

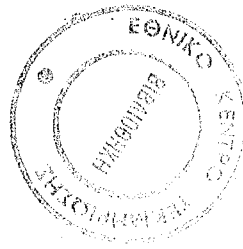
ΓΕΩΡΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

**ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ
CERATITIS CAPITATA (Wiedemann)
(Diptera: Tephritidae)**

ΙΩΑΝΝΑ Θ. ΚΟΥΡΤΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 1990



ΓΕΩΡΓΙΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ ΓΕΩΡΓΙΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ ΚΑΙ ΒΙΟΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ
ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΓΕΝΕΤΙΚΗΣ

ΓΕΝΕΤΙΚΗ ΜΕΛΕΤΗ
ΠΛΗΘΥΣΜΩΝ ΤΟΥ ΕΝΤΟΜΟΥ
CERATITIS CAPITATA (Wiedemann)
(Diptera: Tephritidae)

ΙΩΑΝΝΑ Θ. ΚΟΥΡΤΗ

ΔΙΔΑΚΤΟΡΙΚΗ ΔΙΑΤΡΙΒΗ

ΑΘΗΝΑ 1990

Η έγκριση της παρούσας διδακτορικής διατριβής υπό
του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών δεν υποδηλοί
αποδοχή των γνώμων του συγγραφέως.

(Ν.5343/1982 άρθρο 202)

Στη Χαρά

Π Ρ Ο Λ Ο Γ Ο Σ

Η εργασία αυτή πραγματοποιήθηκε κατά το μεγαλύτερο μέρος της στο Εργαστήριο Γενετικής του Γεωργικού Πανεπιστημίου Αθηνών (πρώην ΑΓΣΑ), καθώς και στο τμήμα Εντομολογίας του Πυρηνικού Κέντρου " ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ " .

Τον επιβλέποντα καθηγητή Κο Μ. Λουκά ευχαριστώ θερμά, τόσο για τη σημαντικότερη συμβολή του στο πειραματικό μέρος, όσο και για τη γενικότερη καθοδήγηση του σε όλες της φάσεις της εργασίας αυτής.

Θερμά ευχαριστώ τον καθηγητή Κο Κ. Κριμπά, τόσο για την αμέριστη βοήθεια του, όσο και για τις προτροπές και συμβουλές του που βοήθησαν σημαντικά την όλη εργασία.

Ευχαριστώ πολύ την Λέκτορα Κα Ι. Βεργίνη για την τόσο ουσιαστική της βοήθεια και τη διδασκαλία των τεχνικών ηλεκτροφόρησης.

Ευχαριστώ το συνάδελφο του Εργαστηρίου Επίκουρο καθηγητή Κο Ι. Σούρδη, για τη βοήθεια του στην επεξεργασία των αποτελεσμάτων και την κατασκευή των φυλογενετικών δένδρων.

Ευχαριστώ επίσης το προσωπικό του τμήματος Εντομολογίας του " ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΥ " για τη βοήθεια και φιλική του αντιμετώπιση σε όλη τη διάρκεια των πειραμάτων μου εκεί.

Ευχαριστώ πολύ τους καθηγητές Κο Α. Σαντά, Κα Α. Ζαχαροπούλου και Κο Β. Κατσόγιαννο, για τις διορθώσεις και συμβουλές τους, ως μέλη της πενταμελούς εξεταστικής επιτροπής της διδακτορικής αυτής διατριβής.

Ευχαριστώ θερμά όλους τους συναδέλφους στο Εργαστήριο Γενετικής για την καθημερινή τους παρουσία και συμπαράσταση σε όλες της φάσεις της εργασίας μου.

Ευχαριστώ επίσης ιδιαίτερα όλους εκείνους που με τόση προθυμία βοήθησαν στη συλλογή του υλικού μου τόσο στην Ελλάδα όσο και στο εξωτερικό.

Τέλος θα ήθελα να ευχαριστήσω και από τη θέση αυτή το Υπουργείο Γεωργίας και το Διεθνή Οργανισμό Ατομικής Ενέργειας που εδράζεται στη Βιέννη, για την οικονομική ενίσχυση της υπόψη εργασίας.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

- 1.1. Ταξινόμηση του εντόμου
- 1.2. Φυλογένεια της μύγας της Μεσογείου σε σχέση με άλλα δίπτερα έντομα
- 1.3. Κυτταρογενετική της μύγας της Μεσογείου (χρωματοσώματα - ομάδες σύνδεσης)
- 1.4. Βιολογία - Ηθολογία αναπαραγωγής - Οικολογία
- 1.5. Ξενιστές του εντόμου
- 1.6. Γεωγραφική εξάπλωση του εντόμου
- 1.7. Η μύγα της Μεσογείου ως γενετικό υλικό
- 1.8. Σημασία του εντόμου στη Γεωργία
- 1.9. Στόχοι της παρούσας εργασίας

2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

- 2.1. Συλλογή φυσικών πληθυσμών
- 2.2. Ηλεκτροφορητικές μέθοδοι
- 2.3. Εκτροφή του εντόμου στο εργαστήριο
- 2.3.1. Συνθήκες εκτροφής
- 2.3.2. Μέθοδοι και τεχνικές εκτροφής του εντόμου
- 2.4. Πειράματα ανίχνευσης κρυμμένου πολυμορφισμού
- 2.4.1. Δημιουργία " ισογονικών στελεχών "
- 2.4.2. Πείραμα ουρίας "
- 2.4.3. Πειράματα με φυσικούς και εργαστηριακούς πληθυσμούς
- 2.4.3.1. Έλεγχος γενετικής ποικιλομορφίας μεταξύ γειτονικών πληθυσμών αλλά από διαφορετικούς ξενιστές
- 2.4.3.2. Έλεγχος τυχόν προτίμησης στην εναπόθεση των αυγών από το θηλυκό, ως προς τον ξενιστή
- 2.4.4. Έλεγχος του ρυθμού μονιμοποίησης για το γόνο PEP-1 39 υποπληθυσμών που ο καθένας αποτελείται από ένα ζεύγος ατόμων
- 2.5. Έλεγχος γενετικής ποικιλομορφίας μεταξύ 3 ειδών του γένους Ceratitis.

2.6. Μέθοδοι εκτίμησης γενετικών αποστάσεων

3. Α Π Ο Τ Ε Λ Ε Σ Μ Α Τ Α – Σ Υ Ζ Η Τ Η Σ Η

- 3.1. Μελέτη της γενετικής δομής των φυσικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου
 - 3.1.1. Διασταυρώσεις για τον έλεγχο μενδελιανού διαχωρισμού των αλληλομόρφων
 - 3.1.2. Συχνότητες αλληλομόρφων των γόνων στους διάφορους φυσικούς πληθυσμούς
 - 3.1.3. Βαθμός γενετικής ποικιλομορφίας των φυσικών πληθυσμών
 - 3.1.4. Σχέση ποικιλομορφίας και περιβαλλοντικής ετερογένειας
 - 3.1.5. Πείραμα ουρίας
- 3.2. Σχέση εντόμου – Ξενιστή
 - 3.2.1. Γενικά
 - 3.2.2. Σχέση της μύγας της Μεσογείου και των διαφόρων Ξενιστών
- 3.3. Δημιουργία αποικιών
 - 3.3.1. Πιθανότητα εγκαθίδρυσης αποικίας
 - 3.3.2. Μείωση της μέσης ετεροζυγωτίας και του μέσου αριθμού αλληλομόρφων στις αποικίες
 - 3.3.3. Γεωγραφική εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου με βάση τα αλλόζυμα
- 3.4. Μελέτη γενετικών αλλαγών σε εργαστηριακούς πληθυσμούς
- 3.5. Γενετικές αποστάσεις και φυλογενετικές σχέσεις
 - 3.5.1. Μεταξύ ειδών Ceratitis
 - 3.5.2. Συμπεράσματα από τη φυλογενετική ανάλυση 15 φυσικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου
 - 3.5.3. Συμπεράσματα από την Ανάλυση των Κυρίων Συνιστωσών (Principal Component Analysis)

4. Σ Υ Μ Π Ε Ρ Α Σ Μ Α Τ Α

5. Π Ε Ρ Ι Λ Η Ψ Η

6. Β Ι Β Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1 Ταξινόμηση του εντόμου

Η ταξινόμηση του εντόμου Ceratitis capitata , έχει ως εξής [κατά: Throckmorton (1975), Borroret et al. (1976), Wheeler (1981)].

ΤΑΞΗ: DIPTERA

ΥΠΟΤΑΞΗ: CYCLORRHAPHA

ΔΙΑΙΡΕΣΗ: SCHIZOPHORA

ΥΠΕΡΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ: ACALYPTERATAE

ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ: TERPHRITIDAE

ΥΠΟΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑ: TRYPETINAE

ΓΕΝΟΣ: Ceratitis

ΕΙΔΟΣ: capitata (Wiedemann , 1824)

1.2 Φυλογένεια της μύγας της Μεσογείου σε σχέση με
άλλα Δίπτερα

Οι οικογένειες Drosophilidae και Terphritidae ανήκουν στην υποτάξη Cyclorrhapha (τάξη Δίπτερα) και στη διαίρεση Schizophora. Κατά το Ιουρασικό (πρίν από 135 εκατομ. χρόνια) δεν υπάρχουν στοιχεία απολιθωμάτων των διπτέρων αυτών, ενώ υπάρχουν - και μάλιστα άφθονα-για είδη που ανήκουν στις υποτάξεις των κατωτέρων διπτέρων

Nematocera και Brachycera [Henning (1973), Rohdendorf (1974)]. Αντίθετα, πολλές οικογένειες των Schizophora υπάρχουν ήδη νωρίς στον καινοζωϊκό αιώνα. Έτσι, είναι πιθανό ο διαχωρισμός των οικογενειών στα Schizophora να έγινε πριν από 65 εκατομμύρια χρόνια, κατά τη διάρκεια του Κρητιδικού.

Κατά τον Henning (1973), ο διαχωρισμός των Schizophora έγινε το ελάχιστο πριν από 65 εκατομμύρια χρόνια και το μέγιστο πριν από 135 εκατομμύρια χρόνια.

Οι Beverley και Wilson (1984), χρησιμοποιώντας την πρωτεΐνη της αιμολέμφου των προνυμφών (LHP), υπολόγισαν τους χρόνους διαχωρισμού διαφόρων ειδών διπτέρων με βάση τις ανοσολογικές τους αποστάσεις. Η μοριακή αυτή προσέγγιση έδειξε ότι ο διαχωρισμός των Drosophilidae και Tephritidae έγινε κατά τη διάρκεια του Κρητιδικού (120-130 εκατομμύρια χρόνια), ενώ οι περαιτέρω διαχωρισμοί εντός των προηγούμενων οικογενειών , άρχισαν το Κρητιδικό και συνεχίστηκαν τον Καινοζωϊκό αιώνα.

Στον Πίνακα 1 δίνονται οι χρόνοι διαχωρισμού (σε εκατ. χρόνια) ειδών της οικογένειας Tephritidae από τα είδη Drosophila melanogaster και Dacus cucurbitae. Ο Πίνακας αυτός προέκυψε από τον Πίνακα 5 της εργασίας των Beverley και Wilson (1984) με μετατροπή των ανοσολογικών αποστάσεων σε μονάδες χρόνου (εκατ. χρόνια)

 ΠΙΝΑΚΑΣ 1

Χρόνοι διαχωρισμού μεταξύ οικογενειών
των ανωτέρων Διπτέρων

Χρόνος διαχωρισμού (εκατ. χρόνια)

Drosophila melanogaster Dacus cucurbitae

Οικ. Tephritidae

Υποοικ. Dacinae

Dacus cucurbitae 136 0

Dacus dorsalis — 17

Υποοικ. Trypetinae

Anastrepha suspensa 120 30

Ceratitis capitata 125 31

Rhagoletis cerasi 130 39

Από τον Πίνακα 1 προκύπτει ότι ο μέσος χρόνος διαχωρισμού του είδους D. cucurbitae, που ανήκει στην υποοικογένεια Dacinae, από τα 3 γένη της οικογένειας Trypetinae (Anastrepha, Ceratitidis, Rhagoletis) είναι 33 εκατ. χρόνια. Η υποοικογένεια Dacinae περιορίζεται στους τροπικούς του παλαιού κόσμου, ενώ η Trypetinae απαντά σ'όλο τον κόσμο. Από βιογεωγραφικές εκτιμήσεις, η υποοικογένεια Dacinae θεωρείται ότι εμφανίστηκε μετά από το διαχωρισμό των τροπικών του παλαιού και του νέου κόσμου.

Ο χρόνος διαχωρισμού των ειδών αυτών, τοποθετείται στην αρχή του Ολιγοκαίνου, περίπου πριν από 36 εκατ. χρόνια [βλέπε Tarling (1980), Sarich and Cronin (1980), για άλλα παραδείγματα ομάδων του παλαιού και του νέου κόσμου που διαχωρίσθηκαν την περίοδο αυτή εξαιτίας της απομάκρυνσης της Αφρικής και της Νότιας Αμερικής (Continental Drift)].

Ετσι, οι βιογεωγραφικές εκτιμήσεις διαχωρισμού των Dacinae και Trypetinae συμπίπτουν μ'εκείνες των Beverley και Wilson (1984). Της ίδιας τάξης μεγέθους είναι και οι εκτιμήσεις του Kitto (1982). Ο Kitto χρησιμοποιώντας το ένζυμο αφυδρογονάση του α-γλυκεροφωσφορικού (α-GPD) υπολόγισε με βάση τις ανοσολογικές αποστάσεις, ότι οι υποοικογένειες Dacinae και Trypetinae, διαχωρίσθηκαν περίπου πριν από 55 εκατ. χρόνια, ενώ ο διαχωρισμός των οικογενειών Tephritidae και Drosophilidae έγινε πριν από 90 εκατ. χρόνια περίπου.

1.3 Κυτταρογενετική της μύγας της Μεσογείου (χρωματοσώματα, ομάδες σύνδεσης)

Όπως έχει αναφερθεί από τους Radu (1975), Southern (1976), Gasperi et al. (1982), Bedo (1986), Zacharopoulou (1986), ο μιτωτικός καρυότυπος της μύγας της Μεσογείου, αποτελείται από 5 ζεύγη αυτοσωμάτων και ένα ζεύγος φυλετικών χρωματωσωμάτων.

Η μύγα της Μεσογείου, αποτελεί ένα άλλο παράδειγμα διπτέρου εντόμου με χρωματοσωματικό αριθμό 12 ($n = 6$), που φαίνεται να χαρακτηρίζει τα Calytratae (Boyes and Van Brink, 1965).

Τα φυλετικά χρωματωσώματα της μύγας της Μεσογείου είναι ετεροχρωματικά [Southern (1976), Bedo (1986)] και καλά διαφοροποιημένα. Όπως δε σε όλα τα Δίπτερα (White, 1973) το αρσενικό είναι ετερογαμετικό . Τέσσερα αυτοσώματα είναι μετατακεντρικά και ένα είναι ακροκεντρικό.

Τα X και Y χρωματοσώματα είναι επίσης ακροκεντρικά. Στο διπλοταινικό στάδιο της μετάφασης I (1η μειωτική διαίρεση), τα χρωματωσώματα της μύγας της Μεσογείου, εμφανίζουν τυπικά χιάσματα. Χαρακτηριστικό της μείωσης είναι ότι γίνεται ανασυνδυασμός και στα αρσενικά σπερματοκύτταρα (Radu et al., 1975).

- Ομάδες σύνδεσης στη μύγα της Μεσογείου

Ο γόνος Adh-1 τοποθετήθηκε [Zapater and Robinson (1976), Ζαχαροπούλου αδημ. πληροφορίες], στο χρωματόσωμα 2 της μύγας της Μεσογείου. Ο γόνος αυτός ανήκει στην ίδια ομάδα σύνδεσης με τους γόνους Mpi, Ao και Xdh (Malacrida et al., 1986). Ας σημειωθεί επίσης ότι και οι ομόλογοι τους γόνους σε άλλα είδη εντόμων, όπως π.χ. στο είδος D. subobscura, ανήκουν στην ίδια ομάδα σύνδεσης [Loukas et al. (1979), Loukas and Vergini (1985)]. Το χρωματό-

σωμα 2 αντιστοιχεί στην ομάδα σύνδεσης D (Ζαχαροπούλου, αδημ. πληροφορίες).

Η μεταλλαγή " W " τοποθετήθηκε στο χρωματόσωμα 5 της μύγας της Μεσογείου (Ζαχαροπούλου, 1989). Ο γόνος αυτός ανήκει στην ίδια ομάδα σύνδεσης με τους γόνους Hbdh, G-6-pd, 6-Pgd και FH (Μελαιρίδα et al., 1986).

Ας σημειωθεί ότι οι ομόλογοι τους γόνους στο είδος D. subobscura είναι φυλοσύνδετοι [Loukas et al.(1979), Loukas and Vergini (1985)]. Το χρωματόσωμα 5 αντιστοιχεί στην ομάδα σύνδεσης B (Ζαχαροπούλου, 1989).

Οι μεταλλαγές " ap" και " dc " εδράζονται στο χρωματόσωμα 4 [Bush-Peterson (1987), Ζαχαροπούλου (1989)].

Οι μεταλλαγές αυτές ανήκουν στην ίδια ομάδα σύνδεσης με τους γόνους HK-2, Est-1, SD και Est-2 (Milani et al., 1985) και Pgi (Μελαιρίδα et al., 1986). Ας σημειωθεί ότι και οι ομόλογοι τους, HK-2 και Pgi ανήκουν στην ίδια ομάδα σύνδεσης στη D. subobscura (Loukas et al., 1979). Το χρωματόσωμα 4 αντιστοιχεί στην ομάδα σύνδεσης A (Ζαχαροπούλου, 1989).

Η μεταλλαγή " dp " εδράζεται στο χρωματόσωμα 3 (Ζαχαροπούλου, 1989) που αντιστοιχεί στην ομάδα σύνδεσης C (Saul and Rossler, 1984). Τέλος οι γόνους Pgm, Gox και Idh ανήκουν στην ίδια ομάδα σύνδεσης στη μύγα της Μεσογείου (Μελαιρίδα et al., 1986).

Η ύπαρξη ανάλογων ομάδων σύνδεσης μεταξύ απομακρυσμένων ειδών όπως Musca domestica, Lucilia cuprina (Μελαιρίδα et al., 1986) και D. subobscura [Loukas et al. (1979), Loukas and Vergini (1985)], υποδεικνύει ανάλογη χρωματοσωματική οργάνωση στα είδη αυτά.

1.4 Βιολογία – Ηθολογία αναπαραγωγής – Οικολογία

Τα ακμαία της μύγας της Μεσογείου, έχουν περίπου το μέγεθος της οικιακής μύγας, με κίτρινα-πορτοκαλί σημάδια στις πτέρυγες, μαύρα στίγματα στο θώρακα και ανοιχτόχρωμες γκρίζες ζώνες στην κιτρινόχρωμη κοιλιά. Για τη διατροφή των ακμαίων χρειάζονται υδατάνθρακες, αμινοξέα και ορισμένα μεταλλικά συστατικά (Hagen, 1981). Πηγές τροφής τους είναι το νέκταρ, φυτικοί χυμοί από τραυματισμούς των φρούτων, των φύλλων και του κορμού, σάπια φρούτα, εκκρίσεις κοκοειδών κ.λ.π.

Τα θηλυκά είναι έτοιμα για την εναπόθεση αυγών, μια βδομάδα περίπου μετά την έξοδο τους από την πούπα, όταν η θερμοκρασία είναι αρκετά υψηλή (πάνω από 19 °C). Τα αρσενικά είναι σεξουαλικά ώριμα λίγες μέρες μετά την έξοδο τους από την πούπα. Η σύζευξη γίνεται σε ένταση φωτός 2000 Lux, σε θερμοκρασία ανάμεσα στους 19-31 °C και σε σχετική υγρασία 30-95% (Prokory et al., 1979). Η πιο σημαντική θέση σύζευξης είναι η κάτω επιφάνεια των φύλλων. Τα αρσενικά προσελκύουν τα θηλυκά με την απελευθέρωση φερομόνης και με κίνηση των φτερών για παραγωγή ήχου και μεγαλύτερη διασπορά της φερομόνης (Rolli, 1976). Η απελευθέρωση της φερομόνης γίνεται από τα αρσενικά, αργά το πρωί ή νωρίς το απόγευμα, όταν η θερμοκρασία της ημέρας είναι στα πιο υψηλά επίπεδα. Όταν τα θηλυκά βρεθούν σε απόσταση 5 εκατ. από τα αρσενικά, αυτά αρχίζουν τις εκδηλώσεις για σύζευξη.

Μια άλλη σημαντική θέση για σύζευξη είναι η επιφάνεια του καρπού. Ο Feron (1962) βρήκε ότι μετά τη σύζευξη, τα θηλυκά δεν προσελκύονται από τη φερομόνη των αρσενικών για 10 ημέρες. Το σπέρμα της δεύτερης σύζευξης εκτοπίζει το σπέρμα της πρώτης (Causse (1970), Ramirez et al., 1970). Μετά τη σύζευξη, τα θηλυκά αναζητούν ώριμους καρπούς, των

οποίων διατρυπούν την επιδερμίδα, δημιουργώντας μια κοιλότητα κάτω ακριβώς απ'αυτή . Στην κοιλότητα αυτή τοποθετούν 2 έως 6 αυγά . Ενα θηλυκό εναποθέτει πάνω από 40 αυγά την ημέρα (σε διαφορετικούς καρπούς), έχει δε την ικανότητα να παράγει πάνω από 300 στη διάρκεια της ζωής του , κάτω από άριστες συνθήκες. Τα μικρά υπόλευκα αυγά εκκολάπτονται μέσα στον καρπό σε 2-3 ημέρες σε θερμοκρασία 24 °C, αλλά δεν αναπτύσσονται σε θερμοκρασία κάτω από 10 °C . Οι μικρές γαλακτόχρωμες προνύμφες, οι οποίες είναι άποδες, αρχίζουν να τρυπούν τη σάρκα του καρπού, που στη συνέχεια μολύνεται από βακτήρια . Πάνω από 100 προνύμφες μπορούν να αναπτυχθούν σε ένα μεγάλο καρπό . Αυτές μεγαλώνουν περίπου 0,8 εκατ. σε 6 έως 11 ημέρες στους 22 -24 °C, αλλά θέλουν 24 έως 50 ημέρες στους 10 -15 °C . Δεν αναπτύσσονται καθόλου κάτω από τους 8 °C . Η ταχύτητα με την οποία αναπτύσσονται οι προνύμφες μπορεί επίσης να σχετίζεται με το καρπό - ξενιστή . Αυτή είναι πιο αργή στα μήλα και διαδοχικά ταχύτερη στα αχλάδια, ροδάκινα και σύκα . Οι ώριμες προνύμφες ζούν στο καρπό ενώ αυτός βρίσκεται ακόμα στο δένδρο ή έχει πέσει στο έδαφος . Λίγο πριν τη νύμφωση βγαίνουν από τον καρπό στο έδαφος με πηδήματα, που μπορούν να φθάσουν στα 15 εκατ. και στη συνέχεια βρίσκουν καταφύγιο κάτω από αντικείμενα ή μπαίνουν στο έδαφος μέχρι βάθος 7 εκατ., όπου και ακολουθεί η νύμφωση . Οι πούπες έχουν μήκος 0,5 εκατ. περίπου , σχήμα κυλινδρικό με στρογγυλεμένα άκρα και χρώμα καστανό . Το στάδιο της πούπας διαρκεί 9 έως 11 ημέρες στους 22 °C . Αυτό είναι το πιο ανθεκτικό στάδιο στον κύκλο ζωής του εντόμου, το οποίο σε ψυχρές κλιματικές συνθήκες, επιζεί το χειμώνα ως πούπα.

Η ανάπτυξη της πούπας σταματά στους 8 °C και απαιτούνται περίπου 60 ημέρες για την έξοδο του ακμαίου κάτω από ψυχρές συνθήκες . Πούπες που παρέμειναν στους -5 °C , συνήθως πεθαίνουν σε 30 ώρες. Εκθεση τους στους -1 °C για 4 ημέρες ή στους 5 °C για 10 ημέρες, έχει τα ίδια αποτελέσματα. Ο συνωστισμός επίσης επηρεάζει την ανάπτυξη τους. Πούπες που αναπτύχθηκαν από συνωστισμένες προνύμφες έχουν μικρότερο μέγεθος και μειωμένες πιθανότητες

επιβίωσης. Οι πούπες αυτές δίνουν ακμαία με μειωμένη γονιμότητα και διάρκεια ζωής. Ο πλήρης χρόνος ανάπτυξης από το αυγό ως το ακμαίο είναι 23 ημέρες περίπου κάτω από άριστες εργαστηριακές συνθήκες. Στον αγρό ο ελάχιστος χρόνος για μια γενιά είναι περίπου ένας μήνας. Στη Χαβάη υπάρχουν 11 έως 13 γενιές το χρόνο, στην Ιταλία (Ρώμη) 4 έως 5, στη Γαλλία (Παρίσι) 2 και στην Ελλάδα 6 έως 7 (Hägen et al., 1981).

Τα ακμαία ζούν συνήθως 50 έως 60 ημέρες, μπορούν όμως να ζήσουν περισσότερο από τρεις μήνες κάτω από συνθήκες ήπιου χειμώνα (σε βουνά της Χαβάης επέζησαν μέχρι 460 ημέρες).

Σε σταθερές συνθήκες -4°C πεθαίνουν μέσα σε 100 ώρες και ελάχιστα επιζούν πάνω από 12 ημέρες στους 8°C . Υψηλές θερμοκρασίες επίσης θανατώνουν τα ακμαία. Σε σταθερή θερμοκρασία 37°C λίγα έντομα επιζούν μετά από 8 ώρες και στους 39°C αυτά θανατώνονται μέσα σε 2 ώρες (Hägen et al., 1981).

Η μύγα της Μεσογείου αν και μπορεί να πετάξει πάνω από ένα μίλι απόσταση, γενικά παραμένει στο δένδρο και στους θάμνους που υπάρχουν γύρω από το σημείο της εξόδου του ακμαίου. Ο Steiner (1962) αναφέρει ότι άτομα μαρκαρισμένα με P^{32} βρέθηκαν ακόμα και 20 μίλια μακριά από το σημείο εξαπόλυσης, περιλαμβανομένης σ' αυτή την απόσταση τουλάχιστον 9 μίλια ανοικτής θάλασσας. Η συχνότητα με την οποία η μύγα της Μεσογείου καλύπτει περισσότερο από ένα μίλι σε κάθε εξαπόλυση, δείχνει ότι πολλές πηγαίνουν ίσως μακρύτερα, ειδικά όταν το απαιτούν ανάγκες εξεύρεσης κατάλληλου ξενιστή.

Οι καιρικές συνθήκες επίσης επηρεάζουν τις μετακινήσεις της μύγας της Μεσογείου. Αναφέρονται συσχετίσεις μεταξύ της κατεύθυνσης του ανέμου και της κατεύθυνσης του εντόμου [Severin et al. (1912), Henderson et al. (1942)].

Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει και ο ανταγωνισμός μεταξύ των ειδών της οικογενείας Tephritidae. Η μύγα της Μεσογείου στη Χαβάη είναι σχεδόν περιορισμένη σε δροσερές περιοχές όπου έχει μια πλεονεκτική ανάπτυξη έναντι της D. dorsalis ή σε περιοχές με καφέ, όπου είναι λι-

γότερο ανταγωνιστική η D.dorsalis. Στην Κόστα Ρίκα, σε κύριους ξενιστές, παρατηρήθηκε ανταγωνισμός με είδη του γένους Anastrepha. Στην Αυστραλία, πληθυσμοί της μύγας της Μεσογείου εμφανίζουν μείωση, όταν εμφανισθεί η D. tryoni. Ανταγωνισμός με τη D. dorsalis ίσως είναι μια εξήγηση της αποτυχίας της μύγας της Μεσογείου να εγκατασταθεί στη Νότιο - Ανατολική Ασία (Christerson and Foote, 1959). Στον Πίνακα 2 δίνονται διάφοροι παράμετροι που αφορούν στη βιολογία του εντόμου Ceratitidis capitata. Από τον Πίνακα αυτό προκύπτει ότι:

α) Αν η πιθανότητα επιβίωσης ενός αυγού είναι 1,00 η πιθανότητα να γίνει ακμαίο λίγο πριν από την περίοδο εναπόθεσης των αυγών (24 ημέρες από την εναπόθεση του) είναι 0,32 και η πιθανότητα να γίνει ακμαίο ηλικίας 26 ημερών (48 ημέρες από την εναπόθεση του) είναι 0,21. Έτσι, ενώ η πιθανότητα επιβίωσης μειώνεται σημαντικά από το στάδιο του αυγού μέχρι και της νύμφης του τελευταίου σταδίου, η πιθανότητα επιβίωσης του ακμαίου ατόμου είναι αρκετά υψηλή .

β) Η γονιμότητα του ακμαίου αυξάνεται μέχρι ηλικίας 16 ημερών (38 ημέρες από την εναπόθεση του αυγού) ενώ μετά την ηλικία αυτή παρατηρείται σημαντική μείωση της γονιμότητας .

γ) Ένα νεαρό ή μέσης ηλικίας ακμαίο άτομο έχει μεγαλύτερη πιθανότητα υπόλοιπου χρόνου ζωής απ'ότι μία νεοεκκολαφθείσα προνύμφη.

δ) Η αναπαραγωγική τιμή μετρά τη σχετική έκταση κατά την οποία άτομα διαφορετικών ηλικιών συνεισφέρουν στους απογόνους της επόμενης γενιάς. Επειδή στη μύγα της Μεσογείου η πιθανότητα επιβίωσης στα προ του ακμαίου στάδια είναι χαμηλή και η αναπαραγωγική της τιμή στα στάδια αυτά είναι χαμηλή . Στα νεαρά όμως ακμαία, η αναπαραγωγική τιμή είναι τριπλάσια της τιμής που αντιστοιχεί σε αυγά δύο ημερών.

ε) Σε ένα πληθυσμό με σταθερή κατανομή ηλικιών, ποσοστό 45% των ατόμων έχει ηλικία 4 ημερών ή μικρότερη (από την ημέρα εναπόθεσης του αυγού). Γενικά τα αυγά αποτελούν ποσοστό 29,8% του πληθυσμού, οι προνύμφες 49,7% , οι νύμφες 15,6% και τα ακμαία 4,9 % .

Άλλες βιολογικές παράμετροι της μύγας της Μεσογείου
(Carey, 1982)

- Συνολικός αριθμός αυγών τα οποία ένα θηλυκό θ' αφήσει αν επιζήσει μέχρι και της τελευταίας ημέρας αναπαραγωγής.....414,2
- Μέσος αριθμός αυγών που αφήνει το μέσο θηλυκό κατά τη διάρκεια της ζωής του (όπου λαμβάνεται υπ' όψη και η πιθανότητα επιβίωσης).....84,1
- Μέσος χρόνος γενιάς (από την εναπόθεση του αυγού , μέχρι την ηλικία που εναποτίθεται το 50% των αυγών) (Charlesworth, 1980)40,8 ημέρες
- Μέση αύξηση πληθυσμού / ημέρα..... 10 %
- Μέση περίοδος διπλασιασμού του πληθυσμού : 6,38 ημέρες
- Μέση ηλικία πληθυσμού (σε σταθερή κατανομή):7,22 ημέρες

Η μύγα της Μεσογείου στερείται σταδίου διάπαυσης (Carey, 1984). Η δημογραφική συνέπεια αυτού του γεγονότος είναι ότι μια ορισμένη εποχή, όλα τα άτομα δεν ανήκουν απαραίτητα στο ίδιο στάδιο ή είναι της ίδιας ηλικίας. Ο πληθυσμός μπορεί να εμφανίζει κατανομή όλων των σταδίων τα οποία συνήθως βρίσκονται σε διαφορετικό περιβάλλον, π.χ. τα αυγά και οι προνύμφες στον καρπό, ενώ οι πούπες στο έδαφος. Αυτός είναι ένας από τους λόγους για τους οποίους ο έλεγχος καταπολέμησης της μύγας είναι αρκετά δύσκολος.

Δεδομένα επί της βιολογίας της μύγας της Μεσογείου στον Ελλαδικό χώρο

Η μύγα της Μεσογείου αναφέρεται για πρώτη φορά στην Ελλάδα από τον Παπαγεωργίου (1915). Ο Γεννάδιος (1914) αναφέρει προσβολή των καρπών των εσπεριδοειδών και της ροδακινιάς στην Κύπρο, λέει όμως ότι το έντομο αυτό δεν είχε παρατηρηθεί απ'αυτόν στην Ελλάδα. Η Ελληνική βιβλιογραφία όσον αφορά την εμφάνιση, τη βιολογία και την καταπολέμηση του εντόμου είναι περιορισμένη (Ισαακίδης (1932, 1935, 1937), Ραυτόπουλος και Κουρμούσης (1937), Αναγνωστόπουλος (1939), Μουρίκης (1965), Γκελή -Δούκα (1967)).

Η μύγα της Μεσογείου απαντάται σε όλη την Ελλάδα, κυρίως όμως σε περιοχές όπου καλλιεργούνται και εσπεριδοειδή, οι καρποί των οποίων αποτελούν ευνοϊκούς ξενιστές του εντόμου κατά το φθινόπωρο και το χειμώνα. Η μύγα διαχειμάζει κατά το μεγαλύτερο ποσοστό του πληθυσμού της υπό μορφή πούπας στο έδαφος. Στη Νότια Ελλάδα μάλιστα, απαντάται καθ' όλη τη διάρκεια του χειμώνα, με τη μορφή της προνύμφης, πούπας και ακμαίων επί των καρπών των εσπεριδοειδών είτε πάνω στο δένδρο, είτε στο έδαφος. Τα πρώτα ακμαία της μύγας της

Μεσογείου εμφανίζονται κατά την άνοιξη (Απρίλιος). Αρχές Μαΐου σημειώνονται οι πρώτες εναποθέσεις αυγών. Κατά τα μέσα Ιουνίου εμφανίζονται τα ακμαία της δεύτερης γενιάς, τα οποία προσβάλλουν στη συνέχεια πρώιμους καρπούς αχλαδιάς και ροδακινιάς και όψιμους βερικοκιάς. Καθ'όλη τη διάρκεια του θέρους και του φθινοπώρου, σημειώνονται επανειλημμένες έξοδοι ακμαίων που εξαρτώνται από τους υπάρχοντες ξενιστές και από τη θερμοκρασία. Κατά το θέρος και το φθινόπωρο το έντομο συμπληρώνει κάθε γενιά σε διάστημα μικρότερο του μηνός. Έτσι, το έντομο δύναται να συμπληρώσει κατά τη διάρκεια του έτους 5 - 7 γενιές, αν υπάρχει διαδοχή ξενιστών του εντόμου (Μουρίκης 1965).

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 2

Διάφορες βιολογικές παράμετροι της μύγας της Μεσογείου
(δεδομένα των Shoukrey and Hafez, 1979) .

Στάδιο	X	l_x	m_x	e_x	V_x	C_x
Αυγό	2	1.00	0.00	22.10	84.10	0.298
Προνύμφη	4	0.83	0.00	24.22	101.32	0.202
Προνύμφη	10	0.48	0.00	33.13	175.20	0.043
Πούπα	12	0.40	0.00	37.35	210.24	0.034
Πούπα	22	0.32	0.00	34.94	262.81	0.010
Ακμαίο(1)	24	0.32	0.00	32.94	262.81	0.008
-//-	26	0.31	2.41	29.94	271.28	0.005
-//- (2)	32	0.29	16.51	27.79	280.11	0.003
-//-	38	0.26	16.49	24.54	243.26	0.002
-//-	48	0.21	23.69	18.95	154.47	0.000
-//-	58	0.16	17.44	13.00	75.06	0.000
-//-	70	0.08	7.46	6.25	17.28	0.000

(1) Περίοδος προ της εναπόθεσης των αυγών

(2) Περίοδος κατά την οποία εναποτίθενται αυγά

X= ηλικία σε ημέρες

l_x = πιθανότητα επιβίωσης μέχρι ηλικίας X

m_x = αριθμός αυγών σε ηλικία X

e_x = προσδοκώμενη διάρκεια ζωής για άτομα ηλικίας X

V_x = αναπαραγωγική αξία σε ηλικία X

C_x = ποσοστό ατόμων ηλικίας X σε πληθυσμό με σταθερή κατανομή ηλικιών

-- Μέθοδοι καταπολέμησης

i) Έλεγχος των καλλιεργειών : Απομακρύνονται οι καρποί από τους προσβεβλημένους ξενιστές καθώς και οι καρποί που έχουν πέσει στο έδαφος , ώστε να διακοπεί ο κύκλος ζωής του εντόμου. Είναι όμως πολύ πιθανό να παραμείνουν πούπες στο έδαφος.

ii) Χημικός έλεγχος : Η πιο απλή και δραστική μέθοδος για την καταπολέμηση της μύγας της Μεσογείου είναι ο ψεκάσμος με υδρολυμένη πρωτεΐνη (για προσελκυστικό) και μαλαθείον ή άλλα εντομοκτόνα. Η πρωτεΐνη μοιάζει με το μέλι, προσελκύοντας τις μύγες από μια απόσταση και το μαλαθείο τις σκοτώνει όταν έρθουν σε επαφή. Για να είναι το ψέκασμα της πρωτεΐνης αυτής δραστικό, πρέπει η θερμοκρασία να είναι αρκετά υψηλή ώστε οι μύγες να έχουν έντονη κινητικότητα και το ψέκασμα πρέπει να εφαρμόζεται τουλάχιστον μια φορά τη βδομάδα κατά τη διάρκεια αυτής της περιόδου. Το μολυσμένο έδαφος κάτω από τα δένδρα πρέπει επίσης να ψεκάζεται με φενθείο, το οποίο σκοτώνει τις προνύμφες στο έδαφος καθώς και τα ακμαία που εξέρχονται από τις πούπες του εδάφους.

iii) Γενετικός έλεγχος : Αυτή η μέθοδος απαιτεί τη στειρώση των αρσενικών του εντόμου , στο στάδιο της πούπας με ακτινοβολία γ , η οποία σταματά την παραγωγή του νέου σπέρματος.

Όταν ένα στειρωμένο αρσενικό συζευχθεί με ένα άγριο θηλυκό, το σπέρμα εισέρχεται στο αυγό και σταματά την ανάπτυξη του και το αυγό δεν εκκολάπτεται.

Τα αρσενικά της μύγας της Μεσογείου συχνά συζεύγνυνται περισσότερες από μία φορές, αλλά τα θηλυκά είναι απρόθυμα γι' αυτό. Μ' αυτή τη μέθοδο, εξαπολύονται στη φύση στείρα αρσενικά και θηλυκά , γιατί στοιχίζει πολύ ο διαχωρισμός των φύλων. Συνήθως εξαπολύονται 100 στειρωμένα αρσενικά για κάθε άγρια μύγα.

iiii) Βιολογικοί μέθοδοι : Εισαγωγή και εξαπόλυση φυσικών εχθρών της μύγας της Μεσογείου, αποτελεί μέρος μιας εκστρατείας που τώρα καθιερώνεται. Στη Χαβάη με παρασιτικές σφήκες, ελάττωσαν κατά 40% τους πληθυσμούς της μύγας της Μεσογείου.

Στην Καλιφόρνια, μια παρασιτική σφήκα προσβάλλει τις πούπες της Walnut hysk fly, στο έδαφος. Αυτό το παράσιτο, το Coptera occidentalis, πρόσφατα μεταφέρθηκε και στην Ελλάδα, όπου επιτυχώς παρασιτεί στις πούπες της μύγας της Μεσογείου (Hagen et al., 1981).

Οι φυσικοί εχθροί δεν καταπολεμούν ριζικά το επιβλαβές αυτό έντομο, ελαττώνουν όμως τους πληθυσμούς και τους κάνουν πιο εύκολους στον έλεγχο τους.

(Hagen et al., 1981).

1.5 Ξενιστές του εντόμου

Η μύγα της Μεσογείου είναι ένα εξαιρετικά επιβλαβές έντομο για πολλές τροπικές και υποτροπικές περιοχές του κόσμου . Ως ξενιστές της αναφέρονται 253 είδη φρούτων, ξηρών καρπών και λαχανικών (Christenson and Foote, 1960). Από τους ξενιστές αυτούς οι 40 θεωρούνται ως " πλήρως προσβεβλημένοι ". Για την Ελληνική Γεωργία σημαντική είναι η προσβολή στα διάφορα είδη Citrus (πορτοκάλια , μανταρίνια, κλημεντίνες , γκρέιπ-φρούτ), βερίκοκα , ροδάκινα , δαμάσκηνα , κεράσια , αχλάδια, μήλα και σύκα .

Στην Καλιφόρνια , ως " ευκαιριακά προσβεβλημένα " φυτά αναφέρονται τα αβοκάντος, οι τομάτες, τα καρύδια, τα σταφύλια και το βαμβάκι . Είναι ενδιαφέρον ότι αυτοί

οι Ξενιστές δεν αναφέρεται να προσβάλλονται από τη μύγα της Μεσογείου στην Ιταλία , και Γαλλία (Hagen et al., 1981) . Στη Νότιο Αφρική κατά καιρούς έχουν προσβληθεί σταφύλια και στη Γερμανία φράουλες που αναπτύσσονται κοντά σε προσβεβλημένα ροδάκινα. Στους Ξενιστές που θεωρούνται ως " σπάνια προσβεβλημένοι " αναφέρονται τα αγριοστάφυλα, οι αγγινάρες, τα βατόμουρα, τα ροδάκινα, τα ρόδια, τα φραγκόσουκα , οι πυράκανθοι, οι ελιές , τα αγγούρια , οι φράουλες και τα κολοκύθια . Στην Ιταλία ^{δεν} αναφέρονται προσβολές σε ελιές, πεπόνια, αγγούρια και φράουλες (Hagen et al., 1981).

Οι σπουδαιότεροι Ξενιστές του εντόμου είναι:

i) Από τα εσπεριδοειδή (Rutaceae)

- η ποροκαλιά Citrus sinensis
- η μανδαρινιά Citrus nobilis var. deliciosa
- η νεραντζιά Citrus aurantium
- το grapefruit Citrus grantis
- το kumquate Fortunella margarita

ii) Από τα πυρηνόκαρπα και γιγαρτόκαρπα (Rosaceae)

- η ροδακινιά Prunus persica
- η δαμασκηνιά Prunus domestica
- η βερικοκιά Prunus armeniaca
- η αχλαδιά Pyrus communis
- η μηλιά Pyrus malus
- η μεσπιλιά Mespilea japonica

iii) η συκιά Ficus carica (Moraceae)

1.6. Γεωγραφική εξάπλωση του εντόμου

Η γεωγραφική εξάπλωση του εντόμου καλύπτει κυρίως περιοχές της Ν. Αφρικής , εκατέρωθεν του Ισημερινού, προς Νότον μέχρι του Ακρωτηρίου της Καλής Ελπίδας και προς Βορά μέχρι την Αιθιοπία. Το έντομο ευρίσκεται επίσης στις εκατέρωθεν του Τροπικού του Αιγόκερω ανατολικές περιοχές της Ν. Αμερικής, τη Δυτική Αυστραλία, τις παραμεσόγειες περιοχές της Αφρικής, της Ασίας και Ευρώπης και αλλού.

Σύμφωνα με τους Hagen et al., (1981) , η μύγα της Μεσογείου πρωτοεμφανίστηκε στην Τροπική Δυτική Αφρική , εισήλθε στην Ισπανία το 1842 και ακολούθως στη Γαλλία, Ιταλία , Ελλάδα και στη Μέση Ανατολή. Εμφανίστηκε στην Αυστραλία το 1893 , στη Νότια Αμερική το 1901 , στη Χαβάη το 1907 και στην Κόστα Ρίκα το 1955. Τέλος , από την Κεντρική Αμερική διαδόθηκε στο Μεξικό το 1977.

Αναλυτικά, σύμφωνα με τα στοιχεία της Review of Applied Entomology 1988, η μύγα της Μεσογείου απαντά στις παρακάτω περιοχές του κόσμου .

ΕΥΡΩΠΗ

Αλβανία
Αζόρες
Αυστρία
Γαλλία
Ελλάδα
Γιουγκοσλαβία
Ισπανία
Ιταλία
Κύπρος
Μάλτα
Πορτογαλία

ΑΣΙΑ

Ιορδανία
Ισραήλ
Λίβανος
Σ.Αραβία
Συρία
Τουρκία

ΑΥΣΤΡΑΛΙΑ ΚΑΙ ΝΗΣΙΑ ΕΙΡΗΝΙΚΟΥ

Αυστραλία
Νέα Ζηλανδία

<u>ΑΦΡΙΚΗ</u>	Νήσοι Μαριάννα
Αίγυπτος	Χαβάη
Αιθιοπία	
Τυνησία	<u>ΒΟΡΕΙΑ ΑΜΕΡΙΚΗ</u>
Αγκόλα	Η.Π.Α (Τέξας, Καλιφόρνια)
Αλγερία	Μεξικό
Γκάνα	
Γουϊνέα	<u>ΝΟΤΙΑ ΑΜΕΡΙΚΗ</u>
Ζαΐρ	Βολιβία
Ζιμπάμπουε	Βενεζουέλα
Καμερούν	Βραζιλία
Κανάριοι Νήσοι	Παραγουάη
Κένυα	Περού
Κογκό	Χιλή
Λιβερία	
Λιβύη	<u>ΚΕΝΤΡΙΚΗ ΑΜΕΡΙΚΗ</u>
Μάλι	<u>ΚΑΙ ΚΑΡΑΪΒΙΚΗ</u>
Μαυριτανία	Βερμούδες
Μοζαμβίκη	Γουατεμάλα
Μαρόκο	Ελ Σαλβαδόρ
Νιγηρία	Κόστα Ρίκα
Ουγκάντα	Νικαράγουα
Ρεουνιόν	Ονδούρα
Ν. Αφρική	Παναμάς
Σενεγάλη	Τζαμάϊκα
Σεϋχέλες	

Στις εικόνες 1 - 4 δίνονται χάρτες διασποράς της μύγας της Μεσογείου για διάφορες χρονικές περιόδους. Στις εικόνες 5 - 6 δίνεται επίσης η διασπορά του εντόμου Ceratitis rosa (Pterandrus rosa), στην οποία θα αναφερθούμε αναλυτικότερα στο ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3.5.1.

Τέλος, στον Πίνακα 3 δίνονται οι χρονολογίες της πρώτης εμφάνισης της μύγας σε διάφορες περιοχές του κόσμου (Carey ,προσωπική επικοινωνία).

COMMONWEALTH INSTITUTE OF ENTOMOLOGY
DISTRIBUTION MAPS OF INSECT PESTS

Series A, Map No. 1. Issued 30 June, 1951.
Published at: 41 Queen's Gate, London, S.W.7.

Pest: *Ceratitis capitata* (Wied.)
(Mediterranean Fruit-fly)

Hosts: Most deciduous and sub-tropical fruits.



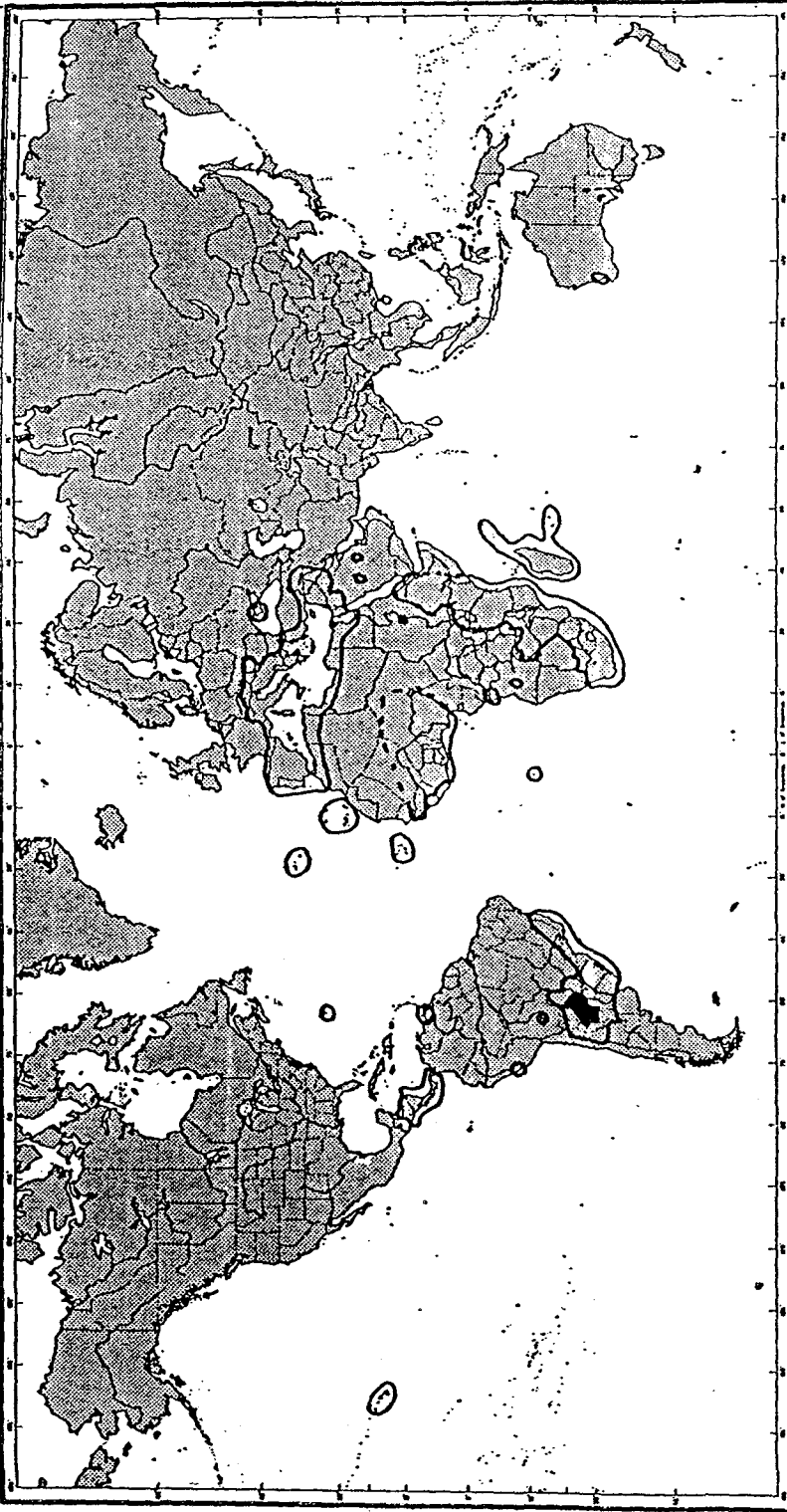
ΕΙΚΟΝΑ 1 : Γεωγραφική κατανομή της *Ceratitis capitata* (Λεδουμένα του 1951)

COMMONWEALTH INSTITUTE OF ENTOMOLOGY
 DISTRIBUTION MAPS OF PESTS
 Series A (Agricultural), Map No. 1 (revised). June 1967.
 Published at:—56 Queen's Gate, London, S.W.7.

Pest: *Ceratitis capitata* (Wied.)

(Dipt., Tephritidae) (Mediterranean Fruit Fly)

Hosts: Deciduous and subtropical fruits, especially peach and citrus.



ΕΙΚΟΝΑ 2 : Γεωγραφική κατανομή της *Ceratitis capitata* (Λεδουμένα του 1967)

COMMONWEALTH INSTITUTE OF ENTOMOLOGY
DISTRIBUTION MAPS OF PESTS

Series A (Agricultural), Map no.1 (revised) June 1984
Published at:—56 Queen's Gate, London, SW7 5JR

Ceratitis capitata (Wiedemann)

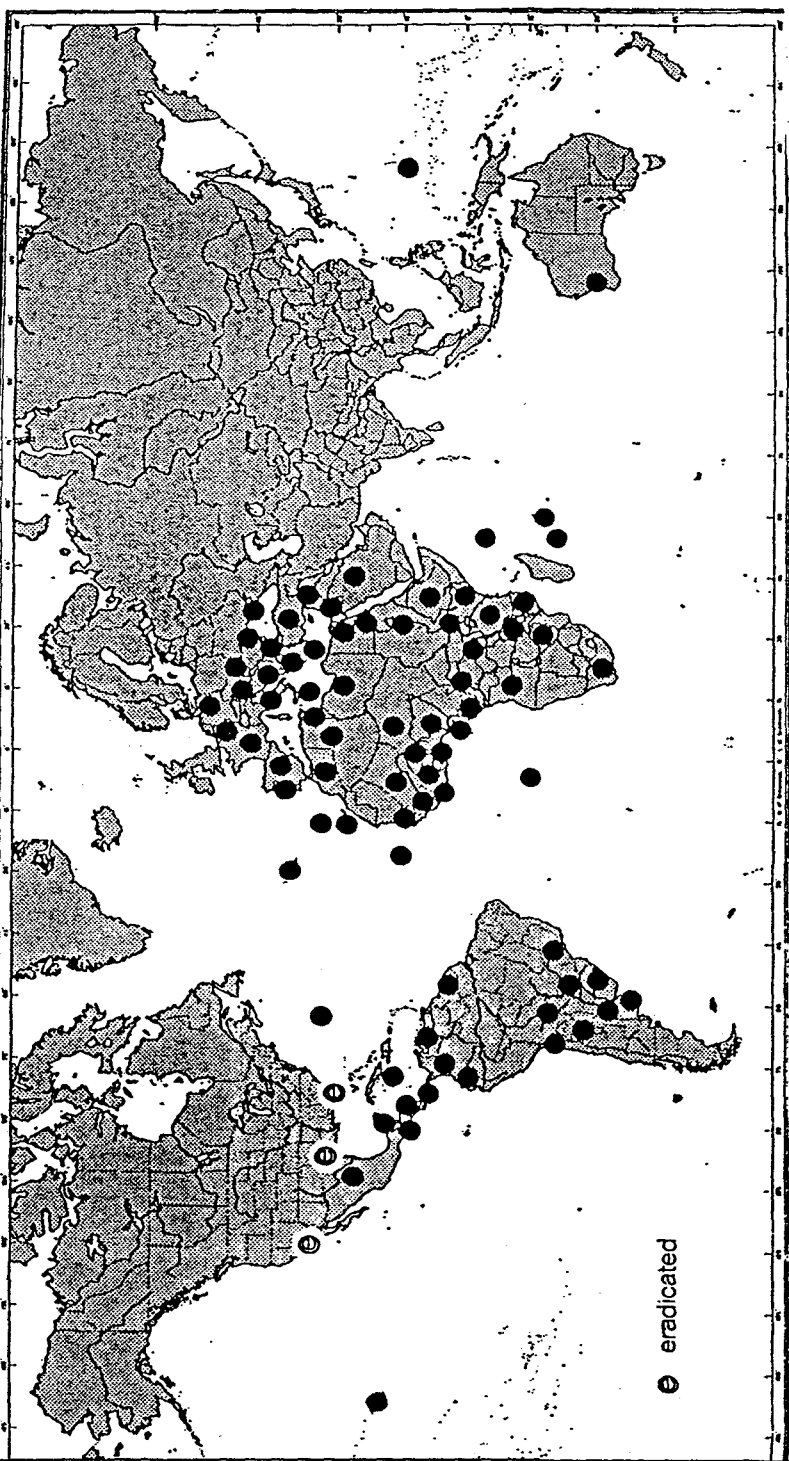
(Diptera : Tephritidae)

Mediterranean, fruit fly, medfly

Attacks many fruits, including apple, apricot, citrus, cocoa, coffee, guava, mango, peach, pear, persimmon and plum

25/9/84
ΜΠΕΝΑΚΕΙΟ
ΦΥΤΟΠΑΘΟΛΟΓΙΚΟ ΙΝΣΤΙΤΟΥΤΟ

ΒΙΒΛΙΟΤΗΚΗ



⊙ eradicated

CAB INTERNATIONAL INSTITUTE OF ENTOMOLOGY
DISTRIBUTION MAPS OF PESTS

Series A (Agricultural), Map no. 1 December 1988

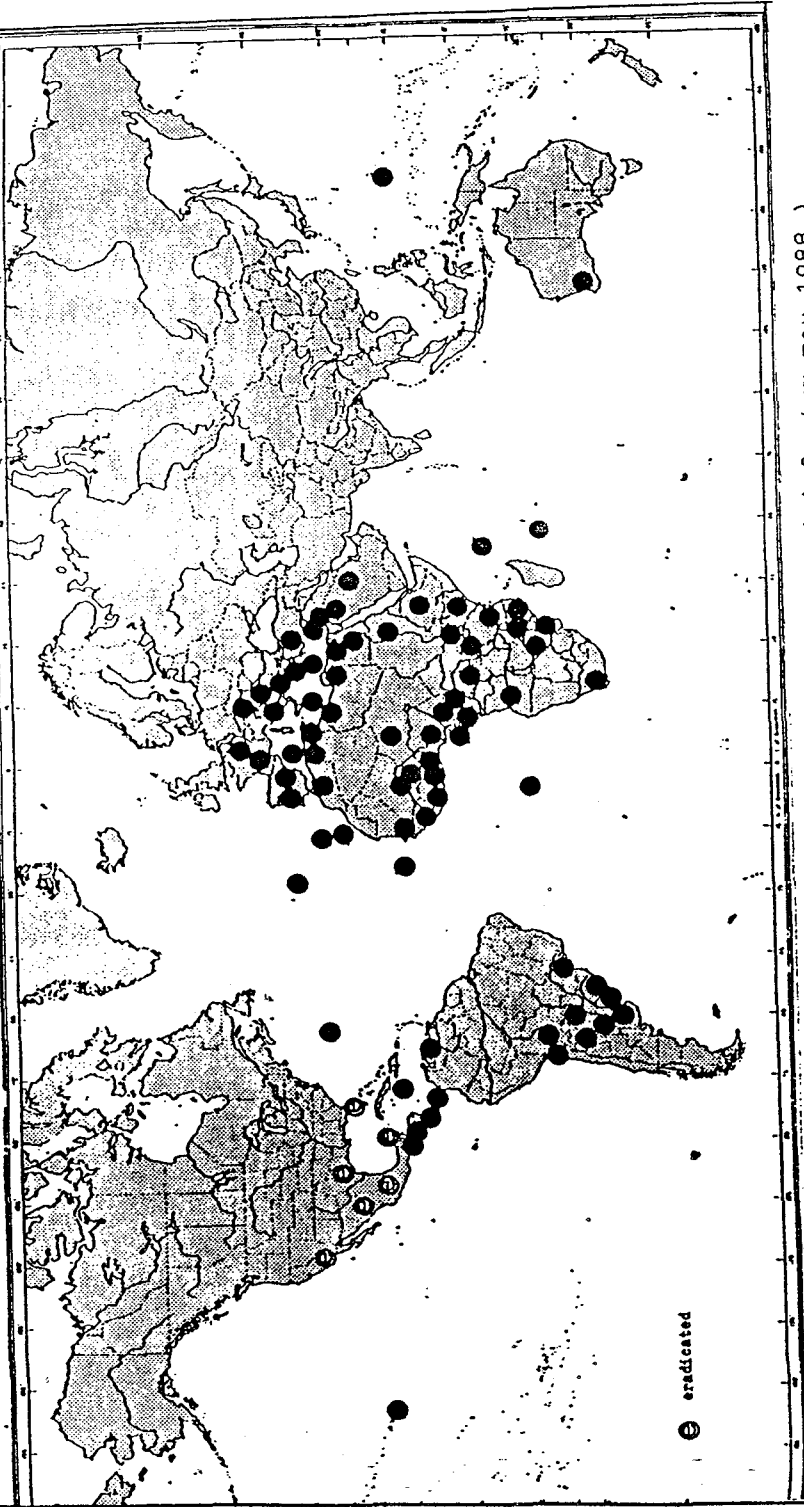
Published at:—56 Queen's Gate, London, SW7 5JR

Ceratitis capitata (Wiedemann)

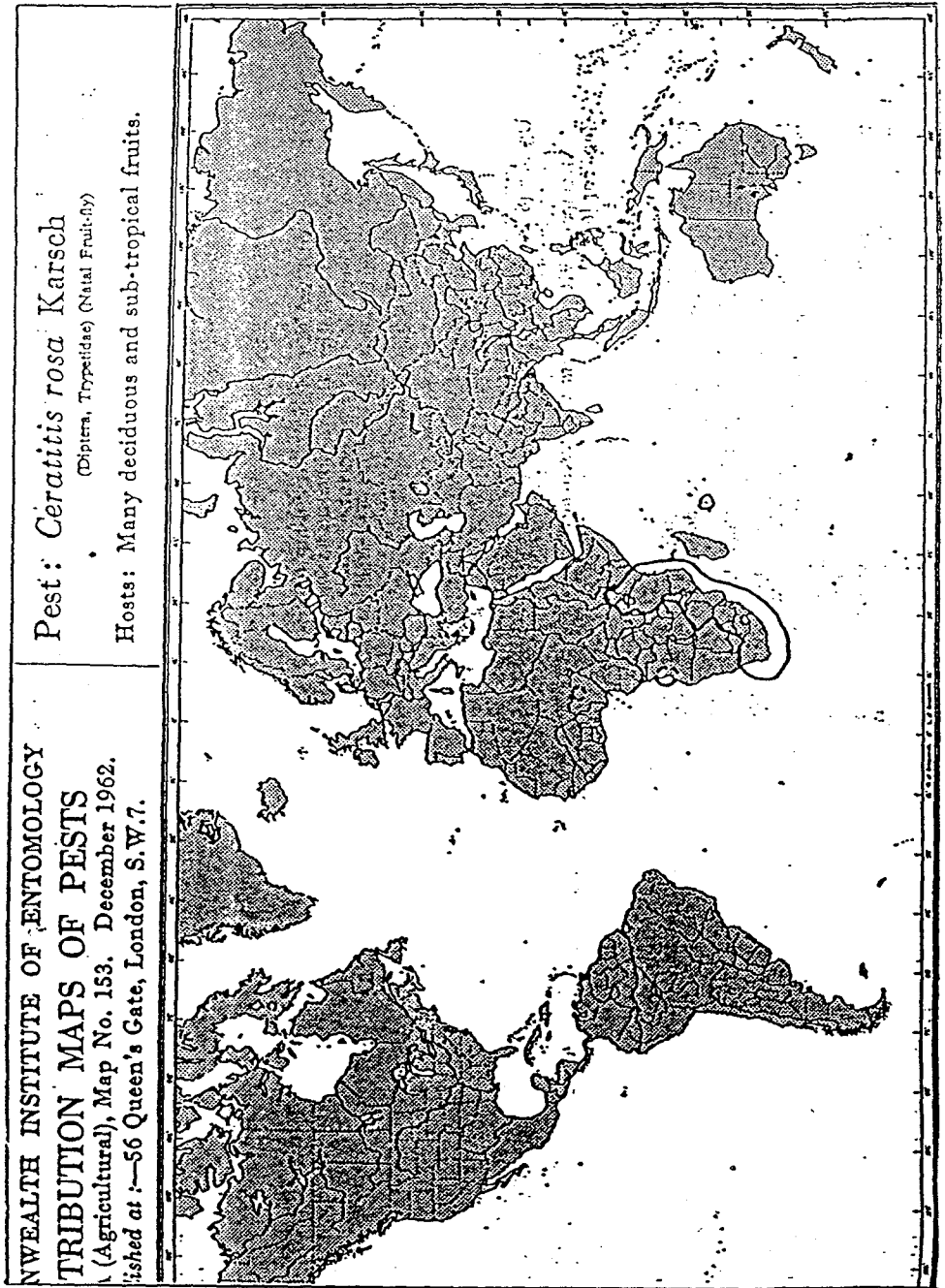
(Diptera : Tephritidae)

Mediterranean fruit fly, medfly

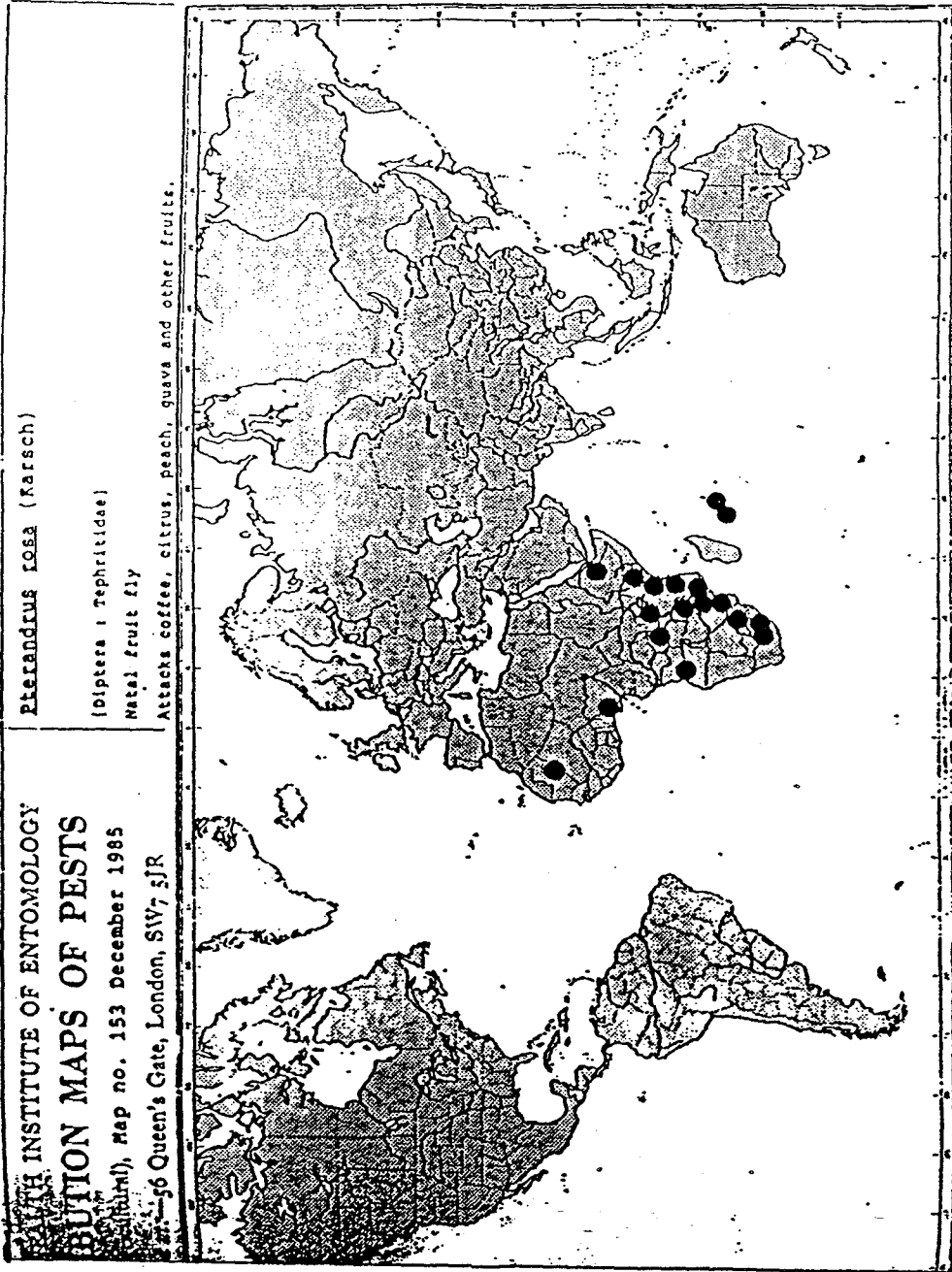
Attacks many fruits including apple, apricot, citrus, cocoa, coffee, guava, mango, peach, pear, persimmon and plum.



ΕΙΚΟΝΑ 4 : Γεωγραφική κατανομή της *Ceratitis capitata* (Δεδομένα του 1988)



ΕΙΚΟΝΑ 5 : Γεωγραφική κατανομή της *Ceratitis rosa* (Λεωμένα του 1962)



ΕΙΚΟΝΑ 6 : Γεωγραφική κατανομή της *Ceratitis rosa* (Δεδομένα του 1985)

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 3

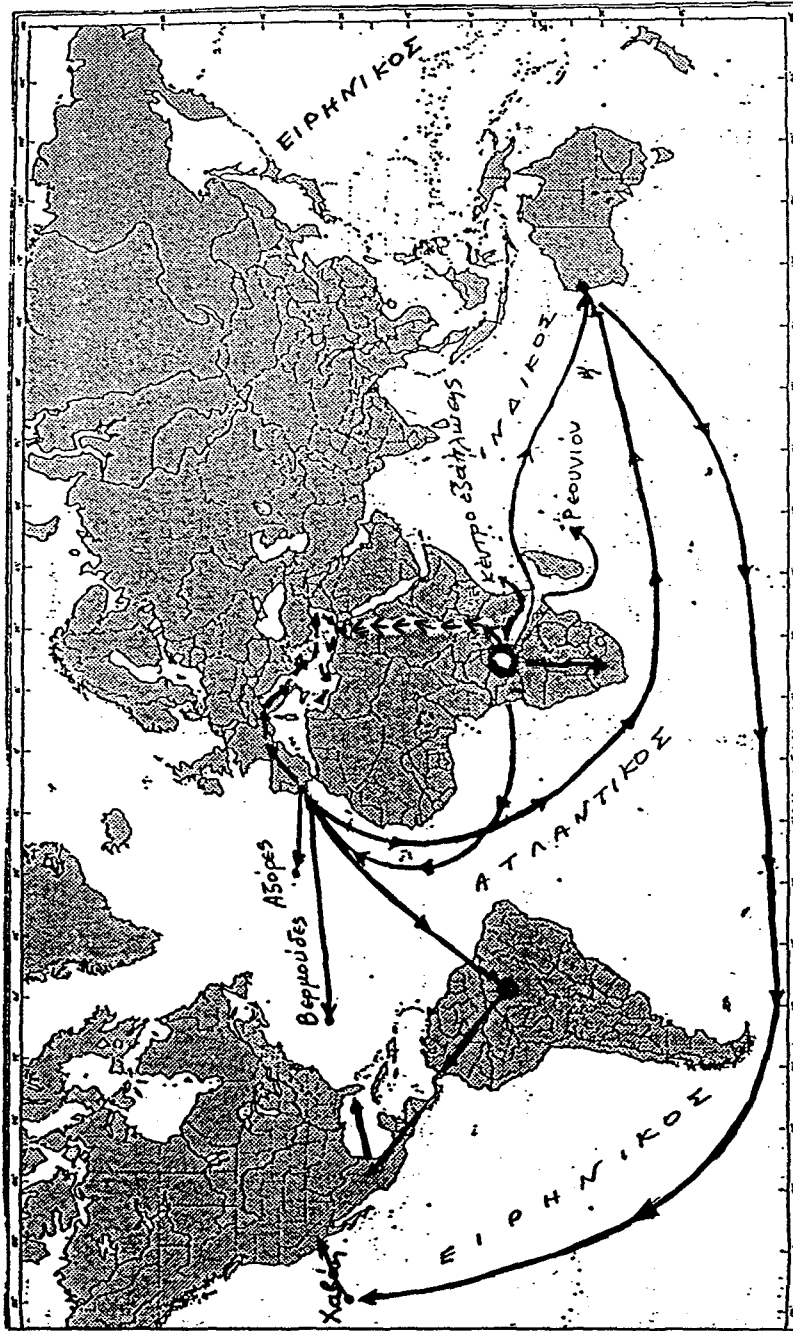
Χρονολογία της πρώτης εμφάνισης (ή πρώτης αναφοράς)
της μύγας της Μεσογείου. Πηγές: Quale (1914). Silvestri
(1941). Bodenheimer (1950). Baas (1959). Roberson
(1979). Arevalo (1976). Kryachko (1979).

ΧΡΟΝΟΛΟΓΙΑ	ΧΩΡΑ
---	Δυτική Αφρική (πιθανή προέλευση)
1817	Ινδικός Ωκεανός
1829	Νησιά Ατλαντικού (Αζόρες, Μαδέρες)
1842	Νότια Ισπανία
1859	Αλγερία
1863	Ιταλία , Γαλλία , Ελλάδα
1865	Βερμούδες
1875	Μάλτα
1878	Σικελία
1885	Τυνησία
1893	Δυτική Αυστραλία
1895	N .S Wales
1899	Τασμανία
1901	Βραζιλία, Νέα Ζηλανδία
1903	Queensland
1904	Παλαιστίνη , Αίγυπτος , Ισραήλ
1905	Αργεντινή
1907	Βικτώρια , Χαβάη
1914	Νότια Αμερική
1915	Μαδαγασκάρη
1927	Φλόριδα (καταπολεμήθηκε)
1935	Ελβετία
1937	Ρωσία (καταπολεμήθηκε)
1955	Κόστα Ρίκα
1956	Φλόριδα (καταπολεμήθηκε)
1960	Νικαράγουα , Παναμάς
1964	Ρωσία (καταπολεμήθηκε)
1966	Τέξας (-//-)
1975	Καλιφόρνια (-//-)
1976	Ελ Σαλβαδόρ , Ονδούρα , Γουατεμάλα
1977	Μεξικό
1980	Καλιφόρνια (καταπολεμήθηκε)

Ως συμπλήρωμα των πληροφοριών που δίνονται στον Πίνακα 3, μπορούμε να αναφέρουμε και τα ακόλουθα.

- i) Ο Wätze (1932) αναφέρει ότι στη Αυστρία , το καλοκαίρι του 1931, βρήκε προνύμφες της μύγας της Μεσογείου σε ροδάκινα και αχλάδια και ότι η μύγα εισήλθε στη χώρα από καρπούς θερμότερων περιοχών.
- ii) Στις Καναρίους Νήσους (Agr. Fed. Hort. 1928), τέθηκαν μεγάλοι περιορισμοί κατά το 1927, για την είσοδο καρπών από την Ισπανία (κυρίως σταφυλιών, πορτοκαλιών και τομάτας).
- iii) Ο Baso (1930), αναφέρει προσβολές σε οπωρώνες της Ουγγαρίας από τη μύγα της Μεσογείου, που εισήλθε στη χώρα από καρπούς άλλων περιοχών της Μεσογείου.
- iv) Το 1924 αναφέρονται (Dept. Agr. Fed. Hort. 1925) μεγάλες προσβολές μύγας της Μεσογείου στην Πορτογαλία, σε περιοχές που γειτνιάζουν με την Ισπανία.
- v) Ο Silvester (1914) αναφέρει ότι η μύγα της Μεσογείου πρωτοεμφανίστηκε στη Χαβάη το 1910, μεταφερθείσα με πλοίο από την Αυστραλία.
- vi) Τέλος ο Ogilvie (1928), αναφέρει ότι η μύγα της Μεσογείου μεταφέρθηκε στις Βερμούδες από τη Μεσόγειο το 1865.

Όλες οι προηγούμενες πληροφορίες όσον αφορά στη χρονολογία πρώτης εμφάνισης της μύγας της Μεσογείου στις διάφορες περιοχές του κόσμου, μπορούν να απεικονιστούν διαγραμματικά, όπως στην Εικόνα 7. Τα βέλη δείχνουν την πορεία εξάπλωσης της μύγας σε νέες γεωγραφικές περιοχές. Όπως θα δούμε παρακάτω, η απεικόνιση αυτή δεν αντικρούεται από την ανάλυση των ηλεκτροφορητικών δεδομένων.



ΕΙΚΟΝΑ 7 : Πορεία Γεωγραφικής εξάπλωσης της μύγας της Μεσογείου σύμφωνα με ιστορικά δεδομένα.

1.7. Σημασία του εντόμου στη γεωργία

Λόγω της μεγάλης διασποράς της μύγας της Μεσογείου και του τεράστιου αριθμού ξενιστών της, πολλοί από τους οποίους έχουν εξαιρετική οικονομική σημασία αφού ανήκουν στα κατ' εξοχήν καλλιεργούμενα φυτά, η σημασία της μύγας από γεωργική άποψη είναι προφανής.

Αν και υπάρχουν οικονομικά δεδομένα ζημιών που προκαλούνται από τη μύγα της Μεσογείου σε παγκόσμια κλίμακα, εν τούτοις στη χώρα μας τα ανάλογα στοιχεία είναι είτε ελλιπή είτε ανύπαρκτα. Αυτό δε σημαίνει ότι η C. capitata δεν αποτελεί υπαρκτό εχθρό για τις καλλιεργιές μας, όπως επίσης δε σημαίνει και αδιαφορία των γεωπόνων και των καλλιεργητών για την καταπολέμηση της. Ο λόγος είναι ότι στη χώρα μας συνήθως οι καλλιέργιες οπωροφόρων δένδρων που αποτελούν τον πρώτο στόχο προσβολής της μύγας (σύκα, εσπεριδοειδή), εντοπίζονται κυρίως σε περιοχές κοντά ή μεταξύ ελαιώνων.

Ετσι, με την καταπολέμηση του δάκου της ελιάς που πολλές φορές είναι γενική με τους αεροψεκασμούς, αντιμετωπίζεται ταυτόχρονα και τουλάχιστον μερικά και η μύγα της Μεσογείου.

1.8. Η μύγα της Μεσογείου ως γενετικό υλικό

Ο συνδυασμός διαφόρων παραγόντων καθιστά τη μύγα της Μεσογείου ένα καλό γενετικό υλικό . Οι παράγοντες αυτοί είναι :

- i) Εκτρέφεται εύκολα στο εργαστήριο (τα ακμαία σε κλωβούς και οι προνύμφες σε τεχνητή τροφή).
- ii) Έχει σχετικά μικρό κύκλο ζωής υπολογισμένο από τους Shukry and Hafez (1979) σε 23 ημέρες από το στάδιο του αυγού έως το ακμαίο , στους 25°C .
- iii) Η επιτυχία συζεύξεων ενός ζεύγους είναι 80 % περίπου. Κάθε ζεύγος γεννάει σε 10 ημέρες 300 περίπου αυγά από τα οποία βγαίνουν 140 πούπες και στη συνέχεια 110 περίπου ακμαία.

Κατά τον Tanaka, (1969) κάτω από τις συνθήκες μελέτης του πειράματος του, οι μέσες τιμές των χαρακτήρων αυτών ήταν :

αυγά =74,1 -76,6% , % ακμαία από πούπες = 93,3 - 94,3 %) .

- iv) Υπάρχει μεγάλος αριθμός οικολογικών πληροφοριών για το έντομο στον αγρό (Bateman (1972), Cirio (1976 και 1986)) που δημιουργούν μια βάση για γενετικές μελέτες σε φυσικούς πληθυσμούς .
- v) Η συλλογή φυσικών πληθυσμών είναι εξαιρετικά ευχερής.
- vi) Τέλος πρόσφατα φαίνεται ότι είναι δυνατή και ευχερής η μελέτη των πολυταινικών χρωματοσωμάτων των σιαλογόνων αδένων του εντόμου (Zacharoglou, 1986) .

Για όλους αυτούς τους λόγους , η μύγα της Μεσογείου αποτελεί ένα καλό υλικό για γενετική έρευνα .

1.9. Στόχοι της παρούσας εργασίας

Στη διατριβή αυτή μελετήσαμε τη μύγα της Μεσογείου, έχοντας ως στόχο να απαντήσουμε σε ορισμένα ερωτήματα που ενδιαφέρουν τόσο από τη θεωρητική όσο και από την εφαρμοσμένη άποψη.

- i) Μελετήθηκε μεγάλος αριθμός ενζυμικών πολυμορφισμών που ανιχνεύονται ηλεκτροφορητικά και καθορίστηκαν οι γόννοι που τα ελέγχουν . Έτσι, έγινε δυνατή η χρήση γενετικών σημάνσεων (αλληλόμορφοι) που επιτρέπουν πλέον τη γενετική μελέτη της μύγας της Μεσογείου σε πληθυσμιακό επίπεδο . Η εργασία αυτή ήταν απαραίτητη επειδή δεν υπάρχουν αρκετές πληροφορίες σχετικά με τη γενετική του εντόμου αυτού .
- ii) Μελετήθηκε η γενετική δομή μεγάλου αριθμού φυσικών πληθυσμών από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές και από διαφορετικούς ξενιστές. Η μελέτη αυτή αποσκοπεί να απαντήσει σε ερωτήματα όπως: Ποιός είναι ο βαθμός της γενετικής ποικιλομορφίας σε ένα κατ' εξοχή πολυφάγο είδος όπως η μύγα της Μεσογείου; Διαφέρει ο βαθμός της γενετικής ποικιλομορφίας μεταξύ πολυφάγων και μονοφάγων ειδών εντόμων; Διαφέρουν γενετικά οι πληθυσμοί που προέρχονται από διαφορετικές περιοχές ή διαφορετικούς ξενιστές;
- iv) Μελετήθηκε η ύπαρξη τυχόν σχέσεων ξενιστού - εντόμου και ειδικότερα σχέσεων που συνδέουν την εναπόθεση των αυγών με το μέγεθος του φρούτου και με το είδος του ξενιστή. Η μελέτη αυτή έχει μεγάλη σημασία από γεωργική άποψη επειδή πιθανή ανίχνευση διαφορετικών φυλών εντός του είδους Ceratitis capitata που αντανακλούν τοπικές προσαρμογές, μπορεί να οδηγήσει σε αναθεώρηση της στρατηγικής ελέγχου της μύγας με βιολογικές - γενετικές μεθόδους και επομένως να βελτιώσει τη μέθοδο καταπόλεμψης της .

- iv) Προσπαθήσαμε να μελετήσουμε το πιθανό σενάριο της διασποράς της μύγας από το κέντρο της γεωγραφικής της κατανομής ιχνηλατώντας την πορεία διασποράς του εντόμου με τη βοήθεια γενετικών σημάνσεων.
- v) Μελετήθηκαν οι επιπτώσεις στη γενετική δομή του πληθυσμού από την εισαγωγή και διατήρηση του κάτω από εργαστηριακές συνθήκες. Η μελέτη αυτή έχει επίσης μεγάλη σημασία από γεωργική άποψη, επειδή τυχόν μεταβολές στη γενετική δομή που συνδέονται με την αλλαγή της συμπεριφοράς των εργαστηριακών ατόμων σε σχέση με τα " άγρια " άτομα, είναι δυνατόν να θέσει υπό αμφισβήτηση την αποτελεσματικότητα της μεθόδου καταπολέμησης του εντόμου με την εξαπόλυση στείρων αρσενικών ατόμων.

2 . Υ Λ Ι Κ Α Κ Α Ι Μ Ε Θ Ο Δ Ο Ι

2. 1 Συλλογή αγρίων πληθυσμών

Η συλλογή των αγρίων πληθυσμών γινόταν ως εξής . Την κατάλληλη εποχή του έτους (ανάλογα με το είδος του καρπού) συλλέγονταν μεγάλος αριθμός προσβεβλημένων καρπών από μεγάλο αριθμό δένδρων του οπωρώνα , τα οποία ακολούθως τοποθετούνταν σε κουτιά με πριονίδι . Η θερμοκρασία στο εσωτερικό των κουτιών κυμαίνονταν από 23 -26°C . Η νύμφωση των προνυμφών γινόταν στο πριονίδι από το οποίο και συλλέγονταν οι πούπες . Ο αριθμός των νυμφών κάθε δειγματοληψίας φυσικού πληθυσμού ήταν 1000 -2000 .

Η αποστολή δειγμάτων φυσικών πληθυσμών από άλλες γεωγραφικές περιοχές, γινόταν αεροπορικώς . Τα δείγματα αυτά αφορούσαν πούπες ηλικίας 1-4 ημερών . Ακολουθούσε ηλεκτροφόρηση των εξερχόμενων ακμαίων (ηλικίας 3-4 ημερών) . Οι πληθυσμοί που μελετήθηκαν , η περιοχή και ο χρόνος δειγματοληψίας καθώς και το είδος του καρπού από το οποίο προέρχονταν κάθε πληθυσμός , φαίνονται στον Πίνακα 4 .

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 4

ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ ΠΕΡΙΟΧΗ ΔΕΙΓΜΑΤ. ΧΡΟΝΟΣ ΣΥΛΛΟΓΗΣ ΕΙΔΟΣ ΚΑΡΠΟΥ

1. Καλαμάτα	Καλαμάτα	Σεπτέμβριος	1983	Σύκα
2. Κύπρος	Λευκωσία	Σεπτέμβριος	1983	Μανταρίνια
3. Αττική	Βοτανικός	Ιανουάριος	1984	Πορτοκάλια
4. Ισραήλ	Bet Dagan	Ιούνιος	1984	Βερούκοκα
5. Χίος	Κάμπος	Σεπτέμβριος	1984	Σύκα
6. Ν.Αφρική	Stellenbosch	Ιούνιος	1984	γαβανς
7. Ρεουνιόν	Reunion	Μάϊος	1985	καφές
8. Ιταλία	Procida	Σεπτέμβριος	1985	Σύκα
9. Χαβάη	Honolulu	Σεπτέμβριος	1985	Ροδάκινα
10.Κρήτη 1	Αγροκ. Χανίων	Μάϊος	1986	Γκρέιπ-φρουτ
11.Κρήτη 2	-//-		-//-	Πορτοκάλια
12.Κρήτη 3	Περιοχή Αρμένων	Απρίλιος	1986	Γκρέιπ-φρουτ
13.Κρήτη 4	-//-	Ιούλιος	1986	Ροδάκινα
14.Αίγυπτος 1	K. Governorate	Μάϊος	1986	Βερούκοκα
15.Αίγυπτος 2	El-Fayum	Ιούνιος	1986	Βερούκοκα
16.Ισπανία	Jaen	Οκτώβριος	1986	Ροδάκινα
17.Γουατεμάλα		Ιούλιος	1987	Καφές
18.Βραζιλία		Ιούλιος	1988	Καφές
19.Κένυα		Σεπτέμβριος	1988	Καφές
20.Κένυα		Οκτώβριος	1988	Καφές

2.2. Ηλεκτροφορητικές μέθοδοι

Χρησιμοποιήθηκε η επί πύγματος αμύλου οριζόντια ηλεκτροφόρηση (Smithies and Nalke, 1955). Μελετήθηκαν τα παρακάτω 20 ενζυμικά συστήματα που αντιστοιχούν σε 25 γόνους :

Εστεράση (EST), αφυδρογονάση της αλκοόλης (ADH), αφυδρογονάση της οκτανόλης (ODH), αφυδρογονάση του ισοκιτρικού (IDH), μηλικό ένζυμο (ME), αφυδρογονάση του μηλικού (MDH), φωσφορογλυκομουτάση (PGM), ισομεράση της φωσφοροεξόζης (PHI), αφυδρογονάση του α-γλυκερινοφωσφορικού (α-GPD), αφυδρογονάση του 6-φωσφορογλυκονικού (6-PGD), αφυδρογονάση της 6-φωσφορογλυκόζης (G-6-PD), διαφοράση (δύο γόνοι Diaph-1, Diaph-2), φουμαράση (FUM), γλουταμινική οξαλοξική τρανσαμινάση (δύο γόνοι GOT-1, GOT-2), εξοκινάση (δύο γόνοι HK-1, HK-2), λευκίνη αμινοπεπτιδάση (LAP), πεπτιδάση (τρεις γόνοι, PEP-1, PEP-2, PEP-3), ισομεράση της φωσφορμαννόζης (MPI), κινάση του αδενυλικού (AK), και οξειδάση του τετραζολίου (TO) (Η οξειδάση του τετραζολίου (TO), είναι γνωστή και ως δισμουτάση της υπεροξειδάσης (SOD)).

Χρησιμοποιήθηκαν τα παρακάτω ρυθμιστικά διαλύματα.

I.	0,05 M TRIS + 0,007 M κιτρικό οξύ	pH = 8,6
II.	0,76 M βορικό οξύ + 0,2 M LiOH	pH = 8,2
III.	0,1 M $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	pH = 6,5
IV.	0,25 M TRIS + 1,5 gr EDTA. 2 Na	pH = 8,6
V.	0,25 M TRIS	pH = 8,6
VI.	0,1 M TRIS - HCL	pH = 8,6
VII.	33 ml (VIII) + 297 ml H_2O	pH = 7,4
VIII.	0,1 M TRIS + 0,1 M μαλεϊνικό οξύ + 0,1 M EDTA . 2 Na + 0,01 M MgCl_2	pH = 7,4
IX.	66 ml (VIII) + 264 ml H_2O	pH = 7,4
X.	80 ml (XI) + 240 ml H_2O	pH = 8,6
XI.	0,18 M TRIS + 0,1 M βορικό οξύ + 0,004 M EDTA. 2 Na	pH = 8,6
XII.	0,025 M Na_2HPO_4	pH = 7,6
XIII.	0,2 M Na_2HPO_4 + 0,03 M βορικό οξύ	pH = 7
XIV.	0,023 M κιτρικό οξύ + 0,053 Na_2HPO_4	pH = 5,2

Τα ρυθμιστικά διαλύματα παρασκευής του πηγματος αμύλου και των δοχείων των ηλεκτροδίων , το διάλυμα χρώσης και τα χημικά αντιδραστήρια (υπόστρωμα, συνένζυμα κ.α.) που περιέχονται σε κάθε περίπτωση , δίνονται στον Πίνακα 5 . Οι συνθήκες ηλεκτροφόρησης , η διάρκεια επώασης και το οντογενετικό στάδιο ανίχνευσης του ενζύμου για κάθε ενζυμικό σύστημα , δίνονται στον Πίνακα 6 .

Ρυθμιστικά διαλύματα ηλεκτροφόρησης και συστατικά των διαλυμάτων εμφάνισης και χρώσης των ενζύμων που μελετήθηκαν (περισσότερες λεπτομέρειες στο κείμενο)

Γ Ο Ν Ο Σ	P.A	P.A	P.A	ΥΠΟΣΤΡΩΜΑ	ΣΥΝΕΝΖΥΜΟ	ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΣΥΖΕΥΞΗΣ	ΧΡΩΣΤΙΚΕΣ	ΑΝΟΡΓΑΝΑ
-----------	-----	-----	-----	-----------	-----------	--------------------	-----------	----------

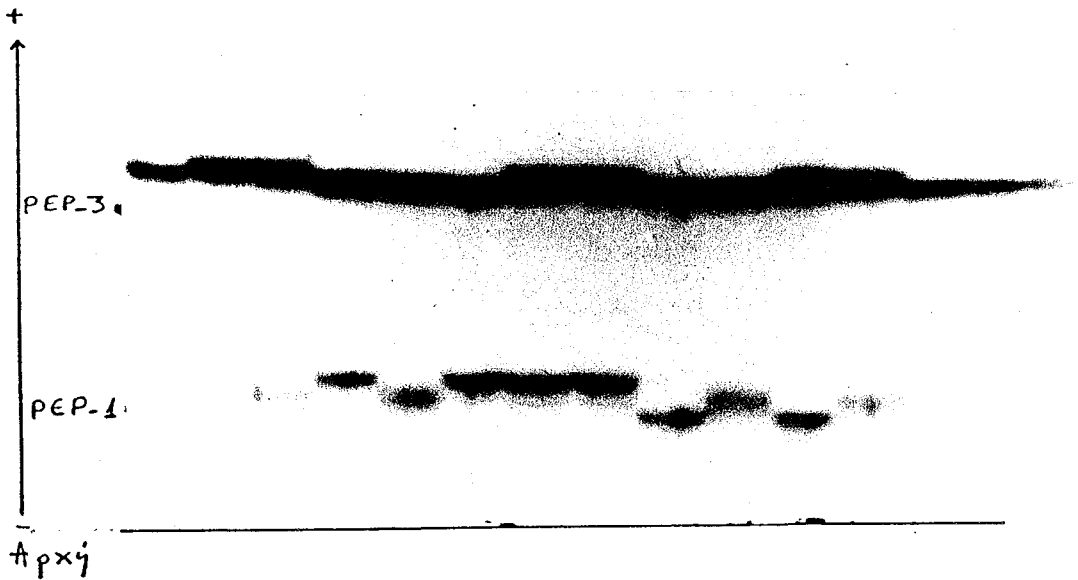
1. EST	I	II	III	α-naphthyl-acetate	--	--	Fest blue RR	Mg++, Mn++
2. ADH	IV	V	VI	Isopropanol	NAD+	--	NBT, PMS	--
3. ODH	IV	V	VI	n-octanol	NAD+	--	NBT, PMS	--
4. IDH	IV ^(a)	V	VI	Isocitric acid	NADP+	--	NBT, PMS	Mg++
5. ME	IX	VII	VI	Malic acid	NADP	--	NBT, PMS	--
6. MDH	VII	VIII	VI	Malic acid	NAD	--	NBT, PMS	--
7. PGM	VII	VIII	VI	Glucose-1-Phosphate	NADP	G-6-PD	NBT, PMS	Mg++
8. PHI	IX	VIII	VI	Fructose-6-Phosphate	NADP	G-6-PD	NBT, PMS	Mg++
9. α-GPD	VII	VIII	VI	α-Glycerophosphate	NAD	--	NBT, PMS	--
10. 6-PGD	IV	V	VI	6-Phosphogluconic Acid	NADP	--	NBT, PMS	--
11. 6-PD	IV	V	VI	Glucose-6-Phosphate	NADP	--	NBT, PMS	--
12. DIAPH ^(a)	X	XI	XIII	NADH	--	--	DCPI	--
13. GOT	X	XI	XIII	L-aspartic-acid	--	--	Fest blue BB	--
14. HK	IV	V	VI	α-ketog. acid, pyridoxal phosphate	NADP	G-6-PD	NBT, PMS	Mg++
15. LAP	I	II	XIV	glucose, ATP	--	--	Black K	--
16. PEP1-3 ^(a)	X	XI	XII	l-leucyl-β naphthylamide	--	Peroxidase	Carbezol ^(a)	--
17. PEP-2 ^(a)	X	XI	XII	l-leucyl-l-tyrosine	--	snake venom	--	--
18. MPI	IV	V	VI	l-phenylalanine-l proline	--	--	--	--
19. AK	X	XI	VI	Mannose-6-phosphate	NADP	G-6-PD, PHI	NBT, PMS	Mg++
20. FUM	X	XI	VI	Glucose, ADP	NADP	G-6-PD, HK	NBT, PMS	Mg++
21. TO (SOD)	VII	XI	VI	Fumaric acid	NAD	MDH	NBT, PMS	--

1) Με προσθήκη NADP, (2) Η αντίδραση γίνεται με agar- overlay, (3) Για τη διάλυση της ουσίας Carbezol χρησιμοποιήθηκε N,N-ΣΥΝΤΗΜΗΣΙΣ: NAD= νικουτιναμίδιο-αδενίνο-δινουκλεοτίδιο, ATP=αδενόσινο-τριφωφορικό dimethyl-formamide
NBT = Nitroblue tetrazolium, PMS=Phenazine methosulfate, NADP=Nι κοτιναμίδιο-αδενίνο-δινουκλεοτίδιο, NADH=αντημ. νικουτιναμίδιο.

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 6

Συμπληρωματικές πληροφορίες σχετικά με την
ανίχνευση των ενζυμικών πολυμορφισμών

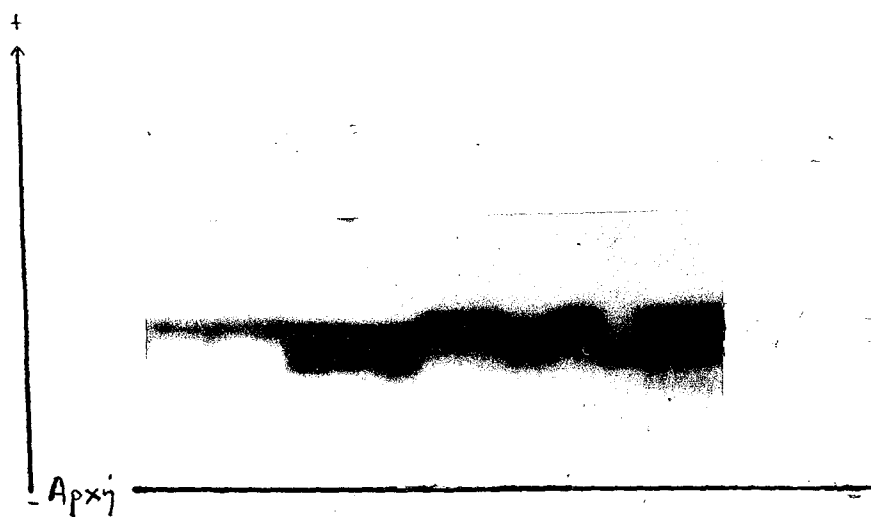
Ενζυμικό σύστημα	Στάδιο ανίχνευσης	Συνθήκες ηλεκτροφόρησης			Διάρκεια επώασης(min)
		Τάση(V)	Ενταση(mA)	Διάρκεια(h)	
EST	Πούπες	500	180	2,5	60
ADH	Ακμαία	300	200	3,5	30
ODH	Ακμαία	300	200	3,5	120
IDH	Ακμαία	300	200	3,5	20
ME	Ακμαία	300	300	3,5	20
MDH	Ακμαία	300	250	3,5	60
PGM	Ακμαία	300	250	3,5	60
PHI	Ακμαία	300	300	3,5	20
α-GPD	Ακμαία	300	250	3,5	60
6-PGD	Ακμαία	300	200	3,5	60
G-6PD	Ακμαία	300	200	3,5	45
DIAPH	Ακμαία	300	40	3,5	15
FUM	Ακμαία	300	40	3,5	120
GOT	Ακμαία	300	40	3,5	overnight
HK	Ακμαία	300	200	3,5	60
LAP	Πούπες	500	180	2,5	30
PEP-1	Ακμαία	300	40	3,5	30
PEP-2	Ακμαία	300	40	3,5	60
PEP-3	Ακμαία	300	40	3,5	15
MPI	Ακμαία	300	200	3,5	30
AK	Ακμαία	300	40	3,5	30
TO	Ακμαία	300	200	3,5	120



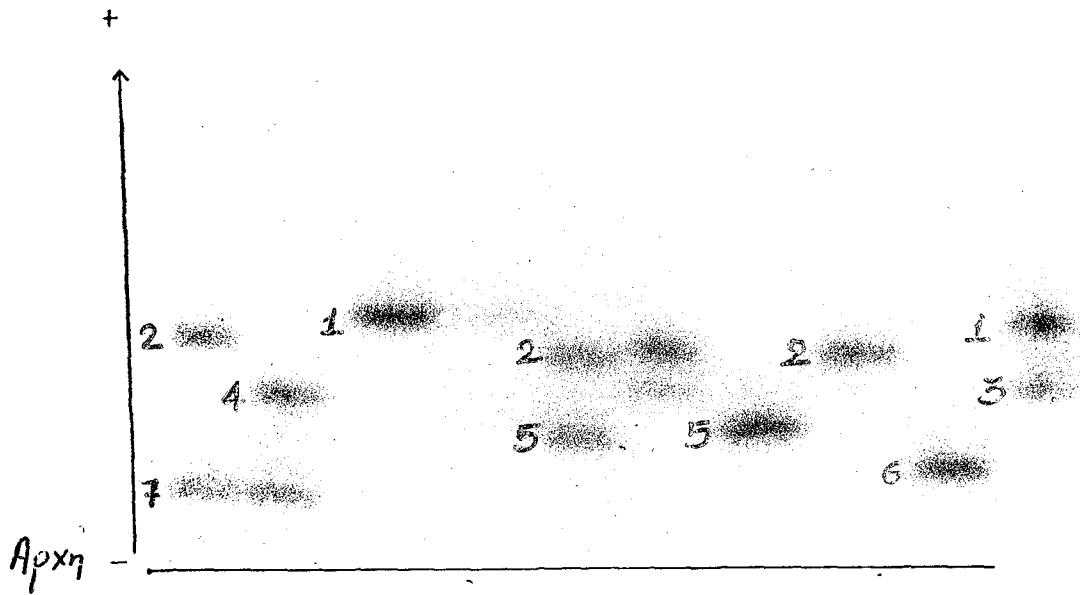
ΕΙΚΟΝΑ 8 : Ζυγόγραμμα για το ένζυμο Πεντιδάση.
Από αριστερά προς τα δεξιά οι ηλεκτροφορητικοί φαινότυποι:

PEP-1 : 1.26 / 1.00 , 1.26 / 1.00 , 1.26 / 1.00 , 1.26 / 1.26 ,
1.26 / 1.00 , 1.26 / 1.26 , 1.26 / 1.26 , 1.26 / 1.26 ,
1.00 / 1.00 , 1.26 / 1.00 , 1.00 / 1.00 , 1.26 / 1.00 ,
1.26 / 1.00 , 1.26 / 1.26 , 1.26 / 1.00

PEP-3 : 1.00 / 1.00 , 1.06 / 1.00 , 1.06 / 1.00 , 1.00 / 1.00
1.00 / 1.00 , 1.00 / 1.00 , 1.06 / 1.00 , 1.06 / 1.00 , 1.00 / 1.00 ,
1.00 / 1.00 , 1.06 / 1.00 , 1.06 / 1.00 , 1.00 / 1.00 , 1.00 / 1.00 ,
1.00 / 1.00



ΕΙΚΟΝΑ 9 : Ζυγόγραμμα για το ένζυμο αφυδρογονάση του
 ισοκιτρικού (IOH).
 Από αριστερά προς τα δεξιά οι ηλεκτροφορητικοί φαινότυποι
 1.00 / 1.00 , 1.00 / 1.00 , 1.00 / 1.00 , 1.00 / 0.83
 1.00 / 0.83 , 1.00 / 0.83 , 1.00 / 1.00 , 1.00 / 1.00
 1.00 / 0.83 , 1.00 / 1.00 , 0.83 / 0.83 , 1.00 / 0.83



ΕΙΚΟΝΑ 10 : Ζυγόγραμμα για το ένζυμο ισομεράση της φωσφορομαννόζης (MPI).

Από αριστερά προς τα δεξιά οι ηλεκτροφορητικοί φαινότυποι :
 1.00 / 0.74 , 0.92 / 0.74 , 1.04 / 1.04 , 1.04 / 1.04 ,
 1.00 / 0.87 , 1.00 / 0.97 , 0.87 / 0.87 , 1.00 / 1.00 ,
 0.83 / 0.83 , 1.04 / 0.97

(1 → 1.04 , 2 → 1.00 , 3 → 0.97 , 4 → 0.92 ,
 5 → 0.87 , 6 → 0.83 , 7 → 0.74).

2.3. Εκτροφή του εντόμου στο εργαστήριο

Για τη μελέτη των αλλαγών των συχνοτήτων των αλληλομόρφων των γόνων σε διαδοχικές γενιές, κάτω από εργαστηριακές συνθήκες, ήταν απαραίτητη η "μαζική εκτροφή" εργαστηριακών πληθυσμών. Τρεις εργαστηριακοί πληθυσμοί προέλευσης Βοτανικού, Χίου και Κύπρου δημιουργήθηκαν από 500 πούπες περίπου, από τον αντίστοιχο άγριο πληθυσμό (γενιά μηδέν). Σε κάθε γενιά και επί 4 ή 5 συνεχείς γενιές, 100-200 άτομα από κάθε πληθυσμό ανιχνεύονταν ηλεκτροφορητικά για 3 ενζυμικά συστήματα (Perp-1, Perp-3 και Est).

Για τη μελέτη μενδελιανής διάσχισης των γόνων και για τη δημιουργία "ισογονικών στελεχών" (βλέπε πείραμα ουρίας και πείραμα του ρυθμού μονιμοποίησης της Perp-1) ήταν απαραίτητη η "ατομική εκτροφή" των εντόμων.

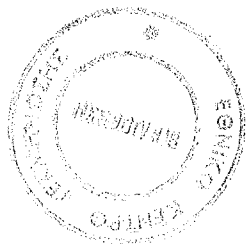
2.3.1 Συνθήκες εκτροφής

Οι συνθήκες εκτροφής της μύγας της Μεσογείου στο τμήμα της εντομολογίας του Πυρηνικού Κέντρου "ΔΗΜΟΚΡΙΤΟΣ" ήταν :

Θερμοκρασία : 25 ± 2 °C

Σχετική υγρασία : $60 \pm 5\%$

Φωτισμός : 850 LUX . Ο φωτισμός γινόταν με λάμπες φθορίου και διαρκούσε 14,5 ώρες ημερησίως.



Κάτω από τις συνθήκες αυτές , η διάρκεια των διαφόρων οντογενετικών σταδίων του εντόμου ήταν 2 ημέρες για το στάδιο της επώασης των αυγών , 10-12 ημέρες για το στάδιο της προνύμφης και 10 -12 ημέρες για το στάδιο της πούπας. Στον Πίνακα 7 δίνονται το ποσοστό βιωσιμότητας των διαφόρων σταδίων της μύγας της Μεσογείου κάτω από τις συνθήκες του πειράματος μας στο εργαστήριο.

2.3.2. Μέθοδοι και τεχνικές εκτροφής του εντόμου

α) Εκτροφή τέλειου εντόμου

α1. Μαζική εκτροφή

Για τη μαζική εκτροφή του εντόμου , χρησιμοποιήθηκαν οι κλωβοί του σχήματος 1. Κάθε κλωβός περιέχει 300 περίπου ακμαία που προέρχονται από 380 πούπες (ποσοστό εξόδου ακμαίων περίπου 80%) , ένα τρυβλίο για την τροφή των ακμαίων που αποτελείται από μίγμα υδρολυμένης ζύμης και ζάχαρης σε αναλογία 1:4 και ένα κυλινδρικό πλαστικό δοχείο με νερό (Σχ.3) . Πέντε περίπου ημέρες μετά την έξοδο των ακμαίων, τοποθετούσαμε στον κλωβό 2-3 παραφίνες εναπόθεσης των αυγών (Σχ. 2) .

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 7

Ποσοστά βιωσιμότητας των διαφόρων σταδίων της μύγας
της Μεσογείου κάτω από τις συνθήκες του πειράματος μας .

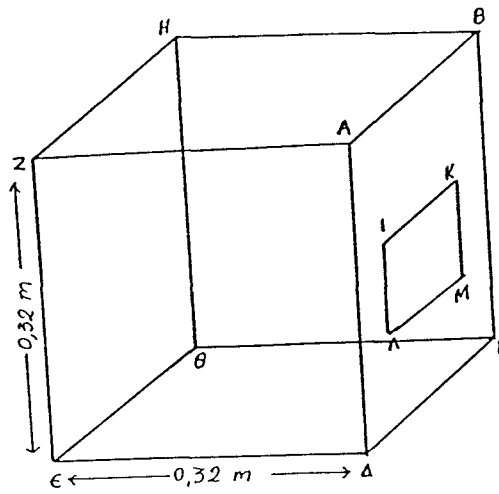
Αριθμός ζεύγους	Αριθμός αυγών	Προνύμφες % των αυγών	Πούπες % των αυγών	Άκμαία % των αυγών
1	130	102 (79%)	60 (46%)	44 (34%)
2	135	105 (78%)	62 (46%)	47 (35%)
3	146	115 (79%)	62 (43%)	55 (38%)
4	160	120 (75%)	72 (45%)	57 (36%)
5	142	113 (80%)	66 (47%)	46 (33%)
6	120	88 (74%)	52 (44%)	42 (35%)
7	138	111 (81%)	55 (40%)	49 (36%)
8	170	115 (68%)	73 (43%)	57 (34%)
9	166	121 (73%)	58 (35%)	50 (31%)
10	134	101 (76%)	56 (42%)	43 (32%)
11	190	136 (72%)	85 (45%)	62 (33%)
12	125	101 (81%)	58 (47%)	36 (29%)
13	178	122 (69%)	73 (41%)	62 (35%)
14	143	101 (71%)	55 (39%)	49 (34%)
15	182	131 (72%)	78 (43%)	56 (31%)
16	153	104 (68%)	67 (44%)	49 (32%)
17	129	95 (74%)	61 (48%)	46 (36%)
18	118	89 (76%)	54 (46%)	41 (35%)
19	136	111 (82%)	56 (41%)	38 (28%)
20	123	103 (84%)	56 (41%)	39 (32%)

Η παρασκευή των παραφινών και η συλλογή των αυγών γινόταν ως εξής : Γυάλινες ημισφαιρικές μήτρες διαβρεγμένες με σαπουνόνερο , βυθίζονταν για 1" σε λυωμένη παραφίνη . Στη συνέχεια γινόταν αφαίρεση του λεπτού στρώματος της παραφίνης από τη μήτρα και τοποθέτηση της σε μικρή παραλληλόγραμμη γυάλινη θερμή πλάκα για αεροστεγή εφαρμογή της παραφίνης . Για την εξασφάλιση υγρασίας στο εσωτερικό της παραφίνης , στο κέντρο της γυάλινης πλάκας είχε τοποθετηθεί μικρό υγρό τεμάχιο ταμπόν . Οι παραφίνες διατηρούνταν σε ψυχρό χώρο για διάστημα έως και 15 ημέρες .

Τα ακμαία τοποθετούσαν τα αυγά στην εσωτερική επιφάνεια των παραφινών με τον ωσθέτη τους . Η συλλογή των αυγών από τις παραφίνες γινόταν μία ή δύο φορές ημερησίως (8 π.μ. και 12 π.μ.) με ειδικό λεπτό πινελλάκι . Τα αυγά τοποθετούνταν σε τρυβλίο Petri πάνω σε τριγωνικά μαύρα χαρτάκια (για να είναι ορατά) τα οποία ήταν τοποθετημένα πάνω σε διπλό υγρό διηθητικό χαρτί , για 24 ώρες . Την επομένη ημέρα, τα αυγά μεταφέρονταν με έγχυση διαλύματος προπιονικού οξέος (0,3%) , με τη βοήθεια σύριγγας, στην τροφή των προνυμφών .

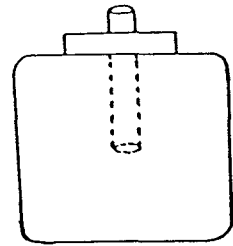
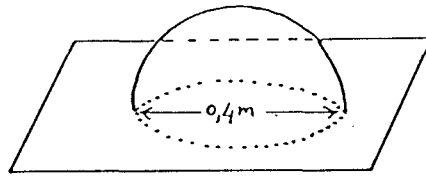
α2. Ατομική εκτροφή

Για την ατομική εκτροφή των εντόμων (ζεύγη) , χρησιμοποιήθηκαν οι κλωβοί του Σχ. 4 . Η διατήρηση των ακμαίων , η εναπόθεση των αυγών και η συλλογή τους γινόταν όπως περιγράφηκε στη μαζική εκτροφή . Για την εξασφάλιση παρθένων θηλυκών , πούπες τελευταίου σταδίου (8-10 ημερών) τοποθετούνταν σε γυάλινους σωλήνες εκτροφής (μία σε κάθε σωλήνα) . Με την έξοδο των ακμαίων γινόταν και ο προσδιορισμός του φύλου .



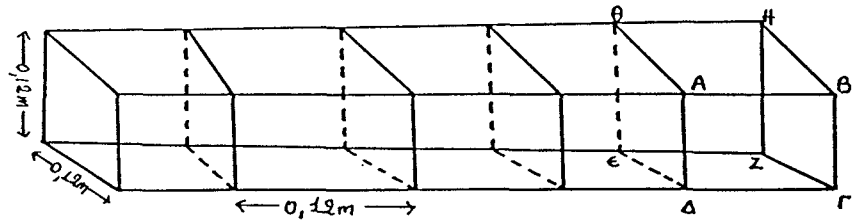
πλευρά ΑΒΓΔ } κατασκευασμένη
 ΓΔΕΖ } από ξύλο
 πλευρά ΕΖΗΘ } κατασκευασμένη
 από γυαλί
 πλευρά ΔΕΖΑ } κατασκευασμένη
 ΑΒΗΖ } από σίτα
 ΒΓΗΘ }
 ΙΚΛΜ } πόρτα

Σχήμα 1. Κλωβός μαζικής εκτροφής



Σχήμα 2. Παραφίνη εναπόθεσης αυγών.

Σχήμα 3. Δοχείο νερού



Σχήμα 4. Κλωβοί ατομικής εκτροφής

πλευρά ΑΒΓΔ } κατασκευασμένη
 από γυαλί κινητό
 πλευρά ΑΒΗΘ } κατασκευασμένη
 ΗΘΕΖ } από σίτα
 πλευρά ΑΒΓΖ } κατασκευασμένη
 ΖΓΔΕ } από ξύλο
 ΔΕΘΑ }

B . Εκτροφή προνυμφών

Για την εκτροφή των προνυμφών , χρησιμοποιήθηκε το παρακάτω μίγμα (Tsitsipis, 1977) .

Νερό : 55 ml
 Κυτταρίνη : 90 gr (No123 ,chlecher , W.Germany)
 Ζύμη ζυθ. : 7,5 gr (Schwechat ,Austria)
 Υδρ. Ζύμη : 3 gr (Nutritional Bioch. Corporetion ,U.S.A.)
 Ζαχαρόζη : 2 gr
 HCL (2N) : 3 ml
 Λάδι ελιάς : 2 ml (0-1 οξύτητα)
 Tween-80 : 0,75 ml
 Potassium sorbate : 0,05 gr
 Nipagin : 0,2 gr (methyl-p-hydroxybenzolate)

2.4. Πειράματα ανίχνευσης κρυμμένου ενζυμικού πολυμορφισμού

2.4.1. Δημιουργία "ισογονικών στελεχών "

Για να ανιχνευθεί τυχόν κρυμμένος ενζυμικός πολυμορφισμός στη μύγα της Μεσογείου, έγινε το πείραμα της ουρίας , το οποίο βασίστηκε στην ευαισθησία που εμφανίζουν τα αλλόζυμα σε διαφορετικές συγκεντρώσεις ουρίας, σε συνδυασμό με τη μέθοδο της ηλεκτροφόρησης (Loukas et al., 1981).

Για την εφαρμογή του πειράματος της ουρίας, δημιουργήσαμε "ισογονικά στελέχη ", χρησιμοποιώντας το συνεχές σύστημα ομοεικτικών διασταυρώσεων " αδελφός χ αδελφή ".

Οι γονείς όλων των διασταυρώσεων της πρώτης γενιάς, προέρχονται από φυσικό πληθυσμό Κρήτης. Από τους απογόνους κάθε ζευγαριού διατηρούνταν μόνο δύο (ένα αρσενικό

και ένα παρθένο θηλυκό), που αποτελούσαν τους γονείς της επόμενης γενιάς . Η διαδικασία αυτή συνεχίστηκε επί 14 γενιές .

Στο σύστημα αυτό διασταυρώσεων , η ετεροζυγωτία κατά τη γενιά t δίνεται συναρτήσει της ετεροζυγωτίας στη γενιά $t-1$ από τη σχέση :

$$H_t = 0.809 H_{t-1} \quad (\text{Crow and Kimura, 1970}) \quad \eta$$

συναρτήσει της ετεροζυγωτίας στη γενιά 0 από τη σχέση:

$$H_t = (0.809)^t H_0 .$$

Αν υποθεθεί ότι: $H_0 = 1$ τότε για $t=14$ έχουμε $H_{14} = 0.051$. Συνολικά δημιουργήθηκαν 20 τέτοια "ισογονικά στελέχη" . Έτσι, καθένα από τα στελέχη αυτά , αναμένεται κατά τη 14η γενιά να διατηρεί το 5% περίπου της αρχικής του ετεροζυγωτίας .

2.4.2. Πείραμα ουρίας

Η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών (των ενζύμων) γινόταν πριν από την ηλεκτροφόρηση. Εκχύλισμα από τη λειοτρίβηση 5 θηλυκών ατόμων σε 3 ml διαλύματος ουρίας, επωαζόταν στους 37°C. Οι συγκεντρώσεις των διαλυμάτων ουρίας (M) που χρησιμοποιήθηκαν, ο χρόνος αποικοδόμησης (σε λεπτά) και ο χρόνος εμφάνισης της ενζυμικής αντίδρασης (σε λεπτά) φαίνονται στον Πίνακα 8 .

Με τη μέθοδο της ουρίας μελετήθηκαν τρία (3) ενζυμικά συστήματα , δύο (2) μονομορφικά (Odh , ME) και ένα (1) πολυμορφικό (Pep-1) . Οι συγκεντρώσεις της ουρίας για κάθε ενζυμικό σύστημα , προσδιορίστηκαν μετά από επανειλημμένες δοκιμές ώστε η συγκέντρωση αποικοδόμησης να είναι εξαιρετικά σαφής. Οι συγκεντρώσεις αυτές δε διαφέρουν σημαντικά από εκείνες που χρησιμοποιήθηκαν από τους Loukas et al., (1981) για ανάλογα ενζυμικά συστήματα στο έντομο Drosophila subobscura .

 Π Ι Ν Α Κ Α Σ 8

Τεχνικές λεπτομέρειες εφαρμογής της μεθόδου της ουρίας
(περισσότερες λεπτομέρειες στο κείμενο)

ΓΟΝΟΣ	Συγκέντρωση ουρίας (M)	Χρόνος επώασης (αποικοδόμησης) (min)	Χρόνος εμφ. αντίδρασης (min)
O D H	3,4,5,6	12	12
M E	2,3,4,5,6,7	10	30
P E P-1	14,15,16,17	25	30

Στον Πίνακα 8, η μικρότερη συγκέντρωση ουρίας καθενός ενζύμου, δίνει σχεδόν κανονική ενζυμική αντίδραση. Με την αύξηση της συγκέντρωσης η αντίδραση εξασθενίζει, ενώ στη μεγαλύτερη συγκέντρωση η αντίδραση παρεμποδίζεται εντελώς.

2.4.3. Πειράματα με φυσικούς και εργαστηριακούς πληθυσμούς

2.4.3.1. Έλεγχος της γενετικής παικτιλαμορφίας γειτονικών πληθυσμών που προέρχονται από διαφορετικούς ξενιστές

Δημιουργήσαμε δύο ζεύγη πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου, που προέρχονταν από δύο διαφορετικές περιοχές της Κρήτης. Το πρώτο ζεύγος πληθυσμών (Κρήτη - I και Κρήτη - II) προέρχονταν από προσβεβλημένα γκρέιπ-φρούτ (Κρήτη - I) και πορτοκάλια (Κρήτη - II), των οποίων η συλλογή έγινε το Μάιο του 1986 από δύο γειτονικούς οπωρώνες της περιοχής Χανίων. Το δεύτερο ζεύγος πληθυσμών (Κρήτη III και Κρήτη - IV), των οποίων η συλλογή έγινε τον Απρίλιο του 1986 (Κρήτη - III) και τον Ιούλιο του 1986 (Κρήτη - IV), επίσης από δύο γειτονικούς οπωρώνες της περιοχής Αρμένων του νομού Χανίων. Οι μέσοι διάμετροι των προσβεβλημένων γκρέιπ - φρούτ (παραγωγή του προηγούμενου έτους που διατηρήθηκε στα δένδρα), πορτοκαλιών και ροδακίνων, από τα οποία έγινε η συλλογή των πληθυσμών ήταν $11,7 \pm 0,9$ εκατ., $6,3 \pm 0,5$ εκατ. και σε $6,8 \pm 0,6$ εκατ. αντίστοιχα.

Η επιλογή των πληθυσμών καθ' ενός ζεύγους από γειτονικούς οπωρώνες και η κατά το δυνατόν ταυτόχρονη συλλογή τους, έγινε για την ελαχιστοποίηση της περιβαλλοντικής ανομοιογένειας, στην οποία εκτίθενται οι πληθυσμοί καθ' ενός ζεύγους. Έτσι, τυχόν γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών, μάλλον θα οφείλεται στο διαφορετικό ξενιστή καθ' ενός πληθυσμού.

2.4.3.2. Έλεγχος τυχόν προτίμησης στην εναπόθεση των αυγών από το θηλυκό, ως προς τον Ξενιστή.

Για να αντιμετωπίσουμε το ενδεχόμενο οι σχέσεις μύγας της Μεσογείου και Ξενιστή να οφείλονται σε γενετικές αλλαγές, που δεν ανιχνεύτηκαν στο δείγμα των γόνων που μελετήθηκαν στην εργασία αυτή, σχεδιάστηκε και εκτελέστηκε το ακόλουθο πείραμα.

Δημιουργήθηκαν δύο στελέχη μύγας της Μεσογείου για το γόνο $Per-1$. Το ένα προέρχονταν από γκρέιπ-φρούτ και ήταν ομοζυγωτό για τον αλληλόμορφο 1,26 και το άλλο από ροδάκινα και ήταν ομοζυγωτό για τον αλληλόμορφο 1,00. Η δημιουργία των στελεχών αυτών και στη συνέχεια η διατήρησή τους στο εργαστήριο επί δύο συνεχείς γενιές (για τον πολλαπλασιασμό τους), έγινε σε γκρέιπ-φρούτ και ροδάκινα αντίστοιχα. Στην τρίτη γενιά, 300 πούπες από κάθε στέλεχος, τοποθετήθηκαν σε δύο εργαστηριακούς κλωβούς όπου είχαμε εναποθέσει εργαστηριακή τροφή (όχι φρούτα). Δέκα ημέρες μετά από την έξοδο των ακμαίων, 100 θηλυκά από κάθε στέλεχος (πιθανότατα γονιμοποιημένα από αρσενικά του ίδιου στελέχους) τοποθετήθηκαν σε δύο εργαστηριακούς κλωβούς, δηλαδή κάθε κλωβός έφερε συνολικά 100 θηλυκά άτομα, 50 από κάθε στέλεχος. Σε κάθε κλωβό τοποθετήθηκαν 4 γκρέιπ-φρούτ και 4 ροδάκινα, τα οποία αλλάζονταν καθημερινά επί 10 συνεχείς ημέρες. Συνολικά έγινε συλλογή 449 πουπών από τα ροδάκινα (κατηγορία I) και 285 πουπών από τα γκρέιπ-φρούτ (κατηγορία II).

Τα ακμαία κάθε κατηγορίας ηλεκτροφορήθηκαν για το γόνο $Per-1$. Από τα 411 ακμαία της κατηγορίας I, 187 βρέθηκαν να είναι ομοζυγωτά για τον αλληλόμορφο 1,26 και 224 για τον αλληλόμορφο 1,00. Από τα 245 ακμαία της κατηγορίας II, 131 βρέθηκαν ομοζυγωτά για τον αλληλόμορφο 1,26 και 114 για τον αλληλόμορφο 1,00.

2.4.4. Ελεγχος του ρυθμού μονιμοποίησης για το γόνο PEP-1, 39 υποπληθυσμών που ο καθένας αποτελείται από ένα ζεύγος ατόμων.

Επειδή παρατηρήθηκε πολυμορφισμός για το γόνο PEP-1 σε όλους τους Μεσογειακούς πληθυσμούς, μελετήθηκε πειραματικά κατά πόσο ο ρυθμός ή η ταχύτητα μονιμοποίησης του γόνου αυτού, ακολουθεί τον προβλεπόμενο για ουδέτερους αλληλομόρφους, με το ακόλουθο πείραμα: Από τον πληθυσμό της Νότιας Αφρικής (βασικός πληθυσμός), πάρθηκαν 39 ζεύγη τυχαίων ατόμων (ένα αρσενικό και ένα παρθένο θηλυκό) που αποτέλεσαν 39 υποπληθυσμούς (γενιά μηδέν). Από τους απογόνους κάθε ζεύγους , δύο πάλι άτομα (ένα αρσενικό και ένα παρθένο θηλυκό), αποτέλεσαν τον υποπληθυσμό της επόμενης γενιάς κ.ο.κ. (Σύστημα διασταύρωσης " αδελφός χ αδελφή " (sib mating)).

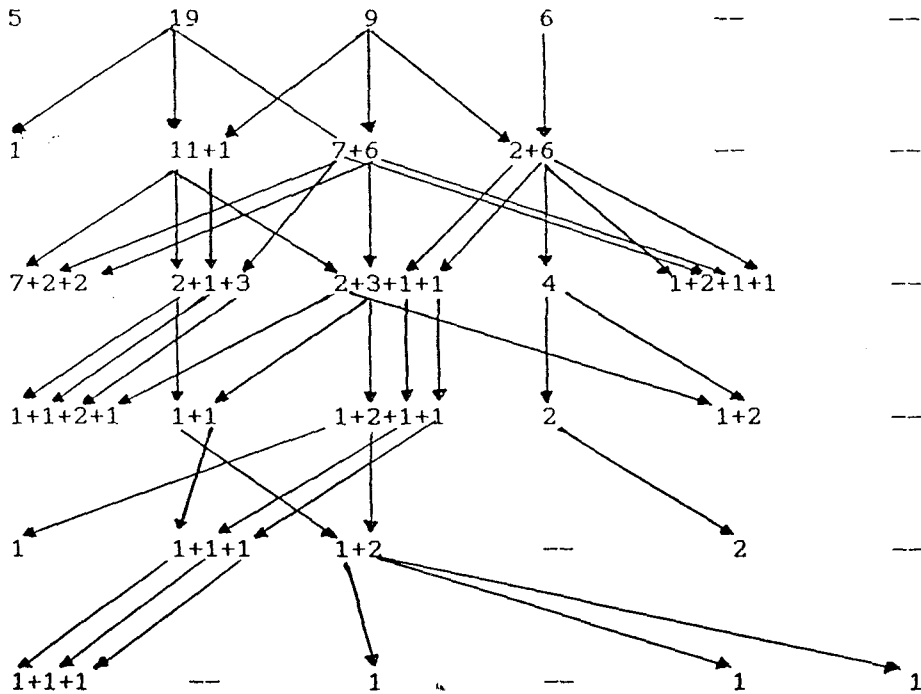
Σε κάθε γενιά , οι δύο γονείς ηλεκτροφορούνταν για το γόνο PEP-1. Η διαδικασία αυτή συνεχίστηκε μέχρις ότου και τα δύο άτομα κάθε ζεύγους διαπιστωθεί ότι είναι ομοζυγωτά για τον ίδιο αλληλομόρφο του γόνου PEP-1. Οι τύποι των διασταυρώσεων και οι αριθμοί τους σε κάθε γενιά, δίνονται διαγραμματικά στο Σχήμα 5.

Σχήμα 5

5η διασταυρώσεων (του συστήματος διασταύρωσης " αδελφός X αδελφή ")
και οι αριθμοί απογόνων τους από γενιά σε γενιά.

Γ Ο Ν Ο Τ Υ Π Ο Ι Τ Ω Ν 39 Ζ Ε Υ Γ Ω Ν

ΙΑ FF X FF FF X FS FS X FS FS X SS SS X SS FS X SS



ο FF X FF αντιστοιχεί στο γονότυπο 1,26/1,26 X 1,26/1,26 , ο FF X FS
στο 1,26/1,26 X 1,26/1,00 , ο FS X FS στο 1,26/1,00 X 1,26/1,00 , ο
FS X SS στο 1,26/1,00 X 1,00/1,00 , ο SS X SS στο 1,00/1,00 X 1,00/1,00

2.5. Μέθοδοι εκτίμησης γενετικών αποστάσεων

Προκειμένου να έχουμε μια εικόνα της γεωγραφικής εξάπλωσης της μύγας της Μεσογείου, προσπαθήσαμε να υπολογίσουμε τις φυλογενετικές σχέσεις μεταξύ πληθυσμών με βάση τις συχνότητες των αλληλομόρφων (Πίνακας 10).

Η γεωγραφική εξάπλωση μελετήθηκε με δύο μεθόδους:

- i) Τη φυλογενετική ανάλυση
- ii) Την ανάλυση των κυρίων συνιστωσών (Principal Component Analysis).

i) Φυλογενετική Ανάλυση

Χρησιμοποιήσαμε τη μέθοδο Neighbor-Joining (Saitou and Nei, 1987) και τη μέθοδο Gabriel Graphs (Matula and Sokal, 1980).

Η μέθοδος Neighbor-Joining σχηματίζει σταδιακά το φυλογενετικό δένδρο, ομαδοποιώντας ζεύγη ειδών τα οποία μαζί με τα υπόλοιπα είδη, αποτελούν ενδιάμεσο φυλογενετικό σχήμα με το ελάχιστο δυνατό μήκος πλευρών.

Στη μέθοδο Gabriel Graphs 2 πληθυσμοί A και B είναι γειτονικοί, όταν η μεταξύ τους γενετική απόσταση είναι μικρότερη απ' ότι με κάθε τρίτο πληθυσμό C. Δηλαδή A,B είναι γειτονικοί πληθυσμοί εάν :

$$d_{AB}^2 < d_{AC}^2 + d_{CB}^2$$

όπου d είναι η γενετική απόσταση που χρησιμοποιήσαμε, (D_2). Επιπλέον, τροποποιήσαμε την παραπάνω παράσταση, εισάγοντας την παράμετρο $K > 1$, ώστε :

$$K \cdot d_{AB}^2 < d_{AC}^2 + d_{CB}^2$$

Ως εκτιμητές των γενετικών αποστάσεων, χρησιμοποιήσαμε τον εκτιμητή D_2 των Krimbas and Sourdis (1987), καθώς και τον εκτιμητή του Nei (1972).

$$\alpha) D_2 = \sum_v \sum_i \sum_j \frac{r_i q_i |K_A^{v,i} - K_B^{v,j}|}{\Delta_v}, \text{ όπου :}$$

D_2 = γενετική απόσταση για τους πολυμορφικούς γόνους
 r_i = η συχνότητα του αλληλομόρφου i ενός ορισμένου γόνου στον πληθυσμό A.

q_i = η συχνότητα του ίδιου αλληλομόρφου στον πληθυσμό B.

$K_A^{v,i}$ = η μετακίνηση στο ηλεκτροφόρημα του αλληλομόρφου i του γόνου v στον πληθυσμό A και

$K_B^{v,j}$ = η μετακίνηση του αντίστοιχου αλληλομόρφου στον πληθυσμό B.

$\Delta_v = \max (K_A^v, K_B^v, K_C^v, \dots, K_S^v) -$

$- \min (K_A^v, K_B^v, K_C^v, \dots, K_S^v) ,$

όταν S πληθυσμοί μελετώνται.

Ο εκτιμητής D_2 θεωρείται ότι δίνει καλύτερες εκτιμήσεις της γενετικής απόστασης από τον εκτιμητή του Nei, ο οποίος χρησιμοποιούνταν μέχρι τώρα για την εύρεση φυλογενετικών σχέσεων από ηλεκτροφορητικά δεδομένα (Krimbas and Sourdis, 1987).

β) Ο εκτιμητής γενετικής απόστασης του Nei (1972).

Εδώ η γενετική απόσταση μεταξύ δύο εξελικτικών μονάδων X και Y εκτιμάται ως εξής : Εστω ότι τα δεδομένα αναφέρονται σε r το πλήθος γόνους και ότι κάθε γόνος i , ($i=1,2,\dots,r$) εμφανίζει m_i το πλήθος αλληλομόρφους. Εστω ακόμα ότι X_{ij} και Y_{ij} , $j=1,2,\dots,m_i$ οι συχνότητες του αλληλομόρφου j του γόνου i στις εξελεκτικές μονάδες X και Y αντίστοιχα.

Τότε η γενετική απόσταση D είναι :

$$D = - \log_e (I) , \text{ όπου}$$

I είναι η γενετική ομοιότητα των δύο ΟΤΥς X και Y , η οποία ορίζεται από τη σχέση :

$$I = \frac{J_{xv}}{\sqrt{J_x J_v}} , \text{ όπου}$$

$$J_{xv} = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^{m_i} X_{ij} Y_{ij}$$

$$J_x = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^{m_i} (x_{ij}) \quad \text{και}$$

$$J_v = \frac{1}{r} \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^{m_i} (y_{ij})$$

(1) Ο όρος ΟΤΥ (Operational Taxonomic Units-χειριστικές ταξινομικές μονάδες) της συστηματικής, δηλώνει τα μέλη της ομάδας των οποίων θέλουμε να προσδιορίσουμε τις φυλογενετικές σχέσεις.

Η Neighbor-joining μέθοδος ,θεωρείται ως η καλύτερη μεταξύ όχι μόνο των άλλων μεθόδων που υπολογίζουν φυλογενετικές σχέσεις με βάση γενετικές αποστάσεις αλλά και των φειδωλών (Parsimony) μεθόδων (Sourdís and Nei, 1988).

ii) Ανάλυση Κυρίων Συνιστωσών
(Principal Component Analysis)

Μια εναλλακτική προσέγγιση στις μεταξύ των πληθυσμών εξελικτικές αποστάσεις , μας παρέχουν οι απεικονίσεις των πληθυσμών στο επίπεδο των δύο κυρίων συνιστωσών ή στο χώρο των τριών κυρίων συνιστωσών. Για το σκοπό αυτό προβήκαμε σε πολλαπλή ανάλυση των συχνοτήτων των ηλεκτροφορητικών μας δεδομένων και στον υπολογισμό των κυρίων συνιστωσών (Piazza, Menozzi and Cavalli-Sforza, 1981).

3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΗ

3.1. Μελέτη της γενετικής δομής των φυσικών πληθυσμών

3.1.1. Διασταυρώσεις για τον έλεγχο Μενδελιανού διαχωρισμού των αλληλομόρφων

Αν και στις περισσότερες περιπτώσεις ήταν εύκολο να υποπτευθεί κανείς τη γενετική των συστημάτων που μελετήθηκαν, εν τούτοις είτε λόγω της ύπαρξης μεγάλου αριθμού αλληλομόρφων (π.χ. $Mp1$) είτε λόγω της ύπαρξης σιωπηλών (silent) αλληλομόρφων (π.χ. Est), κρίθηκε σκόπιμος ο έλεγχος της κληρονομικότητας ορισμένων συστημάτων με κατάλληλες διασταυρώσεις. Στον Πίνακα 9 δίνονται τα αποτελέσματα των διασταυρώσεων που έγιναν για τον έλεγχο μενδελιανού διαχωρισμού των αλληλομόρφων των πολυμορφικών γόνων $Per-1$, $Per-3$, $Mp1$ και Est . Η πρώτη στήλη του Πίνακα δίνει το γόνο που μελετήθηκε, η δεύτερη τους φαινότυπους των γονέων κάθε μιας διασταύρωσης, η τρίτη τους αριθμούς των απογόνων που παρατηρήθηκαν σε κάθε φαινοτυπική κατηγορία, η τέταρτη το λόγο που αναμένεται σε συνθήκες μενδελιανού διαχωρισμού και τέλος οι δύο τελευταίες στήλες δίνουν την τιμή του χ^2 και την αντίστοιχη πιθανότητα να μη διαφέρουν τα αποτελέσματα από τη μηδενική υπόθεση, τη μενδελιανή διάσχιση.

Όπως παρατηρούμε από τον Πίνακα 9, σε όλες τις περιπτώσεις οι φαινοτυπικές αναλογίες των απογόνων που παρατηρήθηκαν, δεν αποκλίνουν σημαντικά (με επίπεδο σημαντικότητας το 5%) από τις αναλογίες που αναμένονται με μενδελιανό διαχωρισμό. Πρόκειται δηλαδή για αλληλομόρφους των αντίστοιχων γόνων.

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 9

Διασταυρώσεις για τον έλεγχο Μενδελιανού διαχωρισμού

ΓΟΝΟΣ	ΓΟΝΕΙΣ	ΑΠΟΓΟΝΟΙ (F1)	ΑΝΑΜ. ΑΝΑΛ.	χ^2	P
PEP-1	1.26/1.00X1.00/1.00	1.00/1.00	1:1	0.22	>0.50
		8			
	1.26/1.00X1.26/1.00	1.26/1.00	1: 2: 1	0.33	>0.80
		10			
PEP-3	1.06/1.00X1.00/1.00	1.26/1.26	1:1	0.33	>0.50
		5			
	1.00/1.00	1.26/1.00	1:1	0.33	>0.50
		12			
MPI	1.43/1.25X1.25/1.00	1.00/1.00	1:1	0.33	>0.50
		7			
	1.43/1.00	1.06/1.00	1:1:1:1	1.04	>0.70
		10			
1.19/1.00X1.04/0.87	1.25/1.25	1:1:1:1	2.36	>0.50	
	15				
	1.25/1.00	1.19/1.04	1:1:1:1	2.36	>0.50
	13				
1.00/0.87X1.00/0.87	1.19/0.87	1:2:1	1.20	>0.50	
	3				
	1.00/1.04	1.00/1.00	1:2:1	1.20	>0.50
	6				
1.00/0.87	1.00/0.87	1:2:1	1.20	>0.50	
5					
EST	[1.00] ⁽¹⁾ X[silent]	1.00/1.00	-	-	-
		10			
	[1.00] ⁽²⁾ X[silent]	[1.00] ⁽²⁾	1:1	0.69	>0.50
		8			
[1.00] ⁽²⁾ X[1.00] ⁽²⁾	[silent]	3:1	1.07	>0.30	
	5				
[1.00] ⁽²⁾ X[1.00] ⁽²⁾	[1.00] ⁽³⁾	3:1	1.07	>0.30	
17					
[silent]X[silent]	[silent]	-	-	-	
		3			
		8			

(1) Προφανώς ο φαινότυπος [1.00] είναι ομοζυγώτης 1.00/1.00

(2) Προφανώς πρόκειται για ετεροζυγώτα άτομα 1.00/silent

(3) Στη φαινοτυπική αυτή κατηγορία περιλαμβάνονται άτομα με γονότυπο 1.00/1.00 και με γονότυπο 1.00/silent σε αναλογία αναμενόμενη 1:2

3.1.2. Συχνότητες αλληλομόρφων των γόνων στους διάφορους φυσικούς πληθυσμούς

Στον Πίνακα 10 δίνονται οι συχνότητες των αλληλομόρφων όλων των γόνων για τους οποίους παρατηρήθηκαν δύο τουλάχιστον αλληλόμορφοι στους φυσικούς πληθυσμούς που μελετήθηκαν. Κάθε αλληλόμορφος ενός ορισμένου γόνου, χαρακτηρίστηκε με έναν αριθμό που εκφράζει τη σχετική απόσταση μετακίνησης του αλληλομόρφου αυτού στο ηλεκτροφόρημα από το σημείο εκκίνησης, σε σχέση με την αντίστοιχη απόσταση ενός standard αλληλομόρφου (ως standard αλληλόμορφος θεωρείται συνήθως ο πιά συχνός αλληλόμορφος). Στις περιπτώσεις διαφορετικών γόνων με την ίδια όμως ενζυμική δραστηριότητα (π.χ. Pep-1, Pep-2, Pep-3), κάθε γόνος χαρακτηρίστηκε από έναν αριθμό που υποδηλώνει την απόσταση μετακίνησης του ενζυμικού συστήματος, που ελέγχεται από το γόνο, από το σημείο εκκίνησης σε σχέση με τους άλλους γόνους, κατά τέτοιο τρόπο ώστε οι μικρότεροι αριθμοί να αντιστοιχούν σε μικρότερη απόσταση από το σημείο εκκίνησης. Για το ένζυμο Got, ο αριθμός 1 υποδηλώνει ανοδική (anodal activity) και ο 2 καθοδική (cathodal) ενζυματική μετακίνηση.

Όπως παρατηρούμε από τον Πίνακα 10 οι γόνοι Est και Lar μελετήθηκαν μόνο σε επτά (7) πληθυσμούς, δηλ. οι επτά αυτοί πληθυσμοί μελετήθηκαν για το σύνολο των 25 γόνων που αναφέρθηκαν στο κεφάλαιο "ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ". Οι υπόλοιποι πληθυσμοί μελετήθηκαν για 23 γόνους (εκτός των Est και Lar). Για τους μονομορφικούς γόνους κάθε πληθυσμού συνολικά ηλεκτροφορήθηκαν 60-80 άτομα. Οι γόνοι Pep-1, Est και δευτερευόντως οι Pep-3 και Mpi βρέθηκαν να είναι πολυμορφικοί σε όλους τους πληθυσμούς που μελετήθηκαν (εκτός ελαχίστων εξαιρέσεων). Ο γόνος Mpi είναι εξαιρετικά πολυμορφικός στον πληθυσμό της Νότιας Αφρικής, εμφανίζοντας στο δείγμα των 120 ατόμων 14 αλληλομόρφους. Μεγάλος αριθμός αλληλομόρφων του γόνου

Συχνότητες αλληλομόρφων των πολυμορφικών γόνων στους πληθυσμούς που μελετήθηκαν. N είναι ο αριθμός των ατόμων που ηλεκτροφορήθηκαν σε κάθε περίπτωση. (Λεπτομέρειες στο κείμενο).

Π Λ Η Θ Υ Σ Μ Ο Ι

ΚΥΠ ΚΑΛ ΧΙΟ ΑΤΤ ΙΤΑ ΚΡΗ ΧΑΒ ΑΙΓ ΙΣΡ ΙΣΠ ΒΡΑ ΓΟΥ ΡΕΟ Ν.Α ΚΕΝ
ΓΟΝΟΙ

PEP-1

100	517	649	809	550	675	379	944	465	558	476	481	273	348	275	178
126	493	351	191	450	325	621	056	535	442	524	519	727	652	683	813
138	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	042	009
N	177	171	282	404	151	161	206	101	189	155	134	119	112	142	059

PEP-2

053	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	017
068	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	063	017
080	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	025
092	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	056	017
100	1000	1000	1000	1000	1000	875	1000	957	1000	1000	973	970	625	600	559
110	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	085
122	-	-	-	-	-	125	-	043	-	-	027	030	357	218	186
132	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	042	017
141	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	018	021	051
155	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	026
N	177	171	282	404	151	168	206	81	189	118	130	150	112	142	59

PEP-3

093	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	007	-
100	977	924	936	879	828	911	372	995	1000	722	953	1000	098	190	169
106	023	076	064	121	172	089	628	005	-	278	047	-	902	796	831
109	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	007	-
N	177	171	282	387	151	168	206	101	189	158	138	119	112	142	059

6-PGD

090	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	013	027
100	1000	1000	1000	992	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	974	911
117	-	-	-	008	-	-	-	-	-	-	-	-	-	013	062
N	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	110	118	56

ΣΗΜΕΙΩΣΗ : ΚΥΠ.- ΚΥΠΡΟΣ, ΚΑΛ.- ΚΑΛΑΜΑΤΑ, ΧΙΟ.- ΧΙΟΣ, ΑΤΤ.- ΑΤΤΙΚΗ, ΙΤΑ.- ΙΤΑΛΙΑ, ΚΡΗ.- ΚΡΗΤΗ, ΧΑΒ.- ΧΑΒΑΗ, ΑΙΓ.- ΑΙΓΥΠΤΟΣ
ΙΣΡ.- ΙΣΡΑΗΛ, ΙΣΠ.- ΙΣΠΑΝΙΑ, ΒΡΑ.- ΒΡΑΖΙΛΙΑ, ΓΟΥ.- ΓΟΥΑΤΕΜΑΛΑ
ΡΕΟ.- ΡΕΟΥΝΙΟΝ, Ν.Α.- Ν.ΑΦΡΙΚΗ, ΚΕΝ.- ΚΕΝΥΑ

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 1 0 (Σ υ ν έ χ ε ι α)

MPI

058	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	016
067	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	023
074	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	042	031
083	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	017	031
087	958	962	941	942	810	963	743	625	792	838	313	624	674	300	289	
092	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	025	031
097	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	042	031
100	042	038	059	058	190	037	257	375	208	162	662	376	214	275	180	
104	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	032	083	086	
108	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	042	055	
112	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	042	031	
119	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	025	-	024	042	070	
125	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	032	042	047	
135	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	017	047	
139	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	008	016	
143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	024	025	016	
N	120	156	110	120	108	135	113	120	178	136	120	97	126	120	64	

PGM

079	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	004	250	
089	-	-	-	-	-	-	-	019	-	-	-	-	036	117	031	
100	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	981	1000	1000	1000	1000	928	788	688	
113	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	036	087	-	
118	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	031	
126	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	004	-	
N	80	80	80	80	80	80	80	77	80	80	80	80	110	120	48	

PHI

079	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	087	-	
100	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	871	1000	
121	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	042	-	
N	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	110	120	45	

G-6PD

098	-	-	-	-	-	045	-	-	-	167	080	236	-	271	-	
100	1000	1000	1000	1000	1000	949	1000	1000	1000	802	800	661	1000	678	423	
102	-	-	-	-	-	006	-	-	-	031	120	103	-	051	577	
N	80	80	80	80	80	154	80	80	80	96	120	87	110	118	39	

EST

S11	779	284	602	480	-	-	917	-	708	-	-	-	652	-	-	
100	194	658	398	438	-	-	083	-	267	-	-	-	154	-	-	
104	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	006	-	-	
110	-	004	-	085	-	-	-	-	006	-	-	-	188	-	-	
125	025	052	-	-	-	-	-	-	019	-	-	-	-	-	-	
150	002	002	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
N	201	247	182	160	-	-	163	-	160	-	-	-	91	-	-	

Mpi βρέθηκε επίσης και σε πληθυσμιακό δείγμα της μύγας της Μεσογείου με προέλευση την Κένυα (από καφεόδενδρα).

3.1.3. Βαθμός γενετικής ποικιλομορφίας των φυσικών πληθυσμών

Στον Πίνακα 11 δίνεται ο βαθμός της γενετικής ποικιλομορφίας κάθε πληθυσμού όπως εκφράζεται από την αναμενόμενη μέση ετεροζυγωτία (\bar{H}), από τη μέση αναλογία των πολυμορφικών γόνων ($\% \bar{P}$) και από το μέσο " πραγματικό " (\bar{n}) και μέσο " δραστικό αριθμό αλληλομόρφων " (\bar{n}_e) κάθε γόνου .

Το \bar{H} είναι η μέση τιμή των H όλων των γόνων (μονομορφικών και πολυμορφικών) κάθε πληθυσμού . Το H ενός γόνου εκφράζει το ποσοστό των ατόμων που αναμένεται να είναι ετεροζυγωτό για τον υπ' όψη γόνο και υπολογίζεται από τη σχέση:

$$H = 1 - \sum p_i^2$$

όπου p_i είναι η συχνότητα του i αλληλομόρφου (θεωρούμε συχνότητες παμειξίας).

Το ποσοστό των πολυμορφικών γόνων εκτιμήθηκε και με το επίπεδο σημαντικότητας 5% και με το επίπεδο 1% (τιμές μέσα σε παρένθεση). Με το επίπεδο του 5% θεωρήθηκαν πολυμορφικοί οι γόνοι εκείνοι στους οποίους ο πιο κοινός αλληλόμορφος έχει συχνότητα ίση ή μικρότερη του 95% . Αντίστοιχα με το κριτήριο του 1% θεωρήθηκαν πολυμορφικοί οι γόνοι εκείνοι στους οποίους ο πιο κοινός αλληλόμορφος έχει συχνότητα ίση ή μικρότερη του 99% .

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 1 1

Βαθμός γενετικής ποικιλομορφίας των πληθυσμών που μελετήθηκαν
(περισσότερες λεπτομέρειες στο κείμενο)

ΠΛΗΘΥΣΜΟΣ	ΞΕΝΙΣΤΗΣ	\bar{H}	% \bar{P}		$\bar{\eta}$	$\bar{\eta}_e$
			5%	1%		
1. ΚΥΠΡΟΣ	Μανταρίνια	0,039	8,0	(16,0)	1,24	1,07
2. ΚΑΛΑΜΑΤΑ	Σύκα	0,046	12,0	(16,0)	1,32	1,08
3. ΧΙΟΣ	Σύκα	0,042	16,0	(20,0)	1,20	1,07
4. ΑΤΤΙΚΗ	Πορτοκάλια	0,057	16,0	(16,0)	1,28	1,11
5. ΙΤΑΛΙΑ	Σύκα	0,045	13,0	(13,0)	1,17	1,08
6. ΙΣΡΑΗΛ	Βερούκοκα	0,066	16,0	(16,0)	1,24	1,11
7. ΚΡΗΤΗ	Γκρέιπ φρουτ	0,046	17,0	(26,0)	1,30	1,07
8. ΧΑΒΑΗ	Ροδάκινα	0,055	20,0	(20,0)	1,24	1,09
9. ΡΕΟΥΝΙΟΝ	Καφές	0,153	44,0	(44,0)	1,84	1,27
10. ΑΙΓΥΠΤΟΣ 1	Βερούκοκα	0,068	13,0	(26,0)	1,26	1,13
11. ΑΙΓΥΠΤΟΣ 2	Βερούκοκα	0,068	17,0	(26,0)	1,26	1,12
12. Ν. ΑΦΡΙΚΗ	Γκουάβας	0,234	54,0	(58,0)	2,71	1,54
13. ΙΣΠΑΝΙΑ	Ροδάκινα	0,065	17,0	(17,0)	1,22	1,11
14. ΓΟΥΑΤΕΜΑΛΑ	Καφές	0,063	13,0	(22,0)	1,26	1,12
15. ΒΡΑΖΙΛΙΑ	Καφές	0,064	14,0	(23,0)	1,27	1,13
16. ΚΕΝΥΑ	Καφές	0,262	61,5	(76,9)	2,66	1,62

Ο μέσος "δραστικός αριθμός αλληλομόρφων" (\bar{n}_e) είναι η μέση τιμή όλων των n_e όλων των γόνων κάθε πληθυσμού (μονομορφικών και πολυμορφικών). Ο n_e ενός ορισμένου γόνου υπολογίζεται από τη σχέση $n_e = 1 / \Sigma p_i^2$ (Crow and Kimura , 1970) .

Ο "δραστικός αριθμός αλληλομόρφων" είναι συνήθως περισσότερο χρήσιμος από τον πραγματικό αριθμό σε μελέτες της γενετικής των πληθυσμών, επειδή πολλοί από τους αλληλομόρφους λόγω της μικρής τους συχνότητας συνεισφέρουν ελάχιστα ή πολύ λίγο στη γενετική διακύμανση του πληθυσμού. Το κύριο χαρακτηριστικό του Πίνακα 11 είναι ο εξαιρετικά χαμηλός βαθμός γενετικής ποικιλομορφίας όλων των πληθυσμών που μελετήθηκαν, εκτός από τους πληθυσμούς Ρεουνιόν, Νότιας Αφρικής και Κένυας.

Τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα δεδομένα των Huettel et al. (1980) και Morgante et al. (1981) . Οι Huettel et al. (1980) βρήκαν ότι ο μέσος βαθμός ετεροζυγωτίας πληθυσμών μύγας της Μεσογείου από το Ισραήλ, τη Χαβάη και την Κόστα Ρίκα, ήταν αντίστοιχα 7,1% , 3,4% και 3,6% , ενώ η αντίστοιχη μέση αναλογία των πολυμορφικών γόνων (με κριτήριο το 5%) ήταν 17% , 13% και 9% . Οι Morgante et al. (1981) αναφέρουν ότι πληθυσμοί μύγας της Μεσογείου από τη Βραζιλία και από διάφορα φρούτα , είχαν μέσο βαθμό ετεροζυγωτίας (\bar{H}) ίσο με 3% , ενώ οι Milani et al. (1986) αναφέρουν μέση ετεροζυγωτία 2,1% σε πληθυσμό από τη Λιβύη. Οι τιμές αυτές του βαθμού ετεροζυγωτίας των διαφόρων φυσικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου , είναι εξαιρετικά χαμηλές , αν αναλογιστεί κανείς ότι το 40% περίπου των γόνων στους φυσικούς πληθυσμούς ζώων και φυτών είναι πολυμορφικοί και ότι 12-15% των γόνων του μέσου ατόμου είναι ετεροζυγωτοί [Lewontin and Hubby (1966), Harris (1966) , Lewontin (1967) , Selander and Young ,(1966)].

Διάφορες υποθέσεις έχουν διατυπωθεί για να εξηγήσουν τις διαφορές στο βαθμό πολυμορφισμού που εμφανίζουν τα διάφορα ένζυμα . Οι Gillespie and Kojima (1968) κατατάσσουν τα ένζυμα σε δύο ομάδες I και II . Η ομάδα I περιλαμβάνει ένζυμα του γλυκολυτικού κύκλου , του κύκλου του Krebs και γενικά ένζυμα που συμμετέχουν στο μεταβολισμό της ενέργειας , ενώ η ομάδα II περιλαμβάνει υδρολυτικά και άλλα μη εξειδικευμένα ένζυμα . Σύμφωνα με την υπόθεση αυτή , τα ένζυμα της ομάδας II ως περιφερειακά των μεγάλων αναβολικών κύκλων και κύκλων παραγωγής ενέργειας μπορούν να ποικίλλουν σε ευρεία κλίμακα κινητικών δραστηριοτήτων , επειδή δεν έχουν σταθερές παραμέτρους κινητικής . Έτσι, με τη μεταλλαγή δημιουργείται ένα ευρύ φάσμα μορφών , αποδεκτό από κινητικής άποψης. Αναμένεται δηλαδή τα ένζυμα της ομάδας II να έχουν μεγαλύτερη γενετική ποικιλομορφία από τα ένζυμα της ομάδας I . Κατά τους Gillespie and Langley (1974) τα ένζυμα της ομάδας I χαρακτηρίζονται από ένα φυσιολογικό υπόστρωμα που συνήθως παράγεται και χρησιμοποιείται ενδοκυτταρικά, ενώ τα ένζυμα της ομάδας II χαρακτηρίζονται από πολλαπλά φυσιολογικά υποστρώματα που αντικατοπτρίζουν την ανομοιογένεια του περιβάλλοντος . Με άλλα λόγια , διαφορετικοί ενζυμικοί τύποι ευνοούνται σε διαφορετικά περιβάλλοντα .

Κατά συνέπεια, μεγάλο ποσοστό της ενζυμικής ποικιλομορφίας θα οφείλεται σε ένα μάλλον εξειδικευμένο τύπο φαινομένου "την ποικιλομορφία του υποστρώματος " .

Ο Πίνακας 12 δίνει το δραστικό αριθμό αλληλουόρφων (n_e) καθ'εγός γόνου σε κάθε πληθυσμό , τη μέση τιμή του n_e και τη μέση συχνότητα του πιο κοινού αλληλουόρφου καθ'ενός γόνου σε όλους τους πληθυσμούς . Οι γόνοι έχουν χωρισθεί σε δύο ομάδες I και II , σύμφωνα με την υπόθεση των Gillespie and Kojima (1968).

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 1 2

" Δραστηκός αριθμός αλληλομόρφου " κάθε γόνου σε όλους τους πληθυσμούς και μέση συχνότητα του κοινού αλληλομόρφου

ΓΟΝΟΣ Π 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 Μέσο Μόση συχνότ. κοιν. αλληλ.

ΕΝΖΥΜΑ ΟΜΑΔΑΣ I

IDH	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.66	1.05	1.00	1.41	1.87	1.71	1.38	1.00	1.00	1.09	1.72	1.124	0.914
ME	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.000	1.000
MDH	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.000	1.000
PGM	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.16	1.04	1.15	1.56	1.00	1.00	1.00	1.86	1.110	0.957
PHI	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.30	1.00	1.00	1.00	1.00	1.020	0.991
α-GPD	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.000	1.000
G-6PD	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.11	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.87	1.49	1.99	1.51	1.95	1.230	0.895
6-PGD	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.05	1.00	1.00	1.00	1.20	1.017	0.992
FUM	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	---	1.000	1.000
HK-1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.75	1.00	1.00	2.28	1.00	1.01	1.00	---	1.150	0.942
HK-3	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.86	1.00	1.00	1.64	1.00	1.00	1.00	---	1.110	0.955
MPI	1.09	1.08	1.13	1.45	1.49	1.08	1.62	1.99	1.95	1.77	5.43	1.37	1.89	1.86	6.76	---	2.070	0.716
AK	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	---	1.000	1.000
GOT-1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	---	1.000	1.000
GOT-2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.11	1.00	1.11	1.00	1.00	1.19	1.00	1.00	1.00	---	1.020	0.990

ΕΝΖΥΜΑ ΟΜΑΔΑΣ II

EST	1.55	1.94	1.92	2.33	---	1.75	---	1.18	2.07	---	---	---	---	---	---	---	1.820	0.632
ADH	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.06	1.040	1.000
ODH	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.22	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.020	0.993
Diaph1	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	---	1.000	1.000
Diaph2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	---	1.000	1.000
LAP	1.00	1.01	1.00	1.00	---	1.00	---	1.35	1.25	---	2.45	---	---	---	---	---	1.260	0.900
PEP-1	1.88	1.84	1.45	1.98	1.78	1.98	1.89	1.12	2.35	1.99	2.00	1.84	1.99	1.66	1.99	1.44	1.830	0.507
PEP-2	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.28	1.00	1.93	1.09	0.66	2.71	1.00	1.06	1.06	2.78	1.310	0.939
PEP-3	1.05	1.17	1.14	1.27	1.40	1.00	1.19	1.88	1.22	1.01	1.02	1.49	1.67	1.00	1.09	1.39	1.250	0.746
TO	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	---	1.000	1.000

Οι αριθμοί από 1 έως 16 αντιπροσωπεύουν στους εξής πληθυσμούς :

Είναι φανερό ότι τα ένζυμα της ομάδας I εμφανίζουν πολύ μικρότερη ποικιλομορφία από τα ένζυμα της ομάδας II. Η μέση τιμή του \bar{n}_e των γόνων που ανήκουν στην ομάδα I είναι $\bar{n}_{eI} = 1,123$ [η αντίστοιχη ετεροζυγωτία είναι $\bar{H}_I = 0,109$, αφού ο βαθμός ετεροζυγωτίας και ο \bar{n}_e συνδέονται με τη σχέση $\bar{n}_e = 1 / (1 - H)$], ενώ των γόνων που ανήκουν στην ομάδα II είναι $\bar{n}_{eII} = 1,253$. (Η αντίστοιχη ετεροζυγωτία είναι $\bar{H}_{II} = 0,202$) .

Ετσι, κατά μέσο όρο στους 16 πληθυσμούς, τα ένζυμα της ομάδας II είναι $1,853$ ($\bar{H}_{\text{ομ. I}} / \bar{H}_{\text{ομ. II}}$) φορές περισσότερο πολυμορφικά από τα ένζυμα της ομάδας I. Αν και τα αποτελέσματα αυτά συμφωνούν με τα πειραματικά δεδομένα των Harris and Hopkinson (1972) σε ανθρώπινους πληθυσμούς, Selander and Yang (1969) σε ποντικούς και Langley, Tobarí and Kojima (1974) και Loukas (1981) σε πληθυσμούς *Drosophila*, ορισμένα ένζυμα της ομάδας II εμφανίζουν χαμηλό πολυμορφισμό (και αντίστροφα, ορισμένα της ομάδας I υψηλό) καιτοι χαρακτηρίζονται ως ένζυμα πολλαπλού υποστρώματος. Εξαιτίας της γενικευμένης λειτουργίας των ενζύμων της ομάδας II, ο αριθμός των γόνων της κατηγορίας αυτής εμφανίζεται μικρός. Πρέπει όμως να σημειώσουμε ότι η κατάταξη ενός ενζύμου στην ομάδα αυτή βασίστηκε στην *in vitro* συμπεριφορά του ενζύμου που μπορεί όμως να μη σημαίνει τίποτε για το φυσιολογικό του ρόλο. Δηλαδή, σε αντίθεση με την ικανότητα του να χρησιμοποιεί *in vitro* μια ποικιλία υποστρωμάτων, η λειτουργία του ενζύμου *in vivo* μπορεί να είναι εντελώς διαφορετική. Ο Zouros (1975) υπολόγισε ότι 20% των εστερασών που έχουν ανιχνευθεί στα διάφορα είδη *Drosophila*, είναι μεταξύ των γόνων με το μικρότερο ποσοστό πολυμορφισμού καιτοι οι εστεράσες ανήκουν στα ένζυμα πολλαπλού υποστρώματος.

Ο Johnson (1971) θεωρεί ότι ο ενζυμικός πολυμορφισμός συνδέεται με τις ρυθμιστικές αντιδράσεις του μεταβολισμού.

Αν και οι προηγούμενες υποθέσεις διαφέρουν στο βιοχημικό επίπεδο , στο επίπεδο της γενετικής των πληθυσμών είναι όμοιες , με την έννοια ότι δέχονται τη φυσική επιλογή σαν υπεύθυνο παράγοντα για τη διατήρηση της φυσικής ποικιλομορφίας στους φυσικούς πληθυσμούς .

Αντίθετα, η υπόθεση που διατυπώθηκε από τον King (1974), δεν αντικρούεται με τη θεωρία της ουδετερότητας των γόνων , αφού δέχεται ότι ο σημαντικότερος παράγοντας που καθορίζει την έκταση της ηλεκτροφορητικής ποικιλομορφίας, δεν είναι η λειτουργία αλλά η πρωτοταγής δομή του πρωτεϊνικού μορίου .

Με την προϋπόθεση ότι το μέγεθος του πληθυσμού διατηρείται πάνω από ένα ορισμένο όριο , η ηλεκτροφορητική ποικιλομορφία ενός γόνου καθορίζεται από τον αριθμό των μορίων της λυσίνης, αργινίνης, γλουταμινικού και ασπαρτικού οξέος και κατά δεύτερο λόγο από την πιθανότητα ότι μια δομική αλλαγή δεν θα επηρεάσει τη λειτουργία του πρωτεϊνικού μορίου .

Με τις παραπάνω προϋποθέσεις αναμένεται η ίδια ποσότητα ποικιλομορφίας στους ομόλογους γόνους μεταξύ πληθυσμών του ίδιου είδους ή συγγενών ειδών. Έτσι, ένζυμα με ανάλογη μεταβολική λειτουργία μπορεί να εμφανίζουν συγκρίσιμα ποσά ηλεκτροφορητικού πολυμορφισμού , όχι επειδή υπόκεινται στον ίδιο τύπο επιλογής, αλλά επειδή οι παράμετροι που καθορίζουν το διαχωρισμό των διαφόρων ηλεκτροφορητικών μορφών στο ηλεκτροφόρημα , είναι περισσότερο όμοιες μεταξύ τέτοιων ενζύμων παρά μεταξύ ενζύμων με διαφορετικές λειτουργικές ιδιότητες (Johnson, 1977). Η ομοιότητα αυτή των ηλεκτροφορητικών παραμέτρων , μπορεί να είναι αποτέλεσμα φυλογενετικής συγγένειας ή επιλογής για ένα optimum μιας τρισδιάστατης διάταξης (Zouros, 1975) .

Τέλος ο Ζουρος (1979) έδειξε ότι οι συχνότητες μεταλλαγής για ηλεκτροφορητικά ανιχνευόμενους ενζυμικούς πολυμορφισμούς, που μπορούν να προβλεφτούν με βάση τα μαθηματικά υποδείγματα της θεωρίας της ουδετερότητας των γόνων , βρίσκονται σε θετική συσχέτιση με το μοριακό βάρος των ενζύμων . Έτσι, οι διαφορές που παρατηρούνται στους βαθμούς ετεροζυγωτίας μεταξύ των ενζύμων αυτών , μπορούν εύκολα να αποδοθούν σε διαφορές στις συχνότητες μεταλλαγής . Ομοίως οι Koehn and Eanes (1977) παρατήρησαν ότι υπάρχει ισχυρή θετική συσχέτιση μεταξύ του μοριακού βάρους του ενζύμου και του επιπέδου του ενζυμικού πολυμορφισμού σε είδη Drosophila . Οι Nei et al.(1978) επιβεβαίωσαν την παρατήρηση αυτή σε μεγαλύτερο αριθμό οργανισμών .

Αντίθετα , οι Bechenbach and Prakash (1977) δεν παρατήρησαν ανάλογη συσχέτιση μεταξύ του μοριακού βάρους του ενζύμου HK και του αντίστοιχου αριθμού πολυμορφισμού στα είδη D. pseudoobscura και D. persimilis . Επίσης οι Harris et al. (1977) δεν παρατήρησαν συσχέτιση μεταξύ μοριακού βάρους και ετεροζυγωτίας σε δείγμα 87 ενζύμων από μελέτες σε ανθρώπινους πληθυσμούς .

Όμως ανεξάρτητα με το αν ο ενζυμικός πολυμορφισμός σχετίζεται με το λειτουργικό ρόλο των ενζύμων ή με τις φυσικοχημικές ιδιότητες του πρωτεϊνικού μορίου , δύο ισχυρές γενικά τάσεις διαφαίνονται σε μελέτες τέτοιου είδους (Ayala and Powell, 1972) .

- i) Η ποσότητα ποικιλομορφίας ποικίλλει σημαντικά από γόνο σε γόνο .
- ii) Για ένα ορισμένο γόνο η ποσότητα και το είδος της ποικιλομορφίας παραμένει σταθερή από πληθυσμό σε πληθυσμό , ακόμα και από είδος σε είδος . Οι αποκλίσεις που παρατηρήθηκαν σε ορισμένους γόνους του Πίνακα 12 από τις γενικές αυτές τάσεις θα εξηγηθούν στο Κεφάλαιο 3.3.3. (Γεωγραφική εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου με βάση τα αλλόζυμα) .

3.1.4. Σχέση ποικιλομορφίας και περιβαλλοντικής ετερογένειας

Αξιζει να αναφερθούμε στη σχέση μεταξύ του ενζυμικού πολυμορφισμού και της περιβαλλοντικής ετερογένειας, σχέση η οποία αποτελεί αντικείμενο διαμάχης μεταξύ των οπαδών της φυσικής επιλογής (selectionists) και των οπαδών της ουδετερότητας των γόνων (neutralists). Οι πρώτοι πιστεύουν ότι υπάρχει κάποιο είδος εξισορροπημένου πολυμορφισμού που είναι υπεύθυνος για τη διατήρηση των αλληλομόρφων που ανιχνεύονται ηλεκτροφορητικά και οι δεύτεροι ότι οι ενζυμικές μορφές έχουν μικρή μόνο σημασία στην προσαρμοστικότητα του ατόμου και ότι η παρουσία τους οφείλεται στην αλληλεπίδραση της μεταλλαγής, της μετανάστευσης και του περιορισμένου μεγέθους των πληθυσμών . Κλασικό παράδειγμα γενετικού πολυμορφισμού (για ένα γόνο) που είναι συνέπεια της περιβαλλοντικής ανομοιογένειας , είναι το φαινόμενο του βιουηχανικού μελανισμού στο έντομο Biston betularia (Bishop, 1973).

Άλλη περίπτωση περιβαλλοντικής ετερογένειας στο χώρο, που είναι υπεύθυνη για τη διατήρηση ενός γενετικού πολυμορφισμού , είναι ένας γόνος συμπεριφοράς στη D. willistoni (De Souza et al., 1970). Τα άτομα που φέρουν τον κυρίαρχο αλληλόμορφο του γόνου αυτού, εμφανίζουν ταχύτερο ρυθμό ανάπτυξης, έχουν μικρότερη ανάγκη τροφής και οι προνύμφες προτιμούν ξηρό περιβάλλον για τη νύμφωση τους. Η νύμφωση των προνυμφών γίνεται στο δάπεδο των εργαστηριακών κλωβών. Αποτέλεσμα της πλειοτροπικής αυτής δράσης του γόνου, είναι οι εργαστηριακοί πληθυσμοί να διατηρούν τον πολυμορφισμό τους . Συνήθως οι δειγματοληψίες πληθυσμών στο χώρο , εμφανίζουν μια διαβάθμιση των συχνοτήτων για ένα ή περισσότερους γόνους που συνδέεται με κάποια παράμετρο του φυσικού περιβάλλοντος , π.χ. με τη θερμοκρασία , αλατότητα, βροχόπτωση κ.λ.π. ή και με ένα συνδυασμό των

παραμέτρων αυτών .

Αν και μπορούν να αναφερθούν πολλά τέτοια παραδείγματα τα οποία συσχετίζουν τη γενετική ποικιλομορφία με την περιβαλλοντική ανομοιογένεια στο χώρο , εν τούτοις τα παραδείγματα που συνδέουν τη γενετική ποικιλομορφία με τις περιβαλλοντικές αλλαγές στο χρόνο είναι σχετικά περιορισμένα. Οι περιπτώσεις αυτές αφορούν κυρίως πληθυσμούς με μικρή περίοδο γενιάς όπου οι αλλαγές στις συχνότητες των αλληλομόρφων των γόνων σχετίζονται συνήθως με τις εποχιακές αλλαγές (Dobzhansky and Ayala, 1973). Όταν δεν υπάρχει φανερή σχέση μεταξύ γενετικής ποικιλομορφίας και περιβαλλοντικής ετερογένειας , τότε γίνεται στατιστική ανάλυση των αποτελεσμάτων για τη διαπίστωση τέτοιων σχέσεων.

Συνήθως η ανάλυση αποβλέπει στην απάντηση ερωτημάτων όπως: " υπάρχει διαφοροποίηση στις συχνότητες του υπ' όψη γόνου από περιοχή σε περιοχή " ; " συνδέεται η τυχόν διαφοροποίηση γραμμικά με μια ή περισσότερες περιβαλλοντικές μεταβλητές " ; " υπάρχουν ουσιώδεις αποκλίσεις από το προηγούμενο γραμμικό μοντέλο " ; Ο Bryant (1974) έλεγξε στατιστικά την υπόθεση του Levins (1968) , ότι δηλαδή τα αυξημένα επίπεδα της περιβαλλοντικής ανομοιογένειας αντανακλούν αυξημένα επίπεδα περιβαλλοντικής ετερογένειας . Τα αποτελέσματα του έδειξαν ότι η περιβαλλοντική ανομοιογένεια και η ετεροζυγωτία είναι θετικά συσχετισμένα . Εχουν δοθεί επίσης βιοχημικές εξηγήσεις για τη διατήρηση ορισμένων ηλεκτροφορητικών πολυμορφισμών . Π.χ. βρέθηκαν ότι υπάρχουν σημαντικές διαφορές μεταξύ των αλλοζύμων του γόνου Adh στη D. melanogaster για ένα αριθμό ιδιοτήτων όπως δραστηριότητα, εξειδίκευση υποστρώματος, επίδραση του pH και σταθερότητα στη θερμοκρασία (Birley and Barnes (1973) , Ward and Hebert (1972)).

Ενα άλλο ένζυμο, για το οποίο οι συχνότητες των αλληλομόρφων φαίνεται να συνδέονται με τις βιοχημικές ιδιότητες των αλλοζύμων , είναι η α-GPDH στα έντομα D. melanogaster και Colia meadii. Οι συχνότητες των

αλληλομόρφων του γόνου α-GPDH στη D. melanogaster ποικίλλουν και στο χώρο και στο χρόνο (Johnson (1973), Berger (1971)). Ο αλληλόμορφος με τη μικρότερη μετανάστευση στο ηλεκτροφόρημα (slow), έχει τη μεγαλύτερη συχνότητα σε περιοχές με χαμηλή μέση ετήσια θερμοκρασία και ο αλληλόμορφος με τη μεγαλύτερη μετανάστευση (fast) κατά τη διάρκεια του φθινοπώρου.

Στο έντομο Colia meadii , ο slow αλληλόμορφος έχει μεγαλύτερη συχνότητα σε περιοχές με χαμηλό υψόμετρο και ο fast στις αλπικές περιοχές (Jonson, 1976).

Πολλές φορές, για τον έλεγχο των περιβαλλοντικών παραμέτρων που επηρεάζουν τους ενζυμικούς πολυμορφισμούς, γίνονται πειραματικά διαταράξεις του περιβάλλοντος , με τεχνητές επεμβάσεις. Π.χ. οι αλλαγές στις συχνότητες των αλληλομόρφων του γόνου Adh στη D. melanogaster , βρέθηκαν να σχετίζονται με τον τύπο της αλκοόλης που προστέθηκε στο τροφικό μέσο (Van Delden, 1975).

Οι Powell (1971), McDonald and Ayala (1974), Powell and Wistrand (1976), μελέτησαν τον πολυμορφισμό εργαστηριακών πληθυσμών Drosophila, όπου κανένας έως τέσσερις περιβαλλοντικοί παράγοντες μεταβάλλονται.

Τέτοιοι παράγοντες ήταν οι τύποι ζυμομυκήτων, οι τύποι του τροφικού μέσου , η θερμοκρασία , ο φωτισμός και ο συνωστισμός. Από τα πειράματα αυτά φαίνεται ότι οι πληθυσμοί που διατηρούνται σε σταθερά περιβάλλοντα, εμφανίζουν μικρότερο βαθμό γενετικής ποικιλομορφίας, σε σύγκριση με τους πληθυσμούς που διατηρούνται σε μεταβαλλόμενα περιβάλλοντα. Οι παρατηρήσεις αυτές, που αφορούν στο χαμηλό βαθμό γενετικής ποικιλομορφίας, που διατηρούν οι φυσικοί πληθυσμοί της μύγας της Μεσογείου , οδηγούν στο εξής ερώτημα : Αν ο ενζυμικός πολυμορφισμός , που ανιχνεύεται ηλεκτροφορητικά , έχει σχέση με την προσαρμογή ενός είδους στα διάφορα περιβάλλοντα , τότε πως είναι δυνατόν ένα εξαιρετικά πολυφάγο είδος όπως η μύγα της Μεσογείου να διατηρεί τόσο μικρό ποσοστό γενετικής ποικιλομορφίας ; Σύμφωνα με όσα αναφέραμε προηγουμένως , αναμένεται να υπάρχει μια θετική συσχέτιση μεταξύ της γενετικής ποικιλομορφίας ενός

είδους και του βαθμού της περιβαλλοντικής ετερογένειας.

Όμως η σύγκριση των επιπέδων της γενετικής ποικιλομορφίας, μεταξύ ειδών εντόμων που έχουν ένα μόνο ξενιστή και εκείνων που έχουν πολλούς ξενιστές, δείχνει πολλές φορές ότι η γενετική ποικιλομορφία δεν ακολουθεί αυτό τον κανόνα. Τα έντομα Dacus oleae, Rhagoletis pomonella, R. completa και Delia antiqua είναι μονόφαγα είδη που προσβάλλουν αντίστοιχα την ελιά, είδη των οικογενειών Rosaceae και Juglādaceae και καλλιεργούμενα είδη Allium. Οι αντίστοιχοι βαθμοί μέσης ετεροζυγωτίας βρέθηκαν να είναι 24,7% (Loukas et al., 1985), 18,1% και 7,5% (Berlosher and Bush, 1982) και 9% (Harris, προσωπική επικοινωνία). Επίσης οι Mitter and Futuyma (1979) έδειξαν ότι η μέση ετεροζυγωτία έξι ειδών λεπιδοπτέρων, που το καθένα προσβάλλει φυτά μιας μόνο οικογένειας, είναι 0,30 ενώ η μέση ετεροζυγωτία τεσσάρων ειδών λεπιδοπτέρων, που το καθένα προσβάλλει φυτά, που ανήκουν σε διαφορετικές οικογένειες, είναι 0,22. Ανάλογη αρνητική συσχέτιση μεταξύ γενετικής ποικιλομορφίας και περιβαλλοντικής ετερογένειας με τη μύγα της Μεσογείου, εμφανίζουν και πληθυσμοί του εντόμου Anastrepha fraterculus (Diptera, Tephritidae), (Malanasi and Morgante, 1983).

Η μέση ετεροζυγωτία για το είδος αυτό βρέθηκε να είναι ίση με 0,05. Τα είδη C. capitata και A. fraterculus μπορούν να θεωρηθούν σαν είδη γενικευμένα (generalist), σε αντίθεση με τα εξειδικευμένα (specialist) .

Τα είδη αυτά που είναι εξαιρετικά πολύφαγα, εμφανίζουν έντονη κινητικότητα και είναι ευρέως διαδεδομένα, αντιλαμβάνονται το περιβάλλον σχεδόν ομοιογενές, χωρίς να επηρεάζονται σημαντικά από τις περιβαλλοντικές αλλαγές. Τα είδη αυτά έχουν λεπτόκοκες (fine-grained) προσαρμογές. Αντίθετα, τα εξειδικευμένα είδη ανέχονται πολύ περιορισμένα όρια περιβαλλοντικών αλλαγών. Τα είδη αυτά έχουν χονδρόκοκες (coarse-grained) προσαρμογές. Είναι λοιπόν πιθανό τα εξειδικευμένα είδη, εξαιτίας του χαμηλού βαθμού μετανάστευσης μεταξύ των περιορισμένων περιβαλλοντικών ζωνών προσαρμογής τους, να εμφανίζουν

μεγαλύτερο πολυμορφισμό , ως αποτέλεσμα της τοπικής διακύμανσης των συντελεστών προσαρμοστικότητας. Επίσης είναι πιθανό, εξαιτίας της μεγαλύτερης περιβαλλοντικής ετερογένειας που αντιμετωπίζουν τα γενικευμένα είδη , να έχουν αναπτύξει ένα είδος ομοιοστατικού μηχανισμού , που μειώνει την περιβαλλοντική ετερογένεια στην οποία " εκτίθενται " οι περισσότεροι γόνιοι.

Ετσι, και επειδή οι ομοιοστατικοί μηχανισμοί δημιουργούν ένα περισσότερο προσαρμοσμένο και λιγότερο μεταβλητό περιβάλλον για τα ένζυμα , αναμένεται ο βαθμός ετεροζυγωτίας και ο βαθμός ομοιοστατικού ελέγχου να είναι αρνητικά συσχετισμένοι . Π.χ. οι Selander και Kaufman (1973) έδειξαν ότι τιμές ετεροζυγωτίας 24 ειδών σπονδυλίων είναι περίπου τρεις φορές μεγαλύτερη από τη μέση ετεροζυγωτία 22 ειδών σπονδυλωτών (0,15 έναντι 0,06) . Ο Valentine (1976) συσχέτισε τα σταθερά περιβάλλοντα με την υψηλή γενετική ποικιλομορφία που βρέθηκε σε ορισμένα θαλάσσια είδη . Ετσι, ανέπτυξε ένα μαθηματικό υπόδειγμα, σύμφωνα με το οποίο τα είδη τα οποία έχουν " fine-grained " προσαρμογές, εμφανίζουν μικρότερη γενετική ποικιλομορφία, σε σύγκριση με τα είδη που έχουν " coarse-grained " προσαρμογές . Επειδή τα είδη με τις " fine-grained " προσαρμογές, χρησιμοποιούν πολλές εναλλακτικές τροφικές πηγές, απαιτούν μεγαλύτερη λειτουργική ευκαμψία. Ετσι, η επιλογή θα αυξήσει τη συχνότητα του αλληλομόρφου εκείνου, ο οποίος στα διάφορα περιβάλλοντα δίνει το μεγαλύτερο μέσο βαθμό προσαρμοστικότητας, δηλαδή τον αλληλόμορφο εκείνο του οποίου τα προϊόντα αντιδρούν με τα περισσότερα υποστρώματα (flexible-allele). Αντίθετα , τα είδη που εμφανίζουν " coarse-grained " προσαρμογές , θα έχουν υψηλότερο βαθμό γενετικής ποικιλομορφίας , επειδή είναι εξειδικευμένα για διαφορετικές περιβαλλοντικές συνθήκες. Ετσι, απουσία άλλων πληροφοριών , το μαθηματικό υπόδειγμα του Valentine μπορεί να εξηγήσει το χαμηλό βαθμό γενετικής ποικιλομορφίας, που παρατηρήθηκε στους φυσικούς πληθυσμούς της μύγας της Μεσογείου .

Η μύγα της Μεσογείου λοιπόν ως " γενικευμένο " είδος, φαίνεται πως αντιλαμβάνεται τους διάφορους ξενιστές σαν ένα " fine-grained " περιβάλλον . Επειδή το ίδιο είδος καρπού δεν είναι διαθέσιμο καθ'όλη τη διάρκεια του έτους , η μύγα της Μεσογείου μετακινείται από ξενιστή σε ξενιστή . Ο Cirio (1986, αδημοσίευτες πληροφορίες) επιβεβαίωσε πειραματικά τη μετακίνηση αυτή της μύγας της Μεσογείου σε 4 διαφορετικά είδη δένδρων , στο νησί Procida της Ιταλίας , που καρποφορούν σε διαφορετικές χρονικές περιόδους (αν και υπάρχει μερική αλληλοκάλυψη σε περιόδους καρποφορίας), εξαπολύοντας στη φύση άτομα που έφεραν ως γενετική σήμανση μια κυρίαρχη μορφολογική μεταλλαγή . Έτσι, ένα χρονικά (φαινομενικά) ανομοιογενές περιβάλλον (temporally -"coarse-grained") είναι στην πραγματικότητα ομοιογενές (temporally-"fine-grained") για τη μύγα της Μεσογείου. Η μετακίνηση όμως της μύγας της Μεσογείου από ξενιστή σε ξενιστή , πρέπει να συνδέεται και με μεταβολές του μεγέθους των πληθυσμών , αφού ποικίλλει η εποχιακή διαθεσιμότητα των καρπών για τη διατροφή της προνύμφης. Οι Newell και Hazamoto (1968) έδειξαν ότι οι μεταβολές στη διαθεσιμότητα των φρούτων *guavas* στη Χαβάη, έχουν ως αποτέλεσμα αντίστοιχες αυξομειώσεις του μεγέθους των πληθυσμών *Dacus dorsalis*. Ομοίως οι Malanasi and Morgante (1981) έδειξαν ότι ο παράγοντας από τον οποίο εξαρτάται κυρίως το μέγεθος του πληθυσμού στο " γενικευμένο " είδος *Anastrepha fraterculus* είναι στην πραγματικότητα η διαθεσιμότητα των καρπών από εποχή σε εποχή . Τέλος οι Puzzi και Orlando (1965) έδειξαν ότι η διαδοχή των καρπών των διαφόρων ξενιστών κατά τη διάρκεια του έτους , είναι πιο σημαντικός παράγοντας από τη θερμοκρασία, σχετική υγρασία και βροχοπτώσεις , στον καθορισμό του μεγέθους των πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου.

Όταν υπάρχει πλήρης αλληλοκάλυψη των περιόδων καρποφορίας των διαφόρων ξενιστών , τότε το μέγεθος του πληθυσμού διατηρείται σε υψηλό επίπεδο . Όταν όμως η διαδοχή των καρπών διακοπεί έστω και για μικρή χρονική

περίοδο , τότε το μέγεθος του πληθυσμού μειώνεται σημαντικά . Επειδή όμως και ένας περιορισμένος αριθμός θηλυκών ατόμων μπορεί να προσβάλλει μεγάλο αριθμό καρπών, εξαιτίας της υψηλής τους γονιμότητας και της ταχείας ανάπτυξης των απογόνων , ο πληθυσμός καίτοι έχει μειωθεί δραστικά , μπορεί να προκαλέσει μια σημαντική προσβολή του επόμενου στην εποχιακή διαδοχή καρπού (Bateman, 1976). Έτσι, τα μεμονωμένα οπωροφόρα δένδρα ή ακόμα τα αυτοφυή , χωρίς οικονομική σημασία , που φέρουν καρπούς κατά την εποχή που τα καλλιεργούμενα είδη στερούνται καρπών , αποτελούν φυσικούς χώρους διατήρησης της μύγας της Μεσογείου. Ανεξάρτητα όμως από την έκταση της προσβολής των οπωροφόρων , οι διακυμάνσεις του μεγέθους των πληθυσμών, έχουν ως συνέπεια τη μείωση της γενετικής ποικιλομορφίας.

Έτσι, ενώ η επιλογή ευνοεί τους " γενικευμένους " αλληλομόρφους , που επιτρέπουν τη χρησιμοποίηση των διαφόρων ξενιστών , οι περιοδικές αυξομειώσεις του μεγέθους των πληθυσμών ευνοούν τη μονιμοποίηση του πιο συχνού (" γενικευμένου ") αλληλόμορφου .

Ενδιαφέρουσα είναι η εναλλακτική ερμηνεία στην υπόθεση του Valentine, που δίνεται από τον Krimbas (1984). Σύμφωνα με την ερμηνεία αυτή, η υψηλή γενετική ποικιλομορφία που παρατηρήθηκε σε θαλάσσιους οργανισμούς που ζούν σε μεγάλο βάθος (όπου το περιβάλλον είναι κατά το μάλλον και ήτον σταθερό), οφείλεται στο μεγάλο δραστικό μέγεθος αυτών των πληθυσμών, ακριβώς εξαιτίας της περιβαλλοντικής ομοιογένειας. Ως γνωστόν, το δραστικό μέγεθος του πληθυσμού , αποτελεί σημαντικό παράγοντα στη διαμόρφωση της στάθμης και στη συγκράτηση μιας επιλεκτικά ουδέτερης γενετικής ποικιλομορφίας.

3.1.5. Πείραμα ουρίας

Έχει όμως αναγνωρισθεί ότι η ηλεκτροφορητική ανάλυση της γενετικής ποικιλομορφίας, υποεκτιμά τόσο τον αριθμό των αλληλομόρφων των φυσικών πληθυσμών όσο και τη μέση ετεροζυγωτία των ατόμων των πληθυσμών αυτών. Είναι γνωστό ότι μόνο ένα κλάσμα των αντικαταστάσεων των αμινοξέων μεταβάλλει το καθαρό ηλεκτρικό φορτίο του μορίου. Το κλάσμα των αντικαταστάσεων αμινοξέων, που είναι υπεύθυνο για αλλαγές του φορτίου, κυμαίνεται από 0,231 (King, 1974) έως 0,778 (Lewontin and Hubby, 1966). Έτσι, ένας αλληλομόρφος, όπως ανιχνεύεται ηλεκτροφορητικά, στην πραγματικότητα μπορεί να αντιπροσωπεύει μια ομάδα μορίων, καθένα από τα οποία έχει το ίδιο καθαρό ηλεκτρικό φορτίο, που όμως διαφέρουν στην κατανομή των αμινοξέων τους (Maynard Smith (1972), King (1974), Ohta and Kimura (1973)). Τα πειράματα των Berstein et al. (1973), Singh et al. (1974, 1975) έδειξαν ότι η ηλεκτροφορητική ομοιότητα αποκρύπτει ένα σύνολο αλληλομόρφων, με διαφορετική θερμοαντοχή, με αποτέλεσμα να υποεκτιμάται ο αριθμός των αλληλομόρφων από 1,7 μέχρι 2,6 φορές. Η μεταβολή επίσης των συνθηκών ηλεκτροφόρησης, όπως αλλαγές στο pH ή στις συγκεντρώσεις των ρυθμιστικών διαλυμάτων παρασκευής του ηλεκτροπήγατος και των ηλεκτροδίων ή ακόμα μεταβολές στις συγκεντρώσεις αμύλου και κυρίως πολυακρυλαμίδης (Cobbs (1977), McDowell and Prakash (1976), Coyne (1976), Cobbs and Prakash (1977)) και τέλος η μελέτη της ανθεκτικότητας των αλληλομόρφων σε διαφορετικές συγκεντρώσεις ουρίας (Loukas et al., 1981) επιβεβαίωσαν τα προηγούμενα πειράματα θερμοευαισθησίας και φανέρωσαν την ύπαρξη μεγάλης ποσότητας ενζυμικής ποικιλομορφίας.

Για να μελετήσουμε την ύπαρξη τυχόν " κρυμμένου " γενετικού πολυμορφισμού στη μύγα της Μεσογείου , δημιουργήσαμε 20 " ισογονικά " στελέχη με το σύστημα διασταυρώσεων " αδελφός X αδελφή " και μελετήσαμε την ανθεκτικότητα των αλληλομόρφων δύο μονομορφικών (Odh, ME) και ενός πολυμορφικού (Pep-1) ενζυμικών συστημάτων , σε διαφορετικές συγκεντρώσεις ουρίας (βλέπε ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ). Για το γόνο Pep-1 , 14 στελέχη ήταν ομοζυγωτά για τον αλληλόμορφο 1,26 και 6 για τον αλληλόμορφο 1,00. Όλα τα " ισογονικά " στελέχη, για καθένα από τα τρία ενζυμικά συστήματα , έδειξαν την ίδια ακριβώς ανθεκτικότητα . Με άλλα λόγια , δεν παρατηρήθηκαν ούτε ποιοτικές ούτε ποσοτικές διαφορές στην ανθεκτικότητα των αλλοζύμων στις διάφορες συγκεντρώσεις ουρίας . Ετσι, αν και χρησιμοποιήσαμε μόνο 20 " ισογονικά " στελέχη και τρία ενζυμικά συστήματα, τα αποτελέσματα αυτά δείχνουν ότι η χαμηλή γενετική ποικιλομορφία που παρατηρήθηκε στους φυσικούς πληθυσμούς της μύγας της Μεσογείου με τη χρησιμοποίηση της συνήθους ηλεκτροφορητικής μεθόδου , αντικατοπτρίζει την πραγματικότητα ή τουλάχιστον ότι μια πιθανή " κρυμμένη " γενετική ποικιλομορφία, δε φαίνεται να συνεισφέρει σημαντικά ούτε στην αύξηση του αριθμού των αλληλομόρφων ούτε στην αύξηση της ετεροζυγωτίας των πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου .

3.2. Σχέση εντόμου -ξενιστή

3.2.1. Γενικά

Αν ο πληθυσμός ενός είδους εντόμου εμφανίζει προτίμηση για ένα είδος φυτού (ξενιστής), που είναι διαφορετικό από τον ξενιστή ή τους ξενιστές άλλων πληθυσμών του ίδιου είδους , τότε έχουμε δημιουργία των ονομαζόμενων *host races* . Η προτίμηση αυτή , που συνοδεύεται και με γενετική διαφοροποίηση , όχι μόνο επιτρέπει τη συνύπαρξη του είδους με την ανάπτυξη οικολογικών διαφορών , αλλά το διευκολύνει στο να " ακολουθεί " και " εκμεταλλεύεται " τη γεωγραφική περιβαλλοντική ανομοιογένεια . Ως κλασσικά παραδείγματα αλλαγής ξενιστή αναφέρονται τα έντομα *Laspeyresia pomonella* και *Rhagoletis pomonella*. Το πρώτο, που εισήχθει στη Β. Αμερική από την Ευρώπη το 1750 , 26 χρόνια μετά από την εισαγωγή του στην Καλιφόρνια , το 1873, άρχισε να προσβάλλει εκτός από τα μήλα και τα καρύδια (Essing, 1931). Το δεύτερο, από το φυσικό του ξενιστή *Crataegus oxyacantha*, μετακινήθηκε πολύ πρόσφατα (1860) στα μήλα και στα κεράσια (Bush, 1966).

Η δημιουργία φυλών που διαφέρουν ως προς τον ξενιστή (*host-races*), περιλαμβάνει μια σειρά διαδοχικών γεγονότων, όπως την επιλογή, την αναγνώριση, την αποδοχή και την καταλληλότητα του ξενιστή (Kogan, 1977). Τα δύο πρώτα ελέγχονται από γόνους υπεύθυνους για την αναγνώριση και επιλογή του ξενιστή και τα δύο δεύτερα από γόνους που ελέγχουν τη βιωσιμότητα της προνύμφης. Η επιλογή και αναγνώριση του ξενιστή, γίνεται μέσω χημικών σημάτων που γίνονται αντιληπτά από τους χημειοϋποδοχείς του εντόμου , η ευαισθησία των οποίων εξαρτάται από μια πρωτεΐνη υποδοχέα (Ferkovich and Norris, 1971) . Έτσι, η αναγνώριση του ξενιστή τελικά εξαρτάται από το γονότυπο των ατόμων , που είναι υπεύθυνος για την ακολουθία των αμινοξέων της πρωτεΐνης- υποδοχέα . Μία

μεταλλαγή λοιπόν που αλλάζει τη σύνθεση των αμινοξέων της πρωτεΐνης- υποδοχέα, επηρεάζει σημαντικά την ικανότητα του εντόμου να αναγνωρίσει έναν ορισμένο ξενιστή. Οι Huettel and Bush (1971) έδειξαν ότι η επιλογή - αναγνώριση του ξενιστή ελέγχεται από ένα μόνο μείζονα γόνιο σε δύο πολύ συγγενή είδη Terphritidae, που ανήκουν στο γένος Procecidochares. Η βιωσιμότητα της προνύμφης εξαρτάται εκτός των άλλων και από πολλά δευτερεύοντα χημικά παράγωγα των φυτών, όπως π.χ. το τοξικό φαινολικό παράγωγο Juglone που βρίσκεται σε υψηλή συγκέντρωση στα καρύδια και τα αλκαλοειδή ποικίλης τοξικότητας που υπάρχουν στους σολανώδεις καρπούς. Η ικανότητα της προνύμφης να αντιμετωπίσει τους χημικούς αυτούς αμυντικούς μηχανισμούς των φυτών, εξαρτάται άμεσα ή έμμεσα από τη δράση εξειδικευμένων ενζύμων. Οι Hatchett and Gallum (1970) έδειξαν, ότι στη μύγα Mayetiola destriuction (Say) στο σιτάρι, η ανθεκτικότητα του φυτού στην προσβολή ελέγχεται από τον κυρίαρχο αλληλόμορφο ενός μόνο γόνου, ενώ η ευαισθησία (και ταυτόχρονα η επιβίωση της προνύμφης στον ξενιστή) από τον υπολειπόμενο αλληλόμορφο. Τέτοιες σχέσεις, που αναφέρονται σε ένα μόνο γόνιο, είναι γνωστές για προσβολές από νηματώδεις, βακτήρια και ιούς (Day, 1974).

Πολλοί συγγραφείς θεωρούν, ότι στα φυτοφάγα έντομα, γενετική διαφοροποίηση, που συνδέεται με την αλλαγή του ξενιστή, αποτελεί ένα από τα πρώτα στάδια της διαδικασίας της ειδογένεσης (Bush, 1969). Είναι λοιπόν επιθυμητή η γνώση της δημιουργίας τέτοιων host-races στη μύγα της Μεσογείου, επειδή και η βιολογία και η οικολογία του εντόμου θα γίνουν περισσότερο κατανοητές, αλλά και επειδή τότε η βιολογική μέθοδος της καταπολέμησης του εντόμου, πρέπει να τροποποιηθεί για την αύξηση της αποτελεσματικότητάς της.

Οι Prokopy et al. (1982) αναφέρουν, ότι μεγάλο μέρος της διαφοροποίησης που παρατηρήθηκε μεταξύ των πληθυσμών του είδους R. pomonella , που προέρχονται από διαφορετικούς ξενιστές , οφείλεται σε γενετικές διαφορές των πληθυσμών. Οι Morgante et al. (1980) με βάση 11 ενζυμικούς πολυμορφισμούς που ανιχνεύονται ηλεκτροφορητικά , θεωρούν ότι το γένος Anastrepha , μάλλον αποτελείται από μεγάλο αριθμό ειδών , που διαφοροποιήθηκαν ανάλογα με τον ξενιστή . Οι Jaenike and Grimaldi (1982) αναφέρουν την ύπαρξη γενετικής διαφοροποίησης μεταξύ στελεχών του είδους Drosophila tripunctata , που εμφανίζουν διαφορετική προτίμηση για ξενιστή και που προέρχονται όχι μόνο από διαφορετικές γεωγραφικές περιοχές , αλλά και από τον ίδιο ακόμα πληθυσμό . Ανάλογες εργασίες στα λεπιδόπτερα (Hovanitz and Cheng (1963), Phillips and Barnes (1975), Tahashnik et al.(1981)) , στα κολεόπτερα (Wasserman and Futuyma, 1981) και στα δίπτερα (Tavornina, 1982) αναφέρουν, ότι μεγάλο μέρος της διαφοροποίησης, που σχετίζεται με την προτίμηση εναπόθεσης των αυγών σε διαφορετικούς ξενιστές , έχει γενετική βάση .

3.2.2. Σχέση μύγας της Μεσογείου και των διαφόρων ξενιστών

Από τα αποτελέσματα της παρούσας εργασίας φαίνεται , ότι οι Μεσογειακοί πληθυσμοί της μύγας της Μεσογείου είναι γενετικά όμοιοι και επομένως δεν μπορεί να υποστηριχθεί γενετική διαφοροποίηση μεταξύ των πληθυσμών , ούτε είναι εμφανής κάποια σχέση που να συνδέει τον πληθυσμό με τον ορισμένο ξενιστή. Στον Πίνακα 13 δίνονται οι τιμές της γενετικής ομοιότητας (I) μεταξύ όλων των δυνατών συνδυασμών των πληθυσμών ανά δύο, με βάση τους 13 γόνους που μελετήθηκαν σε όλους τους πληθυσμούς. Οι τιμές του (I) υπολογίστηκαν από τη σχέση (1) (Κεφάλαιο 2.5. Μέθοδοι εκτίμησης Γενετικών Αποστάσεων).

Πρέπει να σημειώσουμε ότι τέτοιες υψηλές τιμές του (I), όπως αυτές του Πίνακα 13 μεταξύ των Μεσογειακών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου , χαρακτηρίζουν τη γενετική ομοιότητα μεταξύ τοπικών πληθυσμών του ίδιου είδους. Π.χ. η γενετική ομοιότητα μεταξύ τοπικών πληθυσμών του είδους Drosophila willistonii και τοπικών πληθυσμών ειδών του γένους Anastrepha είναι αντιστοίχως $0,970 \pm 0,006$ (Ayala, 1975) και $0,992 \pm 0,002$ (Morgante et al., 1980). Ας σημειωθεί επίσης ότι οι Berlocher and Bush (1980) και Morgante et al. (1980) θεωρούν ότι δείκτης γενετικής ομοιότητας μεταξύ δύο πληθυσμών που προέρχονται από διαφορετικούς ξενιστές , μικρότερος από 0,95 (όπως υπολογίζεται με βάση τα ηλεκτροφορητικά δεδομένα), αποτελεί ένα καλό κριτήριο, ώστε να θεωρηθεί ότι οι δύο πληθυσμοί ανήκουν σε διαφορετικά host-races.

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 13

Γενετική ομοιότητα (I) μεταξύ 15 πληθυσμών (Λεπτομέρειες στο κε(μενο)

	ΚΥΠ.	ΚΑΛ.	ΧΙΟ.	ΑΤΤ.	ΙΤΑ.	ΚΡΗ.	ΧΑΒ.	ΑΙΓ.	ΙΣΡ.	ΡΕΟ.	Ν.Α.	ΙΣΠ.	ΓΟΥ.	ΒΡΑ.	ΚΕΝ.
ΚΥΠ.	/	989	991	989	982	988	948	929	982	872	902	982	972	955	862
ΚΑΛ.		/	992	992	998	984	960	968	983	909	891	980	964	953	858
ΧΙΟ.			/	987	990	978	965	965	981	904	898	977	955	947	840
ΑΤΤ.				/	996	988	958	969	975	919	902	983	969	955	871
ΙΤΑ.					/	980	967	901	972	902	885	979	965	960	868
ΚΡΗ.						/	940	970	979	923	906	967	975	953	877
ΧΑΒ.							/	932	944	940	917	957	915	929	877
ΑΙΓ.								/	975	892	873	965	965	957	849
ΙΣΡ.									/	895	887	975	966	959	874
ΡΕΟ.										/	948	945	897	944	964
Ν.Α.											/	924	902	899	916
ΙΣΠ.												/	976	955	921
ΓΟΥ.													/	975	865
ΒΡΑ.														/	881
ΚΕΝ.															/

Σημείωση : ΚΥΠ.- ΚΥΠΡΟΣ, ΚΑΛ.- ΚΑΛΑΜΑΤΑ, ΧΙΟ.- ΧΙΟΣ, ΑΤΤ.- ΑΤΤΙΚΗ, ΙΤΑ.- ΙΤΑΛΙΑ, ΚΡΗ.- ΚΡΗΤΗ, ΧΑΒ.- ΧΑΒΑΗ, ΑΙΓ.- ΑΙΓΥΠΤΟΣ, ΙΣΡ.- ΙΣΡΑΗΛ, ΙΣΠ.- ΙΣΠΑΝΙΑ, ΒΡΑ.- ΒΡΑΖΙΛΙΑ, ΓΟΥ.- ΓΟΥΑΤΕΜΑΛΑ, ΡΕΟ.- ΡΕΟΥΝΙΟΝ, Ν.Α.- Ν.ΑΦΡΙΚΗ, ΚΕΝ.- ΚΕΝΥΑ

Η μύγα της Μεσογείου προσβάλλει καρπούς που ανήκουν σε διαφορετικές οικογένειες, για τις οποίες δεν μπορεί να υποστηριχθεί επιτυχώς, ότι δεν διαφέρουν στις χημική τους σύσταση, που θα αποτελέσουν τα υποστρώματα των ενζύμων. Τέτοιοι ξενιστές μπορεί να διαφέρουν σημαντικά, εκτός από τις χημικές και θρεπτικές, στις γευστικές και οσμητικές τους ιδιότητες, από τον αρχικό ξενιστή. Οι διαφορές αυτές απαιτούν πιο εκτεταμένες αλλαγές στον αρχικό πληθυσμό, απαραίτητες για προσαρμογή στο νέο ξενιστή. Έτσι, μια τέτοια μετακίνηση του εντόμου, αναμένεται να συνοδεύεται από ταχεία και έντονη γενετική διαφοροποίηση, που αποτελεί επακόλουθο της έντονης επιλεκτικής πίεσης που δημιουργούν οι διαφορετικές συνθήκες. Για το λόγο αυτό ο Bush (1969) επισημαίνει, ότι η δημιουργία host-races σε δραστικά διαφορετικούς ξενιστές από τον αρχικό (που ανήκουν σε διαφορετικές υποοικογένειες ή οικογένειες), αναμένεται να έχει πολύ μικρή συχνότητα.

Ο Carey (1984) μελέτησε το μέσο χρόνο ανάπτυξης και την πιθανότητα επιβίωσης προνυμφών και πωυπών μύγας της Μεσογείου από διαφορετικούς ξενιστές (Πίνακας 14).

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 1 4

Μέσος χρόνος ανάπτυξης σε ημέρες (\bar{X}) και ποσοστό βιωσιμότητας σε προνύμφες και πούπες της μύγας της Μεσογείου σε διαφορετικούς ξενιστές (σε 25°C) . (Carey, 1984)

Ξενιστής	Προνύμφη		Πούπα	
	\bar{X}	Ποσοσ.βιωσιμ. (%)	\bar{X}	Ποσοσ.βιωσιμ. (%)
Πιπέρι	9,4	24	13,5	73
Λιμετρία	11,4	39	12,8	85
Λεμόνια	11,0	38	12,6	84
Γκρέιπ φρουτ	9,0	56	12,8	93
Πορτοκάλια	9,0	53	12,4	92
Κυδώνια	24,1	7	—	0
Σύκα	8,2	55	11,9	98
Τομάτες	7,1	72	12,0	99
Μάνγκος	7,2	100	11,5	96
Αβοκάντος	8,2	68	12,2	88
Δαμάσκηνα	11,3	47	13,0	100
Ροδάκινα	11,1	71	11,9	91
Νεκταρίνια	8,0	29	12,5	94
Αχλάδια	13,9	54	12,2	100
Σταφύλια	12,4	14	11,9	100

Ο πληθυσμός που χρησιμοποίησε στα πειράματα του , προέρχεται από σύκα Χίου . Από τον Πίνακα 14 παρατηρούμε , ότι εκτός από τα κυδώνια , η ανάπτυξη της προνύμφης συμπληρώνεται εντός 1-2 εβδομάδων . Η βιωσιμότητα κυμαίνεται από 7% (κυδώνια) μέχρι 100% (μάνγκος) . Η ανατομία των οπών προσβολής στους διάφορους καρπούς, έδειξε ότι τρεις είναι κυρίως οι αιτίες αδυναμίας ανάπτυξης των προνυμφών .

- i) Η αδυναμία της νεοεκκολαφθείσας προνύμφης να διαπεράσει το φλοιό (π.χ. στα είδη Citrus) .
- ii) Ο ιστός του ξενιστή είναι αρκετά σκληρός για τις νεοεκκολαφθείσες προνύμφες (κυδώνια) .
- iii) Ο ιστός του ξενιστή είναι αρκετά υδαρής (σταφύλια) . Αντίθετα, ο χρόνος ανάπτυξης στις πούπες κυμαίνεται από 11,5-13,5 ημέρες. Ο μέσος χρόνος ανάπτυξης της πούπας σε όλους τους ξενιστές είναι 12,4 ημέρες. Το ποσοστό βιωσιμότητας της πούπας κυμαίνεται από 73% (εκτός από τα κυδώνια) μέχρι 100% . Το μέσο ποσοστό βιωσιμότητας της πούπας σε όλους τους ξενιστές (εκτός από τα κυδώνια) είναι 92%. Έτσι, αν και η πιθανότητα επιβίωσης των ακμαίων ελάχιστα επηρεάζεται από τον ξενιστή από τον οποίο προέρχονται ή από τις συνθήκες κάτω από τις οποίες ζούν , το ποσοστό των νεοεκκολαφθεισών ατόμων που φτάνουν στο στάδιο του ακμαίου , εξαρτάται κυρίως από το συντελεστή προσαρμοστικότητας της προνύμφης στον ξενιστή αυτό.

Επειδή λοιπόν σε πολλές περιοχές η μύγα της Μεσογείου έχει στη διάθεση της ταυτόχρονα διαφορετικούς ξενιστές , ο μέσος συντελεστής προσαρμοστικότητας της προνύμφης είναι αποτέλεσμα των συντελεστών όλων των επιμέρους υποπληθυσμών που προέρχονται από διαφορετικούς ξενιστές (Carey et al., 1987).

Ανεξάρτητα όμως αυτών των αναμενόμενων διαφοροποιήσεων της πιθανότητας επιβίωσης της προνύμφης , από ξενιστή σε ξενιστή , το γεγονός ότι μύγες που προέρχονταν από ένα ορισμένο ξενιστή (σύκα), αποδέχτηκαν ποικιλία διαφορετικών νέων ξενιστών χωρίς να μεσολαβήσει περίοδος προσαρμογής τους στο νέο ξενιστή, ενισχύει σοβαρά την άποψη που διατυπώθηκε προηγουμένως, ότι δηλαδή η μύγα της Μεσογείου αποτελεί ένα κατ'εξοχή " γενικευμένο " είδος εντόμου.

Είναι λοιπόν πιθανό στη μύγα της Μεσογείου , η αναγνώριση ενός νέου ξενιστή και η βιωσιμότητα της προνύμφης , να μην απαιτούν τη δημιουργία νέων μεταλλαγών και την επακόλουθη επιλογή. Απλώς, η μετακίνηση της μύγας σε ένα νέο ξενιστή , αυξάνει και επεκτείνει κατά ένα τον αριθμό των ξενιστών του είδους. Απουσία λοιπόν μεταλλαγών και επιλογής για τη βελτίωση της προσαρμοστικότητας στο νέο ξενιστή , οι πληθυσμοί της μύγας της Μεσογείου δεν αναμένεται να διαφοροποιηθούν γενετικά.

Οι Prokory et al. (1984) αναφέρουν την ύπαρξη σχέσης μεταξύ μύγας της Μεσογείου και ξενιστή , που βασίζεται όχι στο είδος αλλά στο μέγεθος του φρούτου και ότι η προτίμηση αυτή , τουλάχιστον μερικά , έχει γενετική βάση . Για να ελεγχθούν τα ευρήματα των Prokory et al. (1984) , αναλύθηκαν για 23 ενζυμικά συστήματα , δύο ζεύγη πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου. Τα ζεύγη " Κρήτη-I - Κρήτη-II " και " Κρήτη-III - Κρήτη-IV " (βλέπε ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ, 2.4.3.).

Στον Πίνακα 15 δίνονται οι συχνότητες των αλληλομόρφων όλων των γόνων, στους οποίους τουλάχιστον 2 αλληλόμορφοι ανιχνεύτηκαν και η αναμενόμενη μέση ετεροζυγωτία (\bar{H}) καθ' ενός πληθυσμού. Με βάση τους 23 γόνους που μελετήθηκαν (μονομορφικούς και πολυμορφικούς), οι τιμές γενετικής ομοιότητας (Nei, 1972) όλων των συνδυασμών των 4 πληθυσμών ανά δύο, υπολογίστηκαν σε 1,000 για τα ζεύγη Κρήτη-I - Κρήτη-II, Κρήτη-I - Κρήτη-III, Κρήτη-I - Κρήτη-IV, Κρήτη-III - Κρήτη-IV και 0,999 για τα ζεύγη Κρήτη-II - Κρήτη-III και Κρήτη-II - Κρήτη-IV.

Ετσι, όλοι οι πληθυσμοί ανά ζεύγη είναι σχεδόν γενετικά όμοιοι, ανεξάρτητα από το είδος ή το μέγεθος του φρούτου από το οποίο προέρχονται.

Επιπλέον οι διασταυρώσεις μεταξύ ατόμων που προέρχονταν από γκρέιπ - φρούτ και πορτοκάλια (διασταυρώσεις απλών ζευγών), έδωσαν μέσους αριθμούς απογόνων που δεν αποκλίνουν σημαντικά μεταξύ τους (χρησιμοποιώντας την t - κατανομή σε όλα τα ζεύγη συγκρίσεων (βλέπε Πίνακα 16)).

Ετσι, σε τεχνητή τροφή, η γονιμότητα των θηλυκών είναι κατά το μάλλον και ήττον η ίδια, ανεξάρτητα από το είδος ή από το μέγεθος του φρούτου από το οποίο προέρχονται. Αν και τα αποτελέσματα αυτά δεν συμφωνούν με τα αποτελέσματα των Prokopy et al. (1984), εν τούτοις πρέπει να έχουμε υπ' όψη μας ότι :

- i) Οι γενετικές διαφορές, αν υπάρχουν, για προτίμηση εναπόθεσης των αυγών σε διαφορετικούς ξενιστές, μπορεί να είναι πολύ μικρές, ώστε να ανιχνευτούν με τα συνήθη μεγέθη των ηλεκτροφορητικών δειγμάτων.
- ii) Οι γενετικές αλλαγές που σχετίζονται με την προτίμηση αυτή μπορεί να περιορίζονται σε ορισμένους μόνο γόνους [Bush (1975), Mitter and Futuyma (1979)], ώστε να είναι σχεδόν απίθανο να περιλαμβάνονται στο μικρό δείγμα γόνων που μελετήθηκαν ηλεκτροφορητικά.

 Π Ι Ν Α Κ Α Σ 1 5

Συχνότητες αλληλομόρφων σε 4 φυσικούς πληθυσμούς της μύγας της Μεσογείου από την Κρήτη .
 N είναι ο αριθμός των ατόμων που ηλεκτροφορήθηκαν για κάθε ένζυμο . Περισσότερες λεπτομέρειες στο κείμενο .

Γ Ο Ν Ο Ι	Π Λ Η Θ Υ Σ Μ Ο Ι			
	Κρήτη-I (γκ.φρούτ)	Κρήτη-II (πορτοκ.)	Κρήτη-III (γκ.φρούτ)	Κρήτη-IV (ροδάκινα)
PEP-1				
1.26	0,621	0,559	0,675	0,662
1,00	0,379	0,441	0,325	0,338
N	161	170	143	136
PEP-2				
1,22	0,125	0,087	0,136	0,129
1,00	0,875	0,913	0,864	0,871
N	168	126	143	136
PEP-3				
1,06	0,089	0,117	0,087	0,125
1,00	0,911	0,883	0,917	0,875
N	168	158	143	136
MPI				
1,00	0,037	0,048	0,084	0,085
0,87	0,963	0,952	0,916	0,915
N	135	168	143	136
G-6-PD				
1,02	0,006	0,006	0,045	0,018
1,00	0,949	0,969	0,927	0,942
0,98	0,045	0,025	0,028	0,040
N	154	160	143	136
IDH				
1,00	0,978	0,997	1,000	1,000
0,83	0,022	0,003	---	---
N	114	149	85	81
\bar{H}	0,046	0,044	0,049	0,050

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 16

Απόγονοι απλών ζευγών διασταυρώσεων μεταξύ
ατόμων που προέρχονται από διαφορετικά φρούτα

Είδος ζεύγους	Αρ. απλών ζευγών	Μέσος αριθ. απογ./ζεύγος
♀ "γκρέιπ φρούτ" X ♂ "γκρέιπ φρούτ"	20	83 ± 15
♀ "πορτοκάλια" X ♂ "πορτοκάλια"	20	91 ± 13
♀ "γκρέιπ φρούτ" X ♂ "πορτοκάλια"	10	79 ± 21
♀ "πορτοκάλια" X ♂ "γκρέιπ φρούτ"	10	88 ± 20

Δεν είναι βέβαια γνωστός ο αριθμός των γενετικών αλλαγών, που λαμβάνουν χώρα κατά τη διαδικασία της ειδογένεσης, που περιλαμβάνει αλλαγή του ξενιστή. Ο Lewontin (1974) προτείνει ότι τα είδη διαφέρουν τουλάχιστον στο 10% των γόνων τους. Η εκτίμηση του βασίζεται σε μελέτες του αλλοζυμικού πολυμορφισμού, στενά συγγενών ειδών Drosophila και γεωγραφικών φυλών, που έχουν όμως απομονωθεί για μακρά χρονικά διαστήματα. Τα πειραματικά αποτελέσματα στα φυτοφάγα έντομα και σ'ένα τουλάχιστον είδος Drosophila (Prakash, 1972) δείχνουν, ότι σε μερικές περιπτώσεις ο αριθμός των γόνων μπορεί να είναι πολύ μικρός και πάντως πολύ μικρότερος του ποσοστού 10%. Αυτό φυσικά είναι ιδιαίτερα αληθές στις περιπτώσεις που η μετακίνηση των εντόμων αφορά σε φυτά, που οι καρποί τους έχουν ανάλογες ή παρεμφερείς ιδιότητες.

Για να μελετήσουμε την τυχόν ύπαρξη τάσης προτίμησης των θηλυκών να εναποθέτουν τα αυγά τους ανάλογα με το είδος του καρπού ή με το μέγεθος του καρπού, έγινε ένα εργαστηριακό πείραμα στο οποίο χρησιμοποιήθηκαν μύγες της Μεσογείου που προέρχονταν από δύο διαφορετικά είδη και μεγέθη καρπών (ροδάκινα και γκρέιπ-φρούτ) - βλέπε πείραμα 2.4.4.2. Η κατάστρωση του πειράματος είναι τέτοια ώστε τα αποτελέσματα να μην επηρεάζονται από τη διαφορετική βιωσιμότητα των προνυμφών στους διάφορους καρπούς (όπως προκύπτει από τα πειράματα του Carey, Πίνακας 14, υπάρχει διαφοροποίηση στο μέσο αριθμό απογόνων που προέρχονται από διαφορετικούς καρπούς, ακριβώς λόγω της διαφορετικής βιωσιμότητας των προνυμφών).

Για τη σήμανση των ατόμων που προέρχονται από διάφορους καρπούς , χρησιμοποιήθηκε ο γόνος PEP-1.

Αν και διαφάνηκε κάποια τάση προτίμησης από τα θηλυκά για τον καρπό προέλευσης τους, η τάση αυτή δεν ήταν στατιστικά σημαντική, αφού και στις δύο περιπτώσεις οι αριθμοί γονοτύπων κάθε κατηγορίας, δεν αποκλίνουν από την αναλογία 1 : 1 (με πιθανότητα $0.05 < P < 0.10$ για την κατηγορία I και με πιθανότητα $0.20 < P < 0.30$ για την κατηγορία II. Τα αποτελέσματα του πειράματος αυτού, τα οποία είναι ανεξάρτητα από το ποσοστό βιωσιμότητας των ατόμων στους διάφορους ξενιστές, όπως επίσης και από το δείγμα των γόνων που μελετήθηκε ηλεκτροφορητικά, ενισχύουν την άποψη ότι δεν υπάρχει κάποια ανιχνεύσιμη προτίμηση των θηλυκών για την εναπόθεση των αυγών , ως προς τον ξενιστή.

3.3 Δημιουργία αποικιών

3.3.1. Πιθανότητα εγκαθίδρυσης αποικίας

Ο χαμηλός βαθμός πολυμόρφισμού των Μεσογειακών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου, μπορεί να οφείλεται σε ιστορικούς λόγους και κυρίως στο χρόνο που μεσολάβησε από τη δημιουργία των αποικιών της μύγας μέχρι σήμερα και στον αριθμό των ατόμων που αποτέλεσαν τον αρχικό πληθυσμό.

Σύμφωνα με τους McArthur and Wilson (1967), η δημιουργία μιας νέας αποικίας πρέπει να γίνεται από άτομα που εμφανίζουν το μέγιστο της αναπαραγωγικής τους τιμής. Οι νεαρές μύγες της Μεσογείου, όπως και σε άλλα έντομα, εμφανίζουν μεγαλύτερη ικανότητα μετακίνησης από τις μύγες μεγάλης ηλικίας.

Οι μύγες αυτές (24 έως 34 ημέρες από την εναπόθεση του αυγού), έχουν και τις υψηλότερες τιμές αναπαραγωγής (βλέπε ΕΙΣΑΓΩΓΗ, Βιολογία του εντόμου).

Σύμφωνα με τον Carey (1982), η πιθανότητα εγκαθίδρυσης και η εξάπλωση μιας αποικίας της Ceratitidis capitata, συναρτῆσει του αριθμού των γονιμοποιημένων θηλυκών που τη δημιούργησαν και του αριθμού των ημερών που μεσολάβησαν από το σχηματισμό της, δίνονται στον παρακάτω Πίνακα.

Πιθανότητα εγκαθίδρυσης της μύγας της Μεσογείου

Αριθμός Γονιμ.	t (Ημέρες)				Πιθανότητα εγκαθίδρυσης
	0	10	20	40	
1	0,29	0,36	0,39	0,40	0,60
2	0,08	0,13	0,15	0,16	0,84
4	0,01	0,02	0,02	0,03	0,97

Η πιθανότητα λοιπόν εγκαθίδρυσης μιας αποικίας, που προέρχεται από ένα μόνο θηλυκό, είναι αρκετά υψηλή (0,60), ενώ για μεγαλύτερο αριθμό θηλυκών είναι σχεδόν ίση με τη μονάδα. Η υψηλή αυτή πιθανότητα, οφείλεται και στην υψηλή τιμή αναπαραγωγής και στην υψηλή τιμή της πιθανότητας μελλοντικής διατήρησης στη ζωή των νεαρών θηλυκών της μύγας της Μεσογείου (βλ. ΕΙΣΑΓΩΓΗ).

Ο συνδυασμός αυτός της μικρής θνησιμότητας με την υψηλή γονιμότητα, μπορεί να δώσει αποικία ικανού μεγέθους και μάλιστα σε σχετικά μικρή χρονική περίοδο.

Ένα στοιχείο που συνδέεται με την επιτυχή δημιουργία μιας νέας αποικίας, είναι το ονομαζόμενο φαινόμενο Allee (Allee, 1931), σύμφωνα με το οποίο υπάρχει ένας κρίσιμος αριθμός ατόμων για την επίτευξη του μέγιστου αριθμού αύξησης.

Στα κοινωνικά ζώα, ο αριθμός αυτός εξαρτάται από το βαθμό συνεργασίας τους. Σε ζώα όπως η μύγα της Μεσογείου, εξαρτάται κυρίως από την πιθανότητα εξεύρεσης συντρόφου. Το πρώτο βήμα για την εξεύρεση συντρόφου στο είδος αυτό, είναι ο σχηματισμός μικρών ομάδων αρσενικών στους καρπούς ή στην κάτω επιφάνεια των φύλλων (Prokopy and Hendrichs, 1979). Έτσι, αυξάνεται η πιθανότητα προσέλευσης συντρόφου, επειδή η συγκέντρωση της φερομόνης είναι υψηλότερη.

Γενικά, είναι πολύ δύσκολο να προβλεφτεί η πιθανότητα επιτυχούς δημιουργίας αποικίας ενός ορισμένου είδους. Π.χ. δεν υπάρχει τρόπος να προσδιορισθεί ο αριθμός των ατόμων της μύγας της Μεσογείου που αρχικά δημιούργησαν τον πληθυσμό Χαβάης το 1907 (McBride, 1935) ή τους πληθυσμούς της Φλώριδας το 1927 και το 1956 (Ayers (1957), Simanton (1958)) .

Ακόμα και για τα κουνέλια που τόσο αφθονούν στην Αυστραλία, χρειάστηκε να επιχειρηθεί για δεύτερη φορά η δημιουργία αποικίας, μετά την αποτυχία της πρώτης, με άτομα που στάλθηκαν από την Αγγλία (Andrewartha and Birch, 1954). Τέλος οι Hall and Ehler (1979) και οι Ehler and Hall (1982), υπελόγισαν ότι η πιθανότητα εγκαθίδρυσης των φυσικών εχθρών που χρησιμοποιούνται στα προγράμματα βιολογικού ελέγχου των εντόμων, είναι μόνο 33% , παρ'όλο που εξαπολύονται συνήθως αρκετές χιλιάδες άτομων .

3.3.2. Μείωση της μέσης ετεροζυγωτίας και του μέσου αριθμού αλληλομόρφων στις αποικίες.

Είναι γνωστό ότι η μείωση του μεγέθους ενός πληθυσμού, συνεπάγεται και μείωση της μέσης ετεροζυγωτίας του σε έκταση που εξαρτάται από το δραστικό μέγεθος του πληθυσμού. Αντίθετα, η αύξηση του μεγέθους του πληθυσμού συνεπάγεται και αύξηση της μέσης ετεροζυγωτίας λόγω των νέων μεταλλαγών (Wright, 1931). Έτσι, επειδή μόνο ένας αριθμός ατόμων από τον αρχικό πληθυσμό συμμετέχει στη δημιουργία μιας νέας αποικίας, η αποικία αυτή αρχικά αναμένεται να έχει μικρότερη μέση ετεροζυγωτία απ'εκείνη του αρχικού πληθυσμού.

Οι Nei et al. (1975), μελέτησαν μαθηματικά την ταχύτητα με την οποία προσεγγίζεται η αρχική ετεροζυγωτία, όταν τη δραστική μείωση του μεγέθους του πληθυσμού, διαδέχεται ταχεία αύξηση της. Επίσης μελέτησαν τη μείωση του πραγματικού αριθμού αλληλομόρφων του πληθυσμού, που συνεπάγεται η δραστική μείωση του μεγέθους του. Με μαθηματικό υπόδειγμα έδειξαν, ότι αν ο νέος πληθυσμός αρχίσει μόνο από 2 άτομα ($N_0 = 2$), τότε στις πρώτες γενιές η μέση ετεροζυγωτία μειώνεται γρήγορα (από $H_0 = 0,14$) και αφού φθάσει ένα ελάχιστο, μετά αυξάνεται πολύ αργά. Η μείωση στις αρχικές γενιές, εξαρτάται κυρίως από τον εσωτερικό ρυθμό αύξησης του πληθυσμού ($r = \text{intrinsic rate of increase}$). Αν r είναι ίσο με 0,1, τότε \bar{H} ελαχ. = 0,008 μετά από 120 γενιές. Στη συνέχεια το \bar{H} αυξάνεται πολύ αργά ώστε μετά από 105 γενιές να είναι γνωστό γύρω στο 0,01. Εν συνεχεία παρατηρείται μια ταχεία αύξηση του \bar{H} , ώστε μετά από 107 περίπου γενιές, η τιμή του \bar{H} προσεγγίζει εκείνη του αρχικού πληθυσμού.

Αν $r = 0,2$ τότε $\bar{H}_{ελαχ.} = 0,031$ μετά από 70 γενιές ενώ αν $r = 0,5$ τότε $\bar{H}_{ελαχ.} = 0,069$ μετά από 50 περίπου γενιές. Τέλος, αν $r = 1,0$, τότε $\bar{H}_{ελαχ.} = 0,089$ μετά από 20 περίπου γενιές. Αν τώρα $N_0 = 10$ τότε για $r = 0,1$ $\bar{H}_{ελαχ.} = 0,081$ μετά από 95 γενιές και για $r = 1,0$ $\bar{H}_{ελαχ.} = 0,128$ μετά από 31 περίπου γενιές. Έτσι, αν το r είναι υψηλό, τότε ένα σχετικά υψηλό επίπεδο ετεροζυγωτίας διατηρείται ακόμα κι αν το μέγεθος του πληθυσμού υποστεί δραματική μείωση ($N_0 = 2$). Ανεξάρτητα όμως από την τιμή του r , σε όλες τις περιπτώσεις, η αύξηση της μέσης ετεροζυγωτίας από την ελάχιστη τιμή της, είναι πολύ βραδεία διαδικασία, ώστε να απαιτείται πολύ μεγάλος χρόνος (εκφρασμένος σε γενιές), για την προσέγγιση της μέσης ετεροζυγωτίας του αρχικού πληθυσμού. Κατά προσέγγιση, ο αριθμός των γενεών που απαιτούνται για την επίτευξη του \hat{H} , είναι της τάξης της αντίστροφης τιμής της συχνότητας μεταλλαγής.

Το μέγεθος της απώλειας των αλληλομόρφων μετά από μια δραματική μείωση του μεγέθους του πληθυσμού, εξαρτάται κυρίως από το μέγεθος της μείωσης και όχι από το ρυθμό της αύξησης του πληθυσμού. Μια δραματική μείωση του μεγέθους του πληθυσμού, κυρίως εξαλείφει πολλούς από τους αλληλομόρφους που έχουν μικρές συχνότητες και είναι αυτοί που κυρίως συνεισφέρουν στη μέση ετεροζυγωτία. Αν π.χ. $N_0 = 2$, τότε η συχνότητα των αλληλομόρφων αυτών στην πρώτη γενιά θα είναι 0, 1/4, 1/2, 3/4, ή 1 ανεξάρτητα από τη συχνότητα των αλληλομόρφων αυτών στον αρχικό πληθυσμό. Οι Nei et al. (1975), υπολόγισαν ότι για μέσο αριθμό πραγματικών αλληλομόρφων ανά γόνο στον αρχικό πληθυσμό (\bar{n}) (ισο με 3,6 και για $N_0 = 2$, στην πρώτη γενιά ο \bar{n} γίνεται 1,35 και μετά από 5 γενιές 1,10.

Έτσι, ενώ η μέση ετεροζυγωτία στο παράδειγμα αυτό των Nei et al. (1975) μειώνεται κατά 25% σε κάθε γενιά, μετά από τη μείωση του μεγέθους του πληθυσμού, ο \bar{n} στην πρώτη γενιά είναι μικρότερος από 50% του αρχικού \bar{n} (1,35 έναντι 3,60).

Ανάλογα μαθηματικά υποδείγματα μελέτησαν τη μείωση της ετεροζυγωτίας σε πληθυσμούς, που υφίστανται περιοδική δραστική μείωση του μεγέθους τους (Maruyama and Fuerst, 1985a) και τη μείωση του αριθμού των αλληλομόρφων, που παρατηρείται σε ένα πληθυσμό, που πρόσφατα υπέστη δραστική μείωση του μεγέθους του (Maruyama and Fuerst, 1985b) .

Ο Wellso (αδημοσίευτες πληροφορίες) μελέτησε 6 βιότυπους και 2 φυσικούς πληθυσμούς από τις ΗΠΑ της μύγας Mayetiola destructor (που προσβάλλει το σιτάρι). Η μέση ετεροζυγωτία (με τη χρησιμοποίηση 15 γόνων που ανιχνεύονται ηλεκτροφορητικά) κυμαίνεται από 0,000 έως 0,015 . Η εξαιρετικά αυτή χαμηλή τιμή της μέσης ετεροζυγωτίας, οφείλεται κατά τον Wellso, σε επαναλαμβανόμενες δραματικές μειώσεις του μεγέθους των πληθυσμών ή στο μικρό αριθμό των ατόμων, που απετέλεσαν την πρώτη αποικία, κατά την εισαγωγή της μύγας αυτής στις ΗΠΑ, από την Αγγλία το 1776 .

Πρέπει να σημειωθεί ότι στην περίπτωση της μύγας της Μεσογείου, η πρώτη διασπορά ατόμων (ενεργός ή παθητική) από την Αφρική, στη Μεσογειακή λεκάνη, φαίνεται να έπαιξε καθοριστικό ρόλο στη μέση ετεροζυγωτία και το μέσο πραγματικό αριθμό αλληλομόρφων ανά γόνο, των διαφόρων Μεσογειακών πληθυσμών. Η εξάπλωση της μύγας στις Μεσογειακές χώρες, ασφαλώς αναπόφευκτα συνδέεται με περιορισμένους αριθμούς ιδρυτικών ατόμων, όχι όμως και με μια τόσο δραματική μείωση του αριθμού τους, που να οδηγήσει σε εξάλειψη αλληλομόρφων με ενδιαμέση συχνότητα. Παράδειγμα αποτελεί ο γόνος $Per-1$, ο οποίος είναι ο μόνος που είναι πολυμορφικός σε όλους τους πληθυσμούς που μελετήθηκαν με κριτήριο πολυμορφισμού 5%. (Η συχνότητα του αλληλομόρφου $Per-1^{1-00}$ κυμαίνεται από 0,178 έως 0,944, ενώ του αλληλομόρφου $Per-1^{1-24}$ από 0,813 έως 0,056 μεταξύ

των πληθυσμών). Αυτό ίσως να σημαίνει ότι οι δύο αλληλόμορφοι συνυπήρχαν στον ιδρυτικό πληθυσμό (founder individuals). Έτσι, σε όλες τις μεταγενέστερες περιπτώσεις επαναδημιουργίας αποικιών που οδήγησαν στους πληθυσμούς που μελετήθηκαν, τα μεγέθη των αρχικών υποπληθυσμών ήταν τέτοια, ώστε να επιτρέπουν την παρουσία και των δύο αλληλομόρφων.

Από την άλλη μεριά, μπορεί κάποιος να ισχυρισθεί ότι οι δύο αλληλόμορφοι του γόνου *Per-1*, παρουσιάζουν σε όλους τους πληθυσμούς κάποιο είδος εξισορροπημένου πολυμορφισμού. Όλοι όμως οι φυσικοί πληθυσμοί παρουσιάζουν γονοτυπικές συχνότητες για το γόνο *Per-1* που δεν αποκλίνουν από την αναμενόμενη ισορροπία Hardy-Weinberg.

Επιπλέον, η ταχύτητα προς τη μονιμοποίηση των 39 σειρών που δημιουργήθηκαν από τις διαδοχικές διασταυρώσεις απλών ζευγών (βλέπε ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ, 2.4.4.) με το σύστημα διασταύρωσης " αδελφός X αδελφή " (sib mating), ήταν η αναμενόμενη απουσία επιλογής.

Από τα 39 αρχικά ζεύγη του πειράματος 2.4.4. στη γενιά μηδέν, 9 βρέθηκαν να είναι του τύπου $Per-1^{1.26} / Per-1^{1.00} \times Per-1^{1.26} / Per-1^{1.00}$, 5 του τύπου $Per-1^{1.26} / Per-1^{1.26} \times Per-1^{1.26} / Per-1^{1.26}$, 6 του τύπου $Per-1^{1.26} / Per-1^{1.00} \times Per-1^{1.00} / Per-1^{1.00}$, 19 του τύπου $Per-1^{1.26} / Per-1^{1.26} \times Per-1^{1.26} / Per-1^{1.00}$.

Από τα 9 πρώτα ζεύγη, τα 4 μονιμοποιήθηκαν εντός τεσσάρων γενεών, ενώ από τα 25 τρίτα και τέταρτα, 16 μονιμοποιήθηκαν εντός των τριών πρώτων γενεών.

Μετά από τέσσερις γενιές διασταυρώσεων απλών ζευγών, 52.5% (ή 5 ζεύγη) των διασταυρώσεων $1.00/1.26 \times 1.00/1.26$ αναμένονταν να γίνουν το καθένα $1.26/1.26 \times 1.26/1.26$ ή $1.00/1.00 \times 1.00/1.00$ και τα υπόλοιπα 4 να συνεχίσουν να περιέχουν και τους δύο αλληλομόρφους.

Αυτοί ακριβώς οι αριθμοί παρατηρήθηκαν γι'αυτό τον τύπο διασταυρώσεων, μετά από 4 γενιές. Για τις 25 διασταυρώσεις που αποτελούνται από έναν ετεροζυγωτό γονέα, μετά από τρεις γενιές διασταυρώσεων απλών ζευγών, 52,3% ή 13 ζεύγη αναμένονται να γίνουν το καθένα $1,26/1,26 \times 1,26/1,26$ ή $1,00/1,00 \times 1,00/1,00$ και τα υπόλοιπα 12 να συνεχίσουν να περιέχουν και τους δύο αλληλομόρφους.

Ο αντίστοιχος αριθμός παρατηρούμενων ζευγών είναι 16 και 9. Έτσι και στις δύο περιπτώσεις, οι παρατηρούμενοι και οι αναμενόμενοι αριθμοί, δεν αποκλίνουν σημαντικά και η ταχύτητα προς τη μονιμοποίηση είναι η προβλεπόμενη βάση της υπόθεσης της τυχαίας ανταλλαγής των γαμετών και των ουδέτερων αλληλομόρφων. Επιπροσθέτα, επειδή η συχνότητα των αλληλομόρφων 1,26 και 1,00 στον αρχικό πληθυσμό από τον οποίο οι σειρές δημιουργήθηκαν, είναι $p = 0,65$ και $q = 0,35$, $p \cdot 39 = 25$ και $q \cdot 39 = 14$ ζεύγη αναμένεται να μονιμοποιηθούν για τους αλληλομόρφους 1,26 και 1,00 αντίστοιχα.

Οι παρατηρούμενοι αντίστοιχοι αριθμοί είναι 26 και 13.

3.3.3. Γεωγραφική εξάπλωση της μύγας της Μεσογείου με βάση τα αλλόζυμα

Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως (βλέπε ΕΙΣΑΓΩΓΗ, 1.5.), η Αφρική θεωρείται ως το κέντρο της γεωγραφικής εξάπλωσης της Ceratitis capitata. Ο υψηλός βαθμός μέσης ετεροζυγωτίας και ο υψηλός μέσος αριθμός πραγματικών αλληλομόρφων ανά γόνο, πολλοί από τους οποίους έχουν μικρή συχνότητα στον πληθυσμό της Νότιας Αφρικής (βλέπε Πίνακα 11), ενισχύουν την άποψη ότι η Αφρική αποτελεί το κέντρο της γεωγραφικής κατανομής του είδους. Έτσι, αν ο αριθμός των γονιμοποιημένων θηλυκών ατόμων, που δημιούργησαν την πρώτη αποικία στις χώρες της Μεσογείου, ήταν πολύ μικρός, τότε το υπόδειγμα των Nei et al. (1975), εξηγεί με ευχέρεια το χαμηλό βαθμό μέσης ετεροζυγωτίας και το μικρό αριθμό αλληλομόρφων ανά γόνο, που παρατηρήθηκε στους Μεσογειακούς πληθυσμούς.

Όπως είδαμε, η αποκατάσταση της μέσης ετεροζυγωτίας του αρχικού πληθυσμού, είναι μια πολύ βραδεία διαδικασία που απαιτεί τουλάχιστον $10^6 - 10^7$ γενιές. Ο χρόνος αυτός είναι μεγάλος σε σύγκριση με το χρόνο που διέρρευσε από τον σχετικά πρόσφατο αποικισμό των Μεσογειακών χωρών. Αν η μύγα της Μεσογείου διαδόθηκε στην περιοχή της Μεσογείου πριν από 250 χρόνια (Hagen et al., 1981) και με 5 γενιές ετησίως, τότε έχουν παρέλθει μόνο $1,25 \times 10^3$ γενιές.

Οι Huttel et al. (1980) , μελέτησαν τη γενετική ποικιλομορφία 4 φυσικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου από τη Νότια Αφρική , το Ισραήλ , την Κόστα Ρίκα και τη Χαβάη. Η μέση ετεροζυγωτία, το ποσοστό των πολυμορφικών γόνων και ο μέσος πραγματικός αριθμός αλληλομόρφων ανά γόνο στους πληθυσμούς αυτούς, φαίνονται στον παρακάτω Πίνακα.

Πληθυσμός	\bar{H}	\bar{P} (ποσ. πολυμ. γόνων)	\bar{n} / γόνο
N. Αφρική	0,167	52%	2,3
Ισραήλ	0,071	17%	1,2
Κόστα Ρίκα	0,036	9%	1,1
Χαβάη	0,034	13%	1,1

Η κατανομή των συχνοτήτων των αλληλομόρφων στον πληθυσμό της Ν.Αφρικής, έχει σχήμα U (Huttel et al., 1980) , που φαίνεται να είναι τυπική των κατανομών πολλών πληθυσμών , που διατηρούν μεγάλο μέγεθος . Οι κατανομές των συχνοτήτων των αλληλομόρφων των τριών άλλων πληθυσμών είναι δικόρυφες , με σχεδόν απουσία των σπάνιων αλληλομόρφων και με συχνότητες στις περιοχές 0,4 - 0,6 και 0,9 - 1,0 . Τέτοιες κατανομές έχουν προβλεφτεί για πληθυσμούς που έχουν πρόσφατα υποστεί δραματική μείωση του μεγέθους τους .

Όπως αναφέρθηκε στην εισαγωγή (1.6) , σύμφωνα με τους Hagen et al. (1981), η μύγα της Μεσογείου εισήλθε στην Ισπανία το 1842 και στη συνέχεια διαδόθηκε στη Γαλλία, Ιταλία, Ελλάδα και Μέση Ανατολή . Τα αποτελέσματα μας όμως, τουλάχιστον όσον αφορά σε

ορισμένους γόνους, δεν φαίνεται να ενισχύουν μια τέτοια υπόθεση. Έτσι, για το γόνο Pgm, μόνο οι πληθυσμοί "Αίγυπτος - I", "Αίγυπτος - II", "Ρεουνιόν" και "Ν. Αφρική", παρουσίασαν τον αλληλόμορφο 0,89. Όλοι οι άλλοι πληθυσμοί, ήταν μονομορφικοί για τον κοινό αλληλόμορφο 1,00. Για το γόνο Idh, ο αλληλόμορφος 0,83 στους πληθυσμούς από την Αίγυπτο και το Ισραήλ, παρουσίασε μια συχνότητα περίπου 0,30. Όλοι οι άλλοι Μεσογειακοί πληθυσμοί και ο πληθυσμός "Γουατεμάλας" (που όπως και οι Νοτιοαμερικάνικοι πληθυσμοί θεωρείται ότι προέρχεται σε τελική ανάλυση από μεταφορά ατόμων από την Ισπανία), ήταν μονομορφικοί ή σχεδόν μονομορφικοί, για τον κοινό αλληλόμορφο 1,00. Τέλος, για το γόνο Pcp-2, μόνο οι πληθυσμοί "Κρήτης", "Αιγύπτου" και "Γουατεμάλας", έφεραν τον αλληλόμορφο 1,22.

Όλοι οι άλλοι Μεσογειακοί πληθυσμοί, ήταν μονομορφικοί για τον κοινό αλληλόμορφο 1,00.

Τα αποτελέσματα αυτά, μάλλον δύσκολα μπορούν να εξηγηθούν με την υπόθεση, ότι οι πληθυσμοί από την Αίγυπτο και το Ισραήλ προέρχονται από τα ίδια άτομα, που πρωτοεισήλθαν στην Ισπανία. Επιπλέον, οι πληθυσμοί της "Αιγύπτου" και του "Ισραήλ", αναμένεται να έχουν μικρότερο βαθμό μέσης ετεροζυγωτίας από τους άλλους ευρωπαϊκούς πληθυσμούς, επειδή σύμφωνα με την προηγούμενη υπόθεση, η δημιουργία τους απαιτεί τη μεσολάβηση περισσότερων γεγονότων αποικισμού και επομένως περισσότερων διαδοχικών μειώσεων του μεγέθους του πληθυσμού (bottlenecks).

Όμως οι μέσες ετεροζυγωτίες των πληθυσμών από την Αίγυπτο και το Ισραήλ είναι αντίστοιχα 0,068 και 0,066 ενώ η μέση ετεροζυγωτία όλων των άλλων Μεσογειακών πληθυσμών είναι 0,049.

Έτσι, είναι πιθανή μια άλλη πορεία διασποράς της μύγας, από την Ανατολική Αφρική, μέσω της κοιλάδας του Νείλου στην Αίγυπτο και απ'εκεί στο Ισραήλ και στις άλλες Μεσογειακές χώρες.

Οι συχνότητες των αλληλομόρφων τριών επίσης γόνων, ενισχύουν την άποψη, ότι οι πληθυσμοί της μύγας της

Μεσογείου , προέρχονται από μία μόνο διαδρομή διασποράς.

Έτσι, για το γόνο Mpi (που εμφανίζει μεγάλο αριθμό αλληλουόρφων στον πληθυσμό " Ν.Αφρική " με συχνότητα του πιο συχνού αλληλουόρφου 0,87 ίση με 0,300 , όλοι οι πληθυσμοί είναι πολυμορφικοί και εμφανίζουν τους ίδιους δύο αλληλουόρφους : τον αλληλουόρφο 0,879 (τον πιο συχνό) και τον αλληλουόρφο 1,00. Για το γόνο Pcp-1, όλοι οι πληθυσμοί είναι πολυμορφικοί και φέρουν τους ίδιους πάντοτε δύο αλληλουόρφους (κοινούς και του πληθυσμού " Ν.Αφρική " που εμφανίζει και ένα τρίτο λιγότερο συχνό αλληλουόρφο). Το ίδιο παρατηρείται και για το γόνο Pcp-3 . Στην περίπτωση όμως αυτή , η υπόθεση μιας μόνο διαδρομής διασποράς δημιουργίας των Μεσογειακών πληθυσμών , ενισχύεται και από το γεγονός , ότι ενώ ο αλληλουόρφος 1,00 στον πληθυσμό " Ν.Αφρική " έχει συχνότητα 0,19 στους Μεσογειακούς πληθυσμούς είναι ο πιο συχνός, με μέση συχνότητα 0,92 . Φυσικά, τα συμπεράσματα αυτά που αφορούν στη διασπορά της μύγας , είναι μόνο ενδεικτικά , επειδή σε μεγέθη τέτοιου είδους και ο αριθμός των ατόμων που μελετάται είναι περιορισμένος και το κυριότερο , επειδή δε γνωρίζουμε τον αρχικό αριθμό ατόμων κάθε γεγονότος αποικισμού . Π.χ. τα αποτελέσματα που αφορούν στο γόνο G-6-Pd (που είναι πολυμορφικός μόνο στους πληθυσμούς " Κρήτης " , "Ν.Αφρικής", " Ισπανίας" και " Γουατεμάλας" για τους ίδιους τρεις αλληλουόρφους), μπορεί να εξηγηθούν ανεξάρτητα από τη διαδρομή διασποράς της μύγας, αν υποτεθεί ότι οι αλληλουόρφοι 1,02 και 0,098 υπάρχουν στους Μεσογειακούς πληθυσμούς , αλλά σε τόσο μικρές

συχνότητες , ώστε η ήδη μικρή πιθανότητα ανίχνευσης τους να γίνεται ακόμα μικρότερη στα συνήθη ηλεκτροφορητικά δείγματα . Ετσι, με βάση την υπόθεση αυτή , η παρουσία των αλληλομόρφων αυτών σε " ανιχνεύσιμες " συχνότητες στον πληθυσμό " Κρήτη " και " Ισπανία " μπορεί να οφείλεται σε ιδρυτικό φαινόμενο (founder effect) .

Ανεξάρτητα όμως από τις επεξηγήσεις αυτές , ο πληθυσμός "Κρήτης" είναι δυνατόν να προέρχεται από τον πληθυσμό " Αιγύπτου " ή να συμβαίνει το αντίθετο, με βάση τους γόνους Pcp-2 και Idh.

Το ίδιο ισχύει και για τους πληθυσμούς " Ισραήλ " και " Αίγυπτος " με βάση τους γόνους Idh και Pcp-3 . Τέλος , ο υψηλός βαθμός ετεροζυγωτίας του πληθυσμού " Ρεουνιόν" μαζί με τον υψηλό " πραγματικό " αριθμό αλληλομόρφων των διαφόρων γόνων , ενισχύουν την άποψη , ότι μερικά μόνο γεγονότα δημιουργίας αποικιών φαίνεται να μεσολάβησαν , κατά τη διαδρομή της μύγας της Μεσογείου από το χώρο της γεωγραφικής της κατανομής , μέχρι την εγκαθίδρυση του πληθυσμού της Ρεουνιόν. Δηλαδή ο πληθυσμός της Ρεουνιόν προέρχεται από την Αφρική.

3.4 . Μελέτη γενετικών αλλαγών σε εργαστηριακούς πληθυσμούς

Με την εισαγωγή του εντόμου στο εργαστήριο, συχνά κανείς αντιμετωπίζει το πρόβλημα διατήρησης αποικιών με μικρό κόστος , στις οποίες τα άτομα να εμφανίζουν τους " τυπικούς χαρακτήρες " φυσιολογίας και συμπεριφοράς του είδους. Εάν οι προϋποθέσεις αυτές δεν πληρούνται , τότε είναι ουσιώδες να γνωρίζει κανείς , αν αυτό είναι το αποτέλεσμα μιας καθαρά φαινοτυπικής " απάντησης " , η οποία μπορεί να αποκατασταθεί με κατάλληλες βελτιώσεις των συνθηκών εκτροφής ή μιας περισσότερο σταθερής γενετικής αλλαγής . Η διαδικασία προσαρμογής του εντόμου στις εργαστηριακές συνθήκες, μπορεί να μελετηθεί είτε με τον έλεγχο αλλαγών σε χαρακτήρες όπως βιωσιμότητα, γονιμότητα, σεξουαλική ωρίμανση, ικανότητα διασποράς κ.λ.π., ή με τη σπουδή των αλλαγών των συχνοτήτων των αλλοζύμων. Αν και οι δύο προσπελάσεις είναι συμπληρωματικές , εν τούτοις οι προσπάθειες εξακρίβωσης της σχέσης αιτίου -αποτελέσματος μεταξύ των δύο ομάδων χαρακτήρων , είχαν μικρή μόνο επιτυχία (McDonald, 1983) .

Γενετικές αλλαγές έχουν παρατηρηθεί σε εργαστηριακούς πληθυσμούς διαφόρων εντόμων , όπως στη Drosophila (Dobzhansky, 1970) , στο έντομο Laspeyresia pomonella (Bush , 1970) , στο έντομο Cochliomyia hominivorax (Bush and Neck (1975), Whitten (1980)) και στο Dacus oleae (Zouros et al.(1982), Loukas et al.(1985)).

Στο έντομο Cochliomyia hominivorax , η εφαρμογή της μεθόδου καταπολέμησης του με την εξαπόλυση στείρωθέντων αρσενικών , εμφάνισε δραματική μείωση της αποτελεσματικότητας της μετά από ολιγόχρονη παραμονή του εντόμου στο εργαστήριο , εξ αιτίας σημαντικής μείωσης της πτητικής ικανότητας του εντόμου. Οι Bush

and Neck (1975) , έδειξαν με την ηλεκτροφορητική μέθοδο , ότι ένας αλληλόμορφος του γόνου α-GPD που έχει πολύ μικρή συχνότητα στους φυσικούς πληθυσμούς, οδηγείται σε μονιμοποίηση στους εργαστηριακούς πληθυσμούς . Φαίνεται ότι η παρουσία του αλληλομόρφου αυτού στο εργαστήριο , έχει σαν αποτέλεσμα την πολύ μικρή παραγωγή του ενζύμου, αφού είναι γνωστό ότι η ποσότητα του ενζύμου α-GPD βρίσκεται σε ισχυρή θετική συσχέτιση με την ικανότητα πτήσης του εντόμου (Kitto and Briggs (1962), Brosemer (1967)).

Οι Zouros et al. (1982) και Loukas et al. (1986) , συγκρίνοντας ηλεκτροφορητικά εργαστηριακούς και φυσικούς πληθυσμούς του εντόμου Dacus oleae έδειξαν , ότι ένας αλληλόμορφος του γόνου Adh που εμφανίζει συχνότητα μικρότερη από 1% στους φυσικούς πληθυσμούς , μετά από 4-5 γενιές τεχνητής εκτροφής , εμφανίζει συχνότητα 35% σε όλους τους εργαστηριακούς πληθυσμούς.

Φυσικά οι αλλαγές αυτές , με μεγάλη πιθανότητα είναι το άμεσο αποτέλεσμα της επιλογής , για εκείνους τους αλληλομόρφους που " λειτουργούν " καλά κάτω από εργαστηριακές συνθήκες , όχι όμως απαραίτητα και κάτω από φυσικές. Έτσι, ο έλεγχος του ενζυμικού πολυμορφισμού , μπορεί να έχει πολύ χρήσιμες εφαρμογές σε προγράμματα μαζικής εκτροφής του εντόμου . Π.χ. οι αλλαγές στις συχνότητες των αλληλομόρφων , μπορούν να χρησιμοποιηθούν σαν δείκτες ποιότητας της αποικίας . Αν ο ερευνητής επιθυμεί να βελτιώσει την ποιότητα της αποικίας, τότε μπορεί να χρησιμοποιήσει τους αλληλομόρφους , για την επιλογή των ατόμων εκείνων , από τα οποία νέες σειρές θα δημιουργηθούν ή να εισάγει νέα στελέχη, κατά ορισμένα χρονικά διαστήματα στις αποικίες , για τη βελτίωση της ποιότητας της .

Επίσης, γνωρίζοντας τα ένζυμα εκείνα που επηρεάζονται περισσότερο από τις συνθήκες τεχνητής εκτροφής, μπορεί να προσδιορίσει τους παράγοντες εκείνους, οι οποίοι πρέπει να τροποποιηθούν για να

επιτύχει τη βελτίωση της μεθόδου . Έτσι, μια ευθεία γραμμική σχέση μεταξύ της θερμοκρασίας και του ενζύμου, που παράγεται από τους αλληλομόρφους του γόνου α -GPD, έχει προταθεί από τους Miller et al. (1975), Johnson (1976) και Bush and Neck (1976), ενώ οι Economou και Loukas (1976) έδειξαν, ότι η αλλαγή της συχνότητας του αλληλομόρφου Adh σε εργαστηριακούς πληθυσμούς του δάκου της ελιάς , φαίνεται να οφείλεται αποκλειστικά στο μέσο διατροφής των προνυμφών στο εργαστήριο.

Για τη μελέτη τυχόν γενετικών αλλαγών , που συμβαίνουν κάτω από εργαστηριακές συνθήκες στη μύγα της Μεσογείου , μελετήσαμε τις συχνότητες τριών πολυμορφικών γόνων (Pcp-1 , Pcp-3 και Est) σε τρεις εργαστηριακούς πληθυσμούς . Καθένας από τους πληθυσμούς αυτούς, δημιουργήθηκε από 500 πούπες που προέρχονταν από τους φυσικούς πληθυσμούς " Αττική " (πορτοκάλια), " Χίος " (σύκα) και " Κύπρος " (μανταρίνια) . Σε κάθε γενιά και επί 4 ή 5 συνεχείς γενιές, ένα δείγμα 150 - 200 ατόμων από κάθε πληθυσμό , αναλύθηκε ηλεκτροφορητικά για τους τρεις προηγούμενους γόνους . Στον Πίνακα 17 δίνονται οι συχνότητες των αλληλομόρφων των γόνων Pcp-1, Pcp-3 και Est. Η γενιά μηδέν αντιστοιχεί στις συχνότητες των φυσικών πληθυσμών . Στον Πίνακα 17 δίνονται επίσης οι τυπικές αποκλίσεις των συχνοτήτων των αλληλομόρφων και τα μεγέθη των ηλεκτροφορητικών δειγμάτων (N) .

Συνήθως δύο στατιστικές δοκιμασίες, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων του Πίνακα 17, η τυπική απόκλιση των συχνοτήτων των αλληλομόρφων (SE) και η δοκιμασία χ^2 ομοιογένειας. Περίπου 95% όρια εμπιστοσύνης επιτυγχάνονται , αν στην τιμή της συχνότητας του αλληλομόρφου που εκτιμήθηκε, προσθαιρέσουμε το διπλάσιο της τυπικής απόκλισης .

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 17

Αλλαγές στις συχνότητες των αλληλομόρφων των γόνων PEP-1 , PEP-3 και EST σε εργαστηριακούς πληθυσμούς μύγας της Μεσογείου σε διαδοχικές γενιές .
Τ είναι ο αριθμός των γενιών στο εργαστήριο (περισ. λεπτομ. στο κείμενο)

Αποικία	T	Συχνότητες αλληλομόρφων				N
		PEP-1		PEP-3		
		1,26	1,00	1,06	1,00	
ΧΙΟΣ	0	0.180±0.021	0.820±0.021	0.067±0.014	0.933±0.014	164
	1	0.148±0.019	0.852±0.019	0.085±0.015	0.915±0.015	182
	2	0.149±0.019	0.851±0.019	0.103±0.016	0.897±0.016	185
	3	0.045±0.015	0.955±0.015	0.040±0.014	0.960±0.014	101
	4	0.054±0.014	0.946±0.014	0.029±0.010	0.971±0.010	140
ΚΥΠΡΟΣ	0	0.438±0.025	0.517±0.025	0.023±0.008	0.977±0.008	177
	1	0.466±0.026	0.534±0.026	0.017±0.007	0.983±0.007	178
	2	0.409±0.032	0.591±0.032	0.009±0.006	0.991±0.006	116
	3	0.398±0.027	0.602±0.027	0.000	1.000	161
	4	0.345±0.025	0.655±0.025	0.000	1.000	184
ΑΤΤΙΚΗ	0	0.410±0.029	0.590±0.029	0.112±0.018	0.882±0.018	145
	1	0.398±0.044	0.602±0.044	0.159±0.033	0.841±0.033	62
	2	0.402±0.033	0.598±0.033	0.089±0.019	0.911±0.019	112
	3	0.455±0.024	0.545±0.024	0.141±0.017	0.859±0.017	220
	4	0.466±0.029	0.554±0.029	0.104±0.018	0.896±0.018	149
	5	0.443±0.029	0.557±0.029	0.152±0.021	0.848±0.021	148

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 17 (συνέχεια)

EST

Αποικία N	T	1.50	1.25	1.10	1.04	1.00	silent	N
ΧΙΟΣ	0	---	---	---	---	0398±0026	0602±0026	182
	1	---	---	---	---	0338±0025	0662±0025	180
	2	---	---	---	---	0328±0025	0672±0025	177
	3	---	---	---	---	0378±0025	0622±0025	186
	4	---	---	0016±0007	---	0327±0026	0657±0026	162
ΚΥΠΡΟΣ	0	0002±0002	0025±0008	---	---	0194±0020	0779±0021	201
	1	0002±0002	0006±0004	---	---	0140±0016	0850±0016	242
	2	---	0018±0006	---	---	0100±0014	0882±0015	220
	3	---	0030±0010	---	---	0070±0014	0900±0017	160
	4	---	0025±0008	---	---	0048±0011	0927±0014	180
ΑΤΤΙΚΗ	0	---	---	0085±0016	---	0435±0028	0480±0028	160
	1	0003±0003	---	0038±0011	---	0435±0028	0524±0028	160
	2	0004±0004	---	0068±0016	0008±0006	0393±0033	0527±0032	122
	3	0003±0003	---	0070±0014	---	0401±0027	0526±0027	171
	4	0003±0003	---	0055±0013	---	0423±0028	0519±0028	155
5	0003±0003	---	0033±0010	---	0442±0027	0522±0028	164	

Όταν τα όρια εμπιστοσύνης δεν αλληλοκαλύπτονται, τότε η μηδενική υπόθεση, ότι δεν διαφέρει η συχνότητα του αλληλομόρφου μεταξύ της γενιάς 0 και της 4ης γενιάς, απορρίπτεται με επίπεδο σημαντικότητας το 5%. Επίσης, οι δύο προηγούμενες συχνότητες μπορεί να θεωρηθούν ότι διαφέρουν, όταν το χ^2 ομοιογένειας των δύο δειγμάτων (του φυσικού πληθυσμού και της τελευταίας γενιάς (4ης ή 5ης) του εργαστηριακού πληθυσμού) δώσει στατιστικά σημαντική τιμή (με επίπεδο σημαντικότητας το 5%). Τέτοια είναι η περίπτωση των γόνων *Per-1* στους πληθυσμούς Χίου ($\chi^2 = 22,4$, B.E. = 2, $P < 0,001$) και Κύπρου ($\chi^2 = 6,7$, B.E. = 2, $P < 0,001$), του γόνου *Per-3* στον πληθυσμό Χίου ($\chi^2 = 5,1$, B.E. = 2, $P < 0,05$) και του γόνου *Est* στον πληθυσμό Κύπρου ($\chi^2 = 32,2$, B.E. = 2, $P < 0,001$).

Τα αποτελέσματα αυτά, μπορούν να εξηγηθούν τόσο με την υπόθεση της ουδετερότητας των γόνων, όσο και με την υπόθεση της επιλογής των γόνων κάτω από εργαστηριακές συνθήκες. Με την πρώτη υπόθεση, αναμένεται μέσω της τυχαίας διαδικασίας της γενετικής παρέκκλισης, ότι οι αποικίες τελικά θα γίνουν μονομορφικές για τον πιο συχνό αλληλόμορφο (μονιμοποίηση του αλληλομόρφου αυτού στον πληθυσμό) με πιθανότητα ίση με τη συχνότητα του τελευταίου.

Η υπόθεση αυτή μπορεί να βασισθεί:

i) στην παρατήρηση ότι οι αλλαγές στις συχνότητες των αλληλομόρφων των τριών γόνων, δεν είναι συστηματικές, δηλαδή ούτε του ίδιου βαθμού σημαντικότητας, ούτε της ίδιας φοράς και στους τρεις πληθυσμούς που μελετήθηκαν.

ii) στην παρατήρηση ότι οι αλλαγές (στις περιπτώσεις που αυτές είναι στατιστικά σημαντικές), δεν είναι πάντοτε βαθμιαίες και προοδευτικές (*Per-3*).

Φυσικά η υπόθεση της ουδετερότητας των γόνων , δεν μπορεί εύκολα να ελεγχθεί χωρίς γνώση του δραστικού μεγέθους των εργαστηριακών πληθυσμών. Η υπόθεση επίσης της επιλογής των γόνων , δεν μπορεί να αποκλισθεί είτε

i) σαν επιλογή του πιο κοινού αλληλομόρφου και στους τρεις γόνους (εκτός του πληθυσμού " Αττική " για τους γόνους *Per-1* και *Per-3*) είτε

ii) σαν ένα είδος εξισορροπημένης επιλογής (balancing selection) , που παρεμποδίζει την εξάλειψη των πολύ μικρής συχνότητας αλληλομόρφων.

Η τελευταία δυνατότητα προέρχεται από το γεγονός, ότι οι αλληλόμορφοι του γόνου *Est* που εμφανίζουν πολύ μικρή συχνότητα, εξακολουθούν να υπάρχουν στους πληθυσμούς , ακόμα και μετά 5 γενιές στο εργαστήριο .

Με βάση τα προηγούμενα , η εκτροφή της μύγας της Μεσογείου στο εργαστήριο , δε φαίνεται να συνδέεται με σημαντικές αλλαγές της γενετικής δομής. Έτσι, οι αλλαγές συμπεριφοράς και φυσιολογίας του εντόμου , που παρατηρήθηκαν με την εισαγωγή του στο εργαστήριο , μπορεί να οφείλονται είτε σε γόνους που δεν περιλαμβάνονται στην παρούσα εργασία ή σε πολύ μικρές γενετικές αλλαγές , που όμως βρίσκονται μέσα στα όρια του πειραματικού σφάλματος . Ανεξάρτητα όμως της φύσης και του συχνότητων των αλλοζύμων στο εργαστήριο , δεν υπάρχουν ενδείξεις μειωμένης ανταγωνιστικότητας των στειρωθέντων αρσενικών που εξαπολύονται στη φύση , σε σύγκριση με τα άγρια αρσενικά , όπως στην περίπτωση του δάκου της ελιάς και του εντόμου *Cochliomya hominivorax*. Άλλωστε η επιτυχής εφαρμογή της μεθόδου SIT στο Μεξικό (Hendrics, 1983) και πρόσφατα στη Γουατεμάλα (R. Matz, προσωπική επικοινωνία) επιβεβαιώνουν την άποψη αυτή.

3.5 Γενετικές αποστάσεις και φυλογενετικές σχέσεις

3.5.1. Μεταξύ ειδών Ceratitis

Προκειμένου να μελετήσωμε τη φυλογένεια της Ceratitis capitata σε σχέση με άλλα πολύ συγγενή της είδη Terphritidae, τα οποία έχουν την ίδια με αυτή προέλευση και κάποιους κοινούς ξενιστές, συνελλέγησαν τον Αύγουστο του 1988 από φυτεία καφέ (η συλλογή αφορούσε σε προσβεβλημένους καρπούς καφέ), στην περιοχή Ναϊρόμπι της Κένυας, 3 φυσικοί πληθυσμοί των ειδών C. capitata, C. rosa (Pterandrus rosa), και C. nigra (Trirhithrum coffeae).

Οι 3 αυτοί φυσικοί πληθυσμοί , μελετήθηκαν με βάση 13 πολυμορφικά ενζυμικά συστήματα που ανιχνεύονται ηλεκτροφορητικά.

Είναι αξιοσημείωτο ότι τα 3 είδη προσβάλλουν διαφορετικό αριθμό ξενιστών. Έτσι, ενώ το είδος C. capitata είναι εξαιρετικά πολυφάγο , το είδος C. rosa προσβάλλει μικρό αριθμό ξενιστών (καφέ, γκουάβας, μεσιλέα, ανώνα τη δικτυωτή), ενώ το είδος C. nigra προσβάλλει μόνο τον καφέ. Ο Mukiamba (1985) αναφέρει ότι το ποσοστό προσβολής του καφέ από τα είδη C. capitata,

C. nigra και C. rosa είναι αντίστοιχα 63,3% , 21,4% και 15,3% .

Αλλά και ο βαθμός διασποράς των 3 ειδών ποικίλλει. Η C. rosa (Pterandrus rosa) αναφέρεται ότι απαντάται στην Αγκόλα , Αιθιοπία, Κένυα, Μάλι, Μοζαμβίκη, Νιγηρία , Ρεουνιόν , Ν. Αφρική , Τανζανία , Ουγκάντα και Ζαίρ (βλέπε εικόνες 5 και 6), και η C. nigra στην Αιθιοπία, Τανζανία, Ουγκάντα και Ακτή του Ελεφαντοστού. (Catalogue of the Diptera of the Afrotropical region, London 1978)

Στον Πίνακα 18 δίνονται οι συχνότητες των αλληλουρίφων και για τα 13 ενζυμικά συστήματα στα 3 είδη. Το γράμμα N αναφέρεται στον αριθμό των ατόμων που ηλεκτροφορήθηκαν σε κάθε περίπτωση. Με βάση τις συχνότητες του Πίνακα 18, υπολογίστηκαν οι γενετικές αποστάσεις μεταξύ των 3 ειδών, χρησιμοποιώντας τη Neighbor-joining μέθοδο (Saitou and Nei, 1987) και τη μέθοδο του Nei (1972), (Περισσότερες λεπτομέρειες στο Κεφάλαιο 3.4.2.) και κατασκευάστηκαν τα δενδρογράμματα του Σχήματος 6.

Το κύριο χαρακτηριστικό των δενδρογραμμάτων αυτών είναι (αν και προήλθαν από διαφορετικούς εκτιμητές της γενετικής απόστασης) ότι το είδος C. capitata, εμφανίζει υψηλότερο βαθμό γενετικής ομοιότητας με το είδος C. rosa παρά με το είδος C. nigra.

Π Ι Ν Α Κ Α Σ 1 8

Συχνότητες των αλληλομόρφων 13 γόνων στα είδη C. capitata, C. rosa, και C. nigra (Λεπτομέρειες στο κείμενο).

	<u>C. capitata</u>	<u>C. rosa</u>	<u>C. nigra</u>
ΓΟΝΟΙ			
IDH			
1.10	0.052	0.978	--
1.00	0.927	0.022	1.000
0.83	0.021	--	--
N	96	68	41
ADH			
1.00	0.984	--	1.000
0.70	0.016	1.000	--
N	96	47	41
PHI			
1.21	0.017	--	--
1.00	0.983	1.000	1.000
N	90	45	45
PGM			
1.21	--	--	0.852
1.18	0.048	--	--
1.13	0.016	--	--
1.08	--	--	0.148
1.00	0.726	--	--
0.89	0.016	0.008	--
0.79	0.194	0.044	--
0.68	--	0.909	--
0.53	--	0.039	--
N	93	66	54

 Π Ι Ν Α Κ Α Σ 18 (συνέχεια)

PEP-1

1.73	--	0.006	--
1.56	--	0.880	--
1.38	0.004	0.114	--
1.26	0.735	--	0.333
1.00	0.261	--	0.667
N	117	83	66

PEP-2

1.55	0.021	0.048	--
1.41	0.034	0.042	0.515
1.32	0.026	--	--
1.22	0.158	--	--
1.10	0.150	0.024	0.076
1.00	0.479	0.036	--
0.92	0.017	0.235	--
0.80	0.064	0.091	0.409
0.68	0.043	0.524	--
0.53	0.008	--	--
N	117	83	66

PEP-3

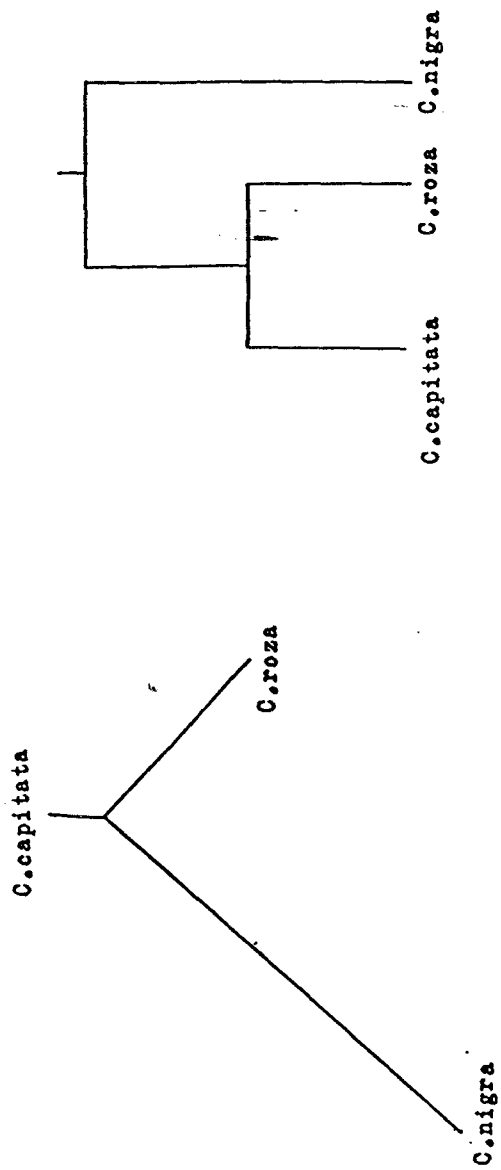
1.06	0.872	0.970	--
1.00	0.120	0.030	--
0.93	0.008	--	0.030
0.91	--	--	0.962
0.83	--	--	0.008
N	117	83	66

 Π Ι Ν Α Κ Α Σ 18 (συνέχεια)

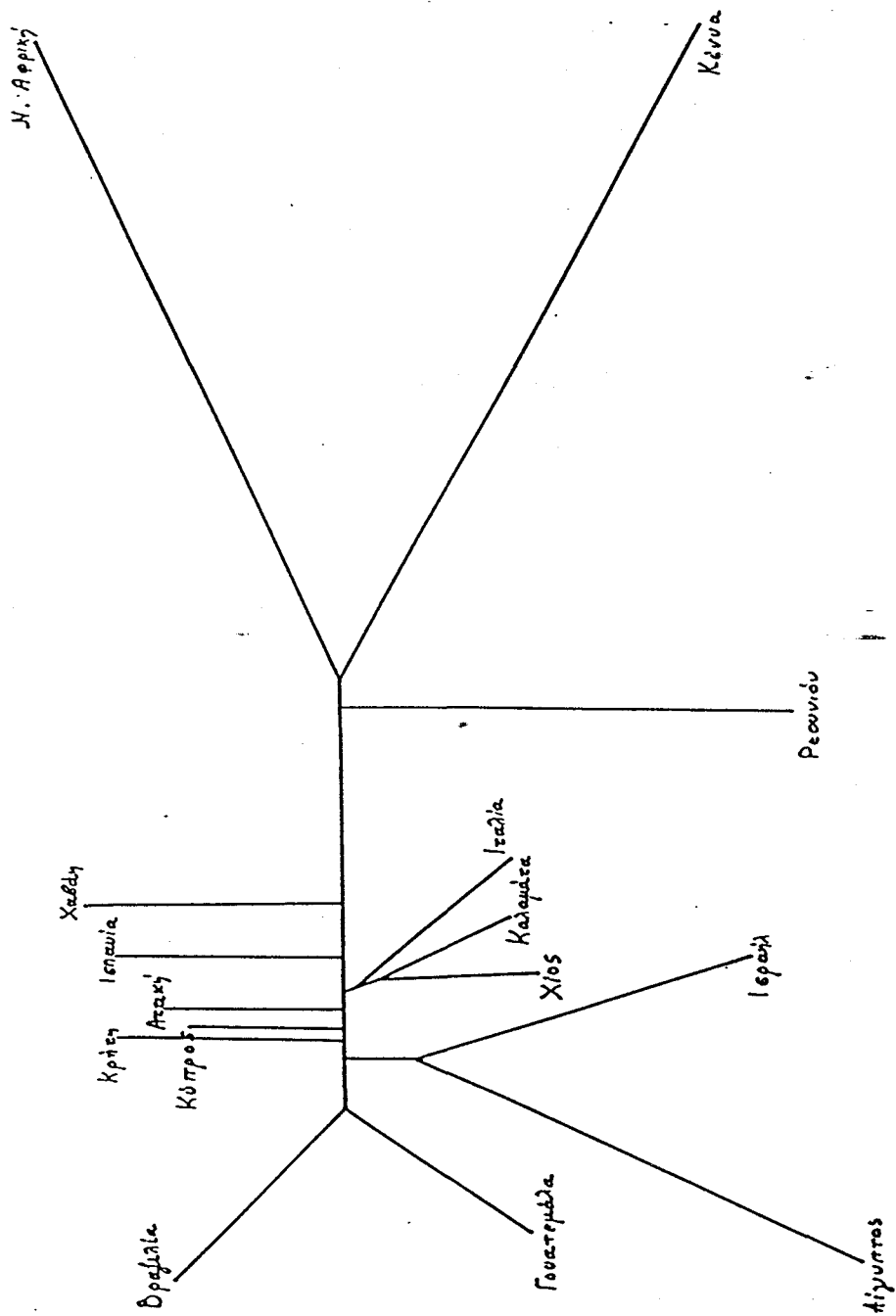
MPI			
1.59	--	--	1.000
1.43	0.008	--	--
1.39	0.008	--	--
1.35	0.053	--	--
1.25	0.053	--	--
1.19	0.066	--	--
1.12	0.029	--	--
1.08	0.082	--	--
1.04	0.098	--	--
1.00	0.177	--	--
0.97	0.037	--	--
0.92	0.016	--	--
0.87	0.267	0.352	--
0.83	0.037	--	--
0.74	0.037	0.648	--
0.67	0.025	--	--
0.58	0.008	--	--
N	122	71	59
MDH			
1.00	1.000	1.000	--
0.88	--	--	1.000
N	90	45	45

 Π Ι Ν Α Κ Α Σ 1 8 (Σ υ ν έ χ ε ι α)

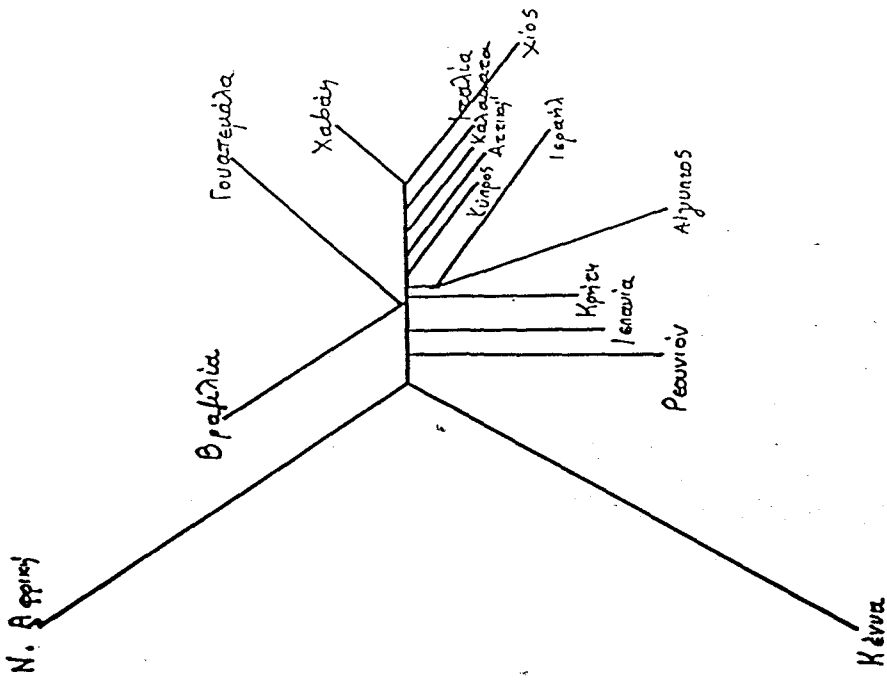
TO			
2.00	--	--	1.000
1.50	--	0.989	--
1.00	1.000	0.011	--
N	90	45	45
6-PGD			
1.49	--	--	1.000
1.17	0.031	0.900	--
1.00	0.946	0.100	--
0.90	0.023	--	--
N	112	67	52
G-6PD			
1.02	0.541	0.411	--
1.00	0.448	0.589	--
0.98	0.010	--	--
0.71	--	--	1.000
N	87	56	52
ME			
1.00	1.000	1.000	--
0.85	--	--	1.000
N	90	45	45
\bar{H}	0.262	0.176	0.102



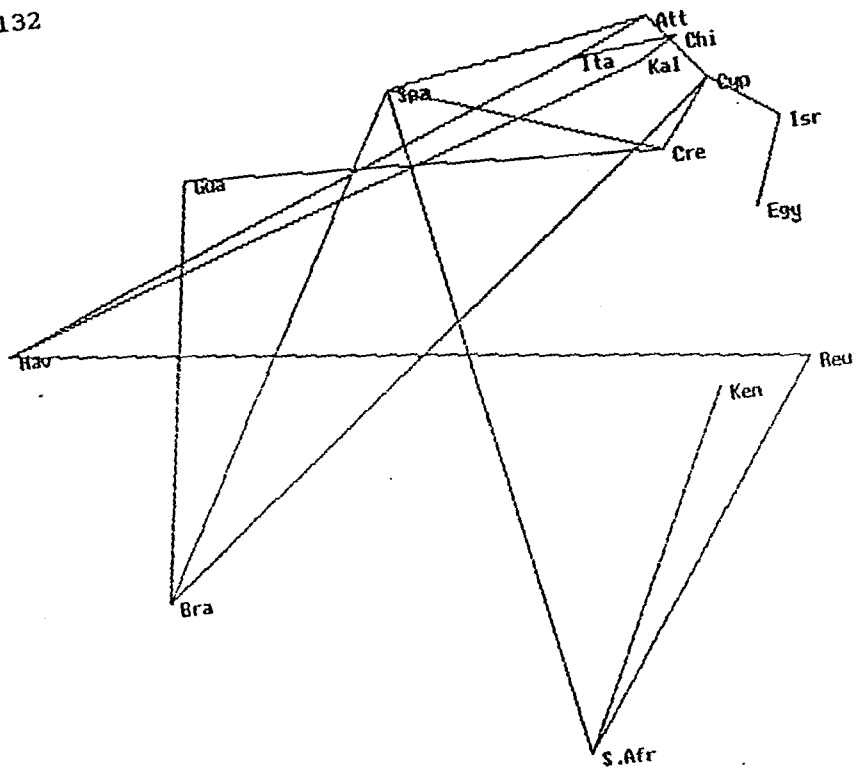
ΣΧΗΜΑ 6 : Δενδρόγραμμα ειδών Ceratitidis



ΣΧΗΜΑ 7 : Δενδρόγραμμα 15 φυσικών πληθυσμών γύρω της Μεσογείου
 (Μέθοδος Neighbor - Joining, εκτίμητης D₂)



ΣΧΗΜΑ 8 : Δενδρόγραμμα 15 φυσικών πληθυσμών μύγας της Μεσογείου
(Μέθοδος Neighbor - Joining, εκτιμητής Nei)

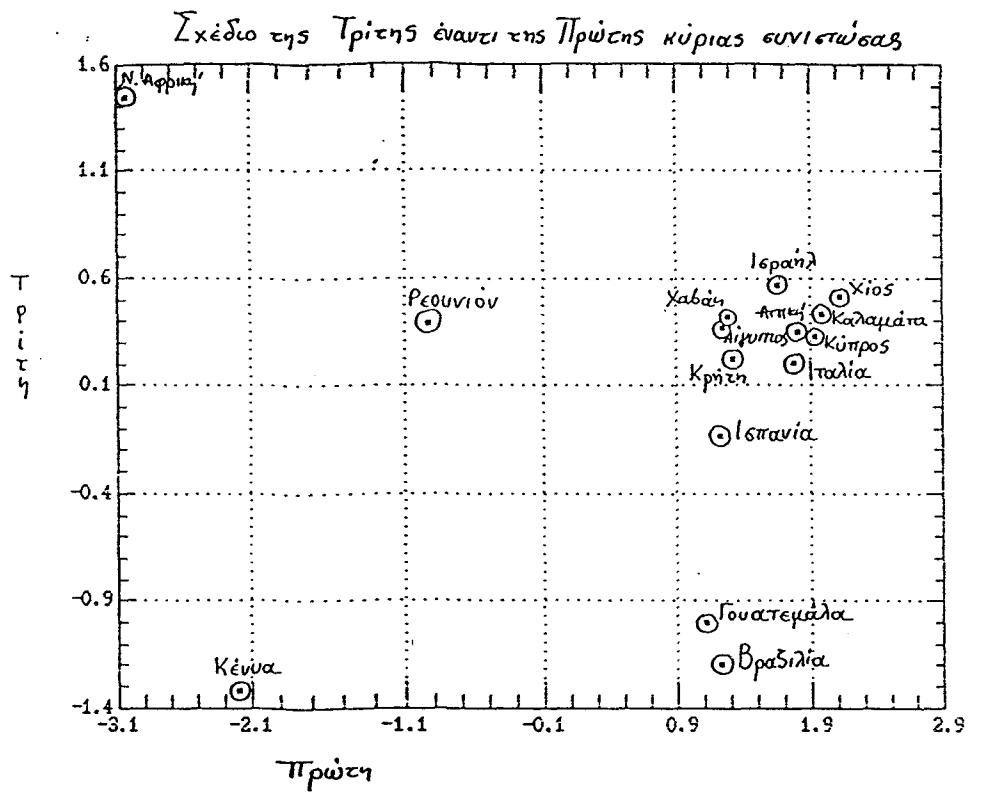


ΣΧΗΜΑ 9 : Δενδρόγραμμα 15 φυσικών πληθυσμών νότιας της Μεσογείου
(Μέθοδος Gabriel Graphs, εκτιμήτης D_2)

3.5.2. Συμπεράσματα από τη φυλογενετική Ανάλυση 15 φυσικών πληθυσμών της μύγας της Μεσογείου

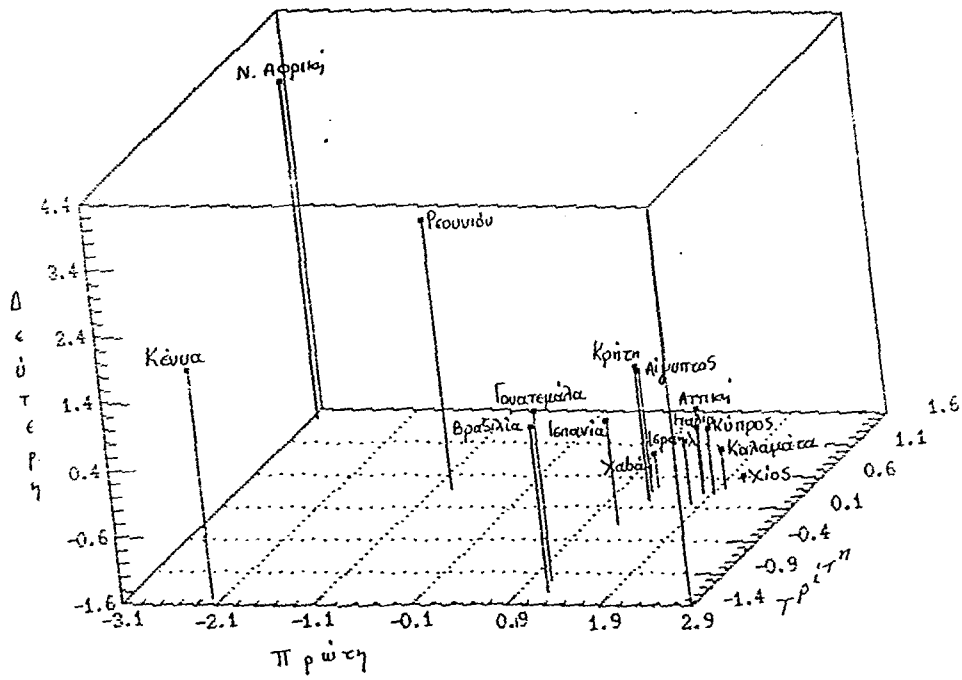
Τα κύρια χαρακτηριστικά των τριών δένδρογραμμάτων των Σχεδίων 7,8, και 9 είναι:

- i) Και στα τρία δένδρογράμματα, οι πληθυσμοί " Κένυα " και " Ν. Αφρική " εμφανίζουν πολύ μεγάλη γενετική απόσταση, από τους υποτιθέμενους νέους πληθυσμούς.
- ii) Ο πληθυσμός " Ρεουνιόν " και στα τρία δένδρογράμματα εμφανίζει μεγαλύτερη γενετική διαφοροποίηση από τους άλλους Μεσογειακούς πληθυσμούς απ'ότι οι Μεσογειακοί πληθυσμοί μεταξύ τους.
- iii) Η ίδια παρατήρηση, αν και σε μικρότερο βαθμό, ισχύει και για τον πληθυσμό Ισπανίας, ο οποίος φαίνεται να αποτελεί το συνδετικό κρίκο ανάμεσα στους Αφρικανικούς και στους Μεσογειακούς πληθυσμούς.
- iv) Και στα τρία δένδρογράμματα οι πληθυσμοί " Βραζιλία " και " Γουατεμάλα ", εμφανίζουν μεγαλύτερο βαθμό γενετικής ομοιότητας απ'ότι καθένας από τους πληθυσμούς αυτούς με τους Μεσογειακούς πληθυσμούς.
- v) Ίδια παρατήρηση με την προηγούμενη ισχύει και για το ζεύγος πληθυσμών " Αίγυπτος " - " Ισραήλ " .
- vi) Τέλος, οι λοιποί Μεσογειακοί πληθυσμοί, εμφανίζουν μεταξύ τους υψηλό βαθμό γενετικής ομοιότητας.



ΣΧΗΜΑ 10 : Απεικόνιση 15 φυσικών πληθυσμών μύγας της Μεσογείου στο επίπεδο των δύο κυρίων συνιστωσών.

Σχέδιο της δεύτερης
έναντι Πρώτης και Τρίτης κύριας συνιστώσας



ΣΧΗΜΑ 11 : Απεικόνιση 15 φυσικών πληθυσμών μύγας της Μεσογείου στο χώρο των τριών κύριων συνιστωσών.

3.5.3. Συμπεράσματα από την Ανάλυση των Κυρίων Συνιστωσών (Principal Component Analysis) .

Ανάλογα συμπεράσματα με αυτά που προέκυψαν από τα Σχήμ. 7, 8 και 9 προκύπτουν και από τα Σχήμ. 10 και 11.

Σε γενικές γραμμές διαπιστώνει κανείς τη γενετική απομάκρυνση των Μεσογειακών πληθυσμών από τους Αφρικανικούς, τη γενετική ομοιότητα μεταξύ των πληθυσμών " Γουατεμάλα " και " Βραζιλία " καθώς επίσης και το γεγονός ότι ο πληθυσμός " Ισπανία " φαίνεται να αποτελεί το συνδετικό κρίκο μεταξύ των τελευταίων και των Μεσογειακών πληθυσμών. Με άλλα λόγια και οι δύο μέθοδοι (δηλαδή η Φυλογενετική Ανάλυση και η Ανάλυση των Κυρίων Συνιστωσών) αν και είναι ανεξάρτητες δίνουν ανάλογα θα έλεγε κανείς συμπεράσματα. Με βάση τα δεδομένα των Εικόνων 1,2,3 και 4 και του Πίνακα 3, είναι φανερό ότι η μύγα της Μεσογείου εποίκισε τις διάφορες περιοχές από το κέντρο της γεωγραφικής της κατανομής σχετικά πρόσφατα - ως πρώτη χρονολογία εισβολής της στη Μεσογειακή λεκάνη αναφέρεται το 1842 (βλέπε Πίνακα 3). Η ταχύτητα εποικισμού της μύγας, δίνεται εύγλωττα από μια προσεκτική θεώρηση των εικόνων 1,2,3 και 4 όπου σε διάστημα 37 ετών - μεταξύ των εικόνων 1 έως 4 - η μύγα εξαπλώθηκε σε νέες μεγάλης εκτάσεως γεωγραφικές περιοχές.

Με βάση τα χρονολογικά δεδομένα του Πίνακα 3, φαίνεται ότι η μύγα της Μεσογείου εισέβαλε πρώτα στην Ισπανία, πιθανά κατά παθητικό τρόπο μεταφοράς και εν συνεχεία εξαπλώθηκε στη Γαλλία, Ιταλία, Ελλάδα και Μέση Ανατολή. Στη συνέχεια εξαπλώθηκε στη Νότια Αμερική, Χαβάη, Κόστα Ρίκα, Κεντρική Αμερική και τέλος στο Μεξικό.

Σ Υ Μ Π Ε Ρ Α Σ Μ Α Τ Α

Από την ανάλυση των αποτελεσμάτων και τη συζήτηση που προηγήθηκε, προκύπτουν ορισμένα συμπεράσματα, που μπορούν να συνοψιστούν στα εξής:

- i) Οι φυσικοί πληθυσμοί της μύγας της Μεσογείου (εκτός από τους Αφρικανικούς), εμφανίζουν έναν εξαιρετικά χαμηλό βαθμό γενετικής ποικιλομορφίας ($H = 0.05$).
- ii) Ο αριθμός των ξενιστών ενός είδους δε φαίνεται να συσχετίζεται θετικά με το βαθμό της γενετικής του ποικιλομορφίας.
- iii) Ο χαμηλός βαθμός γενετικού πολυμορφισμού, φαίνεται να οφείλεται σε ιστορικούς λόγους και ειδικότερα στο χρόνο που μεσολάβησε από την ίδρυση μιας αποικίας και από τον αριθμό των ιδρυτικών ατόμων.
- iv) Δε διαπιστώθηκε προτίμηση στην εναπόθεση των αυγών, που να συνδέεται είτε με το είδος του φρούτου είτε με το μέγεθος του.
- v) Με βάση τους γενετικούς πολυμορφισμούς που ανιχνεύονται ηλεκτροφορητικά, δύο φαίνεται να είναι οι πιθανές διαδρομές διασποράς της μύγας της Μεσογείου από το κέντρο της γεωγραφικής της κατανομής:
 - α) Μέσω της κοιλάδας του Νείλου.
 - β) Μέσω της Ιβηρικής Χερσονήσου.
- vi) Δεν παρατηρήθηκαν συστηματικές αλλαγές στις συχνότητες των αλληλομόρφων, σε πληθυσμούς που διατηρήθηκαν στο εργαστήριο.

S U M M A R Y

The genetic structure of 16 wild populations of Medfly sampled from different geographical areas and also from different hostfruit species have been studied electrophoretically. The results are summarized as follows:

- I. All the Mediterranean populations proved to be highly monomorphic ($H=0.051$), whereas those from South Africa, Kenya and Reunion were polymorphic ($H=0.234$, 0.262 and 0.153 respectively).
- II. The number of different host species do not seem to be positively correlated with the genetic variability of Medfly.
- III. The low level of heterozygosity, may be due to historical events, especially the time elapsed since colonization and to the number of founder individuals.
- IV. We did not detect any pattern of preference for oviposition sites correlated either with the kind or the size of the fruits.
- V. Our electrophoretic data, imply that the Medfly probably followed two different routes of dispersion from the center of origin: one through the Nile valley to Egypt and another through the Iberian Peninsula
- VI. No systematic changes in allele frequencies were observed in populations kept under laboratory conditions.

Β Ι Β Λ Ι Ο Γ Ρ Α Φ Ι Α

- Allee, W.C., 1931. Animal Aggregations. A study in general sociology. University of Chicago Press, Chicago, IL, 334 pp.
- Αναγνωστόπουλος, Π.Θ., 1939. Οι Εχθροί των Καρποφόρων Δένδρων. Αθήναι.
- Andrewartha, H.G. and L. C. Birch, 1954. The distribution and abundance of animals. University of Chicago Press, Chicago, IL, 782 pp.
- Ayala, J. F., J. R. Powell, M. L. Tracey. Enzyme variability in the Drosophila willistoni group. V Genetic variation in natural population of D. quinotialis. Genet. Res. 20 : 19-42 .
- Ayala, J. F. and J. R. Powell, 1972. Enzyme variability in the Drosophila willistoni group. VI Levels of polymorfism and the physiological function of enzymes
Biochemical Genetics 7 : 331-345.
- Ayala, J. F., 1975 . Genetic differentiation during the speciation process. Evol. Biol. 8 : 1-78 .
- Ayers, E.L., 1957 . The two medfly eradication programs in Florida. Proc. Fl. State Hortic. Soc. 70 : 67-69.
- Baco G., 1930. The orange fly, a new pest of our orchards. Abstract in Neuheiten pflschutes, 1930, no 1, p 13. Vienna.
- Bateman, A. M., 1972. The ecology of fruit flies. Ann. Rev. Entomol. 17 : 493-518.
- Bateman, A. M., 1976. Fruit flies. In De Luchi V.L.ed. Studies in Biological Control. Cambridge Univ. Press.
- Beckenbach, T. A. and S. Prakash, 1977. Examination of allelic variation at the hexokinase loci of Drosophila pseudoobscura and D.

- persimilis by different methods. Genetics 87 : 743-761.
- Bedo, D. G. , 1986. Polytene and mitotic chromosome analysis in Ceratitis capitata (Diptera: Tephritidae). Genome 29 : 598-611.
- Berger, M. E., 1971. A temporal survey of variation in natural and laboratory populations of D. melanogaster. Genetics 67 : 121-36.
- Berlacher, S. H. and G. L. Bush, 1980. Modes of speciation and genetic divergence in flies of genus Rhagoletis (Diptera: Tephritidae)
- Berlacher, S. H. and G. L. Bush, 1982. An electrophoretic analysis of Rhagoletis (Diptera: Tephritidae) phylogeny. Syst. Zool. 31: 136-155.
- Berlacher, S. H., 1983. Genetic changes coinciding with the colonization of California by the Walnut Husk fly, Rhagoletis completa. Evolution 38 : 906-918.
- Bernstein, S., L.H. Throckmorton and J.L. Hybby, 1973. Still more genetic variability in natural populations. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. 70 : 3928-31.
- Beverley, S. M. and A. C. Wilson. 1984. Molecular evolution in Drosophila and Higher Diptera. II A time scale for the fly evolution. J. Mol. Evol. 21 : 1-13.
- Birley, J. A., B. W. Barnes. 1973. Genetical variation for enzyme activity in a population of Drosophila melanogaster. I Extent of the variation for alcohol dehydrogenase activity. Heredity 31: 413-416.
- Bishop, J. A., 1973. An experimental study of the cline of industrial melanism in Biston betularia (Lepidoptera) between Urban Liverpool and rural North Wales. J. Animal Ecol. 41 : 209-43.
- Boyers and Van Brink, 1965
- Borror D. J., DeLonggg D.M., Tripletohorn C.A., 1976. An introduction to the study of insects, Holt,

- Rinehart & Winston, New York.
- Brownlie, K. A., 1967. Statistical theory and methodology (In science and engineering , 2nd edit., John Willey & Sons, Inc. New York , London p.p. 253.
- Bryant, E. H., 1974. On the adaptive significance of enzyme polymorphism in relation to environmental variability. Amer. Nat. 108 : 1-19.
- Bush, G. L., 1966. The taxonomy, cytology and evolution of the genus Rhagoletis in North America (Diptera : Tephritidae) Bull. Mus. Comp. Zool. 134 : 431-562.
- Bush, G. L., 1969 b. Sympatric host race formation and speciation in frugivorous flies of the genus Rhagoletis (Diptera : Tephritidae) Evolution 23: 237 -251.
- Bush, G. L., 1975. Sympatric speciation in phytophagous parasitic insects. Pages 187-206 in P.W. Price, ed. Evolutionary strategies of parasitic insects and mites. Plenum Publishing Corporation, New York.
- Bush, G. L., R. Neck , 1976. Ecological genetics of the screw-worm fly, Cochliomyia hominivorax (Dipt.: Calliphoridae) and its bearing on the quality control of mass-reared insects. Environ. Entomol. 5, 821-826 .
- Bush, G. L., 1975. Modes of animal speciation Annual Review of Ecology & Systematic 6:339-364.
- Bush - Petersen, E. and Southern, D. J. (1987). Induced suppression of Genetic recombination in females of the Mediterranean fruit fly, Ceratitidis capitata, by translocation heterozygosity. Genetica 72 : 161-169.
- Carey, J. R., 1982. Demography and population dynamics of the Mediterranean fruit fly. Ecol. Modelling 16: 125-150.
- Carey, J. R., 1984. Host specific demographic studies of the Mediterranean fruit fly -Ceratitidis

- capitata. Ecol. Entomol. 9: 261-270.
- Carey, J. R., S. Tuljapurkar and A. D. Krainacker, 1986. Dynamics of Mediterranean fruit fly populations structured by host origin proceedings of the second international symposium on fruit flies (Colymari, Crete).
- Catalogue of the Diptera of the Afrotropical Region. British Museum (Natural History), London.
Editor: R. W. Crosskey
- Causse, R., 1970. Etude, au moyen d'insectes irradiés, des conséquences de deux accouplements successifs de la mouche méditerranéenne des fruits Ceratitas capitata Wied. Ann. Zool. Ecol. Anim. 2: 607-15.
- Γεννάδιος, Π.Γ., 1914. Λεξικό φυτολογικόν . (Ανατύπωση : Αθήναι 1959).
- Christenson, L. D. and R. H. Foote, 1960. Biology of fruit flies. Ann. Rev. Entomol. 5: 171-192.
- Cirio, U., M. Capparella, A. P. Economopoulos, 1986. Control of med fly by releasing a mass-reared genetic sexing strain. Proceedings of the second international symposium of fruit flies (Colymari, Crete).
- Cobbs, G., 1976. Polymorphism for dimerising ability at the esterase-5 locus in D. pseudoobscura. Genetics 82 : 53-62.
- Cobbs, G. and S. Prakash, 1977. A comparative study of the esterase-5 locus in D. pseudoobscura. Genetics 85: 697-711.
- Coyne, J. A., 1976. Lack of genetic similarity between two sibling species as revealed by varied techniques. Genetics 84: 593-607.
- Crow and Kimura, 1970. Theoretical Population Genetics. Princeton, New Jersey, Princeton University press 1970.
- Day, P. R., 1974. Genetics of host-parasite interaction. Freeman and co, San Francisco, pp-238.

- De Souza, H. M. L., Da Cuhna A. B., Dos Santos E.P., 1970. Adaptive polymorphism of behavior evolved in laboratory population of Drosophila willistoni. Amer. Nat. 104: 175-90.
- Dobzhansky, Th., F.J. Ayala, 1973. Temporal frequency changes of enzyme and chromosomal polymorphisms in natural populations of Drosophila. Proc. Nat. Acad. Sci. 70 : 680-83.
- Ehler, L.E. and R.W. Hall, 1982. Evidence for competitive exclusion of introduced natural enemies in biological control. Environ. Entomol.
- Essing, E. O., 1931. A history of entomology. Macmillan, New York . 1029 (pp 247-254).
- Ferkovich, S. M. and D. M. Norris , 1971. Anternal proteins involved in the neural mechanism of quinone inhibition of insect feeding. Experientia 28 : 978-979.
- Ferron, M., 1962. L'insinct de reproduction chez la mouche mediterranean des fruits Ceratitidis capitata Wied. (Diptera: Trypetidae). Comportement sexuel. Comportement de ponte. Rev. Path. Veg. Entom. Agric. Fr. 41: 1-129.
- Fuerst, P. A., R. Chakraborty, T. Maruyama and M. D. Huettel, 1980. Effects of population bottlenecks on the allele frequency distribution. Genetics 94 : s34.
- Gasperi, G., A. Malacrida, R. Milani, R. Rubini and L. Sacchi, 1982. Genetical studies on Ceratitidis capitata (A progress repor. In Fruit flies of economic importance. pp 148-153.
- Gasperi, G., A. Malacrida and R. Milani, 1983. 6-phosphogluconate dehydrogenase activity . variants in Musca domestica L: a further allele at the Pgd-locus as proved by desitometric assay. Bioch. Genet. 21 : 109-121.
- Gillespie, J. H. and K.I. Kojima, 1968. The degree of polymorphism in enzymes involved in energy production compared to that in nonspecific

- enzymes in two Drosophila ananassae populations. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S., 61 : 582-585.
- Gillespie, J. H. and C. H. Langley, 1974. A general model to account for enzyme variation in natural populations. Genetics 76 : 837-848.
- Γκελτή-Δούκα Ε., 1967. Αι εστεράσαι κατά την οντογένεσιν του Ceratitis capitata και η γενετική ενός συστήματος εστεράσης. Η μελέτη της μονογαμικότητας του εντόμου επί τη βάση γενετικών κριτηρίων. Διατριβή επί Διδακτορία. Αθήνα 1967.
- Hagen, K. S., W. W. William and R.L. Tassan, 1981. Mediterranean fruit fly. The worst may be yet to come. California Agriculture 35 : 5-7.
- Hall, R. W. and L.E. Ehler, 1979. Rate of establishment of natural enemies in classical biological control. Bull. Entomol. Soc. Am. 25 : 280-2.
- Harris, H., 1966. Enzyme polymorphisms in man. Proc. Natl. soc. Lond. B. 164 : 298-310.
- Harris, H. and D. A. Hopkinson, 1972. Average heterozygosity per locus in man : an estimate based on the incidence of enzyme polymorphisms. Ann. Hum. Genet. 36 : 9-20.
- Harris, H., D. A. Hopkinson and Y.H. Edwards, 1977. Polymorphism and the subunit structure of enzymes: a contribution to the neutralist-selectio- nist controversy. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 74: 698-701.
- Hatchett, J. H. and R. L. Gallow, 1970. Genetics of the ability of the Hessian fly (Mayetiola destructor) to survive on wheats having different genes for resistance. Ann. Entomol. Soc. Amer. 63: 1400-1407.
- Hendrich, J., G. Ortiz, P. Liedo and A. Schwazz, 1983. Six years of successful med fly program in Mexico and Guatemala. Proc. Int. Symp. fruit flies Econ. importance : 353-365.
- Henning, W., 1973. Diptera. In kukenthal W.

- (ed.). Handbush der Zoologie IV : Arthropoda de Gruyter, New York, pp 1-377.
- Hovavitz, W. and V. C. S. Chang, 1963. Ovipositional preference tests with *Pieris*. J. Res. Lepidp. 2 : 185-200.
- Huettel, M. D. and G. L. Bush, 1971. The genetics of host selection and its bearing on sympatric speciation in Procecidochares (Diptera: Tephritidae) Entomol. Exp. Appl. 15 : 465-480.
- Huettel, M. D., P.A. Fuerst, T. Maruyama and Chakraborty, 1980. Genetic effects of multiply population bottlenecks in the Mediterranean fruit fly (Ceratitis capitata). Genetics 94 : 547-48.
- Jaenike, J., Grimaldi D., 1981. Genetic variation for host preference within and among populations of Drosophila tripunctata. Evolution 37 : 1023-1033.
- Johnson, G., 1971. Metabolic implications of polymorphism as an adaptive strategy. Nature 232: 347-349.
- Johnson, G., Schaffe H. E., 1973. Isozyme variability in species of the genus Drosophila. VII. Genotype environment relationshp in populations of D. melanogaster from the eastern United States. Bioch. Genet. 10 : 149-63.
- Johnson, G. B., 1976. Polymorphism and predictability at the α - glycerophosphate dehydrogenase locus in Colias butterflies: gradients in allele frequency with single populations. Biochem. Genet.
- Johnson G., 1977. Assessing electrophoretic similarity: The problem of hidden heterogeneity. Ann. Rev. Ecol. Syst. 8 : 309-328.
- Ισαακίδης, Κ.Α., 1932. Η μυίγα της Μεσογείου. Πρακτικά οδηγία, αριθ. 3, 15 σελ. Εκδοσις Μπενακείου Φυτοπαθολογικού Ινστιτούτου, Κηφισιά, Αθήναι
- Ισαακίδης, Κ.Α., 1935. Ελκυστική δύναμις διαφόρων δολωμάτων διά την μυίγα της Μεσογείου.

- Χρονικά Μπενακείου φυτοπαθ. Ινστ., 1 (3) : 33-37
 Ισαακίδης, Κ.Α., 1937. Ελκυστική δύναμις διαφόρων δολωμάτων διά την μυία της Μεσογείου.
- Γεωργικόν Δελτίον Ελλ. Γεωρ. Εταιρείας, 30 (4): 126-7
- King, J.L., 1974. Isoallele frequencies in very large populations. *genetics* 76 : 607-613.
- Kitto, G. B. and M. H. Briggs, 1962. Relationship between locomotory habits and enzyme concentration in insects. *Science* 133 : 918
- Kitto, G. B., 1982. An immunological approach to the phylogeny of the Tephritidae. Proceedings of the Intern. Symposium. Athens- Greece. November 1982.
- Koehn, R. K. and W. F. Eanes, 1977. Subunit size and genetic variation of enzymes in natural populations. *Drosophila Theort. Popul. Biol.* II : 330-341.
- Kogan, M., 1977. The role of chemical factors in insect plant relationships. *Proc. Int. Entomol.* Washington D.C. 1976 : pp 211-227.
- Krimbas C. B. 1984. On Adaptation, Neo- Darwinian Tautology, and Population.- Adaptation as a Problem- Solving Device and Critique of the Adaptation Program. p 31. *Evolutionary Biology*, Vol. 17 Plenum Press, N. York and London.
- Krimbas C. B. and J.Sourdis, 1987. Recent improvements on handling allelic isozyme data for tree construction. In: *Isozymes: Current Topics in Biological and Medical Research*, 15:49-62. Alan R. Liss, Inc., New York.
- Langley, C. H., Y. N. Tobarí and Kojima, 1974. Linkage disequilibrium in natural populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 78 : 921-936.
- Levene, H., 1953. Genetic equilibrium when more than one ecological niche is available. *Amer. Natur.* 87 : 331-333.
- Levins, R., 1968. *Evolution in changing environments.* Princeton University Press.

Princeton.

- Levins, R. and M. Wilson, 1980. Ecological theory and pest management. *Ann. Rev. Entom.* 25 : 287-308.
- Levinton, J., 1973. Genetic variations in a gradient of environmental variability : marine Bivalvia (Mollusca), *Science* 180 : 75-76.
- Lewontin, R. C. and J. L. Hubby, 1966. A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. II. Amount of variation and degree of heterozygosity in natural populations of D. pseudoobscura. *Genetics* 54 : 595-609.
- Lewontin, R. C., 1967. An estimate of average heterozygosity in man. *Amer. J. Hum. Gen.* 19 : 681-685.
- Lewontin, R. C., 1974. The genetic basis of evolutionary change. Columbia Univ. Press, New York, pp 346.
- Loukas, M., C. B. Krimbas, P. Mauragani-Tsipidou and C. D. Kastritsis, 1979. Genetics of Drosophila subobscura populations. VIII. Allozyme loci and their chromosome maps. *The journal of Heredity* 70 : 17-26.
- Loukas, M. and C. B. Krimbas, 1980. Isozyme techniques in Drosophila subobscura. *DIS* 55 : 157-158.
- Loukas, M., 1981. Ο ενζυμικός πολυμορφισμός σχετίζεται με το λειτουργικό ρόλο των ενζύμων ή με τις φυσικοχημικές τους ιδιότητες; *Επιθ. Αγροτ. Μελετών* , 1 : 4-11.
- Loukas, M., Y. Vergini and C. B. Krimbas, 1981. The genetics of Drosophila subobscura populations. XVII. Further genic heterogeneity within electromorphs by urea denaturation. The effect of the increased genic variability on linkage disequilibrium studies. *Genetics* 97 : 429- 441.
- Loukas, M., A. P. Economopoulos, E. Zouros and Y. Vergini, 1985. Genetic changes in artificially

- reared colonies of the olive fruit fly (Diptera : Tephritidae). Ann. Entom. Soc. Am. 78 : 159- 166.
- Loukas, M. and Y. Vergini, 1985. Linkage groups in *Drosophila* species of the *obscura* group by using enzyme polymorphisms detected electrophoretically. DIS 61 : 210- 211.
- Matula W.D. and R. Socal, 1980. Properties of Gabriel Graphs Relevant to Geographic Variation Research and the Clustering of Points in the Plane. Geographical Analysis, vol. 12, no.3, 205-222.
- Mac Arthur, R. H. and E. O. Wilson, 1967. The theory of Island Biogeography. Princeton University Press, Princeton, NJ, pp 203 .
- Malacrida, A. R., G. Gasperi, G. Biscaldi, R. Milani, 1985b. Functional significance of gene clusters in the house-fly, Musca domestica and other Diptera. S. It. E. Atti. 5 : 307-310.
- Malacrida, A. R., G. Gasperi, R. Milani, 1986. genome organization of Ceratitis capitata. Linkage groups and evidence for sex ratio distorters. Proceedings of the second international symposium on fruit flies. September 1986. Colympari. Crete, Greece. pp 169-174.
- Malavasi, A. and J. S. Morgante, 1981. Adult and larval population fluctuation of Anastrepha fraterculus and its relationship to host availability. Environm. Entom. 10 : 275-8.
- Malavasi, A. and J. S. Morgante, 1983. Population genetics of Anastrepha fraterculus (Diptera : Tephritidae) in different hosts : Genetic differentiation and heterozygosity. Genetics 60 : 207-211.
- Maruyama, T. and P. A. Fuerst, 1984. population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. I. Allele numbers when populations evolve from zero variability. Genetics 108 : 745-763.
- Maruyama, T. and P. A. Fuerst, 1985. Population

- bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck. *Genetics* 111 : 675-689.
- Moruyama, T. and P. A. Fuerst, 1985. Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. III. Genic homozygosity in populations which experience periodic bottleneck. *Genetics* 111 : 691-703.
- Mayr, E. , 1954. Change of genetic environment and evolution. In : *Evolution as a process* (Huxley, J., Hardy, A.C. and Ford, E.B., ed) George, Allen and Unwin Ltd., London, pp 167-180.
- Maynard Smith, J., 1972. protein polymorphisms. *Nature New Biol.* 237 : 31.
- McBride, O. C., 1935. Response of the Mediterranean fruit fly to its environmental factors. *Proc. Hawaiian Ent. Soc.* 9 : 99-108.
- McDonald, J. F. and Ayala F. J., 1974. Genetic response to environmental heterogeneity. *Nature* 250 : 572-74.
- McDonald, J. F., 1983. The molecular basis of adaptation. A critical review of relevant ideas and observations. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 14 : 77-102
- McDowell, R. E. and S. Prakash, 1976. Allelic heterogeneity within allozymes separated by electrophoresis in *D. pseudoobscura*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 75 : 3359-3362.
- Milani, R., A. R. Malacrida and G. Gasperi, 1986. Protein variability and population genetics of *Ceratitis capitata*. Second International symposium on Fruit flies, Colymperi, Crete, 1986.
- Mitter, C. and D. J. Futuyma, 1979. Population genetic consequences of feeding habits in some forest Lepidoptera. *Genetics* 92 : 1005-1021.
- Morgante, J., A. Malavasi and G. Bush, 1980. Biochemical systematics and Evolutionary relationships of Neotropical *Anastrepha*. *Ann.*

Entomol. Soc. Am. 73 : 622-630.

- Morgante, J., Hebe M.L. de Souza, Eliana de Couti and M. Cytrynowicz, 1981. A allozymic variability in an introduced fruit fly pest Ceratitis capitata (Wiedemann). Rev. Brasil. genet. 2 : 183-191.
- Mukiama, K.T., 1985. East African strains of Ceratitis capitata: Occurrence and enzyme variation. FAO/IAEA (Research Coordination Meeting on "The Development of Sexing Mechanisms in Fruitflies Through Manipulation of Radiation-Induced Lethals and Other Genetic Measures"). Vienna 15-19 July, 1985.
- Μουρίκης Α.Π. 1965. Στοιχεία επί της ανάπτυξης των ατελών σταδίων της μυίας της Μεσογείου (Ceratitis capitata (Wiedemann)) (Diptera : Trypetidae), επί διαφόρων καρπών - ξενιστών και επί του θρεπτικού υλικού υπό εργαστηριακάς συνθήκας. Διδακτορική Διατριβή, Αθήνα, 1965.
- Nei, M., 1972. genetic distance between populations. Amer. naturalist 106 : 283-292.
- Nei, M. and T. Maruyama, 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. Evolution 29 : 1-10.
- Nei, M., 1971. Interspecific gene differences and evolutionary time estimated from electrophoretic data on protein identity. The Amer. Nat. 105 : 385-398.
- Nei, M., P.A. Fuerst and R. Chakraborty, 1978. Subunit molecular weight and genetic variability of proteins in natural populations. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 75 : 3359-3362.
- Newel, J.M. and F.H. Haramoto, 1968. Biotic factors influencing populations of Dacus dorsalis in Hawaii. Proc. Hawaiian Entom. Soc. 20 : 81-139.
- Ohta, T. and M. Kimura, 1973. A molecular mutation appropriate to estimate the number of electrophoretically detectable alleles in a finite population. Genetic. Res. 22 : 201-204.

- Ogillvie I., 1928. The Insects of Bermuda.
Dept. of Agriculture of Bermuda.p. 44-45
- Παπαγεωργίου ,Π., 1915. Η μύγα της Μανδαρινιάς.
Δελτίον Βασιλικής Γεωργικής Εταιρίας, Αθήναι,
12: 258-260.
- Phillips, P. A. and M.M. Barnes, 1975. Host
race formation among sympatric apple , walnut
and plum populations of the codling moth,
Laspeyresia pomonella. Ann. Entom. Soc. Amer. 68:
1053-1060.
- Piazza A., P. Menozzi and L. Cavalli- Shozza, 1981.
The making and Testing of Geographic Gene-Frequency
maps. Biometrics 37, 637-659.
- Powell, J.R., 1971. Genetic Polymorphism in
varied environments. Science 174 : 1035-36.
- Powell, J.R. and H.E. Winstand, 1976. The
effect of variable environments on genetic
variation in Drosophila pseudoobscura.
- Prakash, S., 1972. Origin of reproductive isolation
in the absense of apparent genetic differentiation
in a geographic isolate of Drosophila pseudoobscura.
Genetics 72: 143-155.
- Prakash, S., R.C. Lewontin and J.L. Hubby, 1969.
A molecular approach to the study of genic
heterogygosity in natural populations. IV.
Patterns of genic variation in central , marginal
and isolated populations of D. pseudoobscura.
Genetics 61 : 841-858.
- Prokopy, R. and J. Hendrichs, 1979. Mating
behavior of Ceratitis capitata on a field- caged
hostrace. Ann. Entom. Soc. Am. 72 : 642-648.
- Prokopy, R.J., A.L. Averill, S.S. Cooley, C.A.
Roitberg and C. Kallet, 1982. Variation in host
acceptance pattern in apple maggot flies. Proc.
5th Intern. Symp. Insect. - Plant. Rel.
Nageningen (1982) (PUDOC) : 123-129.
- Prokopy, R. and P. McDonald, 1984. Inter-
population variation among Ceratitis capitata

- flies in host acceptance pattern. Entom. Exp. of appl. 35 : 65-69.
- Puzzi, D. and A. Orlando, 1965. Estudos sobre a ecologia das " moscas-das frutas " no Estado de Sao Paulo, visando o controle racional da praga. Arq. Inst. Biol. 32 : 9-22.
- Radu, M., Y. Rössler and Y. Koltin, 1975. The chromosomes of the Mediterranean fruit fly : Karyotype and chromosomal organization. Cytologia 40 : 823-828.
- Ramirez, E. and K. P. Katiyar, 1970. mating frequency and fertility of Mediterranean fruit fly females alternately mated with normal and irradiated males. J. Econ. Entomol. 63 : 1247-50
- Ραυτόπουλος, Ι. και Α.Ι. Κουρμούσης, 1937. Συμπεράσματα τινά επί ενεργηθείσης προσπάθειας πειραματικής καταπολεμήσεως της Μύλας της Μεσογείου υπό του φυτοπαθολογικού Σταθμού Πατρών. Γεωργικόν Δελτίον Ελλ. Γεωργ. Εταιρίας, 30(5): 163-171 & 223-232
- Rohdendorf, B., 1974. The historical development of Diptera . University of Alberta Press, Edmonton, Canada.
- Rolli, K., 1976 : Die akustischen Sexualsignale von Ceratitidis capitata and Dacus oleae. Gmel. Z. Angew. Entom. 81 : 219-23.
- Saitou N. and M. Nei, 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4: 406-425
- Sarich, V. M. and J. E. Cronin, 1980. South American mammal molecular systematics, evolutionary clocks and continental drift. Evolutionary biology of the New World monkeys and continental drift. Plenum Press, New York, pp 399-421.
- Selander, R. K. and S. Y. Yang, 1969. Protein polymorphism and genic heterozygosity in a wild population of the house mouse (Mus musculus). Genetics 63 : 653-667.

- Selander, R. K. and D. W. Kowfman, 1973.
Genetic variability and Strategies of adaptation.
Proc. Natl. Sci. U.S. 70 : 175-177.
- Shoukry, A. and M. Hafez, 1979. Studies on the
biology of the Mediterranean fruit fly Ceratitidis capitata. Entomol. Exp. Appl. 26 : 33-39.
- Silvestri F., 1914. Report on an expedition to Africa in search of parasites of the Fruit Fly.
Boll. Lab. Zool. Agrar. R. Scuola Sup. Agr. Porticc, viii, 1914, pp 1-64.
- Simanton, W. A., 1958. Studies of Mediterranean fruit fly lures in Florida. J. Econ. Entomol. 51 : 679-682.
- Singh, R. S., J. L. Hubby and R.C. Lewontin, 1974. Molecular heterosis for heat-sensitive enzyme alleles. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S. 71 : 1808-1810.
- Singh, R.S., J.L. Hubby and L. Throckmorton, 1975. The study of genic variation by electrophoresis and heat denaturation technique at the octanol dehydrogenase locus in members of the Drosophila virilis group. Genetis 80 : 637-650.
- Smith, M. J., 1972. Protein polymorphisms. Nature New Biol. 237 : 31.
- Smithies, O. and N. F. Nalder, 1955. Genetic control of some serum proteins in normal humans. Nature 176 : 1265-1266.
- Σούρδης Ιωάννης, 1984. Έλεγχος αξιοπιστίας αριθμητικών μεθόδων προσδιορισμού φυλογενετικών δένδρων. Διδακτορική Διατριβή, Α.Γ.Σ.Α., Αθήνα 1984.
- Sourdis J. and M. Nei, 1988. Relative efficiencies of Maximum parsimony and distance matrix methods in obtaining the correct phylogenetic tree. Molecular Biology and Evolution. 5 : 298-311.
- Southern, D. I., 1976. Cytogenetic observations in Ceratitidis capitata. Experientia 32 : 20-22.
- Steiner, L. F., W. Mitchell, A.H. Baumhover, 1962. Progress of fruit fly control by

- irradiation sterilization in Hawaii and the Marianas Islands. *Int. J. Appl. Radiat. Isotop.* 13 : 427-34.
- Tabashnik, B.E., H. Wheelock, J.D. Rainboldt and W. B. Watt, 1981. Individual variation in oviposition behavior in the butterfly, Colias eutheme. *Oecologia* 50 : 225-230.
- Tanaka, N., L. F. Steiner, K. ohinata and R. Okamoto, 1969. *J. Econ. Entomol.* 62 : 967-968.
- Tarling, D. H. , 1980. the geological evolution of South America with special referense to the last 200 million years. *Evolutionary biology of the New World monkeys and continental drift.* Plenum Press, New York. pp 1-41.
- Tavormina, 1982. Sympatric genetic divergence in the leaf-mining insect Liriomyza brassicae (Diptera : Agromyzidae). *Evolution* 36 : 523-534.
- Throckmorton L.H., 1975. The phylogeny, ecology and geography of Drosophila. In: King RC (ed) *Handbook of genetics*, vol 3. Plenum Press, New York. pp 421-469.
- Tsitsipis, J. A., 1977. An improved method for the mass rearing of the olive fruit fly, Dacus oleae (Diptera : Tephritidae). *Z. Ang. Ent.* 83 : 419-426.
- Van Delden, W. Kamping, A. Van Dijk, 1975. Selection at the alcohol dehydrogenase locus in Drosophila melanogaster. *Experimentia* 31 : 418-20
- Valentine, J. W., 1976. Genetic strategies of adaptation. In : *Molecular Evolution* (Ayala F. J., ed.). Sinauer Sunderland, Massachusetts, pp 78-94.
- Watze O., 1932. Veber ein Auftreten der Mittelmeer frucht fliege (Ceratitidis capitata Wied.)
On an Occurance of the Mediterranean Fruit fly in the orange fly, a new pest of our orchards.
Gartenbauwiss.,vi, no 4,pp 446-55
- Ward, R. D., P.D. N. Hebert, 1972.

- Variability of alcohol dehydrogenase activity in a natural population of Drosophila melanogaster. Nature New Biol. 236 : 243-244.
- Wasserman, S. S. and D. J. Futuyma, 1981. Evolution of host plant utilization in laboratory populations of the southern cowpea weevil, Callosobruchus maculatus Fabricius (Coleoptera: Bruchidae). Evolution 35 : 605-617.
- Wheeler M.R., 1981. The Drosophilidae: a taxonomic overview. In: Ashburner M., Carsonnn H.L., Thompson J. N., Jr (eds) The genetics of biology of Drosophila vol 3a. academic Press, New York, pp 1-97.
- Whitten , C.J., 1980. Use of isozyme technique to assess the quality of mass-reared sterill screw-worm flies. Amer. Entom. Sos. Amer. 73 : 7-10.
- Wood, R.J., L.C. Marchini, E.Busch-Peterson and D.J. Harris, 1980. Genetic studies of Tephritid flies in relation to their control. (Proceedings of a symposium on fruit fly problems, Kyoto and Naha, August 9-12, 1980.
- Zacharopoulou, A., 1987. Cytogenetic analysis of mititic and salivary gland chromosomes in the Med fly Ceratitidis capitata. Genome 29 : 67-71.
- Zouros, E., 1975. Electrophoretic variation in allozymes related to function or structure? Nature 254 : 446-448.
- Zouros, E., 1979. Mutation rates and amounts of electrophoretic varia tion of enzyme loci in natural population. Genetics 92 : 623-646.
- Zouros, E., M. Loukas, A. Economopoulos and B. Mazomenos, 1982. Selection at the alcohol dehydrogenase locus of the olive fruit fly Dacus oleae under artificial rearing. Heredity 48 : 169-185.