

ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ ΚΑΙ
ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΗ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΑ ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ
ΤΡΟΦΗΣ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ ΚΕΡΑΣΙΑΣ

ΛΙΟΛΙΟΥ ΕΛΙΣΑΒΕΤ
ΓΕΩΠΟΝΟΣ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Ν. ΙΩΝΙΑ, ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ, 2011

ΕΠΙΔΡΑΣΗ ΤΗΣ ΗΛΙΚΙΑΣ ΣΤΗ ΔΗΜΟΓΡΑΦΙΑ
ΚΑΙ ΚΑΤΑΝΑΛΩΣΗ ΤΡΟΦΗΣ ΤΗΣ ΜΥΓΑΣ ΤΗΣ
ΚΕΡΑΣΙΑΣ

ΛΙΟΛΙΟΥ ΕΛΙΣΑΒΕΤ

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

Η διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας,
του Τμήματος Φυτικής Παραγωγής και Αγροτικού Περιβάλλοντος, του
Πανεπιστημίου Θεσσαλίας

Εξεταστική Επιτροπή

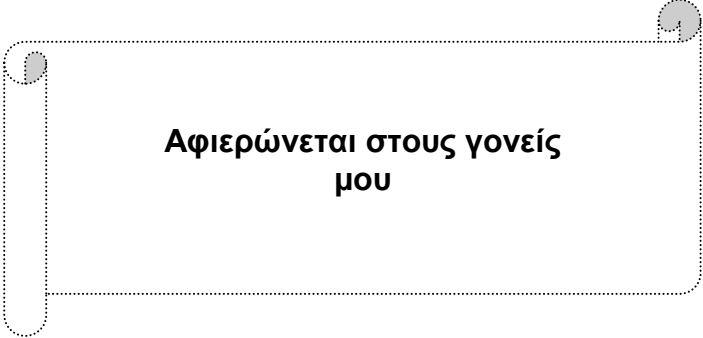
Ν. Παπαδόπουλος	Αναπληρωτής Καθηγητής	Επιβλέπων
Χ. Αθανασίου	Επίκουρος Καθηγητής	Μέλος
Α. Σφουγγάρης	Επίκουρος Καθηγητής	Μέλος

Ν. ΙΩΝΙΑ ΜΑΓΝΗΣΙΑΣ, 2011

ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

Ευχαριστίες	Σελ. 5
Περίληψη	6
Summary	7
Κεφάλαιο 1	8
1. Γενικά για το <i>Rhagoletis cerasi</i>	8
1.1 Συστηματική κατάταξη και ταξινομική θέση του <i>R. cerasi</i>	8
1.2 Γεωγραφική εξάπλωση του <i>R. cerasi</i>	12
1.3 Μορφολογία και χαρακτηριστικά	16
1.4 Ξενιστές	18
1.5 Οικονομική σημασία του <i>R. cerasi</i>	19
1.6 Βιολογία του <i>R. cerasi</i>	23
1.7 Αντιμετώπιση του <i>R. cerasi</i>	25
2. Διατροφή και θρέψη των εντόμων	30
2.1 Η διατροφή και θρέψη των εντόμων	30
2.2 Αμινοξέα	31
2.3 Υδατάνθρακες	32
2.4 Λιπίδια	33
2.5 Βιταμίνες και ανόργανα συστατικά	35
2.6 Ικανότητα επιλογής των θρεπτικών συστατικών στην τροφή (Self - nutrients - selection)	35
2.7 Θερμιδικός περιορισμός (CR) – Διατροφικός περιορισμός (DR)	36
2.8 Τρόποι μελέτης της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής	42
3. Η διατροφή των Tephritidae	44
3.1 Επίδραση της κατανάλωσης τροφής στις βιολογικές παραμέτρους των εντόμων	46
4. Σκοπός της εργασίας	48
Κεφάλαιο 2	50
2. Υλικά και μέθοδοι	50
2.1 Συνθήκες εργαστηρίου	50
2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν και μέθοδος συλλογής τους	50

2.3 Περιγραφή των κλουβιών που χρησιμοποιήθηκαν	51
2.4 Οι μεταχειρίσεις του πειράματος	57
2.5 Περιγραφή της πειραματικής διαδικασίας	61
2.6 Επεξεργασία των αποτελεσμάτων	63
Κεφάλαιο 3	65
3. Αποτελέσματα	65
3.1 Δημογραφία και κατανάλωση τροφής ενηλίκων που προέρχονται από την Αγιά Λάρισας	65
3.2 Δημογραφία και κατανάλωση τροφής ενηλίκων που προέρχονται από το Dossenheim της Γερμανίας	77
3.3 Συγκριτικά διαγράμματα	88
Κεφάλαιο 4	91
4.1 Συζήτηση – Συμπεράσματα	91
5. Βιβλιογραφία	94



**Αφιερώνεται στους γονείς
μου**

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Στα πλαίσια της Μεταπτυχιακής μου διατριβής αισθάνομαι την ανάγκη να ευχαριστήσω όλους όσους συντέλεσαν στην ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Ιδιαίτερες ευχαριστίες εκφράζονται στον επιβλέποντα Αναπληρωτή καθηγητή Εφαρμοσμένης Εντομολογίας, του Τμήματος Γεωπονίας Φυτικής Παραγωγής & Αγροτικού Περιβάλλοντος, κ. Ν. Παπαδόπουλο για την ανάθεση της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής, την βοήθεια και την πολύτιμη και συνεχή καθοδήγησή του κατά τη διάρκεια διεξαγωγής του πειράματος, την ανάλυση των στοιχείων μου και τη συγγραφή της μεταπτυχιακής εργασίας. Θερμές ευχαριστίες εκφράζονται στους υποψήφιους διδάκτορες γεωπόνους κκ. Μωραΐτη Κ., Παπαναστασίου Σ. και Ιωάννου Χ. Η βοήθειά τους κατά τη διάρκεια διεξαγωγής, καθώς και η επίβλεψή τους καθ' όλη την διάρκεια του πειράματος ήταν πραγματικά πολύτιμη.

Πολλές ευχαριστίες εκφράζονται και στα μέλη της εξεταστικής επιτροπής. Στους Επίκουρους καθηγητές κ. Χ. Αθανασίου κ. Α. Σφουγγάρη για τις πολύτιμες υποδείξεις και διορθώσεις τους.

Τέλος, ευχαριστώ ολόψυχα τους γονείς μου για την αμέριστη ηθική και οικονομική τους στήριξη σε όλη τη διάρκεια της φοιτητικής μου διαδρομής και για τη συμβολή τους στην επιτυχία των προσπαθειών μου .

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Η μελέτη της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής στα ενήλικα έντομα της οικογένειας Terphritidae, αλλά και άλλων δίπτερων μικρού μεγέθους παρουσιάζει σημαντική δυσκολία κυρίως λόγω της μικρής ποσότητας της ημερήσιας κατανάλωσης. Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν (α) η ανάπτυξη μεθοδολογίας για την εκτίμηση της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής σε ενήλικα της μύγας της κερασιάς, (β) η μελέτη της κατανάλωσης τροφής σε σχέση με την ηλικία των ενήλικων και (γ) η διερεύνηση των σχέσεων μεταξύ κατανάλωσης τροφής και των δημογραφικών παραμέτρων των ενήλικων, όπως η διάρκεια ζωής και η ωοπαραγωγή.

Τα πειράματα της παρούσας μεταπτυχιακής διατριβής πραγματοποιήθηκαν το έτος 2009, στο Εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Στο πρώτο πείραμα μελετήθηκε η κατανάλωση πρωτεΐνης (υδατικού διαλύματος 10%) και η κατανάλωση ζάχαρης (υδατικού διαλύματος 10%) με έντομα που προέρχονται από την Αγία του νομού Λάρισας. Λόγω της έντονης θνησιμότητας των αρσενικών και θηλυκών εντόμων που είχαν τοποθετηθεί στη μεταχείριση με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10% αποφασίστηκε η διεξαγωγή δεύτερου πειράματος στο οποίο το υδατικό διάλυμα ζάχαρης ήταν 20%. Πιο αναλυτικά, στο δεύτερο πείραμα μελετήθηκε η κατανάλωση πρωτεΐνης (υδατικού διαλύματος 10%) και η κατανάλωση ζάχαρης (υδατικού διαλύματος 20%) με έντομα που προέρχονται από το Dossenheim της Γερμανίας. Και στα δύο πειράματα καταγραφόταν καθημερινά η κατανάλωση τροφής, η επιβίωση και η ωοπαραγωγή.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα των πειραμάτων φαίνεται ότι (α) η μεθοδολογία που αναπτύξαμε με ορισμένες διορθώσεις μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την καταγραφή της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής σε ενήλικα της οικογένειας Terphritidae όπως η μύγα της κερασιάς αλλά και άλλων δίπτερων, (β) στα ενήλικα της ραγολέτιδας η επιβίωση αυξάνεται καθώς η διαθεσιμότητα της ζάχαρης αυξάνεται, (γ) για την ωοτοκία των θηλυκών είναι απαραίτητη η τροφή πλούσια σε πρωτεΐνη, (δ) οι απαιτήσεις των δύο φύλων σε θρεπτικά στοιχεία είναι διαφορετικές και (ε) τα ενήλικα της Αγίας διαφέρουν με εκείνα του Dossenheim της Γερμανίας σε σημαντικές δημογραφικές παραμέτρους όταν και τα δύο τρέφονται με το ίδιο είδος τροφής.

SUMMARY

The study of daily consumption in adult insect of the family Tephritidae but and other small Diptera presents several difficulties mainly because of small amount of consumption. The purpose of this study was (a) to develop a methodology for estimating the daily food consumption in adults of *R. cerasi* (b) define age specific patterns of food consumption in relation to adulthood and (c) to investigate the relationship between food consumption and adult demography parameters such as longevity and fecundity.

The experiments of this study were conducted in 2009 in the laboratory of Entomology and Agricultural Zoology at the University of Thessaly. In the first experiment, we studied the consumption of protein (aqueous solution 10%) and the consumption of sugar (aqueous solution 10%) using insects that were come from the area of Agia Larisa. Because of the high mortality both males and females that were assigned to sugar food treatment it was decided to conduct a second experiment in which the aqueous solution of sugar intake was 20%. More specifically, in the second experiment we studied the protein intake (aqueous solution 10%) and the sugar intake (aqueous solution 20%) with insects come from Dossenhein of Germany. Both experiments recorded the daily food consumption, survival and fecundity.

According to the results of the experiments shown that (a) the methodology developed in a number of corrections can be used to record daily food intake in the adults of the family Tephritidae like the cherry fruit fly and other Diptera, (b) in adult rhagoletis survival increases as the availability of sugar increased, (c) for the fecundity, females need food rich in protein, (d) the requirements of both sexes in nutrients are different, (e) adults come from Agia differ with those of Dossenhein in many demographic parameters when both eat the same kind of food.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

1. Γενικά για το *Rhagoletis cerasi*

1.1 Συστηματική κατάταξη και ταξινόμική θέση του *Rhagoletis cerasi*

Η Ευρωπαϊκή μύγα των κερασιών, *Rhagoletis cerasi* (L.) (Diptera: Tephritidae), που είναι γνωστή και ως ραγγολέτιδα, παλαιότερα αναφερόταν με τα ονόματα *Musca cerasi* (Linnaeus, 1758), *Tephritis ceraci* (Persson, 1958), *Trypeta signata* (Meigen, 1826), *Urophora cerasorum* (Dufour, 1845) και *U. liturata* (Robineau -Desvoidy, 1830), ανήκει στην υπόταξη κυκλόρραφα της τάξης Diptera στην οποία περιλαμβάνονται περίπου 150,000 είδη. Το *R. cerasi* (Εικόνα 1) είναι ένα από τα περίπου 5,000 είδη της οικογένειας Tephritidae, η οποία περιλαμβάνει είδη μεγάλης σημασίας για τη παγκόσμια γεωργία, μερικά εκ των οποίων προκαλούν σημαντικές ζημιές σε καλλιέργειες, ενώ κάποια άλλα χρησιμοποιούνται στη βιολογική αντιμετώπιση επιβλαβών εντόμων. Τα περισσότερα είδη της οικογένειας Tephritidae τοποθετούν τα αυγά τους σε φυτικούς ιστούς. Τα ενήλικα ζουν από λίγες εβδομάδες έως αρκετούς μήνες και τα θηλυκά ωτοκοούν μεγάλο αριθμό αυγών. Τα Tephritidae χωρίζονται σε 5 υποοικογένειες, στην Blepharoneurinae (με 34 είδη), Dacinae (με 1066 είδη), Phytalmiinae (με 331 είδη), Tachiniscinae (με 1859 είδη) και στην υποοικογένεια Trypetinae με 1012 είδη, στην οποία συμπεριλαμβάνεται και η μύγα των κερασιών. (<http://www.search.com/reference/Rhagoletis>).



Εικόνα 1. Ενήλικο του *Rhagoletis cerasi*
(<http://aramel.free.fr/INSECTES156.shtml>)

Όπως φαίνεται το Πίνακα 1, όπου δίνεται η συστηματική κατάταξη του εντόμου, το γένος *Rhagoletis* περιλαμβάνει περίπου 65 είδη, τα οποία απαντώνται στη Νότια, Κεντρική και Βόρεια Αμερική καθώς και σε εύκρατες περιοχές της Ευρώπης και της Ασίας (Carinera, 2008). Σημαντικά είδη του γένους *Rhagoletis* και οι ξενιστές τους δίνονται στον Πίνακα 2.

Σε αντίθεση με άλλα είδη οικονομικής σημασίας της οικογένειας Tephritidae, όπως η μύγα της Μεσογείου *Ceratitis capitata*, είδη του γένους *Bactrocera* και *Anastrepha* τα οποία με ελάχιστες εξαιρέσεις είναι πολυφάγα, τα περισσότερα είδη *Rhagoletis* είναι ολιγοφάγα και προσβάλλουν καρπούς συγγενικών ειδών φυτών. Σύμφωνα με τους White και Elson - Harris (1992) 17 είδη του γένους *Rhagoletis* θεωρούνται σημαντικοί εχθροί καλλιεργούμενων φυτών.

Πίνακας 1. Συστηματική κατάταξη της ραγολέτιδας του κερασιού. (Πηγή: http://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=672581)

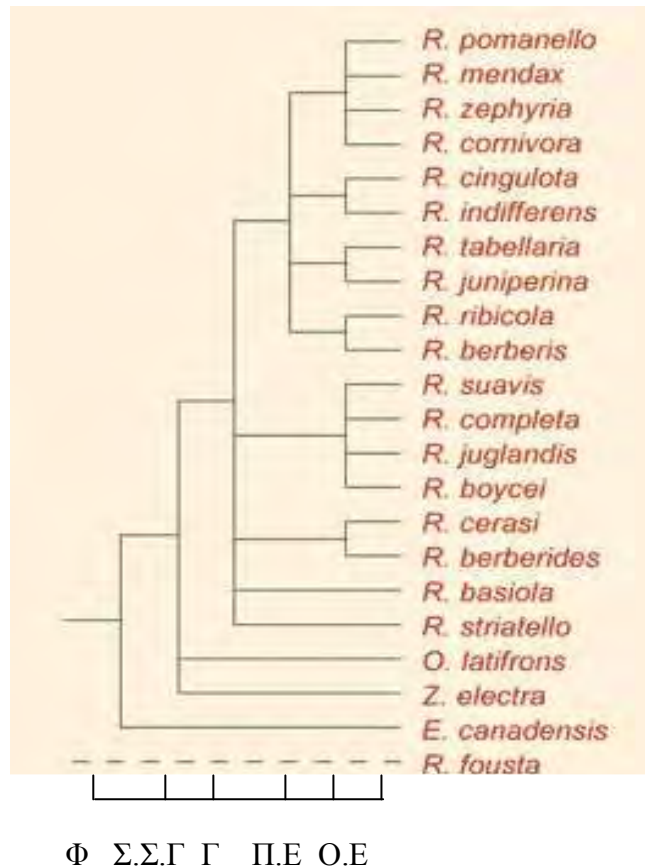
ΣΥΣΤΗΜΑΤΙΚΗ ΚΑΤΑΤΑΞΗ	
Kingdom	Animalia
Phylum	Arthropoda
Subphylum	Hexapoda
Class	Insecta
Subclass	Pterygota
Infraclass	Neoptera
Order	Diptera
Suborder	Brachycera
Infraorder	Muscomorpha
Family	Tephritidae
Subfamily	
Tribe	Carpomyini
Subtribe	Carpomyina
Genus	<i>Rhagoletis</i>
Species	<i>Rhagoletis cerasi</i>

Πίνακας 2. Τα σημαντικότερα είδη του γένους *Rhagoletis* και οι ξενιστές τους. (Πηγή: <http://en.wikipedia.org/wiki/Rhagoletis>)

ΣΗΜΑΝΤΙΚΑ ΕΙΔΗ ΤΟΥ ΓΕΝΟΥΣ <i>Rhagoletis</i> ΚΑΙ ΟΙ ΞΕΝΙΣΤΕΣ ΤΟΥΣ		
ΕΙΔΗ <i>Rhagoletis</i>	ΞΕΝΙΣΤΕΣ	
	ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟ ΟΝΟΜΑ	ΚΟΙΝΟ ΟΝΟΜΑ
<i>Rhagoletis basiola</i> Osten Sacken	<i>Rosa</i> spp.	Τριανταφυλλιά
<i>Rhagoletis berberis</i> Jermy	<i>Prunus mahaleb</i>	Αγριοκερασιά
<i>Rhagoletis cerasi</i> Loew	<i>Prunus avium</i>	Κερασιά
<i>Rhagoletis cingulata</i> Loew	<i>Prunus avium</i>	Κερασιά
<i>Rhagoletis completa</i> Cresson	<i>Juglans nigra</i>	Μαύρη καρυδιά
<i>Rhagoletis cornivora</i> Bush	<i>Cornus amomum</i>	
<i>Rhagoletis fausta</i> Olsen Sacken	<i>Prunus avium</i>	Κερασιά
<i>Rhagoletis indifferens</i> Curran	<i>Prunus avium</i> , <i>Crateagus</i> sp., <i>Rhamnus</i> sp.	Κερασιά, Κράταγος, Ράμνος
<i>Rhagoletis juglandis</i> Cresson	<i>Juglandaceae</i>	Καρυδιές
<i>Rhagoletis mendax</i> Curan	<i>Ericaceae</i> , <i>Gaylussacia</i> , <i>Vaccinium</i> spp.	Ροδόδεντρο, Βακκίνιο
<i>Rhagoletis pomonella</i> Walsh	<i>Cornus amomum</i>	
<i>Rhagoletis ribicola</i> Doane	<i>Ribes</i> spp.	Φραγκοσταφυλιά
<i>Rhagoletis suavis</i> Cresson	<i>Juglandaceae</i> , <i>Rosaceae</i>	Καρυδιές, Ροδώδη

Στο γένος *Rhagoletis* συμπεριλαμβάνονται είδη με ευρεία γεωγραφική εξάπλωση και πολύπλοκο συνδυασμό ξενιστών και παρόλο που η φυλογενετική σχέση των ειδών αυτού του γένους δεν έχει μελετηθεί αρκετά, πολλά είδη *Rhagoletis* έχουν τοποθετηθεί σε ταξινομικά διακριτές ομάδες. Πέντε από αυτές

τις ομάδες (*R. pomonella*, *R. tabellaria*, *R. ribicola*, *R. cingulata*, *R. suavis*) συμπεριλαμβάνουν τα περισσότερα *Rhagoletis* που είναι ιθαγενή στη Βόρεια Αμερική (Νεοαρκτική περιοχή). Ενώ τα είδη *R. pomonella*, *R. cingulata* και *R. suavis* πιστεύεται πως είναι ενδημικά στη Β. Αμερική, τα είδη *R. ribicola* και *R. tabellaria* ίσως κατάγονται από την Ευρασία. Στην ομάδα *R. pomonella* το *R. pomonella*, το *R. mendax* και το *R. zephyria* είναι τα πιο στενά συνδεδεμένα είδη και όσον αφορά τη μορφολογία τους είναι μακροσκοπικά δυσδιάκριτα. Από μοριακής και μορφολογικής πλευράς τα είδη της ομάδας *R. tabellaria* είναι μονοφυλετικά, εκτός του *R. juniperina*. Οι ομάδες *R. nova*, *R. psalida*, *R. striatella* και *R. ferruginea*, περιλαμβάνουν 18 είδη, τα οποία είναι Νεοτροπικά, και αποτελούν ξεχωριστή ομάδα με μόνη εξαίρεση ένα είδος της ομάδας το *R. striatella*, το οποίο έχει σχέση με τα βόρεια είδη. Τα Νεοτροπικά είδη *Rhagoletis* προσβάλλουν σχεδόν αποκλειστικά είδη της οικογένειας Solanaceae, εκτός από το *R. conversa*, που βρέθηκε να προσβάλλει δαμασκηνιές στη Χιλή. Ο διαχωρισμός των νότιων ειδών χρονολογείται πριν από 4 περίπου εκατομμύρια έτη και πιστεύεται ότι σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των Νεοτροπικών ειδών του γένους διαδραμάτισε η ανύψωση των Άνδεων. Τα είδη *R. cerasi*, *R. alternata*, *R. basiola* και *R. barberides* είναι ιθαγενή της παλαιοαρκτικής περιοχής και θεωρείται πως κατάγονται από την Ευρασία (Smith 1997, Ramirez 2008, Aluja 2010).



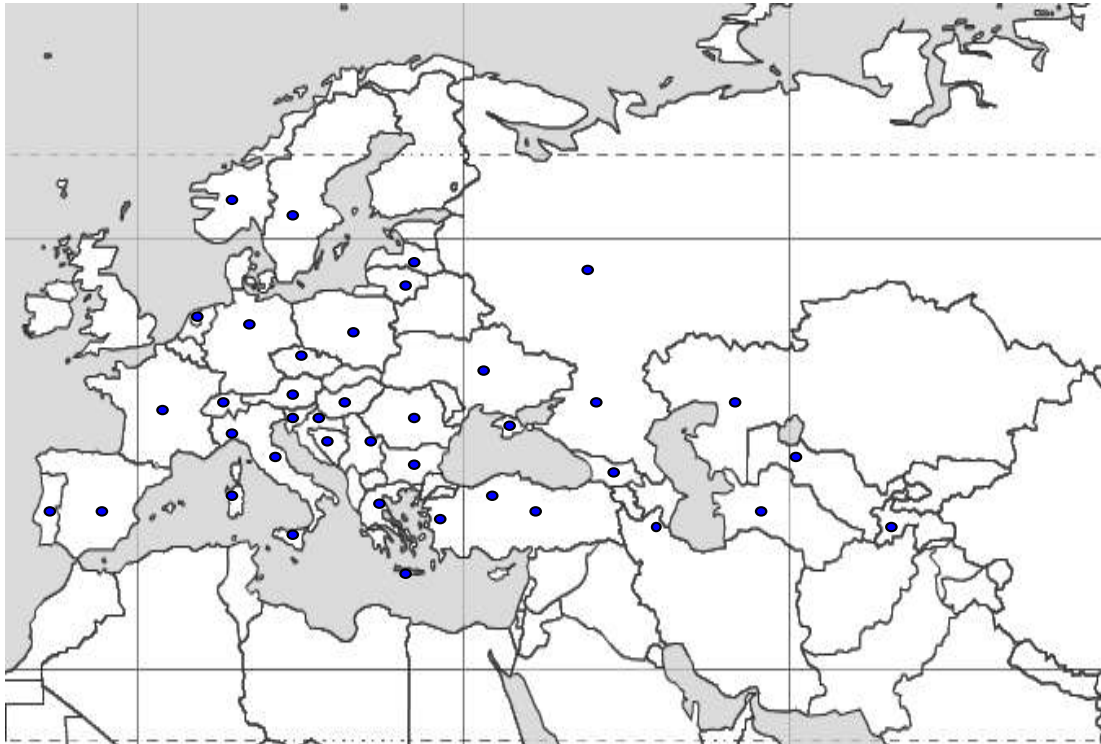
Διάγραμμα 1. Η φυλογενετική ταξινόμηση ειδών του γένους *Rhagoletis*. Οι συντομογραφίες στο κάτω μέρος της εικόνας σημαίνουν: Φυλή (Φ), Στενά συνδεδεμένα γένη (Σ.Σ.Γ), Γένη (Γ), Προερχόμενα από ομάδες ειδών (Π.Ε), Ομάδες ειδών (Ο.Ε). Πηγή: (<http://www.sciencecases.org>)

1.2 Γεωγραφική εξάπλωση του *R. cerasi*

Το *R. cerasi* είναι ιθαγενές της εύκρατης, δυτικής, Παλαιοαρκτικής ζώνης (Carinera, 2008). Η γεωγραφική του εξάπλωση ακολουθεί την εξάπλωση του ξενιστή του στην ευρωπαϊκή ήπειρο και τη λεκάνη της Μεσογείου. Πιο συγκεκριμένα, το έντομο απαντάται σε όλη την Ευρώπη, από τη Σκανδιναβικές χώρες ως τη Μεσόγειο και από τον Ατλαντικό μέχρι κάποιες ασιατικές χώρες, όπως το Ιράν (Πίνακας 3, Εικόνα 2).

Πίνακας 3. Οι χώρες στις οποίες έχει σημειωθεί η παρουσία του *R. cerasi* σύμφωνα με τον ΕΡΡΟ.

ΧΩΡΕΣ ΠΟΥ ΑΠΑΝΤΑΤΑΙ ΤΟ <i>R.cerasi</i>	
Αυστρία	Λιθουανία
Βέλγιο	Νορβηγία
Βουλγαρία	Ολλανδία
Γαλλία	Ουγγαρία
Γερμανία	Ουκρανία
Γεωργία	Πολωνία
Ελβετία	Πορτογαλία
Ελλάδα	Ρουμανία
Εσθονία	Ρωσία
Ιράν	Σερβία
Ισπανία	Σουηδία
Ιταλία	Ταζικιστάν
Καζακστάν	Τουρκία
Κιρκιστάν	Τουρκμενιστάν
Λετονία	Τσεχία



Εικόνα 2. Γεωγραφική εξάπλωση του *R. cerasi* σύμφωνα με τον EPPO.

Όσον αφορά τη γενετική των πληθυσμών της ραγγολέτιδας των κερασιών, πρόσφατα διαπιστώθηκε η παρουσία του ενδοκυτταρικού βακτηρίου *Wolbachia ripientis*. Το *Wolbachia ripientis* ανήκει στην α-υποομάδα των πρωτεοβακτηρίων. Είναι ένα υποχρεωτικά ενδοκυττάριο, μητρικά κληρονομούμενο βακτήριο, το οποίο μολύνει αρθρόποδα και νηματώδεις. Προκαλεί μία σειρά αναπαραγωγικών ανωμαλιών στους ξενιστές του, όπως παρθενογένεση, θηλυκοποίηση, θανάτωση αρσενικών εμβρύων και κυτταροπλασματική ασυμβατότητα, οι οποίες ευνοούν τη μετάδοση και εξάπλωσή του. Το *Wolbachia* κατά γενική παραδοχή τροποποιεί τα πατρικά χρωμοσώματα κατά τη διάρκεια της σπερματογένεσης. Αυτή η τροποποίηση δεν πραγματοποιείται μόνο εάν είναι παρόν στο έμβρυο το ίδιο βακτηριακό στέλεχος. Σε διαφορετική περίπτωση διακόπτεται η ανάπτυξη του εμβρύου λόγω της μη κανονικής συμπεριφοράς των πατρικών χρωμοσωμάτων στις πρώτες μιτωτικές διαιρέσεις, που ακολουθούν τη γονιμοποίηση (http://www.agroatlas.spb.ru/en/content/pests/Rhagoletis_cerasi/).

Τη δεκαετία του '70 διαπιστώθηκε κυτταροπλασματική ασυμβατότητα μεταξύ πληθυσμών του εντόμου. Η κυτταροπλασματική ασυμβατότητα στην πιο

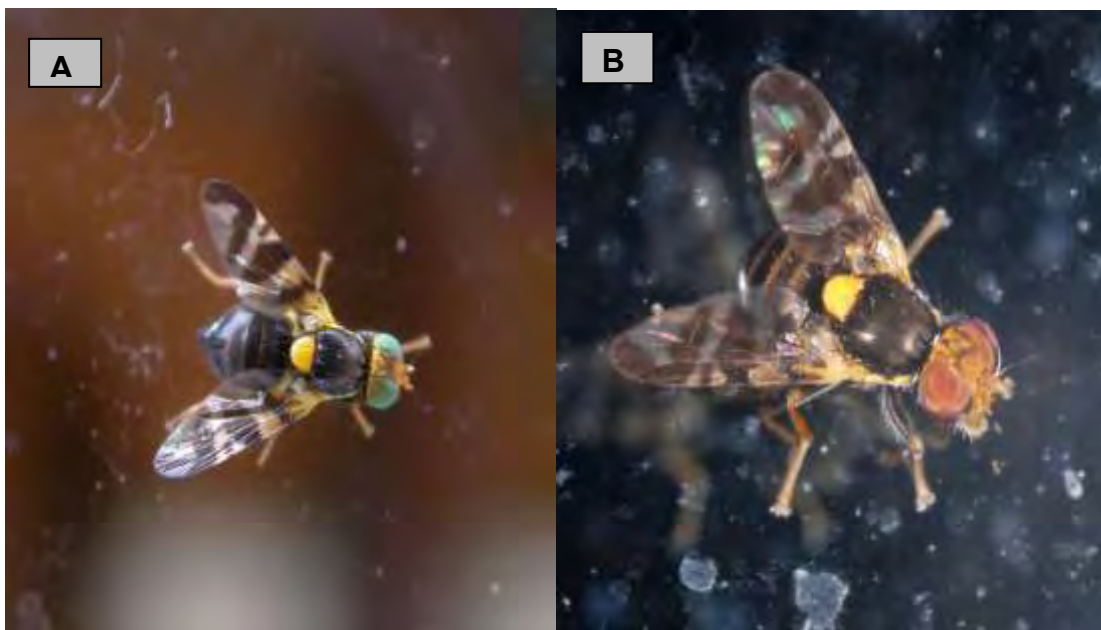
απλή της μορφή έχει ως αποτέλεσμα τη θνησιμότητα των εμβρύων, που προέρχονται από τη διασταύρωση ενός αρσενικού του ενός πληθυσμού με θηλυκό από τον άλλο πληθυσμό. Το παραπάνω γεγονός οδήγησε στη διάκριση δύο φυλών, της νότιας και της βόρειας. Η νότια φυλή απαντάται στην Ιταλία, Ελβετία, νότια Γερμανία, Γαλλία και Αυστρία, ενώ η βόρεια φυλή συναντάται βόρεια αυτών των περιοχών. Θηλυκά της νότιας φυλής παράγουν ζώντες απογόνους με αρσενικά της βόρειας φυλής, αλλά το αντίστροφο έχει σαν αποτέλεσμα την ασυμβατότητα (Riegler and Stauffer 2002). Υπεύθυνο για την κυτταροπλασματική ασυμβατότητα που παρατηρήθηκε μεταξύ των βόρειοδυτικών και νότιοανατολικών φυλών του *R. cerasi* βρέθηκε να είναι το βακτήριο *Wolbachia pipientis* (Riegler and Stauffer 2002).

Πρόσφατα είχε αποδειχθεί ότι πληθυσμοί του *R. cerasi* είναι μολυσμένοι με δύο στελέχη του *Wolbachia pipientis* (*wCer1* και *wCer2*). Επίσης, είχε βρεθεί ότι υπάρχουν πληθυσμοί μολυσμένοι ταυτόχρονα και με τα δύο παραπάνω στελέχη (*wCer1+2*). Το *wCer1* στέλεχος του *Wolbachia* αφορά πληθυσμούς της βόρειας, δυτικής και ανατολικής Ευρώπης, ενώ το *wCer1+2* βρέθηκε σε πληθυσμούς της κεντρικής και νότιας Ευρώπης. Η κυτταροπλασματική ασυμβατότητα παρατηρήθηκε όταν αρσενικά της νότιας φυλής (*wCer1+2*) συζεύχθηκαν με θηλυκά της βόρειας φυλής (*wCer1*) (Riegler and Stauffer 2002). Σε πρόσφατη μελέτη, βρέθηκε ότι υπάρχουν μολυσμένοι πληθυσμοί από ακόμα 3 στελέχη της *Wolbachia*, το *wCer3*, το *wCer4* και το *wCer5* (Arthofer *et al.*, 2009). Όσον αφορά τη συχνότητα των μολύνσεων και την επικράτηση των στελεχών, σύμφωνα με την παραπάνω μελέτη, το στέλεχος *wCer1* βρέθηκε σε όλους τους πληθυσμούς που μελετήθηκαν ενώ το στέλεχος *wCer2* μόνο στους νότιους. Το στέλεχος *wCer3* είχε μικρή συχνότητα, το *wCer4* είχε ομοιογενή αφθονία σε όλη την Ευρώπη ενώ το *wCer5* είχε σημαντικές διαφοροποιήσεις στη χωρική του διασπορά (Arthofer *et al.*, 2009).

Γνωρίζοντας ότι στην χώρα μας υπάρχουν πληθυσμοί μολυσμένοι με το στέλεχος *wCer1* (Kounatidis *et al.*, 2008), εξαπόλυση αρσενικών ατόμων προσβεβλημένων με κάποιο νέο στέλεχος θα είχε ως αποτέλεσμα την αδυναμία παραγωγής απογόνων και κατά συνέπεια την αντιμετώπιση του εντόμου.

1.3 Μορφολογία και χαρακτηριστικά

Το ενήλικο έχει μήκος σώματος 4-5 mm, χρώμα σώματος μαύρο λαμπερό, με το πρόσθιο μέρος της κεφαλής και τις κεραίες κίτρινες ή κιτρινωπές και το scutellum έντονα κίτρινο. Οι μηροί είναι μαύροι και οι κνήμες κίτρινες. Οι οφθαλμοί είναι χρώματος πράσινου ιριδίζοντος (http://www.agroatlas.ru/en/content/pests/Rhagoletis_cerasi/). Οι πτέρυγες είναι διαφανείς, ιριδίζουσες και έχουν 4 μαύρες ζώνες σε χαρακτηριστική διάταξη. Οι τρεις από αυτές τις ζώνες είναι εγκάρσιες. Η τέταρτη εκτείνεται κατά μήκος του κορυφαίου τμήματος της πρόσθιας παρυφής της πτέρυγας και καλύπτει και την κορυφή (apex). Η τρίτη εγκάρσια ζώνη και η κατά μήκος τέταρτη ενώνονται και σχηματίζουν περίπου ορθή γωνία. Στην πρόσθια παρυφή της πτέρυγας, μεταξύ της δεύτερης και της τρίτης μαύρης εγκάρσιας ζώνης, υπάρχει συνήθως μια μαύρη κηλίδα (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003). Όπως φαίνεται στην Εικόνα 3 τα θηλυκά διακρίνονται εύκολα από τα αρσενικά από το μεγαλύτερο μέγεθος τους και από την ύπαρξη ωοθέτη.



Εικόνα 3. Α) Ενήλικο θηλυκό του *R. cerasi* στο οποίο διακρίνεται ο ωοθέτης και
Β) Ενήλικο αρσενικό του *R. cerasi*

(<http://xespok.net/diptera/main.php/v/Tephritidae/Rhagoletis/>)

Τα αυγά είναι λευκά, στενόμακρα και ελαφρώς κυρτά.

Οι προνύμφες έχουν χρώμα λευκό ή λευκοκίτρινο, σώμα λογχοειδούς σχήματος αποτελούμενο από 11 μεταμερή. Είναι ακέφαλες, άποδες, όπως όλων των Tephritidae, με την κεφαλική άκρη του σώματός τους στενότερη από την εδραία (Εικόνα 4). Τα τρία προνυμφικά στάδια διακρίνονται μεταξύ τους από το μέγεθός τους. Η νεαρή προνύμφη (L₁) έχει μήκος 0.6 mm και η πλήρως αναπτυγμένη (L₃) 6 mm και πλάτος 1.5 mm.

Η νύμφη έχει ελλειψοειδές σχήμα και διαστάσεις 4 x 2 mm. Το περίβλημα της νύμφης (puparium) είναι επίσης ελλειψοειδές με κίτρινο ή ανοιχτοκάστανο χρώμα με τις διατμηματικές γραμμές σαφείς (Εικόνα 5). Οι αρσενικές νύμφες συνήθως είναι μικρότερου μεγέθους από τις θηλυκές (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003).



Εικόνα 4: Προνύμφη του *R. cerasi*.
(<http://xespok.net/diptera/main.php/v/Tephritidae/Rhagoletis/>)



Εικόνα 5: Νεαρή νύμφη του *R. cerasi*.
(<http://xespok.net/diptera/main.php/v/Tephritidae/Rhagoletis/>)

1.4 Ξενιστές

Το *R. cerasi* ενδημεί σε περιοχές της Ευρώπης όπου καλλιεργείται η κερασιά. Είναι ολιγοφάγο είδος που προσβάλλει κυρίως τους καρπούς της κερασιάς (*Prunus avium*) (Εικόνα 6) και λιγότερο συχνά της βουσσινιάς (*Prunus cerasus*). Επιπλέον, προσβάλλει τα είδη *Prunus serotina* και *P. mahaleb*. Επίσης έχουν παρατηρηθεί προσβολές σε καρπούς ειδών *Lonicera* της οικογένειας *Caprifoliaceae* και ιδίως των *L. xylosteum* *L. tartarica* (Εικόνα 7) και *L. alpigena* τα οποία σπανίζουν στην Ελλάδα (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος 2003). Τέλος, σαν ξενιστής του *R. cerasi* έχει αναφερθεί το *Berberis vulgaris* της οικογένειας *Berberidaceae* (Boller, 1973) και τα *Vaccinium myrtillus* (*Ericaceae*), *Lycium barbarum* (*Solanaceae*).

Σύμφωνα με τους Levinson και Hainsch (1984) οι παράγοντες που συντελούν στην αναγνώριση και στην επιλογή του ξενιστή από το *R. cerasi* είναι το μέγεθος και το σχήμα του δένδρου, το χρώμα και το σχήμα του φυλλώματος, το χρώμα, το σχήμα και η οσμή του καρπού και η αντίθεση του χρώματος του καρπού προς το περιβάλλον.



Εικόνα 6. Καρποί κερασιάς (*Prunus avium*)
(<http://www.flickr.com/photos/damiel/27056096/>)



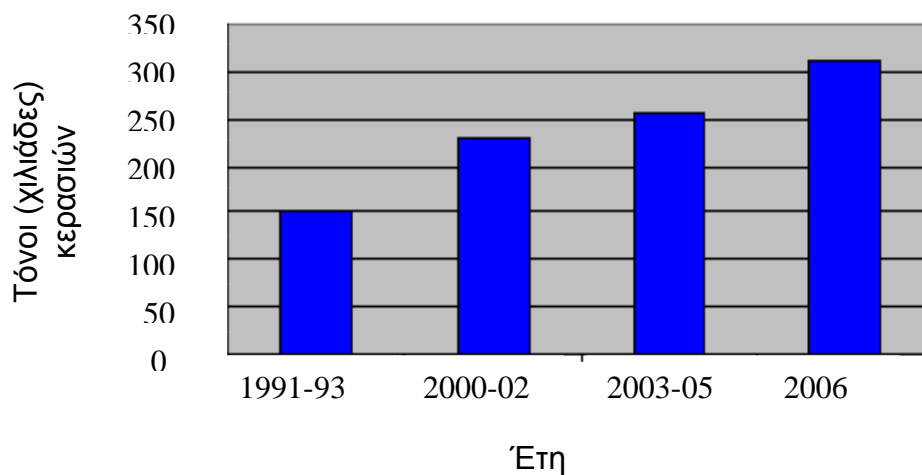
Εικόνα 7. Καρποί του *Lonicera tartarica*
(<http://www.robsplants.com/plants/LonicTatar.php>)

1.5 Οικονομική σημασία του *R. cerasi*

Η καλλιέργεια της κερασιάς κατέχει σημαντική θέση στη παγκόσμια γεωργία. Η παραγωγή κερασιού παγκοσμίως ανέρχεται στους 2.083.000 τόνους/έτος. Η Τουρκία παράγει το 19% αυτής της ποσότητας και έτσι αναδεικνύεται ως η πιο σημαντική χώρα παραγωγής κερασιών. Σύμφωνα με τον FAO (2008), δεύτερη στη παραγωγή κερασιού είναι η Αμερική, στην τρίτη θέση βρίσκεται το Ιράν, στην τέταρτη θέση η Ιταλία και στην πέμπτη η Ουκρανία (Πίνακας 4).

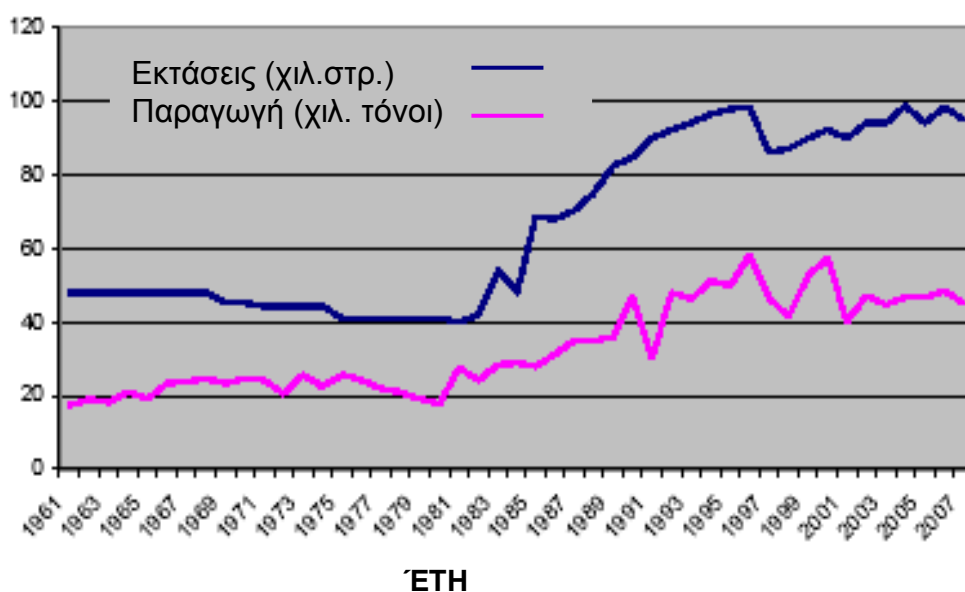
Πίνακας 4. Κατάταξη των χωρών σύμφωνα με την παραγωγή κερασιών (σε τόνους) το έτος 2008. (Πηγή: <http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>)

ΧΩΡΑ	ΠΑΡΑΓΩΓΗ (σε τόνους)
Τουρκία	338361
Αμερική	225073
Ιράν	198768
Ιταλία	134407
Ουκρανία	74700
Ρουμανία	67664
Ρωσία	63000
Ισπανία	62900
Ουζμπεκιστάν	61000
Χιλή	60000
Συρία	48300
Ελλάδα	42000
Πολωνία	40818
Γαλλία	39576
Λίβανος	30000
Σερβία	29551
Αυστρία	26790
Γερμανία	25166
Κίνα	25000
Ιαπωνία	16600

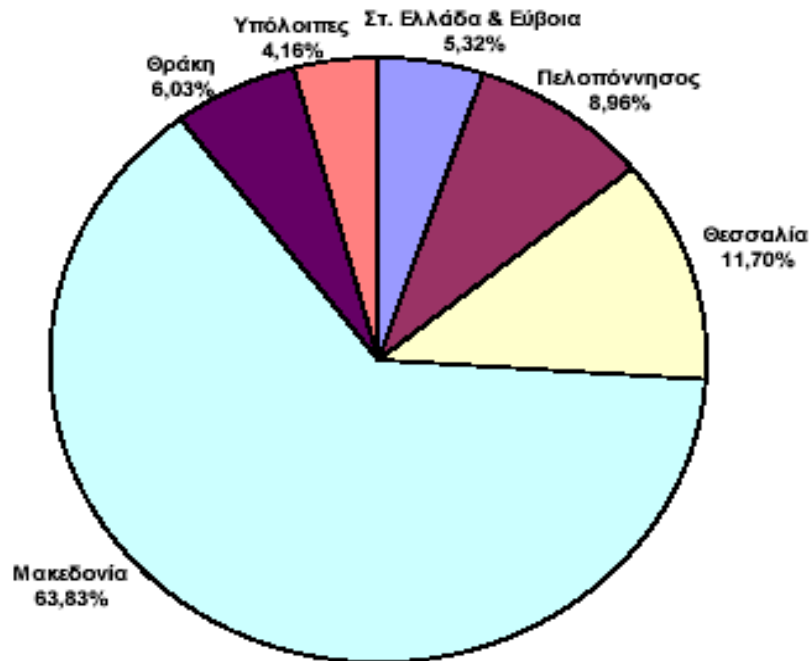


Διάγραμμα 1. Παραγωγή κερασιού (σε χιλιάδες τόνους) στη Τουρκία από το 1991-2006. (Πηγή: FAO)

Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 3 στη χώρα μας, η παραγωγή των κερασιών σημείωσε ραγδαία αύξηση τις τελευταίες δεκαετίες, αφού από τα 50.000 στρέμματα το 1990 έφτασε τα 90.000 στρέμματα τη περίοδο 1996-2000 (Κατσόγιαννος και συνεργάτες, 2000). Ανάλογη πορεία σημειώθηκε και στη συνολική ετήσια παραγωγή κερασιών, που από τους 34.000 τόνους το 1989 ανήλθε στους 43.000 τόνους το 1995 (Κουρκουγιάννης 2000). Σύμφωνα με τον FAO η παραγωγή έπεσε ελαφρώς στους 42.000 τόνους το 2008. Στη παγκόσμια κατάταξη παραγωγής κερασιών, η Ελλάδα καταλαμβάνει την 12^η θέση (FAO 2008), ενώ όσον αφορά την κατανάλωση κερασιών η Ελλάδα κατέχει τη 10^η θέση στο κόσμο. Η καλλιέργεια της κερασιάς απαντάται σε πολλές περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας, αλλά κυρίως στη Μακεδονία και ιδιαίτερα στους νομούς Πέλλας και Ημαθίας (Διάγραμμα 4). Μέχρι το 1978 η καλλιέργεια της κερασιάς συναντιόταν μόνο στις ηπειρωτικές περιοχές της Ελλάδας, αλλά πλέον εκτείνεται από τη Μακεδονία έως τη Κρήτη.



Διάγραμμα 2. Η παραγωγή (σε τόνους) και καλλιεργούμενες εκτάσεις (σε στρέμματα) κερασιάς στην Ελλάδα από το 1961-2007. (Πηγή : FAO 2007)



Διάγραμμα 3. Η κατανομή παραγωγής ανά περιφέρεια το έτος 2005. Πηγή: ΕΣΥΕ Γεωργική Στατιστική 2005

Το *R. cerasi* προσβάλλει τα κεράσια λίγο πριν τη συγκομιδή και ακόμα και μικρής πυκνότητας πληθυσμός μπορεί να προκαλέσει μεγάλη ζημιά. Η ζημιά είναι άμεση αλλά και έμμεση με τη μείωση των εξαγωγών, λόγω της προνύμφης που τρέφεται σε βάρος του μεσοκαρπίου και υποβαθμίζει το προϊόν εξαιτίας της παρουσίας της αλλά και των αποχωρημάτων της (Εικόνα 8). Η αγορά έχει μικρή ανεκτικότητα στα επίπεδα προσβολής και για αυτό το *R. cerasi* αποτελεί τον κυριότερο εχθρό της κερασιάς. Η ευρωπαϊκή μύγα των κερασιών προσβάλλει περισσότερο τις μαλακόσαρκες, μεσόψιμες και όψιμες ποικιλίες και λιγότερο τις πρώιμες. Σε έτη με έντονη προσβολή το ποσοστό ζημιάς στη χώρα μας μπορεί να φτάσει από 50% έως 100%. Ενώ σε άλλες χώρες όπως η Τουρκία το σύνηθες ποσοστό ζημιάς σε μεσόψιμες ποικιλίες κυμαίνεται κάτω από 40% και σε όψιμες ποικιλίες φθάνει το 80% (Kovanci 2006).



Εικόνα 8. Προσβεβλημένα κεράσια από τη ραγγολέτιδα της κερασιάς.
(http://www.russellipm-agriculture.com/insect.php?insect_id=137&lang=en)

1.6 Βιολογία του *R. cerasi*

Το *R. cerasi* έχει μία γενιά το έτος και διαχειμάζει ως νύμφη σε υποχρεωτική διάπαυση στο έδαφος. Ένα μικρό ποσοστό του πληθυσμού μπορεί να παραμείνει σε διάπαυση για περισσότερα από ένα έτη, συμπληρώνοντας μία γενιά σε δύο έτη. Τα ενήλικα εξέρχονται από τις νύμφες που διαχείμασαν στο έδαφος, από τα τέλη Απριλίου μέχρι και τις αρχές Ιουνίου, ανάλογα με τις κλιματικές συνθήκες και την περιοχή. Οι καρποί γίνονται επιδεκτικοί για προσβολή μετά την έναρξη αλλαγής χρώματος. Συνήθως, η έξοδος των θηλυκών προηγείται αυτής των αρσενικών και ο συγχρονισμός της εξόδου των δύο φύλων παρατηρείται την περίοδο του μεγίστου της εξόδου (Boller and Prokopy 1976). Η έξοδος των ενηλίκων από το νυμφικό περίβλημα πραγματοποιείται κυρίως τις πρωινές ώρες. Τα ενήλικα είναι ικανά να πετάξουν και να αναζητήσουν τροφή περίπου 2 ώρες αργότερα. Η κύρια πηγή τροφής για τα ενήλικα σύμφωνα με τον Boller (1976) είναι εκκρίσεις μελιτογόνων εντόμων, φυτικοί χυμοί, βακτήρια, ζύμες, σπόρια μυκήτων και γενικά πρωτεϊνούχες τροφές ή τροφές πλούσιες σε άζωτο. Τα ενήλικα αφού τραφούν, ωριμάζουν αναπαραγωγικά εντός 12 – 24

ωρών μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα και συζευγνύονται (Katsoyannos 1975). Στη συνέχεια τα θηλυκά ωτοκοούν σε κεράσια που αρχίζουν να ωριμάζουν. Το θηλυκό ανοίγει με τον ωothήτη του μια σπή στον καρπό και εισάγει ένα αυγό στο μεσοκάρπιο. Η διείσδυση του ωothήτη εξαρτάται από τη διαπερατότητα του φλοιού και από τη σκληρότητα του μεσοκαρπίου. Αμέσως μετά την ωτοκία, το θηλυκό με τον ωothήτη του αποθέτει στην επιφάνεια του καρπού μια φερομόνη αποτροπής ωτοκίας, η οποία αποτρέπει νέες ωτοκίες στους ήδη ωτοκημένους καρπούς (Katsoyannos 1975) (Εικόνα 10). Σε κάθε κεράσι τοποθετείται ένα αυγό, εκτός από περιπτώσεις υψηλού πληθυσμού του εντόμου. Στη φύση θεωρείται ότι το θηλυκό γεννά κατά μέσον όρο 100-200 αυγά (Boller & Prokopy 1976). Η προνύμφη αναπτύσσεται τρώγοντας τη σάρκα του καρπού ο οποίος και καταστρέφεται (Εικόνα 9). Δευτερογενής προσβολές βακτηρίων, μυκήτων και σαπροφάγων εντόμων επιτείνουν τη ζημιά. Όταν η προνύμφη συμπληρώσει την ανάπτυξή της, εγκαταλείπει το καρπό και πέφτει στο έδαφος όπου και νυμφώνεται, συνήθως νωρίς το πρωί, με την άνοδο της θερμοκρασίας, η οποία αποτελεί βασικό ερέθισμα για την εγκατάλειψη του καρπού (Boller and Prokopy 1976).

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, αρκετές είναι οι έρευνες που έχουν επικεντρωθεί στη βιολογία του *R. cerasi*, ενώ πολύ λίγα είναι γνωστά για το έντομο σε μοριακό και γενετικό επίπεδο. Πρόσφατα διεξήχθη κυτογενετική μελέτη με σκοπό την ανάπτυξη πολυταινικών χρωματοσωματικών χαρτών (Kounatidis *et al.*, 2008) και πρόσφατα επίσης αναπτύχθηκαν 13 μικροδορυφόροι με σκοπό τη διαπίστωση γονιδιακής ροής μεταξύ διαφορετικών πληθυσμών (Augustinos *et al.*, 2010).



Εικόνα 9: Προνύμφη του *R. cerasi* εντός προσβεβλημένου καρπού.



Εικόνα 10. Ενήλικο θηλυκό του *R.cerasi* σε καρπό κερασιάς αμέσως μετά την ωτοκία και ενώ αποθέτει φερομόνη αποτροπής ωτοκίας.

(<http://www.fugleognatur.dk/wildaboutdenmark/speciesintro.asp?ID=7266>)

1.7 Αντιμετώπιση του *R. cerasi*

Η αντιμετώπιση της μύγας των κερασιών είναι δύσκολη. Η δυσκολία οφείλεται στο γεγονός ότι η αρχή της προσβολής εντοπίζεται πολύ κοντά στη συγκομιδή (περίπου 2-3 βδομάδες πριν) και έτσι υφίστανται ο κίνδυνος της ύπαρξης ανεπίτρεπτων υπολειμμάτων όταν γίνονται αλόγιστοι και άκαιροι ψεκασμοί με εντομοκτόνα. Βασική τάση στη σύγχρονη αντιμετώπιση του εντόμου είναι οι επίκαιροι ψεκασμοί μόνον όταν είναι αναγκαίο, με τα κατάλληλα εντομοκτόνα και η ανάπτυξη και εφαρμογή άλλων εναλλακτικών προς τη χημική, μεθόδων αντιμετώπισης.

Για την παρακολούθηση του πληθυσμού του εντόμου χρησιμοποιούνται κίτρινες κολλητικές παγίδες τύπου Rebell® (Εικόνα 11). Στη χώρα μας και συγκεκριμένα στη περιοχή της Θεσσαλονίκης διεξήχθησαν πειράματα για την αξιολόγηση διαφόρων τύπων παγίδων και ελκυστικών. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως οι κίτρινες κολλητικές παγίδες έχουν καλύτερα αποτελέσματα από τις

παγίδες τύπου McPhail, η οποίες περιέχουν τροφικό ελκυστικό. Επίσης, διαπιστώθηκε ότι η παγίδα τύπου Rebell® είναι αποτελεσματικότερη από τις άλλες κολλητικές παγίδες. Προσθήκη οξικού αμμωνίου σε παγίδα τύπου Rebell® αύξησε κατά 50% την ελκυστικότητά τους σε σχέση με τις παγίδες που δεν είχαν ελκυστικές ουσίες (Katsoyannos et al., 2000). Στην Ιταλία και στην Ελβετία, όταν οι συλλήψεις ξεπεράσουν την πυκνότητα επέμβασης, που ανάλογα με την περιοχή και το μέγεθος της αναμενόμενης παραγωγής κυμαίνεται από 0-2 έντομα ανά παγίδα, εφαρμόζονται εντομοκτόνοι ψεκασμοί. Στην Ελβετία, οι παγίδες χρησιμοποιούνται ακόμα και για άμεση αντιμετώπιση με μαζική παγίδευση, κυρίως σε μικρούς κερασεώνες (2-10 παγίδες ανά δένδρο ανάλογα με το μέγεθος του δένδρου και την αναμενόμενη παραγωγή).



Εικόνα 11. Κίτρινη κολλητική παγίδα τύπου Rebell®

[\(http://www.ages.at/ages/amtliches-und-warntmeldungen/warndienst-pflanzengesundheit/archiv/obstbau/kirschfruchtfliege-rhagoletis-cerasi_6/\)](http://www.ages.at/ages/amtliches-und-warntmeldungen/warndienst-pflanzengesundheit/archiv/obstbau/kirschfruchtfliege-rhagoletis-cerasi_6/)

Βασιζόμενοι σε αποτελέσματα συλλήψεων σε παγίδες οι Κονανσι και Κονανσι (2006) ανέπτυξαν ένα φαινολογικό μοντέλο, για την πρόβλεψη του βέλτιστου χρονικού συγχρονισμού μεταξύ της εμφάνισης των ενηλίκων και της εφαρμογής εντομοκτόνων ψεκασμών. Το μοντέλο είναι βασισμένο στο άθροισμα της θερμοκρασίας του αέρα έως την 1 Φεβρουαρίου. Η χρήση των

ημεροβαθμών, για τη πρόβλεψη της εμφάνισης των ενηλίκων, βασίζεται στη σχέση της μεταδιαπαιτικής ανάπτυξης της νύμφης με την θερμοκρασία. Επίσης, σε διάφορες χώρες της Ευρώπης (Πολωνία, Ελβετία, Αυστρία) έχουν αναπτυχθεί ανάλογα μοντέλα, με τη χρήση της θερμοκρασίας του εδάφους.

Στη χώρα μας η αντιμετώπιση γίνεται κυρίως με δύο ψεκασμούς καλύψεως εναντίον των ενηλίκων και των νεοεκκολαφθέντων προνυμφών, με cypermethrin, deltamethrin, thiamethoxam και *Bauveria bassiana* (Πίνακας 5). Μέχρι πρόσφατα χρησιμοποιούνταν και το dimethoate αλλά η εφαρμογή του απαγορεύτηκε. Οι ψεκασμοί αυτοί εφαρμόζονται ημερολογιακά, δηλαδή ανεξάρτητα από τη διαπίστωση ή όχι της παρουσίας του εντόμου (Κατσόγιαννος και συνεργάτες, 2000).

Πίνακας 5. Οι εγκεκριμένες δραστικές ουσίες και τα εμπορικά ονόματα των σκευασμάτων που χρησιμοποιούνται στην αντιμετώπιση της ραγολέτιδας του κερασιού στη χώρα μας (2010).

ΔΡΑΣΤΙΚΗ ΟΥΣΙΑ	ΕΜΠΟΡΙΚΟ ΟΝΟΜΑ
cypermethrin	Cygran, Cypernox Dust, Cypermex, Cythrin, Radex, Ripcord 10EC, Sarestin, Valliant, Cypermethrin – Nitrofarm 25 EC
deltamethrin	Decis
thiamethoxam	Actara
<i>Bauveria bassiana</i>	Mycotrol GH-OF, Mycotrol GH-ES

Τελευταία εφαρμόστηκαν με αρκετή επιτυχία δολωματικοί ψεκασμοί στη περιοχή της Κοζάνης. Πιο συγκεκριμένα, σε δύο εγκαταλελειμμένους κερασεώνες τα έτη 1996 και 1997 πραγματοποιήθηκε παρακολούθηση του πληθυσμού του *R. cerasi* καθώς και δειγματοληψίες κερασιών. Το δεύτερο έτος του πειράματος, σε έναν από τους δύο κερασεώνες, έγινε καταπολέμηση του εντόμου με δύο δολωματικούς ψεκασμούς. Ο πρώτος ψεκασμός πραγματοποιήθηκε την 1^η Ιουνίου και ο δεύτερος στις 10 Ιουνίου καλύπτοντας ένα μέρος μόνο της κόμης. Ως ψεκαστικό υγρό χρησιμοποιήθηκε υδατικό διάλυμα της πρωτεΐνης *Dacus bait* και εντομοκτόνο fenthion (σε αναλογία 4 και 0.3% αντίστοιχα). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι οι δολωματικοί ψεκασμοί ήταν αποτελεσματικοί εναντίον του εντόμου,

παρόλο που η πυκνότητα του πληθυσμού ήταν αρκετά υψηλή. Πιο αναλυτικά, το 1997, στον κερασεώνα στον οποίο πραγματοποιήθηκαν οι ψεκασμοί, το ποσοστό προσβολής των κερασιών ήταν 10 φορές μικρότερο από αυτό του πρώτου κερασεώνα (7,6% και 77,8% αντίστοιχα) (Παπαδόπουλος και συνεργάτες, 1999).

Βασική αρχή των δολωματικών ψεκασμών (bait sprays) είναι η χρήση τροφικού ελκυστικού ως δόλωμα για τα έντομα, σε συνδυασμό με μικρές ποσότητες εντομοκτόνων, όπως το Spinosad GF 120 (προέρχεται από τον ακτινομύκητα *Saccaropolyspora spinosa*) και το NeemAzal-T/S® (προέρχεται από το δένδρο *Azadirachta indica*). Το ελκυστικό διάλυμα ψεκάζεται σε μέρη του δέντρου που δεν υπάρχουν καρποί. Η αντιμετώπιση με αυτό τον τρόπο έχει δώσει καλά αποτελέσματα λόγω της υψηλής ευαισθησίας του *R. cerasi* (Korpler *et al.*, 2009).

Στις εναλλακτικές μεθόδους αντιμετώπισης του εντόμου συμπεριλαμβάνεται η χρήση εντομοπαθογόνων νηματωδών. Αυτή η μέθοδος είναι φιλική προς το περιβάλλον μιας και δεν δημιουργεί κίνδυνο για ωφέλιμα εντομοφάγα έντομα ή άλλα ποικιλόθερμα ζώα και δεν είναι τοξική για θερμόαιμα ζώα. Η χρήση των νηματωδών στοχεύει στην προσβολή των προνυμφών, που εγκαταλείπουν τον καρπό και πέφτουν στο έδαφος για να νυμφωθούν. Σε πρόσφατο πείραμα, όπου χρησιμοποιήθηκε ο εντομοπαθογόνος νηματώδης *Steinernema feltiae*, τα αποτελέσματα ήταν ενθαρρυντικά, αλλά χρειάζεται επιπλέον έρευνα για τη σωστή πρόβλεψη της εξόδου της προνύμφης από το καρπό και για τη κατάλληλη υγρασία του εδάφους αφού οι νηματώδεις έχουν αυξημένες απαιτήσεις σε υγρασία (Hertz *et al.*, 2005). Επίσης, για την αντιμετώπιση του εντόμου έχουν χρησιμοποιούνται οι εντομοπαθογόνοι μύκητες, *Beauveria bassiana* και *Paecilomyces fumosoroseus*. Τα ενήλικα του *R. cerasi* είναι ευαίσθητα στους παραπάνω μύκητες, ενώ οι προνύμφες του εντόμου πολύ λιγότερο. Τα αποτελέσματα της χρήσης των παραπάνω μυκήτων ήταν πολύ θετικά όπως έδειξαν πρόσφατες δοκιμές (Daniel and Wyss, 2009). Πιο συγκεκριμένα, το 2006 σε κερασεώνες της Ελβετίας εφαρμόστηκαν οι δύο παραπάνω εντομοπαθογόνοι μύκητες, στην ίδια ποσότητα ($5,75 \times 10^4$ CFU/ml). Πραγματοποιήθηκαν 4 εφαρμογές ανά 7-10 μέρες που κάλυψαν όλη την περίοδο πτήσης του εντόμου. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το σκεύασμα με τον μύκητα *Beauveria bassiana* ήταν πολύ αποτελεσματικό αφού μείωσε σημαντικά το

ποσοστό προσβολής των καρπών. Η αποτελεσματικότητα του *Beauveria bassiana* ήταν 69 - 74% ενώ το σκεύασμα με τον μύκητα *Paecilomyces fumosoroseus* ήταν λιγότερο αποτελεσματικό (27%). Πρέπει να σημειωθεί ότι οι κερασεώνες δεν είχαν υποστεί μεταχείριση για 10 χρόνια, γεγονός που κάνει τους επιστήμονες να πιστεύουν πως στα επόμενα χρόνια τα αποτελέσματα μπορεί να είναι ακόμα καλύτερα.

Άλλη εναλλακτική μέθοδος αντιμετώπισης του *R. cerasi* είναι η εφαρμογή φυσικής ή συνθετικής φερομόνης αποτροπής ωτοκίας (Katsoyannos & Boller 1976), (Katsoyannos & Boller 1980). Οι Hurter *et al.*, (1987) χαρακτήρισαν χημικά και συνέθεσαν τη φερομόνη αποτροπής ωτοκίας (HMP), αργότερα οι Boller & Aluja (1992) έδειξαν ότι η συνθετική αυτή φερομόνη προκαλεί παρόμοιες αντιδράσεις με αυτές που προκαλεί η φυσική φερομόνη. Σε πείραμα στον αγρό, εξετάστηκε η αποτελεσματικότητα της HMP του *R. cerasi* και έγινε σύγκριση δύο διαφορετικών μεταχειρίσεων. Στη πρώτη μεταχείριση έγινε κάλυψη ολόκληρης της κόμης των δένδρων με τη φερομόνη αποτροπής ωτοκίας και στη δεύτερη μεταχείριση καλύφθηκε η μισή κόμη των δένδρων. Τα αποτελέσματα έδειξαν πως υπήρξε σημαντική μείωση στην προσβολή των κερασιών τόσο στη πρώτη μεταχείριση όσο και στη δεύτερη. Για αυτό η μέθοδος αυτή φαίνεται ότι μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην προστασία των βιολογικών καλλιεργειών κερασιού, καθώς τα παραγόμενα κεράσια απολαμβάνουν υψηλές τιμές στη αγορά (Aluja & Boller, 1992).

Τέλος, άλλες μέθοδοι που βρίσκονται ακόμα σε πειραματικό επίπεδο και χρειάζονται περαιτέρω μελέτη είναι η εξαπόλυση εντόμων με γενετικά ασυμβίβαστο κυτταρόπλασμα (όπως αναφέρθηκε σε προηγούμενο κεφάλαιο) και η χρήση διχτύων για την κάλυψη των δένδρων και την προστασία τους από το έντομο (anti – insect net covering system). Πιο συγκεκριμένα, στο Τρεντίνο της Ιταλίας τα έτη 2007, 2008 και 2009 έγιναν δοκιμές για την αποτελεσματικότητα των διχτύων κατά του εντόμου. Η κάλυψη έγινε με δύο διαφορετικούς τρόπους (κάλυψη του εδάφους, κάλυψη της κόμης του δένδρου). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι ο δεύτερος τρόπος κάλυψης ήταν αποτελεσματικότερος αλλά συγχρόνως και ο πιο περίπλοκος στην εφαρμογή του από τους παραγωγούς. Τα ποσοστά προστασίας ήταν 91%, 85% και 88% αντίστοιχα για κάθε χρονιά (Grassi *et al.*, 2010).

Γενικά για την ασφαλέστερη και αποτελεσματικότερη αντιμετώπιση του εντόμου είναι απαραίτητη η γνώση της βιολογίας, της φαινολογίας και της συμπεριφοράς του, στις συνθήκες που επικρατούν στη χώρα μας. Εξίσου σημαντικός είναι και ο προσδιορισμός των ορίων ανεκτής πυκνότητας.

2. Διατροφή και θρέψη των εντόμων

2.1 Η διατροφή και θρέψη των εντόμων

Τα έντομα διακρίνονται σε φυτοφάγα, σαρκοφάγα και σαπροφάγα. Στα φυτοφάγα και στα σαπροφάγα περιλαμβάνονται έντομα μονοφάγα, ολιγοφάγα και πολυφάγα. Μονοφάγα λέγονται τα έντομα που ως ανήλικα αναπτύσσονται και τρώνε ένα μόνο είδος ξενιστή. Χαρακτηριστικό παράδειγμα μονοφάγου εντόμου είναι το *Bactrocera oleae*, το οποίο μπορεί να συμπληρώσει το βιολογικό του κύκλο μόνο στην ελιά και στην αγριελιά. Ολιγοφάγο λέγεται το έντομο που μπορεί να αναπτυχθεί και να αναπαραχθεί τρεφόμενο σε λίγα είδη ξενιστών, συνήθως συγγενικών μεταξύ τους. Για παράδειγμα το *Pieris brassicae* ανήκει σε αυτή την κατηγορία μιας και οι προνύμφες του αναπτύσσονται μόνο σε ορισμένα είδη καλλιεργούμενων και αυτοφυών φυτών του γένους *Brassica* και σπανιότερα ορισμένων άλλων γενών της οικογένειας *Cruciferae*. Πολυφάγο ονομάζουμε το έντομο που μπορεί να αναπτυχθεί προσβάλλοντας πολλά είδη φυτών, που κατά κανόνα ανήκουν σε περισσότερα από ένα γένη ή οικογένειες. Σε αυτή τη περίπτωση ανήκει το *Heliothis armigera* που προσβάλλει είδη των *Malvaceae*, *Solanaceae*, *Curcubitaceae* και *Gramineae*. Τα σαπροφάγα έντομα είναι ολιγοφάγα ή πολυφάγα (Τζανακάκης, 1995).

Σε μερικές τάξεις εντόμων, τα ενήλικα τρώνε το ίδιο είδος ή τύπο τροφής με τα ανήλικα στάδια και για αυτό τα στοματικά μόρια παραμένουν ίδια. Σε άλλες τάξεις εντόμων που ανήκουν στα Ολομετάβολα, η τροφή των ανήλικων σταδίων διαφέρει από εκείνη του ενήλικου και συχνά ο τρόπος των στοματικών μορίων είναι διαφορετικός.

Παρόλα αυτά, τα περισσότερα έντομα έχουν ποιοτικά τις ίδιες διατροφικές απαιτήσεις, αφού η βασική χημική σύνθεση των ιστών τους και οι μεταβολικές τους διαδικασίες είναι γενικά παρόμοιες. Οι περισσότερες από αυτές τις απαιτήσεις ικανοποιούνται από τη διατροφή. Οι χημικές ενώσεις που

προμηθεύονται τα έντομα μόνο με την τροφή είναι απαραίτητες ενώ υπάρχουν ενώσεις τις οποίες τις παράγουν τα ίδια τα έντομα από συστατικά που βρίσκονται στη τροφή τους (Charman 1998). Τα βασικά συστατικά της διατροφής των εντόμων είναι τα αμινοξέα, οι υδατάνθρακες, τα λιπίδια, τα ανόργανα συστατικά και οι βιταμίνες, των οποίων η σημασία αναλύεται παρακάτω. Έχει διαπιστωθεί ότι τα αρπακτικά έντομα έχουν μεγάλες απαιτήσεις σε αμινοξέα σε σχέση με τις απαιτήσεις σε υδατάνθρακες, γεγονός που αντανάκλαται και στην περιεκτικότητα των ιστών των ζώων σε πρωτεΐνη. Αντιθέτως τα φυτοφάγα έντομα έχουν σχεδόν ίσες απαιτήσεις σε πρωτεΐνη, αμινοξέα και υδατάνθρακες, όπως συμβαίνει με τα Orthoptera, Coleoptera και Lepidoptera (Genc, 2006). Γενικά, οι διατροφικές απαιτήσεις των εντόμων αλλάζουν ανάλογα με την ηλικία, το φύλο και τις διάφορες καταπονήσεις στις οποίες υπόκεινται (Nation 2001).

2.2 Αμινοξέα

Τα περισσότερα έντομα για την καλύτερη ανάπτυξή τους χρειάζεται να τρέφονται με τη βέλτιστη ποσότητα αμινοξέων, αλλά η ποσότητα αυτή διαφέρει πολύ μεταξύ των διάφορων ειδών. Πιο συγκεκριμένα, τα αμινοξέα είναι απαραίτητα για την παραγωγή των πρωτεϊνών που χρησιμοποιούνται ως δομικά συστατικά και συμμετέχουν σε πολλές βιολογικές διαδικασίες. Εκτός από τον ρόλο τους στη σύνθεση των πρωτεϊνών, σύμφωνα με τον Chang (2004), υψηλά επίπεδα αμινοξέων σχετίζονται με επιπλέον λειτουργίες που αφορούν στις νευρικές μεταδόσεις, την αποτοξίνωση, τη σύνθεση φωσφολιπιδίων και την παραγωγή ενέργειας. Επίσης, μερικά αμινοξέα συμμετέχουν σε αναπτυξιακές διαδικασίες όπως η μορφογένεση. Για παράδειγμα έχει αποδειχθεί ότι η τυροσίνη είναι απαραίτητη για την σκληρωτίνιση της κουτικουλίνης. Επίσης, τα ενήλικα θηλυκά πολλών ειδών εντόμων χρειάζεται να τραφούν με πρωτεϊνούχο τροφή για να ωριμάσουν οι ωοθήκες και τα αυγά τους. Για παράδειγμα, τα θηλυκά κουνουπιών αρχίζουν να ωοτοκούν αφού πρώτα τραφούν με αίμα. Αντιθέτως, τα αρσενικά τρέφονται μόνο με νέκταρ το οποίο περιέχει ελάχιστη ποσότητα πρωτεΐνης (Nation 2001, Charman 1998).

Τα αμινοξέα συνήθως υπάρχουν στη διατροφή ως πρωτεΐνες και η αξία της πρωτεΐνης εξαρτάται από την περιεκτικότητά της σε αμινοξέα και από την ικανότητα του εντόμου να την μεταβολίσει. Παρόλο που οι πρωτεΐνες περιέχουν 20 διαφορετικά αμινοξέα, συνήθως μόνο τα 10 είναι απαραίτητα στη διατροφή

των εντόμων (Πίνακας 6), ενώ τα υπόλοιπα μπορούν να παραχθούν από τα έντομα (Chang, 2004). Απουσία κάποιων από αυτά τα 10 απαραίτητα αμινοξέα, προκαλεί διακοπή της ανάπτυξη και της εξέλιξης σε διάφορα είδη εντόμων όπως τα *Pectinophora gossypiella*, *Helicoverpa zea*, *Myzus persicae*, *Tribolium confusum* και *Apis mellifera* (Hanife, 2006).

Κάποια έντομα έχουν ανάγκη επιπλέον αμινοξέων. Για παράδειγμα, η προλίνη είναι αναγκαία για την ανάπτυξη του κουνουπιού *Culex* και για μερικά Λεπιδόπτερα όπως το *Bombyx*, το γλουταμινικό οξύ είναι επίσης απαραίτητο για το *Phormia* sp. και το *B. mori* (Chapman, 1998). Μερικές φορές, μη αναγκαία αμινοξέα δραστηριοποιούν την ανάπτυξη, εξαιτίας της βελτιστοποίησης της διατροφικής ισορροπίας και της καλής οργάνωσης των βιοχημικών μονοπατιών. Για παράδειγμα, η αλανίνη και η γλυκίνη είναι απαραίτητες για την βέλτιστη ανάπτυξη του *B. mori* (Nation, 2001).

Πίνακας 6. Τα 10 απαραίτητα αμινοξέα στη διατροφή των εντόμων (όταν παραλείπονται από τη διατροφή προκαλούν μη κανονική ή καθόλου ανάπτυξη).

ΤΑ 10 ΑΠΑΡΑΙΤΗΤΑ ΑΜΙΝΟΞΕΑ ΣΤΗ ΔΙΑΤΡΟΦΗ ΤΩΝ ΕΝΤΟΜΩΝ	
αργινίνη	μεθειονίνη
ιστιδίνη	φαινυλαλανίνη
ισολευκίνη	θρειονίνη
λευκίνη	τρυπτοφάνη
λυσίνη	βαλίνη

2.3 Υδατάνθρακες

Οι υδατάνθρακες αποτελούν σημαντικό συστατικό της διατροφής των περισσότερων εντόμων, αλλά δεν είναι πάντα απαραίτητοι γιατί μπορούν να παραχθούν από το μεταβολισμό των λιπιδίων ή των αμινοξέων (Nation, 2001). Παρόλα αυτά, τα περισσότερα έντομα που έχουν μελετηθεί μέχρι στιγμής, έχουν ανάγκη κάποιας ποσότητας υδατανθράκων στη διατροφή τους, και αναπτύσσονται καλύτερα καθώς η ποσότητα αυτή αυξάνεται. Για παράδειγμα το

Tenebrio sp. δεν αναπτύσσεται εάν οι υδατάνθρακες δεν συνιστούν τουλάχιστον το 40% της διατροφής του, και η βέλτιστη ανάπτυξη επιτυγχάνεται όταν η τροφή τους περιέχει 70% υδατάνθρακες.

Δομικά συστατικά του σώματος των εντόμων αποτελούνται από υδατάνθρακες. Για παράδειγμα, η κουτικουλίνη, που αποτελεί μέρος του δερματίου του εντόμου και είναι μία μεμβράνη που χωρίζει το έντομο από το περιβάλλον του, περιέχει τη χιτίνη, η οποία είναι ένας πολυσακχαρίτης (Τζανακάκης, 1995). Οι υδατάνθρακες χρησιμοποιούνται επίσης ως πηγή ενέργειας από την πλειοψηφία των εντόμων. Μπορούν να μετατραπούν σε λιπίδια και κάποιες φορές συνεισφέρουν ακόμα και στη παραγωγή αμινοξέων.

Η αξιοποίηση των διάφορων υδατανθράκων εξαρτάται από την ικανότητα των εντόμων να υδρολύουν τους πολυσακχαρίτες, την ευχέρεια με την οποία οι διάφορες ενώσεις απορροφούνται και από την ικανότητα του ενζυμικού συστήματος να εισάγει αυτές τις ουσίες στη μεταβολική διαδικασία. Επίσης, ένας λειτουργικός υδατάνθρακας μπορεί να εμφανίζεται ως μη λειτουργικός εάν δεν μεταβολίζεται αποτελεσματικά. Μερικά έντομα μπορούν να χρησιμοποιούν μεγάλο εύρος υδατανθράκων, πιθανός γιατί έχουν την ικανότητα να μεταβολίζουν και τις πιο σύνθετες δομές. Είδη του γένους *Tribolium spp.*, για παράδειγμα, μπορούν να αξιοποιήσουν το άμυλο, τηνμανιτόλη, τη ραφινόση, τη σουκρόζη, τη μαλτόζη και τη σελομπιόση, εξίσου καλά με τους διάφορους μονοσακχαρίτες (Charman, 1998). Τα περισσότερα έντομα δεν είναι ικανά να αξιοποιήσουν τη σελουλόζη και άλλα φυτικά πολυμερή, εξαιτίας της απουσίας κατάλληλων ενζύμων.

2.4 Λιπίδια

Τα λιπίδια στους βιολογικούς οργανισμούς περιλαμβάνουν ελεύθερα και συνδεδεμένα λιπαρά οξέα, μικρές και μεγάλες αλυσίδες αλκοολών, τρι-, δι- και μονοακυλο-γλυκερόλες, στεροειδή και τους εστέρες τους, φωσφολιπίδια και μερικές άλλες ενώσεις. Τα λιπαρά οξέα, τα φωσφολιπίδια και οι στερόλες είναι συστατικά των κυτταρικών μεμβρανών αλλά έχουν και άλλες ειδικές λειτουργίες (Nation 2001). Τα περισσότερα έντομα διαθέτουν τον αναγκαίο μεταβολικό μηχανισμό ο οποίος μετατρέπει τους υδατάνθρακες σε λιπίδια, τα οποία αποθηκεύονται στο λιπόσωμα. Το λιπόσωμα είναι κυρίως αποταμιευτικός αλλά

και συνθετικός ιστός, ο οποίος αποθηκεύει, συνθέτει και όταν χρειάζεται κινητοποιεί λιπίδια, πρωτεΐνες και γλυκογόνο. Επίσης, συμμετέχει στην αποθηκευτική απέκκριση, αποθηκεύοντας ουρικό οξύ, ουρικά άλατα ή άλατα ασβεστίου σε κύτταρά του (Τζανακάκης 1995). Τα αποθέματα των λιπιδίων έχει αποδειχθεί πως αντικατροπτίζουν την ενεργειακή κατάσταση εντόμων όπως η μύγα της Μεσογείου (*Ceratitis capitata*). Πιο συγκεκριμένα, χαμηλά επίπεδα λιπιδίων έχουν παρατηρηθεί όταν η μύγα της Μεσογείου έχει υψηλές ενεργειακές απαιτήσεις και η λήψη ενέργειας μέσω της διατροφής είναι μη ικανοποιητική (Nestel *et al.*, 2004).

Τα λιπίδια που είναι απαραίτητα στη διατροφή των εντόμων είναι οι στερόλες και σε κάποια έντομα τα πολυακόρεστα λιπαρά οξέα. Οι στερόλες εκτός του ότι αποτελούν μέρος όλων των κυτταρικών μεμβρανών, είναι πρόδρομες ουσίες της εκδυσόνης. Για αυτό ανεπάρκεια σε στερόλη οδηγεί σε ανικανότητα του εντόμου να ολοκληρώσει τη μεταμόρφωσή του και να νυμφωθεί (Nation, 2001, Genc, 2002). Η διατροφική σημασία των στερολών επισημάνθηκε αρχικώς από τον Hobson (1935) στο *Lucilia sericata* και έπειτα επιβεβαιώθηκε και σε πολλά άλλα είδη εντόμων. Μικρή ποσότητα λιπιδίων ή στερολών στη διατροφή μπορεί να επηρεάσει θετικά την ανάπτυξη και την εξέλιξη ενός εντόμου (Vanderzant, 1974). Έλλειψη στερολών μπορεί να εμφανιστεί σε οποιοδήποτε στάδιο του εντόμου. Η έλλειψη στερόλης στη διατροφή θηλυκών της οικιακής μύγας, *Musca domestica*, είχε ως συνέπεια τη μείωση της εκκόλαψης των προνυμφών, όχι όμως και στη γονιμότητα των θηλυκών (Nation, 2001). Τα περισσότερα έντομα που έχουν μελετηθεί μπορούν να χρησιμοποιήσουν την χοληστερόλη, η οποία ικανοποιεί τις ανάγκες σε στερόλες.

Τα Λεπιδόπτερα και κάποιες άλλες τάξεις εντόμων (περίπου 50 είδη) φαίνεται ότι απαιτούν μία διατροφική πηγή πολυακόρεστων λιπαρών οξέων, όπως το λινολεϊκό και το λινολινικό οξύ (Nation, 2001 and Genc, 2006). Τα δίπτερα, παρόλο που δεν μπορούν να συνθέσουν πολυακόρεστα λιπαρά οξέα φαίνεται ότι δεν τους είναι απαραίτητα. Όμως σε μερικά είδη διπτέρων, παρουσιάζεται βελτίωση της ανάπτυξης όταν προστίθενται πολυακόρεστα λιπαρά οξέα στην τροφή τους.

2.5 Βιταμίνες και ανόργανα συστατικά

Τα έντομα συνήθως χρειάζονται 7 βιταμίνες: θειαμίνη (βιταμίνη B1), ριβοφλαμίνη (βιταμίνη B2), νικοτινικό οξύ (βιταμίνη B3), παντοθενικό οξύ (βιταμίνη B5), πυριδοξίνη (βιταμίνη B6), φολικό οξύ και βιοτίνη (βιταμίνη H), τις οποίες δε μπορούν να τις συνθέσουν (Hanife, 2006). Επίσης, έχει αποδειχθεί πως έχουν ανάγκη από υδατοδιαλυτές βιταμίνες. Για παράδειγμα, το ασκορβικό οξύ απαιτείται για φυσιολογική ανάπτυξη σε μερικά, κυρίως φυτοφάγα, έντομα.

Ο Tsiropoulos (1980) διαπίστωσε πως η αφαίρεση όλων των βιταμινών από μια χημικά καθορισμένη διατροφή, την οποία ανέπτυξε για τον δάκο της ελιάς, είχε σαν αποτέλεσμα σημαντική μείωση στην ωοπαραγωγή και την γονιμότητα των εντόμων, όμως δεν επηρέασε την επιβίωση (Chang *et al.*, 2001). Επίσης, οι Kaur και Srivastava (1991) βρήκαν ότι διατροφή χωρίς βιταμίνη B, φολικό οξύ ή βιοτίνη έχει αρνητική επίδραση στην ωοτοκία και την βιωσιμότητα των αβγών.

Οι ανόργανες απαιτήσεις των εντόμων δεν έχουν μελετηθεί εκτενώς. Είναι γνωστό, όμως, ότι το νάτριο, το κάλιο, το μαγνήσιο, το ασβέστιο, το χλωρίδιο και τα φωσφορικά άλατα είναι απαραίτητα συστατικά για τη λειτουργία των κυττάρων και απαραίτητα συστατικά στη διατροφή όλων των εντόμων (Nation, 2001). Το *D. melanogaster* έχει υψηλές απαιτήσεις σε κάλιο και μαγνήσιο και γενικότερα πολλά φυτοφάγα έντομα χρειάζονται σχετικά μεγάλες ποσότητες καλίου ενώ αντίθετα έχουν ανάγκη από ελάχιστες ποσότητες νατρίου.

2.6 Ικανότητα επιλογής των θρεπτικών συστατικών στην τροφή (self - nutrients- selection)

Το 1915 μελετήθηκε για πρώτη φορά η ικανότητα επιλογής θρεπτικών συστατικών στην τροφή (ΙΕΘΣ), που ορίζεται ως η ικανότητα των ζώων να τρέφονται με δύο ή περισσότερες τροφές, σε αναλογία που έχει σαν αποτέλεσμα την καλύτερη ισορροπία θρεπτικών συστατικών από κάθε μία από αυτές τις τροφές ξεχωριστά. Τα τελευταία χρόνια, η λίστα με τα ζώα που έχουν αυτή την ικανότητα μεγάλωσε με γοργούς ρυθμούς και όσον αφορά τα έντομα έχει αποδειχθεί, πως μερικά έχουν την ικανότητα να διαλέγουν (self-select) τα διατροφικά συστατικά που προσλαμβάνουν είτε από φυσικές είτε από τεχνητές διαίτες. Για παράδειγμα, σε πειραματική διαδικασία, δόθηκε στο *Tribolium*

confusum η επιλογή μίγματος με φύτρα, πίτυρο και ενδοσπέρμιο σε αναλογία 1:1:1. Το έντομο επέλεξε να τραφεί με 81% φύτρα, με 2% πίτυρο και με 17% ενδοσπέρμιο δηλ. η αναλογία πρωτεΐνης: υδατάνθρακα ήταν 57:43, ενώ η βέλτιστη αναλογία είναι 50:50. Επίσης, το *H. zea* που τράφηκε σε τεχνητή διαίτα, επέλεξε τέτοια ποσότητα που του παρείχε αναλογία πρωτεΐνης:υδατάνθρακα 79:21, αναλογία σχεδόν ταυτόσημη με τη βέλτιστη, που είναι 80:20.

Τα δύο βασικά κριτήρια για την ικανότητα επιλογής θρεπτικών συστατικών στη τροφή σύμφωνα με τον Waldbauer (1991) είναι: α) η μη-τυχαία επιλογή της τροφής και β) η απόκτηση οφέλους από το ζώο που εκδηλώνει ΙΕΘΣ. Ο μηχανισμός με τον οποίο τα έντομα διαλέγουν (self-select) τα διατροφικά συστατικά με τα οποία θα τραφούν δεν είναι ακόμα γνωστός. Παρόλα αυτά, σε ακρίδες και σε μερικές προνύμφες Λεπιδοπτέρων έχουν παρατηρηθεί αλλαγές στην χημειοδεκτική ευαισθησία που σχετίζονται με την θρέψη (Nation 2001).

2.7 Θερμιδικός περιορισμός (CR) - Διατροφικός περιορισμός (DR)

Η πλειοψηφία των ερευνών που αφορούν την κατανάλωση τροφής και την σχέση της με τη μακροβιότητα, σύμφωνα με τον Carey (2003), μπορούν να κατηγοριοποιηθούν στις εξής κατηγορίες:

α) θερμιδικός περιορισμός, περιλαμβάνει πειράματα που σχετίζονται με την αύξηση της διάρκειας ζωής αλλά και γενικότερα των βιολογικών και φυσιολογικών επιδράσεων της θερμιδικής μείωσης.

β) θρέψη, περιλαμβάνει πειράματα που αφορούν τις επιδράσεις διάφορων τύπων διατροφής (όπως πρωτεΐνη, υδατάνθρακες και βιταμίνες που αναφέρθηκαν παραπάνω) στη μακροβιότητα και τις άλλες βιολογικές παραμέτρους.

γ) επίδραση του περιορισμού συγκεκριμένων συστατικών, όπως η πρωτεΐνη, στην ικανότητα των ατόμων να επιβιώνουν και να αναπαράγονται υπό την απουσία τροφής.

Πιο αναλυτικά, θερμιδικός περιορισμός (CR) αποκαλείται ο χειρισμός κατά τον οποίο υπάρχει αύξηση της διάρκειας ζωής μόνο με τον έλεγχο των θερμίδων που λαμβάνονται. Ενώ κατά τον διατροφικό περιορισμό (DR) υπάρχει αύξηση της διάρκειας ζωής με την αραίωση απαραίτητων θρεπτικών συστατικών, όπως η

γλυκόζη και οι ζύμες, ενώ δεν ελέγχεται άμεσα η λήψη θερμίδων (Min and Tatar, 2005).

Παλαιότερα, οι επιστήμονες πίστευαν ότι η λήψη θερμίδων ήταν ο σημαντικότερος παράγοντας για την αύξηση της διάρκειας ζωής μέσω του χειρισμού των θρεπτικών συστατικών. Για αυτό τα πρώτα έτη των ερευνών είχε επικρατήσει ο όρος θερμιδικός περιορισμός. Ο όρος αυτός, όμως, δεν είναι κατάλληλος για να περιγράψει αυτά που έχουν αποδειχθεί πειραματικά όλα αυτά τα χρόνια. Ο λόγος είναι ότι έχει διαπιστωθεί πως τα θρεπτικά συστατικά (π.χ. πρωτεΐνη και υδατάνθρακες) και ο περιορισμός τους είναι εξίσου σημαντικός και έχουν την δυνατότητα να δώσουν περισσότερες πληροφορίες από τον περιορισμό του συνολικού αριθμού των θερμίδων. Επίσης πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι ο διατροφικός περιορισμός είναι αυτός που ευθύνεται για την αύξηση της διάρκειας ζωής (Rogers & Karahi, 2006; Mair *et al.*, 2005; Carey *et al.*, 2008).

Ο διατροφικός περιορισμός μελετάται πολλά χρόνια σε διάφορα είδη και έχει γίνει αποδεκτός ως ένας μηχανισμός που α) αυξάνει τη διάρκεια ζωής σε μεγάλη ποικιλία φυλογενετικών ομάδων, β) μειώνει τη πιθανότητα εμφάνισης ασθένειας και γ) καθυστερεί την διαδικασία γήρανσης (Mockett, 2006; Rogers & Karahi, 2006). Σε φυσιολογικό επίπεδο έχει αποδειχθεί πως η δράση του ξεκινά από μία οξεία φάση στην οποία η δίαιτα προσπαθεί να «επιβληθεί» στον οργανισμό και ακολουθείται από μια περίοδο αρκετών εβδομάδων κατά την οποία ο οργανισμός έχει φτάσει σε ένα σταθερό, φυσιολογικά επίπεδο. Στη περίοδο αυτή παρατηρείται μείωση της θερμοκρασίας του σώματος, χαμηλότερα επίπεδα γλυκόζης αίματος και ινσουλίνης καθώς και απώλεια σωματικού βάρους και λίπους. Οι οργανισμοί που υποβάλλονται σε διατροφικό περιορισμό έχει παρατηρηθεί ότι είναι πιο ανθεκτικοί σε εξωτερικούς παράγοντες καταπόνησης, περιλαμβανομένης της θερμικής και οξειδωτικής καταπόνησης. Επιπλέον, τα όργανα αυτών των οργανισμών φαίνονται να είναι τυπικά μικρότερα (Guarente, 2005).

Γιατί όμως ο διατροφικός περιορισμός αυξάνει τη διάρκεια ζωής; Τα φυσικά περιβάλλοντα έχουν διακυμάνσεις στην διαθεσιμότητα τροφής. Η θεωρία προβλέπει ότι η αρμοστικότητα θα αυξανόταν εάν τα ζώα σταματούσαν να τρέφονται κατά τη διάρκεια της διατροφικής στέρησης και επένδυαν τους πόρους στην συντήρηση του σώματος. Με αυτό τον τρόπο θα αυξανόταν η πιθανότητα

για μακρύτερη διάρκεια ζωής ώστε να παραχθούν ζώντες απόγονοι όταν βελτιωθούν οι διατροφικές συνθήκες. Η αλλαγή της μεταβολικής επένδυσης από την αναπαραγωγή στη συντήρηση του σώματος φαίνεται ότι αποτελεί τη βάση για την αύξηση της διάρκειας ζωής μέσω του διατροφικού περιορισμού (Rogers & Karahi, 2006).

Ένα ακόμη ερώτημα που τίθεται είναι αν ο διατροφικός περιορισμός ή ο θερμιδικός περιορισμός (ανάλογα με τις μεταχειρίσεις και το πώς αναφέρεται στα πειράματα) είναι ένα καθολικό φαινόμενο. Σύμφωνα με πρόσφατες έρευνες, η απάντηση είναι όχι, μιας και μελέτες σε τρία διαφορετικά είδη δίπτερων έδωσαν αντικρουόμενα αποτελέσματα. Πιο αναλυτικά, σε αρσενικές οικιακές μύγες (*M. domestica*) μελετήθηκε το CR με τη χορήγηση διάφορων τύπων τροφής, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι το CR δε κατάφερε να επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής των μυγών που τράφηκαν με κρυσταλλική σουκρόζη (Cooper *et al.*, 2004). Στη μύγα της Μεσογείου επίσης δε παρατηρήθηκε αύξηση της μακροβιότητας κατά τη διάρκεια του DR (Carey, 2002). Αντίθετα στο *Drosophila melanogaster*, το CR φάνηκε πως επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής τους (Mair *et al.*, 2003), αλλά παρόλα αυτά υπάρχουν κάποιες αμφιβολίες που βασίζονται σε νεότερη έρευνα (Mair *et al.*, 2005), η οποία αναφέρει πως η επέκταση της διάρκειας ζωής του *Drosophila melanogaster* δεν οφείλεται στο θερμιδικό περιορισμό αλλά στη μείωση της τροφής, είτε αυτή είναι πρωτεΐνη είτε ζάχαρη. Συγκεκριμένα, οι Burger *et al.*, (2007) διαπίστωσαν αύξηση της διάρκειας ζωής και μείωση της ωοπαραγωγής της μύγας των φρούτων με την εφαρμογή διατροφικού περιορισμού. Επίσης, και στα δύο φύλα του *A. ludens* παρατηρήθηκε επιμήκυνση της διάρκειας ζωής εξαιτίας του διατροφικού περιορισμού (Carey, 2008).

Ο διατροφικός περιορισμός, σύμφωνα με τους Cooper και συνεργάτες (2004), φαίνεται να συνδυάζεται με αύξηση της διάρκειας ζωής μόνο στους οργανισμούς στους οποίους προκαλεί αλλαγή στο μεταβολικό ρυθμό τους, και πιθανώς για αυτό υπάρχουν διαφορές στα αποτελέσματα μεταξύ των εντόμων (δε ρυθμίζεται ο μεταβολικός ρυθμός τους σύμφωνα με το διατροφικό περιορισμό) και των τρωκτικών (μείωση του μεταβολικού τους ρυθμού κατά τον διατροφικό περιορισμό).

Συμπερασματικά, η αύξηση της μακροβιότητας δεν υφίσταται σε όλους τους τύπους περιορισμού, τα φύλα αντιδρούν διαφορετικά στο περιορισμό και οι λεπτομέρειες στη μεθοδολογία του DR επηρεάζουν τα αποτελέσματα. Για τη

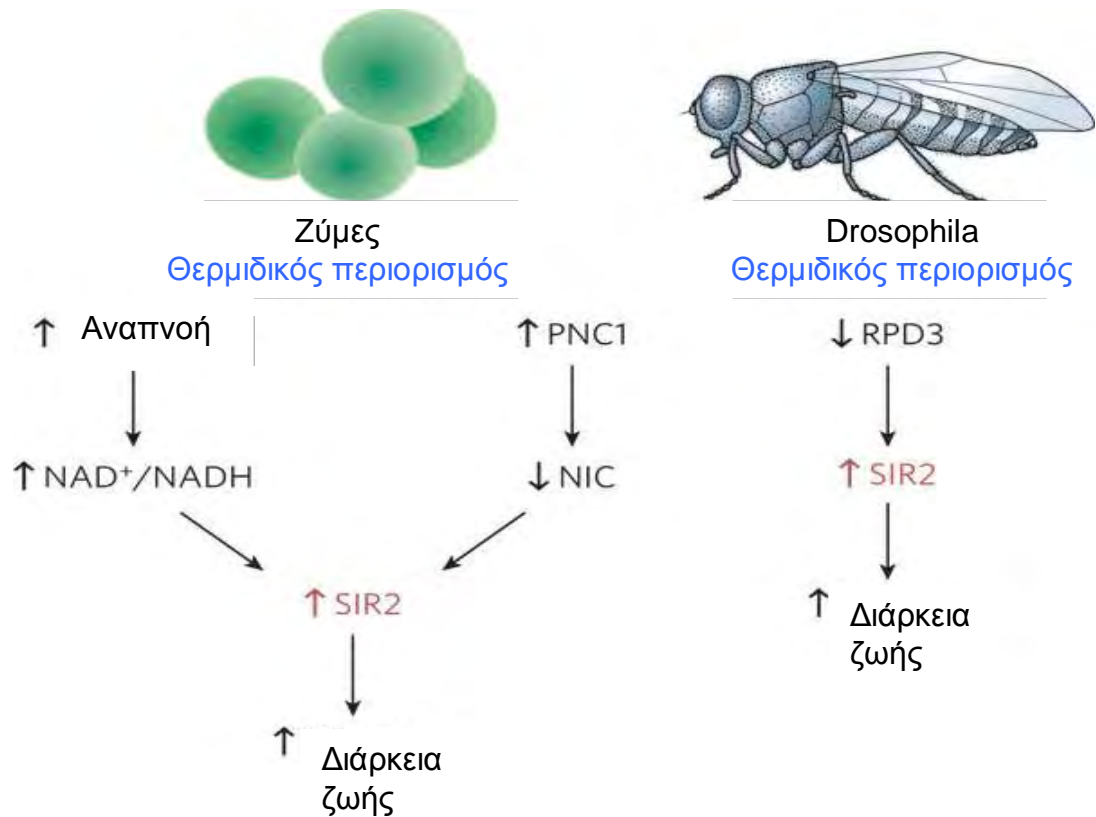
καλύτερη κατανόηση αυτού του μηχανισμού χρειάζονται έρευνες που να αφορούν και τα δύο φύλα, περισσότερα είδη και μεγαλύτερο αριθμό ατόμων, όπως και ακριβή προσδιορισμό των ποσοτήτων τροφής που καταναλώνουν τα πειραματικά ζώα.

Η λειτουργία του θερμιδικού περιορισμού

Ο θερμιδικός περιορισμός επηρεάζει αρκετές ενδοκρινικές λειτουργίες, όπως την έκκριση ινσουλίνης, γλυκογόνου και του γλυκοκορτικοειδούς και επηρεάζει τα επίπεδα της γλυκόζης, λιπιδίων αλλά και τον μεταβολισμό των αμινοξέων.

Από έρευνες που έχουν γίνει φαίνεται ότι οι πρωτεΐνες Rpd3 και Sir2 (silent information regulator 2) επιμηκύνουν τη διάρκεια ζωής των εντόμων μέσω του θερμιδικού περιορισμού. Οι Rpd3 και Sir2 μπορούν να επηρεάσουν τη δραστηριότητα διάφορων γονιδίων και φυσιολογικών συστημάτων με τις ιστόνες δεακετυλάσες και μέσω άλλων πρωτεϊνών όπως η p53. Η δεακετυλάση Sir2 είναι παρεμποδιστής της δράσης της p53. Οι ιστόνες, γενικά, είναι μικρές βασικές πρωτεΐνες και αποτελούν το σημείο στο οποίο συνδέεται το DNA στα ευκαρυωτικά χρωμοσώματα (Τρακατέλης, 2003). Λειτουργούν ως «πηνία» γύρω από τα οποία τυλίγεται το DNA και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ρύθμιση των γονιδίων. Επίσης, οι ιστόνες υπόκεινται σε διάφορες μετα-μεταφραστικές τροποποιήσεις όπως είναι η ακετυλίωση, η φωσφορλίωση, η μεθυλίωση, η ουβικιτίνωση και η ADP-ριβοξυλίωση. Η ακετυλίωση των ιστονών θεωρείται ένας σημαντικός μηχανισμός ενεργοποίησης της γονιδιακής έκφρασης, αφού καθιστά τα γονίδια πιο επιδεκτικά στους ενεργοποιητές μεταγραφής. Οι ιστόνες δεακετυλάσες δρουν προς την αντίθετη κατεύθυνση προωθώντας την αδρανοποίηση των γονιδίων (www.sdbonline.org). Μείωση στην Rpd3 ή αύξηση της Sir2 επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής των μητρικών κυττάρων στη ζύμη, και το αποτέλεσμα της Sir2 στη διάρκεια ζωής της ζύμης συνδέεται με το θερμιδικό περιορισμό. Ένας παρόμοιος μηχανισμός μπορεί να ενεργεί στα μετάζωα, γιατί αύξηση στη Sir2 επιμηκύνει τη διάρκεια ζωής στους νηματώδεις και μείωση στη Rpd3 έχει το ίδιο αποτέλεσμα στα έντομα. Η αύξηση της διάρκειας ζωής των εντόμων που συνδέεται με αυτή τη μείωση στην Rpd3 πιστεύεται ότι συμβαίνει μέσω ενός μηχανισμού που σχετίζεται με τον θερμιδικό περιορισμό. Η αύξηση

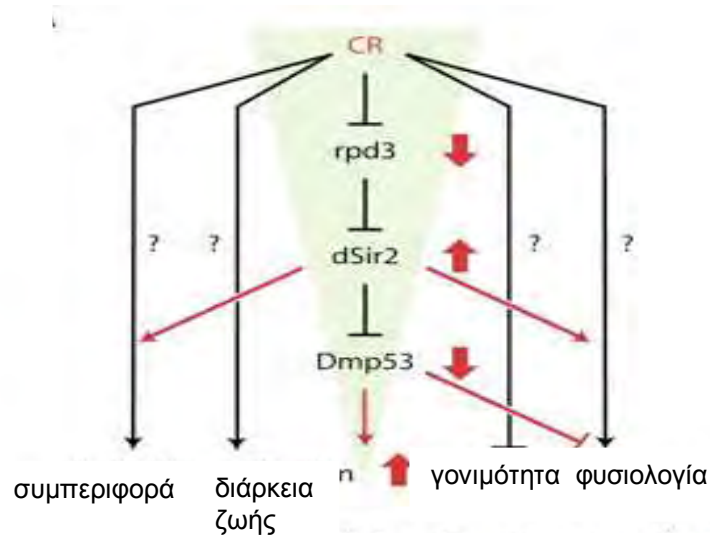
στη μεταγραφή της Sir2 της *Drosophila* (dSir2) στα μακράς-ζωής γενετικώς τροποποιημένα έντομα και στα μακράς-ζωής θερμιδικά περιορισμένα αλλά όχι γενετικώς τροποποιημένα έντομα συνεπάγεται ότι η dSir2 συνδέεται με τον θερμιδικό περιορισμό. Για αυτό λοιπόν πιστεύεται ότι η Sir2 είναι ένα από τα πρωτεύοντα στοιχεία του θερμιδικού περιορισμού που προκαλούν την αύξηση της διάρκειας ζωής στα έντομα (Εικόνα 12).



Εικόνα 12. Στη ζύμη, κατά τη διάρκεια του θερμιδικού περιορισμού δύο μονοπάτια ενεργοποιούν τη SIR2. Το ένα μονοπάτι περιλαμβάνει αύξηση της αναπνοής και της αναλογίας NAD⁺/NADH, ενώ το άλλο περιλαμβάνει αύξηση του PNC1, το οποίο μειώνει τα επίπεδα νικοτινιμίδης (NIC). Στο *D. melanogaster*, ο θερμιδικός περιορισμός καταστέλλει την έκφραση της RPD3, με συνέπεια να ενεργοποιείται η SIR2. Πηγή: (Guarente, 2006)

Πρόσφατες έρευνες έδειξαν ότι η SIR2 αλληλεπιδρά και αναστέλλει τη δραστηριότητα της Dmp53, η οποία αποτελεί παρόμοιο μόριο με τη πρωτεΐνη p53. Η p53, γενικά, δρα ως ογκοκαταστολέας με το να προκαλεί διακοπή του

κυτταρικού κύκλου, προστατεύοντας έτσι την καταστροφή του DNA του κυττάρου (Rogina, 2005). Αφού η καταστολή της δραστηριότητας της Dmp53 συνεπάγεται αύξηση της διάρκειας ζωής του *D. melanogaster*, η καταστολή της Dmp53 από τη SIR2 ίσως αποτελέσει σημαντικό βήμα στο μονοπάτι της αύξησης της διάρκειας ζωής λόγω του θερμιδικού περιορισμού (<http://smu.edu/biology/faculty/jbauer.asp>).



Διάγραμμα 5. Ο θερμιδικός περιορισμός είναι μια διαδικασία η οποία επηρεάζει διάφορες βιολογικές διαδικασίες (συμπεριφορά, διάρκεια ζωής, γονιμότητα, φυσιολογία). Η αύξηση της SIR2 αναστέλλει την Dmp53 με αποτέλεσμα την αύξηση της διάρκειας ζωής.

Πηγή: (<http://smu.edu/biology/faculty/jbauer.asp>).

Ο θερμιδικός περιορισμός έχει παρατηρηθεί ότι μειώνει τα επίπεδα ινσουλίνης και κάποιες έρευνες αποδεικνύουν ότι το μονοπάτι της ινσουλίνης σχετίζεται με το καθορισμό του ρυθμού γήρανσης. Μειωμένα σήματα πεπτιδίων ινσουλίνης αυξάνουν τη διάρκεια ζωής νηματωδών, εντόμων και τρωκτικών. Στα είδη *D. melanogaster* και *Caenorhabditis elegans*, μονές μεταλλάξεις γονιδίων, που έχουν σαν αποτέλεσμα τη μείωση των σημάτων ινσουλίνης ή σημάτων IGF (insulin-like growth factor), προκαλούν αύξηση της διάρκειας ζωής καθώς και αυξημένη ανθεκτικότητα στο οξειδωτικό στρες και σε άλλα χημικά στρεσαρίσματα.

2.8. Μέθοδοι μελέτης της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής

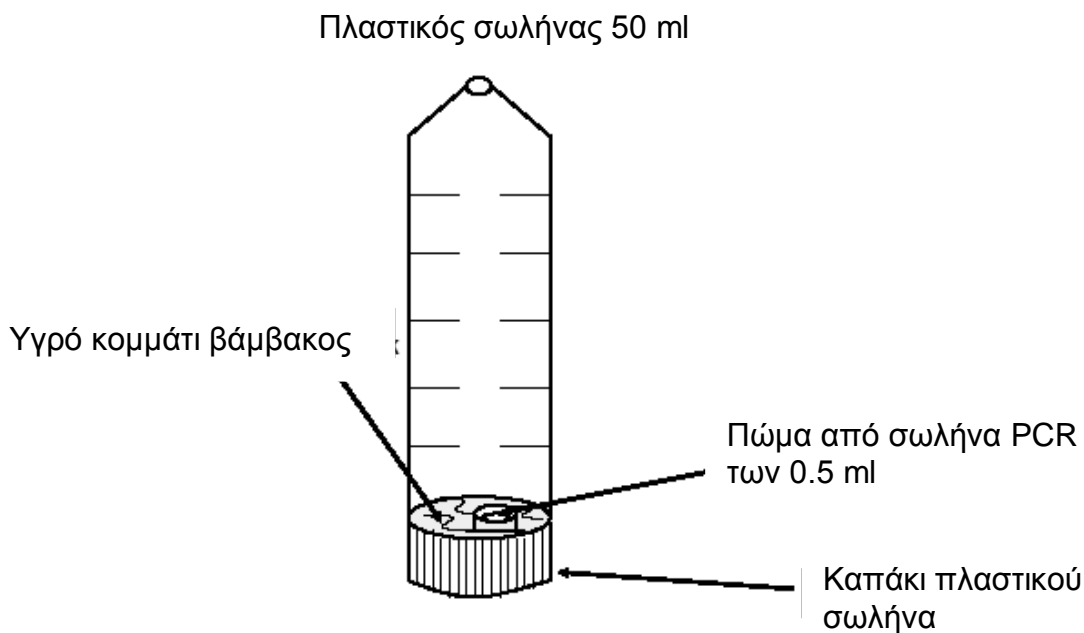
Παρόλη τη δυσκολία στο προσδιορισμό της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής, που οφείλεται στο ότι τα έντομα καταναλώνουν πολύ μικρές ποσότητες τροφής και είναι δύσκολο να εκτιμηθούν με ακρίβεια, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αύξηση του ενδιαφέροντος για μελέτες σχετικές με την ημερήσια κατανάλωση τροφής σε διάφορες οικογένειες εντόμων. Σε αυτό συνετέλεσε η ανάπτυξη σχετικών μεθοδολογιών με τις οποίες ο προσδιορισμός της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής γίνεται με μεγάλη ακρίβεια. Παρακάτω αναφέρονται πρόσφατες μελέτες για έντομα της οικογένειας Tephritidae και για το *D. melanogaster*, σχετικές με την μέτρηση της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής.

Το 2004, οι Nestel και συνεργάτες, με σκοπό τη καλύτερη αντιμετώπιση του *C. capitata* και του *Dacus ciliatus*, μελέτησαν την ευαισθησία τους σε συνδυασμούς διάφορων συγκεντρώσεων εντομοκτόνου (spinosad) με φαγοδιεγερτικά όπως η σακχαρόζη. Για το σκοπό αυτό ανέπτυξαν ένα σύστημα το οποίο μετρούσε ατομικά την ημερήσια κατανάλωση τροφής. Το σύστημα αυτό, ονομάστηκε PUB (phagostimulation unit bioassay). Όπως φαίνεται στην Εικόνα 13 το σύστημα αποτελείται από ένα πλαστικό σωλήνα των 50 ml. Στη βάση τοποθετήθηκε υγρό κομμάτι βαμβακιού και ένα πώμα των 0.5 ml από φιαλίδιο erpedorf στο οποίο τοποθετούνταν μία σταγόνα υγρής τροφής. Στο σωλήνα τοποθετούνταν ένα ενήλικο θηλυκό το οποίο είχε ελεύθερη πρόσβαση στο διάλυμα. Όταν τελείωνε το πείραμα αφαιρούταν από το πώμα το υπόλοιπο διάλυμα με τη βοήθεια του τριχοειδούς φαινομένου και τοποθετούνταν σε τριχοειδή σωλήνα. Έπειτα η κατανάλωση υπολογιζόταν από το ύψος του εναπομείναντος διαλύματος μέσα στο τριχοειδή σωλήνα.

Σύμφωνα με τα αποτελέσματα της παραπάνω έρευνας, φαίνεται ότι το σύστημα PUB είναι ευαίσθητο στον εντοπισμό διαφορών στην ημερήσια κατανάλωση τροφής. Επίσης η μέθοδος αυτή μας δίνει τη δυνατότητα να εντοπίσουμε διαφορές στη κατανάλωση μεταξύ διάφορων εντόμων και μεταξύ διάφορων ηλικιών του εντόμου. Ακόμη με τη βοήθεια του συστήματος αυτού μπορούμε να παρατηρήσουμε το βαθμό με τον οποίο η κατανάλωση διάφορων ποσοτήτων εντομοκτόνων ή διάφορων θρεπτικών συστατικών επηρεάζουν την θνησιμότητα (Nestel *et al.*, 2004).

Το παραπάνω μοντέλο χρησιμοποιήθηκε σε ακόμα ένα πείραμα του οποίου σκοπός του ήταν να μελετηθούν τα αποτελέσματα της κοινωνικής

αλληλεπίδρασης στη διατροφή και τη μακροζωία, μετρώντας τη ποσότητα της υγρής τροφής που καταναλωνόταν καθημερινώς από κάθε άτομο. Πιο περιγραφικά, σε κάθε πλαστικό σωλήνα τοποθετούνταν ένα ή δύο έντομα και στο πώμα που βρίσκεται στο κάτω μέρος του συστήματος τοποθετούνταν η τροφή. Με τη πάροδο 24 ωρών αφαιρούταν το διάλυμα από το πώμα με τη βοήθεια τριχοειδή σωλήνα και υπολογιζόταν η ποσότητα της τροφής που είχε καταναλωθεί αφού πρώτα είχε αφαιρεθεί η ένδειξη του μάρτυρα (Zur *et al.*, 2009).



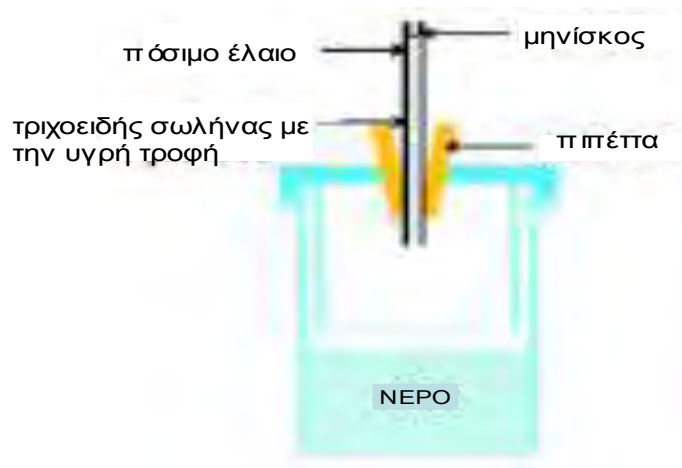
Εικόνα 13. Σχηματική απεικόνιση του συστήματος PUB (Nestel *et al.*, 2004).

Το 2007 οι Ja και συνεργάτες ανέπτυξαν μία ακόμη μέθοδο μέτρησης της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής, τη μέθοδο CAFÉ (Εικόνα 14). Η μέθοδος αυτή επιτρέπει ακριβή και συνεχόμενη ποσοτικοποίηση της κατανάλωσης σε ενήλικα έντομα του *D. melanogaster*, τα οποία καταναλώνουν υγρή τροφή από ένα βαθμονομημένο γυάλινο τριχοειδή σωλήνα. Επειδή οι τριχοειδής σωλήνες αφαιρούνται όποτε χρειάζεται, με αυτή τη μέθοδο υπάρχει η δυνατότητα να καταγράφεται η κατανάλωση τροφής σε μεγάλο εύρος χρονικών περιόδων, από μερικά λεπτά έως ολόκληρη τη διάρκεια ζωής.

Τα έντομα που τρέφονται στο σύστημα CAFÉ έχουν μειωμένη ωοπαραγωγή και διάρκεια ζωής σε σχέση με τα έντομα που τρέφονται σε

υπόστρωμα με άγαρ. Αυτό ίσως να οφείλεται στο ότι τα έντομα του *D. melanogaster* τρέφονται κυρίως με μικροοργανισμούς και για αυτό η υγρή τροφή να μην αντικατοπτρίζει το φυσικό τρόπο θρέψης (Wong *et al.*, 2009), ή στο ότι τα έντομα δεν λαμβάνουν τις ποσότητες τροφής που θέλουν.

Άλλη μέθοδος μέτρησης της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής του *D. melanogaster* είναι με τις μη απορροφούμενες χρωστικές ή με τα ραδιοενεργά ισότοπα. Όμως και αυτοί οι τρόποι έχουν περιορισμούς και είναι πιθανό να δώσουν λάθος αποτελέσματα.



Εικόνα 14. Σχηματική απεικόνιση του συστήματος CAFÉ. Πηγή : (Ja *et al.*, 2007)

3. Η διατροφή των Tephritidae

Οι διατροφικές απαιτήσεις των ενήλικων εντόμων της οικογένειας Tephritidae ποικίλουν αρκετά και εξαρτώνται από την ποιότητα της διατροφής κατά τη προνυμφική περίοδο (Tsitsipis, 1989), ενώ οι διατροφικές τους συνήθειες, κυρίως στη φύση, σε σχέση με τη βιολογία τους δεν έχουν κατανοηθεί πλήρως (Hendrichs & Prokopy 1994).

Γενικά, τα ενήλικα της οικογένειας Tephritidae τρέφονται με χυμούς φρούτων, με αδενικές εκκρίσεις λουλουδιών, με το νέκταρ των λουλουδιών, με κόκκους γύρης, μελίτωμα, περιπτώματα πουλιών, ζύμες και βακτήρια (Prokopy and Paraj, 2000). Πιο αναλυτικά, τα έντομα της υποοικογένειας Dacinae τρέφονται κυρίως με βακτήρια της οικογένειας Enterobacteriaceae, με εκκρίσεις λουλουδιών, με την επιφάνεια των φυτών και με περιπτώματα πουλιών, ενώ δεν υπάρχουν ενδείξεις πως τρέφονται με γύρη, νέκταρ, μελιτώματα και ζύμες (Aluja 2000, Yee 2008). Ο Nishida (1958) απέδειξε ότι το *B. curcubitae* αξιοποιεί τις εκκρίσεις των λουλουδιών, ενώ ο Matsumoto (1962) διαπίστωσε ότι το *B. curcubitae* δεν προσελκύεται από τα μελιτώματα. Η μύγα της Μεσογείου, *C. capitata*, τρέφεται με χυμούς φρούτων, περιπτώματα πουλιών και βακτήρια. Όσον αφορά το γένος *Rhagoletis*, ο Hendrichs (1993) διεξήγαγε μία λεπτομερή έρευνα που έδειξε ότι το *R. pomonella* δεν εξαρτάται από τα μελιτώματα για την ικανοποίηση των διατροφικών του απαιτήσεων, λαμβάνει υδατάνθρακες από την επιφάνεια του φυλλώματος του ξενιστή και από χυμούς ώριμων καρπών, ενώ τα περιπτώματα πουλιών αποτελούν πηγή πρωτεϊνών. Το *R. indifferens* σύμφωνα με τον Yee (2008) τρέφεται με το χυμό των κερασιών και με περιπτώματα πουλιών, ενώ δεν έχει φανεί να τρέφεται με μελίτωμα αφού, σύμφωνα με παρατηρήσεις του Yee, σε δένδρα με μεγάλους πληθυσμούς του εντόμου υπήρχαν ελάχιστα άτομα *Myzus cerasi*, που αποτελούν τη μεγαλύτερη πηγή μελιτωμάτων στις κερασιές. Επίσης πειραματικά αποτελέσματα (Yee, 2008) ενισχύουν την άποψη ότι το *R. indifferens* τρέφεται κυρίως με ουσίες του φυλλώματος και όχι τόσο με φρούτα.

Πολύ λιγότερα είναι γνωστά για τις διατροφικές συνήθειες των ενήλικων εντόμων της οικογένειας Tephritidae που δεν προσβάλλουν φρούτα. Για παράδειγμα, το *Urophora jaceana* αναφέρεται πως τρέφεται με μελιτώματα, ενώ τα ενήλικα πολλών άλλων ειδών φαίνεται ότι δεν έχουν ιδιαίτερες διατροφικές απαιτήσεις στο στάδιο του ενήλικου (Steck, 1984).

Μερικά είδη Tephritidae έχουν συμβιωτικούς οργανισμούς, συνήθως βακτήρια, χρήσιμα ή απαραίτητα για την επιβίωσή τους. Σε ορισμένα είδη οι μικροοργανισμοί αυτοί είναι εκτοκυτταρικοί και βρίσκονται συνήθως στο πεπτικό σωλήνα, ενώ σε άλλα είδη είναι ενδοκυτταρικοί. Γενικά, οι συμβιώτες αυτοί διαθέτουν ένζυμα για την πέψη ορισμένων συστατικών της τροφής, που το έντομο δεν τα έχει, ακόμη δίνουν στο έντομο βιταμίνες ή άλλες θρεπτικές ουσίες

τις οποίες το έντομο δε μπορεί να παράγει (Howard 1985, Girolami 1982, Luethy *et al.*, 1983). Τα βακτήρια μεταφέρονται στα αβγά μέσω του πεπτικού σωλήνα και είτε παραμένουν στην επιφάνειά τους είτε εισέρχονται στο εσωτερικό τους μέσω της μικροπύλης (Mazzini and Vita 1984). Πιο συγκεκριμένα, στο *B. olerae* ένα συμβιωτικό βακτήριο, πιθανότατα του γένους *Pseudomonas*, βρίσκεται στο πεπτικό σωλήνα της προνύμφης του εντόμου. Το βακτήριο αυτό φαίνεται να είναι απαραίτητο για την αποδόμηση των πρωτεϊνών του μεσοκαρπίου της ελιάς. Στο ενήλικο, το βακτήριο βρίσκεται σε ειδικό θύλακο που εκβάλλει στον οισοφάγο και σε πτυχές των εσωτερικών τοιχωμάτων του ωοθέτη, από όπου πηγαίνει στην επιφάνεια του αυγού κατά την ωοτοκία και έπειτα στον πεπτικό σωλήνα της προνύμφης κατά την εκκόλαψη. Άλλη περίπτωση συμβίωσης, σύμφωνα με τον Miyazaki και συνεργάτες (1968), είναι αυτή του *R. pomonella* με το βακτήριο *Pseudomonas melophthora*. Το βακτήριο είναι εκτοκυτταρικός συμβιωτής που πιθανώς παρέχει στο έντομο τα απαραίτητα αμινοξέα που λείπουν από τον κύριο ξενιστή του εντόμου, το μήλο. Όπως έχει αναφερθεί παραπάνω, η αργινίνη και η μεθειονίνη είναι 2 απαραίτητα αμινοξέα για τη διατροφή των εντόμων, σύμφωνα με εργαστηριακές μελέτες τα αμινοξέα αυτά, δε βρέθηκαν στα μήλα και ίσως παρέχονται στο έντομο από το συμβιωτικό βακτήριο. Επίσης, οι Lauzon και συνεργάτες (2000) τεκμηρίωσαν την συμβιωτική σχέση του *R. pomonella* με ένα είδος βακτηρίου της οικογένειας Enterobacteriaceae. Τέλος, οι προηγούμενοι ερευνητές έδειξαν ότι τέτοιοι εντεροβακτηριακοί πληθυσμοί παράγουν ένζυμα (uricase) που διασπούν το ουρικό οξύ σε αλλαντοίνη που έπειτα διασπάται σε urea και urease (Bourtzis & Miller 2008).

3.1 Επίδραση της κατανάλωσης τροφής σε βιολογικές παραμέτρους των εντόμων

Η κατανάλωση και η διαχείριση της τροφής επιδρούν σημαντικά σε βιολογικές παραμέτρους όπως η ανάπτυξη, η μακροζωία, η ωοπαραγωγή και η επιβίωση. Η πρώτη αναφορά για τις διατροφικές απαιτήσεις ενήλικων της οικογένειας Tephritidae έγινε από τον Hagen (1953), ο οποίος διαπίστωσε ότι και τα δύο φύλα των ενήλικων των *B. curcubitae*, *B. dorsalis* και *C. capitata* απαιτούν υδατάνθρακες, αμινοξέα, μέταλλα, και βιταμίνες. Αυτά τα θρεπτικά συστατικά ήταν απαραίτητα για την αναπαραγωγή και τη μακροβιότητα. Γενικότερα, τα

συστατικά με τη μεγαλύτερη σημασία στη διατροφή των εντόμων είναι η πρωτεΐνη και οι υδατάνθρακες.

Η διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την αρμοστικότητα και την ανάπτυξη των εντόμων γιατί τα αμινοξέα (το βασικό συστατικό των πρωτεϊνών) απαιτούνται για τη φυσιολογική ανάπτυξη και τη παραγωγή απογόνων (Carey 2003). Σε αρκετές έρευνες φαίνεται ότι υπάρχει στενή σχέση της αρμοστικότητας και της κατανάλωσης τροφής πλούσιας σε πρωτεΐνη. Επίσης, σύμφωνα με άλλες μελέτες, η πρόσβαση σε και η κατανάλωση πρωτεΐνης ενισχύει τη μακροζωία πολλών εντόμων, όπως τα: *C. capitata* (Placido - Silva *et al.*, 2006), *R. pomonella* (Webster & Stoffolano, 1978), *B. cucurbitae* (McInnis *et al.*, 2004; Shelly *et al.*, 2005), *B. oleae* (Tsiropoulos, 1983), *B. tryoni* (Staples *et al.*, 2007), διάφορα είδη *Anastrepha*, όπως το *Anastrepha obliqua*, *Anastrepha serpentina*, και *Anastrepha striata*, αλλά όχι του *Anastrepha ludens* (Jácome *et al.*, 1995, 1999; Aluja *et al.*, 2001b), και το *Rhagoletis indifferens* (Yee, 2003). Τέλος, έχει διαπιστωθεί πως η κατανάλωση πρωτεΐνης είναι απαραίτητη για την ωογένεση και γενικότερα την αναπαραγωγική επιτυχία στα Tephritidae (Aluja 2000) αλλά και σε διάφορα είδη *Drosophila* (Droney 2002). Το γεγονός αυτό, πιθανόν να οφείλεται στο ότι σε όλα τα Tephritidae, τα θηλυκά είναι αναυτογενή δηλ. χρειάζεται να τραφούν με πρωτεΐνη ώστε να αναπτυχθούν τα αυγά τους. Αντίθετα, τα είδη των οποίων η προνύμφη τρέφεται με σπόρους (αυτογενή), δε χρειάζεται να τραφούν με πρωτεΐνη.

Σε μερικά είδη της οικογένειας Tephritidae, η διαθεσιμότητα της πρωτεΐνης είναι απαραίτητη για τα αρσενικά όπως και για τα θηλυκά. Πρόσφατες έρευνες δείχνουν ότι η διατροφή των αρσενικών είναι συνδεδεμένη με την εκδήλωση της σεξουαλικής τους συμπεριφοράς και γενικά με την αναπαραγωγική τους επιτυχία. Η παραγωγή και έκλυση της σεξουαλικής φερομόνης από τα αρσενικά του *Anastrepha suspensa* εξαρτάται από τη διατροφή (Aluja, 2000). Για τη μύγα της Μεσογείου, η πρωτεΐνη είναι απαραίτητη για την αναπαραγωγική επιτυχία (Yuval and Hendrichs 2000) και πιο συγκεκριμένα μελέτες έδειξαν πως αρσενικά που τρέφονται με πρωτεΐνη έχουν μεγαλύτερο αριθμό συζεύξεων σε σχέση με αρσενικά που στερούνταν πρωτεΐνης (Joachim - Bravo, 2009). Επίσης, η κατανάλωση πρωτεΐνης στο ξεκίνημα της ενήλικης ζωής συσχετίζεται θετικά με τη σεξουαλική συμπεριφορά άγριων και εργαστηριακών αρσενικών της μύγας Μεσογείου, όπως η συμμετοχή στα leks (Paradopoulos *et al.*, 1998). Για το *R.*

romonella, του οποίου τα αρσενικά δε συμμετέχουν σε lek και το σεξουαλικό κάλεσμα, βρέθηκε πως τα αρσενικά είναι λιγότερο εξαρτημένα από τη πρωτεΐνη σε σχέση με τα θηλυκά (Aluja, 2000).

Οι υδατάνθρακες αξιοποιούνται για παραγωγή ενέργειας κατά τη πτήση και την αναζήτηση τροφής και από τα δύο φύλα (Aluja, 2000). Επίσης, σύμφωνα με εργαστηριακές μελέτες σε έντομα όπως το *A. suspensa* (Robacker, 2001), *B. cucurbitae* (Kaur και Srivastava 1995), το *B. oleae* (Tsiropoulos, 1985) και το *R. indifferens* (Yee, 2003) οι υδατάνθρακες είναι απαραίτητοι για την επιβίωση.

4. Σκοπός

Όπως φαίνεται και από τα παραπάνω, τα τελευταία χρόνια παρατηρείται αύξηση του ενδιαφέροντος για μελέτες σχετικές με την ημερήσια κατανάλωση τροφής σε διάφορα taxa εντόμων καθώς και την ανάπτυξη μεθοδολογιών για τον ακριβή προσδιορισμό της κατανάλωσης. Επίσης πολλές μελέτες αφορούν την κατανάλωση διάφορων συγκεντρώσεων θρεπτικών συστατικών (όπως πρωτεΐνες, υδατάνθρακες, βιταμίνες) και το πώς επηρεάζουν - συνδέονται με την επιβίωση και την ωοπαραγωγή των εντόμων.

Πιο αναλυτικά, όσον αφορά την οικογένεια Tephritidae οι Ferro & Zucoloto (1990) έδειξαν ότι η σουκρόζη δεν επηρεάζει την ωοπαραγωγή του *C. capitata* ενώ τα αμινοξέα την επηρεάζουν. Ο Zucoloto (1992) μελέτησε την ωοπαραγωγή σε έντομα του *C. capitata* που είχαν τραφεί με διαφορετικούς υδατάνθρακες. Οι Jacome και συνεργάτες (1998) μελέτησαν την επίδραση της διατροφής στις δημογραφικές παραμέτρους των ενήλικων του *A. serpentina*. Οι Meats και Leighton (2004) μελέτησαν την σημασία της πρωτεΐνης στην αναπαραγωγή των ενήλικων θηλυκών του *B. tryoni*. Οι Nestel *et al.*, 2005 μελέτησαν την επιβίωση και την ωοπαραγωγή εντόμων της μύγας της Μεσογείου που είχαν τραφεί μόνο με σουκρόζη ή με τροφή που περιείχε σουκρόζη και πρωτεΐνη.

Τα πειράματα που αφορούν στην κατανάλωση τροφής σε Tephritidae είναι αρκετά, όμως δεν υπάρχουν σχετικά στοιχεία για την κατανάλωση τροφής και τη σύνδεση της με την επιβίωση και την ωοπαραγωγή στο *R. cerasi*. Γεγονός που ίσως οφείλεται στο ότι το συγκεκριμένο έντομο έχει μία γενιά το έτος και είναι δύσκολη η εκτροφή του, καθώς και ότι οι μικρές ποσότητες τροφής που

καταναλώνει είναι δύσκολο να προσδιοριστούν και για αυτό χρειάζεται μία ειδική μέθοδος την οποία και αναπτύξαμε βασιζόμενοι σε εργασίες άλλων και κυρίως του συστήματος CAFÉ των Ja *et al.*, 2007.

Σκοπός της παρούσας εργασίας ήταν:

- Η ανάπτυξη μίας μεθόδου για την καταγραφή της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής στα Terphritidae και ιδιαίτερα στο *R. cerasi*.
- Η συσχέτιση της κατανάλωσης τροφής με τη μακροβιότητα και την αναπαραγωγή του *R. cerasi*.
- Η μελέτη της κατανάλωσης τροφής στα δύο φύλα της ραγγολέτιδας της κερασιάς.

Η μελέτη της κατανάλωσης τροφής στη ραγγολέτιδα θα συμβάλει στη κατανόηση των διατροφικών απαιτήσεων του εντόμου και των σχέσεων της τροφής με την μακροβιότητα, την επιβίωση και την ωοπαραγωγή των εντόμων. Επίσης, η μελέτη αυτή θα συμβάλλει στη καλύτερη γνώση της βιολογίας και της φυσιολογίας του εντόμου και των μηχανισμών ρύθμισης της ενέργειας στο συγκεκριμένο είδος και αναμένουμε να συνεισφέρει στην ανάπτυξη αποτελεσματικότερων μεθόδων εκτροφής του εντόμου στο εργαστήριο. Τέλος, με την ανάπτυξη μεθοδολογίας για την μέτρηση της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής, ανοίγει ο δρόμος για περαιτέρω μελέτη και σε θέματα που για παράδειγμα αφορούν τον διατροφικό περιορισμό και τη σχέση του με την διάρκεια ζωής, αλλά και της χρήσης εντομοκτόνων στομάχου για το συγκεκριμένο αλλά και για άλλα έντομα.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1 Συνθήκες εργαστηρίου

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στους χώρους του Εργαστηρίου Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κατά το έτος 2009. Οι συνθήκες που επικρατούσαν στα εντομοδωμάτια κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν θερμοκρασία 25 ± 1 °C, σχετική υγρασία $65 \pm 5\%$ και φωτοπερίοδος 14:10 (Φ:Σ), με τη φωτόφαση από τις 07:00 έως και τις 21:00 h (Diamantidis *et al.*, 2008, 2009). Το φως, στο χώρο όπου πραγματοποιήθηκε το πείραμα προερχόταν από λαμπτήρες φθορίου (day light type) και συμπληρωνόταν από το φυσικό φως που έμπαινε στο χώρο από 4 παράθυρα, που βρίσκονται στη οροφή του δωματίου. Η ένταση του φωτός στο χώρο όπου διατηρούνταν τα κλουβιά με τα έντομα κυμαινόταν από 800 έως 1000 lux.

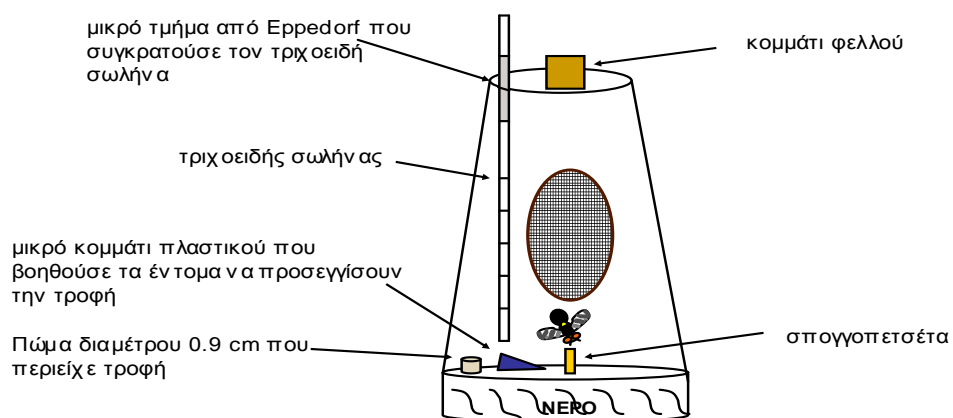
2.2 Έντομα που χρησιμοποιήθηκαν

Χρησιμοποιήθηκαν έντομα που προέρχονταν από τη περιοχή της Αγίας του Ν. Λάρισας ($39^{\circ}43'3''\text{N}$ $22^{\circ}45'15''\text{E}$) και από τη περιοχή του Dossenheim της Γερμανίας ($49^{\circ}26'53''\text{N}$ $8^{\circ}40'22''\text{E}$). Η συλλογή των προσβεβλημένων κερασιών στη περιοχή της Αγίας έγινε στις 28/5/2008 και στη περιοχή του Dossenheim από 10 - 12 Ιουνίου του 2008. Κατά τη συλλογή, συλλέγονταν κεράσια τα οποία βρίσκονταν πάνω στα δένδρα και τοποθετούνταν σε πλαστικές σακούλες. Στη συνέχεια μεταφέρονταν στο εργαστήριο και τοποθετούνταν σε πλαστικές λεκάνες διαστάσεων 45X35 cm βάση και 16 cm ύψος. Έπειτα, τα προσβεβλημένα κεράσια απλώνονταν επάνω σε λεπτό στρώμα άμμου πάχους περίπου 2 cm. Στη συνέχεια, οι λεκάνες σκεπάζονταν με λεπτή οργανίνα. Η άμμος βοήθουσε στη συγκράτηση των χυμών των αποσυντεθημένων κερασιών και αποτελούσε το υπόστρωμα νύμφωσης των εξερχόμενων προνυμφών. Κάθε μέρα ελεγχόταν η έξοδος και η νύμφωση των προνυμφών, οι οποίες συλλέγονταν με τη βοήθεια λαβίδας από το υπόστρωμα της άμμου. Μετά την έξοδο και τη νύμφωση των προνυμφών, απομακρύνονταν τα κεράσια από τις

λεκάνες και ακολουθούσε κοσκίνισμα της άμμου με σκοπό τη συλλογή όλων των νυμφών. Ο έλεγχος του δείγματος διαρκούσε 15 ημέρες και ολοκληρωνόταν με το πλύσιμο της άμμου για να συλλεχθούν και οι τελευταίες νύμφες που ίσως υπήρχαν. Η νύμφωση των εντόμων της περιοχής της Αγιάς ολοκληρώθηκε στις 5/6/2008 και των εντόμων της περιοχής του Dossenheim ολοκληρώθηκε στις 26/6/2008. Μετά τη νύμφωση οι νύμφες τοποθετήθηκαν σε τριβλία Petri και για 60 ημέρες διατηρήθηκαν σε θερμοκρασία 25 °C. Στη συνέχεια μεταφέρθηκαν στους 5 °C για περίπου 250 ημέρες. Με την πάροδο των 250 ημερών, οι νύμφες τοποθετήθηκαν σε θερμοκρασία δωματίου 25 °C μέχρι την έξοδο των ενηλίκων. Τα ενήλικα αμέσως μετά την έξοδό τους από το νυμφικό περίβλημα κατανεμήθηκαν τυχαία στις διάφορες μεταχειρίσεις (βλέπε παρακάτω).

2.3 Πειραματικά κλουβιά

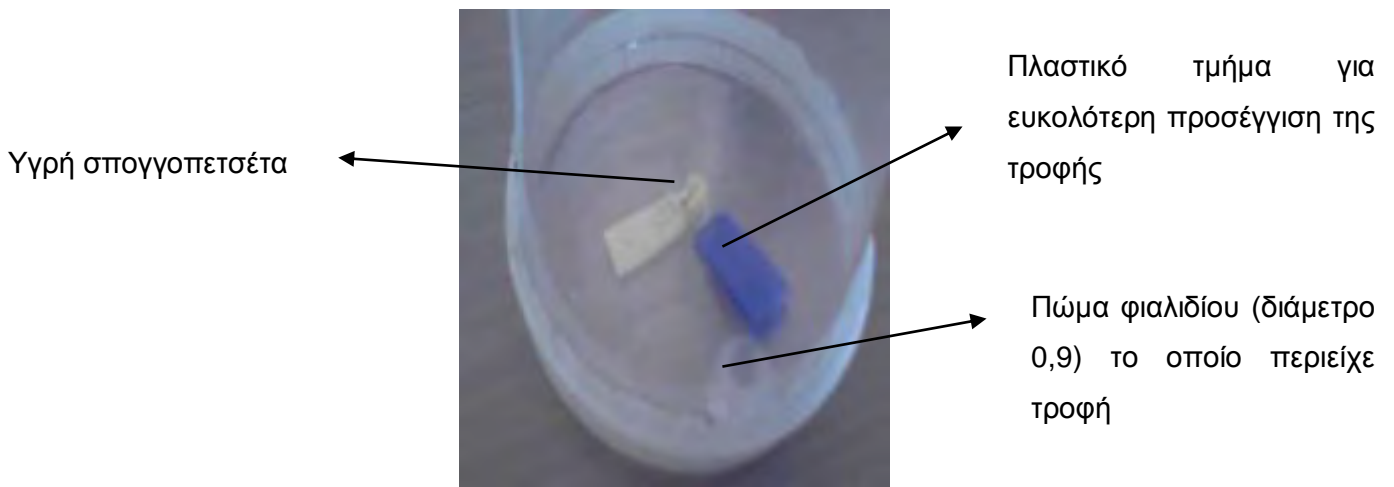
Αμέσως μετά την έξοδό του από το νυμφικό περίβλημα, το κάθε ενήλικο τοποθετούνταν σε διαφανές, πλαστικό κλουβί χωρητικότητας 0.3 L με διάμετρο βάσης 9 cm, διάμετρο κορυφής 5.5 cm και ύψος 12 cm. Στη πλευρική επιφάνεια του κάθε κλουβιού υπήρχε άνοιγμα 25 cm² καλυμμένο με λεπτή μουσελίνα, η οποία αποσκοπούσε στον αερισμό των κλουβιών. Στη βάση κάθε κλουβιού είχε προσαρμοστεί με τη βοήθεια κολλητικής ταινίας το κάλυμμα ενός τριβλίου Petri διαμέτρου 9 cm. Στη μέση του καλύμματος του τριβλίου είχε τοποθετηθεί μικρό κομμάτι Vettex (σπογγοπετσέτα) το οποίο επικοινωνούσε με τη βάση του τριβλίου που περιείχε νερό. Επίσης στο κάλυμμα του τριβλίου είχαν προσαρμοστεί ένα μικρό κομμάτι από πλαστικό μήκους 2.2 cm, πλάτους 1 cm, και ύψους 0.5 cm και ένα πώμα, διαμέτρου 0,9 cm (Εικόνα 15, 16, 17). Στην οροφή των κλουβιών, επάνω από εκεί που ήταν τοποθετημένο το κομμάτι πλαστικού, σχηματίστηκε μικρή οπή, στην οποία τοποθετήθηκε μικρό τμήμα από erpendorf Standart/Bulk 0.1-20 μl, μήκους 1,4 cm. Το μικρό αυτό τμήμα τοποθετήθηκε ώστε να συγκρατεί τον τριχοειδή σωλήνα που περιείχε τη τροφή των εντόμων. Στα κλουβιά στα οποία τοποθετήθηκαν θηλυκά έντομα είχαν τοποθετηθεί, επίσης, 3, κοίλα υποστρώματα ωτοκίας διαμέτρου 18 mm το κάθε ένα (Εικόνα 18, 19, 20). Τα υποστρώματα ωτοκίας κατασκευάστηκαν από ειδική παραφίνη (ceresin) και τοποθετήθηκαν με μεγάλη προσοχή στις οπές που είχαν δημιουργηθεί για αυτό το σκοπό στο κάλυμμα του τριβλίου.



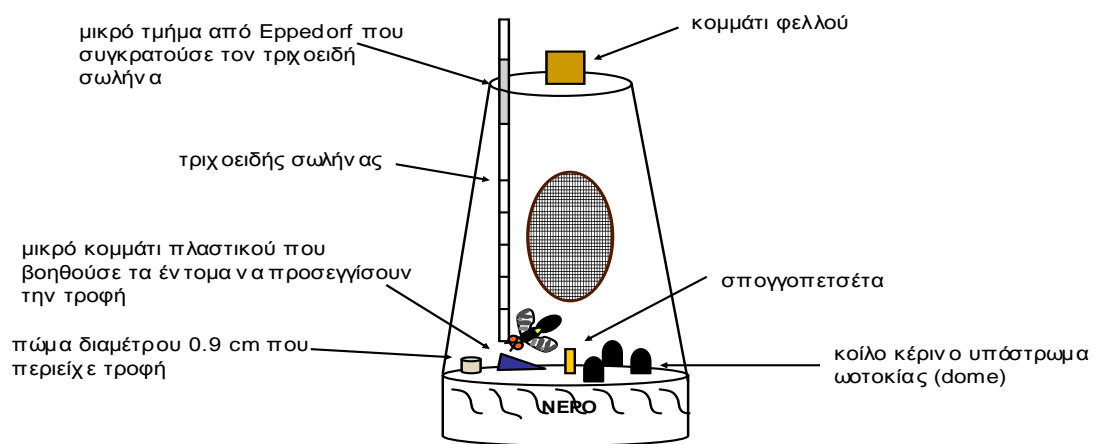
Εικόνα 15. Σχηματική απεικόνιση ατομικού κλουβιού ενήλικου αρσενικού.



Εικόνα 16. Πλαστικό διαφανές κλουβί στο οποίο τοποθετούνταν ένα ενήλικο αρσενικό.



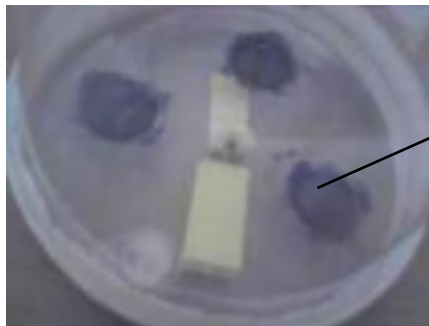
Εικόνα 17. Η βάση του κλουβιού αρσενικών εντόμων στην οποία διακρίνεται η κατασκευή με το πλαστικό τμήμα (μπλε χρώματος) που βοηθά το ενήλικο να προσεγγίσει την τροφή και το πώμα των φιαλιδίων που χρησιμοποιήθηκαν για την παροχή τροφής (διάφανο).



Εικόνα 18. Σχηματική απεικόνιση ατομικού κλουβιού θηλυκών εντόμων.



Εικόνα 19. Πλαστικό διαφανές κλουβί στο οποίο τοποθετούνταν ένα θηλυκό έντομο.



Κοίλα κέρνα
υποστρώματα
ωτοκίας που φέρουν
3 - 4 σπές.

Εικόνα 20. Η βάση του κλουβιού θηλυκών στην οποία διακρίνονται τα κέρνα υποστρώματα ωτοκίας.



Εικόνα 21. Πλαστικά διαφανή κλουβιά στα οποία τοποθετήθηκαν ενήλικα θηλυκά.

Μετά την τοποθέτηση των εντόμων στα ατομικά κλουβιά (ένα έντομο σε κάθε κλουβί) έγινε μεταφορά τους σε τετράγωνους κλωβούς plexiglas διαστάσεων 49,5X40X40 cm. Τα κλουβιά αυτά έφεραν κατά μήκος των δύο πλευρών τους εγκοπές και στις άλλες δύο πλευρές κυκλικά ανοίγματα στα οποία τοποθετήθηκαν πλαστικά κύπελλα διαμέτρου 14,5 cm. Στη βάση των κλουβιών τοποθετήθηκε ελαφρώς βρεγμένο Vettex (σπογγοπετσέτα) που κάλυπτε όλη την επιφάνεια και εμποτίζονταν καθημερινά με νερό ώστε η υγρασία εντός των κλουβιών να διατηρείται σε ποσοστό > 70% Σ.Υ. Σε ύψος 21 cm από τη βάση των κλουβιών δημιουργήθηκε οριζόντια, σταθερή κατασκευή με τη βοήθεια σύρματος και σχοινιού, ώστε να μπορούν να τοποθετηθούν και εκεί ατομικά κλουβιά (Εικόνα 22).



Εικόνα 22. Κλωβοί plexiglass, εντός των οποίων τοποθετούνταν τα ατομικά κλουβιά για να βρίσκονται σε συνθήκες υψηλής σχετικής υγρασίας.

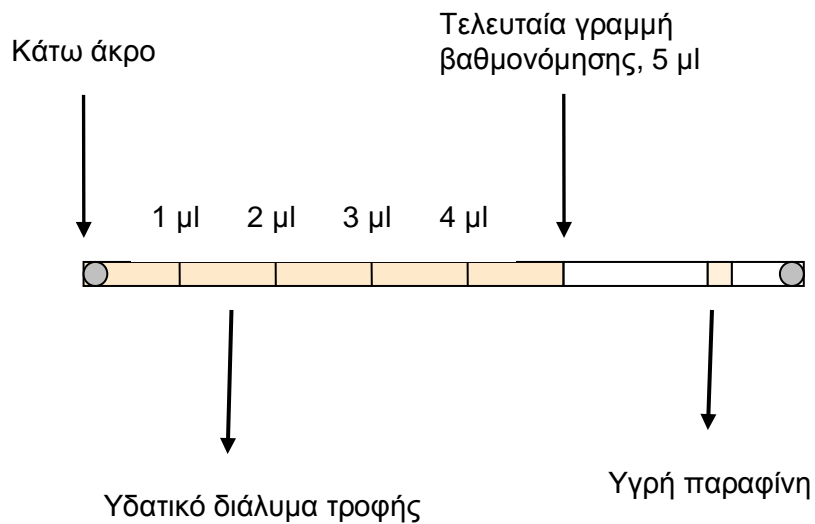
2.4 Περιγραφή της πειραματικής διαδικασίας

Χρήση τριχοειδών σωλήνων για την παροχή τροφής

Η τοποθέτηση της υγρής τροφής στον τριχοειδή σωλήνα ήταν ιδιαίτερα σημαντική και απαιτούσε λεπτούς χειρισμούς. Πιο συγκεκριμένα, η διαδικασία αποτελούνταν από τα εξής βήματα:

1. Τοποθετούσαμε την μία άκρη του σωλήνα στο κύπελλο που περιείχε το υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης ή ζάχαρης, και την άλλη άκρη στη στοματική κοιλότητα. Εισπνέαμε ελαφρώς ώστε να γεμίσει ο σωλήνας έως τη τελευταία γραμμή βαθμονόμησης (5 μl) (Εικόνα 23, 24).
2. Στη συνέχεια, στην ελεύθερη άνω άκρη του σωλήνα τοποθετούνταν παραφινέλαιο.

3. Τέλος, ο τριχοειδής σωλήνας τοποθετούνταν στο μικρό τμήμα erpendorf, που βοηθούσε στη καλύτερη και πιο σταθερή συγκράτηση του σωλήνα, στα ατομικά κλουβιά.



Εικόνα 23. Σχηματική παράσταση του τριχοειδούς σωλήνα. Στο επάνω μέρος του τριχοειδή σωλήνα τοποθετούταν μία σταγόνα υγρής παραφίνης (πόσιμο έλαιο) για την μείωση της εξάτμισης της τροφής.



Εικόνα 24. Βαθμονομημένοι γυάλινοι τριχοειδής σωλήνες.

Πειραματική διαδικασία

Καθημερινά καταγραφόταν η κατανάλωση τροφής (ζάχαρης και πρωτεΐνης), η επιβίωση των ενήλικων εντόμων και η ωοπαραγωγή των θηλυκών. Η διαδικασία η οποία ακολουθούταν για την εκτίμηση της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής ήταν η εξής:

1. Το πρωί (10:00 π.μ.), οι γυάλινοι τριχοειδής σωλήνες (Disposable micropipettes 1/2/3/4/5* μl) με την τροφή τοποθετούταν με ιδιαίτερη προσοχή στα ατομικά κλουβιά. Η άκρη των σωλήνων βρισκόταν 0,4 cm πάνω από το πλαστικό κομμάτι που είχε τοποθετηθεί στη βάση του κλουβιού, επάνω στο οποίο συνήθως ανέβαιναν τα έντομα και τρέφονταν από τον τριχοειδή σωλήνα (Εικόνα 25).
2. Έπειτα τοποθετούταν όλα τα ατομικά κλουβιά εντός των κλωβών plexiglas, αφού πρώτα είχε εμποτιστεί το "Vettex" (σπογγοπετσέτα) με νερό.
3. Μετά τη πάροδο 7 ωρών, αφαιρούνταν ο τριχοειδής σωλήνας από το ατομικό κλουβί, τοποθετούνταν πάνω σε μιλιμετρέ χαρτί και μετρούνταν η ποσότητα που κατανάλωσε το κάθε έντομο. Δηλαδή υπολογιζόταν το διάστημα μεταξύ της γραμμής (στην οποία βρισκόταν η τροφή αρχικώς) και του σημείου στο οποίο είχε πέσει η στάθμη της τροφής μετά τη πάροδο των 7 ωρών.
4. Επίσης καταγραφόταν και η εξάτμιση της τροφής στο μάρτυρα, με τον ίδιο τρόπο, για να αφαιρεθεί έπειτα από τις μετρήσεις. Στο μάρτυρα τοποθετούνταν τροφή καθημερινώς αλλά δεν υπήρχε έντομο.
5. Την καθαρή κατανάλωση σε ύψος στήλης του τριχοειδή σωλήνα (cm) τη διαιρούσαμε με 1.5 (αφού 1.5 κατανάλωση σε ύψος στήλης του τριχοειδή σωλήνα αντιστοιχεί σε 1μL καταναλωθέντος διαλύματος)
6. Τέλος, οι παραπάνω τιμές πολλαπλασιάστηκαν με 0,1 ή 0,2 για να μετατραπούν σε μg (π.χ. στη περίπτωση του διαλύματος ζάχαρης 20% w/v αυτό σημαίνει περίπου πως στο 1 μL διαλύματος περιέχεται 0,2 μg ζάχαρης).

Κατά τον υπολογισμό της ημερήσιας κατανάλωσης σημειώθηκαν αρκετές τιμές μικρότερες του μηδενός (0). Οι τιμές αυτές στην ανάλυση και τη στατιστική επεξεργασία θεωρήθηκαν ότι ήταν ίσες με το μηδέν (0).

Επίσης καθημερινώς πραγματοποιούνταν καταμέτρηση αυγών με απομάκρυνσή τους από τα υποστρώματα ωτοκίας με τη βοήθεια μαλακού πινέλου και τοποθέτησή τους σε εμποτισμένο με νερό ύφασμα μαύρου χρώματος. Μετά τις μετρήσεις, τα σωληνάκια ξεπλένονταν σε 3 βήματα. Πιο αναλυτικά:

1. Σε ποτήρι ζέσεως βάζαμε 20 ml απεσταγμένο νερό και 1 σταγόνα υγρό απορρυπαντικό, τοποθετούσαμε μέσα τον τριχοειδή σωλήνα από την άκρη που είχε την υγρή παραφίνη και φυσούσαμε
2. Μετά από ένα λεπτό τοποθετούσαμε τον τριχοειδή σωλήνα σε άλλο ποτήρι ζέσεως το οποίο περιείχε 20 ml απεσταγμένο νερό και κάναμε το ίδιο.
3. Τέλος, τοποθετούσαμε τον τριχοειδή σωλήνα σε άλλο ποτήρι ζέσεως που περιείχε 60 ml απεσταγμένο νερό, φυσούσαμε και αφήναμε το σωλήνα να στεγνώσει για 12 ώρες ώστε να ξαναχρησιμοποιηθεί.



Εικόνα 25. Ενήλικο θηλυκό *R.cerasi* τρέφεται από τον τριχοειδή σωλήνα.

2.5 Μεταχειρίσεις του πειράματος

Δημογραφία και κατανάλωση τροφής ενήλικων που προέρχονται από την Αγιά της Λάρισας.

Στο πρώτο πείραμα, μελετήσαμε την ημερήσια κατανάλωση υδατικού διαλύματος πρωτεΐνης 10%, την επιβίωση των ενήλικων αρσενικών και θηλυκών της ραγολέτιδας και την ωοπαραγωγή των θηλυκών που τρέφονταν με την παραπάνω τροφή. Επίσης μελετήσαμε την ημερήσια κατανάλωση υδατικού διαλύματος ζάχαρης 10%, την επιβίωση των ενήλικων αρσενικών και θηλυκών εντόμων και την ωοπαραγωγή των θηλυκών που τρέφονταν με την παραπάνω τροφή. Για τον παραπάνω σκοπό χρησιμοποιήθηκαν 220 ενήλικα του *R. cerasi* από την περιοχή της Αγιάς του Ν. Λάρισας, τα οποία τοποθετήθηκαν ατομικά στις διάφορες μεταχειρίσεις όπως φαίνεται στον Πίνακα 7.

Η τροφή (ζάχαρη, πρωτεΐνη), με την οποία τρέφονταν τα έντομα και μελετούσαμε την κατανάλωσή της, παρασκευαζόταν κάθε 10 ημέρες και δε χρησιμοποιούταν παραπάνω. Κατά την παρασκευή της τροφής, αναμειγνύαμε 40 ml απεσταγμένο νερό με 4 gr πρωτεΐνη ή ζάχαρη.

Στα ατομικά κλουβιά είχε τοποθετηθεί εξ αρχής μικρή ποσότητα πρωτεΐνης ή ζάχαρης ως εξής:

1. στα κλουβιά, των εντόμων που θα μελετούνταν ως προς τη κατανάλωση σε πρωτεΐνη, είχε τοποθετηθεί εξ αρχής ζάχαρη σε κρυσταλλική μορφή.
2. στα κλουβιά, των εντόμων που θα μελετούνταν ως προς τη κατανάλωση σε ζάχαρη, υπήρχε εξ αρχής διαθέσιμη πρωτεΐνη.

Η μικρή αυτή ποσότητα δε χρειάστηκε να ανανεωθεί μέχρι το τέλος του πειράματος, εκτός από ελάχιστες περιπτώσεις στις οποίες χρειάστηκε ανανέωση προς το τέλος της πειραματικής διαδικασίας.

Πίνακας 7. Ο αριθμός των ενήλικων αρσενικών και θηλυκών εντόμων της ραγγολέτιδας της κερασιάς που χρησιμοποιήθηκαν στην κάθε μεταχείριση.

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ 1		
ΦΥΛΟ	10% ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ	10% ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ ΖΑΧΑΡΗΣ
♂♂	49	55
♀♀	50	66

Κατά τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας (τις πρώτες 7 ημέρες), παρατηρήθηκε έντονη θνησιμότητα των αρσενικών και θηλυκών εντόμων που είχαν τοποθετηθεί στη μεταχείριση με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%. Για αυτό το λόγο αποφασίστηκε η διεξαγωγή ενός νέου πειράματος με αύξηση του ποσοστού της ζάχαρης στο 20% ενώ το υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης παρέμεινε 10%.

Δημογραφία και κατανάλωση τροφής ενήλικων που προέρχονται από το Dossenheim της Γερμανίας.

Στο δεύτερο πείραμα, μελετήσαμε την ημερήσια κατανάλωση υδατικού διαλύματος πρωτεΐνης 10%, την επιβίωση των ενήλικων αρσενικών και θηλυκών της ραγγολέτιδας και την ωοπαραγωγή των θηλυκών. Επίσης μελετήσαμε την ημερήσια κατανάλωση υδατικού διαλύματος ζάχαρης 20%, την επιβίωση των ενήλικων αρσενικών και θηλυκών εντόμων και την ωοπαραγωγή των θηλυκών. Χρησιμοποιήθηκαν έντομα από την περιοχή Dossenheim της Γερμανίας καθώς ο αριθμός των εντόμων που προέρχονταν από την περιοχή της Αγίας του Ν. Λάρισας δεν επαρκούσε για τη διεξαγωγή του πειράματος 2. Χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 121 ενήλικα του *R. cerasi* από την περιοχή Dossenheim της Γερμανίας, τα οποία τοποθετήθηκαν στις διάφορες μεταχειρίσεις όπως φαίνεται στον Πίνακα 8.

Η τροφή (ζάχαρη, πρωτεΐνη), με την οποία τρέφονταν τα έντομα και μελετούσαμε την κατανάλωσή της, παρασκευαζόταν κάθε 10 ημέρες και δε χρησιμοποιούταν παραπάνω. Η ζάχαρη ήταν υδατικό διάλυμα 20%, δηλ. κατά τη παρασκευή της αναμειγνύαμε 40 ml απεσταγμένο νερό με 8 gr ζάχαρη.

Στα ατομικά κλουβιά είχε τοποθετηθεί εξ αρχής μικρή ποσότητα πρωτεΐνης ή ζάχαρης ως εξής:

1. στα κλουβιά, των εντόμων που θα μελετούνταν ως προς τη κατανάλωση σε πρωτεΐνη, είχε τοποθετηθεί εξ αρχής ζάχαρη σε κρυσταλλική μορφή.
2. στα κλουβιά, των εντόμων που θα μελετούνταν ως προς τη κατανάλωση σε ζάχαρη, υπήρχε εξ αρχής διαθέσιμη πρωτεΐνη.

Η μικρή αυτή ποσότητα δε χρειάστηκε να ανανεωθεί μέχρι το τέλος του πειράματος, εκτός από ελάχιστες περιπτώσεις στις οποίες χρειάστηκε ανανέωση προς το τέλος της πειραματικής διαδικασίας.

Πίνακας 8. Ο αριθμός των ενήλικων αρσενικών και θηλυκών εντόμων της ραγγολέτιδας της κερασιάς που χρησιμοποιήθηκαν στη κάθε μεταχείριση.

ΜΕΤΑΧΕΙΡΙΣΕΙΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΟΣ 2		
ΦΥΛΟ	10% ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ ΠΡΩΤΕΪΝΗΣ	20% ΥΔΑΤΙΚΟ ΔΙΑΛΥΜΑ ΖΑΧΑΡΗΣ
♂♂	30	30
♀♀	31	30

Συνολικά και στα δύο πειράματα χρησιμοποιήθηκαν 343 ενήλικα του *R. cerasi*.

2.6 Στατιστική επεξεργασία

Για το κάθε άτομο υπολογίστηκε η ημερήσια και η συνολική (σε όλη τη διάρκεια ζωής) κατανάλωση τροφής. Ο έλεγχος της κανονικότητας των δεδομένων έγινε με το κριτήριο Kolmogorov-Smirnov. Για τον προσδιορισμό της επίδρασης του φύλου και του είδους τροφής στην συνολική κατανάλωση τροφής εφαρμόστηκε το μη παραμετρικό κριτήριο Mann Whitney.

Η επίδραση του φύλου και της τροφής στην διάρκεια ζωής προσδιορίστηκαν με το μοντέλο ανάλογων κινδύνων του Cox (Cox proportional hazards model) (Collet, 2003).

Ο έλεγχος της κανονικότητας των στοιχείων της ωοπαραγωγής έγινε με το κριτήριο Kolmogorov-Smirnov. Η επίδραση του είδους της τροφής στον μέσο όρο των αυγών προσδιορίστηκε με το μη παραμετρικό κριτήριο Mann-Whitney. Η επίδραση του είδους της τροφής στις περιόδους πρωτοκίας, ωοτοκίας και μετα την ωοτοκία εκτιμήθηκε με το μοντέλο Kaplan - Meier (Diamantidis *et al.*, 2009).

Τέλος, μελετήθηκε η σχέση της κατανάλωσης τροφής με την μακροβιότητα των δύο φύλων και την ωοπαραγωγή των θηλυκών με τη συσχέτιση του Spearman's rho.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

3. Αποτελέσματα

Στο παρόν κεφάλαιο δίνεται η ημερήσια κατανάλωση τροφής και τα στοιχεία της δημογραφίας τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών για το πρώτο πείραμα, στο οποίο χρησιμοποιήθηκαν έντομα από την Αγιά του νομού Λάρισας (Πείραμα 1) και για το δεύτερο πείραμα, στο οποίο χρησιμοποιήθηκαν έντομα από το Dossenheim της Γερμανίας (Πείραμα 2).

3.1 Δημογραφία και κατανάλωση τροφής ενήλικων που προέρχονταν από την Αγιά Λάρισας

Ημερήσια κατανάλωση τροφής

Στον Πίνακα 9 που ακολουθεί δίνεται η μέση συνολική κατανάλωση τροφής των αρσενικών και των θηλυκών ενηλίκων, που προέρχονταν από την Αγιά της Λάρισας. Τα αρσενικά, φαίνεται ότι κατανάλωσαν μεγαλύτερη ποσότητα υδατικού διαλύματος ζάχαρης 10% από ότι τα θηλυκά όμως η διαφορά δεν ήταν σημαντική ($P > 0,05$). Η μέση ποσότητα υδατικού διαλύματος πρωτεΐνης 10% που καταναλώθηκε από τα αρσενικά και τα θηλυκά ήταν παρόμοια. Στον Πίνακα 9, φαίνεται η επίδραση του φύλου στην μέση συνολική κατανάλωση τροφής καθώς και η διαφορά στην κατανάλωση των δύο διαφορετικών ειδών τροφής στο ίδιο φύλο. Όμως, η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι το φύλο δεν έχει σημαντική επίδραση στην μέση συνολική κατανάλωση ζάχαρης (υδατικό διάλυμα 10%) ($U = 1518.50$, $P = 0.123$) και πρωτεΐνης (υδατικό διάλυμα 10%) ($U = 1090.00$, $P = 0.345$). Όμως τόσο τα θηλυκά ($U = 1132.00$, $P = 0.004$) όσο και τα αρσενικά ($U = 1040.50$, $P = 0.046$) κατανάλωναν σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες πρωτεΐνης από ότι ζάχαρης.

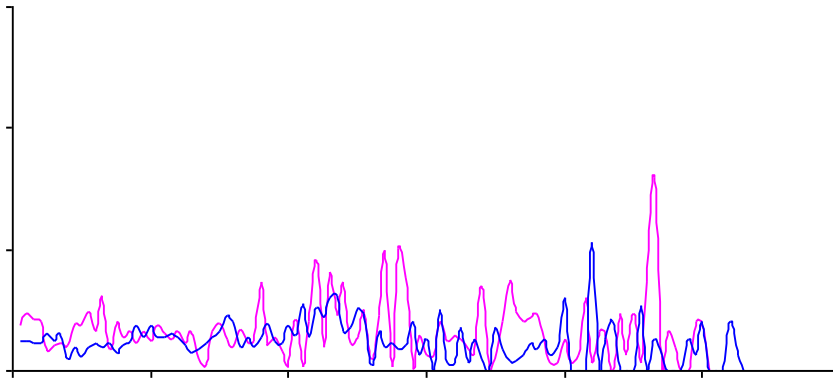
Πίνακας 9. Η συνολική κατανάλωση πρωτεΐνης και ζάχαρης των ενήλικων από την Αγιά. Τα ενήλικα τρέφονταν είτε με υδατικό διάλυμα 10% πρωτεΐνης είτε με αντίστοιχης περιεκτικότητας υδατικό διάλυμα ζάχαρης.

Φύλο	Μέση κατανάλωση τροφής (μg ± SE)	
	Ζάχαρη 10%	Πρωτεΐνη 10%
Αρσενικά	0,368 ± 0,05 αA* (n=55)	0,448 ± 0,04 αB (n=49)
Θηλυκά	0,267 ± 0,04 αA (n=66)	0,423 ± 0,06 αB (n=50)

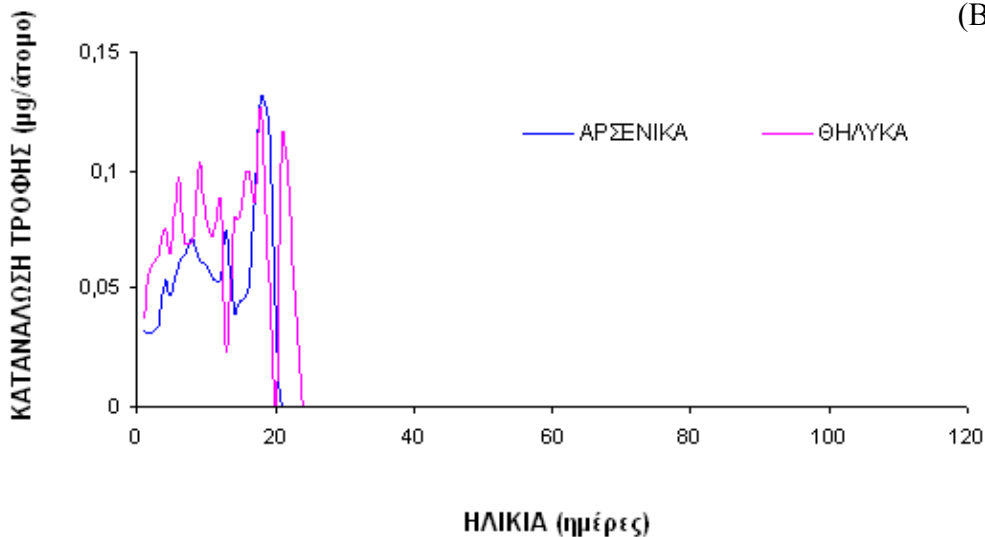
*Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα εντός στήλης (μικρά γράμματα) και γραμμών (μεγάλα γράμματα) δεν διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας P=0.05 (Mann-Whitney test).

Στα Διαγράμματα 6A και 6B που ακολουθούν παρουσιάζεται η μέση ημερήσια κατανάλωση ζάχαρης και πρωτεΐνης σε σχέση με την ηλικία των ενήλικων. Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 6A, τα δύο φύλα κατανάλωναν περίπου ίδιες ποσότητες πρωτεΐνης ανά ημέρα χωρίς σημαντικές αυξομειώσεις σε σχέση με την ηλικία. Στο Διάγραμμα 6B, φαίνεται ότι τα θηλυκά κατανάλωναν ελαφρώς μεγαλύτερη ποσότητα ζάχαρης σε σχέση με τα αρσενικά. Γενικώς, οι ποσότητες που καταναλώθηκαν ήταν μικρές, ωστόσο στα Διαγράμματα 6A και 6B, παρατηρούμε πως τα έντομα (και των δύο φύλων) που τοποθετήθηκαν στη μεταχείριση με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10% κατανάλωναν μεγαλύτερες ποσότητες από τα έντομα (αρσενικά και θηλυκά) που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα 10% πρωτεΐνης. Επίσης, φαίνεται ότι η κατανάλωση πρωτεΐνης ήταν πιο σταθερή σε σχέση με την κατανάλωση ζάχαρης, στις διαφορετικές ηλικίες. Τέλος, αξίζει να σημειωθεί ότι παρατηρήθηκε υψηλή θνησιμότητα τόσο στα θηλυκά όσο και στα αρσενικά που τρέφονταν με ζάχαρη (10%), με αποτέλεσμα να μην υπάρχουν ζωντανά άτομα μετά την ηλικία των 24 ημερών (βλέπε παρακάτω).

(A)



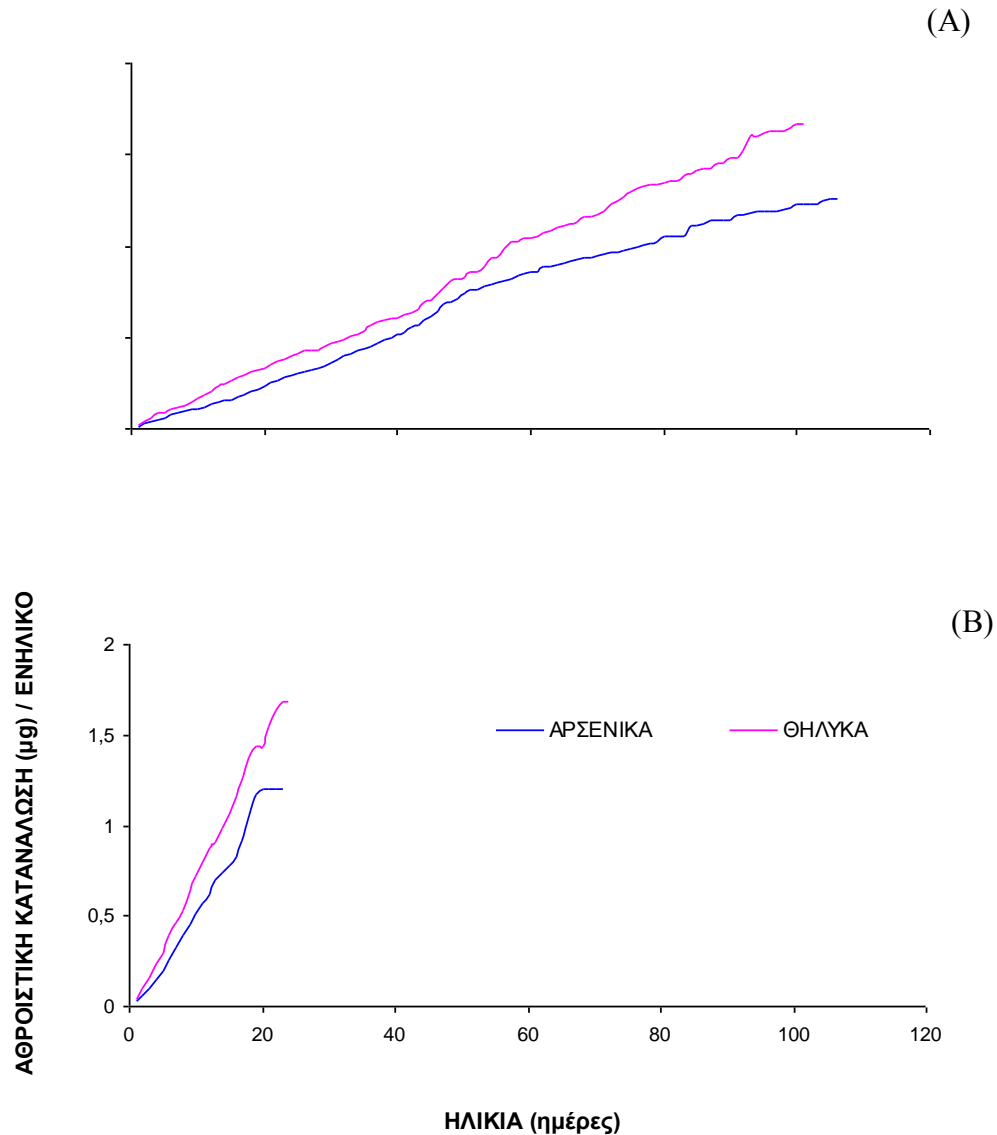
(B)



Διάγραμμα 6. Ημερήσια κατανάλωση (A) πρωτεΐνης 10% και (B) ζάχαρης 10% σε σχέση με την ηλικία, για αρσενικά και θηλυκά ενήλικα που προέρχονται από την Αγία Λάρισας.

Στα Διαγράμματα 7A και 7B δίνεται η αθροιστική κατανάλωση πρωτεΐνης και ζάχαρης για τα αρσενικά και τα θηλυκά έντομα αντίστοιχα. Φαίνεται ότι και στα δύο φύλα, η κατανάλωση της πρωτεΐνης ήταν σταθερή σε σχέση με την ηλικία. Τις πρώτες 50 ημέρες η κατανάλωση ήταν παρόμοια στα αρσενικά και στα θηλυκά ενώ στη συνέχεια παρατηρείται μείωση του ρυθμού κατανάλωσης στα αρσενικά. Στο Διάγραμμα 7B φαίνεται ότι τα θηλυκά καταναλώναν σχετικά υψηλότερες ποσότητες ζάχαρης σε σχέση με τα αρσενικά έως και την 20^η ημέρα.

Στη συνέχεια παρατηρείται έντονη θνησιμότητα πιθανόν λόγω της μικρής ποσότητας ζάχαρης που ήταν διαθέσιμη στα ενήλικα.



Διάγραμμα 7. Αθροιστική κατανάλωση (A) πρωτεΐνης 10% και (B) ζάχαρης 10% σε σχέση με την ηλικία για αρσενικά και θηλυκά ενήλικα που προέρχονται από την Αγία Λάρισα.

Επιβίωση ενηλίκων

Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων στη μέση διάρκεια ζωής, τόσο μεταξύ των θηλυκών, όσο και των αρσενικών ατόμων ήταν σημαντικές, όπως φαίνεται και στον Πίνακα 10. Η μέση και μέγιστη διάρκεια ζωής των αρσενικών και θηλυκών ατόμων, που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης 10% ήταν μεγαλύτερη από αυτή των εντόμων (αρσενικών και θηλυκών) που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%. Πιο αναλυτικά, τα αρσενικά που τρέφονταν με 10% υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης έζησαν κατά μέσο όρο 34,1 ημέρες, ενώ εκείνα που τρέφονταν με 10% υδατικό διάλυμα ζάχαρης 8,02 ημέρες. Αντίστοιχα τα θηλυκά που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης και ζάχαρης 10% έζησαν 26,0 και 5,0 ημέρες. Όσον αφορά τη μακροβιότητα, και εδώ τα έντομα και των δύο φύλων που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης 10% έζησαν για μακρύτερο χρονικό διάστημα από τα έντομα που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%. Και στα δύο φύλα, που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης, η μέγιστη διάρκεια ζωής ήταν τριπλάσια και τετραπλάσια αυτής των εντόμων που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης.

Η επίδραση της τροφής και του φύλου στην επιβίωση μελετήθηκε με το μοντέλο ανάλογων κινδύνων του Cox (Cox proportional hazards model). Όπως φαίνεται στο Πίνακα 11, η επιβίωση επηρεάζεται σημαντικά τόσο από το είδος της τροφής όσο και από το φύλο των εντόμων.

Πίνακας 10. Μακροβιότητα αρσενικών και θηλυκών ενηλίκων που προέρχονταν από την Αγιά του νομού Λάρισας σε σχέση με την τροφή που κατανάλωσαν.

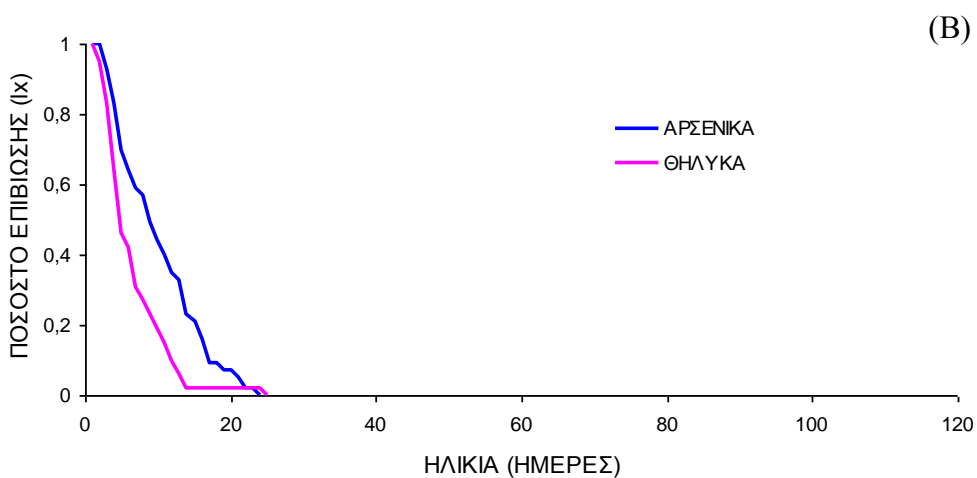
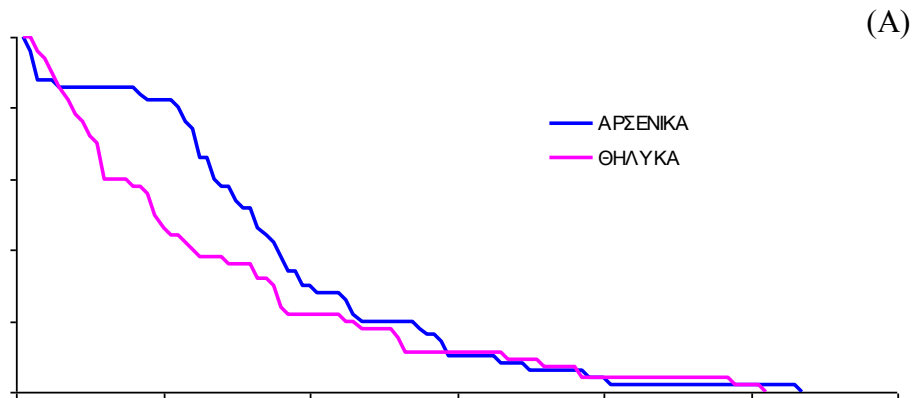
Μεταχείριση	Μέση διάρκεια ζωής (ημέρες ± SE)		Μέγιστη διάρκεια ζωής (ημέρες)	
	Αρσενικά	Θηλυκά	Αρσενικά	Θηλυκά
Πρωτεΐνη 10%	34,10 ± 3,09αΑ (n=49)	26,00 ± 3,38αB (n=50)	106	101
Ζάχαρη 10%	8,02 ± 0,76βA (n=55)	5,00 ± 0,49βB (n=66)	23	24

*Μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα εντός της γραμμής και το ίδιο μικρό γράμμα εντός της στήλης δεν διαφέρουν σημαντικά (P<0.05).

Πίνακας 11. Μεταβλητές του μοντέλου ανάλογων κινδύνων του Cox (Cox proportional hazards model), για την επίδραση της τροφής και του φύλου στη διάρκεια ζωής των ενήλικων.

Πηγή παραλλακτικότητας	B	Τυπικό σφάλμα (SE)	Exp(B)	P
Τροφή	-1,789	0,201	0,167	0,000
Φύλο	0,330	0,143	1,392	0,021

Στο Διάγραμμα 8 δίνονται οι καμπύλες επιβίωσης για τα αρσενικά και θηλυκά και για την κάθε μεταχείριση. Όπως φαίνεται, την 20^η ημέρα ζούσε το 80% των αρσενικών και λιγότερο από το 50% των θηλυκών που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης 10%. Την 40^η ημέρα, ζούσε ποσοστό μικρότερο του 40% των αρσενικών και των θηλυκών. Και στα δύο φύλα ελάχιστα ήταν τα άτομα που επιβίωσαν πέραν των 70 ημερών. Το μακροβιότερο αρσενικό έζησε 106 και το μακροβιότερο θηλυκό 101 ημέρες. Επιπλέον όπως φαίνεται στο Διάγραμμα η επιβίωση (lx) των αρσενικών και των θηλυκών, που τρέφονταν σε υδατικό διάλυμα ζάχαρης (10%), ακολούθησαν απότομη πτωτική πορεία με αποτέλεσμα όλα τα ενήλικα να πεθάνουν έως την 25^η ημέρα. Τη 10^η ημέρα, ζούσε περίπου το 50% των αρσενικών και λιγότερο από 30% των θηλυκών. Το μακροβιότερο αρσενικό έζησε 23 ημέρες και μακροβιότερο θηλυκό 24 ημέρες.



Διάγραμμα 8. Καμπύλες επιβίωσης αρσενικών και θηλυκών που τρέφονταν είτε με υδατικό διάλυμα (A) πρωτεΐνης 10% είτε με υδατικό διάλυμα (B) ζάχαρης 10%.

Όπως προκύπτει από το Διάγραμμα 8 η τροφή είχε σημαντική επίδραση στην επιβίωση τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών. Συγκεκριμένα, τα έντομα που τρέφονταν με 10% υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης έζησαν σαφώς μεγαλύτερο διάστημα από τα έντομα που τρέφονταν με 10% υδατικό διάλυμα ζάχαρης. Επίσης, η πορεία της επιβίωσης των ενήλικων που τρέφονταν σε υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης ακολούθησαν διαφορετική πορεία σε σχέση με εκείνη των ατόμων που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης. Σε κάθε περίπτωση φαίνεται ότι και στις δύο μεταχειρίσεις το ποσοστό των αρσενικών που επιβίωναν σε κάθε διάστημα ηλικίας ήταν μεγαλύτερο από εκείνο των θηλυκών.

Ωοπαραγωγή

Στα θηλυκά, υπολογίστηκε η μέγιστη ωοπαραγωγή (gross fecundity), δηλαδή ο συνολικός αριθμός αυγών ανά θηλυκό που ζει ως τη θεωρητικά μέγιστη ημέρα της ζωής του πληθυσμού, καθώς και η μέση ωοπαραγωγή (net fecundity), δηλαδή ο μέσος αριθμός αυγών ανά θηλυκό στη διάρκεια της ζωής του. Επιπλέον, υπολογίστηκαν οι περίοδοι προωτοκίας, ωοτοκίας και η περίοδος μετά την ωοτοκία για κάθε μεταχείριση.

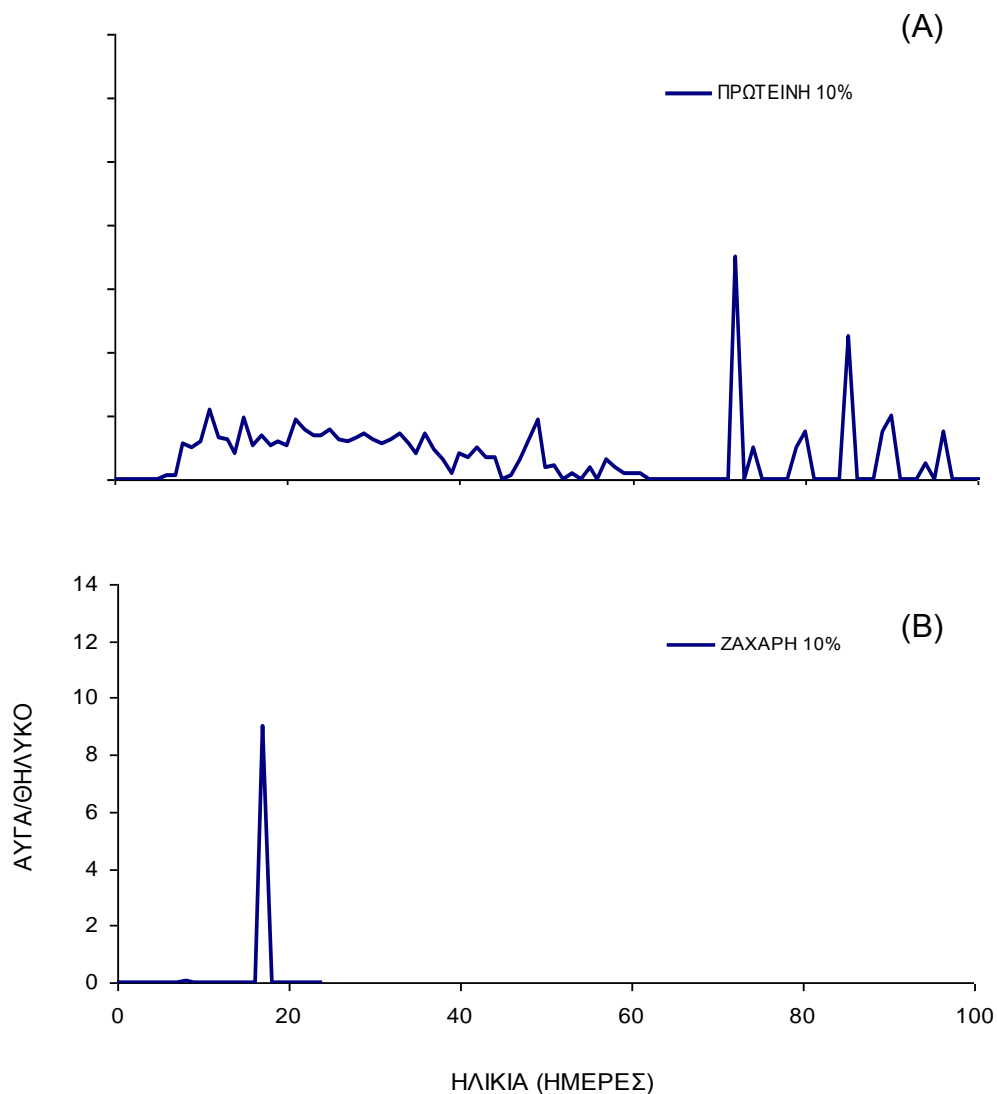
Οι περίοδοι αναπαραγωγής συγκριτικά για κάθε μεταχείριση σε σχέση με την ηλικία, δίνονται στον Πίνακα 12 που ακολουθεί. Η περίοδος ωοτοκίας των εντόμων που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης 10% ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από αυτή των εντόμων που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%. Επίσης, μεγάλη διαφορά σημειώθηκε στην μέγιστη ωοπαραγωγή, όπου στα έντομα που καταλάωναν πρωτεΐνη έχει τιμή 71 ενώ στα έντομα που τρέφονταν με ζάχαρη 9,1. Ειδικότερα, η επίδραση της τροφής στην ωοπαραγωγή ήταν σημαντική (Mann Whitney: $U=629,000$, $P<0,001$), ενώ η επίδραση της τροφής στη περίοδο προωτοκίας ($\chi^2=0,313$, $df=1$, $P=0,576$, long rank test) όπως και στη περίοδο μετά την ωοτοκία ($\chi^2=0,120$, $df=1$, $P=0,729$, long rank test) δεν ήταν σημαντική. Αντιθέτως, η περίοδος ωοτοκίας των θηλυκών που τρέφονταν με πρωτεΐνη 10% ήταν μακρύτερη από εκείνη των θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη 10% ($\chi^2=4,313$, $df=1$, $P=0,038$, long rank test).

Πίνακας 12. Παράμετροι της αναπαραγωγής των θηλυκών της ραγολέτιδας της κερασιάς που τρέφονταν είτε σε υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης (10%) είτε σε υδατικό διάλυμα ζάχαρης (10%). Τα θηλυκά ωτοκούσαν σε κοίλα κέρια ημισφαίρια.

Μεταχείριση	Περίοδος ωτοκίας (ημέρες ± SE)			Ωοπαραγωγή (αυγά/θηλυκό)	
	Πρωτοκία	Ωοτοκία	Μετα ωτοκία	Μέση ωοπαραγωγή (average)	Μέγιστη ωοπαραγωγή (gross fecundity)
Πρωτεΐνη 10%	10,3 ± 0,7α (n=31)	21,0 ± 4,2α (n=31)	4,1 ± 1,2α (n=31)	20,8 ± 5,0α (n=31)	71
Ζάχαρη 10%	12,5 ± 4,5α (n=1)	1,0 ± 0,0β (n=1)	3,0 ± 3,0α (n=1)	0,15 ± 0,1β (n=1)	9,1

*Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά (P=0.05, log rank test για τις περιόδους και U test για την μέση ωοπαραγωγή).

Στο Διάγραμμα 9, δίνονται οι καμπύλες ωοπαραγωγής σε σχέση με την ηλικία για την κάθε μεταχείριση ξεχωριστά. Όσον αφορά τα θηλυκά που τρέφονταν με πρωτεΐνη 10%, φαίνεται πως η έναρξη της ωοτοκίας σημειώθηκε την 6^η ημέρα. Η ωοτοκία ήταν σχετικά σταθερή έως την 50^η ημέρα. Ο μέσος όρος ωοπαραγωγής κυμάνθηκε περί των 2 αυγών/θηλυκό/ημέρα. Μετά την 50^η ημέρα παρατηρείται μείωση της ωοπαραγωγής και πέραν της 70^{ης} ημέρας ο αριθμός των θηλυκών που ωτόκησαν είναι ελάχιστος. Ακόμη παρατηρούμε πως ελάχιστα θηλυκά, που είχαν τοποθετηθεί στη μεταχείριση με το υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10%, ωτόκησαν. Συνεπώς, και από το Διάγραμμα 9 προκύπτει ότι η τροφή επηρέασε σημαντικά την ωοπαραγωγή των θηλυκών.

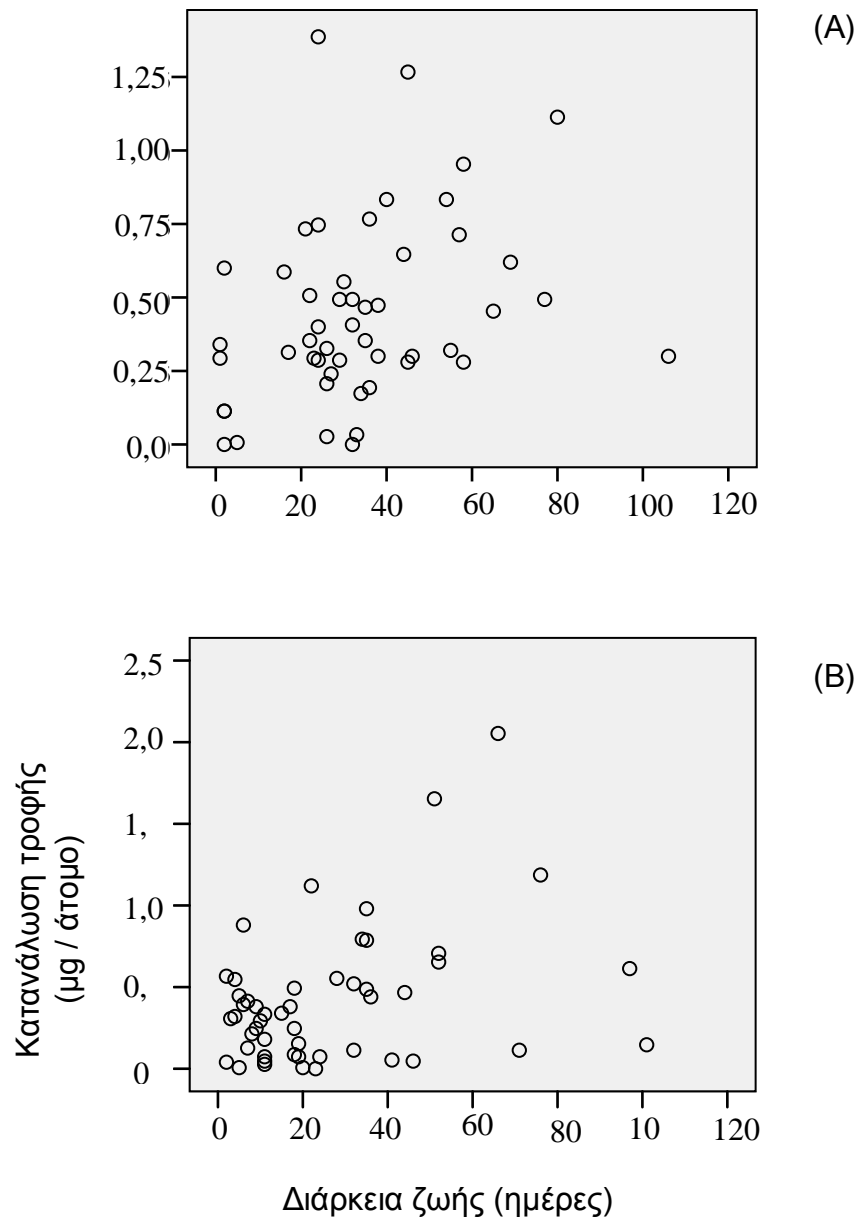


Διάγραμμα 9. Καμπύλες ωοπαραγωγής θηλυκών, από την περιοχή Αγίας Λάρισας που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα (A) πρωτεΐνης 10% και (B) ζάχαρης 10%.

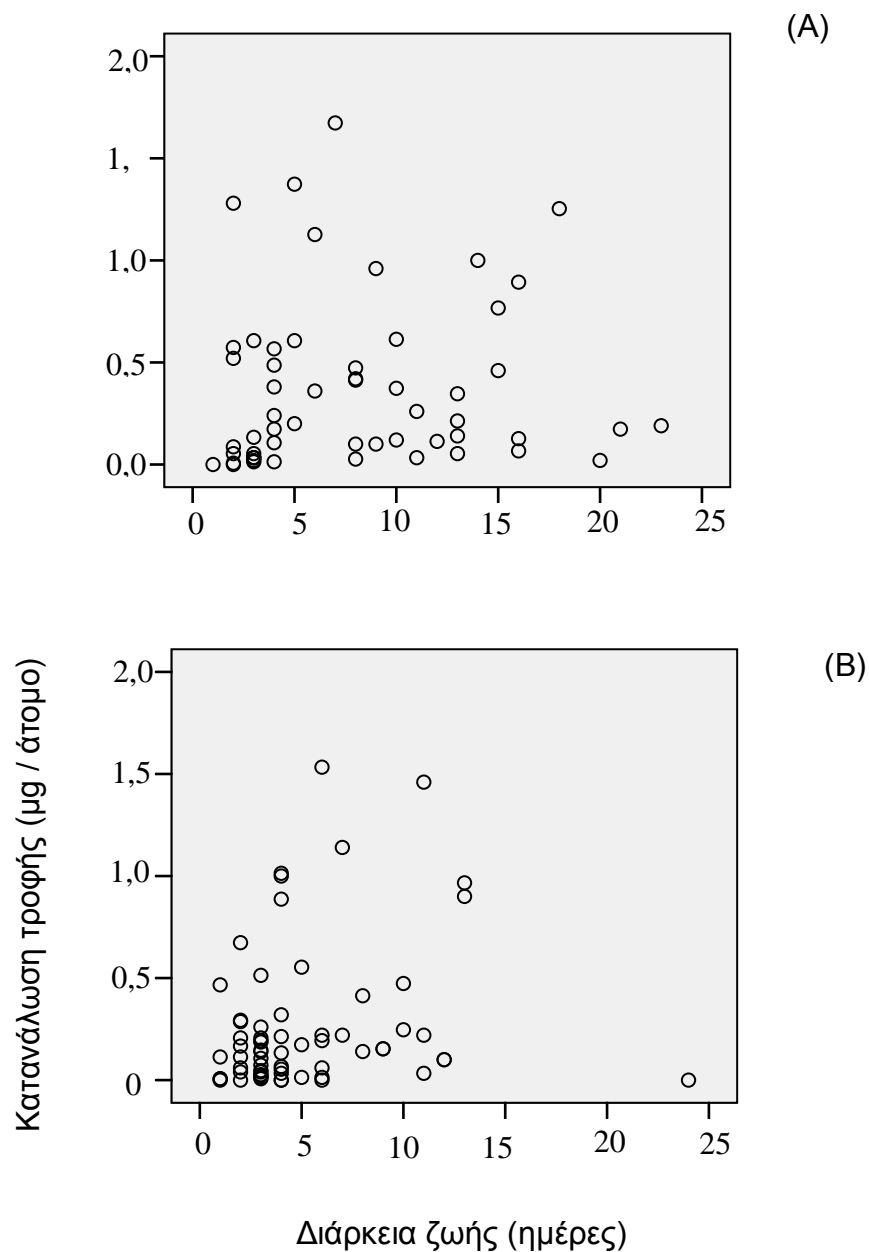
Κατανάλωσης τροφής και διάρκεια ζωής

Στα Διαγράμματα 10 A και 10 B δίνεται η συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης πρωτεΐνης και διάρκειας ζωής για τα αρσενικά και θηλυκά ενήλικα. Η σχέση μεταξύ της κατανάλωσης πρωτεΐνης με τη διάρκεια ζωής των αρσενικών ήταν

σημαντική ($r = 0.309$, $P < 0.05$) ενώ η αντίστοιχη συσχέτιση με την διάρκεια ζωής των θηλυκών δεν ήταν σημαντική ($r = 0.264$, $P > 0.05$). Αντίθετα, η συσχέτιση της κατανάλωσης ζάχαρης με την διάρκεια ζωής των αρσενικών δεν ήταν σημαντική ($r = 0.264$, $P > 0.05$), ενώ η αντίστοιχη των θηλυκών ήταν οριακά σημαντική ($r = 0.242$, $P = 0.05$). Σε όλες τις περιπτώσεις ο συντελεστής συσχέτισης ήταν χαμηλός (Διάγραμμα 10).



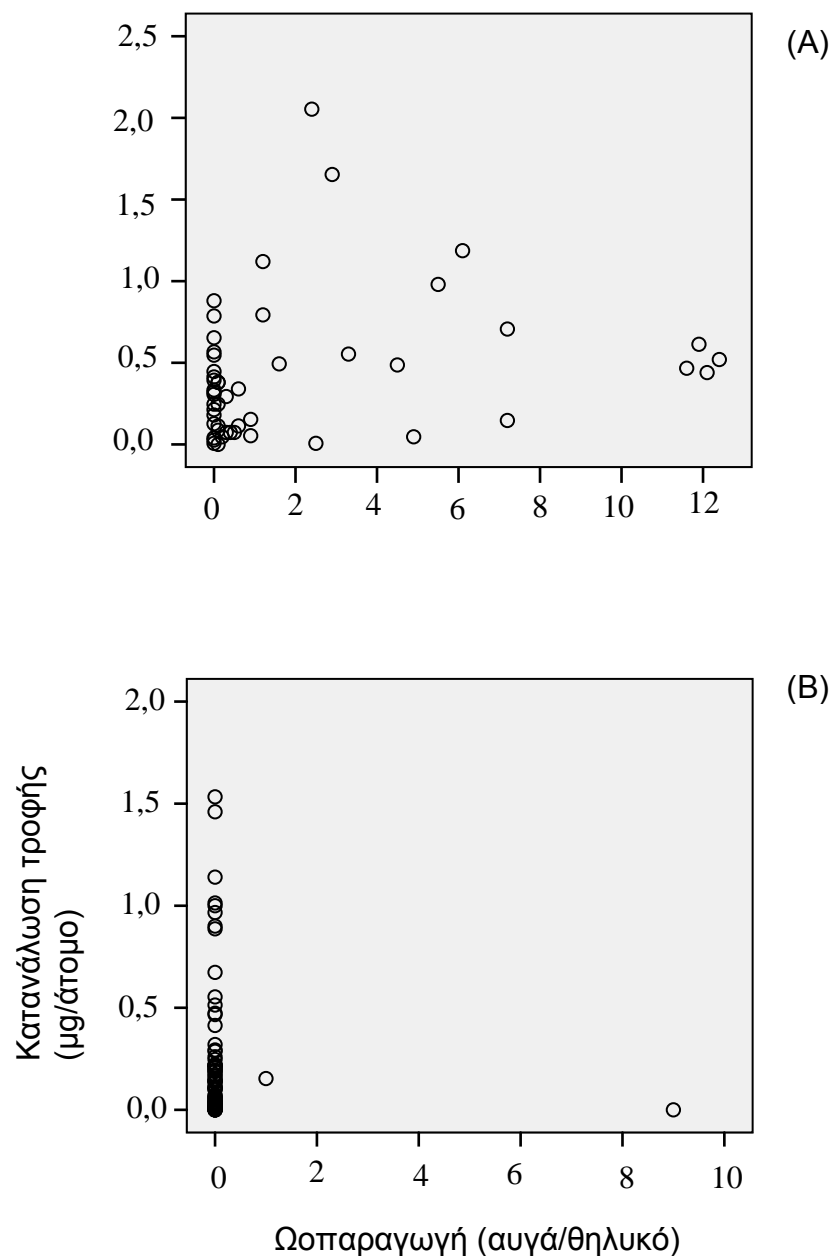
Διάγραμμα 10. Συσχέτιση της κατανάλωσης πρωτεΐνης 10% με τη διάρκεια ζωής των ενηλίκων (A) αρσενικών και (B) θηλυκών τα οποία προέρχονται από την περιοχή της Αγίας Λάρισας.



Διάγραμμα 11. Συσχέτιση της κατανάλωσης ζάχαρης 10% με τη διάρκεια ζωής των ενθλίκων (Α) αρσενικών και (Β) θηλυκών από την περιοχή Αγιά Λάρισας.

Κατανάλωσης τροφής και αναπαραγωγή

Στα Διαγράμματα 12Α και 12Β δίνεται η συσχέτιση κατανάλωσης πρωτεΐνης και ζάχαρης 10% με την αναπαραγωγή. Και στις δύο περιπτώσεις η συσχέτιση δεν ήταν σημαντική ($r = 0.250$, $P > 0.05$) και ($r = -0.132$, $P > 0.05$) αντίστοιχα.



Διάγραμμα 12. Συσχέτιση κατανάλωσης υδατικού διαλύματος (Α) πρωτεΐνης 10% και (Β) ζάχαρης 10% με την αναπαραγωγή των ενηλίκων θηλυκών από την περιοχή Αγιά Λάρισας.

3.2 Δημογραφία και κατανάλωση τροφής ενηλίκων που προέρχονταν από το Dossenheim της Γερμανίας

Ημερήσια κατανάλωση τροφής

Στον Πίνακα 13 που ακολουθεί δίνεται η μέση συνολική κατανάλωση τροφής των αρσενικών και των θηλυκών ενηλίκων που προήλθαν από το Dossenheim

της Γερμανίας. Τα θηλυκά φαίνεται ότι κατανάλωσαν μεγαλύτερη ποσότητα ζάχαρης από ότι τα αρσενικά ενώ η μέση ποσότητα πρωτεΐνης που καταναλώθηκε από τα αρσενικά και τα θηλυκά ήταν παρόμοια. Πιο αναλυτικά, η ανάλυση των αποτελεσμάτων έδειξε ότι το φύλο έχει σημαντική επίδραση στην μέση συνολική κατανάλωση ζάχαρης ($U = 193,50$, $P < 0,001$) ενώ αντίθετα δεν έχει σημαντική επίδραση και στην κατανάλωση πρωτεΐνης ($U = 375,00$, $P = 0,194$). Στα θηλυκά έντομα, η επίδραση της τροφής ήταν σημαντική ($U = 160,50$, $P < 0,001$) ενώ στα αρσενικά η επίδραση δεν ήταν σημαντική ($U = 339,00$, $P = 0,101$).

Πίνακας 13. Συνολική κατανάλωση ζάχαρης και πρωτεΐνης των ενήλικων από το Dossenheim της Γερμανίας. Τα ενήλικα τρέφονταν είτε με υδατικό διάλυμα 20% ζάχαρης είτε με υδατικό διάλυμα 10% πρωτεΐνης.

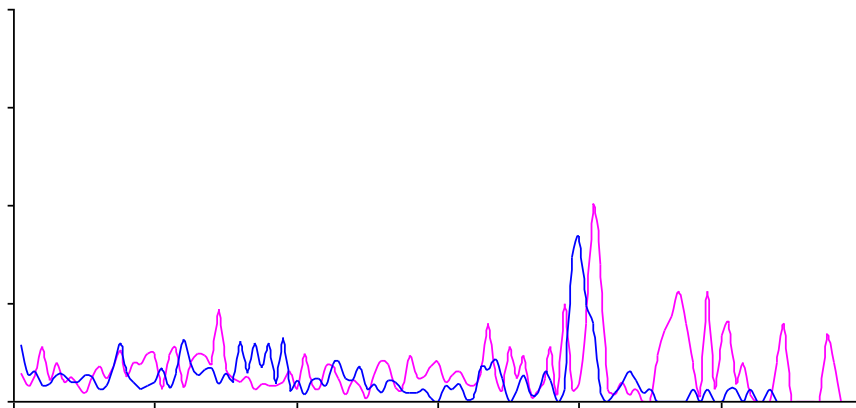
Φύλο	Μέση κατανάλωση τροφής ($\mu\text{g} \pm \text{SE}$)	
	Ζάχαρη 20%	Πρωτεΐνη 10%
Αρσενικά	$0,915 \pm 0,14\alpha\text{A}^*$ (n=30)	$0,547 \pm 0,04\alpha\text{A}$ (n=30)
Θηλυκά	$2,501 \pm 0,31\beta\text{A}$ (n=30)	$0,732 \pm 0,09\alpha\text{B}$ (n=31)

*Τιμές που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα εντός στήλης (μικρά γράμματα) και γραμμής (μεγάλα γράμματα) δεν διαφέρουν σημαντικά σε επίπεδο σημαντικότητας $P=0.05$ (Mann-Whitney test).

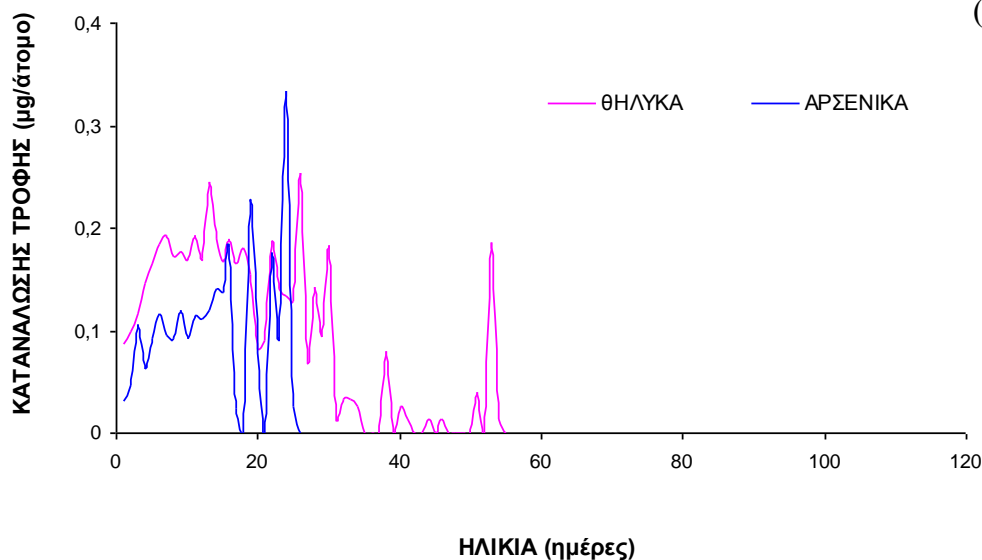
Τα θηλυκά έντομα από την περιοχή Dossenheim της Γερμανίας κατανάλωναν μεγαλύτερες ποσότητες πρωτεΐνης σε σχέση με τα αρσενικά (Πίνακας 13). Μέχρι την 70^η ημέρα παρατηρούμε πως και στα δύο φύλα η κατανάλωση είναι σχεδόν σταθερή. Μετά την 80^η ημέρα τα θηλυκά παρουσιάζουν υψηλή διακύμανση στη κατανάλωσή τροφής, γεγονός που ίσως οφείλεται στο ότι είχαν επιβιώσει ελάχιστα θηλυκά έντομα μετά την 80^η ημέρα (Διάγραμμα 13A). Στο Διάγραμμα 13B παρατηρούμε ότι τις πρώτες περίπου 20 ημέρες τα θηλυκά κατανάλωσαν μεγαλύτερες ποσότητες υδατικού διαλύματος ζάχαρης 20% σε σχέση με τα αρσενικά. Επίσης, τις πρώτες 20 ημέρες η κατανάλωση στα θηλυκά έντομα παρουσίασε αυξητική πορεία, ενώ μετά την 20^η ημέρα ο μέσος όρος της ημερήσιας κατανάλωσης ακολούθησε πτωτική πορεία.

Στα Διαγράμματα 14A και 14B που ακολουθούν δίνεται η αθροιστική κατανάλωση τροφής για τα αρσενικά και θηλυκά σε σχέση με την ηλικία. Στο Διάγραμμα 14A φαίνεται ότι και τα δύο φύλα τις πρώτες 60 ημέρες κατανάλωναν παρόμοιες ποσότητες τροφής και ο ρυθμός κατανάλωσης ήταν σταθερός. Στο διάγραμμα 14B φαίνεται ότι η πορεία κατανάλωσης ζάχαρης 20% αυξάνεται έως την 20^η ημέρα, όμως η αύξηση ήταν μεγαλύτερη στα θηλυκά σε σχέση με τα αρσενικά.

(A)

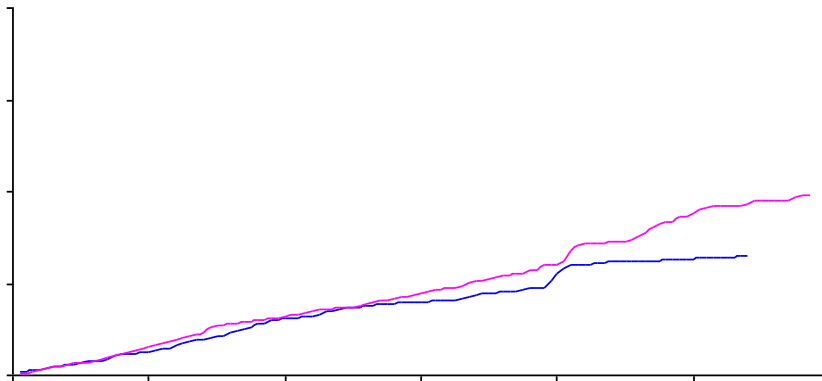


(B)

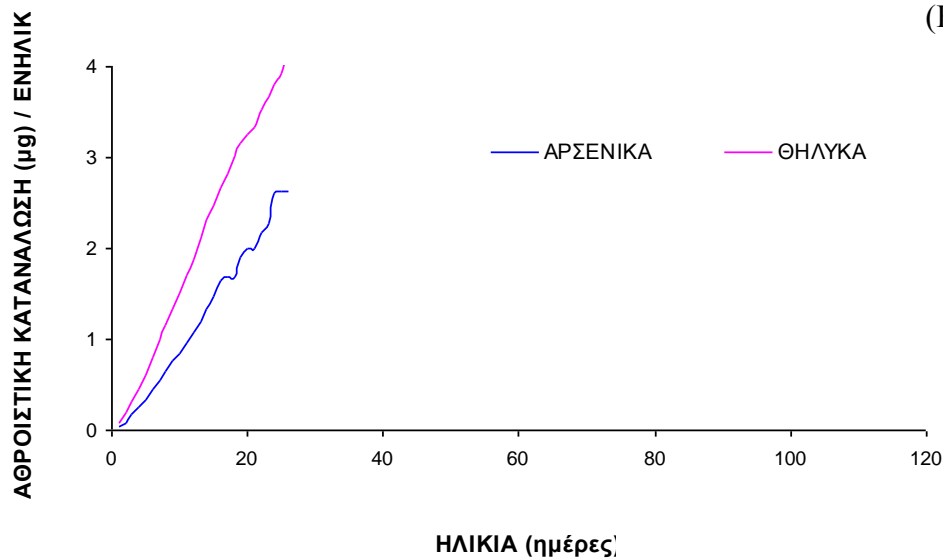


Διάγραμμα 13. Ημερήσια κατανάλωση υδατικού διαλύματος (A) πρωτεΐνης 10% και (B) ζάχαρης 20% σε σχέση με την ηλικία για αρσενικά και θηλυκά ενήλικα που προέρχονται από το Dossenheim Γερμανίας.

(A)



(B)



Διάγραμμα 14. Αθροιστική κατανάλωση υδατικού διαλύματος ζάχαρης 20% σε σχέση με την ηλικία για αρσενικά και θηλυκά ενήλικα που προέρχονται από το Dossenheim Γερμανίας.

Επιβίωση ενηλίκων

Οι διαφορές μεταξύ των μεταχειρίσεων στη μέση διάρκεια ζωής, τόσο μεταξύ των θηλυκών, όσο και των αρσενικών ατόμων ήταν σημαντικές όπως φαίνεται στον Πίνακα 14. Η μακροβιότητα των αρσενικών και θηλυκών ενηλίκων,

που τρέφονταν με πρωτεΐνη ήταν μακρύτερη από εκείνη των ατόμων (αρσενικών και θηλυκών) που τρέφονταν με ζάχαρη, τόσο ως προς τη μέση όσο και τη μέγιστη διάρκεια ζωής. Πιο αναλυτικά, τα αρσενικά που τρέφονταν με 10% υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης έζησαν κατά μέσο όρο 37,67 ημέρες, ενώ εκείνα που τρέφονταν με 20% υδατικό διάλυμα ζάχαρης 10,93 ημέρες. Αντίστοιχα τα θηλυκά που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης 10% και ζάχαρης 20% έζησαν 47,32 και 17,0 ημέρες αντίστοιχα. Η μέγιστη διάρκεια ζωής, τόσο στα αρσενικά όσο και στα θηλυκά που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης 10% ήταν μεγαλύτερη από εκείνη των ενηλίκων που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 20%. Και στα δύο φύλα, που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης, η μέγιστη διάρκεια ζωής ήταν διπλάσια έως και τετραπλάσια εκείνης των ενηλίκων που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης.

Η επίδραση της τροφής και του φύλου στην επιβίωση μελετήθηκε με το μοντέλο ανάλογων κινδύνων του Cox (Cox proportional hazards model). Όπως φαίνεται στο Πίνακα 15, το είδος της τροφής είχε σημαντική επίδραση στην επιβίωση ενώ η επίδραση του φύλου δεν ήταν σημαντική.

Πίνακας 14. Μακροβιότητα αρσενικών και θηλυκών ενηλίκων που προέρχονται από το Dossenheim της Γερμανίας.

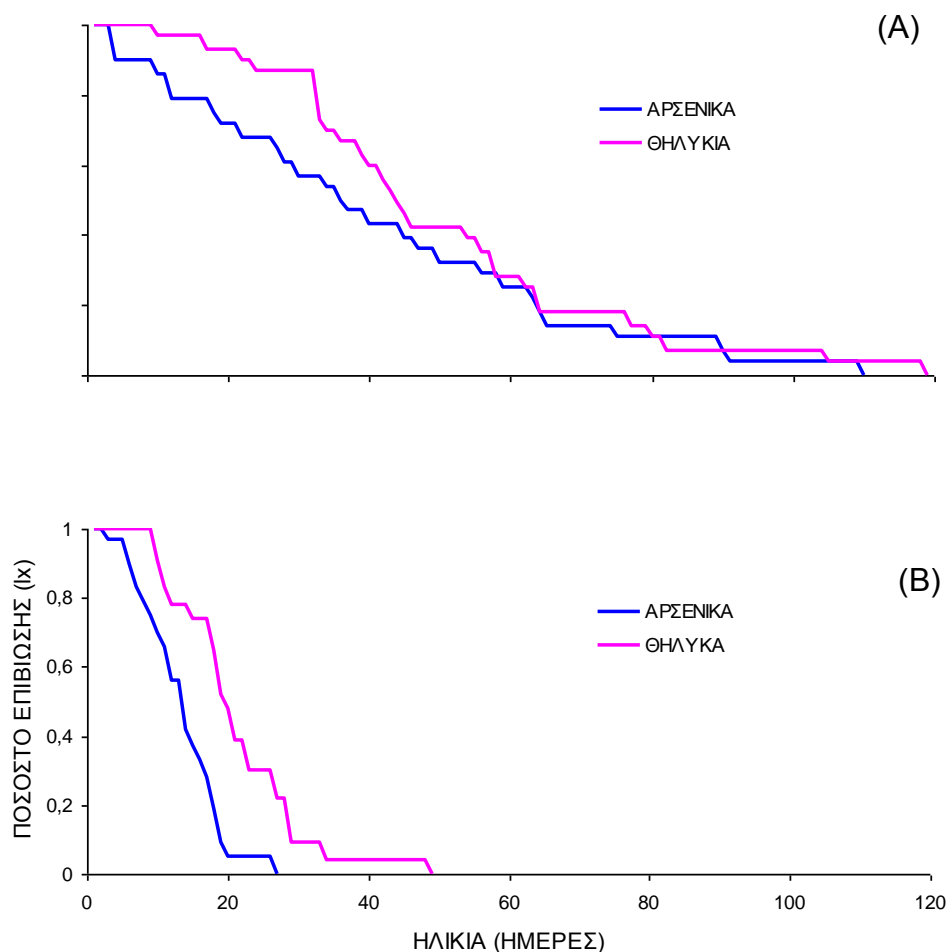
Μεταχείριση	Μέση διάρκεια ζωής (ημέρες ± SE)		Μέγιστη διάρκεια ζωής (ημέρες)	
	Αρσενικά	Θηλυκά	Αρσενικά	Θηλυκά
Πρωτεΐνη 10%	37,67 ± 5,3αΑ (n=30)	47,32 ± 4,5αΑ (n=31)	109	118
Ζάχαρη 20%	10,93 ± 1,0βΑ (n=30)	17,00 ± 1,8βΑ (n=30)	26	56

*Μέσοι όροι που ακολουθούνται από το ίδιο κεφαλαίο γράμμα εντός της γραμμής και το ίδιο μικρό γράμμα εντός της στήλης δεν διαφέρουν σημαντικά (P<0.05).

Πίνακας 15. Μεταβλητές του μοντέλου ανάλογων κινδύνων του Cox (Cox proportional hazard model), για την επίδραση της τροφής και του φύλου στη διάρκεια ζωής των ενήλικων.

Πηγή παραλλακτικότητας	B	Τυπικό σφάλμα (SE)	Exp(B)	P
Τροφή	-1,788	0,261	0,167	0,000
Φύλο	-0,335	0,199	0,715	0,092

Στο Διάγραμμα 15, δίνεται η πορεία της επιβίωση των αρσενικών και θηλυκών. Όπως φαίνεται η επιβίωση των αρσενικών και θηλυκών που τρεφόταν με πρωτεΐνη, μειώνονταν με σταθερό ρυθμό σε σχέση με την ηλικία. Την 20^η ημέρα, ζούσε σχεδόν το 80% των αρσενικών και σχεδόν το 100% των θηλυκών. Την 40^η ημέρα, το ποσοστό επιβίωσης των αρσενικών ήταν μικρότερο του 40% ενώ εκείνο των θηλυκών ήταν περίπου στο 60%. Ελάχιστα ήταν τα ενήλικα και των δύο φύλων που έζησαν περισσότερο από 80 ημέρες. Το μακροβιότερο αρσενικό έζησε 109 ημέρες και το μακροβιότερο θηλυκό 118 ημέρες. Επίσης, όσον αφορά τα έντομα που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα ζάχαρης 20% (Διάγραμμα 15B), το ποσοστό των θηλυκών που ζούσε την 10^η ημέρα ήταν 100% ενώ των αρσενικών 80%. Την 20^η ημέρα, το ποσοστό των αρσενικών που ζούσαν ήταν <5% ενώ το ποσοστό των θηλυκών ήταν 40%. Ελάχιστα θηλυκά επιβίωσαν περισσότερες από 30 ημέρες. Το μακροβιότερο αρσενικό έζησε 26 ημέρες και το μακροβιότερο θηλυκό 56 ημέρες.



Διάγραμμα 15. Καμπύλη επιβίωσης αρσενικών και θηλυκών ενηλίκων που τρέφονταν είτε σε υδατικό διάλυμα (Α) πρωτεΐνης 10% είτε (Β) ζάχαρης 20%.

Ωοπαραγωγή

Στον Πίνακα 16, δίνονται οι παράμετροι ωοπαραγωγής των θηλυκών από την περιοχή Dossenheim της Γερμανίας. Διαφορές μεταξύ των δύο μεταχειρίσεων σημειώθηκαν στην περίοδο της προωτοκίας και στην περίοδο ωοτοκίας. Η επίδραση της τροφής στη περίοδο προωτοκίας ήταν σημαντική (long rank test, $P=0,025$) όπως και στη περίοδο ωοτοκίας (long rank test, $P<0,001$), ενώ στην περίοδο μετά την ωοτοκία δεν ήταν σημαντική (long rank test, $P=0,419$).

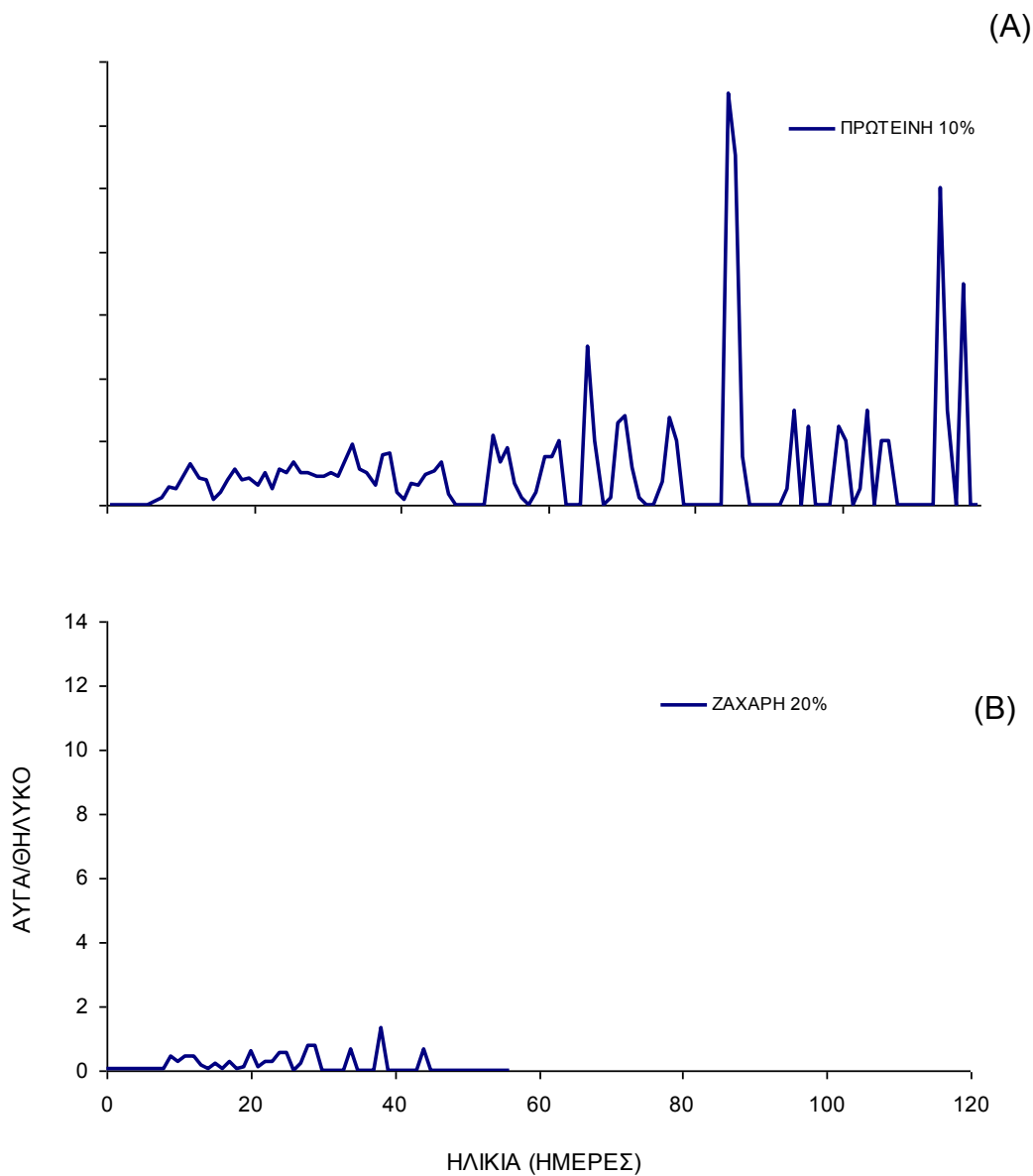
Η μέση ωοπαραγωγή των θηλυκών ήταν 38,78 και 3,00 αυγά/θηλυκό για τα άτομα που τρέφονταν με πρωτεΐνη 10% και ζάχαρη 20% αντίστοιχα. Επίσης, μεγάλες διαφορές σημειώθηκαν και στην μέγιστη ωοπαραγωγή, με τιμές 130,02 και 10,96. Η επίδραση της τροφής στην μέση ωοπαραγωγή ήταν σημαντική (Mann Whitney: $U=990,000$, $P<0,001$).

Πίνακας 16. Παράμετροι της αναπαραγωγής των θηλυκών της ραγολέτιδας της κερασιάς που τρέφονταν είτε σε υδατικό διάλυμα πρωτεΐνης 10% είτε σε υδατικό διάλυμα ζάχαρης 20%. Τα θηλυκά ωοτοκούσαν σε κοίλα κέρια ημισφαίρια.

Μεταχείριση	Περίοδος ωοτοκίας (ημέρες) \pm SE			Ωοπαραγωγή (αυγά/θηλυκό)	
	Πρωτοτοκία	Ωοτοκία	Μετα ωοτοκία	Μέση ωοπαραγωγή (average)	Μέγιστη ωοπαραγωγή (gross fecundity)
Πρωτεΐνη10%	3,98 \pm 0,1α (n=27)	33,04 \pm 1,8α (n=27)	2,62 \pm 0,6α (n=27)	35,5 \pm 8,806α	130,02
Ζάχαρη20%	2,37 \pm 0,3β (n=11)	23,57 \pm 2,4β (n=11)	2,89 \pm 0,9α (n=11)	2,3 \pm 0,860β	10,96

*Μέσοι όροι εντός της ίδιας στήλης που ακολουθούνται από το ίδιο γράμμα δεν διαφέρουν σημαντικά ($P=0.05$, log rank test για τις περιόδους και U test για την μέση ωοπαραγωγή).

Όπως φαίνεται στο Διάγραμμα 16Α, για τα θηλυκά που τρέφονταν με πρωτεΐνη, η έναρξη της ωοτοκίας σημειώθηκε την 6^η ημέρα. Η ωοτοκία διήρκεσε σχεδόν 40 ημέρες (από τη 10^η έως την 50^η ημέρα περίπου). Ο μέσος όρος ωοπαραγωγής κυμάνθηκε περί των 2 αυγών/θηλυκό. Πέραν της 70^{ης} ημέρας ο αριθμός των θηλυκών που ωοτόκησαν ήταν ελάχιστος. Όσον αφορά τα θηλυκά από τη Γερμανία που τρέφονταν με ζάχαρη 20% (Διάγραμμα 16Β), η έναρξη της ωοτοκίας σημειώθηκε την 7^η ημέρα και η ωοτοκία διήρκεσε περίπου 30 ημέρες. Πέρα των 30 ημερών ελάχιστα ήταν τα θηλυκά που ωοτόκησαν.

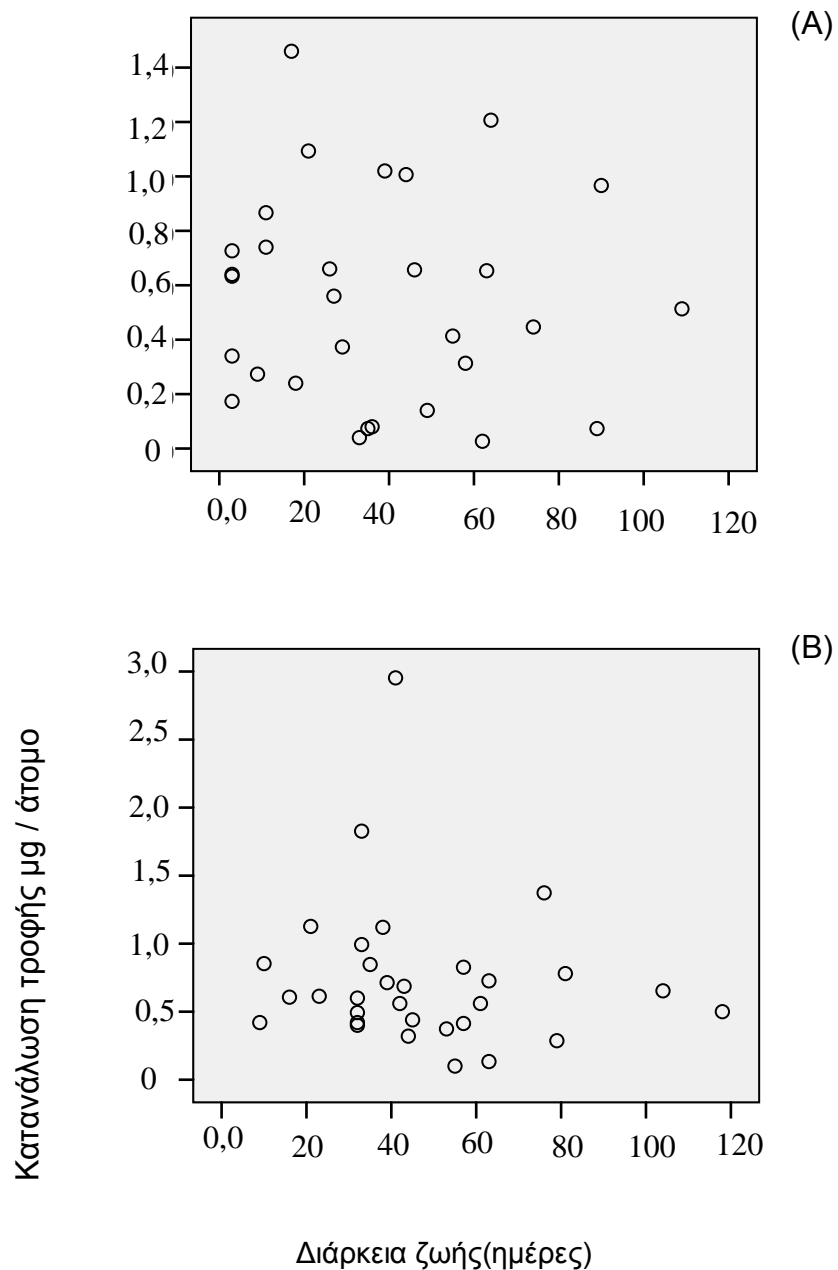


Διάγραμμα 16. Καμπύλες ωοπαραγωγής θηλυκών, από την περιοχή Dossenheim Γερμανίας που τρέφονταν με υδατικό διάλυμα (A) πρωτεΐνης 10% και (B) ζάχαρης 20%.

Κατανάλωσης τροφής και διάρκεια ζωής

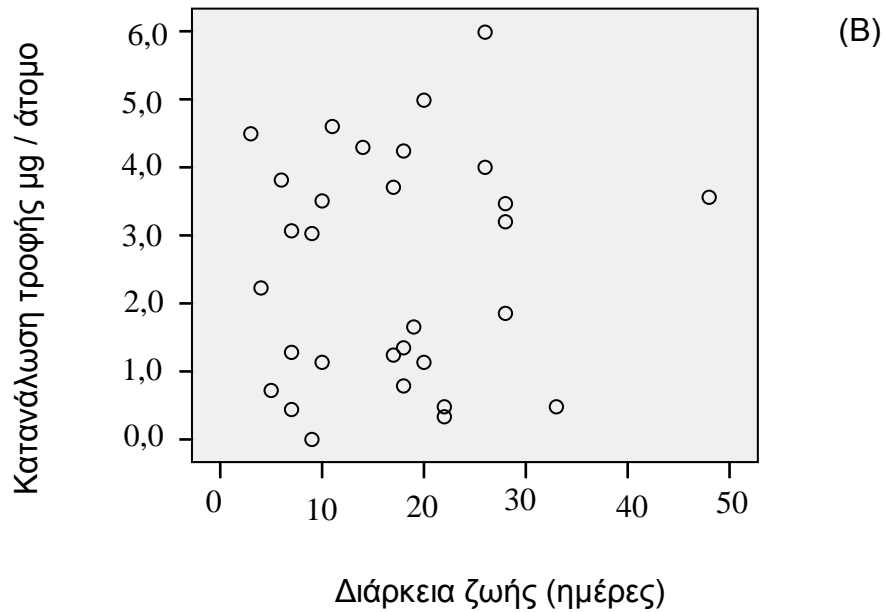
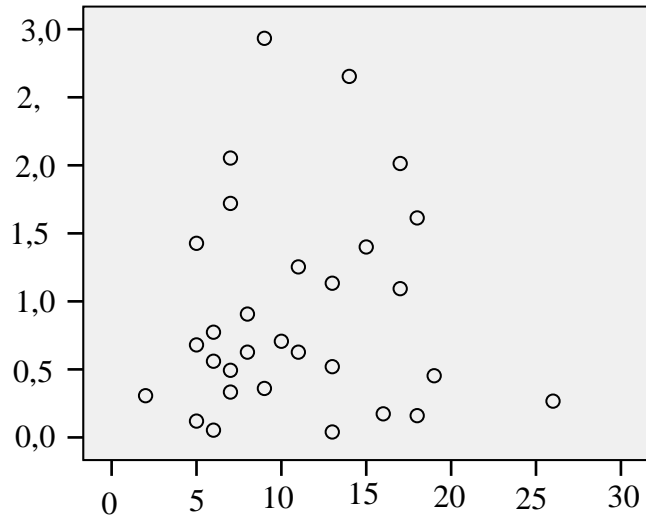
Στα Διαγράμματα 17A και 17B φαίνεται η συσχέτιση μεταξύ της κατανάλωσης πρωτεΐνης και της διάρκειας ζωής για τα αρσενικά και τα θηλυκά ενήλικα αντίστοιχα. Η συσχέτιση της κατανάλωσης πρωτεΐνης με τη διάρκεια ζωής τόσο

των αρσενικών όσο και των θηλυκών δεν ήταν σημαντική ($P>0.05$). Επίσης, η κατανάλωση ζάχαρης με τη διάρκεια ζωής τόσο των αρσενικών όσο και των θηλυκών δεν συσχετίζονται ($P>0.05$) (Διάγραμμα 18).



Διάγραμμα 17. Συσχέτιση της κατανάλωσης πρωτεΐνης 10% με τη διάρκεια ζωής των ενθλίκων (A) αρσενικών και (B) θηλυκών τα οποία προέρχονται από την περιοχή Dossenheim της Γερμανίας.

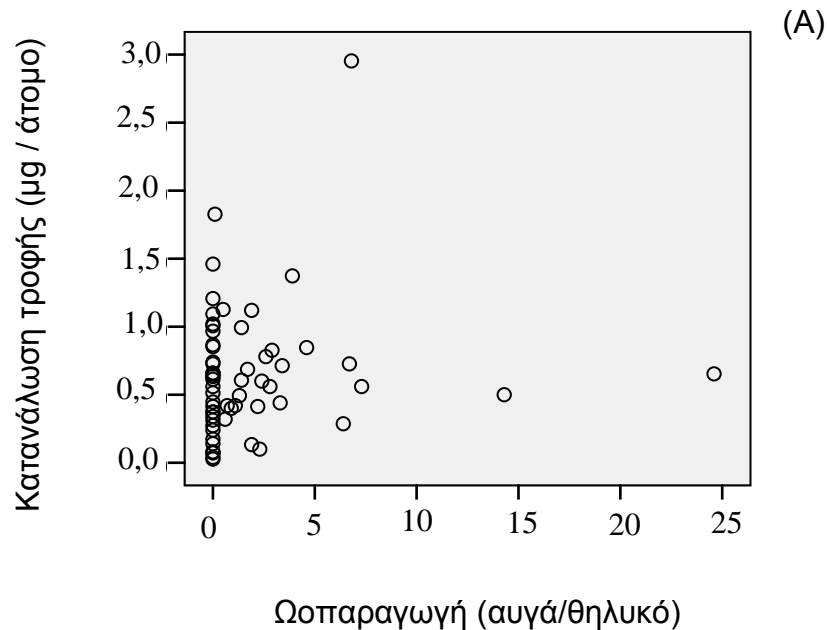
(A)

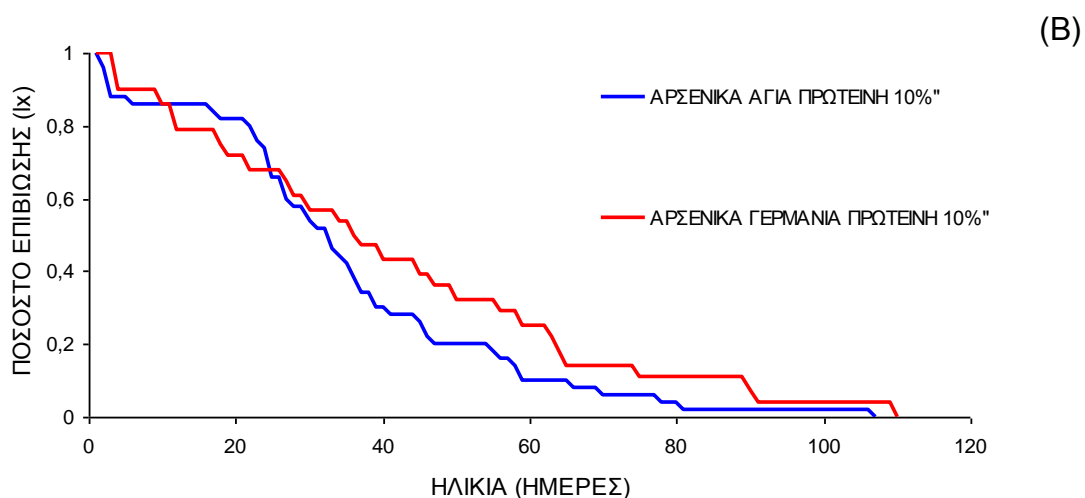
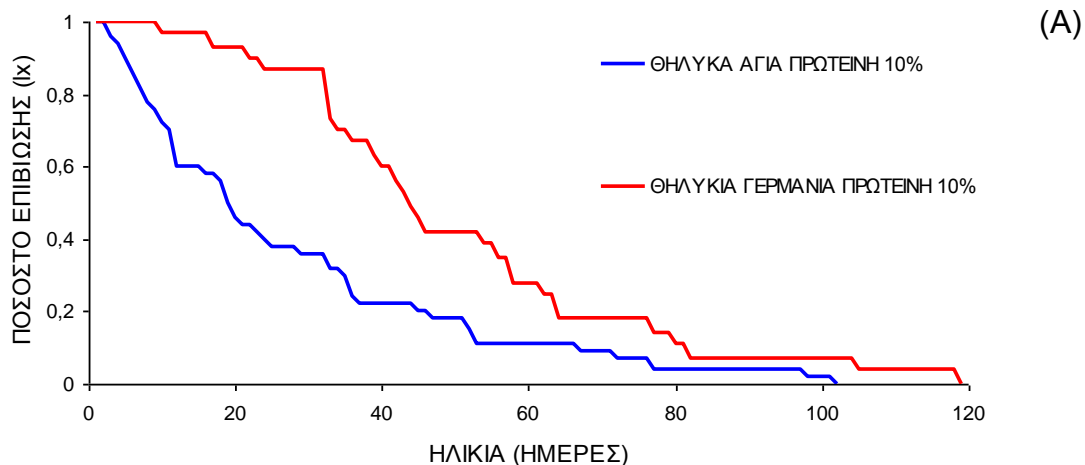


Διάγραμμα 18. Συσχέτιση της κατανάλωσης ζάχαρης 20% με τη διάρκεια ζωής των ενθλίκων (A) αρσενικών και (B) θηλυκών τα οποία προέρχονται από την περιοχή Dossenheim της Γερμανίας.

Κατανάλωσης τροφής και αναπαραγωγή

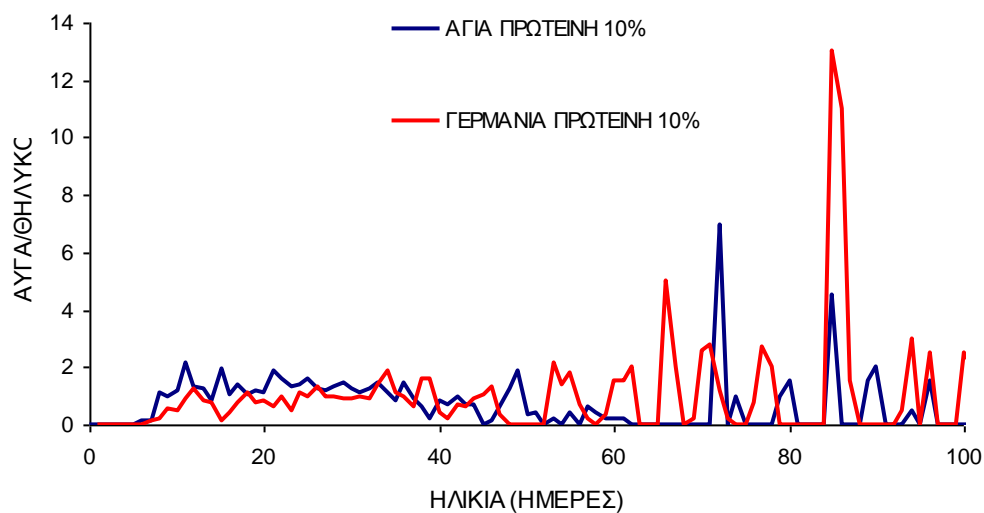
Στο Διάγραμμα 19 δίνεται η συσχέτιση κατανάλωσης πρωτεΐνης 10% με την αναπαραγωγή η οποία δεν ήταν σημαντική ($P > 0.05$, $r = 0.170$, 2-tailed). Στη μεταχείριση με τη ζάχαρη 20% δεν υπήρχε ωοπαραγωγή οπότε δεν υφίσταται συσχέτιση.





Διάγραμμα 20. Συγκριτικές καμπύλες επιβίωσης (A) των θηλυκών και (B) των αρσενικών της ραγολέτιδας του κερασιού. Οι καμπύλες μπλε χρώματος υποδηλώνουν τις μεταχειρίσεις του πρώτου πειράματος ενώ οι καμπύλες κόκκινου χρώματος τις μεταχειρίσεις του δεύτερου πειράματος. (Τα στοιχεία προέρχονται από τα Διαγράμματα 8A και 15A).

Στο Διάγραμμα 21, δίνονται οι καμπύλες ωοπαραγωγής των θηλυκών εντόμων και από τα δύο πειράματα. Φαίνεται ότι τις πρώτες 40 ημέρες δεν σημειώθηκαν διαφορές μεταξύ των δύο πληθυσμών, μετά τις 40 ημέρες τα έντομα από την περιοχή του Dossenheim της Γερμανίας σημείωσαν μεγαλύτερη ωοπαραγωγή.



Διάγραμμα 21. Συγκριτικές καμπύλες ωοπαραγωγής των θηλυκών της ραγολέτιδας του κερασιού. Οι καμπύλες χρώματος μπλε αφορούν τα έντομα του πρώτου πειράματος, ενώ οι καμπύλες χρώματος κόκκινου αφορούν τα έντομα του δεύτερου πειράματος. Τα στοιχεία προέρχονται από τα Διαγράμματα 9Α και 16Α).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

4.1 Συζήτηση - Συμπεράσματα

Όπως προκύπτει από τα αποτελέσματα της παρούσας διατριβής:

1. η μεθοδολογία που αναπτύξαμε με ορισμένες διορθώσεις μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την καταγραφή της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής σε ενήλικα της οικογένειας Terphritidae όπως η μύγα της κερασιάς αλλά και άλλων δίπτερων,
2. η επιβίωση των ενηλίκων της ραγολέτιδας αυξάνεται καθώς η διαθεσιμότητα της ζάχαρης αυξάνει,
3. τροφή πλούσια σε πρωτεΐνη είναι απαραίτητη για την ωτοκία των θηλυκών,
4. οι απαιτήσεις των δύο φύλων σε θρεπτικά στοιχεία είναι διαφορετικές και
5. τα ενήλικα της Αγιάς διαφέρουν με εκείνα του Dossenheim της Γερμανίας σε σημαντικές δημογραφικές παραμέτρους όταν και τα δύο τρέφονται με το ίδιο είδος τροφής.

Συγκεκριμένα, η μεθοδολογία για την εκτίμηση της ημερήσιας κατανάλωσης τροφής στην μύγα της κερασιάς μας επιτρέπει συνεχή μέτρηση, αφού ο μηνίσκος της τροφής είναι καθαρά ορατός. Ακόμη, επειδή οι σωληνίσκοι αφαιρούνται με ευκολία, οποιαδήποτε στιγμή και χωρίς να ενοχλούνται τα έντομα, μας δίνουν τη δυνατότητα να ελέγχουμε την κατανάλωση σε μεγάλο εύρος χρονικών διαστημάτων (από ώρες μέχρι ημέρες). Επίσης, στην μεθοδολογία αυτή δεν είναι αναγκαία η χρήση δεικτών τροφής, όπως μη απορροφούμενες χρωστικές.

Αναλυτικότερα, τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η επιβίωση επηρεάζεται σημαντικά από το είδος της τροφής αφού η μέση και η μέγιστη διάρκεια ζωής των θηλυκών και των αρσενικών που τρέφονταν με πρωτεΐνη ήταν μεγαλύτερη από εκείνη των εντόμων που τρέφονταν με ζάχαρη. Πρέπει να σημειωθεί ότι στα ενήλικα που τρέφονταν με πρωτεΐνη, στα ατομικά τους κλουβιά ήταν διαθέσιμη ζάχαρη ενώ στα ενήλικα που τρέφονταν με ζάχαρη, στα ατομικά κλουβιά τους ήταν διαθέσιμη πρωτεΐνη. Σύμφωνα με τα αποτελέσματά μας αλλά και με άλλες έρευνες (Zur *et al.*, 2009) φαίνεται ότι η πρωτεΐνη, υδρολυμένη μαγιά (εξαιρετικά υγροσκοπική), η οποία ήταν διαθέσιμη στα ατομικά κλουβιά από την αρχή των

πειραμάτων μπορεί να είναι τοξική για τα ενήλικα του *R. cerasi* αλλά και γενικότερα για τα Terphritidae όταν δεν αναμειγνύεται με ζάχαρη ή όταν δεν διαλύεται στο νερό. Ακόμη σύμφωνα με τα αποτελέσματα η επιβίωση των εντόμων επηρεάζεται και από την διαθεσιμότητα της ζάχαρης. Πιο συγκεκριμένα, τα αρσενικά και τα θηλυκά που τρέφονταν με ζάχαρη 10% έζησαν κατά μέσο όρο 8,02 και 5,0 ημέρες αντίστοιχα έναντι των αρσενικών και των θηλυκών που τρέφονταν με ζάχαρη 20% και έζησαν κατά μέσο όρο 10,93 και 17,0 ημέρες αντίστοιχα. Τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με τη γενικότερη παραδοχή ότι τα ενήλικα Terphritidae απαιτούν συνεχώς, αρκετές ποσότητες ζάχαρης για να επιβιώσουν, όπως για παράδειγμα στο *R. indifference* (Lee, 2003).

Επιπλέον, τα στοιχεία μας δείχνουν ότι τα έντομα που τρέφονταν με πρωτεΐνη ωτόκησαν μεγαλύτερο αριθμό αυγών/θηλυκό σε σχέση με τα έντομα που τρέφονταν με ζάχαρη. Συγκεκριμένα, η περίοδος ωοτοκίας των εντόμων που τρέφονταν με πρωτεΐνη ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από εκείνη των εντόμων που τρέφονταν με ζάχαρη. Επίσης, μεγάλη διαφορά σημειώθηκε στην μέγιστη ωοπαραγωγή, μεταξύ των εντόμων που κατανάλωναν πρωτεΐνη 10% και ζάχαρη 10%, η οποία είχε τιμή 71 και 9,1 αντίστοιχα, παρόμοια στο δεύτερο πείραμα για τα έντομα που κατανάλωναν πρωτεΐνη 10% η μέγιστη ωοπαραγωγή ήταν 120,02 ενώ για τα έντομα που κατανάλωναν ζάχαρη 20% ήταν 10,76. Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με εκείνα των Carey *et al* (2002), στα οποία παρατηρήθηκε υψηλή θνησιμότητα σε νεαρές ηλικίες ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου που τρέφονταν με ζάχαρη και αναφέρεται ότι για υψηλή ωοπαραγωγή απαιτείται διατροφή σε πρωτεΐνη. Επίσης, τα αποτελέσματα μας συμφωνούν με το συμπέρασμα του Carey, (2003) που αναφέρει ότι η διαθεσιμότητα πρωτεΐνης αποτελεί καθοριστικό παράγοντα για την φυσιολογική ανάπτυξη των εντόμων και την παραγωγή απογόνων. Ο Yee, (2003) σε μελέτες με το *R. indifference* αναφέρει πως οι υδατάνθρακες είναι απαραίτητοι για την επιβίωση γεγονός που συμπεραίνουμε και σε αυτή την μελέτη για το *R. cerasi*, αφού φαίνεται ότι τα έντομα κατανάλωναν μεγαλύτερης ποσότητας υδατικού διαλύματος ζάχαρης για να επιβιώσουν.

Ακόμη οι Wong *et al* (2009) αναφέρουν ότι έντομα που τρέφονται σε σύστημα CAFE (παρόμοιο με το σύστημα που αναπτύχθηκε σε αυτή την διατριβή) έχουν μειωμένη διάρκεια ζωής και ωοπαραγωγή. Συμπέρασμα που

συμφωνεί με τα αποτελέσματά μας και ίσως να οφείλεται στο ότι τα έντομα δε λαμβάνουν τις ποσότητες τροφής που χρειάζονται.

Όσον αφορά τις απαιτήσεις των δύο φύλων σε θρεπτικά στοιχεία παρατηρήσαμε πως ήταν διαφορετικές, αφού στο δεύτερο πείραμα τα θηλυκά έντομα σημείωσαν μεγαλύτερη μέση κατανάλωση ζάχαρης και πρωτεΐνης σε σχέση με εκείνη των αρσενικών. Αποτέλεσμα που οφείλεται στο κόστος της αναπαραγωγής των θηλυκών και αναφέρεται και από τον *Nestel et al* (2005).

Σημαντικές διαφορές σημειώθηκαν μεταξύ των ενηλίκων της Αγιάς και των ενηλίκων από την περιοχή Dossenheim της Γερμανίας που τρέφονταν με πρωτεΐνη σε σημαντικές δημογραφικές παραμέτρους. Πιο αναλυτικά, τα αρσενικά που τρέφονταν με πρωτεΐνη και προέρχονταν από το Dossenheim της Γερμανίας είχαν λιγότερο σταθερή πορεία επιβίωσης σε σχέση με τα έντομα που προέρχονταν από την περιοχή της Αγιάς Λάρισας. Επίσης, τα έντομα από την περιοχή της Αγιάς Λάρισας κατανάλωσαν μικρότερες ποσότητες τροφής (πρωτεΐνης) σε σχέση με τα έντομα από την περιοχή Dossenheim. Οι παραπάνω παρατηρήσεις, συμφωνούν με τα αποτελέσματα της Μωραΐτη (αδημοσίευτα στοιχεία), που υποστηρίζουν πως ένας ορεινός και ένας πεδινός πληθυσμός του *R. cerasi* διαφέρουν στα ενεργειακά αποθέματα (ζάχαρη, πρωτεΐνη) όταν τρέφονται με δύο διαφορετικές τροφές, ζάχαρη και πρωτεΐνη.

Η παρούσα μελέτη συμβάλλει στην κατανόηση των διατροφικών απαιτήσεων του εντόμου και τη σχέση της πρωτεΐνης και της ζάχαρης με την μακροβιότητα, την επιβίωση και την ωοπαραγωγή της μύγας της κερασιάς. Ακόμη, με την μεθοδολογία για την μέτρηση της κατανάλωσης τροφής που αναπτύξαμε, ανοίγει ο δρόμος για περαιτέρω μελέτη των διατροφικών απαιτήσεων της μύγας της κερασιάς, αλλά και άλλων Tephritidae, για μελέτη και άλλων πεδίων της διατροφής (μικροθρεπτικών ουσιών, βιταμινών, μελέτη των εντόμων να επιβιώσουν με την απουσία τροφής) καθώς και θεμάτων που αφορούν το διατροφικό περιορισμό και τη σχέση του με τη διάρκεια ζωής.

BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Aluja, M. and E. F. Boller. (1992) Host marking pheromone of *Rhagoletis cerasi*: field deployment of synthetic pheromone as a novel cherry fruit fly management strategy. Entomol. Exp. Appl. 65: 141-147.

Aluja, M. and E. F. Boller. (1992) Host marking pheromone of *Rhagoletis cerasi*: foraging behavior in response to synthetic pheromonal isomers. Chem. Ecol. 18: 1299-1311.

Aluja, M. and A. Norrbom. (2000) fruit flies (Tephritidae): Phylogeny and evolution of behavior. CRC Press.

Arthofer, W., M. Riegler, D. Schneider, M. Krammer, W. Miller, C. Stauffer. (2009) Hidden *Wolbachia* diversity in field populations of the European cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* (Diptera, Tephritidae). Mol. Ecol. 18: 3816-3830.

Augustinos, A., A. Asimakopoulou, N. Papadopoulos and K. Bourtzis. (2010) Cross – amplified microsatellites in the European cherry fly, *Rhagoletis cerasi*: medium polymorphic – highly informative markers. Bulletin of Entomological Research.

Boller, E. (1973) Development and application of visual traps for monitoring and control of populations of *Rhagoletis cerasi* L. Entomol. Exp. Appl. 17: 279-293.

Boller, E. and J. Prokopy. (1976) Bionomics and management of *Rhagoletis cerasi*. Ann. Rev. Entomol. 21: 223-246.

Bourtzis, K. and T. Miller. (2008) Insect symbiosis. Vol 3. CRC Press.

C. Caceres, D. MCinnis, T. Shelly, E. Jang, A. Robinson and J. Hendrichs. (2007) Quality management systems for fruit fly SIT. Florida Entomol. 90: 1-9.

Capinera, J. (2008) Encyclopedia of Entomology Vol.1. Springer.

Carey, J.R., P. Liedo, L. Harshman, Y. Zhang, H. Muller, L. Partridge and J. Wang. (2002) Life history response of Mediterranean fruit flies to dietary restriction. *Aging Cell* 1: 140 - 148.

Carey, J. R. (2003) Longevity. The biology and demography of lifespan. Princeton University Press, New Jersey, United Kingdom.

Carey, J. R. (2005) Longevity and frailty. Springer – Verlag, Berlin, Germany.

Chang L. (2004) Effect of amino acids on larvae and adults of *Ceratitis capitata* (Diptera : Tephritidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 97 : 529-535.

Chapman, R.F. (1998) The insects: Structure and function. 4th Edition. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

Cooper, M.T., R.J. Mockett, B.H. Sohal, S.R. Sohal and W.C. Orr. (2004) Effect of caloric restriction on the lifespan of the housefly, *Musca domestica*. *FASEB* 18:1591.

Daniel, C. and E. Wyss, (2009) Field applications of entomopathogenic fungi against *Rhagoletis cerasi*. Ecofruit – 13th International conference on cultivation technique and phytopathological problems in organic fruit-growing. Weinsberg/Germany. pp: 87-92.

Droney, D.C. (2002) The influence of the nutrition content of the adult male diet on testis mass, body condition and courtship vigour in a Hawaiian *Drosophila*. *Funct. Ecol.* 12: 920-928.

Girolami V. (1982) Fruit fly symbiosis and adult survival: General aspect in fruit flies of economic importance. CEC/IOBC. Symposium Athens 74 – 77.

Genc. H. (2006) General principles of insect nutritional ecology. *Trakya Univ. J. Science* 7: 53-57.

Grassi, A., D. Profaizer, R. Maines and G. Visintainer. (2010) An experience of cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* control with nets in Trentino, Italy. 14th International Conference on Organic Fruit – Growing, Hohenheim/Germany.

Guarente, L. (2006) Sirtuins as potential targets for metabolic syndrome. Nature 444: 868-874.

Hagen, K.S. (1956) Honeydew as an adult fruit fly diet affecting reproduction. Proc. 10th Intern. Cong. Ent. 3:25-30.

Hanife, G. (2006) General principles of insect nutritional ecology. Trakya Univ. J. Sci. 7(1):53-57.

Herz, A., K. Koppler, H. Vogt, E. Ellias, P. Katz and A. Peters. (2006) Biological control of the cherry fruit fly, *Rhagoletis cerasi* L. (Diptera, Tephritidae) by use of entomopathogenic nematodes: first experiences towards practical implementation. Ecofruit – 12th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit – Growing. pp. 67-72.

Hurter, J. E. Boller, E. Stadler, B. Blattman, R. Buser, N. Bosshard, L. Damm, W. Koslowski, and R. Schoni. (1987) Oviposition deterring pheromone in *Rhagoletis cerasi*: purification and determination of the chemical constitution. Experientia 43: 157-164.

Ja W., G. Carvalho, M. Noelle, N. Fang, A. Liong, T. Brummel and S. Benzer. (2007) Prandiology of *Drosophila* and CAFE assay. PNAS 104: 8253 – 8256.

Jacome, I., M. Aluja, P. Liedo, and D. Nestel. (1995) The influence of adult diet and age on lipid reserves in the tropical fruit fly *Anastrepha serpentina* (Diptera : Tephritidae). J. Ins. Physiol. 41:1079 - 1986.

Jacome, I., M. Aluja, and P. Liedo. (1999) Impact of adult diet on demographic and population parameters of the tropical fruit fly *Anastrepha serpentina* (Diptera : Tephritidae). Bull. Entomol. Res. 89: 165-175.

Katsoyannos, B. (1975) Oviposition-deterring, male arresting, fruit marking pheromone of European cherry fruit fly. Environ. Entomol. 5: 151-152.

Katsoyannos, B. N. Papadopoulos, and D. Stavridis. (2000) Evaluation of trap types and food attractants for *Rhagoletis cerasi* (Diptera:Tephritidae). J. Econ. Entomol. 93: 1005-1010.

Kaur S. and B. Srivastava. (1991) Effect of B – vitamins on various parameters of reproductive potential of *Dacus curcubitae* (Coquillett). Indian J. Entomol. 53: 543-547.

Koppler, K., T. Kaffer and H. Vogt. (2008) Bait sprays against the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi*: Status Quo & Perspectives. Ecofruit – 13th International Conference on Cultivation Technique and Phytopathological Problems in Organic Fruit – Growing, Weinsberg/Germany. pp. 102-108.

Kovanci, O. B. and B. Kovanci (2006) Reduced-risk management of *Rhagoletis cerasi* flies (host race *Prunus*) in combination with a preliminary phenological model. J. Insect Sci. Article 34.

Κουρκουγιάννης Β. (2000) Οι τάσεις στην εμπορία και παραγωγή των κερασιών. Γεωργία και Κτηνοτροφία.

Kounatidis I., N. Papadopoulos, K. Bourtzis and P. Tsipidou - Mavragani. (2008) Genetic and cytogenetic analysis of the fruit fly *Rhagoletis cerasi* (Diptera:Tephritidae). Genome 51: 1 – 13.

Lauzon, C., R. Jogren, and R. Prokopy. (2000) Enzymatic capabilities of bacteria associated with apple maggot flies: a postulated role in attraction. J. Chem. Ecol. 26: 953-967.

Luethy P., D. Studer, P. Jaquet and C. Yamvrias. (1983) Morphology and in vitro cultivation of the bacteria symbiote of *Dacus oleae*. Mitt. Schwetz. Entomol. 56: 67-72.

Mair, W., W. Piper and L. Partridge. (2005) Calories do not explain extension of lifespan by dietary restriction in *Drosophila*. PLOS Biol. 3:223.

Mair, W., P. Goymer, SD. Pletcher and L. Partridge. (2003) Demography of dietary restriction and death in *Drosophila*. Science 301: 1731-1733.

Matsumoto. (1962) Food preference and ovarian development of the melon fly, *Dacus cucurbitae* Coquillett, as influence by diet. Hawaiian entomology society.

Mockett, R.J. (2006) Effects of caloric restriction are species specific. Biogerontology 7:157-160.

Nation, J. (2002) Insect physiology and biochemistry. CRC Press.

Nestel D., N. Papadopoulos, P. Liedo, L. Gonzales - Ceron and J. Carey. (2005) Trends in lipid and protein contents during medfly ageing : an harmonic path to death. Arc. Insect Bioch. Phys. 60: 130-139.

Nestel, D., E. Nemny – Lavy, L. Zilberg, M. Weiss, R. Akiva, and Y. Gazit. (2004) The fruit fly PUB: a phagostimulation unit bioassay system to quantitatively measure ingestion of baits by individual flies. J. Appl. Entomol. 128: 576 – 582.

Placido – Silva C., M. Silva Neto, F. Zucoloto and I. Joachim – Bravo. (2006) Effects of different protein concentrations on longevity and feeding behaviour of two adult populations of *Ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera:Tephritidae). Neotropical Entomol. 35: 747-752.

Ramirez, C., M. Salazar, E. Pealma, C. Cordero, and L. Meza – Basso. (2008) Phylogeographical analysis of Neotropical *Rhagoletis* (Diptera, Tephritidae): Did

the Andes uplift contribute to current morphological differences? Neotropical Entomol. 37: 651-661.

Riegler, M., and Stauffer, C. (2002) *Wolbachia* infections and superinfections in cytoplasmically incompatible populations of the European cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* (Diptera, Tephritidae). Mol. Ecol. 11: 2425-2434.

Robacker, D.C. and I. Fraser. (2001) Effects of food deprivation on attraction of Mexican fruit flies (Diptera:Tephritidae) to grapefruit in a wild tunnel. Ann. Entomol. Soc. Am. 96: 954-958.

Simpson, S.J. and D. Raubenheimer. (2009) Macronutrient balance and lifespan. Aging, Vol.1, No. 10.

Smith, J. and G. Bush. (1997) Phylogeny of genus *Rhagoletis* (Diptera:Tephritidae). Inferred from DNA sequences of mitochondrial cytochrome oxidase II. Mol. Phylog. and Evol. 7: 33-43.

Staple, D.P. and V. Prabhu, and P.W. Taylor. (2007) Post-teneral protein feeding enhance sexual performance of Queensland fruit flies. Physiol. Entomol. 32: 225-232.

Tsiropoulos. (1985) Dietary administration of antivitamin affected the survival and reproduction of *Dacus oleae*. J. Appl. Entomol. 10: 35-39.

Vanderzant, E.S. (1974) Development, significance and application of artificial diets for insects. Ann. Rev. Entomol. 19: 139-160.

Wong R., M. Piper, B. Wertheim and L. Partridge. (2009) Quantification of food intake in *Drosophila*. Plos One. Vol. 4 issue 6.

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. PNAS 101: 15042-15045.

Zur T., E. Nemmy – Lavy, N. Papadopoulos and D. Nestel. (2009) Social interactions regulate resource utilization in a Tephritidae fruit fly. *J. of Insect Physiol.* 55: 890 – 897.

Yee, W.L. (2003) Effect of cherries, honeydew and bird feces on longevity and fecundity of *Rhagoletis indifferens* (Diptera:Tephritidae). *Environ.Entomol.* 32: 726-735.

Yee, W.L. (2008) Feeding substrates and behaviours of Western Cherry fruit fly (Diptera:Tephritidae). *Environ. Entomol.* 37:172-180.

<http://www.search.com/reference/Rhegoletis>

http://www.agroatlas.spb.ru/e/content/pests/rhagoletis_cerasi/

<http://smu.edu/biology/faculty/jbauer.asp>

