίας τροφής στην καθημερινή συμπεριφορά των δύο φύλων. Σκοπός του παρόντος κεφαλαίου ήταν να μελετηθεί η καθημερινή δραστηριότητα των ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών) της μύγας της Μεσογείου, σε σχέση με την ηλικία, σε ένα φτωχό και σε ένα πλούσιο διατροφικό περιβάλλον. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν σε σταθερές συνθήκες εργαστηρίου με έντομα F_1 γενεάς. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνταν καθημερινά από τις 10:00 έως τις 12:00 και καταγράφονταν επτά βασικές συμπεριφορές [διατροφική δραστηριότητα, πρόσληψη νερού, βάδιση, ηρεμία, εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος για τα αρσενικά, προσπάθεια ωτοκίας για τα θηλυκά και εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς (surine)]. Επιπλέον καταγράφηκε η επιβίωση όλων των ενηλίκων. Οι συμπεριφορές ομαδοποιήθηκαν σε δύο κατηγορίες: δραστηριότητα και αδράνεια. Στην κατηγορία της δραστηριότητας συμπεριλήφθηκαν η βάδιση, η πρόσληψη τροφής και νερού, η προσπάθεια ωτοκίας των θηλυκών και το σεξουαλικό κάλεσμα αρσενικών. Στην κατηγορία της αδράνειας συμπεριλήφθηκαν η ανάπαυση και η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς. Η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι αρσενικά και

θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έζησαν περισσότερο από αυτά που στερούνταν πρωτεΐνης. Τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν μεγαλύτερη δραστηριότητα, σε κάθε ηλικιακή κλάση, σε σχέση με αυτά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Ωστόσο, τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν μικρότερη δραστηριότητα από τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Τα αρσενικά ήταν συνολικά περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά ανεξάρτητα από το είδος της τροφής και την ηλικία. Η δραστηριότητα των ενηλίκων μειωνόταν σε σχέση με την ηλικία, ανεξάρτητα από το είδος της τροφής. Η συχνότητα βάδισης των αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ήταν σημαντικά χαμηλότερη σε σχέση με τα αρσενικά που στερούνταν πρωτεΐνης, παρά το γεγονός ότι συνολικά εκδήλωναν εντονότερη δραστηριότητα. Τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη εκδήλωναν υψηλότερη συχνότητα βάδισης, επιβεβαιώνοντας τη συνολικά εντονότερη δραστηριότητά τους σε σχέση με τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Η σημασία των παραπάνω αποτελεσμάτων σχολιάζεται για την κατανόηση της γήρανσης στο συγκεκριμένο οργανισμό μοντέλο και την προοπτική δημιουργίας γενικών αρχών που διέπουν τη γήρανση.

3.2 Εισαγωγή

Η συμπεριφορά των εντόμων και ιδιαίτερα η κίνηση (πτήση, βάδιση) και η αναπαραγωγή έχει αποτελέσει αντικείμενο εκτενών μελετών τόσο από φυσιολογικής – λειτουργικής όσο και από ηθολογικής πλευράς (Klowden, 2007; Matthews & Matthews, 2010). Ωστόσο, μόλις τα τελευταία έτη οι συμπεριφορικές μελέτες επικεντρώνονται στην εκδήλωση ολόκληρου του εύρους των τυπικών, καθημερινών συμπεριφορών και στη μεταβολή τους σε σχέση με την ηλικία, χρησιμοποιώντας για το σκοπό αυτό οργανισμούς μοντέλα όπως δροσόφιλες (*Drosophila* spp.) (Simon et al., 2006) και μύγες των φρούτων (*Anastrepha ludens*, *C. capitata*) (Carey et al., 2006; Papadopoulos et al., 2009; Zou et al., 2011). Τα συμπεράσματα των σχετικών μελετών βρίσκουν γενικές εφαρμογές και σε άλλες επιστήμες, πέραν της εντομολογίας, όπως η ιατρική και η γηριατρική (Carey, 1997; 2001; Tatar, 2009).

Διαφορές στη συμπεριφορά σε σχέση με την ηλικία έχουν παρατηρηθεί σε έντομα (Carey et al., 2006; Simon et al., 2006), σε τρωκτικά και στον άνθρωπο (Sallis, 2000; Shock et al., 1984) και οφείλονται είτε σε φυσιολογική – λειτουργική γήρανση (functional senescence) είτε σε προγραμματισμένη μεταβολή των δραστηριοτήτων σε σχέση με την ηλικία. Εγγενείς συμπεριφορές, όπως η αποφυγή άρπαγα ή δυσάρεστου ερεθίσματος, φαίνεται ότι δε μεταβάλλονται σημαντικά σε μεγαλύτερες ηλικίες σε αντίθεση με επίκτητες συμπεριφορές, όπως η εύρεση τροφής, οι οποίες φθίνουν με την ηλικία. Ωστόσο, ακόμα και η γενίκευση της μεταβολής των εγγενών και επίκτητων συμπεριφορών σε σχέση με την ηλικία δεν είναι απόλυτη αφού εξαρτάται από πλήθος παραγόντων (γενετικών, περιβαλλοντικών), από τις ενεργειακές απαιτήσεις για την εκδήλωση κάθε συμπεριφοράς καθώς και από τις συμπεριφορικές ιδιαιτερότητες αρσενικών και θηλυκών. Για παράδειγμα, η μείωση της συχνότητας εύρεσης τροφής μπορεί να οφείλεται είτε στη γενική μείωση της κίνησης του οργανισμού λόγω λειτουργικής γήρανσης είτε σε μεταβολή στην αντίληψη και απόκριση του ατόμου στο ερέθισμα της τροφής (Simon et al., 2006). Άλλωστε, παρ' όλο που η συμπεριφορά εύρεσης τροφής προϋποθέτει την κίνηση δεν πρόκειται για γενετικά καθορισμένο πρότυπο ενεργειών όπως συμβαίνει με την αποφυγή κινδύνου, που επίσης συνδέεται άμεσα με την κίνηση και η οποία φαίνεται ότι διατηρείται σε προχωρημένες ηλικίες (Matthews & Matthews, 2010).

Προηγούμενες μελέτες για τη μεταβολή της συμπεριφοράς Διπτέρων σε σχέση με την ηλικία συμφωνούν ότι σε γενικές γραμμές τα νεαρά είναι περισσότερο δραστήρια από ότι τα προχωρημένης ηλικίας άτομα. Παρ' όλα αυτά, παρατηρούνται διαφοροποιήσεις μεταξύ των διαφόρων ειδών και ηλικιών ανάλογα με το είδος της συμπεριφοράς (Simon et al., 2006). Για παράδειγμα, η συχνότητα βάδισης, πτήσης και διατροφής ενηλίκων *D. melanogaster* ήταν εντονότερη τον πρώτο μήνα ζωής σε σχέση με μεγαλύτερες ηλικίες, στις οποίες μειώθηκε σημαντικά. Ωστόσο, τόσο η ηρεμία όσο και η συμπεριφορά περιποίησης (grooming, preening) διατηρήθηκαν σε παραπλήσια επίπεδα σε όλη τη διάρκεια ζωής (Carey et al., 2006). Η συχνότητα βάδισης αρσενικών της μύγας της Μεσογείου ήταν επίσης εντονότερη σε νεαρή ηλικία. Όμως, ολόκληρο το φάσμα των συμπεριφορών εμφάνισε μεγάλη συσχέτιση με την ηλικία ενώ δύο από τις βασικότερες

συμπεριφορές (σεξουαλικό κάλεσμα και ύπτια συμπεριφορά) αποτέλεσαν δείκτες της ηλικίας θανάτου (Carey et al., 2006; Papadopoulos et al., 2002a; Papadopoulos et al., 2004). Παραπλήσια ήταν και η συμπεριφορά θηλυκών του *A. ludens* τα οποία ήταν περισσότερο ενεργητικά εκδηλώνοντας κινήσεις με μεγαλύτερη συχνότητα σε νεαρή και μέση απ' ό τι σε προχωρημένη ηλικία (Zou et al., 2011).

Η τροφή είναι ένας σημαντικός παράγοντας που επηρεάζει πλήθος βιολογικών παραμέτρων και την αρμοστικότητα των εντόμων (Carey et al., 2002b; Charman & Partridge, 1996). Η καθημερινή δραστηριότητα, ιδιαίτερα όταν μελετάται υπό το γενικό πρίσμα της κίνησης και ανάπαυσης, δηλαδή ενεργοβόρων και λιγότερο ενεργοβόρων συμπεριφορών, είναι σχεδόν βέβαιο ότι εξαρτάται άμεσα από τη διαθεσιμότητα πλούσιας σε ενέργεια και θρεπτικά στοιχεία τροφής και έμμεσα από τη φυσιολογική κατάσταση του εντόμου. Παρά την περιορισμένη βιβλιογραφία σχετικά με την επίδραση της τροφής στο σύνολο των δραστηριοτήτων καθ' όλη τη διάρκεια ζωής, πρόσφατη μελέτη σε ενήλικα του *A. ludens* έδειξε ότι, μέχρι την ηλικία των 60 ημερών περίπου, τα θηλυκά που στερούνταν πρωτεΐνης εκδήλωναν εντονότερη συμπεριφορά κίνησης διανύοντας μεγαλύτερη συνολική απόσταση σε σχέση με τα θηλυκά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη (Zou et al., 2011). Η συμπεριφορά πτήσης επηρεάστηκε επίσης σημαντικά από την ποιότητα της τροφής σε ενήλικα του *Bactrocera tryoni*, ανεξάρτητα από το φύλο και την ηλικία. Τα άτομα που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη εκδήλωναν υψηλότερη συχνότητα και διάρκεια πτήσης (Prenter et al., 2013). Ωστόσο, μετά το πρώτο δεκαήμερο της ζωής τους, τα ενήλικα που τρέφονταν με πρωτεΐνη μείωσαν τη συχνότητα της κίνησής τους ενώ σε αυτά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη παρατηρήθηκε αύξηση της κίνησης μέχρι την ηλικία των 30 ημερών (Prenter et al., 2013).

Στο κεφάλαιο αυτό μελετήθηκε η επίδραση της ηλικίας και της τροφής (ζάχαρη, ζάχαρη και πρωτεΐνη) στη δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών της μύγας της Μεσογείου. Για το λόγο αυτό, οι συμπεριφορές διαχωρίστηκαν σε ενεργείς ή συμπεριφορές δραστηριότητας και σε μη ενεργείς ή συμπεριφορές αδράνειας. Ελέγχθηκε η υπόθεση ότι α) τα ενήλικα που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδηλώνουν παραπλήσια συχνότητα δραστηριότητας με εκείνα που τρέφονται μόνο με ζάχαρη, β) αρσενικά και θηλυκά εκδηλώνουν ενεργείς συμπεριφορές με παραπλήσια συχνότητα και γ)

η εκδήλωση δραστηριότητας μειώνεται σε σχέση με την ηλικία ανεξάρτητα από το φύλο και την τροφή.

3.3 Υλικά και μέθοδοι

3.3.1 Γενικά

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ. από το φθινόπωρο του 2008 έως το καλοκαίρι του 2009. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων επικρατούσαν σταθερές συνθήκες (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτοπερίοδος) που περιγράφονται αναλυτικά στο Υποκεφάλαιο 2.1. Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν έντομα που προέρχονταν από την περιοχή των Λεχωνίων Μαγνησίας και τα οποία εκτρέφονταν σε τεχνητή τροφή στο εργαστήριο για μια γενεά (F_1). Λεπτομέρειες σχετικά με τη μέθοδο εκτροφής των εντόμων δίνεται στο Υποκεφάλαιο 2.2.

3.3.2 Διατήρηση εντόμων και διεξαγωγή παρατηρήσεων

Οι νύμφες της F_1 γενεάς τοποθετούνταν ανά 50 σε κλουβιά Plexiglas 20 x 20 x 20 cm (Εικόνα 2.3) όπου πραγματοποιούταν η έξοδος των ενηλίκων. Την ημέρα της εξόδου από το νυμφικό περίβλημα τα ενήλικα μεταφέρονταν ανά ένα σε ατομικά κλουβιά χωρίς υπόστρωμα ωτοκίας με τροφή και νερό (Εικόνα 2.4 Α). Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 200 αρσενικά [100 που τρέφονταν με ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό σε αναλογία 4:1:5 (ζάχαρη και πρωτεΐνη) και 100 που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και νερό (ζάχαρη) σε αναλογία 1:3] και 200 θηλυκά [100 που τρέφονταν με ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό σε αναλογία 4:1:5 (ζάχαρη και πρωτεΐνη) και 100 που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και νερό (ζάχαρη) σε αναλογία 1:3]. Η τροφή και το νερό ανανεώνονταν στα ατομικά κλουβιά 2 με 3 φορές την εβδομάδα.

Η επίδραση της ηλικίας, της τροφής και του φύλου στη δραστηριότητα των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου προσδιορίστηκε καταγράφοντας τη συμπεριφορά που εκδήλωνε κάθε άτομο από τις 10:00 έως τις 12:00, καθημερινά, από την ημέρα εξόδου από το νυμφικό περίβλημα έως το θάνατο. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνταν κάθε 10 λεπτά με αποτέλεσμα

τη συγκέντρωση δεκατριών καθημερινών καταγραφών. Χαρακτηρίστηκαν και καταγράφηκαν οι παρακάτω 7 διαφορετικές συμπεριφορές: βάδιση, ανάπαυση, διατροφή, πρόσληψη νερού, εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος για τα αρσενικά, προσπάθεια ωτοκίας για τα θηλυκά και εκδήλωση ύππιας συμπεριφοράς (βλέπε Υποκεφάλαιο 2.4). Συμπεριφορές όπως πτήση, καθαρισμός και περιποίηση (grooming), κίνηση πτερύγων, τίναγμα κεφαλής κ.λπ. ορίστηκαν γενικά ως εκδήλωση «άλλης συμπεριφοράς». Καταγράφηκε επιπλέον η διάρκεια ζωής όλων των ατόμων. Για τις ανάγκες του παρόντος κεφαλαίου οι παραπάνω συμπεριφορές ομαδοποιήθηκαν προκειμένου να καθοριστεί η συχνότητα δραστηριότητας και αδράνειας για το κάθε άτομο. Έτσι, η βάδιση, η διατροφή, η πρόσληψη νερού, το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών, η προσπάθεια ωτοκίας των θηλυκών και η «άλλη συμπεριφορά» ορίστηκαν ως ενεργείς συμπεριφορές – εκδήλωση δραστηριότητας ενώ η ανάπαυση και η εκδήλωση ύππιας συμπεριφοράς ορίστηκαν ως μη ενεργείς συμπεριφορές – αδράνεια. Επίσης, η ανάπαυση καθορίστηκε ως η κυριότερη μη ενεργής συμπεριφορά ενώ η βάδιση ως η κυριότερη ενεργής συμπεριφορά και μελετήθηκαν αναλυτικότερα στα ενήλικα των δύο φύλων. Η εκδήλωση ύππιας συμπεριφοράς και το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών που αποτελούν εξίσου σημαντικές συμπεριφορές αδράνειας και δραστηριότητας αντίστοιχα, μελετώνται ξεχωριστά στα Κεφάλαια 4 και 5.

3.3.3 Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πακέτο SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL., USA). Η επίδραση της τροφής και του φύλου στη διάρκεια ζωής προσδιορίστηκε με το μοντέλο ανάλογων κινδύνων Cox (Cox proportional hazards model) (Collett, 2003). Η επίδραση της τροφής, του φύλου και της ηλικίας στη μέση ανά δεκαήμερο δραστηριότητα, ανάπαυση και βάδιση, του κάθε ενήλικου της μύγας της Μεσογείου προσδιορίστηκε με την ανάλυση παραλλακτικότητας ομοιόμορφης διακύμανσης (Univariate Analysis of Variance – ANCOVA) όπου η τροφή και το φύλο ήταν οι σταθεροί παράγοντες (fixed factors) και τα διαστήματα ηλικιών (ανά δεκαήμερο έως την ηλικία των 120 ημερών – 12 επίπεδα) ήταν η συμμεταβλητή (covariate). Οι συγκρίσεις της μέσης δραστηριότητας για κάθε φύλο, που τρεφόταν στα δύο

είδη τροφής, σε κάθε δεκαήμερο ζωής (έως την ηλικία των 120 ημερών για τα αρσενικά και έως την ηλικία των 170 ημερών για τα θηλυκά) πραγματοποιήθηκαν με το t κριτήριο ανεξάρτητων δειγμάτων (independent samples t -test). Οι συγκρίσεις της μέσης εκδήλωσης ανάπαυσης και βάδισης της συνολικής διάρκειας ζωής κάθε ατόμου, για κάθε φύλο πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση παραλλακτικότητας (One-Way ANOVA).

3.4 Αποτελέσματα

3.4.1 Επίδραση της τροφής και του φύλου στην επιβίωση

Τα ενήλικα που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έζησαν σημαντικά περισσότερο από ότι αυτά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, ανεξάρτητα από το φύλο (Wald test $t = 38,9$, $df = 1$, $P < 0,001$). Ωστόσο, δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην επιβίωση μεταξύ αρσενικών και θηλυκών, τόσο όταν εξετάστηκαν ανεξάρτητα από την τροφή (Wald test $t = 1,497$, $df = 1$, $P > 0,05$) όσο και όταν εξετάστηκαν σε κάθε τροφή χωριστά (Wald test $t_{\text{πρωτεΐνη}} = 0,089$, Wald test $t_{\text{ζάχαρη}} = 3,136$, $df = 1$, $P > 0,05$). Τόσο τα αρσενικά όσο και τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έζησαν σημαντικά περισσότερο από εκείνα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (Wald test $t_{\text{αρσενικών}} = 36,126$, Wald test $t_{\text{θηλυκών}} = 10,24$, $df = 1$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 3.1) (Πίνακας 3.1).

3.4.2 Επίδραση της ηλικίας, της τροφής και του φύλου στην ημερήσια δραστηριότητα

Η ηλικία είχε σημαντική επίδραση στη συχνότητα εκδήλωσης δραστηριότητας των ενηλίκων ανεξάρτητα από την τροφή και το φύλο ($F = 90,849$, $df = 1$, 2969 , $P < 0,001$) (Διάγραμμα 3.2). Επίσης, η τροφή επηρέασε σημαντικά τη συχνότητα δραστηριότητας των ενηλίκων ($F = 170,085$, $df = 1$, 2969 , $P < 0,001$). Τα αρσενικά ήταν πιο δραστήρια από τα θηλυκά ανεξάρτητα από την ηλικία και την τροφή ($F = 1353,807$, $df = 1$, 2969 , $P < 0,001$). Η αλληλεπίδραση του φύλου και της τροφής ήταν επίσης σημαντική καταδεικνύοντας ότι η τροφή επηρέασε με διαφορετικό τρόπο τη δραστηριότητα των αρσενικών και των θηλυκών, ανεξάρτητα από την ηλικία

($F = 281,909$, $df = 1, 2969$, $P < 0,001$).

Η εκδήλωση της δραστηριότητας σε σχέση με την ηλικία ακολούθησε παραπλήσια πορεία στα αρσενικά που τρέφονταν με τα δύο διαφορετικά είδη τροφής (Διάγραμμα 3.2 Α). Συγκεκριμένα, η συχνότητα συμπεριφορών δραστηριότητας αυξήθηκε τις πρώτες 25 ημέρες της ζωής τους, όπου σημειώθηκε το μέγιστο της δραστηριότητας (9 – 10 και 6 σε σύνολο 13 ημερήσιων παρατηρήσεων για τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και μόνο με ζάχαρη, αντίστοιχα). Ανεξάρτητα από το είδος της τροφής, η δραστηριότητα των αρσενικών παρέμεινε σε σχετικά σταθερά επίπεδα έως την ηλικία των 50 ημερών, μειώθηκε έως την ηλικία των 85 ημερών και στη συνέχεια παρέμεινε σταθερή έως την ηλικία των 110 ημερών. Τέλος, η δραστηριότητα των αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη αυξήθηκε έως την ηλικία των 165 ημερών, στην οποία όμως ήταν ζωντανά μόνο 4 άτομα, και έπειτα μειώθηκε έως το θάνατο όλων των ατόμων. Η δραστηριότητα των αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη μειώθηκε μετά την 110^η ημέρα, στην οποία επιβίωναν μόνο 5 άτομα, και συνέχισε να μειώνεται έως το θάνατο όλων των ατόμων.

Τα θηλυκά που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής εμφάνισαν παραπλήσια συχνότητα συμπεριφορών δραστηριότητας σε σχέση με την ηλικία. Το μέγιστο της δραστηριότητας των θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδηλώθηκε την 5^η ημέρα της ζωής τους με 3,6 στις 13 παρατηρήσεις (Διάγραμμα 3.2 Β). Η συχνότητα της δραστηριότητας μειωνόταν έως την ηλικία των 50 ημερών και έπειτα διατηρήθηκε σταθερή και σε χαμηλά επίπεδα (λιγότερες από 2 στις 13 ημερήσιες καταγεγραμμένες συμπεριφορές ήταν ενεργείς) έως την ηλικία των 150 ημερών, στην οποία ωστόσο επιβίωναν 9 άτομα. Τέλος, η δραστηριότητα μειώθηκε και πάλι έως το θάνατο όλων των ατόμων. Το μέγιστο της δραστηριότητας των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη σημειώθηκε από την 20^η έως την 25^η ημέρα και ξανά την 34^η ημέρα της ζωής τους, με περίπου 3,3 στις 13 παρατηρήσεις να αφορούν συμπεριφορές δραστηριότητας. Στη συνέχεια η δραστηριότητα σημείωσε πτωτική τάση έως την ηλικία των 80 ημερών και παρέμεινε σταθερή σε χαμηλά επίπεδα (περίπου 2 στις 13 ενεργείς συμπεριφορές, ανά ημέρα) έως την ηλικία των 120 ημερών στην οποία επιβίωναν 10 άτομα. Τέλος, η δραστηριότητα μειώθηκε και πάλι έως το θάνατο όλων των θηλυκών.

Η σύγκριση του μέσου όρου της ημερήσιας δραστηριότητας, εντός δεκαημέρου, αρσενικών που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής έδειξε ότι τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ήταν πιο δραστήρια από τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη σε όλα τα διαστήματα ηλικιών μέχρι την ηλικία των 110 ημερών (t -test, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 3.3 A, λεπτομέρειες της στατιστικής ανάλυσης δίνονται στο Παράρτημα). Τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ήταν περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη από την ηλικία των 20 έως την ηλικία των 70 ημερών (t -test, $P < 0,05$) (τρίτο έως και έβδομο δεκαήμερο της ζωής τους) (Διάγραμμα 3.3 B, λεπτομέρειες στο Παράρτημα).

Στο Διάγραμμα 3.4 δίνεται ο λόγος της ημερήσιας δραστηριότητας αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη προς αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη προς θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ήταν δύο φορές πιο ενεργά από τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, στο σύνολο της διάρκειας ζωής τους, ενώ σε προχωρημένες ηλικίες (μετά τις 70 ημέρες) η δραστηριότητά τους ήταν έως έξι φορές μεγαλύτερη. Αντίθετα, η συχνότητα δραστηριότητας των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ήταν ελαφρώς μεγαλύτερη από τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους.

3.4.3 Επίδραση της ηλικίας, της τροφής και του φύλου στη συχνότητα εκδήλωσης ανάπαυσης

Η συχνότητα ανάπαυσης (resting) αρσενικών και θηλυκών που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής δε μεταβλήθηκε σημαντικά σε σχέση με την ηλικία ($F = 0,029$, $df = 1$, 2969, $P = 0,864$) (Διάγραμμα 3.5). Ωστόσο, η τροφή είχε σημαντική επίδραση στη συχνότητα εκδήλωσης ανάπαυσης των ενηλίκων, ανεξάρτητα από το φύλο ($F = 103,031$, $df = 1$, 2969, $P < 0,001$). Τα θηλυκά παρέμεναν σε ανάπαυση σημαντικά συχνότερα από τα αρσενικά ($F = 983,726$, $df = 1$, 2969, $P < 0,001$). Ακόμα, η αλληλεπίδραση μεταξύ τροφής και φύλου ήταν σημαντική καταδεικνύοντας ότι η τροφή επηρέασε με διαφορετικό τρόπο την ανάπαυση αρσενικών και θηλυκών ($F = 196,440$, $df =$

1, 2969, $P < 0,001$). Τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη παρέμεναν σε ανάπαυση συχνότερα σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ($F = 55,097$, $df = 1, 198$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 3.5 A). Η εκδήλωση ανάπαυσης δε διέφερε σημαντικά ανάμεσα στα θηλυκά που τρέφονταν στα δύο διαφορετικά είδη τροφής ($F = 2,649$, $df = 1, 198$, $P = 0,105$) (Διάγραμμα 3.5 B).

Αναλυτικά, η παραμονή σε ανάπαυση ακολούθησε παραπλήσια πορεία στα αρσενικά που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής. Τις πρώτες ημέρες μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα τα αρσενικά παρέμεναν αδρανή σχεδόν για τη συνολική διάρκεια των παρατηρήσεων. Η συχνότητα ανάπαυσης μειώθηκε προοδευτικά έως την 20^η – 25^η ημέρα και έπειτα διατηρήθηκε σε σταθερά επίπεδα (6 – 8 στις 13 παρατηρήσεις στα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και 2 – 4 στις 13 παρατηρήσεις στα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη) έως την ηλικία των 50, περίπου, ημερών. Στη συνέχεια, η συχνότητα ανάπαυσης αυξήθηκε έως την ηλικία των 120 ημερών. Η παραμονή σε ανάπαυση μειώθηκε προοδευτικά, σε όλα τα θηλυκά, το πρώτο δεκαήμερο της ζωής τους, ανεξάρτητα από την τροφή, χωρίς ωστόσο να φτάσει κάτω από τις 8 στις 13 παρατηρήσεις την ημέρα. Στη συνέχεια, η ανάπαυση διατηρήθηκε σχεδόν σταθερή και μεγαλύτερη από 9 στις 13 παρατηρήσεις έως την ηλικία των 120 ημερών, με τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη να είναι ελαφρώς περισσότερο δραστήρια απ' ό,τι τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη.

3.4.4 Επίδραση της ηλικίας, της τροφής και του φύλου στη συχνότητα βάδισης

Η ηλικία είχε σημαντική επίδραση στην εκδήλωση βάδισης των ενηλίκων ανεξάρτητα από την τροφή και το φύλο ($F = 318,019$, $df = 1, 2969$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 3.6). Επίσης, η τροφή επηρέασε σημαντικά την εκδήλωση βάδισης των ενηλίκων ($F = 147,341$, $df = 1, 2969$, $P < 0,001$). Η συχνότητα βάδισης των θηλυκών ήταν μεγαλύτερη από αυτή των αρσενικών ($F = 42,723$, $df = 1, 2969$, $P < 0,001$). Η αλληλεπίδραση του φύλου και της ηλικίας ήταν επίσης σημαντική καταδεικνύοντας ότι η συχνότητα βάδισης ακολούθησε διαφορετική τάση σε σχέση με την ηλικία σε αρσενικά και θηλυκά

($F = 9,453$, $df = 1, 2969$, $P < 0,05$). Η μέση, ανά άτομο, ημερήσια συχνότητα βάδισης στα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη κυμάνθηκε σε χαμηλά επίπεδα (≈ 2 στις 13 παρατηρήσεις) αλλά ήταν σημαντικά υψηλότερη από αυτή των αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ($F = 23,886$, $df = 1, 198$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 3.6 A). Ομοίως, η μέση ημερήσια συχνότητα βάδισης των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ήταν σημαντικά υψηλότερη από αυτή των θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ($F = 14,849$, $df = 1, 198$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 3.6 B).

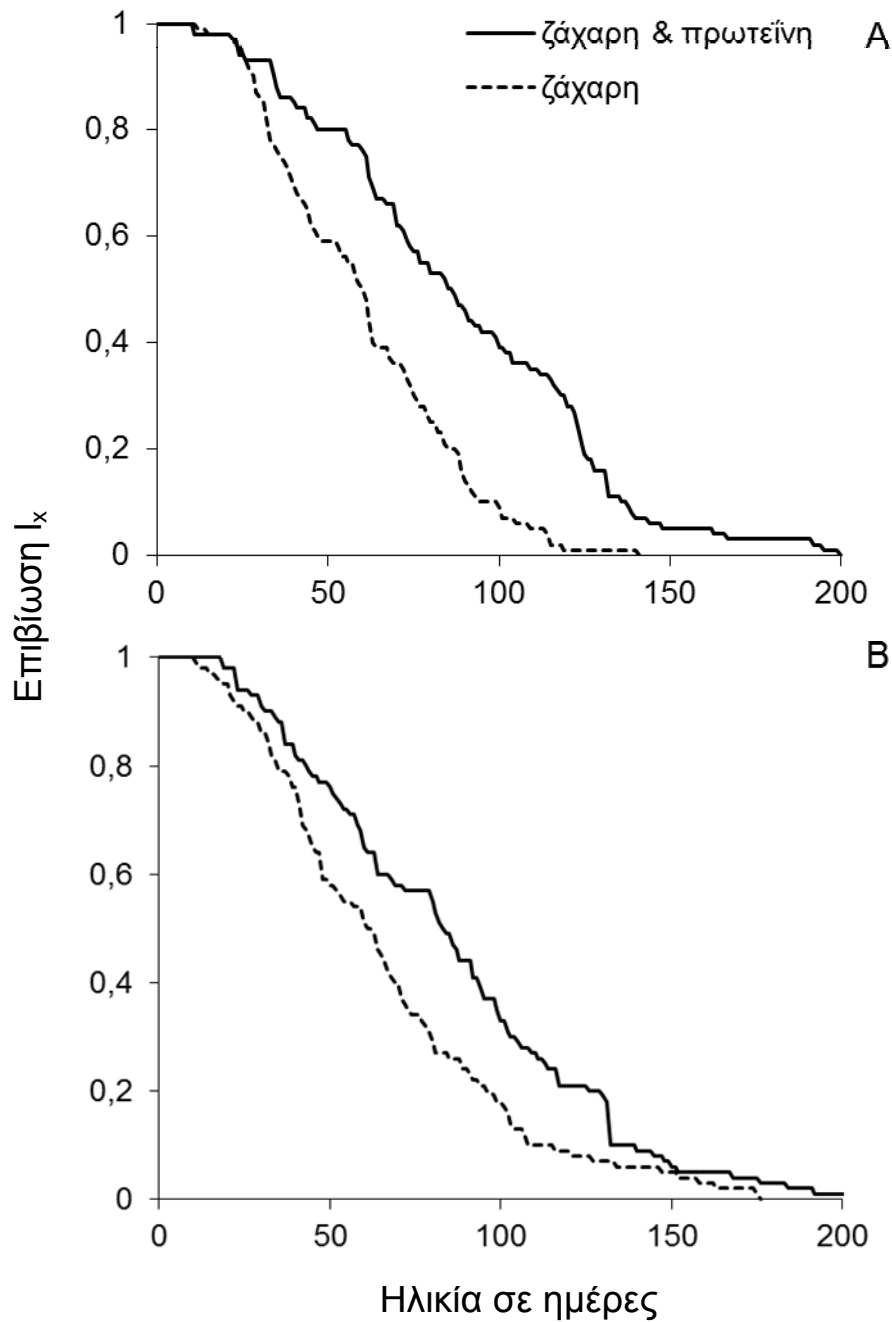
Αναλυτικά, η συχνότητα βάδισης ακολούθησε παρόμοια πορεία στα αρσενικά των διαφορετικών ειδών τροφής μόνο κατά το πρώτο δεκαπενθήμερο της ζωής τους. Τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη μείωσαν προοδευτικά τη βάδιση μετά την ηλικία των 15 ημερών ενώ τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη βάδιζαν εντονότερα έως την ηλικία των 30 ημερών και στη συνέχεια μείωσαν τη βάδισή τους έως την ηλικία των 80 ημερών. Στην προχωρημένη ηλικία των 90 έως 120 ημερών περίπου τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη αύξησαν και πάλι την ημερήσια συχνότητα βάδισης (Διάγραμμα 3.6 A). Η συχνότητα βάδισης των θηλυκών που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής ακολούθησε παραπλήσια πορεία σε σχέση με την ηλικία. Τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη βάδιζαν συχνότερα κατά το πρώτο δεκαπενθήμερο της ζωής τους σε σχέση με τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Ωστόσο, η πορεία της συχνότητας βάδισης ήταν φθίνουσα για την υπόλοιπη διάρκεια ζωής των θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη αύξησαν τη συχνότητα βάδισης έως την ηλικία των 30 ημερών, η οποία στη συνέχεια μειώθηκε προοδευτικά παραμένοντας όμως σε υψηλότερα επίπεδα από αυτή των θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (Διάγραμμα 3.6 B).

3.4.5 Μεταβολή των κυριότερων συμπεριφορών σε σχέση με την ηλικία

Στο Διάγραμμα 3.7 δίνεται το ημερήσιο ποσοστό εκδήλωσης τεσσάρων βασικών συμπεριφορών αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και μόνο με ζάχαρη (B). Στις συμπεριφορές περιλαμβάνονται η εκδήλωση ύπνιας συμπεριφοράς, το σεξουαλικό κάλεσμα και η ανάπαυση ενώ η βάδιση

και οι υπόλοιπες συμπεριφορές παρουσιάζονται αθροιστικά. Η εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς καταγραφόταν σπάνια έως την ηλικία των 40 – 45 ημερών ενώ στη συνέχεια σημείωσε αύξηση στα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Ωστόσο, η ύπτια συμπεριφορά άρχισε να εκδηλώνεται με μεγαλύτερη συχνότητα μετά την ηλικία των 20 ημερών στα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και καταγραφόταν στη συνέχεια με ελαφρώς μεγαλύτερη συχνότητα σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Η εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος ήταν σχεδόν διπλάσια στα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και διήρκεσε έως την προχωρημένη ηλικία των 140 ημερών, ενώ το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη κυμάνθηκε σε πολύ χαμηλότερα επίπεδα και μειώθηκε αισθητά στις πιο προχωρημένες ηλικίες. Εξαιτίας της αναλογικής υπεροχής του σεξουαλικού καλέσματος (έως και 70% της συνολικής ημερήσιας συμπεριφοράς) αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη τόσο η ανάπαυση και η βάδιση όσο και οι υπόλοιπες συμπεριφορές καταλάμβαναν μικρότερο ποσοστό του φάσματος των καθημερινών συμπεριφορών, μετά την ηλικία των 10 – 15 ημερών στην οποία τα αρσενικά ήταν πλέον σεξουαλικά ώριμα. Αντίθετα, τα αρσενικά που στερούνταν πρωτεΐνης παρέμεναν σε ανάπαυση, βάδιζαν και εκδήλωναν άλλες συμπεριφορές σε μεγαλύτερη αναλογία καθημερινά, αφού ακόμα και μετά την αναπαραγωγική ωρίμανση (10 – 15 ημερών) το σεξουαλικό κάλεσμα δεν ξεπερνούσε το 25% του συνολικού φάσματος της συμπεριφοράς. Τα στοιχεία της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος αναλύονται λεπτομερώς στο Κεφάλαιο 4.

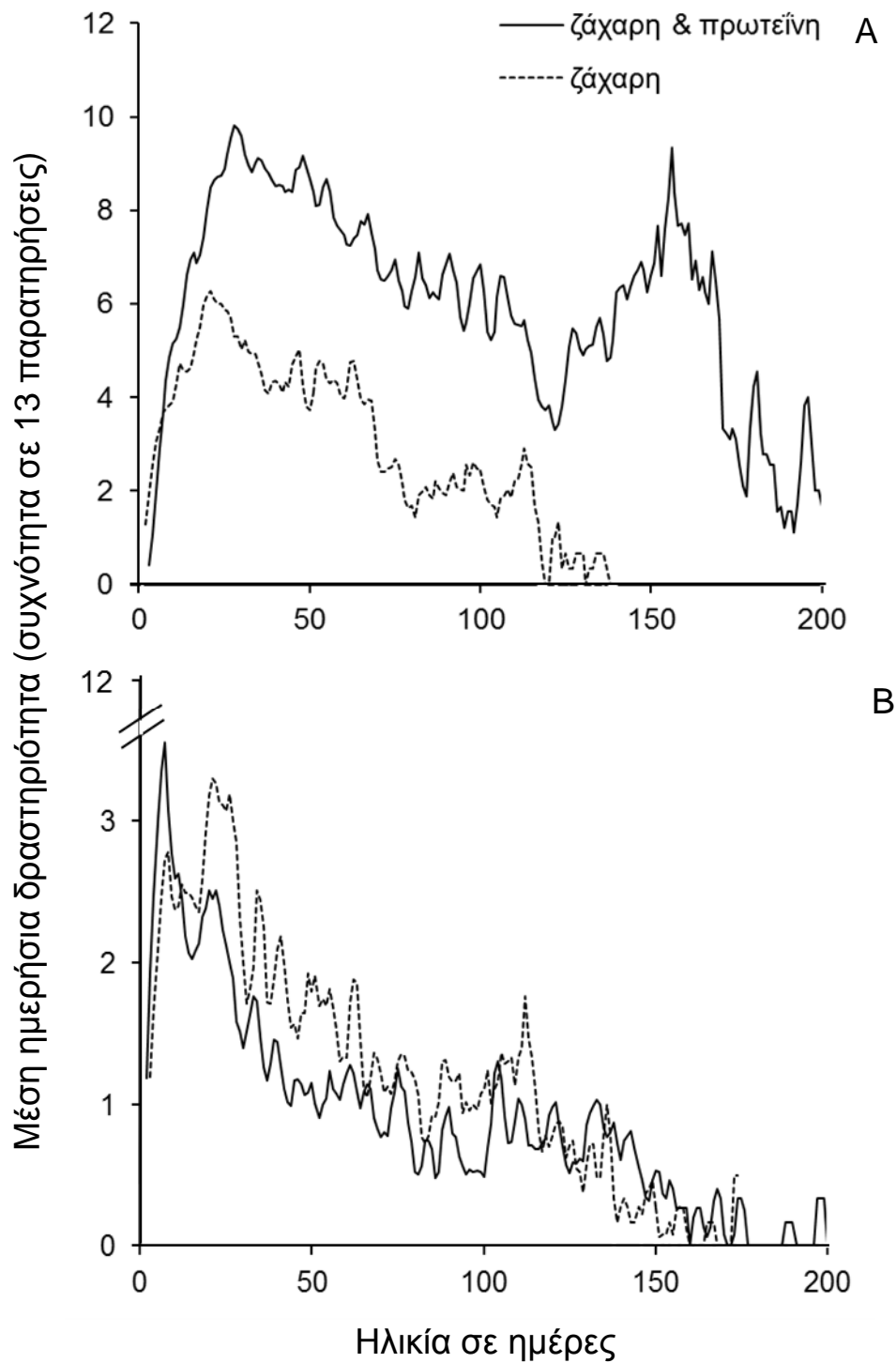
Το μεγαλύτερο ποσοστό της ημερήσιας συμπεριφοράς αποτελούσαν από την ανάπαυση στα θηλυκά που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής (Διάγραμμα 3.8). Σε αντίθεση με τα αρσενικά, η εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς από τα θηλυκά ήταν συχνότερη και στις νεαρές ηλικίες (< 20 ημερών), ανεξάρτητα από την τροφή. Θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη βάδιζαν συχνότερα. Τέλος, η συμπεριφορά προσπάθειας ωτοκίας καταλάμβανε μικρό ποσοστό της ημερήσιας δραστηριότητας (< 2%), ανεξάρτητα από την ηλικία και το είδος της τροφής, είτε εξαιτίας της έλλειψης υποστρώματος ωτοκίας στα κλουβιά, είτε λόγω του ημερήσιου χρονικού διαστήματος (10:00 – 12:00) στο οποίο καταγράφονταν οι συμπεριφορές.



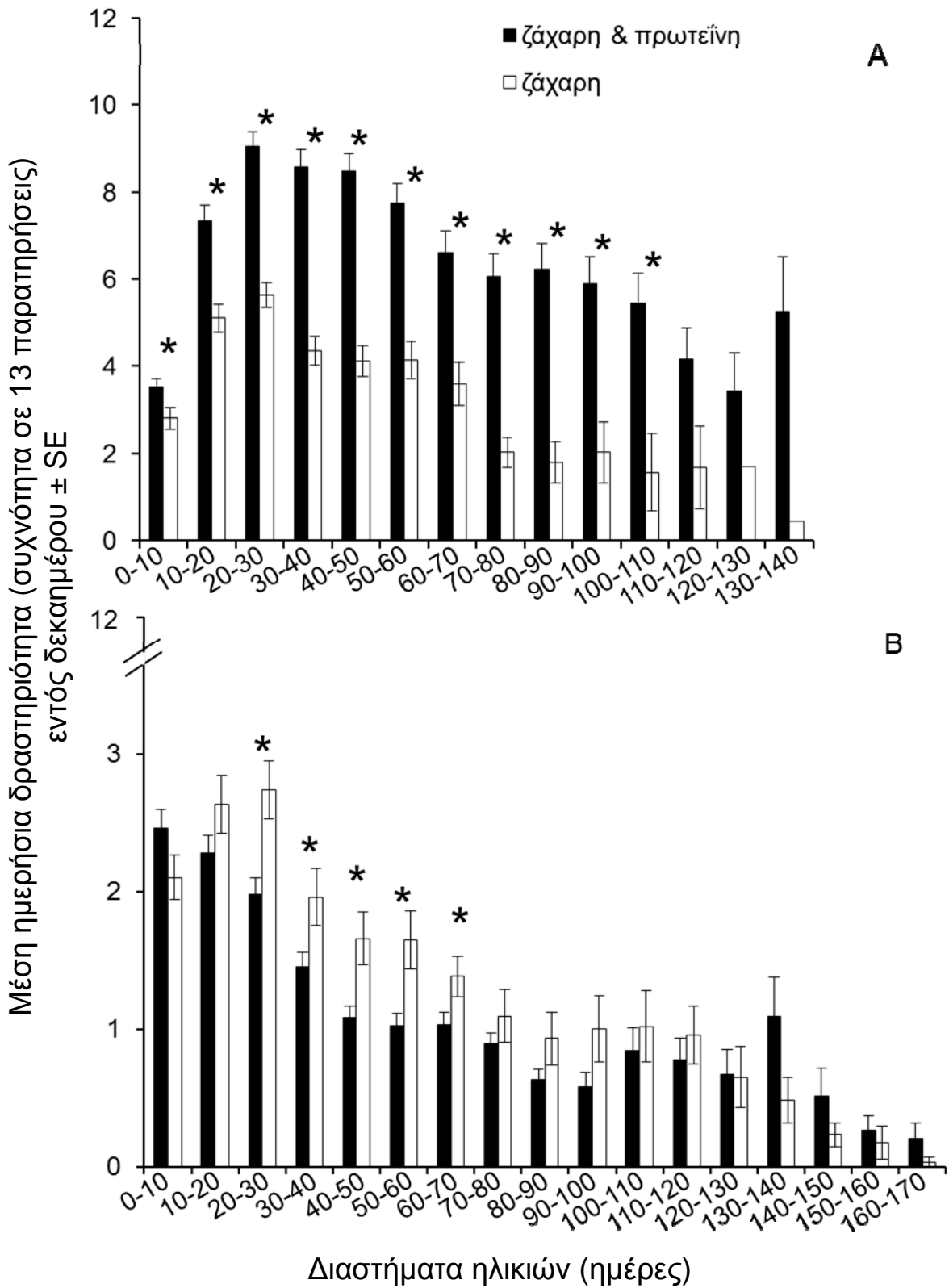
Διάγραμμα 3.1. Επιβίωση αρσενικών (A) και θηλυκών (B) που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (συνεχόμενη γραμμή) και μόνο με ζάχαρη (διακεκομμένη γραμμή) σε σχέση με την ηλικία.

Πίνακας 3.1. Μέση αναμενόμενη διάρκεια ζωής e_x (προσδόκιμο ζωής στην ηλικία x) για αρσενικά και θηλυκά που τρέφονταν είτε με ζάχαρη και πρωτεΐνη είτε μόνο με ζάχαρη. Ο αριθμός των ατόμων, με τα οποία πραγματοποιήθηκαν οι υπολογισμοί, σε κάθε ηλικιακή κλάση δίνεται σε παρένθεση.

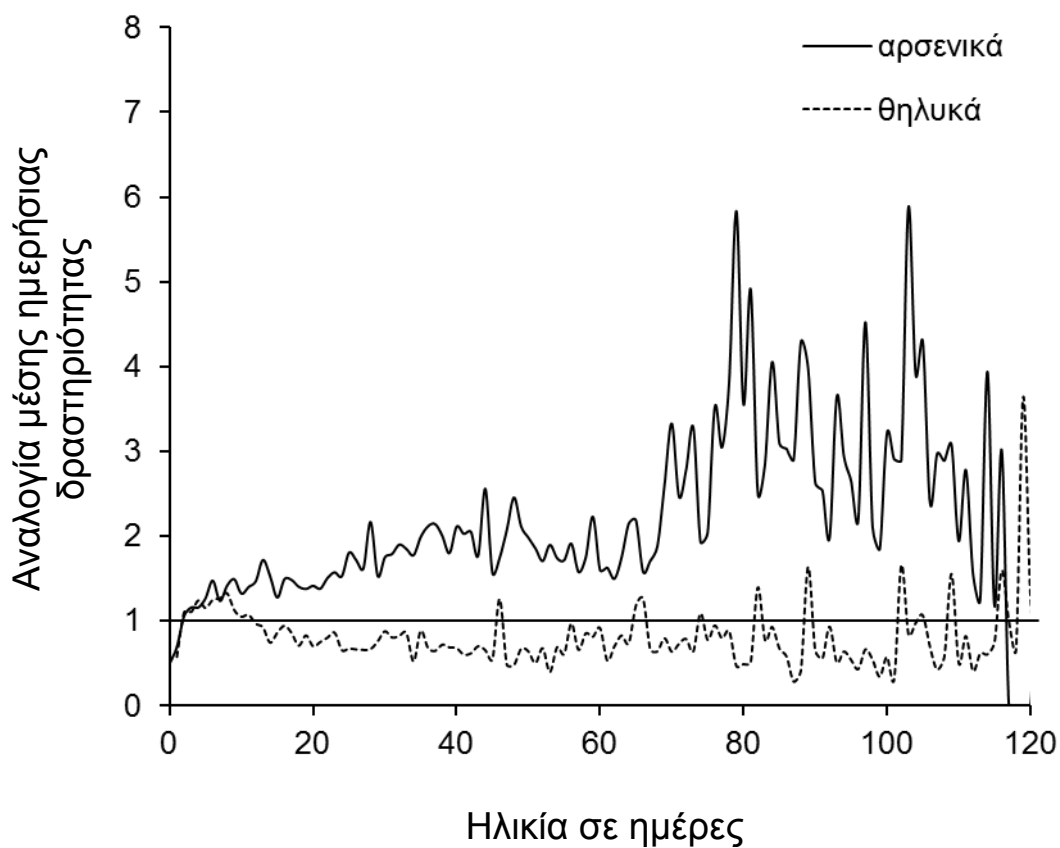
		Μέση αναμενόμενη διάρκεια ζωής σε ημέρες							
		0	15	30	40	50	60	70	100
Ζάχαρη & πρωτεΐνη	Ηλικία σε ημέρες								
	αρσενικά	88,48 (100)	75,07 (98)	63,65 (93)	59,17 (85)	52,63 (80)	45,04 (76)	44,19 (62)	31,65 (39)
Ζάχαρη	θηλυκά	84,76 (100)	69,76 (100)	60,81 (91)	56,83 (82)	50,96 (76)	48,58 (65)	43,91 (58)	33,56 (33)
	αρσενικά	59,16 (100)	45,12 (98)	35,42 (85)	33,22 (68)	27,75 (59)	22,75 (48)	19,47 (36)	15,36 (7)
Ζάχαρη	θηλυκά	65,45 (100)	52,13 (97)	42,85 (86)	39,61 (73)	38,84 (58)	34,16 (50)	34,26 (37)	28,15 (17)



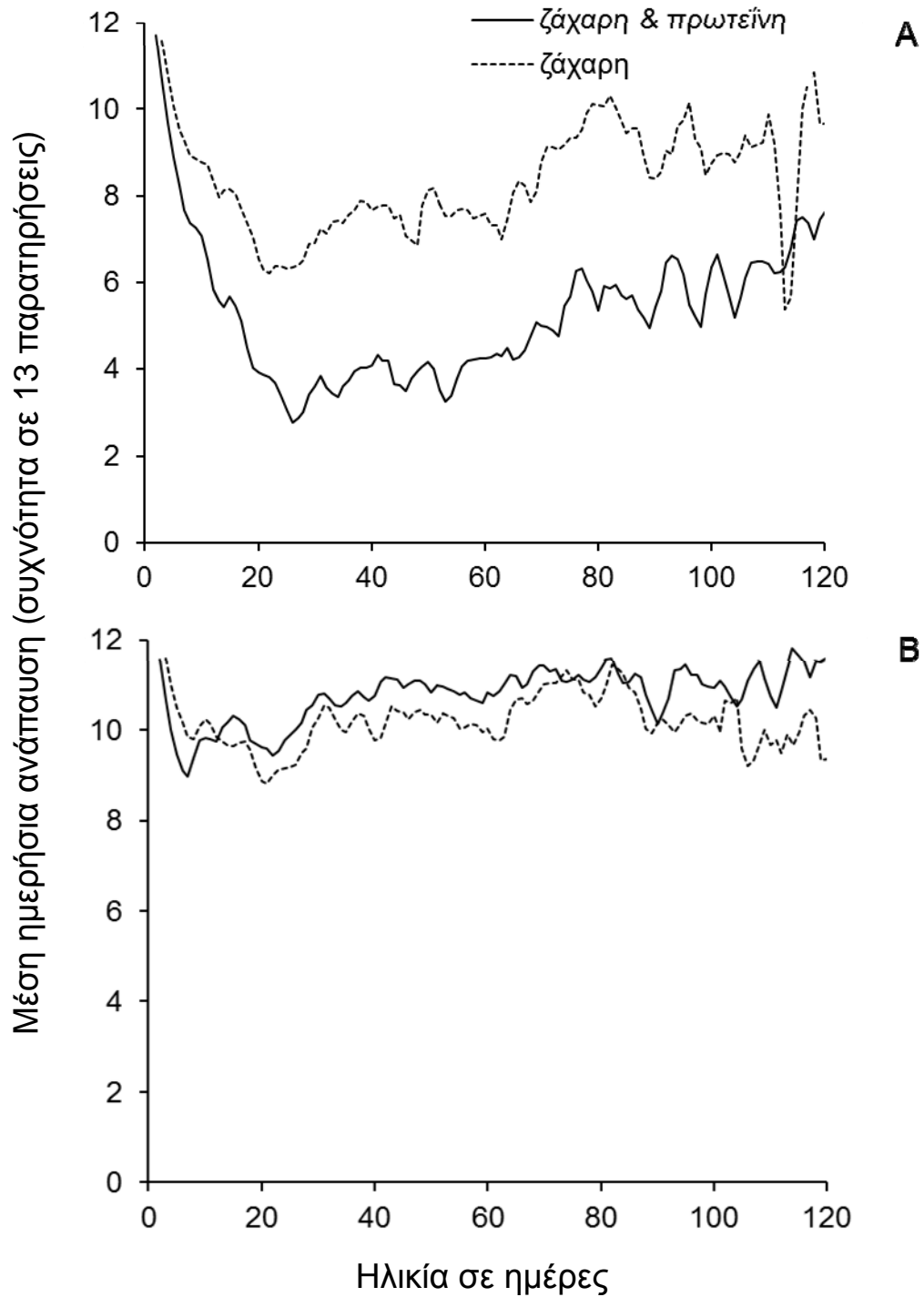
Διάγραμμα 3.2. Συχνότητα ημερήσιας δραστηριότητας (κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 3 ημερών), σε σύνολο 13 παρατηρήσεων, αρσενικών (A) και θηλυκών (B) που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (συνεχόμενη γραμμή) και μόνο με ζάχαρη (διακεκομμένη γραμμή) σε σχέση με την ηλικία.



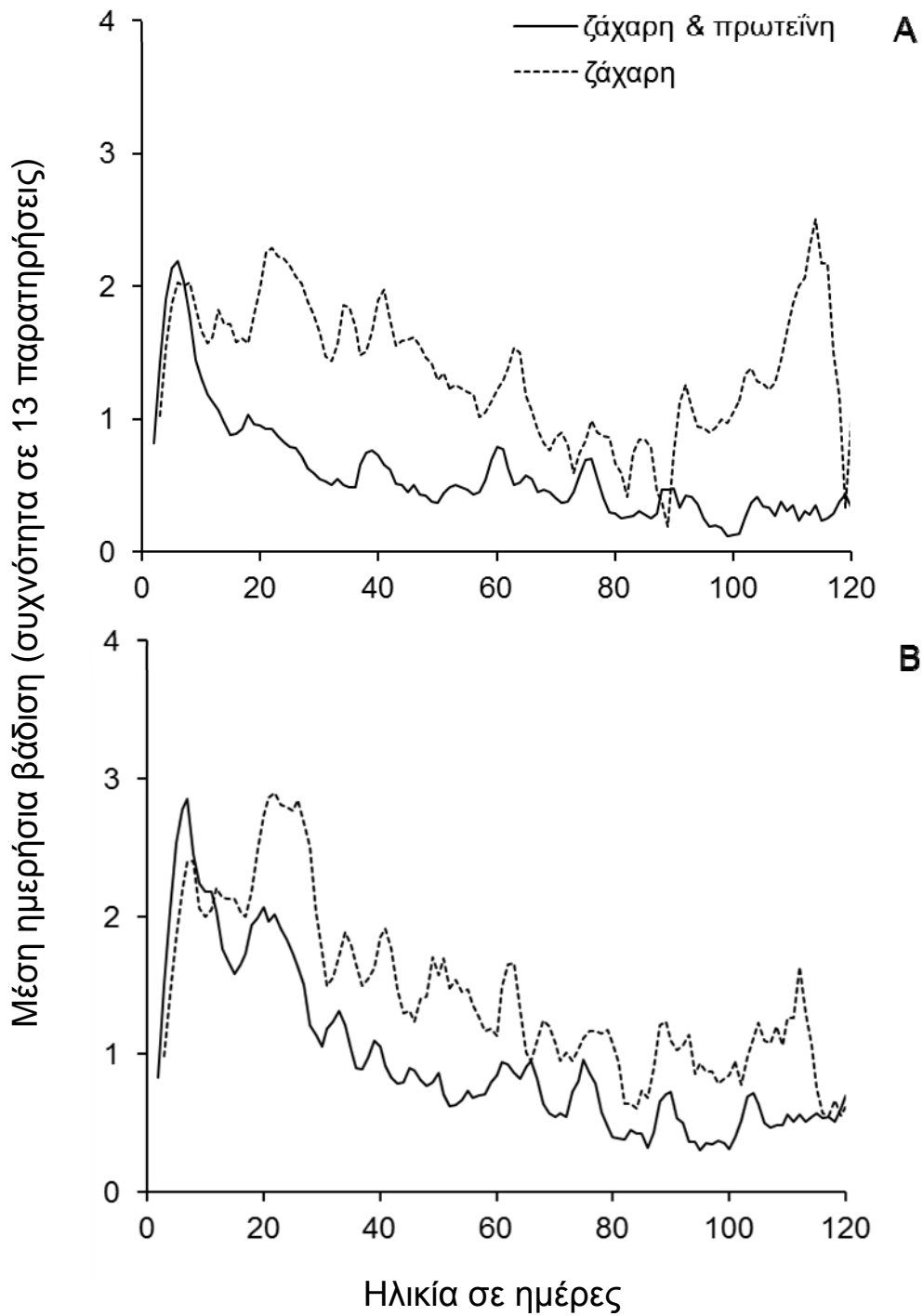
Διάγραμμα 3.3. Μέση δραστηριότητα αρσενικών (A) και θηλυκών (B) που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (μαύρες στήλες) και μόνο με ζάχαρη (λευκές στήλες) ανά δέκα ημέρες. Οι αστερίσκοι υποδεικνύουν στατιστικώς σημαντικές διαφορές (t-test, $P < 0,05$).



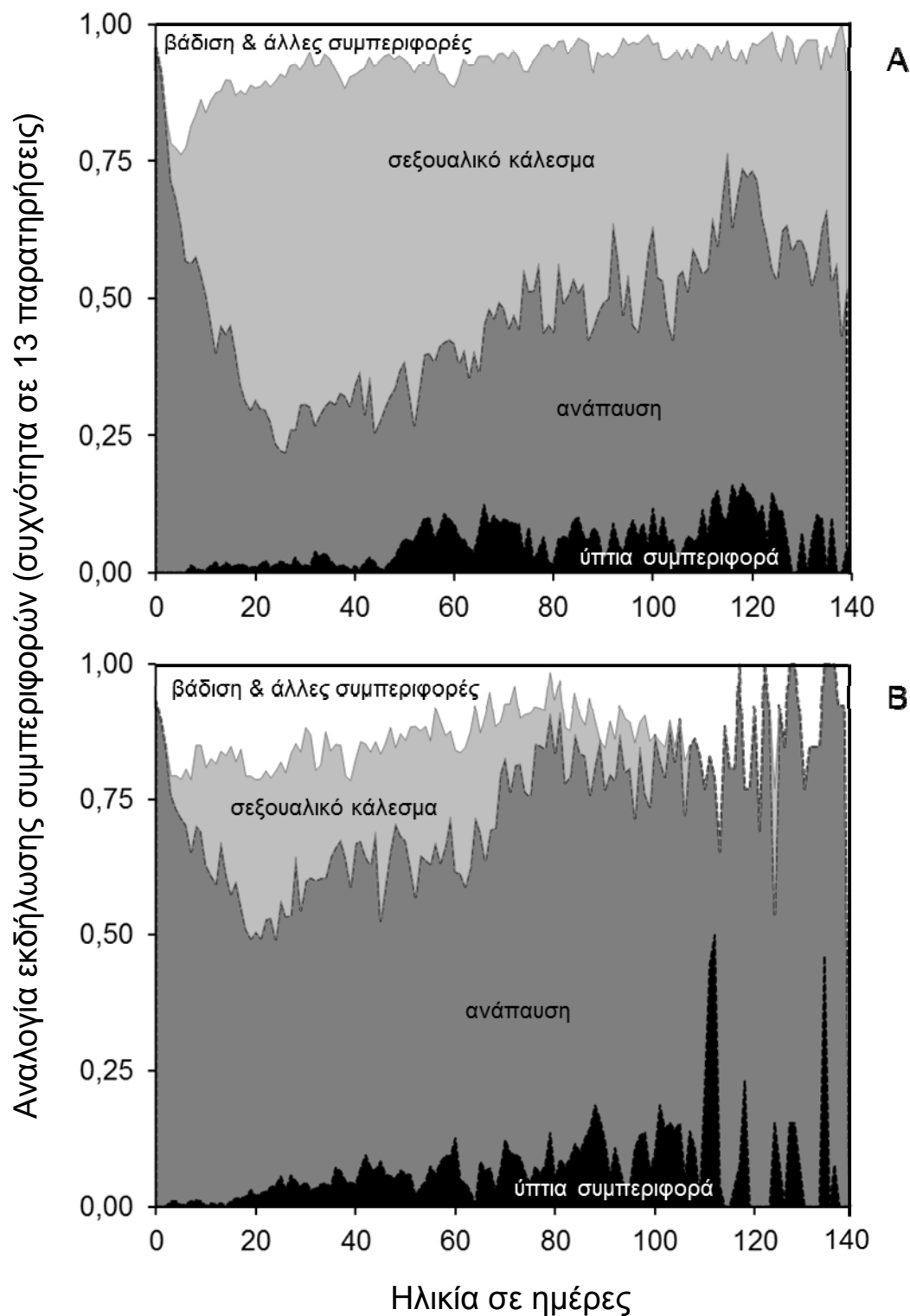
Διάγραμμα 3.4. Αναλογία μέσης ημερήσιας δραστηριότητας αρσενικών (δραστηριότητα ζάχαρη-πρωτεΐνη / δραστηριότητα ζάχαρη) και θηλυκών (δραστηριότητα ζάχαρη-πρωτεΐνη / δραστηριότητα ζάχαρη).



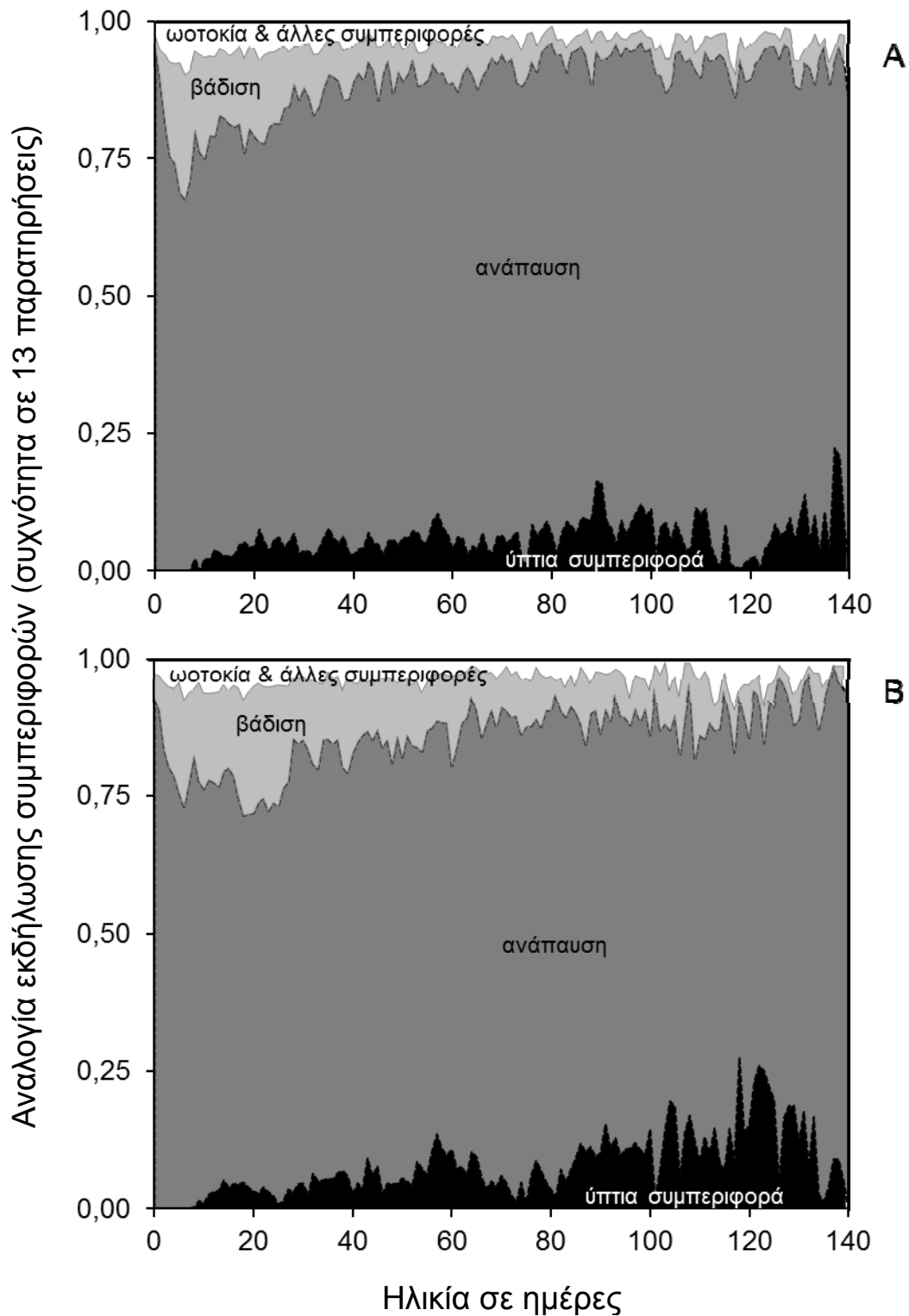
Διάγραμμα 3.5. Συχνότητα ημερήσιας ανάπαυσης (κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 3 ημερών), σε σύνολο 13 παρατηρήσεων, αρσενικών (A) και θηλυκών (B) που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (συνεχόμενη γραμμή) και μόνο με ζάχαρη (διακεκομμένη γραμμή) σε σχέση με την ηλικία.



Διάγραμμα 3.6. Συχνότητα ημερήσιας βάδισης (κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 3 ημερών), σε σύνολο 13 παρατηρήσεων, αρσενικών (A) και θηλυκών (B) που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (συνεχόμενη γραμμή) και μόνο με ζάχαρη (διακεκομμένη γραμμή) σε σχέση με την ηλικία.



Διάγραμμα 3.7. Ημερήσια αναλογία εκδήλωσης τεσσάρων σημαντικών συμπεριφορών (ύπτια συμπεριφορά, ανάπαυση, σεξουαλικό κάλεσμα, βάδιση και λοιπές συμπεριφορές) αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (Α) και μόνο με ζάχαρη (Β).



Διάγραμμα 3.8. Ημερήσια αναλογία εκδήλωσης τεσσάρων σημαντικών συμπεριφορών (ύπτια συμπεριφορά, ανάπαυση, βάδιση, ωοτοκία και λοιπές συμπεριφορές) θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και μόνο με ζάχαρη (B).

3.5 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα του παρόντος κεφαλαίου έδειξαν ότι α) η δραστηριότητα των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου μειώνεται σε σχέση με την ηλικία, ανεξάρτητα από το είδος της τροφής, β) τα αρσενικά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη ζουν περισσότερο και εκδηλώνουν συχνότερα συμπεριφορά δραστηριότητας σε σχέση με τα αρσενικά που στερούνται πρωτεΐνης, γ) τα θηλυκά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη ζουν περισσότερο αλλά εκδηλώνουν συμπεριφορά δραστηριότητας με μικρότερη συχνότητα σε σχέση με τα θηλυκά που τρέφονται μόνο με ζάχαρη, δ) τα αρσενικά είναι περισσότερο δραστήρια από τα θηλυκά ανεξάρτητα από το είδος της τροφής και την ηλικία, ε) αρσενικά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη βαδίζουν με μικρότερη συχνότητα σε σχέση με τα αρσενικά που στερούνται πρωτεΐνης παρά το γεγονός ότι συνολικά εκδηλώνουν εντονότερη δραστηριότητα και στ) θηλυκά που τρέφονται μόνο με ζάχαρη βαδίζουν συχνότερα, επιβεβαιώνοντας τη συνολικά εντονότερη δραστηριότητά τους σε σχέση με τα θηλυκά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη.

Είναι γνωστό τόσο από παλαιότερες όσο και από πιο πρόσφατες έρευνες ότι η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης αυξάνει την επιβίωση και την ωοπαραγωγή των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου (Carey et al., 2002a; Harwood et al., 2013). Τα αποτελέσματα του κεφαλαίου αυτού επιβεβαιώνουν τη θετική επίδραση του διατροφικά πλούσιου περιβάλλοντος στη διάρκεια ζωής τόσο των θηλυκών όσο και των αρσενικών. Επιπλέον καταδεικνύουν ότι η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης αυξάνει τη δραστηριότητα των αρσενικών αλλά όχι αυτή των θηλυκών. Προηγούμενες μελέτες για την επίδραση της τροφής στην κίνηση (πτήση, βάδιση) ενηλίκων της οικογένειας Tephritidae καταλήγουν σε αντίθετα συμπεράσματα (Prenter et al., 2013; Zou et al., 2011). Από τη μια πλευρά, η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης αυξάνει τη συχνότητα πτήσης ενηλίκων του *Bactrocera tryoni*, ανεξάρτητα από το φύλο, ενώ από την άλλη πλευρά, θηλυκά του *Anastrepha ludens* που στερούνται πρωτεΐνης εκδηλώνουν συχνότερα κίνηση. Συνεπώς, η συχνότητα της δραστηριότητας και η σχέση της με τη διατροφική κατάσταση του οργανισμού παρουσιάζει μια εξειδίκευση κατά είδος και πιθανώς κατά φύλο.

Τα δεδομένα του παρόντος κεφαλαίου έδειξαν ότι η τροφή επιδρά με

διαφορετικό τρόπο στην εκδήλωση συμπεριφορών δραστηριότητας σε κάθε φύλο. Έτσι, ενώ η διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης αύξησε τη δραστηριότητα των αρσενικών, δε συνέβη το ίδιο και με τα θηλυκά. Η διαφορά αυτή οφείλεται στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος από τα αρσενικά, συμπεριφορά που καταλαμβάνει αναλογικά το μεγαλύτερο μέρος της καθημερινής δραστηριότητάς τους, μετά τη σεξουαλική ωρίμανση, ιδίως σε συνδυασμό με πρόσβαση σε τροφή πλούσια σε πρωτεΐνη (Διάγραμμα 3.7). Η συνολική εικόνα της δραστηριότητας των θηλυκών πιθανώς να ήταν διαφορετική αν υπήρχε διαθέσιμο υπόστρωμα ωτοκίας στα ατομικά κλουβιά. Η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης που ενισχύει την ωοπαραγωγή θα είχε σαν συνέπεια τα θηλυκά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη να εμφανίζουν εντονότερη δραστηριότητα, λόγω αυξημένης ωτοκίας, σε σχέση με αυτά που τρέφονται μόνο με ζάχαρη. Ωστόσο, ακόμα και στην περίπτωση αυτή, η ημερήσια συχνότητα ωτοκίας των θηλυκών δύσκολα θα αντιστάθμιζε τη συχνότητα σεξουαλικού καλέσματος, στο οποίο τα αρσενικά επιδίδονται για το μεγαλύτερο μέρος της ημέρας στις βέλτιστες συνθήκες εργαστηρίου (Diamantidis et al., 2008). Επιπλέον, το μέγιστο της ωτοκίας στα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου εκδηλώνεται αργά το απόγευμα σε συνθήκες υπαίθρου (Hendrichs & Hendrichs, 1990), ενώ οι παρατηρήσεις της συμπεριφοράς στα πειράματα του παρόντος Κεφαλαίου πραγματοποιήθηκαν πρωινές ώρες (10:00 – 12:00). Συνεπώς, είναι δύσκολο να αξιολογηθεί η δραστηριότητα των θηλυκών με βάση τη συμπεριφορά ωτοκίας λόγω απόκλισης από τη βέλτιστη ημερήσια χρονική περίοδο στην οποία εκδηλώνεται η συμπεριφορά αυτή.

Παρά το γεγονός ότι τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ήταν περισσότερο δραστήρια από τα αρσενικά που στερούσαν πρωτεΐνης, όταν μια από τις βασικότερες συμπεριφορές δραστηριότητας, όπως η βάδιση, αξιολογήθηκε ξεχωριστά, προέκυψε ότι τα αρσενικά που τρέφονται μόνο με ζάχαρη είναι αυτά που κινούνται περισσότερο. Επιπλέον, η συχνότητα βάδισής τους ήταν παραπλήσια με αυτή των θηλυκών που επίσης τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ενώ διαφορές μεταξύ των δύο φύλων προκύπτουν μόνο μετά την προχωρημένη ηλικία των 100 ημερών (Διάγραμμα 3.6 A,B). Η συμπεριφορά βάδισης εμφάνισε το ίδιο μοτίβο έως τη 15^η ημέρα ζωής σε αρσενικά και θηλυκά που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής καταδεικνύοντας πιθανή εξερεύνηση και αναγνώριση του χώρου και αναζήτηση τροφής στις

νεαρές ηλικίες. Η διατήρηση της κίνησης σε παρόμοια επίπεδα από τα ενήλικα που δεν είχαν πρόσβαση σε τροφή πλούσια σε πρωτεΐνη καταδεικνύει την επιμονή στην αναζήτηση πρωτεϊνούχου τροφής σε όλο το φάσμα των ηλικιών. Αυτό δε συμβαίνει στα ενήλικα που τρέφονταν με πρωτεΐνη τα οποία είτε παραμένουν σε ανάπαυση συχνότερα (θηλυκά) είτε επιδίδονται σε άλλες δραστηριότητες όπως το σεξουαλικό κάλεσμα (αρσενικά).

Η ημερήσια δραστηριότητα και των δύο φύλων εμφάνισε προοδευτική μείωση σε σχέση με την ηλικία. Τα αποτελέσματα ήταν ίδια όταν η συχνότητα της ημερήσιας βάδισης ελέγχθηκε ξεχωριστά. Παράλληλα, η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς αυξήθηκε σε μεγαλύτερες ηλικίες κυρίως στα ενήλικα που δεν είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη. Συνεπώς, φαίνεται ότι η ηλικία επιδρά αρνητικά στην κίνηση και στη συνολική δραστηριότητα των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου, ανεξάρτητα από το είδος της τροφής. Η μείωση της δραστηριότητας μπορεί να προκαλείται είτε λόγω εξελικτικής προσαρμογής και επιλογής των λιγότερο δραστήριων ατόμων σε προχωρημένες ηλικίες, είτε λόγω λειτουργικής γήρανσης (Simon et al., 2006). Η πίεση επιλογής πιθανώς να ευνοεί τα άτομα με μειωμένη κινητικότητα σε προχωρημένη ηλικία λόγω μείωσης του κινδύνου εντοπισμού από άρπαγες, με την προϋπόθεση ότι οι διατροφικές ανάγκες έχουν καλυφθεί και ότι η σύζευξη και παραγωγή απογόνων έχουν επιτευχθεί σε μικρότερες ηλικίες. Από την άλλη μεριά, η συσσώρευση επιβλαβών μεταλλάξεων στο γονιδίωμα και η αδυναμία αναγέννησης των κυττάρων προκαλούν σταδιακή λειτουργική ύφεση στη συμπεριφορά, η οποία μπορεί να εμφανίζεται ως μείωση της εκδήλωσης κάποιων δραστηριοτήτων ή/και ως εκδήλωση νέων συμπεριφορών που δεν παρατηρούνται σε νεαρές ηλικίες. Συνεπώς, η διατήρηση κάποιων δραστηριοτήτων των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου σε αυξημένα επίπεδα (π.χ. σεξουαλικό κάλεσμα), ακόμα και σε προχωρημένες ηλικίες, υποδεικνύει ότι κατά τη λειτουργική γήρανση επηρεάζονται κάποιες, αλλά όχι το σύνολο της συμπεριφοράς. Άλλωστε, η μεταβολή της ικανότητας κίνησης καθώς και της εκδήλωσης αρνητικής γεωτάξης στο *D. melanogaster* (Iliadi & Boulianne, 2010), όπως και η εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς και του σεξουαλικού καλέσματος στη μύγα της Μεσογείου (Papadopoulos et al., 2002a; Papadopoulos et al., 2004) αποτελούν συμπεριφορές – δείκτες γήρανσης.

Τα ευρήματα του παρόντος κεφαλαίου συμβάλλουν στην καταγραφή

μέρους των καθημερινών δραστηριοτήτων των ενηλίκων (αρσενικών και θηλυκών) της μύγας της Μεσογείου, σε σχέση με την ηλικία και την τροφή. Η μελέτη της συμπεριφοράς σε περισσότερα χρονικά διαστήματα κατά τη διάρκεια της ημέρας θα παρείχε σημαντικές πληροφορίες σχετικά με τη μεταβολή περισσότερων συμπεριφορών (π.χ. ωτοκία) σε σχέση με την ηλικία. Επιπλέον, η επίδραση και άλλων παραγόντων όπως η παρουσία ξενιστή, οπτικών και οσμικών ερεθισμάτων πιθανώς να αποκάλυπτε άλλες πτυχές του συνολικού φάσματος συμπεριφορών του κάθε φύλου σε σχέση με την ηλικία. Τέλος, η διερεύνηση της έκφρασης των γονιδίων που ευθύνονται για την εκδήλωση των συμπεριφορών σε νεαρές και προχωρημένες ηλικίες θα παρείχε σημαντικές πληροφορίες και θα συνέβαλλε στην κατανόηση των μηχανισμών γήρανσης.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΣΤΟ ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΟ ΚΑΛΕΣΜΑ ΤΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ

4.1 Περίληψη

Η διατροφική κατάσταση στο στάδιο του ενηλίκου καθώς και η αλληλεπίδρασή της με την ηλικία μπορεί να επηρεάσει τη σεξουαλική συμπεριφορά των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου και συγκεκριμένα το σεξουαλικό κάλεσμα (calling ή sexual signaling). Στο παρόν κεφάλαιο μελετήθηκε η επίδραση της τροφής (ζάχαρη, ζάχαρη και πρωτεΐνη) και της ηλικίας στην καθημερινή συχνότητα εκδήλωσης του σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών, καθ' όλη τη διάρκεια ζωής τους. Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων, που πραγματοποιήθηκαν σε σταθερές εργαστηριακές συνθήκες (25 ± 1 °C, $65 \pm 5\%$ Σ.Υ και 14:10 Φ:Σ), χρησιμοποιήθηκαν ενήλικα αρσενικά F_1 γενεάς της μύγας της Μεσογείου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι τόσο η ηλικία όσο και η τροφή επιδρούν σημαντικά στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος. Τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ωρίμασαν ταχύτερα και εκδήλωσαν σεξουαλικό κάλεσμα με σχεδόν διπλάσια συχνότητα σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, ανεξάρτητα από την ηλικία. Το σεξουαλικό κάλεσμα μειώθηκε σε σχέση με την ηλικία και στις δύο διατροφικές συνθήκες. Τα αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη εμφάνισαν ξεκάθαρο μοτίβο στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος σε σχέση με την ηλικία, το οποίο σε γενικές γραμμές χαρακτηρίζεται από μια σύντομη περίοδο αδράνειας, έως τη σεξουαλική ωρίμανση, που ακολουθείται από μια μεγάλη περίοδο συχνής εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος και ολοκληρώνεται με μια σύντομη περίοδο αδράνειας έως το θάνατο, στα μακρόβια αρσενικά. Η υψηλή συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος εμφάνισε θετική συσχέτιση με την επιβίωση στα αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη. Τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη δεν εμφάνισαν ξεκάθαρο μοτίβο εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος σε σχέση με την ηλικία ούτε και συσχέτιση της μακροβιότητας με τη συχνότητα εκδήλωσής

του. Σχολιάζεται η σημασία των αποτελεσμάτων για την κατανόηση της κατανομής των ενεργειακών πόρων μεταξύ επιβίωσης και αναπαραγωγής των αρσενικών σε σχέση με την ηλικία.

4.2 Εισαγωγή

Περισσότερα από 240 είδη στο ζωικό βασίλειο εκδηλώνουν αναπαραγωγική συμπεριφορά συνάθροισης τύπου “lek” (Hoglund & Alatalo, 1995). Το αναπαραγωγικό σύστημα της μύγας της Μεσογείου χαρακτηρίστηκε για πρώτη φορά ως συνάθροιση τύπου “lek” από τους Prokopy και Hendrichs (1979), μετά από παρατηρήσεις σε πειράματα αγρού και ορίστηκε ως «συναθροίσεις 3 - 6 αρσενικών στην κάτω επιφάνεια φύλλου που απέχουν μεταξύ τους τουλάχιστον 30 cm». Ο παραπάνω ορισμός είναι γνωστός σήμερα ως συνάθροιση μικρής κλίμακας (Field et al., 2002) ενώ η συνάθροιση μεγάλης κλίμακας προσδιορίστηκε αργότερα ορίζοντας το “lek” ως «δυναμική συνάθροιση αρσενικών που καταλαμβάνει ολόκληρη την κόμη του δένδρου με συνεχή εναλλαγή των αρσενικών από φύλλο σε φύλλο» (Whittier et al., 1992). Στο πλαίσιο της αναπαραγωγικής τους συμπεριφοράς, τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου συμμετέχουν στα “leks” και ανταγωνίζονται για τις ευνοϊκότερες θέσεις τόσο σε επίπεδο φύλλου (συνάθροιση μικρής κλίμακας) όσο και στο επίπεδο ολόκληρης της κόμης του δένδρου (συνάθροιση μεγάλης κλίμακας). Κατά τη συμμετοχή τους στα “leks”, τα αρσενικά εκδηλώνουν σεξουαλικό κάλεσμα εκλύοντας σεξουαλική φερομόνη με σκοπό την προσέλκυση των θηλυκών (Arita & Kaneshiro, 1985). Μετά την προσέλκυση κάποιου, δεκτικού για σύζευξη, θηλυκού ξεκινάει η ερωτοτροπία, μια πολυσύνθετη συμπεριφορά που περιλαμβάνει γρήγορες κινήσεις των πτερυγών και της κεφαλής με ταυτόχρονη παραγωγή ήχων (Briceno et al., 2007; Briceno et al., 1996), η οποία καταλήγει στην απόπειρα σύζευξης (mounting attempt). Η συμμετοχή των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου στα “leks” και η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος σχετίζονται άμεσα με την ανταγωνιστικότητά τους για σύζευξη, την επίτευξη μεγαλύτερου αριθμού συζεύξεων και κατά συνέπεια την αύξηση της αρμοστικότητάς τους.

Το σεξουαλικό κάλεσμα της μύγας της Μεσογείου έχει αποτελέσει αντικείμενο πλήθους μελετών οι οποίες παραθέτουν, κατά κύριο λόγο, την

επίδραση διαφόρων παραγόντων τόσο στη συμπεριφορά εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος όσο και στη σύνθεση της σεξουαλικής φερομόνης. Σε γενικές γραμμές, οι έρευνες επικεντρώνονται στη βελτίωση της ποιότητας των μαζικά εκτρεφόμενων εντόμων για τη χρήση τους στα προγράμματα εξαπόλυσης στείρων εντόμων (SIT). Συγκεκριμένα, η επιτυχία της μεθόδου εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από την ικανότητα των στείρων αρσενικών να ανταγωνίζονται τα άγρια αρσενικά και να πετυχαίνουν συζεύξεις με τα θηλυκά του άγριου πληθυσμού. Έτσι, είναι πλέον γνωστό ότι παράγοντες όπως τα αιθέρια έλαια εσπεριδοειδών (πορτοκαλιού) και της ρίζας του φυτού *Zingiber officinale* (πιπερόριζα ή τζίντζερ), κάποιες ουσίες φυτών που παράγουν αιθέρια έλαια (π.χ. *α-copaene*), όπως επίσης και η συνθετική παραφερομόνη trimedlure (Papadopoulos et al., 2006; Shelly, 2001; Shelly et al., 1996) αυξάνουν τη συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου. Επιπλέον, τόσο παλαιότερη όσο και νεότερη εργασία αποδεικνύουν ότι η σύνθεση της φερομόνης των αρσενικών διαφέρει σημαντικά μεταξύ άγριων πληθυσμών και εργαστηριακών φυλών (Heath et al., 1991; Vaníčková et al., 2012).

Η τροφή είναι ένας από τους σημαντικότερους παράγοντες που επηρεάζει τις βιολογικές παραμέτρους πολλών διπτέρων (Manrakhan & Lux, 2006; Meats & Leighton, 2004; Perez-Staples et al., 2007b) καθώς και το σεξουαλικό κάλεσμα αρσενικών της οικογένειας Tephritidae (Epsky & Heath, 1993). Η επίδραση της τροφής των ενηλίκων στο σεξουαλικό κάλεσμα άγριων και μαζικά εκτρεφόμενων αρσενικών της μύγας της Μεσογείου έχει μελετηθεί εκτενώς κατά το παρελθόν (Papadopoulos et al., 1998; Shelly & Kennelly, 2002; Shelly et al., 2002; Shelly & McInnis, 2003). Αρσενικά και θηλυκά, μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα, αναζητούν σακχαρούχες και πρωτεϊνούχες τροφές (νέκταρ, χυμό καρπών, μελιτώματα εντόμων, αποχωρήματα πουλιών) για να καλύψουν τις ενεργειακές τους ανάγκες και για να ωριμάσουν αναπαραγωγικά (Hendrichs et al., 1991). Η παραγωγή και η έκλυση της φερομόνης μέσω του σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών είναι εξαιρετικά ενεργοβόρος διαδικασία με αποτέλεσμα τα αρσενικά που τρέφονται με τροφή υψηλής διατροφικής αξίας να υπερτερούν και να είναι ανταγωνιστικότερα στην επίτευξη συζεύξεων (Kaspi et al., 2000; Warburg & Yuval, 1997; Yuval et al., 1998). Παρατηρήσεις σε συνθήκες εργαστηρίου

δείχνουν ταχύτερη σεξουαλική ωρίμανση και σημαντικά υψηλότερα επίπεδα σεξουαλικού καλέσματος σε αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (Diamantidis et al., 2008). Από την άλλη μεριά, προηγούμενα πειράματα σε συνθήκες αγρού έδειξαν ότι αρσενικά της μύγας της Μεσογείου που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωναν σεξουαλικό κάλεσμα σε παραπλήσια συχνότητα με αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (Shelly et al., 2002). Ωστόσο, ακόμα και στην περίπτωση του παραπλήσιου σεξουαλικού καλέσματος μεταξύ αρσενικών που τρέφονταν με τροφή υψηλής και χαμηλής διατροφικής αξίας, τα θηλυκά επισκέπτονταν σημαντικά περισσότερο τα “leks” των αρσενικών που τρέφονταν με πρωτεΐνη, τα οποία και πέτυχαν τις περισσότερες συζεύξεις (Shelly et al., 2002). Άλλωστε, προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι αρσενικά που στερούνται πρωτεΐνης συμμετέχουν σε μικρότερο βαθμό στα “leks” με αποτέλεσμα να επιλέγονται λιγότερο από τα θηλυκά για σύζευξη (Yuval et al., 2002; Yuval et al., 1998). Παρά την εντατική μελέτη της επίδρασης της τροφής στο σεξουαλικό κάλεσμα, μικρότερη έμφαση έχει δοθεί, μέχρι στιγμής, στον τρόπο με τον οποίο το διατροφικό περιβάλλον επιδρά στο σεξουαλικό κάλεσμα καθ’ όλη τη διάρκεια της ζωής των αρσενικών.

Το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου συνδέεται άμεσα με μια σειρά δημογραφικών χαρακτηριστικών όπως με τη σεξουαλική ωρίμανση, την αναπαραγωγική επιτυχία και κατά συνέπεια με την αρμοστικότητα τους. Προηγούμενη μελέτη του σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών άγριου πληθυσμού, καθ’ όλη τη διάρκεια ζωής τους, κατέδειξε θετική συσχέτιση της συχνότητάς του με την επιβίωση (Papadopoulos et al., 2004). Το εύρημα αυτό έχει μεγάλη σημασία για τις μελέτες που αφορούν τους μηχανισμούς της λειτουργικής γήρανσης και μπορεί να αποτελέσει χρήσιμο εργαλείο εκτίμησης της μακροβιότητας. Επίσης, η σύνδεση της υψηλής συχνότητας εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος με τη μακροβιότητα των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου συμφωνεί με την εξελικτική θεωρία των «καλών γονιδίων» ή του «μειονεκτήματος» (good genes or handicap hypothesis) (Zahavi, 1975). Με βάση την παραπάνω θεωρία, μόνο τα υψηλής γενετικής ποιότητας και αρμοστικότητας αρσενικά είναι σε θέση να επιβιώνουν μέχρι προχωρημένη ηλικία (εύρεση τροφής, αποφυγή ασθενειών) παρά τη συχνή εκδήλωση μιας ενεργοβόρου συμπεριφοράς, όπως το σεξουαλικό

κάλεσμα, που επιπρόσθετα τα καθιστά ευάλωτα σε άρπαγες (Hendrichs et al., 1994; Hendrichs & Hendrichs, 1998). Το σεξουαλικό κάλεσμα πιθανώς αποτελεί πραγματικό δείγμα γενετικής ανωτερότητας και χαρακτηριστικό διαφυλικής σεξουαλικής επιλογής (intrasexual selection). Η συσχέτιση της συχνότητας εκδήλωσης του σεξουαλικού καλέσματος με την επιβίωση έχει πραγματοποιηθεί μόνο με διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή. Συνεπώς δεν είναι γνωστό αν η ίδια σχέση εκδηλώνεται σε ένα φτωχό διατροφικό περιβάλλον.

Το κόστος των δραστηριοτήτων που σχετίζονται με τη σεξουαλική συμπεριφορά δεν έχει διευκρινιστεί πλήρως για τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου. Σχετικά πρόσφατη έρευνα έδειξε ότι η συμπεριφορά ερωτοτροπίας αλλά όχι η σύζευξη επιφέρει κόστος στην επιβίωση των αρσενικών (Papadopoulos et al., 2010). Το σεξουαλικό κάλεσμα, ως τμήμα της συνολικής αναπαραγωγικής συμπεριφοράς, είναι μια ενεργοβόρος και σύνθετη διαδικασία η οποία εκτός από την παραγωγή και έκλυση της φερομόνης περιλαμβάνει και μια σειρά λιγότερο γνωστών δραστηριοτήτων όπως είναι η επιθετική συμπεριφορά μεταξύ αρσενικών ή αρσενικών και θηλυκών (Papadopoulos et al., 2009). Οι παραπάνω λόγοι καθιστούν την εκτίμηση του καθαρού κόστους που επιφέρει το σεξουαλικό κάλεσμα στην επιβίωση και στο μελλοντικό αναπαραγωγικό δυναμικό των αρσενικών αρκετά δύσκολο εγχείρημα. Η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή αυξάνει τη συχνότητα σεξουαλικού καλέσματος χωρίς αυτό να έχει αρνητική επίδραση στην επιβίωση (Papadopoulos et al., 2004). Συνεπώς, το πιθανό κόστος της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος μπορεί να είναι ευκολότερο να εκτιμηθεί μόνο σε συνθήκες καταπόνησης, όπως είναι η έλλειψη πρωτεΐνης στην τροφή.

Ο ημερήσιος ρυθμός του σεξουαλικού καλέσματος και η μεταβολή της συχνότητας εκδήλωσής του σε σχέση με την ηλικία έχει μελετηθεί τόσο σε άγριο πληθυσμό αρσενικών της μύγας της Μεσογείου όσο και συγκριτικά μεταξύ φυλών από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές (Diamantidis et al., 2008; Papadopoulos et al., 2004). Έτσι, είναι γνωστό ότι το σεξουαλικό κάλεσμα εκδηλώνεται με μεγαλύτερη ένταση και συχνότητα νωρίς το πρωί (07:00 – 09:00) και μετά το μεσημέρι (13:00 – 14:00) γεγονός που ποικίλει μεταξύ των διαφορετικών φυλών του εντόμου (Diamantidis et al., 2008) και

μεταξύ των διαφόρων γεωγραφικών περιοχών (Sivinski et al., 2000). Παλαιότερη έρευνα έδειξε επίσης ότι αρσενικά άγριου ελληνικού πληθυσμού της μύγας της Μεσογείου εκδηλώνουν σεξουαλικό κάλεσμα με μεγαλύτερη συχνότητα μεταξύ 12:00 και 15:00 (Papadopoulos et al., 1998). Ακόμα, ο Papadopoulos και συνεργάτες (2004) επισημαίνουν ότι άγρια αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν μόνο το δεύτερο μέγιστο (13:00 – 14:00) μετά την ηλικία των 40 ημερών. Με βάση τις παραπάνω πληροφορίες και δεδομένου ότι κατά το χρονικό διάστημα μεταξύ των δύο μεγίστων δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες σχετικά με την εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος, επιλέχθηκε το διάστημα από τις 10:00 έως τις 12:00 για την καταγραφή του στα πειράματα του παρόντος Κεφαλαίου.

Κατά συνέπεια, η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή των ενηλίκων αυξάνει το σεξουαλικό κάλεσμα σε άγρια αρσενικά της μύγας της Μεσογείου, ανεξάρτητα από τη γεωγραφική τους προέλευση (Diamantidis et al., 2008). Ακόμα, η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος όχι μόνο δεν επιφέρει κόστος στην επιβίωση αλλά εμφανίζει θετική συσχέτιση με τη μακροβιότητα των αρσενικών που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη (Papadopoulos et al., 2004). Εντούτοις, δεν είναι γνωστή η επίδραση της τροφής στην καθημερινή συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής των αρσενικών και ιδιαίτερα στις προχωρημένες ηλικίες. Επιπλέον, δεν έχει, μέχρι στιγμής, διερευνηθεί το κόστος της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος στην επιβίωση των αρσενικών που στερούνται πρωτεΐνης. Σκοπός του παρόντος Κεφαλαίου ήταν να μελετηθεί το σεξουαλικό κάλεσμα αρσενικών της μύγας της Μεσογείου, που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη ή τη στερούνταν, καθ' όλη τη διάρκεια ζωής τους και να διερευνηθεί το πιθανό κόστος που επιφέρει στην επιβίωση των αρσενικών σε ένα φτωχό διατροφικό περιβάλλον.

4.3 Υλικά και μέθοδοι

4.3.1 Γενικά

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ. τη διετία 2008 – 2009. Κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων επικρατούσαν σταθερές συνθήκες (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτοπερίοδος) που περιγράφονται στο

Υποκεφάλαιο 2.1. Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από προσβεβλημένα νεράντζια και μανταρίνια που συλλέχθηκαν στην περιοχή των Λεχωνίων Μαγνησίας και εκτράφηκαν για μια γενεά (F_1) σε τεχνητή τροφή στο εργαστήριο. Λεπτομερής περιγραφή της μεθόδου εκτροφής δίνεται στο Υποκεφάλαιο 2.2.

4.3.2 Διατήρηση εντόμων και διεξαγωγή παρατηρήσεων

Οι νύμφες της F_1 γενεάς τοποθετούνταν ανά 50 σε κλουβιά Plexiglas 20 x 20 x 20 cm (Εικόνα 2.3) έως την έξοδο των ενηλίκων. Αμέσως μετά την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα τα αρσενικά τοποθετούνταν ατομικά σε κλουβιά όγκου 400 ml (λεπτομερής περιγραφή των κλουβιών δίνεται στην Ενότητα 2.3, Εικόνα 2.4 Α). Όλα τα αρσενικά είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε νερό και τροφή, η οποία αποτελούνταν είτε από υδρολυμένη μαγιά, ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:4:5 (ζάχαρη και πρωτεΐνη) είτε από ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:3 (ζάχαρη). Το νερό και η τροφή ανανεώνονταν στα κλουβιά 2 με 3 φορές την εβδομάδα. Συνολικά, καταγράφηκε η εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος σε 200 αρσενικά (100 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και 100 αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη).

Η επίδραση της ηλικίας και της τροφής στο σεξουαλικό κάλεσμα κάθε αρσενικού προσδιορίστηκε με την καταγραφή της εκδήλωσής του με 13 καθημερινές παρατηρήσεις που πραγματοποιούνταν ανά 10 λεπτά, από τις 10:00 έως τις 12:00. Η συμπεριφορά καταγραφόταν ως εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος όταν το επιθήλιο του ορθού ήταν ανεστραμμένο και διογκωμένο με αποτέλεσμα να μοιάζει με μικρή σταγόνα, όπως περιγράφεται από τους Arita & Kaneshiro (1986) (βλέπε Υποκεφάλαιο 2.4).

4.3.3 Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πακέτο SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL., USA). Η επίδραση της τροφής και της ηλικίας στη μέση εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος, ανά δεκαήμερο ζωής, των αρσενικών, μέχρι την ηλικία των 120 ημερών προσδιορίστηκε με την ανάλυση παραλλακτικότητας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (Repeated Measures

ANOVA). Οι συγκρίσεις του μέσου σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής, σε κάθε δεκαήμερο ζωής, έως την ηλικία των 120 ημερών, πραγματοποιήθηκαν με το t κριτήριο ανεξάρτητων δειγμάτων (independent samples t -test). Η συσχέτιση της μέσης εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος της συνολικής διάρκειας ζωής με την επιβίωση των αρσενικών εκτιμήθηκε με την ανάλυση ευθύγραμμης συµμεταβολής (Linear Regression). Τέλος, οι συγκρίσεις του μέσου σεξουαλικού καλέσματος της συνολικής διάρκειας ζωής μεταξύ μακρόβιων και βραχύβιων αρσενικών σε κάθε είδος τροφής πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση παραλλακτικότητας (One-Way ANOVA). Οι συγκρίσεις του μέσου σεξουαλικού καλέσματος των μακρόβιων και βραχύβιων αρσενικών που τρέφονταν με το ίδιο είδος τροφής, σε κάθε δεκαήμερο ζωής, πραγματοποιήθηκαν με το t κριτήριο ανεξάρτητων δειγμάτων (independent samples t -test).

4.4 Αποτελέσματα

4.4.1 Επίδραση της τροφής και της ηλικίας στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος

Αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν σεξουαλικό κάλεσµα συχνότερα, σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους, σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ($F = 24,076$, $df = 1, 38$, $P < 0,001$). Συγκεκριμένα τα αρσενικά που τρέφονταν με τροφή πλούσια σε πρωτεΐνη εκδήλωναν καθημερινά σεξουαλικό κάλεσµα περισσότερες από 6 στις 13 καθημερινές παρατηρήσεις από τη σεξουαλική ωρίμανση (15 ημέρες) έως την ηλικία των 70 ημερών. Αντίθετα, τα αρσενικά που στερούσαν πρωτεΐνης, εκδήλωναν καθημερινά, στο ίδιο χρονικό διάστημα, σεξουαλικό κάλεσµα λιγότερες από 4 φορές στις 13 παρατηρήσεις (Διάγραμμα 4.1).

Η ανάλυση παραλλακτικότητας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων έδειξε, επιπλέον, ότι η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών μειώθηκε σημαντικά σε σχέση με την ηλικία, ανεξάρτητα από την τροφή ($F = 6,854$, $df = 11, 418$, $P < 0,001$). Η αλληλεπίδραση της τροφής και της ηλικίας ($F = 1,715$, $df = 11, 418$, $P > 0,05$) δεν ήταν σημαντική καταδεικνύοντας ότι η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που τρέφονταν στα δύο είδη

τροφής ακολούθησε παραπλήσια τάση έως την ηλικία των 120 ημερών.

Αναλυτικότερα, η συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος αυξήθηκε προοδευτικά από την 3^η ημέρα ζωής των αρσενικών, κατά την οποία ξεκίνησε η εκδήλωσή του, έως την ηλικία των 15 ημερών στην οποία περίπου 6 στις 13 καταγεγραμμένες παρατηρήσεις ήταν σεξουαλικό κάλεσμα για τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και 3 στις 13 παρατηρήσεις για τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (Διάγραμμα 4.1). Το μέγιστο της συχνότητας του σεξουαλικού καλέσματος σημειώθηκε την 26^η ημέρα στα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (9 στις 13 παρατηρήσεις), και διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα (περισσότερες από 7 στις 13 παρατηρήσεις) έως την ηλικία των 50 ημερών, περίπου. Στη συνέχεια, μειώθηκε έως την ηλικία των 70 ημερών και παρέμεινε σε σταθερά επίπεδα έως την ηλικία των 110 ημερών (4 με 7 στις 13 παρατηρήσεις). Για τις επόμενες 40 ημέρες η συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος αυξήθηκε και πάλι σημειώνοντας νέο μέγιστο στην ηλικία των 154 ημερών (9,2 στις 13 παρατηρήσεις) στην οποία, ωστόσο, επιβίωναν μόνο 5 αρσενικά. Η πορεία της συχνότητας εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος ήταν παραπλήσια και για τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, χωρίς όμως να ξεπερνάει τις 4 στις 13 καταγεγραμμένες συμπεριφορές. Η συχνότερη εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος πραγματοποιήθηκε από τη 17^η έως την 30^η περίπου ημέρα (> 3,5 στις 13 παρατηρήσεις) και το μέγιστο της εκδήλωσης σημειώθηκε την 26^η ημέρα με περίπου 4 στις 13 παρατηρήσεις. Η συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος μειώθηκε έως την ηλικία των 45 ημερών και αυξήθηκε εκ νέου παραμένοντας σε σταθερά επίπεδα έως την 70^η ημέρα (2 με 4 στις 13 παρατηρήσεις περίπου). Μετά την ηλικία των 70 ημερών τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη μείωσαν την εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος έως το θάνατο.

Οι ανά δεκαήμερο συγκρίσεις της συχνότητας του σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής έδειξαν σημαντικές διαφορές σε όλα τα διαστήματα ηλικιών (t-test, $P < 0,05$) (Διάγραμμα 4.2, λεπτομέρειες στατιστικής στο Παράρτημα). Τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν σημαντικά συχνότερα σεξουαλικό κάλεσμα σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, ακόμη και κατά το πρώτο δεκαήμερο της ζωής τους,

επιβεβαιώνοντας ότι η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης επισπεύδει τη σεξουαλική τους ωρίμανση.

Η λεπτομερειακή αποτύπωση της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος (event history diagram) (Carey, et al., 1998a) αρσενικών που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής δίνεται στο Διάγραμμα 4.3. Τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ξεκίνησαν την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος μετά από μια περίοδο αδράνειας, που εμφανίζεται σταθερά στο σύνολο σχεδόν των ατόμων, έως την ηλικία των 3 ημερών και απεικονίζεται με πράσινο χρώμα (Διάγραμμα 4.3 A). Την έναρξη του σεξουαλικού καλέσματος ακολούθησε μεγάλη συχνότητα εκδήλωσης της συμπεριφοράς (>9 στις 13 παρατηρήσεις, κόκκινο χρώμα) για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής των αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Τα αρσενικά που έζησαν λιγότερο από 60 ημέρες εκδήλωναν σεξουαλικό κάλεσμα καθημερινά με μεγάλη συχνότητα έως το θάνατο. Από την άλλη μεριά, τα αρσενικά που έζησαν περισσότερο από 60 ημέρες διέκοψαν, στην πλειοψηφία τους, την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος μερικές ημέρες πριν το θάνατο. Τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη δεν εμφάνισαν ξεκάθαρο μοτίβο στην εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος (Διάγραμμα 4.3 B). Παρά το γεγονός ότι και σε αυτή την περίπτωση υπήρχε μια περίοδος αδράνειας, πριν την έναρξη του σεξουαλικού καλέσματος, η περίοδος αυτή ήταν μεγαλύτερη σε αρκετά αρσενικά (πράσινο χρώμα). Μετά την έναρξή του, το σεξουαλικό κάλεσμα εκδηλώθηκε σποραδικά καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής των αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, με τη μεσολάβηση αρκετών ημερών χωρίς την εκδήλωση της συμπεριφοράς (πράσινο χρώμα). Τέλος, δεν υπήρχε ξεκάθαρο μοτίβο σχετικά με τη διακοπή του σεξουαλικού καλέσματος πριν το θάνατο.

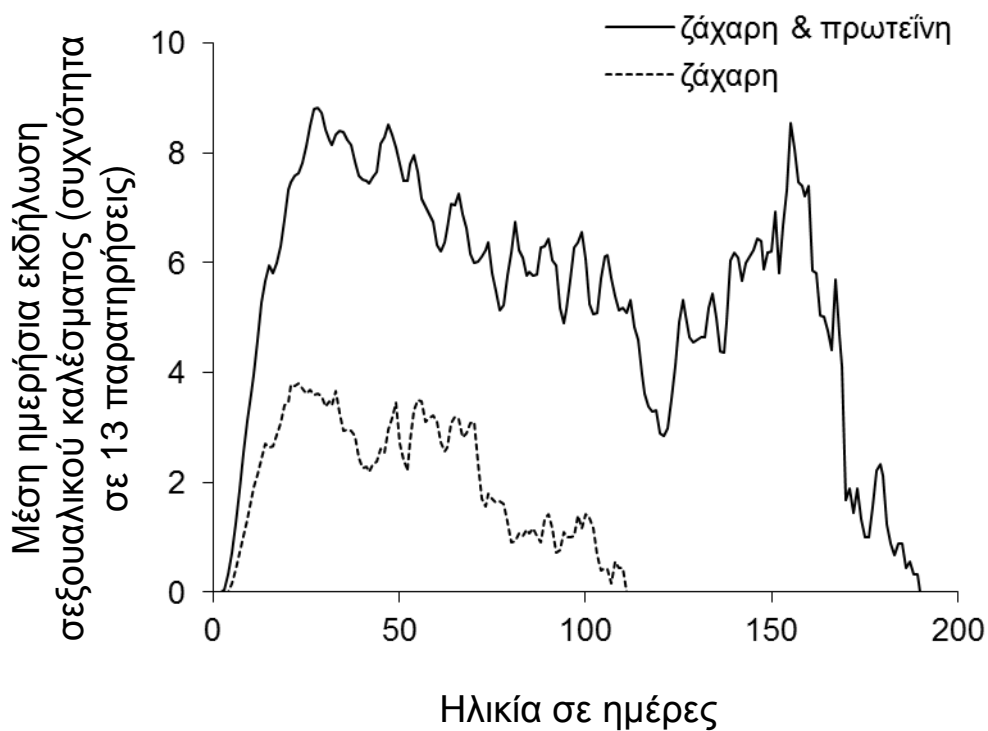
4.4.2 Συσχέτιση της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος με την επιβίωση των αρσενικών

Η ανάλυση της ευθύγραμμης συμμεταβολής έδειξε θετική σχέση μεταξύ της μέσης ημερήσιας εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος και της διάρκειας ζωής των αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ($F = 21,812$, $df = 1, 98$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 4.4 A). Όσο συχνότερη ήταν η εκδήλωση

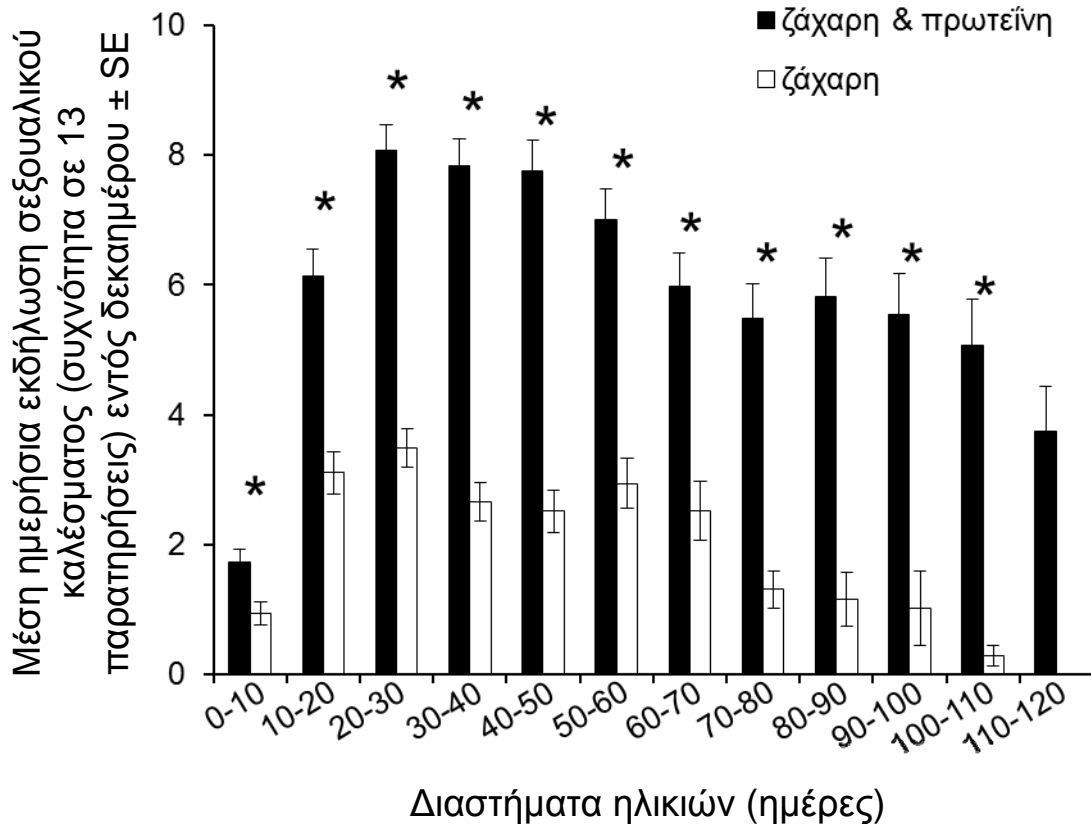
σεξουαλικού καλέσματος στα αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή τόσο μεγαλύτερη ήταν η επιβίωσή τους. Εντούτοις, δεν υπήρχε συσχέτιση ανάμεσα στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος και στη διάρκεια ζωής των αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ($F = 0,409$, $df = 1$, 98 , $P = 0,524$) (Διάγραμμα 4.4 Β).

Η μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος του 25% των πιο μακρόβιων και βραχύβιων αρσενικών που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής δίνεται στο Διάγραμμα 4.5. Η ανάλυση παραλλακτικότητας (One-Way ANOVA) έδειξε ότι τα μακρόβια αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν σεξουαλικό κάλεσμα συχνότερα από ότι τα βραχύβια που τρέφονταν με την ίδια τροφή ($F = 9,185$, $df = 1$, 48 , $P < 0,05$) (Διάγραμμα 4.5 Α). Η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος των μακρόβιων αρσενικών παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα έως την ηλικία των 100 ημερών. Αντίθετα, δε βρέθηκαν διαφορές στη συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος μεταξύ των βραχύβιων και μακρόβιων αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ($F = 0,45$, $df = 1$, 48 , $P = 0,5$) (Διάγραμμα 4.5 Β).

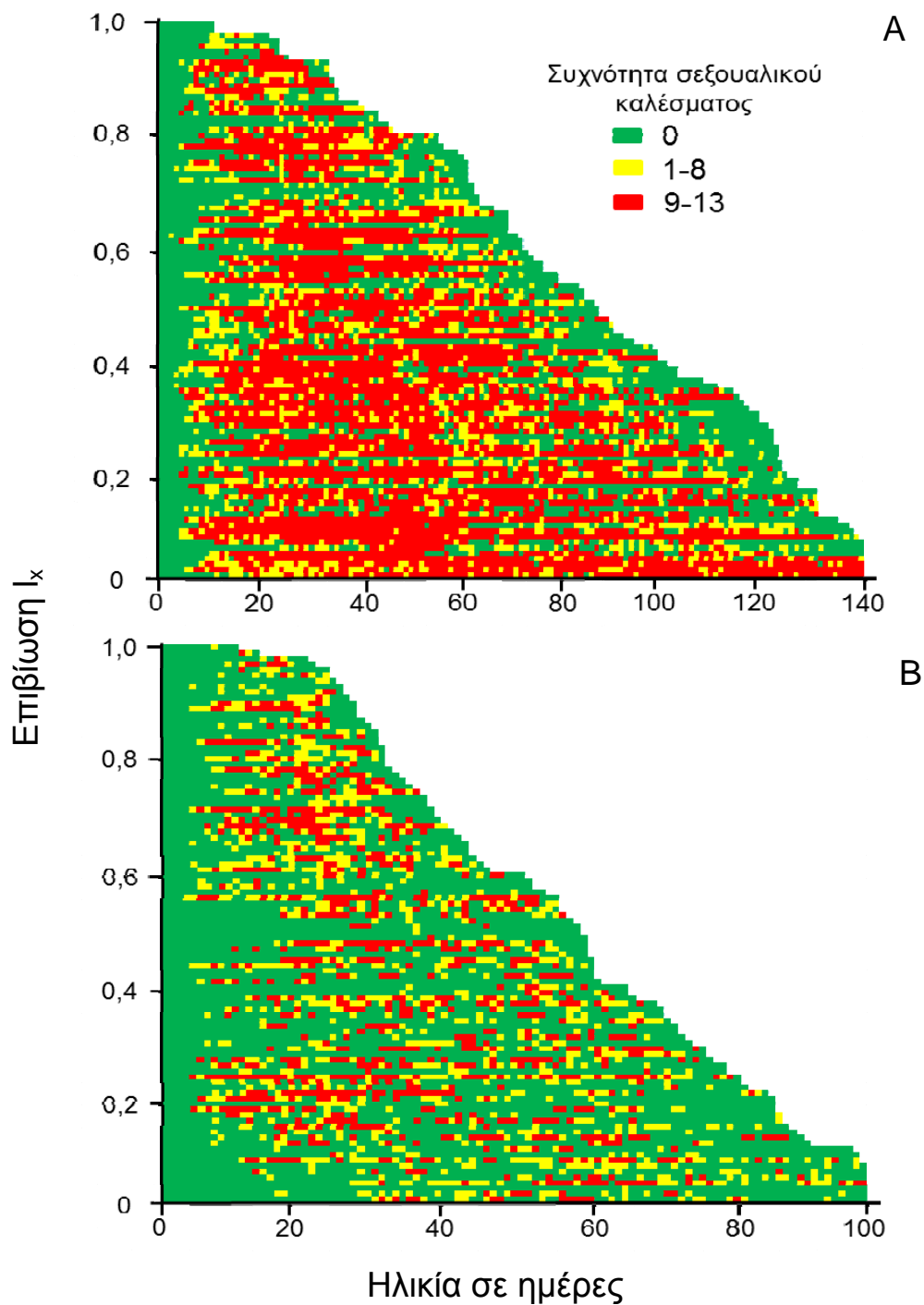
Οι ανά δεκαήμερο συγκρίσεις της συχνότητας του σεξουαλικού καλέσματος βραχύβιων και μακρόβιων αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έδειξαν σημαντικές διαφορές στις ηλικίες 40 – 50 και 50 – 60 ημερών (t-test, $P < 0,05$) (Διάγραμμα 4.6 Α, λεπτομέρειες της στατιστικής ανάλυσης δίνονται στο Παράρτημα). Τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη δεν εμφάνισαν διαφορές στο σεξουαλικό κάλεσμα σε κανένα διάστημα ηλικιών (t-test, $P > 0,05$) (Διάγραμμα 4.6 Β, λεπτομέρειες στο Παράρτημα).



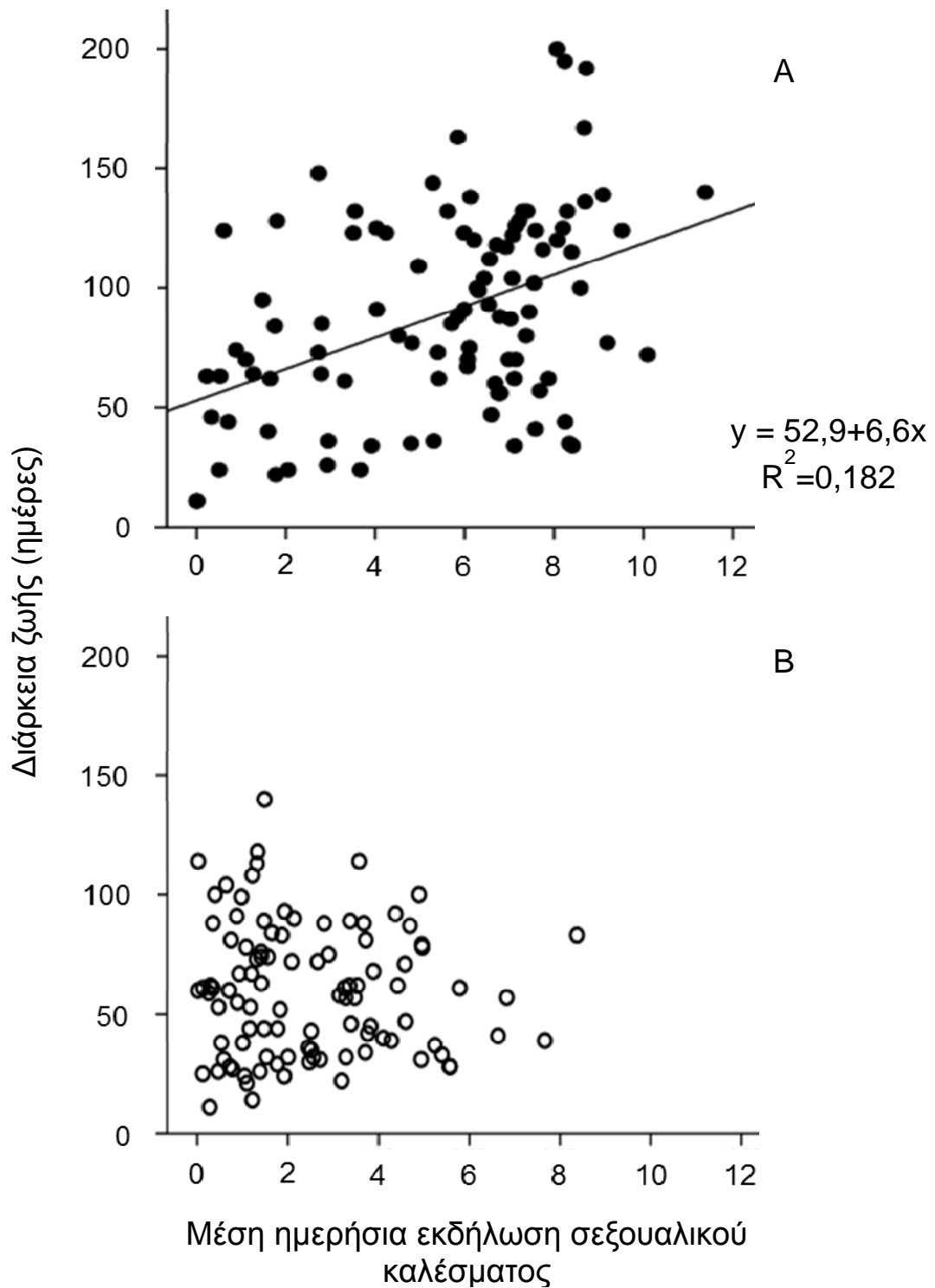
Διάγραμμα 4.1. Συχνότητα ημερήσιου σεξουαλικού καλέσματος (κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 3 ημερών), σε σύνολο 13 παρατηρήσεων, αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (συνεχόμενη γραμμή) και μόνο με ζάχαρη (διακεκομμένη γραμμή) σε σχέση με την ηλικία.



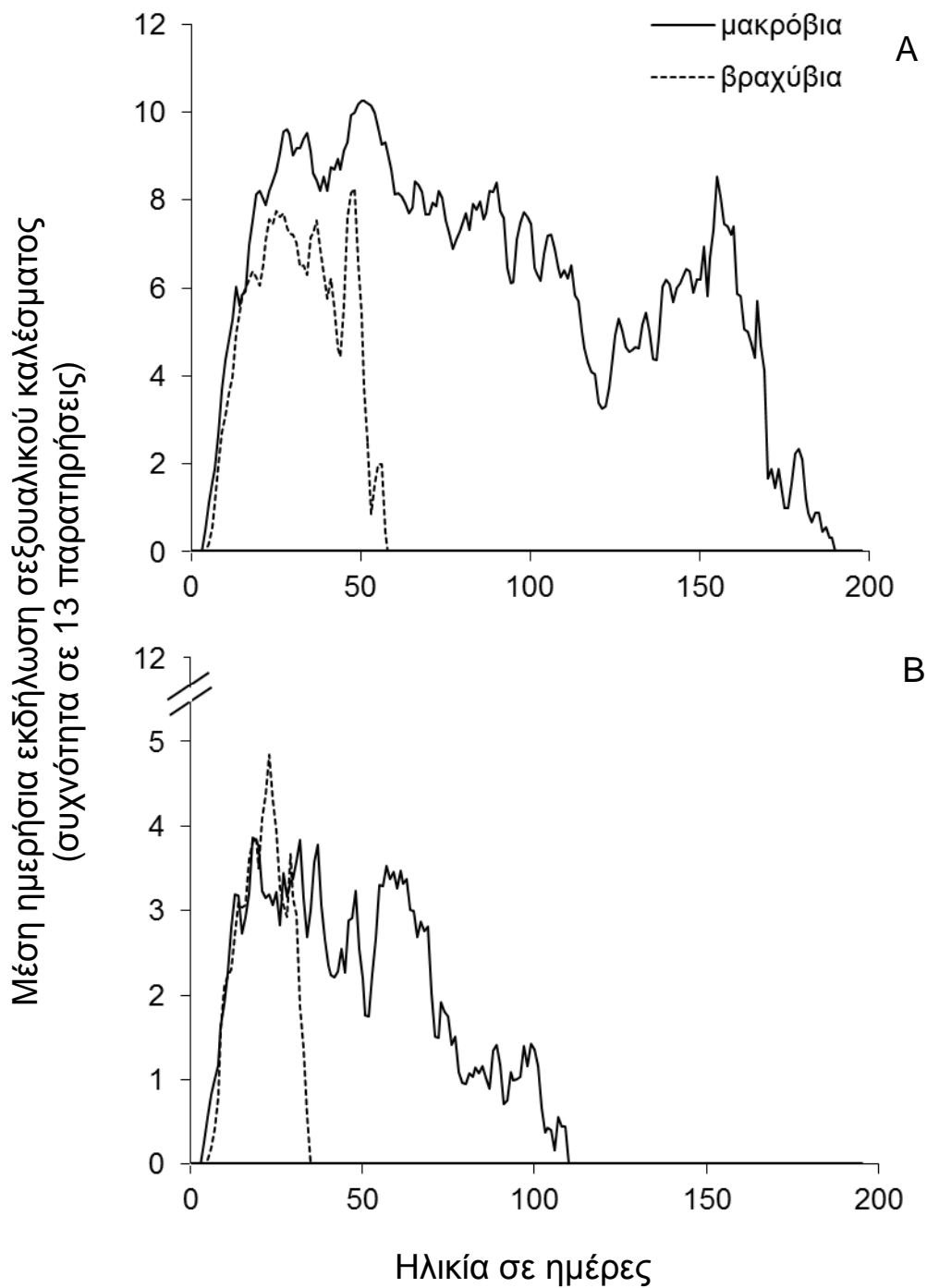
Διάγραμμα 4.2. Μέση εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (μαύρες στήλες) και μόνο με ζάχαρη (λευκές στήλες) ανά δέκα ημέρες. Ο αστερίσκος υποδεικνύει στατιστικώς σημαντικές διαφορές (t-test, $P < 0,05$).



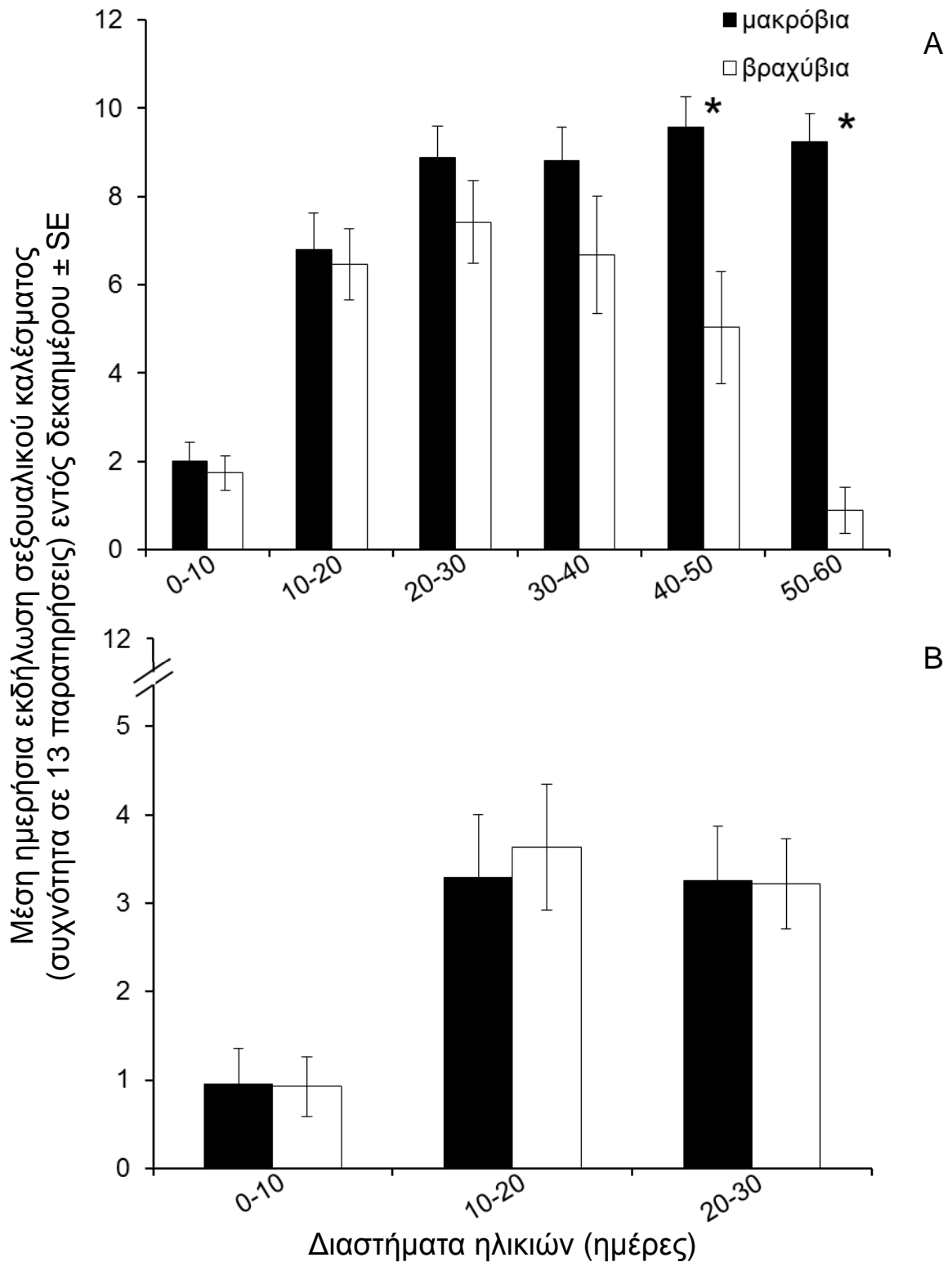
Διάγραμμα 4.3. Γραφήματα “event history” (Carey, et al., 1998a) που παρέχουν λεπτομερή απεικόνιση των ηλικιών στις οποίες τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και μόνο με ζάχαρη (B) εκδήλωσαν σεξουαλικό κάλεσμα. Κάθε άτομο αναπαρίσταται από μια οριζόντια «γραμμή» ανάλογη της διάρκειας ζωής του. Κάθε ημέρα που ένα αρσενικό εκδήλωσε σεξουαλικό κάλεσμα είναι κωδικοποιημένη χρωματικά σύμφωνα με τη συχνότητα εκδήλωσης της συμπεριφοράς.



Διάγραμμα 4.4. Μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος (συχνότητα σε 13 παρατηρήσεις) αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και μόνο με ζάχαρη (B) σε σχέση με τη διάρκεια ζωής τους.



Διάγραμμα 4.5. Μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος (κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 3 ημερών) του 25% των μακροβιότερων (συνεχόμενη γραμμή) και βραχυβιότερων (διακεκομμένη γραμμή) αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και μόνο με ζάχαρη (B) σε σχέση με την ηλικία.



Διάγραμμα 4.6. Μέση εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος του 25% των μακροβιότερων (μαύρες στήλες) και βραχυβιότερων (λευκές στήλες) αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και μόνο με ζάχαρη (B), ανά δέκα ημέρες. Ο αστερίσκος υποδεικνύει στατιστικώς σημαντικές διαφορές (t-test, $P < 0,05$).

4.5 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης προκαλεί σημαντική αύξηση στην εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου. Τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ωρίμασαν ταχύτερα και εκδήλωσαν σεξουαλικό κάλεσμα με σχεδόν διπλάσια συχνότητα σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, ανεξάρτητα από την ηλικία. Το σεξουαλικό κάλεσμα μειώθηκε σε σχέση με την ηλικία και στις δύο διατροφικές συνθήκες. Τα αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη εμφάνισαν ξεκάθαρο μοτίβο στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος σε σχέση με την ηλικία, το οποίο σε γενικές γραμμές χαρακτηρίζεται από μια σύντομη περίοδο αδράνειας, έως τη σεξουαλική ωρίμανση, που ακολουθείται από μια μεγάλη περίοδο συχνής εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος και ολοκληρώνεται με μια σύντομη περίοδο αδράνειας έως το θάνατο, στα μακρόβια αρσενικά. Η υψηλή συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος εμφάνισε θετική συσχέτιση με την επιβίωση στα αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη. Τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη δεν εμφάνισαν ξεκάθαρο μοτίβο εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος σε σχέση με την ηλικία ούτε και συσχέτιση της μακροβιότητας με τη συχνότητα εκδήλωσής του.

Προηγούμενες μελέτες έχουν δείξει ότι το σεξουαλικό κάλεσμα είναι ενεργειακά δαπανηρή συμπεριφορά και σχετίζεται άμεσα με το διατροφικό επίπεδο του εντόμου (Warburg & Yuval, 1997; Yuval et al., 1998). Το υψηλό μεταβολικό κόστος βιοσύνθεσης της σεξουαλικής φερομόνης περιορίζει τα ανταγωνιστικά αρσενικά, στη φύση, σε εκείνα που έχουν πρόσβαση σε τροφή υψηλής θρεπτικής αξίας. Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου επιβεβαιώνουν τα παραπάνω αφού η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης όχι μόνο ενίσχυσε τη συχνότητα εκδήλωσης του σεξουαλικού καλέσματος αλλά την προήγαγε σε επίπεδα διπλάσια ή ακόμα και τριπλάσια σε αρκετά ηλικιακά διαστήματα. Αντίθετα, η στέρηση της πρωτεΐνης αφενός μείωσε την ημερήσια συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος και αφετέρου προκάλεσε τη σποραδική εκδήλωσή του από τη σεξουαλική ωρίμανση έως το θάνατο των αρσενικών, καταδεικνύοντας πιθανό κόστος εκδήλωσης του σεξουαλικού καλέσματος σε συνθήκες καταπόνησης.

Το σεξουαλικό κάλεσμα, ως τμήμα της συνολικής αναπαραγωγικής συμπεριφοράς, αποτελεί βιολογική παράμετρο που εξαρτάται από την κατανομή ενέργειας ανάμεσα σε άλλα χαρακτηριστικά της σεξουαλικής συμπεριφοράς (ερωτοτροπία, σύζευξη) και την επιβίωση (Carey & Molleman, 2010). Η πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή φαίνεται ότι έδωσε πλεονέκτημα στα αρσενικά τα οποία εκδήλωσαν σεξουαλικό κάλεσμα με υψηλή συχνότητα και ταυτόχρονα έζησαν περισσότερο σε σχέση με τα αρσενικά που στερούνταν πρωτεΐνης. Η διαχείριση της ενέργειας και η κατανομή της στις βιολογικές παραμέτρους ήταν λιγότερο αποτελεσματική στην περίπτωση της φτωχής διατροφής με ζάχαρη. Συνεπώς, η κατανομή ενέργειας μεταξύ επιβίωσης και αναπαραγωγικής επιτυχίας είναι άμεσα εξαρτώμενη από τη διατροφική συνθήκη (condition dependent), στα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου.

Η ηλικία είχε αρνητική επίδραση στη συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που τρέφονταν και στα δύο είδη τροφής. Η τάση μείωσης ήταν περισσότερο εμφανής στα αρσενικά που στερούνταν πρωτεΐνης ενώ τα αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη εμφάνισαν εκ νέου αύξηση της συχνότητας εκδήλωσης της συμπεριφοράς, μετά την εξαιρετικά προχωρημένη ηλικία των 110 ημερών στην οποία, ωστόσο, επιβίωνε το 35% των ατόμων. Η εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος μπορεί να συσχετιστεί με την ηλικία των αρσενικών και να δώσει χρήσιμες πληροφορίες για τη διάρκεια της αναπαραγωγικά ενεργής περιόδου, σε διαφορετικά διατροφικά περιβάλλοντα. Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου έδειξαν ότι η αναπαραγωγική περίοδος των αρσενικών που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη έχει μεγάλη διάρκεια και εμφανίζει δύο μέγιστα, σε νεαρή και σε προχωρημένη ηλικία. Η μείωση της συχνότητας εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος, μετά το πρώτο μέγιστο, μπορεί να συσχετιστεί με το τέλος της αναπαραγωγικής περιόδου και την αύξηση της θνησιμότητας ενός μεγάλου ποσοστού αρσενικών. Άλλωστε, προηγούμενη μελέτη συσχετίζει θετικά την πρόσφατη συχνότητα και όχι τη συνολική εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος με τη μακροβιότητα στη μύγα της Μεσογείου (Zhang et al., 2006). Επίσης, η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος διήρκησε έως το θάνατο στα βραχύβια αρσενικά αλλά ακολουθήθηκε από περίοδο αδράνειας στα μακρόβια αρσενικά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή. Η διακοπή εκδήλωσης του

σεξουαλικού καλέσματος και η διάρκεια της περιόδου αδράνειας πριν το θάνατο μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν δείκτες υψηλού κινδύνου θνησιμότητας. Η έλλειψη της περιόδου αδράνειας πριν το θάνατο στα βραχύβια αρσενικά χρήζει περαιτέρω μελέτης και θα μπορούσε να δώσει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με τους παράγοντες (γενετικούς, φυσιολογικούς) που συνδέονται με το συγκεκριμένο φαινόμενο.

Από την άλλη μεριά, η αναπαραγωγική περίοδος των αρσενικών που στερούνταν πρωτεΐνης διήρκησε λιγότερο, μειώθηκε σταθερά σε σχέση με την ηλικία και δεν εμφάνισε ξεκάθαρο μοτίβο περιόδων υψηλής συχνότητας εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος και αδράνειας. Η συνθήκη καταπόνησης (έλλειψη πρωτεΐνης) εκφράζεται με εντελώς διαφορετικό προφίλ στη σεξουαλικά ενεργή περίοδο των αρσενικών αυτών και πιθανώς να δείχνει ότι τα αρσενικά που δεν έχουν πρόσβαση σε πρωτεΐνη βρίσκονται συνεχώς σε ενεργειακή υστέρηση και κατανέμουν την ενέργειά τους σποραδικά και λιγότερο αποτελεσματικά ανάμεσα στην παραγωγή και έκλυση φερομόνης, με σκοπό την αναπαραγωγή, και στη διατήρηση του σώματος με σκοπό την επιβίωση.

Προηγούμενη μελέτη αποδεικνύει ότι αρσενικά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη εμφανίζουν θετική συσχέτιση ανάμεσα στη συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος και στη μακροβιότητα (Paradopoulos et al., 2004). Η συμπεριφορά αυτή αποτελεί δείκτη πρόβλεψης της μακροβιότητας των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου και αποτελεί χρήσιμο εργαλείο για τη μελέτη της λειτουργικής γήρανσης. Επιπλέον, η θετική συσχέτιση της επιβίωσης των αρσενικών και συμπεριφορών που σχετίζονται με την ανταγωνιστικότητα και την αναπαραγωγική επιτυχία παρατηρούνται συχνότερα σε αναπαραγωγικά συστήματα τύπου "lek" (Jennions et al., 2001), επιβεβαιώνοντας την εξελικτική θεωρία των «καλών γονιδίων» (Zahavi, 1975). Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου ενισχύουν τη θέση αυτή και επιπλέον δείχνουν ότι δεν υπάρχει συσχέτιση της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος με την επιβίωση σε συνθήκες καταπόνησης (έλλειψη πρωτεΐνης στην τροφή). Οι ενεργειακά δαπανηρές συμπεριφορές (σεξουαλικό κάλεσμα, ερωτοτροπία) που σχετίζονται με τη σεξουαλική ανταγωνιστικότητα και την αναπαραγωγική επιτυχία των αρσενικών εξαρτώνται άμεσα από τη συνθήκη και πιθανά να αποτελούν δείκτες γενετικής ανωτερότητας μόνο σε ευνοϊκές

περιβαλλοντικές συνθήκες. Η μελέτη των συμπεριφορών αυτών σε διαφορετικές συνθήκες καταπόνησης θα συμβάλει στην κατανόηση της ενεργειακής κατανομής στις διάφορες βιολογικές παραμέτρους των αρσενικών. Επιπλέον, η εκτίμηση του κόστους εκδήλωσης συμπεριφορών που σχετίζονται με την αναπαραγωγή σε διαφορετικές συνθήκες καταπόνησης θα δώσει χρήσιμες πληροφορίες σχετικά με την επίδραση του περιβάλλοντος τόσο στην επιβίωση των αρσενικών όσο και στην ανταγωνιστικότητά τους σε προχωρημένες ηλικίες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

5 ΣΧΕΣΗ ΤΗΣ ΜΑΚΡΟΒΙΟΤΗΤΑΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΥΠΤΙΑΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΤΥΠΟΥ “SUPINE” ΤΩΝ ΕΝΗΛΙΚΩΝ

5.1 Περίληψη

Στο παρόν κεφάλαιο μελετήθηκε η σχέση της μη υγιούς περιόδου της ζωής ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου με τη μακροβιότητά τους. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε η πρώτη εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς τύπου “supine” ως δείκτης έναρξης της μη υγιούς περιόδου. Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με έντομα F₁ γενεάς σε δύο είδη τροφής (ζάχαρη, ζάχαρη και πρωτεΐνη). Τα μακροβιότερα άτομα ήταν πιθανότερο να εκδηλώσουν ύπτια συμπεριφορά ενώ τα βραχύβια άτομα συνήθως πέθαιναν πριν την εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς. Αρσενικά και θηλυκά είχαν παραπλήσιο προσδόκιμο ζωής αλλά τα αρσενικά εκδήλωσαν μεγαλύτερο προσδόκιμο υγιούς ζωής. Το φύλο και η τροφή είχαν σημαντική επίδραση στη διάρκεια της υγιούς περιόδου πριν την εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς και στη συνολική διάρκεια της υγιούς ζωής. Η επιβίωση αρσενικών και θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή αρσενικών και θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Ωστόσο, παρατηρήθηκαν σχετικά μικρές διαφορές στο ποσοστό της υγιούς περιόδου (64 έναντι 61% για τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και με ζάχαρη και πρωτεΐνη, αντίστοιχα και 77 έναντι 72% για τα αρσενικά που τράφηκαν μόνο με ζάχαρη και με ζάχαρη και πρωτεΐνη, αντίστοιχα). Το εύρημα αυτό, ότι δηλαδή δεν υπάρχουν σημαντικές μεταβολές στη διάρκεια της μη υγιούς ζωής ως μέρος της συνολικής διάρκειας ζωής συμφωνεί με το «μοντέλο δυναμικής ισορροπίας» της υγιούς γήρανσης.

5.2 Εισαγωγή

Ένα από τα σημαντικότερα ερωτήματα στο χώρο της υγειονομικής περιθάλησης, στις αναπτυσσόμενες χώρες, είναι ο τρόπος με τον οποίο η υγιής

περίοδος (η περίοδος πριν την εκδήλωση χρόνιων προβλημάτων υγείας και ασθενειών) μεταβάλλεται όταν αυξάνει η μακροβιότητα. Η υπόθεση γύρω από την οποία τέθηκε αρχικά το ερώτημα αυτό, γνωστή και ως μοντέλο «συμπίεσης της νοσηρότητας» (“morbidity compression” model) αναπτύχθηκε πριν από 30 χρόνια από τον ρευματολόγο James Fries (Fries, 1980). Σύμφωνα με το μοντέλο αυτό, που θεωρείται ως το κυρίαρχο παράδειγμα υγιούς γήρανσης από τους περισσότερους ερευνητές στο χώρο της υγείας, αν η ηλικία κατά την οποία εμφανίζεται η πρώτη χρόνια ασθένεια μπορεί να παραταθεί περισσότερο από την ηλικία του θανάτου, η συνολική νοσηρή περίοδος θα συμπιεστεί σε μια συντομότερη χρονική περίοδο κοντά στην ηλικία θανάτου. Στη συνέχεια, αναπτύχθηκαν δύο συμπληρωματικές υποθέσεις του Manton (2008) και Manton et al., (2008). Σύμφωνα με την πρώτη, γνωστή και ως μοντέλο «επέκτασης της νοσηρότητας» (“morbidity expansion” model), η περίοδος νοσηρότητας πριν το θάνατο αυξάνει με τη μακροζωία. Η αντίληψη της «αποτυχίας της επιτυχίας» (failure of success) που εισήχθη από τον Gruenberg (1977) και υποστηρίζει ότι οι άνθρωποι που ζουν περισσότερο είναι λιγότερο υγιείς (π.χ. η τεχνολογία επέτρεψε στους αδύναμους οργανισμούς να επιζούν μέχρι μεγαλύτερες ηλικίες) ήταν ουσιαστικά ο προάγγελος της θεωρίας της «επέκτασης της νοσηρότητας». Η δεύτερη συμπληρωματική υπόθεση είναι γνωστή και ως «μοντέλο δυναμικής ισορροπίας» (“dynamic equilibrium model”) και υποστηρίζει ότι η περίοδος νοσηρότητας και η συνολική διάρκεια ζωής μεταβάλλονται αναλογικά. Το μοντέλο αυτό προβλέπει ότι η μείωση στο ρυθμό προόδου της νόσου καθυστερεί την εκδήλωση σοβαρότερων προβλημάτων. Έτσι, η μείωση της θνησιμότητας πιθανώς σχετίζεται με εκδήλωση της νόσου και της ανικανότητας που αυτή επιφέρει με λιγότερο σοβαρά συμπτώματα (Graham et al., 2004; Manton, 2008).

Τα τρία παραπάνω μοντέλα στηρίζονται από πρόσφατες πληροφορίες σχετικά με ασθένειες προερχόμενες από διαφορετικές χώρες. Για παράδειγμα, το ποσοστό των ετών που οι κάτοικοι της Αυστραλίας, της Μεγάλης Βρετανίας και της Αυστρίας έζησαν υγιείς μειώθηκε, παρέμεινε σταθερό και αυξήθηκε, αντίστοιχα. Σύμφωνα με τους Robine και Michel (2004), κάθε έρευνα στηρίζει και διαφορετικό σενάριο (π.χ. επέκταση της νοσηρότητας στην Αυστραλία από το 1981 έως το 1998, δυναμική ισορροπία στη Μεγάλη Βρετανία από το 1981

έως το 1999 και συμπίεση της νοσηρότητας στην Αυστρία από το 1978 έως το 1998). Παρά το γεγονός ότι η σύγκριση προϋποθέτει μια σχέση ανάμεσα στην αρχική τιμή του προσδόκιμου ζωής στα 65 έτη και στη μεταβολή του προσδόκιμου υγιούς ζωής, υπάρχουν πολλοί άλλοι παράγοντες που απασχολούν μελέτες σχετικές με δυναμικές νοσηρότητας και θνησιμότητας (Freedman et al., 2004). Κάποιοι από αυτούς είναι η έλλειψη πρότυπων δεικτών για την περιγραφή της έναρξης της νοσηρότητας, η υποκειμενικότητα των αυτό-αναφερόμενων στοιχείων για την υγεία, η ανομοιογένεια των ερωτηθέντων της έρευνας, η συνεχής μεταβολή των συνθηκών υγείας και περιθαλψής και προβλήματα που σχετίζονται με τη χρήση στοιχείων που συλλέγονται με περιοδικές παρατηρήσεις και όχι με τη μελέτη μιας ομάδας ατόμων σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους (lifetime).

Οι Crimmins και συνεργάτες αντιμετώπισαν σημαντικές δυσκολίες όταν προσπάθησαν να ταξινομήσουν τις δυναμικές, που διαμορφώνουν την επικράτηση αδυναμιών σε κάθε ηλικία, με μια μέθοδο που να μπορεί να εφαρμοστεί τόσο σε ανθρώπους όσο και σε άλλα είδη καταλήγοντας ότι: «Δεν μπορεί κανείς να συμπεράνει από τη μείωση της εκδήλωσης μιας αναπηρίας (disability) σε προχωρημένη ηλικία αν η αναπηρία αναβλήθηκε λόγω μείωσης στη συχνότητα εμφάνισης συμπτωμάτων, λόγω αύξησης της ανάκαμψης ή λόγω μεταβολών στη θνησιμότητα των ατόμων με αναπηρία ή χωρίς αναπηρία. Η εξήγηση μπορεί να αφορά σε αλλαγές οποιουδήποτε από τους παραπάνω παράγοντες», σελ. 627 (Crimmins et al., 2009).

Η αξιολόγηση της κατάστασης της υγείας είναι επίπονη διαδικασία εξαιτίας της δυσκολίας κατάταξης των καταστάσεων υγείας, καθώς και λόγω διαφορών και αποκλίσεων στα συμπεράσματα ερευνών που σχεδιάστηκαν για τον έλεγχο υποθέσεων που αντιπροσωπεύουν και εξηγούν με τον καλύτερο δυνατό τρόπο στοιχεία υγείας από διαφορετικές χώρες και χρονικές περιόδους. Στόχος του παρόντος κεφαλαίου ήταν να χρησιμοποιηθεί η μύγα της Μεσογείου ως οργανισμός μοντέλο για την αντιμετώπιση ζητημάτων που εξετάζουν τη σχέση της διάρκειας υγιούς ζωής με τη συνολική διάρκεια ζωής. Η μύγα της Μεσογείου ως οργανισμός πρότυπο (μοντέλο) πληροί δύο απαραίτητες συνθήκες για τον έλεγχο της υπόθεσης συμπίεσης της νοσηρότητας. Η πρώτη είναι η δυνατότητα χειρισμού του προσδόκιμου ζωής του πληθυσμού δίνοντας στα έντομα τη δυνατότητα πρόσβασης είτε σε τροφή

πλούσιας διατροφικής αξίας (ζάχαρη και πρωτεΐνη) είτε φτωχής (μόνο ζάχαρη). Είναι άλλωστε γνωστό ότι το προσδόκιμο ζωής της μύγας της Μεσογείου είναι σημαντικά χαμηλότερο όταν τρέφεται με τροφή χωρίς πρωτεΐνη (Carey, 2003; Carey et al., 2002b). Η δεύτερη σημαντική συνθήκη είναι η ύπαρξη ενός δείκτη αναπηρίας που να μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον καθορισμό της κατάστασης της υγείας.

Βιοδείκτες γήρανσης, δηλαδή συμπεριφορικές ή βιολογικές παράμετροι ενός οργανισμού που δίνουν περισσότερο ακριβείς προβλέψεις όσον αφορά τη λειτουργική ικανότητα και τον κίνδυνο θανάτου του οργανισμού απ' ότι δίνει η ίδια η ηλικία του οργανισμού, χρησιμοποιούνται ευρέως στην ιατρική και γηριατρική (Markowska & Breckler, 1999). Η ύπτια συμπεριφορά στη μύγα της Μεσογείου (*surine*) που αποτελεί βιοδείκτη της γήρανσης περιγράφηκε πρώτη φορά το 2002 (Papadopoulos et al., 2002a) και χαρακτηρίζεται από αναστροφή του εντόμου και παραμονή σε ύπτια θέση με το νωτιαίο τμήμα του θώρακα στο δάπεδο του κλουβιού. Έχοντας αποκτήσει τη θέση αυτή, μπορεί να κουνάει τα πόδια και τα στοματικά του μόρια. Το έντομο μοιάζει νεκρό ή ετοιμοθάνατο αλλά είτε αυθόρμητα είτε μετά από ήπια ενόχληση επανέρχεται στη φυσική του στάση και μπορεί να εκδηλώνει συμπεριφορές (βάδιση, διατροφή, κίνηση πτερυγών) που καθιστούν αδύνατη τη διάκρισή του από έντομα που δεν εκδηλώνουν την ύπτια συμπεριφορά. Η ύπτια συμπεριφορά υποδεικνύει λειτουργικό περιορισμό στη μύγα της Μεσογείου, προβλέπει τη στιγμή θανάτου του ατόμου και ως εκ τούτου συνδέεται με την υγεία του.

Η ηλικία στην οποία παρατηρήθηκε για πρώτη φορά η ύπτια συμπεριφορά χρησιμοποιήθηκε προκειμένου να οριστεί το τέλος της υγιούς περιόδου και κατά συνέπεια η μετάβαση στη μη υγιή περίοδο. Έτσι, η χρονική διάρκεια πριν και μετά την πρώτη εμφάνιση της ύπτιας συμπεριφοράς αποτελεί το υγιές και το μη υγιές τμήμα της ζωής, αντίστοιχα. Η μετάβαση των ατόμων, που δεν εκδηλώνουν ύπτια συμπεριφορά, γίνεται από το υγιές στάδιο στο θάνατο, ενώ για τα άτομα που εκδηλώνουν την ύπτια συμπεριφορά η μετάβαση γίνεται από το υγιές στο μη υγιές στάδιο και από το μη υγιές στάδιο στο θάνατο. Η εγκυρότητα της συμπεριφοράς αυτής ως δείκτης «κακής υγείας» υποστηρίζεται από πλήθος παραγόντων όπως είναι η τάση των υγιών ατόμων της μύγας της Μεσογείου να επανέρχονται αμέσως μετά την περιστασιακή πτώση με τη ράχη τους στο δάπεδο του κλουβιού στην

κανονική τους στάση, η έλλειψη εμφάνισης της συμπεριφοράς αυτής σε ιδιαίτερα νεαρές ηλικίες και η προβλεψιμότητα του επικείμενου θανάτου από τη στιγμή της πρώτης παρατήρησης της.

Το παρόν κεφάλαιο στηρίζεται τόσο σε προηγούμενες εργασίες για την ύπτια συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου (Papadopoulos et al., 2002a) όσο και σε εργασίες σχετικές με δείκτες αναπηρίας άλλων ειδών των οικογενειών *Drosophilidae* και *Tephritidae* (Carey et al., 2009; Carey & Papadopoulos, 2005; Carey et al., 2006). Στόχος των παραπάνω ερευνών ήταν να μελετηθεί η γήρανση σε πρότυπους οργανισμούς, και κυρίως σε ασπόνδυλα, στους οποίους άλλες ενδείξεις, εκτός του θανάτου, λαμβάνονται υπόψη στο πλαίσιο της υγιούς ζωής.

5.3 Υλικά και μέθοδοι

5.3.1 Διατήρηση εντόμων και καταγραφή ύπτιας συμπεριφοράς

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ. το διάστημα 2008 – 2009. Οι συνθήκες που επικρατούσαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτισμός) περιγράφονται στο Κεφάλαιο 2 (Ενότητα 2.1). Χρησιμοποιήθηκαν έντομα που συλλέχθηκαν από προσβεβλημένα νεράντζια και μανταρίνια από την περιοχή της Νέας Αγχιάλου Μαγνησίας και εκτράφηκαν για 1 έως 2 γενεές ($F_1 - F_2$) στο εργαστήριο. Λεπτομερής περιγραφή της μεθόδου εκτροφής δίνεται στο Κεφάλαιο 2 (Ενότητα 2.2).

Αμέσως μετά την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα τα ενήλικα τοποθετούνταν ατομικά σε κλουβιά όγκου 400 ml (λεπτομερής περιγραφή των κλουβιών δίνεται στην Ενότητα 2.3, Εικόνα 2.4 Α). Τα ενήλικα είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε νερό και τροφή, η οποία αποτελούνταν είτε από υδρολυμένη μαγιά, ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:4:5 (ζάχαρη και πρωτεΐνη), είτε από ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:3 (ζάχαρη). Το νερό ανανεωνόταν στα κλουβιά 2 – 3 φορές την εβδομάδα ενώ η προσθήκη φρέσκιας τροφής πραγματοποιούνταν κάθε εβδομάδα. Συνολικά, καταγράφηκε η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς σε 400 άτομα (100 αρσενικά και 100 θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και 100 αρσενικά και 100 θηλυκά που

τρέφονταν μόνο με ζάχαρη).

Η σχέση της μη υγιούς περιόδου με τη μακροβιότητα στα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου προσδιορίστηκε καταμετρώντας τον αριθμό των ενηλίκων που εκδήλωναν ύπτια συμπεριφορά. Η εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς καταγραφόταν καθημερινά με δίωρες παρατηρήσεις από τις 10:00 έως και τις 12:00, ανά 10 λεπτά (σύνολο 13 παρατηρήσεις την ημέρα), από την έξοδο των ενηλίκων (ημέρα 0) έως το θάνατο. Εκτός από την εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς καταγράφηκε η ηλικία θανάτου για κάθε άτομο.

5.3.2 Στατιστική ανάλυση

Ένας από τους στόχους του κεφαλαίου αυτού ήταν να προσδιοριστεί η σχέση του προσδόκιμου υγιούς ζωής (αριθμός ημερών πριν την εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς – ηλικία πρώτης εκδήλωσης ύπτιας συμπεριφοράς) και του συνολικού προσδόκιμου ζωής (ηλικία θανάτου) χρησιμοποιώντας το φύλο, την τροφή και τη διάρκεια ζωής ως συμμεταβλητές του μοντέλου. Για το λόγο αυτό, ορίστηκε ως T η διάρκεια ζωής (ηλικία θανάτου) της μύγας της Μεσογείου, ως S η διάρκεια της υγιούς ζωής (ηλικία πρώτης εκδήλωσης ύπτιας συμπεριφοράς) και ως $f = S/T$ το ποσοστό (fraction) της υγιούς ζωής. Οι παραπάνω παράμετροι υπολογίστηκαν ξεχωριστά για κάθε άτομο και, κατά συνέπεια, η μέση τιμή του ποσοστού υγιούς ζωής, σε γενικές γραμμές, δεν ισούται με τη μέση ηλικία της πρώτης εμφάνισης ύπτιας συμπεριφοράς S προς τη μέση ηλικία θανάτου T . Στις περιπτώσεις ατόμων της μύγας της Μεσογείου στα οποία δεν παρατηρήθηκε ύπτια συμπεριφορά ορίστηκε $S = T$ και $f = 1$.

Εφαρμόστηκε το μοντέλο ευθύγραμμης συμμεταβολής με παράγοντες το φύλο και το είδος της τροφής και στη συνέχεια αναπτύχθηκε το μοντέλο:

$$f = \beta_0^f + 1_G \beta_1^f + 1_D \beta_2^f + 1_S \beta_3^f + 1_G 1_S \beta_4^f \quad (1)$$

$$T = \beta_0^T + 1_G \beta_1^T + 1_D \beta_2^T + 1_S \beta_3^T, \quad (2)$$

Όπου 1_G είναι ο δείκτης του φύλου (1 = αρσενικό, 0 = θηλυκό), 1_D ο δείκτης του είδους τροφής (1 = ζάχαρη και πρωτεΐνη, 0 = μόνο ζάχαρη), 1_S ο δείκτης

της ύπτιας συμπεριφοράς (1 = εκδήλωση, 0 = μη εκδήλωση) και $\{\beta_k^j\}_{k=0}^4, j = f, T$ οι αντίστοιχοι συντελεστές της συμμεταβολής.

5.4 Αποτελέσματα

5.4.1 Εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς σε σχέση με το φύλο και την ηλικία

Ποσοστό 25% (99 άτομα) του συνόλου των ατόμων που εξετάστηκαν δεν εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά πριν πεθάνουν. Αναλυτικότερα, τα έντομα που δεν εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά ήταν 12 θηλυκά και 24 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και 25 θηλυκά και 38 αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Περισσότερα από τα μισά άτομα του πληθυσμού που ελέγχθηκε εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά μόνο τις τελευταίες 7 ημέρες της ζωής τους.

Τα διαγράμματα τύπου “event history” (Διάγραμμα 5.1) παρέχουν λεπτομερή αποτύπωση των αποτελεσμάτων και δύο σημαντικές πληροφορίες όσον αφορά τη σχέση των δύο φύλων με την επιβίωση και τη μη υγιή περίοδο. Πρώτα, οι καμπύλες επιβίωσης αρσενικών και θηλυκών σε κάθε τροφή ήταν παραπλήσιες. Η θνησιμότητα ήταν σχετικά χαμηλή σε νεαρές ηλικίες (ήπια κλίση στις καμπύλες επιβίωσης για ηλικίες μικρότερες των 20 – 30 ημερών όλων των μεταχειρίσεων), υψηλότερη για τα άτομα μέσης ηλικίας (σχεδόν γραμμική μείωση της επιβίωσης) και χαμηλή στις μεγαλύτερες ηλικίες, όπως αντικατοπτρίζεται και από τις μακριές ουρές στα διαγράμματα. Επιπλέον, η διάρκεια των μη υγιών περιόδων ήταν μεγαλύτερη στα θηλυκά απ’ ότι στα αρσενικά. Τέλος, η περίοδος ανάμεσα στην πρώτη εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς και στο θάνατο εμφάνισε σημαντικές διακυμάνσεις, από μερικούς μήνες σε κάποια άτομα έως λίγες ημέρες σε κάποια άλλα. Το μοντέλο της γραμμικής συμμεταβολής δεν εμφάνισε σημαντική αλληλεπίδραση μεταξύ του φύλου και της τροφής στην εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς.

5.4.2 Επιβίωση, μη υγιής και υγιής περίοδος ζωής

Με βάση τα μοντέλα (1) και (2), αρσενικά και θηλυκά δεν εμφάνισαν

σημαντικές διαφορές στην επιβίωση και στο τμήμα υγιούς ζωής (Πίνακας 5.1). Ωστόσο, όταν η σύγκριση πραγματοποιήθηκε στα άτομα που εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά, τα αρσενικά παρουσίασαν μεγαλύτερη περίοδο υγιούς ζωής σε σχέση με τα θηλυκά. Η έλλειψη πρωτεΐνης στην τροφή μείωσε σημαντικά την επιβίωση αλλά δεν επηρέασε τη διάρκεια της υγιούς ζωής. Επιπλέον, η αλληλεπίδραση του φύλου και της εκδήλωσης ύπτιας συμπεριφοράς είχε σημαντική επίδραση στο ποσοστό της υγιούς ζωής (f). Τα άτομα που εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά εμφάνισαν μεγαλύτερη διάρκεια ζωής σε σχέση με τα άτομα που δεν εκδήλωσαν τη συγκεκριμένη συμπεριφορά.

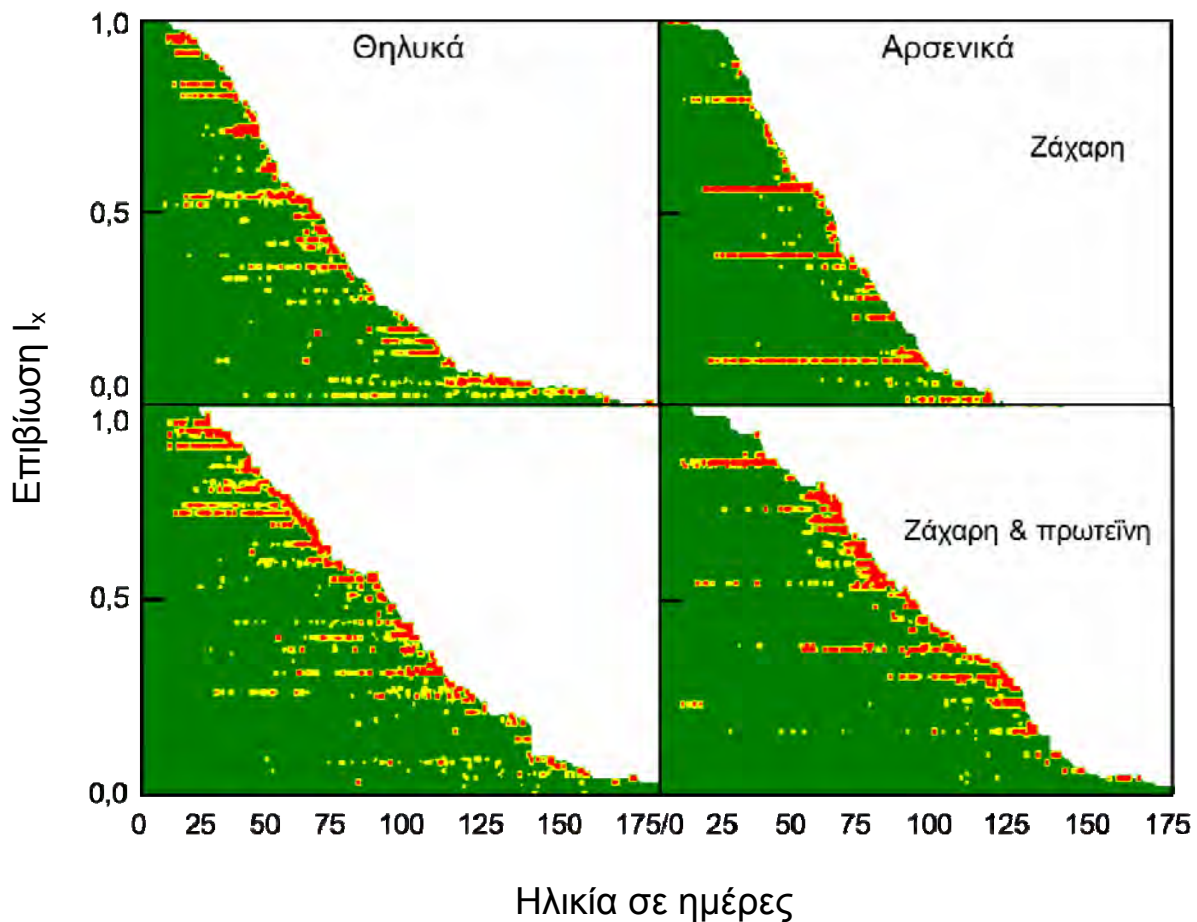
Ανεξάρτητα από το είδος της τροφής, αρσενικά και θηλυκά έζησαν περίπου 10 εβδομάδες και δεν εκδήλωσαν σημαντικές διαφορές στο προσδόκιμο ζωής. Τα άτομα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη έζησαν 2 μήνες περίπου, ενώ τα άτομα που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έζησαν σχεδόν 3 μήνες (Πίνακας 5.2). Η έλλειψη πρωτεΐνης στην τροφή μείωσε περισσότερο την επιβίωση των αρσενικών απ' ό,τι αυτή των θηλυκών. Ο συνολικός αριθμός των υγιών ημερών, που παρατηρήθηκαν πριν την εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς, και η συνολική διάρκεια της υγιούς περιόδου, ως τμήμα της συνολικής διάρκειας ζωής, σχετίζονταν τόσο με το φύλο όσο και με το είδος της τροφής. Παρά τις διαφορές στη μακροβιότητα και στη διάρκεια της υγιούς περιόδου μεταξύ ατόμων που τράφηκαν στα δύο είδη τροφής (2 και 4 εβδομάδες για τα θηλυκά και τα αρσενικά, αντίστοιχα), οι διαφορές στα ποσοστά της υγιούς ζωής τους (f) ήταν σχετικά μικρές (64% έναντι 61% για τα θηλυκά και 77% έναντι 72% για τα αρσενικά). Το γεγονός ότι οι διαφορές αυτές ήταν μικρές και στατιστικά μη σημαντικές βρίσκεται σε συμφωνία με το μοντέλο «δυναμικής ισορροπίας» της υγιούς γήρανσης σύμφωνα με το οποίο όταν αυξάνει η μακροβιότητα δεν αυξάνει αναλογικά και η μη υγιής περίοδος της ζωής (Manton, 2008).

5.4.3 Ρυθμοί επικινδυνότητας

Οι αναλογίες κινδύνου σε σχέση με την ηλικία (age specific hazard rates) σχετίζονται με καθεμία από τις 3 καταστάσεις της μύγας της Μεσογείου κατά τις οποίες οι όροι «υγιής» και «μη υγιής» αντιστοιχούν στις περιόδους

πριν την εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς και μετά την εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς, αντίστοιχα. Έτσι, η πρώτη κατάσταση ορίστηκε ως η μετάβαση από την υγιή περίοδο στο θάνατο, η δεύτερη ως η μετάβαση από την υγιή περίοδο στη μη υγιή περίοδο και η τρίτη από τη μη υγιή περίοδο στο θάνατο. Οι αναλογίες κινδύνων των ατόμων που είχαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή και ανήκαν στη πρώτη κατάσταση (υγιής περίοδος – θάνατος) ήταν σχετικά χαμηλές και αντιπροσωπεύουν τόσο το μεγαλύτερο προσδόκιμο ζωής των ατόμων αυτών όσο και το μεγαλύτερο αριθμό ατόμων που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και εισέρχονταν στη μη υγιή κατάσταση. Για παράδειγμα, 12% «υγιών» θηλυκών και 24% «υγιών» αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη πέθαναν χωρίς να εκδηλώσουν ύπτια συμπεριφορά ενώ για τα άτομα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, τα αντίστοιχα ποσοστά ήταν 25% των θηλυκών και 38% των αρσενικών. Με άλλα λόγια, σχεδόν διπλάσιο ποσοστό θηλυκών και 50% περισσότερα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη πέθαναν ενώ βρίσκονταν στην υγιή περίοδο σε σχέση με εκείνα που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη.

Επιπλέον, υπολογίστηκαν μη παραμετρικές συναρτήσεις της αναλογίας κινδύνου για την ηλικία στην οποία εμφανίζεται πρώτη φορά η ύπτια συμπεριφορά S , με το χρόνο έως το θάνατο για τα άτομα που διένυαν τη μη υγιή περίοδο να αντιστοιχεί στην ηλικία $T - S$ και με το χρόνο έως το θάνατο, ανεξάρτητα από την κατάσταση υγείας, να αντιστοιχεί στη διάρκεια ζωής T για το υποσύνολο των ατόμων που εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά. Στο Διάγραμμα 5.2 δίνονται οι αναλογίες κινδύνου για το χρόνο έως το θάνατο. Η αύξηση του κινδύνου θανάτου στις μεγαλύτερες ηλικίες προκλήθηκε αργότερα στα άτομα που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη σε σχέση με αυτά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Επίσης, ο κίνδυνος θανάτου αυξήθηκε νωρίτερα στα αρσενικά απ' ότι στα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (Διάγραμμα 5.2 Α). Σχεδόν σε όλες τις ηλικιακές ομάδες, ο κίνδυνος μετάβασης στη μη υγιή περίοδο ήταν υψηλότερος στα θηλυκά, ανεξάρτητα από το είδος της τροφής (Διάγραμμα 5.2 Β). Αρσενικά και θηλυκά πέθαιναν γρηγορότερα από τη στιγμή που εισέρχονταν στη μη υγιή περίοδο αλλά ο κίνδυνος θανάτου μειωνόταν απότομα όσο αυξανόταν η διάρκεια παραμονής στη μη υγιή περίοδο (Διάγραμμα 5.2 Γ).



Διάγραμμα 5.1. Γραφήματα “event history” (Carey et al., 1998a) που παρέχουν λεπτομερή απεικόνιση των ηλικιών στις οποίες άτομα των δύο φύλων εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά σε κάθε τύπο τροφής. Κάθε άτομο αναπαριστάται από μια οριζόντια «γραμμή» ανάλογη της διάρκειας ζωής του. Κάθε ημέρα που ένα άτομο εκδήλωσε ύπτια συμπεριφορά είναι κωδικοποιημένη χρωματικά σύμφωνα με τη συχνότητα εκδήλωσης της συμπεριφοράς (το πράσινο υποδεικνύει μη εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς, το κίτρινο υποδεικνύει μια με έξι παρατηρήσεις της ύπτιας συμπεριφοράς και το κόκκινο δηλώνει επτά με δεκατρείς παρατηρήσεις ύπτιας συμπεριφοράς).

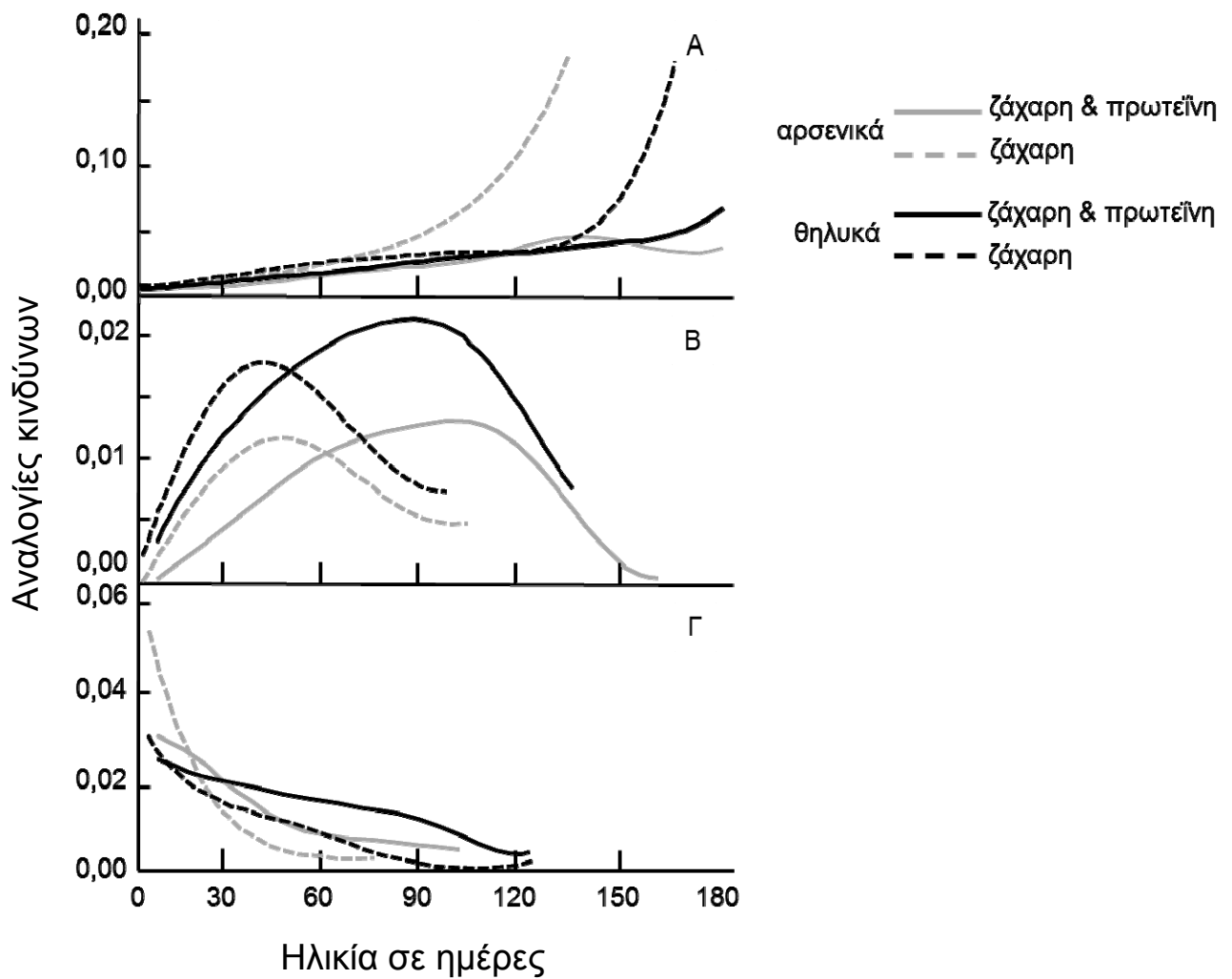
Πίνακας 5.1: Τιμές δεικτών και τυπικά σφάλματα για τα μοντέλα 1 και 2.

Παράμετρος	Εκτίμηση	Τυπικό σφάλμα	Τιμή t	Pr > t
Μοντέλο 1: Απόκριση = f				
Intercept β_0^f	1,009	0,0384	26,25	<0,0001
Φύλο β_1^f	0,00173	0,0476	0,04	0,9710
Τροφή β_2^f	-0,0276	0,0232	-1,19	0,2358
Supine β_3^f	-0,370	0,0420	-8,81	<0,0001
Φύλο*Supine β_4^f	0,116	0,0545	2,12	0,0346
Μοντέλο 2: Απόκριση = T				
Intercept β_0^T	48,257	4,585	10,53	<0,0001
Φύλο β_1^T	1,09	3,74	0,29	0,7713
Τροφή β_2^T	21,75	3,75	5,81	<0,0001
Supine β_3^T	18,98	4,39	4,33	<0,0001

Πίνακας 5.2. Μέση διάρκεια (ημέρες) και τυπική απόκλιση (σε παρένθεση) των S (μέρες έως την εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς), T (συνολική διάρκεια ζωής) και f (ποσοστό του υγιούς προσδόκιμου ζωής $=S/T$) για κάθε φύλο και είδος τροφής. Η ύπτια συμπεριφορά δεν παρατηρήθηκε σε 99 άτομα (25% του συνόλου) και συγκεκριμένα σε 12 θηλυκά και 24 αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και σε 25 θηλυκά και 38 αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη.

	Ζάχαρη	Ζάχαρη & πρωτεΐνη	Διαφορά ^a
Θηλυκά			
Διάρκεια ζωής (T)	71,25 (37,91)	85,46 (41,53)	14,21 (56,23)
Υγιής περίοδος (S)	42,47 (24,80)	50,42 (29,72)	7,95 (38,71)
Ποσοστό υγιούς ζωής (f)	0,64 (0,26)	0,61 (0,26)	-0,03 (0,37)
Αρσενικά			
Διάρκεια ζωής (T)	65,24 (27,56)	92,74 (34,30)	27,50 (44,00)
Υγιής περίοδος (S)	49,34 (26,51)	66,21 (33,14)	16,87 (42,44)
Ποσοστό υγιούς ζωής (f)	0,77 (0,27)	0,72 (0,25)	-0,05 (0,37)

^a Οι διαφορές αναφέρονται στις τιμές των ατόμων που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη μείον τις τιμές αυτών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Οι τιμές που δίνονται σε παρένθεση είναι οι τυπικές αποκλίσεις των παρατηρήσεων.



Διάγραμμα 5.2. Αναλογίες κινδύνων σε σχέση με την ηλικία, το φύλο και την τροφή για τα αρσενικά και τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου (A) μετάβαση από την υγιή κατάσταση στο θάνατο, (B) μετάβαση από την υγιή κατάσταση στη μη υγιή κατάσταση και (Γ) μετάβαση από τη μη υγιή κατάσταση στο θάνατο.

5.5 Συζήτηση

Η χρήση της ύπτιας συμπεριφοράς της μύγας της Μεσογείου ως δείκτη αναπηρίας και της ηλικίας εμφάνισης της συμπεριφοράς αυτής ως τη στιγμή μετάβασης στη μη υγιή κατάσταση οδήγησε στα εξής συμπεράσματα: α) η απόλυτη και σχετική διάρκεια της μη υγιούς περιόδου σχετίζεται με τη συνολική διάρκεια ζωής, το είδος της τροφής και το φύλο, β) τα αρσενικά ζουν λιγότερο σε σχέση με τα θηλυκά από τη στιγμή που εισέρχονται στη μη υγιή περίοδο, κάτι που συμφωνεί με τις διαφορές θνησιμότητας μεταξύ των δύο φύλων στον άνθρωπο (Glei & Horiuchi, 2007) και γ) η δυναμική νοσηρότητας – θνησιμότητας δεν εξηγείται από μια υπόθεση που να ικανοποιεί όλες τις συνθήκες, κάτι που επίσης βρίσκεται σε συμφωνία με τα ευρήματα σε πληθυσμούς ανθρώπων (Robine & Michel, 2004).

Στο πλαίσιο του παρόντος κεφαλαίου εξετάστηκε για πρώτη φορά η αλληλεπίδραση της νοσηρότητας και της θνησιμότητας σε έναν πρότυπο οργανισμό, τη μύγα της Μεσογείου, χρησιμοποιώντας την ύπτια συμπεριφορά σαν δείκτη υγείας. Επεκτείνοντας τη μακροβιότητα, μέσω μεταχειρίσεων της τροφής, αποδείχθηκε ότι το ποσοστό του προσδόκιμου ζωής που διανύεται στη μη υγιή κατάσταση (εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς) συμφωνεί περισσότερο με το μοντέλο δυναμικής ισορροπίας που περιγράφηκε από τους Manton και συνεργάτες (2000; 2008) από ότι με τα μοντέλα συμπίεσης και επέκτασης της νοσηρότητας. Ωστόσο, υπήρξαν κάποιοι περιορισμοί. Παρά το γεγονός ότι η ύπτια συμπεριφορά είναι ένας ξεκάθαρος δείκτης μη υγιούς κατάστασης της μύγας της Μεσογείου, είναι επίσης σχεδόν βέβαιο ότι δεν πρόκειται για δείκτη όλων των τύπων μη υγιούς κατάστασης (Jacobson et al., 2010). Για παράδειγμα, οι αλλαγές στο χρόνο πρώτης εμφάνισης της ύπτιας συμπεριφοράς και ο κίνδυνος θανάτου θα μπορούσαν να είναι διαφορετικές αν η μακροβιότητα μεταβαλλόταν χρησιμοποιώντας άλλους μηχανισμούς όπως αυτούς που τροποποιούν το κόστος αναπαραγωγής της μύγας της Μεσογείου (π.χ. κατάσταση σύζευξης). Ένας άλλος περιορισμός αφορά το σύνολο των ατόμων που εκδηλώνουν ύπτια συμπεριφορά πριν το θάνατο. Παρά το γεγονός ότι σχεδόν όλα τα αρσενικά εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά πριν το θάνατο σε προγενέστερη έρευνα (Papadopoulos et al., 2002a), 25 με 30% των ατόμων που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα του παρόντος

κεφαλαίου δεν εκδήλωσαν καθόλου ύπτια συμπεριφορά πριν πεθάνουν. Η απόκλιση μεταξύ των δύο πειραματικών διαδικασιών σχετικά με τη συχνότητα εκδήλωσης της ύπτιας συμπεριφοράς των αρσενικών (τα θηλυκά δε συμπεριλήφθηκαν στην παραπάνω εργασία) μπορεί να οφείλεται σε διαφορές μεταξύ των βιοτύπων του εντόμου, στον καρπό ξενιστή απ' όπου προήλθαν οι πληθυσμοί και στην υποκειμενικότητα του παρατηρητή. Τα ενήλικα που χρησιμοποιήθηκαν τόσο στην εργασία από τους Papadopoulos και συνεργάτες (2002a) όσο και στο κεφάλαιο αυτό συλλέχθηκαν από νύμφες προσβεβλημένων καρπών στο ύπαιθρο. Η σύγκριση της διάρκειας ζωής μεταξύ αρσενικών των δύο πειραματικών διαδικασιών που τράφηκαν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έδειξε ότι το προσδόκιμο ζωής διέφερε σημαντικά [92,7 για τα αρσενικά της παρούσας πειραματικής διαδικασίας και 61,5 για τα αρσενικά της εργασίας των Papadopoulos και συνεργάτες (2002a)]. Ωστόσο, παρά τις διαφορές στη μακροβιότητα και στο πλήθος των ατόμων που εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά, το ποσοστό του προσδόκιμου υγιούς ζωής ήταν παραπλήσιο στις δύο πειραματικές διαδικασίες (0,72 και 0,74 αντίστοιχα). Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι οι βιότυποι της μύγας της Μεσογείου διαφέρουν σε πλήθος βιολογικών παραμέτρων και χαρακτηριστικών συμπεριφοράς (Diamantidis et al., 2011a; Diamantidis et al., 2008; Diamantidis et al., 2009). Επιπρόσθετα πειράματα σχετικά με την ύπτια συμπεριφορά είναι αναγκαία προκειμένου να καθοριστεί αν η παραλλακτικότητα που παρατηρήθηκε στους δύο πληθυσμούς είναι σύνηθες να ποικίλλει σε τέτοιο βαθμό.

Ενώ η έμφαση σε μελέτες σχετικές με τη διάρκεια της υγιούς ζωής οργανισμών μοντέλων συνεχώς αυξάνει (Spratt, 2010), το ενδιαφέρον για δείκτες που να μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη διάκριση των υγιών από τα μη υγιή άτομα σε άλλα είδη αναμένεται να ενταθεί. Αυτό ισχύει και για τις μελέτες που ασχολούνται με το λειτουργικό γήρας σε περιβάλλοντα που κυμαίνονται από τη βλάβη σε συστήματα οργάνων και την ταυτοποίηση βιοδεικτών έως και τη σχέση υγιούς ζωής και συνολικής διάρκειας ζωής (Grotewiel et al., 2005).

Ένα πολλά υποσχόμενο πλαίσιο για τη μελέτη της υγιούς ζωής προτάθηκε από τον Tatar (2009) ο οποίος περιέγραψε δύο γενικές αρχές για χρήση σε αντίστοιχες έρευνες με μύγες των φρούτων: α) προσδιορισμός

συγκεκριμένων φαινοτύπων με εμφανείς αναλογίες με χαρακτηριστικά της ανθρώπινης υγείας όπως η ικανότητα κίνησης του νηματώδους *Caenorhabditis elegans* σε άγαρ ή η ικανότητα πτήσης και αναρρίχησης ενηλίκων *Drosophila* και β) η χρήση ανθρωπομορφικών χαρακτηριστικών όπως η δύναμη λαβής σε ποντίκια ή η κατάτμηση του ύπνου σε μύγες των φρούτων. Ο τύπος αυτός πειραματικού σχεδιασμού για τη μελέτη της υγιούς διάρκειας ζωής σε είδη εκτός του ανθρώπου και κυρίως σε ασπόνδυλα, ακολουθείται από κλινικούς (Hamerman, 2010) που ασχολούνται με την ανθρώπινη αδυναμία. Επιπλέον, το παραπάνω πλαίσιο φαίνεται ότι θα επιτρέψει τους βιολόγους (Kirkland & Peterson, 2009) να ελέγξουν διάφορες υποθέσεις σχετικές με τη διάρκεια υγιούς ζωής, συμπεριλαμβανομένων και εκείνων που ασχολούνται με το αν η συμπίεση της θνησιμότητας είναι όσο θεωρητική είναι και η αθανασία (Crimmins & Beltrán-Sánchez, 2011) ή αν προκύπτει από παρεμβάσεις που αυξάνουν τη διάρκεια ζωής όπως άλλωστε ελέγχθηκε και στο παρόν κεφάλαιο. Εξαιτίας της δυνατότητας μεταβολής των συνθηκών διατήρησης των οργανισμών μοντέλων και κατ' επέκταση παρέμβασης στη διάρκεια της ζωής τους, η χρήση των μυγών των φρούτων και άλλων ασπόνδυλων είναι ίσως ένας από τους πιο ασφαλείς τρόπους για τον έλεγχο υποθέσεων σχετικών με τη συμπίεση της θνησιμότητας.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

6 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΕΝΑΛΛΑΓΗΣ ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ, ΤΟ ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΟ ΚΑΛΕΣΜΑ ΚΑΙ ΤΗΝ ΕΚΔΗΛΩΣΗ ΥΠΤΙΑΣ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑΣ ΤΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ

6.1 Περίληψη

Ο διατροφικός ή/και ο θερμιδικός περιορισμός στο στάδιο του ενήλικου επηρεάζουν την αρμοστικότητα των εντόμων. Στο παρόν κεφάλαιο μελετήθηκε η επίδραση της εναλλαγής της τροφής (μεταφορά από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη και αντίστροφα) στην επιβίωση, την ημερήσια συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος και την εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς αρσενικών της μύγας της Μεσογείου. Χρησιμοποιήθηκαν έντομα F_1 γενεάς και καταγράφηκε το σεξουαλικό κάλεσμα και η ύπτια συμπεριφορά των αρσενικών καθ' όλη τη διάρκεια της ενήλικης ζωής τους, με καθημερινές δίωρες παρατηρήσεις. Η εναλλαγή της τροφής πραγματοποιήθηκε στην ηλικία των 15 ημερών που ορίζει την ολοκλήρωση της σεξουαλικής ωρίμανσης για τα άγρια αρσενικά της μύγας της Μεσογείου. Η στέρηση της πρωτεΐνης μετά το στάδιο της σεξουαλικής ωρίμανσης μείωσε σημαντικά την επιβίωση των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου, ενώ η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης μετά τη σεξουαλική ωρίμανση αύξησε την επιβίωσή τους. Το προσδόκιμο ζωής ήταν παραπλήσιο μεταξύ των αρσενικών που είχαν πάντα πρόσβαση σε πρωτεΐνη και εκείνων που την απέκτησαν μετά την ηλικία των 15 ημερών, καθώς και μεταξύ των αρσενικών που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη μόνο μέχρι τη σεξουαλική τους ωρίμανση και εκείνων που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη. Η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη αύξησε άμεσα την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος στα επίπεδα των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη, ενώ η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη μείωσε προοδευτικά την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος σε επίπεδα ελαφρώς υψηλότερα από ότι των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη. Η εκδήλωση

σεξουαλικού καλέσματος ήταν σημαντικά υψηλότερη στα μακρόβια αρσενικά όταν η εναλλαγή της τροφής πραγματοποιήθηκε από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη όχι όμως όταν πραγματοποιήθηκε από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη. Η ύπτια συμπεριφορά ήταν συχνότερη και εκδηλώθηκε για μεγαλύτερη περίοδο και από μεγαλύτερο ποσοστό αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη και εντάθηκε σε προχωρημένες ηλικίες σε όλα τα διατροφικά πρωτόκολλα.

6.2 Εισαγωγή

Η διαχείριση της τροφής αποτελεί σημαντικό εργαλείο στις έρευνες που αφορούν την επιβίωση και τη γήρανση και απαντάται τόσο ως διατροφικός (dietary) όσο και ως θερμιδικός (caloric) περιορισμός. Ο διατροφικός περιορισμός έχει αποδειχθεί ότι παρατείνει τη διάρκεια ζωής πλήθους οργανισμών (μύκητες, νηματώδεις, αρθρόποδα, έντομα, θηλαστικά) και είναι σήμερα ένα από τα σημαντικότερα εργαλεία στις έρευνες που αφορούν τη γήρανση (Weindruch & Walford, 1988). Η έρευνα της επίδρασης του διατροφικού περιορισμού στην επιβίωση των εντόμων πραγματοποιείται τα τελευταία 30 χρόνια, περίπου, και δεδομένου ότι πολλά είδη αποτελούν οργανισμούς μοντέλα, παρέχει σημαντικές πληροφορίες που βρίσκουν εφαρμογές στη μελέτη της γήρανσης (Romanyukha et al., 2004). Υποστηρίζεται ότι η ανταπόκριση στο διατροφικό περιορισμό αποτελεί εξελικτική προσαρμογή που ευνοεί, μέσω της φυσικής επιλογής, τους οργανισμούς που μπορούν να παρατείνουν την επιβίωσή τους σε περιόδους έλλειψης τροφής (Holliday, 1989).

Ο διατροφικός περιορισμός αφορά στη μείωση της συνολικής ημερήσιας ποσότητας ή/και ποιότητας της τροφής. Ο θερμιδικός περιορισμός αφορά είτε στη μείωση της ενέργειας (θερμίδων), με παράλληλη διατήρηση των απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, είτε στη μείωση της συγκέντρωσης τόσο των θερμίδων όσο και των θρεπτικών συστατικών. Η διαχείριση της τροφής με τη μορφή του διατροφικού ή του θερμιδικού περιορισμού πραγματοποιείται, συνήθως, με βάση τη βέλτιστη ημερήσια διαθεσιμότητα ενέργειας και βασικών θρεπτικών στοιχείων και περιλαμβάνει ευρεία ποικιλία διατροφικών πρωτοκόλλων και συνδυασμών θρεπτικών επιπέδων, που

μπορεί να εφαρμόζονται σε διαφορετικές ηλικίες ή ακόμα και να εναλλάσσονται σε σχέση με την ηλικία (Bross et al., 2005; Carey et al., 2002a; Carey et al., 2002b; Carey et al., 1999; Davies et al., 2005).

Η πλειοψηφία των μελετών που αφορούν την επίδραση του διατροφικού περιορισμού στα έντομα χρησιμοποιούν, κατά κύριο λόγο, είδη *Drosophila* και ασχολούνται με τις μεταβολές στην επιβίωση και την αναπαραγωγή των θηλυκών, καθώς και με την ανακατανομή των ενεργειακών πόρων μεταξύ των δύο αυτών βιολογικών παραμέτρων. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι ο περιορισμός της πρωτεΐνης στην τροφή παρέτεινε τη διάρκεια ζωής ενηλίκων *Drosophila* με την αύξηση της επιβίωσης να είναι σημαντικά μεγαλύτερη στα θηλυκά και παράλληλα μείωσε την ωοπαραγωγή. Ωστόσο, η αύξηση της διάρκειας ζωής στερωμένων θηλυκών πιθανά καταδεικνύει ότι η μείωση της παραγωγής αυγών δεν πραγματοποιείται κατ' ανάγκη με σκοπό την κατανομή των θρεπτικών πόρων του οργανισμού στην αύξηση της επιβίωσης (Partridge et al., 2005). Επίσης, η εφαρμογή διατροφικού περιορισμού μετά από μια συγκεκριμένη περίοδο διατροφής σε πρωτεϊνούχο τροφή επέφερε άμεσα αποτελέσματα στη μείωση της θνησιμότητας (μέσα σε 48 ώρες) και τα επίπεδα της επιβίωσης ήταν συγκρίσιμα με την επιβίωση ατόμων που υποβάλλονταν διαρκώς σε διατροφικό περιορισμό (Mair et al., 2003; Partridge et al., 2005). Όμως, παρά τη μεγάλη πρόοδο στο πεδίο των σχέσεων του διατροφικού περιορισμού με σημαντικές βιολογικές παραμέτρους, διατυπώνεται σημαντική κριτική σχετικά με την παραλλακτικότητα των τεχνικών διαδικασιών σε κάθε ερευνητική ομάδα, τις διαφορετικές μεθόδους εκτροφής και με την εφαρμογή πλήθους διατροφικών πρωτοκόλλων (Grandison et al., 2009). Έτσι, σε άλλες μελέτες αναφέρεται ότι ο διατροφικός περιορισμός δεν επηρεάζει την επιβίωση ή ακόμα σε ορισμένες περιπτώσεις ότι αυξάνει τη θνησιμότητα των ενηλίκων του *D. melanogaster* (Bourg & Minois, 2005; Good & Tatar, 2001).

Η μύγα της Μεσογείου έχει χρησιμοποιηθεί εντατικά σε δημογραφικές μελέτες. Ένα από τα σπουδαιότερα ευρήματα αφορά στο γεγονός ότι τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου εμφανίζουν δύο τύπους γήρανσης που εξαρτώνται από την πρόσβαση σε πρωτεΐνη και από την ωοπαραγωγή (Carey et al., 1998b). Επιπλέον, ο διατροφικός περιορισμός αυξάνει την επιβίωση των θηλυκών τόσο όταν εφαρμόζεται ως κυκλική εναλλαγή της

διαθεσιμότητας πρωτεΐνης (Carey et al., 2002a) όσο και όταν η εναλλαγή πραγματοποιείται από μόνο ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη (Carey et al., 1998b). Αντίστοιχα, αρσενικά της μύγας της Μεσογείου που τρέφονταν με τροφή μέτριας συγκέντρωσης πρωτεΐνης, σακχάρων και βιταμινών έζησαν περισσότερο σε σχέση με αρσενικά που είτε είχαν πρόσβαση σε τροφή υψηλότερης διατροφικής αξίας είτε τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (Davies et al., 2005). Αντίθετα, όταν εφαρμόστηκε θερμιδικός περιορισμός σε άτομα και των δύο φύλων της μύγας της Μεσογείου δεν παρατηρήθηκε αύξηση της επιβίωσης, ενώ τα αρσενικά εμφάνισαν υψηλότερο προσδόκιμο ζωής από τα θηλυκά (Carey et al., 2002b; Carey & Molleman, 2010). Τέλος, η επιβολή συνθηκών έλλειψης τροφής (starvation) μετά από διαφορετικές περιόδους πρόσβασης σε τροφή (ζάχαρη και πρωτεΐνη ή μόνο ζάχαρη) έδειξε ότι τα θηλυκά ζουν περισσότερο από τα αρσενικά όταν υπόκεινται σε περιοδική ασιτία (Carey et al., 1999). Ωστόσο, η επίδραση του διατροφικού περιορισμού καθώς και της εναλλαγής της τροφής από φτωχό σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον στην επιβίωση των αρσενικών δεν έχει μελετηθεί μέχρι σήμερα.

Παρά την εντατική μελέτη της επίδρασης του διατροφικού περιορισμού στις βιολογικές παραμέτρους της μύγας της Μεσογείου, και ειδικά των θηλυκών, δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής στοιχεία για την επίδραση του διατροφικού περιορισμού στη συμπεριφορά των ενηλίκων. Προηγούμενες έρευνες έδειξαν ότι το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου και η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς αποτελούν συμπεριφορές «δείκτες» που σχετίζονται με την ηλικία και δίνουν πληροφορίες για τη διάρκεια ζωής των ατόμων που τις εκδηλώνουν (Papadopoulos et al., 2002a; Papadopoulos et al., 2004). Είναι επίσης γνωστό ότι η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης επιταχύνει τη σεξουαλική ωρίμανση και αυξάνει τη συχνότητα σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών (Diamantidis et al., 2008; Papadopoulos et al., 1998). Ωστόσο, παραμένει μέχρι στιγμής άγνωστη η επίδραση της εφαρμογής ενός πρωτοκόλλου διατροφικού περιορισμού στις δύο αυτές συμπεριφορές των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου. Στο παρόν κεφάλαιο, μελετήθηκε η επίδραση του πρωτεϊνικού αποκλεισμού (διατροφικός περιορισμός) και της εναλλαγής της τροφής από φτωχό (έλλειψη πρωτεΐνης) σε πλούσιο (πρόσβαση σε πρωτεΐνη) διατροφικό περιβάλλον στην επιβίωση, καθώς και στο σεξουαλικό κάλεσμα και την εκδήλωση ύπτιας

συμπεριφοράς των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου, καθ' όλη τη διάρκεια ζωής τους. Εξετάστηκε η υπόθεση ότι η επιβίωση και η εκδήλωση των δύο αυτών συμπεριφορών είναι ανεξάρτητες από την εναλλαγή της τροφής και από την ηλικία στην οποία πραγματοποιείται.

6.3 Υλικά και μέθοδοι

6.3.1 Γενικά

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ. από τον Οκτώβριο του 2009 έως το Μάιο του 2010. Κατά τη διεξαγωγή των πειραμάτων επικρατούσαν σταθερές συνθήκες (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτοπερίοδος) που περιγράφονται στο Υποκεφάλαιο 2.1. Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν προήλθαν από άγριο πληθυσμό που συλλέχθηκε από προσβεβλημένους καρπούς στην περιοχή των Λεχωνίων Μαγνησίας και εκτράφηκε για μια γενεά (F_1) σε τεχνητή τροφή στο εργαστήριο. Λεπτομερής περιγραφή της μεθόδου εκτροφής δίνεται στο Υποκεφάλαιο 2.2.

6.3.2 Διατήρηση εντόμων και διεξαγωγή παρατηρήσεων

Οι νύμφες της F_1 γενεάς τοποθετούνταν ανά 50 σε κλουβιά Plexiglas 20 x 20 x 20 cm (Εικόνα 2.3) όπου πραγματοποιούνταν η έξοδος των ενηλίκων. Την ημέρα της εξόδου τους από το νυμφικό περίβλημα τα αρσενικά τοποθετούνταν ατομικά σε κλουβιά όγκου 400 ml (λεπτομερής περιγραφή των κλουβιών δίνεται στην Ενότητα 2.3, Εικόνα 2.4, Α). Όλα τα αρσενικά είχαν ελεύθερη πρόσβαση σε νερό και τροφή, η οποία αποτελούταν είτε από υδρολυμένη μαγιά, ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:4:5 (ζάχαρη και πρωτεΐνη) είτε από ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:3 (ζάχαρη). Το νερό και η τροφή ανανεώνονταν στα κλουβιά 2 με 3 φορές την εβδομάδα. Η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη, και από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη πραγματοποιήθηκε σε δύο ομάδες τυχαία επιλεγμένων ατόμων στην ηλικία των 15 ημερών, κατά την οποία είναι γνωστό ότι τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου έχουν ολοκληρώσει τη σεξουαλική τους ωρίμανση (Papadopoulos et al., 1998). Συνολικά, καταγράφηκε η εκδήλωση του

σεξουαλικού καλέσματος και της ύπτιας συμπεριφοράς σε 200 αρσενικά. Από αυτά, 50 αρσενικά τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και 50 μόνο με ζάχαρη καθ' όλη τη διάρκεια της ενήλικης ζωής τους. Επίσης, 50 αρσενικά τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έως την ηλικία των 15 ημερών και στη συνέχεια τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και 50 αρσενικά τρέφονταν μόνο με ζάχαρη έως την ηλικία των 15 ημερών και στη συνέχεια τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη.

Το σεξουαλικό κάλεσμα και η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς των αρσενικών καταγράφονταν με 13 καθημερινές παρατηρήσεις που πραγματοποιούνταν ανά 10 λεπτά από τις 10:00 έως τις 12:00. Η συμπεριφορά καταγραφόταν ως εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος όταν το επιθήλιο του ορθού ήταν ανεστραμμένο και διογκωμένο με αποτέλεσμα να μοιάζει με μικρή σταγόνα, όπως περιγράφεται από τους Arita & Kaneshiro (1986) και ως εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς όταν το άτομο αναπαυόταν προσωρινά σε ύπτια θέση, με το νωτιαίο τμήμα του στο δάπεδο του κλουβιού, κουνώντας συνήθως τα πόδια και τα στοματικά μόρια (βλέπε Υποκεφάλαιο 2.4).

6.3.3 Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με το λογισμικό πακέτο SPSS 20.0 (SPSS, Chicago, IL., USA). Το μοντέλο ανάλογων κινδύνων Cox (Cox proportional hazards model) εφαρμόστηκε προκειμένου να καθοριστεί η επίδραση της τροφής και της εναλλαγής της στην επιβίωση των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου. Ο εκτιμητής (Log Rank) Mantel-Cox χρησιμοποιήθηκε για τις συγκρίσεις της επιβίωσης αρσενικών ανά ζεύγη διατροφικών πρωτοκόλλων. Η επίδραση της ηλικίας και της τροφής στη μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος ανά δεκαήμερο ζωής των αρσενικών προσδιορίστηκε με την ανάλυση παραλλακτικότητας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων (Repeated Measures ANOVA), έως την ηλικία των 100 ημερών. Η σύγκριση των μέσων όρων του σεξουαλικού καλέσματος στα 4 διατροφικά πρωτόκολλα έγινε με το κριτήριο Tukey's B. Οι συγκρίσεις του μέσου σεξουαλικού καλέσματος της συνολικής διάρκειας ζωής μεταξύ μακρόβιων και βραχύβιων αρσενικών που μετά την ηλικία των 15

ημερών στερήθηκαν ή απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή πραγματοποιήθηκαν με την ανάλυση παραλλακτικότητας (One-Way ANOVA). Η επίδραση της τροφής στη μέση ημερήσια εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς του διαστήματος ζωής κατά το οποίο εκδηλωνόταν η συγκεκριμένη συμπεριφορά προσδιορίστηκε, επίσης, με ανάλυση παραλλακτικότητας (One-Way ANOVA). Η σύγκριση των μέσων όρων της ύπτιας συμπεριφοράς στα 4 διατροφικά πρωτόκολλα έγινε με το κριτήριο Tukey's B. Τέλος, οι συγκρίσεις της μέσης ύπτιας συμπεριφοράς κατά το διάστημα εκδήλωσής της, μεταξύ μακρόβιων και βραχύβιων αρσενικών που μετά την ηλικία των 15 ημερών στερήθηκαν ή απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή πραγματοποιήθηκαν με ανάλυση παραλλακτικότητας (One-Way ANOVA).

6.4 Αποτελέσματα

6.4.1 Επίδραση της τροφής και της εναλλαγής της στην επιβίωση των αρσενικών

Το μοντέλο ανάλογων κινδύνων του Cox έδειξε ότι η τροφή είχε σημαντική επίδραση στην επιβίωση των αρσενικών (Wald test $t = 72,483$, $df = 3$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 6.1) (Πίνακας 6.1). Τα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη έζησαν περισσότερο από αυτά που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη ($\chi^2 = 66,002$, $df = 1$, $P < 0,001$). Η επιβίωση των αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έως την ηλικία των 15 ημερών και στη συνέχεια μόνο με ζάχαρη ήταν παραπλήσια με αυτή των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη ($\chi^2 = 0$, $df = 1$, $P = 0,993$). Η επιβίωση των αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη έως την ηλικία των 15 ημερών και στη συνέχεια με ζάχαρη και πρωτεΐνη ήταν παραπλήσια με αυτή των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη ($\chi^2 = 0,107$, $df = 1$, $P = 0,744$) και διέφερε από την επιβίωση αρσενικών των άλλων δύο διατροφικών πρωτοκόλλων ($\chi^2_{\text{ζάχαρη \& πρωτεΐνη-ζάχαρη}} = 13,361$, $\chi^2_{\text{ζάχαρη}} = 23,503$, $df = 1$, $P < 0,001$). Η θνησιμότητα των αρσενικών αυτών ήταν υψηλή και ακολουθούσε το μοτίβο των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη έως την ηλικία των 50 ημερών περίπου, ενώ μετά την ηλικία των 80 ημερών η θνησιμότητα μειώθηκε και ακολούθησε το μοτίβο

των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη (Διάγραμμα 6.1).

6.4.2 Επίδραση της εναλλαγής της τροφής και της ηλικίας στο σεξουαλικό κάλεσμα

Η ποιότητα της τροφής και η εναλλαγή της επηρέασε σημαντικά το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου ($F = 21,982$, $df = 3, 61$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 6.2). Επιπλέον, η ανάλυση παραλλακτικότητας επαναλαμβανόμενων μετρήσεων έδειξε ότι τόσο η ηλικία ($F = 21,824$, $df = 9, 549$, $P < 0,001$) όσο και η αλληλεπίδρασή της με την τροφή ($F = 3,777$, $df = 27, 549$, $P < 0,001$) επηρέασαν σημαντικά το σεξουαλικό κάλεσμα, καταδεικνύοντας ότι η συχνότητα εκδήλωσής του μεταβλήθηκε με διαφορετικό τρόπο σε κάθε πρόγραμμα διατροφής σε σχέση με την ηλικία (Διάγραμμα 6.3).

Όπως έχει ήδη διαπιστωθεί από προηγούμενες μελέτες (Diamantidis et al., 2008; Papadopoulos et al., 1998), καθώς και από το Κεφάλαιο 4 της παρούσας διατριβής, αρσενικά που τρέφονται συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδηλώνουν συχνότερα σεξουαλικό κάλεσμα απ' ό,τι αρσενικά που τρέφονται μόνο με ζάχαρη ($F = 24,076$, $df = 1, 38$, $P < 0,001$). Τα στοιχεία του παρόντος Κεφαλαίου δείχνουν επιπλέον ότι η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη μείωσε δραματικά τη συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος (λιγότερες από 4 στις 13 παρατηρήσεις) (Διάγραμμα 6.2 Α). Η μείωση αυτή σημειώθηκε προοδευτικά, έως την ηλικία των 60 ημερών, στην οποία τα επίπεδα σεξουαλικού καλέσματος έφτασαν εκείνα των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη (Διάγραμμα 6.3). Αντίστροφα, η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη αύξησε κατακόρυφα τη συχνότητα εκδήλωσης του σεξουαλικού καλέσματος (περισσότερες από 6 στις 13 παρατηρήσεις) (Διάγραμμα 6.2 Β). Η αύξηση ήταν άμεση και ένα δεκαήμερο μετά την εναλλαγή της τροφής η συχνότητα σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών αυτών έφτασε τα επίπεδα των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη (Διάγραμμα 6.3). Επιπλέον, η συχνότητα σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών που απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή μετά τη σεξουαλική ωρίμανση

ήταν σημαντικά υψηλότερη από ότι των αρσενικών που μετά τη σεξουαλική ωρίμανση τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ($P < 0,001$), ανεξάρτητα από το διατροφικό τους επίπεδο πριν την ηλικία των 15 ημερών (Διάγραμμα 6.3).

Η λεπτομερειακή αποτύπωση της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος (event history diagram) (Carey, et al., 1998a) αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη και αρσενικών που στερήθηκαν την πρόσβαση σε πρωτεΐνη, μετά την ηλικία των 15 ημερών, δίνεται στο Διάγραμμα 6.4. Τα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη ξεκίνησαν την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος μετά από μια περίοδο αδράνειας, που εμφανίζεται σταθερά στο σύνολο σχεδόν των ατόμων, έως την ηλικία των 3 ημερών και απεικονίζεται με πράσινο χρώμα (Διάγραμμα 6.4 A). Την έναρξη του σεξουαλικού καλέσματος ακολούθησε μεγάλη συχνότητα εκδήλωσης της συγκεκριμένης συμπεριφοράς (> 9 στις 13 παρατηρήσεις, κόκκινο χρώμα) για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής των αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Τα αρσενικά που έζησαν λιγότερο από 60 ημέρες εκδήλωναν σεξουαλικό κάλεσμα καθημερινά με μεγάλη συχνότητα έως το θάνατο. Από την άλλη μεριά, αρσενικά που έζησαν περισσότερο από 60 ημέρες διέκοψαν, στην πλειοψηφία τους, την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος μερικές ημέρες πριν το θάνατο.

Τα αρσενικά που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν μόνο με ζάχαρη δεν εμφάνισαν ξεκάθαρο μοτίβο στην εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος (Διάγραμμα 6.4 B). Παρά το γεγονός ότι και σε αυτή την περίπτωση υπήρχε μια περίοδος αδράνειας, πριν την έναρξη του σεξουαλικού καλέσματος, η περίοδος αυτή ήταν μεγαλύτερη σε αρκετά αρσενικά (πράσινο χρώμα). Σε γενικές γραμμές, το σεξουαλικό κάλεσμα εκδηλώθηκε σποραδικά καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής, με τη μεσολάβηση αρκετών ημερών χωρίς την εκδήλωση της συμπεριφοράς (πράσινο χρώμα). Επίσης, το 6,7% των αρσενικών δεν εκδήλωσε ποτέ σεξουαλικό κάλεσμα (0 στις 13 παρατηρήσεις, πράσινο χρώμα), ενώ ένα αντίστοιχο ποσοστό (6,7%) εκδήλωσε σεξουαλικό κάλεσμα για 1 με 3 ημέρες στη συνολική διάρκεια ζωής. Τέλος, δεν υπήρχε ξεκάθαρο μοτίβο σχετικά με τη διακοπή του σεξουαλικού καλέσματος πριν το θάνατο.

Στο Διάγραμμα 6.5 δίνεται η λεπτομερειακή αποτύπωση της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με

ζάχαρη και αρσενικών που απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη μετά την ηλικία των 15 ημερών. Το μοτίβο εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη είναι παραπλήσιο με εκείνο των αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη έως την ηλικία των 15 ημερών και στη συνέχεια τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (Διάγραμμα 6.5 Α). Η περίοδος αδράνειας πριν την έναρξη της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος δεν ήταν σταθερή για όλα τα αρσενικά ενώ αρκετά από αυτά καθυστέρησαν περισσότερο από 20 ημέρες την εκδήλωσή του. Ένα μικρό ποσοστό (5,5%) των αρσενικών δεν εκδήλωσε ποτέ σεξουαλικό κάλεσμα στη διάρκεια της ζωής (0 στις 13 παρατηρήσεις, πράσινο χρώμα) ενώ το 13,5% των αρσενικών εκδήλωσε σεξουαλικό κάλεσμα για 1 με 4 ημέρες. Η υψηλή συχνότητα σεξουαλικού καλέσματος (> 9 στις 13 παρατηρήσεις, κόκκινο χρώμα) εκδηλώθηκε σποραδικά στη διάρκεια της ζωής των αρσενικών. Τέλος δεν υπήρχε ξεκάθαρο μοτίβο σχετικά με τη διακοπή του σεξουαλικού καλέσματος πριν το θάνατο.

Αντίθετα, τα αρσενικά που απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη μετά την ηλικία των 15 ημερών εμφάνισαν παρόμοιο μοτίβο εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος με τα αρσενικά που είχαν συνεχή πρόσβαση σε πρωτεΐνη (Διάγραμμα 6.5 Β). Η έναρξη του σεξουαλικού καλέσματος πραγματοποιήθηκε, εκτός από λίγες εξαιρέσεις, μετά από μια περίοδο αδράνειας περίπου 15 ημερών (0 στις 13 παρατηρήσεις, πράσινο χρώμα). Η έναρξη της εκδήλωσής του ακολουθήθηκε από απότομη αύξηση της συχνότητάς του (οριζόντια μετάβαση από το κίτρινο στο κόκκινο χρώμα), η οποία διατηρήθηκε σε υψηλά επίπεδα για το μεγαλύτερο διάστημα της ζωής των αρσενικών. Τα αρσενικά που έζησαν λιγότερο από 100 ημέρες εκδήλωναν σεξουαλικό κάλεσμα με υψηλή συχνότητα έως το θάνατο, αλλά εκείνα που έζησαν περισσότερο από 100 ημέρες διέκοψαν, στην πλειοψηφία τους, την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος μερικές ημέρες πριν το θάνατο.

Στο Διάγραμμα 6.6 δίνεται ο λόγος της μέσης ημερήσιας εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που υποβλήθηκαν σε εναλλαγή τροφής από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη προς τη μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη (συνεχόμενη γραμμή) και ο λόγος της μέσης ημερήσιας εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που υποβλήθηκαν σε εναλλαγή τροφής

από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη προς τη μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη (διακεκομμένη γραμμή). Αρσενικά που, στην ηλικία των 15 ημερών, έχασαν την πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή εκδήλωναν σεξουαλικό κάλεσμα με τη μισή περίπου συχνότητα σε σχέση με τα αρσενικά που είχαν συνεχώς πρόσβαση σε τροφή με πρωτεΐνη, μετά την ηλικία των 25 ημερών. Τα αρσενικά που, στην ηλικία των 15 ημερών, απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή εκδήλωναν σεξουαλικό κάλεσμα με παραπλήσια συχνότητα με τα αρσενικά που είχαν συνεχώς πρόσβαση σε τροφή με πρωτεΐνη, μετά την ηλικία των 25 ημερών.

6.4.3 Επίδραση της εναλλαγής της τροφής στην εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος βραχύβιων και μακρόβιων αρσενικών

Η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος του 25% των πιο μακρόβιων και βραχύβιων αρσενικών που μετά την ηλικία των 15 ημερών στερήθηκαν (A) και απέκτησαν (B) πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή δίνεται στο Διάγραμμα 6.7. Η συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος δε διέφερε ανάμεσα στα βραχύβια και μακρόβια αρσενικά που, στην ηλικία των 15 ημερών, άλλαξαν το διατροφικό τους πρωτόκολλο από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη ($F = 0,431$, $df = 1, 22$, $P = 0,518$) (Διάγραμμα 6.7 A). Ωστόσο, τα μακρόβια αρσενικά που μετά την ηλικία των 15 ημερών απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή εκδήλωσαν σεξουαλικό κάλεσμα συχνότερα από ότι τα βραχύβια που τρέφονταν με την ίδια τροφή ($F = 46,436$, $df = 1, 22$, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 6.7 B). Η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος των μακρόβιων αρσενικών παρέμεινε σε υψηλά επίπεδα (> 6 στις 13 παρατηρήσεις) έως και μετά την ηλικία των 100 ημερών.

6.4.4 Επίδραση της εναλλαγής της τροφής και της ηλικίας στην εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς

Η συχνότητα εκδήλωσης της ύπτιας συμπεριφοράς των αρσενικών επηρεάστηκε σημαντικά από την ποιότητα της τροφής και την εναλλαγή της ($F = 7,013$, $df = 3, 385$, $P < 0,001$). Συγκεκριμένα, τα αρσενικά που τρέφονταν

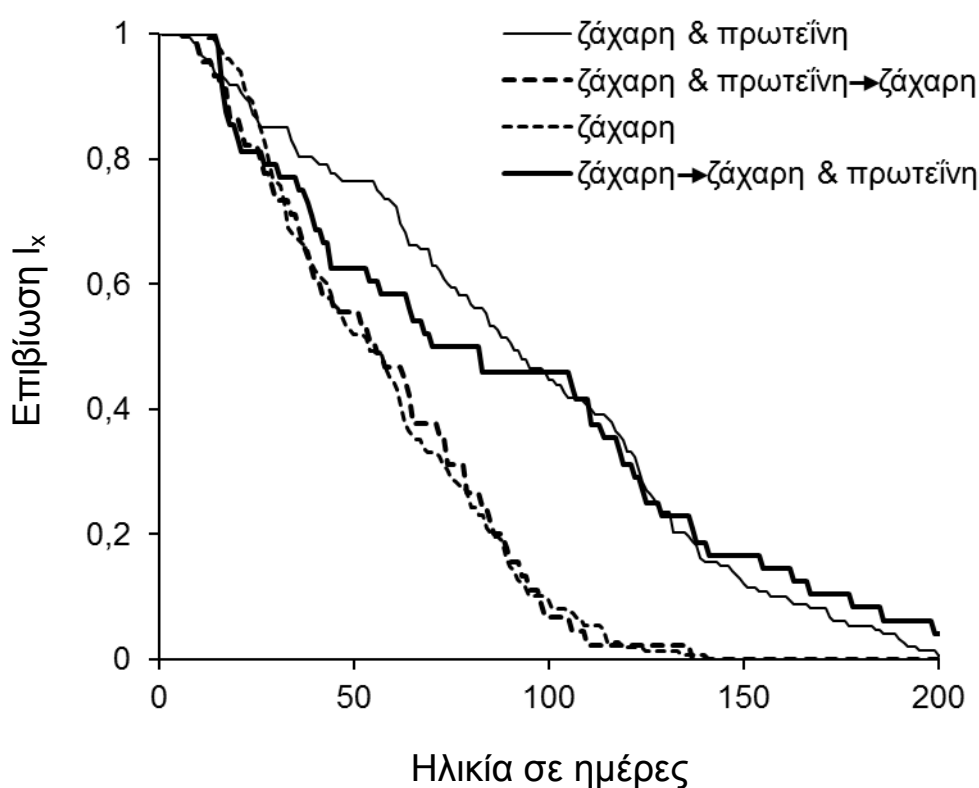
συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν σημαντικά συχνότερα ύπτια συμπεριφορά σε σχέση με τα αρσενικά των υπόλοιπων διατροφικών πρωτοκόλλων (Διάγραμμα 6.8). Η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς ήταν εντονότερη στις προχωρημένες ηλικίες στις οποίες αυξανόταν η θνησιμότητα των αρσενικών και στα 4 προγράμματα διατροφής.

Στο Διάγραμμα 6.9 δίνεται η λεπτομερειακή αποτύπωση της εκδήλωσης ύπτιας συμπεριφοράς αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και αρσενικών που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (B). Τα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν σε μεγαλύτερο ποσοστό (73% έναντι 53%) και για μεγαλύτερη χρονική περίοδο ύπτια συμπεριφορά (μη υγιής περίοδος) σε σχέση με τα αρσενικά που υποβλήθηκαν σε εναλλαγή της τροφής. Επίσης, η συχνότητα εκδήλωσης της ύπτιας συμπεριφοράς κατά τη διάρκεια της μη υγιούς περιόδου ήταν μεγαλύτερη στα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς με πρωτεϊνούχο τροφή σε σχέση με τα αρσενικά που μετά τη ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Στο Διάγραμμα 6.10 δίνεται η λεπτομερειακή αποτύπωση της εκδήλωσης ύπτιας συμπεριφοράς αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη (A) και αρσενικών που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (B). Τα αρσενικά των δύο διατροφικών πρωτοκόλλων εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά σε παραπλήσια ποσοστά (51% συνεχώς ζάχαρη και 50% εναλλαγή από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη). Τα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά με μεγαλύτερη συχνότητα σε σχέση με τα αρσενικά που μετά την ηλικία των 15 ημερών απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη.

6.4.5 Επίδραση της εναλλαγής της τροφής στην εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς βραχύβιων και μακρόβιων αρσενικών

Η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς του 25% των πιο μακρόβιων και βραχύβιων αρσενικών που μετά την ηλικία των 15 ημερών έχασαν (A) και απέκτησαν (B) πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή δίνεται στο Διάγραμμα 6.11. Η συχνότητα εκδήλωσης ύπτιας συμπεριφοράς δε διέφερε ανάμεσα στα βραχύβια και μακρόβια αρσενικά που, στην ηλικία των 15 ημερών, άλλαξαν το

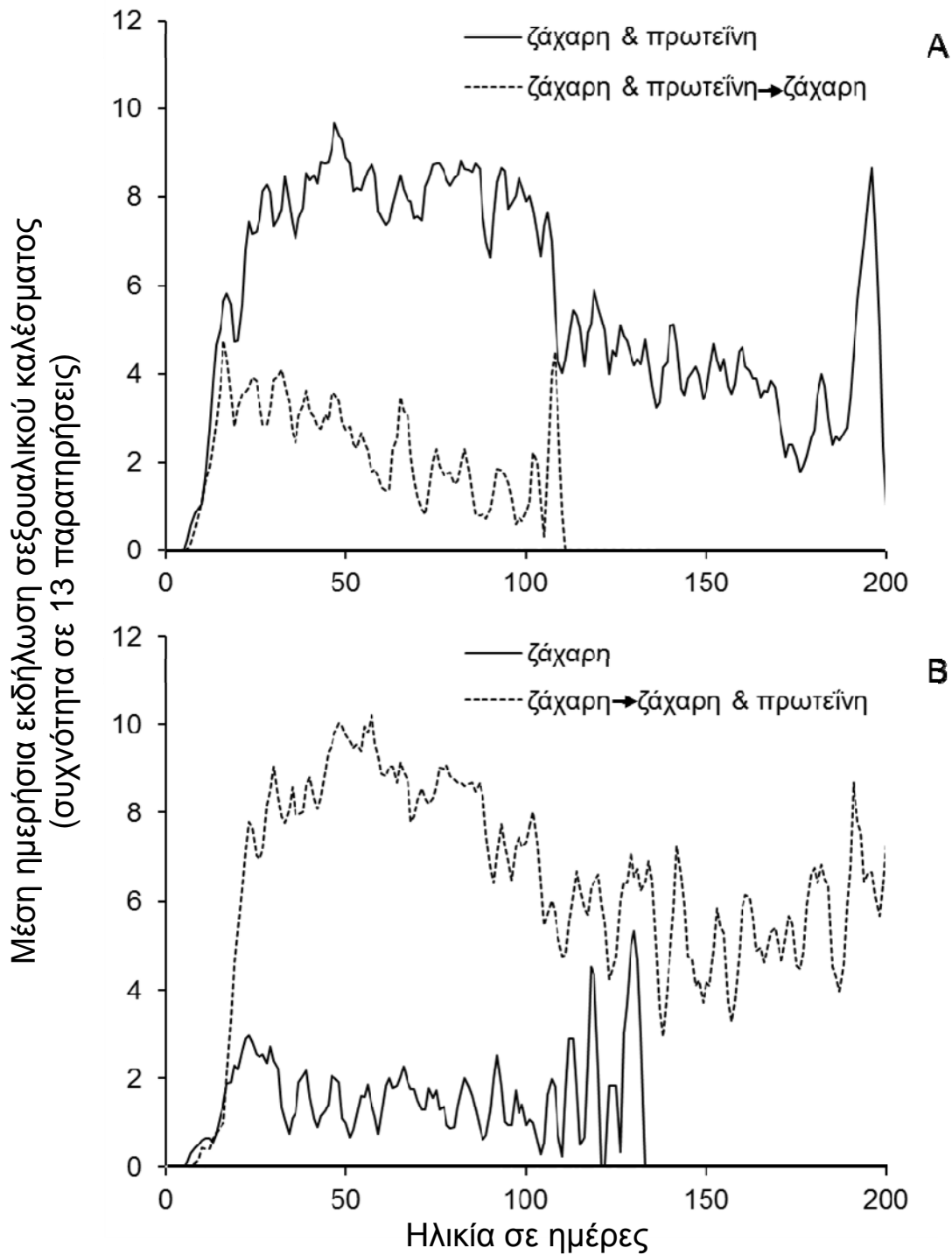
διατροφικό τους πρωτόκολλο από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη ($F = 1,676$, $df = 1, 22$, $P = 0,209$) (Διάγραμμα 6.11 Α). Αντίστοιχα, η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη δεν είχε σημαντική επίδραση στην εκδήλωση ύππιας συμπεριφοράς μεταξύ μακρόβιων και βραχύβιων αρσενικών ($F = 0,805$, $df = 1, 22$, $P = 0,379$).



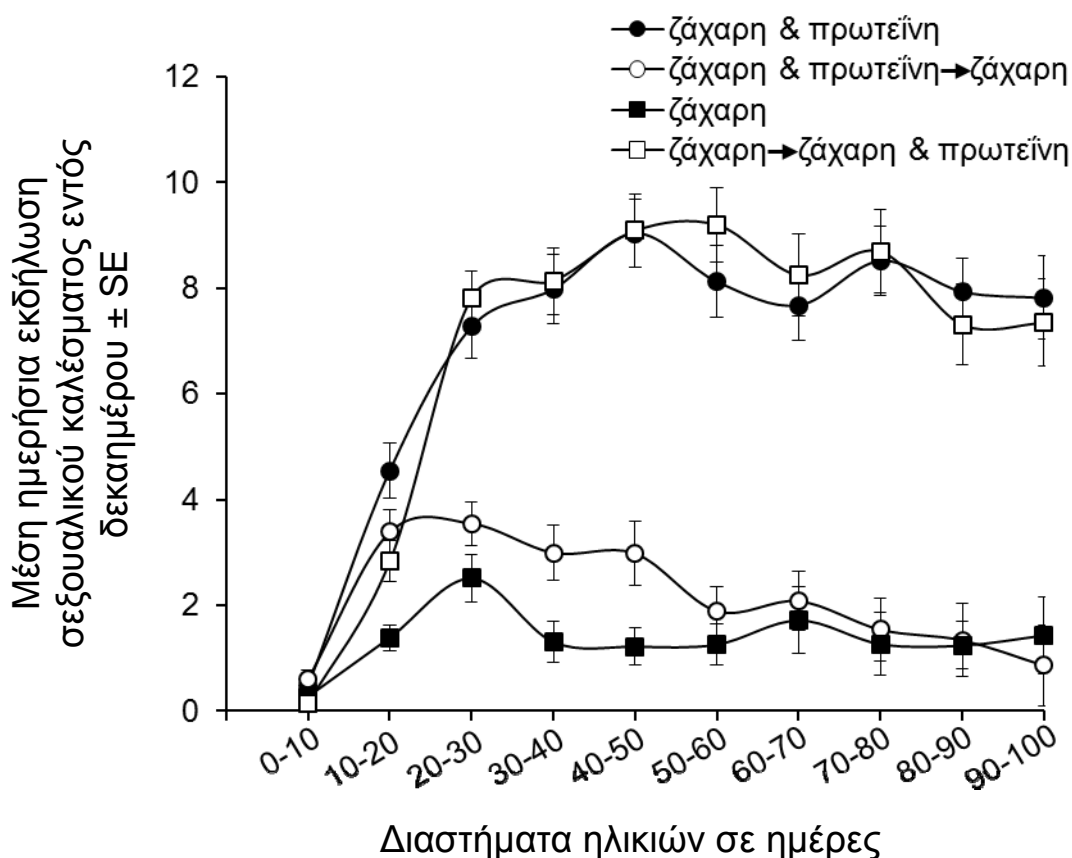
Διάγραμμα 6.1. Επιβίωση αρσενικών που υποβλήθηκαν σε 4 διαφορετικά προγράμματα διατροφής (συνεχώς σε ζάχαρη και πρωτεΐνη, ζάχαρη και πρωτεΐνη έως την ηλικία των 15 ημερών και στη συνέχεια μόνο ζάχαρη, συνεχώς σε ζάχαρη, μόνο ζάχαρη έως την ηλικία των 15 ημερών και στη συνέχεια σε ζάχαρη και πρωτεΐνη) σε σχέση με την ηλικία.

Πίνακας 6.1. Μεταβλητές του μοντέλου ανάλογων κινδύνων του Cox (Cox proportional hazards model) για τα 4 διατροφικά πρωτόκολλα που ακολούθησαν τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου. Τα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη αποτελούν τον πληθυσμό αναφοράς (baseline).

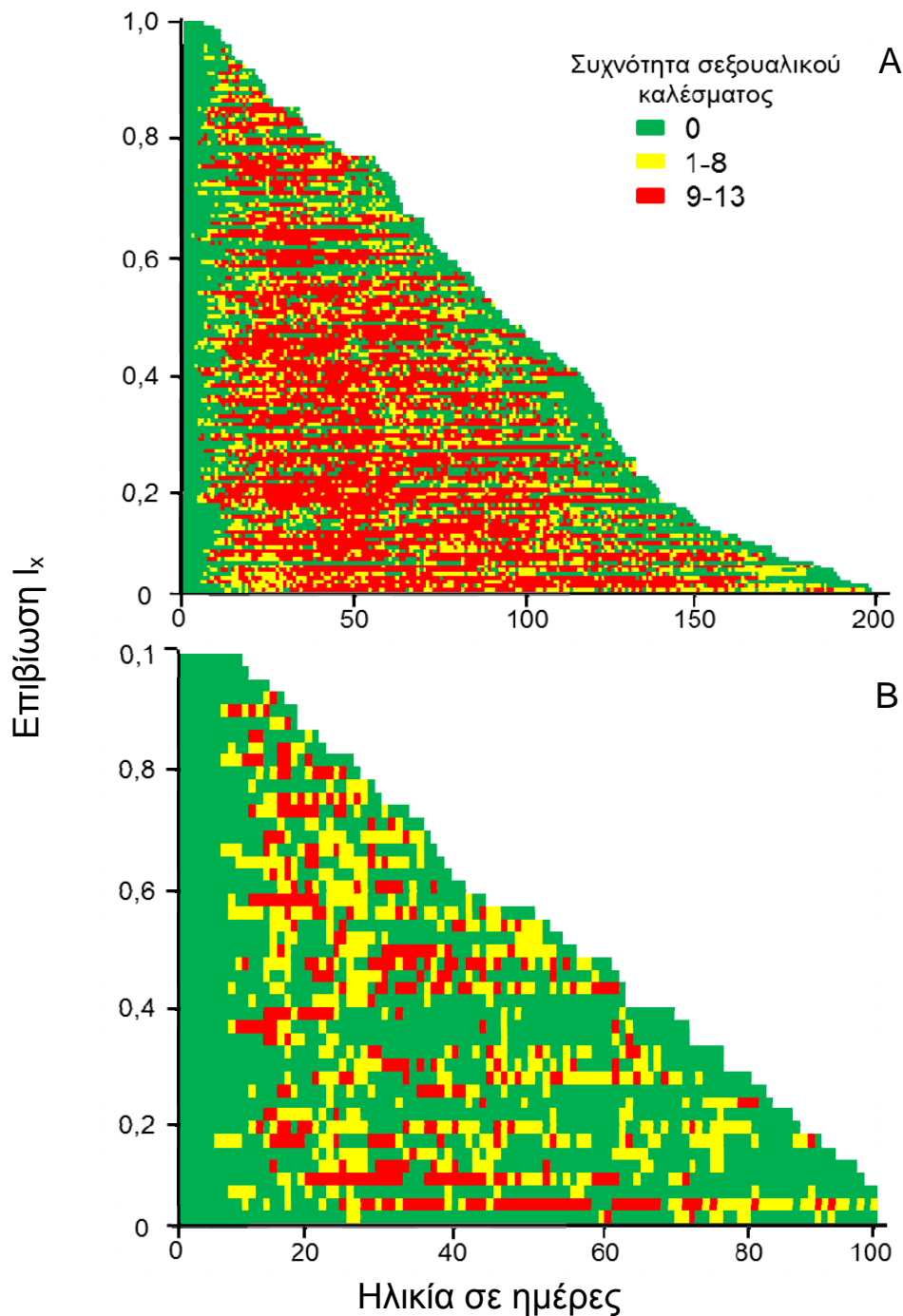
Πηγή παραλλακτικότητας	β	Τυπικό σφάλμα	Exp(β)	<i>P</i>
Τροφή				
ζάχαρη & πρωτεΐνη - ζάχαρη	0,975	0,179	2,651	<0,001
συνεχώς ζάχαρη	0,980	0,128	2,665	<0,001
ζάχαρη - ζάχαρη & πρωτεΐνη	-0,053	0,170	0,948	0,755



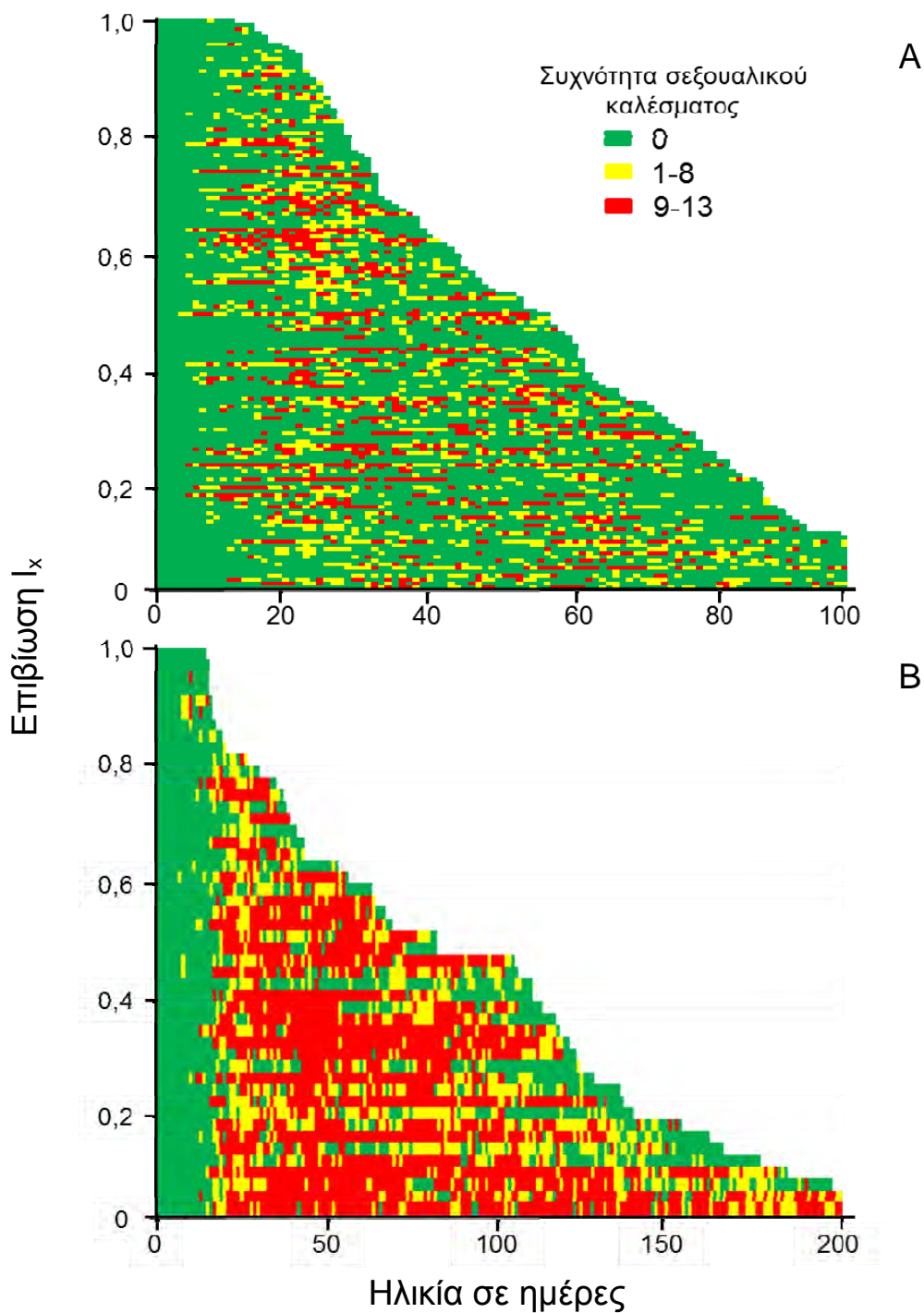
Διάγραμμα 6.2. Μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος (κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 3 ημερών), σε σύνολο 13 παρατηρήσεων, αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη και που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (A) και αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη και που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (B) σε σχέση με την ηλικία.



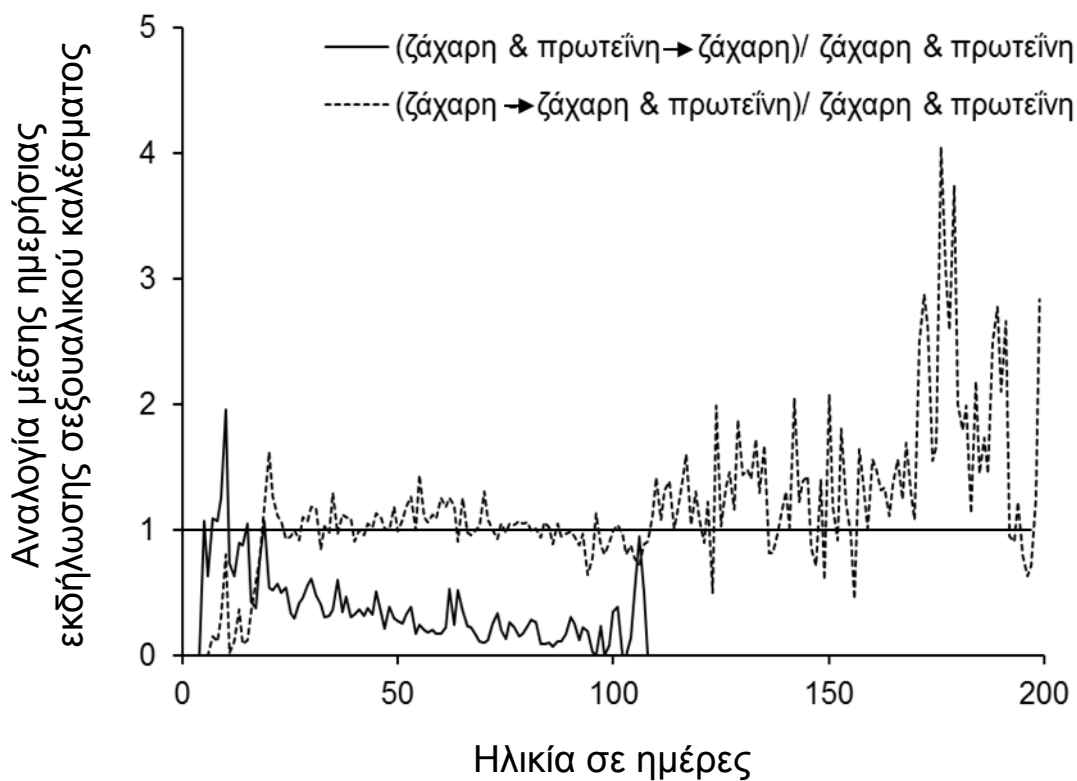
Διάγραμμα 6.3. Μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος (συχνότητα σε 13 παρατηρήσεις) ανά δεκαήμερο ζωής των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη (μαύροι κύκλοι) και που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (λευκοί κύκλοι) και των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη (μαύρα τετράγωνα) και που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (λευκά τετράγωνα), έως την ηλικία των 100 ημερών.



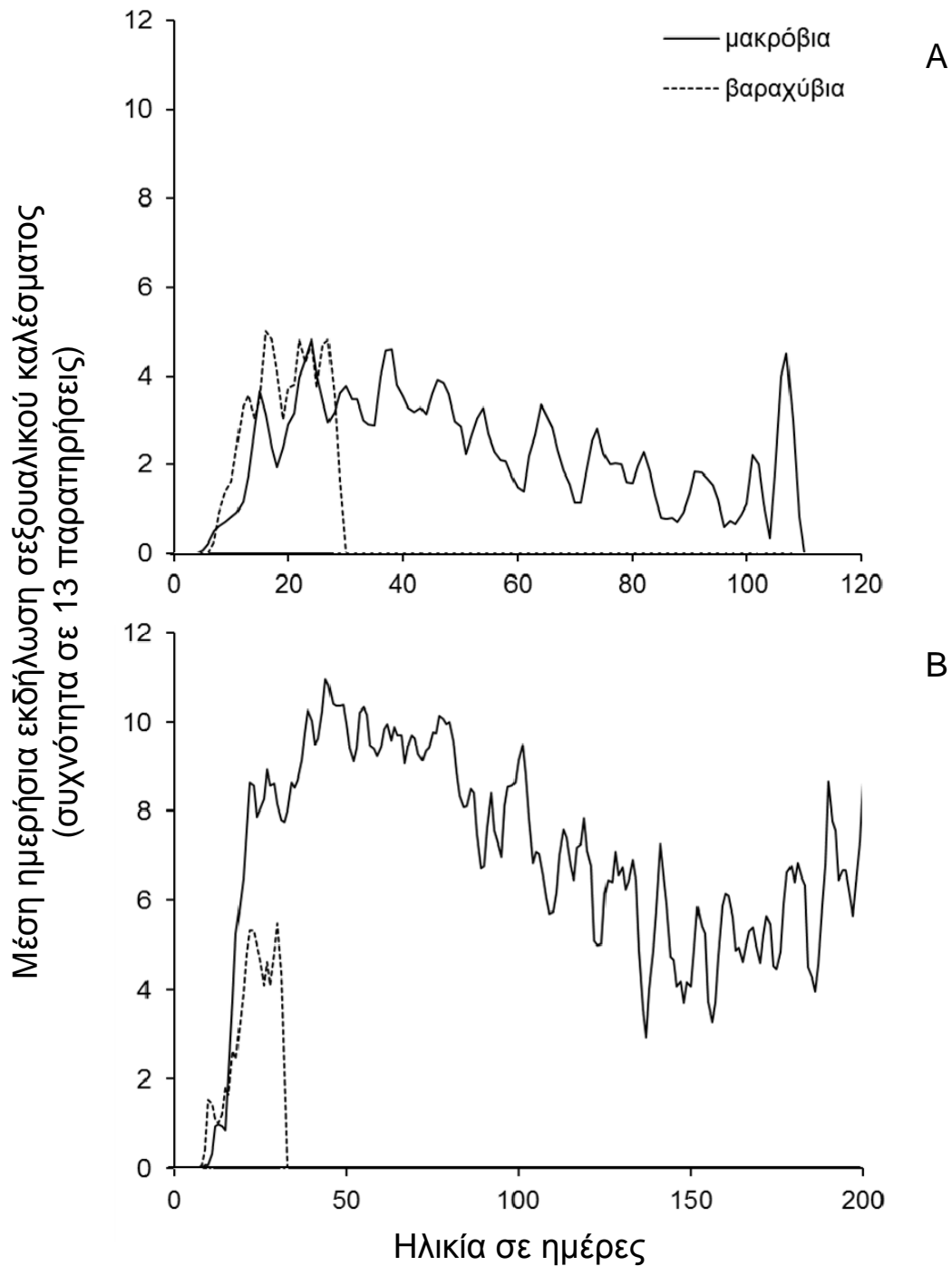
Διάγραμμα 6.4. Γραφήματα “event history” (Carey, et al., 1998a) που παρέχουν λεπτομερή απεικόνιση των ηλικιών στις οποίες τα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και τα αρσενικά που στερήθηκαν την πρόσβαση σε πρωτεΐνη μετά τη 15^η ημέρα της ζωής τους (B) εκδήλωσαν σεξουαλικό κάλεσμα. Κάθε άτομο αναπαρίσταται από μια οριζόντια «γραμμή» ανάλογη της διάρκειας ζωής του. Κάθε ημέρα που ένα αρσενικό εκδήλωσε σεξουαλικό κάλεσμα είναι χρωματικά κωδικοποιημένη σύμφωνα με τη συχνότητα εκδήλωσης της συγκεκριμένης συμπεριφοράς.



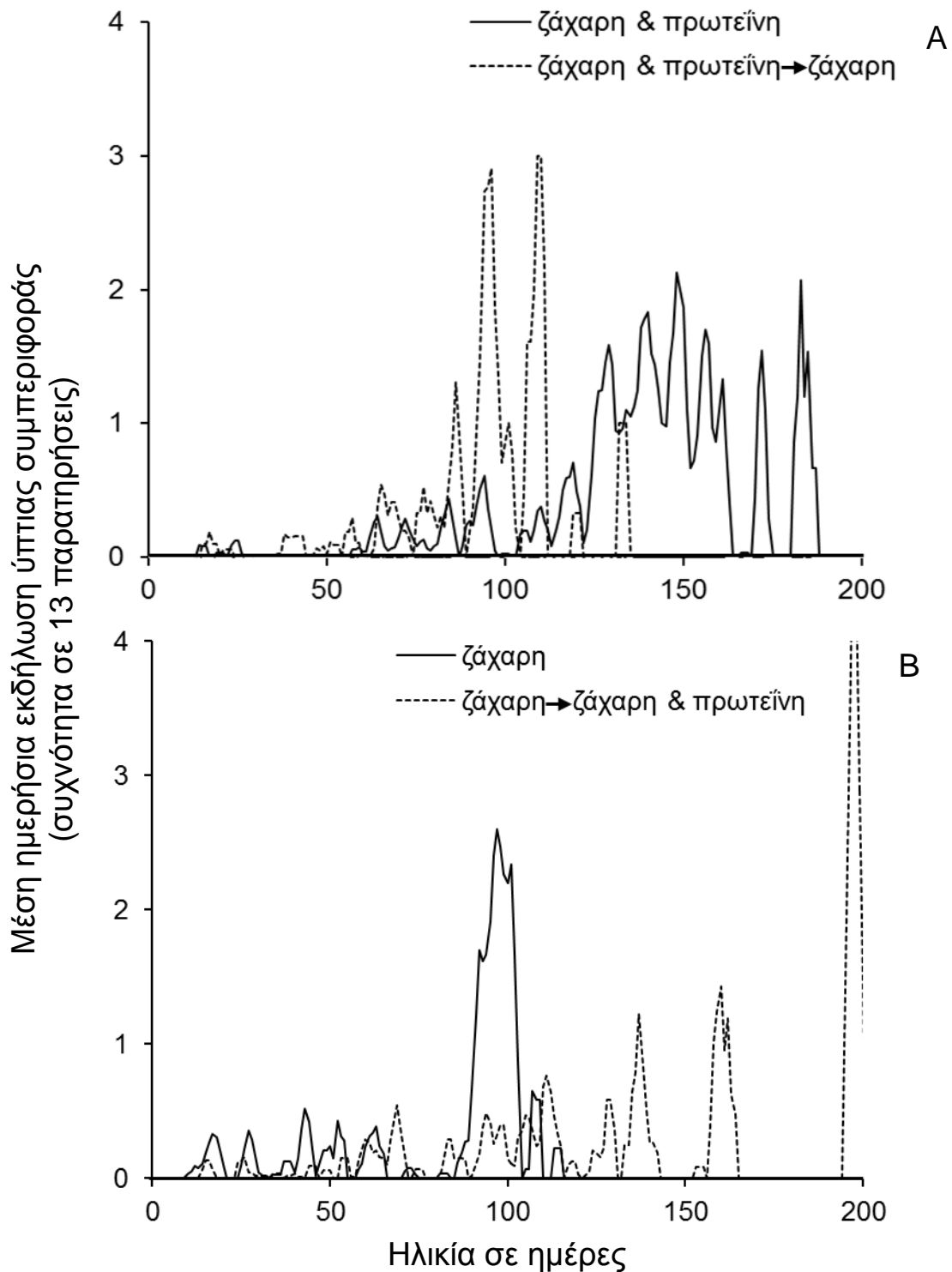
Διάγραμμα 6.5. Γραφήματα “event history” (Carey, et al., 1998a) που παρέχουν λεπτομερή απεικόνιση των ηλικιών στις οποίες τα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη (A) και τα αρσενικά που απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη μετά τη 15^η ημέρα της ζωής τους (B) εκδήλωσαν σεξουαλικό κάλεσμα. Κάθε άτομο αναπαρίσταται από μια οριζόντια «γραμμή» ανάλογη της διάρκειας ζωής του. Κάθε ημέρα που ένα αρσενικό εκδήλωσε σεξουαλικό κάλεσμα είναι κωδικοποιημένη χρωματικά σύμφωνα με τη συχνότητα εκδήλωσης της συγκεκριμένης συμπεριφοράς.



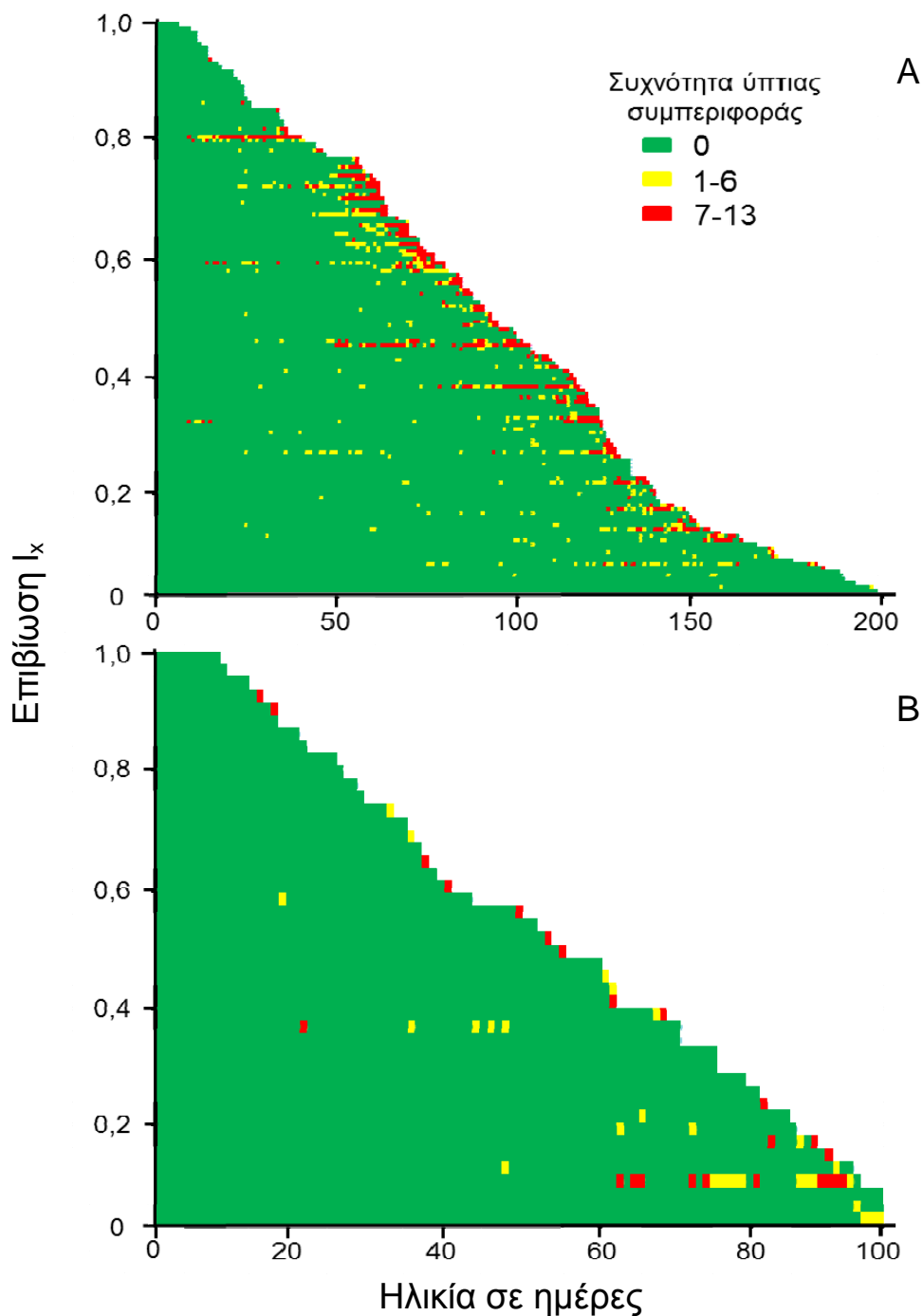
Διάγραμμα 6.6. Αναλογία μέσης ημερήσιας εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (συνεχόμενη γραμμή) και αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (διακεκομμένη γραμμή) προς τη μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη.



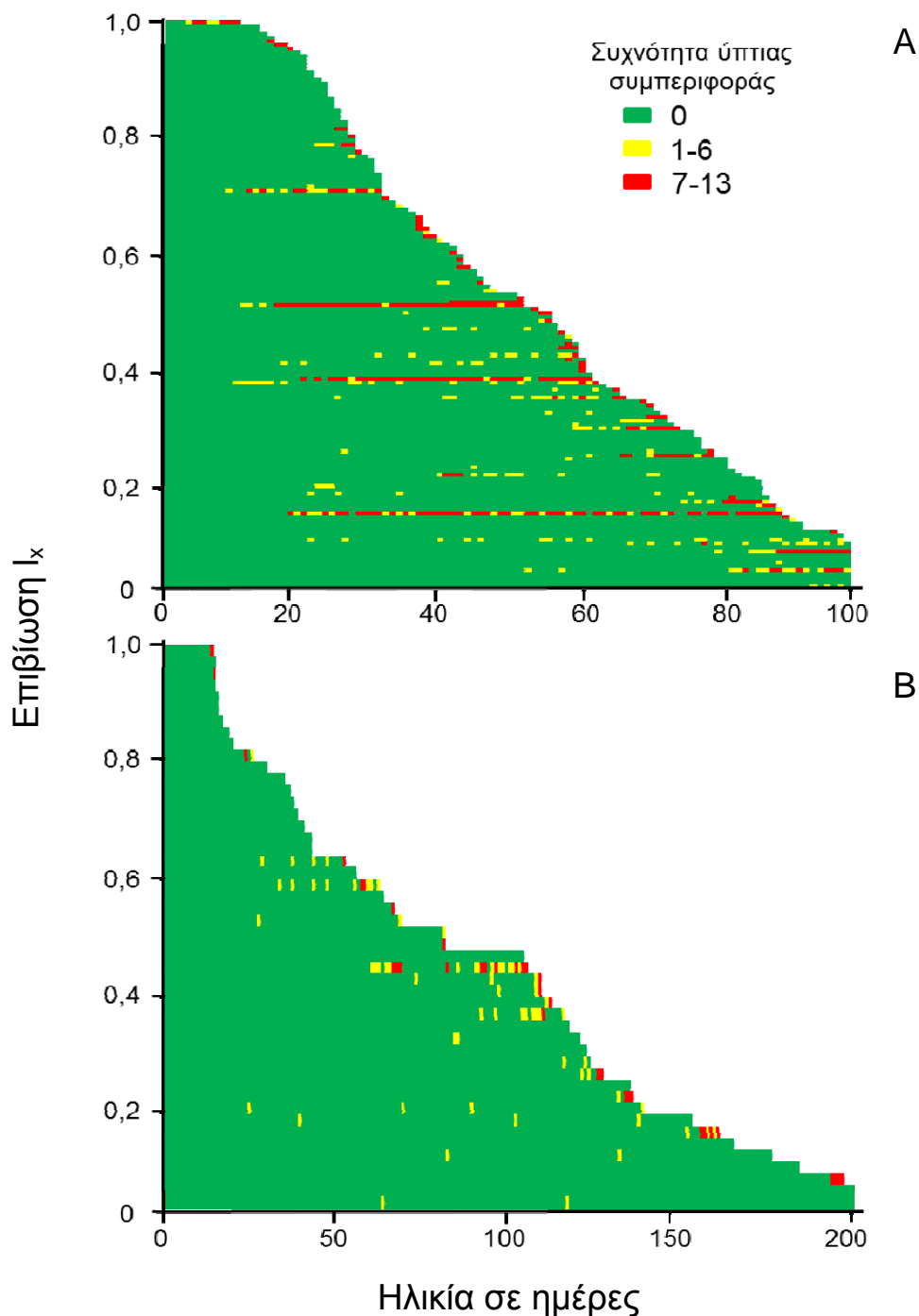
Διάγραμμα 6.7. Μέση ημερήσια εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος (κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 3 ημερών) του 25% των μακροβιότερων και βραχυβιότερων αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και μετά την ηλικία των 15 ημερών στερήθηκαν την πρόσβαση στην πρωτεΐνη (Α) και αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και μετά την ηλικία των 15 ημερών απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη (Β) σε σχέση με την ηλικία.



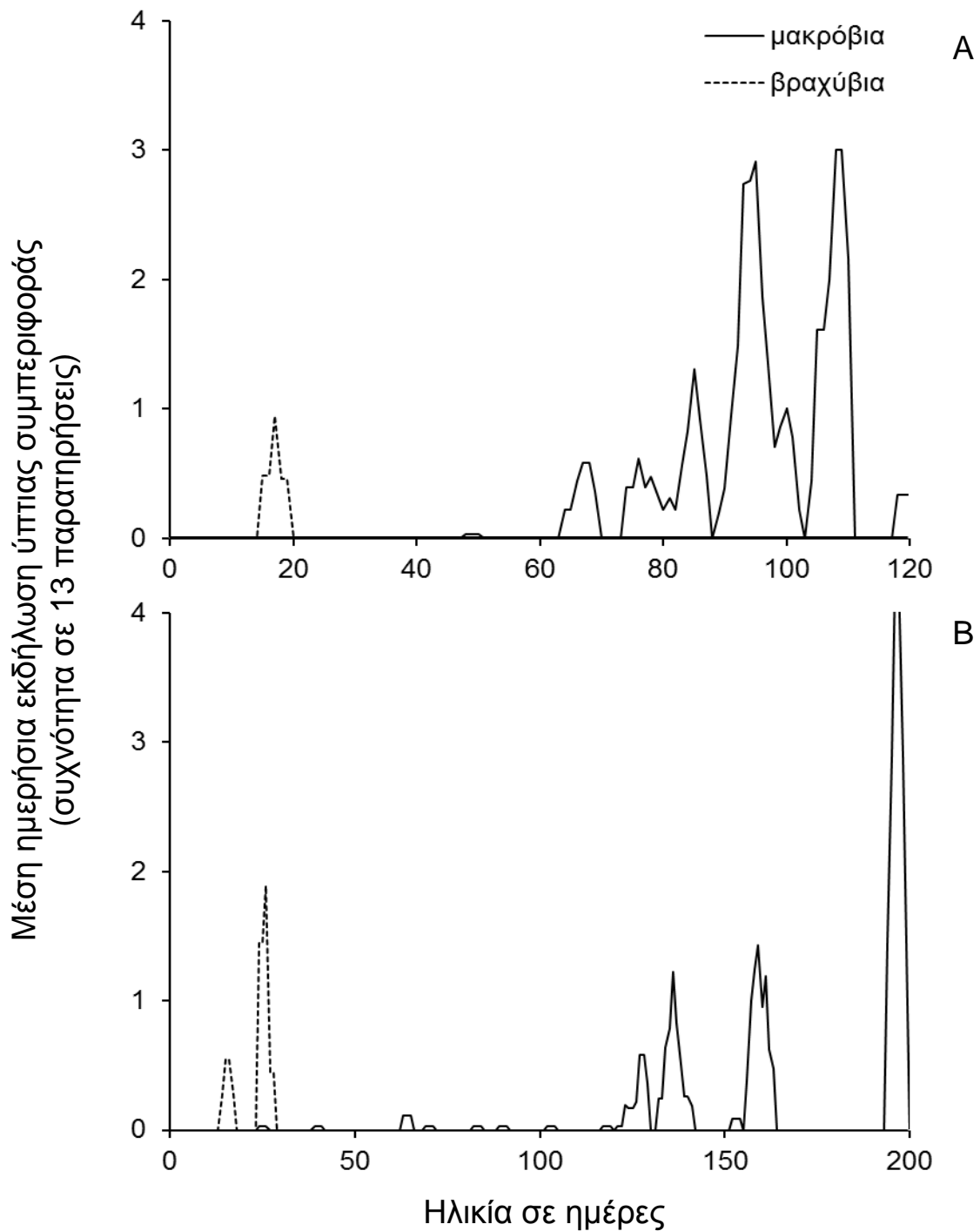
Διάγραμμα 6.8. Μέση ημερήσια εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς (κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 3 ημερών), σε σύνολο 13 παρατηρήσεων, αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη και που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (A) και αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη και που μετά την ηλικία των 15 ημερών τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (B) σε σχέση με την ηλικία.



Διάγραμμα 6.9. Γραφήματα “event history” (Carey, et al., 1998a) που παρέχουν λεπτομερή απεικόνιση των ηλικιών στις οποίες τα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και τα αρσενικά που στερήθηκαν την πρόσβαση σε πρωτεΐνη μετά τη 15^η ημέρα της ζωής τους (B) εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά. Κάθε άτομο αναπαρίσταται από μια οριζόντια «γραμμή» ανάλογη της διάρκειας ζωής του. Κάθε ημέρα που ένα αρσενικό εκδήλωσε ύπτια συμπεριφορά είναι κωδικοποιημένη χρωματικά σύμφωνα με τη συχνότητα εκδήλωσης της συγκεκριμένης συμπεριφοράς.



Διάγραμμα 6.10. Γραφήματα “event history” (Carey, et al., 1998a) που παρέχουν λεπτομερή απεικόνιση των ηλικιών στις οποίες τα αρσενικά που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη (A) και τα αρσενικά που απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη μετά τη 15^η ημέρα της ζωής τους (B) εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά. Κάθε άτομο αναπαρίσταται από μια οριζόντια «γραμμή» ανάλογη της διάρκειας ζωής του. Κάθε ημέρα που ένα αρσενικό εκδήλωσε ύπτια συμπεριφορά είναι κωδικοποιημένη χρωματικά σύμφωνα με τη συχνότητα εκδήλωσης της συγκεκριμένης συμπεριφοράς.



Διάγραμμα 6.11. Μέση ημερήσια εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς (κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο ημερών) του 25% των μακροβιότερων και βραχυβιότερων αρσενικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και μετά την ηλικία των 15 ημερών στερήθηκαν την πρόσβαση σε πρωτεΐνη (Α) και αρσενικών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και μετά την ηλικία των 15 ημερών απέκτησαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη (Β) σε σχέση με την ηλικία.

6.5 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου έδειξαν ότι α) ο διατροφικός περιορισμός μετά το στάδιο της σεξουαλικής ωρίμανσης μειώνει σημαντικά την επιβίωση των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου, ενώ η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης μετά την σεξουαλική ωρίμανση αυξάνει την επιβίωση, β) το προσδόκιμο ζωής είναι παραπλήσιο μεταξύ των αρσενικών που έχουν πάντα πρόσβαση σε πρωτεΐνη και εκείνων που την αποκτούν μετά την ηλικία των 15 ημερών, καθώς και μεταξύ των αρσενικών που έχουν πρόσβαση σε πρωτεΐνη μόνο μέχρι τη σεξουαλική τους ωρίμανση και εκείνων που τρέφονται συνεχώς μόνο με ζάχαρη, γ) η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη αυξάνει άμεσα την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος στα επίπεδα των αρσενικών που τρέφονται συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη, δ) η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη μειώνει προοδευτικά την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος σε επίπεδα ελαφρώς υψηλότερα από εκείνα των αρσενικών που τρέφονται συνεχώς μόνο με ζάχαρη, ε) η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος είναι σημαντικά υψηλότερη στα μακρόβια αρσενικά όταν η εναλλαγή της τροφής πραγματοποιείται από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη όχι όμως όταν πραγματοποιείται από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη, στ) η ύπτια συμπεριφορά είναι συχνότερη και εκδηλώνεται για μεγαλύτερη περίοδο και από μεγαλύτερο ποσοστό αρσενικών που τρέφονται συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη και ζ) η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς εντείνεται σε προχωρημένες ηλικίες σε όλα τα διατροφικά πρωτόκολλα.

Ο διατροφικός περιορισμός, όχι μόνο δεν αύξησε την επιβίωση, αλλά αντίθετα, αύξησε τη θνησιμότητα των αρσενικών όταν εφαρμόστηκε αμέσως μετά τη σεξουαλική ωρίμανση. Το αποτέλεσμα αυτό βρίσκεται σε αντίθεση με προγενέστερες έρευνες που δείχνουν ότι ο διατροφικός περιορισμός αυξάνει την επιβίωση των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου (Carey et al., 1998b; Davies et al., 2005). Αυτό μπορεί να οφείλεται στη διαφορετική ανταπόκριση των εργαστηριακών φυλών έναντι των άγριων πληθυσμών, όπως επίσης και των δύο φύλων, στο διατροφικό περιορισμό. Ακόμα, τα διατροφικά πρωτόκολλα που χρησιμοποιούνται σε κάθε μελέτη διαφέρουν τόσο στη ποιότητα (διαθεσιμότητα πρωτεΐνης, ζάχαρης, βιταμινών κ.λπ.) όσο και στην ποσότητα και αναλογία των θρεπτικών στοιχείων. Στο παρόν κεφάλαιο ο

διατροφικός περιορισμός δεν περιλάμβανε τη μείωση αλλά την παντελή έλλειψη υδρολυμένης μαγιάς και κατά συνέπεια την έλλειψη βιταμινών και μετάλλων, εκτός των σημαντικών αμινοξέων. Η διαθεσιμότητα μόνο κρυσταλλικής ζάχαρης (σακχαρόζης) εξασφαλίζει αποκλειστικά υδατάνθρακες και κανένα θρεπτικό στοιχείο (βιταμίνες, ανόργανα άλατα, λιπαρά οξέα, μέταλλα) τα οποία, σε συνδυασμό με την πρωτεΐνη (αμινοξέα) φαίνεται ότι συμβάλλουν στην αύξηση της επιβίωσης. Επίσης, η διατροφή με ζάχαρη και πρωτεΐνη τις πρώτες 15 ημέρες ζωής των αρσενικών δεν ήταν αρκετή για τη διατήρηση της επιβίωσης σε υψηλά επίπεδα, κάτι που είναι ιδιαίτερα ενδιαφέρον αν ληφθεί υπόψη ότι την περίοδο αυτή ενεργοβόροι μηχανισμοί, όπως η παραγωγή φερομόνης και η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος, παραμένουν σε χαμηλά επίπεδα. Η συνεχής πρόσληψη τροφής, υψηλής διατροφικής αξίας, από τα αρσενικά φαίνεται ότι είναι απαραίτητη για την αύξηση της διάρκειας ζωής τους.

Η υψηλή συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος των αρσενικών σχετίζεται άμεσα με την πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή (Paradopoulos et al., 1998). Αρσενικά που μετά τη σεξουαλική ωρίμανση τρέφονταν με τροφή πλούσια σε πρωτεΐνη εκδήλωσαν σημαντικά συχνότερα σεξουαλικό κάλεσμα ανεξάρτητα από τη διατροφή τους πριν τη σεξουαλική ωρίμανση. Η άμεση ανταπόκριση των αρσενικών στη διαθεσιμότητα πρωτεΐνης που εκφράστηκε με κατακόρυφη αύξηση της συχνότητας σεξουαλικού καλέσματος καταδεικνύει ότι πρόκειται για ενεργοβόρο συμπεριφορά που εξαρτάται από το διατροφικό επίπεδο του εντόμου (Kaspi et al., 2000; Warburg & Yuval, 1997) καθώς και ότι ο μεταβολισμός και η χρήση των θρεπτικών στοιχείων της τροφής είναι αρκετά ταχεία διαδικασία. Ένα μικρό ποσοστό των αρσενικών που αρχικά τρεφόταν μόνο με ζάχαρη και στη συνέχεια με ζάχαρη και πρωτεΐνη έφτασε σε πιο προχωρημένες ηλικίες και εκδήλωσε σεξουαλικό κάλεσμα με υψηλότερη συχνότητα, κυρίως στις προχωρημένες ηλικίες, σε σχέση με τα αρσενικά που είχαν μόνιμα πρόσβαση σε πρωτεΐνη. Ο διατροφικός περιορισμός νωρίς στην ενήλικη ζωή ίσως ενεργοποιεί μηχανισμούς αύξησης της αρμοστικότητας που βελτιστοποιούν τις επιδόσεις κάποιων ατόμων σε περιπτώσεις διαθεσιμότητας πλούσιου διατροφικού περιβάλλοντος, σε μεταγενέστερες ηλικίες της ενήλικης ζωής. Ακόμα, ενώ η μεταβολή της τροφής από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη είχε σαν συνέπεια τη μείωση του σεξουαλικού καλέσματος, η

συχνότητα εκδήλωσής του παρέμεινε σε υψηλότερα επίπεδα (χωρίς όμως σημαντικές διαφορές) σε σχέση με τα αρσενικά που τρέφονταν διαρκώς με ζάχαρη, έως την ηλικία των 50 ημερών περίπου. Συνεπώς, η διατροφή με πρωτεΐνη πριν τη σεξουαλική ωρίμανση μπορεί να μη συμβάλει στην αύξηση της επιβίωσης αλλά να χρησιμοποιείται, κυρίως, προς όφελος της σεξουαλικής ελκυστικότητας του εντόμου.

Ο διατροφικός περιορισμός κατά το πρώτο δεκαπενθήμερο ζωής των αρσενικών και η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης μετά τη σεξουαλική ωρίμανση αύξησε κατακόρυφα τη συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος σε επίπεδα παραπλήσια με αυτή των αρσενικών που είχαν συνεχή πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή. Επιπλέον, αύξησε την επιβίωση σε επίπεδα υψηλότερα (παρ' ότι στατιστικώς μη σημαντικά) σε σχέση με αυτά αρσενικών που τρέφονται συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Ακόμα, η συχνότητα εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος των μακρόβιων αρσενικών, που υποβλήθηκαν σε διατροφικό περιορισμό κατά το πρώτο δεκαπενθήμερο της ζωής τους, ήταν σημαντικά υψηλότερη από αυτή των βραχύβιων. Φαίνεται ότι η διατροφική καταπόνηση νωρίς στην ενήλικη ζωή σε συνδυασμό με βελτίωση της διατροφικής συνθήκης μετά τη σεξουαλική ωρίμανση παρέχει πλεονέκτημα στα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου που εκδηλώνεται με αυξημένη σεξουαλική δραστηριότητα σε προχωρημένη ηλικία. Παρά το γεγονός ότι τα δεδομένα του παρόντος Κεφαλαίου δεν έδειξαν θετική συσχέτιση της εκδήλωσης του σεξουαλικού καλέσματος με τη μακροβιότητα των αρσενικών (Paradopoulos et al., 2004), το οποίο πιθανώς οφείλεται στο μικρό μέγεθος του δείγματος τιμών, περαιτέρω διερεύνηση του σεξουαλικού καλέσματος σε σχέση με την επιβίωση σε διαφορετικές συνθήκες διατροφικής καταπόνησης και συνδυασμού τους θα δώσει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με το κόστος εκδήλωσης της συμπεριφοράς αυτής και τη σχέση της με την αρμοστικότητα των αρσενικών.

Η ύπτια συμπεριφορά εκδηλώθηκε από τα αρσενικά που ακολούθησαν τα τέσσερα διατροφικά πρωτόκολλα κυρίως για μια χρονική περίοδο πριν το θάνατο. Επίσης, εκδηλώθηκε συχνότερα, για μεγαλύτερη χρονική διάρκεια και σε μεγαλύτερο ποσοστό (73%) από τα αρσενικά που τρέφονται διαρκώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη σε σχέση με τα αρσενικά των υπόλοιπων διατροφικών πρωτοκόλλων που εκδήλωσαν ύπτια συμπεριφορά σε ποσοστό περίπου

50%. Τόσο σε προγενέστερη έρευνα (Papadopoulos et al., 2002a) όσο και στα πειράματα του 4^{ου} Κεφαλαίου της παρούσας διατριβής τα αρσενικά εκδήλωναν ύπτια συμπεριφορά σε μεγαλύτερο ποσοστό, σε σχέση με το συνολικό μέγεθος του δείγματος. Η παραλλακτικότητα στο ποσοστό των αρσενικών που εκδηλώνουν ύπτια συμπεριφορά πιθανώς οφείλεται στη συνθήκη διατροφής. Συγκεκριμένα, ενδέχεται η ενέργεια και τα θρεπτικά στοιχεία που το ενήλικο αποκτά τις πρώτες δύο εβδομάδες της ζωής του να παίζουν σημαντικότερο ρόλο στην ενεργοποίηση του μηχανισμού για τη μετέπειτα έκφρασή του. Επιπλέον, η εκδήλωση της ύπτιας συμπεριφοράς εξαρτάται άμεσα και από τη διαρκή διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή γεγονός που καταδεικνύει η διαφορά στη συχνότητα εκδήλωσής της μεταξύ αρσενικών που τις πρώτες 15 ημέρες τις ζωής τους τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και στη συνέχεια με ζάχαρη και πρωτεΐνη και αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη.

Η ύπτια συμπεριφορά αποτελεί βιοδείκτη γήρανσης, ορίζει την έναρξη της μη υγιούς περιόδου της ζωής του ενήλικου και μπορεί να χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης πρόβλεψης της ηλικίας θανάτου (Papadopoulos et al., 2002a). Τα αρσενικά που υποβλήθηκαν σε διατροφικό περιορισμό έως τη σεξουαλική ωρίμανση και στη συνέχεια είχαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή εκδήλωσαν σε μικρό ποσοστό και συχνότητα ύπτια συμπεριφορά και έζησαν ελαφρώς περισσότερο από τα αρσενικά που είχαν συνεχώς πρόσβαση σε πρωτεΐνη. Συνεπώς, αρκετά από αυτά μετέβηκαν από την περίοδο υγιούς ζωής στο θάνατο χωρίς την εκδήλωση μη υγιούς περιόδου. Παράλληλα, στα ίδια αρσενικά, εκείνα που έζησαν έως την ηλικία των 100 ημερών εκδήλωναν σεξουαλικό κάλεσμα έως το θάνατο χωρίς να μεταβούν στη μη υγιή περίοδο ενώ τα πιο μακρόβια εκδήλωναν υψηλή συχνότητα σεξουαλικού καλέσματος έως την προχωρημένη ηλικία των 200 ημερών. Στη συγκεκριμένη διατροφική συνθήκη, η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος πιθανώς να αποτελεί πιο ενδεδειγμένο δείκτη εκτίμησης της μακροβιότητας των αρσενικών από ότι η ύπτια συμπεριφορά. Συνεπώς, η συνθήκη (condition) μπορεί να καθορίζει τη συχνότητα έκφρασης βασικών συμπεριφορών που αποτελούν δείκτες αρμοστικότητας. Η συνδυαστική χρήση τους για τη μελέτη της συμπεριφοράς σε πολυπαραγοντικά περιβάλλοντα πιθανώς να οδηγήσει σε χρήσιμα συμπεράσματα σχετικά με τη λειτουργική γήρανση στη μύγα της Μεσογείου.

Ανακεφαλαιώνοντας, ο διατροφικός περιορισμός στο στάδιο της σεξουαλικής ωρίμανσης των αρσενικών επηρεάζει σημαντικές βιολογικές παραμέτρους όπως την επιβίωση, το σεξουαλικό κάλεσμα και την εκδήλωση ύππιας συμπεριφοράς. Η διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης μόνο σε νεαρές ηλικίες φαίνεται ότι δεν επαρκεί για την συντήρηση ενεργειακά απαιτητικών λειτουργιών, όπως το σεξουαλικό κάλεσμα, και ταυτόχρονα επιφέρει κόστος που μεταφράζεται σε μείωση της διάρκειας ζωής. Το εύρημα αυτό έρχεται σε αντίθεση με την κοινώς αποδεκτή θεωρία της αύξησης της διάρκειας ζωής μέσω διατροφικού περιορισμού, τουλάχιστον με το διατροφικό πρωτόκολλο που ακολουθήθηκε στην παρούσα πειραματική διαδικασία. Ακόμα, ο διατροφικός περιορισμός επηρεάζει τη συχνότητα εκδήλωσης της ύππιας συμπεριφοράς, χωρίς ωστόσο να αλληλεπιδρά με την ηλικία εκδήλωσης της συμπεριφοράς αυτής. Η διερεύνηση των αιτιών που προκαλούν αντίθετα αποτελέσματα όταν εφαρμόζονται διαφορετικά διατροφικά πρωτόκολλα, όπως επίσης η εκτίμηση της επίδρασης διαφόρων πρωτοκόλλων διατροφικού περιορισμού σε άλλα βιολογικά χαρακτηριστικά του εντόμου (ανταγωνιστικότητα και ικανότητα σύζευξης των αρσενικών, διάρκεια σύζευξης, παραγωγή και μεταφορά σπέρματος, αλληλεπίδραση των παραπάνω με την ωοπαραγωγή) θα παρείχαν ενδιαφέρουσες πληροφορίες και θα συνέβαλλαν στη διασαφήνιση των μηχανισμών που ενεργοποιούνται μέσω του διατροφικού περιορισμού.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

7 ΔΙΤΤΟ ΤΟ ΚΟΣΤΟΣ ΤΗΣ ΓΗΡΑΝΣΗΣ ΣΤΗ ΣΕΞΟΥΑΛΙΚΗ ΣΥΜΠΕΡΙΦΟΡΑ ΤΩΝ ΑΡΣΕΝΙΚΩΝ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ

7.1 Περίληψη

Μελετήθηκε στο εργαστήριο το πιθανό κόστος που επιφέρει η γήρανση στην ανταγωνιστικότητα (επιτυχία σύζευξης σε συνθήκες ανταγωνισμού με νεαρά αρσενικά) και στην ικανότητα (επιτυχία σύζευξης σε συνθήκες έλλειψης ανταγωνισμού) σύζευξης των αρσενικών. Πραγματοποιήθηκαν δοκιμές σύζευξης θηλυκών με δυνατότητα επιλογής ανάμεσα σε νεαρά και μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά και δοκιμές σύζευξης θηλυκών με αρσενικά συγκεκριμένης ηλικίας. Ελέγχθηκε η μηδενική υπόθεση ότι η γήρανση δεν επηρεάζει την ανταγωνιστικότητα και την ικανότητα σύζευξης των αρσενικών. Η πιθανότητα σύζευξης αρσενικών μεγάλης ηλικίας μειώθηκε δραματικά σε συνθήκες ανταγωνισμού με νεαρότερα αρσενικά. Η ικανότητα σύζευξης των αρσενικών μειώθηκε σταδιακά σε σχέση με την ηλικία, αλλά τα γηραιότερα αρσενικά γίνονταν αποδεκτά για σύζευξη από τα θηλυκά σε ικανοποιητικό βαθμό απουσία ανταγωνισμού. Γηραιότερα αρσενικά πέτυχαν μικρότερης διάρκειας συζεύξεις απ' ότι τα νεαρά αρσενικά ενώ ο χρόνος έως τη σύζευξη, που υποδηλώνει την επιλεκτικότητα των θηλυκών για σύζευξη, αυξανόταν σε σχέση με την ηλικία των αρσενικών. Η ποσότητα σπέρματος που μετέφεραν τα αρσενικά στις σπερμοθήκες των θηλυκών δεν επηρεάστηκε από την ηλικία των αρσενικών. Τα θηλυκά αποθήκευσαν ασύμμετρα το σπέρμα στις σπερμοθήκες τους, ανεξάρτητα από την ηλικία του αρσενικού. Η ποσότητα σπέρματος δε διέφερε σημαντικά στους όρχεις συζευγμένων και μη συζευγμένων αρσενικών και αυξανόταν καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους. Σχολιάζεται η σημασία των παραπάνω ευρημάτων για την κατανόηση της σεξουαλικής συμπεριφοράς και ανταγωνιστικότητας των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου σε σχέση με την ηλικία, δίνοντας έμφαση στις προχωρημένες

ηλικίες.

7.2 Εισαγωγή

Η αναπαραγωγική επιτυχία των αρσενικών μπορεί να καθοριστεί από πλήθος παραγόντων με την ηλικία να είναι ένας από αυτούς. Η γήρανση ενός οργανισμού συνδέεται με αύξηση της πιθανότητας θανάτου και με ταυτόχρονη μείωση της πιθανότητας αναπαραγωγής (Charlesworth, 2000; 2001; Kirkwood, 1977; 2002). Αρκετές, σχετικά πρόσφατες, θεωρητικές και εμπειρικές μελέτες ασχολούνται με τη σχέση της γήρανσης και της αρμοστικότητας (Hansen & Price, 1995; Kokko, 1997; 1998; Manning, 1985) και ειδικότερα με αυτή των αρσενικών (Beck & Powell, 2000; Kokko & Lindstrom, 1996). Οι περισσότερες θεωρίες υποστηρίζουν ότι η ηλικία είναι δείκτης υψηλής γενετικής αξίας. Τα γηραιότερα αρσενικά χαρακτηρίζονται από μεγαλύτερη γονική εμπειρία και παρέχουν γενετικά πλεονεκτήματα στους απογόνους όταν επιλέγονται από τα θηλυκά για σύζευξη (Brooks & Kemp, 2001). Στον αντίποδα, μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά μπορεί να είναι κατώτερου επιπέδου από ότι τα νεότερα λόγω διάθεσης των ενεργειακών αποθεμάτων τους στη μακροβιότητα και όχι στην αναπαραγωγική επιτυχία, συσσώρευσης δυσμενών γονιδιακών μεταλλάξεων και δυσκολότερης προσαρμογής σε τρέχουσες συνθήκες (Cordts & Partridge, 1996; Gosling et al., 2000). Οι περισσότερες πειραματικές έρευνες σχετικά με την επίδραση της ηλικίας στην αναπαραγωγική επίδοση των αρσενικών μελετούν σχετικά μικρό εύρος ηλικιών (νεαρές κυρίως ηλικίες) (Neto et al., 2009; Perez-Staples et al., 2010; Shelly et al., 2007) αφήνοντας ασαφείς πολλές πλευρές της συμπεριφοράς σύζευξης σε προχωρημένες ηλικίες. Προκειμένου να επιτευχθεί η σύζευξη σε αναπαραγωγικά συστήματα τύπου “lek” τα γηραιότερα αρσενικά θα πρέπει να έχουν την ικανότητα εκδήλωσης ολόκληρου του εύρους της σεξουαλικής συμπεριφοράς και επίσης να μπορούν να ανταγωνιστούν νεότερα, περισσότερο εύρωστα, αρσενικά. Το ενδεχόμενο τα θηλυκά να μπορούν να αντιληφθούν και να αξιολογήσουν αλλαγές στη σεξουαλική συμπεριφορά γηραιότερων αρσενικών δεν έχει αποσαφηνιστεί ακόμα.

Μελέτες σχετικά με την προτίμηση των θηλυκών για συντρόφους

διαφορετικών ηλικιών αποκαλύπτουν μεγάλη παραλλακτικότητα ανάμεσα στα είδη (Avent et al., 2008; Fischer et al., 2008; LaMunyon, 2001; Liedo et al., 2002; Radwan et al., 2005; Schafer & Uhl, 2002; Shelly et al., 2011; Shelly et al., 2007). Αρκετά συχνά, μορφολογικά χαρακτηριστικά των αρσενικών που αυξάνουν την ελκυστικότητά τους παρουσιάζουν θετική συσχέτιση με την ηλικία και τα θηλυκά που επιλέγουν με βάση γνωρίσματα που σχετίζονται με την ηλικία ευνοούν έμμεσα την επιλογή γηραιότερων αρσενικών. Για παράδειγμα, σε μερικά είδη θηλαστικών τα γηραιότερα αρσενικά έχουν μεγαλύτερο μέγεθος, είναι δυνατότερα και περισσότερο έμπειρα στην ερωτοτροπία και τη σύζευξη (Manning, 1985). Στην περίπτωση των εντόμων όμως, το μέγεθος συνήθως δε μεταβάλλεται μετά την ενηλικίωση και, κατά συνέπεια, τα αρσενικά αναμένεται να γίνονται λιγότερο ελκυστικά καθώς γηράσκουν λόγω φυσιολογικής φθοράς (καταστροφή πτερυγίων, αποδυνάμωση σεξουαλικών σημάτων κ.λπ.) (Jones & Kim, 1994). Άλλοι παράγοντες όπως η διατροφή και η σεξουαλική εμπειρία μπορούν να αλληλεπιδράσουν με την ηλικία και να επηρεάσουν τη σεξουαλική επίδοση των αρσενικών (Aluja et al., 2009; Fischer et al., 2008; Perez-Staples et al., 2010). Η επίδραση της ηλικίας στην αναπαραγωγική επιτυχία των αρσενικών διαφέρει ακόμα και μεταξύ ειδών εντόμων που ανήκουν στο ίδιο γένος. Για παράδειγμα, μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά του είδους *Drosophila pseudoobscura* πετυχαίνουν περισσότερες συζεύξεις απ' ό,τι τα νεαρά ενώ δεν παρατηρείται σημαντική επίδραση της ηλικίας στην επιτυχία σύζευξης αρσενικών *Drosophila melanogaster* (Avent et al., 2008; Price & Hansen, 1998).

Τα χαρακτηριστικά της σύζευξης (διάρκεια και χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης) έχουν μελετηθεί ενδελεχώς τόσο για τη μύγα της Μεσογείου όσο και για άλλα Δίπτερα. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η ηλικία των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου δεν επιδρά σημαντικά στην διάρκεια της σύζευξης (Liedo et al., 2002). Ωστόσο, η συγκεκριμένη έρευνα έλεγξε αρσενικά ηλικίας έως 13 ημερών. Αρσενικά μέσης ηλικίας του *D. pseudoobscura* επιλέγονται γρηγορότερα από τα θηλυκά για σύζευξη και πετυχαίνουν μεγαλύτερης διάρκειας συζεύξεις (Avent et al., 2008). Επίσης, η διάρκεια της σύζευξης σχετίζεται με την ποιότητα της τροφής στα αρσενικά του *Anastrepha striata* (Perez-Staples & Aluja, 2004).

Οι μελέτες της μεταφοράς σπέρματος στη μύγα της Μεσογείου εστιάζουν κυρίως στην ανταγωνιστικότητα του σπέρματος για την παραγωγή απογόνων, στην αναστολή της επανασύζευξης των θηλυκών, στην ωοπαραγωγή και στην αρμοστικότητα των απογόνων (Mossinson & Yuval, 2003; Shelly et al., 2007). Ωστόσο, η επίδραση της ηλικίας των αρσενικών στη μεταφορά του σπέρματος δεν έχει μελετηθεί μέχρι στιγμής για τη μύγα της Μεσογείου ούτε και για άλλα είδη μυγών που προσβάλλουν δένδρως καλλιέργειες.

Στο παρόν Κεφάλαιο εξετάστηκε η υπόθεση ότι τόσο η ικανότητα όσο και η ανταγωνιστικότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου είναι ανεξάρτητη από την ηλικία τους και ότι νεαρά αναπαραγωγικά ώριμα θηλυκά δεν έχουν την ικανότητα διάκρισης των αρσενικών με βάση την ηλικία. Επίσης, προβλέφθηκε ότι τα χαρακτηριστικά της σύζευξης (διάρκεια και χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης) και η μεταφορά σπέρματος δε θα διέφεραν μεταξύ νεαρών και μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικών. Για το σκοπό αυτό μελετήθηκε σε σταθερές εργαστηριακές συνθήκες η επίδραση της ηλικίας στην ικανότητα σύζευξης (πλήθος επιτυχών συζεύξεων απουσία ανταγωνισμού) και στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης των αρσενικών (πλήθος επιτυχών συζεύξεων παρουσία νεαρών αρσενικών).

7.3 Υλικά και μέθοδοι

7.3.1 Γενικά

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ. το διάστημα 2008 – 2010. Οι συνθήκες που επικρατούσαν κατά τη διάρκεια των πειραμάτων (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτισμός) περιγράφονται στο Κεφάλαιο 2 (Ενότητα 2.1). Χρησιμοποιήθηκαν έντομα που συλλέχθηκαν από προσβεβλημένους καρπούς στην περιοχή των Λεχωνίων και εκτράφηκαν για 1 έως 3 γενεές ($F_1 - F_3$) στο εργαστήριο. Η εκτροφή των εντόμων πραγματοποιούνταν πάντα κάτω από τις ίδιες συνθήκες και για το λόγο αυτόν πιθανές διαφορές στο μέγεθος των ατόμων και στη διατροφική τους κατάσταση θεωρήθηκαν αμελητέες. Άλλωστε, σύμφωνα με προηγούμενη έρευνα, το μέγεθος του σώματος των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου δεν

έχει σημαντική επίδραση στη συχνότητα σύζευξης (Whittier et al., 1994).

7.3.2 Τύποι δοκιμών σύζευξης και διατήρηση εντόμων

Πραγματοποιήθηκαν δύο τύποι δοκιμών σύζευξης: οι δοκιμές σύζευξης με επιλογή και οι δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή. Στις δοκιμές σύζευξης με επιλογή η ανταγωνιστικότητα σύζευξης αρσενικών 15, 20, 30, 40 και 50 ημερών ελέγχθηκε σε σχέση με νεαρά, αναπαραγωγικά ώριμα, μη συζευγμένα αρσενικά ηλικίας 12 – 14 ημερών που αποτελούσαν το μάρτυρα. Στις δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή ελέγχθηκε η επίδραση της ηλικίας (10, 15, 20, 30, 40, 50 και 70 ημερών) στην ικανότητα σύζευξης των αρσενικών όταν αυτά δεν ανταγωνίζονταν νεαρά αρσενικά.

Τα ενήλικα διαχωρίζονταν με βάση το φύλο μια ημέρα μετά την έξοδο τους από το νυμφικό περίβλημα. Τα θηλυκά που χρησιμοποιήθηκαν στα δύο είδη δοκιμών σύζευξης (με επιλογή, χωρίς επιλογή) ήταν παρθένα, αναπαραγωγικά ώριμα, ηλικίας 12 – 14 ημερών και διατηρούνταν μέχρι την ημερομηνία της δοκιμής σύζευξης σε κλουβιά Plexiglas διαστάσεων 20 x 20 x 20 cm (με τα θηλυκά σε κάθε κλουβί να μην υπερβαίνουν τα 20) (Εικόνα 2.3). Τα αρσενικά (μάρτυρας και μεταχείριση) διατηρούνταν ατομικά σε πλαστικά κλουβιά όγκου 400 ml μέχρι να φτάσουν την επιθυμητή ηλικία (Εικόνα 2.4 A). Αρσενικά και θηλυκά είχαν συνεχή πρόσβαση σε νερό και τροφή ενηλίκων (υδρολυμένη μαγιά, ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:4:5). Η θνησιμότητα των αρσενικών της μεταχείρισης καταγραφόταν καθημερινά. Επίσης, μία ημέρα πριν τη διεξαγωγή της δοκιμής σύζευξης τα αρσενικά του μάρτυρα και της μεταχείρισης σημαίνονταν στον πρυνώτο με νερομπογιά διαφορετικού χρώματος (κόκκινο και πράσινο) με τη βοήθεια ενός λεπτού πινέλου. Το απόγευμα πριν τη δοκιμή σύζευξης τα θηλυκά τοποθετούνταν στα κλουβιά όπου θα πραγματοποιούνταν οι δοκιμές σύζευξης προκειμένου να προσαρμοστούν στο νέο περιβάλλον. Το νερό και η τροφή ενηλίκων ήταν διαθέσιμα σε αφθονία στα κλουβιά των συζεύξεων.

7.3.3 Δοκιμές σύζευξης με επιλογή

Στις 06:00 το πρωί της ημέρας διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης με

επιλογή τοποθετούνταν σε κάθε κλουβί Plexiglas (20 x 20 x 20 cm) 10 αρσενικά συγκεκριμένης ηλικίας που αποτελούσαν τη μεταχείριση, 10 αρσενικά ηλικίας 12 –14 ημερών που αποτελούσαν το μάρτυρα και 10 θηλυκά. Η πυκνότητα των αρσενικών δεν αναμενόταν να επηρεάσει σημαντικά την επιλογή στα θηλυκά, όπως άλλωστε έχει αποδειχθεί σε παλιότερες παρόμοιες πειραματικές συνθήκες (Whittier et al., 1994). Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνταν κάθε 15 λεπτά από τις 07:00 έως τις 16:00 και καταγραφόταν ο αριθμός των αρσενικών του μάρτυρα και της μεταχείρισης που επιλέγονταν από τα θηλυκά για σύζευξη. Κάθε ζευγάρι που σχηματιζόταν απομακρυνόταν από το κλουβί (Εικόνα 2.5) για να αποφευχθούν επανασυζεύξεις καθώς επίσης και ένα αρσενικό της άλλης κατηγορίας προκειμένου να διατηρηθεί η αναλογία των αρσενικών του μάρτυρα και της μεταχείρισης σταθερή και ίση με 1. Για κάθε ηλικιακή κλάση (15, 20, 30, 40 και 50 ημερών) των αρσενικών της μεταχείρισης διεξήχθησαν 10 επαναλήψεις δοκιμών σύζευξης με επιλογή (50 συνολικά).

7.3.4 Δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή

Στις 06:00 το πρωί της ημέρας διεξαγωγής των δοκιμών σύζευξης χωρίς επιλογή τοποθετούνταν σε κάθε κλουβί Plexiglas (20 x 20 x 20 cm) 10 αρσενικά συγκεκριμένης ηλικίας και 10 θηλυκά. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνταν και σε αυτή την πειραματική διαδικασία κάθε 15 λεπτά από τις 07:00 έως τις 16:00. Καταγραφόταν ο αριθμός των συζεύξεων σε κάθε κλουβί – επανάληψη και όλα τα ζευγάρια μετακινούνταν σε πλαστικά φιαλίδια (Εικόνα 2.5) μέχρι να ολοκληρωθεί η σύζευξη. Κατά τη διεξαγωγή των δοκιμών σύζευξης χωρίς επιλογή καταγράφονταν επίσης η διάρκεια της σύζευξης και ο χρόνος από τη στιγμή της εισαγωγής των αρσενικών στο κλουβί έως την έναρξη της κάθε σύζευξης. Την επόμενη ημέρα υπολογιζόταν ο αριθμός των σπερματοζωαρίων που βρίσκονταν στους όρχεις των αρσενικών και στις σπερμοθήκες των θηλυκών που αποτελούσαν το ζεύγος, ακολουθώντας τη μεθοδολογία των Twig και Yuval (2005). Ελέγχθηκε, με αυτό τον τρόπο, αν η ηλικία του αρσενικού επηρεάζει την αποθήκευση του σπέρματος στις σπερμοθήκες. Ακόμα, καταγραφόταν ο αριθμός των σπερματοζωαρίων στους όρχεις αρσενικών που δεν κατάφεραν να

συζευχθούν. Η διαδικασία περιελάμβανε αρσενικά ηλικίας 10, 15, 20, 30, 40, 50 και 70 ημερών. Η μεθοδολογία καταμέτρησης σπέρματος περιγράφεται αναλυτικά στο Υποκεφάλαιο 2.6.

7.3.5 Στατιστική ανάλυση

Η στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση των στατιστικών πακέτων SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) και R έκδοσης 2.10 (www.r-project.org). Τόσο στις δοκιμές σύζευξης με επιλογή όσο και στις δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή η επίδραση της ηλικίας στην ανταγωνιστικότητα και στην ικανότητα σύζευξης, αντίστοιχα, καθορίστηκε με την ανάλυση παραμετρικής και λογιστικής συμμεταβολής (Parametric και Logistic Regression). Επιπλέον, το μοντέλο γραμμικής συμμεταβολής (Linear Regression) χρησιμοποιήθηκε για την αξιολόγηση της επίδρασης της ηλικίας των αρσενικών στη διάρκεια της σύζευξης, στο χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης και στον αριθμό των σπερματοζωαρίων που μεταφέρθηκαν στις σπερμοθήκες των θηλυκών. Η επίδραση της ηλικίας και της σύζευξης στην ποσότητα των σπερματοζωαρίων στους όρχεις των αρσενικών εκτιμήθηκε με την ανάλυση παραλλακτικότητας ομοιόμορφης διακύμανσης (Univariate Analysis of Variance – ANCOVA) όπου η σύζευξη ήταν ο σταθερός παράγοντας (fixed factor) και η ηλικία η συμμεταβλητή (covariate). Τέλος, προκειμένου να ποσοτικοποιηθούν τόσο η ανταγωνιστικότητα όσο και η ικανότητα σύζευξης των αρσενικών χρησιμοποιήθηκε το μοντέλο της λογιστικής συμμεταβολής (Logistic Regression). Έτσι, συνδυάζοντας τα στοιχεία των δύο κατηγοριών δοκιμών σύζευξης (με επιλογή και χωρίς) αξιολογήθηκαν ταυτόχρονα η επίδραση του ανταγωνισμού μεταξύ των αρσενικών και της ηλικίας στην επιτυχία σύζευξης (πιθανότητα σύζευξης).

7.4 Αποτελέσματα

7.4.1 Επίδραση της ηλικίας στην ανταγωνιστικότητα και ικανότητα σύζευξης των αρσενικών

Στο Διάγραμμα 7.1 δίνεται η ανταγωνιστικότητα σύζευξης αρσενικών

συγκεκριμένων ηλικιών (μεταχείριση) σε σχέση με αυτή νεαρών αρσενικών (μάρτυρας). Η γήρανση επηρέασε αρνητικά την ανταγωνιστικότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου ($P < 0,05$, $R^2 = 0,97$). Αναλυτικά, παρατηρήθηκε δραματική μείωση της ανταγωνιστικότητας σύζευξης σε αρσενικά μεγαλύτερα των 20 ημερών. Μέχρι την ηλικία των 20 ημερών τα αρσενικά επιλέγονταν σε ικανοποιητικό βαθμό από τα θηλυκά για σύζευξη σε σχέση με τους νεαρούς (12 – 14 ημερών) ανταγωνιστές τους και πετύχαιναν πάνω από το 35% των συνολικών συζεύξεων. Ωστόσο, στην ηλικία των 30 ημερών πέτυχαν το 20% των συνολικών συζεύξεων που σημειώθηκαν ενώ αρσενικά ηλικίας 40 και 50 ημερών πέτυχαν μόλις το $\approx 10\%$ των συνολικών συζεύξεων.

Σε συνθήκες απουσίας ανταγωνισμού με νεαρά αρσενικά η ικανότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου μειώθηκε σταδιακά σε μεγαλύτερες ηλικίες (Διάγραμμα 7.2). Ωστόσο, ο αριθμός των επιτυχών συζεύξεων αρσενικών μεγαλύτερων από 50 ημέρες παρέμεινε υψηλός και συγκρίσιμος με αυτόν νεαρών αρσενικών ηλικίας 15 ημερών. Η ικανότητα σύζευξης αρσενικών εξαιρετικά προχωρημένης ηλικίας (70 ημερών) σημείωσε μικρή μείωση αλλά παρέμεινε σε ικανοποιητικά επίπεδα αφού κατάφεραν ένα αξιόλογο ποσοστό συζεύξεων ($> 20\%$). Η ανάλυση της γραμμικής συμμεταβολής δεν έδειξε σημαντική επίδραση της ηλικίας στη ικανότητα σύζευξης των αρσενικών ($P > 0,05$, $R^2 = 0,45$).

7.4.2 Επίδραση της ηλικίας και του ανταγωνισμού στη σύζευξη των αρσενικών

Η πιθανότητα σύζευξης των αρσενικών απουσία ανταγωνισμού μειώθηκε σταδιακά σε σχέση με την ηλικία. Ωστόσο, παρατηρήθηκε δραματική μείωση της πιθανότητας σύζευξης για αρσενικά μεγαλύτερα των 20 ημερών σε συνθήκες ανταγωνισμού (Διάγραμμα 7.3). Η ανάλυση της λογιστικής συμμεταβολής έδειξε ότι τόσο η ηλικία (Wald test $t = 2,6$, $P < 0,05$) όσο και ο ανταγωνισμός (Wald test $t = 6,5$, $P < 0,01$) μείωσαν σημαντικά την επιτυχία σύζευξης και ότι η αλληλεπίδρασή τους ήταν επίσης σημαντική (Wald test $t = 4,9$, $P < 0,05$). Η πιθανότητα σύζευξης ενός νεαρού (≤ 20 ημερών) αρσενικού κυμάνθηκε στο 50% ανεξάρτητα από την ύπαρξη ανταγωνισμού. Μόνο η

γήρανση μείωσε την πιθανότητα σύζευξης σε $\approx 30\%$ και 24% για τα αρσενικά ηλικίας 50 και 70 μερών αντίστοιχα. Ο συνδυασμός όμως της γήρανσης και του ανταγωνισμού με νεαρά αρσενικά μείωσε την πιθανότητα σύζευξης των αρσενικών ηλικίας 50 και 70 ημερών σε 5% και 1% αντίστοιχα. Το κόστος της γήρανσης στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης αρσενικών της μύγας της Μεσογείου ηλικίας 20, 30, 40, 50 και 70 ημερών υπολογίστηκε σε $0,7\%$, $18,0\%$, $23,6\%$, $25,4\%$ και $23,2\%$, αντίστοιχα.

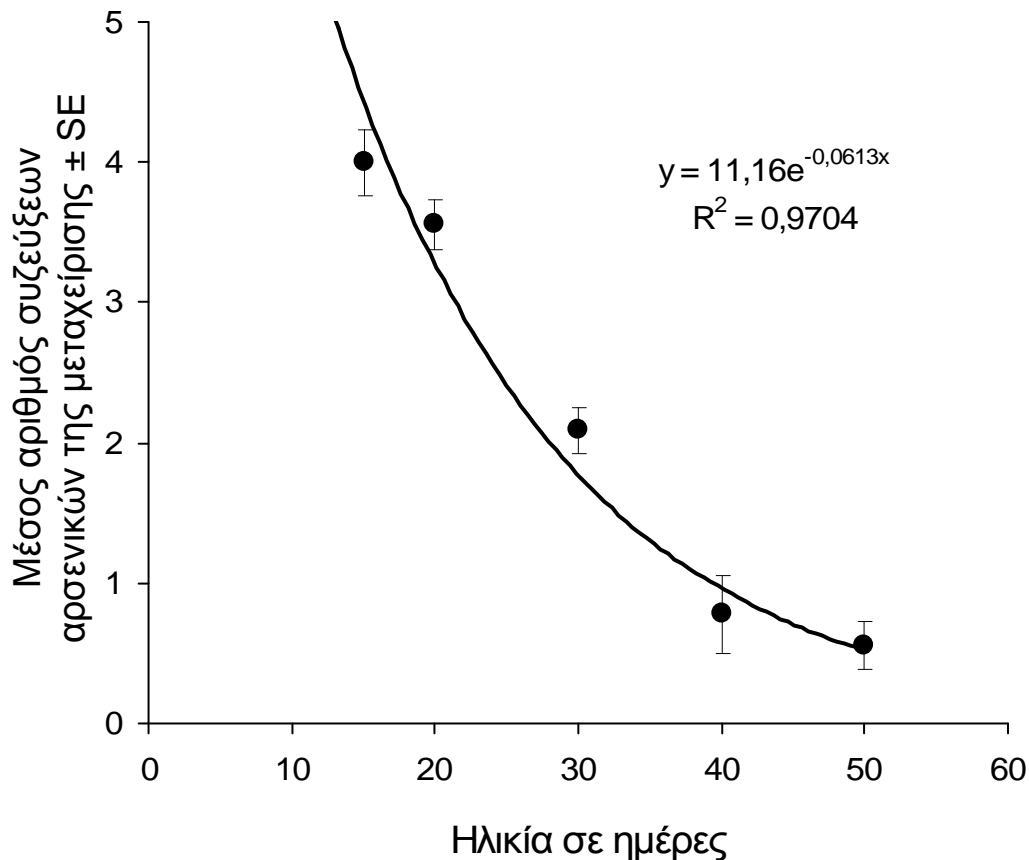
7.4.3 Επίδραση της ηλικίας των αρσενικών στα χαρακτηριστικά της σύζευξης

Τα αποτελέσματα της στατιστικής ανάλυσης έδειξαν ότι η ηλικία των αρσενικών είχε αρνητική επίδραση στη διάρκεια της σύζευξης ($P < 0,05$, $R^2 = 0,570$), σε συνθήκες έλλειψης ανταγωνισμού με νεαρά αρσενικά (Διάγραμμα 7.4 A). Η σύζευξη αρσενικών νεαρής ηλικίας διήρκεσε σημαντικά περισσότερο από αυτή αρσενικών μεγαλύτερης ηλικίας. Η ηλικία των αρσενικών δεν επηρέασε το χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης ($P > 0,05$, $R_2 = 0,285$), αλλά όταν τα αρσενικά ομαδοποιήθηκαν σε ηλικίες μικρότερες και μεγαλύτερες των 30 ημερών, η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι τα θηλυκά καθυστερούσαν να αποδεχτούν για σύζευξη τα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά, με το χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης να είναι σημαντικά μεγαλύτερος ($t = 1,996$, $df = 178$, $P = 0,04$) (Διάγραμμα 7.4 B).

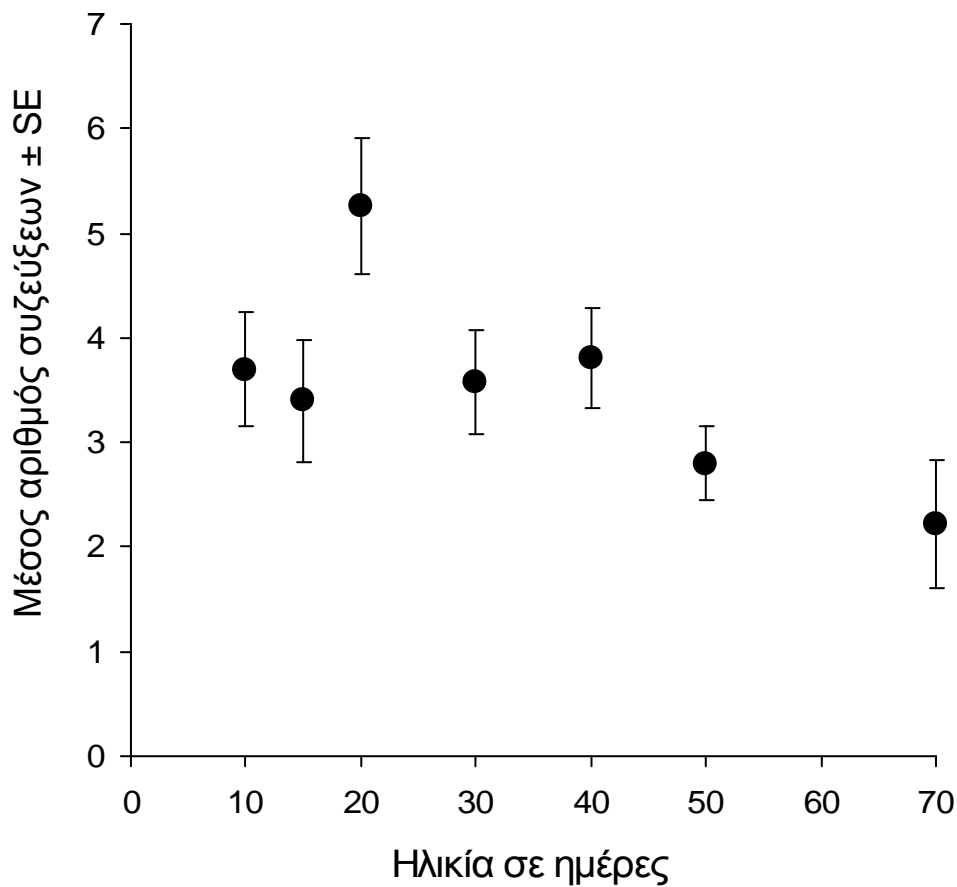
7.4.4 Διαφορές στη μεταφορά και αποθήκευση του σπέρματος σε σχέση με την ηλικία των αρσενικών

Ο αριθμός των σπερματοζωαρίων που μεταφέρθηκαν στις σπερμοθήκες των θηλυκών κυμάνθηκε ανεξάρτητα από την ηλικία των αρσενικών ($P > 0,05$, $R_2 = 0,074$) (Διάγραμμα 7.5). Έτσι, μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά (50 και 70 ημερών) ήταν ικανά να μεταφέρουν παραπλήσιες ποσότητες σπέρματος σε σύγκριση με τα νεότερα αρσενικά (10 και 30 ημερών). Τα θηλυκά αποθήκευσαν ασύμμετρα το σπέρμα στις δύο σπερμοθήκες τους (Διάγραμμα 7.6) χωρίς όμως η ασυμμετρία αυτή να σχετίζεται με την ηλικία των αρσενικών ($P > 0,05$, $R_2 = 0,196$).

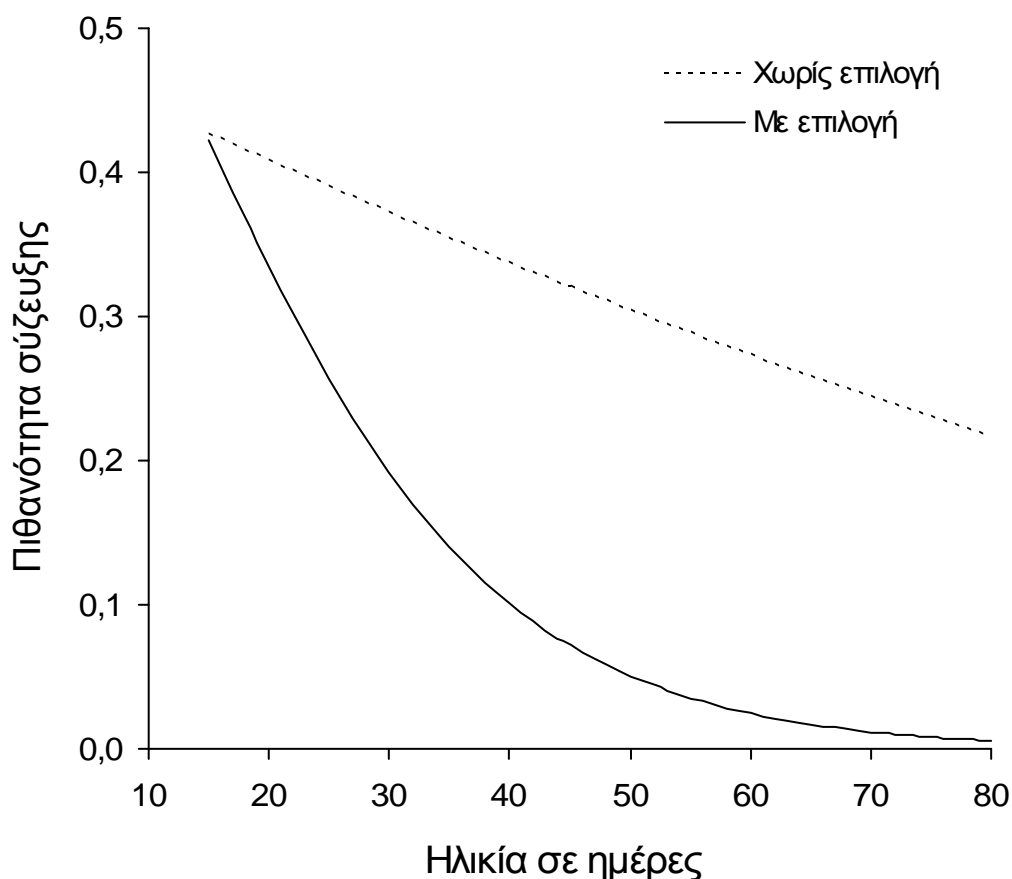
Ο αριθμός των σπερματοζωαρίων στους όρχεις των συζευγμένων και μη συζευγμένων αρσενικών χαρακτηρίστηκε από μια γραμμική θετική συσχέτιση με την ηλικία ($P < 0,05$, $R^2_{\text{συζευγμένα}} = 0,7884$, $R^2_{\text{μη συζευγμένα}} = 0,8156$) (Διάγραμμα 6.7). Η στατιστική ανάλυση (ANCOVA) των αποτελεσμάτων έδειξε ότι η ηλικία έχει σημαντική επίδραση στην ποσότητα του σπέρματος στα αρσενικά ($F = 50,242$, $df = 1$, $P < 0,01$). Ακόμα, ο αριθμός των σπερματοζωαρίων που βρέθηκε στους όρχεις συζευγμένων αρσενικών δε διέφερε σημαντικά από αυτόν των μη συζευγμένων αρσενικών ($F = 0,12$, $df = 263$, $P > 0,05$). Η αυξημένη παραλλακτικότητα που σημειώθηκε στον αριθμό των σπερματοζωαρίων μη συζευγμένων αρσενικών μεγάλης ηλικίας (40, 50 και 70 ημερών) πιθανώς οφείλεται στο μικρό αριθμό ατόμων (5, 4 και 10 αντίστοιχα) που χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό του σπέρματος στις ηλικίες αυτές.



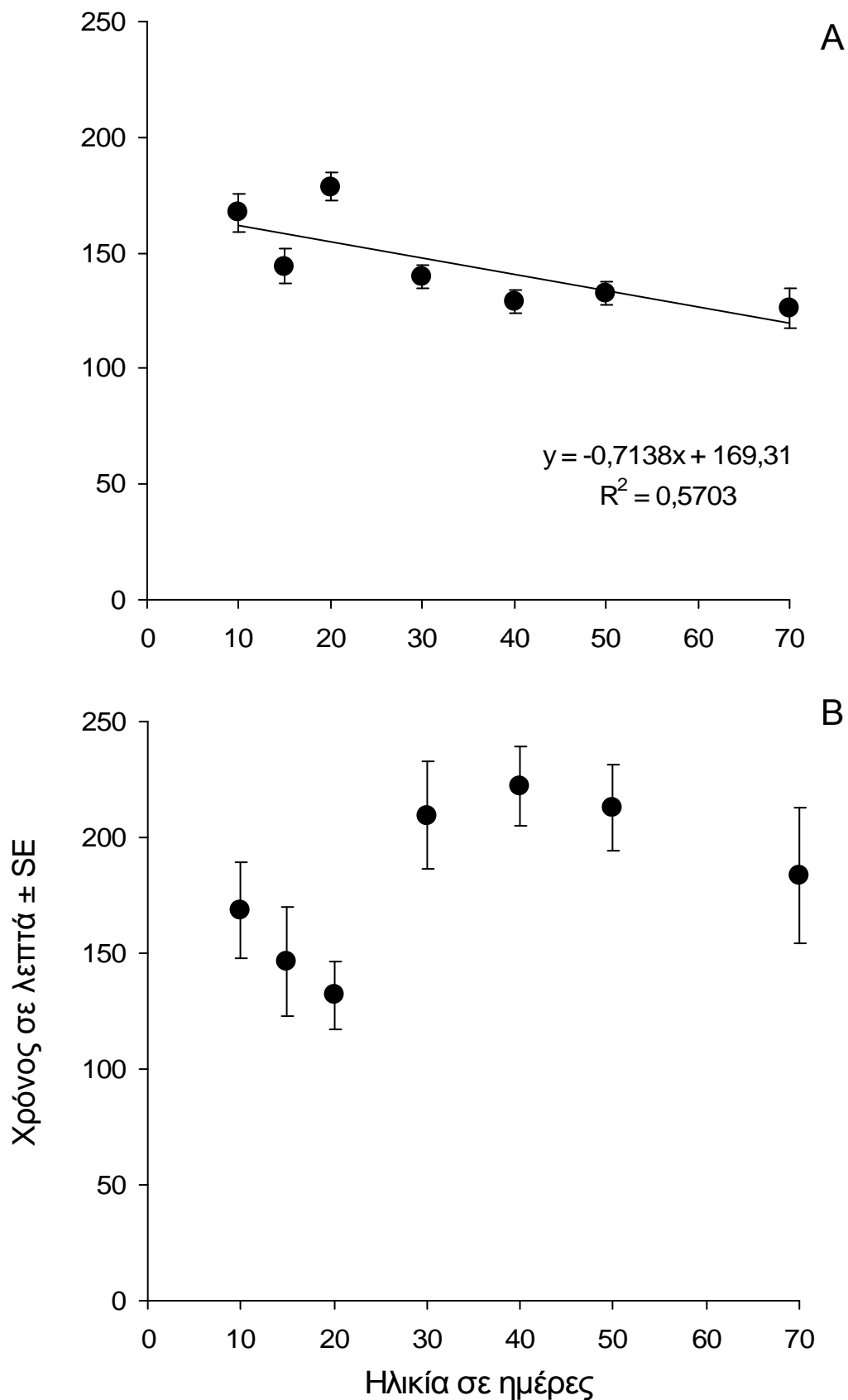
Διάγραμμα 7.1. Επίδραση της ηλικίας στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου. Στις δοκιμές σύζευξης με επιλογή συμπεριλήφθηκαν 10 νεαρά αρσενικά, 10 αρσενικά μεγαλύτερης ηλικίας (μεταχείριση) και 10 θηλυκά. Σε όλες τις δοκιμές τα θηλυκά ήταν αναπαραγωγικά ώριμα, παρθένα ηλικίας 12 – 14 ημερών και τα αρσενικά του μάρτυρα (νεαρά) ήταν αναπαραγωγικά ώριμα, μη συζευγμένα ηλικίας 12 – 14 ημερών. Για κάθε ηλικιακή κλάση των αρσενικών της μεταχείρισης πραγματοποιήθηκαν 10 επαναλήψεις.



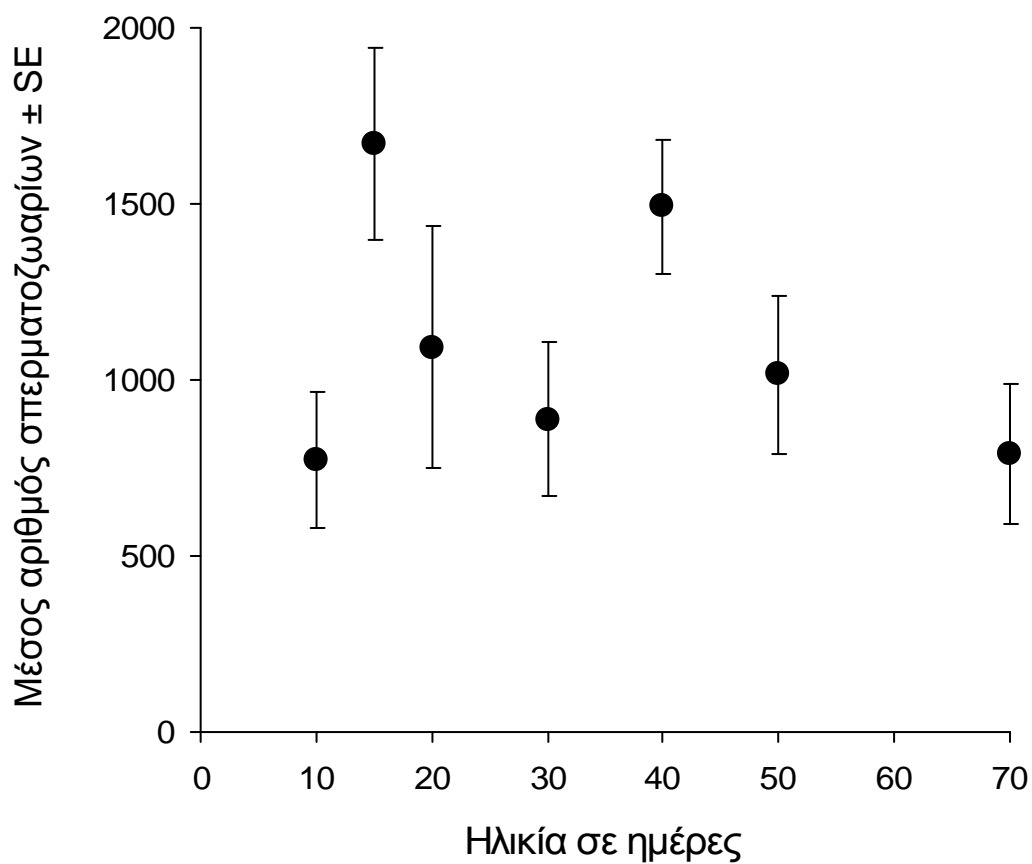
Διάγραμμα 7.2. Επίδραση της ηλικίας στην ικανότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου. Στις δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή συμπεριλήφθηκαν 10 αρσενικά συγκεκριμένης ηλικίας και 10 θηλυκά. Σε όλες τις δοκιμές τα θηλυκά ήταν αναπαραγωγικά ώριμα, παρθένα ηλικίας 12 – 14 ημερών. Για κάθε ηλικιακή κλάση των αρσενικών πραγματοποιήθηκαν 10 με 20 επαναλήψεις.



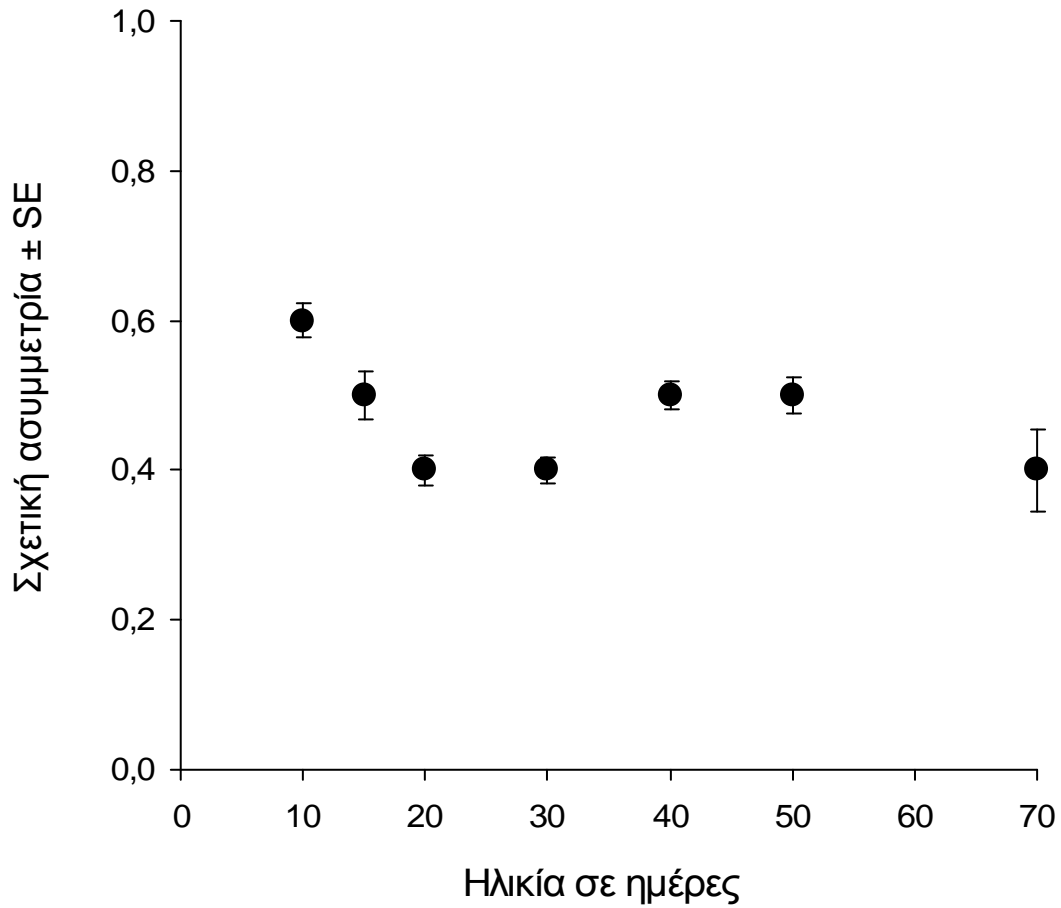
Διάγραμμα 7.3. Πιθανότητα σύζευξης, σε σχέση με την ηλικία, για τις δοκιμές σύζευξης με επιλογή και χωρίς επιλογή. Η πιθανότητα σύζευξης υπολογίστηκε σύμφωνα με το μαθηματικό τύπο $P = \exp(0.812 - 0.877 \cdot \chi_1 - 0.075 \cdot \chi_2 + 0.060 \cdot \chi_1 \chi_2) / [1 + \exp(0.812 - 0.877 \cdot \chi_1 - 0.075 \cdot \chi_2 + 0.060 \cdot \chi_1 \chi_2)]$, όπου $\chi_1 = 0$ για τις δοκιμές σύζευξης με επιλογή, $\chi_1 = 1$ για τις δοκιμές σύζευξης χωρίς επιλογή και χ_2 η ηλικία των αρσενικών σε ημέρες.



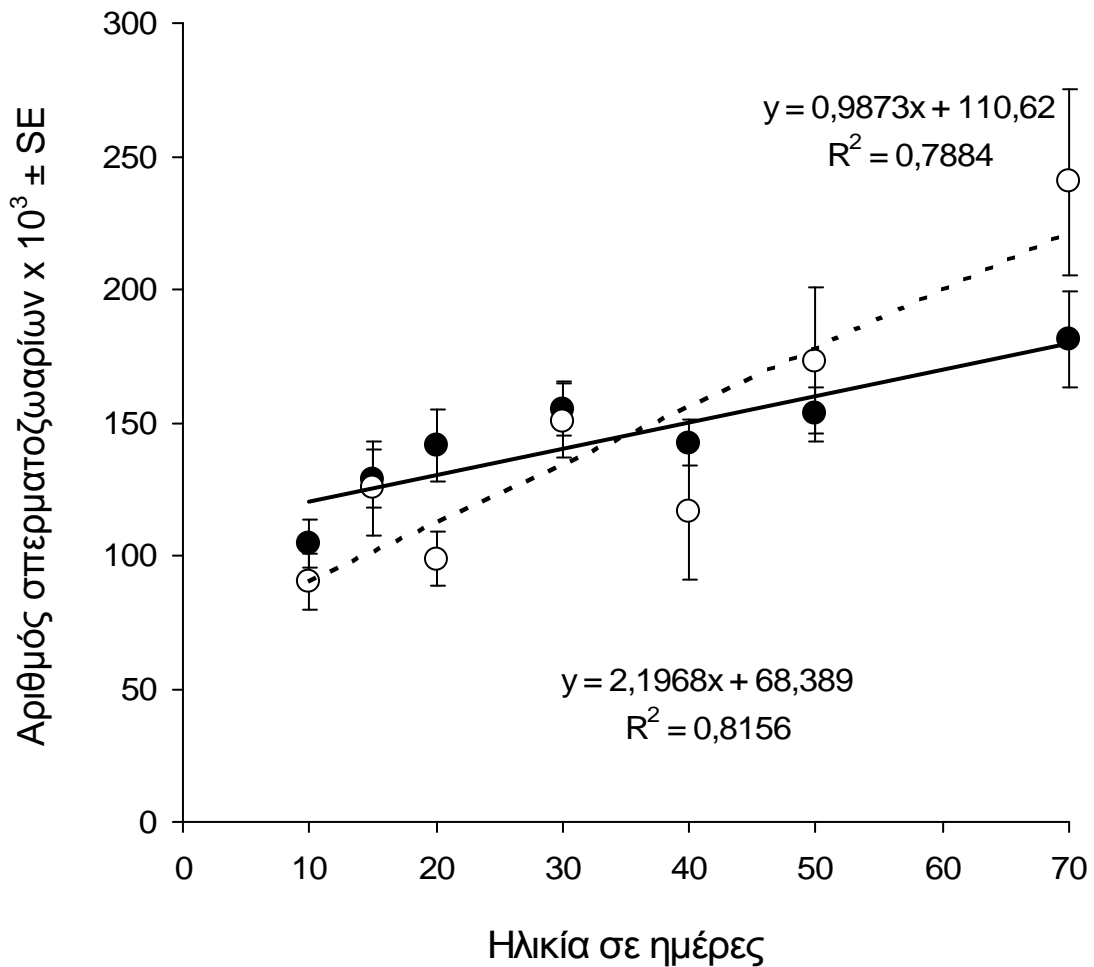
Διάγραμμα 7.4. Διάρκεια σύζευξης (A) και χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης (B) σε σχέση με την ηλικία των αρσενικών.



Διάγραμμα 7.5. Μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων που μεταφέρθηκαν στις σπερμοθήκες των θηλυκών σε σχέση με την ηλικία των αρσενικών. Για κάθε ηλικιακή κλάση των αρσενικών χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό του σπέρματος 14 με 49 θηλυκά.



Διάγραμμα 7.6. Σχετική ασυμμετρία του αριθμού των σπερματοζωαρίων που μεταφέρθηκαν στις σπερμοθήκες των θηλυκών (|σπερματοζωάρια αριστερής σπερμοθήκης – σπερματοζωάρια δεξιάς σπερμοθήκης|/σύνολο σπερματοζωαρίων των δύο σπερμοθηκών) σε σχέση με την ηλικία των αρσενικών.



Διάγραμμα 7.7. Αριθμός σπερματοζωαρίων στους όρχεις αρσενικών που συζεύχθηκαν (μαύροι κύκλοι) και αρσενικών που δε συζεύχθηκαν (λευκοί κύκλοι) σε σχέση με την ηλικία. Η εκτίμηση του σπέρματος στα αρσενικά πραγματοποιήθηκε μια ημέρα μετά τη δοκιμή σύζευξης. Σε κάθε ηλικιακή κλάση χρησιμοποιήθηκαν για τον υπολογισμό του σπέρματος 12 – 44 συζευγμένα και 5 – 16 μη συζευγμένα αρσενικά.

7.5 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι α) η γήρανση προκαλεί δραματική μείωση στη σεξουαλική ανταγωνιστικότητα και σταδιακή πτώση στην ικανότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου, β) σε συνθήκες έλλειψης ανταγωνισμού τα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά συνεχίζουν να πετυχαίνουν σημαντικό ποσοστό συζεύξεων, γ) οι συζεύξεις των νεότερων αρσενικών διαρκούν περισσότερο, δ) η ηλικία των αρσενικών επηρεάζει σημαντικά την επιδεκτικότητα των θηλυκών για σύζευξη, ε) η ηλικία των αρσενικών δεν επηρεάζει την ικανότητά τους να μεταφέρουν σπέρμα στα θηλυκά και στ) η ποσότητα του σπέρματος στα συζευγμένα και μη συζευγμένα αρσενικά αυξάνει σε σχέση με την ηλικία τους.

Τα αρσενικά μεγαλύτερης ηλικίας επιλέγονται σε μικρότερο βαθμό από τα θηλυκά για σύζευξη σε σχέση με τα νεαρά αρσενικά. Τα θηλυκά, αρχικά προσελκύονται από αρσενικά που συμμετέχουν σε συναθροίσεις τύπου “leks” και εκλύουν σεξουαλική φερομόνη. Μετά την προσέλκυση, τα αρσενικά ξεκινούν τη συμπεριφορά ερωτοτροπίας και τα θηλυκά επιλέγουν το σεξουαλικό τους σύντροφο. Οι συζεύξεις της μύγας της Μεσογείου σχεδόν πάντα πραγματοποιούνται με αρσενικά που συμμετέχουν στα “leks” ενώ τα μοναχικά αρσενικά πετυχαίνουν σημαντικά λιγότερες συζεύξεις (Hendrichs & Hendrichs, 1990; Shelly et al., 1993). Παρά το γεγονός ότι στο παρόν Κεφάλαιο δε μελετήθηκε η συμμετοχή των μεγαλύτερων σε ηλικία αρσενικών στις συναθροίσεις τύπου “lek”, τα γηραιότερα αρσενικά ενδέχεται να μη συμμετέχουν στον ίδιο βαθμό στα “leks” σε σχέση με τα νεαρά και αυτό να έχει ως συνέπεια τη μείωση της πιθανότητας σύζευξής τους. Είναι άλλωστε γνωστό ότι τα “leks” απαρτίζονται από αρσενικά που τρέφονται με πρωτεϊνούχες τροφές και ότι αρσενικά που τρέφονται με τροφές χαμηλής διατροφικής αξίας συμμετέχουν σπάνια στα “leks” και έχουν μικρότερη πιθανότητα να επιλεγούν από τα θηλυκά για σύζευξη (Yuval et al., 2002; Yuval et al., 1998). Επιπλέον, η χωρική θέση του αρσενικού μέσα στο “lek” φαίνεται ότι επηρεάζει τον αριθμό των επιτυχών συζεύξεων (Niyazi et al., 2008). Αρσενικά που κατείχαν θέσεις σε ψηλότερο σημείο στον ξενιστή και πιο κοντά στο φως δέχονταν περισσότερες επισκέψεις από θηλυκά και συμμετείχαν σε περισσότερες συζεύξεις. Είναι πιθανό τα νεότερα και

περισσότερο εύρωστα αρσενικά να καταλαμβάνουν τις πλεονεκτικές θέσεις κατά τη διάρκεια του σεξουαλικού καλέσματος και της ερωτοτροπίας ή/και να κερδίζουν τα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά στη διάρκεια επιθετικών συμπεριφορών. Η επίδραση της χωρικής κατανομής των αρσενικών σε σχέση με το πεδίο εκδήλωσης του σεξουαλικού καλέσματος και της ερωτοτροπίας στην επιτυχία σύζευξης πιθανώς να είναι εντονότερη στο εργαστήριο απ' ό,τι στη φύση. Ο περιορισμένος χώρος των κλουβιών θα μπορούσε να προκαλέσει αλληλεπιδράσεις μεταξύ των αρσενικών που τελικά να ευνοούν τα νεαρά αρσενικά. Από την άλλη πλευρά, η εκδήλωση ανταγωνιστικής ή επιθετικής συμπεριφοράς μεταξύ των αρσενικών έχει καταγραφεί σε λίγες μόνο περιπτώσεις σε παρόμοιες συνθήκες (Papadopoulos et al., 2009) και δεν είναι ξεκάθαρο αν τελικά επικρατούν τα νεαρά ή τα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά. Πειράματα σε κλουβιά αγρού (field cages) έδειξαν ότι τα θηλυκά είναι ικανά να διακρίνουν την ηλικία των αρσενικών (έως 40 ημερών) και με βάση αυτή να διαμορφώνουν την προτίμησή τους (Shelly et al., 2011). Μελλοντικές έρευνες θα μπορούσαν να μελετήσουν την επίδοση γηραιότερων αρσενικών σε μεγάλα κλουβιά υπαίθρου (field cages) ή και στη φύση.

Η ένταση του σεξουαλικού καλέσματος παρουσιάζει παραλλακτικότητα μεταξύ των αρσενικών (Flath et al., 1993; Shelly, 2000b; Whittier et al., 1994) ενώ έχουν παρατηρηθεί αρσενικά που δεν εκδηλώνουν καθόλου σεξουαλικό κάλεσμα και παρ' όλα αυτά συμμετέχουν σε "leks" (Shelly et al., 1994). Η ύπαρξη αρσενικών που δεν εκδηλώνουν σεξουαλικό κάλεσμα δεν έχει γίνει πλήρως κατανοητή μέχρι σήμερα και μπορεί να προκαλείται εξαιτίας επιθετικής συμπεριφοράς μεταξύ των αρσενικών ή λόγω γενετικών παραγόντων (Shelly, 2000b). Η ηλικία των αρσενικών όπως και η χρονική στιγμή κατά τη διάρκεια της ημέρας επηρεάζουν, επίσης, την έκλυση της σεξουαλικής φερομόνης (Flath et al., 1993; Neto et al., 2009; Papadopoulos et al., 2004; Papadopoulos et al., 1998; Zhang et al., 2006). Είναι ακόμα γνωστό ότι αρσενικά που εκδηλώνουν περισσότερο σεξουαλικό κάλεσμα πετυχαίνουν και περισσότερες συζεύξεις (Shelly, 2000b). Η συχνότητα εκδήλωσης του σεξουαλικού καλέσματος, η παραγωγή φερομόνης και η ποιότητά της πιθανώς να εξασθενούν με την ηλικία. Παρά το γεγονός ότι η υστέρηση των χαρακτηριστικών αυτών δεν είναι τόσο προφανής στο πλαίσιο του "lek", λόγω έκλυσης φερομόνης από ομάδες μεικτής ηλικίας, η ποιότητα

και ποσότητα της φερομόνης πιθανώς να αξιολογείται ατομικά από το θηλυκό στο στάδιο της ερωτοτροπίας. Σύμφωνα με τον Shelly (2000), η σύνθεση και άρα η ποιότητα της σεξουαλικής φερομόνης δεν επηρεάζει την επιτυχία σύζευξης της μύγας της Μεσογείου. Εντούτοις, η συχνότητα του σεξουαλικού καλέσματος και κατά συνέπεια η ποσότητα της φερομόνης που εκλύεται μπορεί να μειώνεται στα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά αν μάλιστα λάβει κανείς υπόψη και τη στενή σχέση που υπάρχει μεταξύ της πιθανότητας θανάτου και του σεξουαλικού καλέσματος (Paradopoulos et al., 2004). Πρόσφατα βρέθηκε ότι αρσενικά της μύγας της Μεσογείου ηλικίας 10 και 40 ημερών εκδηλώνουν σεξουαλικό κάλεσμα σε παρόμοια συχνότητα και ότι τα παρθένα θηλυκά αδυνατούν να τα διαχωρίσουν (Shelly et al., 2011). Όμως δεν είναι ακόμα γνωστό αν υπάρχει μείωση της παραγωγής φερομόνης σε μεγαλύτερες ηλικίες (> 40 ημερών).

Εκτός από την «ποιότητα» της σεξουαλικής φερομόνης, ο συνδυασμός κατάλληλης συμπεριφοράς ερωτοτροπίας, συγχρονισμένης με τις αντιδράσεις του θηλυκού, είναι αποφασιστικός για την επιτυχή σύζευξη του αρσενικού (Shelly, 2000b). Ιδιαίτερα χαρακτηριστικά της ερωτοτροπίας όπως είναι η διάρκεια, η γωνία και η απόσταση μεταξύ αρσενικού και θηλυκού βρέθηκε ότι διαφέρουν ανάμεσα σε φυλές της μύγας της Μεσογείου (Briceno et al., 2007; Briceno & Eberhard, 2002) και ίσως επηρεάζουν την αποδοχή ή την απόρριψη του αρσενικού από το θηλυκό. Επιπλέον, είναι γνωστό ότι η διακοπή των ήχων που παράγει το αρσενικό κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας οδηγεί σε λιγότερες συζεύξεις (Briceno et al., 2002). Η γήρανση θα μπορούσε να επιδρά αρνητικά στα χαρακτηριστικά της συμπεριφοράς ερωτοτροπίας. Επίσης, είναι πιθανό, τα μορφολογικά χαρακτηριστικά του αρσενικού (ευρωστία, ακεραιότητα πτερυγών κ.λπ.) να κατέχουν σημαντικό ρόλο σε συμπεριφορές στενού τύπου όπως είναι η ερωτοτροπία. Τα μεγάλης ηλικίας αρσενικά είναι συνήθως λιγότερο εύρωστα από ότι τα νεαρά αφού μορφολογικά μειονεκτήματα, όπως οι σπασμένες πτέρυγες, συσσωρεύονται λόγω φυσιολογικής φθοράς και μπορεί να μειώνουν την ελκυστικότητά τους προς τα θηλυκά. Η αύξηση του χρόνου αποδοχής από το θηλυκό και η καθυστέρηση έναρξης της σύζευξης στα μεγάλης ηλικίας αρσενικά πιθανώς καταδεικνύει χαμηλότερου επιπέδου συμπεριφορά ερωτοτροπίας.

Η γήρανση υποβάθμισε τα αρσενικά όσον αφορά στην αναπαραγωγική

τους επίδοση αλλά δεν εξάλειψε εντελώς την ικανότητά τους να συζευχθούν. Σε συνθήκες έλλειψης ανταγωνισμού τα μεγάλης ηλικίας αρσενικά κατάφεραν να συζευχθούν σε ποσοστό >20% ακόμα και στην ακραία ηλικία των 70 ημερών. Παρά το γεγονός ότι τα μεγάλης ηλικίας αρσενικά εκδηλώνουν λιγότερο σεξουαλικό κάλεσμα σε σχέση με τα νεαρά (Neto et al., 2009; Papadopoulos et al., 2004) φαίνεται ότι ο παράγοντας γήρανση, από μόνος του, δεν ελαχιστοποιεί τη σεξουαλική τους επίδοση. Η επιλεκτικότητα των θηλυκών μπορεί να προσαρμόζεται στο επίπεδο των αναπαραγωγικών επιδόσεων των αρσενικών κάθε δεδομένη στιγμή. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η δεκτικότητα των θηλυκών για σύζευξη εξαρτάται κυρίως από την ηλικία τους με τα νεαρά, αναπαραγωγικά ώριμα θηλυκά να είναι πολύ επιλεκτικά και λιγότερο δεκτικά για σύζευξη (Gray, 1999; Shelly et al., 2011). Ωστόσο, τα παρθένα θηλυκά που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα του παρόντος κεφαλαίου αποδέχτηκαν τα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά για σύζευξη. Επομένως, τα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά είναι ικανά να εκδηλώσουν ολόκληρη την αλληλουχία της σεξουαλικής συμπεριφοράς τους αλλά αποτυγχάνουν να επιλεγούν από τα θηλυκά παρουσία νεότερων ανταγωνιστών τους.

Η διαδικασία της σύζευξης μπορεί να διακριθεί σε τρία στάδια: εισαγωγή του γενετικού οπλισμού του αρσενικού στην αναπαραγωγική κοιλότητα του θηλυκού, μεταφορά σπέρματος και μετασυζευκτική «φρούρηση» πριν το φυσικό διαχωρισμό του ζευγαριού (Eberhard & Pereira, 1993; Field et al., 1999). Η μείωση της διάρκειας σύζευξης που παρατηρήθηκε σε μεγαλύτερες ηλικίες αρσενικών μπορεί να οφείλεται στη συντόμευση ενός ή περισσότερων από τα παραπάνω στάδια. Ακόμα και αν τα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά έχουν την ικανότητα να ξεκινήσουν τη διαδικασία της σύζευξης και να αρχίσουν τη μεταφορά σπέρματος χωρίς καθυστέρηση, ενδέχεται να υστερούν στη διάρκεια της μετασυζευκτικής «φρούρησης» του θηλυκού, λόγω φυσικών φθορών οφειλόμενων στην προχωρημένη ηλικία (Field et al., 1999). Είναι γενικά αποδεκτό ότι στα Terphritidae η διάρκεια της σύζευξης καθορίζεται από το θηλυκό (Fritz, 2009). Αφού το θηλυκό εκπληρώσει τις ανάγκες του σε ποσότητα σπέρματος, αρχίζει να κινείται, να περπατάει και να τινάζει τις πτέρυγες προσπαθώντας να εκτοπίσει το αρσενικό από τη ράχη του (Aluja & Norrbom, 2000). Τα νεαρά

αρσενικά είναι πιθανώς ικανότερα στην εκδήλωση μετασυζευκτικής φρούρησης, για την αποφυγή επανασύζευξης του θηλυκού, σε σύγκριση με τα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά. Η μείωση της διάρκειας σύζευξης σε σχέση με την ηλικία των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου, που παρατηρήθηκε στα πειράματα του παρόντος Κεφαλαίου, συμφωνεί με παλαιότερη μελέτη που αφορά δύο είδη *Drosophila* (Koref-Santibanez, 2001) αλλά όχι με μια πιο πρόσφατη μελέτη για το *Anastrepha ludens* (Perez-Staples et al., 2010). Παρ' όλα αυτά, οι δύο παραπάνω μελέτες έλεγξαν αρσενικά ηλικίας έως 20 και 38 ημερών, αντίστοιχα, χωρίς να μελετήσουν τη διάρκεια συζεύξεων αρσενικών προχωρημένης ηλικίας.

Τα αποτελέσματα έδειξαν, επίσης, ότι τα μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά είναι σε θέση να μεταφέρουν επιτυχώς σπέρμα στις σπερμοθήκες των θηλυκών, με την προϋπόθεση να γίνουν αποδεκτά από αυτά για σύζευξη. Παρά το γεγονός ότι η ηλικία των αρσενικών επηρεάζει τη μεταφορά σπέρματος σε άλλα είδη εντόμων (Hale et al., 2008; Jones et al., 2007; LaMunyon & Huffman, 2001) αυτό δε φαίνεται να συμβαίνει στην περίπτωση της μύγας της Μεσογείου. Θα πρέπει βέβαια να σημειωθεί ότι, στα πειράματα του παρόντος Κεφαλαίου, υπολογίστηκε ο αριθμός των σπερματοζωαρίων και όχι ο συνολικός όγκος του σπέρματος που μεταφέρθηκε στις σπερμοθήκες των θηλυκών. Η μελέτη της σύστασης και της ποσότητας των συνοδών ουσιών του σπέρματος αρσενικών διαφορετικών ηλικιών θα παρείχε σημαντικές πληροφορίες σχετικά με την επίδραση της γήρανσης στα ποιοτικά χαρακτηριστικά του σπέρματος. Είναι άλλωστε γνωστό ότι κάποια πεπτίδια που περιέχονται στις συνοδευτικές ουσίες του σπέρματος επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά της σύζευξης και την επιβίωση των θηλυκών σε άλλα Δίπτερα (Charman et al., 2000; Radhakrishnan & Taylor, 2007).

Τα σπερματοζωάρια αποθηκεύτηκαν ασύμμετρα στις δύο σπερμοθήκες των θηλυκών και η ασυμμετρία αυτή ήταν ανεξάρτητη από την ηλικία των αρσενικών. Η ασύμμετρη αποθήκευση του σπέρματος έχει ήδη αποδειχθεί για τη μύγα της Μεσογείου καθώς και για άλλα Tephritidae (Harmer et al., 2006; Perez-Staples et al., 2007a; Taylor et al., 2001; Taylor et al., 2000; Taylor & Yuval, 1999; Yuval et al., 1996). Παρ' όλο που η σημασία της ασυμμετρίας στην κατανομή του σπέρματος δεν έχει ακόμα ξεκαθαριστεί, φαίνεται ότι πρόκειται για μια τάση που ελέγχεται από το θηλυκό και πιθανά

εξυπηρετεί μετασυζευκτικές αποφάσεις για την πατρότητα των απογόνων (Perez-Staples et al., 2007a).

Ο χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης έχει χρησιμοποιηθεί σαν δείκτης της ελκυστικότητας των αρσενικών στα έντομα (Shackleton et al., 2005). Παλαιότερες μελέτες σχετικά με τη δεκτικότητα των θηλυκών ειδών *Drosophila* για σύζευξη έδειξαν ότι ο χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης αυξάνει σε σχέση με την ηλικία των αρσενικών και μειώνεται σε σχέση με την εμπειρία (Koref-Santibanez, 2001). Μέχρι σήμερα δεν είναι γνωστός ο τρόπος με τον οποίο η ηλικία των αρσενικών επιδρά στο χρόνο έως την έναρξη τη σύζευξης στη μύγα της Μεσογείου. Πιθανή αλλοίωση ή μη σωστή τήρηση του τελετουργικού της συμπεριφοράς ερωτοτροπίας και/ή μορφολογικά μειονεκτήματα μπορεί να ευθύνονται για την καθυστέρηση αποδοχής των αρσενικών μεγαλύτερης ηλικίας από τα θηλυκά.

Συζευγμένα και μη συζευγμένα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου έφεραν παραπλήσιες ποσότητες σπέρματος με μια τάση αύξησης της ποσότητας σε σχέση με την ηλικία. Η ομοιότητα στα επίπεδα σπέρματος μεταξύ συζευγμένων και μη συζευγμένων αρσενικών δεν αποτελεί έκπληξη αν ληφθεί υπόψη ο σχετικά μικρός αριθμός σπερματοζωαρίων που μεταφέρεται στις σπερμοθήκες του θηλυκού κατά τη σύζευξη. Επιπλέον, φαίνεται ότι στα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου πραγματοποιείται σπερματογένεση σε όλη τη διάρκεια ζωής τους με αποτέλεσμα τη συνεχή συσσώρευση σπερματοζωαρίων στους όρχεις.

Τα αποτελέσματα του Κεφαλαίου αυτού καθώς και μιας πρόσφατης έρευνας (Shelly et al., 2011) δείχνουν ότι η ηλικία μπορεί να αποτελέσει σημαντικό δείκτη για την πρόβλεψη της επιτυχίας σύζευξης στη μύγα της Μεσογείου. Νεαρά θηλυκά της μύγας της Μεσογείου έχουν την ικανότητα να κάνουν διακρίσεις ανάμεσα σε αρσενικά που η ηλικία τους διαφέρει κατά 30 ημέρες, δε συμβαίνει όμως το ίδιο και με μεγαλύτερης ηλικίας θηλυκά (Shelly et al., 2011). Η προφανής επιλογή νεαρών σεξουαλικών συντρόφων από τα θηλυκά δε φαίνεται να έχει άμεσο πλεονέκτημα στην αρμοστικότητά τους όσον αφορά στην παραγωγή απογόνων (Shelly et al., 2011). Το εύρημα αυτό υποστηρίζεται και από τα στοιχεία του παρόντος Κεφαλαίου αφού η μεταφορά του σπέρματος στις σπερμοθήκες του θηλυκού φαίνεται να είναι ανεξάρτητη από την ηλικία του αρσενικού. Ωστόσο, μελλοντικές έρευνες θα πρέπει να

διασαφηνίσουν πιθανά έμμεσα πλεονεκτήματα που σχετίζονται με τη σεξουαλική επιλογή των θηλυκών και, επιπλέον, ο μηχανισμός της επιλογής νεαρών συντρόφων θα πρέπει να διερευνηθεί σε μεγαλύτερο βάθος.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 8

8 ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΤΡΟΦΗΣ ΚΑΙ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΥΖΕΥΞΗΣ ΣΤΗΝ ΕΠΙΒΙΩΣΗ ΚΑΙ ΩΟΠΑΡΑΓΩΓΗ ΤΩΝ ΘΗΛΥΚΩΝ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΜΕΣΟΓΕΙΟΥ

8.1 Περίληψη

Η σύζευξη επιφέρει τόσο άμεσες όσο και έμμεσες επιδράσεις στην αρμοστικότητα (fitness) των θηλυκών πολλών οργανισμών μοντέλων που μπορεί να κυμαίνονται από μείωση της διάρκειας ζωής έως μεταβολές στη συμπεριφορά. Παρά το γεγονός ότι η επίδραση της τροφής στη μακροβιότητα και στην αναπαραγωγή των θηλυκών έχει μελετηθεί εκτενώς, δεν είναι γνωστή η αλληλεπίδραση της ηλικίας σύζευξης και της τροφής στην αρμοστικότητα των θηλυκών. Στον παρόν Κεφάλαιο μελετήθηκε σε σταθερές συνθήκες εργαστηρίου η επίδραση της έλλειψης πρωτεΐνης και της ηλικίας σύζευξης σε ορισμένα γνωρίσματα της αρμοστικότητας των θηλυκών, άγριου πληθυσμού, της μύγας της Μεσογείου. Ελέγχθηκε η υπόθεση ότι α) η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης αυξάνει την επιβίωση και την ωοτοκία των θηλυκών, β) η επιβίωση και η ωοπαραγωγή είναι ανεξάρτητες από τη σύζευξη και την ηλικία σύζευξης και γ) η συμπεριφορά σύζευξης των θηλυκών είναι ανεξάρτητη από την ηλικία και τη διατροφική τους κατάσταση. Καταγράφηκαν τα ποσοστά και τα χαρακτηριστικά των συζεύξεων καθώς επίσης η ωοπαραγωγή και η επιβίωση των θηλυκών που συζεύχθηκαν σε νεαρή ή σε προχωρημένη ηλικία και τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ή μόνο με ζάχαρη. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η σύζευξη ενεργοποιεί την ωοπαραγωγή και μειώνει τη μακροβιότητα των θηλυκών που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Αντιθέτως, η σύζευξη, ιδιαίτερα σε προχωρημένη ηλικία, αύξησε τη μακροβιότητα των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Οι θετικές ή αρνητικές επιπτώσεις της σύζευξης στη θνησιμότητα των θηλυκών εκφράστηκαν με μεγάλη χρονική καθυστέρηση. Επίσης, τα μεγάλης ηλικίας θηλυκά ήταν περισσότερο δεκτικά και λιγότερο επιλεκτικά όσον αφορά τη

σύζευξη, σε σχέση με τα νεαρά θηλυκά, ανεξάρτητα από την τροφή. Τα ευρήματα έδειξαν ότι η συνθήκη (διατροφική κατάσταση και ηλικία) καθορίζει τη θετική ή αρνητική επίδραση της σύζευξης στα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου. Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου συμβάλλουν στην κατανόηση των πολυδιάστατων επιδράσεων της σύζευξης, της δυναμικής της γήρανσης και της ενεργειακής κατανομής των πόρων στην επιβίωση και την αναπαραγωγή των θηλυκών.

8.2 Εισαγωγή

Η σύζευξη στα έντομα ασκεί άμεσες και έμμεσες επιδράσεις στα θηλυκά οι οποίες μπορεί να εκφράζονται με μείωση της μακροβιότητας ή με μεταβολές στη συμπεριφορά. Για παράδειγμα, συγκεκριμένα συστατικά του σπέρματος αρσενικών του *Drosophila melanogaster* ενδέχεται από τη μία πλευρά να αυξάνουν την ωοπαραγωγή και από την άλλη να μειώνουν την επιβίωση των θηλυκών (Chapman et al., 2003; Chapman et al., 1995). Επιπλέον, η σύζευξη και οι συνοδευτικές ουσίες του σπέρματος των αρσενικών προκαλούν μεταβολές στη συμπεριφορά των θηλυκών, όπως μείωση της δεκτικότητας για σύζευξη (Wigby & Chapman, 2005). Ωστόσο, σε άλλα Δίπτερα η σύζευξη μπορεί να έχει ουδέτερο αποτέλεσμα στην επιβίωση και αναπαραγωγή των θηλυκών (Chapman et al., 1998 και αναφορές). Η ηλικία σύζευξης καθορίζει την έναρξη της αναπαραγωγής και αποτελεί σημαντικό παράγοντα της αναπαραγωγικής επιτυχίας και της αρμοστικότητας των θηλυκών (Fox, 1993; Liedo et al., 2002). Οι επιδράσεις της τροφής στις παραμέτρους αρμοστικότητας των θηλυκών έχουν μελετηθεί εκτενώς, όμως λίγα είναι μέχρι στιγμής γνωστά σχετικά με την αλληλεπίδραση ανάμεσα στην ηλικία σύζευξης και την τροφή και τον τρόπο με τον οποίο επηρεάζει την επιβίωση και την αναπαραγωγή των θηλυκών.

Στο στάδιο του ενηλίκου, τα θρεπτικά στοιχεία που προέρχονται από τη διατροφική δραστηριότητα και συχνά από τα αποθέματα των προνυμφικών σταδίων χρησιμοποιούνται κυρίως για την αναπαραγωγή, την κίνηση και τη διατήρηση του σώματος. Η κατανομή της ενέργειας εξαρτάται από την δραστηριότητα του ενηλίκου, την ηλικία και τις ανάγκες ανάλογα με το φύλο καθώς και από περιβαλλοντικούς παράγοντες (Boggs, 2009 και αναφορές). Οι

κατανομές των ενεργειακών αποθεμάτων μεταξύ των παραμέτρων αρμοστικότητας εκδηλώνονται τόσο σε πλούσιες όσο και σε θρεπτικά φτωχές περιβαλλοντικές συνθήκες. Ωστόσο, πιθανά κόστη που απορρέουν από τέτοιες ενεργειακές κατανομές γίνονται περισσότερο αισθητά σε φτωχές περιβαλλοντικές συνθήκες. Συνεπώς, παρά το γεγονός ότι η κατανομή των ενεργειακών αποθεμάτων, είτε στη διατήρηση του σώματος είτε στην αναπαραγωγή, επιφέρει κόστος στην ωοπαραγωγή και στη διάρκεια ζωής αντίστοιχα, η επάρκεια τροφής υψηλής διατροφικής αξίας ενισχύει τόσο την αναπαραγωγή όσο και τη μακροβιότητα σε αρκετά είδη εντόμων (Manrakhan & Lux, 2006; Tatar & Carey, 1995). Από την άλλη πλευρά ο διατροφικός περιορισμός βρέθηκε ότι αυξάνει την επιβίωση στο *D. melanogaster* (Burger et al., 2007) και σε άλλους οργανισμούς (Boonstra et al., 2001; Lee et al., 2006). Το τελευταίο παρατηρείται συνήθως σε σύντομες περιόδους διατροφικής στέρησης και προκαλείται από αναστρέψιμη κατανομή της ενέργειας στη διατήρηση του σώματος με παράλληλη αναστολή της αναπαραγωγής (Boonstra et al., 2001; Burger et al., 2007; Lee et al., 2006).

Η τροφή επηρεάζει σημαντικά τη σεξουαλική συμπεριφορά πολλών αρθροπόδων (Aluja et al., 2001b; Hunt et al., 2005; Moskalik & Uetz, 2011). Η έλλειψη πρωτεΐνης ενδέχεται να αποδυναμώνει την επιλεκτικότητα σεξουαλικού συντρόφου στα θηλυκά και να αυξάνει τη δεκτικότητα για σύζευξη (Hebets et al., 2008; Moskalik & Uetz, 2011). Από την άλλη μεριά, η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης μπορεί να δίνει ώθηση στη σεξουαλική δραστηριότητα και των δύο φύλων ενισχύοντας παράλληλα τη δεκτικότητα των θηλυκών για σύζευξη (Perez-Staples et al., 2007b). Παλιότερες μελέτες στα Terphritidae, που ασχολούνται με την επίδραση της τροφής στη συμπεριφορά σύζευξης των θηλυκών, επικεντρώνονται κυρίως στις επιπτώσεις που έχει η έλλειψη πρωτεΐνης από τη διατροφή των δύο φύλων στην επανασύζευξη των θηλυκών και/ή στην περίοδο αδράνειας πριν την επανασύζευξη και στα χαρακτηριστικά της σύζευξης (Aluja et al., 2009; Perez-Staples et al., 2007b). Αρκετές μελέτες σχετικά με την επίδραση της τροφής στη σεξουαλική συμπεριφορά και στην ελκυστικότητα των αρσενικών αναφέρουν ότι τα θηλυκά διακρίνουν αρσενικά που δεν έχουν τραφεί με πρωτεΐνη, γεγονός που αντικατοπτρίζεται στα αυξημένα ποσοστά απόρριψης, τις συντομότερες διάρκειας συζεύξεις και τις αυξημένες προσπάθειες

επανασύζευξης (Epsky & Heath, 1993; Papadopoulos et al., 1998; Taylor et al., 2000). Παρόλα αυτά, πιθανές μεταβολές της σεξουαλικής συμπεριφοράς των θηλυκών (π.χ. δεκτικότητα σύζευξης, διάρκεια σύζευξης) σε διαφορετικές συνθήκες διατροφής και ηλικιών, όπως επίσης και η αλληλεπίδραση της τροφής και της ηλικίας των θηλυκών δεν έχουν ακόμα μελετηθεί.

Οι μεταβολές της αναπαραγωγικής επιτυχίας των αρσενικών σε σχέση με την ηλικία έχουν αναφερθεί σε αρκετά είδη εντόμων (Aluja et al., 2009; Jones et al., 2007; Milonas & Andow, 2010). Μικρότερο ενδιαφέρον έχει αποδοθεί στον τρόπο με τον οποίο η ηλικία επηρεάζει τη σεξουαλική και αναπαραγωγική συμπεριφορά των θηλυκών (Anjos-Duarte et al., 2011; Chapman et al., 1998). Καθώς η γήρανση εξελίσσεται, η πιθανότητα της θνησιμότητας αυξάνει και ταυτόχρονα ο ρυθμός ωοπαραγωγής μειώνεται (Partridge, 2010). Η δεκτικότητα σύζευξης των θηλυκών μπορεί να αυξάνει σε σχέση με τη γήρανση λόγω περιορισμένων ευκαιριών για αναπαραγωγή σε προχωρημένες ηλικίες (Delisle, 1995). Τα θηλυκά τείνουν να είναι λιγότερο επιλεκτικά όσο μεγαλώνουν σε ηλικία γιατί η πιθανότητα να αυξήσουν την αρμοστικότητα τους επιτυγχάνοντας συζεύξεις και παράγοντας απογόνους μειώνεται (Gray, 1999). Επιπλέον, ενώ το αναπαραγωγικό δυναμικό των θηλυκών μειώνεται σε σχέση με την ηλικία η επιλεκτικότητα ανεύρεσης σεξουαλικού συντρόφου πιθανά ακολουθεί το ίδιο μοτίβο ώστε να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος θήρευσης και η σπατάλη χρόνου και ενέργειας. Από την άλλη πλευρά, η τάση των θηλυκών για σύζευξη μπορεί να μειώνεται σε σχέση με την ηλικία λόγω «μεταβολής» της σεξουαλικής συμπεριφοράς σε συμπεριφορά ωοτοκίας (Koref-Santibanez, 2001). Σε πλήθος ειδών εντόμων, τα θηλυκά παράγουν και αποθέτουν αυγά ανεξάρτητα από τη σύζευξη. Σε αυτά τα είδη μπορεί να υπάρχει μια χρονική στιγμή στην οποία η σεξουαλική δεκτικότητα και ελκυστικότητα υπερκαλύπτονται από την ανάγκη της ωοπαραγωγής και ωοτοκίας. Για παράδειγμα, τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου προσελκύονται στη σεξουαλική φερομόνη των αρσενικών πριν τη σύζευξη αλλά μεταβάλλουν την οσφρητική τους προτίμηση και προσελκύονται στο άρωμα του ξενιστή όταν συζευγνύονται ή όταν «εμβολιάζονται» με συνοδευτικά υγρά του σπέρματος των αρσενικών (Jang, 1995; 2002). Η ηλικία μπορεί επίσης να επηρεάζει τη συμπεριφορά σύζευξης των θηλυκών, ακόμα και να αλληλεπιδρά με την προηγηθείσα ωοτοκία και/ή την τροφή.

Κατανομή των ενεργειακών αποθεμάτων ανάμεσα στην ενεργειακά απαιτητική αναπαραγωγή (σύζευξη, ωοπαραγωγή) και την επιβίωση (διατήρηση σώματος) έχει παρατηρηθεί σε αρκετούς οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων και εντόμων που ανήκουν σε διαφορετικές κλάσεις (Chapman et al., 1998; Cordts & Partridge, 1996; Ohgushi, 1996; Prowse & Partridge, 1997). Παρθένα ή στειρωμένα (irradiated) θηλυκά του *D. melanogaster* ζουν περισσότερο απ' ό,τι συζευγμένα ή αναπαραγωγικά ώριμα θηλυκά καταδεικνύοντας ξεχωριστό κόστος της σύζευξης και της ωοπαραγωγής (Chapman et al., 1995; Partridge et al., 1987). Από την άλλη πλευρά, η σύζευξη δεν επιφέρει αρνητικό αποτέλεσμα στην επιβίωση θηλυκών του *Saltella sphondylli* αλλά επιφέρει κόστος στην ωοπαραγωγή (Martin & Hosken, 2004). Η ηλικία της πρώτης σύζευξης είναι στενά συνδεδεμένη με την αναπαραγωγική ωριμότητα, καθορίζει την αναπαραγωγική περίοδο του οργανισμού και ενδέχεται να επηρεάζει την ισορροπία μεταξύ αναπαραγωγής και μακροβιότητας (Miyatake, 1997; Tatar et al., 1993). Η επίδραση της ηλικίας αναπαραγωγής στην επιβίωση έχει μελετηθεί και σε ανώτερους οργανισμούς. Τα θηλυκά του πιθήκου *Macaca mulatta*, ενός μακρόβιου και αργά αναπαραγόμενου πρωτεύοντος, χαρακτηρίζονται από μειωμένη διάρκεια ζωής όταν η αναπαραγωγή τους ξεκινάει σε νεαρή ηλικία (Blomquist, 2009). Κατανομή της ενέργειας στις παραμέτρους αρμοστικότητας και συγκεκριμένα ανάμεσα στην πρόωρη αναπαραγωγή και τη μακροβιότητα έχει προταθεί και για το ανθρώπινο είδος, αν και έχει μερικώς ξεπεραστεί λόγω ανάπτυξης ανώτερων κοινωνικών μηχανισμών (Lee, 2008).

Η μύγα της Μεσογείου είναι ένας οργανισμός – μοντέλο με ευρεία χρήση στις δημογραφικές έρευνες (Carey et al., 1998b; Carey & Papadopoulos, 2005; Müller et al., 2009). Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι διατροφικοί περιορισμοί επιφέρουν ουδέτερο (Carey et al., 2002a) ή αρνητικό αποτέλεσμα στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου και ότι το αποτέλεσμα αυτό είναι αναστρέψιμο όταν στα θηλυκά παρέχεται πρωτεΐνη, ακόμα και σε προχωρημένη ηλικία (Carey et al., 1998b). Οι επιπτώσεις του διατροφικού περιορισμού στη μακροβιότητα της μύγας της Μεσογείου εξαρτώνται από τη δυνατότητα των θηλυκών για ωοτοκία (Carey et al., 2002b). Επιπλέον, μελέτες που αφορούν στις επιδράσεις της σύζευξης

στην επιβίωση και την ωοπαραγωγή οδηγούν σε αντιφατικά αποτελέσματα. Η Charman και συνεργάτες (1998) λαμβάνοντας υπόψη την έλλειψη σημαντικών διαφορών στην ωοπαραγωγή μεταξύ συζευγμένων και παρθένων θηλυκών συμπεραίνουν ότι το κόστος της σύζευξης στη μακροβιότητα είναι ανεξάρτητο από την ωοπαραγωγή. Προηγούμενες μελέτες αναφέρουν έμμεση επίδραση της ωοπαραγωγής στη μακροβιότητα των θηλυκών χωρίς ωστόσο να ελέγχουν τις επιδράσεις της σύζευξης (Carey et al., 1986; Carey & Liedo, 1995). Αντίθετα, δύο επιπλέον μελέτες αναφέρουν ότι η σύζευξη δεν επιδρά στην επιβίωση των θηλυκών και ότι αυξάνει την ωοπαραγωγή (Whittier & Kaneshiro, 1991; Whittier & Shelly, 1993). Ωστόσο, σε όλες τις παραπάνω μελέτες τα θηλυκά είχαν πρόσβαση σε τροφή πλούσια σε πρωτεΐνη και, κατά συνέπεια, καμία δεν ελέγχει την αλληλεπίδραση της σύζευξης και της διατροφικής κατάστασης.

Στο παρόν Κεφάλαιο ελέγχθηκαν δύο σημαντικές συνθήκες για την αρμοστικότητα των θηλυκών (τροφή και ηλικία πρώτης σύζευξης) με σκοπό να καθοριστούν οι επιδράσεις της σύζευξης στη σεξουαλική επιτυχία, τη δεκτικότητα σύζευξης και τα δημογραφικά χαρακτηριστικά (επιβίωση, ωοτοκία) των θηλυκών. Για το λόγο αυτό, συγκρίθηκαν οι παράμετροι αρμοστικότητας θηλυκών που συζεύχθηκαν σε νεαρή (15 ημερών) και σε προχωρημένη ηλικία (40 ημερών) και που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ή μόνο με ζάχαρη. Επίσης, καταγράφηκαν τα χαρακτηριστικά σύζευξης (διάρκεια και χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης) νεαρών και προχωρημένης ηλικίας θηλυκών. Ελέγχθηκε η υπόθεση ότι α) η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης αυξάνει την επιβίωση και την ωοτοκία των θηλυκών, β) η επιβίωση και η ωοπαραγωγή είναι ανεξάρτητες από τη σύζευξη και την ηλικία σύζευξης και γ) η δεκτικότητα σύζευξης των θηλυκών, η διάρκεια και ο χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης είναι ανεξάρτητοι από την ηλικία και τη διατροφική τους κατάσταση. Συνεπώς, αναμένονταν παραπλήσια διάρκεια ζωής και ωοπαραγωγή μεταξύ συζευγμένων, σε νεαρή ή προχωρημένη ηλικία, και ασύζευκτων θηλυκών σε κάθε διατροφική συνθήκη. Επίσης, προβλέφθηκαν παρόμοια ποσοστά σύζευξης μεταξύ νεαρών και προχωρημένης ηλικίας θηλυκών καθώς και παραπλήσια χαρακτηριστικά σύζευξης ανεξάρτητα από την τροφή.

8.3 Υλικά και μέθοδοι

8.3.1 Γενικά

Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π.Θ. από το χειμώνα του 2010 έως τις αρχές του 2012. Κατά τη διάρκεια των πειραμάτων επικρατούσαν σταθερές συνθήκες (θερμοκρασία, σχετική υγρασία, φωτισμός) οι οποίες περιγράφονται αναλυτικά στο Κεφάλαιο 2 (Ενότητα 2.1). Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν στα πειράματα συλλέχθηκαν από προσβεβλημένους καρπούς στην περιοχή της Αγχιάλου και εκτράφηκαν για 1 έως 3 γενεές ($F_1 - F_3$) σε σταθερές συνθήκες στο εργαστήριο. Λεπτομέρειες της μεθόδου εκτροφής δίνονται στο Κεφάλαιο 2 (Ενότητα 2.2).

8.3.2 Διατήρηση εντόμων και πειραματικό πλάνο

Τα ενήλικα διαχωρίστηκαν με βάση το φύλο εντός 24 ωρών από την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα. Τα αρσενικά διατηρούνταν, ανά 20 άτομα, σε κλουβιά Plexiglas διαστάσεων 20 x 20 x 20 cm (Εικόνα 2.3) μέχρι την ημερομηνία της δοκιμής σύζευξης, και είχαν πρόσβαση σε τροφή (υδρολυμένη μαγιά, ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:4:5, αντίστοιχα) και νερό. Τα θηλυκά τοποθετήθηκαν ατομικά σε πλαστικά κλουβιά όγκου 400 ml με τεχνητό υπόστρωμα ωτοκίας [πλαστικό, κόκκινο ημισφαίριο διαμέτρου 5 cm (dome) με 40 – 50 ομοιόμορφα κατανεμημένες οπές (διαμέτρου 1 mm)] (Εικόνα 2.4 Β). Λεπτομέρειες σχετικά με τα ατομικά κλουβιά και το υπόστρωμα ωτοκίας δίνονται στο Κεφάλαιο 2 (Ενότητα 2.2). Συνολικά χρησιμοποιήθηκαν 640 θηλυκά της μύγας της Μεσογείου που χωρίστηκαν τυχαία σε δύο ομάδες ανάλογα με την τροφή. Συγκεκριμένα, 290 θηλυκά τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (ζάχαρη, υδρολυμένη μαγιά και νερό σε αναλογία 4:1:5, αντίστοιχα) και 350 θηλυκά τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1:3). Η θνησιμότητα και η ωτοκία των θηλυκών καταγράφονταν καθημερινά.

8.3.3 Δοκιμές σύζευξης

Εξήντα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και 90 θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη επιλέχθηκαν τυχαία και διατηρήθηκαν παρθένα σε όλη τη διάρκεια της ζωής τους (μάρτυρας). Η σεξουαλική δεκτικότητα των θηλυκών που τρέφονταν είτε με ζάχαρη και πρωτεΐνη είτε μόνο με ζάχαρη ελέγχθηκε σε δύο ξεχωριστές ηλικίες και συγκεκριμένα στις 15 ημέρες (νεαρά θηλυκά) και στις 40 ημέρες (προχωρημένης ηλικίας θηλυκά). Οι δύο αυτές ηλικίες επιλέχθηκαν καθώς έως τη 15^η ημέρα ζωής τα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου είναι σεξουαλικά ώριμα (Paradopoulos et al., 2002b), ενώ στην ηλικία των 40 ημερών καταγράφεται η έναρξη της θνησιμότητας σε άγριους πληθυσμούς της μύγας της Μεσογείου (Diamantidis et al., 2009). Στις 06:00 της ημέρας διεξαγωγής της δοκιμής σύζευξης, 3 μη συζευγμένα, σεξουαλικά ώριμα αρσενικά ηλικίας 12 – 14 ημερών τοποθετήθηκαν σε κάθε ένα από τα κλουβιά όπου διατηρούνταν ατομικά τα θηλυκά. Μετά την έναρξη της σύζευξης τα δύο επιπλέον αρσενικά απομακρύνονταν από το κλουβί και επιτρεπόταν στο ζευγάρι να ολοκληρώσει τη σύζευξη. Οι παρατηρήσεις πραγματοποιούνταν κάθε 15 λεπτά από τις 07:00 έως τις 16:00 και καταγράφονταν ο αριθμός των συζεύξεων σε κάθε μεταχείριση, ο χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης και η διάρκεια της σύζευξης. Επειδή, η παρατεταμένη παραμονή των αρσενικών στα ατομικά κλουβιά κατά τη διεξαγωγή των δοκιμών σύζευξης (σε μερικές περιπτώσεις έως 9 ώρες), θα μπορούσε να επηρεάσει τα αποτελέσματα, η επίδραση του συνωστισμού που ενδεχομένως να προκαλούσε η παρουσία των 3 αρσενικών και του θηλυκού στα ατομικά κλουβιά προσομοιώθηκε για τα θηλυκά του μάρτυρα τοποθετώντας 3 θηλυκά για το διάστημα που διαρκούσε η δοκιμή σύζευξης. Μια ημέρα πριν τη διεξαγωγή της δοκιμής σύζευξης τα θηλυκά που θα χρησιμοποιούνταν για την προσομοίωση του συνωστισμού σημείωναν στον προνύτο με νερομπογιά κόκκινου χρώματος ώστε να διαχωρίζονται από τα θηλυκά του μάρτυρα. Μετά την ολοκλήρωση των δοκιμών σύζευξης δημιουργήθηκαν 3 υποομάδες θηλυκών: συζευγμένα, μη συζευγμένα και θηλυκά – μάρτυρας.

8.3.4 Στατιστική ανάλυση

Η ανάλυση των στοιχείων πραγματοποιήθηκε με τη χρήση των στατιστικών πακέτων SPSS 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.) και Stata 11.2 (StataCorp, College Station, TX, USA). Οι διαφορές της δεκτικότητας σύζευξης των θηλυκών σε σχέση με την τροφή και την ηλικία αξιολογήθηκαν με ανάλυση λογιστικής συμμεταβολής (Logistic Regression). Η επίδραση της ηλικίας και της τροφής στη διάρκεια σύζευξης και στο χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης εκτιμήθηκε με τη χρήση του κριτηρίου t (t -test) για ανεξάρτητα δείγματα (independent samples t -test). Οι επιδράσεις της τροφής, της κατάστασης σύζευξης (συζευγμένα, μη συζευγμένα) και της ηλικίας σύζευξης στην ωοτοκία εκτιμήθηκαν με τη μη παραμετρική μέθοδο ανεξάρτητων δειγμάτων τιμών (K independent samples test) χρησιμοποιώντας το κριτήριο Kruskal-Wallis. Οι ανά ζεύγη συγκρίσεις της ωοπαραγωγής πραγματοποιήθηκαν με τη μη παραμετρική μέθοδο 2 ανεξάρτητων δειγμάτων εφαρμόζοντας το κριτήριο Wilcoxon-Mann-Whitney (WMW), μετά από επαναπροσδιορισμό του επιπέδου σημαντικότητας με την προσαρμογή Bonferroni. Επιπλέον, εφαρμόστηκε το μοντέλο ανάλογων κινδύνων Cox προκειμένου να καθοριστεί η επίδραση της τροφής και της ηλικίας σύζευξης στην επιβίωση των θηλυκών. Με σκοπό την αποφυγή μεροληπτικής διακριτοποίησης (discretization bias) λόγω συνάθροισης των διαρκειών ζωής που προκαλείται στα δεδομένα επιβίωσης, υπολογίστηκαν ομαλοποιημένοι ρυθμοί θνησιμότητας για όλες τις μεταχειρίσεις με βάση τη μέθοδο που προτείνεται από τους Muller και συνεργάτες (1997). Τα δεδομένα του παρόντος κεφαλαίου έχουν τα ίδια ποσοτικά χαρακτηριστικά και τις ίδιες ιδιότητες με τα δεδομένα που εξετάζονται από τον Muller και συνεργάτες (1997). Η ίδια διαδικασία ομαλοποίησης ακολουθήθηκε και για την εκτίμηση των ρυθμών ωοτοκίας.

8.4 Αποτελέσματα

8.4.1 Επίδραση της τροφής και της ηλικίας στη δεκτικότητα των θηλυκών για σύζευξη

Η τροφή επηρέασε σημαντικά τη δεκτικότητα σύζευξης των θηλυκών (Wald test $t = 12,212$, $P < 0,001$). Τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και

πρωτεΐνη ήταν περισσότερο δεκτικά για σύζευξη απ' ό τι τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη, ανεξάρτητα από την ηλικία. Οι διαφορές ήταν περισσότερο εμφανείς στην ηλικία των 15 ημερών (Διάγραμμα 8.1). Επίσης, η ηλικία επηρέασε σημαντικά τη δεκτικότητα σύζευξης (Wald test $t = 35,697$, $P < 0,001$). Το ποσοστό σύζευξης των θηλυκών προχωρημένης ηλικίας (40 ημερών) ήταν μεγαλύτερο σε σχέση με αυτό των νεαρών θηλυκών (15 ημερών) και στις δύο τροφές (Διάγραμμα 8.1). Η ανάλυση λογιστικής συμμεταβολής έδειξε σημαντική αλληλεπίδραση ανάμεσα στην τροφή και την ηλικία σύζευξης (Wald test $t = 6,776$, $P < 0,05$) καταδεικνύοντας ότι η μείωση της δεκτικότητας για σύζευξη σε νεαρή ηλικία ήταν σημαντικά εντονότερη στα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη.

8.4.2 Επίδραση της τροφής και της ηλικίας στα χαρακτηριστικά σύζευξης

Η διατροφική κατάσταση των θηλυκών δεν επηρέασε σημαντικά τη διάρκεια της σύζευξης (t-test, $P > 0,05$). Ωστόσο, η διάρκεια σύζευξης νεαρών θηλυκών ήταν σημαντικά μεγαλύτερη σε σχέση με αυτή θηλυκών προχωρημένης ηλικίας ανεξάρτητα από την τροφή ($t = -2,287$, $df = 252$, $P < 0,05$). Αξιολογώντας την επίδραση της ηλικίας σύζευξης στη διάρκεια σύζευξης σε κάθε τροφή ξεχωριστά βρέθηκε ότι τα νεαρά θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη συζευγνύονταν για σημαντικά μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ($t = 2,672$, $df = 100$, $P < 0,05$) (Διάγραμμα 8.2). Ομοίως, η διατροφική κατάσταση των θηλυκών δεν είχε σημαντική επίδραση στο χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης (t-test, $P > 0,05$). Ωστόσο, τα νεαρά θηλυκά ήταν περισσότερο επιλεκτικά απ' ό τι τα προχωρημένης ηλικίας θηλυκά ανεξάρτητα από την τροφή ($t = -2,974$, $df = 252$, $P < 0,05$) και σε κάθε τροφή ($t_{\text{πρωτεΐνη}} = 2,16$, $df = 149$, $P < 0,05$, $t_{\text{ζάχαρη}} = 2,0$, $df = 100$, $P < 0,05$) (Διάγραμμα 8.2).

8.4.3 Επίδραση της τροφής και της σύζευξης στην επιβίωση

Συνολικά (όταν τα θηλυκά του μάρτυρα και τα θηλυκά των μεταχειρίσεων συμπεριλήφθηκαν στην ανάλυση) η διαθεσιμότητα της

πρωτεΐνης στην τροφή ενίσχυσε σημαντικά την επιβίωση των θηλυκών ανεξάρτητα από τη σύζευξη (Wald test $t = 230,719$, d.f. = 1, $P < 0,001$) (Πίνακας 8.1). Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια όταν η επίδραση της τροφής στην επιβίωση των παρθένων θηλυκών του μάρτυρα ελέγχθηκε ξεχωριστά (Wald test $t = 33,664$, d.f. = 1, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 8.3). Η σύζευξη (συζευγμένα – μη συζευγμένα θηλυκά) ήταν επίσης σημαντικός εκτιμητής της επιβίωσης των θηλυκών ανεξάρτητα από την ηλικία σύζευξης (Wald test $t = 18,510$, d.f. = 1, $P < 0,001$). Τέλος, η αλληλεπίδραση ανάμεσα στην τροφή και τη σύζευξη ήταν σημαντική (Wald test $t = 31,264$, d.f. = 1, $P < 0,001$) καταδεικνύοντας ότι η σύζευξη αύξησε τους ρυθμούς θνησιμότητας των θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και μείωσε τους ρυθμούς θνησιμότητας των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη.

Υπολογίστηκαν επίσης οι ομαλοποιημένες (smoothed) αναλογίες κινδύνων (hazard rates) με σκοπό τη σύγκριση της θνησιμότητας συζευγμένων και μη συζευγμένων θηλυκών σε κάθε ηλικία και τροφή (Διαγράμματα 8.4, 8.5) (Πίνακας 8.1). Συζευγμένα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν υψηλότερους ρυθμούς θνησιμότητας απ' ό,τι τα μη συζευγμένα θηλυκά ιδιαίτερα όταν η σύζευξη πραγματοποιήθηκε στην ηλικία των 40 ημερών (Διάγραμμα 8.4). Αντίθετα, συζευγμένα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη εκδήλωσαν χαμηλότερους ρυθμούς θνησιμότητας σε σχέση με τα μη συζευγμένα θηλυκά οι οποίοι ήταν και πάλι περισσότερο εμφανείς όταν η σύζευξη πραγματοποιήθηκε σε προχωρημένη ηλικία (Wald test $t = 3,607$, df = 1, $P = 0,05$) (Διάγραμμα 8.5). Τόσο στα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη όσο και στα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη παρατηρήθηκε χρονική υστέρηση πριν τη διαφοροποίηση της θνησιμότητας, η οποία σε όλες τις περιπτώσεις συνέπεσε με την ηλικία των 55 – 60 ημερών.

Οι ρυθμοί θνησιμότητας των θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και συζεύχθηκαν σε νεαρή (15 ημερών) και σε προχωρημένη (40 ημερών) ηλικία δε διέφεραν σημαντικά. Οι ομαλοποιημένοι ρυθμοί θνησιμότητας καταδεικνύουν ότι η αύξηση του ρυθμού θνησιμότητας σε μεγαλύτερες ηλικίες, μετά τη σύζευξη, πραγματοποιείται ελαφρώς αργότερα στα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και συζεύχθηκαν σε νεαρή ηλικία (Διάγραμμα 8.6). Από την άλλη μεριά, οι καμπύλες θνησιμότητας

διέφεραν σημαντικά στα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και συζεύχθηκαν σε νεαρή και σε προχωρημένη ηλικία (Wald test $t = 51,553$, d.f. = 1, $P < 0,001$). Η θνησιμότητα διατηρήθηκε σε χαμηλά επίπεδα για 15 ημέρες μετά τη σύζευξη στα θηλυκά που συζεύχθηκαν και στις δύο ηλικίες και σημείωσε μέγιστο 25 ημέρες μετά τη σύζευξη. Η θνησιμότητα των θηλυκών που συζεύχθηκαν σε νεαρή ηλικία ήταν υψηλότερη από αυτή των θηλυκών που συζεύχθηκαν σε προχωρημένη ηλικία για 40 ημέρες μετά τη σύζευξη (Διάγραμμα 8.6 B).

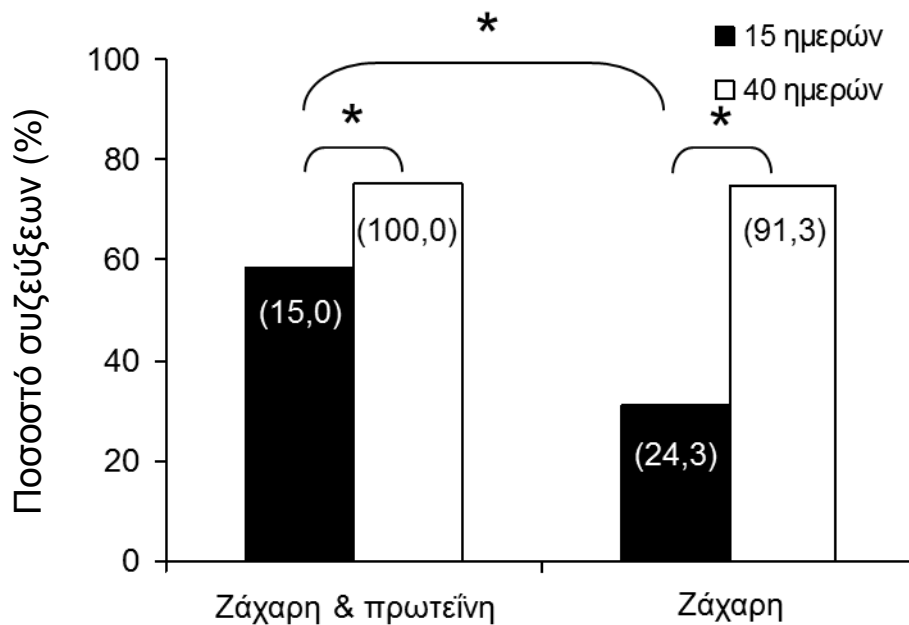
8.4.4 Επίδραση της τροφής, της σύζευξης και της ηλικίας στην ωοπαραγωγή

Τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη ωοτόκησαν σημαντικά περισσότερα αυγά σε σχέση με τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη ανεξάρτητα από τη σύζευξη και την ηλικία σύζευξης (Kruskal-Wallis test, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 8.7). Οι ανά ζεύγη συγκρίσεις σε κάθε ηλικιακή κλάση (συζευγμένα στις 15 και 40 ημέρες, αντίστοιχα) έδειξαν ότι τα συζευγμένα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη είχαν μεγαλύτερη ωοπαραγωγή σε σχέση με τα μη συζευγμένα (WMW test, $P < 0,001$) (Διάγραμμα 8.7, Πίνακας 2). Επιπλέον, τόσο τα συζευγμένα όσο και τα μη συζευγμένα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη, ωοτόκησαν σημαντικά περισσότερα αυγά απ' ό τι τα αντίστοιχα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (WMW test, $P < 0,001$ και για τις δύο συγκρίσεις). Η μετασυζευκτική ωοπαραγωγή των θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και συζεύχθηκαν είτε σε νεαρή είτε σε προχωρημένη ηλικία ήταν σημαντικά υψηλότερη από αυτή των θηλυκών που παρέμειναν ασύζευκτα στην ίδια ηλικία (WMW test, $P < 0,001$).

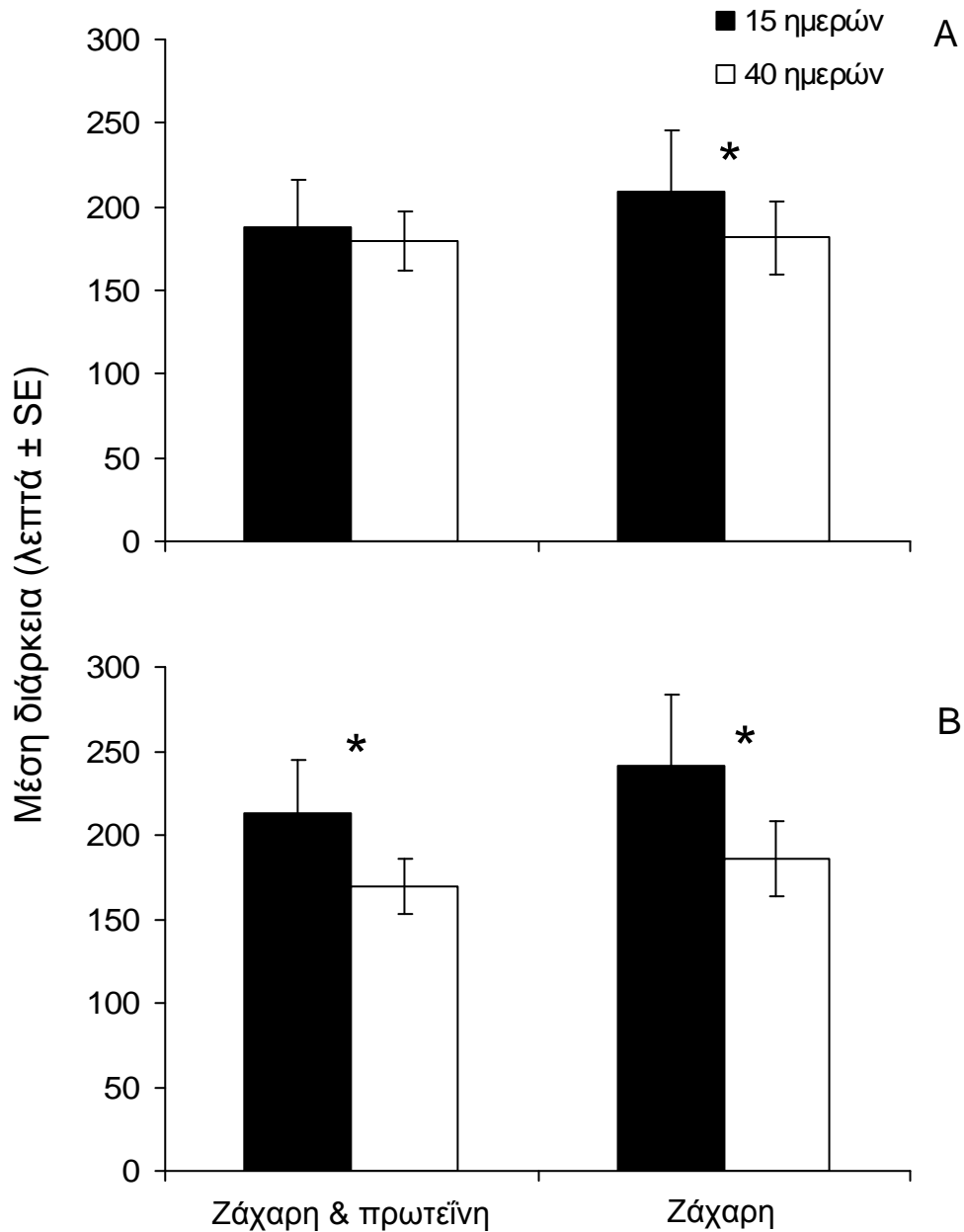
Η ωοπαραγωγή των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και συζεύχθηκαν ή παρέμειναν παρθένα στην ηλικία των 15 ημερών ήταν παραπλήσια τόσο πριν όσο και μετά τη δοκιμή σύζευξης καθώς και συνολικά στη διάρκεια ζωής των θηλυκών ($P > 0,05$). Τα αποτελέσματα ήταν παρόμοια και για τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και υποβλήθηκαν σε δοκιμή σύζευξης στην ηλικία των 40 ημερών (Διάγραμμα 8.7). Ωστόσο, αξίζει να σημειωθεί ότι ο αριθμός των αυγών που ωοτοκήθηκαν από τα θηλυκά που

τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και που υποβλήθηκαν σε δοκιμή σύζευξης τόσο στην ηλικία των 15 όσο και των 40 ημερών ήταν εξαιρετικά χαμηλός.

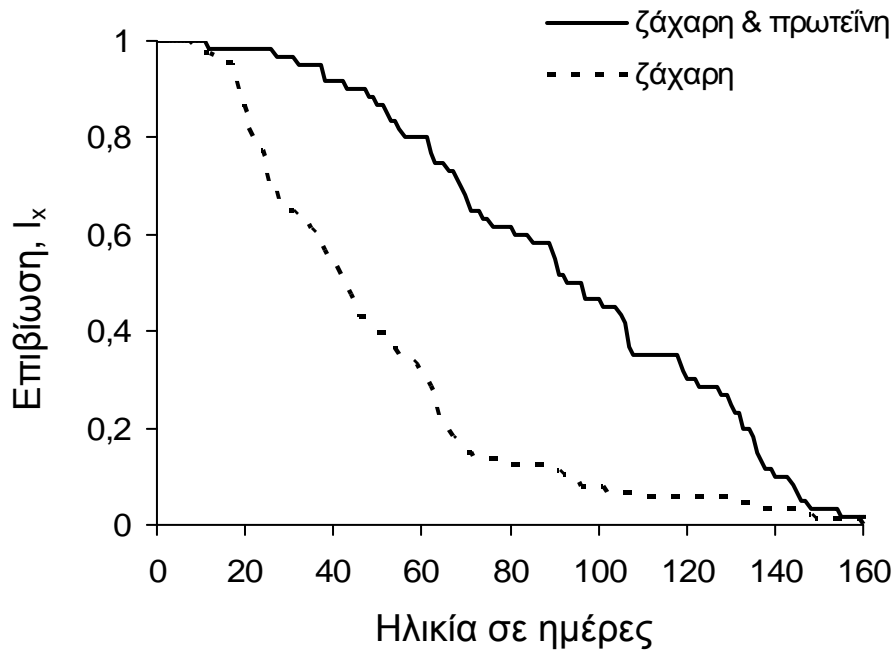
Με σκοπό την αξιολόγηση της επίδρασης της σύζευξης στην ωοπαραγωγή (m_x) υπολογίστηκε η αναλογία των ομαλοποιημένων ρυθμών ωοπαραγωγής των συζευγμένων και των μη συζευγμένων θηλυκών σε σχέση με τους ομαλοποιημένους ρυθμούς ωοπαραγωγής θηλυκών του μάρτυρα ($m_{x, \text{συζευγμένα}}/m_{x, \text{μάρτυρας}}$ και $m_{x, \text{μη συζευγμένα}}/m_{x, \text{μάρτυρας}}$, αντίστοιχα) (Διαγράμματα 8.8, 8.9). Συζευγμένα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εκδήλωσαν σταθερούς και σημαντικά υψηλότερους ρυθμούς ωοπαραγωγής σε σχέση με τα μη συζευγμένα θηλυκά, ανεξάρτητα από την ηλικία σύζευξης. Επίσης, οι ρυθμοί ωοπαραγωγής των μη συζευγμένων θηλυκών ήταν συνεχώς χαμηλότεροι από τους ρυθμούς ωοπαραγωγής των θηλυκών του μάρτυρα (Διάγραμμα 8.8). Η επίδραση της σύζευξης στους ρυθμούς ωοπαραγωγής σε σχέση με την ηλικία δεν ήταν ξεκάθαρη στα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη (Διάγραμμα 8.9). Αναλυτικά, η πορεία της ωοπαραγωγής σε σχέση με την ηλικία σε κάθε μεταχείριση και στο μάρτυρα δίνεται στο Διάγραμμα 8.10.



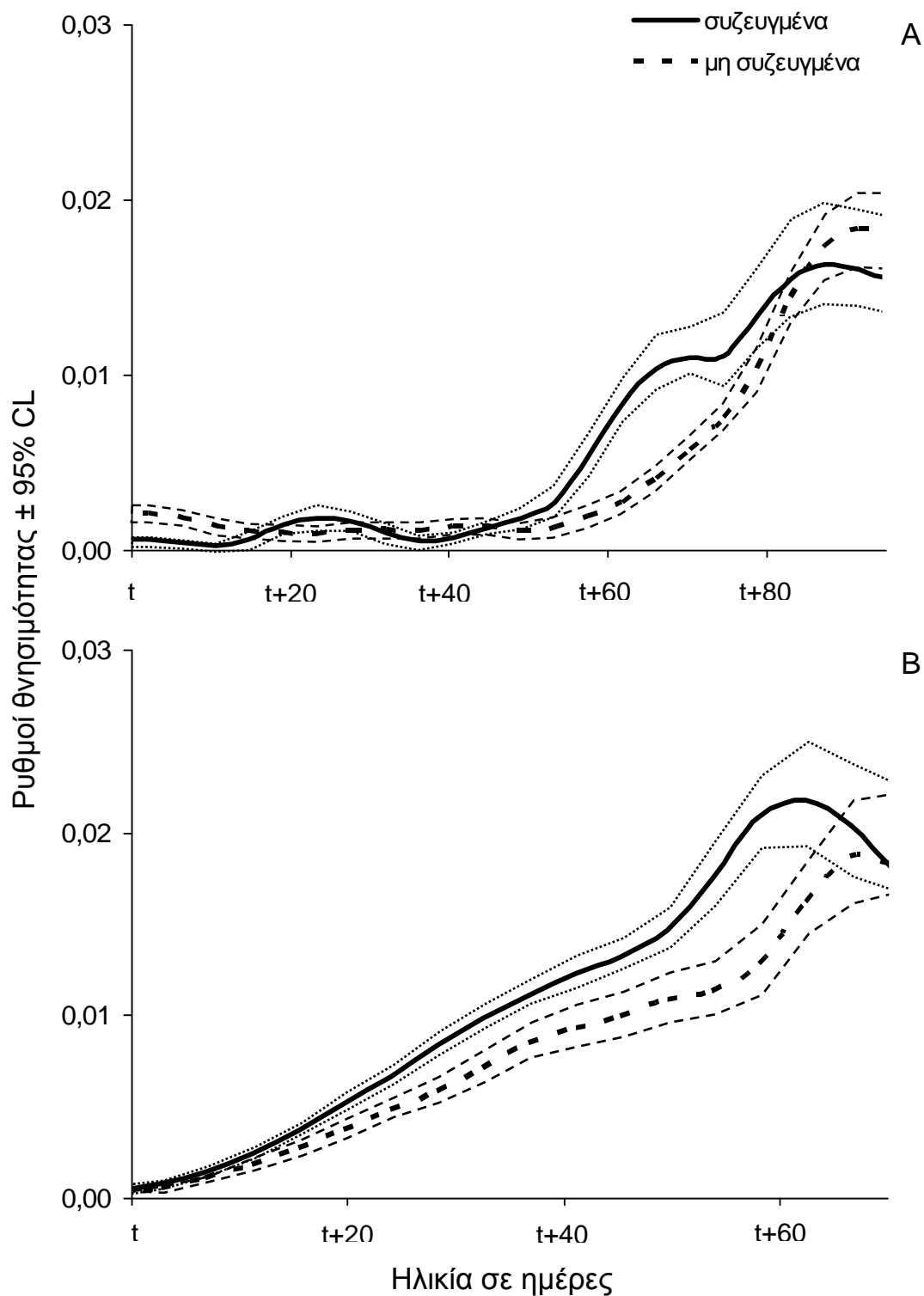
Διάγραμμα 8.1. Ποσοστά συζεύξεων θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (αριστερά) και θηλυκών που στερούνταν πρωτεΐνης (δεξιά) και υποβλήθηκαν σε δοκιμές σύζευξης σε νεαρή (15 ημερών) και προχωρημένη (40 ημερών) ηλικία. Τα ποσοστά των θηλυκών που είχαν αρχίσει να ωοτοκούν μια ημέρα πριν τη δοκιμή σύζευξης δίνονται σε παρένθεση. Ο αστερίσκος υποδεικνύει στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$).



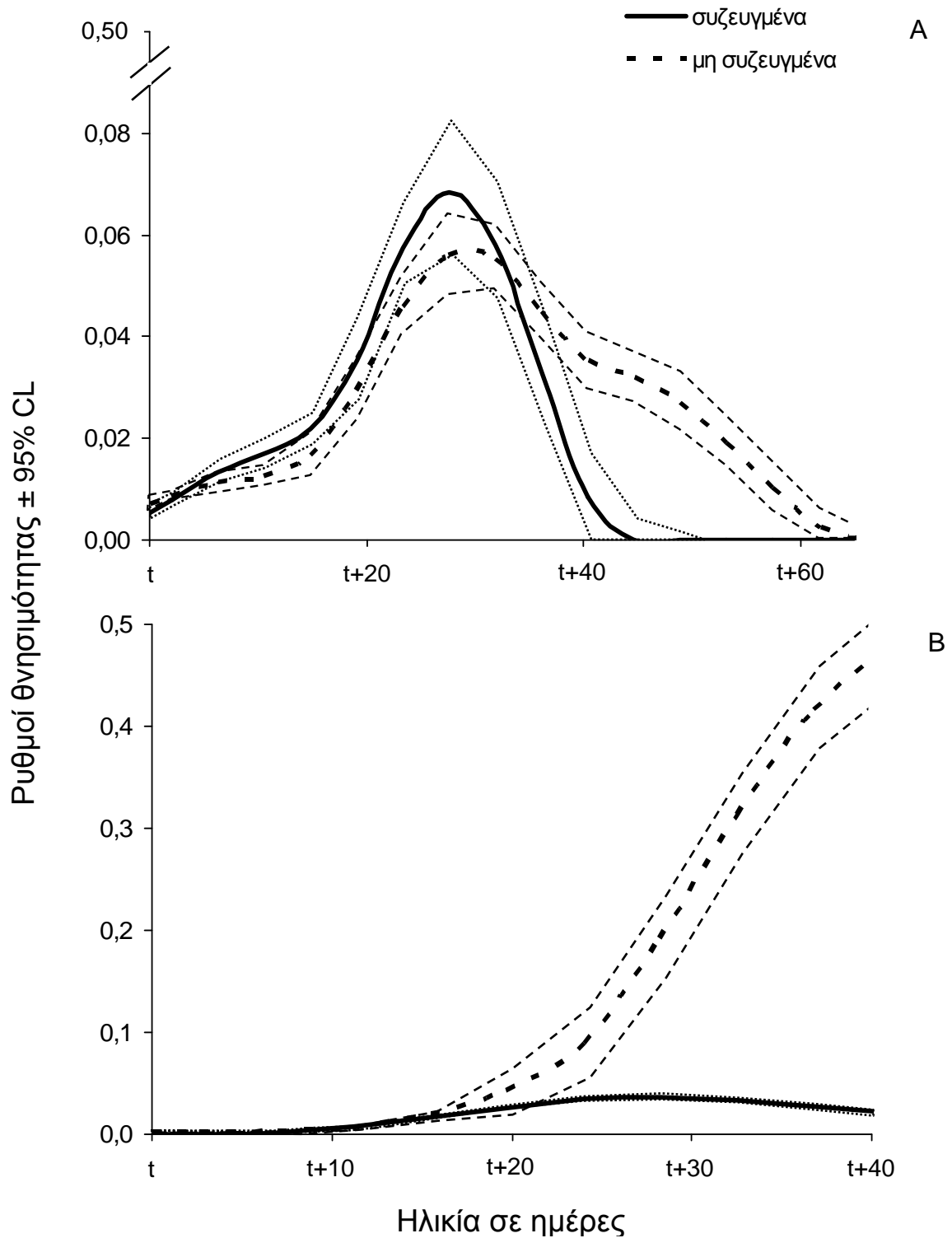
Διάγραμμα 8.2. Μέση διάρκεια σύζευξης (A) και μέσος χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης (B) για τα θηλυκά που συζεύχθηκαν στην ηλικία των 15 και των 40 ημερών και που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (αριστερά) και μόνο με ζάχαρη (δεξιά). Ο αστερίσκος υποδεικνύει στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$).



Διάγραμμα 8.3. Επιβίωση θηλυκών του μάρτυρα που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και θηλυκών του μάρτυρα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη σε σχέση με την ηλικία. Στα θηλυκά του μάρτυρα δε δόθηκε η δυνατότητα σύζευξης και διατηρήθηκαν παρθένα καθ' όλη τη διάρκεια της ζωής τους.



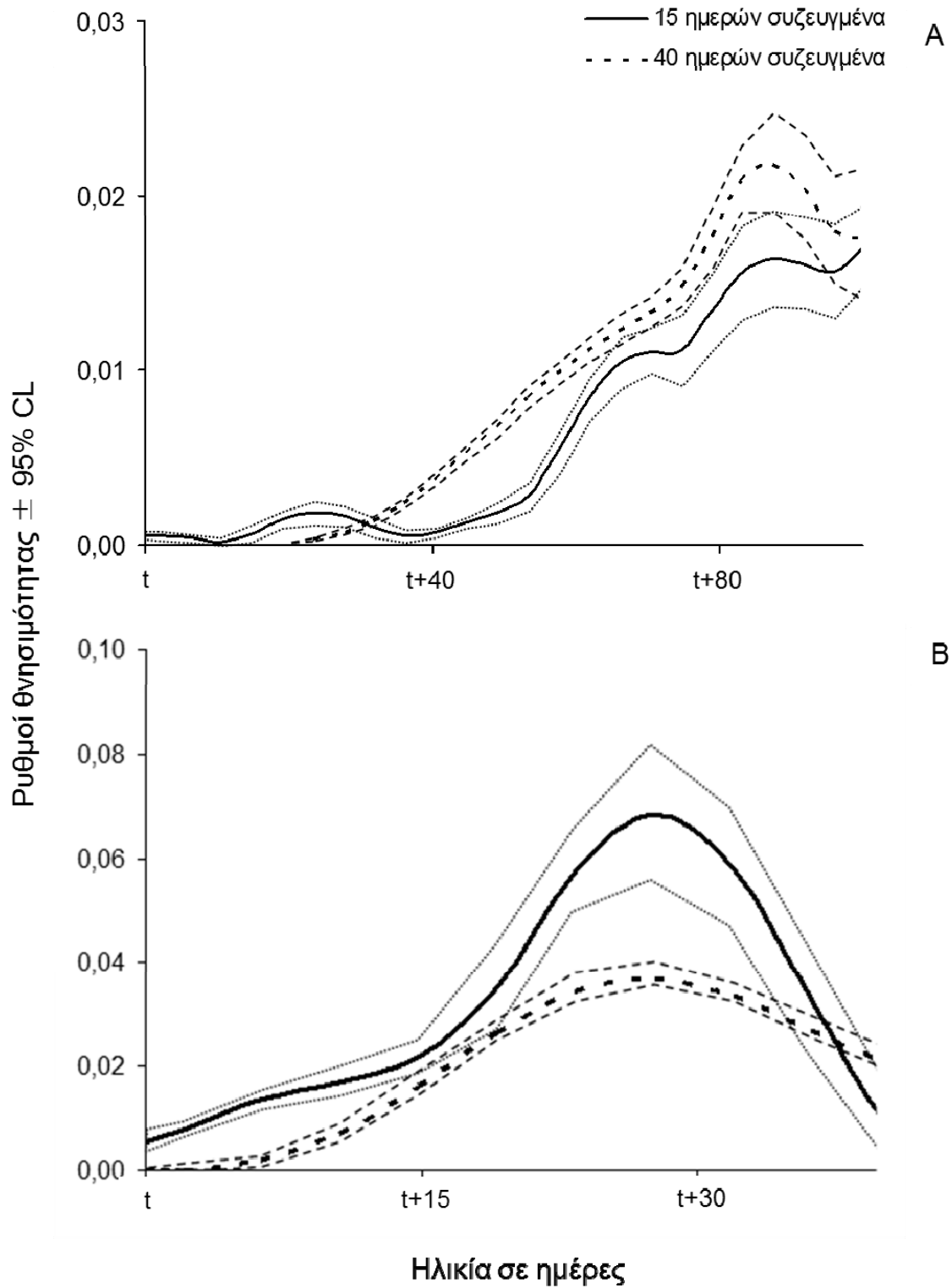
Διάγραμμα 8.4. Ομαλοποιημένοι ρυθμοί θνησιμότητας με 95% όρια εμπιστοσύνης (CL) θηλικών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και συζεύχθηκαν ή δε συζεύχθηκαν στην ηλικία των $t = 15$ (A) και $t = 40$ (B) ημερών.



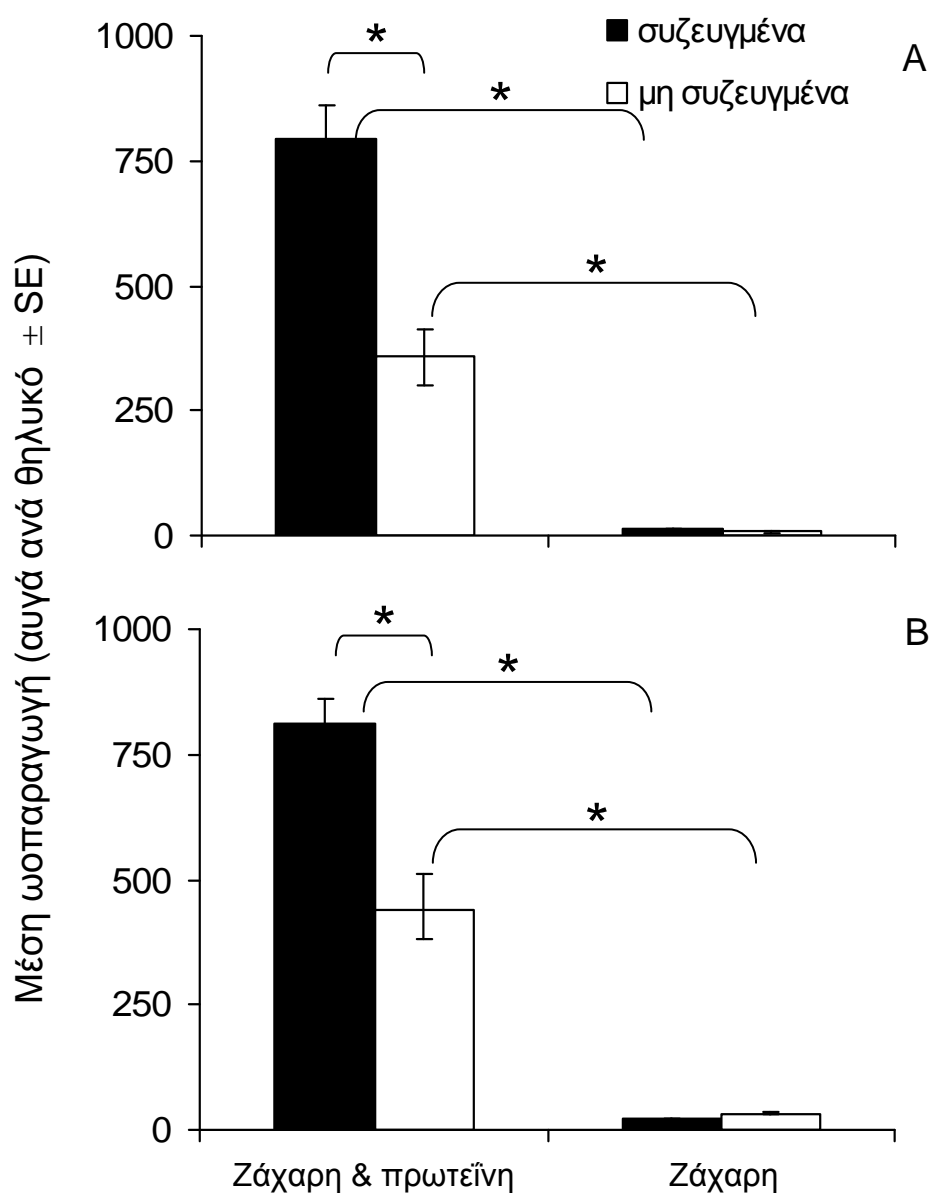
Διάγραμμα 8.5. Ομαλοποιημένοι ρυθμοί θνησιμότητας με 95% όρια εμπιστοσύνης (CL) θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και συζεύχθηκαν ή δε συζεύχθηκαν στην ηλικία των $t = 15$ (A) και $t = 40$ (B) ημερών.

Πίνακας 8.1. Μέση αναμενόμενη διάρκεια ζωής e_x (προσδόκιμο ζωής στην ηλικία x) για τα θηλυκά που τρέφονταν είτε με ζάχαρη και πρωτεΐνη είτε μόνο με ζάχαρη και που συζεύχθηκαν ή δε συζεύχθηκαν τη 15^η και την 40^η ημέρα της ζωής τους. Ο αριθμός των ατόμων με τα οποία πραγματοποιήθηκαν οι υπολογισμοί, σε κάθε ηλικιακή κλάση, δίνεται σε παρένθεση.

		Μέση αναμενόμενη διάρκεια ζωής σε ημέρες						
Ηλικία σε ημέρες		0	15	30	40	50	60	70
Ζάχαρη & πρωτεΐνη	συζευγμένα την 40 ^η ημέρα				49,28 (104)	40,11 (102)	32,63 (95)	28,08 (79)
	μη συζευγμένα την 40 ^η ημέρα				56,41 (34)	46,41 (34)	39,06 (32)	33,82 (28)
	συζευγμένα τη 15 ^η ημέρα		79,76 (47)	66,46 (46)	59,07 (44)	50,43 (43)	41,43 (42)	33,10 (40)
	μη συζευγμένα τη 15 ^η ημέρα		84,66 (32)	75,00 (30)	67,29 (29)	57,29 (29)	49,25 (28)	40,94 (27)
	μάρτυρας	94,78 (60)	81,19 (59)	67,40 (58)	60,77 (55)	53,90 (52)	48,10 (48)	45,43 (41)
Ζάχαρη	συζευγμένα την 40 ^η ημέρα				29,86 (69)	19,86 (69)	12,07 (58)	17,82 (19)
	μη συζευγμένα την 40 ^η ημέρα				23,46 (23)	14,32 (22)	5,45 (19)	– (2)
	συζευγμένα τη 15 ^η ημέρα		21,50 (33)	15,61 (19)	12,41 (11)	– (1)	– (1)	– (1)
	μη συζευγμένα τη 15 ^η ημέρα		21,31 (73)	13,58 (48)	7,31 (32)	21,30 (5)	– (2)	– (1)
	μάρτυρας	48,49 (90)	35,30 (84)	34,03 (57)	30,16 (47)	29,19 (35)	26,28 (27)	40,58 (13)



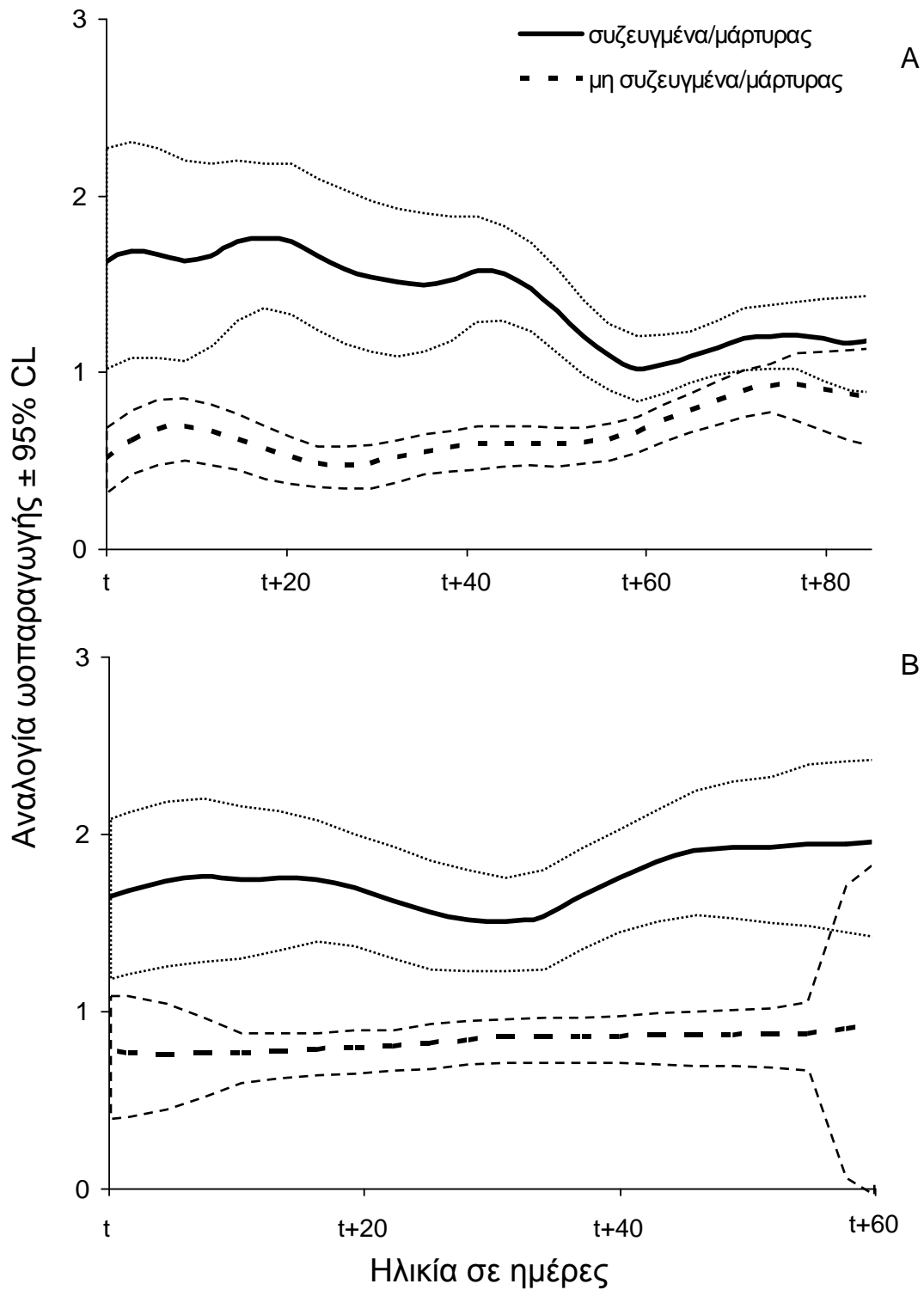
Διάγραμμα 8.6. Ομαλοποιημένοι ρυθμοί θνησιμότητας με 95% όρια εμπιστοσύνης (CL) θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και μόνο με ζάχαρη (B) και συζεύχθηκαν στην ηλικία των $t = 15$ ή στην ηλικία των $t = 40$ ημερών.



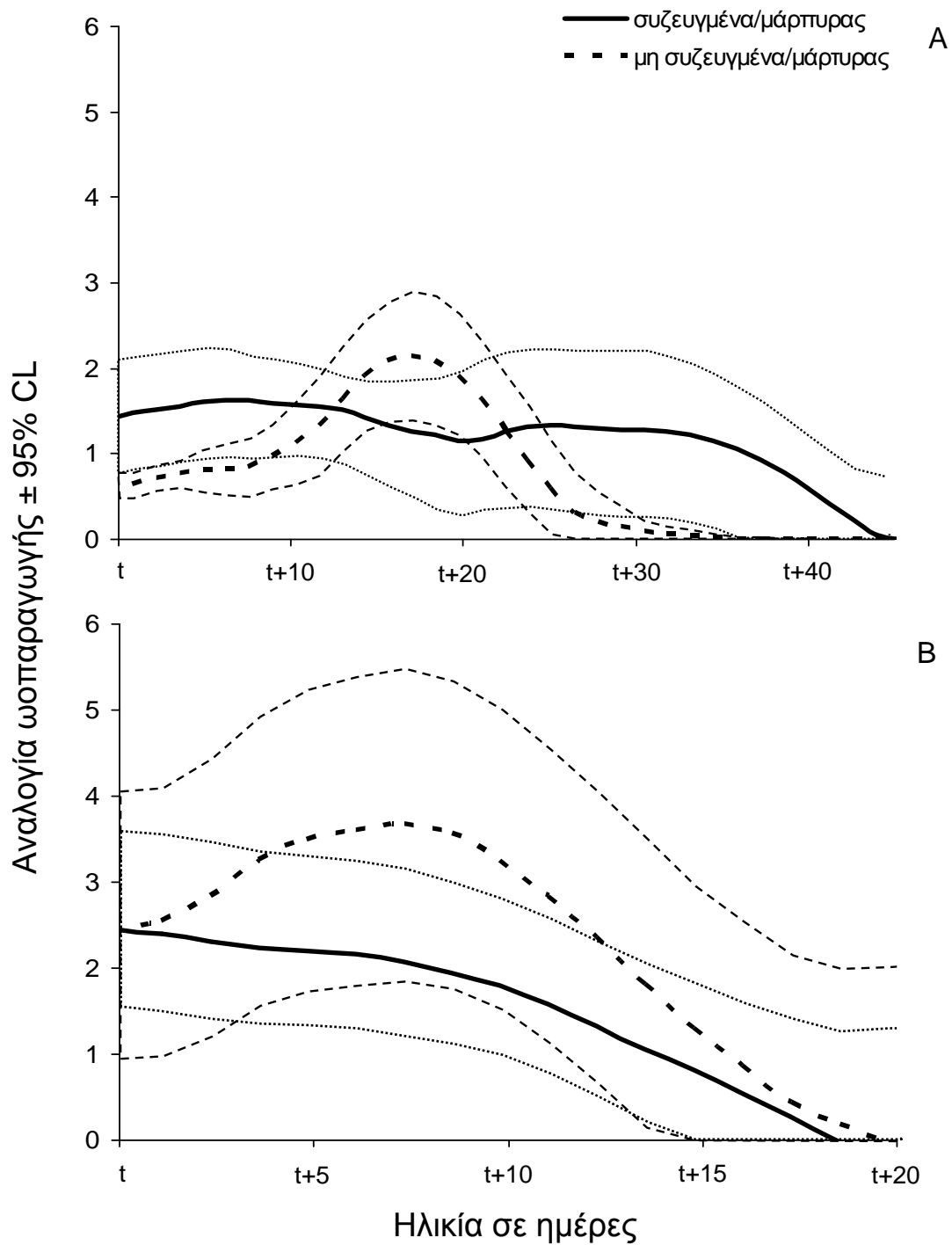
Διάγραμμα 8.7. Μέσος συνολικός αριθμός αυγών (\pm SE) που ωοτοκήθηκαν από συζευγμένα και μη συζευγμένα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και που στερήθηκαν πρωτεΐνης όταν οι δοκιμές σύζευξης πραγματοποιήθηκαν στην ηλικία των 15 (A) και των 40 (B) ημερών. Ο αστερίσκος υποδεικνύει στατιστικώς σημαντικές διαφορές ($P < 0,05$).

Πίνακας 8.2. Μέση αναμενόμενη ωοπαραγωγή m_x (αριθμός αυγών που αναμένεται να ωοτοκηθούν στην ηλικία x) για τα θηλυκά που τρέφονταν είτε με ζάχαρη και πρωτεΐνη είτε μόνο με ζάχαρη και που συζεύχθηκαν ή δε συζεύχθηκαν τη 15^η και την 40^η ημέρα της ζωής τους. Ο αριθμός των ατόμων, με τα οποία πραγματοποιήθηκαν οι υπολογισμοί, σε κάθε ηλικιακή κλάση δίνεται σε παρένθεση.

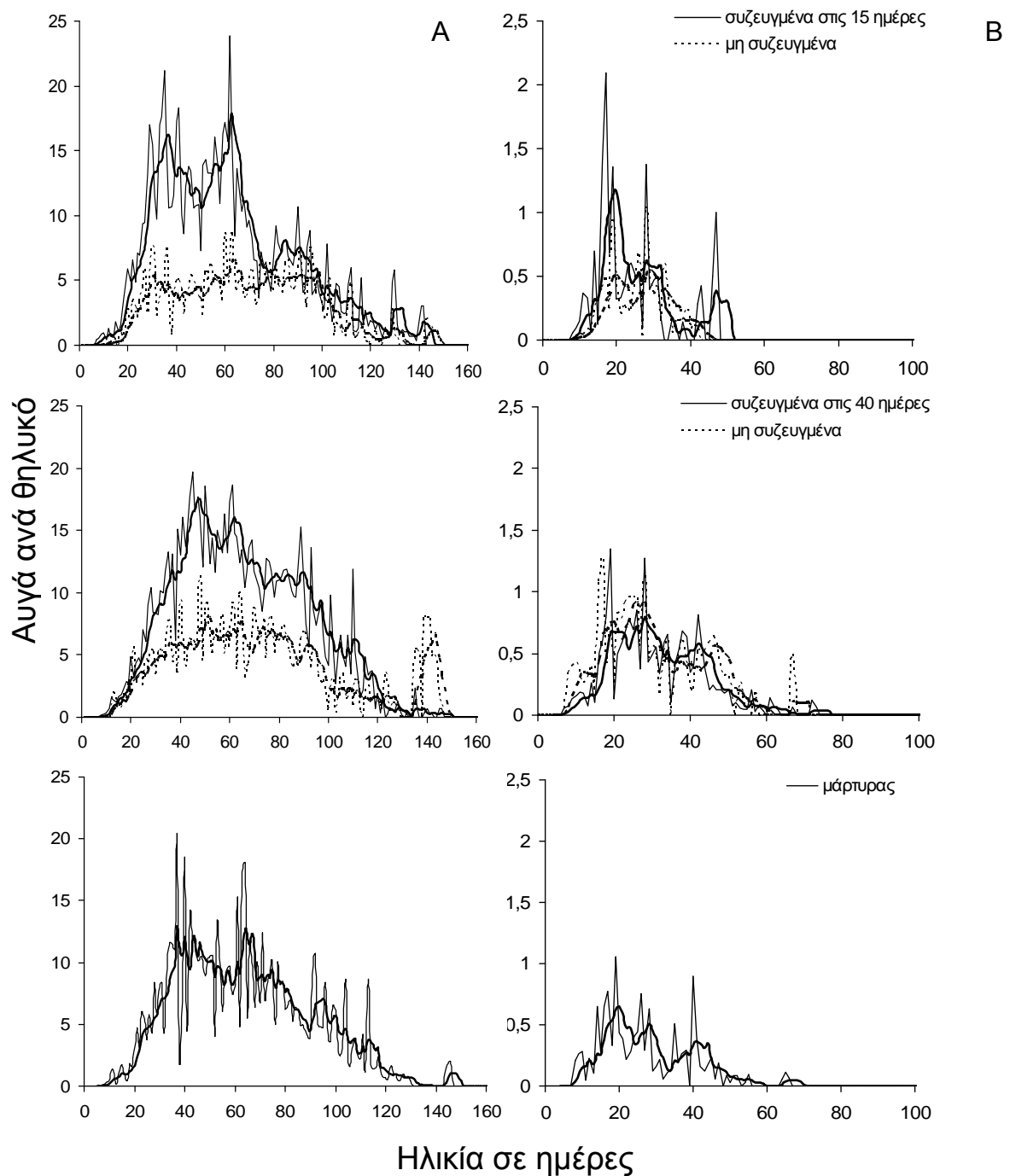
Ηλικία σε ημέρες		Μέση αναμενόμενη ωοπαραγωγή (αυγά ανά θηλυκό)						
		0	15	30	40	50	60	70
Ζάχαρη & πρωτεΐνη	συζευγμένα την 40 ^η ημέρα				605,77 (104)	448,38 (102)	309,45 (95)	188,35 (79)
	μη συζευγμένα την 40 ^η ημέρα				308,59 (34)	244,82 (34)	181,35 (32)	122,18 (28)
	συζευγμένα τη 15 ^η ημέρα		748,66 (47)	652,53 (46)	515,60 (44)	399,98 (43)	279,28 (42)	157,45 (40)
	μη συζευγμένα τη 15 ^η ημέρα		327,09 (32)	285,36 (30)	248,73 (29)	212,18 (29)	168,39 (28)	126,61 (27)
	μάρτυρας	555,03 (60)	548,73 (59)	485,82 (58)	385,65 (55)	293,07 (52)	221,58 (48)	142,57 (41)
Ζάχαρη	συζευγμένα την 40 ^η ημέρα				4,65 (69)	1,10 (69)	0,24 (58)	0,04 (19)
	μη συζευγμένα την 40 ^η ημέρα				5,52 (23)	1,17 (22)	0,13 (19)	– (2)
	συζευγμένα τη 15 ^η ημέρα		10,51 (33)	1,06 (19)	0,21 (11)	– (1)	– (1)	– (1)
	μη συζευγμένα τη 15 ^η ημέρα		10,03 (73)	2,12 (48)	0,53 (32)	0,01 (5)	– (2)	– (1)
	μάρτυρας	9,84 (90)	8,11 (84)	2,45 (57)	1,30 (47)	0,17 (35)	0,04 (27)	0,00 (13)



Διάγραμμα 8.8. Ομαλοποιημένη αναλογία ωοπαγωγής (ωοπαγωγή μεταχείρισης/ ωοπαγωγή μάρτυρα σε σχέση με την ηλικία) με 95% όρια εμπιστοσύνης (CL) θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη και συζεύχθηκαν ή δε συζεύχθηκαν στην ηλικία των $t = 15$ (A) και $t = 40$ (B) ημερών.



Διάγραμμα 8.9. Ομαλοποιημένη αναλογία ωοπαραγωγής (ωοπαραγωγή μεταχείρισης/ ωοπαραγωγή μάρτυρα σε σχέση με την ηλικία) με 95% όρια εμπιστοσύνης (CL) θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και συζεύχθηκαν ή δε συζεύχθηκαν στην ηλικία των $t = 15$ (A) και $t = 40$ (B) ημερών.



Διάγραμμα 8.10. Μέσος αριθμός αυγών σε σχέση με την ηλικία (πραγματικές τιμές και κυλιόμενος μέσος όρος με περίοδο 5 ημερών) θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (A) και μόνο με ζάχαρη (B) και που συζεύχθηκαν ή δε συζεύχθηκαν στην ηλικία των 15 ημερών (πρώτη σειρά) στην ηλικία των 40 ημερών (δεύτερη σειρά) καθώς και θηλυκών του μάρτυρα που παρέμειναν παρθένα σε όλη τη διάρκεια ζωής τους (τρίτη σειρά).

8.5 Συζήτηση

Τα αποτελέσματα του παρόντος κεφαλαίου έδειξαν ότι α) η δεκτικότητα σύζευξης των θηλυκών αυξάνει σε σχέση με την ηλικία και επηρεάζεται από την τροφή των ενηλίκων, β) η τροφή δεν επηρεάζει τα χαρακτηριστικά της σύζευξης αλλά θηλυκά προχωρημένης ηλικίας συμμετέχουν σε πιο σύντομες συζεύξεις και είναι λιγότερο επιλεκτικά στην αποδοχή του σεξουαλικού συντρόφου, γ) τα θηλυκά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη ζουν περισσότερο και γεννούν σημαντικά μεγαλύτερο αριθμό αυγών σε σχέση με τα θηλυκά που τρέφονται μόνο με ζάχαρη, δ) η σύζευξη ενεργοποιεί την ωοπαραγωγή στα θηλυκά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη με παράλληλο κόστος στην επιβίωση και ε) η σύζευξη αυξάνει την επιβίωση των θηλυκών που τρέφονται μόνο με ζάχαρη καταδεικνύοντας προστατευτική δράση ιδιαίτερα όταν πραγματοποιείται σε προχωρημένες ηλικίες.

8.5.1 Η γήρανση και η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης αυξάνουν τη δεκτικότητα σύζευξης στα θηλυκά

Η γήρανση μπορεί να μεταβάλλει τη σεξουαλική συμπεριφορά αυξάνοντας τη δεκτικότητα για σύζευξη σε αρκετά είδη ζώων και εντόμων (Gray, 1999; Kodric-Brown & Nicoletto, 2001; Moore & Moore, 2001) συμπεριλαμβανομένων και κάποιων εργαστηριακών, βραχύβιων φυλών της μύγας της Μεσογείου (Anjos-Duarte et al., 2011). Τα στοιχεία του παρόντος κεφαλαίου έδειξαν ότι θηλυκά προχωρημένης ηλικίας (40 ημερών) είναι λιγότερο επιλεκτικά με συνέπεια να συμμετέχουν σε σχεδόν διπλάσιες συζεύξεις σε σχέση με τα νεαρά θηλυκά. Αυτό μπορεί να είναι αποτέλεσμα είτε μείωσης της ικανότητας διάκρισης είτε, εναλλακτικά, τα προχωρημένης ηλικίας θηλυκά μπορεί να διατηρούν την ικανότητα αξιολόγησης των πιθανών συντρόφων τους αλλά να διευρύνουν τα όρια αποδοχής των χαρακτηριστικών τους λόγω γήρανσης. Επειδή τόσο το προσδόκιμο ζωής όσο και η εναπομείνασα αναπαραγωγική αξία ελαττώνονται σε σχέση με την ηλικία, τα προχωρημένης ηλικίας θηλυκά αποδέχονται ευκολότερα τους σεξουαλικούς συντρόφους προκειμένου να διασφαλίσουν την αναπαραγωγική επιτυχία. Αντίθετα, μια λανθασμένη αξιολόγηση και επιλογή σεξουαλικού συντρόφου από ένα νεαρό θηλυκό θα μπορούσε εύκολα να αντισταθμιστεί με

επανασύζευξη με υψηλότερης ποιότητας αρσενικό σε μελλοντικές προσπάθειες.

Η τροφή των ενηλίκων επηρεάζει την ωρίμανση των ωοθηκών και την ωοπαραγωγή σε αρκετά θηλυκά της οικογένειας *Tephritidae* (Aluja et al., 2001a; Perez-Staples et al., 2007b; Taylor & Yuval, 1999) και μπορεί, επίσης, να ρυθμίζει τη δεκτικότητα των θηλυκών για σύζευξη. Η διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης είναι επίσης γνωστό ότι αυξάνει την αναπαραγωγική επιτυχία των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου (Papadopoulos et al., 1998; Shelly & Kennelly, 2002). Η έλλειψη της πρωτεΐνης στην τροφή μειώνει τη σεξουαλική δεκτικότητα και την ελκυστικότητα των θηλυκών της μύγας τη Μεσογείου τα οποία δέχονται λιγότερες προσπάθειες ερωτοτροπίας από τα αρσενικά, σε σχέση με τα θηλυκά που τρέφονται με πρωτεΐνη (Cangussu & Zucoloto, 1996). Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου συμφωνούν με προηγούμενα ευρήματα που αφορούν τη σχέση της τροφής των ενηλίκων με τη σεξουαλική συμπεριφορά και προτείνουν ότι η δεκτικότητα σύζευξης των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου επηρεάζεται θετικά από τη διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή.

Παρόμοιες μελέτες σχετικές με την επίδραση της διατροφικής κατάστασης στην αναπαραγωγική συμπεριφορά τρωκτικών οδήγησαν σε δύο αντίθετες υποθέσεις. Σύμφωνα με την υπόθεση των «μεταβολικών αποθεμάτων» (metabolic fuels hypothesis) ο οργανισμός θυσιάζει την αναπαραγωγή σε περιόδους έλλειψης διαθεσιμότητας τροφής. Από την άλλη μεριά οι οργανισμοί που πληρούν την υπόθεση «αναπαραγωγή με κάθε κόστος» (reproduction at any cost hypothesis) δε θυσιάζουν την αναπαραγωγή ακόμα και αν δεν είναι δυνατή η εύρεση αρκετής τροφής (Boonstra et al., 2001). Το ποσό της ενέργειας που επενδύεται στην παραγωγή απογόνων διαφέρει σημαντικά μεταξύ των δύο φύλων. Συνεπώς, τα αρσενικά μπορεί να πληρούν τις προϋποθέσεις της υπόθεσης «αναπαραγωγή με κάθε κόστος» και τα θηλυκά της υπόθεσης «μεταβολικών αποθεμάτων» ακόμα και αν ανήκουν στο ίδιο είδος.

Στο παρόν κεφάλαιο, τα θηλυκά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη φαίνεται πως ακολουθούν την υπόθεση των «μεταβολικών αποθεμάτων» όταν είναι νεαρά αλλά η επιδεκτικότητα για σύζευξη είναι περισσότερο συμβατή με την υπόθεση «αναπαραγωγή με κάθε κόστος» όταν είναι

μεγαλύτερης ηλικίας. Παρά το γεγονός ότι τα νεαρά θηλυκά που στερούνταν πρωτεΐνης θα μπορούσαν να είναι αναπαραγωγικά ανώριμα στην ηλικία των 15 ημερών με αποτέλεσμα τη χαμηλή δεκτικότητα σύζευξης, τα αποτελέσματα δείχνουν ότι τα θηλυκά, ηλικίας 15 ημερών, που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη έφτασαν νωρίτερα στην αναπαραγωγική ωριμότητα αφού ξεκίνησαν την ωοτοκία σε υψηλότερους ρυθμούς (24,3%) σε σχέση με τα θηλυκά ίδιας ηλικίας που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (15%) (Διάγραμμα 8.1). Άλλωστε, προηγούμενη μελέτη έδειξε ότι στην ηλικία των 12 ημερών το σύνολο των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη είναι αναπαραγωγικά ώριμα και ότι στην ηλικία των 14 ημερών έχουν συζευχθεί (Paradopoulos et al., 2002b). Μια τροφή φτωχή σε θρεπτική αξία φαίνεται ότι επηρεάζει αρνητικά την απόφαση του θηλυκού να συζευχθεί κάτι που αργότερα ενδέχεται να αλλάξει λόγω γήρανσης.

8.5.2 Τα χαρακτηριστικά της σύζευξης επηρεάζονται μόνο από την ηλικία του θηλυκού

Οι συντομότερες συζεύξεις μπορεί να λειτουργούν προς όφελος πολλών ειδών λόγω μείωσης του ρίσκου θήρευσης και άμεσης έναρξης της ωοτοκίας για τα θηλυκά (Aluja et al., 2009). Από την άλλη πλευρά, συζεύξεις που διαρκούν περισσότερο μπορεί να οδηγούν σε μεταφορά μεγαλύτερης ποσότητας σπέρματος. Συνεπώς, τόσο οι σύντομες όσο και οι μεγαλύτερης διάρκειας συζεύξεις μπορεί να συνεισφέρουν στην αύξηση της αρμοστικότητας. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η τροφή και η φυσιολογική κατάσταση (condition) του ενήλικου επηρεάζουν τα χαρακτηριστικά της σύζευξης στα Terphritidae συμπεριλαμβανομένης και της μύγας της Μεσογείου (Aluja et al., 2009; Field & Yuval, 1999; Taylor & Yuval, 1999). Στα αρσενικά του γένους *Anastrepha* η τροφή καθορίζει τη διάρκεια της σύζευξης και το χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης ενώ τα θηλυκά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη συμμετέχουν σε συντομότερες συζεύξεις. Η στέρηση της πρωτεΐνης σε θηλυκά εργαστηριακών φυλών της μύγας της Μεσογείου αυξάνει τη διάρκεια της σύζευξης καταδεικνύοντας ότι τα θηλυκά αυτά πιθανώς επωφελούνται διατροφικά μέσω των προϊόντων της σύζευξης (Field & Yuval, 1999). Ωστόσο, η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή των

αρσενικών δε φαίνεται να επηρεάζει τη διάρκεια της σύζευξης (Shelly & Kennelly, 2002).

Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου έδειξαν ότι δεν υπάρχουν σημαντικές επιδράσεις της τροφής στα χαρακτηριστικά σύζευξης (διάρκεια και χρόνο έως την έναρξη της σύζευξης), κάτι που μπορεί να υποδηλώνει ότι η διατροφική κατάσταση του θηλυκού δεν είναι τόσο σημαντική όσο αυτή του αρσενικού σε ότι αφορά τα χαρακτηριστικά της σύζευξης. Παρ' όλα αυτά, η ηλικία σύζευξης των θηλυκών επέδρασε σημαντικά τόσο στη διάρκεια της σύζευξης όσο και στο χρόνο έως την έναρξή της. Τα νεαρά θηλυκά καθυστέρησαν να αποδεχτούν τη σύζευξη σε σχέση με τα προχωρημένης ηλικίας θηλυκά μαρτυρώντας μεγαλύτερη επιλεκτικότητα του σεξουαλικού συντρόφου. Επιπλέον, τα προχωρημένης ηλικίας θηλυκά συμμετείχαν σε συντομότερες συζεύξεις. Η συμπεριφορά αυτή πιθανώς συνδέεται με την ανάγκη τους για έναρξη ωοτοκίας γόνιμων αυγών σε μια προσπάθεια να αντισταθμίσουν την χαμηλή αναπαραγωγική τους αξία λόγω γήρανσης. Ακόμα, τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου έχουν την ικανότητα να διακρίνουν και να αξιολογούν τις πιθανές σεξουαλικές συντρόφους τους με βάση την ηλικία (Shelly et al., 2012). Συνεπώς, οι συντομότερες συζεύξεις των γηραιότερων θηλυκών μπορεί να οφείλονται σε χαμηλή αξιολόγηση από τους πιθανούς συντρόφους τους οι οποίοι προτιμούν να τερματίσουν νωρίτερα τη σύζευξη και να ρισκάρουν την αναζήτηση υψηλότερης ποιότητας θηλυκών (νεαρά). Προφανώς, η υπόθεση αυτή εξαρτάται τόσο από τη διαθεσιμότητα ξενιστών για την ωοτοκία των θηλυκών όσο και από την κατανομή των ηλικιών του άγριου πληθυσμού σε σχέση με την περίοδο του έτους (Carey et al., 2012b) και χρειάζεται περαιτέρω έρευνα.

8.5.3 Η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης στην τροφή αυξάνει την αρμοστικότητα των θηλυκών

Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι η στέρση της πρωτεΐνης στο στάδιο του ανηλικού και/ή του ενηλικού επηρεάζει αρκετά βιολογικά χαρακτηριστικά της μύγας της Μεσογείου όπως το μέγεθος των ενηλικών, τη διάρκεια ανάπτυξης των ανήλικων σταδίων, την επιτυχή έξοδο των ενηλικών, την επιβίωση και την ωοπαραγωγή (Cangussu & Zucoloto, 1995; 1996). Είναι

επίσης γνωστό ότι η αρμοστικότητα των θηλυκών αυξάνει όταν παρέχεται τροφή υψηλής θρεπτικής αξίας τόσο κατά τη διάρκεια των ανήλικων σταδίων όσο και στο στάδιο του ενήλικου (Carey et al., 2002a; Kaspi et al., 2002; Manrakhan & Lux, 2006). Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου βρίσκονται σε συμφωνία με παλαιότερα ευρήματα, αφού τα θηλυκά που στερήθηκαν πρωτεΐνης έζησαν λιγότερο και γέννησαν σημαντικά μικρότερο αριθμό αυγών σε σχέση με τα θηλυκά που τράφηκαν με ζάχαρη και πρωτεΐνη. Παρόμοια αποτελέσματα σημειώθηκαν όταν οι συγκρίσεις επιβίωσης και ωοπαραγωγής πραγματοποιήθηκαν μόνο με τα θηλυκά του μάρτυρα που τρέφονταν είτε με ζάχαρη και πρωτεΐνη είτε μόνο με ζάχαρη καθώς και όταν η σύγκριση πραγματοποιήθηκε στο σύνολο των θηλυκών ανεξάρτητα από τη σύζευξη.

8.5.4 Η σύζευξη διεγείρει την ωοπαραγωγή και αυξάνει τη θνησιμότητα μόνο στα θηλυκά που τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη

Η σύζευξη τόσο των νεαρών (15 ημερών) όσο και των μεγαλύτερης ηλικίας (40 ημερών) θηλυκών διπλασίασε την εναπομείνασα ωοπαραγωγή σε σύγκριση με τα μη συζευγμένα θηλυκά και επέφερε κόστος στην επιβίωση. Παρά το γεγονός ότι προηγούμενες μελέτες οδηγούνται σε αντιφατικά αποτελέσματα σχετικά με την επίδραση της σύζευξης στην ωοπαραγωγή των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου (Blay & Yuval, 1999; Charman et al., 1998) τα στοιχεία του παρόντος Κεφαλαίου παρέχουν αποδείξεις έντονης ωοτοκίας προκαλούμενης από τη σύζευξη, η οποία παράλληλα προκαλεί αύξηση στους ρυθμούς θνησιμότητας, πιθανότατα λόγω κατανομής των ενεργειακών πόρων στην ωοπαραγωγή. Η αρνητική επίδραση της σύζευξης στην επιβίωση των θηλυκών δεν αποδίδεται στην αύξηση της ωοπαραγωγής σε παλιότερες έρευνες (Charman et al., 1998). Παρόμοιο κόστος της σύζευξης σε θηλυκά *D. melanogaster* αποδόθηκε στις συνοδευτικές ουσίες του σπέρματος των αρσενικών (Charman et al., 1995). Το γεγονός ότι η κατακόρυφη αύξηση της ωοτοκίας ήταν ανεξάρτητη από την ηλικία και το ιστορικό ωοπαραγωγής των θηλυκών, στα πειράματα του παρόντος Κεφαλαίου, είναι εξαιρετικά ενδιαφέρον αλλά ο παράγοντας που την προκαλεί (π.χ. εξειδικευμένες ουσίες στο σπέρμα των αρσενικών) παραμένει

ανεξιχνίαστος. Η αύξηση της ωοπαραγωγής λόγω σύζευξης στο *D. melanogaster* προκαλείται από δύο πεπτίδια του σπερματικού υγρού των αρσενικών (Charman et al., 2003). Επιπλέον, μελέτες στο *D. pseudoobscura* απέδειξαν ότι οι πολλαπλές συζεύξεις, οι οποίες μπορεί να αυξάνουν την ποσότητα του σπέρματος που μεταφέρεται ή να παρέχουν διατροφικό πλεονέκτημα ενεργοποιούν υψηλότερους ρυθμούς ωοτοκίας (Turner & Anderson, 1983). Αντίστοιχα, οι πολλαπλές συζεύξεις αυξάνουν την ωοπαραγωγή σε πολλά είδη Tephritidae (Shelly, 2000a; Whittier & Shelly, 1993). Η αναζήτηση των παραγόντων που είναι υπεύθυνοι για τη διέγερση της ωοπαραγωγής μετά τη σύζευξη και το έμμεσο κόστος που αυτή επιφέρει στην επιβίωση της μύγας της Μεσογείου απαιτεί περισσότερη έρευνα σχετικά με τα ποιοτικά και ποσοτικά χαρακτηριστικά του σπέρματος και των συνοδών εκκριμάτων που μεταφέρονται, όπως επίσης και σχετικά με τη χημική τους σύσταση.

8.5.5 Η σύζευξη αυξάνει την επιβίωση των θηλυκών που στερούνται πρωτεΐνης

Μέσω της σύζευξης, εκτός από τη μεταφορά σπερματοζωαρίων, μεταφέρονται στο αναπαραγωγικό σύστημα του θηλυκού και αρκετά συστατικά που περιέχονται στα συνοδευτικά εκκρίματα του σπέρματος, τα οποία ενδέχεται να επηρεάζουν την ωοπαραγωγή και άλλες βιολογικές παραμέτρους του θηλυκού. Ωστόσο, η σύσταση του σπέρματος των αρσενικών μπορεί σε κάποιες περιπτώσεις να επιφέρει αρνητικές συνέπειες στην αρμοστικότητα των θηλυκών (Wigby & Charman, 2005). Ορισμένες πρωτεΐνες που περιέχονται στα συνοδά εκκρίματα βρέθηκε ότι μεταβάλλουν τη φυσιολογία και τη συμπεριφορά των θηλυκών του *D. melanogaster* καταστέλλοντας τη δεκτικότητα για σύζευξη, μειώνοντας τη διάρκεια ζωής και ελαττώνοντας τις επιτυχείς συζεύξεις. Συγκεκριμένα, ένα πεπτίδιο φύλου (sex peptide) στις πρωτεΐνες (*Acps*) του σπέρματος των αρσενικών αποδείχθηκε ότι ευθύνεται για την αύξηση της θνησιμότητας και κατά συνέπεια τη μείωση της αρμοστικότητας των θηλυκών του *D. melanogaster* (Charman et al., 1995; Wigby & Charman, 2005). Ωστόσο, η αρνητική αντίδραση των θηλυκών στο πεπτίδιο αυτό βρέθηκε ότι ποικίλλει σε διαφορετικά διατροφικά

περιβάλλοντα. Η θνησιμότητα των θηλυκών ήταν εντονότερη σε συνθήκες έλλειψης πρωτεΐνης ενώ τα θηλυκά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη έζησαν περισσότερο όταν συζεύχθηκαν (Fricke et al., 2010). Το εύρημα αυτό δείχνει ότι, σε γενικές γραμμές, η σύζευξη μπορεί να είναι επιζήμια κάτω από κάποιες συνθήκες και ευεργετική υπό κάποιες άλλες συνθήκες.

Προηγούμενη μελέτη στη μύγα της Μεσογείου, χρησιμοποιώντας μια εργαστηριακή φυλή, έδειξε ένα ξεκάθαρο κόστος της σύζευξης που εκφράστηκε με μείωση της διάρκειας ζωής (Charman et al., 1998). Επιπλέον, στην ίδια μελέτη, όταν τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν με μια φυλή άγριου τύπου δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές στην επιβίωση μεταξύ παρθένων και συζευγμένων θηλυκών (Charman et al., 1998). Τα αποτελέσματα του παρόντος Κεφαλαίου όχι μόνο έρχονται σε αντίθεση με το εύρημα αυτό, αλλά αποδεικνύουν ότι η σύζευξη επιφέρει πλεονέκτημα στα θηλυκά που στερούνται πρωτεΐνης. Προφανώς, η σύζευξη των θηλυκών που βρίσκονται σε χαμηλή διατροφική κατάσταση μπορεί να τους παρέχει κάποιο διατροφικό πλεονέκτημα μέσω των συνοδευτικών ουσιών του σπέρματος και να παρατείνει τη διάρκεια της ζωής τους. Η επίδραση της σύζευξης ήταν εντονότερη στα προχωρημένης ηλικίας – γηραιότερα θηλυκά. Το εύρημα αυτό βρίσκεται σε συμφωνία με την υπόθεση της εξάρτησης του κόστους σύζευξης από το διατροφικό περιβάλλον (nutritional environment dependence of mating costs hypothesis) (Fricke et al., 2010). Οι επιδράσεις της σύζευξης μπορεί να είναι ευεργετικές ή επιβλαβείς ανάλογα με πλήθος παραγόντων όπως η τροφή, η κατάσταση του οργανισμού, η ηλικία, η φυλή καθώς και οι αλληλεπιδράσεις τους.

Τέλος, όπως προαναφέρθηκε, ανάλογα με την κατάσταση του θηλυκού (διατροφή, ηλικία), η σύζευξη μπορεί να επιφέρει αύξηση ή μείωση στην επιβίωση. Ωστόσο, τόσο οι αρνητικές όσο και οι θετικές επιδράσεις της σύζευξης εκδηλώθηκαν μετά από μεγάλης διάρκειας χρονική καθυστέρηση και ήταν περισσότερο άμεσες όταν η σύζευξη πραγματοποιήθηκε σε προχωρημένη ηλικία. Η λανθάνουσα αυτή περίοδος έως την εκδήλωση του κόστους ή του πλεονεκτήματος της σύζευξης διήρκεσε 40 και 20 ημέρες μετά τη σύζευξη για τα νεαρά και για τα προχωρημένης ηλικίας θηλυκά, αντίστοιχα. Τα νεαρά θηλυκά φαίνεται ότι είναι περισσότερο εύρωστα και αργούν να αντιδράσουν στις αρνητικές ή θετικές επιδράσεις της σύζευξης. Από την άλλη

πλευρά, τα αδύναμα, προχωρημένης ηλικίας θηλυκά αντιδρούν άμεσα και έντονα στα πλεονεκτήματα που προκύπτουν από τη σύζευξη. Όσον αφορά στα θηλυκά υψηλής διατροφικής κατάστασης, ενδέχεται να πραγματοποιείται συσσώρευση έμμεσων αρνητικών επιδράσεων της σύζευξης, λόγω αύξησης της ωοπαραγωγής, που γίνεται αντιληπτή σε προχωρημένες ηλικίες.

Συνοψίζοντας, τα στοιχεία του παρόντος κεφαλαίου έδειξαν ότι οι επιδράσεις της σύζευξης σε ζωτικές βιολογικές παραμέτρους των θηλυκών όπως η επιβίωση και η ωοπαραγωγή μπορεί να κυμαίνονται από ευεργετικές έως επιβλαβείς ανάλογα με την κατάσταση του θηλυκού (διατροφικό επίπεδο και ηλικία σύζευξης). Η δυναμική αυτή σχέση μεταξύ της σύζευξης και χαρακτηριστικών της αρμοστικότητας των θηλυκών προκαλεί αρκετά ερωτηματικά που χρειάζεται να διερευνηθούν σε μελλοντικές μελέτες.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 9

9 ΑΝΑΚΕΦΑΛΑΙΩΣΗ, ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ, ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ ΤΩΝ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ, ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ

Στην παρούσα διατριβή διερευνήθηκε η επίδραση της ηλικίας και της τροφής στη δραστηριότητα των ενθλιπών της μύγας της Μεσογείου καθώς και σε κάποιες από τις σημαντικότερες συμπεριφορές του εντόμου όπως το σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών, η συμπεριφορά σύζευξης αρσενικών και θηλυκών και η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς. Επιπλέον, μελετήθηκε η επίδραση των δύο παραπάνω παραγόντων καθώς και η αλληλεπίδρασή τους με τη σύζευξη στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενθλιπών. Πρόσθετες μετρήσεις των χαρακτηριστικών της σύζευξης (διάρκεια και χρόνος έως την έναρξη της σύζευξης) καθώς και του αριθμού των σπερματοζωαρίων που μεταφέρονται κατά τη σύζευξη πραγματοποιήθηκαν με σκοπό την αρτιότερη ερμηνεία των αποτελεσμάτων και την κατανόηση των μηχανισμών που λαμβάνουν μέρος κατά τη σύζευξη. Έτσι, προσδιορίστηκε η ανταγωνιστικότητα των αρσενικών για σύζευξη και η ικανότητά τους για παραγωγή απογόνων σε σχέση με την ηλικία. Τέλος, αξιολογήθηκε το πιθανό κόστος της σύζευξης στην αρμοστικότητα (επιβίωση και ωοπαραγωγή) των θηλυκών σε ένα φτωχό και ένα πλούσιο διατροφικό περιβάλλον και σε σχέση με την ηλικία.

Στο Κεφάλαιο 3 χαρτογραφείται, σε σχέση με την ηλικία, η συνολική δραστηριότητα και αδράνεια, καθώς και οι συμπεριφορές βάδισης και ανάπαυσης, αρσενικών και θηλυκών που τρέφονται σε δύο είδη τροφής, ενώ στο Κεφάλαιο 4 παρουσιάζεται η επίδραση της τροφής και της ηλικίας στο σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών. Όπως προκύπτει, τα αρσενικά εκδήλωσαν συχνότερα συμπεριφορές δραστηριότητας όταν είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη. Ωστόσο, τα αρσενικά που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη εκδήλωσαν συχνότερη συμπεριφορά βάδισης. Η διαφορά στη δραστηριότητα των αρσενικών σε σχέση με την τροφή οφείλεται στην εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος που παρατηρήθηκε σημαντικά συχνότερα σε πλούσιο διατροφικό περιβάλλον. Αντίθετα, τα θηλυκά ήταν περισσότερο

δραστήρια και βάδιζαν συχνότερα όταν τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Διαφορές στα δύο φύλα παρατηρήθηκαν και στα δύο είδη τροφής με τα αρσενικά να είναι πάντα πιο δραστήρια. Η ηλικία είναι άλλος ένας σημαντικός παράγοντας που επέδρασε στη συχνότητα εκδήλωσης της δραστηριότητας και των επιμέρους βασικών συμπεριφορών του εντόμου. Η αλληλεπίδρασή της με το φύλο και την τροφή κατέδειξε τη διαφορετική συμπεριφορική ανταπόκριση αρσενικών και θηλυκών σε κάθε συνθήκη (τροφή) με την πάροδο του χρόνου. Η επιβίωση των ενηλίκων που είχαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή ήταν υψηλότερη, ανεξάρτητα από το φύλο και την ένταση της δραστηριότητας, γεγονός που καταδεικνύει ότι η εκδήλωση συμπεριφορών δραστηριότητας δεν επιφέρει κόστος στην επιβίωση σε ένα πλούσιο διατροφικό περιβάλλον. Τα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη εμφάνισαν, επιπλέον, θετική συσχέτιση της εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος με τη μακροβιότητα, χωρίς ωστόσο να παρατηρείται ανάλογη σχέση στα αρσενικά που δεν είχαν πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή. Συνεπώς, φαίνεται ότι η συνθήκη (τροφή) καθορίζει τη σχέση της μακροβιότητας και του σεξουαλικού καλέσματος και πιθανώς το σχετικό κόστος που συνδέεται με τη συγκεκριμένη συμπεριφορά. Τα αποτελέσματα επιβεβαιώνουν, επιπλέον, τη χρησιμότητα του σεξουαλικού καλέσματος ως δείκτη μακροβιότητας σε βέλτιστες συνθήκες διατροφής.

Στο Κεφάλαιο 5 η εκδήλωση ύπτιας συμπεριφοράς χρησιμοποιήθηκε ως δείκτης έναρξης της μη υγιούς περιόδου του ατόμου και μελετήθηκε η σχέση της με τη μακροβιότητα. Τα ενήλικα που έζησαν περισσότερο ήταν πιθανότερο να εκδηλώσουν ύπτια συμπεριφορά ενώ τα άτομα που χαρακτηρίστηκαν από μικρότερη επιβίωση πέθαναν χωρίς να εκδηλώσουν τη συμπεριφορά αυτή. Παρά το γεγονός ότι δεν παρατηρήθηκαν διαφορές στην επιβίωση μεταξύ των δύο φύλων, τα αρσενικά εμφάνισαν μεγαλύτερη διάρκεια υγιούς ζωής. Παρά τις μεγάλες διαφορές στην επιβίωση ανάμεσα στα ενήλικα που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη και σε αυτά που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη, η διάρκεια της μη υγιούς περιόδου δε διέφερε σημαντικά. Η σταθερή αναλογία της διάρκειας της μη υγιούς περιόδου ως μέρους της συνολικής επιβίωσης, ανεξάρτητα από την τροφή, συμφωνεί με το «μοντέλο δυναμικής ισορροπίας» της υγιούς γήρανσης.

Οι πιθανές επιδράσεις της μεταβολής της συνθήκης (τροφής), κατά την έναρξη της σεξουαλικής ωρίμανσης, στην επιβίωση και σε δύο σημαντικές

συμπεριφορές, όπως το σεξουαλικό κάλεσμα και η ύππια συμπεριφορά των αρσενικών, μελετήθηκαν στο Κεφάλαιο 6. Η αρμοστικότητα των αρσενικών (επιβίωση, σεξουαλικό κάλεσμα) επηρεάστηκε σημαντικά από την εναλλαγή της τροφής. Ο διατροφικός περιορισμός, σε αντίθεση με προηγούμενες μελέτες, δε φαίνεται να παρατείνει την επιβίωση στα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου όταν εφαρμόζεται ως στέρηση της πρωτεΐνης από τη διατροφή, στην αρχή της σεξουαλικής ωρίμανσης. Συγκεκριμένα, ο διατροφικός περιορισμός στο στάδιο της σεξουαλικής ωρίμανσης μείωσε σημαντικά την επιβίωση των αρσενικών σε επίπεδα παραπλήσια με εκείνα αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη. Η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης μετά την σεξουαλική ωρίμανση αύξησε την επιβίωσή τους σε επίπεδα παραπλήσια με εκείνα αρσενικών που είχαν συνεχώς πρόσβαση σε πρωτεϊνούχο τροφή. Η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη αύξησε άμεσα την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος στα επίπεδα των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη ενώ η εναλλαγή της τροφής από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη μείωσε προοδευτικά την εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος σε επίπεδα ελαφρώς υψηλότερα από ότι των αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς μόνο με ζάχαρη. Η εκδήλωση σεξουαλικού καλέσματος ήταν σημαντικά υψηλότερη στα μακρόβια αρσενικά όταν η εναλλαγή της τροφής πραγματοποιήθηκε από ζάχαρη σε ζάχαρη και πρωτεΐνη όχι όμως όταν πραγματοποιήθηκε από ζάχαρη και πρωτεΐνη σε ζάχαρη. Η ύππια συμπεριφορά ήταν συχνότερη και εκδηλώθηκε για μεγαλύτερη περίοδο και από μεγαλύτερο ποσοστό αρσενικών που τρέφονταν συνεχώς με ζάχαρη και πρωτεΐνη και εντάθηκε σε προχωρημένες ηλικίες σε όλα τα διατροφικά πρωτόκολλα. Συνεπώς, η διαθεσιμότητα τροφής υψηλής διατροφικής αξίας πριν τη σεξουαλική ωρίμανση φαίνεται να ευνοεί τη σεξουαλική ανταγωνιστικότητα. Από την άλλη μεριά, η διαθεσιμότητα πλούσιου διατροφικού περιβάλλοντος μετά τη σεξουαλική ωρίμανση εκδηλώνεται τόσο με άμεση αύξηση του σεξουαλικού καλέσματος όσο και της επιβίωσης.

Η επίδραση της ηλικίας στην ικανότητα και την ανταγωνιστικότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου μελετήθηκε στο Κεφάλαιο 7. Γηραιότερα αρσενικά γίνονταν αποδεκτά για σύζευξη από τα θηλυκά ελλείψει ανταγωνισμού με νεαρά αρσενικά και μετέφεραν παραπλήσιες

ποσότητες σπερματοζωαρίων. Επομένως, τα μεγάλης ηλικίας αρσενικά είναι ικανά να εκδηλώσουν ολόκληρο το τελετουργικό της σεξουαλικής συμπεριφοράς. Ωστόσο, συμμετείχαν σε μικρότερης διάρκειας συζεύξεις και η αποδοχή από τα θηλυκά για σύζευξη πραγματοποιήθηκε με χρονική καθυστέρηση. Σε συνθήκες ανταγωνισμού η πιθανότητα σύζευξης των αρσενικών προχωρημένης ηλικίας μειώθηκε κατακόρυφα, καταδεικνύοντας ότι η γήρανση προκαλεί δραματική μείωση στη σεξουαλική ανταγωνιστικότητα των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου.

Τέλος, στο Κεφάλαιο 8, διερευνήθηκε η επίδραση συνθηκών όπως η τροφή και η ηλικία σύζευξης σε χαρακτηριστικά της αρμοστικότητας των θηλυκών. Η σύζευξη ενεργοποίησε την ωοπαραγωγή και μείωσε την επιβίωση των θηλυκών που είχαν πρόσβαση σε πρωτεΐνη αλλά αύξησε τη μακροβιότητα των θηλυκών που τρέφονταν μόνο με ζάχαρη. Οι θετικές ή αρνητικές επιπτώσεις της σύζευξης στη θνησιμότητα των θηλυκών εκφράστηκαν με μεγάλη χρονική καθυστέρηση. Επίσης, τα μεγάλης ηλικίας θηλυκά ήταν περισσότερο δεκτικά και λιγότερο επιλεκτικά στην αποδοχή σεξουαλικού συντρόφου, σε σχέση με τα νεαρά θηλυκά, ανεξάρτητα από την τροφή. Φαίνεται ότι η συνθήκη (τροφή και ηλικία) καθορίζει την έκβαση της σύζευξης στην αρμοστικότητα των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου.

Στα γενικότερα συμπεράσματα της παρούσας διατριβής συμπεριλαμβάνονται τα εξής: α) Η συνθήκη φαίνεται ότι παίζει σημαντικό ρόλο στην έκφραση των βιολογικών παραμέτρων και στη συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου. Απλοί χειρισμοί βασικών συνθηκών όπως το διατροφικό περιβάλλον, η δυνατότητα και η ηλικία σύζευξης επιδρούν στα κυριότερα βιολογικά χαρακτηριστικά και στη συμπεριφορά του συγκεκριμένου οργανισμού μοντέλου. β) Τόσο το είδος της τροφής όσο και η ηλικία σύζευξης καθώς και συνδυασμοί των συνθηκών αυτών μπορούν να μεταβάλλουν με διαφορετικό τρόπο την επιβίωση, τη σεξουαλική – αναπαραγωγική συμπεριφορά και την παραγωγή απογόνων. Για παράδειγμα, το κόστος αναπαραγωγής όταν εκτιμάται είτε μέσω της συχνότητας εκδήλωσης σεξουαλικού καλέσματος στα αρσενικά είτε μέσω του δυναμικού ωοπαραγωγής στα θηλυκά μπορεί να είναι αμελητέο ή υψηλό ανάλογα με τη συνθήκη (διατροφικό επίπεδο, ηλικία σύζευξης). γ) Η εκδήλωση συμπεριφορών – βιοδεικτών γήρανσης όπως το σεξουαλικό κάλεσμα και η

ύπτια συμπεριφορά ενδέχεται να μεταβάλλεται ανάλογα με τη συνθήκη, συμβάλλοντας στην εξαγωγή συμπερασμάτων για τη συμπίεση της νοσηρής περιόδου και άλλους μηχανισμούς που διέπουν τη γήρανση.

Πέρα από τη θεωρητική τους σημασία, τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής έχουν και σημαντικές πρακτικές εφαρμογές, αφού μπορούν να χρησιμοποιηθούν στην αξιολόγηση της αποτελεσματικότητας προγραμμάτων εξαπόλυσης στερωμένων εντόμων που έχουν ως σκοπό την αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου. Σήμερα είναι γνωστό ότι η ηλικιακή σύνθεση των άγριων πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου μεταβάλλεται κατά τη διάρκεια της καλλιεργητικής περιόδου και ότι, ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες και τη διαθεσιμότητα ξενιστών, τα άγρια ενήλικα μπορεί να επιβιώνουν έως και προχωρημένες ηλικίες (Carey et al., 2012a; Carey et al., 2008). Επίσης, τα ευρήματα της παρούσας διατριβής δείχνουν ότι η ανταγωνιστικότητα σύζευξης των αρσενικών μειώνεται σε σχέση με την ηλικία, παρά το γεγονός ότι η εκδήλωση του σεξουαλικού καλέσματος δε φαίνεται να επηρεάζεται σημαντικά. Επομένως, οι άγριοι πληθυσμοί της μύγας της Μεσογείου ενδέχεται ανάλογα με την ηλικιακή σύνθεση να χαρακτηρίζονται, εποχιακά, από μειωμένη σεξουαλική ανταγωνιστικότητα. Τα αρσενικά που χρησιμοποιούνται στη μέθοδο εξαπόλυσης στερωμένων εντόμων (SIT) είναι λιγότερο ανταγωνιστικά στην επίτευξη συζεύξεων με άγρια θηλυκά (Pérez-Staples et al., 2013), γεγονός που μπορεί να οφείλεται στις συνθήκες μαζικής εκτροφής (Shelly et al., 2005) και στη στείρωση με χρήση ακτινοβολίας (Calcagno et al., 2002; Lux et al., 2002). Ακόμα, τα άγρια θηλυκά που συζευγνύονται με στείρα αρσενικά εμφανίζουν μεγαλύτερη πιθανότητα επανασύζευξης (Vera et al., 2003). Η επιτυχία σύζευξης των μαζικά εκτρεφόμενων αρσενικών σε σχέση με την ηλικία τους και η αλληλεπίδραση της ηλικίας με τη στείρωση δεν έχουν μελετηθεί μέχρι στιγμής. Επίσης, δεν είναι γνωστή η ηλικιακή σύνθεση των στερωμένων εντόμων, μετά από επαναλαμβανόμενες εξαπολύσεις, στον αγρό. Η επιτυχία σύζευξης σε σχέση με την ηλικία και τον ανταγωνισμό με άγρια αρσενικά, καθώς και η επιβίωση και η κατανομή ηλικιών των εξαπολυόμενων εντόμων στον αγρό θα πρέπει να εκτιμηθούν. Συνεπώς, η αποτελεσματικότητα της μεθόδου εξαπόλυσης στερωμένων εντόμων θα πρέπει να επαναξιολογηθεί χρησιμοποιώντας μοντέλα που λαμβάνουν υπόψη τα παραπάνω.

Παρά την εκτεταμένη μελέτη της συμπεριφοράς της μύγας της Μεσογείου, αρκετά ερωτηματικά που αφορούν τόσο στο σύνολο της δραστηριότητας των ενηλίκων όσο και στη σεξουαλική συμπεριφορά παραμένουν αναπάντητα. Η ανάπτυξη του εύρους των υπό διερεύνηση συνθηκών όπως είναι το οσμογόνο και οπτικό περιβάλλον, η ύπαρξη ξενιστών, η αλληλεπίδραση με άτομα του ίδιου φύλου, ο συνωστισμός και η προσομοίωση φυσικών συνθηκών για τη μελέτη της επίδρασής τους σε επιπρόσθετα χαρακτηριστικά του εντόμου όπως η συμπεριφορά ερωτοτροπίας, η επανασύζευξη στα θηλυκά, το χημικό προφίλ των ενηλίκων, η σύνθεση φερομόνης των αρσενικών, η βιωσιμότητα των απογόνων κ.λπ., θα παρείχαν πλήθος σημαντικών πληροφοριών σχετικά με την πλαστικότητα της συμπεριφοράς και της βιολογίας του συγκεκριμένου οργανισμού μοντέλου. Ακόμα, η μελέτη των καθημερινών συμπεριφορών δραστηριότητας σε περισσότερα πρωτόκολλα διατροφικού περιορισμού, από αυτά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα μελέτη, πιθανά να έδινε ενδιαφέροντα στοιχεία για τη θεωρία της λειτουργικής γήρανσης. Επιπλέον, η διερεύνηση των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την εκδήλωση των βασικών συμπεριφορών του εντόμου καθώς και συμπεριφορών που αποτελούν χρήσιμα εργαλεία τόσο στη μελέτη της γήρανσης όσο και στη μελέτη της σεξουαλικής συμπεριφοράς και του κόστους αναπαραγωγής του συγκεκριμένου οργανισμού μοντέλου θα παρείχαν χρήσιμες πληροφορίες για την εξήγηση του φαινομένου της γήρανσης.

ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ

Κεφάλαιο 3.: Στοιχεία της στατιστικής επεξεργασίας των δεδομένων που δίνονται στο Διάγραμμα 3.3.

Διάγραμμα 3.3 Α: $t_{0-10} = 2,48$, $df = 198$, $P < 0,05$, $t_{10-20} = 4,725$, $df = 195$, $P < 0,001$, $t_{20-30} = 7,849$, $df = 193$, $P < 0,001$, $t_{30-40} = 8,217$, $df = 173$, $P < 0,001$, $t_{40-50} = 7,841$, $df = 149$, $P < 0,001$, $t_{50-60} = 5,763$, $df = 137$, $P < 0,001$, $t_{60-70} = 4,116$, $df = 117$, $P < 0,001$, $t_{70-80} = 5,655$, $df = 95$, $P < 0,001$, $t_{80-90} = 4,725$, $df = 74$, $P < 0,001$, $t_{90-100} = 3,155$, $df = 54$, $P < 0,05$, $t_{100-110} = 2,303$, $df = 44$, $P < 0,05$, $t_{110-120} = 1,299$, $df = 38$, $P = 0,202$.

Διάγραμμα 3.3 Β: $t_{0-10} = 1,667$, $df = 198$, $P = 0,097$, $t_{10-20} = -1,453$, $df = 196$, $P = 0,148$, $t_{20-30} = -3,174$, $df = 188$, $P < 0,05$, $t_{30-40} = -2,160$, $df = 172$, $P < 0,05$, $t_{40-50} = -2,881$, $df = 148$, $P < 0,05$, $t_{50-60} = -2,977$, $df = 130$, $P < 0,05$, $t_{60-70} = -2,124$, $df = 112$, $P < 0,05$, $t_{70-80} = -1,103$, $df = 92$, $P = 0,273$, $t_{80-90} = -1,474$, $df = 78$, $P = 0,085$, $t_{90-100} = -1,888$, $df = 64$, $P = 0,064$, $t_{100-110} = -0,592$, $df = 47$, $P = 0,556$, $t_{110-120} = -0,577$, $df = 34$, $P = 0,568$, $t_{120-130} = 0,058$, $df = 27$, $P = 0,954$, $t_{130-140} = 1,877$, $df = 23$, $P = 0,073$, $t_{140-150} = 1,080$, $df = 13$, $P = 0,300$, $t_{150-160} = 0,568$, $df = 8$, $P = 0,586$, $t_{160-170} = 1,156$, $df = 6$, $P = 0,293$.

Κεφάλαιο 4.: Στοιχεία της στατιστικής επεξεργασίας των δεδομένων που δίνονται στα Διαγράμματα 4.2 και 4.6.

Διάγραμμα 4.2: $t_{0-10} = 3,083$, $df = 195$, $P < 0,05$, $t_{10-20} = 5,636$, $df = 181$, $P < 0,001$, $t_{20-30} = 9,357$, $df = 181$, $P < 0,001$, $t_{30-40} = 10,044$, $df = 160$, $P < 0,001$, $t_{40-50} = 9,148$, $df = 140$, $P < 0,001$, $t_{50-60} = 6,699$, $df = 137$, $P < 0,001$, $t_{60-70} = 5,047$, $df = 115$, $P < 0,001$, $t_{70-80} = 6,982$, $df = 89$, $P < 0,001$, $t_{80-90} = 6,344$, $df = 74$, $P < 0,001$, $t_{90-100} = 5,323$, $df = 39$, $P < 0,001$, $t_{100-110} = 6,614$, $df = 41$, $P < 0,001$, $t_{110-120} = 5,361$, $df = 34$, $P < 0,001$.

Διάγραμμα 4.6 A: $t_{0-10} = 0,484$, $df = 48$, $P > 0,05$, $t_{10-20} = 0,286$, $df = 44$, $P > 0,05$, $t_{20-30} = 1,274$, $df = 44$, $P > 0,05$, $t_{30-40} = 1,491$, $df = 37$, $P > 0,05$, $t_{40-50} = 3,239$, $df = 31$, $P < 0,05$, $t_{50-60} = 5,726$, $df = 28$, $P < 0,001$.

Διάγραμμα 4.6 B: $t_{0-10} = 0,045$, $df = 48$, $P > 0,05$, $t_{10-20} = -0,341$, $df = 47$, $P > 0,05$, $t_{20-30} = 0,041$, $df = 44$, $P > 0,05$.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Aceves-Pina EO & Quinn WG (1979) Learning in normal and mutant *Drosophila* larvae. *Science* 206: 93-96. doi:10.1126/science.206.4414.93.
- Aluja M, Diaz-Fleischer F, Papaj DR, Lagunes G & Sivinski J (2001a) Effects of age, diet, female density, and the host resource on egg load in *Anastrepha ludens* and *Anastrepha obliqua* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Physiology* 47: 975-988.
- Aluja M, Jacome I & Macias-Ordóñez R (2001b) Effect of adult nutrition on male sexual performance in four neotropical fruit fly species of the genus *Anastrepha* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior* 14: 759-775.
- Aluja M & Norrbom AL (2000) Fruit flies (Tephritidae): Phylogeny and evolution of behavior. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A.
- Aluja M, Rull J, Sivinski J, Trujillo G & Perez-Staples D (2009) Male and female condition influence mating performance and sexual receptivity in two tropical fruit flies (Diptera: Tephritidae) with contrasting life histories. *Journal of Insect Physiology* 55: 1091-1098. doi:DOI 10.1016/j.jinsphys.2009.07.012.
- Anjos-Duarte CS, Costa AM & Joachim-Bravo IS (2011) Influence of female age on variation of mate choice behavior in Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior* 24: 11-21. doi:DOI 10.1007/s10905-010-9232-x.
- Arita LH & Kaneshiro KY (1985) The dynamics of the lek system and mating success in males of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Wiedemann). *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society* 25: 39-48.
- Arita LH & Kaneshiro KY (1986) Structure and function of the rectal epithelium and anal glands during mating behavior in the Mediterranean fruit fly male. *Proceedings of the Hawaiian Entomological Society* 26: 27-30.
- Avent TD, Price TAR & Wedell N (2008) Age-based female preference in the fruit fly *Drosophila pseudoobscura*. *Animal Behaviour* 75: 1413-1421.
- Bacon SJ, Bacher S & Aebi A (2012) Gaps in border controls are related to quarantine alien insect invasions in Europe. *Plos One* 7: e47689. doi:10.1371/journal.pone.0047689.
- Beck CW & Powell LA (2000) Evolution of female mate choice based on male age: Are older males better mates? *Evolutionary Ecology Research* 2: 107-118.

- Blay S & Yuval B (1997) Nutritional correlates of reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Animal Behaviour* 54: 59-66.
- Blay S & Yuval B (1999) Oviposition and fertility in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): Effects of male and female body size and the availability of sperm. *Annals of the Entomological Society of America* 92: 278-284.
- Blomquist GE (2009) Trade-off between age of first reproduction and survival in a female primate. *Biology Letters* 5: 339-342. doi:DOI 10.1098/rsbl.2009.0009.
- Boggs CL (2009) Understanding insect life histories and senescence through a resource allocation lens. *Functional Ecology* 23: 27-37. doi:10.1111/j.1365-2435.2009.01527.x.
- Boller EF (1985) *Rhagoletis cerasi* and *Ceratitis capitata*, Vol. 2: Handbook of Insect Rearing (ed. by P Sing & RF Moore) Elsevier, Amsterdam, the Netherlands, pp. 135-144.
- Boonstra R, McColl CJ & Karels TJ (2001) Reproduction at all costs: The adaptive stress response of male arctic ground squirrels. *Ecology* 82: 1930-1946. doi:10.1890/0012-9658(2001)082[1930:raacta]2.0.co;2.
- Bourg ÉL & Minois N (2005) Does dietary restriction really increase longevity in *Drosophila melanogaster*? *Ageing research reviews* 4: 409-421. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.arr.2004.12.001>.
- Briceno D, Eberhard W, Vilardi J, Cayol JP & Shelly T (2007) Courtship behavior of different wild strains of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 90: 15-18.
- Briceno RD & Eberhard WG (2000) Male wing positions during courtship by mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*) (Diptera: Tephritidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 73: 143-147.
- Briceno RD & Eberhard WG (2002) Decisions during courtship by male and female medflies (Diptera: Tephritidae): Correlated changes in male behavior and female acceptance criteria in mass-reared flies. *Florida Entomologist* 85: 14-31.
- Briceno RD, Eberhard WG, Vilardi JC, Liedo P & Shelly TE (2002) Variation in the intermittent buzzing songs of male medflies (Diptera: Tephritidae) associated with geography, mass-rearing, and courtship success. *Florida Entomologist* 85: 32-40.
- Briceno RD, Ramos D & Eberhard WG (1996) Courtship behavior of male *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in captivity. *Florida Entomologist* 79: 130-143.

- Briceno RD, Ramos D & Eberhard WG (1999) Aggressive behavior in medflies (*Ceratitis capitata*) and its modification by mass rearing (Diptera: Tephritidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 72: 17-27.
- Brooks R & Kemp DJ (2001) Can older males deliver the good genes? *Trends in Ecology and Evolution* 16: 308-313.
- Bross TG, Rogina B & Helfand SL (2005) Behavioral, physical, and demographic changes in *Drosophila* populations through dietary restriction. *Aging Cell* 4: 309-317. doi:10.1111/j.1474-9726.2005.00181.x.
- Burger JMS, Hwangbo DS, Corby-Harris V & Promislow DEL (2007) The functional costs and benefits of dietary restriction in *Drosophila*. *Aging Cell* 6: 63-71.
- Calcagno GE, Manso F & Vilardi JC (2002) Comparison of mating performance of medfly (Diptera: Tephritidae) genetic sexing and wild type strains: Field cage and video recording experiments. *Florida Entomologist* 85: 41-50.
- Calcagno GE, Vera MT, Manso F, Lux SA, Norry FM, Munyiri FN & Vilardi JC (1999) Courtship behavior of wild and mass-reared Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) males from Argentina. *Journal of Economic Entomology* 92: 373-379.
- Cangussu JA & Zucoloto FS (1995) Self-selection and perception threshold in adult females of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Physiology* 41: 223-227.
- Cangussu JA & Zucoloto FS (1996) Effect of protein sources on fecundity, food acceptance, and sexual choice by *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Revista Brasileira de Biologia* 57: 611-618.
- Carey JR (1984) Host specific demographic studies of the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*. *Ecological Entomology* 9: 261-270.
- Carey JR (1997) What demographers can learn from fruit fly actuarial models and biology. *Demography* 34: 17-30.
- Carey JR (2001) Insect biodemography. *Annual Review of Entomology* 46: 79-110.
- Carey JR (2003) Longevity. The biology and demography of life span. Princeton University Press, Princeton, N.J.
- Carey JR, Krainacker DA & Vargas RI (1986) Life-history response of female Mediterranean fruit flies, *Ceratitis capitata*, to periods of host deprivation. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 42: 159-167.

- Carey JR & Liedo P (1995) Sex mortality differentials and selective survival in large medfly cohorts - Implications for human sex mortality differentials. *Gerontologist* 35: 588-596.
- Carey JR, Liedo P, Harshman L, Liu X, Muller HG, Partridge L & Wang JL (2002a) Food pulses increase longevity and induce cyclical egg production in Mediterranean fruit flies. *Functional Ecology* 16: 313-325.
- Carey JR, Liedo P, Harshman L, Zhang Y, Muller HG, Partridge L & Wang JL (2002b) Life history response of Mediterranean fruit flies to dietary restriction. *Aging Cell* 1: 140-148.
- Carey JR, Liedo P, Müller H-G, Wang J-L & Vaupel JW (1998a) A simple graphical technique for displaying individual fertility data and cohort survival: case study of 1000 Mediterranean fruit fly females. *Functional Ecology* 12: 359-363.
- Carey JR, Liedo P, Müller H-G, Wang J-L, Yang W & Molleman F (2009) Leg impairments elicit graded and sex-specific demographic responses in the tephritid fruit fly *Anastrepha ludens*. *Experimental Gerontology* 44: 541-545. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2009.05.006>.
- Carey JR, Liedo P, Muller HG, Wang JL & Chiou JM (1999) Mortality oscillations induced by periodic starvation alter sex-mortality differentials in Mediterranean fruit flies. *Journals of Gerontology Series a-Biological Sciences and Medical Sciences* 54: B424-B431.
- Carey JR, Liedo P, Muller HG, Wang JL & Vaupel JW (1998b) Dual modes of aging in Mediterranean fruit fly females. *Science* 281: 996-998.
- Carey JR & Molleman F (2010) Reproductive aging in tephritid fruit flies. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1204: 139-148. doi:10.1111/j.1749-6632.2010.05530.x.
- Carey JR, Muller HG, Wang JL, Papadopoulos NT, Diamantidis A & Koulousis NA (2012a) Graphical and demographic synopsis of the captive cohort method for estimating population age structure in the wild. *Experimental Gerontology* 47: 787-791. doi:DOI 10.1016/j.exger.2012.06.012.
- Carey JR & Papadopoulos N (2005) The medfly as a frailty model: implications for biodemographic research: Longevity and frailty (ed. by J Carey, J-M Robine, J-P Michel & Y Christen) Springer-Verlag, Berlin, pp. 1 - 15.
- Carey JR, Papadopoulos N, Kouloussis N, Katsoyannos B, Muller H-G, Wang J-L & Tseng Y-K (2006) Age-specific and lifetime behavior patterns in *Drosophila melanogaster* and the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *Experimental Gerontology* 41: 93-97.
- Carey JR, Papadopoulos NT, Muller HG, Katsoyannos BI, Kouloussis NA, Wang JL, Wachter K, Yu W & Liedo P (2008) Age structure changes

- and extraordinary lifespan in wild medfly populations. *Aging Cell* 7: 426-437.
- Carey JR, Papadopoulos NT, Papanastasiou S, Diamantidis A & Nakas CT (2012b) Estimating changes in mean population age using the death distributions of live-captured medflies. *Ecological Entomology* 37: 359-369. doi:10.1111/j.1365-2311.2012.01372.x.
- Chapman T, Bangham J, Vinti G, Seifried B, Lung O, Wolfner MF, Smith HK & Partridge L (2003) The sex peptide of *Drosophila melanogaster*: Female post-mating responses analyzed by using RNA interference. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 100: 9923-9928. doi:10.1073/pnas.1631635100.
- Chapman T, Liddle LF, Kalb JM, Wolfner MF & Partridge L (1995) Cost of mating in *Drosophila melanogaster* females is mediated by male accessory-gland products. *Nature* 373: 241-244.
- Chapman T, Miyatake T, Smith HK & Partridge L (1998) Interactions of mating, egg production and death rates in females of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 265: 1879-1894.
- Chapman T, Neubaum DM, Wolfner MF & Partridge L (2000) The role of male accessory gland protein Acp36DE in sperm competition in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences Series B* 267: 1097-1105.
- Chapman T & Partridge L (1996) Female fitness in *Drosophila melanogaster*: an interaction between the effect of nutrition and of encounter rate with males. *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences Series B* 263: 755-759.
- Charlesworth B (2000) Fisher, Medawar, Hamilton and the evolution of aging. *Genetics* 156: 927-931.
- Charlesworth B (2001) Patterns of age-specific means and genetic variances of mortality rates predicted by the mutation-accumulation theory of ageing. *Journal of Theoretical Biology* 210: 47-65.
- Christenson LD & Foote RH (1960) Biology of fruit flies. *Annual Review of Entomology* 5: 171-192.
- Collett D (2003) Modeling survival data in medical research. 2nd edn. CRC.
- Comfort A (1964) Ageing: The biology of senescence. Routledge & Kegan Paul Ltd. Eev. ed., London.
- Cordts R & Partridge L (1996) Courtship reduces longevity of male *Drosophila melanogaster*. *Animal Behaviour* 52: 269-278.

- Creighton JC, Heflin ND & Belk MC (2009) Cost of reproduction, resource quality, and terminal investment in a burying beetle. *American Naturalist* 174: 673-684. doi:10.1086/605963.
- Crimmins E, Hayward M, Hagedorn A, Saito Y & Brouard N (2009) Change in disability-free life expectancy for Americans 70 years old and older. *Demography* 46: 627-646. doi:10.1353/dem.0.0070.
- Crimmins EM & Beltrán-Sánchez H (2011) Mortality and morbidity trends: Is there compression of morbidity? *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences* 66B: 75-86. doi:10.1093/geronb/gbq088.
- Cumming JM (1994) Sexual selection and the evolution of dance fly mating systems (Diptera: Empididae; Empidinae). *The Canadian Entomologist* 126: 907-920. doi:doi:10.4039/Ent126921-3.
- Davies S, Kattel R, Bhatia B, Petherwick A & Chapman T (2005) The effect of diet, sex and mating status on longevity in Mediterranean fruit flies (*Ceratitidis capitata*), Diptera: Tephritidae. *Experimental Gerontology* 40: 784-792.
- Davis RL (2005) Olfactory memory formation in *Drosophila*: From molecular to systems neuroscience. *Annual Review of Neuroscience* 28: 275-302. doi:doi:10.1146/annurev.neuro.28.061604.135651.
- De Loof A (2011) Longevity and aging in insects: Is reproduction costly; cheap; beneficial or irrelevant? A critical evaluation of the “trade-off” concept. *Journal of Insect Physiology* 57: 1-11. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2010.08.018>.
- Delisle J (1995) Effect of male and female age on the mating success of the obliquebanded leafroller *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) under different ecological conditions. *Journal of Insect Behavior* 8: 781-799.
- den Hollander M & Gwynne DT (2009) Female fitness consequences of male harassment and copulation in seed beetles, *Callosobruchus maculatus*. *Animal Behaviour* 78: 1061-1070. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.06.036>.
- Diamantidis AD, Carey JR, Nakas CT & Papadopoulos NT (2011a) Ancestral populations perform better in a novel environment: domestication of Mediterranean fruit fly populations from five global regions. *Biological Journal of the Linnean Society* 102: 334-345. doi:DOI 10.1111/j.1095-8312.2010.01579.x.
- Diamantidis AD, Carey JR, Nakas CT & Papadopoulos NT (2011b) Population-specific demography and invasion potential in medfly. *Ecology and Evolution* 1: 479-488. doi:10.1002/ece3.33.

- Diamantidis AD, Papadopoulos NT & Carey JR (2008) Medfly populations differ in diel and age patterns of sexual signalling. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 128: 389-397.
- Diamantidis AD, Papadopoulos NT, Nakas CT, Wu S, Muller HG & Carey JR (2009) Life history evolution in a globally invading tephritid: patterns of survival and reproduction in medflies from six world regions. *Biological Journal of the Linnean Society* 97: 106-117. doi:DOI 10.1111/j.1095-8312.2009.01178.x.
- Diaz-Fleischer F, Papaj DR, Prokopy RJ, Norrbom AL & Aluja M (2000) Evolution of fruit fly oviposition behavior: Fruit flies (Tephritidae): Phylogeny and evolution of behavior (ed. by M Aluja & AL Norrbom) CRC Press, New York, pp. 812-841.
- Dukas R (2008) Evolutionary biology of insect learning. *Annual Review of Entomology* 53: 145-160. doi:doi:10.1146/annurev.ento.53.103106.093343.
- Dyck VA, Hendrichs J & Robinson AS (2005) *Sterile Insect Technique Principles and Practice in Area-Wide Integrated Pest Management*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.
- Eberhard W (2000) Sexual behavior and sexual selection in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Dacinae: Ceratitidini). *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior* (ed. by M Aluja & A Norrbom) CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp. 457-489.
- Eberhard WG & Pereira F (1993) Functions of the male genitalis surstyli in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 66: 427-433.
- EPPO (2013) PQR - EPPO database on quarantine pests (available online): <http://www.eppo.int> (ed.
- Epsky ND & Heath RR (1993) Food availability and pheromone production by males of *Anastrepha suspensa* (Diptera: Tephritidae). *Environmental Entomology* 22: 942-947.
- Epsky ND, Heath RR, Uchida G, Guzman A, Rizzo J, Vargas R & Jeronimo F (1996) Capture of mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) using color inserts in trimedlure-baited Jackson traps. *Environmental Entomology* 25: 256-260.
- Epsky ND, Hendrichs J, Katsoyannos BI, Vasquez LA, Ros JP, Zumreoglu A, Pereira R, Bakri A, Seewooruthun SI & Heath RR (1999) Field evaluation of female-targeted trapping systems for *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in seven countries. *Journal of Economic Entomology* 92: 156-164.

- Field SA, Kaspi R & Yuval B (2002) Why do calling medflies (Diptera: Tephritidae) cluster? Assessing the empirical evidence for models of medfly lek evolution. *Florida Entomologist* 85: 63-72.
- Field SA, Taylor PW & Yuval B (1999) Sources of variability in copula duration of Mediterranean fruit flies. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 92: 271-276.
- Field SA & Yuval B (1999) Nutritional status affects copula duration in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Insecta Tephritidae). *Ethology Ecology & Evolution* 11: 61-70. doi:10.1080/08927014.1999.9522842.
- Fischer K, Perlick J & Galetz T (2008) Residual reproductive value and male mating success: older males do better. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 275: 1517-1524. doi:DOI 10.1098/rspb.2007.1455.
- Flath RA, Jang EB, Light DM, Mon TR, Carvalho L, Binder RG & John JO (1993) Volatile pheromonal emissions from the male Mediterranean fruit fly: Effects of fly age and time of day. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 41: 830-837.
- Fletcher BS (1989) Life history strategies of Tephritidae fruit flies, Vol. A: Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control (ed. by AS Robinson & G Hooper) Elsevier, Amsterdam, pp. 195-208.
- Fox CW (1993) The influence of maternal age and mating frequency on egg size and offspring performance in *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Oecologia* 96: 139-146. doi:10.1007/bf00318042.
- Freedman V, Crimmins E, Schoeni R, Spillman B, Aykan H, Kramarow E, Land K, Lubitz J, Manton K, Martin L, Shinberg D & Waidmann T (2004) Resolving inconsistencies in trends in old-age disability: Report from a technical working group. *Demography* 41: 417-441. doi:10.1353/dem.2004.0022.
- Fricke C, Bretman A & Chapman T (2010) Female nutritional status determines the magnitude and sign of responses to a male ejaculate signal in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology* 23: 157-165. doi:10.1111/j.1420-9101.2009.01882.x.
- Fries JF (1980) Aging, natural death, and the compression of morbidity. *New England Journal of Medicine* 303: 130-135.
- Fritz A (2009) Sperm storage is not subject to cephalic control in the Caribbean fruit fly, *Anastrepha suspensa*. *Journal of Insect Behavior* 22: 412-422. doi:10.1007/s10905-009-9183-2.
- Gavrilov LA & Gavrilova NS (2002) Evolutionary theories of aging and longevity. *Scientific World Journal* 2: 339-356. doi:10.1100/tsw.2002.96.

- Gazit Y, Rossler Y & Glazer I (2000) Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology* 10: 157-164.
- Glei DA & Horiuchi S (2007) The narrowing sex differential in life expectancy in high-income populations: Effects of differences in the age pattern of mortality. *Population Studies* 61: 141-159. doi:10.1080/00324720701331433.
- Good TP & Tatar M (2001) Age-specific mortality and reproduction respond to adult dietary restriction in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology* 47: 1467-1473.
- Gosling LM, Roberts SC, Thornton EA & Andrew MJ (2000) Life history costs of olfactory status signalling in mice. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 48: 328-332.
- Graham P, Blakely T, Davis P, Sporle A & Pearce N (2004) Compression, expansion, or dynamic equilibrium? The evolution of health expectancy in New Zealand. *Journal of Epidemiology and Community Health* 58: 659-666. doi:10.1136/jech.2003.014910.
- Grandison RC, Wong R, Bass TM, Partridge L & Piper MDW (2009) Effect of a standardised dietary restriction protocol on multiple laboratory strains of *Drosophila melanogaster*. *Plos One* 4: e4067. doi:10.1371/journal.pone.0004067.
- Gray DA (1999) Intrinsic factors affecting female choice in house crickets: Time cost, female age, nutritional condition, body size, and size-relative reproductive investment. *Journal of Insect Behavior* 12: 691-700.
- Grotewiel MS, Martin I, Bhandari P & Cook-Wiens E (2005) Functional senescence in *Drosophila melanogaster*. *Ageing research reviews* 4: 372-397.
- Gruenberg EM (1977) The failures of success. *The Milbank Memorial Fund Quarterly. Health and Society* 55: 3-24.
- Hale JM, Elgar MA & Jones TM (2008) Sperm quantity explains age-related variation in fertilization success in the hide beetle. *Ethology* 114: 797-807.
- Hamerman D (2010) Can biogerontologists and geriatricians unite to apply aging science to health care in the decade ahead? *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 65A: 1193-1197. doi:10.1093/gerona/glq117.
- Hammer M & Menzel R (1995) Learning and memory in the honeybee. *Journal of Neuroscience* 15: 1617-1630.
- Hansen TF & Price DK (1995) Good genes and old age: Do old mates provide superior genes? *Journal of Evolutionary Biology* 8: 759-778.

- Harman D (1956) Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol* 11: 298-300.
- Harmer AMT, Radhakrishnan P & Taylor PW (2006) Remating inhibition in female Queensland fruit flies: Effects and correlates of sperm storage. *Journal of Insect Physiology* 52: 179-186. doi:DOI 10.1016/j.jinsphys.2005.10.003.
- Harshman LG & Zera AJ (2007) The cost of reproduction: the devil in the details. *Trends in Ecology & Evolution* 22: 80-86.
- Harwood JF, Chen K, MÜLLer H-G, Wang J-L, Vargas RI & Carey JR (2013) Effects of diet and host access on fecundity and lifespan in two fruit fly species with different life-history patterns. *Physiological Entomology* 38: 81-88. doi:10.1111/phen.12006.
- Heath RR, Landolt PJ, Tumlinson JH, Chambers DL, Murphy RE, Doolittle RE, Dueben BD, Sivinski J & Calkins CO (1991) Analysis, synthesis, formulation, and field testing of 3 major components of male Mediterranean fruit-fly pheromone. *Journal of Chemical Ecology* 17: 1925-1940.
- Hebets EA, Wesson J & Shamble PS (2008) Diet influences mate choice selectivity in adult female wolf spiders. *Animal Behaviour* 76: 355-363. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2007.12.021>.
- Hendrichs J & Hendrichs MA (1990) Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in nature: Location and diel pattern of feeding and other activities on fruiting and nonfruiting hosts and nonhosts. *Annals of the Entomological Society of America* 83: 632-641.
- Hendrichs J, Katsoyannos BI, Papaj DR & Prokopy RJ (1991) Sex-differences in movement between natural feeding and mating sites and tradeoffs between food consumption, mating success and predator evasion in Mediterranean fruit flies (Diptera, Tephritidae). *Oecologia* 86: 223-231.
- Hendrichs J, Katsoyannos BI, Wornoayporn V & Hendrichs MA (1994) Odor mediated foraging by yellowjacket wasps (Hymenoptera: Vespidae): Predation on leks of pheromone calling Mediterranean fruit fly males (Diptera: Tephritidae). *Oecologia* 99: 88-94.
- Hendrichs MA & Hendrichs J (1998) Perfumed to be killed: Interception of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) sexual signalling by predatory foraging wasps (Hymenoptera: Vespidae). *Annals of the Entomological Society of America* 91: 228-234.
- Hoglund JH & Alatalo RV (1995) *Leks*. Princeton University Press, New Jersey.
- Holliday R (1989) Food, reproduction and longevity: Is the extended lifespan of calorie-restricted animals an evolutionary adaptation? *BioEssays* 10: 125-127. doi:10.1002/bies.950100408.

- Hunt J, Brooks R & Jennions MD (2005) Female mate choice as a condition-dependent life-history trait. *American Naturalist* 166: 79-92.
- Hunt MK, Crean CS, Wood RJ & Gilburn AS (1998) Fluctuating asymmetry and sexual selection in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 64: 385-396.
- Hunt MK, Nicholls CJ, Wood RJ, Rendon AP & Gilburn AS (2004) Sexual selection for symmetrical male medflies (Diptera: Tephritidae) confirmed in the field. *Biological Journal of the Linnean Society* 81: 347-355.
- Iliadi KG & Boulianne GL (2010) Age-related behavioral changes in *Drosophila*. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1197: 9-18. doi:10.1111/j.1749-6632.2009.05372.x.
- Jacobson J, Lambert AJ, Portero-Otín M, Pamplona R, Magwere T, Miwa S, Drieger Y, Brand MD & Partridge L (2010) Biomarkers of aging in *Drosophila*. *Aging Cell* 9: 466-477. doi:10.1111/j.1474-9726.2010.00573.x.
- Jang EB (1995) Effects of mating and accessory gland injections on olfactory mediated behavior in the female Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *Journal of Insect Physiology* 41: 705-710.
- Jang EB (2002) Physiology of mating behavior in Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae): Chemoreception and male accessory gland fluids in female post-mating behavior. *Florida Entomologist* 85: 89-93.
- Jennions MD, Moller AP & Petrie M (2001) Sexually selected traits and adult survival: A meta-analysis. *Quarterly Review of Biology* 76: 3-36.
- Jones SR & Kim KC (1994) Aculeus wear and oviposition in 4 species of Tephritidae (Diptera). *Annals of the Entomological Society of America* 87: 104-107.
- Jones TM, Featherston R, Paris DBBP & Elgar MA (2007) Age-related sperm transfer and sperm competitive ability in the male hide beetle. *Behavioral Ecology* 18: 251-258.
- Jordao-Paranhos BA, Walder JMM & Papadopoulos NT (2003) A simple method to study parasitism and field biology of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) on *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol Science and Technology* 13: 631-639.
- Kaspi R, Mossinson S, Drezner T, Kamensky B & Yuval B (2002) Effects of larval diet on developmental rates and reproductive maturation of male and female Mediterranean fruit flies. *Physiological Entomology* 27: 29-38.

- Kaspi R, Taylor PW & Yuval B (2000) Diet and size influence sexual advertisement and copulatory success of males in Mediterranean fruit fly leks. *Ecological Entomology* 25: 279-284.
- Katsoyannos BI (1989) Field responses of Mediterranean fruit flies to spheres of different color patterns and to yellow crossed panels: Fruit flies of economic importance 87 (ed. by R Cavalloro) A.A. Balkema, Rome, Italy, pp. 393-400.
- Kirkland JL & Peterson C (2009) Healthspan, translation, and new outcomes for animal studies of aging. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 64A: 209-212. doi:10.1093/gerona/gln063.
- Kirkwood TBL (1977) Evolution of aging. *Nature* 270: 301-304.
- Kirkwood TBL (2002) Evolution of ageing. *Mechanisms of Ageing and Development* 123: 737-745.
- Klowden MJ (2007) *Physiological systems in insects*. Elsevier Academic Press, Amsterdam [etc.].
- Kodric-Brown A & Nicoletto PF (2001) Age and experience affect female choice in the guppy (*Poecilia reticulata*). *American Naturalist* 157: 316-323.
- Kokko H (1997) Evolutionarily stable strategies of age-dependent sexual advertisement. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 41: 99-107.
- Kokko H (1998) Good genes, old age and life-history trade-offs. *Evolutionary Ecology* 12: 739-750.
- Kokko H & Lindstrom J (1996) Evolution of female preference for old mates. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 263: 1533-1538.
- Koref-Santibanez S (2001) Effects of age and experience on mating activity in the sibling species *Drosophila pavani* and *Drosophila gaucha*. *Behavior Genetics* 31: 287-297.
- Krainacker DA, Carey JR & Vargas RI (1987) Effect of larval host on life history traits of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata*. *Oecologia* 73: 583-590.
- LaMunyon CW (2001) Determinants of sperm precedence in a noctuid moth *Heliothis virescens*: a role for male age. *Ecological Entomology* 26: 388-394.
- LaMunyon CW & Huffman TS (2001) Determinants of sperm transfer by males of the noctuid moth *Heliothis virescens*. *Journal of Insect Behavior* 14: 187-199.

- Lee GD, Wilson MA, Zhu M, Wolkow CA, De Cabo R, Ingram DK & Zou S (2006) Dietary deprivation extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Aging Cell* 5: 515-524. doi:10.1111/j.1474-9726.2006.00241.x.
- Lee R (2008) Sociality, selection, and survival: Simulated evolution of mortality with intergenerational transfers and food sharing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 7124-7128. doi:10.1073/pnas.0710234105.
- Liedo P, De Leon E, Barrios MI, Valle-Mora JF & Ibarra G (2002) Effect of age on the mating propensity of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 85: 94-101.
- Liquido NJ, Shinoda LA & Cunningham RT (1991) Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera, Tephritidae) an annotated world review., Vol. 83: Miscellaneous Publications 77. Entomological Society of America (ed., Lanham, MD, pp. 1863-1878.
- Lopez-Otin C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M & Kroemer G (2013) The hallmarks of aging. *Cell* 153: 1194-1217. doi:10.1016/j.cell.2013.05.039.
- Lux SA, Vilardi JC, Liedo P, Gaggi K, Calcagno GE, Munyiri FN, Vera MT & Manso F (2002) Effects of irradiation on the courtship behavior of medfly (Diptera: Tephritidae) mass reared for the sterile insect technique. *Florida Entomologist* 85: 102-112.
- Müller H-G, Wu S, Diamantidis AD, Papadopoulos NT & Carey JR (2009) Reproduction is adapted to survival characteristics across geographically isolated medfly populations. *Proceedings of the Royal Society B* 276: 4409-4416.
- Mair W, Goymer P, Pletcher SD & Partridge L (2003) Demography of dietary restriction and death in *Drosophila*. *Science* 301: 1731-1733.
- Malacrida AR, Gomulski LM, Bonizzoni M, Bertin S, Gasperi G & Guglielmino CR (2007) Globalization and fruit fly invasion and expansion: the medfly paradigm. *Genetica* 131: 1-9. doi:10.1007/s10709-006-9117-2.
- Manning JT (1985) Choosy females and correlates of male age. *Journal of Theoretical Biology* 116: 349-354.
- Manrakhan A & Lux SA (2006) Contribution of natural food sources to reproductive behaviour, fecundity and longevity of *Ceratitis cosyra*, *C. fasciventris* and *C. capitata* (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Entomological Research* 96: 259-268.
- Manton K & Land K (2000) Active life expectancy estimates for the U.S. elderly population: A multidimensional continuous-mixture model of functional change applied to completed Cohorts, 1982–1996. *Demography* 37: 253-265. doi:10.2307/2648040.

- Manton KG (2008) Recent declines in chronic disability in the elderly US population: Risk factors and future dynamics. *Annual Review of Public Health* 29: 91-113. doi:DOI 10.1146/annurev.pubihealth.29.020907.090812.
- Manton KG, Gu X & Lowrimore GR (2008) Cohort changes in active life expectancy in the U.S. elderly population: Experience from the 1982–2004 national long-term care survey. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences* 63: S269-S281.
- Markowska AL & Breckler SJ (1999) Behavioral biomarkers of aging: Illustration of a multivariate approach for detecting age-related behavioral changes. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 54: B549-B566. doi:10.1093/gerona/54.12.B549.
- Martin OY & Hosken DJ (2004) Copulation reduces male but not female longevity in *Saltella sphondylii* (Diptera: Sepsidae). *Journal of Evolutionary Biology* 17: 357-362.
- Matthews RW & Matthews JR (2010) *Insect behavior*. Springer, Dordrecht; New York.
- Meats A & Leighton M (2004) Protein consumption by mated, unmated, sterile and fertile adults of the Queensland fruit fly, *Bactrocera tryoni* and its relation to egg production. *Physiological Entomology* 29: 176-182.
- Medawar PB (1952) *An unsolved problem of biology*. H.K. Lewis, London.
- Meyer JR (2009) *Elements of behavior: General Entomology* (ed. by NCS University), North Carolina, U.S.A., p. General Entomology Course.
- Milonas PG & Andow DA (2010) Virgin male age and mating success in *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Animal Behaviour* 79: 509-514. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.12.005>.
- Mitchell WC & Saul SH (1990) Current control methods for the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, and their application in the USA. *Review of Agricultural Entomology* 78: 923-940.
- Miyatake T (1997) Genetic trade-off between early fecundity and longevity in *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae). *Heredity* 78: 93-100.
- Moore PJ & Moore AJ (2001) Reproductive aging and mating: The ticking of the biological clock in female cockroaches. *Proceedings of the National Academy of Science* 98: 9171-9176.
- Moskalik B & Uetz GW (2011) Female hunger state affects mate choice of a sexually selected trait in a wolf spider. *Animal Behaviour* 81: 715-722. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2010.12.016>.

- Mossinson S & Yuval B (2003) Regulation of sexual receptivity of female Mediterranean fruit flies: old hypothesis revisited and a new synthesis proposed. *Journal of Insect Physiology* 49: 561-567.
- Muller FL, Lustgarten MS, Jang Y, Richardson A & Van Remmen H (2007) Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Biology and Medicine* 43: 477-503. doi:10.1016/j.freeradbiomed.2007.03.034.
- Muller H-G, Wang J-L & Capra WB (1997) From lifetables to hazard rates: The transformation approach. *Biometrika* 84: 881-892. doi:10.2307/2337658.
- Mumford JD (2002) Economic issues related to quarantine in international trade. *European Review of Agricultural Economics* 29: 329-348. doi:10.1093/eurag/29.3.329.
- Neto AMD, Dias VS & Joachim-Bravo IS (2009) Mating choice of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae): Influence of male ageing on mating success. *Neotropical Entomology* 38: 571-577.
- Niyazi N, Shuker DM & Wood RJ (2008) Male position and calling effort together influence male attractiveness in leks of the medfly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 95: 479-487. doi:10.1111/j.1095-8312.2008.01077.x.
- Ohgushi T (1996) A reproductive tradeoff in an herbivorous lady beetle: Egg resorption and female survival. *Oecologia* 106: 345-351.
- Papadopoulos N, Shelly T, Niyazi N & Jang E (2006) Olfactory and behavioral mechanisms underlying enhanced mating competitiveness following exposure to ginger root oil and orange oil in males of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior*: 1-16.
- Papadopoulos NT, Carey JR, Katsoyannos BI, Kouloussis NA, Muller HJ & Liu X (2002a) Supine behaviour predicts time-to-death in male Mediterranean fruit flies. *Proceeding of the Royal Society London, B* 269: 1633-1637.
- Papadopoulos NT, Carey JR, Liedo P, Muller HG & Senturk D (2009) Virgin females compete for mates in the male lekking species *Ceratitidis capitata*. *Physiological Entomology* 34: 238-245. doi:DOI 10.1111/j.1365-3032.2009.00680.x.
- Papadopoulos NT & Katsoyannos BI (2003) Field parasitism of *Ceratitidis capitata* larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. *Biocontrol* 48: 191-195.
- Papadopoulos NT, Katsoyannos BI & Carey JR (2002b) Demographic parameters of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) reared in apples. *Annals of the Entomological Society of America* 95: 564-569.

- Papadopoulos NT, Katsoyannos BI, Carey JR & Kouloussis NA (2001) Seasonal and annual occurrence of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in northern Greece. *Annals of the Entomological Society of America* 94: 41-50.
- Papadopoulos NT, Katsoyannos BI, Kouloussis NA, Carey JR, Muller HG & Zhang Y (2004) High sexual signalling rates of young individuals predict extended life span in male Mediterranean fruit flies. *Oecologia* 138: 127-134.
- Papadopoulos NT, Katsoyannos BI, Kouloussis NA, Economopoulos AP & Carrey JR (1998) Effect of adult age, food, and time of day on sexual calling incidence of wild and mass-reared *Ceratitidis capitata* males. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 89: 175-182.
- Papadopoulos NT, Liedo P, Muller HG, Wang JL, Molleman F & Carey JR (2010) Cost of reproduction in male medflies: The primacy of sexual courting in extreme longevity reduction. *Journal of Insect Physiology* 56: 283-287. doi:DOI 10.1016/j.jinsphys.2009.10.014.
- Papadopoulos NT, Plant RE & Carey JR (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.
- Papaj DR, Katsoyannos BI & Hendrichs J (1989) Use of fruit wounds in oviposition by Mediterranean fruit flies. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 53: 203-209.
- Papaj DR & Lewis AC (1993) *Insect learning: ecological and evolutionary perspectives*. Routledge, Chapman & Hall, Inc., New York.
- Papaj DR, Roitberg BD, Opp SB, Aluja M, Prokopy RJ & Wong TTY (1990) Effect of marking pheromone on clutch size in the Mediterranean fruit fly. *Physiological Entomology* 15: 463-468.
- Partridge L (2010) The new biology of ageing. *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences* 365: 147-154. doi:DOI 10.1098/rstb.2009.0222.
- Partridge L & Farquhar M (1981) Sexual activity reduces lifespan of male fruitflies. *Nature* 294: 580-582.
- Partridge L, Green A & Fowler K (1987) Effects of egg production and of exposure to males on female survival in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology* 33: 745-749.
- Partridge L & Harvey PH (1985) Evolutionary biology: Costs of reproduction. *Nature* 316: 20-20.
- Partridge L & Mangel M (1999) Messages from mortality: the evolution of death rates in the old. *Trends in Ecology & Evolution* 14: 438-442.

- Partridge L, Piper MDW & Mair W (2005) Dietary restriction in *Drosophila*. Mechanisms of Ageing and Development 126: 938-950. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.mad.2005.03.023>.
- Perez-Staples D & Aluja M (2004) *Anastrepha striata* (Diptera: Tephritidae) females that mate with virgin males live longer. Annals of the Entomological Society of America 97: 1336-1341.
- Perez-Staples D, Harmer AMT & Taylor PW (2007a) Sperm storage and utilization in female Queensland fruit flies (*Bactrocera tryoni*). Physiological Entomology 32: 127-135. doi:DOI 10.1111/j.1365-3032.2006.00554.x.
- Perez-Staples D, Martinez-Hernandez MG & Aluja M (2010) Male age and experience increases mating success but not female fitness in the Mexican fruit fly. Ethology 116: 778-786. doi:DOI 10.1111/j.1439-0310.2010.01790.x.
- Perez-Staples D, Prabhu V & Taylor PW (2007b) Post-teneral protein feeding enhances sexual performance of Queensland fruit flies. Physiological Entomology 32: 225-232. doi:10.1111/j.1365-3032.2007.00568.x.
- Pérez-Staples D, Shelly TE & Yuval B (2013) Female mating failure and the failure of 'mating' in sterile insect programs. Entomologia Experimentalis Et Applicata 146: 66-78. doi:10.1111/j.1570-7458.2012.01312.x.
- Pérez VI, Bokov A, Remmen HV, Mele J, Ran Q, Ikeno Y & Richardson A (2009) Is the oxidative stress theory of aging dead? Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects 1790: 1005-1014. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2009.06.003>.
- Ploger BJ & Yasukawa K (2003) Exploring animal behavior in laboratory and field: An hypothesis-testing approach to the development, causation, function, and evolution of animal behavior. Academic Press, San Diego.
- Pomiankowski A, Denniff M, Fowler K & Chapman T (2005) The costs and benefits of high early mating rates in male stalk-eyed flies, *Cyrtodiopsis dalmanni*. Journal of Insect Physiology 51: 1165-1171. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jinsphys.2005.06.006>.
- Prenter J, Weldon CW & Taylor PW (2013) Age-related activity patterns are moderated by diet in Queensland fruit flies *Bactrocera tryoni*. Physiological Entomology: n/a-n/a. doi:10.1111/phen.12023.
- Price DK & Hansen TF (1998) How does offspring quality change with age in male *Drosophila melanogaster*? Behavior Genetics 28: 395-402. doi:10.1023/a:1021677804038.

- Prokopy RJ & Hendrichs J (1979) Mating behavior of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) on a field caged host tree. *Annals of the Entomological Society of America* 72: 642-648.
- Prokopy RJ & Roitberg BD (1989) Fruit fly foraging behavior, Vol. 3A: World Crop Pests (ed. by AS Robinson & G Hooper) Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, pp. 293-306.
- Prowse N & Partridge L (1997) The effects of reproduction on longevity and fertility in male *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology* 43: 501-512.
- Radhakrishnan P & Taylor PW (2007) Seminal fluids mediate sexual inhibition and short copula duration in mated female Queensland fruit flies. *Journal of Insect Physiology* 53: 741-745. doi:DOI 10.1016/j.jinsphys.2006.10.009.
- Radwan J, Michalczyk L & Prokop Z (2005) Age dependence of male mating ability and sperm competition success in the bulb mite. *Animal Behaviour* 69: 1101-1105. doi:DOI 10.1016/j.anbehav.2004.09.006.
- Riley JR, Greggers U, Smith AD, Reynolds DR & Menzel R (2005) The flight paths of honeybees recruited by the waggle dance. *Nature* 435: 205-207.
- Robine J-M & Michel J-P (2004) Looking forward to a general theory on population aging. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 59: M590-M597. doi:10.1093/gerona/59.6.M590.
- Robinson AS & Hooper G (1989) *Fruit flies: their biology, natural enemies and control*. Elsevier, Amsterdam.
- Romanyukha AA, Carey JR, Karkach AS & Yashin AI (2004) The impact of diet switching on resource allocation to reproduction and longevity in Mediterranean fruit flies. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271: 1319-1324. doi:10.1098/rspb.2004.2719.
- Rossi BH, Nonacs P & Pitts-Singer TL (2010) Sexual harassment by males reduces female fecundity in the alfalfa leafcutting bee, *Megachile rotundata*. *Animal Behaviour* 79: 165-171. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.anbehav.2009.10.023>.
- Roth LM (1948) A study of mosquito behavior. An experimental laboratory study of the sexual behavior of *Aedes aegypti* (Linnaeus). *American Midland Naturalist* 40: 265-352.
- Rull J, Brunel O & Mendez ME (2005) Mass rearing history negatively affects mating success of male *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) reared for sterile insect technique programs. *Journal of Economic Entomology* 98: 1510-1516.

- Sadowski JA, Moore AJ & Brodie ED (1999) The evolution of empty nuptial gifts in a dance fly, *Empis snoddyi* (Diptera: Empididae): bigger isn't always better. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 45: 161-166.
- Sallis JF (2000) Age-related decline in physical activity: a synthesis of human and animal studies. *Medicine and science in sports and exercise* 32: 1598-1600.
- Sarakatsanou A, Diamantidis AD, Papanastasiou SA, Bourtzis K & Papadopoulos NT (2011) Effects of *Wolbachia* on fitness of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Applied Entomology* 135: 554-563. doi:DOI 10.1111/j.1439-0418.2011.01610.x.
- Schafer MA & Uhl G (2002) Determinants of paternity success in the spider *Pholcus phalangioides* (Pholcidae: Araneae): The role of male and female mating behaviour. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 51: 368-377. doi:DOI 10.1007/s00265-001-0448-9.
- Schowalter TD (2011) *Insect ecology: an ecosystem approach*. Elsevier.
- Shackleton MA, Jennions MD & Hunt J (2005) Fighting success and attractiveness as predictors of male mating success in the black field cricket, *Teleogryllus commodus*: the effectiveness of no-choice tests. *Behavioral Ecology and Sociobiology* 58: 1-8.
- Shelly T, Edu J & Pahio E (2011) Female medflies mate selectively with young males but gain no apparent fitness benefits. *Journal of Insect Behavior* 24: 55-66. doi:10.1007/s10905-010-9236-6.
- Shelly T, Edu J & Pahio E (2012) Mate choice by lekking males: Evidence from the Mediterranean fruit fly from field cage trials (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 105: 368-376. doi:10.1603/an11125.
- Shelly TE (1999) Trimedlure and the mating competitiveness of irradiated male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Environmental Entomology* 28: 780-786.
- Shelly TE (2000a) Fecundity of female oriental fruit flies (Diptera: Tephritidae): Effects of methyl eugenol-fed and multiple mates. *Annals of the Entomological Society of America* 93: 559-564.
- Shelly TE (2000b) Male signalling and lek attractiveness in the Mediterranean fruit fly. *Animal Behaviour* 60: 245-251.
- Shelly TE (2001) Exposure to alpha-copaene and alpha-copaene-containing oils enhances mating success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 94: 497-502.

- Shelly TE, Edu J & Pahio E (2005) Lack of an irradiation effect on the mating performance of mass-reared males of the Mediterranean fruit fly. *Florida Entomologist* 88: 547-548.
- Shelly TE, Edu J & Pahio E (2007) Age-dependent variation in mating success of sterile male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae): Implications for sterile insect technique. *Journal of Economic Entomology* 100: 1180-1187.
- Shelly TE, Holler TC & Stewart JL (2006) Mating competitiveness of mass-reared males of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) from eclosion towers. *Florida Entomologist* 89: 380-387.
- Shelly TE & Kennelly S (2002) Influence of male diet on male mating success and longevity and female remating in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. *Florida Entomologist* 85: 572-579.
- Shelly TE, Kennelly SS & McInnis DO (2002) Effect of adult diet on signaling activity, mate attraction, and mating success in male mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 85: 150-155.
- Shelly TE & McInnis DO (2003) Influence of adult diet on the mating success and survival of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) from two mass -rearing strains on field-caged host trees. *Florida Entomologist* 86: 340-344.
- Shelly TE, Whittier TS & Kaneshiro KY (1993) Behavioral responses of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) to trimedlure baits: can leks be created artificially? *Annals of the Entomological Society of America* 86: 341-351.
- Shelly TE, Whittier TS & Kaneshiro KY (1994) Sterile insect release and the natural mating system of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 87: 470-481.
- Shelly TE, Whittier TS & Villalobos EM (1996) Trimedlure affects mating success and mate attraction in male Mediterranean fruit flies. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 78: 181-185.
- Shock NW, Gruelich RC, Andres RA, Arenberg D, Costa PT, Lakatta EG & Tobin JD (1984) Normal human aging. The Baltimore Longitudinal Study of Aging. Washington, DC: US Government Printing Office.
- Simon AF, Liang DT & Krantz DE (2006) Differential decline in behavioral performance of *Drosophila melanogaster* with age. *Mechanisms of Ageing and Development* 127: 647-651.
- Sivinski J, Aluja M, Dodson GN, Freidberg AD, Headrick H & Landolt P (2000) Topics in the evolution of sexual behavior in the Tephritidae: Fruit flies

- (Tephritidae): Phylogeny and evolution of behavior (ed. by M Aluja & AL Norrbom) CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp. 751-792.
- Sohal RS & Weindruch R (1996) Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 273: 59-63.
- Sprott RL (2010) Biomarkers of aging and disease: Introduction and definitions. *Experimental Gerontology* 45: 2-4. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.exger.2009.07.008>.
- Tatar M (2009) Can we develop genetically tractable models to assess healthspan (rather than life span) in animal models? *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 64A: 161-163. doi:10.1093/gerona/gln067.
- Tatar M & Carey JR (1995) Nutrition mediates reproductive trade-offs with age-specific mortality in the beetle *Callosobruchus maculatus*. *Ecology* 76: 2066-2073.
- Tatar M, Carey JR & Vaupel JW (1993) Long-term cost of reproduction with and without accelerated senescence in *Callosobruchus maculatus*: Analysis of age-specific mortality. *Evolution* 47: 1302-1312.
- Taylor PW, Kaspi R, Mossinson S & Yuval B (2001) Age-dependent insemination success of sterile Mediterranean fruit flies. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 98: 27-33.
- Taylor PW, Kaspi R & Yuval B (2000) Copula duration and sperm storage in Mediterranean fruit flies from a wild population. *Physiological Entomology* 25: 94-99.
- Taylor PW & Yuval B (1999) Postcopulatory sexual selection in Mediterranean fruit flies: advantages for large and protein-fed males. *Animal Behaviour* 58: 247-254.
- Tully T, Cambiazo V & Kruse L (1994) Memory through metamorphosis in normal and mutant *Drosophila*. *The Journal of Neuroscience* 14: 68-74.
- Turner ME & Anderson WW (1983) Multiple mating and female fitness in *Drosophila pseudoobscura*. *Evolution* 37: 714-723.
- Twig E & Yuval B (2005) Function of multiple sperm storage organs in female Mediterranean fruit flies (*Ceratitis capitata*, Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Physiology* 51: 67-74.
- Uziel A, Levy K & Yuval B (2003) Infection of *Ceratitis capitata* by two species of the *Entomophthora muscae* species complex (Zygomycetes: Entomophthorales) in the field. *Phytoparasitica* 31: 204-206.
- Vaničková L, do Nascimento RR, Hoskovec M, Ježková Z, Břízová R, Tomčala A & Kalinová B (2012) Are the wild and laboratory insect populations different in semiochemical emission? The case of the

- medfly sex pheromone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 7168-7176. doi:10.1021/jf301474d.
- Vera MT, Cladera JL, Calcagno G, Vilardi JC, McInnis DO, Stolar E, Segura D, Marty NP, Krsticevic F, Cendra PG, Rodriguez M, Barborini K, Heer T, Allinghi A, Bonpland G, Hansen L & Segade G (2003) Remating of wild *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) females in field cages. *Annals of the Entomological Society of America* 96: 563-570.
- Vet LEM, Lewis WJ & Cardé RT (1995) Parasitoid foraging and learning: *Chemical Ecology of Insects* 2 (ed. Springer US, pp. 65-101.
- Vreysen MJB, Robinson AS & Hendrichs J (2007) *Area-Wide Control of Insect Pests*. Springer, Doedrecht, The Netherlands.
- Warburg MS & Yuval B (1997) Effects of energetic reserves on behavioral patterns of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Oecologia* 112: 314-319.
- Weindruch R & Walford RL (1988) *The retardation of aging and disease by dietary restriction*. Charles C Thomas Pub Ltd, Springfield, Illinois, USA.
- White IM & Elson-Harris MM (1992) *Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics*. C.A.B. International, Wallingford, UK.
- Whittier TS & Kaneshiro KY (1991) Male mating success and female fitness in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 84: 608-611.
- Whittier TS, Kaneshiro KY & Prescott LD (1992) Mating behavior of Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in a natural environment. *Annals of the Entomological Society of America* 85: 214-218.
- Whittier TS, Nam FY, Shelly TE & Kaneshiro KY (1994) Male courtship success and female discrimination in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior* 7: 159-170.
- Whittier TS & Shelly TE (1993) Productivity of singly vs multiply mated female Mediterranean fruit flies, *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of the Kansas Entomological Society* 66: 200-209.
- Wigby S & Chapman T (2005) Sex peptide causes mating costs in female *Drosophila melanogaster*. *Current Biology* 15: 316-321. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.cub.2005.01.051>.
- Williams GC (1957) Pleiotropy, natural selection, and the evolution of senescence. *Evolution* 11: 398-411.
- Yuval B, Blay S & Kaspi R (1996) Sperm transfer and storage in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Annals of the Entomological Society of America* 89: 486-492.

- Yuval B & Hendrichs J (2000) Behavior of flies in the genus *Ceratitidis* (Dacinae: Ceratitidini). Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior (ed. by M Aluja & A Norrbom) CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, pp. 429-457.
- Yuval B, Kaspi R, Field SA, Blay S & Taylor P (2002) Effects of post-teneral nutrition on reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 85: 165-170.
- Yuval B, Kaspi R, Shloush S & Warburg MS (1998) Nutritional reserves regulate male participation in Mediterranean fruit fly leks. *Ecological Entomology* 23: 211-215.
- Zabalou S, Apostolaki A, Livadaras I, Franz G, Robinson AS, Savakis C & Bourtzis K (2009) Incompatible insect technique: incompatible males from a *Ceratitidis capitata* genetic sexing strain. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 132: 232-240. doi:DOI 10.1111/j.1570-7458.2009.00886.x.
- Zahavi A (1975) Mate selection: selection for a handicap. *Journal of Theoretical Biology* 23: 205-214.
- Zhang Y, Muller HG, Carey JR & Papadopoulos NT (2006) Behavioral trajectories as predictors in event history analysis: Male calling behavior forecasts medfly longevity. *Mechanisms of Ageing and Development* 127: 680-686.
- Zou S, Liedo P, Altamirano-Robles L, Cruz-Enriquez J, Morice A, Ingram DK, Kaub K, Papadopoulos N & Carey JR (2011) Recording lifetime behavior and movement in an invertebrate model. *Plos One* 6: e18151. doi:10.1371/journal.pone.0018151.
- Διαμαντίδης ΑΔ (2008) Μελέτη της βιοοικολογίας και της συμπεριφοράς διαφορετικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae), Vol. 10: Σχολή Γεωπονικών Επιστημών - Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος (ed. Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Νέα Ιωνία Μαγνησίας, p. 214.
- Παπαδόπουλος ΝΘ & Σταυρίδης Δ (2010) Η μύγα της Μεσογείου: 5η Πανελλήνια Συνάντηση Φυτοπροστασίας: Ποιότητα και ασφάλεια των γεωργικών προϊόντων - τροφίμων (ed., Λάρισα.
- Τζανακάκης ΜΕ & Κατσόγιαννος ΒΙ (2003) Έντομα καρποφόρων δέντρων και αμπέλου. *ΑγροΤύπος*, Αθήνα.

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΠΡΟΣΩΠΙΚΕΣ ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ

Όνοματεπώνυμο	ΣΤΕΛΛΑ ΠΑΠΑΝΑΣΤΑΣΙΟΥ
Διεύθυνση	ΔΙΟΓΕΝΟΥΣ 10Α, 38446, ΝΕΑ ΙΩΝΙΑ, ΒΟΛΟΣ ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ
Τηλέφωνο	6973 459193
Ηλεκτρονικό ταχυδρομείο	stelapap@hotmail.com
Υπηκοότητα	Ελληνική
Ημερομηνία γέννησης	21/ 04/ 1980

ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ

Ιούλιος 2008 – Ιούνιος 2014	Εκπόνηση διδακτορικής διατριβής με τίτλο «Επίδραση της ηλικίας και άλλων παραγόντων στη συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου», Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας. Μελέτη της συμπεριφοράς της μύγας της Μεσογείου, εκτροφή εντόμων, παρακολούθηση πληθυσμών σε οπωρώνες της Μαγνησίας, σχεδιασμός μοντέλων για την πρόβλεψη εμφάνισης και αντιμετώπισης του εντόμου.
Μάιος 2013 - Δεκέμβριος 2013	Σύμβαση έργου ορισμένου χρόνου μέσω της Επιτροπής Ερευνών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Πρόγραμμα «Αξιολόγηση της ελκυστικότητας και τοξικότητας εντομοκτόνων σκευασμάτων» με επιστημονικό υπεύθυνο τον Δρ. Νικόλαο Παπαδόπουλο, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Π.Θ. Διεξαγωγή βιοδοκιμών, συλλογή και επεξεργασία δεδομένων και σύνταξη αναφορών.
Φεβρουάριος 2013 - Ιούνιος 2013	Σύμβαση ορισμένου χρόνου ως εκπαιδύτρια στο ΙΕΚ Βόλου. Παράδοση εργαστηριακών ασκήσεων για το μάθημα Περιβαλλοντική Αγωγή στην κατεύθυνση Προσχολικής Αγωγής.
Απρίλιος 2011 - Μάρτιος 2012	Σύμβαση ορισμένου χρόνου στο Κ.Ε.Π.Π.Υ.Ε.Λ. (Κέντρο Ελέγχου & Πιστοποίησης Πολλαπλασιαστικού Υλικού & Ελέγχου Λιπασμάτων), Υπουργείο Αγροτικής Ανάπτυξης & Τροφίμων, Λάρισα. Δειγματοληψία και πιστοποίηση πολλαπλασιαστικού υλικού (έλεγχος καθαρότητας και βλαστικής ικανότητας), Έλεγχος λιπασμάτων, Έκδοση βεβαιώσεων για κατά κύριο επάγγελμα αγρότες ή για κατόχους αγροτικής εκμετάλλευσης.
Νοέμβριος 2010 - Ιούνιος 2010	Πρόσθετη Διδακτική Στήριξη στο 1ο ΤΕΕ Βόλου. Παράδοση του μαθήματος «Διαχείριση Φυσικών Πόρων» (Γ' Λυκείου).
Ιανουάριος 2010 –	Σύμβαση ωρομισθίας με τη Δευτεροβάθμια Εκπαίδευση Γρεβενών. Διδασκαλία

- Ιούνιος 2010 των μαθημάτων «Ζωική Παραγωγή» (Γ' Λυκείου) και «Εισαγωγή στη Γεωργική Παραγωγή» (Β' Λυκείου) στο ΕΠ.Α.Λ. Δεσκάτης.
- Σεπτέμβριος 2009 – Δεκέμβριος 2009 και Ιούλιος 2010 – Δεκέμβριος 2010 Σύμβαση έργου ορισμένου χρόνου μέσω της Επιτροπής Ερευνών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Πρόγραμμα «Εξελικτική Δημογραφία της μύγας της Μεσογείου» με επιστημονικό υπεύθυνο τον Δρ. Νικόλαο Παπαδόπουλο, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Π.Θ. Διεξαγωγή πειραμάτων, συλλογή και επεξεργασία δεδομένων και σύνταξη αναφορών.
- Ιούλιος 2010 - Σεπτέμβριος 2010 Σύμβαση έργου ορισμένου χρόνου μέσω της Επιτροπής Ερευνών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας, στο Πρόγραμμα «Βιοδημογραφικά χαρακτηριστικά της ζωής των εντόμων» με επιστημονικό υπεύθυνο τον Δρ. Νικόλαο Παπαδόπουλο, Αναπληρωτή Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Π.Θ. Διεξαγωγή πειραμάτων, συλλογή και επεξεργασία δεδομένων και σύνταξη αναφορών.
- Οκτώβριος 2008 – Ιανουάριος 2009 και Οκτώβριος 2010 – Ιανουάριος 2011 Παράδοση εργαστηριακών ασκήσεων των μαθημάτων «Γεωργική Ζωολογία» και «Εχθροί Αποθηκευμένων Προϊόντων» σε φοιτητές του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος του Π.Θ.
- 23 Ιουνίου 2008 – 23 Δεκεμβρίου 2008 Σύμβαση ορισμένου χρόνου στον Ο.Π.Ε.Κ.Ε.Π.Ε. Λάρισας. Έλεγχος καλλιεργειών για την απόδοση των Κοινοτικών Ενισχύσεων στους αγρότες.
- 23 Ιουνίου 2005 – 30 Σεπτεμβρίου 2007 Εργασία στο σωματείο Ομοσπονδία Μελισσοκομικών Συλλόγων Ελλάδος (Ο.Μ.Σ.Ε.) με έδρα τη Λάρισα ως επόπτης γεωπόνος. Συμβουλευτική σε μελισσοκόμους, ενημέρωση των μελισσοκομικών συλλόγων της χώρας σχετικά με τη δράση του Καν. 424 της Ε.Ε., ενημέρωση της ιστοσελίδας www.omse.gr, αρθρογράφηση στο μελισσοκομικό περιοδικό «Μελισσοκομικό βήμα».
- 9 Μαΐου 2005 – 22 Ιουνίου 2005 Εργασία στην εταιρεία «Γεωπονικό Σπίτι», 10^ο χμ Λάρισας- Καρδίτσας. Σταυρογονιμοποιήσεις σε σιτάρι, βαμβάκι και καλαμπόκι με σκοπό την βελτίωση των ποικιλιών.
- 25 Ιουλίου 2004 – 31 Αυγούστου 2004 Σύμβαση έργου ορισμένου χρόνου μέσω της Επιτροπής Ερευνών του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης, στο Πρόγραμμα «Έρευνα για τον προσδιορισμό ύπαρξης του θρίπα *Thrips tabaci* φορέα του ιού του κηλιδωτού μαρασμού της ντομάτας Tomato spotted wilt virus (TSWV) και οδηγίες αντιμετώπισής του» με επιστημονικό υπεύθυνο τον Δρ. Νικόλαο Κατή, Καθηγητή του Τμήματος Γεωπονίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης.
- 14 Ιουλίου 2003 – 14 Αυγούστου 2003 Πρακτική άσκηση στο Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας του Τμήματος Γεωπονίας του Αριστοτελείου Πανεπιστημίου Θεσσαλονίκης υπό την επίβλεψη του Δρ. Νικόλαου Κατή, Καθηγητή. Ανίχνευση φυτικών ιών με τη βοήθεια ορολογικών μεθόδων (ELISA).

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΣΕ ΣΥΝΕΔΡΙΑ

- 12 – 16 Μαΐου 2014 “Adult diet manipulation affects the sexual signaling of male medflies (*Ceratitis capitata*)” **S. A. Papanastasiou** and N. T. Papadopoulos και “Description of *Rhagoletis cerasi* pupal developmental stages during and after diapause termination: Indications of prolonged diapause”, **S. A. Papanastasiou** and N. T. Papadopoulos, 9th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance (ISFFEI), Bangkok, Thailand
- 22 – 25 Οκτωβρίου 2013 «Επίδραση της τροφής και της ηλικίας στην ημερήσια δραστηριότητα αρσενικών και θηλυκών της μύγας της Μεσογείου» **Σ. Α. Παπαναστασίου** και Ν. Θ. Παπαδόπουλος, «Επίδραση της εναλλαγής της τροφής στο σεξουαλικό κάλεσμα των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου» **Σ. Α. Παπαναστασίου** και Ν. Θ. Παπαδόπουλος και «Τα στάδια ανάπτυξης των νυμφών της ραγολέτιδας της κερασιάς κατά και μετά την περάτωση της διάπαυσης: ενδείξεις παρατεταμένης διάπαυσης». **Σ. Α. Παπαναστασίου** και Ν. Θ. Παπαδόπουλος, 15^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Καβάλα
- 6 – 10 Οκτωβρίου 2013 “Effects of mating on reproduction and longevity of female medflies: the interplay between nutrition and age of mating” **Stella A. Papanastasiou**, Christos T. Nakas, James R. Carey and N. T. Papadopoulos, 1st Meeting of the Evolutionary Demography Society, Odense, Denmark
- 3 – 6 Ιουλίου 2012 “Age of mating and food affect the sexual receptivity and fitness of female Mediterranean fruit flies” **S. A. Papanastasiou** and N. T. Papadopoulos, 2nd International Symposium of TEAM (Tephritid Workers of Europe Africa and the Middle East), Κολυμπάρι, Κρήτη
- 18 – 22 Απριλίου 2012 «Επίδραση της ηλικίας στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)» **Σ. Α. Παπαναστασίου**, Α. Διαμαντίδης, Χ. Νάκας και Ν. Θ. Παπαδόπουλος, 25^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Στατιστικής, Βόλος
- 11 – 14 Οκτωβρίου 2011 «Επίδραση της ηλικίας σύζευξης και της τροφής στα δημογραφικά χαρακτηριστικά θηλυκών της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)», **Σ. Α. Παπαναστασίου** και Ν. Θ. Παπαδόπουλος, 14^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Ναύπλιο
- 26 Σεπτεμβρίου 2010 – 1 Οκτωβρίου 2010 “Age affects the mating competitiveness of male Mediterranean fruit flies”. **S. Papanastasiou**, A. Diamantidis, J. Carey and N. T. Papadopoulos, 8th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, Valencia, Spain
- 3 – 6 Νοεμβρίου 2009 «Επίδραση της ηλικίας στην ανταγωνιστικότητα σύζευξης των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae)». **Σ. Α. Παπαναστασίου**, Α. Διαμαντίδης, Χ. Νάκας και Ν. Θ. Παπαδόπουλος, 13^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Αλεξανδρούπολη

- 27 – 30 Οκτωβρίου 2008 “Geographical distribution and population dynamics of the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae) in Greece”, K. Moraiti, **S. Papanastasiou**, A. Diamantidis, I. Kounatidis, P. Mavragani, K. Bourtzis, B. I. Katsoyannos, and N. T. Papadopoulos, IOBC meeting, Avignon, France
- 9 – 12 Οκτωβρίου 2008 «Γεωγραφική κατανομή και δυναμική πληθυσμών του *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae) στην Ελλάδα», Κ. Μωραΐτη, **Σ. Παπαναστασίου**, Α. Διαμαντίδης, Η. Κουνατίδης, Π. Μαυραγάνη-Τσιπίδου, Κ. Μπούρτζης και Ν. Θ. Παπαδόπουλος, 4^ο Πανελλήνιο Συνέδριο Οικολογίας, Βόλος
- 13 – 16 Νοεμβρίου 2007 «Περάτωση της διάπαυσης και ρύθμιση των ενεργειακών αποθεμάτων σε νύμφες ορεινών και πεδινών πληθυσμών του *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera: Tephritidae)» **Σ. Παπαναστασίου**, Α. Διαμαντίδης, Σ. Ανδρέου και Ν. Θ. Παπαδόπουλος, 12^ο Πανελλήνιο Εντομολογικό Συνέδριο, Λάρνακα, Κύπρος
- 10 – 15 Σεπτεμβρίου 2006 “Population dynamics of the European cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) in a highland and a coastal area of Greece”, Papadopoulos N. T., S. Andreou, A. Diamantidis and **S. Papanastasiou**, 7th International Symposium on Fruit Flies of Economic Importance, Salvador, Bahia, Brazil

ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ

Physiological and biological patterns of a highland and a coastal population of the European cherry fruit fly during diapause. **Stella A. Papanastasiou**, David Nestel, Alexandros D. Diamantidis, Christos T. Nakas, Nikos T. Papadopoulos, *Journal of Insect Physiology* 57 (2011) 83-93.

Dual reproductive cost of aging in male medflies: Dramatic decrease in mating competitiveness and gradual reduction in mating performance. **Stella A. Papanastasiou**, Alexandros D. Diamantidis, Christos T. Nakas, James R. Carey, Nikos T. Papadopoulos, *Journal of Insect Physiology* 57 (2011) 1368-1374.

Effects of *Wolbachia* on fitness of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). A. Sarakatsanou, A. D. Diamantidis, **S. A. Papanastasiou**, K. Bourtzis, N. T. Papadopoulos, *Journal of Applied Entomology* 135 (2011) 554-563.

Dietary effects on sex-specific health dynamics of medfly: Support for the dynamic equilibrium model of aging. Nikos T. Papadopoulos, **Stella Papanastasiou**, Hans-Georg Müller, Jane-Ling Wang, Wenjing Yang, James R. Carey, *Experimental Gerontology* 46 (2011) 1026-1030.

Estimating changes in mean population age using the death distributions of live-captured medflies. J. R. Carey, N. T. Papadopoulos, **S. A. Papanastasiou**, A. Diamantidis, C. T. Nakas, *Ecological Entomology* 37 (2012) 359-369.

Condition-dependent effects of mating on longevity and fecundity of female medflies: the interplay between nutrition and age of mating. **Stella A. Papanastasiou**, Christos T. Nakas, James R. Carey & Nikos T. Papadopoulos, *Plos One* 8(7) (2013): e70181

Description of *Rhagoletis cerasi* pupal developmental stages; Indications of prolonged diapause. Stella A. Papanastasiou and Nikos T. Papadopoulos, Journal of Insect Science (In Press).

ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΚΑΤΑΡΤΙΣΗ

- Σεπτέμβριος 2008 – Ιούνιος 2009
18 Νοεμβρίου 2009
- Απόκτηση παιδαγωγικής κατάρτισης στην Α.Σ.ΠΑΙ.Τ.Ε. Βόλου. Βαθμός: 9,00
- Παρακολούθηση του Συνεδρίου «Πράσινη Επιχειρηματικότητα – Περιβαλλοντικά Πρότυπα» Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.
- 6 Μαΐου 2009
- Παρακολούθηση της Ημερίδας «Νέες Τεχνολογίες στην Εκπαίδευση: Από την κιμωλία στον διαδραστικό πίνακα». 3^ο ΕΠ.Α.Λ. Βόλου.
- 7 Μαΐου 2009
- Παρακολούθηση της Ημερίδας «Αξιοποίηση των ΤΠΕ στις Φυσικές Επιστήμες – Διδακτικά Σενάρια». ΕΚΦΕ Μαγνησίας.
- 9 Οκτωβρίου 2008 – 12 Οκτωβρίου 2008
- Παρακολούθηση του Συνεδρίου «Σύγχρονες Τάσεις της Έρευνας στην Οικολογία», Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας, Βόλος.
- Σεπτέμβριος 2005 – Νοέμβριος 2007
- Μεταπτυχιακό δίπλωμα ειδίκευσης του Διατμηματικού Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών της σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας «Σύγχρονα συστήματα αγροτικής παραγωγής στο Μεσογειακό χώρο με έμφαση στην αειφορική παραγωγή και τη χρησιμοποίηση νέων τεχνολογιών». Κατεύθυνση «Σύγχρονη φυτοπροστασία». Βαθμός: 8,16
Εκπόνηση μεταπτυχιακής διατριβής με τίτλο: «Μελέτη της διάπαυσης ορεινών και πεδινών πληθυσμών της μύγας των κερασιών, *Rhagoletis cerasi* (Diptera: Tephritidae)». Βαθμός Μ.Δ.Ε.: 10,00
- 4 Οκτωβρίου 2007 – 6 Οκτωβρίου 2007
- Παρακολούθηση του σεμιναρίου «Συστήματα ποιότητας στη γεωργία σύμφωνα με τα πρότυπα Agro 2,1 Agro 2,2 και το πρωτόκολλο Eurepgar». Διοργάνωση ΓΕΩΤΕΕ.
- 25 Ιουνίου 2007 – 28 Ιουνίου 2007
- Παρακολούθηση της ταχύρρυθμης θεματικής εκπαίδευσης μελισσοκόμων του νομού Χαλκιδικής με τίτλο: «Μελισσοκομία». Φορέας υλοποίησης Ο.Γ.Ε.Ε.Κ.Α. «ΔΗΜΗΤΡΑ», επιχορήγηση ΥΠ.Α.Α.Τ., εθνικό πρόγραμμα βελτίωσης της παραγωγής και εμπορίας μελιού έτους 2007 (Κα. 797/04/Ε.Ε.).
- 20 Σεπτεμβρίου 2006 – 23 Σεπτεμβρίου 2006
- Παρακολούθηση της Διεθνούς Σύσκεψης "Information Systems in Sustainable Agriculture, Agroenvironmental and Food Technology". Βόλος
- 27 Ιουνίου 2005 – 30 Ιουνίου 2005
- Παρακολούθηση της ταχύρρυθμης θεματικής εκπαίδευσης Εποπών Μελισσοκομίας στο Α.Π.Θ.. Φορέας υλοποίησης Ο.Γ.Ε.Ε.Κ.Α. «ΔΗΜΗΤΡΑ», επιχορήγηση ΥΠ.Α.Α.Τ., εθνικό πρόγραμμα βελτίωσης της παραγωγής και εμπορίας μελιού έτους 2007 (Κα. 797/04/Ε.Ε.).
- Σεπτέμβριος 1999 – Σεπτέμβριος 2004
- Πτυχίο Γεωπονίας κατεύθυνσης Φυτοπροστασίας, Τμήμα Γεωπονίας, Σχολή Γεωτεχνικών Επιστημών, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης. Βαθμός: 6,81

	Εκπόνηση πτυχιακής διατριβής με τίτλο: «Επιλογή ήπιου στελέχους του ιού Υ της πατάτας (PVY) για τη χρήση του στη Σταυροειδή Προστασία», Βαθμός: 10,00, Εργαστήριο Φυτοπαθολογίας, Επιβλέπων Καθηγητής Δρ. Νικόλαος. Ι. Κατής.
12 Οκτωβρίου 2004 – 14 Οκτωβρίου 2004	Παρακολούθηση του 12 ^{ου} Πανελληνίου Φυτοπαθολογικού Συνεδρίου, Καστοριά.
2 Μαρτίου 2004 – 4 Μαρτίου 2004	Παρακολούθηση της 4 ^{ης} Πανελλήνιας Συνάντησης Φυτοπροστασίας με τίτλο «Η Φυτοπροστασία Σήμερα», Λάρισα.
Σεπτέμβριος 2003 – Φεβρουάριος 2004	Σπουδές στο τμήμα Γεωπονίας του Πολυτεχνείου της Βαλένθια (Universidad Politécnica de Valencia) σαν ερασμιακή φοιτήτρια.
Σεπτέμβριος 1995 – Ιούνιος 1998	Φοίτηση στο 7 ^ο Γενικό Λύκειο Λάρισας. Βαθμός απολυτηρίου: 18 και 2/10

ΑΤΟΜΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ

ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ

ΑΓΓΛΙΚΑ	Άριστα, PROFICIENCY OF MICHIGAN
ΙΣΠΑΝΙΚΑ	Άριστα, DIPLOMA SUPERIOR DE ESPANOL
ΓΑΛΛΙΚΑ	Καλά, CERTIFICAT DE LANGUE FRANCAISE

ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ

ΧΕΙΡΙΣΜΟΣ ΗΛΕΚΤΡΟΝΙΚΟΥ ΥΠΟΛΟΓΙΣΤΗ	Windows, Word, Excel, PowerPoint, Internet Πολύ καλή γνώση SPSS λόγω χρήσης και εφαρμογής κατά την ανάλυση δεδομένων στα πλαίσια των σπουδών. Βασικές γνώσεις PhotoShor λόγω χρήσης στα πλαίσια των σπουδών
ΟΡΓΑΝΩΤΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ	Συμβολή στη διαχείριση ερευνητικών έργων και ικανότητα οργάνωσης και διαχείρισης γραφείου λόγω εμπειρίας στη γραμματειακή υποστήριξη του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας της Γεωπονικής Σχολής του Π. Θ. Συμβολή στην καθοδήγηση τεσσάρων πτυχιακών διατριβών υπό την επίβλεψη του Ν. Θ. Παπαδόπουλου.
ΆΛΛΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ ΚΑΙ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ	Ερασιτέχνης μελισσοκόμος. Μέλος της ομάδας Η.Α.Σ.Α.Π. εργαστηρίου τυποποίησης βιολογικής ντομάτας.

**ΚΟΙΝΩΝΙΚΕΣ ΔΕΞΙΟΤΗΤΕΣ
ΚΑΙ ΙΚΑΝΟΤΗΤΕΣ**

15 Μαΐου 2004 – 15
Σεπτεμβρίου 2004

Εργασιακή εμπειρία ως μέλος της διαφημιστικής ομάδας "Big Team" της
μπύρας BUD της εταιρείας AMBYΞ Α.Ε.

ΆΔΕΙΑ ΟΔΗΓΗΣΗΣ

Κατοχή διπλώματος αυτοκινήτου ιδιωτικής χρήσης.

**ΠΡΟΣΘΕΤΕΣ
ΠΛΗΡΟΦΟΡΙΕΣ**

Νικόλαος Θ. Παπαδόπουλος, Αναπληρωτής Καθηγητής, Εργαστήριο
Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας, Τμήμα Γεωπονίας Φυτικής
Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας.
Τηλ.: 2421093285, fax: 2421093285, e-mail: nikorap@uth.gr