



ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ

ΣΧΟΛΗ ΓΕΩΠΟΝΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΠΟΝΙΑΣ ΦΥΤΙΚΗΣ ΠΑΡΑΓΩΓΗΣ
& ΑΓΡΟΤΙΚΟΥ ΠΕΡΙΒΑΛΛΟΝΤΟΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΝΤΟΜΟΛΟΓΙΑΣ & ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΖΩΟΛΟΓΙΑΣ

ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

**Επίδραση της θερμοκρασίας κατά την ανάπτυξη των ανηλίκων στα
δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων της μύγας της
Μεσογείου**

ΡΟΥΜΠΑΣ ΑΓΓΕΛΟΣ

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ
ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΝΙΚΟΛΑΟΣ

ΒΟΛΟΣ, 2019

Τριμελής Συμβουλευτική Επιτροπή

Παπαδόπουλος Νικόλαος (Επιβλέπων)		Καθηγητής
Αθανασίου Χρήστος	(Μέλος)	Καθηγητής
Νάκας Χρήστος	(Μέλος)	Αναπληρωτής Καθηγητής

ΕΥΧΑΡΙΣΤΙΕΣ

Η παρούσα πτυχιακή διατριβή εκπονήθηκε στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας κατά τα έτη 2017-2018. Θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τον καθηγητή κ. Ν. Παπαδόπουλο επιβλέποντα της πτυχιακής μου διατριβής για την υπόδειξη του θέματος και για τη βοήθεια του καθ'όλη τη διάρκεια του πειραματικού μέρους αλλά και κατά τη διάρκεια της συγγραφής της παρούσας διατριβής.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω πολύ την υποψήφια διδάκτορα κα. Διονυσοπούλου Νίκη για τη συνεχή βοήθειά της σε οποιαδήποτε απορία και ερώτησή μου, τόσο κατά την πειραματική διαδικασία όσο και κατά τη συγγραφή του κειμένου μου.

Τέλος, θέλω να ευχαριστήσω τους γονείς μου, Παναγιώτη και Ειρήνη, την αδερφή μου Κατερίνα και όλους μου τους φίλους για την υποστήριξη τους κατά τη διάρκεια εκπόνησης της παρούσας διπλωματικής εργασίας αλλά και καθ'όλη τη διάρκεια των προπτυχιακών μου σπουδών.

ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΩΝ

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	5
ABSTRACT.....	6
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	7
1.1 Η μύγα της Μεσογείου.....	7
1.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του εντόμου.....	7
1.3 Ξενοστέες και οικονομική σημασία.....	10
1.4 Προέλευση και γεωγραφική εξάπλωση.....	11
1.5 Βιολογία του εντόμου.....	12
1.6 Καταπολέμηση.....	14
1.7 Γενικά για το βακτήριο <i>Wolbachia pipientis</i>	17
1.8 Σκοπός.....	18
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	19
2.1 Εργαστηριακές συνθήκες.....	19
2.2 Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν.....	19
2.3 Πειραματική διαδικασία.....	23
2.4 Ανάλυση δεδομένων.....	23
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ.....	24
3.1 Επίδραση της θερμοκρασίας κατά την ανάπτυξη των ανηλίκων στην ωοτοκία θηλυκών της φυλής F9 της μύγας της Μεσογείου.....	24
3.2 Επίδραση της θερμοκρασίας κατά την ανάπτυξη των ανηλίκων στην ωοτοκία θηλυκών της φυλής S10.3 της μύγας της Μεσογείου.....	27
ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΖΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	34
ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	36

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα εργασία έγινε μελέτη, σε εργαστηριακές συνθήκες των δημογραφικών χαρακτηριστικών της μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). Πιο συγκεκριμένα μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας (15°C, 25 °C και 30 °C) κατά την ανάπτυξη των ανήλικων σταδίων στην επιβίωση των ενήλικων, αλλά και στην ωοτοκία των θηλυκών. Χρησιμοποιήθηκαν δύο διαφορετικές φυλές, η F9, η οποία εκτράφηκε για εννέα γενεές στο εργαστήριο και προήλθε από άγρια έντομα και η φυλή S10.3, η οποία είναι εργαστηριακή φυλή μολυσμένη με το ενδοκυτταρικό βακτήριο *Wolbachia*. Σε όλες τις περιπτώσεις τα ενήλικα παρέμειναν στους 25 °C.

Το πείραμα πραγματοποιήθηκε στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας. Τα ανήλικα αναπτύχθηκαν σε μήλα της ποικιλίας Golden delicious, που προήλθαν από την περιοχή της Λάρισας (Αγιά), σε ειδικούς κλιβάνους σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες 15 °C, 25 °C και 30 °C. Μετά τη νύμφωσή τους μεταφέρονταν σε ειδικά πλαστικά κλουβιά και σε θερμοκρασία 25°C. Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι η θερμοκρασία κατά την ανάπτυξη των ανηλικών σταδίων επηρεάζει σημαντικά την επιβίωση και μακροβιότητα των ενήλικων. Συγκεκριμένα, η μακροβιότητα των ατόμων που προήλθαν από ανήλικα που αναπτύχθηκαν στους 30 °C ήταν μικρότερη σε σχέση με εκείνα που αναπτύχθηκαν σε χαμηλότερες θερμοκρασίες. Όσον αφορά την ωοτοκία των θηλυκών παρατηρήθηκε σημαντική επίδραση της θερμοκρασίας στο μέσο όρο αυγών που ωοτοκούσε το κάθε θηλυκό. Θηλυκά που προήλθαν από αυγά που αναπτύχθηκαν στους 30°C είχαν μικρότερο μέσο όρο σε σχέση με τις υπόλοιπες θερμοκρασίες. Τέλος, λόγω του μικρού αριθμού των ατόμων της φυλής S10.3 δεν μπορούν να προκύψουν κάποια ακριβή αποτελέσματα όσον αφορά την επιβίωσή τους αλλά και την ωοτοκία των θηλυκών.

ABSTRACT

In the present dissertation, were studied the demographic characteristics of the Mediterranean fly *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. In particular, the effect of temperature (15 °C, 25 °C and 30 °C) during the development of the minor stages in adult survival but also in the ovulation of females was studied. Two different breeds were used, F9, which was bred for nine generations in the laboratory and derived from wild insects and the breed S10.3, which is a laboratory breed infected with the intracellular *Wolbachia* bacterium. In all cases the adults remained at 25 °C.

The experiment was conducted in the laboratory of Entomology and Agricultural Zoology at the University of Thessaly. The minors were grown on apples of the Golden delicious variety, that came from the region of Larissa (Agia), in special furnaces at three different temperatures 15 °C, 25 °C and 30 °C. After their nourishment they were transferred to special plastic cages at 25 °C. The results showed that the temperature during the development of the minor stages significantly affects the survival and longevity of adults. In particular, the longevity of individuals from minors developed at 30 °C was lower than those developed at lower temperatures. As far as female egg laying is concerned, there was a significant effect of temperature on the average egg laying of each female. Females that originated from eggs developed at 30 °C had a lower average than the other temperatures. Finally, due to the small number of S10.3 individuals, there can be no accurate results with regard to their survival and ovulation of the females.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1: ΓΕΝΙΚΗ ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Η μύγα της Μεσογείου

Η μύγα της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Wiedemann) ανήκει στην οικογένεια Tephritidae των Διπτέρων και στο άθροισμα Ceratidini. Στο γένος *Ceratitis* ανήκουν πάνω από 90 είδη που προέρχονται κατά κύριο λόγο από την τροπική Αφρική (De Meyer, 2000). Στο *C. capitata* αναφέρονται κοντά στα 400 είδη ξενιστών κάτι που το καθιστά ένα εξαιρετικά πολυφάγο είδος και έναν από τους κυριότερους εχθρούς καρποφόρων δέντρων σε παγκόσμια κλίμακα (Liquidó et al., 1991, Mitchell and Saul, 1990).

1.2 Μορφολογικά χαρακτηριστικά του εντόμου

Το ενήλικο έχει μήκος 4-6 mm και πλάτος 1.2-2 mm. Όσον αφορά το χρωματισμό του εντόμου, ο θώρακας, η κοιλιά και οι πτέρυγες καλύπτονται από κίτρινες, μαύρες, καστανές και λευκές κηλίδες όπως φαίνεται και στην Εικόνα 1 (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Η κεφαλή έχει χαρακτηριστικό κίτρινο χρώμα που στις βάσεις των κεραιών γίνεται πιο σκούρο και διαθέτει μαύρες τρίχες μεταξύ των σύνθετων οφθαλμών (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Τα δύο άρθρα των κεραιών έχουν χρώμα καστανό ενώ η 'arista' έχει μαύρο χρώμα. Οι σύνθετοι οφθαλμοί που καλύπτουν μεγάλο μέρος της κεφαλής έχουν έντονο λαμπερό χρώμα. Οι πτέρυγες του εντόμου είναι διάφανες με αρκετές κίτρινες, μαύρες και καστανές κηλίδες και ζώνες, ενώ το μήκος της κάθε μίας, είναι περίπου 4.5mm.



Εικόνα 1: Ενήλικο θηλυκό της μύγας της Μεσογείου

Το ενήλικο όταν βαδίζει ή αναπαύεται κρατά τις πτέρυγές του μισάνοιχτες, σχηματίζοντας ορθή γωνία μεταξύ των πρόσθιων πλευρών τους με κλίση προς το πίσω μέρος του σώματος (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Το νωτιαίο τμήμα του θώρακα είναι γυαλιστερό μαύρο με αρκετά στίγματα λευκού χρώματος σε αντίθεση με το κοιλιακό τμήμα που είναι πορτοκαλοκίτρινου χρώματος. Το scutellum είναι κατά κύριο λόγο μαύρου χρώματος. Η κοιλιά έχει χρώμα πορτοκαλοκίτρινο με δύο εγκάρσιες ζώνες οι οποίες έχουν καστανέρυθρο χρώμα και αρκετά λεπτά μαύρα στίγματα (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Ο διαχωρισμός του θηλυκού από το αρσενικό γίνεται μέσω του ωοθέτη που φέρει το θηλυκό στην απόληξη της κοιλιάς του. Ο ωοθέτης εξέχει από το τελευταίο κοιλιακό τμήμα των θηλυκών και έχει καστανέρυθρο χρώμα και μήκος περίπου 1.3mm. Εκτός του ωοθέτη ένας άλλος τρόπος διαχωρισμού των δύο φύλων είναι η ύπαρξη ενός ζεύγους έμμισχων κερατοειδών αποφύσεων, που βρίσκονται στο μέτωπο των ενήλικων αρσενικών.

Τα αυγά όπως φαίνεται και στην Εικόνα 2 είναι λευκά, λεία με ελλειπτικό και επίμηκες σχήμα και με μήκος και διάμετρο 0.9-1.1mm και 0.2-0.3mm αντίστοιχα.



Εικόνα 2: Αυγά της μύγας της Μεσογείου

Οι προνύμφες είναι ακέφαλες, άποδες με υπόλευκο χρωματισμό και σχήμα κυλινδρικό με στενότερο το πρόσθιο μέρος από το οπίσθιο όπως παρατηρείται και στην Εικόνα 3. Το μέγεθος, το σχήμα και το χρώμα των στοματικών αγκίστρων του κεφαλοφαρυγγικού σκελετού χρησιμοποιούνται για το μορφολογικό διαχωρισμό των τριών προνυμφικών ηλικιών (White and Elson-Harris, 1992). Το μήκος των προνυμφών για την κάθε ηλικία είναι 0,17-2,2mm για την 1^η, 2,3-5mm για την 2^η και τέλος 6-10mm για την 3^η προνυμφική ηλικία.



Εικόνα 3: Προνύμφη της μύγας της Μεσογείου σε τεχνητή εκτροφή στο εργαστήριο

Όσον αφορά τη νύμφη, έχει ελλειψοειδές σχήμα, με 4,4-4,5mm μήκος και 2-2,5mm διάμετρο και το χρώμα της ποικίλει από υπόλευκο έως σκούρο καστανό (Εικόνα 4) (Papadopoulos, 2004).



Εικόνα 4: Νύμφες της μύγας της Μεσογείου σε τρυβλίο petri αμέσως μετά τη συλλογή τους από το υπόστρωμα νύμφωσης

1.3 Ξενιστές και οικονομική σημασία

Η μύγα της Μεσογείου δικαίως θεωρείται ως το πιο πολυφάγο είδος της οικογένειας Tephritidae αφού προσβάλλει διάφορους ξενιστές που ανήκουν σε 67 οικογένειες φυτών. Το πλήθος των ξενιστών ξεπερνά τα 353 είδη φυτών, εκ των οποίων το 40% ανήκει σε 5 οικογένειες: Myrtaceae (6%), Rosaceae (10%), Rutaceae (9%), Sapotaceae (9%) όπως επίσης και Solanaceae (6%) (Liquidó et al., 1991). Στις εύκρατες περιοχές και κυρίως στην επικράτεια της Μεσογείου προσβάλλονται τα εσπεριδοειδή, τα πυρηνόκαρπα, τα γιγαρτόκαρπα, ο λωτός και η μουσμουλιά μεταξύ άλλων. Σημαντικές προσβολές καταγράφονται και σε καλλιέργειες των τροπικών και των υποτροπικών περιοχών όπως παπάγια, καφέ, μάνγκο, αβοκάντο και άλλα (Papadopoulos, 2004). Στην Ελλάδα το *C. capitata* ευθύνεται για αρκετές σοβαρές ζημιές σε πορτοκάλια, μανταρίνια, ροδάκινα, μήλα, σύκα, κυδώνια, αχλάδια και πολλά άλλα φρούτα (Papadopoulos et al., 2004). Τις περισσότερες φορές τα θηλυκά προτιμούν καρπούς με λεπτό φλοιό που είναι ώριμοι και ζουμεροί (Steck, 2006).

Αναφορικά με την οικονομική σημασία της προσβολής της μύγας της Μεσογείου στην Ευρώπη το κόστος των απωλειών ανέρχεται περίπου σε 12 δις ευρώ το χρόνο (Weldon et al., 2016). Η μύγα της Μεσογείου θεωρείται ως ένας από τους πιο καταστροφικούς εχθρούς των φρούτων στον κόσμο εξαιτίας του μεγάλου αριθμού των ξενιστών που προσβάλλει, της εκπληκτικής προσαρμοστικότητας της σε νέα και ορισμένες φορές δυσμενή οικολογικά περιβάλλοντα και της τεράστιας αναπαραγωγικής της ικανότητας, έχοντας τη δυνατότητα να προκαλεί ζημιές δισεκατομμυρίων ευρώ σε εθνικό επίπεδο μέσα σε λίγους μήνες (Salvemini et al., 2014). Η εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου γίνεται μέσω εξαγωγών φρούτων και διαφόρων τοπικών πωλήσεων (Ordax, 2015). Στις χώρες τις οποίες δεν έχει εγκατασταθεί ακόμη η μύγα της Μεσογείου, θεωρείται έντομο “καραντίνας” δυσκολεύοντας το εμπόριο προς αυτές τις χώρες αλλά και τη μεταφορά των φρούτων από τις περιοχές που ενδημεί το έντομο. Αυτό έχει ως συνέπεια να αυξάνεται αρκετά το κόστος εξαιτίας των μέτρων απεντόμωσης σε αυτές τις περιοχές (Mitchell and Saul, 1990).

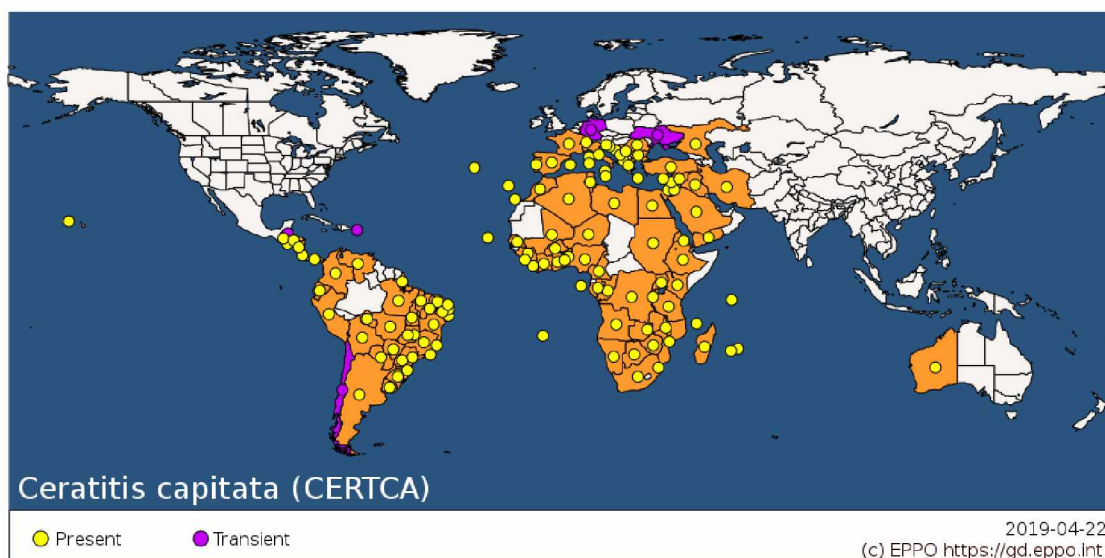
Όσον αφορά την Ελλάδα η μύγα της Μεσογείου προκαλεί ζημιές σε φρούτα στην Πελοπόννησο (Αχαΐα, Αργολίδα), Ήπειρο (Αρτα), Θεσσαλία (Λάρισα, Μαγνησία) και Κρήτη (Ηράκλειο, Χανιά) ενώ εντοπίζεται και σε σχεδόν όλες τις παράκτιες περιοχές της Ελλάδας (Παπαδόπουλος και συνεργάτες, 2010).

1.4 Προέλευση και γεωγραφική εξάπλωση

Η μύγα της Μεσογείου κατάγεται από την Αφρική με βάση έναν μεγάλο αριθμό ερευνών σχετικών με τη γενετική πληθυσμών που πραγματοποιήθηκαν (Kourti et al., 1992; Malacrida et al., 1998; Kourti, 2002). Παρόλα αυτά η εμφάνιση της μύγας της Μεσογείου σήμερα παρατηρείται κυρίως στην Αφρική, στην Ωκεανία, αλλά και σε περιοχές της Ασίας και της Αμερικής. Η εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου θεωρείται πιθανό ότι ξεκίνησε από τη Μεσόγειο όπου και έγινε η πρώτη καταγραφή του εντόμου στην Ισπανία το 1842 και μετά το πέρας κάποιων ετών στην Πορτογαλία το 1898 (Fimiani, 1989). Ο εμποικισμός του εντόμου στη Μεσόγειο πραγματοποιήθηκε κατά πάσα πιθανότητα είτε μέσω της κοιλάδας του Νείλου και διαμέσου των παραλίων της Μέσης Ανατολής στις υπόλοιπες χώρες της Μεσογείου, είτε από τα παράλια της Δυτικής Αφρικής στην Ισπανία και στις άλλες χώρες της Μεσογείου (Papadopoulos, 1998). Το εμπόριο νωπών φρούτων θεωρείται πως ήταν ο κύριος παράγοντας εξάπλωσης του εντόμου. Η μοναδική χώρα που το έντομο δεν ενδημεί από τις χώρες της νότιας και κεντρικής Αμερικής είναι το Μεξικό και αυτό επιτεύχθηκε μετά από πολλές συντονισμένες προσπάθειες για την εξαγωγή του εντόμου (White & Elson- Harris, 1992). Έχουν πραγματοποιηθεί εισβολές του εντόμου και σε περιοχές της βορείου Αμερικής, με πρώτη καταγραφή αυτή στην Φλόριντα το 1926 (Hagen et al., 1981). Η εγκατάσταση της μύγας της Μεσογείου, αλλά και άλλων ειδών της οικογένειας Tephritidae στην Καλιφόρνια επιβεβαιώθηκε πρόσφατα παρά την εφαρμογή αρκετών μεθόδων αποτροπής των εξαγωγών (Papadopoulos et al., 2013).

Άλλες περιοχές στις οποίες ενδημεί η μύγα της Μεσογείου είναι τα νησιά του Ειρηνικού, Ατλαντικού και Ινδικού ωκεανού και η δυτική Αυστραλία κάτι το οποίο παρατηρείται και στην Εικόνα 5 (White & Elson-Harris, 1992). Επίσης, η διαπίστωση της παρουσίας του εντόμου σε άλλες χώρες όπως η Ουγγαρία, το Βέλγιο, η Σουηδία και η Γερμανία μπορεί να οφείλεται στους προσβεβλημένους καρπούς που μεταφέρθηκαν από άλλες χώρες, αφού η μύγα της Μεσογείου δεν ενδημεί σε τόσο μεγάλα γεωγραφικά πλάτη (Papadopoulos, 2004). Όσον αφορά την Ελλάδα η μύγα της Μεσογείου καταγράφηκε για πρώτη φορά σε καλλιέργειες εσπεριδοειδών στην Αττική και την Αίγινα το 1915. Στη συνέχεια σημειώθηκε η παρουσία της στην ηπειρωτική Ελλάδα αλλά και σε μερικά νησιά (Fimiani, 1989). Ακολούθησε επέκταση του εντόμου σε κεντρικές περιοχές, σε ηπειρωτικές περιοχές στα νότια γεωγραφικά διαμερίσματα και σε πολλές παραλιακές περιοχές. Τα τελευταία έτη η

μύγα της Μεσογείου έχει επεκταθεί και στις πιο βόρειες και ψυχρές περιοχές της χώρας (Παπαδόπουλος, 1999, Παπαδόπουλος και συνεργάτες, 2010).



Εικόνα 5: Χάρτης της παγκόσμιας γεωγραφικής κατανομής της μύγας της Μεσογείου (<https://gd.eppo.int/taxon/CERTCA/distribution>)

1.5 Βιολογία του εντόμου

Το *C. capitata* είναι ένα πολυκυκλικό είδος με μεγάλο αριθμό γενεών ανά έτος. Οι κύριοι παράγοντες που επηρεάζουν αυτή την παραλλακτικότητα στον αριθμό των γενεών είναι οι κλιματικές συνθήκες της περιοχής, η γεωγραφική θέση της περιοχής αλλά και η ύπαρξη ξενιστών (Fletcher, 1989).

Όσον αφορά την Ελλάδα, η μύγα της Μεσογείου έχει 3-7 γενεές ανά έτος. Η διαχείμαση της γίνεται κατά κύριο λόγο ως προνύμφη σε καρπούς οι οποίοι είναι προσβεβλημένοι και βρίσκονται ακόμη στα δέντρα ή στο έδαφος και μερικές φορές γίνεται και ως νύμφη στο έδαφος (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Στις βόρειες περιοχές όπως η Θεσσαλονίκη, όπου οι θερμοκρασίες το χειμώνα είναι χαμηλές, η μύγα της Μεσογείου διαχειμάζει ως προνύμφη στο εσωτερικό προσβεβλημένων μήλων (Papadopoulos et al., 1996). Στις νότιες και πιο θερμές περιοχές της Μεσογείου το *C. capitata* παρουσιάζει συνεχή ανάπτυξη χωρίς διακοπή καθ' όλη τη διάρκεια του έτους. Η διαχείμαση του εντόμου ως ενήλικο είναι δυνατόν να πραγματοποιηθεί μόνο όταν επικρατούν ήπιοι χειμώνες (Maniakkis et al., 2000). Κατά τη διάρκεια της περιόδου όπου επικρατούν χαμηλές θερμοκρασίες οι

προνύμφες βρίσκονται προστατευμένες μέσα στους καρπούς. Την άνοιξη εμφανίζονται για πρώτη φορά τα ενήλικα άτομα. Όσον αφορά την εύρεση της τροφής αξιοσημείωτο είναι ότι τα ενήλικα θηλυκά είναι σε θέση να καλύψουν μεγαλύτερες αποστάσεις από ότι τα αρσενικά για να βρουν την τροφή τους (Hendrichs et al., 1991). Η διατροφή των ενήλικων ατόμων είναι σημαντική για την αναπαραγωγική ωρίμανσή τους (Christenson and Foote, 1960). Μερικές από αυτές τις σημαντικές διατροφικές ουσίες για το *C. capitata* είναι τα μελιτώδη απεκκρίματα των κοκκοειδών και το νέκταρ φυτών (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).

Μετά την αναπαραγωγική ωρίμανση τα ενήλικα αναζητούν άτομα του άλλου φύλου για να συζευχθούν. Για να προσελκύσουν τα θηλυκά, τα αρσενικά συγκροτούν συναθροίσεις "lek" στην κάτω πλευρά φύλλων ξενιστών, απ'όπου εκλύουν φερομόνη (Eberhard, 2000). Με αυτόν τον τρόπο τα αρσενικά προσελκύουν τα θηλυκά, ενώ τα θηλυκά έχουν τη δυνατότητα επιλογής του ιδανικού για αυτά αρσενικού με σκοπό τη σύζευξη (Papadopoulos et al., 2015). Μετά την προσέγγιση των δύο φύλων πραγματοποιείται η λεγόμενη ερωτοτροπία από τα αρσενικά και τα θηλυκά άτομα με σκοπό τη σύζευξη (Feron, 1962). Αφού πραγματοποιηθεί η σύζευξη τα θηλυκά επιλέγουν ώριμους και ημιώριμους καρπούς για να ωοτοκήσουν. Αυτό γίνεται με τη δημιουργία οπών μέσω του ωοθέτη τους, άλλοτε στο περικάρπιο και άλλοτε στο μεσοκάρπιο των καρπών, εναποθέτοντας με αυτόν τον τρόπο 1 έως και 10 αυγά σε κάθε οπή (Prokopy et al., 1978). Η οπή που δημιουργούν τα θηλυκά κατά την ωοτοκία είναι χρώματος μαύρου ή καστανού και τις περισσότερες φορές εντοπίζεται εύκολα, ενώ έχει διάμετρο 1 mm. Η οπή ωοτοκίας περιβάλλεται από μία χλωρωτική κηλίδα με διάμετρο 10-20 mm όταν οι καρποί είναι πρασινωποί (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Το είδος του καρπού αποτελεί τον κύριο παράγοντα που καθορίζει τον αριθμό των αυγών που προκύπτουν από κάθε ωοτοκία (Papadopoulos et al., 2002, Papachristos et al., 2008). Μετά την ολοκλήρωση της ωοτοκίας το θηλυκό προκειμένου να αποτρέψει τα υπόλοιπα θηλυκά από το να εναποθέσουν τα αυγά τους στον ίδιο καρπό, αποθέτει φερομόνη μέσω του ωοθέτη στον καρπό και περιμετρικά του νύγματος ωοτοκίας (Prokopy et al., 1978). Παρόλα αυτά το θηλυκό και πάλι μπορεί να ωοτοκήσει σε οπές που έχουν δημιουργήσει άλλα θηλυκά όταν ο πληθυσμός είναι υψηλός.

Με την ανάπτυξη των προνυμφών καταστρέφεται ο καρπός (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003). Εκτός από την καταστροφή της σάρκας σε καρπούς των ξενιστών ευνοείται δευτερογενώς και η ανάπτυξη βακτηρίων και μυκήτων

προκαλώντας επιπρόσθετη ζημιά. Το σάπισμα του καρπού έχει ως αποτέλεσμα την προσέλκυση και άλλων εντόμων προκαλώντας επιπρόσθετη ζημιά λόγω της εναπόθεσης των αυγών τους και της ανάπτυξης των ανήλικων τους σε αυτόν. Οι προνύμφες μετά το πέρας της ανάπτυξης απομακρύνονται από τους καρπούς και αφού πέσουν στο έδαφος νυμφώνονται σε βάθος μικρότερο από 5 cm (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 1998).

1.6 Καταπολέμηση

Η αντιμετώπιση του *C. capitata* γίνεται κατά κύριο λόγο με τη χρήση χημικών μέσων, όπως με ψεκασμούς κάλυψης ή με δολωματικούς ψεκασμούς εντομοκτόνων. Όταν πραγματοποιούνται δολωματικοί ψεκασμοί εδάφους, πέραν του εντομοκτόνου γίνεται προσθήκη μιας ελκυστικής ουσίας στο ψεκαστικό υγρό. Η ελκυστική αυτή ουσία είναι ένα υδατικό διάλυμα υδρολυμένων πρωτεϊνών, ή ένα συνθετικό ή φυσικό προϊόν της αποσύνθεσης πρωτεϊνούχων ουσιών (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).

Η παρακολούθηση του πληθυσμού της μύγας της Μεσογείου θα πρέπει να γίνεται με φερομονικές και τροφικές παγίδες όπως είναι οι τύπου Jackson και τύπου McPhail αντίστοιχα. Όσον αφορά τις παγίδες τύπου Jackson (Εικόνα 6 αριστερά), ως ελκυστικό χρησιμοποιείται η παραφερομόνη trimedlure η οποία έλκει τα αρσενικά. Στις παγίδες τύπου McPhail (Εικόνα 6 δεξιά) ως τροφικό ελκυστικό χρησιμοποιείται πουτρεσκίνη, τριμεθυλαμίνη και οξικό αμμώνιο (Katsoyannos et al., 1999α; Katsoyannos et al., 1999β; Papadopoulos, 2004). Η καταπολέμηση του *C. capitata* επιτυγχάνεται και με άλλα μέτρα όπως είναι η μαζική παγίδευση, η εφαρμογή καλλιεργητικών μέτρων, η εξαπόλυση στειρών εντόμων και η βιολογική καταπολέμηση (Mitchell and Saul, 1990).



Εικόνα 6: Παγίδα τύπου Jackson (αριστερά) και παγίδα τύπου McPhail (δεξιά)

<https://www.abc.net.au/news/2017-01-18/a-jackson-fruit-fly-trap-hanging-in-a-mango-tree-in-carnarvon./8191322>)

<https://www.ufosupplies.nl/en/ufo/products/pest-disease-control/insect-traps-pheromones/mcphail-trap/>)

Η μαζική παγίδευση έχει ως στόχο τη μείωση του πληθυσμού του εντόμου σε επίπεδα τέτοια, ώστε να μην προκαλείται στην καλλιέργεια οικονομική ζημιά. Αυτό επιτυγχάνεται με τη σύλληψη των ενήλικων εντόμων μέσω παγίδων που χρησιμοποιούν διάφορα ελκυστικά. Πιο συγκεκριμένα για τη μύγα της Μεσογείου οι παγίδες περιέχουν ένα ελκυστικό υγρό το οποίο εκλύει αμμωνία και κάποια τοξική ουσία όπως το μαλαθείο ή κάποιο άλλο εντομοκτόνο (π.χ. πυρεθρίνη). Γενικά τα καλύτερα αποτελέσματα μέσω της μαζικής παγίδευσης όσον αφορά τη μύγα της Μεσογείου, προκύπτουν όταν ο πληθυσμός του εντόμου βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα (Τζανακάκης και Κατσόγιαννος, 2003).

Όταν αναφερόμαστε στην εφαρμογή καλλιεργητικών μέτρων, εννοούμε τη χρήση διαφόρων πρακτικών όπως είναι το φρεζάρισμα με σκοπό την καταστροφή νυμφών οι οποίες εντοπίζονται σε χαμηλό βάθος κάτω από το έδαφος. Άλλα καλλιεργητικά μέτρα είναι η καταστροφή των καρπών που έχουν προσβληθεί και βρίσκονται ακόμη στο δέντρο ή έχουν πέσει στο έδαφος, αλλά και η πρόωμη συγκομιδή. Μετά τη συγκομιδή για να γίνει η προώθηση των νωπών φρούτων στις διεθνείς αγορές απαιτείται η εφαρμογή μεταχειρίσεων που μπορούν να επιτύχουν θνησιμότητα των ανηλικών σταδίων στους καρπούς 99.9968% (Papadopoulos, 2008).

Η εξαπόλυση στειρωμένων εντόμων ή αλλιώς SIT (Sterile Insect Technique) στηρίζεται στην εκτροφή μεγάλου αριθμού εντόμων, στην εφαρμογή ακτινοβολίας γ με σκοπό τη στέρωσή τους και στην απελευθέρωση των εντόμων που έχουν στειρωθεί στους αγρούς. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τα θηλυκά που έρχονται σε σύζευξη με τα στείρα αρσενικά να μη δίνουν απογόνους εφόσον τα αυγά που ωοτοκούνται είναι άγονα, οδηγώντας με αυτόν τον τρόπο στη μείωση της πυκνότητας των πληθυσμών τους. Υπάρχει όμως και η πιθανότητα να υπάρξουν απόγονοι οι οποίοι θα οδηγηθούν σε γρήγορο θάνατο λόγω της μεταβολής των χρωμοσωμάτων των γαμετών μέσω της ακτινοβολίας (Robinson et al., 1999). Παρά τα αρκετά θετικά μπορεί να προκύψουν και προβλήματα με τη χρήση αυτής της μεθόδου. Στην περίπτωση που απελευθερωθούν στο περιβάλλον μαζί με τα στείρα αρσενικά και

στείρα θηλυκά, υπάρχει πιθανότητα τα στείρα αρσενικά και θηλυκά να συζευγνύονται περισσότερο μεταξύ τους και να «απορρίπτουν» τα άγρια έντομα. Αυτό έχει ως αποτέλεσμα τη μείωση της αποτελεσματικότητας της συγκεκριμένης μεθόδου εξαιτίας του μικρού ποσοστού των συζεύξεων που πραγματοποιούνται ανάμεσα στα στείρα αρσενικά και τα άγρια θηλυκά (Rendon et al., 2000). Επιπλέον, με την απελευθέρωση στερωμένων θηλυκών υπάρχει σημαντικά μεγαλύτερο οικονομικό κόστος καθώς θα πρέπει να γίνει εκτροφή τους, θα πρέπει να επισημανθούν, να ακτινοβοληθούν και να απελευθερωθούν μαζί με τα στερωμένα αρσενικά. Επομένως η εκτροφή και η απελευθέρωση στείρων θηλυκών αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα κόστους και η απομάκρυνσή τους οδηγεί σε αύξηση της αποτελεσματικότητας της μεθόδου (McInnis et al., 1994; Hendrichs et al., 1995; Rendón et al., 2004). Επιπρόσθετα, τα στείρα αρσενικά έχουν πιο ευρεία εξάπλωση όταν απουσιάζουν τα στείρα θηλυκά γεγονός που οδηγεί σε καλύτερα αποτελέσματα (Vreysen et al., 2006a). Έτσι προκύπτει ότι με την απελευθέρωση μόνο των στείρων αρσενικών έχουμε πολύ καλύτερα αποτελέσματα από ότι με την απελευθέρωση ταυτόχρονα και αρσενικών και θηλυκών στείρων εντόμων (Rendon et al., 2000). Ένα ακόμη πρόβλημα που προκύπτει με τη χρήση αυτής της μεθόδου είναι το γεγονός ότι τα στερωμένα αρσενικά δεν είναι τόσο αποτελεσματικά όπως τα άγρια και δεν είναι τόσο ανταγωνιστικά ως προς αυτά. Αυτό οφείλεται στο ότι τα στερωμένα αρσενικά αναπτύσσονται σε διαφορετικό περιβάλλον από ότι αυτό που θα απελευθερωθούν και αυτό έχει σαν αποτέλεσμα τη διαταραχή των βιολογικών και φυσιολογικών τους συνηθειών (Estes et al., 2011).

Όσον αφορά τη βιολογική καταπολέμηση του *C. capitata*, κατά κύριο λόγο πραγματοποιείται με την εξαπόλυση εξωτικών αλλά και ιθαγενών παρασιτοειδών που έχουν ως στόχο την ελάττωση του πληθυσμού των εντόμων (Papadopoulos and Katsoyannos, 2003). Τέτοια παρασιτοειδή που έχουν παρουσιάσει μεγάλη επιτυχία είναι το *Fopius arisanus* (Zenil et al., 2004; Rouse et al., 2006) και το *Diachasmimorpha logicaudata* (Paranhos et al., 2002). Όσον αφορά την Ελλάδα δεν έχουν γίνει πολλές προσπάθειες βιολογικής καταπολέμησης. Σ'αυτές που έχουν καταγραφεί συμπεριλαμβάνεται η εξαπόλυση του παρασιτοειδούς *Dirhinus giffardi* (Hymenoptera: Clachididae) σε περιοχές της ηπειρωτικής Ελλάδας (Papadopoulos and Katsoyannos, 2003). Τέλος, στη βιολογική καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου χρησιμοποιούνται και διάφοροι εντομοπαθογόνοι μύκητες όπως είναι ο *Metarhizium anisopliae* (Quesada- Moraga et al., 2004).

1.7 Γενικά για το βακτήριο *Wolbachia pipientis*

Το *Wolbachia pipientis* είναι ένα ενδοκυτταρικό βακτήριο το οποίο ανήκει στην τάξη Rickettsiales. Προσβάλλει περισσότερα από 52% είδη αρθροπόδων, συμπεριλαμβανομένων και μερικών νηματωδών (Weinert et al., 2015). Ακόμη το βακτήριο χαρακτηρίζεται από την ικανότητα που έχει στο να επεκτείνει το φάσμα των ξενιστών του, αξιοποιώντας διαφορετικές “τεχνικές” (LePage and Bordenstein, 2013). Όσον αφορά τα αρθρόποδα, η μόλυνση έχει σχέση με διάφορες αναπαραγωγικές μεταβολές οι οποίες ευνοούν την εξάπλωση του *Wolbachia* στον πληθυσμό του ξενιστή. Τέτοιες «στρεβλώσεις» είναι η κυτταροπλασματική ασυμβατότητα (CI), η θηλυκοποίηση και η παρθενογένεση (PI) (O’Neil and Karr 1990; Rousset et al., 1992; Stouthamer et al., 1993; Clancy and Hoffmann, 1996). Η πρώτη αναφορά στα ενδοκυτταρικά βακτήρια έγινε από τους Hertig και Wolbach το 1924 στους αναπαραγωγικούς ιστούς των κουνουπιών *Culex pipiens* (Hertig and Wolbach, 1924). Αυτό που προκαλεί το βακτήριο στους ξενιστές του είναι κυτταροπλασματική ασυμβατότητα (Cytoplasmic Incompatibility, CI), η οποία εκδηλώνεται μέσα από την αδυναμία εκκόλαψης των αυγών όταν ένα μη μολυσμένο θηλυκό έρχεται σε σύζευξη με ένα αρσενικό το οποίο είναι προσβεβλημένο με *Wolbachia*. Τα αυγά που προέρχονται από θηλυκά έντομα τα οποία είναι μολυσμένα με *Wolbachia* και περιέχουν στο κυτταρόπλασμά τους το βακτήριο, θα εκκολαφθούν ανεξάρτητα από τα επίπεδα μόλυνσης των αρσενικών εντόμων (Laven, 1967; Sinkins and Gould, 2006). Στη θηλυκοποίηση τα γενετικά αρσενικά μετατρέπονται σε λειτουργικά θηλυκά τα οποία παράγουν και αυτά θηλυκούς απογόνους (Rigaud et al., 1997). Η παρθενογένεση μπορεί να προκληθεί από ένα μεγάλο αριθμό κυτταρολογικών μηχανισμών (Suomalainen et al., 1987; White, 1973). Επίσης, περιορίζεται σε είδη όπου τα θηλυκά είναι διπλοειδή και τα αρσενικά είναι απλοειδή δηλαδή είδη με προσδιορισμό απλοδιπλοειδικού φύλου (Luck et al., 1993; White, 1973). Γενικά προκαλεί διπλοειδισμό των αγονιμοποιητών απλοειδών αυγών που αναπτύσσονται ως διπλοειδή θηλυκά. Αυτό πραγματοποιείται μέσω διαφορετικών αναπαραγωγικών μορφών των γαμετών συντελώντας στην παραγωγή πλήρως ομόζυγων απογόνων (Suomalainen et al., 1987). Οι περιβαλλοντικοί παράγοντες μπορούν να επηρεάσουν την ένταση των συμβιωτικών μολύνσεων του *Wolbachia* (Mouton et al., 2006). Η επίδραση της θερμοκρασίας στην ένταση της μόλυνσης από το *Wolbachia* έχει αναφερθεί σε πολλά αρθρόποδα (Mouton et al., 2006). Σύμφωνα με τους Wiwatanaratanabutr and Grandjean (2016) σε πείραμα που

πραγματοποιήθηκε, κωπήποδα τα οποία διατηρούνταν σε θερμοκρασία 25°C είχαν πιο υψηλή ένταση μόλυνσης σε σχέση με αυτά που διατηρούνταν στους 37°C. Λίγα είναι γνωστά για τη θερμική βιολογία του *Wolbachia* ωστόσο οι υψηλές θερμοκρασίες φαίνεται να είναι δυσμενείς. Η συγκέντρωση του *Wolbachia* είναι πολύ πιο υψηλή σε θερμοκρασίες όπως 13-19 °C (Moghadam et al., 2017) και μειώνεται σε υψηλότερες θερμοκρασίες όπως είναι οι 26 °C (Clancy and Hoffmann, 1998; Hurst et al., 2000). Επομένως, το *Wolbachia* μπορεί κατά κύριο λόγο να αντιμετωπιστεί με έκθεση σε κυκλικό θερμικό στρες ή σε θερμοκρασίες πάνω από 30 °C κάτι το οποίο οδηγεί σε μείωση της κατακόρυφης μετάδοσής του (Corbin et al., 2016; Ross et al., 2017).

Όσον αφορά τη μύγα της Μεσογείου δεν έχουν παρατηρηθεί φυσικοί πληθυσμοί προσβεβλημένοι με *Wolbachia*, παρά κάποιες αναφορές που δεν έχουν επιβεβαιωθεί (Rocha et al., 2005). Τα τελευταία χρόνια έχει επιτευχθεί η δημιουργία μολυσμένων φυλών της μύγας της Μεσογείου στο εργαστήριο έπειτα από τη μεταφορά δύο στελεχών του *Wolbachia* από το *Rhagoletis cerasi* στο *C. capitata* (Zabalou et al., 2004). Ακόμη έγινε μεταφορά του *Wolbachia* στη φυλή Vienna 8 της μύγας της Μεσογείου και όταν χρησιμοποιήθηκαν αρσενικά έντομα σε αναλογία 20:1 (μολυσμένα προς μη μολυσμένα), επιτεύχθηκε 100% CI και άρα εξάλειψη του πειραματικού πληθυσμού (Zabalou et al., 2009). Σε άλλη έρευνα έγινε μόλυνση στη φυλή Μπενάκειο του *C. capitata* με τα στελέχη του *Wolbachia*, wCer2 και wCer4, τα οποία είχαν διαφορετική επίδραση στην ίδια φυλή. Ενώ έγινε επίσης μόλυνση ενός στελέχους του wCer2 σε δύο διαφορετικές φυλές, την WolMed 88.6 και τη Μπενάκειο και είχε ως αποτέλεσμα το διαφορετικό τρόπο ανταπόκρισης της κάθε φυλής στο συγκεκριμένο στέλεχος του βακτηρίου (Sarakatsanou et al., 2011).

1.8 Σκοπός

Σκοπός της παρούσας διατριβής ήταν να μελετήσουμε την επίδραση της θερμοκρασίας (15°C, 25°C και 30°C), κατά την ανάπτυξη των προνυμφών δυο πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου, στα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων και συγκεκριμένα στην επιβίωση και στην ωοτοκία τους. Επιπλέον, εξετάστηκε η επίδραση της μόλυνσης του ενδοκυτταρικού βακτηρίου *Wolbachia*.

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2: ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 Εργαστηριακές συνθήκες

Το πείραμα διεξήχθη στο εργαστήριο Εντομολογίας και Γεωργικής Ζωολογίας του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας (Εικόνα 7) από τον Νοέμβριο έως τις αρχές Μαΐου του ακαδημαϊκού έτους 2017-2018. Οι συνθήκες που επικρατούσαν στο εργαστήριο κατά τη διάρκεια του πειράματος ήταν σταθερές και ήταν οι εξής: θερμοκρασία $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, σχετική υγρασία $45\pm 5\%$ και φωτοπερίοδος Φ 14: Σ 10, ξεκινώντας από τις 7:00 έως τις 21:00. Τέλος όσον αφορά την ένταση του φωτός αυτή διαμορφωνόταν στα 1500 με 2000 lux.



Εικόνα 7: Το εργαστήριο όπου έγινε η διεξαγωγή του πειράματος

2.2 Τα έντομα που χρησιμοποιήθηκαν

Στο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν δύο φυλές εντόμων της μύγας της Μεσογείου, η F9 και η S10.3. Αναφορικά με την F9, πρόκειται για την ένατη γενεά που προέκυψε σε εργαστηριακές συνθήκες της οποίας ο αρχικός πληθυσμός προέρχονταν από μήλα τα οποία ήταν προσβεβλημένα και είχαν συλλεχθεί στην περιοχή της Θεσσαλονίκης. Όσον αφορά την S10.3, είναι μία εργαστηριακή φυλή (Μπενάκειο) η οποία είναι προσβεβλημένη από το στέλεχος *wCer4* του *Wolbachia*. Για τη διεξαγωγή του πειράματος προηγήθηκε εκτροφή των παραπάνω δύο φυλών της μύγας της Μεσογείου σε μήλα τα οποία δεν ήταν προσβεβλημένα και είχαν συλλεχθεί από την περιοχή Αγιά της Λάρισας. Σε κάθε καρπό πραγματοποιούνταν δύο σπές αντιδιαμετρικά του και στις οποίες με τη βοήθεια ενός ειδικού πινέλου γινόταν

εμφύτευση πέντε αυγών σε κάθε οπή. Στη συνέχεια κάθε καρπός τοποθετούνταν σε ειδικά πλαστικά κουτιά τα οποία καλύπτονταν με τούλι για σωστό αερισμό του καρπού και τοποθετούνταν σε ειδικούς κλιβάνους σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (15 °C, 25 °C και 30 °C) μέχρι τη νύμφωσή τους.

Τα ενήλικα έντομα μετά την έξοδο από το νυμφικό περίβλημα μεταφέρονταν, με τη βοήθεια αναρροφητήρα (aspirator) σε ειδικά πλαστικά διαφανή κλουβιά. Το κάθε κλουβί (Εικόνα 8) ήταν όγκου 400 cm³ και αποτελούνταν από ένα τεχνητό, πλαστικό, υποστρώμα ωτοκίας (Εικόνα 9), στο οποίο είχαν δημιουργηθεί περίπου 50 οπές διαμέτρου 1 mm η κάθε μία. Στις οπές που βρίσκονταν στην επιφάνεια του υποστρώματος τα θηλυκά τοποθετούσαν τον ωοθέτη τους προκειμένου να αποθέσουν τα αυγά τους. Στο κάτω μέρος του κλουβιού υπήρχε μία οπή στην οποία είχε τοποθετηθεί ένα κομμάτι από απορροφητικό πανί το οποίο αφού έρχονταν σε επαφή με ένα τρυβλίο Petri το οποίο ήταν γεμάτο με νερό διαβρέχονταν και αποτελούσε πηγή νερού για τα έντομα (Εικόνα 10).

Σε κάθε κλουβί τοποθετούνταν ένα αρσενικό και ένα θηλυκό ενήλικο. Σε ορισμένα κλουβιά υπήρχαν μόνο θηλυκά έντομα λόγω της έλλειψης αρσενικών.



Εικόνα 8: Πλαστικά διαφανή κλουβιά που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των δημογραφικών χαρακτηριστικών των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου

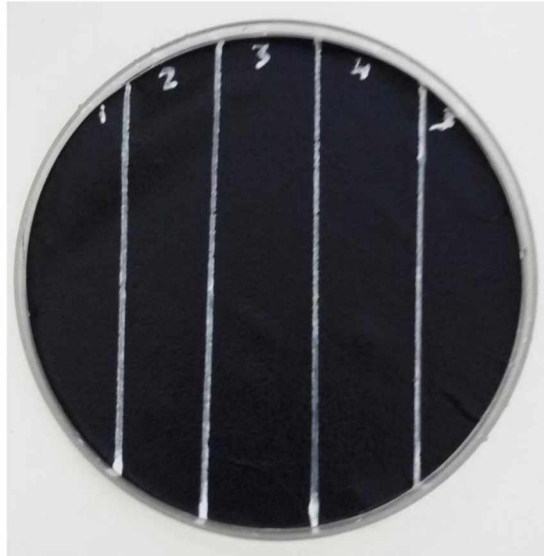


Εικόνα 9: Το τεχνητό υπόστρωμα φωτοκίας των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου



Εικόνα 10: Το δοχείο petri όπου γινόταν η τοποθέτηση του νερού

Για τη συλλογή των αυγών χρησιμοποιούνταν ένα ειδικό μαλακό πινέλο και στη συνέχεια προκειμένου να γίνει η καταμέτρηση πραγματοποιούνταν μεταφορά των αυγών μέσω του πινέλου σε ένα μαύρο διηθητικό χαρτί (Εικόνα 11) προκειμένου να είναι πιο ευκρινή τα αυγά.



Εικόνα 11: Διηθητικό χαρτί καταμέτρησης αυγών

Η τροφή των ενηλίκων που χρησιμοποιήθηκε στο πείραμα, ήταν μείγμα ζάχαρης, νερού και υδρολυμένης πρωτεΐνης σε αναλογία 4:5:1 και τοποθετούνταν με τη βοήθεια μίας πιπέτας στην πλευρά του πλαστικού κλουβιού στην οποία υπήρχε ένα πλέγμα.



Εικόνα 12: Όψη της τροφής στο πλέγμα του πειραματικού κλουβιού

2.3 Πειραματική διαδικασία

Μετά την έξοδο των ενήλικων από το νυμφικό περίβλημα, τα οποία προέρχονταν από τους καρπούς μήλων ποικιλίας Golden delicious που διατηρούνταν σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (15°C, 25°C και 30°C), μεταφέρονταν στα πλαστικά κλουβιά με τη βοήθεια του αναρροφητήρα. Σε κάθε κλουβί υπήρχε ένα αρσενικό και ένα θηλυκό ενήλικο, αλλά υπήρχαν και ορισμένα κλουβιά με μόνο ένα θηλυκό ενήλικο. Συνολικά υπήρχαν όσον αφορά τη φυλή F9: από ανήλικα που αναπτύχθηκαν στους 15°C 52 ζεύγη εντόμων και 1 θηλυκό μόνο του, στους 25°C 30 ζεύγη εντόμων και 1 θηλυκό μόνο του, και στους 30°C 20 ζεύγη εντόμων και 2 θηλυκά μόνα τους. Για τη φυλή S10.3: στους 15°C 2 ζεύγη εντόμων και στους 25°C 3 ζεύγη εντόμων. Τα κλουβιά με τα ενήλικα τοποθετούνταν σε δίσκους ανάλογα με τη φυλή και τη θερμοκρασία. Επίσης, συμπληρώνονταν νερό και τροφή όπου κρίνονταν απαραίτητο. Καθημερινά γίνονταν έλεγχος της θνησιμότητας και καταμέτρηση των αυγών. Με τη βοήθεια ενός ειδικού πινέλου αφαιρούνταν σε καθημερινή βάση τα αυγά που είχαν αποθεθεί στην κοίλη επιφάνεια του υποστρώματος φωτοκίας των πλαστικών κλουβιών. Στη συνέχεια τοποθετούνταν σε ένα μαύρο διηθητικό χαρτί για να είναι εμφανή και έτσι πραγματοποιούνταν η καταμέτρηση τους σε κάθε φυλή και από τις τρεις θερμοκρασίες. Καθ' όλη τη διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας, τα ενήλικα έντομα προστίθονταν σταδιακά στα πλαστικά πειραματικά κλουβιά ανάλογα με την ημερομηνία εξόδου από το νυμφικό τους περίβλημα. Τέλος, σε όλες τις περιπτώσεις τα ενήλικα διατηρούνταν στους 25 °C.

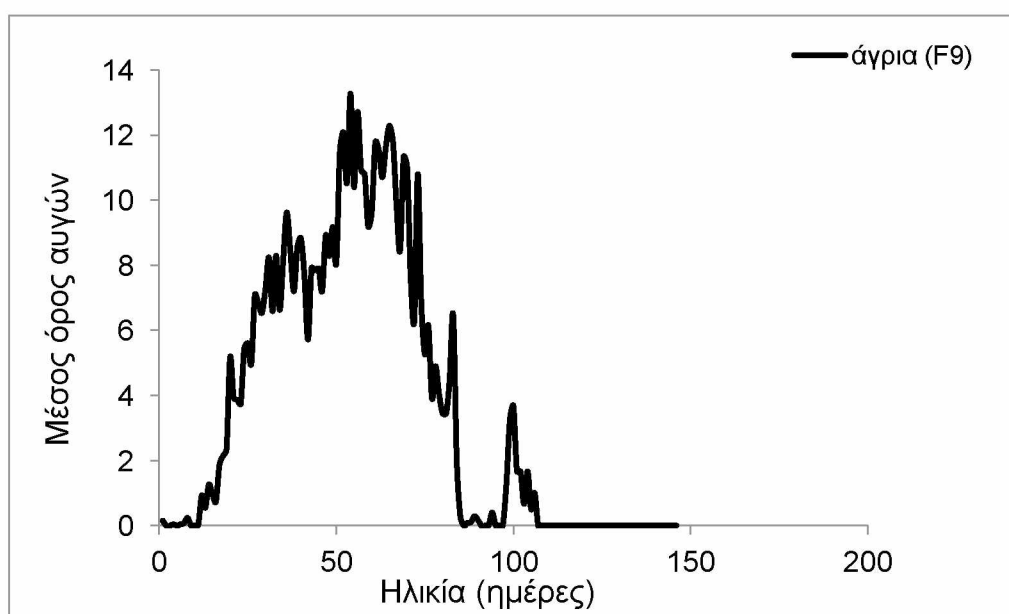
2.4 Ανάλυση δεδομένων

Τα στοιχεία αναλύθηκαν με παραμετρικές και μη παραμετρικές μεθόδους, καθώς επίσης και με δημογραφικές τεχνικές. Συγκεκριμένα χρησιμοποιήθηκε η μη παραμετρική μέθοδος Kaplan-Meier και η ανάλυση παραλλακτικότητας (One-Way ANOVA).

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3: ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

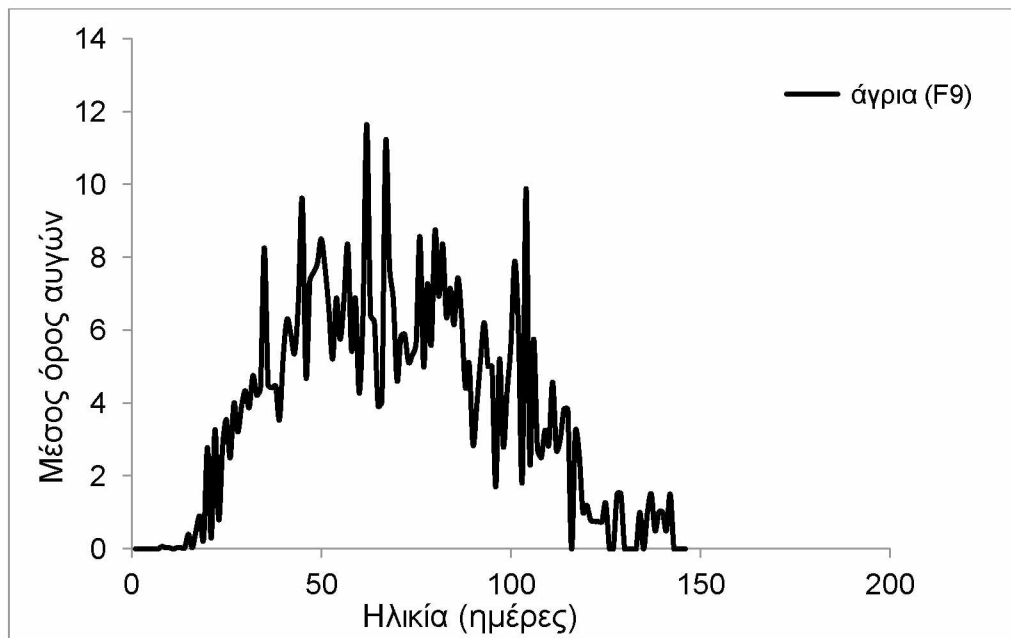
3.1 Επίδραση της θερμοκρασίας κατά την ανάπτυξη των ανηλικών στην ωτοκία θηλυκών της φυλής F9 της μύγας της Μεσογείου

Στο Διάγραμμα 1 απεικονίζεται ο μέσος όρος των αυγών που ωτοκούσαν τα θηλυκά, τα οποία προήλθαν από άτομα που αναπτύχθηκαν ως ανήλικα στους 15°C, σε συνάρτηση με την ηλικία. Παρατηρείται ότι την ημέρα 54 έχουμε τη μεγαλύτερη παραγωγή αυγών. Ακόμη φαίνεται η απότομη μείωση στον ρυθμό ωτοκίας μετά την 80^η ημέρα. Παρατηρείται επίσης ότι η ωτοκία των θηλυκών γενικά κυμάνθηκε σε μέτρια επίπεδα (0 έως 13,26 αυγά ημερησίως κατά μέσο όρο).



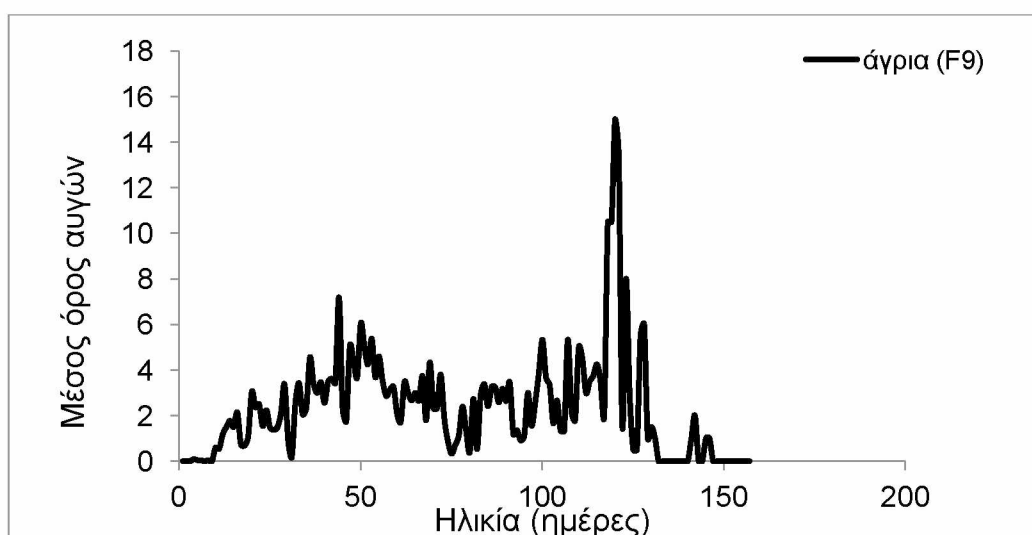
Διάγραμμα 1: Παραγωγή αυγών σε σχέση με την ηλικία των θηλυκών της φυλής Άγρια (F9) που προήλθαν από ανήλικα που αναπτύχθηκαν στους 15°C

Στο Διάγραμμα 2 απεικονίζεται ο μέσος όρος των αυγών που ωτοκούσαν τα θηλυκά, τα οποία προήλθαν από άτομα που αναπτύχθηκαν ως ανήλικα στους 25°C, σε συνάρτηση με την ηλικία. Αρχικά παρατηρείται μία σταδιακή αύξηση του αριθμού των αυγών με μερικές διακυμάνσεις έως την ημέρα 62 όπου και παρουσιάζεται το μέγιστο της ωοπαραγωγής. Στη συνέχεια, φαίνεται η μείωση του ρυθμού ωτοκίας με αρκετές αυξομειώσεις. Η ωτοκία των θηλυκών κυμάνθηκε σε μέτρια επίπεδα (0 έως 11,64 αυγά ημερησίως κατά μέσο όρο).



Διάγραμμα 2: Παραγωγή αυγών σε σχέση με την ηλικία των θηλυκών της φυλής Άγρια (F9) που προήλθαν από ανήλικα που αναπτύχθηκαν στους 25°C

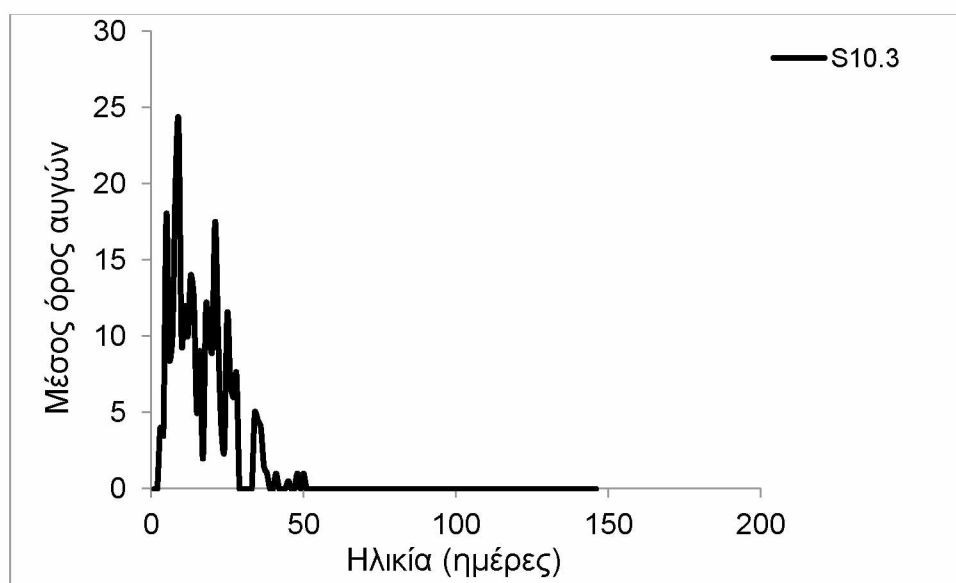
Στο Διάγραμμα 3 απεικονίζεται ο μέσος όρος των αυγών που ωοτοκούσαν τα θηλυκά, τα οποία προήλθαν από άτομα που αναπτύχθηκαν ως ανήλικα στους 30 °C, σε συνάρτηση με την ηλικία. Πιο συγκεκριμένα παρατηρούμε ότι υπάρχει μια σταδιακή αύξηση των αυγών με την αύξηση της ηλικίας. Το μέγιστο της ωοπαραγωγής σημειώθηκε στην ηλικία των 44 ημερών. Μείωση των ρυθμών ωοτοκίας σημειώθηκε μετά την ηλικία των 70 ημερών. Η ωοτοκία των θηλυκών γενικά κυμάνθηκε σε μέτρια επίπεδα (0 έως 15 αυγά ημερησίως κατά μέσο όρο). Η υψηλή ωοπαραγωγή στην ηλικία των 130 ημερών σχετίζεται με τη μικρή επιβίωση, με αποτέλεσμα ο ΜΟ να προκύπτει από μικρό αριθμό θηλυκών. Συνεπώς τα στοιχεία αυτά (στις προχωρημένες ηλικίες) δεν είναι αντιπροσωπευτικά της ομάδας των θηλυκών που εξετάστηκαν.



Διάγραμμα 3: Παραγωγή αυγών σε σχέση με την ηλικία των θηλυκών της φυλής Άγρια (F9) που προήλθαν από ανήλικα που αναπτύχθηκαν στους 30°C

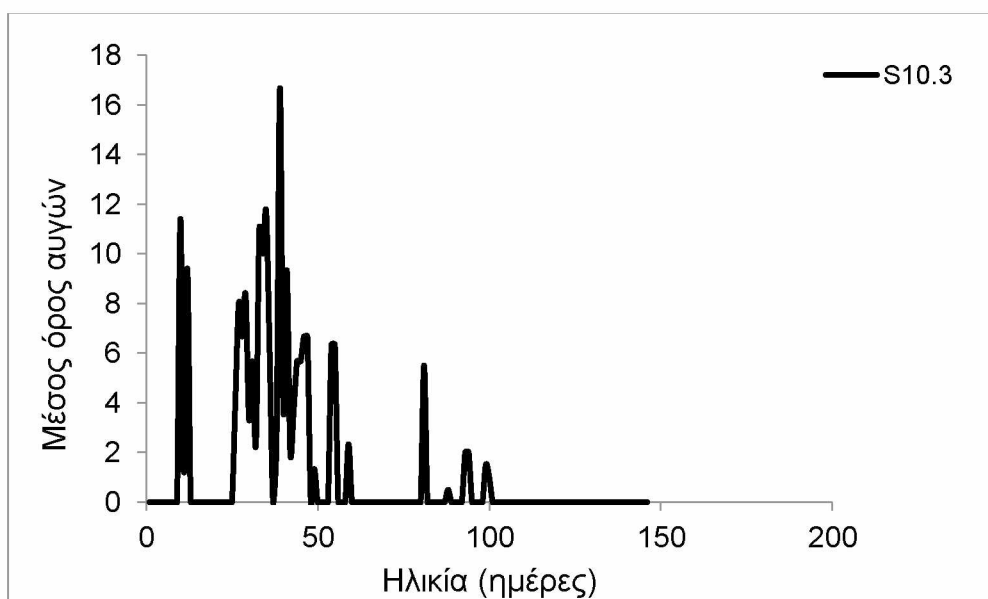
3.2 Επίδραση της θερμοκρασίας κατά την ανάπτυξη των ανηλίκων στην ωστοκία θηλυκών της φυλής S10.3 της μύγας της Μεσογείου

Στο Διάγραμμα 4 απεικονίζεται ο μέσος όρος των αυγών που ωστοκούσαν τα θηλυκά, τα οποία προήλθαν από άτομα που αναπτύχθηκαν ως ανήλικα στους 15°C, σε συνάρτηση με την ηλικία. Στο συγκεκριμένο διάγραμμα παρατηρείται ταχεία αύξηση του μέσου όρου των αυγών περίπου την 9^η ημέρα, όπου παρατηρείται και το μέγιστο της ωστοπαγωγής. Στη συνέχεια παρατηρείται σταδιακή μείωση και μηδενισμός της ωστοκίας σε αρκετά πρόωρο ηλικιακό στάδιο την 50^η ημέρα δηλαδή. Η ωστοκία των θηλυκών κυμάνθηκε σε μέτρια επίπεδα (0 έως 24 αυγά ημερησίως κατά μέσο όρο). Ο αριθμός των ζώντων θηλυκών στη συγκεκριμένη θερμοκρασία είναι 2 ενήλικα επομένως τα αποτελέσματα που προκύπτουν δεν είναι αντιπροσωπευτικά.



Διάγραμμα 4: Παραγωγή αυγών σε σχέση με την ηλικία των θηλυκών της φυλής S10.3 που προήλθαν από ανήλικα που αναπτύχθηκαν στους 15°C

Στο Διάγραμμα 5 απεικονίζεται ο μέσος όρος των αυγών που ωτοκούσαν τα θηλυκά, τα οποία προήλθαν από άτομα που αναπτύχθηκαν ως ανήλικα στους 25°C, σε συνάρτηση με την ηλικία. Στο συγκεκριμένο διάγραμμα παρατηρούνται συνεχείς και απότομες διακυμάνσεις στο μέσο όρο των αυγών, βλέπουμε δηλαδή απότομες αυξήσεις που ακολουθούνται από μηδενική παραγωγή αυγών για μερικές ημέρες και έπειτα πάλι αύξηση. Το μέγιστο της ωοπαραγωγής σημειώθηκε στην ηλικία των 10 ημερών. Η υψηλή ωοπαραγωγή στην ηλικία των 40 ημερών οφείλεται στη μικρή επιβίωση με αποτέλεσμα ο ΜΟ να προκύπτει από μικρό αριθμό θηλυκών. Συνεπώς τα στοιχεία αυτά (στις προχωρημένες ηλικίες) δεν είναι αντιπροσωπευτικά της ομάδας των θηλυκών που εξετάστηκαν. Η ωτοκία των θηλυκών κυμάνθηκε σε μέτρια επίπεδα (0 έως 17 αυγά ημερησίως κατά μέσο όρο). Ο αριθμός των ζώντων θηλυκών στη συγκεκριμένη θερμοκρασία είναι 3 ενήλικα επομένως τα αποτελέσματα που προκύπτουν δεν είναι ακριβή και δεν μπορούν να ληφθούν υπόψη.



Διάγραμμα 5: Παραγωγή αυγών σε σχέση με την ηλικία των θηλυκών της φυλής S10.3 που προήλθαν από ανήλικα που αναπτύχθηκαν στους 25°C

Σύγκριση της συνολικής ωοπαραγωγής των θηλυκών των διαφορετικών μεταχειρίσεων

Στον Πίνακα 1, δίνεται ο συνολικός αριθμός των αυγών ανά θηλυκό σε σχέση με τη μεταχείριση των θηλυκών. Η αύξηση της θερμοκρασίας στην οποία αναπτύχθηκαν οι προνύμφες επηρεάζει αρνητικά το συνολικό αριθμό των ωοτοκηθέντων αυγών ανεξάρτητα από τη φυλή της μύγας της Μεσογείου. Τα στοιχεία από τη φυλή S10.3 δε μπορούν να αξιολογηθούν καθώς προέκυψαν από ιδιαίτερα μικρό αριθμό θηλυκών που επιβίωσαν. Συνεπώς, οι συγκρίσεις αφορούν μόνο τη φυλή Άγρια (F9).

Πίνακας 1: Συνολικός μέσος όρος αυγών ανά θηλυκό των δύο φυλών της μύγας της Μεσογείου, μία άγρια (F9) και μία μολυσμένη με το βακτήριο της *Wolbachia*, S10.3

Φυλή	Θερμοκρασία (°C)	N	Μέσος όρος αυγών/ θηλυκό ± SE
F9	15	52	388,67 ± 56,6
	25	30	315,9 ± 79,5
	30	20	161,1 ± 53,8
S10.3	15	2	277,5 ± 277,5
	25	3	36,67 ± 19,1
	30		

Πίνακας 2: Ανάλυση παραλλακτικότητας της επίδρασης της θερμοκρασίας κατά την ανάπτυξη των προνυμφών στον συνολικό αριθμό αυγών ανά θηλυκό της φυλής F9

Πηγή παραλλακτικότητας	df (βαθμοί ελευθερίας)	Μέσα τετράγωνα	F	P
Συνολικός αριθμός αυγών ανά θηλυκό της F9	2	375002,676	2,459	0,091

Πίνακας 3: Ανάλυση παραλλακτικότητας της επίδρασης της θερμοκρασίας κατά την ανάπτυξη των προνυμφών στις αναπαραγωγικές περιόδους των θηλυκών της μύγας της Μεσογείου

Περίοδος αναπαραγωγής	df (βαθμοί ελευθερίας)	Μέσα τετράγωνα	F	P
περίοδος πρωτοκίας	2	327,115	0,581	0,561
περίοδος ωοτοκίας	2	570,995	0,656	0,521
περίοδος μεταωοτοκίας	2	1167,099	4,537	0,013

Όσον αφορά στις περιόδους αναπαραγωγής (Πίνακας 4) τα στοιχεία μας δείχνουν ότι η θερμοκρασία ανάπτυξης των προνυμφών δεν επηρεάζει την περίοδο προωοτοκίας, και την περίοδο ωοτοκίας σε αντίθεση με εκείνη μετά την ωοτοκία. Συγκεκριμένα, αύξηση της θερμοκρασίας συνδέεται με αύξηση της περιόδου μετά την ωοτοκία. Η περίοδος ωοτοκίας είναι μακρύτερη στα θηλυκά που προέκυψαν από ανήλικα που εκτράφηκαν στους 25°C. Όπως αναφέρεται και παραπάνω τα αποτελέσματα της φυλής S.10.3 δεν αξιολογούνται.

Πίνακας 4: Μέσοι περίοδοι αναπαραγωγής των θηλυκών των δύο φυλών της μύγας της Μεσογείου (άγρια F9 και S10.3)

Φυλή	Θερμοκρασία (°C)	Περίοδος (ημέρες ± SE)		
		Πρωοτοκίας	Ωοτοκίας	Μεταωοτοκίας
F9	15	25 ± 3,07	38,54 ± 3,72	7,1 ± 1,69
	25	22,7 ± 4,06	49 ± 6,6	11,96 ± 3,62
	30	28,55 ± 6,78	35,11 ± 8,03	20,4 ± 5,72
S10.3	15	1,5 ± 1,5	48 ± 0	9 ± 0
	25	7,33 ± 3,71	2 ± 1	3,5 ± 2,5
	30	-	-	-

Επίδραση της θερμοκρασίας ανάπτυξης των ανηλίκων στη διάρκεια ζωής και την επιβίωση των ενηλίκων

Η αύξηση της θερμοκρασίας κατά την ανάπτυξη των προνυμφών δε φαίνεται να επηρεάζει σημαντικά την επιβίωση και μακροβιότητα των ενηλίκων για τη φυλή άγρια (F9) (Πίνακας 5).

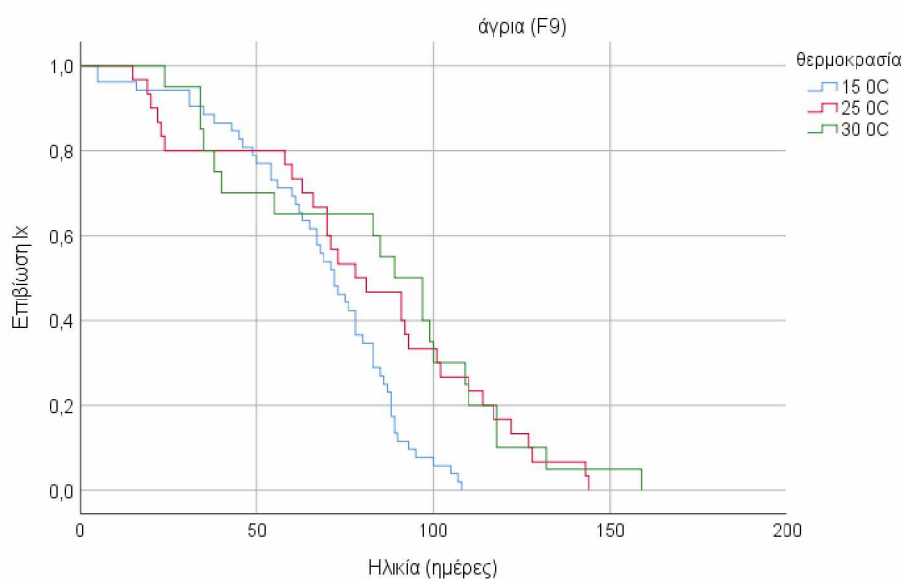
Πίνακας 5: Ενδιάμεσος και τεταρτημόρια (σε ημέρες) της μακροβιότητας των ενηλίκων των δύο φυλών της μύγας της Μεσογείου σε σχέση με την θερμοκρασία

		Τεταρτημόρια (ημέρες)					
		25		50		75	
Φυλή	θερμοκρασία	MO	SE	MO	SE	MO	SE
Άγρια (F9)	15,00	86,000	2,776	72,000	4,203	54,000	7,463
	25,00	110,000	10,039	78,000	10,954	60,000	31,488
	30,00	109,000	9,682	89,000	8,944	38,000	4,841
S10.3	15,00	60,000	.	47,000	.	47,000	.
	25,00	19,000	.	14,000	3,266	10,000	.

Πίνακας 6: Σύγκριση του ρυθμού επιβίωσης ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου, που αναπτύχθηκαν ως ανήλικα σε τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες με το κριτήριο log rank (Mantel-Cox) μετά από ανάλυση με τη μέθοδο Kaplan-Meier

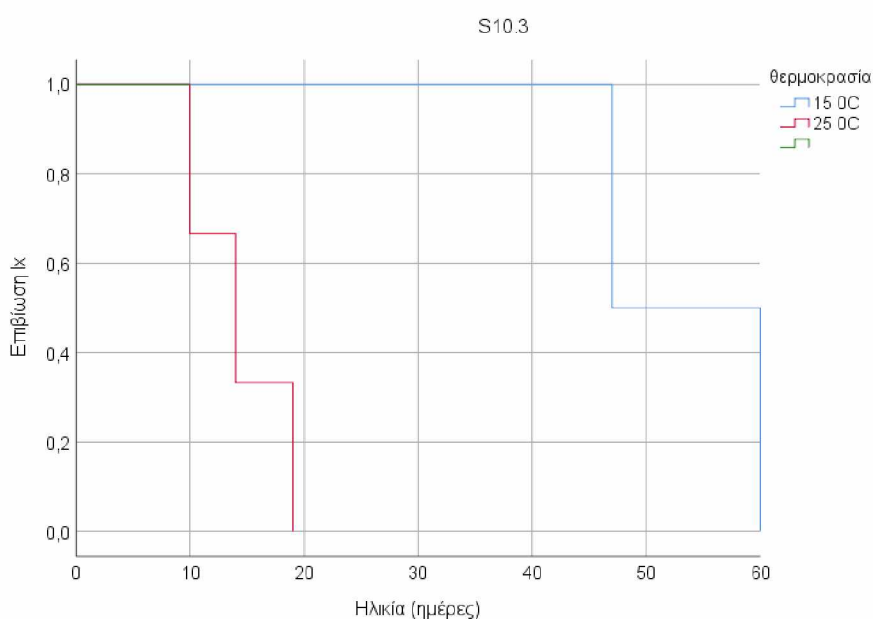
			15		25		30	
	Φυλή	Θερμοκρασία (°C)	χ^2	P	χ^2	P	χ^2	P
Log rank (Mantel-Cox)	F9	15			8,859	0,003	10,480	0,001
		25	8,859	0,003			0,175	0,676
		30	10,480	0,001	0,175	0,676		
	S10.3	15			3,446	0,063		
		25	3,446	0,063				

Στο Διάγραμμα 6 απεικονίζεται η καμπύλη επιβίωσης της φυλής F9 της μύγας της Μεσογείου για τις θερμοκρασίες 15°C, 25°C και 30°C. Στο 25% της επιβίωσης η ηλικία είναι 86 ημέρες για τους 15 °C και σχεδόν συμπίπτει για τους 25°C και 30 °C με 110 και 109 ημέρες αντίστοιχα. Στο 50% της επιβίωσης η ηλικία είναι 72 ημέρες για τους 15 °C και ελάχιστα μεγαλύτερη 78 ημέρες δηλαδή για τους 25 °C, ενώ για τους 30 °C είναι 89 ημέρες. Τέλος στο 75% της επιβίωσης η ηλικία είναι 54, 60 και 38 ημέρες για τους 15 °C, 25 °C και 30 °C αντίστοιχα.



Διάγραμμα 6: Καμπύλη επιβίωσης για την φυλή F9 της μύγας της Μεσογείου, για τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (15, 25 και 30 °C)

Στο Διάγραμμα 7 απεικονίζεται η καμπύλη επιβίωσης της φυλής S10.3 της μύγας της Μεσογείου για τις θερμοκρασίες 15°C και 25°C. Στο 25% της επιβίωσης η ηλικία για τους 15 °C είναι 60 ημέρες ενώ για τους 25 °C είναι 19 ημέρες. Στο 50% της επιβίωσης η ηλικία για τους 15 °C είναι 47 ημέρες ενώ για τους 25 °C είναι 14 ημέρες. Τέλος στο 75% της επιβίωσης η ηλικία για τους 15 °C είναι 47 ημέρες ενώ για τους 25 °C είναι 10 ημέρες. Ο αριθμός των ενηλίκων είναι πολύ μικρός στην συγκεκριμένη φυλή επομένως τα αποτελέσματα δεν μπορούν να ληφθούν υπόψη.



Διάγραμμα 7: Καμπύλη επιβίωσης για την φυλή S10.3 της μύγας της Μεσογείου, η οποία είναι μολυσμένη με το βακτήριο του *Wolbachia*, για τρεις διαφορετικές θερμοκρασίες (15, 25 και 30 °C)

ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4: ΖΥΖΗΤΗΣΗ ΚΑΙ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Στην παρούσα διατριβή μελετήθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας (15°C, 25°C, 30°C), κατά την ανάπτυξη των ανήλικων σταδίων του *C. capitata*, στην ωοτοκία και τη θνησιμότητα των ενήλικων εντόμων που προέκυψαν. Η μελέτη έγινε σε δύο διαφορετικές φυλές, την F9 και την S10.3. Σύμφωνα με τους Hoffmann and Sgro (2011), η θερμοκρασία του περιβάλλοντος αποτελεί έναν σημαντικό παράγοντα στρες, ο οποίος επηρεάζει τόσο την κατανομή όσο και την αναπαραγωγή των διαφόρων ειδών στη φύση. Ακόμη, όπως αναφέρει ο Heming (2003), τα ανήλικα στάδια των εντόμων έχουν ένα ανώτατο και ένα κατώτατο όριο θερμοκρασίας που μπορούν να ανεχθούν, επομένως θερμοκρασίες εκτός αυτών των ορίων θα επιβραδύνουν ή θα εμποδίζουν πλήρως την ανάπτυξη του εντόμου ή μπορεί να οδηγήσουν ακόμα και στο θάνατό του. Οι Cui et al. (2008), διαπίστωσαν ότι οι υψηλές θερμοκρασίες μείωσαν σημαντικά τον αριθμό των αυγών που ωοτοκήθηκαν από το *T. Vaporariorum*. Ακόμη στο ίδιο συμπέρασμα κατέληξαν και οι Christiansen et al. (2015), παρατηρώντας δηλαδή ότι στις υψηλότερες θερμοκρασίες ανάπτυξης των ανήλικων εντόμων του *Anopheles gambiae*, ο αριθμός των αυγών που ωοτοκούνταν από τα ενήλικα που προέκυπταν ήταν μικρότερος από ότι στις πιο χαμηλές θερμοκρασίες. Κάτι αντίστοιχο παρατηρήθηκε και στη συγκεκριμένη εργασία, αφού στη φυλή F9 όσο αυξάνεται η θερμοκρασία μειώνεται και ο μέσος όρος αυγών ανά θηλυκό, με 388 στους 15 °C , 315 στους 25 °C και 161 στους 30 °C . Το ίδιο φαίνεται να ισχύει και για τη φυλή S10.3, με 277 στους 15 °C και 36 στους 25°C. Σύμφωνα με τους Christiansen et al. (2014), οι υψηλές θερμοκρασίες κατά τα ανήλικα στάδια του *Anopheles gambiae*, επηρεάζουν σε μεγάλο βαθμό την επιβίωση των ενήλικων εντόμων με μικρότερη επιβίωση αυτών στις υψηλότερες θερμοκρασίες. Κάτι αντίστοιχο προέκυψε και στο συγκεκριμένο πείραμα όπου για τη φυλή F9, τα ενήλικα που προέρχονταν από θερμοκρασία 30 °C είχαν μικρότερη διάρκεια ζωής, από τους 15 °C και 25 °C. Κάτι ανάλογο συνέβη και στη φυλή S10.3 αφού με την αύξηση της θερμοκρασίας παρατηρήθηκε και μείωση της διάρκειας ζωής. Αναφορικά με τις περιόδους προωοτοκίας, ωοτοκίας και μεταωοτοκίας, στην F9 φυλή, το χρονικό διάστημα μέχρι να ξεκινήσει η ωοτοκία (προωοτοκίας) είναι μεγαλύτερο στις υψηλές θερμοκρασίες (30 °C) σε σχέση με τις χαμηλότερες. Αντίθετα, το χρονικό διάστημα ωοτοκίας είναι μεγαλύτερο στις χαμηλότερες θερμοκρασίες (15°C, 25°C)

και η περίοδος μεταωοτοκίας διαρκεί περισσότερο σε υψηλότερες θερμοκρασίες. Όσον αφορά τη φυλή S10.3, παρατηρήθηκαν ανάλογα αποτελέσματα στις περιόδους προωοτοκίας και ωοτοκίας ενώ η περίοδος μεταωοτοκίας διαρκεί περισσότερο στις χαμηλές θερμοκρασίες. Βέβαια λόγω του μικρού αριθμού των ατόμων της φυλής S10.3 δεν μπορούν να ληφθούν υπόψη τα προαναφερθέντα αποτελέσματα.

Συμπερασματικά, τα δημογραφικά χαρακτηριστικά των ενηλίκων της μύγας της Μεσογείου επηρεάζονται από τις θερμοκρασιακές συνθήκες που επικρατούν κατά τα ανήλικα στάδια. Πιο συγκεκριμένα παρατηρείται ότι με την αύξηση της θερμοκρασίας κατά τα ανήλικα στάδια, μειώνεται ο ημερήσιος μέσος όρος αυγών που ωοτοκούνται από το κάθε θηλυκό, αλλά και η διάρκεια ζωής τους.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

Ξενόγλωσση

1. Christiansen C., Parham P., Saddler A., Koella J. and Basanez M.G., 2014. Temperature during larval development and adult maintenance influences the survival of *Anopheles gambiae* s.s. *Parasit Vectors*, 7:489.
2. Christiansen C., Parham P., Saddler A., Koella J. and Basanez M.G., 2015. Larval and adult environmental temperatures influence the adult reproductive traits of *Anopheles gambiae* s.s. *Parasit Vectors*, 8:456.
3. Christenson L.D. and Foote R.H., 1960. Biology of fruit flies. *Annual Review of Entomology*, 5:171-192.
4. Clancy D. J., Hoffmann A. A., 1998. Environmental effects on cytoplasmic incompatibility and bacterial load in *Wolbachia*-infected *Drosophila simulans*. *Entomol. Exp. Appl.*, 86 :13-24.
5. Clancy D.J. and Hoffmann A.A., 1996. Cytoplasmic incompatibility in *Drosophila simulans*: evolving complexity. *Trends Ecol. Syst.*, 11:145–46.
6. Corbin C., et al., 2016. Heritable symbionts in a world of varying temperature. *Heredity*, 118: 10-20.
7. Cui X.H., Wan F.H., Xie M., Liu T.-X., 2008. Effects of heat shock on survival and reproduction of two whitefly species, *Trialeurodes vaporariorum* and *Bemisia tabaci* biotype B. *J. Insect Sci.*, 8, pp. 10.
8. De Meyer M. and Copeland R.S., 2001. Taxonomic notes on the Afrotropical subgenera *Ceratitis* (*Acropteromma*) Bezzi and *C. (Hoplomyia)* Bezzi (Diptera: Tephritidae). *Cimbebasia*, 17:77-84.
9. Eberhard W.G., 2000. Sexual behavior and sexual selection in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata* (Diptera: Ceratitidini). In: Aluja M. and Norrbom A.L., (eds.), *Fruit Flies (Tephritidae): Phylogeny and Evolution of Behavior*, CRC Press, Boca Raton, Florida, pp. 459-489.
10. Estes A.M., Nestel D., Balcarì A., Jessup A., Rempoulakis P. and Economopoulos A.P., (2011) A basis for the renewal of sterile insect technique for the olive fly, *Bactocera oleae* (Rossi). *Journal of Applied Entomology*, 22: 112-122.
11. Feron M., 1962. L'instinct de reproduction chez la mouche mediterraneenne des fruits *Ceratitis capitata*. Comportement de ponte. *Revue de Pathologie Vegetale et d'Entomologie Agricole de France*, 41:1-129.

12. Fimiani P., 1989 Mediterranean region. In: Robinson A.S. and Hooper G., (eds.), *Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control*, Elsevier, The Netherlands, Vol 3A, pp. 3950.
13. Fletcher B.S, 1989. Life history strategies of Tephritidae fruit flies. In: Robinson A.S. and Hooper G., (eds.), *Fruit Flies: Their Biology, Natural Enemies and Control*, Elsevier, Amsterdam, Vol. A, pp. 195-208.
14. Hagen K.S., Allen W.W. and Tassan R.L., 1981. Mediterranean fruit fly: the worst may be yet to come. *California Agriculture*, 35:5-7.
15. Heming B.S., 2003. *Insect Development and Evolution* Cornell University Press, Ithaca, NY.
16. Hendrichs J., Franz G., Rendon P., 1995. Increased effectiveness and applicability of the sterile insect technique through male-only releases for control of Mediterranean fruit flies during fruiting seasons, *J. Appl. Entomol.* 119: 371–377.
17. Hendrichs J., Katsoyannos B.I., Papaj D.R. and Prokopy R.J., 1991. Sex differences in movement between natural feeding and mating sites and tradeoffs between food consumption, mating success and predator evasion in Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae). *Oecologia*, 86:223-231.
18. Hertig M. and Wolbach SB., 1924. Studies on rickettsia-like microorganisms in insects. *J. Med. Res*, 44:329–74.
19. Hoffmann A.A. and Sgro C.M., 2011. Climate change and evolutionary adaption. *International journal of science. Nature* 470, pp. 479-485.
20. Hurst G.D.D., et al., 2000. Male-killing *Wolbachia* in *Drosophila*: a temperature-sensitive trait with a threshold bacterial density. *Genetics*. 156: 699-709.
21. Katsoyannos B.I., Heath R.R., Papadopoulos N.T. et al. 1999 α . Field evaluation of Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) female selective attractants for use in monitoring programs. *Journal of Economic Entomology*, 92:583-589.
22. Katsoyannos B.I., Papadopoulos N.T., Heath R.R. et al. 1999 β . Evaluation of synthetic food-based attractants for female Mediterranean fruit flies (Diptera: Tephritidae) in McPhail type traps. *Journal of Applied Entomology*, 123:607-612.

23. Kourti A., 2002. Estimates of heterozygosity and patterns of geographic differentiation in natural populations of the medfly (*Ceratitis capitata*). *Hereditas*, 137:173-179.
24. Kourti A., Loukas M. and Sourdis J., 1992. Dispersion pattern of the medfly from its geographic centre of origin and genetic relationships of the medfly with two close relatives. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 63:63-69.
25. Laven H., 1967. Eradication of *Culex pipiens fatigans* through cytoplasmic incompatibility. *Nature*, 216:383-384.
26. LePage, D. and Bordenstein S.R., 2013. Wolbachia: Can we save lives with a great pandemic? *Trends in Parasitology* Volume 29, pp. 385-393.
27. Liquido N.J, Shinoda L.A. and Cunningham R.T., 1991. Host plants of the Mediterranean fruit fly (Diptera, Tephritidae) an annotated world review. In: Lanham M.D., (ed.), *Miscellaneous Publications 77*, Entomological Society of America, Vol. 83, pp. 1863-1878.
28. Luck R.F., Stouthamer R. and Nunney L., 1993. Sex determination and sex ratio patterns in parasitic Hymenoptera. In: Wrensch D.L. and Ebbert M.A., (eds.), *In Evolution and diversity of sex ratio in haplodiploid insects and mites*, Chapman and Hall, New York, pp. 442-476.
29. Mavrikakis P.G., Economopoulos A.P. and Carey J.R., 2000. Continuous winter reproduction and growth of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Heraklion, Crete, Southern Greece. *Environmental Entomology*, 29:1180-1187.
30. McInnis D.O., Tam S.Y.T., Grace C.Miyashita D., 1994. Population suppression and sterility rates induced by variable sex-ratio, sterile insect releases of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Hawaii, *Ann. Entomol. Soc. Am.* 87: 231–240.
31. Mitchell A.C. and Saul S.H., 1990. Current control methods for the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*, and their application in the USA. *Review of Agricultural Entomology*, 78:923-940.
32. Moghadam N. N., et al., 2017. Strong responses of *Drosophila melanogaster* microbiota to developmental temperature. *Fly*. 1-12.
33. Mouton L., Henri H., Bouletreau M., Vavre F., 2006. Effect of temperature on Wolbachia density and impact on cytoplasmic incompatibility. *Parasitology* Volume 132, Issue 1, pp. 49-56.

34. O'Neill SL. and Karr TL., 1990. Bidirectional incompatibility between conspecific populations of *Drosophila simulans*. *Nature*, 348:178–80.
35. Ordax M., Piquer-Salcedo J.E., Santander R.D., Sabater-Muñoz B., Biosca E.G., López M. and Marco-Noales E., 2015. Medfly *Ceratitidis capitata* as Potential Vector for Fire Blight Pathogen *Erwinia amylovora*: Survival and Transmission. *Plos one*, 10:5.
36. Papachristos D.P., Papadopoulos N.T. and Nanos G.D., 2008. Survival and development of immature stages of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in Citrus Fruit. *Journal of Economic Entomology*, 101:866-872.
37. Papadopoulos N., 1998. Study on the biology and ecology of the Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Diptera: Tephritidae) in Northern Greece, Aristotle University, Thessaloniki. Ph. D. thesis.
38. Papadopoulos N.T., 2004. Mediterranean fruit fly *Ceratitidis capitata* (Diptera Tephritidae). In: Caminera J. (ed.), *Encyclopedia of Entomology*, Vol.2, Kluwer Academic Press, pp.1367-1370.
39. Papadopoulos N., 2008. Mediterranean fruit fly, *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). In: Capinera J. L., (ed.), *Encyclopedia of Entomology*, pp.2382-2386.
40. Papadopoulos N.T. and Katsoyannos B.I., 2003. Field parasitism of *Ceratitidis capitata* larvae by *Aganaspis daci* in Chios, Greece. *BioControl*, 48:191-195.
41. Papadopoulos N.T., Carey J.R., Katsoyannos B.I. and Kouloussis N.A., 1996. Overwintering of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) in northern Greece. *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, 89:526-534.
42. Papadopoulos N.T., Carey J.R., Katsoyannos B.I., Kouloussis N.A., Hans-Georg Müller and Xueli Liu 2002. Supine behaviour predicts the time to death in male Mediterranean fruitflies (*Ceratitidis capitata*), *The Royal Society*, pp. 1633-1637.
43. Papadopoulos N.T., Papachristos D.P. and Ioannou C., 2015. Citrus Fruits and the Mediterranean Fruit Fly. *Laboratory of Entomology and Agricultural Zoology, University of Thessaly, N. Ionia Magnisias, Greece*, pp.1009-1018.
44. Papadopoulos N.T., Plant R.E and Carey J.R., 2013. From trickle to flood: the large-scale, cryptic invasion of California by tropical fruit flies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 280.

45. Paranhos B.J.A., Walder J.M.M. and Papadopoulos N.T., 2002. A simple method to study parasitism and field biology of the parasitoid *Diachasmimorpha longicaudata* (Hymenoptera: Braconidae) on *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Biocontrol science and Technology*, 13: 631-639.
46. Prokopy R.J., Ziegler J.R. and Wong T.T., 1978. Deterrence of repeated oviposition by fruit-marking pheromone in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *Journal of Chemical Ecology*, 4:55-63.
47. Quesada-Moraga E., Ruiz-Garci A. and Santiago-Alvarez C., 2004. Horizontal Transmission and reproductive effects of *Metarhizium anisopliae* on the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 87:51-58.
48. Rendon P., Melnnis D., Lance D. and Stewart J., 2000. Comparison of medfly male only and bisexual fruit flies and other insect pests. International conference on Area – wide Control of insect Pests, 28 May- 5 June 1998, Penang, Malausia.
49. Rendon P., McInnis D., Lance D., Stewart J., 2004. Medfly (Diptera: Tephritidae) genetic sexing: large scale field comparison of malesonly and bisexual sterile fly releases in Guatemala, *J. Econ. Entomol.* 97: 1547–1553.
50. Rigaud T, Juchault P, Mocquard JP 1997. The evolution of sex determination in isopod crustaceans. *BioEssays* 19:409–416.
51. Robinson A.S., Innis Mc. and Lance D., 1999. Genetic sexing strains in the medfly, *Ceratitis capitata*, development, mass reraring and field application. *Trend in Entomology*, 2:21-104.
52. Rocha LS., Mascarenhas RO., Perondini ALP. and Selivon D., 2005. Occurrence of *Wolbachia* in Brazilian samples of *Ceratitis capitatan* (Wiedemann) (Diptera:Tephritidae), *Neotrop. Entomol*, vol. 34, pp. 1013-1015.
53. Ross P. A., et al., 2017. *Wolbachia* infections in *Aedes aegypti* differ markedly in their response to cyclical heat stress. *PLoS Pathog.* 13, e1006006.
54. Rouse P., Gourdon F. and Quilici S., 2006. Host specificity of the egg pupal parasitoid *Fopius arisamus* (Hymenoptera: Braconidae) in La Reunion. *Biological Control*, 37: 284-290.

55. Rousset F., Bouchon D., Pintureau B., Juchault P., Solignac M., 1992. *Wolbachia* endosymbionts responsible for various alterations of sexuality in arthropods. *Proc. R. Soc. London Ser. B*250:91–98.
56. Salvemini M., Arunkumar K.P., Nagaraju J., Sanges R., Petrella V., Tomar A., Zhang H., Zheng W. and Saccone G. 2014. De Novo Assembly and Transcriptome Analysis of the Mediterranean Fruit Fly *Ceratitidis capitata* Early Embryos. *PLoS ONE*, 9:12.
57. Sarakatsanou A., Diamantidis A.D., Papanastasiou S.A., Bourtzis K. and Papadopoulos N.T., 2011. Effects of *Wolbachia* on fitness of the Mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). *Journal of applied entomology*.
58. Sinkins S.P. and Gould F., 2006. Gene drive systems for insect disease vectors *Nat. Rev. Genet.*, 7:427-435.
59. Suomalainen E., Saura A. and Lokki J., 1987. *Cytology and evolution in parthenogenesis*. CRC Press, Boca Raton, Fla.
60. Stouthamer R., Breeuwer J.A.J., Luck R.F., Werren J.H., 1993. Molecular identification of microorganisms associated with parthenogenesis. *Nature* 361:66–68.
61. Vreysen M.J.B., Barclay H.J., Hendrichs J., 2006a. Modeling of preferential mating in area-wide control programs that integrate the release of strains of sterile males-only or both sexes, *Ann. Entomol. Soc. Am.* 99:607–616.
62. Weinert L.A., Araujo-Jnr E.V., Ahmed M.Z. and Welch J.J., 2015. The incidence of bacterial endosymbionts in terrestrial arthropods. *Proceedings of the royal society B, Biological sciences*.
63. Weldon C.W., Boardman L., Marlin D. and Terblanche J.S., 2016. Physiological mechanisms of dehydration tolerance contribute to the invasion potential of *Ceratitidis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) relative to its less widely distributed congeners. *Frontiers in Zoology*, 13:15.
64. White I.M. and Elson-Harris M.M., 1992. *Fruit Flies of Economic Significance Their Identification and Bionomics* C.A.B INTERNATIONAL, WALLINGFORD, ENGLAND, UK.
65. White M.J.D., 1973. *Animal cytology and evolution*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K.
66. Wiwatanaratnabutr I. and Grandjean F., 2016. Impacts of temperature and crowding on sex ratio, fecundity and *Wolbachia* infection intensity in the

- copepod, *Mesocyclops thermocyclopoides*. *Journal of Invertebrate Pathology*, Volume 141, pp. 18-23.
67. Zabalou S., Apostolaki A., Livadaras I., Franz G., Robinson AS., Savakis C., Bourtzis K., 2009. Incompatible insect technique: incompatible males from a *Ceratitis capitata* genetic sexing strain, *Entomol Exp. Appl.* Vol.132, pp. 232-240.
68. Zabalou S., Riegler M., Theodorakopoulou M., Stauffer C., Savakis C., Bourtzis K., 2004. Wolbachia- induced cytoplasmic incompatibility as a means for insect pest population control. *Proc. Natl. Acad. Sci*, vol. 101, pp. 15042- 15045.
69. Zenil M., Liedo P., Williams T. et al., 2004. Reproductive biology of *Fopius arisanus* (Hymenoptera: Braconidae) on *Ceratitis capitata* and *Anastrepha* spp.(Diptera: Tephritidae). *Biological Control*, 29: 169-178.

Ελληνόγλωσση

70. Παπαδόπουλος Ν.Θ., 1999. Μελέτη της βιολογίας και οικολογίας της μύγας της Μεσογείου, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) στη βόρεια Ελλάδα. Τμήμα Γεωπονίας, Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, σελ.198.
71. Παπαδόπουλος Ν.Θ., Σταυρίδης Δ.Γ. και Ζάρπας Κ.Δ., 2010. Η μύγα της Μεσογείου στην Ελλάδα: υφιστάμενη κατάσταση και σχεδιασμός της αντιμετώπισής της. Πρακτικά 5^{ης} Πανελληνίας Συνάντησης Φυτοπροστασίας. Λάρισα.
72. Τζανακάκης Μ.Ε. και Κατσόγιαννος Β.Ι., 1998. Έντομα Καρποφόρων Δέντρων και Αμπέλου Εκδόσεις ΑγροΤύπος, Αθήνα.
73. Τζανακάκης Μ. Ε. και Κατσόγιαννος Β. Ι., 2003. Έντομα Καρποφόρων Δέντρων και Αμπέλου. Εκδόσεις ΑγροΤύπος, Αθήνα.

Ηλεκτρονικές πηγές- Εικόνες

Εικόνα 5: <https://gd.eppo.int/taxon/CERTCA/distribution>

Εικόνα 6: <https://www.abc.net.au/news/2017-01-18/a-jackson-fruit-fly-trap-hanging-in-a-mango-tree-in-carnarvon./8191322>

Εικόνα 7: <https://www.ufosupplies.nl/en/ufo/products/pest-disease-control/insect-traps-pheromones/mcphail-trap/>