

ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
& ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ
Αριθμ. Πρωτοκ. 343
Ημερομηνία 28-2-2011

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

**Επίδραση της ηλικίας των αρσενικών στην περιεκτικότητα σε
σπέρμα των όρχεων της μύγας της Μεσογείου**



Ιωάννα Πλιώτα

Πτυχιακή Διατριβή

Βόλος 2010

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

**Επίδραση της ηλικίας και της τροφής στην ποσότητα
σπέρματος στους όρχεις αρσενικών της μύγας της Μεσογείου**



Ιωάννα Πλιώτα

Πτυχιακή Διατριβή

Βόλος 2010



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ & ΚΕΝΤΡΟ ΠΛΗΡΟΦΟΡΗΣΗΣ
ΕΙΔΙΚΗ ΣΥΛΛΟΓΗ «ΓΚΡΙΖΑ ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ»**

Αριθ. Εισ.: 9475/1
Ημερ. Εισ.: 01-04-2010
Δωρεά: Συγγραφέας
Ταξιθετικός Κωδικός: ΠΤ – ΦΠΑΠ
2010
ΠΛΙ

Περιεχόμενα

Ευχαριστίες.....	2
Περίληψη	3
Summary	4
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	1
1.1 Συστηματική κατάταξη της μύγας της Μεσογείου <i>Ceratitis capitata</i>	1
1.2 Γεωγραφική εξάπλωση	1
1.3 Ξενιστές	3
1.4 Μορφολογία.....	3
1.5 Βιολογία και συμπεριφορά.....	8
1.6 Αντιμετώπιση.....	10
1.7 Σεξουαλική συμπεριφορά της Μύγας της Μεσογείου.....	14
1.8 Παράγοντες που επηρεάζουν τη μεταφορά σπέρματος.....	16
1.9 Σκοπός της διατριβής	19
2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ	20
2.1 Συνθήκες εργαστηρίου και έντομα που χρησιμοποιήθηκαν	20
Εικόνα 8: Ατομικά κλουβάκια όπου διακρίνεται η τροφή, το φυτίλι για το νερό και το άνοιγμα για τον αερισμό.2.2 Μεθοδολογία	22
2.2 Μεθοδολογία.....	23
2.3 Στατιστική ανάλυση.....	24
3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	26
3.1 Θνησιμότητα σε δυο διαφορετικές τροφές	26
3.2 Δυναμική σπέρματος στους όρχεις σε σχέση με την τροφή και την ηλικία.	28
4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	35
4.1 Θνησιμότητα και δυναμική σπέρματος στους όρχεις αρσενικών σε σχέση με την τροφή και την ηλικία	35
4.2 Πρακτική εφαρμογή	36
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	37

Ευχαριστίες

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

Οφείλω ακόμα να ευχαριστήσω τους κ. Γ. Νάνο, Αναπληρωτή Καθηγητή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και κ. Ι. Γούναρη, Καθηγητή του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας για τη συμμετοχή τους στην τριμελή εξεταστική επιτροπή.

Επίσης, ευχαριστώ την ομάδα του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Π. Θ. και ιδιαίτερα την υποψήφια διδάκτορα Σ. Παπαναστασίου για τη βοήθεια και τις χρήσιμες υποδείξεις που μου προσέφερε κατά την εκτέλεση των πειραμάτων και τη συγγραφή του κειμένου, καθώς και τον Αλ. Διαμαντίδη για την ηθική συμπαράσταση καθ' όλη τη διάρκεια των εργασιών μου.

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

Περίληψη

Τα έτη 2008 και 2009 μελετήθηκε η επίδραση της ηλικίας και της τροφής στην ποσότητα τους σπέρματος στους όρχεις των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata*, (Diptera: Tephritidae). Για τη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν έντομα F₂ γενεάς που προέρχονταν από το νομό Μαγνησίας (Αγχιάλος, Καλά Νερά και Αγγριά). Η διεξαγωγή των πειραμάτων έγινε στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας και σε σταθερές συνθήκες θερμοκρασίας 25 ± 2 °C, σχετικής υγρασίας $60 \pm 5\%$ και φωτοπερίοδο 14:10 (Φ:Σ) με τη φωτόφαση να διαρκεί από τις 06:00 έως τις 20:00.

Μετά την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα, 200 αρσενικά τοποθετήθηκαν σε ατομικά κλουβάκια με νερό και τροφή (ζάχαρη ή ζάχαρη με υδρολυμένη πρωτεΐνη). Στις ηλικίες 10, 20, 30, 40 και 50 ημερών 10 αρσενικά από κάθε μεταχείριση αναισθητοποιούνταν, αποχωρίζονταν οι όρχεις και πραγματοποιούνταν εκτίμηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων.

Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι η ηλικία επηρέασε σημαντικά την ποσότητα του σπέρματος στους όρχεις των αρσενικών ενώ η τροφή δεν είχε σημαντική επίδραση στην ποσότητα του σπέρματος. Επίσης, η ηλικία είχε σημαντική επίδραση στη μέση σχετική διαφορά σπερματοζωαρίων στους όρχεις αρσενικών που τρέφονταν σε ζάχαρη εξηγώντας όμως μικρό ποσοστό της παραλλακτικότητας. Τα αποτελέσματα συζητούνται υπό το πρίσμα της ανταγωνιστικότητας των αρσενικών σε σχέση με την ηλικία.

Effect of age and food on the amount of sperm in the testes of male medflies (Diptera: Tephritidae)

Summary

During the years 2008 and 2009 we studied the effect of age and food on the quantity of sperm in the testes of male Mediterranean fruit flies. Flies used in our study were of the F₂ generation and were obtained from field infested fruits collected from the area of Volos. The experiments were conducted in the laboratory of Entomology and Agricultural Zoology of the University of Thessaly, in constant laboratory conditions (Temperature: 25 ± 2 °C, RH: 60 ± 5% and a photoperiod of L14:D10 with photophase starting at 0700 h.

After adult emergence, 200 males were individually maintained in cages (400 ml plastic transparent caps) until reaching the adequate testing age. Males had free access to water and standard adult diet (yeast hydrolysate and sugar or only sugar). At the ages of 10, 20, 30, 40 and 50 days 10 males of each treatment were dissected and the amount of spermatozooids in testes was estimated.

Our results show that age significantly affected the amount of spermatozooids in male testes and that food had no effect on sperm amount. Furthermore, males' age had a weak but significant effect on the relative difference of spermatozooids in the testes of males fed with sucrose only. Our results are discussed in view of male competitiveness in relation to age.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

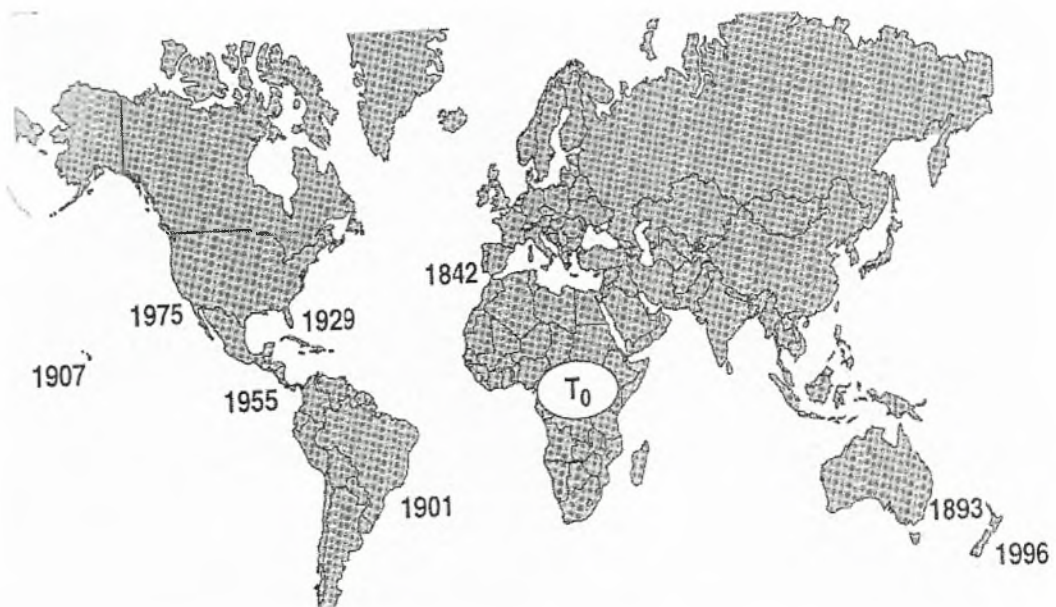
1.1 Συστηματική κατάταξη της μύγας της Μεσογείου *Ceratitis capitata*

Η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* Wiedemann ανήκει στην οικογένεια Tephritidae και στην υποοικογένεια Dacinae των Διπτέρων και θεωρείται ένας από τους σοβαρότερους εντομολογικούς εχθρούς των καρποφόρων δένδρων παγκοσμίως. Στο γένος *Ceratitis* περιλαμβάνονται 78 είδη και 6 υπογένη (De Meyer, 2000). Τα περισσότερα είδη της οικογένειας αυτής είναι φυτοφάγα, λίγα είναι παρασιτοειδή (είδη της υποοικογένειας *Tachiniscinae* όπως το *Bibundia* sp.) και κάποια σαπροφάγα (είδη της υποοικογένειας *Phytalmiinae* όπως τα *Clusiosoma*, *Clusiosomina*, *Rabaulia* κ.α.) (Diaz-Fleischer et al., 2000). Το έντομο εντοπίστηκε και περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Wiedemann το 1824, σε ένα πλοίο που μετέφερε φορτίο φρούτων πιθανότατα από την Αφρικανική ήπειρο (Mitchell & Saul, 1990).

1.2 Γεωγραφική εξάπλωση

Η μύγα της Μεσογείου (*C. capitata*) τα τελευταία 200 χρόνια έχει εξαπλωθεί από το πιθανό σημείο προέλευσης της, την τροπική Αφρική και συγκεκριμένα την περιοχή νοτιοανατολικά της ερήμου Σαχάρα (Kenya), σε έναν μεγάλο αριθμό χωρών, όπως τη λεκάνη της Μεσογείου, την κεντρική και νότια Αμερική και την Αυστραλία (Fletcher, 1989) (Εικόνα 1). Η πρώτη καταγραφή του εντόμου σε Μεσογειακές χώρες όπως την Ισπανία και την Ιταλία έγινε στα μέσα του 18ου αιώνα (Malacrida et al., 1992). Η αποίκιση του εντόμου στην Αυστραλία έγινε το 1893 στην περιοχή Perth (Sproul, 2001).

Η μύγα της Μεσογείου καταγράφηκε για πρώτη φορά στην Αμερικανική ήπειρο και συγκεκριμένα στη Βραζιλία το 1905 (Malacrida et al.,1992), ενώ στα μέσα του περασμένου αιώνα, η μύγα της Μεσογείου εμφανίστηκε στη Βόρεια Αμερική, στις πολιτείες Τέξας, Φλόριδα και Καλιφόρνια. Η πρώτη εμφάνιση του εντόμου στην Καλιφόρνια έγινε το 1975 (Myers et al.,2000). Όμως και σε πολλές χώρες της Ευρώπης, όπως σε Αυστρία, Κύπρο, Γαλλία, Ιταλία, Αλβανία, Μάλτα, Πορτογαλία, Ισπανία, Γιουγκοσλαβία, Βέλγιο, Γερμανία και Ουγγαρία έχει παρατηρηθεί η παρουσία της. (White and Elson-Harris, 1992).



Εικόνα 1: Χάρτης διασποράς του *Ceratitis capitata* χρονολογικά. (T0 : πιθανό αρχικό σημείο προέλευσης) (Οικονόμου, 2006).

1.3 Ξενιστές

Η μύγα της Μεσογείου είναι ένα πολυφάγο και κοσμοπολίτικο έντομο, με περισσότερα από 350 είδη καλλιεργούμενων φυτών-ξενιστών. Προσβολές από το έντομο παρατηρούνται σε ημιώριμους, σχεδόν ώριμους ή και ώριμους καρπούς δέντρων, θάμνων και ποώδων φυτών σε τροπικές, υποτροπικές και εύκρατες περιοχές. Στην Ελλάδα απαντάται από την Κρήτη έως και τις Βόρειες περιοχές και προκαλεί σημαντικές ζημιές σε εσπεριδοειδή, αχλάδια (*Pirus communis*), μήλα (*Malus domestica*), ροδάκινα (*Prunus persica*), βερίκοκα (*Prunus armeniaca*), σύκα (*Ficus carica*) και άλλα φρούτα (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003).

1.4 Μορφολογία

Το ενήλικο έχει μήκος 4-6 mm και πλάτος 1,2-2 mm (Εικόνες 2, 3). Ο θώρακας είναι μαύρος στα νώτα με ανοιχτόχρωμες κηλίδες και η κοιλιά κίτρινη – πορτοκαλοκίτρινη με δυο καστανέρυθρες εγκάρσιες ζώνες και πολλά λεπτά στίγματα. Επίσης, το ενήλικο φέρει μαύρες και καστανές κηλίδες στο θώρακα και στις πτέρυγες. Οι πτέρυγες έχουν μήκος 4,5 mm και είναι διαφανείς με εγκάρσιες μαύρες, καστανές και κίτρινες ζώνες και κηλίδες. Η κεφαλή έχει χρώμα κίτρινο και πιο σκοτεινό ανάμεσα στις βάσεις των κεραιών και μαύρες τρίχες ανάμεσα στους οφθαλμούς. Οι κεραίες είναι καστανέρυθρες και οι σύνθετοι οφθαλμοί λαμπεροί. Τα πόδια είναι κιτρινέρυθρα και οι οπίσθιες κνήμες φέρουν κίτρινες σκληρές τρίχες. Σε σχέση με το αρσενικό το μήκος της κοιλιάς του θηλυκού είναι μεγαλύτερο από το πλάτος της, ενώ ο ωοθέτης είναι κιτρινέρυθρος, με καστανή άκρη και έχει μήκος 0,9-1,3 mm. Το αρσενικό φέρει

δύο έμμισχα ροπαλοειδή εξαρτήματα στο μέτωπο κάτι που το ξεχωρίζει από το θηλυκό (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος 2003).

Το αυγό είναι λείο, λευκό, στενόμακρο, με σχήμα μπανάνας και με διαστάσεις 0,9-1,1 x 0,2 mm (Εικόνα 4). Εισάγεται μέσα στους ιστούς του ξενιστή (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος 2003).

Όπως όλες οι προνύμφες της ίδιας οικογένειας έτσι και αυτή είναι ακέφαλη, στενότερη στο πρόσθιο μέρος του σώματος και σχεδόν κυλινδρική στο οπίσθιο τμήμα της (Εικόνα 5). Το χρώμα της είναι λευκοκίτρινο και οι διαστάσεις της είναι 7-9 x 1,5-2 mm. Στην άκρη της κοιλιάς βρίσκονται δύο οπίσθια αναπνευστικά στίγματα που αποτελούνται από 3 στενόμακρα σε σχήμα σχισμής ανοίγματα το καθένα. (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος 2003).

Το σχήμα της νύμφης είναι ελλειψοειδές, χρώματος ανοιχτοκάστανο ως σκοτεινοκάστανο και με διαστάσεις 4-4,5 x 2-2,5 mm (Εικόνα 6), (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος 2003).



Εικόνα 2: Ενήλικο θηλυκό της μύγας της Μεσογείου. Διακρίνεται ο μαύρος θώρακας με τις ανοιχτόχρωμες κηλίδες, η πορτοκαλοκίτρινη κοιλιά με τις εγκάρσιες ζώνες και ο ωοθέτης
(http://www.fecier.org.ar/detalle_noti.php?id=588)

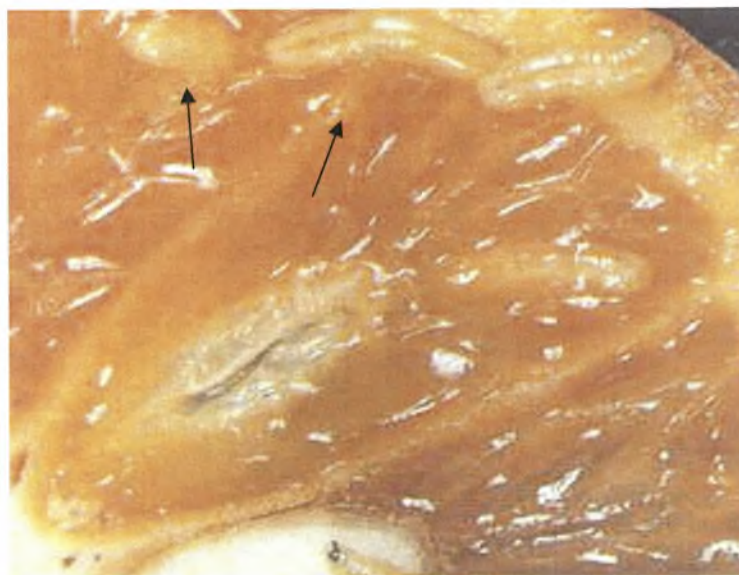


Εικόνα 3: Ενήλικο αρσενικό της μύγας της Μεσογείου. Διακρίνονται τα έμμισχα ροπαλοειδή εξαρτήματα στο μέτωπο
(<http://aramel.free.fr/INSECTES17bis.shtml>).



Εικόνα 4: Αυγά της μύγας της Μεσογείου

(<http://www.forestryimages.org/browse/Archivethumb.cfm?Arc=3&order=58>)



Εικόνα 5: Καρπός εσπεριδοειδούς προσβεβλημένος από προνύμφες της μύγας της Μεσογείου

(http://www.bayercropscience.gr/index.asp?a_id=210&sel1=sel1a,47,39&sel2=sel2a,1&asth_id=237).

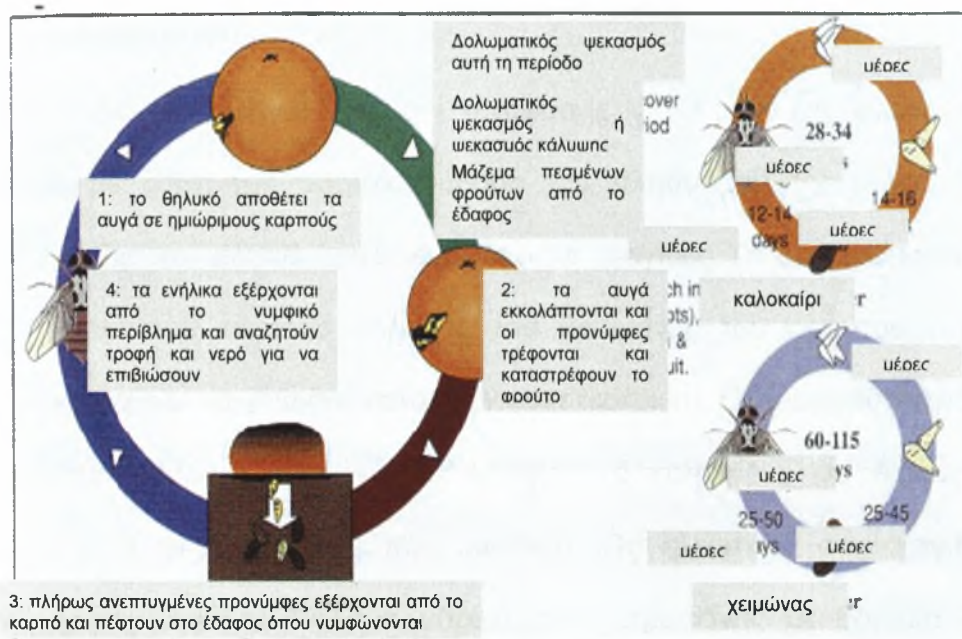


Εικόνα 6: Νύμφες της μύγας της Μεσογείου που βρίσκονται στο έδαφος
(<http://www.amentsoc.org/insects/glossary/terms/puparium>)

1.5 Βιολογία και συμπεριφορά

Η μύγα της Μεσογείου έχει 3 – 7 γενεές το έτος στην Ελλάδα, ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες της κάθε χρονιάς και την περιοχή. Διαχειμάζει κυρίως ως προνύμφη μέσα στους προσβεβλημένους καρπούς που παραμένουν στα δέντρα ή έχουν πέσει στο έδαφος ή ως νύμφη στο έδαφος. Στη περιοχή της Θεσσαλονίκης, που αποτελεί το βορειότερο σημείο εξάπλωσης του είδους και που επικρατούν οι χαμηλότερες θερμοκρασίες, το είδος διαχειμάζει επιτυχώς ως προνύμφη μέσα σε προσβεβλημένα μήλα (Paradopoulos et al., 1996). Το ενήλικο εμφανίζεται την άνοιξη. Τρέφεται με υγρές ζαχαρούχες και αζωτούχες ουσίες όπως νέκταρ, μελιτώδη απεκκρίματα κοκκοειδών ή και ουσίες που μπορεί το σάλιο του να τις ρευστοποιήσει για να τις καταπιεί με την εκτατή σπογγίζουσα, μυζητική προβοσκίδα του. Τρεφόμενο για λίγες ημέρες, ωριμάζει αναπαραγωγικά και αφού συζευχθεί, το θηλυκό ανοίγει οπή στο επικάρπιο ή στο μεσοκάρπιο των καρπών-ξενιστών χρησιμοποιώντας τον ωθέτη και τοποθετεί 1 – 6 αυγά στο βάθος της οπής. Ακόμα, το θηλυκό μπορεί να ωτοκήσει σε σχισμές ή τραύματα του φλοιού καρπών ή και σε οπές ωτοκίας άλλων θηλυκών του είδους του και οι προνύμφες αναπτύσσονται σε ώριμους καρπούς (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Οι προνύμφες βρίσκονται η μια κοντά στην άλλη και κατατρώγουν τους ιστούς του ώριμου ή σχεδόν ώριμου καρπού, ορύσσοντας στοές στην σάρκα του. Ακόμα όμως και μετά τη συγκομιδή του καρπού συνεχίζεται η δραστηριότητα των προνυμφών και σε έναν καρπό σχετικά μεγάλου μεγέθους μπορεί να βρεθούν μέχρι και 100 προνύμφες. Εκτός της άμεσης ζημιάς που προκαλείται από την βρώση με τους ιστούς του ξενιστή οι προνύμφες προκαλούν μόλυνση του καρπού με βακτήρια, μύκητες και άλλους

μικροοργανισμούς που επιτείνουν τη ζημιά. Όταν ο καρπός αρχίζει να σαπίζει τότε ωτοκοούν εκεί ορισμένα σαπροφάγα έντομα, τα *Lamprolonchaea spp.*, *Drosophila spp.*, ή *Carpophilus spp.* (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Σε περιοχές όπου κατά κανόνα δεν γίνεται καταπολέμησή της, η πυκνότητα πληθυσμού της μύγας της Μεσογείου και οι ζημιές της είναι μεγαλύτερες προς το τέλος της θερμής εποχής (Αύγουστο-Νοέμβριο). Το έντομο ωτοκεί σε όποια είδη καρπών βρίσκει κάθε εποχή και μπορεί να πετάξει σε αποστάσεις εκατοντάδων μέτρων για να βρει κατάλληλο καρπό για ωτοκόκια. Συνεπώς, σε περιοχές όπου το σχετικό ζεστό κλίμα ευνοεί την ανάπτυξη του εντόμου και ιδιαίτερα όπου υπάρχει ποικιλία ειδών-ξενιστών, ο κίνδυνος προσβολής υπάρχει σχεδόν κάθε χρονιά (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003).



Εικόνα 7: Ο κύκλος ζωής της μύγας της Μεσογείου και η διάρκεια του κάθε σταδίου σε χαμηλές και υψηλές θερμοκρασίες (Ταταρή, 2006)

1.6 Αντιμετώπιση

Στόχος της αντιμετώπισης της μύγας της Μεσογείου είναι η προστασία των καρπών από την έναρξη της ωρίμανσής τους. Τα μέτρα που λαμβάνονται συνήθως αρχίζουν την περίοδο που τα φρούτα αλλάζουν το χρώμα τους, από πρασινωπό προς το κίτρινο ή πορτοκαλόχρουν (Υπουργείο Γεωργίας Κύπρου, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωργίας, Σεπτέμβριος, 2005). Η αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου μπορεί να γίνει με χημικά μέσα όπως με ψεκασμούς καλύψεως ή δολωματικούς ψεκασμούς, καθώς επίσης και με βιολογικές μεθόδους όπως η εξαπόλυση στείρων εντόμων ή παρασίτων. Απαραίτητη προϋπόθεση για την εφαρμογή των παραπάνω μεθόδων αποτελεί η εκτίμηση του μεγέθους του πληθυσμού με τη χρήση παγίδων διαφόρων τύπων.

Τα τελευταία χρόνια η λήψη απόφασης για εφαρμογή ψεκασμών λαμβάνεται με βάση την παρακολούθηση του πληθυσμού της μύγας της Μεσογείου. Για το σκοπό αυτό αναρτούνται παγίδες (π.χ. φερομονικές, τροφικές) κατά την περίοδο αλλαγής του χρώματος του φρούτου (πριν αρχίσουν οι καρποί να γίνονται κατάλληλοι για ωτοκία). Οι τροφικές παγίδες που χρησιμοποιούνται είναι τύπου McPhail (δακοπαγίδες σε διάφορες παραλλαγές) ή φερομονικές τύπου Jackson. Ως ελκυστικό στις παγίδες McPhail χρησιμοποιείται διάλυμα υδρολυμένης πρωτεΐνης με βόρακα ως συντηρητικό, ενώ στις παγίδες τύπου Jackson χρησιμοποιείται η συνθετική παραφερομόνη trimedlure η οποία ελκύει τα αρσενικά (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Οι επιθεωρήσεις των παγίδων γίνονται κάθε εβδομάδα. Όταν συλλαμβάνονται 7 μύγες/παγίδα/εβδομάδα πραγματοποιείται ψεκασμός.

Όταν υπάρχει υψηλός πληθυσμός κατά την αλλαγή του χρώματος των φρούτων συστήνεται πρώτα η διενέργεια ενός καθολικού ψεκασμού με ένα κατάλληλο συνθετικό Πυρεθροειδές εντομοκτόνο ή Μαλάθειο ή Σπινোসάτ (Τρέισερ). Στη συνέχεια εφαρμόζονται δολωματικοί ψεκασμοί. Συνήθως οι δολωματικοί ψεκασμοί επαναλαμβάνονται κάθε 7 με 10 και εκτός από το εντομοκτόνο στο ψεκαστικό διάλυμα προστίθεται και ένα ελκυστικό. Το ελκυστικό είναι υδρόλυμα πρωτεϊνών ή φυσικό ή συνθετικό προϊόν αποσύνθεσης πρωτεϊνούχων ουσιών. Η ελκυστικότητα του οφείλεται, σε μεγάλο βαθμό, στην έκλυση αμμωνίας. Τέτοια ελκυστικά υγρά είναι τα Alma Dacus, Buminal, Dacona, Daconyl, Dacus Bait, Entomela, Nulure κ.α. (Τζανακάκης & Κατσόγιαννος, 2003). Για τους δολωματικούς ψεκασμούς συστήνεται Μαλάθειο: 50% βρέξιμη σκόνη στη δόση των 250-300 gr μαζί με 150-300 cm³ υδρολυμένης πρωτεΐνης σε 10 λίτρα νερό. Επίσης, μπορεί να χρησιμοποιηθεί το εντομοκτόνο Σπινোসάτ: 5 cm³ με 150-300 cm³ υδρολυμένης πρωτεΐνης σε 10 λίτρα νερό ή το έτοιμο δόλωμα Σαξές: 1 λίτρο σε 9 λίτρα νερό.

Οι δολωματικοί ψεκασμοί πρέπει να εφαρμόζονται στη νοτιοδυτική πλευρά του δέντρου δηλαδή εκεί που ο φωτισμός υπάρχει τις περισσότερες ώρες της ημέρας, σε χονδρές σταγόνες (300 cm³ ψεκαστικό υλικό) και να καλύπτουν επιφάνεια 1 m². Το σύστημα που πρέπει να ακολουθείται είναι ένα δέντρο να ψεκάζεται και το επόμενο να μένει αψέκαστο ή μια σειρά δέντρων να ψεκάζεται και η επόμενη σειρά δέντρων να μένει αψέκαστη. Για να εξασφαλίζονται καλύτερα αποτελέσματα, εκτός από όσα αναφέρθηκαν, πρέπει να ακολουθούνται πιστά οι οδηγίες που αναγράφονται στην ετικέτα των φυτοφαρμάκων και οι γεωργοί να συμβουλευονται το γεωπόνο της

περιφέρειας τους. Οι ψεκαστές, επίσης, πρέπει να λαμβάνουν όλα τα προστατευτικά μέτρα, όπως να φορούν κατάλληλη στολή και μάσκα κτλ., ώστε να αποφεύγονται τα οποιαδήποτε ατυχήματα (Υπουργείο Γεωργίας Κύπρου, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωργίας, Σεπτέμβριος, 2005).

Παράλληλα, τα τελευταία χρόνια γίνονται προσπάθειες για την ανάπτυξη άλλων τρόπων αντιμετώπισης με θετικά αποτελέσματα. Για παράδειγμα, η βιολογική καταπολέμηση, δηλαδή η χρήση φυσικών εχθρών δίνει καλά αποτελέσματα στην αντιμετώπιση αρκετών ειδών εντόμων. Μέχρι σήμερα η αντιμετώπιση της μύγας της Μεσογείου με τη χρήση φυσικών εχθρών δεν έχει δώσει ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Για το λόγο αυτό ο παραγωγός δεν μπορεί να στηριχθεί αποκλειστικά στη μέθοδο αυτή για προστασία της παραγωγής του (Υπουργείο Γεωργίας Κύπρου, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος, Τμήμα Γεωργίας, Σεπτέμβριος, 2005). Στη χώρα μας έχει γίνει μόνο μια προσπάθεια με το παρασιτοειδές *Dirhinus giffardii* (Silvestri) που εισήχθη από το Ισραήλ το 1962 και εξαπολύθηκε στη νότια ηπειρωτική Ελλάδα, χωρίς ωστόσο να ξαναβρεθεί από τότε (Paradopoulos & Katsogyannos, 2003). Πρόσφατα εντοπίστηκε στην Ελλάδα το παρασιτοειδές *Aganaspis daci* (Weld) σε νύμφες της μύγας της Μεσογείου που προέρχονταν από προσβεβλημένα σύκα στο νησί της Χίου. Τα σχετικά υψηλά ποσοστά παρασιτισμού που παρατηρήθηκαν (περίπου 62 και 65% κατά τα έτη 1999 και 2000 αντίστοιχα) δείχνουν ότι το παρασιτοειδές αυτό μπορεί να παίξει σημαντικό ρόλο στη βιολογική καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου. Υπάρχουν επίσης φυσικοί εχθροί του εντόμου που ανήκουν στα Υμενόπτερα, στην οικογένεια Braconidae. Ένα από τα πιο γνωστά είδη είναι το

Diachasmimorpha tryoni (Cameron), το οποίο έχει χρησιμοποιηθεί σε μαζικές εξαπολύσεις για την καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου, χωρίς όμως ενθαρρυντικά αποτελέσματα. Ακόμα, έχει αναφερθεί θανάτωση μεγάλου αριθμού προνυμφών του εντόμου στο έδαφος από το μυρμήγκι *Pheidole megacephala* (Mitchell & Saul, 1990).

Ακόμη, η μέθοδος του ασύμβατου εντόμου (I.I.T.) βρίσκεται προς το παρόν σε πειραματικό επίπεδο αλλά μπορεί μελλοντικά να συμβάλλει στον έλεγχο της μύγας της Μεσογείου. Η μέθοδος αυτή εκμεταλλεύεται την παρουσία συμβιωτικών βακτηρίων τα οποία προκαλούν κυταροπλασματική ασυμβατότητα και μπορούν να χρησιμοποιηθούν για τη μείωση του μεγέθους του φυσικού πληθυσμού του εντόμου – εχθρού. Χαρακτηριστικά παραδείγματα βακτηρίου είναι η *Wolbachia* η οποία εντοπίζεται σε μεγάλο αριθμό αρθροπόδων (Zabalou et al., 2004).

Η μέθοδος στείρωσης των εντόμων (SIT- Sterile Insect Technique) είναι μια τεχνική που έγκειται στην εκτροφή και στείρωση των αρσενικών ατόμων με ακτινοβολία γ, όταν αυτά βρίσκονται στο στάδιο της νύμφης. Τα αρσενικά αυτά εξαπολύονται στον αγρό, συζευγνύονται με άγρια θηλυκά τα οποία στη συνέχεια γεννούν αυγά που δεν εκκολάπτονται. Συνήθως εξαπολύονται 100 στείρα αρσενικά για κάθε άγριο θηλυκό που υπάρχει στην περιοχή (Hagen et al. 1981). Η μέθοδος αυτή είναι αρκετά αποτελεσματική και εφαρμόστηκε με επιτυχία στο Μεξικό όπου και οδήγησε στην εξάλειψη της μύγας της Μεσογείου, ενώ δοκιμάστηκε σε συνδιασμό με εντομοκτόνα σε διάφορες περιοχές όπως Κύπρο, Ισραήλ, Ιταλία, Ισπανία, κεντρική Αμερική και Περού με επιτυχία (Hendrichs et al., 1983). Επίσης εφαρμόστηκε πειραματικά σε πορτοκαλεώνες της κοιλάδας του Φόδελε Ηρακλείου Κρήτης

από το 1994 μέχρι και το 1996 με ενθαρρυντικά αποτελέσματα (Econoποπουλος et al., 1996). Η μέθοδος εξαπόλυσης στείρωμένων εντόμων μπορεί να εφαρμοστεί σε μεγάλες περιοχές από κρατικούς φορείς μια και είναι πέραν των δυνατοτήτων μεμονωμένων καλλιεργητών.

Η μύγα της Μεσογείου είναι ένα ιδιαίτερα επικίνδυνο πολυφάγο έντομο και εχθρός καραντίνας για πολλούς διεθνείς οργανισμούς φυτοπροστασίας (EPPO, APPPC, COSAVE, OIRSA, PPPO κ.ά.). Λόγω της οικονομικής σπουδαιότητας του εντόμου, οι νόμοι της καραντίνας στοχεύουν στην παρεμπόδιση εισόδου και εγκατάστασης των εντόμων σε περιοχές όπου δεν έχουν εγκατασταθεί ήδη και εφαρμόζονται με ιδιαίτερη αυστηρότητα. Η μύγα της Μεσογείου αποτελεί έντομο καραντίνας για τα επιτραπέζια σταφύλια ποικιλίας Σουλτανίνας στο Ν. Ηρακλείου, όπου παρατηρήθηκαν για πρώτη φορά εκτεταμένες προσβολές τον Αύγουστο του 2007 και το 2008 παρατηρήθηκαν σημαντικές αλλά εντοπισμένες ζημιές σε Ηράκλειο, Σητεία και Ρέθυμνο. Έχουν αναφερθεί ακόμα προσβολές σε σταφύλια σε πολλές χώρες όπως είναι η Ιταλία και η Νότια Αφρική. Θεωρείται απαραίτητη η παρακολούθηση του εντόμου σε αμπελώνες επιτραπέζιων σταφυλιών πριν και κατά την διάρκεια της ωρίμανσης, ώστε να σχεδιαστούν και να εφαρμοστούν έγκαιρα μέτρα για την προστασία του πολύ σημαντικού εξαγωγικού αυτού προϊόντος για την τοπική οικονομία (Ροδιτάκης και συνεργάτες, 2008).

1.7 Σεξουαλική συμπεριφορά της Μύγας της Μεσογείου

Η σεξουαλική συμπεριφορά του εντόμου βασίζεται στις συναθροίσεις των αρσενικών (γνωστές ως «leks»), στην κάτω επιφάνεια των φύλλων – φυτών ξενιστών, όπου εκλύουν σεξουαλική φερομόνη με σκοπό την

προσέλκυση των θηλυκών (Prokory & Hendricks, 1979). Τα leks αποτελούνται από 2-10 αρσενικά τα οποία εκλύουν τη φερομόνη από τους πρωκτικούς επιθηλιακούς αδένες τους (Prokory & Hendricks, 1979). Τα leks δημιουργούνται αργά το πρωί ή νωρίς το απόγευμα στους θόλους των δέντρων και συνήθως προτιμώνται μεμονωμένα φύλλα ως σημεία συζεύξεων (Prokory & Hendricks, 1979). Τα αναπαραγωγικά ώριμα θηλυκά προσελκύονται από τη φερομόνη και επισκέπτονται τα leks με σκοπό τη σύζευξη.

Όταν ένα θηλυκό προσεγγίσει ένα αρσενικό τότε το δεύτερο ξεκινάει μια σειρά πολύπλοκων κινήσεων, την ερωτοτροπία, και τελικά δοκιμάζει να συζευχθεί με το θηλυκό. Το θηλυκό είτε αποδέχεται το αρσενικό οπότε ακολουθεί η σύζευξη είτε απορρίπτει την προσπάθεια του αρσενικού. Υπάρχουν περιπτώσεις όπου το θηλυκό είναι εξαιρετικά εκλεκτικό και καταφεύγει σε μια σειρά απορρίψεων πριν αποδεχτεί ένα αρσενικό για σύζευξη (Whittier et al. 1994). Τα περισσότερα αρσενικά καταφέρνουν να εξασφαλίσουν πολλές συζεύξεις ενώ άλλα λιγότερες ή καθόλου. Κάποια αρσενικά υιοθετούν μια εναλλακτική τακτική σύζευξης κατά την οποία «περιφρουρούν» κάποιο φρούτο προκειμένου να συζευχθούν με τα θηλυκά που θα επισκεφτούν το φρούτο. Υπάρχουν μάλιστα ενδείξεις ότι αρσενικά που δεν ακολουθούν τη στρατηγική αυτή μπορεί να μην συζευχθούν τη συγκεκριμένη μέρα ή ακόμα και ποτέ (Prokory & Hendricks, 1979).

Όταν βρίσκονται στα φύλλα τα αρσενικά παράγουν ένα σύνολο οσφρητικών, ακουστικών και οπτικών σημάτων που προσελκύουν τα θηλυκά στα leks. Η μύγα της Μεσογείου παράγει συγκεκριμένους τύπους ήχων χτυπώντας τα φτερά της κατά τη διάρκεια της ερωτοτροπίας και της σύζευξης.



Τα αρσενικά άτομα παράγουν τρεις διαφορετικούς τύπους ήχων πριν την επίτευξη της σύζευξης. Αρχικά χρησιμοποιούν τον ήχο του καλέσματος, που μπορεί να διαρκέσει από μερικά δευτερόλεπτα έως και μερικά λεπτά. Ο ήχος της ερωτοτροπίας ξεκινά όταν τα αρσενικά πλησιάζουν τα θηλυκά και χρησιμοποιούν τον ήχο για να επιβληθούν. Ο ήχος της σύζευξης γίνεται από τα αρσενικά αφού έχει γίνει η επιλογή του θηλυκού και πριν το ζευγάρωμα.

Η διάρκεια σύζευξης του εντόμου επηρεάζει σημαντικά την αρμοστικότητα του. Τα αρσενικά χρησιμοποιούν το χρόνο της σύζευξης όχι μόνο για να μεταφέρουν σπέρμα αλλά και για να εμποδίσουν άλλα αρσενικά να συζευχθούν με τα θηλυκά και έτσι επιτυγχάνουν να αποθηκευτεί περισσότερο δικό τους σπέρμα (Thornhill & Alcock 1983). Επομένως οι μεγαλύτερης διάρκειας συζεύξεις μπορούν να αυξήσουν την επιτυχία επιλογής σπέρματος του συγκεκριμένου αρσενικού.

Οι συζεύξεις αρσενικών με στερημένη διατροφή σε πρωτεΐνη διαρκούν περισσότερο, πιθανώς λόγω της μικρότερης δυνατότητάς τους να πετύχουν περισσότερες συζεύξεις. Η συμπεριφορά αυτή μπορεί να σχετίζεται και με την αδυναμία των θηλυκών να αναγκάσουν τα αρσενικά να αποσυνδεθούν. Μια άλλη εκδοχή είναι ότι τα θηλυκά λαμβάνουν ένα θρεπτικό όφελος από τα αρσενικά κατά τη διάρκεια της σύζευξης. Σε αυτή την περίπτωση οι συζεύξεις που διαρκούν περισσότερο αντιπροσωπεύουν έναν συνδυασμό συμφερόντων τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών (Field & Yuval, 1999).

1.8 Παράγοντες που επηρεάζουν τη μεταφορά σπέρματος

Τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου παράγουν πολύ περισσότερο σπέρμα από αυτό που πραγματικά αποθηκεύεται στις σπερmothήκες των θηλυκών. Οι Pitnick & Markow (1994) βρήκαν σημαντικές διαφορές στην

ποσότητα σπέρματος που παράγεται και σε αυτή που αποθηκεύεται από τα θηλυκά άτομα του *Drosophila nanoptera*. Επίσης, ο Eady (1994, 1995) τεκμηρίωσε ότι το αρσενικό του *Callosobruchus maculatus*, παράγει 85% περισσότερο σπέρμα από αυτό που μπορεί να αποθηκευτεί στις σπερμοθήκες του θηλυκού.

Η ηλικία των αρσενικών *C. capitata* επηρεάζει την διάρκεια της σύζευξης (Field & Yuval, 1999; Field et al., 1999; Taylor & Yuval, 1999), ενώ η διατροφή των αρσενικών επηρεάζει την ποσότητα του σπέρματος που μεταφέρεται στα θηλυκά (Taylor & Yuval, 1999). Συγκεκριμένα, νεαρά αρσενικά ηλικίας 8 ημερών μετέφεραν μεγαλύτερη ποσότητα σπέρματος όταν είχαν μεγαλύτερο μέγεθος και πέτυχαν μικρότερης διάρκειας συζεύξεις όταν τρέφονταν με ζάχαρη και πρωτεΐνη (Field & Yuval, 1999; Field et al., 1999; Taylor & Yuval, 1999).

Ορισμένα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου συζευγνύονται περισσότερες από μια φορές κατά τη διάρκεια της ζωής τους (Prokopy & Hendrichs, 1979), μια συνήθεια που ενισχύει σημαντικά την αρμοστικότητά τους ενώ η τάση των θηλυκών για επανασύζευξη μειώνεται όσο περισσότερο καλύπτονται οι ανάγκες τους σε σπέρμα.

Στα θηλυκά το σπέρμα αποθηκεύεται σε ένα ζεύγος ειδικών οργάνων, τις σπερμοθήκες, που χρησιμεύουν επιπλέον για τη συντήρηση, προστασία και ενεργοποίηση του σπέρματος κατά τη γονιμοποίηση των αβγών. Η αποθήκευση του σπέρματος πραγματοποιείται κατά τη σύζευξη (Farrías et al., 1972) που διαρκεί κατά μέσο όρο 2 ώρες. Το 94% του συνολικού σπέρματος βρίσκεται στις σπερμοθήκες αμέσως μετά ή ακόμα και πριν το τέλος της σύζευξης (Seo et al., 1990). Ωστόσο, αρκετή ποσότητα σπέρματος διατηρείται

και σε άλλα σημεία του αναπαραγωγικού συστήματος του θηλυκού (Seo et al., 1990) σε αντίθεση με άλλα Tephritidae όπου δεν ανιχνεύτηκαν σπερματοζωάρια σε άλλα σημεία του αναπαραγωγικού συστήματος του θηλυκού εκτός από τις σπερμοθήκες (Solinas & Nuzzaci, 1984). Η ποσότητα και η κατανομή του σπέρματος στις σπερμοθήκες μετά την πρώτη σύζευξη ποικίλουν και εξαρτώνται από τις ανάγκες του θηλυκού σε σπέρμα για τη γονιμοποίηση των αβγών και την τάση του για επανασύζευξη (Yuval et al., 1996).

Τα συνοδευτικά εκκρίματα προστατεύουν και διατηρούν ζωντανά τα σπερματοζωάρια και επηρεάζουν τη συμπεριφορά του θηλυκού. Συγκεκριμένα, ουσίες που περιέχονται στα συνοδευτικά εκκρίματα του σπέρματος, ενδέχεται να παρατείνουν τη ζωή των θηλυκών (Whittier & Kaneshiro, 1991) και να καταστέλλουν την επανασύζευξη (Jang, 1995). Μια μικρή ποσότητα σπέρματος, η οποία μεταφέρεται στο θηλυκό νωρίς κατά τη σύζευξη, πιθανώς απορροφάται από τα θηλυκά ως nuptial gift (Thornhill & Alcock, 1983).

Μετά τη σύζευξη με κάποιο αναπαραγωγικά ώριμο αρσενικό, η ποσότητα του σπέρματος στις σπερμοθήκες του θηλυκού κυμαίνεται μεταξύ 100 ή περισσότερων από 8000 σπερματοζωάρια, με τις περισσότερες έρευνες να δίνουν μέσους όρους κοντά στα 2500-3500 σπερματοζωάρια (Seo et al., 1990; Yuval et al., 1996; Taylor & Yuval, 1999; Taylor et al., 2000). Τα θηλυκά που συζευγνύονται με αρσενικά που τρέφονται με πρωτεΐνη, αποθηκεύουν περισσότερο σπέρμα (μέσος όρος 3693 σπερματοζωάρια) από ότι τα θηλυκά που συζευγνύονται με αρσενικά που τρέφονται μόνο με ζάχαρη (μέσος όρος 3037 sperm cells) (Taylor & Yuval, 1999).

1.9 Σκοπός της διατριβής

Η σεξουαλική συμπεριφορά της μύγας της Μεσογείου έχει μελετηθεί εκτενώς. Σήμερα είναι γνωστό ότι το είδος της τροφής των αρσενικών επηρεάζει τη σεξουαλική τους συμπεριφορά και την επιτυχία της σύζευξης (Yuval et al. 1998, Field & Yuval 1999, Yuval et al. 2002) όπως επίσης και τη μεταφορά και αποθήκευση του σπέρματος (Blay & Yuval 1997, Taylor et al. 2000). Ωστόσο δεν υπάρχουν μέχρι στιγμής αποτελέσματα αναφορικά με την επίδραση της τροφής στη δυναμική των αρσενικών σε σπέρμα. Επιπλέον, η ηλικία των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου επιδρά στη μεταφορά και αποθήκευση του σπέρματος στις σπερμοθήκες των θηλυκών (Taylor et al. 2001) χωρίς όμως να είναι γνωστή η επίδραση της ηλικίας στην ποσότητα του σπέρματος στους όρχεις των αρσενικών.

Ο σκοπός της παρούσας διατριβής είναι η μελέτη της επίδρασης της ηλικίας και της τροφής στην ποσότητα του σπέρματος των αρσενικών της μύγας της Μεσογείου. Συγκεκριμένα εστιάζει στην ποσότητα σπέρματος που φέρουν αρσενικά ηλικίας 10, 20, 30, 40 και 50 ημερών όταν τρέφονται με ζάχαρη και πρωτεΐνη ή μόνο με ζάχαρη.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Συνθήκες εργαστηρίου και έντομα που χρησιμοποιήθηκαν

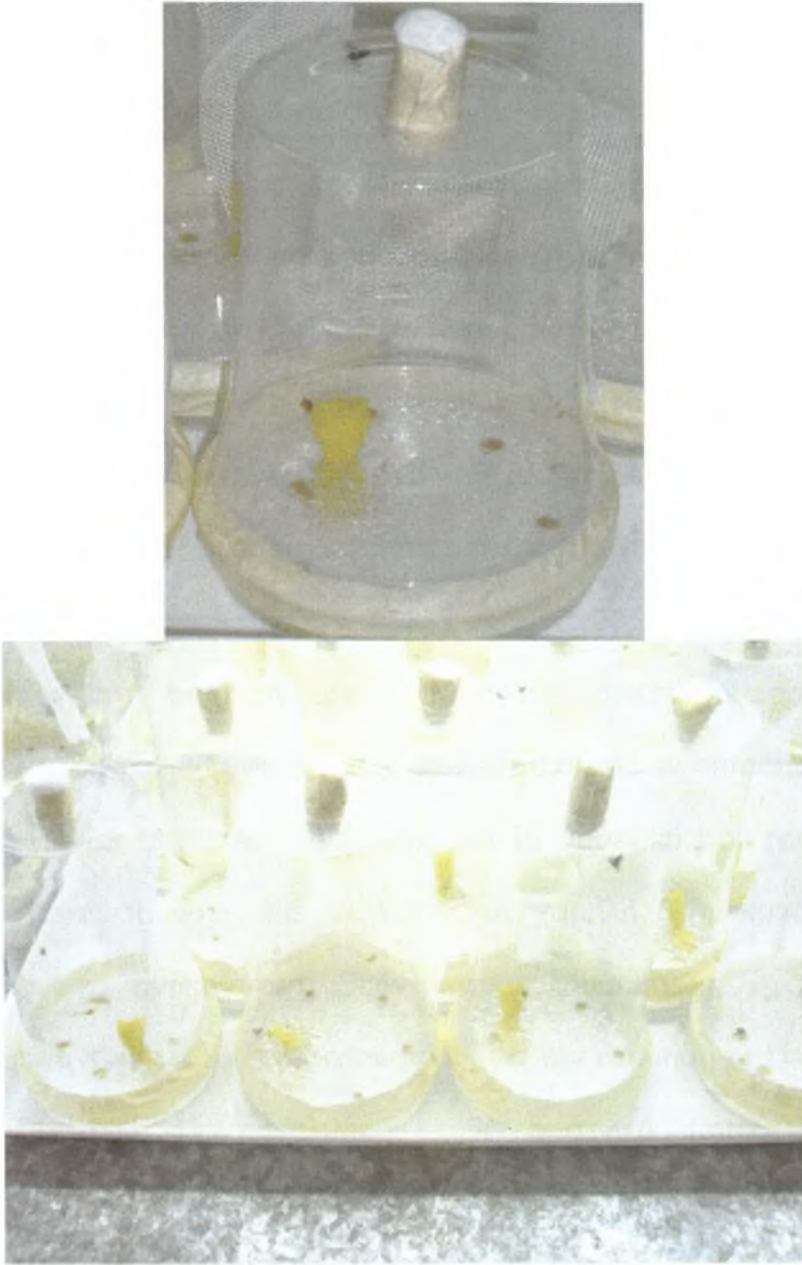
Τα πειράματα πραγματοποιήθηκαν κατά τη χρονική περίοδο 2008 και 2009 στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος της Σχολής Γεωπονικών Επιστημών του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Η διεξαγωγή των πειραμάτων έγινε σε χώρους με σταθερές συνθήκες και συγκεκριμένα σε θερμοκρασία 25 ± 2 °C, σχετική υγρασία $60 \pm 5\%$ και φωτοπερίοδο 14:10 (Φ:Σ) με τη φωτόφαση να διαρκεί από τις 06:00 έως τις 20:00. Η πηγή του τεχνητού φωτισμού προερχόταν από λαμπτήρες φθορίου και συμπληρωνόταν από φυσικό φως που εισερχόταν στο δωμάτιο από ένα παράθυρο βορεινής έκθεσης.

Για τη διεξαγωγή των πειραμάτων χρησιμοποιήθηκαν έντομα που εκτράφηκαν για δύο γενιές στο εργαστήριο (F_2) και προήλθαν από άγριο τοπικό πληθυσμό της μύγας της Μεσογείου. Για την απόκτηση του άγριου πληθυσμού συλλέχθηκαν προσβεβλημένοι καρποί (κυρίως εσπεριδοειδή) από την Αγχίαλο Μαγνησίας. Οι προσβεβλημένοι καρποί μεταφέρθηκαν στο εργαστήριο σε σταθερές συνθήκες ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) και τοποθετήθηκαν σε πλαστικές λεκάνες, επάνω σε λεπτό στρώμα αποστειρωμένης άμμου που αποτελούσε το υπόστρωμα νύμφωσης. Οι νύμφες συλλέχθηκαν, τοποθετήθηκαν σε πλαστικά τρυβλία διαμέτρου 5cm και αποτέλεσαν τον άγριο πληθυσμό από τον οποίο προήλθαν τα αρσενικά που χρησιμοποιήθηκαν στο πείραμα.

Λεπτομέρειες της εκτροφής δίνονται από τον Diamantidis και συνεργάτες (2008).

Για τη διατήρηση των εντόμων μέχρι την επιθυμητή ηλικία χρησιμοποιήθηκαν ατομικά πλαστικά κλουβάκια. Το κάθε κλουβί αποτελούνταν από ένα πλαστικό ποτήρι που η μια του πλευρά ήταν ανοιχτή με προσαρμοσμένο ένα κομμάτι οργανίνης που επέτρεπε τον αερισμό, ενώ στο κάτω μέρος ήταν κολλημένο με χαρτοταινία το πάνω τμήμα ενός τριβλίου Petri. Στη βάση του κλουβιού τοποθετήθηκε η τροφή (υδρολυμένη πρωτεΐνη ή ζάχαρη και νερό σε αναλογία 1/3) καθώς επίσης και ένα φυτίλι προσαρμοσμένο σε μια μικρή τρύπα, που διαβρεχόταν με νερό από την κάτω βάση του τριβλίου. Τα ατομικά κλουβάκια τοποθετήθηκαν ανά 11 σε πλαστικούς δίσκους (Εικόνα 8 α, β).

Επίσης, για τους σκοπούς του πειράματος χρησιμοποιήθηκαν στερεοσκόπιο, μικροσκόπιο, 3 πιπέτες Pipetman P₂₀, P₁₀₀, P₂₀₀, μικροπλάκες ELISA, ένα Vortex VELP SCIENTIFICA Zx3 και αντιδραστήρια για την προετοιμασία των παρασκευασμάτων μέτρησης του σπέρματος.



Εικόνα 8: Ατομικά κλουβάκια όπου διακρίνεται η τροφή, το φυτίλι για το νερό και το άνοιγμα για τον αερισμό.

2.2 Μεθοδολογία

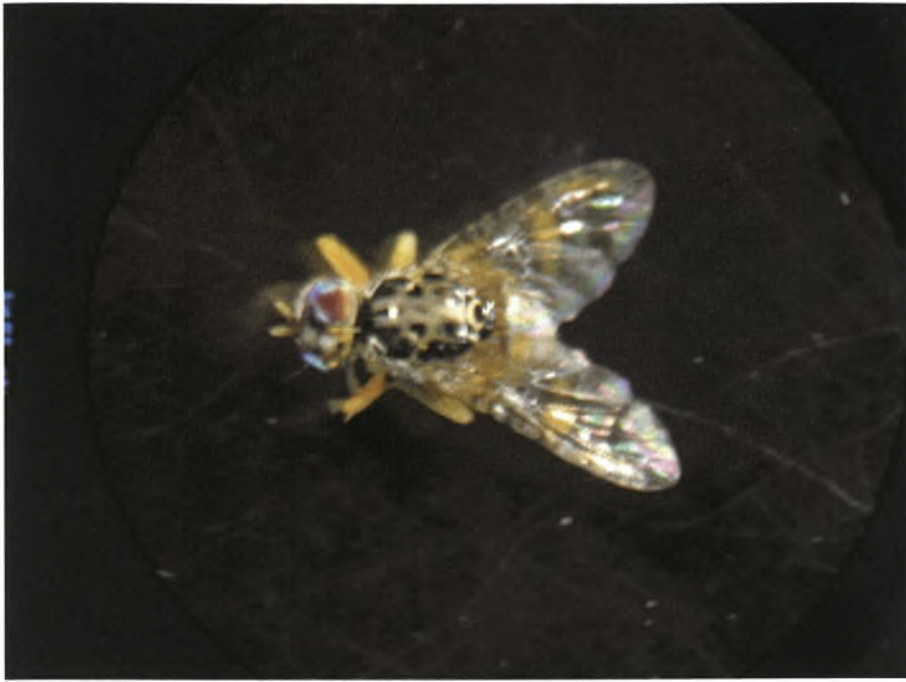
Μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα τα αρσενικά τοποθετήθηκαν ατομικά στα κλουβάκια με τροφή και νερό. Συνολικά 229 αρσενικά τοποθετήθηκαν σε κλουβιά με πρόσβαση σε ζάχαρη και πρωτεΐνη και 231 αρσενικά διατηρήθηκαν σε κλουβιά με πρόσβαση μόνο σε ζάχαρη. Κάθε 10 ημέρες καταγράφονταν και απομακρύνονταν τα νεκρά αρσενικά και ανανεωνόταν το νερό στα κλουβιά ενώ καθ' όλη τη διάρκεια του πειράματος τα έντομα είχαν απεριόριστη πρόσβαση στην αντίστοιχη τροφή.

Όπως προαναφέρθηκε στις ηλικίες των 10, 20, 30, 40 και 50 ημερών πραγματοποιήθηκε εκτίμηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων στους όρχεις των αρσενικών. Συγκεκριμένα, σε κάθε μια από τις παραπάνω ηλικίες 10 αρσενικά που τρέφονταν σε ζάχαρη και 10 αρσενικά που τρέφονταν σε πρωτεΐνη τοποθετούνταν, για 10 λεπτά, σε χαμηλή θερμοκρασία ($-4\text{ }^{\circ}\text{C}$) προκειμένου να αναισθητοποιηθούν και ακολουθούσε η αφαίρεση των όρχεων, με τη βοήθεια του στερεοσκοπίου, για την εκτίμηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων. Πιο αναλυτικά, κάθε αρσενικό τοποθετούνταν σε αντικειμενοφόρο πλάκα σε μεγέθυνση 10x, στο στερεοσκόπιο (Εικόνα 10), και με τη χρήση δυο λαβίδων ο θώρακας αποχωριζόταν από την κοιλιά. Στη συνέχεια, διατηρούνταν στο οπτικό πεδίο μόνο η κοιλιά και αυξάνοντας τη μεγέθυνση (20x) προσθέταμε 10 μl Tween (0,1%). Έπειτα, η επιδερμίδα της κοιλίας απομακρύνονταν και οι όρχεις αποχωρίζονταν από το υπόλοιπο αναπαραγωγικό σύστημα του αρσενικού. Ο κάθε όρχις τοποθετούνταν σε νέα αντικειμενοφόρο πλάκα με 50 μl διαλύματος διπλά απεσταγμένου νερού και Tween (0,1%) (Εικόνα 11). Ατομικά κλουβάκια όπου διακρίνεται η τροφή, το φυτίλι για το νερό και το άνοιγμα για τον αερισμό. Με τη μύτη μιας

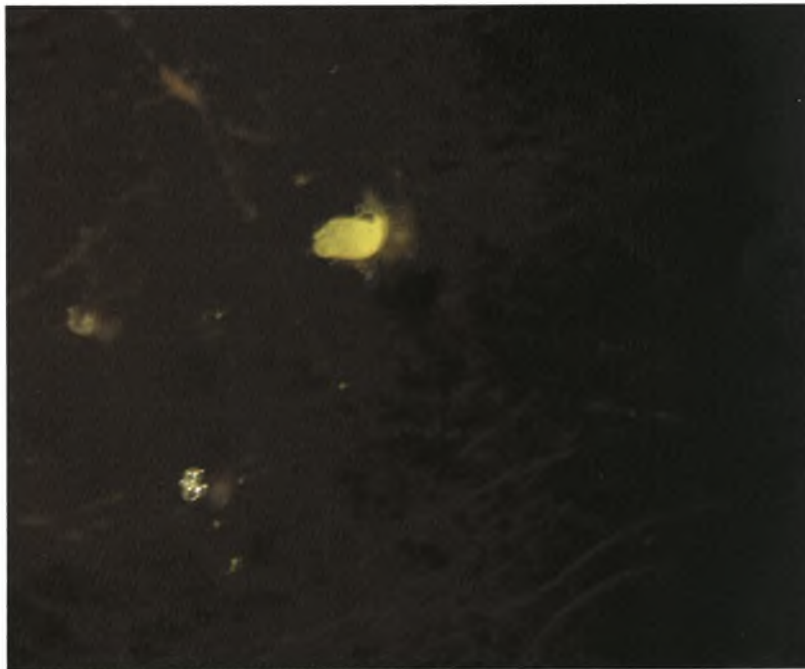
εντομολογικής καρφίτσας πραγματοποιούνταν διάτρηση του κάθε όρχι και το περιεχόμενο ξεπλενόταν στο εσωτερικό ενός erpendorf με 350 μl διπλά απεσταγμένου νερού. Το περιεχόμενο των δυο erpendorf ανακινούνταν στο Vortex για 4 – 5 λεπτά και 10 μl από το καθένα μεταφέρονταν σε νέα αντικειμενοφόρο πλάκα. Το παρασκεύασμα παρέμενε σε θερμοκρασία δωματίου προκειμένου να στεγνώσει και η καταμέτρηση του αριθμού των σπερματοζωαρίων πραγματοποιούνταν phase contrast μικροσκόπιο σε μεγέθυνση x100 ή x200. Μετά την καταμέτρηση των σπερματοζωαρίων στο παρασκεύασμα των 10 μl ο συνολικός αριθμός των σπερματοζωαρίων σε κάθε όρχι υπολογιζόταν με αναγωγή στον αρχικό όγκο (400 μl). Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε την 20η, 30η, 40η και 50η ημέρα μετά την ενηλικίωση των αρσενικών.

2.3 Στατιστική ανάλυση

Για την ανάλυση των στοιχείων χρησιμοποιήθηκε το πρόγραμμα SPSS 13.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, U.S.A.). Η επίδραση της ηλικίας και της τροφής στην ποσότητα των σπερματοζωαρίων στους όρχεις των αρσενικών εκτιμήθηκε με τη χρήση της ανάλυσης παραλλακτικότητας (Univariate Analysis of Variance – ANCOVA) με την τροφή σαν απλό παράγοντα (fixed factor) και την ηλικία σαν συμμεταβλητή (covariate).



Εικόνα 10: Αρσενικό της μύγας της Μεσογείου σε μεγέθυνση 10x στο στερεοσκόπιο.



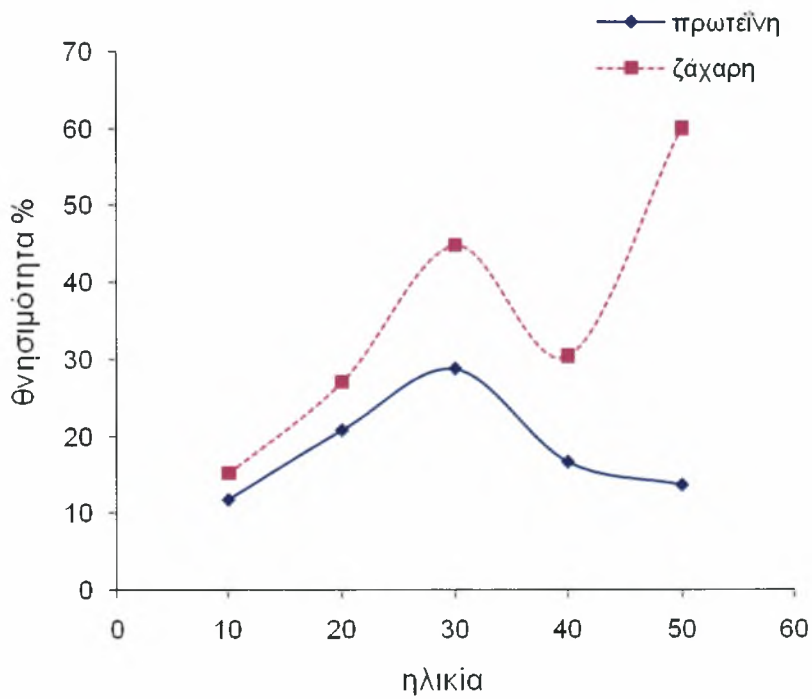
Εικόνα 11: Όρχις αρσενικού της μύγας της Μεσογείου σε μεγέθυνση 20x στο στερεοσκόπιο. Διακρίνεται το χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα του περιβλήματος

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

3.1 Θνησιμότητα σε δυο διαφορετικές τροφές

Στο Διάγραμμα 1 δίνεται η θνησιμότητα των αρσενικών που διατηρούνταν σε ζάχαρη και σε ζάχαρη με πρωτεΐνη. Η θνησιμότητα των αρσενικών που τρέφονταν στα δύο είδη τροφής φαίνεται ότι ακολούθησε παρόμοια τάση εκτός από την ηλικία των 50 ημερών όπου το ποσοστό θανάτου των αρσενικών που τρέφονταν σε ζάχαρη έφτασε το 60% σε αντίθεση με αυτών που τρέφονταν σε πρωτεΐνη (13%). Καθ' όλη τη διάρκεια της παρατήρησης, τα ποσοστά θανάτου των αρσενικών που τρέφονταν σε ζάχαρη ήταν μεγαλύτερα από αυτά των αρσενικών που τρέφονταν σε πρωτεΐνη. Αναλυτικότερα, στην ηλικία των 10 ημερών τα αρσενικά που διατηρούνταν τόσο σε ζάχαρη όσο και σε πρωτεΐνη σημείωσαν τα χαμηλότερα ποσοστά θνησιμότητας (15% και 12% αντίστοιχα). Στην ηλικία των 20 ημερών η θνησιμότητα των αρσενικών αυξήθηκε και τα ποσοστά που καταγράφηκαν ήταν 27% και 21% για τη ζάχαρη και την πρωτεΐνη αντίστοιχα. Στην ηλικία των 30 ημερών παρατηρήθηκε το μέγιστο ποσοστό θνησιμότητας στα αρσενικά που τρέφονταν σε πρωτεΐνη (29%) ενώ ποσοστό 45% των αρσενικών που τρέφονταν σε ζάχαρη βρέθηκε νεκρό στην ίδια ηλικία. Τέλος, στις μεγαλύτερες ηλικίες των 40 και 50 ημερών, η θνησιμότητα των αρσενικών που τρέφονταν σε πρωτεΐνη μειώθηκε στα ποσοστά 16% και 13% αντίστοιχα, ενώ τα αρσενικά που τρέφονταν σε ζάχαρη πέθαναν σε ποσοστό 30% στην ηλικία των 40 ημερών.



Διάγραμμα 1: Ποσοστά θνησιμότητας των αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη (ροζ διακεκομμένη γραμμή) και σε πρωτεΐνη (μπλε συνεχόμενη γραμμή) σε σχέση με την ηλικία.

3.2 Δυναμική σπέρματος στους όρχεις σε σχέση με την τροφή και την ηλικία.

Ο μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων στους όρχεις αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη και σε ζάχαρη με πρωτεΐνη, σε σχέση με την ηλικία δίνεται στο Διάγραμμα 2. Η ηλικία επηρέασε σημαντικά τη συνολική ποσότητα του σπέρματος στους όρχεις των αρσενικών ($P < 0.005$, $R^2_{\text{πρωτεΐνη}} = 0.182$, $R^2_{\text{ζάχαρη}} = 0.528$) ενώ η τροφή δεν είχε σημαντική επίδραση στην ποσότητα του σπέρματος ($P > 0.05$). Η ποσότητα του σπέρματος ακολούθησε την ίδια τάση και στις δύο μεταχειρίσεις των αρσενικών σε σχέση με την ηλικία, μέχρι τις 40 ημέρες. Ο μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων παρέμεινε σχετικά σταθερός (68000 – 88000 σπερματοζωάρια) έως την ηλικία των 20 ημερών χωρίς μεγάλες διαφορές ανάμεσα στα αρσενικά που τράφηκαν σε ζάχαρη και σε εκείνα που τράφηκαν σε ζάχαρη και πρωτεΐνη. Ωστόσο, από την ηλικία των 30 έως των 40 ημερών παρατηρήθηκε αύξηση στην ποσότητα του σπέρματος και στις 2 μεταχειρίσεις των αρσενικών. Στην ηλικία των 40 ημερών καταγράφηκε η μέγιστη ποσότητα σπέρματος στα αρσενικά και των δύο μεταχειρίσεων με 380000 και 340000 σπερματοζωάρια για τη ζάχαρη και την πρωτεΐνη αντίστοιχα. Στην ηλικία των 50 ημερών παρατηρήθηκε πτώση στο μέσο αριθμό των σπερματοζωαρίων στους όρχεις αρσενικών και των δύο μεταχειρίσεων (340000 και 126000 σπερματοζωάρια για τα αρσενικά που τράφηκαν στη ζάχαρη και στην πρωτεΐνη αντίστοιχα).

Στο Διάγραμμα 3 δίνεται ο μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων που καταγράφηκαν στον αριστερό (A) και στο δεξί (B) όρχι αρσενικών που τράφηκαν στα δύο είδη τροφής σε σχέση με την ηλικία. Η τάση που ακολουθεί η δυναμική του σπέρματος σε κάθε όρχι βρίσκεται σε συμφωνία με την τάση

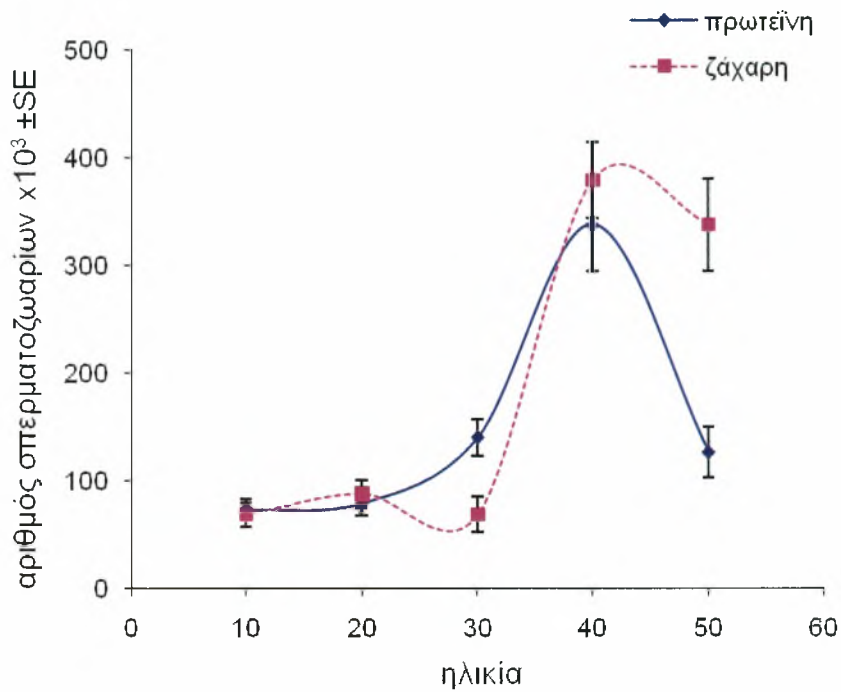
που παρατηρήθηκε στο σύνολο του σπέρματος και στους δύο όρχεις. Η ποσότητα των σπερματοζωαρίων σε κάθε όρχι σε σχέση με την ηλικία κυμάνθηκε από 27000 έως 188000 σπερματοζωάρια. Η ηλικία είχε σημαντική επίδραση στην ποσότητα του σπέρματος στον αριστερό όρχι ($P < 0.005$, $R^2_{\text{πρωτεΐνη}} = 0.147$, $R^2_{\text{ζάχαρη}} = 0.558$). Αναλυτικότερα, ο μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων, στον αριστερό όρχι αρσενικών που τράφηκαν σε πρωτεΐνη, ήταν μεγαλύτερος από εκείνον των αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη έως την ηλικία των 40 ημερών. Στην ηλικία των 50 ημερών, η ποσότητα του σπέρματος στον αριστερό όρχι αρσενικών που τράφηκαν σε πρωτεΐνη σημείωσε δραματική πτώση σε αντίθεση με εκείνη των αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη η οποία παρέμεινε σχεδόν σταθερή.

Η ποσότητα του σπέρματος στο δεξί όρχι των αρσενικών επηρεάστηκε επίσης σημαντικά από την ηλικία ($P < 0.005$, $R^2_{\text{πρωτεΐνη}} = 0.183$, $R^2_{\text{ζάχαρη}} = 0.440$). Ωστόσο, η μεταβολή της ποσότητας σπέρματος στο δεξί όρχι αρσενικών των δύο μεταχειρίσεων είχε ελαφρώς διαφορετική τάση από αυτή στον αριστερό όρχι. Σε όλες τις ηλικίες, εκτός από την ηλικία των 30 ημερών, τα αρσενικά που τράφηκαν σε ζάχαρη είχαν περισσότερο σπέρμα στον δεξί όρχι απ' ό,τι αυτά που τράφηκαν σε πρωτεΐνη. Στην ηλικία των 50 ημερών, ο μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων στον δεξί όρχι των αρσενικών που τράφηκαν σε πρωτεΐνη σημείωσε δραματική πτώση κατ' αντιστοιχία με την πτώση του αριστερού όρχεως. Το σπέρμα στον δεξί όρχι αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη σημείωσε πτώση στην ηλικία των 30 και των 50 ημερών.

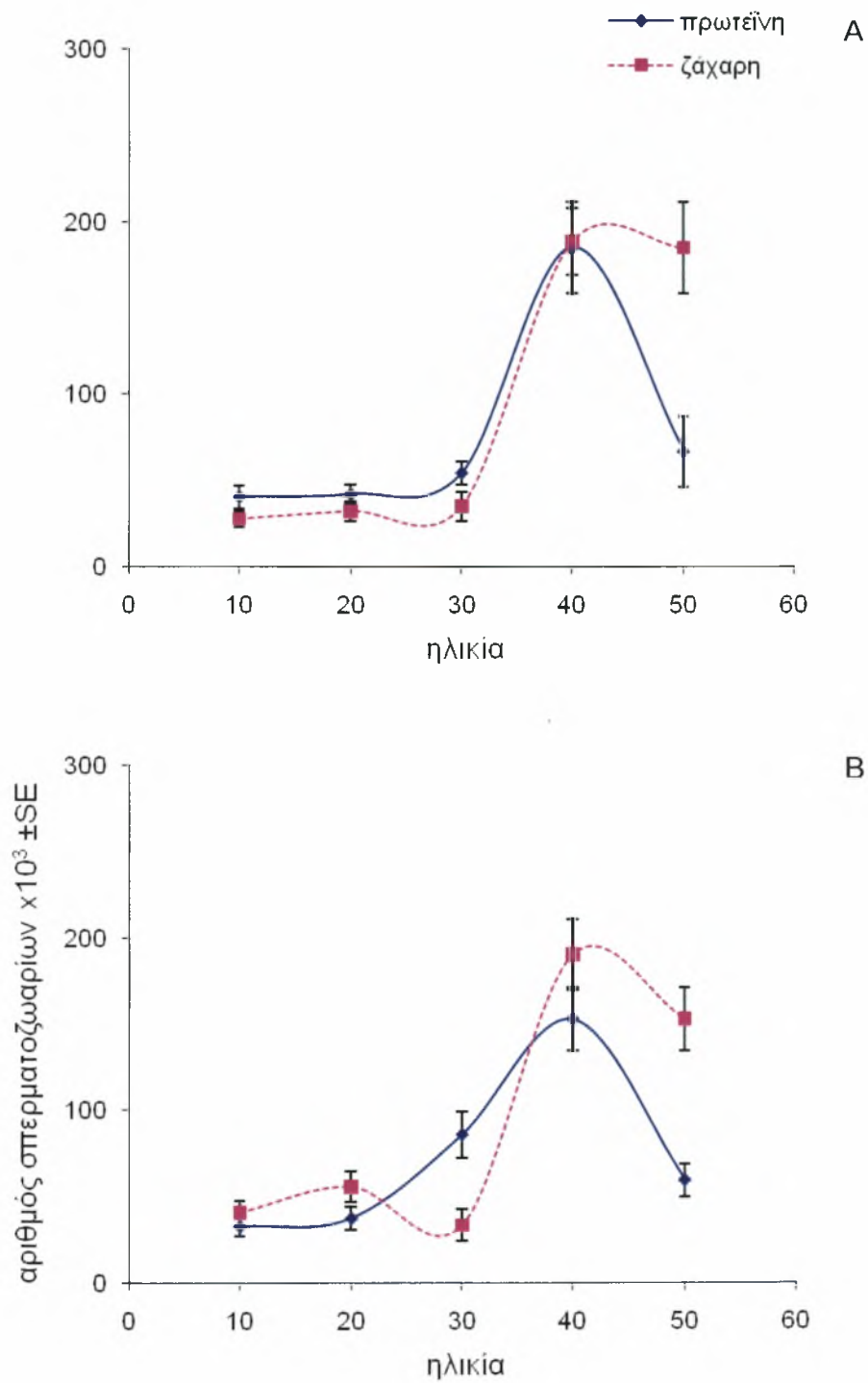
Η μέση απόλυτη διαφορά του αριθμού σπερματοζωαρίων στους όρχεις των αρσενικών των δύο μεταχειρίσεων σε σχέση με την ηλικία δίνεται στο Διάγραμμα 4. Η ηλικία δεν είχε σημαντική επίδραση στην απόλυτη διαφορά

σπερματοζωαρίων ανάμεσα στους δύο όρχεις αρσενικών που τράφηκαν σε πρωτεΐνη ($P > 0.05$) αλλά επηρέασε σημαντικά την απόλυτη διαφορά σπέρματος στους όρχεις αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη ($P < 0.05$, $R^2_{ζάχαρη} = 0.106$). Φαίνεται ότι τα αρσενικά μεγαλύτερης ηλικίας που τράφηκαν σε ζάχαρη κατένειμαν το σπέρμα στους δύο όρχεις περισσότερο άνισα από ότι τα αρσενικά μικρότερης ηλικίας.

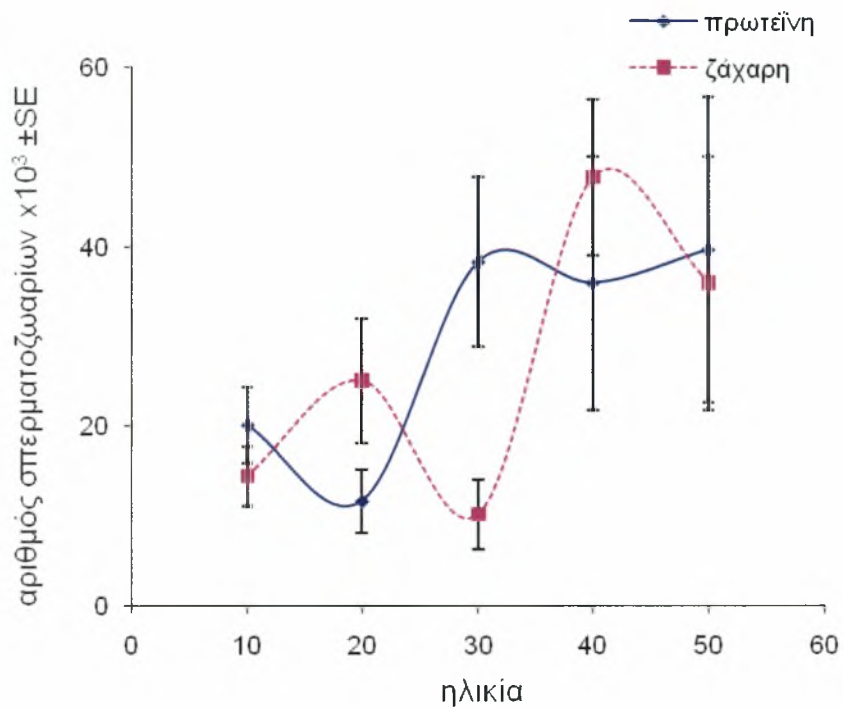
Στο Διάγραμμα 5 δίνεται η μέση σχετική διαφορά του αριθμού σπερματοζωαρίων στους όρχεις αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη και σε ζάχαρη με πρωτεΐνη σε σχέση με την ηλικία. Όπως και στην περίπτωση της μέσης απόλυτης διαφοράς σπέρματος, η ηλικία είχε σημαντική επίδραση στη μέση σχετική διαφορά σπερματοζωαρίων στους όρχεις αρσενικών που τρέφονταν σε ζάχαρη εξηγώντας όμως μικρό ποσοστό της παραλλακτικότητας ($P < 0.05$, $R^2_{ζάχαρη} = 0.091$), ενώ δεν επηρέασε σημαντικά τη σχετική διαφορά σπέρματος σε αρσενικά που τράφηκαν σε πρωτεΐνη.



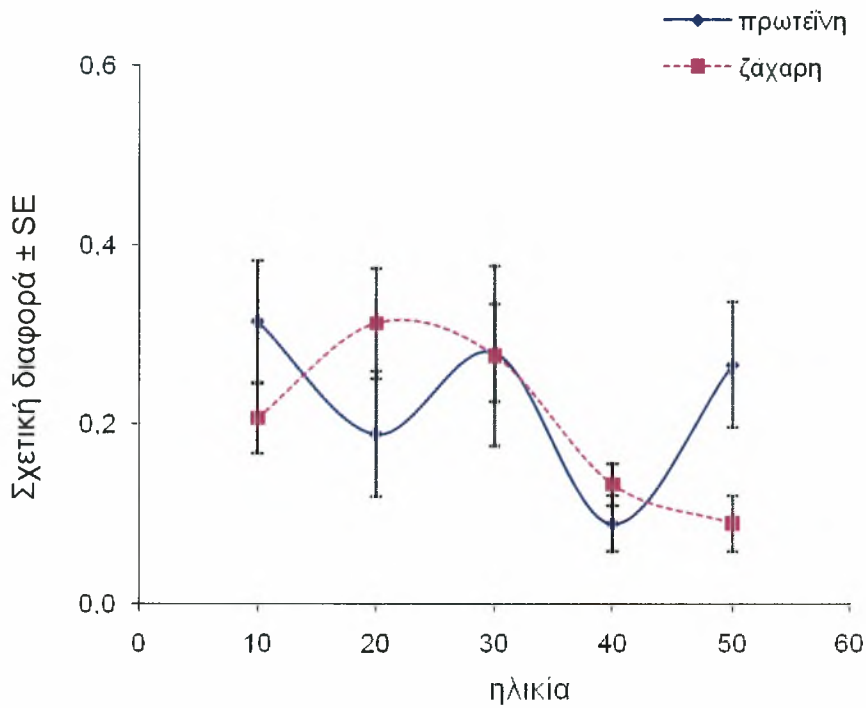
Διάγραμμα 2: Μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων στους όρχεις αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη (ροζ διακεκομμένη γραμμή) και σε πρωτεΐνη (μπλε συνεχόμενη γραμμή) σε σχέση με την ηλικία.



Διάγραμμα 3: Μέσος αριθμός σπερματοζωαρίων στον αριστερό (A) και στον δεξιό (B) όρχι αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη (ροζ διακεκομμένη γραμμή) και σε πρωτεΐνη (μπλε συνεχόμενη γραμμή) σε σχέση με την ηλικία.



Διάγραμμα 4. Μέση απόλυτη διαφορά σπερματοζωαρίων στους όρχεις (Σπερματοζωάρια στον αριστερό όρχι – σπερματοζωάρια στον δεξιό όρχι) αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη και σε ζάχαρη με πρωτεΐνη σε σχέση με την ηλικία.



Διάγραμμα 5. Σχετική διαφορά σπερματοζωαρίων στους όρχεις (|Σπερματοζωάρια στον αριστερό όρχι – σπερματοζωάρια στον δεξιό όρχι| / σύνολο σπερματοζωαρίων στους δύο όρχεις) αρσενικών που τράφηκαν σε ζάχαρη και σε ζάχαρη με πρωτεΐνη σε σχέση με την ηλικία.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

4.1 Θνησιμότητα και δυναμική σπέρματος στους όρχεις αρσενικών σε σχέση με την τροφή και την ηλικία

Τα αποτελέσματά μας δείχνουν ότι α) αρσενικά που τρέφονται σε πρωτεΐνη έχουν μικρότερη θνησιμότητα από ότι αρσενικά που τρέφονται σε ζάχαρη, β) η τροφή δεν επηρεάζει την ποσότητα σπέρματος στους όρχεις των αρσενικών, γ) μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά έχουν μεγαλύτερη ποσότητα σπέρματος, δ) μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά που τράφηκαν σε ζάχαρη εμφάνισαν συμμετρικότερη κατανομή του σπέρματος στους δύο όρχεις.

Αρσενικά που τράφηκαν τόσο σε πρωτεΐνη όσο και σε ζάχαρη φέρουν παραπλήσιες ποσότητες σπέρματος με μια τάση αύξησης μέχρι την ηλικία των 40 ημερών. Είναι γνωστό πως η τροφή επηρεάζει την ωρίμανση των ωοθηκών στα θηλυκά της μύγας της Μεσογείου και επιδρά σημαντικά στην ωοτοκία τους (Carey et al., 2002). Ωστόσο, δε φαίνεται να συμβαίνει το ίδιο στην περίπτωση των αρσενικών αφού η τροφή δεν επηρέασε τον αριθμό των σπερματοζωαρίων. Προηγούμενες μελέτες έδειξαν ότι τα ενήλικα της μύγας της Μεσογείου διατηρούν τα επίπεδα των λιπιδίων στον οργανισμό τους σταθερά και ανεξάρτητα από τη διατροφή τους (Nestel et al., 2005). Κάτι ανάλογο μπορεί να συμβαίνει και με τη δυναμική σπέρματος των αρσενικών, αν και φαίνεται ότι σε μεγαλύτερες ηλικίες πραγματοποιείται επιπλέον σπερματογένεση που δεν εξαρτάται όμως από τη διατροφή του ατόμου. Η δραματική μείωση της ποσότητας του σπέρματος αρσενικών που τράφηκαν σε πρωτεΐνη στην ηλικία των 50 ημερών πιθανώς μαρτυρά αφομοίωση του

σπέρματος και χρήση της ενέργειας και των θρεπτικών του στοιχείων για παράταση της επιβίωσης.

Η ασυμμετρία στην ποσότητα του σπέρματος μεταξύ των όρχεων που επηρεάζεται από την ηλικία μόνο σε αρσενικά που τρέφονται σε ζάχαρη φαίνεται ότι σχετίζεται με τη σπερματογένεση που πιθανώς να πραγματοποιείται καθ' όλη τη διάρκεια ζωής του αρσενικού. Μικρότερης ηλικίας αρσενικά που φέρουν και μικρότερο αριθμό σπερματοζωαρίων κατανείμουν το σπέρμα ασύμμετρα στους δύο όρχεις. Ωστόσο, όσο το αρσενικό μεγαλώνει σε ηλικία και παράγει σπέρμα, τόσο η διαφορά αποθήκευσης του σπέρματος στους δύο όρχεις αμβλύνεται.

4.2 Πρακτικές εφαρμογές

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν η μελέτη της δυναμικής του σπέρματος αρσενικών της μύγας της Μεσογείου σε σχέση με την ηλικία και την τροφή. Τα αποτελέσματα που προκύπτουν βοηθούν στην κατανόηση της φυσιολογίας αναπαραγωγής ενός από τους σημαντικότερους εχθρούς των οπωροφόρων σε παγκόσμιο επίπεδο. Επιπλέον, τα στοιχεία μπορούν έμμεσα να χρησιμοποιηθούν για τη βελτίωση της αποτελεσματικότητας της μεθόδου εξαπόλυσης στειρωμένων αρσενικών (SIT). Συγκεκριμένα, μεγαλύτερης ηλικίας αρσενικά, που φέρουν και μεγαλύτερο αριθμό σπερματοζωαρίων πιθανώς να είναι περισσότερο ανταγωνιστικά από τα αντίστοιχα νεαρά αρσενικά. Ακόμη, φαίνεται πως η τροφή δεν επιδρά σημαντικά στην ποσότητα του σπέρματος με αποτέλεσμα την πιθανή εξοικονόμηση πόρων με μείωση της διαθεσιμότητας της πρωτεΐνης, από τη διατροφή των εκτρεφόμενων εντόμων.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- Blay, S., and B. Yuval. 1997.** Nutritional correlates to reproductive success of male Mediterranean fruit flies. *Animal Behavior*, 54: 59-66.
- Carey, J. R., P. Liedo, L. Harshman, X. Liu, H. G. Muller, L. Partridge, and J. L. Wang. 2002.** Food pulses increase longevity and induce cyclical egg production in Mediterranean fruit flies. *Functional Ecology* 16: 313-325.
- De Meyer, M. 2000.** Systematic revision of the subgenus *Ceratitis* MacLeay s.s. (Diptera, Tephritidae). *Zoological Journal of the Linnean Society* 128: 439-467.
- Diamantidis, A. D., N. T. Papadopoulos, and J. R. Carey. 2008.** Medfly populations differ in diel and age patterns of sexual signalling. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 128: 389-397.
- Diaz-Fleischer, F., D. R. Papaj, R. J. Prokopy, A. L. Norrbom, and M. Aluja. 2000.** Evolution of fruit fly oviposition behavior, pp. 812-841. In M. Aluja and A. L. Norrbom [eds.], *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*. CRC Press, New York.
- Eady, P. 1994.** Sperm transfer and storage in relation to sperm competition in *Callosobruchus maculatus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 35: 123-129.
- Eady, P. 1995.** Why do male *Callosobruchus maculatus* beetles inseminate so many sperm? *Behav. Ecol. Sociobiol.* 36: 25-32.
- Economopoulos, A. P., B. Papadopoulos, N. Mantzos, P. Mavrikakis, P. Dimakis, H. Dretakis, M. Yassar, M. Dretakis, and M. Fafoukakis. 1996.** Mediterranean fruit fly integrated control: Combination of

genetic sexing sterilized males with lure and kill of wild flies. 20th Intern' l Congr. Entomol., Firenze, 25-31 Aug. 1996, abstract 22-059.

Farrias, G. T., R. T. Cunningham, and S. Nakagawa. 1972. Reproduction in the Mediterranean fruit fly: abundance of stored sperm affected by duration of copulation and affecting egg hatch. *J. Econ. Entomol.* 65: 914-915.

Field, S. A., and B. Yuval. 1999. Nutritional status affects copula duration in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Insecta: Tephritidae). *Ethology Ecology & Evolution* 11: 61-70.

Field, S. A., P. W. Taylor, and B. Yuval. 1999. Sources of variability in copula duration of Mediterranean fruit flies. *Entomologia Experimentis et Applicata* 92: 271-276.

Fletcher, B. S. 1989. Life history strategies of tephritid fruit flies. In *World Crop Pests. Fruit Flies. Their biology, natural enemies and control*, Volume 3B, pp. 195- 206, Elsevier: Amsterdam & New York.

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

Hendrichs, J., G. Ortiz, P. Liedo, and A. Schwarz. 1983. Six years of successful medfly program in Mexico and Guatemala. In R. Cavalloro (ed.), *Fruit Flies of Economic Importance*, Proc. CEC/IOBC Symp. Athens, Greece, 16-19 Nov. 1982. A.A. Balkema, Rotterdam, pp.: 353-365.

- Jang, E. B. 1995.** Effect of mating and accessory gland injections on olfactory mediated behavior in the female Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *J. Insect Physiol.* 41: 705-710.
- Malacrida, A. R., G. Gulielmino, L. Gasperi, L. Baruffi, and R. Milani. 1992.** Spatial and temporal differentiation in colonizing populations of *Ceratitis capitata*. *Heredity* 69: 101-111.
- Mitchell, W. C., and S. H. Saul. 1990.** Current control methods for the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, and their application in the USA. *Review of Agricultural Entomology* 78: 923-940.
- Myers, J., D. Simberloff, A. M. Kuris, and J. R. Carey. 2000.** Eradication revisited: dealing with exotic species. *Trends in Ecology and Evolution* 15: 316-320.
- Nestel, D., Nikos T. Papadopoulos, Pablo Liedo, Lilia Gonzales-Ceron, James R. Carey. 2005.** Trends in lipid and protein contents during medfly aging: An harmonic path to death. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 60: 130-139.
- Papadopoulos, N. T., J. R. Carey, B. I. Katsoyannos, and N. A. Kouloussis. 1996.** Overwintering of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in northern Greece. *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 89: 526-534.
- Papadopoulos, N. T., and B. I. Katsoyannos. 2003.** Field parasitism of *Ceratitis capitata* larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. *Biocontrol* 48: 191-195.
- Pitnick, S., and T. A. Markow. 1994.** Male gametic strategies: sperm size, testes size and the allocation of ejaculate among successive mates by

- the sperm-limited fly *Drosophila pachea* and its relatives. *Am. Nat.* 143: 785-819.
- Prokopy, R. J., and J. Hendrichs. 1979.** Mating behavior of *Ceratitis capitata* on a field-caged host tree. *Annals of the Entomological Society of America* 72: 642-648.
- Seo, S. T., R. I. Vargas, J. E. Gilmore, R. S. Kurashima, and M. S. Fujimoto. 1990.** Sperm transfer in normal and gamma-irradiated laboratory-reared Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 85: 1949-1953.
- Solinas, M., and G. Nuzzaci. 1984.** Functional anatomy of *Dacus oleae* Gmel. female genitalia in relation to insemination and fertilization processes. *Entomologica* 19: 135-165.
- Sproul, A. 2001.** The fight Against Fruit Flies in Western Australia. Bulletin no.4504. Department of Agriculture Western Australia, Perth.
- Taylor, P. W., and B. Yuval. 1999.** Postcopulatory sexual selection in Mediterranean fruit flies: advantages for large and protein-fed males. *Animal Behaviour* 58: 247-254.
- Taylor, P. W., R. Kaspi, and B. Yuval. 2000.** Copula duration and sperm storage in Mediterranean fruit flies from a wild population. *Physiological Entomology* 25: 94-99.
- Taylor, P. W., R. Kaspi, S. Mossinson, and B. Yuval. 2001.** Age-dependent insemination success of sterile Mediterranean fruit flies. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 98: 27-33.
- Thornhill, R., and J. Alcock. 1983.** The evolution of insect mating systems. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press.

- White, I. M., and M. M. Elson-Harris. 1992.** Fruit Flies of Economic Significance Their Identification and Bionomics. C.A.B. INTERNATIONAL; WALLINGFORD, ENGLAND, UK.
- Whittier, T. S., and K. Y. Kaneshiro. 1991.** Male mating success and female fitness in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 84: 608-611.
- Whittier, T. S., F. Y. Nam, T. E. Shelly, and K. Y. Kaneshiro. 1994.** Male courtship success and female discrimination in the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of Insect Behavior* 7: 159-170.
- Yuval, B., S. Blay, and R. Kaspi. 1996.** Sperm transfer and storage in the Mediterranean fruit fly. *Annals of the Entomological Society of America* 89: 486-492.
- Yuval, B., R. Kaspi, S. Shloush, and M. S. Warburg. 1998.** Nutritional reserves regulate male participation in Mediterranean fruit fly leks. *Ecological Entomology* 23: 211-215.
- Yuval, B., R. Kaspi, S. A. Field, S. Blay, and P. Taylor. 2002.** Effects of post-teneral nutrition on reproductive success of male Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist* 85: 165-170.
- Zabalou, S., M. Riegler, M. Theodorakopoulou, C. Stauffer, C. Savakis, and K. Bourtzis. 2004.** Wolbachia-induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. *Proc Natl Acad Sci U S A* 101 15042-5.
- Οικονόμου Α. 2006.** Ανάλυση φυτικών πληθυσμών της Μεσογειακής μύγας *Ceratitis capitata*. Διερεύνηση της σχέσης γενοτύπου και των ξενιστών της με τη χρήση μικροδορυφορικών δεικτών, Διατριβή

μεταπτυχιακής διπλωματικής ειδίκευσης, Πάτρα, Τμήμα Βιολογίας,
Τομέας γενετικής, βιολογίας κυττάρου και ανάπτυξης.

Ροδιτάκης, Ε., Α. Τσαγκαράκου και Ν. Ε. Ροδιτάκης. 2008. Εργαστήριο
Εντομολογίας & Γ. Ζωολογίας, Ινστιτούτο Προστασίας Φυτών
Ηρακλείου, ΕΘ.Ι.Α.ΓΕ, eth 35, pp 18-19.

Ταταρή Μ. 2006. Έκφραση και λειτουργία της αλκοολικής αφυδρογονάσης
της *D. melanogaster* σε αρσενικά άτομα της Μεσογειακής μύγας
Ceratitis capitata και λειτουργική ανάλυση ενός υποκινητή της
οικογένειας των αρρενο-ειδικών γονιδίων του εντόμου. Διατριβή
μεταπτυχιακής διπλωματικής ειδίκευσης, Πάτρα, Τμήμα Βιολογίας,
Τομέας γενετικής, βιολογίας κυττάρου και ανάπτυξης.

Τζανακάκης, Μ. Ε., και Β. Ι. Κατσόγιαννος 2003. Έντομα καρποφόρων
δένδρων και αμπέλου, Εκδόσεις Αγρότυπος Α.Ε., Αθήνα.

Υπουργείο Γεωργίας Κύπρου, Φυσικών Πόρων και Περιβάλλοντος, Τμήμα
Γεωργίας, Σεπτέμβριος 2005.

ΛΗΞΗ	ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ ΔΑΝΕΙΖΟΜΕΝΟΥ

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ

Τηλ.: 24210 ~~74444~~ 93141



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΒΙΒΛΙΟΘΗΚΗ



004000105336